หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

1.1 มันฝรั่งและความสำคัญ

มันฝรั่ง (Irish potato) เป็นพืชที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของโลกมานานหลายศตวรรษแล้ว ในปีหนึ่ง ๆ ทั่วโลกผลิตมันฝรั่งได้ 297 ล้านตันต่อเนื้อที่ปลูกทั้งหมดประมาณ 138 ล้านไร่ แหล่งผลิตมันฝรั่งขนาดใหญ่ ได้แก่ เยอรมัน รัสเซีย โปแลนด์ ฝรั่งเศส สหรัฐอเมริกา และลาตินอเมริกา สวิสเซอร์แลนด์ สามารถผลิตมันฝรั่งสูงสุด 5 ตันต่อไร่ (คณาจารย์ภาคพืชไร่นา, 2527)

สำหรับประเทศไทยนั้นมันฝรั่งนับว่ามีความสำคัญไม่น้อย นิยมปลูกกันมากในแถบจังหวัดที่มีอุณหภูมิต่ำ โดยเฉพาะจังหวัดเชียงใหม่ นครราชสีมา มหาสารคาม แม่ฮ่องสอน และเชียงราย เกษตรกรนิยมปลูกมันฝรั่งเพราะผลผลิตต่อไร่สูงกว่าพืชหลักชนิดอื่น ๆ เช่น ข้าว ข้าวสาลี ข้าวโพด มันเทศ และมันสำปะหลัง เป็นต้น ประกอบกับปัจจุบันซึ่งเป็นยุคที่ธุรกิจเร่งรีบจำเป็นต้องประกอบอาหารที่ง่ายและรวดเร็ว มันฝรั่งจึงเป็นที่ต้องการของตลาดสูง และมีแนวโน้มที่จะขยายตัวมากขึ้น กล่าวคือ ได้มีภาคเอกชนทั้งในและต่างประเทศกำลังศึกษาถึงความเป็นไปได้ที่จะผลิตหัวมันฝรั่งในประเทศไทยส่งโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปต่าง ๆ ที่กำลังเป็นที่ต้องการของตลาด จึงต้องการมันฝรั่งในปริมาณสูงต่อปี (มาโนช ทองเจียม, 2529) นอกจากนี้ ในมันฝรั่งยังอุดมไปด้วยธาตุอาหารที่สำคัญคือ พลังงาน 3% โปรตีน 8% เหล็ก 10% วิตามินบี 1 10% และวิตามินซี 20-50% (Beukema และ Vander, 1979 ; อ้างถึงใน มาโนช ทองเจียม, 2529)

ในปี พ.ศ. 2527-2528 ประเทศไทยมีเนื้อที่ปลูกมันฝรั่งรวมถึง 8,000 ไร่ แต่อย่างไรก็ตามประเทศไทยยังคงนำเข้าแป้งมันฝรั่งกับหัวพันธุ์มันฝรั่งในแต่ละปีเป็นจำนวนมาก ขณะนี้ประเทศไทยกำลังศึกษาการขยายพันธุ์มันฝรั่งเพื่อให้ได้ต้นกล้าที่ดีอย่างเพียงพอ

และปรับปรุงหัวพันธุ์มันฝรั่งที่สามารถปลูกในแถบอุณหภูมิสูงได้ดี เพื่อลดการสั่งซื้อหัวพันธุ์จากต่างประเทศ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2531)

1.1.1 ประวัติและถิ่นกำเนิด

มันฝรั่งมีถิ่นกำเนิดทางแถบที่ราบสูงของเทือกเขาแอนดิส (Andes) ในอเมริกาใต้ ประเทศเปรู ซึ่งยังคงมีมันฝรั่งพันธุ์ป่าขึ้นอยู่ทั่วไป ต่อมานักสำรวจชาวสเปญได้นำไปปลูกในยุโรประหว่างปี ค.ศ. 1531-1535 ต่อมาในปี 1586 ได้แพร่ไปในประเทศอังกฤษ ไอร์แลนด์ และได้กลายเป็นอาหารหลักของชาวไอร์แลนด์ มันฝรั่งจึงมีชื่อเรียกเป็นภาษาอังกฤษว่า ไอริช โพเทโท (Irish potato) นอกจากคำว่า โพเทโท (potato) ต่อมามันฝรั่งได้แพร่ไปยังประเทศอื่นในแถบยุโรป รวมทั้งอเมริกาเหนือ อัฟริกา และเอเชีย

สำหรับประเทศไทยไม่ปรากฏหลักฐานแน่นอนว่านำเข้ามาเมื่อไร แต่ชาวเขาและชาวจีนฮ่ออพยพ ซึ่งอาศัยอยู่บริเวณภูเขาทางภาคเหนือรู้จักการปลูกมันฝรั่งมาเป็นเวลานานโดยเรียกมันฝรั่งว่า "อาลู" ซึ่งพันธุ์ดั้งเดิมไม่ทราบแน่ชัดว่ามาจากไหนเพราะอาจนำมาจากประเทศจีนหรือจากสหภาพพม่า ซึ่งถูกนำเข้ามาโดยชาวอังกฤษ ในปัจจุบันพันธุ์อาลูได้ถูกทดแทนด้วยมันฝรั่งพันธุ์จากต่างประเทศ มีคุณภาพและผลผลิตสูงกว่ามาก

1.1.2 สภาพการปลูกที่เหมาะสม

สภาพปลูกที่เหมาะสมจะมีผลอย่างมากในการให้ผลผลิตของมันฝรั่งประเทศแถบหนาวจะให้ผลผลิตสูงกว่าประเทศในแถบร้อน เพราะมันฝรั่งเป็นพืชที่ต้องการอากาศเย็นจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 21.1°ซ. หรือต่ำกว่านี้เล็กน้อย ขณะเป็นต้นอ่อนเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีอุณหภูมิ 23°ซ. มันฝรั่งจะลงหัวดีที่อุณหภูมิของดินประมาณ 20-28.8°ซ. ถ้าอุณหภูมิสูงกว่านี้จะลงหัวไม่ดีเพราะสารพวกคาร์โบไฮเดรต และน้ำตาลจะถูกใช้ในการหายใจหมด การปลูกในประเทศที่มีอากาศร้อนมักจะมีโรคแมลงรบกวน และค่าใช้จ่ายในการผลิตสูง ผลผลิตต่อไร่ต่ำ นอกจากอุณหภูมิที่เหมาะสมแล้วดินที่มีการระบายน้ำดี ดินร่วน หรือดินปนทรายจะปลูกมันฝรั่งได้ดี ถ้าดินเป็นดินเหนียวจะทำให้การถ่ายเทอากาศไม่ดีทำให้เป็นอุปสรรคต่อการสร้างหัวและการเจริญเติบโตของหัว (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2531)

1.1.3 ประโยชน์ของหัวมันฝรั่ง

เนื่องจากหัวมันฝรั่งมีคุณค่าทางอาหารสูงคือมีปริมาณของแป้งโปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามินบางอย่างอยู่ในเกณฑ์สูงดังที่กล่าวมาแล้ว ดังนั้นจึงนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายอาจจำแนกได้ดังต่อไปนี้

1. ใช้เป็นอาหารมนุษย์โดยตรง ชาวยุโรปและอเมริการับประทานมันฝรั่งในรูปต่าง ๆ เป็นอาหารหลัก ส่วนในประเทศไทยเราพึ่งบริโภคมันฝรั่งอย่างจริงจังในรูปของอาหารฟาสท์ฟูดแล้วก็ยังรับประทานในรูปอื่น เช่น แกง อาหารว่าง และขนมต่าง ๆ

2. ใช้ในอุตสาหกรรมทำแป้ง น้ำตาลกลูโคส เด็กซ์ตริน และแปรรูปเป็นอาหารว่าง อาหารขบเคี้ยวต่าง ๆ เช่น มันฝรั่งทอดแผ่นบาง ข้าวเกรียบมันฝรั่ง ฯลฯ

3. ใช้ในอุตสาหกรรมการหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์และกรดซิตริก

4. ใช้เลี้ยงสัตว์ เช่น โค กระบือ สุกร โดยใช้ในรูปหัวสด ต้ม หรือทำเป็นอาหารหมักก็ได้

1.1.4 โรคของมันฝรั่ง (Potato Diseases)

มันฝรั่งเป็นพืชที่มีโรคทำความเสียหายได้หลายโรค ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผลผลิตลดลง โรคที่ทำความเสียหายให้แก่มันฝรั่ง แบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม คือ โรคที่เกิดจากแอคติโนมัยซีส รา แบคทีเรีย และไวรัส

โรคที่เกิดจากเชื้อแอคติโนมัยซีส (Actinomyces Disease) ที่สำคัญได้แก่

โรคหูด (Common scab) ในประเทศไทยโรคหูดนับว่าเป็นศัตรูที่สำคัญของการปลูกมันฝรั่ง (สถาปัตย์ ปรีดา, 2517) สาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อ Streptomyces scabies (Thaxter) Wakman & Henrici (Syn. Actinomyces scabies (Thaxter) Gassow) ลักษณะของโรคคือเกิดแผลบริเวณผิวมันฝรั่งมีลักษณะคล้ายหูดผิวมันฝรั่งจะเปลี่ยนจากสีแทนอ่อนเป็นน้ำตาล เนื้อมันฝรั่งใต้แผลจะเปลี่ยนเป็นสีฟางข้าว บางส่วนใสลักษณะของแผลมีหลายแบบคือ เป็นที่ระดับผิวแบบนี้จะทำให้ผิวมันฝรั่งขรุขระเหมือนผิวไม้ก๊อก เป็นเนื้อนูนขึ้นจากระดับผิวซึ่งจะมีขนาด 1-2 มม. แบบสุดท้ายเป็นหลุมลึกลงไปจากระดับผิวมันฝรั่งมีขนาดประมาณ 7 มม. เป็นหลุมสีน้ำตาลเข้มหรือดำทั้งหมด (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา,

2527 ; Hooker, 1986) โรคนี้จะเจริญได้ดีในสภาพดินเป็นด่างและเป็นกรดอ่อน ๆ เช่น ในดินที่มีการใส่ปูนขาว ปุ๋ยคอก และในพื้นที่ที่มีการปลูกมันฝรั่งซ้ำ ๆ กัน ดังนั้น การรักษาความเป็นกรด-ด่างของดินให้อยู่ในช่วงเป็นกรดประมาณ 5.0-5.2 จะช่วยป้องกันการเกิดโรคได้ (The International Potato Center, 1983) แต่พบว่ามีโรคหูดที่สามารถเจริญได้แม้ในดินที่มีความเป็นกรด-ด่าง 5.3-5.5 (Manzer, McIntyre และ Merriam, 1977)

การป้องกันและกำจัดโรค โดยใช้สารเคมี คือ ใช้กำมะถัน 65-100 กก./ไร่ ซึ่งจะช่วยให้ดินมีสภาพเป็นกรด (Manzer, McIntyre Merriam, 1977) นอกจากนี้มีการใช้ฟอร์มาดีไฮด์, เมอร์คิวริคคลอไรด์, คูปราวิต, ลูนาโคล, ออโซไซด์ 50, ไดโพลแทนด์, มาแนบ, ซิแนบ, ปรีดาวิท 80% (สถาปัตย์ ปรีดา, 2517)

1.2 ความสำคัญของจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งต่อการควบคุมโรคพืช

วิธีการควบคุมโรคพืชโดยการใช้สารเคมีในรูปแบบต่าง ๆ ซึ่งถึงแม้ว่าสะดวกและรวดเร็วแต่ส่งผลเสียมากมายต่อสภาพแวดล้อม เช่น ผลของพิษตกค้างในผลผลิตจากพืช ดิน และแหล่งน้ำ ซึ่งนอกจากเป็นโทษต่อมนุษย์และสัตว์แล้วยังทำลายสภาพสมดุลย์ของธรรมชาติอย่างเลี่ยงไม่ได้ ดังนั้นเมื่อทั่วโลกได้ประสบกับปัญหา การเสื่อมโทรมของสิ่งแวดล้อม เนื่องจากการใช้สารเคมีที่ได้สะสมมานานแล้ว จึงหันมาศึกษาถึงการควบคุมทางชีวภาพ (biological control) กันอย่างจริงจัง ที่รู้จักกันดีคือการควบคุมวัชพืช แมลง และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคพืช

สำหรับการควบคุมทางชีวภาพต่อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคพืชนั้น ได้มีการศึกษากันมานานแล้ว แต่ยังได้รับความสนใจน้อย อาจเป็นเพราะเป็นวิธีการที่ซับซ้อนมากกว่าเนื่องจากต้องคำนึงถึงปัจจัยหลาย ๆ อย่างประกอบกัน (เกษม สร้อยทอง, 2532) การเสียความสมดุลย์ของสิ่งแวดล้อมเนื่องจากการกำจัดโรคพืช ทำให้มนุษย์พยายามรักษาความสมดุลย์ให้สู่สภาพปกติ แต่ก็ยากที่จะให้สำเร็จภายใน 2-3 ปี ดังนั้นเมื่อ 20 ปีที่ผ่านมาจึงได้มีการฟื้นฟูการศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง (antagonistic microorganisms)

การใช้สารเคมีในการกำจัดโรคพืชนั้นไม่ได้ทำลายเฉพาะจุลินทรีย์ที่ก่อโรคพืชเท่านั้น แต่ยังทำลายจุลินทรีย์ที่ประโยชน์อื่น ๆ เช่น ไมโครฟลอรา (Microflora) และกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง ซึ่งทำให้พืชที่ปลูกในฤดูกาลถัดไปสูญเสียความสามารถในการต้านโรคตามธรรมชาติ มีผลทำให้เกษตรกรต้องเพิ่มปริมาณสารเคมี ในการกำจัดโรคพืชให้ได้ผล

จิรเดช แจ่มสว่าง และบรรเจิด อินหว่าง (2529) ได้รายงานผลการเปรียบเทียบระหว่างการใช้สารเคมีกับจุลินทรีย์ในการควบคุมโรคเน่าระดับดินของฝ้ายที่เกิดจากเชื้อ Rhizoctonia solani พบว่า Bacillus spp. สามารถให้ผลการยับยั้งดีกว่าการใช้ไวทาแวกซ์ (Vitavax) ซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้ในการควบคุมโรคเน่าระดับดินของฝ้ายถึง 10%

Kosuge และ Nester (1989) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคพืชกับจุลินทรีย์ในดิน พบว่ามีจุลินทรีย์ถึง 256 ชนิด ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคพืช ได้แก่ รา 106 ชนิด แอคติโนมัยซิส 90 ชนิด และแบคทีเรีย 60 ชนิด

Azad และคณะ (1987) ได้ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างมันฝรั่งสายพันธุ์ที่ต้านโรคเหี่ยวจาก Verticillium daliae (A66107-51) กับสายพันธุ์ที่ไม่ต้านโรคเหี่ยวจาก V. daliae (Russet Burbank) พบว่าที่บริเวณผิวรากและดินบริเวณรอบรากของมันฝรั่งสายพันธุ์ที่ต้านโรคเหี่ยวมีจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งสูงกว่ามันฝรั่งสายพันธุ์ที่ไม่ต้านโรคเหี่ยว จุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งที่พบมาก ได้แก่ Bacillus spp. นอกนั้นก็เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มของ Pseudomonas, Gluconobacter, Flavobacterium และ Streptomyces ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความสามารถในการต้านโรคตามธรรมชาติของพืชนั้นมีความสัมพันธ์กันระหว่างสายพันธุ์ของมันฝรั่ง กับปริมาณจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งในดินที่มีอย่างเพียงพอ

Sanford (1926) สันนิษฐานว่าการที่ปุยพืชสดทำให้โรคหูดของมันฝรั่งลดลงนั้นน่าจะเป็นผลทางอ้อม แท้จริงแล้วเป็นเพราะจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งต่อ S. scabies

Millard และ Taylor (1927) พบว่า S. praecox เป็นจุลินทรีย์ตัวยับยั้งต่อ S. scabies

Atkinson และ Rouatt (1950) พบว่าการใช้ปุ๋ยพืชสดของต้นถั่วเหลือง ทำให้โรคหูดของมันฝรั่งลดลง แต่การใช้ปุ๋ยพืชสดของต้นข้าวไร ไม่มีผลแต่อย่างใด

Weinhold และ Bowman (1968) พบว่าการใช้ต้นถั่วเหลืองเป็นปุ๋ยพืชสดในแปลงปลูกมันฝรั่ง ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งต่อ S. scabies เพิ่มปริมาณขึ้นมากกว่าการใช้ต้นข้าวบาร์เล่ย์ ทำให้สามารถลดการเป็นโรคหูดของมันฝรั่งได้ และพบว่าจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งต่อ S. scabies ส่วนใหญ่ ได้แก่ B. subtilis และเมื่อสกัดสารปฏิวนะจาก B. subtilis มาทดสอบกับ Streptomyces สายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรค (non-pathogen) เปรียบเทียบ S. scabies ปรากฏว่า Streptomyces สายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรคถูกยับยั้งเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับ S. scabies นั่นคือสารปฏิชีวนะจาก B. subtilis มีฤทธิ์ค่อนข้างจำเพาะต่อ S. scabies

David และ Everson (1986) พบว่าการเพิ่มไนโตรเจนในแปลงปลูกมันฝรั่งสายพันธุ์ Russet Burbank จะลดปริมาณการเกาะของเส้นใย V. daliae ที่บริเวณลำต้นของมันฝรั่งทำให้ความรุนแรงของโรคเหี่ยวลดลง

Xu และ Gross (1986a, 1986b) ได้คัดเลือกเชื้อ fluorescent pseudomonads จากมันฝรั่ง นำมาศึกษาเพื่อยับยั้งโรคเน่าเละของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ Erwinia carotovora subsp. atroseptica โดยการคลุกเชื้อ Pseudomonads กับหัวพันธุ์มันฝรั่ง ทำการศึกษาในเรือนกระจก พบว่ามันฝรั่งสามารถเป็นต้นได้ถึง 64% และอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นประมาณ 7 เท่า เมื่อเทียบกับหัวพันธุ์ที่ชุบด้วย E.c. subsp. atroseptica ส่วนการศึกษาในแปลงทดลองพบว่าสามารถควบคุมโรคเน่าเละของมันฝรั่งได้ และทำให้ผลผลิตของมันฝรั่งเพิ่มขึ้น 11.7% ในปีแรกและ 10.2% ในปีถัดมา

Jager และ Velvis (1986) ได้คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วย 3 สายพันธุ์ของ Verticillium biguttulatum พบว่าสามารถลดการเกิดสเคลอโรเทีย (schrotia) ของ Rhizoctonia solani บนหัวมันฝรั่งอ่อน ๆ

Bakker และคณะ (1986) พบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตของมันฝรั่งเมื่อคลุกหัวพันธุ์ด้วย Pseudomonas putida

เกษม สร้อยทอง (2532) กล่าวถึงการใช้จุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งกับส่วนขยายพันธุ์ของพืช เช่น ราก เมล็ดที่กำลังงอก และหน่วยที่กำลังงอกอื่น ๆ นั้นเป็นวิธีการป้องกันโรคพืชที่มีประสิทธิภาพสูง และประหยัดค่าใช้จ่ายมาก

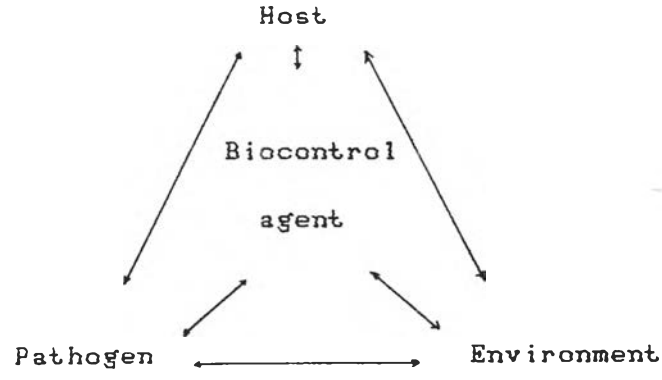
Mackeen, Reilly และ Pusey (1985) ได้สกัดสารปฏิชีวนะจาก B. subtilis ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง Monilinia fructicola ซึ่งทำให้เกิดโรคเน่าสีน้ำตาลของผลไม้ประเภทมีเมล็ดแข็งหลายชนิด

Bewick (1977) ได้กล่าวถึงการผลิตสารปฏิชีวนะในถังหมักขนาดใหญ่เพื่อใช้ในการควบคุมโรคพืชในประเทศญี่ปุ่นและประเทศอื่น ๆ และในปี 1967 ได้มีการผลิตสารปฏิชีวนะบลาสติซิดิน เอส (blasticidin S) ขนาด 10,000 ตัน เพื่อใช้ควบคุม Piricularie orzae ที่ทำให้เกิดโรคไหม้ของข้าว

นอกจากนี้ได้มีการใช้ประโยชน์จากของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมผลิตยาปฏิชีวนะโดยนำไปใช้เลี้ยงสัตว์ และใช้ทำปุ๋ย (เนื่องจากมีปริมาณไนโตรเจนสูง) รวมทั้งการควบคุมโรคพืช พบว่ายาปฏิชีวนะที่ปนอยู่ในของเหลือทิ้งได้สะสมอยู่ในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น พบยาเพนนิซิลิน (penicillin) ในนม เป็นต้น สำหรับพืชนั้นไม่มีรายงานการตรวจพบยาปฏิชีวนะสะสมในผลิตภัณฑ์จากพืชแต่อย่างใด

1.3 กลไกการควบคุมทางชีวภาพของจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง (Mechanism of Biological Control)

ในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพให้ประสบผลสำเร็จนั้นจำเป็นต้องเข้าใจความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ตัวควบคุมและตัวก่อโรค รวมไปถึงชนิดของพืชและผลของสภาวะแวดล้อมซึ่งสิ่งเหล่านี้ล้วนแล้วแต่มีอิทธิพลต่อการเกิดโรคพืช (Kosuge และ Nester, 1989) กลไกของการควบคุมทางชีวภาพโดยสังเขป



1.3.1 การแย่งอาหารที่จำเป็น (Nutrient competition) เกิดขึ้นเมื่อจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ย้บยั้งทำให้ปริมาณสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคลดลงหรือมีไม่เพียงพอ เช่น เหล็ก คาร์บอน ไนโตรเจน ออกซิเจน และสารอาหารอื่น ๆ ที่ต้องการในปริมาณน้อย (micronutrients) แต่จำเป็นต้องใช้ขบวนการที่ทำให้สารอาหารลดลงได้แก่

1.3.1.1 ตัวควบคุมมีปริมาณมากกว่า เช่น ไมโครฟลอราซึ่งมีปริมาณมากสามารถแย่งสารอาหารในดิน ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคพืชขาดอาหารทำให้ไม่สามารถก่อให้เกิดโรคพืช พบว่าถ้าใช้สารเคมี เช่น ฟอร์มัลดีไฮด์หรือกรดแลคติดทำลายไมโครฟลอราที่ผิวของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดก่อนปลูก พบว่า จะทำให้ข้าวโพดเป็นโรคที่เกิดจาก Helminthosporium sativum ได้มากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในดินที่ถูกทำให้ปราศจากโรคก่อน

1.3.1.2 ตัวควบคุมมีระบบการบริโภคสารอาหารที่มีประสิทธิภาพมากกว่า เช่น Pseudomonas spp. ซึ่งจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะผลิตสารที่เรียกว่า สิเดอโรฟอร์ (siderophore) (รูปที่ 1.1) ซึ่งเป็นสารสีเหลืองแกมเขียวมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำผลิตแล้วปล่อยออกนอกเซลล์ และละลายน้ำได้คุณสมบัติที่สำคัญคือ เป็นสารที่สามารถจับกับธาตุเหล็กในรูปของ Fe^{3+} ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง ทำให้ดินบริเวณนั้นขาดธาตุเหล็กที่อยู่ในสภาพที่จุลินทรีย์ตัวก่อโรคสามารถนำเข้าสู่เซลล์ได้ ทำให้เกิดสภาวะขาดธาตุเหล็ก (iron starvation) แล้วตายในที่สุด ทั้งนี้เพราะจุลินทรีย์พวกแอโรบ (aerobe) และแฟคคัลเตตีป แอนแอโรบ (Facultative

anaerobe) มีธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์และโปรตีน ซึ่งใช้ในขบวนการต่าง ๆ คือ ขบวนการหายใจ การสังเคราะห์ดี เอ็น เอ การตรึงกาซไนโตรเจน ลดความเป็นพิษของอิออนอิสระ และขบวนการสร้างพลังงานจากกาซไฮโดรเจน

1.3.2 การเป็นพาราสิตต่อเส้นใยของรา (Mycoparasitism) เมื่อเส้นใยของพาราสิตซึ่งในที่นี้ทำหน้าที่เป็นจุลินทรีย์ตัวยับยั้งสัมผัสกับเส้นใยของเจ้าเรือนซึ่งหมายถึง จุลินทรีย์ตัวก่อโรคเส้นใยของพาราสิตจะเจาะเข้าไปในเส้นใยของจุลินทรีย์ตัวก่อโรค แล้วปล่อยเอนไซม์ เบต้า-1, 3-กลูคาเนส (β-1, 3-glucanase) และไคติเนส (chitinase) ออกมาย่อยสลายผนังเซลล์ของตัวก่อโรค ตัวอย่างเช่น Sporidesmium sp. เป็นพาราสิตของ Schrotium minor, Trichoderma sp. เป็นพาราสิตของ Rhizoctonia solani และ T. harzianum เป็นพาราสิตของ Scherotium rolfsii

1.3.3 แอนติไบโอซีส (Antibiosis) หรือการผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ของจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง ซึ่งคำว่า แอนติไบโอซีสเป็นปฏิกิริยาของสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยไม่รวมผลการยับยั้งของเอนไซม์และโปรตีนโมเลกุลใหญ่ชนิดอื่น ๆ ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถมีผลการยับยั้งต่อจุลินทรีย์ตัวก่อโรคพืช กลุ่มจุลินทรีย์ที่สร้างสารปฏิชีวนะ ได้แก่ Actinomycetes Bacillaceae และรา ในการใช้จุลินทรีย์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะในการควบคุมโรคพืชมีข้อควรคำนึง 4 ประการคือ

1.3.3.1 สภาวะที่เหมาะสมต่อจุลินทรีย์ตัวยับยั้งและสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิของดิน เป็นต้น

1.3.3.2 ความรุนแรง และกลไกการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ตัวก่อโรค สภาวะที่อ่อนแอของพืชต่อการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ตัวก่อโรค จุลินทรีย์ตัวก่อโรคจะเข้าทำลายพืชในระยะที่ต่างกันไปขึ้นกับชนิดของโรคนั้น ๆ

1.3.3.3 ความจำเพาะของสารปฏิชีวนะต่อจุลินทรีย์ตัวก่อโรค สารปฏิชีวนะที่ดีต้องไม่ทำลายไมโครฟลอราของพืชนั้น ๆ เช่น ไรโซเบียมของพืชตระกูลถั่ว พบว่าการใช้ Actinomycete เป็นจุลินทรีย์ตัวยับยั้งในการควบคุมโรคเน่าระดับดิน

(damping off) ของหญ้าอัลฟัลฟาที่เกิดจากเชื้อ Pythium ultimum จะไม่ทำลายไรโซเบียมแต่อย่างใด (Gregory และคณะ, 1952)

1.3.3.4 ความเสถียรและกลไกการยับยั้งของสารปฏิชีวนะ สารปฏิชีวนะบางชนิดสลายตัวได้เร็วเมื่ออยู่ในดิน

สาเหตุการสลายตัวของสารอาจจะเนื่องจากความไม่เสถียรทางเคมีในโมเลกุลของสารเอง เช่น เพนนิซิลิน, วิริดิน (viridin), ไกลโอทอกซิน (gliotoxin), ฟรีเควนติน (frequentin) และอัลบิดิน (albidin) เป็นต้น เกิดจากการย่อยสลายเนื่องจากจุลินทรีย์ในดิน พวกไมโครฟลอรา เช่น คลอแรมฟินิคอล เมื่ออยู่ในดินที่ทำให้ปราศจากเชื้อสามารถเสถียรอยู่ได้นานถึง 14 วัน แต่เมื่ออยู่ในดินธรรมดาจะสลายตัวอย่างรวดเร็วภายใน 3 วัน (Gottlieb, 1976) นอกจากนี้ยังเกิดการยึดเกาะกับดิน แร่ธาตุและสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในดินที่มีประจุลบ เช่น อิลไลท์ (illite), เบนโทไนท์ (bentonite) คาโอลิไนท์ (kaolinite) และเวอร์มิคิวไลท์ (vermiculite) เมื่อสารปฏิชีวนะที่มีประจุบวกมาเกาะก็จะทำให้สูญเสียปฏิกิริยาทางชีววิทยา ดังนั้นจึงแบ่งสารปฏิชีวนะตามการยึดเกาะกับดินได้ 3 กลุ่มคือ

1.3.3.4.1 สารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง (Basic antibiotics) สารปฏิชีวนะในกลุ่มนี้จะถูกยึดเกาะได้ดีที่สุด จึงสูญเสียปฏิกิริยาทางชีววิทยาได้ง่ายที่สุด ได้แก่ สเตรปโตมัยซิน (streptomycin) ไดไฮโดรสเตรปโตมัยซิน (dihydrostreptomycin) นีโอมัยวิน (neomycin) คานามัยซิน (kanamycin) และอีริทโทรมัยซิน (erythromycin) เป็นต้น

1.3.3.4.2 สารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติเป็นแอมโฟเทอริค (Amphoteric antibiotics) สารในกลุ่มนี้จะยึดเกาะกับดินก็ต่อเมื่อจุดไอโซอิเลคตริก (isoelectric point) ของสารสูงกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน แต่ถ้าหากจุดไอโซอิเลคตริกของสารมีค่าต่ำกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของดินสารปฏิชีวนะชนิดนั้นจะมีคุณสมบัติเหมือนสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติเป็นกรด ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ได้แก่ เบซิเทรซิน (bacitracin) ออริโอมัยซิน (aureomycin) และเทอรามัยซิน (terramycin)

1.3.3.4.3 สารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติเป็นกรดหรือเป็นกลาง (Acidic or neutral antibiotics) สารปฏิชีวนะในกลุ่มนี้จะสูญเสียปฏิกิริยาทางชีววิทยาต่ำที่สุด ได้แก่ เพนนิซิลิน คลอแรมฟินิคอล คลาวาซิน (clavacin) และไซโคลเอกซิไมด์ (cycloheximide) เป็นต้น

อย่างไรก็ตามสารปฏิชีวนะบางชนิดสามารถหลุดจากการยึดเกาะของดินได้ เมื่อใช้ฟอสเฟตหรือซิเตรตบัฟเฟอร์ สารที่มีคุณสมบัติเป็นแอมโฟเทอริคมีโอกาสหลุดได้มากกว่าสารที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง (Bewick, 1977)

1.3.4 การทำให้เกิดสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น การเจริญของ Aspergillus sp. และแบคทีเรียบางกลุ่มทำให้ดินมีสภาพเป็นกรดซึ่งทำให้สปอร์ของ S. scabies ไม่สามารถแตกหน่อ (germination) ได้ (Sanford, 1926)

1.3.5 การควบคุมทางชีวภาพของหลายขบวนการรวมกัน (Multiple Mechanism of Biocontrol) ในสภาพธรรมชาติซึ่งมีสิ่งมีชีวิตหลายชนิดอยู่ร่วมกันในระบบนิเวศน์วิทยานั้นย่อมมีโอกาสที่จะมีการควบคุมโรคพืชโดยหลายขบวนการร่วมกันอย่างเลี่ยงไม่ได้ เช่น ในการควบคุม S. scabies อาจมีการควบคุมร่วมกันระหว่างการทำให้สภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสมและการเกิดแอนติไบโอซิส

1.4 สารปฏิชีวนะ (Antibiotics)

1.4.1 การจัดกลุ่มสารปฏิชีวนะ (Classification of Antibiotics)

มีการจัดกลุ่มสารปฏิชีวนะหลายแบบ เช่น จัดตามโครงสร้างทางเคมี จัดตามแหล่งที่ผลิต จัดตามกลไกการออกฤทธิ์ จัดตามขอบเขตในการยับยั้งและจัดตามวิธีการสังเคราะห์ แต่ยังไม่มีวิธีไหนที่สามารถจัดได้อย่างสมบูรณ์ ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะการจัดตามโครงสร้างทางเคมี (Mark และคณะ 1978)

การจัดกลุ่มตามโครงสร้างทางเคมีของสารปฏิชีวนะ แบ่งได้ 8 กลุ่ม คือ

1.4.1.1 กลุ่มเพนนิซิลินและกลุ่มใกล้เคียง (Penicillin and Related Antibiotics)

1.4.1.2 กลุ่มอมิโนไกลโคไซด์ (Aminoglycoside Antibiotics)

1.4.1.3 กลุ่มมาโครไลด์ (Macrolide Antibiotics)

1.4.1.4 กลุ่มเตตราไซคลิน (Tetracycline Antibiotics)

1.4.1.5 กลุ่มคลอแรมฟีนิคอล (Chloramphenical)

1.4.1.6 กลุ่มเปปไทด์ (Peptide Antibiotics)

1.4.1.7 กลุ่มที่ยับยั้งรา (Antifungal Antibiotics)

1.4.1.8 สารปฏิชีวนะที่ไม่สามารถจัดกลุ่ม

1.5 สารปฏิชีวนะกลุ่มเปปไทด์ (Peptide Antibiotics)

กลุ่มเปปไทด์นับว่าเป็นสารปฏิชีวนะกลุ่มใหญ่ แต่ได้ประยุกต์นำมาใช้ทางการแพทย์เพียงไม่กี่ชนิดเมื่อเทียบกับจำนวนที่ค้นพบทั้งหมด ซึ่งอาจจะเพราะว่าสารปฏิชีวนะกลุ่มนี้มีความเสถียรน้อย (unstable) มีความเป็นพิษ และทำให้บริสุทธิ์ได้ยาก (Casida, 1968) สารปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ใช้ผสมในอาหารสัตว์รวมทั้งรักษาโรคของสัตว์ นอกจากนี้ยังใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง สำหรับแหล่งของสารปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม Bacillus spp. และ Streptomyces spp. จากจุลินทรีย์ชนิดอื่นนั้นมีน้อยมาก เช่น Aspergillus ochraceus, Fusarium avenaceum และ Pseudomonas antimycetica เป็นต้น (Mark และคณะ, 1978) สารปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่จะยับยั้งแบคทีเรียพวกแกรมส์บวกได้ดีแต่ก็มีบ้างเพียงเล็กน้อยที่สามารถจุลินทรีย์กลุ่มอื่น

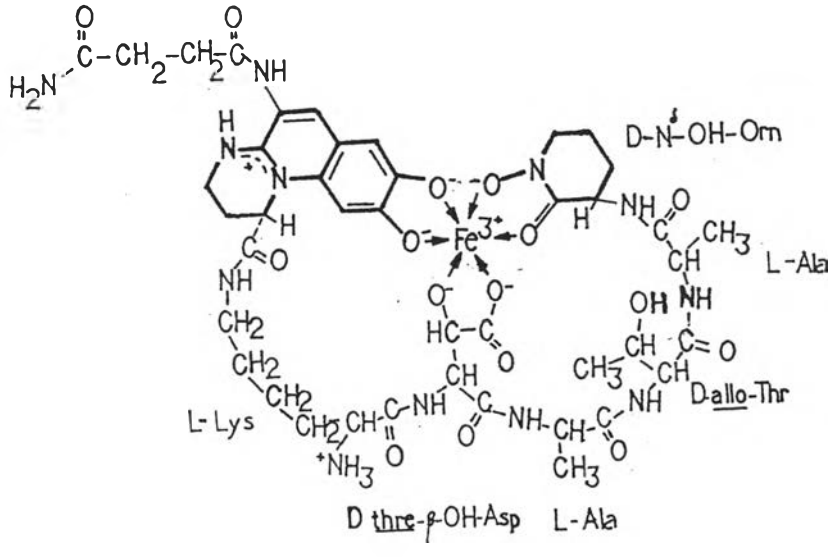
แบคทีเรียกลุ่ม Bacillus spp. นั้นมีรายงานการค้นพบสารปฏิชีวนะถึง 168 ชนิด (Shoji, 1978) ในบางสายพันธุ์สามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด และในขณะเดียวกันสารปฏิชีวนะชนิดเดียว ก็อาจจะผลิตจากสายพันธุ์ที่ต่างกัน เช่น เบซิเทรซิน จาก B. licheniformis และ B. subtilis โพลีมัยซิน จาก B.polymyxa, B. aerosporin, B. colistinus และ B. circulans (ในการผลิตให้ได้ผลผลิตสูงสุดนั้นใช้สภาวะแวดล้อมและอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต่างกัน) โดยส่วนมากแล้วสารปฏิชีวนะจาก Bacillus spp. จัดเป็นพวกเปปไทด์หรือโพลีเปปไทด์

1.5.1 ความสัมพันธ์ของการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะกลุ่มเปปไทด์กับการสร้างสปอร์

พบว่าการสร้างสารปฏิชีวนะของแบคทีเรียกลุ่ม Bacillus spp. สัมพันธ์กับการสร้างสปอร์กล่าวคือ การสร้างสปอร์จะเริ่มขึ้นเมื่อเซลล์ได้สังเคราะห์สารปฏิชีวนะถึงจุดสูงสุดโดยที่ สารปฏิชีวนะจะถูกสังเคราะห์ก็ต่อเมื่อสภาวะการเลี้ยงเชื้อเอื้ออำนวยต่อการสร้างสปอร์เท่านั้น และถ้าทำให้จุลินทรีย์กลายพันธุ์หรือยับยั้งการสร้างสารปฏิชีวนะ (ab^-) จุลินทรีย์จะไม่สามารถสร้างสปอร์ได้ (sp^-) (Bernlohr และ Novelli, 1963; Bodansky และ Perlman, 1969; Sarkar และ Paulus, 1972; Egorov และคณะ, 1986) ความสำคัญของสารปฏิชีวนะต่อการสร้างสปอร์นั้นอาจจะเนื่องจากจุลินทรีย์นำสารปฏิชีวนะไปสร้างเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของสปอร์ ได้มีการเติมเบซิเทรซินที่ติดฉลากสารกัมมันตภาพรังสีลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ B. licheniformis พบว่าสปอร์ที่เซลล์สร้างขึ้นมีสารกัมมันตภาพรังสีติดอยู่ (Bernlohr และ Novelli, 1963) และเมื่อเติมเบซิเทรซินลงในอาหารเลี้ยงเชื้อของ B. thuringiensis ทำให้ขนาดของสปอร์ใหญ่ขึ้น (Garcia, 1985) ซึ่งเป็นไปได้ว่าจุลินทรีย์อาจจะใช้สารปฏิชีวนะในขบวนการสร้างสปอร์ กล่าวคือในช่วงที่การสร้างสปอร์ยังไม่สมบูรณ์ (forespore) สารปฏิชีวนะพวกเปปไทด์ทำหน้าที่เป็นตัวนำแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) และกรดไดพิโคลินิค (DPA) ผ่านเยื่อหุ้มสปอร์ส่วนนอก (outer forespore membrane) ไปยังบริเวณคอร์เท็กซ์ของสปอร์ หลังจากนั้นยังมีบทบาทในการดึงน้ำจากไซโตพลาสลมของสปอร์ซึ่งทำให้สปอร์เกิดการหดตัวและหยุดขบวนการเมตาบอลิสมทั้งหมด (Hodgson, 1970)

แต่มีการพบว่าแสงอุลตราไวโอเล็ตทำให้เชื้อ B. licheniformis SB319 ไม่สามารถผลิตเบซิเทรซิน แต่ยังสามารถสร้างสปอร์ได้ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าถ้าจุลินทรีย์ยังคงผลิตเบซิเทรซินได้ก็ต้องมีปริมาณน้อยกว่า 0.1 หน่วย/มล. ซึ่งไม่สามารถตรวจได้ด้วยวิธีที่ใช้คือ วิธีโครมาโตกราฟีแบบผิวบางและการซึมผ่านวุ้น (agar diffusion method) แต่ก็เป็นปริมาณที่เพียงพอต่อการสร้างสปอร์ของจุลินทรีย์ (Haavik และ Thomassen, 1973)

นอกจากนี้ยังมีสมมุติฐานว่าสารปฏิชีวนะอาจจะทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมการถอดรหัสของยีนในช่วงที่เปลี่ยนจากการเจริญของเซลล์ (Vegetative growth) ไป

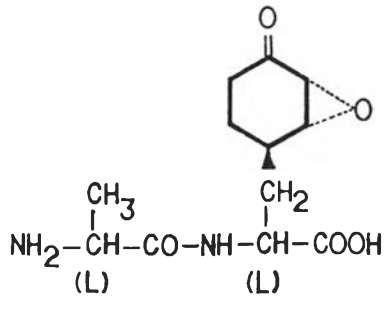


รูปที่ 1.1 เป็นโครงสร้างของเฟอริค ซิโดแบคติน ซึ่งเป็นสิเดอโรฟอร์ที่ผลิตจาก Pseudomonas สายพันธุ์ B10 (Kosuge และ Nester, 1989)

สู่การสร้างสปอร์ (sporulation) ได้มีการศึกษาผลของไทโรทริซิน (tyrothricin) ต่อเอนไซม์อาร์เอ็นเอโพลีเมอเรส (RNA polymerase) ของ B. brevis ATCC8185 พบว่าสารปฏิชีวนะจะเลือกยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์เฉพาะเมื่อเซลล์อยู่ในช่วงเจริญเท่านั้นเมื่อเลยช่วงนี้ไปแล้วก็จะไม่มีการยับยั้งแต่อย่างใด (Sarkar และ Paulus, 1972)

1.5.2 คุณสมบัติโดยทั่วไปของสารปฏิชีวนะพวกเปปไทด์ มี 7 ลักษณะคือ (Bodanszky and Perlman, 1964; Katz and Demain, 1977; Grayson, 1982)

1.5.2.1 มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเมื่อเทียบกับโปรตีนอื่น ๆ คืออยู่ในช่วง 270-4,500 ดาลตัน น้ำหนักโมเลกุลต่ำสุดคือบาซิไลซิน (bacilysin) สูงสุดคือไลเคนนิฟอร์มิน (licheniformin)



รูปที่ 1.2 แสดงโครงสร้างโมเลกุลของบาซิไลซิน

1.5.2.2 จุลินทรีย์ชนิดเดียวสามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้หลายกลุ่มโดยแบ่งตามองค์ประกอบทางเคมีที่ต่างกัน และสารปฏิชีวนะที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันอาจมีความแตกต่างของกรดอะมิโนเพียงตัวเดียวไปจนถึงหลาย ๆ ตัว

1.5.2.3 มีองค์ประกอบอื่น ๆ ในโครงสร้างโมเลกุลนอกเหนือจากกรดอะมิโน ซึ่งต่างจากโปรตีนโดยทั่วไปที่ได้จากพืชและสัตว์ เช่น โพลีมัยซินมีกรดไขมัน 6-กรดเมทิวเฮพทาโนอิค (6-methylheptanoic) เป็นองค์ประกอบ

1.5.2.4 มีกรดอะมิโนที่มีลักษณะเฉพาะ ซึ่งไม่พบในโปรตีนธรรมดาทั่วไป แต่จะเป็น ดี-กรดอะมิโน (D-amino acids) เบส-กรดอะมิโน (basic-amino acids) ได้แก่ ออร์นิทีน (ornithine) และกรดไดอะมิโนบิวไทริค (diaminobutyric acids) เบตา-กรดอะมิโน (β-amino acids) กรดดีไฮโดรอะมิโน

017903

(dehydroamino acids) ได้แก่ ดีไฮโดรอะลานีน (dehydroalanine) และกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์ ได้แก่ แลนไทโอนีน (lanthionine)

1.5.2.5 ไม่สามารถย่อยด้วยเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนทั่วไป เช่น เปปติเดส (peptidases) และโปรติเอส (protiases) ที่ได้จากพืชและสัตว์

1.5.2.6 ในขบวนการสังเคราะห์นั้นถ้ามีการแทนที่กรดอะมิโนบางตัวด้วยกรดอะมิโนอื่นที่มีความสัมพันธ์กันก็ไม่ทำให้ปฏิกิริยาของสารปฏิชีวนะเปลี่ยนแปลงแต่อย่างใด เช่น ในโครงสร้างเบซิเทรซินสามารถแทนที่ L-Valine ด้วย L-Isoleucine

1.5.2.7 มีขบวนการสังเคราะห์ที่ต่างจากเปปไทด์ทั่วไป คือจะถูกสังเคราะห์ขึ้นด้วยระบบของเอนไซม์ ยกเว้น ไนซิน (nisin) และซับทิลิน (subtilin)

จากการเติมสารยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน เช่น 5-ฟลูออโรยูราซิล (5-fluorouracil) 5-โบรโมยูริดีน (5-bromouridine) พูโรมัยซิน (puromycin) ไมโตมัยซิน ซี (mitomycin C) และคลอแรมฟีนิคอลลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตสารปฏิชีวนะ พบว่าไม่มีผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะแต่อย่างใด (Cornell และ Snoke, 1964; Roscoe และ Abraham, 1966; Bodanszky และ Perlman, 1969)

1.6 การสกัดแยกสารปฏิชีวนะกลุ่มเปปไทด์

จากรายงานการสกัดแยกสารปฏิชีวนะกลุ่มเปปไทด์มีด้วยกันมากมายหลายวิธี แบ่งตามลักษณะวิธีการได้ 4 แบบคือ

1.6.1 การตกตะกอน (Precipitation)

มีรายงานหลายฉบับแยกสารปฏิชีวนะจากน้ำหนักโดยการตกตะกอนด้วยเกลือ เช่น เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต (Goorley, 1949; Bhunia, Johnson และ Ray , 1988)

1.6.2 คอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column chromatography)

คอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยอาศัยความแตกต่างระหว่างประจุ (ion exchange column chromatography) เช่น อัมเบอร์ไลท์ เรซิน

(Amberlite resin) เช่น IR-120, IR-4B, MB4, IRC50 และ XAD-2 ชนิดที่อาศัยความแตกต่างขนาดโมเลกุล (gel filtration) เช่น Superose-12-HR 10/30 (Callow และ Work, 1952; Shortridge, 1957; Zinn และ Chornock, 1958; Hoff, 1972; Kurusu และ Ohba, 1987; Bhunia และ Johnson, 1988)

1.6.3 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction)

วิธีนี้ได้รับความนิยมน้อยกว่าวิธีที่กล่าวมาแล้ว สารละลายที่ใช้สกัดได้แก่ บิวทานอล (n-butanol) น้ำ เอทธานอล เอทิลอะซิเตต อะซีโตน และเมธทานอล (Senkus และ Markunus, 1952; Weinhold และ Bowman, 1968; Miescher, 1974; Mackeen, Reilly และ Pusey, 1986, Kurusu และ Ohba, 1987)

1.6.4 การทำให้อยู่ในรูปของเกลือโลหะ (Metal salt)

ในวิธีนี้สารปฏิชีวนะจะฟอร์มตัวกับอิออนของโลหะ ในน้ำหมักโดยตรง โดยอยู่ในรูปเกลือที่ไม่ละลายน้ำ วิธีนี้ส่วนมากใช้สกัดสารปฏิชีวนะเพื่อผสมในอาหารสัตว์ เกลือของโลหะที่ใช้ เช่น $ZnCl_2$ $ZnSO_4$ เป็นต้น (Zinn และ Chornock, 1958; Monroe และ Ward, 1967)

1.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ

1.7.1 องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

แบคทีเรียก็เหมือนสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่ต้องการสารอาหารสำหรับการเจริญ สร้างองค์ประกอบของเซลล์ การทำกิจกรรมต่าง ๆ ของเซลล์ เช่น การทำงานของเอนไซม์ การขนส่ง ตลอดไปจนถึงการหายใจ นอกจากนี้ยังมีการผลิตเมตาโบไลท์ซึ่งขึ้นกับชนิดของแบคทีเรีย ในสารอาหารจะประกอบไปด้วยแร่ธาตุชนิดต่าง ๆ ดังนั้นสามารถแบ่งแร่ธาตุตามความต้องการของแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่ม (Gottschalk, 1986)

- <u>สารที่ต้องการในปริมาณสูง</u> (Major bioelements)

แร่ธาตุในกลุ่มนี้แบคทีเรียมีความต้องการในความเข้มข้นที่สูงกว่า 10^{-4} โมลาร์ มีทั้งหมด 12 ชนิด หน้าที่และความสำคัญดังแสดงในตารางที่ 1.1 แร่ธาตุที่สำคัญและเป็นองค์ประกอบหลักของสารอินทรีย์ ได้แก่ คาร์บอน ออกซิเจน ไฮโดรเจน และไนโตรเจน

- <u>กลุ่มที่ต้องการในปริมาณน้อย</u> (Minor bioelement)

แร่ธาตุในกลุ่มนี้แบคทีเรียมีความต้องการเพียงปริมาณน้อยคือต่ำกว่า 10^{-4} โมลาร์ เช่น สังกะสี และแมงกานีส เป็นแร่ธาตุที่จุลินทรีย์ทุกชนิดต้องการ แหล่งและหน้าที่ของแร่ธาตุในกลุ่มนี้ดังแสดงในตารางที่ 1.2

<u>ตารางที่ 1.1</u> แหล่งและหน้าที่ของแร่ธาตุที่แบคทีเรียมีความต้องการในปริมาณสูง (Major Bioelements)

ชนิดของแร่ธาตุ	แหล่งของแร่ธาตุ	หน้าที่และความสำคัญต่อเซลล์แบคทีเรีย
คาร์บอน (C)	สารประกอบอินทรีย์, CO_2	เป็นองค์ประกอบหลักของเซลล์
ออกซิเจน (O)	O_2, น้ำ, สารประกอบอินทรีย์, CO_2	เป็นองค์ประกอบหลักของเซลล์
ไฮโดรเจน (H)	H_2, น้ำ, สารประกอบอินทรีย์	เป็นองค์ประกอบหลักของเซลล์
ไนโตรเจน (N)	NH_4^+, NO_3^-, N_2, สารประกอบอินทรีย์	
ซัลเฟอร์ (S)	SO_4^{2-}, HS^-, S^o, $S_2O_3^{2-}$, สารประกอบอินทรีย์	เป็นองค์ประกอบของซิสทีอิน (cysteine เมทไธโอนีน (methionine), ไทอามีน (thaiamine), ไพโรฟอสเฟต (pyrophosphate), โคเอนไซม์ เอ, ไบโอติน (biotin) และเอลฟา-ลิโปอิค (α-lipoic acid)

ชนิดของแร่ธาตุ	แหล่งของแร่ธาตุ	หน้าที่และความสำคัญต่อเซลล์แบคทีเรีย
ฟอสฟอรัส (P)	HPO_4^{2-}	เป็นองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิค, ฟอสฟอไลปิด และนิวคลีโอไทด์
โปตัสเซียม (K)	K^+	เป็นอิออนหลักของเซลล์, โคแฟคเตอร์ของเอนไซม์บางชนิด เช่น ไพรูเวทไคเนส
แมกนีเซียม (Mg)	Mg^{2+}	เป็นโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์หลายชนิด เช่น ไคเนส, องค์ประอบของผนังเซลล์, เมมเบรน, ไรโบโซม และฟอสเฟสเอสเตอ (phosphateester)
แคลเซียม (Ca)	Ca^{2+}	พบในเอกโซเอนไซม์ เช่น อไมเลส, โปรติเอส และองค์ประกอบของผนังเซลล์ เช่น แคลเซียม-ไดพิโคลิเนท (Ca-dipicolinate) ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเอนโดสปอร์
เหล็ก (Fe)	Fe^{2+},Fe^{3+}	พบในไซโตโครม (Cytochromes), เฟอริดอกซิน (ferridoxins) และโปรตีนที่มีเหล็ก-ซัลเฟอร์ (iron - sulfur proteins) ได้แก่ โคแฟคเตอร์ของเอนไซม์ดีไฮดราเทส (dehydratases) บางชนิด
โซเดียม (Na)	Na^+	เกี่ยวข้องกับขบวนการขนส่งของเซลล์ (transport process)
คลอริน (Cl)	Cl^-	เป็นอิออนที่สำคัญของเซลล์

ที่มา : Gottschalk, 1986

ตารางที่ 1.2 แหล่งและหน้าที่ของแร่ธาตุที่แบคทีเรียมีความต้องการในปริมาณน้อย (Minor bioelement)

ชนิดของแร่ธาตุ	แหล่งของแร่ธาตุ	หน้าที่และความสำคัญต่อเซลล์แบคทีเรีย
สังกะสี (Zn)	Zn^{2+}	พบในเอนไซม์แอลกอออล์ ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase), อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase), อัลโดเลส (allldolase), อาร์ เอ็น เอ และ ดี เอ็น เอ โพลีเมอเรส (RNA and DNA polymerase)
แมงกานีส (Mn)	Mn^{2+}	พบในไมโตคอนเดรียล ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (mitocondrial superoxide dismutase)
โมลิบดีนัม (Mo)	MoO_4^{2-}	พบในเอนไซม์ไนเตรตรีดักเตส (nitrate reductase), ไนโตรจีเนส (nitrogenase), ซานทีนดีไฮโดรจีเนส (Xanthinedehydrogenase) และฟอร์เมท-ดีไฮโดรจีเนส (formate dehydrogenase)
ซีรีเนียม (Se)	SeO_3^{2-}	พบในไกลซีนรีดักเตส (glycine reductase) และฟอร์เมท ดีไฮโดรจีเนส (formate dehydrogenase)
โคบอลท์ (Co)	Co^{2+}	พบในเอนไซม์ที่มีวิตามินบี 12 เป็นโคเอนไซม์ เช่น กลูตาเมทมิวเตส (glutamate mutase), เมทธิลมาโลนิล-โคเอ มิวเตส (methylmalonyl-CoA mutase)

ชนิดของแร่ธาตุ	แหล่งของแร่ธาตุ	หน้าที่และความสำคัญต่อเซลล์แบคทีเรีย
คอปเปอร์ (Cu)	Cu^{2+}	พบในไซโตโครมออกซิเดส (cytochrome oxidase), ไนโตรท์รีดักเตส (nitrite reductase) และออกซิจิเนส (oxygenase)
นิกเกิล (Ni)	Ni^{2+}	พบในยูรีเอส (urease), ไฮโดรจีเนส (hydrogenase)
ทังสเตน (W)	WO^{2-}	พบในฟอร์เมทดีไฮโดรจีเนส (formate dehydrogenase) บางชนิด

ที่มา : Gottschalk, 1986

1.7.1.1 แหล่งสารคาร์บอน

สารคาร์บอนนอกจากเป็นองค์ประกอบของเซลล์แล้วยังมีความสำคัญต่อการสร้างพลังงานและการสร้างเมตาโบไลท์ชนิดต่าง ๆ แบคทีเรียสามารถใช้แหล่งคาร์บอนทั้งในรูปอินทรีย์ เช่น CO, CO_2 และสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งมีมากมายหลายชนิด เช่น น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (diasaccharides) แป้ง (starch) เด็กซ์ตริน (dextrin) กากน้ำตาล (molasses) และอื่น ๆ (Gottschalk, 1986)

สารประกอบอินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการผลิตสารปฏิชีวนะจะแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของสารปฏิชีวนะและจุลินทรีย์ น้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเพนนิซิลิน จีของรา Penicillium chrysogenum (วนิดา เรืองศรี, 2532) แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อ Streptomyces ในการผลิตสารปฏิชีวนะต้านโรครวงข้าวเน่า (ดารารัตน์ รอดพยาธิ์, 2525) ทั้งน้ำตาลแลคโตส และแป้งมันสำปะหลังให้ผลดีเพราะมีโครงสร้างซับซ้อน จึงนำไปใช้ได้อย่างช้า ๆ ทำให้ป้องกันการสะสมของน้ำตาลเอกโซส

(hexose) ที่เป็นสาเหตุของการยับยั้งการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะทั้งสองชนิดดังกล่าว สำหรับน้ำตาลกลูโคสซึ่งจุลินทรีย์ใช้ได้เร็วนั้นจะเหมาะกับการเจริญของเซลล์ในช่วงแรก แต่จะมีผลยับยั้งต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ (catabolite repression) แต่น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดต่อการผลิตเบซิเทรซิน (bacitracin) ของ B. licheniformis กลไกการกระตุ้นการผลิตนั้นยังไม่ทราบแน่นอน แต่อาจเกิดจากคาตาโบไลท์ รีเพรสชันของน้ำตาลกลูโคส (Demain, 1968, อ้างถึงใน Haavik, 1974a) หรืออาจเนื่องมาจากเมตาโบลิสมของน้ำตาลกลูโคสนั้นช่วยลดความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในช่วงหลังของการเจริญไม่ให้สูงเกินไป นอกจากเบซิเทรซินแล้วยังมีรายงานว่า น้ำตาลกลูโคสยังกระตุ้นการผลิตของไมโคบาซิลลิน (mycobacillin), โพลิมัยซิน (polymyxin) และแอคติโนมัยซิน (Actinomycin) (Snoke, 1961; Haavik, 1974a)

ในกรณีที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งสามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด แหล่งสารคาร์บอนเป็นปัจจัยหนึ่งที่กำหนดชนิดของสารปฏิชีวนะ เช่น B. licheniformis จะผลิตเบซิเทรซินเมื่อมีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งสารคาร์บอน และจะผลิตไลเคนนิฟอร์มิน (licheniformin) เมื่อมีน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งสารคาร์บอน (Callow และ Work, 1952)

1.7.1.2 แหล่งสารไนโตรเจน

แบคทีเรียที่ต้องการสารไนโตรเจนในปริมาณมากและจากน้ำหนักเซลล์แห้งพบว่า ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบถึง 10% (Gottschalk, 1986) สำหรับสารปฏิชีวนะก็เช่นกันโดยเฉพาะสารปฏิชีวนะประเภทเปปไทด์ในโมเลกุลจะประกอบไปด้วยอะตอมของไนโตรเจน ในการผลิตนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสารแหล่งไนโตรเจนในปริมาณสูง เช่น ในการผลิตเบซิเทรซิน แหล่งสารไนโตรเจนมีปริมาณมากกว่าแหล่งคาร์บอน 3-5 เท่า (Freaney และ Allen, 1956) แหล่งสารไนโตรเจนที่เป็นอินทรีย์นั้นไม่เหมาะต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ เพราะจะให้ผลผลิตต่ำเนื่องจากเกลือแอมโมเนียม (ammonium repression) เช่นในการผลิตโนโวไบโอซิน (novobiocin) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตมีผลยับยั้งการการผลิตถึง 90% ดังนั้นในการผลิตสารปฏิชีวนะจึงใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งไนโตรเจน เช่น

กากถั่วเหลือง (soybean meal) รวมทั้งกากถั่วเหลืองสกัดไขมัน (hydrolyzed soybean meal) กากเมล็ดฝ้าย (cottonseed meal) กากถั่วลิสง (peanut meal) สารประกอบไนโตรเจนเหล่านี้นอกจากจะให้ผลผลิตสูง (เนื่องจากย่อยสลายได้ยาก การนำไปใช้จึงเกิดอย่างช้า ๆ) แล้วยังหาง่ายและราคาถูกทำให้ต้นทุนในการผลิตต่ำ (Aharonuwitz, 1980) แหล่งสารไนโตรเจนนั้นก็ทำนองเดียวกับแหล่งสารคาร์บอน คือสารปฏิชีวนะต่างชนิดกัน แหล่งสารไนโตรเจนที่เหมาะสมก็ต่างกันไป เช่น คอร์นสตีปลิเคอร์เหมาะสำหรับการผลิตเพนนิซิลิน (วนิดา เรืองศรี, 2532) พบว่า กากถั่วเหลืองเหมาะสำหรับการผลิตสเตรพโตมัยซิน (Streptomycin) จาก Streptomyces griseus, ผลิตเบซิเทรซินจาก B. licheniformis และผลิตสารต่อต้านเชื้อรา Streptomyces sp. CU279 (ดารารัตน์ รอดพยาธิ์, 2525; Aharonowitz, 1980; Qadeer และคณะ, 1988)

1.7.1.3 แหล่งเกลือแร่ (trace elements)

ในช่วงทศวรรษ 1930 ผลผลิตของเซคันดารีเมตาโบไลท์จากโรงงานอุตสาหกรรมนั้นไม่สามารถควบคุมได้แน่นอน ได้ผลผลิตแตกต่างกันไปในแต่ละครั้งของการหมัก ทั้งนี้เพราะเกิดการปนเปื้อนของธาตุโลหะ จากสารประกอบอินทรีย์ จากน้ำที่ใช้และจากการล้างผนังของถังหมัก เป็นต้น ทั้งนี้เพราะความเข้มข้นของเกลือแร่ มีความสำคัญต่อการผลิตเซคันดารีเมตาบอลิสม (Lichstein, 1983)

เกลือแร่ที่จำเป็นต่อการผลิตเซคันดารีเมตาบอไลท์มีด้วยกันทั้งหมด 9 ชนิด จะมีเลขอะตอมตั้งแต่ 23-30 และ 42 ได้แก่ วานาเดียม (V), โครเมียม (Cr), แมงกานีส (Mn), เหล็ก (Fe), โคบอลท์ (Co), นิกเกิล (Ni), คอปเปอร์ (Cu), สังกะสี (Zn), โมลิบดีนัม (Mo) ที่มีความสำคัญที่สุดได้แก่ แมงกานีส, เหล็ก และสังกะสี โดยแมงกานีสจะเป็น "คีย์" (Key metal) สำหรับการผลิตของ Bacillus spp. เหล็กจะเป็น "คีย์" สำหรับแบคทีเรียชนิดอื่นรวมทั้ง Actinomyces ส่วนสังกะสีเป็น "คีย์" สำหรับราทุกชนิดรวมทั้ง Actinomyces หลายชนิด โดยความเข้มข้นที่เหมาะต่อการผลิตเซคันดารีเมตาบอไลท์นั้นจะสูงกว่าที่ต้องการสำหรับการเจริญของเซลล์จุลินทรีย์ทุกชนิด สำหรับการเกิดไพรมารีเมตาบอลิสมสามารถทนต่อความเข้มข้นที่สูงกว่า 10^{-3} โมลาร์ของแร่ธาตุโลหะ

เหล่านี้ได้ ส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมของแมงกานีสต่อการผลิตเซคันดารีเมตาบอไลท์ของ Bacillus spp. ดังแสดงในตารางที่ 1.3 (Weinberg, 1970)

ผลกระทบส่วนใหญ่ของการเกิดเซคันดารีเมตาบอลิสมนั้นเกิดจากอิออนของโลหะเพียงชนิดเดียว แต่ถ้าเกิดจากอิออนของโลหะหลายชนิดร่วมกัน แสดงว่า แต่ละชนิดเหล่านั้นไม่สามารถใช้แทนที่กันได้ซึ่งแต่ละชนิดก็มีความสำคัญต่อการผลิตเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุด ในทำนองเดียวกันสำหรับการยับยั้ง แสดงว่าอิออนของโลหะแต่ละชนิดสามารถยับยั้งการผลิตได้ด้วยตัวเอง พบว่าอินทรีย์ฟอสเฟตถ้ามีปริมาณมากกว่าที่ใช้สำหรับการเจริญของเซลล์จะขัดขวางไม่ให้เซลล์ได้รับอิออนที่จำเป็นอื่น ๆ (Weinberg, 1970; Lichstein, 1983)

ตารางที่ 1.3 ผลกระทบของแมงกานีสต่อการผลิตเซคันดารีเมตาบอไลท์ของ Bacillus spp.

จุลินทรีย์	เซคันดารีเมตาบอไลท์	ความเข้มข้นของแมงกานีส ($X10^{-5}$)	
		เหมาะสม	ยับยั้ง
Bacillus anthracis	Protective antigen	0.50	2
Bacillus licheniformis	Bacitracin	0.07	4
Bacillus licheniformis	Transformants	20	
Bacillus subtilis	Bacillin	10	
Bacillus subtilis	(D-glutamyl polypeptide)	0.15	
Bacillus subtilis	Mycobacillin	0.6	
Bacillus subtilis	Subtilin	0.5	
Bacillus subtilis	Transfectants		20
Bacillus megaterium	Phage	10	
Bacillus megateium	Spore	0.5	

ที่มา : Lichstein, 1983

1.7.1.4 ผลของแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)

แคลเซียมคาร์บอเนตมีคุณสมบัติเป็นตัวละเทินกรด ในสภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีความเป็นกรดมากนั้นอาจเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ ทำให้ได้ผลผลิตลดลง แคลเซียมคาร์บอเนตจะช่วยบรรเทาความรุนแรงนั้นได้ เช่น ในการผลิตเบซิเทรซินจาก B. licheniformis ซึ่งใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน จากเมตาโบไลท์ของกลูโคส ในช่วงแรกของการเจริญนั้นทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีสภาพเป็นกรดสูง เมื่อเติม 0.5 เปอร์เซ็นต์ ของแคลเซียมคาร์บอเนต พบว่า สามารถทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง สูงขึ้น ซึ่งมีผลให้ผลผลิตของเบซิเทรซินเพิ่มขึ้นรวมทั้งยังทำให้มีการเริ่มต้นผลิตเร็วขึ้น (Haavik, 1974a) และการผลิตในระดับขยายส่วนได้มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตอย่างเพียงพอ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (Freaney และ Allen, 1956; Qadeer และคณะ, 1988)

1.7.2 สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ

1.7.2.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการผลิตสารปฏิชีวนะที่ไม่ยิ่งหย่อนไปกว่าปัจจัยอย่างอื่น เช่น ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปผลผลิตที่ได้ก็จะต่ำ เพราะจุลินทรีย์ต้องใช้พลังงานในการหายใจสูง ดังนั้นในการผลิตสารปฏิชีวนะจึงต้องควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงที่พอเหมาะโดยการมีท่อน้ำเย็นขดที่ฐานของถังหมัก

1.7.2.2 ผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อมีความสำคัญต่อการผลิตสารปฏิชีวนะมาก ได้มีการศึกษาว่าการที่สารปฏิชีวนะประเภทเปปไทด์ ผลิตออกมาในช่วงหลังของการเจริญนั้น เนื่องจากความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสำคัญ ดังนั้นจึงสามารถทำให้การผลิตเกิดขึ้นในช่วงของการเจริญได้ เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสม (Haavik, 1974a, Egorov และคณะ, 1986) ในการผลิตเบซิเทรซินจาก B. licheniformis โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ในช่วงแรกของการเจริญการผลิตเบซิเทรซินจะถูกยับยั้งไว้ เพราะอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ เนื่องจากกรดอะซิติกและกรดไพรูวิก ได้มีการทดสอบผลของกรดอนินทรีย์ เช่น กรดไฮโดรคลอริก (HCl) พบว่าไม่มีการยับยั้งการผลิต

เบซิเทรซิน ทั้งนี้เพราะว่ากรดอินทรีย์นั้นจะคงรูปในสภาพที่ไม่แตกตัว (undissociated state) เมื่ออยู่ในสภาพที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ และเนื่องจากโมเลกุลของกรดอินทรีย์มีขนาดเล็ก จึงสามารถผ่านเมมเบรนของแบคทีเรียเข้าไปได้ง่าย ทำให้ภายในเซลล์มีสภาพเป็นกรด ซึ่งอาจเป็นสาเหตุสำคัญของการยับยั้งการผลิตเบซิเทรซิน (Haavik, 1974b) และที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 8.0 จะให้ผลผลิตเบซิเทรซินสูงสุด (Snoke, 1961) สำหรับในการผลิตระดับขยายส่วนในถังหมักขนาดใหญ่ ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วง 6.0-8.0 (Freaney และ Allen, 1956)

1.7.2.3 <u>แหล่งสารออกซิเจน</u> (การให้อากาศและการกวน)

ความสำคัญของการให้อากาศและการกวนในขบวนการหมักก็เพื่อเป็นแหล่งออกซิเจนให้กับจุลินทรีย์เพื่อใช้ในขบวนการเมตาบอลิสม นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยให้จุลินทรีย์อยู่ในสภาวะของสารแขวนลอย ออกซิเจนที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้นั้นต้องอยู่ในรูปของโมเลกุลของออกซิเจนที่ละลาย หรืออยู่ในรูปของเหลว ดังนั้นออกซิเจนก็เป็นเสมือนสารอาหารอย่างหนึ่งของจุลินทรีย์เช่นเดียวกับสารอาหารอื่น ๆ เช่น แหล่งสารคาร์บอน ฯลฯ แต่ที่แตกต่างไปจากแหล่งสารอาหารอื่น ๆ คือ การละลายของออกซิเจนในน้ำมีปริมาณจำกัด เช่น ในการหมักปกติ สามารถละลายกลูโคสได้ถึง 10,000 มก./ลิตร แต่ในขณะที่ออกซิเจนละลายได้น้อยกว่า 10 มก./ลิตร ดังนั้นในขบวนการหมักที่มีอากาศจึงจำเป็นต้องให้อากาศตลอดเวลาของการหมัก ในการผลิตสารปฏิชีวนะปริมาณออกซิเจนที่ให้ต้องอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อความต้องการของจุลินทรีย์ชนิดนั้น ๆ

สำหรับอัตราการกวนก็ทำนองเดียวกันจำเป็นต้องอยู่ในช่วงที่เหมาะสม ถ้ามากเกินไปก็จะเกิดแรงเฉือนที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ของจุลินทรีย์ซึ่งทำให้ผลผลิตลดต่ำลง ในการผลิตเพนนิซิลินจาก <u>P. chrysogenum</u> 1088 อัตราการให้อากาศอยู่ในช่วง 0.5-1.0 ลิตร/1 ลิตรของอาหาร/นาที อัตราการกวน 400 รอบ/นาที (วนิดา เรืองศรี, 2532) ในการผลิตเบซิเทรซินจาก <u>B. licheniformis</u> อัตราการให้อากาศ 1.0 ลิตร/1 ลิตรของอาหาร/นาที อัตราการกวน 200 รอบ/นาที (Qadeer และคณะ, 1988)

1.8 เหตุจูงใจในการทำวิจัย

เนื่องจากในปัจจุบันปัญหาใหญ่ที่ทุกคนตระหนักคือการเสียสภาพสมดุลย์ของธรรมชาติและการเสื่อมโทรมของสิ่งแวดล้อม และก็ตระหนักต่อไปว่าปัญหานี้ไม่อาจที่จะแก้ไขได้ทันในระยะเวลาอันสั้น ซึ่งทำนองเดียวกับการเกิดของปัญหาซึ่งกว่าจะปรากฏให้เห็นชัดก็ได้สะสมมาเป็นเวลานับสิบ ๆ ปี ดังนั้นการป้องกันไม่ให้เกิดปัญหาย่อมเป็นการดีที่สุด การควบคุมโรคพืชทางชีวภาพเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีก็เป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยป้องกันปัญหานี้งานวิจัยครั้งนี้จึงคัดเลือกหาจุลินทรีย์ที่เหมาะสม เพื่อนำไปใช้ในการควบคุมโรคหูดของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ Streptomyces scabies จากประสบการณ์ของผู้วิจัย Bacillus spp. นับว่าได้รับความสนใจมากเพราะว่าเป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปในดินที่ปลูกมันฝรั่ง และนอกจากความสามารถในการควบคุมโรคพืชแล้วยังทนต่อสภาวะต่าง ๆ ได้ดี เช่น ความแห้งแล้งอุณหภูมิสูงและในดินเค็ม ทั้งยังมีข้อได้เปรียบกว่า รา และกลุ่มแอคติโนมัยซีส ในแง่ที่สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนได้เร็ว รวมทั้งผลิตสารปฏิชีวนะได้มากกว่าในเวลาที่เท่ากันจึงมีผลให้สามารถควบคุมโรคพืชได้เร็วกว่า สำหรับมันฝรั่งนับว่าเป็นพืชที่มีอนาคตไกลชนิดหนึ่งของไทยที่กำลังเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคในปริมาณสูง จึงต้องเพิ่มปริมาณการผลิตเพื่อให้ทันต่อความต้องการของตลาด และปัญหาที่จะตามมาคือโรคหูด เพราะเชื้อ S. scabies ซึ่งมีอยู่ในดินจะเพิ่มปริมาณมากขึ้นตามความเสื่อมโทรมของดินที่ใช้ปลูกมันฝรั่งซ้ำกันในแต่ละปี แต่มีนักวิชาการบางท่านมองข้ามปัญหาของโรคหูดว่ายังไม่ใช่ปัญหาสำคัญของไทย ซึ่งความเข้าใจอันนี้ก็ทำนองเดียวกับปัญหาสิ่งแวดล้อมซึ่งกว่าจะตระหนักก็ยากแก่การแก้ไขและทำนองเดียวกับประเทศที่มีการปลูกมันฝรั่งเป็นลำเป็นสันมาเป็นเวลานานกำลังประสบปัญหาของโรคหูดอยู่ในปัจจุบัน เช่น สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น เป็นต้น

โครงการวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อคัดเลือก Bacillus sp. สายพันธุ์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้ง S. scabies ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคหูดของมันฝรั่งและหาสภาวะที่เหมาะสมในขวดเขย่าเพื่อให้ผลิตสารปฏิชีวนะได้สูงสุด ทั้งยังเพิ่มปริมาณการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร จากนั้นสกัดสารปฏิชีวนะและศึกษาลักษณะบางประการของสารปฏิชีวนะเพื่อเป็นข้อมูลที่จะนำไปใช้ในการวางแผน เพื่อควบคุมโรคหูดในแปลงเพาะปลูกต่อไป

1.9 ขั้นตอนการวิจัย

9.1 คัดเลือก Bacillus sp. ที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคหูด และตรวจสอบชนิดของเชื้อทางอนุกรมวิธาน

9.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในขวดเขย่าเพื่อให้ Bacillus sp. ที่คัดเลือกได้สามารถผลิตสารปฏิชีวนะสูงสุด

9.3 ศึกษาการผลิตสารปฏิชีวนะในถังหมักขนาด 5 ลิตร

9.4 ทำให้สารปฏิชีวนะบริสุทธิ์บางส่วนและศึกษาลักษณะบางประการ