

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ราเอนโคไฟท์เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชที่ยังมีชีวิตแบบภาวะพึ่งพากัน (Saikkonen, Wäli, Helander, & Faeth. 2004) โดยไม่เป็นสาเหตุของโรคพืชและไม่ส่งผลกระทบต่อด้านลบต่อพืช ราเอนโคไฟท์ได้สารอาหารจากพืช และพืชก็ได้รับการปกป้องจากราเอนโคไฟท์ โดยการสร้างสารต้านจุลินทรีย์ ไวรัส และ เมลลง ราเอนโคไฟท์ยังส่งเสริมการเจริญของพืชและการแข่งขันของพืชในธรรมชาติ (Park et al., 2003) ราเอนโคไฟท์สามารถพบได้ในพืชหลายชนิด เช่น หญา (Saikkonen et al., 2004) พืชเขตร้อน (Gao, Dai, & Liu, 2010) และพืชชายเลน (Kumaresan & Suryanarayanan. 2001) เป็นต้น ในพืชหนึ่งชนิดสามารถพบราเอนโคไฟท์ได้หนึ่งชนิดจนถึงมากกว่าหนึ่งชนิดและราเอนโคไฟท์แต่ละชนิดสามารถพบได้ในพืชหลายชนิดขึ้นอยู่กับความจำเพาะในการเจริญ (Kumaresan & Suryanarayanan, 2001) ราเอนโคไฟท์จากพืชชายเลนเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญกลุ่มหนึ่ง มีรายงานว่าราเอนโคไฟท์จากพืชชายเลนเป็นแหล่งของสารก่อฤทธิ์ชีวภาพใหม่ ๆ (Maria, Sridhar, & Raviraja, 2005) ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร การแพทย์ อุตสาหกรรมและสิ่งแวดล้อม (Xiaoling et al., 2010)

ด้านเกษตรกรรมมีการนำสารก่อฤทธิ์ชีวภาพจากราเอนโคไฟท์มาใช้ประโยชน์ในการเป็นสารต้านราสาเหตุโรคพืช ซึ่งราสาเหตุโรคพืชเป็นสาเหตุของความเสียหายในพืชผลทางการเกษตรที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของทุกประเทศทั่วโลก (Rabea & Steurbaut, 2010) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภูมิภาคเขตร้อนและเขตอบอุ่น ราสาเหตุโรคพืชที่ส่งผลกระทบต่อพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส โรคใบไหม้ และโรคเน่าดำในพืชผลหลายชนิด (Prapagdee, Kuekulvong, & Mongkolsuk, 2008) *Fusarium oxysporum* เป็นสาเหตุของโรคใบและลำต้นเหี่ยวในพืช ส่วนใหญ่พบได้ในพืชผักและพืชดอก เช่น ฝ้าย ยาสูบ ถั่วลิสง กาแฟ ขิง และถั่วเหลือง เป็นต้น (Kavanagh, 2005) *Alternaria brassicicola* เป็นสาเหตุของโรคจุดสีดำพบมากที่ส่วนใบและดอกในพืชตระกูลกะหล่ำ (Meena, Awasthi, Chattopadhyay, Kolte, & Kuman, 2010) *Pestalotiopsis* sp. เป็นสาเหตุของโรคใบไหม้ในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น มะม่วง มะพร้าว ข้าว และชา เป็นต้น (Joshi, SanJay, Baby, & Mandal, 2009) ในอดีตการควบคุมราสาเหตุโรคพืชที่นิยมนำมาใช้คือการใส่สารต้านราสังเคราะห์เนื่องจากมีราคาถูก (Liu, Zou, Lu, & Tan, 2001) แต่การใช้สารต้านราสังเคราะห์อย่างต่อเนื่องในการควบคุม

ราสาเหตุโรคพืชก่อให้เกิดการสะสมสารพิษจากสารต้านรา ทำให้ส่งผลเสียต่อคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงมีการค้นหาสารต้านราจากราเอนโดไฟท์พืชชายเลนที่มีความปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมาทดแทนสารต้านราสังเคราะห์ (Strobel, 2003) ตัวอย่างสารต้านราจากราเอนโดไฟท์พืชชายเลน ได้แก่ สารสกัดจากสารราเอนโดไฟท์ *Phomopsis* sp. ZSU-H76 คัดแยกจากพืชชายเลนมีฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans* และ *F. oxysporum* โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 32-64 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางเคมีแยกสารประกอบได้ 2 สาร ดังนี้ cytosporone B และ C (Huang et al., 2008) และสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ *Aspergillus niger* MA-132 คัดแยกจากแสมทะเล (*Avicennia marina*) มีฤทธิ์ยับยั้งราสาเหตุโรคพืช *Alternaria brassicae*, *F. oxysporum*, *Coniella diplodiella* และ *Physalospora piricola* เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางเคมีแยกสารประกอบได้นigerapyrones A-H ที่เป็นอนุพันธ์ของ α -Pyrone (Liu et al., 2011) เป็นต้น

ประโยชน์ในการแพทย์มีการนำสารก่อฤทธิ์ชีวภาพจากราเอนโดไฟท์มาใช้เป็นยาปฏิชีวนะในการรักษาและควบคุมจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุข จุลินทรีย์เหล่านี้ ได้แก่ *C. albicans*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ซึ่ง *C. albicans* เป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นในช่องปาก ระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินปัสสาวะ และช่องคลอด แต่จะก่อให้เกิดโรคได้รุนแรงในผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันต่ำ (Ferreira et al., 2010) *B. cereus* เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคในคน สามารถติดเชื้อในระบบต่างๆ ได้ และเป็นพิษร้ายแรงในโรคระบาดสัตว์บางชนิด อีกทั้งสร้างความเสียหายในอาหาร (Didelot, Barker, Falush, & Priest, 2009) *E. coli* เป็นสาเหตุของโรคที่หลากหลายในคน เช่น ระบบทางเดินอาหาร การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองในเด็กแรกเกิด และโลหิตเป็นพิษ เป็นต้น อีกทั้งยังก่อให้เกิดโรคในสัตว์ได้ (Moriel et al., 2010) *S. aureus* เป็นแบคทีเรียที่สำคัญทางการแพทย์ สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อกับทุก ๆ บริเวณของร่างกาย การติดเชื้อที่ผิวหนัง และการติดเชื้อในกระแสเลือดรุนแรง (Greenwood, Slack, Peutherer, & Barer, 2007) *Salmonella* เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรค salmonellosis โรคนี้แพร่หลายมากในทั่วโลกพบได้ในแอฟริกา เอเชีย และอเมริกาใต้ บริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบว่ามีความเสี่ยงสูงสุด (Zhang, Jeza, & Pan, 2008) พบว่าจุลินทรีย์หลายชนิดคือตัวยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษา ทำให้การใช้ยาปฏิชีวนะชนิดเดิมรักษาไม่ได้ประสิทธิภาพ จึงต้องมีการค้นหาสารชนิดใหม่ๆ จากแหล่งใหม่ๆ เพื่อนำมารักษาและควบคุมจุลินทรีย์ดังที่กล่าว ตัวอย่างสารปฏิชีวนะจากราเอนโดไฟท์พืชชายเลนที่มีรายงาน ได้แก่ สารสกัดจากราเอนโดไฟท์ *Aspergillus niger* MA-132 ที่คัดแยกจากดินแสมทะเล (*Avicennia marina*) มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* และ *E. coli* เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางเคมีแยกสารประกอบได้นigerapyrones A-I1 ที่เป็นอนุพันธ์ของ α -Pyrone (Liu et al., 2011) สารสกัดจากราเอนโดไฟท์

Talaromyces sp. ZH-154 คัดแยกได้จากต้นรังกะเท้ (*Kandelia candel* (L.) Druce) ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ATCC 27154, *E. coli* ATCC 25922, *Sarcina ventriculi* ATCC 29068, *P. aeruginosa* ATCC 25668 และ *C. albicans* ATCC 10231 (Lin et al., 2009) เป็นต้น

ในปัจจุบันรายงานการศึกษาศาสตร์ก่อฤทธิ์ชีวภาพที่ได้จากราเอนโดไฟท์พืชชายเลนทั้งในต่างประเทศและในประเทศไทยยังมีไม่มาก (Tan & Zou, 2001; Strobel, 2003; Herre et al., 2007; Guo, Wang, Sun, & Lang, 2008; Gao et al., 2010) ขณะที่ประเทศไทยเป็นแหล่งของพืชชายเลนที่อุดมสมบูรณ์ การศึกษาวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของสารก่อฤทธิ์ชีวภาพจากราเอนโดไฟท์จากพืชชายเลนในการยับยั้งการเจริญราสาเหตุโรคพืช รวมถึงความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุข ตลอดจนคัดเลือกราเอนโดไฟท์จากพืชชายเลนที่สร้างสารก่อฤทธิ์ชีวภาพที่มีประสิทธิภาพไว้เพื่อศึกษาและพัฒนาต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาความสามารถของราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบพืชชายเลนในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชและจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุข
2. ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบพืชชายเลนในการยับยั้งการเจริญราสาเหตุโรคพืชและจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุข
3. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์โดยวิธี thin-layer chromatography

สมมติฐานของการวิจัย

สารก่อฤทธิ์ชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบพืชชายเลนมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชและจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุขได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

สามารถคัดเลือกราเอนโดไฟท์จากพืชชายเลนที่สามารถสร้างสารยับยั้งราสาเหตุโรคพืช หรือสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุขได้อย่างมีประสิทธิภาพไว้เพื่อศึกษาและพัฒนา

ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษานี้เริ่มจากการคัดเลือกรากเนโคไฟท์ของพืชหายากที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช *A. brassicicola* DOAC 0436, *C. capsici* DOAC 1511, *C. gloeosporioides* DOAC 0782, *F. oxysporum* DOAC 1808 และ *Pestalotiopsis* sp. DOAC 1098 ด้วยวิธี dual culture นำรากเนโคไฟท์ที่ให้ผลยับยั้งมาศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งโดยคำนวณค่าร้อยละการยับยั้งและเลือกรากเนโคไฟท์ที่ให้ค่าร้อยละการยับยั้งตั้งแต่ระดับปานกลางขึ้นไปเลี้ยงในอาหารเหลวและนำอาหารที่กรองได้หลังจากเลี้ยงรามาสกัดด้วย เอทิลอะซิเตต เฮกเซน และเอทานอล หลังจากทำให้แห้ง นำสารสกัดมาทำการทดสอบฤทธิ์ และประสิทธิภาพการยับยั้งราสาเหตุโรคพืชทั้ง 5 สายพันธุ์และยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุข 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. cereus* TISTR 121, *E. coli* ATCC 25922, *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. aureus* ATCC 25923, *C. albicans* ATCC 90028 และ *C. albicans* ATCC 10231 ด้วยวิธี disc diffusion สารสกัดที่มีประสิทธิภาพยับยั้งดีจะนำมาแยกองค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี Thin-layer Chromatography (TLC) และนำแถบขององค์ประกอบเคมีของสารที่แยกได้มาทดสอบการยับยั้งราสาเหตุโรคพืชและจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุขชนิดเดิมโดยวิธี autobioassays