

**ISOLATION AND OPTIMIZATION OF LICHENIZED FUNGI  
FOR BIOACTIVE COMPOUNDS SCREENING**

**VEERA SRI-INDRASUTDHI**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2005**

**ISBN 974-04-6670-2**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การคัดแยกและสภาวะที่เหมาะสมของราที่ก่อให้เกิดไลเคนเพื่อตรวจสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ISOLATION AND OPTIMIZATION OF LICHENIZED FUNGI FOR BIOACTIVE COMPOUNDS SCREENING)

วีระ ศรีอินทร์สุทธิ 4537271 SCEB/M

วท.ม.(ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: พรสวรรค์ วิสุทธิวิเศษ, Ph.D., ประหัด โภคจิตติยุกต์, Ph.D., ทิมโมที วิลเลียม ฟลีเกล, Ph.D., สุเทพ ไวยครุฑธา Ph.D., สมศักดิ์ ศิวิชัย, Ph.D.

บทคัดย่อ

ไลเคนจำนวน 8 ชนิดพันธุ์ถูกคัดเลือกจาก 144 ตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้จากอุทยานแห่งชาติในจังหวัดกาญจนบุรี เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการคัดแยกราที่ก่อให้เกิดไลเคนด้วยวิธีการปลดปล่อยสปอร์ ได้แก่ อุณหภูมิ, ความชื้น และความเข้มแสง ไลเคน 7 สายพันธุ์พบว่ามีการปลดปล่อยสปอร์หลังจาก 12 ชั่วโมงในสภาพที่มีแสง โดยมีช่วงอุณหภูมิแบบสลับระหว่าง 20/25 องศาเซลเซียส สปอร์จะถูกปล่อยเป็นจำนวนมากในครั้งแรก และจะลดจำนวนลงจนหมด โดยความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสม คือ 55 เปอร์เซ็นต์

คัดเลือกรากที่ก่อให้เกิดไลเคนจำนวน 3 สายพันธุ์ที่มีผลดีในการปลดปล่อยสปอร์ นำมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต โดยการเปรียบเทียบชนิด, สถานะของอาหารเลี้ยงเชื้อ, สภาวะการเลี้ยงเชื้อ และอุณหภูมิในการบ่มเชื้อ พบว่าราที่ก่อให้เกิดไลเคนเจริญได้ดีในอาหารเหลว ที่สภาวะเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยเจริญในอาหาร MYB และ PDB ได้ดีกว่า LBB

การศึกษาการใช้น้ำตาลรีดิวซ์และวัดการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของราที่ก่อให้เกิดไลเคนระหว่างการเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีสารอาหารแตกต่างกัน พบว่าแหล่งสารอาหารที่สำคัญและมีผลต่อการเจริญเติบโตของราที่ก่อให้เกิดไลเคน ได้แก่ คาร์บอนและไนโตรเจน โดยมีความต้องการสารอาหารชนิดอื่นในปริมาณน้อย

จากการตรวจสอบฤทธิ์ของราที่ก่อให้เกิดไลเคน 7 สายพันธุ์ที่คัดแยกได้ เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค พบว่าราส่วนใหญ่ให้ผลการยับยั้งเชื้อวัณโรคและเริ่มได้ดี ในขณะที่ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อมาลาเรียและเซลล์มะเร็งเต้านม สายพันธุ์ที่ให้ผลดีที่สุด คือ *Sarcographa* sp.2 เนื่องจากมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคได้หลายชนิด ได้แก่ วัณโรค, มะเร็งช่องปาก และยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* ด้วย ส่วนสายพันธุ์ *Trypethelium* sp.1 ไม่พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ทำการทดสอบ

**ISOLATION AND OPTIMIZATION OF LICHENIZED FUNGI FOR BIOACTIVE COMPOUNDS SCREENING**

VEERA SRI-INDRASUTDHI 4537271 SCEB/M

M.Sc. (ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

THESIS ADVISORS: PORNSAWAN VISOOTTIVISETH, Ph.D., PRAYAD POKETHITIYOOK, Ph.D., TIMOTHY WILLIAM FLEGEL Ph.D., SUTHEP WIYAKRUTTA, Ph.D., SOMSAK SIVICHAI, Ph.D.

**ABSTRACT**

One hundred and forty four lichens were collected from National Parks in Kanchanaburi province, Thailand. Only eight species collected from Erawan and Sri-Nakarindra National Parks were selected for further study due to proximity to the laboratory and research expediency. The experiments were set up to study the environmental factors i.e. temperature, moisture and light intensity, that affects spore discharge. Seven strains of lichenized fungi discharged spores after 12 hours, during light phase condition and at a temperature of 20/25°C. The optimum relative humidity for spore discharge was 55%.

Other experiments were performed in order to obtain the maximum conditions for growth of the three strains of lichenized fungi selected from the first experiment. The factors studied were as follows: 1) type of medium: Potato dextrose medium (PDB), Malt-yeast extract medium (MYB) and Ahmadjian's modified Lilly and Barnett medium (LBB); 2) state of medium: solid and liquid medium; 3) culturing condition: static and shaking condition and 4) temperature: 15, 20 and 25°C. The optimum growth for lichenized fungi was obtained from a MYB, liquid medium, shaking condition and temperature 25°C.

The amount of sugar used and pH change during growth of the lichenized fungi were also studied to assess the nutrition sources of the fungi. Only carbon and nitrogen sources were important for fungal growth.

In the study on screening bioactive compounds from seven out of eight selected fungi, most lichenized fungi were active against *Mycobacterium tuberculosis* and Herpes simplex virus while inactive against *Plasmodium falciparum* and human breast cancer cell lines. *Sarcographa* sp.2 was the best as it showed the activities of anti-tuberculosis, anti-fungal, anti-oral human epidermal cell cancer and anti-Herpes simplex virus while *Trypethelium* sp.1 showed no activity at all.

**KEY WORDS: BIOACTIVE COMPOUNDS / ENVIRONMENTAL FACTORS / ISOLATION / LICHENIZED FUNGI / OPTIMIZATION**

90 P. ISBN 974-04-6670-2