

1. บทนำ

ป่าชายเลนเป็นแหล่งของทรัพยากรจุลินทรีย์ที่สำคัญ ซึ่งนอกจากจะทำหน้าที่ผู้ย่อยสลายอินทรีย์สารแล้วยังมีจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ทั้งรา แบคทีเรีย และแอคติโนมัยซีท โดยเฉพาะอย่างยิ่งราที่เป็นเอ็นโดไฟท์และแอคติโนมัยซีท เพราะเป็นจุลินทรีย์ที่หลายรายงานพบว่าเป็นแหล่งของการสร้างสารแอนติไบโอติกหลายชนิดและชนิดที่แยกได้จากบริเวณรากพืชชายเลนยังไม่มีการศึกษามากนักในประเทศไทย การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสร้างสารแอนติไบโอติกจากจุลินทรีย์เหล่านี้ ก็เป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญของการมีโอกาสดค้นพบสารชนิดใหม่ ๆ เนื่องจากถ้าอาหารหรือสภาวะในการเลี้ยงไม่เหมาะสมสารที่สร้างขึ้นอาจมีปริมาณน้อยเกินไปจนไม่สามารถตรวจพบ ทำให้พลาดที่จะได้พบสารชนิดใหม่ ๆ ที่มีประสิทธิภาพที่ดีในการออกฤทธิ์ยับยั้ง นอกจากนี้พื้นที่ของป่าชายเลนเป็นบริเวณที่มีการเชื่อมต่อกับทะเล ดังนั้นสิ่งแวดล้อมของทั้งราเอ็นโดไฟท์ และแอคติโนมัยซีทที่อาศัยอยู่ ณ บริเวณนี้จึง ต้องเป็นชนิดที่มีการปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมที่ยากลำบากหลายประการ ไม่ว่าจะเป็นความแห้งแล้งและอุณหภูมิสูงเวลาที่น้ำลง และเวลาที่มีความชื้นสูงและอุณหภูมิที่ต่ำลงในชวงเวลาน้ำขึ้น ซึ่งมีผลต่อการสร้างสารเมตาโบไลต์ต่าง ๆ ไม่มากนักน้อย และทั้งราเอ็นโดไฟท์ ของพืชป่าชายเลนก็มีความหลากหลายของชนิด โดยเฉพาะที่ได้จากต้นโกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*) Ananda and Sridhar (2002) และแอคติโนมัยซีท บริเวณป่าชายเลนก็มีรายงานว่ามักจะเป็นแหล่งที่อยู่ของแอคติโนมัยซีทใหม่ ๆ และมีชนิดที่สามารถสร้างสารไบโอแอคทีฟที่หลากหลายชนิดจำนวนมาก (รัตนภรณ์, 2541; Hong et al, 2007; Srivibool and Sukchotiratana, 2006) ซึ่งหากได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสร้างสารเหล่านี้ก็จะทำให้มีโอกาสที่จะได้สารใหม่ ๆ มากขึ้นตามไปด้วย

ราเอ็นโดไฟท์เป็นราที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืช และสามารถเจริญได้ดีโดยไม่ทำให้เกิดโรคหรือการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่ผิดปกติแก่พืชชนิดนั้น ๆ (Petriani, 1991) สามารถพบราเอ็นโดไฟท์ได้ในพืชตระกูลต่างๆ เป็นจำนวนมาก และพบว่ารากลุ่มนี้มีความสำคัญต่อพืชที่อาศัยอยู่ทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยจะช่วยเพิ่มความสามารถในการต้านทานศัตรูพืชต่างๆ เพิ่มความแข็งแรงและทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ได้ดีกว่าพืชที่ไม่มีเอ็นโดไฟท์อาศัยอยู่ ทั้งยังมีอิทธิพลต่อความหลากหลายทางชีวภาพหรือพืชกลุ่มนั้น ๆ ด้วย ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ต่อการเกษตรกรรมและพืชเศรษฐกิจ (Saikkonen, 2007) จึงมีการศึกษาวิจัยราเอ็นโดไฟท์กันอย่างกว้างขวาง มีรายงานว่าราเอ็นโดไฟท์สามารถผลิตเอนไซม์ที่จำเป็น สำหรับอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืช นอกจากนี้ยังพบว่าราเอ็นโดไฟท์จากพืชต่าง ๆ สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ชีวภาพต้านจุลินทรีย์หลายชนิด รวมทั้งด้านราที่เป็นสาเหตุโรคพืช (Park et al., 2005; Xu et al., 2009; Chaeprasert et al., 2010)

ส่วนแอคติโนมัยซีทก็เป็นแหล่งของการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายชนิด จากการสำรวจรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ และสารแอนติไบโอติก ของ Lazzarini et al (2000) พบว่า ในจำนวนสารแอนติไบโอติกที่มีอยู่ในปัจจุบันประมาณกว่า 8000 ชนิดนั้น พบว่ามากกว่า 60% ถูกสร้างมาจากแอคติโนมัยซีท โดยที่เป็นสารที่ *Streptomyces* สร้างขึ้น 45.6% และอีกประมาณ 16% สร้างได้จากแอคติโนมัยซีทที่หายาก และสารแอนติไบโอติกที่สร้าง

นั้นส่วนใหญ่สร้างมาจากแอสโคดิโนไมซีทใน Family *Streptomyceaceae* รองลงมาได้แก่ *Micromonosporaceae*, *Pseudonocardiaceae*, *Nocardiaceae* และ *Streptosporangiaceae* ตามลำดับ และจาก หลาย ๆ รายงานได้แสดงให้เห็นว่า แอสโคดิโนไมซีทมีการแพร่กระจายโดยทั่วไปในตะกอนของทะเลชายฝั่ง รวมไปถึงสิ่งแวดล้อมทางทะเลอื่น ๆ และตะกอนก้นทะเลเล็ก ๆ ด้วย (Ghanem et al., 2000; Pathom-aree, et al. 2006; Bull, et al. 2005; Maldonado, et al., 2005; Bredholdt, et al. 2007, Bredholdt, et al. 2008). นับว่าแอสโคดิโนไมซีทก็เป็นแบคทีเรียอีกกลุ่มหนึ่งที่มีความน่าสนใจ ในการค้นหาสารออกฤทธิ์ชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในป่าชายเลนเขตร้อนของประเทศไทย

ประเทศไทยเป็นประเทศเป็นประเทศเขตร้อน ที่มักประสบปัญหาโรคในพืชเศรษฐกิจ และราจัดเป็นสาเหตุที่สำคัญที่ทำให้ความเสียหายให้แก่พืชผลมากที่สุด มีรายงานว่ามียารักษาโรคราไม่ต่ำกว่า 8,000 ชนิดที่เป็นสาเหตุโรครา และมีพืชชั้นสูงรวมถึงพืชผลทางการเกษตรเกิดโรคเนื่องจากราไม่น้อยกว่า 100,000 โรค รากลุ่มอะนาโมอร์ฟเป็นรากลุ่มหนึ่งที่มีรายงานการเป็นสาเหตุโรคราในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ทั้งในประเทศและต่างประเทศทั่วโลก เช่น *Colletotrichum* spp. เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกโนส *Fusarium* spp. สาเหตุโรคน้ำและโรคเหี่ยว *Alternaria* spp. ก่อโรคใบจุดดำในพืชตระกูลกะหล่ำ (Menzies et al., 1990; Zulfiqar et al., 1996; Adaskaveg and Hartin, 1997; Intana et al., 2005; Muto et al., 2006; Srinon et al., 2006) โรคราเหล่านี้ทำความเสียหายทั้งปริมาณและคุณภาพของผลผลิตเป็นอย่างมาก ส่งผลให้ผลผลิตที่ได้มีจำนวนน้อยไม่คุ้มกับการลงทุน และต้องมีการใช้สารเคมีเพื่อป้องกันเชื้อราก่อโรคเหล่านี้ ซึ่งสารเคมีที่ใช้อาจส่งผลเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ต่อมนุษย์และสัตว์ (นิตยา โนคำ, 2552)

การควบคุมโรคราทางชีววิธี เป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ควบคุมโรคราได้ และปลอดภัยกว่าการใช้สารเคมี ซึ่งอาจทำได้โดยใช้ราที่ไม่ก่อโรคในการควบคุมราปรสิตที่เป็นสาเหตุของโรคราโดยตรง หรืออาจใช้สารก่อฤทธิ์ที่สกัดจากอาหารเลี้ยงเชื้อทำลายราที่เป็นสาเหตุโรครา (Hostettmann and Marston, 1994; Intana et al., 2005; Xie et al., 2008) การใช้สารสกัดจากราในการยับยั้งราที่เป็นสาเหตุโรครา (antifungal activity) มีรายงานไว้ไม่น้อยมากเมื่อเทียบกับวิธีแรกแต่ในระยะ 10 ปีที่ผ่านมาเริ่มมีความสนใจกันมากขึ้น เนื่องจากพบว่าราเอ็นโดไฟท์ สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญราสาเหตุโรคราได้หลายชนิด (Park et al., 2005)

จากการสังเกตและการศึกษาเบื้องต้นของผู้วิจัยพบว่าความสามารถของราเอ็นโดไฟท์ ในการสร้างสารออกฤทธิ์ชีวภาพแตกต่างกัน แม้ในราสายพันธุ์เดียวกันที่เลี้ยงไม่พร้อมกันหรือเลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อชนิดและความเค็มอาหารเลี้ยงเชื้อต่างกัน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์หลัก เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ที่มีต่อความสามารถของราเอ็นโดไฟท์จากพืชชายเลนในการสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครา โดยใช้ราสาเหตุโรครา 3 ชนิดคือ *Alternaria brassicicola*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Fusarium oxysporum* เป็นตัวแทนราที่นำมาทดสอบในการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสร้างสารแอนติไบโอติกของราเอ็นโดไฟท์ และของแอสโคดิโนไมซีท ที่แยกได้จากบริเวณรากพืชป่าชายเลน เพื่อจะได้สามารถเลี้ยงเชื้อรา หรือเชื้อแอสโคดิโนไมซีท ที่สร้างสารแอนติไบโอติกได้ ให้มีการสร้างในปริมาณมากเพื่อจะได้มีสารในปริมาณที่เพียงพอต่อการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ