



KKU SCIENCE JOURNAL

Journal Home Page : <https://ph01.tci-thaijo.org/index.php/KKUSciJ>

Published by the Faculty of Science, Khon Kaen University, Thailand



การทดสอบเบื้องต้นถึงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของเชื้อ *Streptomyces* sp. SR1301 ที่แยกได้จากดินในพื้นที่ปกป้องทรัพยากร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี Preliminary Test of Antibacterial Activities in *Streptomyces* sp. SR1301 Isolated from Soil in the Resource Protected Area, Rambhai Barni Rajabhat University

วิญญู ภูักดี^{1*} และ จิรภัทร จันทมาลี¹Winyou Puckdee^{1*} and Jirapat Chanthamalee¹¹สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี 22000¹Division of Microbiology, Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University, Chanthaburi, 22000, Thailand

บทคัดย่อ

เชื้อแอคติโนมัยซีทสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ได้หลายชนิด หนึ่งในนั้นคือสารกลุ่มที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับเป็นยาปฏิชีวนะ แต่ปัจจุบันพบปัญหาการดื้อยาของเชื้อก่อโรคต่าง ๆ ที่ส่งผลกระทบต่อทั่วโลก ในขณะที่สถานการณ์ของการผลิตยาพบว่า การค้นพบยาชนิดใหม่มีอัตราที่น้อยลงมาก ซึ่งไม่ทันต่อความต้องการใช้งาน ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้จึงทำเพื่อแยกเชื้อกลุ่มแอคติโนมัยซีทจากดินในพื้นที่ปกป้องทรัพยากร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด และทำการระบุชนิดของเชื้อแอคติโนมัยซีทนั้น วิธีการศึกษาประกอบด้วย การแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินด้วยการเจือจางและการเกลี่ยเชื้อลงบนอาหาร humic acid vitamin (HV) agar จากนั้นทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์เบื้องต้นด้วยวิธีการขีดขวางและเลือกแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ดีที่สุดสำหรับสกัดสารสกัดหยาบเพื่อใช้หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธี broth microdilution และการเกลี่ยเชื้อ จากนั้นทำการระบุชนิดของแอคติโนมัยซีทด้วยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ผลการวิจัยพบว่าสามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทได้ทั้งหมด 39 ไอโซเลท โดยมีเชื้อ 4 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 2372 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ได้มีระยะยับยั้งอยู่ในช่วง 11.30 - 28.50 mm โดยเชื้อไอโซเลท SR1301 ยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองได้ดีที่สุด มีระยะยับยั้งเท่ากับ 28.50 ± 1.52 และ 25.80 ± 1.47 mm หลังการสกัดสารสกัดหยาบพบว่า สารสกัดมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองเท่ากับ 64 $\mu\text{g/ml}$ และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งสองเท่ากับ 256 $\mu\text{g/ml}$ และ 128 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ การวิเคราะห์ phylogenetic tree ของยีน 16S rRNA ในเชื้อไอโซเลท SR1301 พบว่า เชื้อนี้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อ *Streptomyces samsunensis* M1463^T ผลการวิจัยทั้งหมดสรุปได้ว่า

*Corresponding Author, E-mail: winyou.p@rbru.ac.th

Received date: 17 February 2026 | Revised date: 16 April 2026 | Accepted date: 5 May 2026

doi: 10.14456/kkuscij.2026.31

เชื้อแอคตินอมัยซีทไอโซเลท SR1301 มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดได้ ดังนั้นจึงควรศึกษาและพัฒนาสารสกัดหยาบของเชื้อนี้เพิ่มเติมเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ABSTRACT

Actinomycetes are prolific producers of bioactive compounds, most notably antibiotics with significant therapeutic potential. The global escalation of antimicrobial resistance is compounded by a significant decline in the discovery of novel therapeutic agents. Therefore, this study aimed to isolate actinomycetes from soil samples within the resource-protected area of Rambhai Barni Rajabhat University, Chanthaburi. Isolated strains were screened for antimicrobial activity, and the most potent isolates were identified to the species level. Actinomycetes were isolated from soil samples using the serial dilution method and cultivated on humic acid-vitamin (HV) agar. Preliminary antimicrobial screening was performed using the perpendicular streak method. The most potent isolate was selected for crude extract preparation to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) against target microorganisms using broth microdilution and streak plate methods. The most active isolate was characterized through morphological observation and 16S rRNA gene sequencing analysis. Results revealed a total of 39 actinomycete isolates, four of which exhibited inhibitory activity against *Bacillus cereus* TISTR 2372 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The observed inhibition zones ranged from 11.30 to 28.50 mm. Isolate SR1301 exhibited the best inhibition against both bacteria with an average inhibition distance of 28.50 ± 1.52 and 25.80 ± 1.47 mm, respectively. The crude extract exhibited an MIC of 64 $\mu\text{g/ml}$ against both test pathogens, while the MBC values were 256 $\mu\text{g/ml}$ for *B. cereus* and 128 $\mu\text{g/ml}$ for *S. aureus*. Phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene sequencing identified isolate SR1301 as being closely related to *Streptomyces samsunensis* M1463^T. In conclusion, *Streptomyces* isolate SR1301 demonstrated significant inhibitory potential against Gram-positive pathogens. These findings suggest that its crude extract warrants further investigation and purification for potential pharmaceutical applications.

คำสำคัญ: แอคตินอมัยซีท ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย พื้นที่ปกป้องทรัพยากร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี *Streptomyces samsunensis*

Keywords: Actinomycetes, Antibacterial Activity, Resource Protected Area, Rambhai Barni Rajabhat University, *Streptomyces samsunensis*

บทนำ

แอคตินอมัยซีท (actinomycetes) เป็นแบคทีเรียที่ได้รับการศึกษาด้านการผลิตสารปฏิชีวนะอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ได้ ซึ่งเป็นสารที่ไม่จำเป็นต่อการเจริญหรือการแพร่พันธุ์ สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิเหล่านี้มักเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) ที่มีฤทธิ์หลายอย่าง ได้แก่ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial) ต้านมะเร็ง (anticancer) ต้านเนื้องอก (antitumor) ต้านการอักเสบ (anti-inflammation) หรือต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นต้น (Barka *et al.*, 2016; Ngamcharungchit *et al.*, 2023) แอคตินอมัยซีทมีการกระจายทั่วไปในธรรมชาติ ส่วนใหญ่พบในดินซึ่งประมาณว่าในดินที่อุดมสมบูรณ์ 1 g สามารถพบแอคตินอมัยซีทได้มากกว่า 1 ล้านเซลล์ โดยเชื้อสามารถมีชีวิตอยู่ได้ด้วยการใช้สารอินทรีย์เพียงเล็กน้อยที่มีอยู่ในดินนั้น (Goodfellow and Williams,

1983) หรือพบได้ในสิ่งแวดล้อมรอบรากพืชต่าง ๆ ที่เรียกว่าไรโซสเฟียร์แอคติโนมัยซีท (rhizosphere actinomycetes) และยังมีแอคติโนมัยซีทในแหล่งน้ำจืด แอคติโนมัยซีทในน้ำทะเล แอคติโนมัยซีทในถ้ำ นอกจากนี้ยังสามารถพบแอคติโนมัยซีทบางกลุ่มในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของพืชทั้งราก ต้น และใบ เรียกเชื้อแอคติโนมัยซีทที่พบและแยกจากเนื้อเยื่อพืชว่าแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ หรือเอนโดไฟติกแอคติโนมัยซีท (endophytic actinomycete) หรือยังพบและแยกได้จากเนื้อเยื่อของสัตว์ต่าง ๆ ด้วย (Nimnoi, 2015)

จากสถานการณ์ทั่วโลกในปัจจุบันที่ยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ถูกค้นพบได้ในอัตราที่น้อยลงมาก (Ventola, 2015) จนไม่ทันต่อการใช้รักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ ทั้งเชื้อก่อโรคเดิม ๆ หรือเชื้อก่อโรคชนิดใหม่ หรือเชื้อที่ดื้อยาต่าง ๆ ซึ่งกำลังเป็นปัญหาใหญ่ที่ส่งผลกระทบต่อทั่วโลก การดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียส่วนใหญ่เกิดจากการที่เชื้อแบคทีเรียมีการปรับตัวต่อยาโดยวิธีการต่าง ๆ เพื่อที่จะกำจัดหรือลดปริมาณหรือลดประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะนั้น ๆ ซึ่งการดื้อยาอาจเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ หรืออาจเกิดจากความทนต่อการใช้ยาปฏิชีวนะที่มากเกินไปหรือไม่ถูกต้อง (Ritvirool, 2020) ในแบคทีเรียบางชนิดทำให้เกิดโรคติดเชื้อที่รักษาไม่ได้ ซึ่งทำให้เพิ่มทั้งอัตราการเจ็บป่วยและอัตราการตายของคนไข้ หากไม่สามารถควบคุมหรือชะลอการดื้อยาได้ย่อมทำให้ระบบสาธารณสุขเหมือนย้อนกลับไปสู่ยุคก่อนการมียาปฏิชีวนะ จนอาจถึงกับเป็นความล้มเหลวของระบบสาธารณสุขในอนาคต (World Health Organization, 2022) ประเทศไทยในแต่ละปีต้องใช้งบประมาณจำนวนมากในการสั่งซื้อยาปฏิชีวนะจากต่างประเทศ ซึ่งประสิทธิภาพการใช้ยาบางชนิดอาจลดลงหรือเกิดการดื้อยา ซึ่งมีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์ก่อโรค จึงมีความจำเป็นอย่างมากที่จะต้องหาแหล่งของสารออกฤทธิ์สำหรับใช้เป็นยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ เพื่อแก้ปัญหาของสถานการณ์การเหล่านี้

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ตั้งอยู่ในจังหวัดจันทบุรี ได้น้อมเกล้าฯ ถวายพื้นที่ป่าภายในมหาวิทยาลัยฯ จำนวน 50 ไร่ เพื่อสนองพระราชดำริ “โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี” ปัจจุบันได้ใช้ซื้อพื้นที่ป่า 50 ไร่ นี้ว่า พื้นที่ปกปักทรัพยากร และได้รับพระราชานุญาตให้ดำเนินการเพื่อสนองพระราชดำริ พร้อมทั้งได้ดำเนินงานในส่วนที่เกี่ยวข้องอื่น ๆ มาอย่างต่อเนื่องตามแผนแม่บทที่ได้วางกรอบไว้ โดยครอบคลุมทั้งทรัพยากรทางกายภาพ ได้แก่ น้ำ ดิน หิน แร่ และทรัพยากรชีวภาพ ทรัพยากรชีวภาพประกอบด้วย พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ซึ่งครอบคลุมพื้นที่ตั้งแต่ยอดเขาจนถึงใต้ทะเล พื้นที่ปกปักทรัพยากร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี เป็นพื้นที่ที่มีลักษณะเป็นป่าดิบชื้นผสมป่าพรุ มีความสมบูรณ์และความหลากหลายทางชีวภาพสูง ทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ โดยมีรายงานการศึกษาต่าง ๆ เช่น การสะสมธาตุคาร์บอนในมวลชีวภาพเหนือพื้นดินของไม้ยืนต้น (Dumrongrojwatthana *et al.*, 2018) การเปลี่ยนแปลงชนิดของนก (Dumrongrojwatthana and Kunsook, 2019) การสำรวจความหลากหลายของไลเคน (Somnuek and Kanboon, 2019) และการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพและบทบาทของเชื้อราขนาดใหญ่ (เห็ด) (Surawut *et al.*, 2023) แต่ในพื้นที่ดังกล่าวยังไม่มีรายงานการแยกและคัดกรองเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินที่มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิดในมนุษย์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินในพื้นที่ปกปักทรัพยากร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิดในมนุษย์ พร้อมทั้งการระบุชนิดของเชื้อแอคติโนมัยซีทดังกล่าว เพื่อให้ได้ข้อมูลทรัพยากรจุลินทรีย์กลุ่มแอคติโนมัยซีทของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ที่อาจนำไปสู่กระบวนการทางเภสัชเคมีต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การคัดแยกแอคติโนมัยซีทจากดินภายในป่าพื้นที่ปกปักทรัพยากร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ทำการเก็บตัวอย่างดินในป่าพื้นที่ปกปักทรัพยากร โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี (พิกัด 12°39'43.9128"N 102°6'27.414"E) ตามเส้นทางศึกษาธรรมชาติ จำนวน 20 จุด รวม 20 ตัวอย่าง พร้อมข้อมูลทางกายภาพ คือค่าอุณหภูมิดิน

ค่าความเป็นกรด-เบส จากนั้นนำตัวอย่างดินไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อลดจำนวนเชื้ออื่น ๆ และทำการแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทด้วยวิธีการเจือจางแบบ 10 เท่าลำดับส่วน แล้วนำสารแขวนลอยของดินที่ระดับความเจือจาง 10^{-3} 10^{-4} และ 10^{-5} ปริมาตร 100 μ l เกลี่ยให้ทั่วผิวนาอาหารเลี้ยงเชื้อ humic acid vitamin (HV) agar (Otoguro *et al.*, 2001) ซึ่งเติมสารโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) ที่ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 75 μ g/ml (Hong *et al.*, 2009; Hu *et al.*, 2018) เพื่อยับยั้งเชื้อราและจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ทน $K_2Cr_2O_7$ (Zhang *et al.*, 2006) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 - 2 สัปดาห์ สังเกตโคโลนีของแอคติโนมัยซีทซึ่งมีลักษณะคล้ายผงแป้ง ทำการแยกเชื้อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร International *Streptomyces* Project-2 (ISP-2) agar (Shirling and Gottlieb, 1966) และเก็บเชื้อที่บริสุทธิ์ในรูปแบบของสารแขวนลอยสปอร์ในสารละลาย glycerol ความเข้มข้นร้อยละ 20 (v/v) ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส

2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ด้วยวิธีการขีดขวาง

นำเชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้ทั้งหมดชนิดลงบนอาหาร Mueller Hinton agar (MHA) โดยใช้พื้นที่ 1 ใน 4 ส่วนของเพลต บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นานอย่างน้อย 3 วัน หรือจนกว่าเชื้อจะสร้างสปอร์ และเตรียมเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ทดสอบก่อนวันทดสอบ 24 ชั่วโมง ได้แก่ เชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 2372 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 28753 ในอาหาร nutrient broth (NB) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเชื้อ *Candida albicans* ATCC 90028 ในอาหาร yeast extract malt extract (YM) broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการปรับความเข้มข้นของเชื้อด้วยสารละลาย NaCl ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (w/v) โดยให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland standards No. 0.5 (สำหรับแบคทีเรีย) และ 1.0 (สำหรับยีสต์) ตามลำดับ จะได้ความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 1.5×10^8 CFU/ml จากนั้นใช้ไม้พินสำลีขนาดมาตรฐานปลอดเชื้อชุบเชื้อทดสอบ แล้วขีดตั้งฉาก (perpendicular streak) ห่างจากรอยขีดของเชื้อแอคติโนมัยซีทประมาณ 0.5 cm โดยขีดยาวประมาณ 4.0 cm บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตการเจริญและหาระยะยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยวัดด้วยไม้บรรทัดและห่างจากเชื้อแอคติโนมัยซีทประมาณ 0.5 cm มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร (mm) (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) ส่วนชุดควบคุมมีเฉพาะเชื้อทดสอบเท่านั้น

3. การสกัดสารสกัดหยาบจากแอคติโนมัยซีทที่ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีที่สุด

นำเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีที่สุดจำนวน 1 ไอโซเลท ไปขีดให้เต็มผิวนาอาหาร ISP-2 agar จำนวน 200 เพลต บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน หรือจนกว่าเชื้อจะสร้างสปอร์ จากนั้นตัดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อเจริญด้วยใบมีดให้เป็นชิ้นขนาดเล็ก ใส่ลงในโหลแก้วปริมาตร 5 ลิตร ให้ได้ประมาณ 1 ใน 3 ส่วนของโหล แล้วเติมตัวทำละลาย ethyl acetate ให้ท่วมชิ้น (สูงจากชิ้น 2 cm) ปิดฝาให้แน่น แช่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากรองผ่านสำลีและกระดาษกรอง (Whatman no. 1) แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator ให้เหลือแต่สารสกัดหยาบ ทำการชั่งน้ำหนักและบันทึกลักษณะของสารสกัดหยาบที่ได้

4. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบของสารสกัดหยาบจากเชื้อแอคติโนมัยซีทที่เลือก

1. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (minimal inhibitory concentration, MIC)

ทำการทดลองตามมาตรฐานของ CLSI (2018) โดยละลายสารสกัดหยาบของแอคติโนมัยซีทให้สมบูรณ์ด้วยสารละลาย dimethyl sulfoxide (DMSO) และเตรียมให้ได้ความเข้มข้นเป็น 2 ถึง 2,048 μ g/ml ปริมาตร 100 μ l ต่อหลุม เตรียมด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton broth (MHB) ทำใน 96 well plate จากนั้นเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบด้วยอาหารเดียวกันให้มีความเข้มข้นเป็น 1×10^6 CFU/ml และเติมลงในแต่ละหลุมปริมาตร 100 μ l จะได้ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 1 ถึง 1,024 μ g/ml ตามลำดับ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใช้ยา gentamicin ในช่วงความเข้มข้น 0.015625 ถึง 16.00 μ g/ml เป็นชุดควบคุมบวก และใช้สารละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 5 (v/v) เป็นชุด

ควบคุมลบ (มีการเจริญของเชื้อทดสอบ) การอ่านค่า MIC ให้สังเกตจากหลุมที่เชื้อทดสอบไม่เจริญ ซึ่งอาหารจะใส (ไม่ขุ่น) โดยหลุมที่มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดต่ำสุดให้รายงานเป็นค่า MIC ในหน่วย $\mu\text{g/ml}$ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดยาที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (minimal bactericidal concentration, MBC) และค่าร้อยละของการฆ่าเชื้อของสารสกัดยา

หลังบันทึกผลการหาค่า MIC แล้ว ทำการดูดสารแขวนลอยของเชื้อทดสอบใน 96 well plate ทุกหลุมที่เชื้อไม่เจริญ (ไม่ขุ่น) ปริมาตรหลุมละ 10 μl ถ่ายลงบนจานอาหาร trypticase soy agar (TSA) แล้วทำการเกลี่ยเชื้อ (spread plate) และ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ การอ่านค่า MBC ให้สังเกตจากสารแขวนลอยที่เชื้อแบคทีเรียทดสอบไม่เจริญหรือเจริญเป็นโคโลนีได้น้อยกว่าร้อยละ 0.1 ของเชื้อเริ่มต้น (5×10^5 CFU/ml) โดยสารแขวนลอยจากหลุมใดที่มีความเข้มข้นของสารสกัดต่ำที่สุดให้รายงานเป็นค่า MBC ในหน่วย $\mu\text{g/ml}$ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีท์ที่คัดเลือก

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ทำการศึกษาทั้งลักษณะของโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ศึกษาได้จากสไลด์ที่เตรียมด้วยวิธี slide culture โดยเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีท์ที่ด้านข้างทั้ง 4 ด้านของอาหาร ISP-2 agar ที่ตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 0.5 x 0.5 cm ซึ่งวางบนสไลด์แก้วแล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ และทิ้งหมักไว้ในจานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อและมีสาลิซูปน้ำให้ความชื้น เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนเชื้อเจริญพบการสร้างสปอร์ จากนั้นนำกระจกปิดสไลด์ที่มีเชื้อออกมา แล้วเตรียมสไลด์ด้วยสี lactophenol cotton blue นำสไลด์ไปสังเกตลักษณะของเชื้อพร้อมบันทึกภาพและใส่สเกลในภาพเพื่ออ้างอิงขนาดด้วยโปรแกรม ImageJ v1.53

6. การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA การสร้าง Phylogenetic tree และการระบุชนิดของแอคติโนมัยซีท์

เลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีท์ที่ต้องการศึกษาในอาหาร ISP-2 broth เมื่อเชื้อเจริญแล้วทำการเก็บเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที และนำไปสกัดดีเอ็นเอตามวิธีของ Cook and Meyers (2003) แล้วเพิ่มจำนวน DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ Primer 27F (5'-GAGTTTGATCCT GGCTCAG-3') และ 1525R (5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3') (Chun and Goodfellow, 1995) ใช้อุณหภูมิ denaturation เป็น 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ใช้อุณหภูมิ annealing เป็น 56 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และใช้อุณหภูมิ extension เป็น 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที 45 วินาที ทำปฏิกิริยาจำนวน 30 รอบ จากนั้นตรวจสอบผลผลิต PCR โดยการทำให้ electrophoresis ด้วย agarose gel ความเข้มข้นร้อยละ 1 (w/v) ที่ผสม RedSafe (iNtRON Biotechnology, South Korea) ใน 1x TAE buffer ใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำ gel ไปตรวจสอบภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง UV transilluminator และบันทึกภาพ ผลผลิต PCR ที่ได้นำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุดน้ำยา GenepHlow™ PCR Cleanup Kit (Geneaid, Taiwan) แล้วตรวจสอบผลผลิต purified PCR ที่ได้โดยการทำ electrophoresis อีกครั้ง จากนั้นนำผลผลิต purified PCR ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequencing) ที่บริษัท 1st Base ประเทศมาเลเซีย โดยใช้ primer ทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ 27F 800R และ 1492R แล้วนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาประกอบรวมกันให้สมบูรณ์ด้วยโปรแกรม MEGA v12.0 และนำไปเปรียบเทียบเพื่อระบุสกุลและชนิดของเชื้อแอคติโนมัยซีท์ด้วยเครื่องมือใน web service ของ EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net/>) (Yoon *et al.*, 2017) นำผลที่ได้มาสร้าง phylogenetic tree ด้วยโปรแกรม MEGA v12.0 (Kumar *et al.*, 2024) โดยใช้วิธี neighbor-joining (NJ) และกำหนดค่า bootstrap เป็น 1000 เพื่อยืนยันความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการกับเชื้อที่ใกล้เคียง

7. การวิเคราะห์สถิติและการรายงานผล

การวิเคราะห์ทางสถิติใช้โปรแกรม R version 4.5.0 เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลทางเดียว (one-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยรายคู่โดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT) ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่า $p < 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทจากดินในพื้นที่ปลูกปศุสัตว์ปศุสัตว์ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี ด้วยวิธีการเกลี่ยเชื้อ (spread) ลงบนอาหาร HV agar ได้เชื้อแอกติโนมัยซีททั้งหมด 39 ไอโซเลท พบลักษณะโคโลนีของเชื้อเป็นผงแป้งสีขาวเทา หรือเหลือง ตัวอย่างดินที่เก็บมีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 25.00 - 27.00 องศาเซลเซียส เฉลี่ย 26.10 ± 0.70 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของอากาศอยู่ในช่วง 26.00 - 28.00 องศาเซลเซียส เฉลี่ย 27.08 ± 0.61 องศาเซลเซียส และตัวอย่างดินมีค่าความเป็นกรด-เบสอยู่ในช่วง pH 5.00 - 6.00 เฉลี่ย 5.35 ± 0.49 เมื่อนำเชื้อที่คัดแยกได้ทั้ง 39 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธี perpendicular streak พบว่ามีเชื้อแอกติโนมัยซีทจำนวน 4 ไอโซเลท คือ SR0401 SR0402 SR0502 และ SR1301 คิดเป็นร้อยละ 10.25 ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ โดย 3 ไอโซเลท (SR0401 SR0402 และ SR0502) ยับยั้งได้เฉพาะเชื้อ *B. cereus* TISTR 2372 มีระยะยับยั้งอยู่ในช่วง 11.30 - 26.80 mm ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 สามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR 2372 และ *S. aureus* ATCC 25923 มีระยะยับยั้งเท่ากับ 28.50 ± 1.52 และ 25.80 ± 1.47 mm ตามลำดับ (รูปที่ 1) จากผลการทดลองเบื้องต้นพบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 4 ไอโซเลท สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้อย่างน้อย 1 ชนิด ซึ่งอาจเป็นเพราะแบคทีเรียแกรมบวกมีผนังเซลล์เพียงอย่างเดียวที่ประกอบด้วยชั้นของ peptidoglycan ที่ไม่ซับซ้อนทำให้สารออกฤทธิ์ที่เชื้อแอกติโนมัยซีทสร้างขึ้นสามารถแทรกผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ง่าย ขณะที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีทั้งชั้นของ peptidoglycan และชั้นของโครงสร้างที่มีองค์ประกอบของไขมัน โปรตีน และสารอื่น ๆ ที่เรียกว่าชั้น outer membrane ซึ่งมีความซับซ้อนมากกว่าในแบคทีเรียแกรมบวก จึงทำให้สารออกฤทธิ์ต่าง ๆ ผ่านเข้าเซลล์ได้ยากกว่า (Madigan *et al.*, 2009) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chimnoi (1999) ซึ่งแยกเชื้อกลุ่มแอกติโนมัยซีทจากดินในทุ่งหญ้า 4 แปลง ของพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ จังหวัดนครราชสีมา ได้ 60 ไอโซเลท เมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบด้วยวิธีขีดขวาง พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 11778 *B. cereus* ATCC 6633 *Micrococcus luteus* ATCC 9341 และ *E. coli* ATCC 1237 ได้จำนวน 29 25 24 และ 10 ไอโซเลท ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 48.33 41.67 40.00 และ 16.67 ตามลำดับ ซึ่งยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ส่วนงานวิจัยของ Pook-In *et al.* (2019) ซึ่งศึกษาเชื้อ *Streptomyces* sp. AC4 ที่แยกได้จากดินของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ ในมหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา พบว่าเชื้ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี โดยเฉพาะเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 เมื่อนำสารสกัดของเชื้ยับยั้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่ามีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 17.00 - 19.30 mm และยังได้พัฒนาสารสกัดของเชื้ยับยั้งเป็นสารเคลือบผ้าฝ้ายที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และงานวิจัยต่อมาของ Pook-In *et al.* (2026) ศึกษา *Streptomyces* sp. UP-AC4 ซึ่งคล้ายกับเชื้อ *Streptomyces californicus* HCT1306 และ *Streptomyces* sp. UP-3.2 ซึ่งคล้ายกับเชื้อ *Streptomyces purpurascens* KN-6 เชื้อทั้งสองนี้แยกได้จากดินในป่ารอบมหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ เมื่อนำสารสกัดของเชื้อทั้งสองที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 73 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ไปทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *B. cereus* ATCC 11778 และเมื่อทดสอบด้วยวิธี broth microdilution พบว่ามีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.024 - 0.195 $\mu\text{g/ml}$ และค่า MBC อยู่ในช่วง 0.098 - 0.391 $\mu\text{g/ml}$ มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (human non-small cell lung cancer (NSCLC) cell lines)

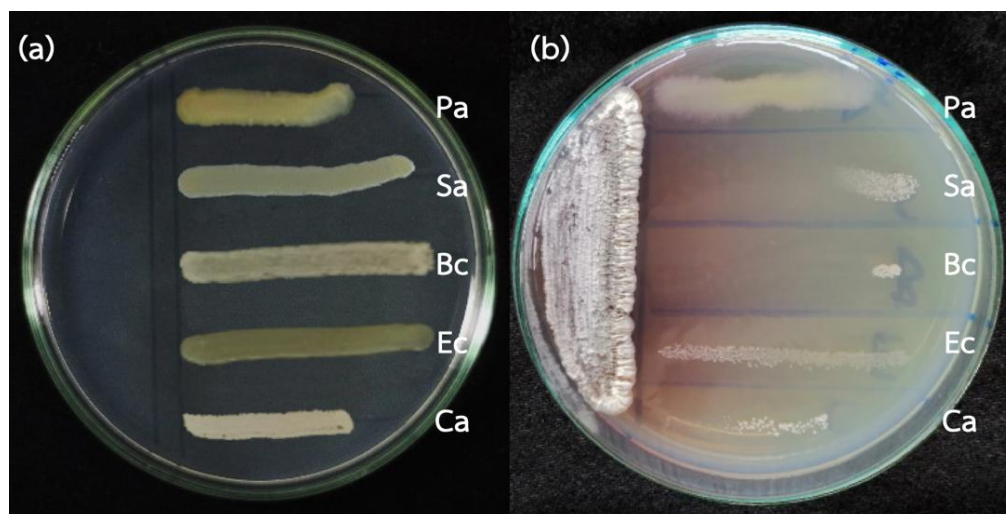
A549 H1299 และ Lu99 โดยมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 0.23 ± 0.06 ถึง 4.85 ± 0.64 $\mu\text{g/ml}$ โดยไม่เป็นพิษกับเซลล์ปกติ (human dermal fibroblast (NHDF) cell line) และเมื่อวิเคราะห์สารสกัดของเชื้อ *Streptomyces* sp. UP-AC4 ที่สกัดด้วยความร้อนโดยวิธี high-performance liquid chromatography (HPLC) พบว่า ประกอบด้วยสารประกอบ dinactin หรืองานวิจัยของ Puckdee and Chanthamalee (2025) ซึ่งแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. PM-R01 (คล้ายกับเชื้อ *Streptomyces ardesiacus* NRRL B-1773^T) จากรากของต้นทุเรียนพันธุ์พวงมณีในจังหวัดจันทบุรี เชื้อนี้มีฤทธิ์ยับยั้งเฉพาะเชื้อ *B. cereus* TISTR 2372 และ *S. aureus* ATCC 25923 โดยไม่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบเช่นกัน ผู้วิจัยจึงเลือกแอคติโนมัยซีท ไอโซเลท SR1301 เพื่อศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 1 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเชื้อแอคติโนมัยซีท

ไอโซเลท	ระยะของการยับยั้ง (mm)				
	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
	TISTR 2372	ATCC 25923	ATCC 25922	ATCC 28753	ATCC 90028
SR0401	22.30 ± 1.86^b	-	-	-	-
SR0402	26.80 ± 1.94^c	-	-	-	-
SR0502	11.30 ± 1.21^a	-	-	-	-
SR1301	28.50 ± 1.52^c	25.80 ± 1.47^c	-	-	-

หมายเหตุ: เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่แสดงผลการยับยั้ง ส่วนอักษรตัวยกที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

a - c แสดงถึงลำดับค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดย "a" แสดงถึงค่าต่ำสุด และ "c" แสดงถึงค่าสูงสุด

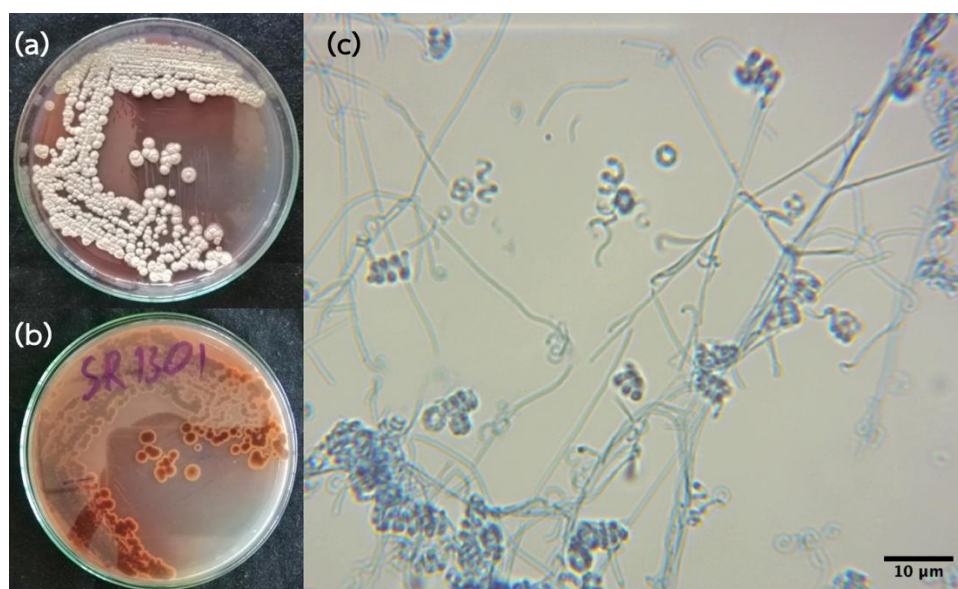


รูปที่ 1 การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรีย (*S. aureus* ATCC 25923 (Sa) *E. coli* ATCC 25922 (Ec) *P. aeruginosa* ATCC 28753 (Pa) และ *B. cereus* TISTR 2372 (Bc)) และเชื้อยีสต์ *C. albicans* (Ca) ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 อายุ 7 วัน โดยวิธี perpendicular streak (b) และชุดควบคุมเป็นจานที่ไม่มีเชื้อแอคติโนมัยซีท (a)

ขั้นตอนต่อไปเป็นการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบ ethyl acetate ของเชื้อไอโซเลท SR1301 ที่สามารถยับยั้งการเจริญและฆ่าเชื้อ *B. cereus* TISTR 2372 และ *S. aureus* ATCC 25923 ด้วยวิธี broth microdilution และ spread plate เมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 ไปเพาะเลี้ยงในอาหาร ISP-2 agar จำนวน 200 จาน และทำการสกัดสารสกัดหยาบ พบว่าได้สารสกัดหยาบหนัก 0.5410 g ลักษณะเป็นของหนืดสีแดงเข้ม เมื่อนำไปละลายด้วยสารละลาย DMSO ทำการเจือจาง และทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และ

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) พบว่ามีค่า MIC ต่อเชื้อ *B. cereus* TISTR 2372 และ *S. aureus* ATCC 25923 เท่ากับ 64 $\mu\text{g/ml}$ และมีค่า MBC ต่อเชื้อทั้งสองเป็น 256 $\mu\text{g/ml}$ และ 128 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ โดยพบเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 มีการเจริญเป็นโคโลนีจากการเกลี่ยเชื้อหลังสัมผัสสารสกัดที่ความเข้มข้น 128 $\mu\text{g/ml}$ จำนวน 0 ถึง 2 โคโลนี ภายหลังจากการคำนวณพบว่าเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 รอดชีวิตไม่เกินร้อยละ 0.1 ขณะที่ในเชื้อ *B. cereus* TISTR 2372 ไม่พบการเจริญเป็นโคโลนีจากการเกลี่ยเชื้อหลังสัมผัสสารสกัดที่ความเข้มข้น 256 $\mu\text{g/ml}$ ส่วนค่า MIC และ MBC ของยา gentamicin ซึ่งเป็นชุดควบคุมพบว่ามีค่าเท่ากับ 0.625 $\mu\text{g/ml}$

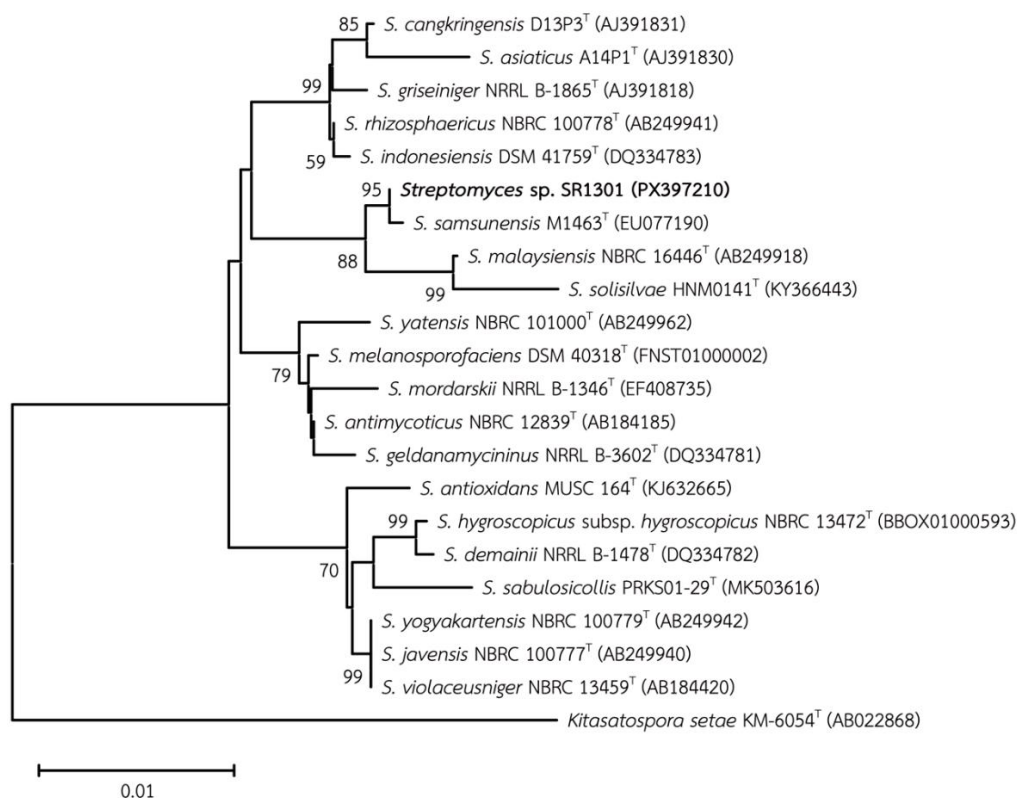
การศึกษาลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 ทางสัณฐานวิทยา พบว่าบนอาหาร ISP-2 agar เชื้อนี้เจริญได้ดีสร้างโคโลนีที่มี aerial mycelium มีลักษณะคล้ายกำมะหยี่สีขาวออกเทาเล็กน้อย ลักษณะใต้โคโลนี (reverse colour) มีสีน้ำตาลแดงเข้มขอบสีขาวอมส้ม สร้างสารสีน้ำตาลแดงเข้มในเนื้ออาหาร (soluble pigment) ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 1,000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างเส้นใยขนาดเล็กยาวไม่แตกหัก สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นสายขดเป็นเกลียวแบบปิด (closed spiral) คล้ายสปริง ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ลักษณะโคโลนีบนอาหาร (a) และใต้อาหาร (b) ISP-2 agar ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 อายุ 7 วัน และลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า (c) โดย scale bar มีขนาดเท่ากับ 10 μm

การศึกษาทางอนุชีววิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 ทั้งลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA และการสร้าง phylogenetic tree ภายหลังจากขั้นตอนการสกัด DNA การเพิ่มจำนวน DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA โดยใช้เทคนิค PCR และการตรวจสอบผลผลิต PCR ผลการวิจัยพบว่าได้ผลผลิต PCR ขนาดประมาณ 1,500 bp เมื่อเทียบกับ DNA marker (1 kb (+) DNA ladder) (Enzynomics, South Korea) และเมื่อส่งผลผลิต PCR ที่บริสุทธิ์แล้วไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์และประกอบรวมลำดับนิวคลีโอไทด์ให้สมบูรณ์ พบว่าได้นิวคลีโอไทด์จำนวน 1,423 เบส จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ไปฝากไว้ในฐานข้อมูล GenBank DDBJ และ ENA ได้รับ accession number เป็น PX397210 และทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล EzBioCloud สามารถระบุได้ว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 จัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* โดยคล้ายกับเชื้อ *Streptomyces samsunensis* M1463^T (type strain) ที่ร้อยละ 99.93 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้และของเชื้อใกล้เคียงมาสร้าง phylogenetic tree โดยใช้โปรแกรม MEGA v.12.0 และใช้เชื้อ *Kitasatospora setae* KM-6054^T (AB022868) (type strain) เป็น out group พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับเชื้อ *Streptomyces samsunensis* M1463^T ดังแสดงในรูปที่ 3 เชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 ในงานวิจัยครั้งนี้พบว่า

มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Streptomyces samsunensis* ที่ปรากฏในงานวิจัยของ Sazak *et al.* (2011) ซึ่งแยกได้จากดินรอบรากของต้นแคฝรั่ง (*Robinia pseudoacacia* L.) และถูกกำหนดเป็นสายพันธุ์ต้นแบบ (type strain) โดยมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ค่อนข้างตรงกัน คือ มีลักษณะเซลล์เป็นเส้นใยขนาดเล็กยาวไม่แตกหัก สายสปอร์ขดเป็นเกลียวแบบปิด (closed spiral) คล้ายสปริงเช่นกัน ส่วนการสร้าง soluble pigment สีน้ำตาลแดงเข้มเมื่อเลี้ยงบนอาหาร ISP-2 agar ไม่มีรายงานในเชื้อสายพันธุ์ต้นแบบ โดยเชื้อต้นแบบ M1463 สามารถยับยั้งเชื้อ *Aspergillus niger* (isolated strain) *B. licheniformis* NRRL B-1001 *B. subtilis* NRRL B-209 *C. albicans* ATCC 10231 *Listeria monocytogenes* (medical isolate) *Micrococcus luteus* NRRL B-287 *P. aeruginosa* NRRL B-2679 *S. aureus* ATCC 25923 และ *Streptomyces murinus* ISP 5091 แต่ไม่ยับยั้งเชื้อ *A. flavus* NRRL 1957 *E. coli* ATCC 25922 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 และ *Proteus vulgaris* NRRL B-123 ซึ่งพบว่ายับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเป็นส่วนใหญ่ ส่วนงานวิจัยของ Wongsariya *et al.* (2024) ซึ่งแยกเชื้อ *Streptomyces samsunensis* SA31 จากดินรอบรากของต้นตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) โดยเชื้อนี้มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 *B. subtilis* ATCC 6633 *Candida albicans* ATCC 10231 และ *A. flavus* IMI 242684 โดยส่วนใหญ่เป็นการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเช่นกัน เมื่อทดสอบด้วยวิธี agar plug diffusion พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 *K. rhizophila* ATCC 9341 และ *S. aureus* ATCC 25923 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งอยู่ในช่วง 18.20 - 22.10 mm โดยสารสกัดของเชื้อนี้มีสาร geldanamycin และ 17-O-demethylgeldanamycin เป็นองค์ประกอบและพบว่าค่า MIC ต่อเชื้อทั้งสามมีค่ามากกว่า 512 µg/ml ซึ่งเป็นค่า MIC ที่สูงกว่าของสารสกัดหยาบ ethyl acetate ของเชื้อไอโซเลท SR1301 ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 64 µg/ml



รูปที่ 3 Phylogenetic tree ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 (1,423 nucleotide) ใช้วิธี neighbor-joining โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA ของเชื้อสกุล *Streptomyces* ร้อยละของค่า bootstrap (จากการกำหนดค่าเท่ากับ 1,000) แสดงในแต่ละ internal node โดยแสดงเฉพาะค่าที่สูงกว่าร้อยละ 50 เท่านั้น แถบมาตราส่วนคือ 0.01 substitutions per nucleotide position

เมื่อสืบค้นข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเชื้อ *Streptomyces samsunensis* พบว่างานวิจัยของ Choi *et al.* (2023) ซึ่งศึกษาสารที่เชื้อ *Streptomyces samsunensis* DSM 42010^T หรือ M1463^T (สายพันธุ์ต้นแบบ) สร้างได้ในอาหารเหลวที่ชื่อ R5K media ซึ่งมีค่า pH 5.4 โดยสามารถแยกสารได้ทั้งหมด 11 ชนิด เป็นสารชนิดใหม่ 7 ชนิด และสารที่ทราบชนิดอยู่ก่อนแล้วอีก 4 ชนิด โดยสารประกอบ 8-(10-acetamido-12-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-4-methoxy-2,6-dimethylheptanoic acid (1) geldanamycin (8) และ 17-O-demethylgeldanamycin (9) มีฤทธิ์ยับยั้งการผลิต α -toxin ของเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อยาเมทิซิลลิน (MRSA) ส่วนในงานวิจัยที่มีการแยกได้เชื้อแอคติโนมัยซีฟที่มียีน 16S rRNA คล้ายกับเชื้อ *Streptomyces samsunensis* พบว่างานวิจัยของ Supong *et al.* (2016) แยกเชื้อ *Streptomyces* sp. BCC72023 (คล้ายกับสายพันธุ์ M1463 ที่ร้อยละ 99.80) ได้จากเนื้อเยื่อของต้นข้าวที่เก็บจากจังหวัดชุมพร งานวิจัยนี้สามารถแยกสารกลุ่ม macrolides ได้ 3 ชนิด และสารกลุ่ม polyethers ได้ 2 ชนิด โดยสารทั้งหมดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) สายพันธุ์ K-1 ซึ่งดื้อยาหลายชนิด มีค่า IC₅₀ อยู่ในช่วง 1.40 - 5.23 μ g/ml แต่สารทั้ง 5 ชนิดนี้มีฤทธิ์เล็กน้อยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* และ *B. cereus* และเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* รวมทั้งมีฤทธิ์เล็กน้อยในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง (human breast cancer (MCF-7) oral human epidermoid carcinoma (KB) และ human small-cell lung cancer (NCI-H187)) และเซลล์ที่ไม่ใช่เซลล์มะเร็ง (เซลล์ vero (african green monkey kidney fibroblasts)) ด้วย ในเวลาต่อมา Supong *et al.* (2017) แยกเชื้อ *Streptomyces* sp. BCC71188 (คล้ายกับสายพันธุ์ M1463 ที่ร้อยละ 99.85) จากตัวอย่างดินที่เก็บในจังหวัดนครราชสีมา โดยสารสกัดหยาบของเชื้อนี้มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรียได้เช่นกัน มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.19 μ g/ml มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *M. tuberculosis* และ *B. cereus* มีค่า MIC เท่ากับ 6.25 และ 1.56 μ g/ml ตามลำดับ และยังสามารถแยกสารประกอบได้ถึง 19 ชนิด โดยเป็นสารกลุ่ม cyclic peptides จำนวน 2 ชนิด สารกลุ่ม macrolides จำนวน 5 ชนิด สารอนุพันธ์ของ geldanamycin จำนวน 4 ชนิด และสารอื่น ๆ อีก 8 ชนิด เมื่อนำสารทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสาร nocardamine (1) dehydroxynocardamine (2) monoglycosylelaiolide (3) elaiophylin หรือ azalomycin (4) 11,11'-O-dimethylelaiophylin (5) efomycin G (6) oxohydroolidin (7) geldanamycin (10) 17-O-demethylgeldanamycin (11) 17-demethoxyreblastatin (12) 4,5-dihydrothiazinogeldanamycin (13) และ cyclooctatin (14) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรียได้ มีค่า IC₅₀ อยู่ในช่วง 0.22 - 7.14 μ g/ml ส่วนอนุพันธ์ของสาร (4) ถึง (6) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรคและเชื้อ *B. cereus* มีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.78 - 12.00 μ g/ml และ 0.78 - 3.13 μ g/ml ตามลำดับ ส่วนสาร (1) (2) (14) และ abierixin (18) มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง (เซลล์ MCF-7 KB และ NCI-H187) และเซลล์ที่ไม่ใช่เซลล์มะเร็ง (เซลล์ vero) ได้ในระดับต่ำ ๆ งานวิจัยของ Wang *et al.* (2023) และ Custodio *et al.* (2025) รายงานว่าเชื้อ *Streptomyces samsunensis* OUCT16-12 ที่แยกได้จากทะเลลึก สามารถผลิตสาร bafilomycins ได้หลายชนิด พบว่าเป็นสารชนิดใหม่ 2 ชนิด คือ bafilomycins R และ S โดยสาร bafilomycin R S และ T มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งได้หลายชนิด สาร bafilomycin R ยับยั้งเซลล์ human lung adenocarcinoma ชนิดที่ดื้อยา paclitaxel (A-549-Taxol) เซลล์ human lung adenocarcinoma ชนิดไม่ใช่เซลล์เล็ก (H1975) เซลล์ human lung large cell carcinoma ที่ได้จากต่อมน้ำเหลือง (H1299) เซลล์ human hepatic stellate (spontaneous immortalization in low serum conditions) (LX-2) และเซลล์ human erythroleukemia (HEL) มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.61 0.19 6.09 14.44 และ 18.97 μ M สาร bafilomycin S มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.09 1.83 1.56 1.47 และ 3.39 μ M และสาร bafilomycin T มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.1 1.02 1.42 5.04 และ 0.01 μ M ตามลำดับ เมื่อเทียบกับยามาตรฐาน doxorubicin ซึ่งค่า IC₅₀ เท่ากับ 1.57 0.05 0.12 1.43 และ 0.39 μ M ตามลำดับ นอกจากนั้นยังมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกษตร เช่น เชื้อ *Streptomyces samsunensis* UAE1 ซึ่งแยกได้จากดินรอบรากของต้นมะม่วง (*Mangifera indica* L.) ในประเทศสหรัฐอเมริกา (UAE) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* ที่ก่อโรค mango dieback ในมะม่วงได้ ซึ่งฤทธิ์ยับยั้งนี้เกี่ยวข้องกับการสร้างสารปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ เช่น chitinase และการสร้าง

siderophores (Kamil *et al.*, 2018) หรือเชื้อ *Streptomyces samsunensis* RB-4 ซึ่งแยกได้จากดินในจังหวัดระยอง เชื้อนี้สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้ (Niyomvong *et al.*, 2022) งานวิจัยของ Vadankula *et al.* (2025) ทำการแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. SbAr007 (คล้ายกับสายพันธุ์ M1463 ที่ร้อยละ 99.50) จากรากของต้นสัก (*Tectona grandis* L.f.) ในเมือง Manipur ประเทศอินเดีย พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Mycobacterium* sp. หลายสายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อ *M. tuberculosis* (M.tb) สายพันธุ์ H37Ra และ H37Rv เชื้อ M.tb สายพันธุ์ที่ดื้อยา และเชื้อ *Mycobacterium* sp. กลุ่มที่ไม่ใช่เชื้อสาเหตุของวัณโรค (*M. smegmatis* mc²155 *M. phlei* MTCC 1724 และ *M. fortuitum* MTCC 1902)

สรุปผลการวิจัย

การวิจัยนี้แยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินในพื้นที่ปลูกปศุสัตว์ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี ได้ทั้งหมด 39 ไอโซเลท มีเชื้อจำนวน 4 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบ *B. cereus* TISTR 2372 และ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ โดยเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดหยาบ ethyl acetate ของเชื้อไอโซเลท SR1301 มีลักษณะเป็นของหนืดสีแดงเข้ม ให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR 2372 และ *S. aureus* ATCC 25923 เท่ากับ 64 µg/ml และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งสองเท่ากับ 256 µg/ml และ 128 µg/ml ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบดังกล่าวสามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีกว่าเชื้อ *B. cereus* TISTR 2372 ลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 พบว่าโคโลนีมี aerial mycelium ลักษณะคล้ายกัมมะหยี่สีขาวออกเทาเล็กน้อย ลักษณะได้โคโลนีมีสีน้ำตาลแดงเข้มขอบสีขาวอมส้ม สามารถสร้างสารสีน้ำตาลแดงเข้มในเนื้ออาหารได้ ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าเชื้อสร้างเส้นใยขนาดเล็กยาวไม่แตกหัก สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นสายขดเป็นเกลียวแบบปิดคล้ายสปริง เมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA และการสร้าง phylogenetic tree สามารถระบุได้ว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 จัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* มีความคล้ายกับเชื้อ *Streptomyces samsunensis* strain M1463[†] จึงกล่าวได้ว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SR1301 มีศักยภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดได้ ซึ่งควรนำไปศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อราอื่น ๆ เพิ่มเติม รวมทั้งศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัส เชื้อกลุ่มปรสิต หรือยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ ยับยั้งเอนไซม์บางชนิด เช่น เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน (α -amylase และ α -glucosidase) เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (nitric oxide synthase และ cyclooxygenase) จากนั้นควรนำสารสกัดหยาบไปศึกษาถึงความเป็นพิษกับเซลล์ปกติ และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่มีในสารสกัดหยาบดังกล่าวเพื่อให้ทราบถึงชนิดและโครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ต่าง ๆ ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ประจำปีงบประมาณ 2568 (2222/2568) ขอขอบคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ และนักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยาโดยเฉพาะนายพิสิษฐ์ ชัยวีรกุล ขอขอบคุณผู้ประสานงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ พื้นที่ปลูกปศุสัตว์ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุตานา คุณสุข ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่เก็บตัวอย่างดิน ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชร วรรณจริยกุล สาขาวิชาเคมี ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และสารเคมี ขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ปฏิบัติการ และขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จารุวรรณ เมตตากุลพิทักษ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตรวจแก้ไขบทความ

เอกสารอ้างอิง

- Barka, E.A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.P., Clément, C., Ouhdouch, Y. and Van Wezel, G.P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 80(1): 1 - 43. doi: 10.1128/mmbr.00019-15.
- Chimnoi, W. (1999). Genetic diversity of some bacteria in the area of plant genetic conservation project in Nakhon Ratchasima province. Master of Science, Chulalongkorn university Bangkok: 103 pages.
- Choi, J.W., Lee, Y., Kim, J., Kwon, H., Deyrup, S.T., Lee, J.W., Lee, D., Kang, H., Joo, H. and Shim, S.H. (2023). Discovery of bioactive metabolites by acidic stress to a geldanamycin producer, *Streptomyces samsunensis*. *Journal of Natural Products* 86(4): 947 - 957. doi: 10.1021/acs.jnatprod.2c01151.
- Chun, J. and Goodfellow, M. (1995). A Phylogenetic Analysis of the Genus *Nocardia* with 16S rRNA Gene Sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology* 45(2): 240 - 245. doi: 10.1099/00207713-45-2-240.
- CLSI. (2018). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 11th ed. pp. 15 - 35.
- Cook, A.E. and Meyers, P.R. (2003). Rapid identification of filamentous actinomycetes to the genus level using genus-specific 16S rRNA gene restriction fragment patterns. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53(6): 1907 - 1915. doi: 10.1099/ij.s.0.02680-0.
- Custodio, A.B., Zapater, J.E.I. and Alcantara, E.P. (2025). Structural diversity and biological activities of naturally derived bafilomycins from actinomycetes. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 14(1): 33. doi: 10.1186/s43088-025-00622-0.
- Dumrongrojwatthana, P. and Kunsook, C. (2019). Bird species composition change in the natural resource protected area, Rambhai Barni Rajabhat University. *Rajabhat Rambhai Barni Research Journal* 13(1): 5 - 19.
- Dumrongrojwatthana, P., Petchthongkliang, P. and Kunsook, C. (2018). Carbon storage of trees in the resource conservation forest, Rambhai Barni Rajabhat University. *Rajabhat Rambhai Barni Research Journal* 12(3): 190 - 200.
- Goodfellow, M. and Williams, S.T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology* 37: 189 - 216. doi: 10.1146/annurev.mi.37.100183.001201.
- Hong, K., Gao, A.H., Xie, Q.Y., Gao, H.G., Zhuang, L., Lin, H.P., Yu, H.P., Li, J., Yao, X.S., Goodfellow, M. and Ruan, J.S. (2009). Actinomycetes for marine drug discovery isolated from mangrove soils and plants in China. *Marine Drugs* 7(1): 24 - 44. doi: 10.3390/md7010024.
- Hu, D., Chen, Y., Sun, C., Jin, T., Fan, G., Liao, Q., Mok, K.M. and Lee, M.-Y.S. (2018). Genome guided investigation of antibiotics producing actinomycetales strain isolated from a Macau mangrove ecosystem. *Scientific Reports* 8(1): 14271. doi: 10.1038/s41598-018-32076-z.

- Kamil, F.H., Saeed, E.E., El-Tarabily, K.A. and AbuQamar, S.F. (2018). Biological control of mango dieback disease caused by *Lasiodiplodia theobromae* using streptomycete and non-streptomycete actinobacteria in the United Arab Emirates. *Frontiers in Microbiology* 9: 829. doi: 10.3389/fmicb.2018.00829.
- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S. and Tamura, K. (2024). MEGA12: molecular evolutionary genetic analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution* 41(12): 1 - 9. doi: 10.1093/molbev/msae263.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V. and Clark, D.P. (2009). *Brock biology of microorganisms*. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings. 12th ed. pp. 78 - 84.
- Ngamcharungchit, C., Chaimusik, N., Panbangred, W., Euanorasetr, J. and Intra, B. (2023). Bioactive metabolites from terrestrial and marine actinomycetes. *Molecules* 28(15): 5915. doi: 10.3390/molecules28155915.
- Nimnoi, P. (2015). *Actinomycetes*. Bangkok: Kasetsart University. pp. 8 - 27.
- Niyomvong, N., Vaithanomsat, P., Apiwatanapiwat, W., Trakunjae, C., Janchai, P. and Boondaeng, A. (2022). Medium optimization using response surface methodology to produce antifungal substance from *Streptomyces samsunensis* RB-4 against *Rhizoctonia solani*. *Agriculture and Natural Resources* 56(4): 773 - 780. doi: 10.34044/j.anres.2022.56.4.11.
- Otoguro, M., Hayakawa, M., Yamazaki, T. and Iimura, Y. (2001). An integrated method for the enrichment and selective isolation of *Actinokineospora* spp. in soil and plant litter. *Journal of Applied Microbiology* 91(1): 118 - 130. doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01372.x.
- Pook-In, G., Seansupa, K. and Upakut, S. (2019). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the cotton fabrics treated with the crude finish produced from *Streptomyces* sp. strain AC4. *Journal of Food Health and Bioenvironmental Science* 12(1): 44 - 53.
- Pook-In, G., Tammawong, S., Phuangsi, C., Seansupa, K., Sookying, S., Takahashi, T. and Rawangkan, A. (2026). Heat-assisted extraction and bioactivity evaluation of a dinactin-associated compound from *Streptomyces* UP strains. *Microbiology Research* 17(1): 16. doi: 10.3390/microbiolres17010016.
- Puckdee, W. and Chanthamalee, J. (2025). Antibacterial activity of endophytic actinomycetes, *Streptomyces* sp. PM-R01, isolated from native durian varieties in Chanthaburi province. *Journal of Science and Technology Mahasarakham University* 44(3): 221 - 229.
- Ritvirool, P. (2020). *Antibiotic-resistant bacteria*. Phitsanulok: Naresuan University. pp. 40 - 69.
- Sazak, A., Şahin, N., Güven, K., Işık, K. and Goodfellow, M. (2011). *Streptomyces samsunensis* sp. nov., a member of the *Streptomyces violaceusniger* clade isolated from the rhizosphere of *Robinia pseudoacacia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 61(6): 1309 - 1314. doi: 10.1099/ijs.0.021329-0.
- Shirling, E.B. and Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 16(3): 313 - 340. doi: 10.1099/00207713-16-3-313.

- Somnuek, C. and Kanboon, P. (2019). Survey of lichen at swamp forest in plant genetic protection area, Rambhai Barni Rajabhat University. RMUTI JOURNAL Science and Technology 12(3): 150 - 159.
- Supong, K., Sripreechasak, P., Tanasupawat, S., Danwisetkanjana, K., Rachtawee, P. and Pittayakhajonwut, P. (2017). Investigation on antimicrobial agents of the terrestrial *Streptomyces* sp. BCC71188. Applied Microbiology and Biotechnology 101(2): 533 - 543. doi: 10.1007/s00253-016-7804-1.
- Supong, K., Thawai, C., Choowong, W., Kittiwongwattana, C., Thanaboripat, D., Laosinwattana, C., Koohakan, P., Parinthawong, N. and Pittayakhajonwut, P. (2016). Antimicrobial compounds from endophytic *Streptomyces* sp. BCC72023 isolated from rice (*Oryza sativa* L.). Research in Microbiology 167(4): 290 - 298. doi: 10.1016/j.resmic.2016.01.004.
- Surawut, S., Kunsook, C., Nak-eiam, S., Khamchatra, N., Bhudharak, S., Phontharod, W., Boonmee, O., Yasawong, M. and Kanjanavas, P. (2023). Biodiversity and functional distribution of macrofungi from plant genetic conservation area, Chanthaburi province, Thailand. Current Applied Science and Technology 23(5): 19 pages. doi: 10.55003/cast.2023.05.23.003.
- Vadankula, G.R., Rizvi, A., Ali, H., Khunjamayum, R., Eedara, V.V.R., Nema, V., Ningthoujam, D.S., Suresh Babu, K., Shetty, P.R., Mande, S.C. and Banerjee, S. (2025). Secondary metabolites from a new antibiotic-producing endophytic streptomyces isolate inhibited pathogenic and multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains. Tropical Medicine and Infectious Disease 10(5): 117. doi: 10.3390/tropicalmed10050117.
- Ventola, C.L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. P & T : a Peer-Reviewed Journal for Formulary Management 40(4): 277 - 283.
- Wang, R., Bao, Y., Dong, Y., Dong, Y. and Li, H. (2023). Genome-directed discovery of antiproliferative bafilomycins from a deepsea-derived *Streptomyces samsunensis*. Bioorganic Chemistry 138: 106599. doi: 10.1016/j.bioorg.2023.106599.
- Wongsariya, K., Duangupama, T., Pansomsuay, R., Thanaboripat, D. and Thawai, C. (2024). Genome characterization for the antimicrobial potential of *Streptomyces samsunensis* SA31, a rhizospheric actinomycete of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. Current Applied Science and Technology 25(1): e0260305. doi: 10.55003/cast.2024.260305.
- World Health Organization. (2022). Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2022. Geneva: World Health Organization. pp. 1 - 3.
- Yoon, S.H., Ha, S.M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H. and Chun, J. (2017). Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 67(5): 1613 - 1617. doi: 10.1099/ijsem.0.001755.
- Zhang, H., Lee, Y.K., Zhang, W. and Lee, H.K. (2006). Culturable actinobacteria from the marine sponge *Hymeniacidon perleve*: isolation and phylogenetic diversity by 16S rRNA gene-RFLP analysis. Antonie van Leeuwenhoek 90(2): 159 - 169. doi: 10.1007/s10482-006-9070-1.

