

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญ

การพบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะต่าง ๆ ของแบคทีเรียหลาย ๆ ชนิดกำลังเป็นปัญหาใหญ่ที่ส่งผลกระทบต่อทั่วโลกในขณะนี้ ซึ่งความรุนแรงในแต่ละพื้นที่มักแตกต่างกันไป การดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียส่วนใหญ่เกิดจากการที่เชื้อแบคทีเรียมีการปรับตัวต่อยาโดยวิธีการต่าง ๆ เพื่อที่จะกำจัดหรือลดปริมาณหรือลดประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะนั้น ๆ ซึ่งการดื้อยาอาจเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติหรืออาจเกิดจากความกดดันในการใช้ยาปฏิชีวนะมากเกินไป นับตั้งแต่การค้นพบยาปฏิชีวนะตัวแรก คือ ยาเพนิซิลลิน (Penicillin) อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยจากการติดเชื้อมีมากขึ้น แต่การดื้อยาปฏิชีวนะกลับเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ปัจจุบันสามารถพบเชื้อที่ดื้อยาตั้งแต่ 3 กลุ่มขึ้นไปได้ ซึ่งที่พบบ่อย ได้แก่ ยาอะมิโนไกลโคไซด์ (Aminoglycoside) คาร์บาพีเนม (Carbapenem) เซฟาโลสปอริน (Cephalosporin) เบต้าแลคแทมที่ผสมสารต้านเอนไซม์เบตาแลคตาเมส (Beta-lactam plus beta-lactamase inhibitor) และควิโนโลน (Quinolone) ในแบคทีเรียบางชนิดทำให้เกิดโรคติดเชื้อที่รักษาไม่ได้ ซึ่งจะเพิ่มทั้งอัตราการเจ็บป่วยและอัตราการตาย ทำให้ประเทศต้องสิ้นเปลืองทั้งยาและบุคลากรทางการแพทย์ ซึ่งปัจจุบันมีปัญหาคาราคาซังของระบบสาธารณสุขหากไม่สามารถควบคุมหรือชะลอการดื้อยาได้ย่อมเหมือนการย้อนกลับไปสู่ยุคก่อนการพบยาปฏิชีวนะอีกครั้ง ทำให้เกิดปัญหากับระบบสาธารณสุขอย่างมาก จนอาจถึงกับเป็นความล้มเหลวของระบบระบบสาธารณสุขในอนาคต (World Health Organization, 2022 : 24-41) จึงมีความจำเป็นอย่างมากที่จะต้องหาแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ ๆ เพื่อแก้สถานการณ์การดื้อยานี้ ในแต่ละปีประเทศไทยต้องใช้งบประมาณจำนวนมากในการสั่งซื้อยาปฏิชีวนะจากต่างประเทศ ซึ่งยาบางชนิดอาจมีจุลินทรีย์บางชนิดเริ่มดื้อแล้ว ขณะเดียวกันปัจจุบันนี้ในสถานการณ์ระดับโลกเอง ยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ (ยาตัวใหม่ ๆ) ยังถูกค้นพบได้ในอัตราที่น้อยลงมาก (Ventola, 2015 : 277-283) จนไม่ทันต่อการต่อสู้กับเชื้อที่ดื้อยา

ส่วนในแวดวงการเกษตรก็เช่นกันพืชเศรษฐกิจอย่างทุเรียนก็พบปัญหาเชื้อก่อโรค โดยโรคที่สำคัญ คือ โรครากเน่าโคนเน่า (Root rot and Foot rot) เนื่องจากเป็นโรคที่ทำให้ต้นทุเรียนที่กำลังเจริญเติบโตและให้ผลผลิตแล้วยืนต้นตายได้ และโรคระบาดนี้ยังทำความเสียหายกับทุเรียนในทุกแหล่งปลูกของประเทศไทยด้วย ทำให้บางส่วนเป็นโรคเกือบทั้งสิ้น ซึ่งเชื้อราสาเหตุสามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกส่วน ได้แก่ ส่วนของราก ลำต้น กิ่ง ใบ และผล อีกทั้งเชื้อราอาศัยอยู่ในดินและสามารถแพร่ระบาดได้ทั้งในน้ำและในอากาศ ทำให้การแพร่ระบาดของเชื้อราเป็นไปได้อย่างรวดเร็วทำความเสียหายให้กับเกษตรกรผู้ปลูกทุเรียนอย่างมาก จึงนับว่าเป็นโรคที่สำคัญต่อการผลิตทุเรียนในการควบคุมโรคเกษตรกรส่วนใหญ่มักใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อ ซึ่งมักมีอันตรายต่อตัวเกษตรกรผู้ใช้สารเคมีและต่อสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ด้วย ขณะที่การใช้การควบคุมทางชีววิธีเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ได้รับการกล่าวถึงว่ามีความปลอดภัย จึงสมควรนำเข้ามาใช้แก้ปัญหาแทนการใช้สารเคมี โดยวิธีการ

ที่น่าสนใจวิธีหนึ่งคือการใช้เชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ ซึ่งเชื้อปฏิปักษ์อาจใช้การสร้างสารออกฤทธิ์ออกมายับยั้งเชื้อก่อโรค (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2563 : 2-3)

ด้วยเหตุนี้นักวิทยาศาสตร์ชีวภาพจึงต้องค้นหาสารออกฤทธิ์ชนิดใหม่ ๆ ที่มีฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ต่อไป แหล่งของสารออกฤทธิ์มีด้วยกันหลายแหล่งไม่ว่าจะมาจากพืชสมุนไพร ขึ้นส่วนของสัตว์ หรือแร่ธาตุต่าง ๆ หรือจากจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางเภสัชกรรม ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย เชื้อรา หรือสาหร่าย แต่การนำสารออกฤทธิ์จากพืชสมุนไพรหรือขึ้นส่วนของสัตว์มีข้อจำกัดที่ต้องใช้ตัวอย่างมาก และเพราะทั้งพืชและสัตว์มีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้าจึงไม่ง่ายที่จะนำไปผลิตในระดับใหญ่ นักวิจัยส่วนใหญ่จึงเลือกแหล่งของสารออกฤทธิ์ที่มาจากจุลินทรีย์มากกว่า เพราะมีอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เร็วกว่าสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ สามารถเพาะเลี้ยงได้ในปริมาณที่ไม่จำกัด โดยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอกติโนมัยซีท (Actinomycetes) เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจศึกษาเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีความสามารถในการสร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ได้มาก ทั้งในด้านปริมาณและจำนวนชนิดของสาร สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมินี้โดยปกติเป็นสารที่ไม่จำเป็นต่อการเจริญหรือการแพร่พันธุ์ของจุลินทรีย์ โดยสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมินี้มักเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compound) คือมีฤทธิ์ต่าง ๆ ได้แก่ ฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial) ฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Anticancer) ฤทธิ์ต้านเนื้องอก (Antitumor) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-Inflammatory) หรือแม้แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เป็นต้น แอกติโนมัยซีทมีการกระจายอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ ส่วนใหญ่มักพบในดินซึ่งประมาณการกันว่าในดินที่อุดมสมบูรณ์ 1 กรัม สามารถพบแอกติโนมัยซีทได้มากกว่า 1 ล้านเซลล์ โดยเชื่อนี้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ด้วยการดูดซึมสารอินทรีย์ปริมาณเพียงเล็กน้อยในดินนั้น ๆ และยังพบได้ในระบบนิเวศอื่น ๆ ได้อีก เช่น ในดินรอบรากพืชซึ่งเรียกว่าไรโซสเฟียร์ แอกติโนมัยซีท หรือแอกติโนมัยซีทในตะกอนดิน แอกติโนมัยซีทในแหล่งน้ำจืด แอกติโนมัยซีทในน้ำทะเล แอกติโนมัยซีทในสัตว์ แอกติโนมัยซีทในถ้ำ และนอกจากนี้ยังสามารถพบแอกติโนมัยซีทบางกลุ่มที่สามารถเจริญได้ภายในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของพืชโดยพบได้จากส่วนของราก เหง้า (ลำต้นใต้ดิน) ต้น และใบ หรือแม้แต่ในส่วนของผล เรียกเชื้อแอกติโนมัยซีทที่พบในเนื้อเยื่อของพืชว่า เอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีท (Endophytic actinomycetes) ซึ่งสามารถคัดแยกให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ได้และเชื้อกลุ่มนี้ก็สามารถสร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่มีประโยชน์ด้วย (พงศรัวี นิมน้อย, 2558 : 8-27)

จากอดีตจนถึงปัจจุบันมีรายงานการศึกษาแอกติโนมัยซีทในดินอย่างแพร่หลาย ทั้งด้านความหลากหลาย ด้านสัณฐานวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมี ซึ่งยากที่จะได้เชื้อชนิดใหม่ หรือสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิชนิดใหม่ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทในพืชท้องถิ่นแทนเชื้อแอกติโนมัยซีทในดิน ซึ่งทุเรียนเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในจังหวัดจันทบุรี ทั้งนี้ทุเรียนส่วนใหญ่ที่พบนั้นเป็นพันธุ์เศรษฐกิจที่นิยมปลูกกันเพราะให้ผลผลิตที่ดี ราคาสูง แต่ในจังหวัดจันทบุรียังมีทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองในพื้นที่ได้เช่นกัน และด้วยลักษณะเด่นของทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองที่ความแข็งแรง สามารถทนโรค สภาพอากาศ ตลอดจนทนต่อศัตรูพืช อีกทั้งยังมีอายุยืน ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของพันธุ์พื้นเมืองและจากการศึกษารายงานการคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทจากพืชนั้นยังมีผู้ที่สนใจคัดแยกเชื้อจากทุเรียนไม่มากนัก ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะคัดแยกเชื้อเอนโดไฟติก

แอกติโนมัยซีทจากทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดจันทบุรีที่อาจมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้งในมนุษย์และในทุเรียนได้

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทจากทุเรียนพันธุ์พื้นเมือง จังหวัดจันทบุรี
2. เพื่อคัดกรองเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้
3. เพื่อระบุชนิดของเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้

### ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยนี้ทำการแยกและคัดกรองเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทจากทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ พันธุ์นกหยิบ พันธุ์กระปุกทองดี และพันธุ์พวงมณี โดยแยกจากส่วนของใบ กิ่ง และราก ด้วยวิธี Surface sterile จากนั้นนำเชื้อที่แยกได้ทั้งหมดมาทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบที่ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus cereus* TISTR 2372, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 28753 และเชื้อราไฟทอปธอรา (*Phytophthora* sp.) ที่แยกได้จากทุเรียนจำนวน 3 สายพันธุ์ คือ R01, M01 และ L04 จากนั้นเลือกไอโซเลทที่มีฤทธิ์ดีที่สุด (ยับยั้งแบคทีเรีย) จำนวน 1 ไอโซเลท มาทำการเพิ่มจำนวนและสกัดสารสกัดหยาบ แล้วนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญและฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่ถูกยับยั้งข้างต้น ส่วนเชื้อแอกติโนมัยซีทที่ยับยั้งเชื้อราไฟทอปธอราเลือกไอโซเลทที่มีฤทธิ์ดีที่สุดนำไปทดสอบกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของเชื้อราไฟทอปธอราโดยการสร้างสารระเหยของเชื้อแอกติโนมัยซีทด้วยวิธีการประกบจานเพาะเชื้อ การยับยั้งเชื้อราไฟทอปธอราด้วยสปอร์ที่มีชีวิตของเชื้อแอกติโนมัยซีท การผลิตเอนไซม์ Cellulase ของเชื้อแอกติโนมัยซีท และทำการระบุชนิดของเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้งด้านสัณฐานวิทยาและอนุชีววิทยาจำนวนอย่างน้อย 1 ไอโซเลท

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

### ประโยชน์ของการวิจัย

1. นำผลที่ได้จากงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ในเชิงวิชาการ โดยการให้บริการวิชาการและการพัฒนารูปแบบการจัดการเรียนการสอนในรายวิชาแบคทีเรียวิทยา จุลชีววิทยาทางการแพทย์ และจุลชีววิทยาทั่วไป
2. สามารถแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อของต้นทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองในจังหวัดจันทบุรี ที่มีคุณสมบัติในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้หรือ

ศึกษาต่อในด้านต่าง ๆ เช่น การนำไปทดสอบด้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในพืชเศรษฐกิจของจังหวัด จันทบุรี เช่น ทุเรียน และอาจนำไปพัฒนาเป็นหัวเชื้อแบคทีเรียควบคุมเชื้อก่อโรคในพืชหรือสัตว์ เศรษฐกิจในอนาคตได้

3. ได้บทความวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติ ที่อยู่ในฐานข้อมูล Thai-Journal Citation Index (TCI) หรือบทความสืบเนื่อง (Proceeding) จากการประชุมสัมมนาทางวิชาการระดับชาติอย่างน้อย 1 เรื่อง

### นิยามศัพท์เฉพาะ

1. เอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีท (Endophytic actinomycete) คือ แบคทีเรียกลุ่มแอกติโนมัยซีท ที่สามารถดำรงชีวิตได้ในเนื้อเยื่อพืชที่ยังมีชีวิตอยู่โดยไม่ก่อโรค

2. สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary metabolites) คือ สารที่ไม่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต หรือการแพร่พันธุ์ของจุลินทรีย์ โดยสารนี้มักเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compound) โดยมีฤทธิ์ต่าง ๆ ได้แก่ ต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial) ต้านมะเร็ง (Anticancer) ต้านเนื้องอก (Antitumor) ต้านการอักเสบ (Anti-Inflammatory) หรือแม้แต่ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เป็นต้น

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี