

บทความวิจัย (Research Article)

กิจกรรมการต้านควอร์มเซนซิงของแอคติโนแบคทีเรีย
ต่อเชื้อ *Serratia marcescens*

Anti-quorum sensing activities of actinobacteria against
Serratia marcescens

วนิส จินหลง¹, เอกศิษฐ์ สุพรรณโรจน์^{1,2}, พงศ์ระวี นิ่มน้อย¹, จินตนาถ วงศ์ขวลิต¹,
อารีย์ อินทร์นวล¹, รัชณี มิ่งมา^{1*}

¹ สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมชีวภาพ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140

² ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือดและจุลชีววิทยาคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

Wanisa Jeenlong¹, Aekasit Suphannarot^{1,2}, Pongrawee Nimnoi¹,
Jintanart Wongchawalit¹, Aree Innun¹, Ratchanee Mingma^{1*}

¹ Division of Microbiology, Department of Sciences and Bioinnovation, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University
Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, 73140, Thailand

² Department of Transfusion Medicine and Clinical Microbiology, Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University,
Bangkok, 10330, Thailand

* Corresponding author

E-mail address: faasnm@ku.ac.th

Received: 02/03/2026; Revised: 01/04/2026; Accepted: 05/04/2026

คำสำคัญ

แอคติโนแบคทีเรีย
การยับยั้งควอร์มเซนซิง
Serratia marcescens
Streptomyces sp.

บทคัดย่อ

ระบบควอร์มเซนซิง (quorum sensing; QS) ของแบคทีเรียเป็นกลไกการสื่อสารระหว่างเซลล์ที่มีบทบาทในการควบคุมกระบวนการทางสรีรวิทยาหลายประการของจุลินทรีย์ รวมถึงการสร้างไบโอฟิล์มและการผลิตปัจจัยก่อความรุนแรง ดังนั้น การยับยั้งระบบควอร์มเซนซิง (quorum sensing inhibition; QSI) จึงเป็นอีกหนึ่งวิธีที่กำลังได้รับสนใจเพื่อใช้ในการควบคุมโรคติดเชื้อในแบคทีเรีย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากิจกรรมการต้านควอร์มเซนซิงของเชื้อแอคติโนแบคทีเรียต่อแบคทีเรีย *Serratia marcescens* ผลการทดสอบเชื้อแอคติโนแบคทีเรียจำนวน 10 ไอโซเลต พบว่ามีเพียงไอโซเลต PKS22-27 เท่านั้นที่แสดงกิจกรรมการต้านระบบควอร์มเซนซิง โดยสามารถยับยั้งการสร้างรงควัตถุโพรดิจีโอซิน (prodigiosin) ของ *S. marcescens* ได้ โดยไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย จากนั้นทำการสกัดสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิของไอโซเลต PKS22-27 จากน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต และประเมินฤทธิ์การต้านควอร์มเซนซิง

ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบของไอโซเลต PKS22-27 สามารถยับยั้งการสร้างรงควัตถุได้โดยไม่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ ซึ่งยืนยันถึงศักยภาพในการยับยั้งควอรัมเซนซิง การระบุชนิดโดยอาศัยการวิเคราะห์ลำดับเบสบางส่วนของยีน 16S rRNA พบว่าไอโซเลต PKS22-27 จัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* และมีความคล้ายคลึงสูงที่สุดกับ *Streptomyces badius* JCM4350^T (99.14 เปอร์เซ็นต์) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า *Streptomyces* sp. PKS22-27 เป็นแหล่งของสารที่มีฤทธิ์ต้านควอรัมเซนซิง การยับยั้งการสร้างรงควัตถุโพรดิจิโนซินซึ่งเป็นลักษณะที่ถูกควบคุมโดยระบบควอรัมเซนซิง บ่งชี้ถึงผลกระทบที่อาจส่งต่อการสร้างชั้นไบโอฟิล์ม ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการทดสอบการสร้างไบโอฟิล์มเพิ่มเติม เพื่อยืนยันกลไกการออกฤทธิ์ต่อไป

KEYWORDS

Actinobacteria

Quorum sensing inhibition

Serratia marcescens

Streptomyces sp.

ABSTRACT

Bacterial quorum sensing (QS) is a cell-to-cell communication system that regulates a wide range of physiological processes, including biofilm formation and the production of virulence factors. Therefore, quorum sensing inhibition (QSI) has emerged as a promising strategy for controlling bacterial infections. The aim of this study was to investigate the anti-quorum sensing activity of actinobacterial isolates against *Serratia marcescens*. Among ten actinobacterial isolates screened, only isolate PKS22-27 exhibited QSI activity, as evidenced by inhibition of prodigiosin pigment production, while showing no antibacterial effect on the growth of *S. marcescens*. Secondary metabolites of PKS22-27 were extracted from cell-free supernatant using ethyl acetate and further evaluated the anti-QS activity by an agar well diffusion assay. The crude extract consistently suppressed pigment production without inhibiting bacterial growth, confirming its quorum sensing inhibitory potential. Identification based on partial 16S rRNA gene sequence analysis revealed that isolate PKS22-27 belonged to the genus *Streptomyces* and showed the highest sequence similarity to *Streptomyces badius* JCM4350^T (99.14%). These findings indicate that *Streptomyces* sp. PKS22-27 is a promising source of quorum sensing inhibitory compounds. The inhibition of prodigiosin production, a QS-regulated trait, suggests a potential effect on biofilm formation. Therefore, further biofilm formation assays are required to confirm the underlying mechanism of action.

1. บทนำ

ควอรัมเซนซิง (quorum sensing; QS) เป็นระบบการสื่อสารระหว่างเซลล์ของแบคทีเรียที่ทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีน โดยตอบสนองต่อความหนาแน่นของประชากรเซลล์ในสภาพแวดล้อม แบคทีเรียจะสร้างและหลั่งสารสัญญาณขนาดเล็กที่เรียกว่าออโตอินดิเคเตอร์ (autoinducers) ซึ่งเมื่อมีการสะสมถึงระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม จะกระตุ้นให้เกิดการจับกับตัวรับ (receptor) และส่งสัญญาณไปควบคุมการทำงานของยีนเป้าหมาย ทำให้ประชากรแบคทีเรียสามารถแสดงพฤติกรรมแบบประสาน

ร่วมกัน (coordinated behavior) ได้ โดยทั่วไปแบคทีเรียแกรมลบมักใช้สารสัญญาณกลุ่มเอ็น-อะซิลโฮโมเซอรีนแลคโตน (N-acyl homoserine lactones) หรือ AHLs ซึ่งสามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้อย่างอิสระ และเมื่อมีความเข้มข้นถึงระดับวิกฤติ จะจับกับโปรตีนตัวรับภายในเซลล์เพื่อกระตุ้นหรือยับยั้งการแสดงออกของยีนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรคและการปรับตัว ระบบนี้พบได้ในแบคทีเรียแกรมลบหลายชนิด รวมถึง *Serratia marcescens* เมื่อแบคทีเรียมีจำนวนเพิ่มขึ้น สารสัญญาณจะถูกสร้างและสะสมมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของยีนจำนวนมาก ซึ่งเกี่ยวข้องกับการควบคุมการสำคัญ เช่น การสร้างปัจจัยก่อโรค การสร้างเอนไซม์นอกเซลล์ การเคลื่อนที่ และการสร้างชั้นไบโอฟิล์ม

S. marcescens เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง มีความสามารถในการเคลื่อนที่และจัดอยู่ในวงศ์ *Enterobacteriaceae* โดยเป็นเชื้อก่อโรคฉวยโอกาสที่พบได้บ่อยในมนุษย์ โดยเชื้อมีระบบควอรัมเซนซิงที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะการสื่อสารผ่านโมเลกุล AHL ซึ่งควบคุมโดยยีนในกลุ่ม LuxI/LuxR homologs ได้แก่ Smal/SmaR ทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรง และมีบทบาทในการควบคุมพฤติกรรมกลุ่มและการเคลื่อนที่แบบสวอร์มมิง (swarming motility) (Horng et al., 2002) หนึ่งในลักษณะเด่นของ *S. marcescens* คือการสร้างรงควัตถุสีแดง “โพรดิจีโอซิน” (prodigiosin; 2-methyl-3-amylo/pentyl-6-methoxyprodigiosin) ซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมของควอรัมเซนซิง และสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้กิจกรรมของระบบดังกล่าวได้อย่างชัดเจน นอกจากนี้ ควอรัมเซนซิงของเชื้อมีบทบาทในการควบคุมปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของเชื้อ เช่น การผลิตเอนไซม์นอกเซลล์ ได้แก่ โปรตีเอส นิวคลีเอส ไลเปส โคติเนส เอโมไลซิน รวมถึงสารลดแรงตึงผิวชนิดเซอร์ราฟาทิน ตลอดจนความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์ม (Morohoshi et al., 2007) ในปัจจุบัน การยับยั้งระบบควอรัมเซนซิงได้รับความสนใจเนื่องจากเป็นทางเลือกสำหรับการควบคุมการติดเชื้อจากเชื้อดื้อยา ด้วยเหตุนี้ *S. marcescens* จึงเหมาะสมและถูกนำมาใช้เป็น reporter strain สำหรับการศึกษาและคัดกรองสารที่มีฤทธิ์ต้านควอรัมเซนซิง โดยประเมินจากการลดลงของการสร้างรงควัตถุโพรดิจีโอซินซึ่งเป็นลักษณะที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบควอรัมเซนซิงโดยตรง โดยในช่วงที่ผ่านมาได้มีการค้นพบสารยับยั้งควอรัมเซนซิง (quorum sensing inhibitors) หรือ QSI จากแหล่งธรรมชาติหลากหลายชนิด เช่น พุราโนนจากสาหร่าย *Delisea pulchra* (Rasmussen et al., 2000) เมทิลยูจีนอลจากยี่หระ (*Cuminum cyminum*) (Packiavathy et al., 2012) และสาร cyclo (L-leucyl-L-prolyl) จากแบคทีเรียบริเวณไรโซสเฟียร์ของพืชป่าชายเลน (Gowrishankar et al., 2019) รวมถึงสารสกัดจากพืชหลายชนิด เช่น กระถินณรงค์ ยี่หระ ไม้ดอกตระกูลทานตะวัน (*Inula Britannica*) และมะม่วง เป็นต้น (Husain et al., 2017; Ghannay et al., 2022; Samreen et al., 2022; Dimitrova et al., 2024) โดยทั่วไป สารต้านควอรัมเซนซิงไม่ได้ยับยั้งการเจริญหรือฆ่าแบคทีเรียโดยตรง แต่เป็นการลดความสามารถของเชื้อในการก่อโรค เช่น ควบคุมการสื่อสารระหว่างเซลล์แบคทีเรีย ลดการสร้างไบโอฟิล์ม ลดการสร้างสารพิษหรือสารพิษบางชนิด รวมถึงลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรง และไม่ทำให้แบคทีเรียถูกบีบให้ต้องวิวัฒนาการดื้อยาอย่างหนักเหมือนยาปฏิชีวนะทั่วไป (Bouyahya et al., 2022)

แอคติโนแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีร้อยละของเบสกวานีนและไซโทซีนในจีโนมสูง เป็นจุลินทรีย์กลุ่มสำคัญที่สามารถผลิตสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย โดยสารเหล่านี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในด้านทางการแพทย์และเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น สารต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านมะเร็ง และต้านเชื้อรา (Jakubiec-Krzesniak et al., 2018) จากรายงานการรวบรวมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตจากจุลินทรีย์ พบว่ามีสารมากกว่า 22,000 ชนิด และประมาณครึ่งหนึ่งเป็นสารที่ได้จากแอคติโนแบคทีเรีย (Bérdy, 2005) ปัจจุบันมีการใช้ยาปฏิชีวนะประมาณ 160 ชนิดในการแพทย์และการเกษตร โดยในจำนวนนี้พบว่าประมาณ 100 – 120 ชนิด ผลิตจากแอคติโนแบคทีเรีย เช่น สเตรปโตมัยซิน (streptomycin), อิริโทรมัยซิน (erythromycin), เจนตามัยซิน (gentamicin) แวนโคมัยซิน (vancomycin) และอะเวอร์เมคติน (ivermectin) เป็นต้น โดยสารเหล่านี้ส่วนใหญ่ผลิตจากแอคติโนแบคทีเรียสกุล *Streptomyces* sp. ซึ่งเป็นสกุลที่มีความสามารถในการสร้างสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ (Lacey & Rutledge, 2022) นอกจากนี้ ยังมีรายงานสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดจากแอคติโนแบคทีเรียมีคุณสมบัติในการต้านควอรัมเซนซิง (Polkade et al., 2016) อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเกี่ยวกับกิจกรรมการต้านควอรัมเซนซิงจากแอคติโนแบคทีเรียยังมีอย่างจำกัด โดยแอคติโนแบคทีเรียอาจเป็นแหล่งสำคัญของสารออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งระบบควอรัมเซนซิงของแบคทีเรียได้ ดังนั้น

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดกรองแอคติโนแบคทีเรียที่มีกิจกรรมการต้านควอร์มเซนซิง และประเมินฤทธิ์ของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งการสร้างรงควัตถุโพรดิจีโอซินของ *S. marcescens* เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาในขั้นต่อไป

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

2.1 แอคติโนแบคทีเรียและเชื้อทดสอบที่ใช้ในการวิจัย

แอคติโนแบคทีเรียจำนวน 10 ไอโซเลต ได้แก่ PS22-09, PS22-25, PS22-41, PKS22-25, PKS22-27, PKS22-30, PKS22-38, CHS21-01, SP21-03 และ SP21-04 ที่แยกได้จากดินป่าชายเลนในจังหวัดชลบุรี และจังหวัดสมุทรสงคราม นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง International *Streptomyces* Project medium 2 (ISP2) (Shirling & Gottlieb, 1966) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน

แบคทีเรียทดสอบที่ใช้เป็น reporter strain สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านควอร์มเซนซิง ได้แก่ *S. marcescens* ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมชีวภาพ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง Luria-Bertani (LB) และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2 การตรวจหากิจกรรมการยับยั้งควอร์มเซนซิงในเบื้องต้น

เตรียมสารแขวนลอย (suspension) ของสปอร์และเส้นใยแอคติโนแบคทีเรียทั้ง 10 ไอโซเลต โดยเพาะเลี้ยงแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง ISP2 และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ลูปปลอดเชื้อขูดเส้นใยและสปอร์ปริมาณ 1-2 ลูป ใส่ลงในหลอดไมโครเซนทริฟิวจขนาด 1.5 มล. ที่มีสารละลาย 0.85 เปอร์เซ็นต์ (w/v) โซเดียมคลอไรด์

นำซัสเพนชันของแอคติโนแบคทีเรียที่เตรียมไว้มาลากเป็นเส้นตรงบริเวณกึ่งกลางจานอาหาร Nutrient agar (NA) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้แอคติโนแบคทีเรียเจริญ ในส่วนของเชื้อทดสอบ *S. marcescens* ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว LB และบ่มแบบเขย่า เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปรับความขุ่นเซลล์ให้เทียบเท่ากับมาตรฐาน 0.5 McFarland (ประมาณ 1.5×10^8 CFU/mL) เตรียมอาหารกึ่งเหลว (semi-solid) โดยใช้อาหาร LB ที่มีความเข้มข้นของวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 45 – 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเชื้อ *S. marcescens* ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในอาหารกึ่งเหลว ปั่นผสมให้เข้ากัน แล้วราดทับ (overlay) ลงบนจานอาหาร NA ที่เลี้ยงแอคติโนแบคทีเรียไว้ก่อนหน้านี้ บ่มจนทดสอบที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นสังเกตการเกิดบริเวณโซนยับยั้งรงควัตถุสีแดงรอบแนวการเจริญของแอคติโนแบคทีเรีย และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งในหน่วยเซนติเมตร โดยบันทึกผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2.3 การสกัดสารด้วยตัวทำละลาย

นำแอคติโนแบคทีเรียมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Tryptic soy broth (TSB) ที่เติมกลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปบ่มแบบเขย่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ทำการแยกน้ำเลี้ยงเซลล์ (cell-free supernatant) โดยปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6900 xg เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บส่วนใสด้านบนนำมากรองด้วยกระดาษ Whatman No.1 และนำของเหลวที่กรองได้มาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต (ethyl acetate) โดยผสมในอัตราส่วนปริมาตรเท่ากัน (1:1, v/v) และนำไปเขย่าผสมที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 – 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ทำการแยกชั้นตัวทำละลาย และเก็บเฉพาะชั้นเอทิลอะซิเตต นำมาระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ ด้วยเครื่อง rotary evaporator จนแห้ง เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบ (crude extract) จากนั้นละลายสารสกัดหยาบที่ได้ด้วยสารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide; DMSO) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เพื่อเตรียมเป็นสารละลายตั้งต้นที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สำหรับใช้ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในขั้นตอนถัดไป เก็บรักษาสารสกัดไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

2.4 การทดสอบกิจกรรมการต้านควอรัมเซนซิงขั้นทุติยภูมิ

เตรียมเชื้อทดสอบ *S. marcescens* โดยเลี้ยงในอาหารเหลว LB และปรับความขุ่นของเซลล์เทียบเท่ากับมาตรฐาน 0.5 McFarland ตามวิธีที่อธิบายก่อนหน้านี้ จากนั้นใช้ไม้ปั่นสำลีปลอดเชื้อจุ่มเชื้อทดสอบ นำมาป้ายให้ทั่วผิวหน้าอาหารแข็ง LB ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ หลังจากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มม. เจาะหลุมบนผิวอาหารแข็ง แล้วเติมสารสกัดหยาบจากแอคติโนแบคทีเรียที่เตรียมไว้ ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตรหลุมละ 50 ไมโครลิตร ใช้ DMSO และเอทิลอะซิเตต เป็นชุดควบคุมผลลบ (negative control) และใช้แอมพิซิลิน (ampicilin) ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมผลบวก (positive control) เพื่อเปรียบเทียบให้เห็นการยับยั้งแบคทีเรีย จากนั้นบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการประเมินผลโดยวัดขนาดโซนยับยั้งการสร้างรงควัตถุ ซึ่งเป็นบริเวณรอบหลุมที่เชื้อเจริญได้แต่ไม่สร้างรงควัตถุ โดยบันทึกผลเป็นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนในหน่วยเซนติเมตร

2.5 การระบุชนิดแอคติโนแบคทีเรีย

เลี้ยงแอคติโนแบคทีเรียในอาหารเหลว Yeast extract dextrose (YD; 1% yeast extract, 1% dextrose) บ่มแบบเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นเก็บเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงและล้างตะกอนเซลล์ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2 ครั้ง นำมาสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR) ตามวิธีที่อธิบายโดย Tongtoht et al. (2024) โดยใช้ไพรเมอร์ 27F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') และ 1492R (5' GGTTACCTGTTACGACTT-3') จากนั้นนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ที่มีในฐานข้อมูล EzBioCloud (<http://ezbiocloud.net>) (Chalita et al., 2024) เพื่อระบุสกุลของแอคติโนแบคทีเรีย วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของการสร้างแผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) โดยใช้โปรแกรม MEGA 11.0 (Tamura et al., 2021) โดยเลือกวิธีจัดกลุ่มแบบ Neighbor-joining (Saitou & Nei, 1987) และกำหนดค่า bootstrap เป็น 1,000 ครั้ง (Felsenstein, 1985)

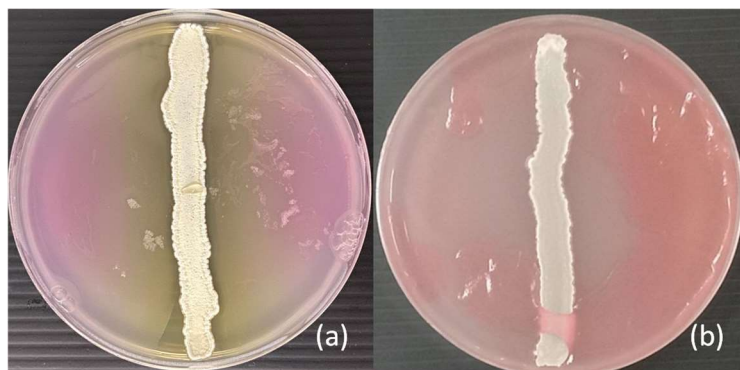
2.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ซอฟต์แวร์ R เวอร์ชัน 4.4.0 โดยข้อมูลแต่ละการทดลองจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ความแตกต่างทางนัยสำคัญทางสถิติที่ความน่าจะเป็นน้อยกว่า 0.05 (Duncan's test, $p < 0.05$)

3. ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.1 การศึกษากิจกรรมการต้านควอรัมเซนซิงขั้นปฐมภูมิ

จากการศึกษาการยับยั้งการสร้างรงควัตถุโปรตีนของแอคติโนแบคทีเรียจำนวน 10 ไอโซเลต ได้แก่ PS22-09, PS22-25, PS22-41, PKS22-25, PKS22-27, PKS22-30, PKS22-38, CHS21-01, SP21-03 และ SP21-04 โดยใช้ *S. marcescens* เป็นแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ ผลการทดลองพบว่าแอคติโนแบคทีเรียเพียง 1 ไอโซเลต คือ PKS22-27 ที่แสดงผลการยับยั้งผลการยับยั้งการสร้างรงควัตถุโปรตีนอย่างเด่นชัด โดยสังเกตได้จากการไม่พบรงควัตถุสีแดงของ *S. marcescens* ในบริเวณรอบโคโลนีของไอโซเลต PKS22-27 (ภาพที่ 1a) ทั้งนี้ บริเวณดังกล่าวยังคงปรากฏการเจริญของเชื้อ *S. marcescens* ในลักษณะขุ่น แสดงให้เห็นว่าไอโซเลต PKS22-27 มีผลยับยั้งการสร้างรงควัตถุโดยไม่กระทบต่อการเจริญของเชื้อ ซึ่งลักษณะดังกล่าวสอดคล้องกับการรบกวนระบบควอรัมเซนซิง หรือบ่งชี้ถึงฤทธิ์ต้านควอรัมเซนซิง ขนาดของบริเวณยับยั้งการสร้างรงควัตถุรอบโคโลนีของไอโซเลต PKS22-27 เท่ากับ 2.1 ± 0.3 เซนติเมตร ในขณะที่แอคติโนแบคทีเรียไอโซเลตอื่น ๆ ไม่พบการเกิดบริเวณยับยั้งการสร้างรงควัตถุของ *S. marcescens* และยังคงปรากฏรงควัตถุสีแดงตามปกติ (ภาพที่ 1b)



ภาพที่ 1 การทดสอบกิจกรรมของแอกติโนแบคทีเรียไฮโซเลต PKS22-27 (a) และไฮโซเลต SP21-03 (b) ในการยับยั้งการสร้างรงควัตถุโพรติจิโอซินของเชื้อ *S. marcescens*

การทดสอบกิจกรรมการต้านควอร์มเซนซิงนิยมใช้เชื้อที่สร้างรงควัตถุเป็น reporter strain เนื่องจากการสร้างรงควัตถุเป็นลักษณะที่ถูกควบคุมโดยควอร์มเซนซิง ทำให้สามารถสังเกตผลการยับยั้งได้ง่าย รวดเร็ว และสามารถแยกผลระหว่างการยับยั้งควอร์มเซนซิงกับการยับยั้งการเจริญได้ ในการศึกษา *S. marcescens* ถูกใช้เป็นแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ เนื่องจากสามารถสร้างรงควัตถุโพรติจิโอซินซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมของระบบควอร์มเซนซิง ชนิด AHL อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงการสร้างรงควัตถุสามารถสังเกตได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า และสามารถแยกความแตกต่างระหว่างการยับยั้งการสร้างรงควัตถุกับการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ ยังมีข้อดีในด้านความสะดวก รวดเร็ว และไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือพิเศษในการวิเคราะห์ผล เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้ออื่น เช่น *Vibrio harveyi* ที่ต้องอาศัยเครื่องวัดการเรืองแสง (luminometer) อย่างไรก็ตาม การสร้างโพรติจิโอซินของ *S. marcescens* อาจได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิและองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงจำเป็นต้องควบคุมสภาวะการทดลองอย่างเหมาะสม

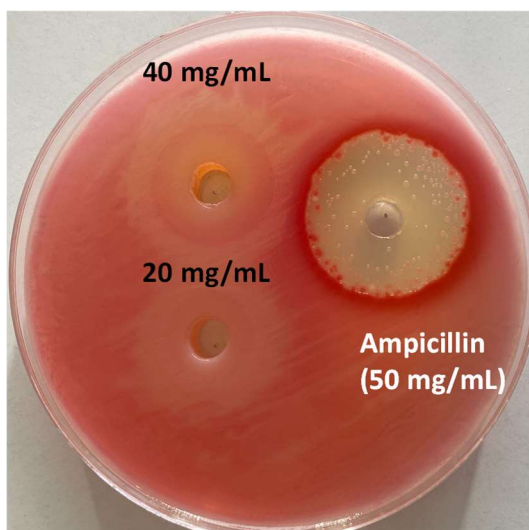
โดย reporter strain ที่นิยมใช้นอกเหนือจาก *S. marcescens* ได้แก่ *Chromobacterium violaceum* สร้างรงควัตถุไวโอลาซิน (violacein) ที่มีสีม่วง *Pseudomonas aeruginosa* สร้างรงควัตถุไพโอไซยานิน (pyocyanin) ที่มีสีเขียว/น้ำเงิน และ *Vibrio harveyi* สร้างสารเรืองแสง (bioluminescence) เป็นต้น ทั้งนี้ *C. violaceum* มักถูกใช้เป็นหลักในการคัดกรองสารต้านควอร์มเซนซิง เนื่องจากระบบตอบสนองมีความชัดเจนและเสถียรกว่า

3.2 การต้านควอร์มเซนซิงของสกัดหยาบจากไฮโซเลต PKS22-27

คัดเลือกไฮโซเลต PKS22-27 นำมาสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต ได้สารสกัดหยาบสีส้มที่มีความเป็นกลางถึงกึ่งมีขี้ (ภาพที่ 2) จากนั้นนำสารสกัดหยาบมาทดสอบฤทธิ์ในขั้นสุดท้ายเพื่อยืนยันความสามารถในการต้านควอร์มเซนซิง ผลการทดลองพบว่าสารสกัดที่มีความเข้มข้น 40 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการสร้างรงควัตถุของเชื้อ *S. marcescens* ได้ โดยมีขนาดโซนยับยั้งเท่ากับ 2.5 ± 0.25 เซนติเมตร และ 1.2 ± 0.15 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 3) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมผลบวก คือแอมพิซิลินซึ่งให้โซนยับยั้งการเจริญขนาด 2.8 ± 0.20 เซนติเมตร พบว่าสารสกัดจาก PKS22-27 สามารถยับยั้งการสร้างรงควัตถุได้โดยไม่กระทบต่อการเจริญของแบคทีเรีย สังเกตได้จากบริเวณรอบหลุมยังคงมีความขุ่นของเชื้ออยู่ขณะเดียวกัน ชุดควบคุมผลลบ ได้แก่ DMSO และเอทิลอะซิเตต ไม่แสดงผลต่อการสร้างรงควัตถุและการเจริญของเชื้อ ผลดังกล่าวบ่งชี้ว่าการยับยั้งรงควัตถุเกิดจากการรบกวนการทำงานของระบบควอร์มเซนซิง มากกว่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยตรง แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจาก PKS22-27 มีศักยภาพในการยับยั้งการสื่อสารแบบควอร์มเซนซิง ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ควบคุมการแสดงออกของปัจจัยก่อความรุนแรง เช่น การสร้างรงควัตถุ และพฤติกรรมที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อของ *S. marcescens* สอดคล้องกับรายงานของ Devi et al. (2018) ที่พบว่าสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเซลล์ของ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ R18 ซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายอีเธอร์ สามารถยับยั้งควอร์มเซนซิงใน *S. marcescens* รวมถึงยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม และการผลิตเอนไซม์โปรติเอส ไลเปสและฮีโมไลซินได้



ภาพที่ 2 สารสกัดหยาบจากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตของไอโซเลต PKS22-27



ภาพที่ 3 ผลของสารสกัดหยาบจากไอโซเลต PKS22-27 (40 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ต่อ *S. marcescens* พบการยับยั้งการสร้างรงควัตถุโพรดิจิโอะซินโดยไม่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย เปรียบเทียบกับแอมพิซิลิน (50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

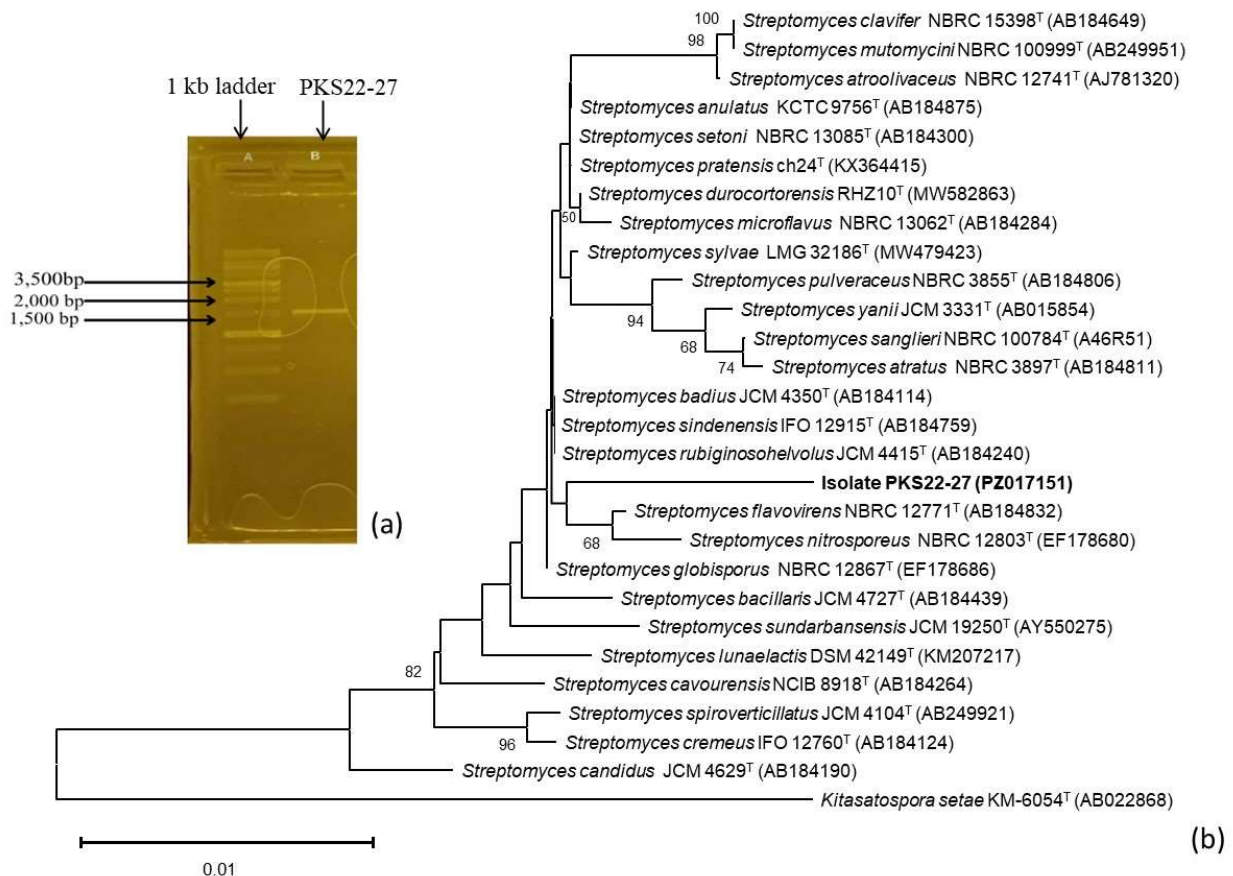
ผลการศึกษาที่สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่แสดงให้เห็นว่าสารจากจุลินทรีย์หรือสารธรรมชาติสามารถยับยั้งการสร้างรงควัตถุที่เกี่ยวข้องกับควอร์มเซนซิงได้ เช่น งานวิจัยของ Devi et al. (2018) รายงานว่า *B. subtilis* สายพันธุ์ R18 สามารถผลิตสารในน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ที่ยับยั้งการสร้างรงควัตถุโวลาคีนของ *C. violaceum* และรงควัตถุโพรดิจิโอะซินของ *S. marcescens* โดยไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ นอกจากนี้ งานวิจัยของ Qi et al. (2023) รายงานว่าสาร phloretin ซึ่งสกัดจากผิวแอปเปิ้ลสามารถรบกวนการสื่อสารแบบควอร์มเซนซิงของ *S. marcescens* NJ01 โดยไม่มีผลต่อการสร้างโมเลกุล AHL ส่งผลให้การสร้างไบโอฟิล์ม การผลิตเอนไซม์ การสร้างรงควัตถุโพรดิจิโอะซิน และการเคลื่อนที่ของเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานส่วนใหญ่ที่นิยมใช้ *C. violaceum* เป็น reporter strain การใช้ *S. marcescens* ในการศึกษาที่แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของระบบ prodigiosin-based assay ในการตรวจคัดกรองสารที่มีผลต่อการสร้างรงควัตถุที่เกี่ยวข้องกับควอร์มเซนซิง แม้ว่าจะมีข้อจำกัดด้านความเสถียรของการสร้างรงควัตถุภายใต้สภาวะต่าง ๆ ก็ตาม ผลที่ได้จากการศึกษาจึงเป็นข้อมูลสนับสนุนเพิ่มเติมว่าการยับยั้งการสร้างโพรดิจิโอะซินภายใต้สภาวะที่ไม่พบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ มีลักษณะสอดคล้องกับกรรบบกวนระบบควอร์มเซนซิง หรือบ่งชี้ถึงฤทธิ์การต้านควอร์มเซนซิง ทั้งนี้ยังจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไปเพิ่มเติมในระดับโมเลกุลเพื่อยืนยันผลดังกล่าวต่อไป

นอกจากการประเมินการยับยั้งการสร้างรงควัตถุใน reporter strain แล้ว ยังมีวิธีที่นิยมใช้ในการศึกษาฤทธิ์การต้านควอรัมเซนซิง ได้แก่ การทดสอบการเคลื่อนที่แบบสวอร์มมิง (swarming motility) และการทดสอบการสร้างไบโอฟิล์ม (biofilm formation) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ถูกควบคุมของระบบควอรัมเซนซิงในแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *P. aeruginosa*, *S. marcescens* และ *Proteus mirabilis* (Thabit et al., 2022; Zhang et al., 2023) เป็นที่ทราบกันว่ากระบวนการเหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อการแสดงออกของรุนแรงและความสามารถในการก่อโรคของแบคทีเรีย การลดลงของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณสวอร์มมิง การเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเคลื่อนที่แบบสวอร์มมิง ตลอดจนการลดลงของการสร้างไบโอฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ว่ามีการรบกวนหรือยับยั้งการทำงานของระบบควอรัมเซนซิง และสะท้อนถึงฤทธิ์ต้านควอรัมเซนซิงของสารทดสอบได้

3.3 การระบุชนิดแอกติโนแบคทีเรีย

นำแอกติโนแบคทีเรียไอโซเลต PKS22-27 มาระบุชนิดโดยการเพิ่มจำนวนและวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ พบว่าได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีขนาด 1,500 คู่เบส (ภาพที่ 4a) ซึ่งสอดคล้องกับขนาดของยีน 16S rRNA ในแบคทีเรียทั่วไป เมื่อทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล พบว่าไอโซเลต PKS22-27 จัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* sp. (ภาพที่ 4b) และมีความคล้ายคลึงกับ *S. badius* JCM4350^T (AB184114) โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์เท่ากับ 99.14 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4 การเปรียบเทียบขนาดของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของยีน 16S rRNA กับดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 kb ladder) (a) และแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของยีน 16S rRNA ของแอกติโนแบคทีเรียไอโซเลต PKS22-27 (b) ค่า bootstrap แสดงเป็นร้อยละจากการทำซ้ำ 1,000 ครั้ง โดยแสดงเฉพาะค่าที่มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และใช้ *Kitasatospora setae* เป็น outgroup

จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า *Streptomyces badius* สามารถแยกได้ทั้งจากดินและจากภายในเนื้อเยื่อพืช อีกทั้งยังมีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์หลายชนิด เช่น เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส เอนไซม์ย่อยลิกนิน รวมถึงการผลิตสารเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งราก่อโรคพืช (Reichardt et al., 2025; Shivilata & Satyanarayana, 2017; Zhang et al., 2020) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับกิจกรรมการต้านควอร์มเซนซิงของแอคติโนแบคทีเรียชนิดนี้ ดังนั้น ผลการศึกษานี้จึงนับเป็นรายงานฉบับแรกที่แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ด้านการสื่อสารแบบควอร์มเซนซิงของเชื้อ *S. badius*

แม้ว่าผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการยับยั้งการสร้างรงควัตถุฟิโตรีดิวชัน ซึ่งเป็นลักษณะที่อยู่ภายใต้การควบคุมของระบบควอร์มเซนซิง อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้ยังจำกัดอยู่ในระดับลักษณะปรากฏหรือฟีโนไทป์ (phenotype) ของเชื้อเท่านั้น จึงยังไม่สามารถอธิบายกลไกการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุลได้อย่างชัดเจน อีกทั้งยังไม่ได้มีการประเมินผลต่อปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงอื่น ๆ เช่น การสร้างไบโอฟิล์ม การเคลื่อนที่ของเชื้อ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม โดยมุ่งเน้นวิเคราะห์ในระดับโมเลกุล เช่น การตรวจวัดสัญญาณ AHL และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบควอร์มเซนซิง รวมถึงประเมินฤทธิ์ต่อการสร้างและการทำลายชั้นไบโอฟิล์ม ตลอดจนผลต่อพฤติกรรมเคลื่อนที่ของเชื้อ เพื่อยืนยันกลไกในการออกฤทธิ์ และประเมินศักยภาพในการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ต่อไป

4. บทสรุป

แอคติโนแบคทีเรียจากดินตะกอนป่าชายเลน *Streptomyces* sp. PKS22-27 มีศักยภาพในการต้านควอร์มเซนซิงได้ โดยสามารถยับยั้งการสร้างรงควัตถุฟิโตรีดิวชันของ *S. marcescens* บนอาหารแข็งได้ นอกจากนี้ สารสกัดหยาบจากไฮโซเลตดังกล่าวยังคงแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างรงควัตถุ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของเชื้อทดสอบ ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับแนวทางในการค้นหาสารต้านควอร์มเซนซิงที่มุ่งควบคุมปัจจัยก่อโรค โดยไม่ยับยั้งการทำงานของแบคทีเรีย ซึ่งช่วยลดแรงกดดันในการเกิดการดื้อยา ทั้งนี้ สารสกัดหยาบจากไฮโซเลต PKS22-27 จะถูกคัดเลือกเพื่อนำไปศึกษาต่อในด้านการยับยั้งไบโอฟิล์มเพื่อประเมินศักยภาพสำหรับการประยุกต์ใช้ในอนาคตต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากสาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมชีวภาพ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2568

เอกสารอ้างอิง

- Bérdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 58(1), 1-26.
<https://doi.org/10.1038/ja.2005.1>
- Chalita, M., Kim, Y. O., Park, S., Oh, H. S., Cho, J. H., Moon, J., Baek, N., Moon, C., Lee, K., Yang, J., Nam, G. G., Jung, Y., Na, S. I., Bailey, M. J., & Chun, J. (2024). EzBioCloud: a genome-driven database and platform for microbiome identification and discovery. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 74(6). <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.006421>
- Devi, K. R., Srinivasan, S., & Ravi, A. V. (2018). Inhibition of quorum sensing-mediated virulence in *Serratia marcescens* by *Bacillus subtilis* R-18. *Microbial Pathogenesis*, 120, 166-175.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.04.023>
- Dimitrova, P. D., Ivanova, V., Trendafilova, A., & Paunova-Krasteva, T. (2024). Anti-biofilm and anti-quorum-sensing activity of inula extracts: A strategy for modulating *Chromobacterium violaceum* virulence factors. *Pharmaceuticals*, 17(5), 573. <https://doi.org/10.3390/ph17050573>

- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783-791.
- Ghannay, S., Aouadi, K., Kadri, A., & Snoussi, M. (2022). In vitro and in silico screening of anti-*Vibrio* spp., antibiofilm, antioxidant and anti-quorum sensing activities of *Cuminum cyminum* L. volatile oil. *Plants (Basel)*, 11(17). <https://doi.org/10.3390/plants11172236>
- Gowrishankar, S., Pandian, S. K., Balasubramaniam, B., & Balamurugan, K. (2019). Quorum quelling efficacy of marine cyclic dipeptide -cyclo(L-leucyl-L-prolyl) against the uropathogen *Serratia marcescens*. *Food and Chemical Toxicology*, 123, 326-336. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.11.013>
- Horng, Y.-T., Deng, S.-C., Daykin, M., Soo, P.-C., Wei, J.-R., Luh, K.-T., Ho, S.-W., Swift, S., Lai, H.-C., & Williams, P. (2002). The LuxR family protein SpnR functions as a negative regulator of N-acylhomoserine lactone-dependent Quorum Sensing in *Serratia marcescens*. *Molecular Microbiology*, 45, 1655-1671. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.03117.x>
- Husain, F. M., Ahmad, I., Al-thubiani, A. S., Abulreesh, H. H., AlHazza, I. M., & Aqil, F. (2017). Leaf extracts of *Mangifera indica* L. inhibit quorum sensing – regulated production of virulence factors and biofilm in test bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8, 727. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00727>
- Jakubiec-Krzesniak, K., Rajnisz-Mateusiak, A., Guspiel, A., Ziemska, J., & Solecka, J. (2018). Secondary metabolites of actinomycetes and their antibacterial, antifungal and antiviral Properties. *Polish Journal of Microbiology*, 67(3), 259-272. <https://doi.org/10.21307/pjm-2018-048>
- Lacey, H. J., & Rutledge, P. J. (2022). Recently discovered secondary metabolites from *Streptomyces* Species. *Molecules*, 27(3). <https://doi.org/10.3390/molecules27030887>
- Morohoshi, T., Shiono, T., Takidouchi, K., Kato, M., Kato, N., Kato, J., & Ikeda, T. (2007). Inhibition of quorum sensing in *Serratia marcescens* AS-1 by synthetic analogs of N-acylhomoserine lactone. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(20), 6339-6344. <https://doi.org/10.1128/AEM.00593-07>
- Packiavathy, I. A. S. S., Agilandewari, P., Musthafa, K. S., Pandian, S. K., & Ravi, A. V. (2012). Antibiofilm and quorum sensing inhibitory potential of *Cuminum cyminum* and its secondary metabolite methyl eugenol against Gram negative bacterial pathogens. *Food Research International*, 45(1), 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.10.022>
- Polkade, A. V., Mantri, S. S., Patwekar, U. J., & Jangid, K. (2016). Quorum sensing: an under-explored phenomenon in the Phylum Actinobacteria. *Frontiers in Microbiology*, 7, 131. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00131>
- Qi, Y., Ji, P., Yin, K., Zheng, Y., Niu, J., Jia, A., Zhou, J., & Li, J. (2023). Phloretin inhibits quorum sensing and biofilm formation in *Serratia marcescens*. *Molecules*, 28(24), 8067. <https://doi.org/10.3390/molecules28248067>

- Rasmussen, T. B., Manefield, M., Andersen, J. B., Eberl, L., Anthoni, U., Christophersen, C., Steinberg, P. D., Kjelleberg, S., & Givskov, M. (2000). How *Delisea pulchra* furanones affect quorum sensing and swarming motility in *Serratia liquefaciens* MG1. *Microbiology*, 146(12), 3237-3244.
<https://doi.org/10.1099/00221287-146-12-3237>
- Reichardt, C., Estes, D., Carlson, C. M., Currie, C. R., & May, D. S. (2025). Endophytic *Streptomyces* from honeybee hives inhibit plant and honeybee pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1644842.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1644842>
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406-425.
- Samreen, Qais, F. A., & Ahmad, I. (2022). Anti-quorum sensing and biofilm inhibitory effect of some medicinal plants against gram-negative bacterial pathogens: in vitro and in silico investigations. *Heliyon*, 8(10), e11113. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11113>
- Shirling, E. B., & Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 16(3), 313-340. <https://doi.org/10.1099/00207713-16-3-313>
- Shivlata, L., & Satyanarayana, T. (2017). Characteristics of Raw Starch-Digesting α -Amylase of *Streptomyces badius* DB-1 with transglycosylation activity and its applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 181(4), 1283-1303. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2284-4>
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Thabit, A. K., Eljaaly, K., Zawawi, A., Ibrahim, T. S., Eissa, A. G., Elbaramawi, S. S., Hegazy, W. A. H., & Elfaky, M. A. (2022). Muting bacterial communication: Evaluation of prazosin anti-quorum sensing activities against Gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, and *Serratia marcescens*. *Biology*, 11(9), 1349. <https://doi.org/10.3390/biology11091349>
- Tongtoht, J., Wongchawalit, J., & Mingma, R. (2024). Antimicrobial activities against pathogenic bacteria of marine actinobacteria isolated from mangrove sediments at Klong Khon Mangrove Forest, Thailand. *Science Essence Journal*, 40(1), 74-87.
- Zhang, K., Gu, L., Zhang, Y., Liu, Z., & Li, X. (2020). Dinactin from a new producer, *Streptomyces badius* gz-8, and its antifungal activity against the rubber anthracnose fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. *Microbiological Research*, 240, 126548. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126548>
- Zhang, Z., Sun, Y., Yi, Y., Bai, X., Zhu, L., Zhu, J., Gu, M., Zhu, Y., & Jiang, L. (2023). Screening and identification of a *Streptomyces* strain with quorum-sensing inhibitory activity and effect of the crude extracts on virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microorganisms*, 11(8), 2079.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11082079>