

รายงานผลการวิจัยฉบับบทสรุปสำหรับผู้บริหาร  
หมวดเงินอุดหนุนทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ปีงบประมาณ 2554

เรื่อง

การศึกษาเชื้อแอคติโนมัยสีทในดินบริเวณเขื่อนสิรินธรและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เชื้อผลิต

A study of actinomycetes from the soil at Sirindhorn dam's conservation  
area and their biological active substances

โดย

ผศ. ดร. เสาวนิต ทองพิมพ์

รศ. งามนิจ นนทโส

ดร. พลสัมพันธ์ มหาจันทร์

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

แอคติโนมัยสีทเป็นเชื้อแบคทีเรียกลุ่มใหญ่ที่มีความหลากหลายของสมาชิกในกลุ่ม โดยส่วนใหญ่มีความสามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคต่างๆ ได้ โดยมีรายงานว่าดินในเขตที่ภูมิอากาศร้อน มีจำนวนแอคติโนมัยสีทมากกว่าดินในเขตอบอุ่น (Alexander, 1961) ดังนั้นประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นและมีความหลากหลายทางชีวภาพสูงนั้น จึงน่าที่จะมีจุลินทรีย์ในกลุ่มแอคติโนมัยสีทกระจายอยู่ทั่วไป ตามสภาพนิเวศวิทยาที่ต่างๆ กัน ประเทศไทยมีระบบนิเวศที่มีความหลากหลาย โดยเฉพาะระบบนิเวศของป่าที่เป็นระบบนิเวศที่มีความซับซ้อน อุดมสมบูรณ์ และมีการพัฒนาไปจนถึงจุดสมดุล ระบบนิเวศของป่าเป็นที่รวมของความหลากหลายทางชีวภาพ ทั้งความหลากหลายของชนิด และความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ซึ่งเป็นผู้ย่อยสลายอินทรีย์สารที่สำคัญ ทำให้มีการหมุนเวียนของแร่ธาตุต่างๆ (สำนักวิชาการป่าไม้, 2539)

ประเทศไทยมีการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อแอคติโนมัยสีทค่อนข้างน้อย ดังนั้น จึงเป็นที่น่าสนใจในการค้นหาจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ซึ่งได้แก่กลุ่ม streptomycetes และกลุ่มที่เป็น non-streptomycetes ซึ่งจัดเป็นกลุ่มแอคติโนมัยสีทที่หายาก โดยส่วนของพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในพระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนสุตา สยามบรมราชกุมารี บริเวณเขื่อนสิรินธร จังหวัดอุบลราชธานี ยังไม่ได้มีการศึกษาถึงความหลากหลายของเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยสีท ดังนั้นการแยกหาเชื้อและศึกษาถึงความหลากหลายของแอคติโนมัยสีทจากดินในบริเวณดังกล่าวอาจทำให้ได้สายพันธุ์ต่างๆ ที่อาจรวมถึงสายพันธุ์หายากเพื่อนำมาศึกษาหาสายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ที่ก่อโรคในคน สัตว์ และพืชได้ เมื่อได้สารที่มีประสิทธิภาพดีก็จะได้มีการศึกษาสูตร

โครงสร้างของสารออกฤทธิ์นั้นเพื่อหาทางพัฒนานำไปใช้ประโยชน์ต่อ ซึ่งเชื้อแอคติโนมัยสีทจะเป็นแหล่งที่สำคัญสำหรับการค้นหาสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆ ต่อไป

### วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อแยกหาและศึกษาชนิดของเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินในเขตพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในพระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนสุดา สยามบรมราชกุมารี (อพสธ.) เขื่อนสิรินธร จังหวัดอุบลราชธานี และตรวจสอบความสามารถของเชื้อที่แยกได้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในคน สัตว์และพืช

### วิธีดำเนินการวิจัย

แยกหาเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินในเขตพื้นที่โครงการอพ.สธ. เขื่อนสิรินธร จังหวัดอุบลราชธานี ศึกษาจำแนกชนิดเชื้อโดยอาศัยคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา องค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ ทดสอบความสามารถของเชื้อที่แยกได้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคของคน สัตว์ และพืช

### ผลการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างดิน 81 ตัวอย่าง จากบริเวณพื้นที่ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนสุดา สยามบรมราชกุมารี (อพ. สธ.) เขื่อนสิรินธร จากการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของดิน พบปริมาณความชื้นในตัวอย่างดินสูงสุด 20.88%ในเดือนกันยายน และต่ำสุด 4.06%ในเดือนมกราคม ค่าพีเอชของตัวอย่างดินในการเก็บตัวอย่างดินทั้ง 4 ครั้งมีสถานะเป็นกรดอ่อน (pH 5.75-5.92) และอุณหภูมิเฉลี่ยของตัวอย่างดินของการเก็บทั้ง 4 ครั้ง มีค่าอยู่ระหว่าง 22.80-28.63 องศาเซลเซียส

ทำการแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ทั้งหมด 129 ไอโซเลท เมื่อทดสอบความสามารถของเชื้อแอคติโนมัยสีทในการยับยั้งเชื้อก่อโรคโดยใช้วิธี perpendicular streak และ dual culture พบ 93 ไอโซเลท (72%) จากทั้งหมด 129 ไอโซเลทสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ใช้ทดสอบได้อย่างน้อย 1 ชนิด โดยพบว่าในการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราสาเหตุโรคพืช พบว่า 18 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สายพันธุ์ AacCU, 16 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สายพันธุ์ AacWS, 18 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สายพันธุ์ AacSK, 25 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Xcv), 33 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ RsT, 34 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ Rs P, 40 ไอโซเลทยับยั้งเชื้อ *Sclerotium rolfsii*, 71 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum capsici*, 63 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides*, 41 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporum* และในการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราสาเหตุโรคคน สัตว์ พบว่า 21 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Candida albicans*, 16 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), 26 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, 20 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus agalactiae*, 2 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*, 11 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila*, 4 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*, 6 ไอโซเลท ยับยั้งเชื้อ *Salmonella enteritica* serovar Typhimurium

จากนั้นได้คัดเลือกไอโซเลทของแอกติโนมัยสีทที่มีประสิทธิภาพสูงจำนวน 15 ไอโซเลท ได้แก่ S13, S15, S19, S23, S24, S34, S36, S53, S80, S80, S83, S84, S111 และ S113 มาจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับองค์ประกอบเคมีของเซลล์ พบ 9 ไอโซเลท ได้แก่ S15, S24, S27, S36, S53, S85, S111 และ S113 มีชนิดของ DAP เป็น LL-DAP และมีลักษณะของสายโซ่สปอร์ 3 กลุ่ม ได้แก่ rectiflexibles, retinaculiaperti และ spirales ซึ่งคุณลักษณะดังกล่าวตรงกับเชื้อแอกติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* และ 5 ไอโซเลท ได้แก่ S13, S19, S23, S34 และ S80 เป็นแบบ Meso-DAP จึงจัดอยู่ในกลุ่ม non-*Streptomyces*

#### ข้อเสนอแนะการวิจัย

เชื้อแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จากงานวิจัยนี้ ควรเลือกเชื้อที่มีศักยภาพสูงในการยับยั้งเชื้อก่อโรคเพื่อนำไปศึกษาต่อในทางลึกต่อไป เช่น ศึกษาชนิดของสารปฏิชีวนะที่เชื้อสร้างออกมา ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสารปฏิชีวนะ รวมถึงการระบุชนิดของเชื้อถึงระดับสปีชีส์ด้วย