

พัชรวรรณ ตีนาน: การแยก *Aureobasidium pullulans* ที่สร้างสารต้านเชื้อรา (ISOLATION OF *Aureobasidium pullulans* AS PRODUCERS OF ANTIFUNGAL AGENTS) อาจารย์ที่ปรึกษา: รศ. ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: ผศ. ดร. พงศ์สาริน โสฬ์ตระกูล; 87 หน้า.

การคัดแยก *Aureobasidium pullulans* จากห้องน้ำในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล โดยใช้อาหารสูตร corn meal agar (CMA) และ malt extract agar (MEA) สูตร half strength และทำการจัดจำแนกเชื้อที่ได้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน การผลิต และลักษณะสมบัติของ exopolysaccharide (EPS) ด้วยเทคนิค Infrared spectroscopy พบว่าสามารถคัดแยกเชื้อรา *A. pullulans* ได้จำนวน 10 ไอโซเลต ได้แก่ KT1 BM1 TB1 PH1 JP1 VM1 HKW1 HKW2 HKW3 และ HKW4 จากห้องน้ำในเขตกรุงเทพมหานคร นำเชื้อรา *A. pullulans* ทั้ง 10 ไอโซเลต มาผลิตสารต้านเชื้อราและทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อราก่อโรคในกลุ่ม *Aspergillus* spp. โดย paper disc method และ conidial germination inhibition assay พบว่าเชื้อรา *A. pullulans* 4 ไอโซเลต ได้แก่ KT1 BM1 KHW1 และ KHW2 สามารถผลิตสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* spp. ได้แตกต่างกัน โดยสารสกัดจากทั้ง 4 ไอโซเลตดังกล่าว สามารถยับยั้งเชื้อรา *A. terreus* ได้ นอกจากนี้พบว่า *A. pullulans* ไอโซเลต KT1 มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *A. fumigatus* ในขณะที่ *A. pullulans* ไอโซเลต BM1 สามารถยับยั้ง *A. fumigatus* และ *A. flavus* ด้วยเช่นกัน เมื่อนำสารสกัดจาก *A. pullulans* ทั้ง 4 ไอโซเลตดังกล่าว มาตรวจสอบด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง (Thin layer chromatography) เปรียบเทียบกับสารต้านเชื้อราออร์โอบาซิดิน เอ (aureobasidin A) พบว่าสามารถแยกสารสกัดจาก *A. pullulans* ทั้ง 4 ไอโซเลต ได้สารหลายชนิดบนแผ่น TLC และมีตำแหน่งของสารที่มีค่า Rf ใกล้เคียงกับออร์โอบาซิดิน เอ เมื่อตรวจสอบความสามารถในการต้านเชื้อราของสารที่แยกได้บนแผ่น TLC พบว่า สารสกัดจาก *A. pullulans* ทั้ง 4 ไอโซเลตดังกล่าว มีสารที่ยับยั้งเชื้อราในตำแหน่งเดียวกันกับออร์โอบาซิดินเอ โดยสารสกัดจาก *A. pullulans* ไอโซเลต KT1 มีสารที่ยับยั้ง *A. fumigatus* และ *A. terreus* จำนวน 1 ชนิด คือสารที่มีค่า Rf เท่ากับ 0.4 ในขณะที่สารสกัดจาก *A. pullulans* ไอโซเลต HKW1 HKW2 และ BM1 มีสารที่ยับยั้งเชื้อรา *A. terreus* จำนวน 1 ชนิด คือสารที่มีค่า Rf เท่ากับ 0.4 นอกจากนั้นสารสกัดจาก *A. pullulans* ไอโซเลต BM1 ยังมีสารที่ยับยั้ง *A. flavus* และ *A. fumigatus* มากกว่า 1 ชนิด คือสารที่มีค่า Rf เท่ากับ 0.4 และ 0.675 ตามลำดับ

4672346723:MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: *Aureobasidium pullulans* / AUREOBASIDIN A / ANTIFUNGAL AGENTS

PACHARAWAN DEENARN: ISOLATION OF *Aureobasidium pullulans* AS PRODUCERS OF ANTIFUNGAL AGENTS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. HUNSA PUNNAPAYAK, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR: ASSIST. PROF. PONGTHARIN LOTRAKUL, Ph.D.; 87 pp.

Aureobasidium pullulans was screened from various bathroom surfaces in Bangkok and vicinities using half strength corn meal agar (CMA) and malt extract agar (MEA). Ten isolates were obtained including KT1, BM1, TB1, PH1, JP1, VM1, HKW1, HKW2, HKW3 and HKW4. They were identified as *Aureobasidium pullulans* based on morphological characteristic, physiological tests, exopolysaccharide (EPS) production and EPS characteristic (IR spectroscopy). They were cultivated on production medium to produce antifungal agents and their extracts were tested for their fungicidal activities against the pathogenic fungi (*Aspergillus* spp.) using paper disc method and conidial germination inhibition assay. The extracts from 4 isolates including KT1, BM1, KHW1, and KHW2 had activity against *A. terreus*, while the extracts of KT1 and BM1 also showed activity against *A. fumigatus*. Moreover, the extract from isolate BM1 indicated the ability to inhibit the growth of *A. flavus*. When the antifungal agents from the crude extracts of all 4 isolates were separated using Thin Layer Chromatography (TLC) compared to the aureobasidin A antifungal antibiotic, a number of compounds was detected. The compounds separated from crude extracts of each isolate on TLC plate showed similar R_f value to that of aureobasidin A. These compounds on the TLC plates were tested for antifungal activities. The extracts of all isolates showed inhibition zones corresponded to the bands of TLC plate. Compounds (R_f = 0.4) from KT1 showed activity against *A. fumigatus* and *A. terreus* while compounds (R_f = 0.4) from HKW1 HKW2 and BM1 had activities against *A. terreus*. Moreover, the extract of BM1, which showed two spots of fungicidal compounds with different R_f values (0.4 and 0.675), had activities against *A. flavus* and *A. fumigatus*.