ปพิชญา กองจินคา: สารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากราเอนโคไฟต์ที่แยกจากใบพลูกาว Houttuynia cordata Thunb. (ANTIMICROBIAL AGENTS FROM ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM Houttuynia cordata Thunb. leaves) อ.ที่ปรึกษา: ผศ. คร. สุรชัย พรภคกุล, 190 หน้า. ISBN 974-14-2296-2

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อแยกหาสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่สร้างโดยราเอนโดไฟต์ที่แยก จากใบพลูกาว Houttuynia cordata Thunb. ที่เก็บจาก 4 จังหวัด คือ เชียงใหม่ เชียงราย ราชบุรี และนครปฐม แยกราเอนโดไฟต์ได้ 64 ไอโซเลตโดยวิธีการฆ่าเชื้อที่ผิวนอก ทำการทดสอบฤทธิ์ การยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Dual culture agar diffusion technique พบว่าราเอนโดไฟต์ 50MLY-5, 57S-8 และ 70CLY-2 มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้อย่างน้อยที่สุด 2 ชนิด โดยราเอนโดไฟต์ 50MLY-5 ที่เจริญบนอาหาร YEA มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ดีที่สุด ในการยับยั้ง Bacillus subtilis ATTC 6633 และ Escherichia coli ATCC 25923

โดยอาศัยสัญฐานวิทยาของราและการวิเคราะห์ลำคับ DNA บริเวณ ITS1 ITS2 และ 5.85 ของยืน rRNA ราเอนโคไฟต์ 50MLY-5 จัดเป็น Alternaria sp. เพาะเลี้ยงรานี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เหลว Yeast Extract Sucrose Broth (YEB) และทคสอบสารเมแทบอไลต์ที่ยับยั้งจุลินทรีย์ จากการ แยกส่วนสกัดหยาบเอธิลอะซิเคตของน้ำเลี้ยงและเส้นใชได้สาร 5 ชนิค ประกอบด้วย cyclo(L-Leu-L-Pro), thymine, uracil, ergosterol peroxide และสารใหม่ 1 ชนิค คือ 3-amino-6-(hydroxyamino)piperazine-2,5-dione ทคสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารทั้ง 5 ชนิค ด้วยวิธี the minimum inhibitory concentration method (MIC)โดยใช้ penicillin G, sulfadimidine, streptomycin, erythromycin, iprodine และ ketoconazole เป็น positive control พบว่า Cyclo(L-Leu-L-Pro) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ B. subtilis ATCC 6633, E. coli ATCC 25922 และ C. albicans ATCC 10231 ใต้ที่ค่า MIC 1.96, 62.5 และ 31.25 µg/ml; 3-amino-6-(hydroxyamino)piperazine-2,5-dione มี ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ B. subtilis ATCC 6633 ที่ค่า MIC เท่ากับ 15.63 µg/ml และ C. albicans ATCC 10231 ที่ค่า MIC เท่ากับ 1.96 µg/ml และ ergosterol peroxide มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ B. subtilis ATCC 6633, E. coli ATCC 25922 และ C. albicans ATCC 10231 ใต้ที่ค่า MIC เท่ากับ 1.96 µg/ml และ ergosterol peroxide มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ B. subtilis ATCC 6633, E. coli ATCC 25922 และ C. albicans ATCC 10231 ใต้ที่ค่า MIC 7.82, 31.25 และ 62.5 µg/ml คามลำดับ

##4672321023: MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: ENDOPHYTIC FUNGI / Houttuynia cordata Thunb. / ANTIMICROBIAL

ACTIVITY/ MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION METHOD

PAPITCHAYA KONGCHINDA: ANTIMICROBIAL AGENTS FROM ENDOPHYTIC

FUNGI ISOLATED FROM Houttuynia cordata Thunb. LEAVES. THESIS

ADVISOR: ASST. PROF. SURACHAI PORNPAKAKUL, Ph.D., 190 pp. ISBN 97414-2296-2

The purpose of this research was to investigate extraction antimicrobial agents produced by endophytic fungi which were isolated from *Houttuynia cordata* Thunb. leaves collected from 4 provinces including Chiangmai, Chiangrai, Rachaburi and Nachornpathom. The 64 isolates of endophytic fungi were isolated by surface-sterilization techniques. Fungal isolates were examined antimicrobial activity by dual culture agar diffusion technique. Isolate 50MLY-5, 57S-8 and 70CLY-2 showed antimicrobial activity against at least two tested microorganisms. The 50MLY-5 isolate grown on yeast extract sucrose agar (YEA) exhibited highest antimicrobial activity against *Bacillus subtilis* ATTC 6633 and *Escherichia coli* ATCC 25923.

On bases of fungal morphology and analysis of the DNA sequences of the ITS1, ITS2 and 5.8S region of 'rRNA gene, the endophytic fungus isolate 50MLY-5 was identified to *Alternaria* sp. This fungus was cultured in YEB and its antimicrobial metabolites were investigated. From isolation of ethyl acetate extract of broth and mycelium, five compounds were obtained including cyclo(L-Leu-L-Pro), thymine, uracil and ergosterol peroxide. Antimicrobial activities of five compounds were determined by the minimum inhibitory concentration method (MIC) method using penicillin G, sulfadimidine, streptomycin, erythromycin, iprodine and ketoconazole as positive control. The results showed that Cyclo(L-Leu-L-Pro) exhibited antimicrobial activity against *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922 and *C. albicans* ATCC 10231 with MIC values of 1.96, 62.5 and 31.25 µg/ml; 3-amino-6-(hydroxyamino)piperazine-2,5-dione exhibited antimicrobial activity against *B. subtilis* ATCC 6633 and *C. albicans* ATCC 10231 with MIC values 15.63 and 1.96 µg/ml and ergosterol peroxide exhibited antimicrobial activity against *B. subtilis* ATCC 25922 and *C. albicans* ATCC 10231 with MIC values of 7.82, 31.25 and 62.5 µg/ml respectively.