

Research Title Diversity of wild mushrooms and their anticandida activity from Phu Hin Rong Kla National Park in Phitsanulok

Researcher

1. Ms. Urat Pimolsri
2. Ass. Prof. Srisuda Kawayasakul
3. Ass. Prof.Dr. Uraporn Sa-ardsud
4. Ms. Aree Thongthung
5. Mr. Sittud Soypetcasem

Abstract

Candida, (*Candida albicans*) is a fungal disease which has become increasingly significant threaten in Thailand because of the opportunistic behavior towards the altered and/or compromised conditions of its host. There has been much interest in the resources of bioactive compounds for treatment fungal diseases. There are a wide range of mushrooms which regularly produce antifungals in world-wide, especially in the Asia region. Therefore, this study sought for diversity of wild mushrooms which generally grow in nature and investigated their anticandida activity. The samples of wild mushrooms were randomly collected from Phu Hin Rong Kla National Park in the Phitsanulok province during 2009. Each sample was morphologically characterized both macroscopically and microscopically to identify the genus. They were then dried at 45°C until brittle (3-7 days). The dried samples were ground with a motorized stone grinder and extracted with chloroform, ethyl acetate and methanol (25 g/L). The anticandida activity of extracts was determined by paper disc agar diffusion method using three species of *Candida* including *Candida albicans*, *C. tropicalis* and *C. krusei*. The diameter of the inhibition zone was measured and minimal inhibitory concentration (MIC) was determined using broth tube dilution. The thin layer chromatographic method was used to separate into fractions with chloroform and methanol ratio (10:1) as a mobile phase with extracted mushroom which showed the highest diameter of inhibition zone. Then the active fraction was calculated and checked its activity by bioautography method with *Candida* spp. The 69 wild mushroom samples were found and identified to 55 genus into 25 families and unidentified 3 samples. The anticandida activity of extracted mushroom samples with ethyl acetate were generally given diameter of the inhibition zone higher than the methanolic and chloroform extracts. The methanolic extract of *Polyporus* PHK 24 provided the highest of diameter of clear zone 15.0 mm. The minimal inhibitory concentration was 6.25 mg/ml. The retention factor (R_f) of active fraction was 0.56 which could inhibit the growth of three tested organism. Thus wild mushrooms vary markedly in their potency of anticandida activity. Some of these may be amenable to commercial exploration for development to medical benefits.

Keywords: Anticandida activity, Wild mushrooms, Phu Hin Rong Kla National Park

ชื่อเรื่อง ความหลากหลายทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านแคนดิดาของเห็ดป่าในอุทยานแห่งชาติ
ภูหินร่องกล้า จังหวัดพิษณุโลก

ชื่อผู้วิจัย นางอรุณี พิมพ์ศรี ลี
ผศ.ศรีสุดา กวยาสกุล
นางอารี ทองทุ่ง
นายสิทธิศักดิ์ สร้อยเพชรเกษม

ที่ปรึกษาโครงการ ผศ.ดร. อูราภรณ์ สอาดสุด

แหล่งทุนวิจัย งบประมาณแผ่นดิน พุทธศักราช 2552 มหาวิทยาลัยนเรศวร

บทคัดย่อ

Candida albicans ทำให้เกิดโรคเชื้อรา candidiasis ที่คุกคามสุขภาพของคนไทยมากขึ้น ในปัจจุบัน ดังนั้นจึงมีความสนใจในการค้นหาแหล่งสารต้านเชื้อรา เพื่อใช้ในการรักษาโรคนี้ มีเห็ดจำนวนมากหลายชนิดที่สามารถผลิตสารต้านเชื้อราได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงได้ศึกษาความหลากหลายของเห็ดป่าในอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า จังหวัดพิษณุโลก ในปี พ.ศ. 2552 และฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Candida* spp. โดยนำตัวอย่างเห็ดแต่ละชนิด ที่ได้จากการสำรวจนำมาจัดจำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ในระดับ genus แล้วนำตัวอย่างเห็ดมาทำแห้ง และมาบดด้วยเครื่องบดให้เป็นผงละเอียด จากนั้นนำผงละเอียดของเห็ดแต่ละชนิดมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ คือ chloroform , ethylacetate และ methanol ปริมาณ 25 กรัม/ลิตรของตัวทำละลาย นำสารสกัดหยาบมาศึกษาฤทธิ์ต้านแคนดิดา โดยวิธี paper disc agar diffusion โดยทดสอบกับเชื้อทดสอบ 3 ชนิดคือ *C. albicans*, *C. krusei* และ *C. tropicalis* แล้ววัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส และหาค่า MIC โดยวิธี broth tube dilution ส่วน active fraction ทำการแยกโดยวิธี TLC ด้วยอัตราส่วนสารผสมของ mobile phase คือ chloroform : methanol 10:1 (v/v) ตรวจสอบ active fraction ต่อเชื้อทดสอบ โดยวิธี Bioautography งานวิจัยครั้งนี้ สำรวจพบเห็ดป่า 69 ชนิด จัดจำแนกชนิดเป็น 55 genus จัดอยู่ใน 25 family และไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้ 3 ตัวอย่าง โดยทั่วไปฤทธิ์ต้านแคนดิดาของสารสกัดเห็ดที่สกัดด้วย ethylacetate ให้ผลลบมากกว่าการสกัดด้วย methanol และ chloroform แต่พบว่าสารสกัดหยาบของ *Polyporus* PHK 24. ที่สกัดด้วย methanol ให้ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสมากที่สุด ประมาณ 15 มิลลิเมตร มีค่า MIC เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีค่า Rf ของ active fraction ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ มีค่าเท่ากับ 0.56 จากผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเห็ดป่าบางชนิดมีศักยภาพสามารถผลิตสารต้านการเจริญของ *Candida* spp. ได้

คำสำคัญ เห็ดป่า ฤทธิ์ต้านแคนดิดา อุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า