บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ข้าวโพด (*Zea mays* Linn.) จัดอยู่ในวงศ์ Poaceae มีชื่ออื่นๆ เช่น ข้าวสาลี (ภาคเหนือ) โพด (ภาคใต้) คง (จ. กระบี่) บือเคเส่ะ (กระเหรี่ยง) เป็นต้น ชื่อสามัญที่เรียกทั่วไป คือ maize หรือ corn ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด พืชชนิดอื่นๆ ที่อยู่ในวงศ์นี้ ได้แก่ หญ้า ไผ่ และธัญพืชชนิดต่างๆ เป็นต้น เมล็ดสามารถใช้เป็นอาหารได้ทั้งมนุษย์และสัตว์ และสามารถใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมได้หลายชนิด เช่น อาหารกระป๋อง แป้ง เวชภัณฑ์ น้ำหอม น้ำมัน ปุ๋ย และเชื้อเพลิง เป็นต้น (Krishnamurthi, 1969) นับว่าข้าวโพดเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่สร้างรายได้ให้กับเกษตรกร และเนื่องจากเป็นสินค้าทางเกษตรสำหรับการส่งออกไปยังต่างประเทศที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง ทั้งข้าวโพดไร่ (field corn) ได้แก่ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เป็นพืชอาหารที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์เป็นอย่างมาก และข้าวโพดฝักสด (specialty corns) ทั้งข้าวโพดหวานและข้าวโพดฝักอ่อนนั้นจัดอยู่ในกลุ่มพืชเพื่อการส่งออก จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีกระบวนการผลิตอย่างครบวงจร สามารถส่งออกได้หลากหลายรูปแบบ สร้างรายได้ให้กับเกษตรกรผู้ปลูกและโรงงานอุตสาหกรรมได้เป็นอย่างดี ข้าวโพดฝักอ่อน จัดเป็นพืชผักอุตสาหกรรมที่นิยมปลูกอีกชนิดหนึ่ง เนื่องจากมีเทคโนโลยีการผลิตที่ไม่ยุ่งยากมีระบบตลาด ที่สะดวกและมั่นคงพอควร ไม่ต้องใช้สารเคมีอันตรายและเป็นพืชที่มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้นโดยมีอายุตั้งแต่ วันปลูกถึงวันเก็บเกี่ยว ประมาณ 45-50 วัน และมีช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพียง 7-10 วัน ดังนั้น ตั้งแต่ปลูกจนถึงเก็บเกี่ยวฝักอ่อนหมดจะใช้เวลาเพียง 60-70 วันเท่านั้น เกษตรกรสามารถปลูกได้ ปีละ 4-5 ครั้ง ซึ่งสามารถปลูกเป็นพืชหลักที่ทำรายได้ที่ดี ในปัจจุบันอุตสาหกรรมการแปรรูปข้าวโพดหวานเริ่มมีการขยายตัวกันมากขึ้น ในปี พ.ศ. 2536-2537 โดยมีการเสนอขายข้าวโพดหวานคุณภาพดีจากประเทศไทย โดยโรงงานริเวอร์แควอินเตอร์เนชั่นแนล จังหวัดกาญจนบุรี ประจวบกับในช่วงเวลาดังกล่าวเกิดภาวการณ์ขาดแคลนข้าวโพดหวานของโลก เนื่องจากสภาพภูมิอากาศของแหล่งผลิตใหญ่ของโลก เช่น สหรัฐอเมริกา และยุโรปตอนใต้ไม่เหมาะสมต่อการปลูก ทำให้การผลิตข้าวโพดหวานเสียหายอย่างมาก จากผลของการขยายตัวของอุตสาหกรรมข้าวโพดหวานได้กระตุ้นให้เกิดการปลูกข้าวโพด โดยเฉพาะข้าวโพดหวานมีการปลูก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กันทั่วไปในประเทศไทยจนถึงปัจจุบัน ข้าวโพดหวานจึงจัดว่าเป็นพืชที่สำคัญที่สุดอีกชนิดหนึ่ง ผู้ปลูกรายใหญ่ของโลก คือ สหรัฐอเมริกา ฮังการี และแคนนาดา สำหรับในเขตเอเชียแปซิฟิก ข้าวโพดหวานมีความสำคัญอยู่ในประเทศ ญี่ปุ่น ไต้หวัน และไทย ซึ่ง ผลิตข้าวโพดหวานได้เป็นอันดับ 8 ของโลก ปัจจุบันประเทศไทยส่งออกข้าวโพดหวานในรูปแบบต่างๆ สูงเป็นอันดับ 3 ของโลก รองจากฮังการีและสหรัฐอเมริกา ทำให้การปลูกข้าวโพดหวานในประเทศมีการขยายตัวอย่างมาก รองรับกับความต้องการของผู้ผลิตและผู้ส่งออกที่มีการขยายการลงทุนในการผลิต ผลิตภัณฑ์ข้าวโพดหวาน ยอดการส่งออกข้าวโพดหวานของประเทศไทยมีการเติบโตอย่างก้าวกระโดดมาโดยตลอด จากปริมาณการส่งออก 500 กว่าตัน มูลค่าร่วม 10 กว่าล้านบาท ในปีแรกได้เติบโต มากกว่า 58,000 ตัน มีมูลค่ารวมกว่า 1,600 ล้านบาทในปี 2545 โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วง 2-3 ปีหลัง มูลค่าการส่งออกในแต่ละปีเติบโตขึ้นอย่างมาก โดยปริมาณการส่งออกในรูปแบบต่างๆ เพิ่มขึ้นจาก 27,625 ตัน ในปี 2543 เป็น 58,624 ตัน ในปี 2545 และมูลค่าการส่งออกเพิ่มจาก 633 ล้านบาท เป็น 1,634 ล้านบาท โดยการส่งออกในรูปปรุงแต่ง ไม่แช่เย็นจากแข็งมีปริมาณการส่งออก 25,869-57,443 ตัน และมีมูลค่า 627-1,582 ล้านบาท การส่งออกในรูปข้าวโพดหวานดิบหรือทำให้สุกแช่แข็ง มีปริมาณ 1,181-1,756 ตัน คิดเป็นมูลค่า 48-56 ล้านบาท (กรมวิชาการเกษตร, 2524) ปัจจุบันอุตสาหกรรมข้าวโพดหวานยังมีแนวโน้มการเติบโตไปในอนาคต เนื่องจาก ข้อได้เปรียบของประเทศไทยที่สำคัญ ประการแรก คือ มีฤดูกาลผลิตยาวนานกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสหรัฐอเมริกา ฝรั่งเศส ฮังการี และแคนาดา ซึ่งมีฤดูกาลผลิตสั้น (ประมาณ 60 วัน ต่อปี) เนื่องจากข้าวโพดหวานเป็นพืชที่ต้องการแสงมาก ในประเทศแถบหนาวจึงปลูกได้เฉพาะในช่วงฤดูร้อนเท่านั้น ส่วนข้อได้เปรียบที่สำคัญอีกประการ คือ ค่าใช้จ่ายทางด้านขนส่งทางเรือต่ำกว่ามาก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ตลาดในเอเซีย เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน ที่มีความต้องการนำเข้าสินค้าข้าวโพดหวานเป็นปริมาณมาก (วิไลวรรณ, 2545)

อย่างไรก็ตาม ปัญหาของการปลูกข้าวโพดที่สำคัญคือ ปัญหาเรื่องโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อราเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส การขาดธาตุอาหาร และแมลงศัตรูพืช เป็นต้น ซึ่งนำความเสียหายและส่งผลต่อคุณภาพของผลผลิต (ทรงเชาว์, 2531) โรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพด มีรายงานการพบครั้งแรกในประเทศอิตาลีเมื่อปี ค.ศ. 1876 และพบในสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ.1878 และเนื่องจากโรคนี้เกิดการระบาดและสร้างความเสียหายแก่ข้าวโพดในมลรัฐทางเหนือของสหรัฐอเมริกา จึงได้ชื่อว่า Northern corn leaf blight (สกุลศักดิ์, 2540) และสามารถพบโรคนี้ได้ทั่วไปตามท้องถิ่นที่มีการปลูกข้าวโพด ในประเทศไทยได้มีการสำรวจและรายงานว่า พบการระบาดของโรคนี้ในระดับที่รุนแรงในเขตอำเภอ สีคิ้ว เมื่อปี พ.ศ. 2517 (ทรงเชาว์, 2531) พบการระบาดของโรคนี้ในประเทศไทยทุกปี พบการระบาดที่มีผลกระทบต่อผลผลิตในพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดทางภาคเหนือ ซึ่งมีสภาพอากาศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หนาวเย็นและความชื้นสูง ในเขตภาคกลางพบการระบาดเป็นบริเวณแคบแต่ยังไม่รุนแรงมากนัก ในปัจจุบันพบว่า มีการระบาดของโรคพบในข้าวโพดสายพันธุ์แท้บางพันธุ์และพันธุ์ลูกผสมที่อ่อนแอต่อโรคนี้ (สมเกียรติ และคณะ, 2521) เมื่อประมาณปี พ.ศ. 2546 ได้เริ่มพบการระบาดของโรคอีกครั้งบริเวณภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่ เชียงราย แพร่ น่าน และที่ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา เนื่องจากช่วงระยะเวลาดังกล่าวนี้ ได้เริ่มมีการส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกข้าวโพดหวานในฤดูหนาวเพื่อนให้เพียงพอต่อการป้อนโรงงาน ดังนั้นข้าวโพดที่ปลูกก็เป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค การระบาดของโรคจะพบมากในช่วงฤดูฝนต่อฤดูหนาว โรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด อาการของโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพด เกิดแผลขนาดใหญ่ที่ใบ รูปร่างของแผล ยาวรี คล้ายกระสวย ยาว 2-15 เซนติเมตร บริเวณแผลมีสีเขียวซีดถึงสีน้ำตาลเริ่มเกิดที่ใบล่างก่อน ถ้าแผลมีปริมาณมากจะรวมกันเป็นแผลขนาดใหญ่สีน้ำตาลและในที่สุดจะทำลายพื้นที่สีเขียวของใบทั้งหมด ส่งผลกระทบต่อผลผลิต เมื่อใบบนเหนือฝักถูกทำลายหรือเกิดโรคก่อนการผสมเกสรจะทำให้ฝักมีขนาดเล็กเรียวลีบที่ปลายฝัก เมล็ดไม่เต็มฝักและมีขนาดเล็กลง (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2545; Makhawin *et al.* 2005)

การจัดลำดับชั้นของเชื้อรา *Exserohilum* (Leonard and Suggs, 1974; Agrios, 2005)

Kingdom *Fungi*

Phylum *Ascomycota*

Class *Euascomycetes*

Order *Pleosporales*

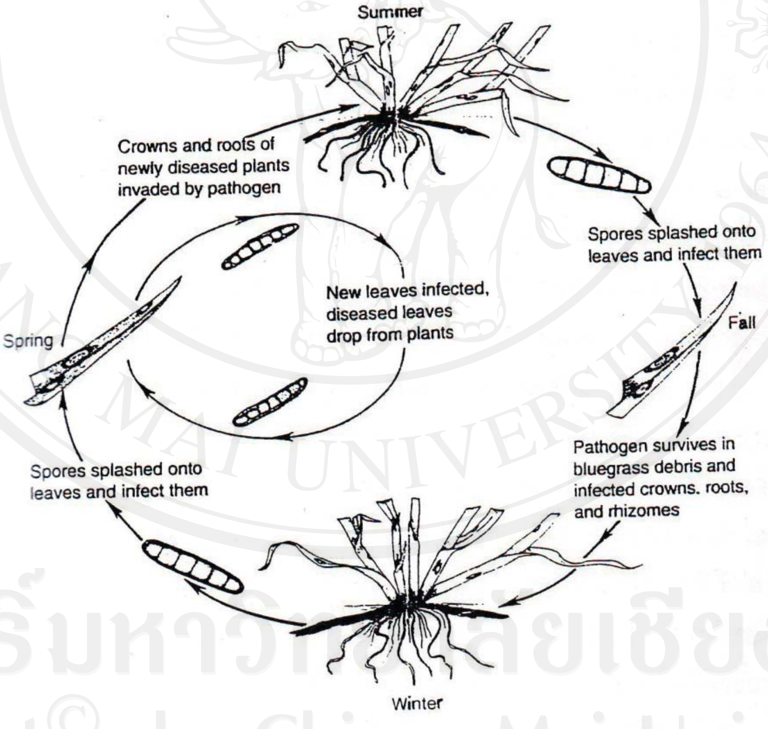
Family *Pleosporaceae*

Genus *Exserohilum*

เชื้อรา *Exserohilum turcicum* (Pass). Leonard & Suggs เมื่อสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual stage) จัดอยู่ใน Sub-division Ascomycotina มีชื่อว่า *Setosphaeria turcica* (syn. *Trichometasphaeria turcica*) (Abadi *et al*., 1989) ซึ่งไม่พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในสภาพธรรมชาติ (Borchardt *et al*. 1998) และในระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มีชื่อว่า *Exserohilum turcicum* (Agrios, 2005) จากรายงานของ สุกัญญา (2549) ชื่อเดิมของเชื้อได้แก่ *Dreschslera turcica* (Pass.) Subran. And Jain) ระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ *Trichometasphaeria turcica* (Luttrell) (Yeh and Tsai, 1988), *Bipolaris turcica* (Pass.) Shoemaker และ *Helminthosporium turcicum* Pass. สปอร์(โคนิเดีย) มีรูปร่างตรงหรือโค้งงอเล็กน้อยคล้ายกระสวย หัวท้ายเรียว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนกว้างที่สุดอยู่บริเวณเกือบกลาง มีผนังกั้น 3-8 อัน ขนาด 20×105 ไมครอน ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมและสายพันธุ์ของเชื้อรา สปอร์เกิดเดี่ยวๆ ที่ปลายก้านชูสปอร์มี hilum ยื่นออกมาให้เห็นอย่างชัดเจน สปอร์ที่ยังอ่อนเกือบไม่มีสี ต่อมาจึงกลายเป็นสีน้ำตาลเหลืองเข้ม เชื้อราชนิดนี้สามารถมีชีวิตอยู่ในเมล็ดที่เป็นโรคได้นานถึง 8 เดือน (นิพนธ์, 2533) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ คือ 27-30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างสปอร์ คือ 23-27 องศาเซลเซียส (เตือนใจ และคณะ, 2529) เชื้อรา *E. turcicum* เกิดโรคกับพืชชนิดอื่นนอกจากข้าวโพดได้มากกว่า 22 ชนิด เชื้อราสามารถอยู่ในซากพืชที่เป็นโรคได้ (Shurtleff, 1980) สปอร์ของเชื้อชนิดนี้มีผนังหนาและสามารถอยู่ข้ามฤดู เมื่อถึงฤดูปลูกต่อไปสามารถเข้าทำลายพืชนั้นได้อีก เชื้อราเข้าทำลายพืชโดยสปอร์งอก germ tube บริเวณหัว-ท้ายสปอร์ และเข้าทำลายพืชทางปากใบและเซลล์ผิวใบของพืช (ภาพ 1) สามารถเข้าทำลายได้ภายใน 5 ชั่วโมง และจะแสดงอาการให้เห็นภายใน 3 วัน หลังระยะฟักตัว



ภาพ 1 วงจรการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่ ที่เกิดจากเชื้อรา *Helminthosporium* spp. Pass. (Otis *et al.* 2001) อ้างโดย สุทธิพงศ์ (2547)

และพบว่าแสงสีชมพู แสงสีน้ำเงินและแสงสีเขียว ที่อยู่ในช่วงความยาวคลื่น 400-450 นาโนเมตร เป็นแสงที่กระตุ้นการสร้างสปอร์และได้ดี (Browne and Cooke, 2004, Flaherty and Dunkle, 2005) และพบว่าการสร้างสปอร์ของเชื้อรา ถูกชักนำให้สร้างด้วยความมืด โรคจะทวีความ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รุนแรงมากขึ้น ถ้ามีอากาศร้อนและชุ่มชื้น ถ้ามีความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 90-100 เปอร์เซ็นต์ จะเกิดโรคนี้มากและถ้าอาการของโรคมีความรุนแรง ส่งผลให้ใบข้าวโพดแห้งตาย Perkins and Pedersen (1987) การแพร่ระบาดของเชื้อราสาเหตุโรค เมื่อมีความชื้นสูงพอ เชื้อราสาเหตุโรคจะสร้างสปอร์บริเวณแผลบนใบข้าวโพดสำหรับแพร่กระจายต่อไป โดยอาศัยลม ฝนและติดกับเมล็ด เมื่อมีความชื้นจะงอกเข้าทำลายใบข้าวโพดและแสดงอาการของโรคในส่วนอื่นต่อไป สปอร์ของเชื้อจะสร้างขึ้นจำนวนมากภายใต้สภาพความชื้นสูง อุณหภูมิระหว่าง 18-27 องศาเซลเซียส Makhawin *et al*. (2005) ถ้าโรคเข้าทำลายก่อนออกไหม (silk) ทำให้ผลผลิตลดได้ถึง 50% แต่ถ้าเข้าทำลายหลังออกไหมแล้ว 6 สัปดาห์ มีผลกระทบต่อผลผลิตน้อย Weikert-Oliveira *et al*. (2002) ได้ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคใบไหม้ในธัญพืช (*Helminthosporium*) ได้แก่ *B. oryzae* ที่แยกได้จากข้าว *B. sorokiniana* ที่แยกจกข้าวสาลี *B. maydis* และ *E. turcicum* mแยกได้จากข้าวโพด โดยอาศัยเทคนิค Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 rDNA พบความแปรปรวนทั้งระหว่างสปีชีส์และภายในสปีชีส์ (inter-and intra-specific) และเมื่อใช้เทคนิค (Random Amplification Polymorphic DNA) RAPD พบว่าระดับความแตกต่างระหว่างสปีชีส์ มีมากกว่าภายในสปีชีส์เดียวกัน เมื่อนำมาจัดกลุ่มโดยวิธีUPGMA พบว่าราแต่ละไอโซเลทมีความสัมพันธุกับพืชอาศัย แต่เชื้อราบางไอโซเลท (*B. sorokiniana* และ *B. oryzae*) ไม่แสดงความสัมพันธ์กับพื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง และนอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราในระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorph) ของเชื้อราที่ศึกษาเหล่านี้ยังแสดงความสัมพัทธ์กันในลักษณะเดียวกับที่แสดงในระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) อีกด้วย นอกจากนี้ Simcox *et al.* (1993) ได้ศึกษาความหลากหลายของไอโซไซม์ของเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ race ชนิดต่างๆ ซึ่งเก็บรวบรวมจากแหล่งปลูกข้าวโพดในสหรัฐอเมริกา เพื่อศึกษาว่ารูปแบบของไอโซไซม์มีความสัมพันธ์กับ race หรือไม่ จากการศึกษาได้ข้อมูลว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง (geographic location) กับรูปแบบของไอโซไซม์เพียง 2 รูปแบบ ในขณะที่หลายไอโซเลทที่ใช้ทดสอบให้รูปแบบของไอโซไซม์คล้ายคลึงกัน ในการศึกษาวิจัยถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรานอกเหนือจากเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานให้กับพืชแล้ว ทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนป้องกันกำจัดและเพิ่มศักยภาพในการควบคุมโรคได้อีกด้วย

(Yeh and Tsai, 1988) รายงานว่าโรคใบไหม้แผลใหญ่สร้างความเสียหายให้แก่พื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดในประเทศใต้หวันเป็นอย่างมาก ซึ่งเชื้อสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายข้าวโพดได้ในระยะกล้า ส่งผลให้ข้าวโพดตาย และเมื่อปลูกข้าวโพดพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค เช่น Tainan 5 และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Tainan 11 เชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายข้าวโพด เมื่อข้าวโพดโตขึ้นก็ส่งผลต่อผลผลิตของข้าวโพดลดลง

การป้องกันกำจัดโรคที่เกษตรกรนิยมใช้กัน คือ ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช เป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็ว สามารถลดการระบาดของโรคที่เกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ (นุชนารถ, 2545)

Raid (1991) ศึกษาการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราป้องกันโรคราสนิม เกิดจากเชื้อรา *Puccinia sorghi* และโรคใบไหม้แผลใหญ่ เกิดจากเชื้อรา *E. turcicum* ของข้าวโพดหวานโดยใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ mancozeb, chlorothalonil และ propiconazole ในสภาพแปลง โดยพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราก่อนการเกิดโรค พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดโรคที่แตกต่างกันทางสถิติ และพบว่าสารเคมีกำจัดเชื้อรา propiconazole มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของการเกิดโรค และส่งผลให้ผลผลิตที่ได้สูงขึ้น

ศิวิไล (2551) รายงานการป้องกันกำจัดโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดโดยการใช้สารเคมีประเภทดูดซึมและสัมผัสสลับกัน เพื่อป้องกันการดื้อยาของเชื้อสาเหตุโรค เช่น propiconazole, mancozeb, difenoconazole และchlorothalonil เป็นต้น ซึ่งสารเคมีเหล่านี้เป็นสารเคมีที่ใช้กันทั่วไป มีความเป็นพิษต่อคนและพืชน้อย มีผลตกค้างในพืชไม่เกิน 7 วันหลังจากฉีดพ่น ใช้ได้ทั้งในการป้องกันและทำลายเชื้อ โดยเฉพาะสารประเภทสัมผัส เมื่อพ่นสารแล้ว ตัวยาจะเข้าไปจับที่ผิวใบด้านนอก เมื่อเชื้อโรคตกลงมาที่ผิวใบ เชื้อจะงอกเป็นเส้นใย (germ tube) และเข้าทำลายเซลพืชทางปากใบ แต่ก่อนเข้าทำลายเซลล์พืชเชื้อจะดูดยาเข้าไปในเซลล์เชื้อ ผลของยา คือทำให้โปรตีนของเชื้อตกตะกอนและตาย

Gopinath *et al.* (2006) ศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดเชื้อรา propiconazole, difenoconazole และ carbendazim ใช้ในการควบคุมเชื้อรา *Collectotrichum capsici* ของพริก ทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใย พบว่าสารเคมีกำจัดเชื้อรา propiconazole สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. capsici* ได้ดีถึงแม้ว่าจะใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราในปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสาร difenoconazole และ carbendazim นอกจากนี้พบว่าสาร propiconazoleไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อพริกที่ใช้ทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเริ่มมีข้อจำกัด เนื่องจากสารเคมีหลายชนิดได้ถูกห้ามใช้ อีกทั้งตลาดผู้บริโภคให้ความสนในในการเลือกซื้อผลผลิตที่มาจากระบบการผลิตที่ไม่ใช้สารเคมีมากยิ่งขึ้น ดังนั้น วิธีการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธี เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่เกษตรกรหันมาให้ความสนใจ และเริ่มยอมรับถึงประสิทธิภาพจากการใช้การป้องกันกำจัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โรคพืชด้วยวิธีนี้มากขึ้น เป็นการนำจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมโรคโดยวิธีต่างๆ (ศิริพงษ์ และรัศมี , 2539)

การควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี หมายถึง การลดปริมาณประชากรและลดกิจกรรมของเชื้อโรคพืช อันจะก่อให้เกิดโรคจนอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืช โดยอาศัยสิ่งมีชีวิต (organism) ซึ่งรวมทั้งพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) ตลอดจนสารพันธุกรรมหรือผลิตผลจากสารพันธุกรรม (gene or gene products) ของสิ่งมีชีวิต แต่ยกเว้นผลจากการกระทำต่อเชื้อโรคโดยตรงจากมนุษย์ ในธรรมชาติมีสิ่งมีชีวิตหรือจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืช และแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันไปในการเป็นปฏิปักษ์ (จิระเดช และคณะ, 2546) โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ที่เป็นเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา ในธรรมชาติจะมีเชื้อที่มีคุณสมบัติในการนำมาใช้ควบคุมโรคพืช เรียกว่าเชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) โดยเชื้อจะมีกลไกควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคได้ 4 ลักษณะ คือ

1. การแข่งขันซึ่งกันและกัน (competition) หมายถึง การที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งเข้าไปยึดพื้นที่หรือเจริญเติบโตก่อนที่เชื้อสาเหตุโรคพืชจะเข้าทำลาย

2. การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) หมายถึง ผลิตผลจากกระบวนการเมทาบอลิซึม (metabolism) ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่สามารถยับยั้งหรือทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

3. การเป็นปรสิต และตัวห้ำ (parasite and predation) หมายถึง การที่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เจริญอยู่ใกล้เคียงหรือเจริญอยู่บนส่วนของพืชแล้วเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืช เพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารหรือสารประกอบต่างๆ จากเชื้อสาเหตุโรคพืช

4. การชักนำให้พืชเกิดความต้านทานโรค (induced of resistant in plant) เป็นกลไกที่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไปกระตุ้นให้ต้นพืชสร้างภูมิคุ้มกัน หรือสร้างสารต่างๆ ที่มีผลในการต่อต้านหรือยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราที่ได้รับความสนใจในการศึกษาวิจัยจากนักวิชาการหลายแขนง เนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma* มีความสามารถในการทำลายกับเชื้อสาเหตุโรคพืช อีกทั้งสามารถสร้างสารปฏิชีวนะหลายชนิด เช่น ผลิตเอนไซม์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมและการย่อยสลายวัสดุต่างๆ เป็นต้น

การจัดลำดับชั้นของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (Raifai, 1969, Domsch *et al*. 1980)

Kingdom *Fungi*

Phylum *Ascomycota*

Class *Sordariomycetes*

Order *Hypocreales*

Family *Hypocreaceae*

Genus *Trichoderma*

Specie *T. harzianum*

จิระเดช และคณะ (2546) รายงานคุณสมบัติของเชื้อรา *Trichoderma* คือ เป็นเชื้อราพวกซาโปรไฟต์ (saprophyte) ที่ดำรงชีวิตอยู่ในดิน อาศัยเศษซากพืชซากสัตว์และแหล่งอินทรียวัตถุเป็นอาหารเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่จัดอยู่ในจำพวกของเชื้อราชั้นสูง เส้นใยมีผนังกั้นแบ่ง มีประโยชน์สำหรับใช้ควบคุมโรคพืชที่มีสาเหตุมาจากเชื้อราได้อย่างกว้างขวาง ทั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เป็นเชื้อราชั้นสูงและชั้นต่ำ และเนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma* เป็นเชื้อราชั้นสูง จึงถูกทำลายได้ด้วยสารเคมีที่ใช้ในการป้องกัน และกำจัดเชื้อราชั้นสูงโดยเฉพาะสารเคมีในกลุ่มเบนซิมิดาโซล (benzimidazole) ได้แก่ เบนโนมิล (benomyl) และคาร์เบนดาซิม (carbendazim) ซึ่งเป็นกลุ่มสารเคมีชนิดดูดซึม หากจำเป็นที่จะต้องใช้สารเคมี ควรจะทิ้งช่วงประมาณ 2 สัปดาห์เป็นอย่างต่ำ

Bissett (1984) อธิบายลักษณะเชื้อราชนิดนี้ได้ว่า เป็นเชื้อราที่พบได้ทั่วไปในดินทุกแห่ง สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดินธรรมชาติได้ง่าย เจริญได้รวดเร็วบนอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด สร้างเส้นใยสีขาวและผลิตสปอร์จำนวนมาก และมีการเจริญของเส้นใยและสปอร์ได้ค่อนข้างรวดเร็ว จึงมีความสามารถในการแข่งขัน (competition) กับเชื้อราสาเหตุโรคพืชชนิดอื่นๆ เมื่อสปอร์แก่ หรือเจริญเต็มที่จะเห็นเป็นสีเขียว บางชนิดอาจมีสีเหลืองร่วมด้วยเชื้อรา *T. harzianum* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ที่มีความสามารถในการเป็นศัตรูกับเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลากหลายชนิด โดยการใช้เส้นใยพันรอบ และแทงเข้าไปในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช รวมทั้งแย่งอาหาร ทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชเหี่ยวสลายและตายลงในที่สุด นอกจากนี้ยังสามารถผลิตสาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปฏิชีวนะ (antibiotic) สารพิษ (toxic) น้ำย่อยจำพวกเอนไซม์ (enzyme) และพบว่า สามารถช่วยละลายแร่ธาตุให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช จึงช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและชักนำให้ต้นพืช มีความต้านทานต่อเชื้อโรคพืชได้

วาสนา และคณะ (2548) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-50 และ CB-Pin-01 และเชื้อรา *T. virenns* สายพันธุ์ Tv-16 ในรูปแบบสปอร์แขวนลอยของเชื้อราร่วมกับการใช้แคลซียมคลอไรด์ 10 กรัม/ลิตร และซิลิกอนอัตรา 1 กรัม/วัสดุปลูก (พีท) 1 กก. รดลงวัสดุที่ใช้ปลูก ในการควบคุมโรครากเน่าคอดินของมะเขือเทศพันธุ์คิงคอง 2 ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าหลังจากย้ายปลูกพืช 14 วัน ทุกกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* และ *T. virenns* และใช้สารเคมีเมทาแลกซิล ช่วยให้ต้นไม้มีต้นรอดตายสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกด้วยเชื้อรา *P. aphanidermatum* เมื่อใช้ร่วมกับแคลเซียมคลอไรด์และซิลิกอน โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-50 และ CB-Pin-01 ในรูปของสารแขวนลอยความเข้มข้นที่ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร รดลงดินในปริมาตร 5 มิลลิลิตร และการใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. virenns* ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยการแช่เมล็ดมะเขือเทศเป็นเวลา 30 นาทีก่อนปลูก ร่วมกับการใช้แคลเซียมคลอไรด์ รดลงบนวัสดุปลูก พบว่า ช่วยให้ต้นมะเขือเทศรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์

Hadar *et al*. (1979) และ Elad *et al*. (1983) ศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรค พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* เจริญเข้าหาเชื้อราสาเหตุโรคแล้วทำลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค *Rhizoctonia solani* พบเอนไซม์ chitinase ปล่อยออกมาหลังจากนั้น 12 ชั่วโมง เมื่อเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรคพืชสัมผัสกันแล้ว เชื้อราสาเหตุโรคพืชจะสูญเสียความสามารถในการเข้าทำลายพืชโดยเชื้อรา *T. harzianum* ย่อยสลายกลุ่มของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ และพบว่าเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* สร้างโครงสร้างคล้ายตะขอ หรือ appressorium แทงเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ต่อมา Elad and Chet (1987) รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถเป็นปรสิตกับเชื้อรา *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp. และ *Sclerotium* sp. พบการสร้างเอนไซม์ ß-(1,3)-glucanase, chitinase และ cellulose ทำลายเส้นใยของเชื้อราดังกล่าว

Eliane and Cirano, (1996)และ Haran *et al*. (1996) รายงานว่า เชื้อรา *T. harzianum* เข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรค โดยการสร้างเอนไซม์และสารปฏิชีวนะต่างๆ เช่น สร้างเอนไซม์ ß-(1,3)-glucanase protease *N*-acetyl-D-glucosaminidase chitinase เป็นต้น ซึ่งมีบทบาทต่อการย่อยสลายเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้กว้างขวาง เช่น *Botrytiis cinerea, Fusarium solani* เป็นต้น

Intanoo *et al*. (2002) ทำการแยกเชื้อปฏิปักษ์ (*T. harzianum* CB-Pin-01) จากผิวใบผักคะน้า นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* และเมื่อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำไปทดสอบในเรือนทดลอง พบว่าสามารถลดการเกิดโรคที่เกิดขึ้นได้ โดยสามารถลดขนาดแผลให้เล็กลง

Intana *et al*. (2003) ศึกษาการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ควบคุมโรคเน่าคอดิน (damping-off) ของแตงที่มีเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* เป็นเชื้อสาเหตุโรค พบว่าสามารถควบคุมโรคได้ และเมื่อศึกษากลไกการควบคุมของเชื้อรา *T. harzianum* พบลักษณะการเป็นปรสิต โดยเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* พันรัดและแทงเข้าสู่เส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum*

Aneja *et al.* (2006) รายงานว่า *T. harzianum Rifai* ที่แยกจากต้นโกโก้ เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว สามารถผลิตสาร nonanoic (pelargoinc) acid จากนั้นนำสาร nonanoic acid ไปทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคโกโก้ คือ *Crinipellis perniciosa Stahel* และ *Moniliophthora roreri* Cif. H. C. Evans พบว่าสาร nonanoic สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญเส้นใยของเชื้อสาเหตุได้ถึง 75 เปอร์เซ็นต์

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ทดลองและนำไปใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การจัดลำดับชั้นของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* (Wei *et al.* 2003)

Kingdom *Bactiria*

Subkingdom *Firmicutes*

Division *Bacilli*

Class *Bacillales*

Subclass *Bacillaceae*

Genus *Bacilaceae*

Specie *Bacillus subtilis*

ดวงพร (2537) อธิบายลักษณะของแบคทีเรีย *B. subtilis* เป็นรูปท่อนตรง (rod-shaped) หรือเกือบตรง ขนาด 0.3 –2.2 x 1.2 –7.0 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลเจลลาด้านข้าง (lateral flagella) ติดสีแกรมบวก (Gram-positive) หายใจโดยใช้ออกซิเจน สามารถ ที่ผลิต endospore ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ การแตกออกของสปอร์อยู่ที่บริเวณกลางเซลล์ ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดวุ้น ผิวของโคโลนีอาจเรียบหรือขรุขระ ทึบ มีสีครีมหรือสีน้ำตาล สามารถย่อยเพกตินและโพลีแซ็กคาไรด์ของเนื้อเยื่อพืชได้

คุณสมบัติของเชื้อ *B. subtilis* สามารถเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคโดยตรง และสามารถสร้างสารปฏิชีวนะหลายชนิดที่สามารถทำลายเชื้อสาเหตุโรคได้ นอกจากนี้สามารถแก่งแย่งธาตุอาหาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้ดีกว่าจุลินทรีย์อื่นๆ ในสภาพแวดล้อมที่ขาดแคลน อีกทั้งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่โดยปกติมักจะพบอาศัยอยู่ภายในพืชโดยไม่ก่อให้เกิดผลเสียหายต่อพืชที่อาศัยอยู่ มีความสามารถในการปรับตัวและทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แปรเปลี่ยน และวิกฤต โดยการสร้างสปอร์ และทนต่อสภาพอากาศร้อนชื้นได้ดี และ *B. subtilis* บางสายพันธุ์ มีความสามารถในการผลิตสารพวก Toxic metabolite บางชนิดที่มีประโยชน์ ในการนำมาใช้กระตุ้นการเกิดความต้านทานของพืชต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชที่เข้าทำลาย ซึ่งเชื้อราสาเหตุโรคที่เชื้อ *B. subtilis* สามารถป้องกันและควบคุมการเกิดโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น เชื้อรา *Alternaria* spp., *Phytophthora palmivora*, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp., *Cercospor*a spp. *Acrocylindrium oryzae, Erwinia* spp., *Pyricularia oryzae*, *Colletotrichum* spp. และเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*และ *Xanthomonas campestris* เป็นต้น

Broadbent *et al*. (1977) รายงานว่าพบ *Bacillus* spp. หลาย strain มีคุณสมบัติเป็นจุลินทรีย์ต่อต้านโรค เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้สร้าง endospore ที่ทนต่อความร้อนและความแห้งแล้งได้ เช่น *B. subtilis* A13 ที่แยกมาจากเส้นใยของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้หลายชนิด

Winkelman *et al*. (1980) รายงานว่าแบคทีเรีย *Erwiania herbicola*, *Streptomyces* spp. และ *Bacillus* spp. สามารถสร้าง peptide antibiotic ซึ่งเป็น cyclic compound ที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ peptidase และ protease

Besson *et al*. 1987 รายงานว่านอกจาก glucose แล้วยังมีการใช้น้ำตาลชนิดอื่นสำหรับเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น การผลิต iturin A จาก *B. subtilis* ใช้ mannitol, fructose และ sucrose เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าสามารถผลิต iturin A ได้มากกว่า glucose ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน

Maten *et al.* (1999) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B2g ซึ่งอยู่ในรูปแบบต่างๆ เช่น รูปเม็ดสปอร์แขวนลอย (spore suspension) และคลุกเมล็ด (seed treatment) สามารถทำลายเชื้อรา *R. solani* และ *F. oxysporum* ได้ดี ในขณะเดียวกันสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของทานตะวัน กะหล่ำปลีและแตงกวาได้

กรพินธุ์ และคณะ (2550) ศึกษาการควบคุมโรคใบเปื้อนเหลืองของกล้วยไม้สกุลหวายโดยใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ใช้สปอร์หรือเซลล์แขวนลอยพ่นใบกล้วยไม้ พบว่า การพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถลดการเกิดโรคได้ 60.20-95.21 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีแมนโคแซบ เมื่อตรวจสอบความมีชีวิตรอดของประชากรของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ พบประชากรของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. อยู่ที่ด้านล่างของใบมากกว่าด้านบนของใบพืช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Bernal *et al.* (2002) นำแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่ทำให้กลายพันธุ์ด้วยสารเคมีแล้วสร้างสารปฏิชีวนะได้มากขึ้น มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรค พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Botrytis cinerea, Ralstonia solanacearum* และ*Erwinia carotovora* var. *carotovora* ได้

Jiang *et al*. (2006)และ Maneesang *et al*. (2008) รายงานว่า สารปฏิชีวนะที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมีประโยชน์ในการแก่งแย่งอาหาร เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ขาดแคลนและเมื่อต้องอยู่ร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นก็จะยับยั้งการเจริญหรือทำลายจุลินทรีย์ที่อยู่รอบข้างบางชนิดได้ จากผลการทดลองพบว่าการพ่น *Bacillus brevis* Rifr- ผสมกับ *Bacillus megaterium* Rifr- ลงบนต้นพืชสามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ดีและพืชสามารถให้ผลผลิตสูงกว่าการพ่น *Bacillus* sp. เพียงไอโซเลทเดียว

Adla-Allah *et al* (2007) รายงานการทดลองใช้ *B. subtilis* ในการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum f. sp. lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยว กับต้นมะเขือเทศตั้งแต่เริ่มงอกจนถึงระยะต้นกล้า พบ เชื้อ *B. subtilis* สามารถครอบครองและป้องกันเนื้อเยื่อบริเวณ cortex และเนื้อเยื่อบริเวณท่อลำเลียง ของต้นมะเขือเทศต่อการเกาะกลุ่มกันของเชื้อสาเหตุโรค และพบว่าต้นมะเขือเทศมีการเจริญเติบโตทางด้านข้างและตามยาวของเนื้อเยื่อ cortex ซึ่งแสดงว่า อาจจะเป็นผลมาจากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถผลิตฮอร์โมนพืช และช่วยส่งเสริมให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดีระหว่างการทดลองไม่พบความผิดปกติของต้นมะเขือเทศขณะที่มีการใช้เชื้อ *B. subtilis*

Baysal *et al*. (2008) ศึกษาผลของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ EU07 ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พบเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ EU07 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา FORL เมื่อทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ และเมื่อนำไปทดสอบในสภาพเรือนทดลองในรูปของสารแขวนลอย ที่ระดับความเข้มข้น 10^6 cfu ml^{-1} พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ 75 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ EU07 สร้างสารปฏิชีวนะ ได้แก่ fengycin bacillomycin และ itulin เมื่อนำจีโนมของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ EU07 พบว่ามีความคล้ายกับ YrvN protein 99 % และ AAA ATPase 72.2 % ซึ่งพบว่าผลจากการยับยั้งเชื้อรา FORL ของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ EU07 มาจาก YrvN protein และเอนไซม์ protease

Leelasuphakul *et al*. (2008) ศึกษาการยับยั้งการเจริญและการผลิตสารยับยั้งเชื้อรา *Penicillium digitatum* สาเหตุโรคเน่าราสีเขียวหลังการเก็บเกี่ยวของผลส้มโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* เนื่องจากพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถสร้างสปอร์ได้จำนวนมาก ทนต่อการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ย่อยสลาย ทนต่ออุณหภูมิสูง รังสียูวี และมีความสามารถในการควบคุมการเจริญของเชื้อราได้หลายชนิด พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *P. digitatum* และพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น iturin, surfactin fengycin และเอนไซม์ chitinase ß –(1,3) glucanase มีผลต่อการทำลายผนังเซลล์ของเชื้อรา

Kinsella *et al.* (2009) ศึกษาประสิทธิภาพของสารปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่แยกจากดินบริเวณรอบรากต้นแตง เมื่อนำมาสกัดแยกสารปฏิชีวนะและวิเคราะห์ชนิดของสารด้วย high-performance liquid chromatography (HPLC) พบว่าเป็นสาร inturin A และ surfactin

โสพส และคณะ (2003) รายงานว่า นอกจากการใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ในการควบคุมการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค สำหรับการป้องกันกำจัดโรคพืช ปัจจุบันได้มีการนำเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มาใช้ในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค และกำจัดของเสียให้กับสัตว์น้ำ เช่น ใช้อุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้ง ซึ่งช่วยในการลดปริมาณสารพิษตกค้างกับกุ้งเมื่อในใช้สารเคมี อีกทั้งช่วยลดต้นทุนการผลิต โดยมีการพัฒนาเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ในรูปผลิตภัณฑ์น้ำและผง โดยเติมสารที่ช่วยเก็บรักษาผลิตภัณฑ์และสารช่วยจับตัวเพื่อช่วยในการอบแห้ง ซึ่งพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้มีความคงตัวอย่างน้อยที่สุด 1 ปี

เชื้อแบคทีเรีย *Serratia plymuthica* จัดเป็นเชื้อซาโปรไฟต์ชนิดหนึ่ง รูปร่างเป็นแท่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ สามารถสร้างรงควัตถุสีแดง ที่เรียกว่า prodigiosin ดวงพร (2537) ซึ่งการสร้างรงควัตถุขึ้นอยู่กับสภาพการเพาะเลี้ยงและอาหาร แต่บางสายพันธุ์ไม่สร้าง การหมักกลูโคส ไม่เกิดแก๊สหรือถ้าเกิดก็น้อยมากการทดสอบ สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้ในคนและสัตว์ (Reina *et al.* 1992, Carrero *et al.* 1995; Ramos *et al.* 1995) สามารถแยกเชื้อได้จากดิน และพบว่าบางสายพันธุ์สามารถเจริญและปนเปื้อนอยู่ในอาหารได้ (Lopes-Sabater *et al.* 1996; Lyhs *et al.* 1998)

การจัดลำดับชั้นของเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* (Kalbe *et al.* 1996)

Kingdom *Bactiria*

Phylum *Proteobacteria*

Class *Gammaproteobacteria*

Order *Enterbacterales*

Family *Noctuoidea*

Genus *Serratia* sp.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรีย *S. plymuthica* เป็นจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถแยกได้จากดินและพืช เช่น จากดินที่อยู่รอบๆรากหญ้า (Alström *et al.* 1987) ข้าวโพด (Lucon and Melo, 2000 เมลอน หัวหอม (Park and Shen, 2002) พืชตระกูลกะหล่ำ (Carlot *et al.* 2002) ดอกดาวกระจาย (*Cichorium intybus*) (Stock *et al.* 2003) จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บริเวณรากของมันฝรั่ง ซึ่งเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* สามารถเจริญอยู่บริเวณรอบๆ รากพืชได้หลายชนิด นอกจากนั้นยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเป็นเชื้อปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืชในดินได้ (Berg, 2000 และ Berg *et al.* 2002) และสามารถพบเชื้อชนิดนี้จากการปนเปื้อนในการผลิตของผักสด (Van *et al.* 2005)

David *et al.* (2009) รายงานการใช้เชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้งในดินและใบพืช พบว่าเคยมีการใช้เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคที่เกิดหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตของพืชด้วย ดังข้อมูล (ตาราง 1)

Kurze *et al.* (2001) รายงานการใช้เชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* สายพันธุ์ HRO-C48 ในการควบคุมโรของสตรอเบอรี่ โดยทดสอบการควบคุมเชื้อรา *Verticillium dahlia*e สาเหตุโรคเหี่ยว (wilt) และเชื้อรา *Phytopthora cactorum* สาเหตุโรครากเน่า (root rot) เมื่อนำไปทดสอบในสภาพแปลง โดยจุ่มรากของสตรอเบอรี่ลงในสารละลายเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* สายพันธุ์ HRO-C48 พบว่าสามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 24.2 % และโรครากเน่าได้ 9.6 % เมื่อตรวจความมีชีวิตรอดของเชื้อจากดินรอบรากสตรอเบอรี่ พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* สายพันธุ์ HRO-C48 มีการเจริญและมีชีวิตรอดได้นานถึง 14 เดือน

Kamensky *et al.* (2003) รายว่า *S. plymuthica* สายพันธุ์ IC14 และ IC1270 นำมาใช้ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคกับส่วนที่เป็นใบไม้ เช่น การทดสอบกับสายพันธุ์ IC14 ในการป้องกันเมล็ดแตงกวาที่กำลังงอกต่อเชื้อราสีเทา *Botrytis cinerea* และราสีขาว *Sclerotinia sclerotiorum* ในสภาพเรือนทดลอง ซึ่งให้ผลว่าการเกิดโรคจาก *B. cinerea* ลดลง 76% และในเชื้อรา *S. sclerotiorum* ลดลง 84% แต่การอยู่รอดของสายพันธุ์นี้ พบว่าเมื่อเวลาผ่าน 72 ชั่วโมง จากจำนวนเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้น $1x10^6$ เซลล์ต่อพื้นที่ของเนื้อเยื่อใบพืช 0.5 ตารางเซนติเมตร ลดลงเหลือเพียง $2.7x10^3$ เซลล์ต่อพื้นที่ของเนื้อเยื่อใบพืช 0.5 ตารางเซนติเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 1 ความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคในพืช โดยเชื้อ *Serratia plymuthica* สายพันธุ์ต่างๆ

Serratia plymuthica	**พืช**	**เชื้อสาเหตุโรค**
IC1270	ฝ้าย	*Rhizoctonia solani*
	ถั่ว	*R. solani*
	แตงกวา	*Phythium aphanidermatum*
	พืช	*Monilinia fructicola, Rhizopus stolonifer*
	แอปเปิ้ล	*Penicillium expansum*
	ส้ม	*P. digitatum, P. italicum*
IC1270	ถั่ว	*Collectotrichum lindemuthianum, Botrytis cinerea*
	มะเขือเทศ	*B. cinerea*
	ข้าว	*Magnaporthe grisea*
IC14	ส้ม	*P. digitatum, P. italicum*
	แตงกวา	*B. cinerea, Sclerotinia sclerotiorum*
CL43	กะหล่ำปลี	*B. cinerea, A. brassicicola*
R1GC4	แตงกวา	*P. aphanidermatum, P. ultimum*
3Re4-181	มันฝรั่ง	*R. solani*
	ผักกาดหอม	*R. solani*
	หัวบีท	*R. solani*
HRO-C482	สตรอเบอรี่	*V. dahliae, Phytophtora cactorum*
2-67	แตงกวา	*Collectotrichum orbiculare*
	องุ่น	*Eutypa lata*
B-781	แตงกวา	*Pythium perplexum*
A21-4	พริกไทย	*Phytophtora capsici*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Jolanta *et al.* (2004) ศึกษาประสิทธิภาพของสารปฏิชีวนะที่ได้จากเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* ไอโซเลท A 153 ที่แยกมาจากดิน ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรค 2 ชนิด คือ เชื้อรา *Fasarium culmorum* และ *F. oxysporum* พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* สร้างสารปฏิชีวนะได้ 2 ชนิด ได้แก่ สาร pyrrolnitrin และ 1-acetyl-7-chloro-1-H-indole พบว่า สาร pyrrolnitrin สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคทั้งสองชนิดได้ ในระดับความเข้มข้นในช่วง ประมาณ 0.06-50 µg ml^{-1} และสาร1-acetyl-7-chloro-1-H-indole สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ในระดับความเข้มข้นเดียว คือ 50 µg ml^{-1}

Müller *et al*. (2006) กล่าวถึงกลไกการควบคุมโรคพืชโดยเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* มีทั้งด้านการผลิตสารปฏิชีวนะ การเป็นปรสิตโดยการผลิตเอนไซม์ ช่วยในการย่อยรูปแบบการแข่งขัน คือ การหลั่งสาร siderophores เพื่อแย่งสารอาหารและธาตุเหล็ก และการชักนำเพื่อให้พืชเกิดกลไกในการป้องกันตัวเอง ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วกลไกทั้งหมดที่เกิดขึ้นจะไม่สามารถเกิดขึ้นได้เพียงกลไกเดียวจำเป็นที่จะต้องเกิดร่วมกันกับกลไกอื่นๆด้วย เพื่อก่อให้เกิดประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ในระยะยาว

Shun-Shan Shen *et al.* (2007) พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* สายพันธุ์ A21-4 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย ยับยั้งการสร้าง zoospore และ cyst ของเชื้อรา *Phytophthora capsici* สาเหตุโรครากเน่าของพริกไทย ซึ่งจากการทดลองพบการสร้างสารในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา นำมาศึกษาชนิดสารที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา พบว่าเป็นสารประกอบ chlorinated macrolide (C23H31O8Cl) เมื่อนำมาทดสอบในสภาพเรือนทดลอง โดยการแช่รากของต้นพริกไทยในระยะกล้าลงในสารละลายเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* สายพันธุ์ A21-4 พบว่าสามารถควบคุมการเกิดโรครากเน่าได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ศุภลักษณ์ (2552) รายงานการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เหมาะสมเพื่อควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชในดิน พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* (PBRC1) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum*, *R. solania* และ *S. rolfsii* ได้ที่ 44.5 67.11 และ 32% ตามลำดับ และพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* ไอโซเลท PBRC1สร้าง clear zone ร่วมกับเชื้อราสาเหตุโรคและเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท เมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* (PBRC1) เลี้ยงร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *R. solancearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเขียว (Bacterial wilt) ของมะเขือเทศ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB แล้วตรวจความมีชีวิตของจำนวนประชากรเชื้อแบคทีเรีย *R. solancearum* ทุกๆ 1 ชั่วโมง พบว่าที่ระยะเวลา 8 ชั่วโมงสามารถลดจำนวนประชากรของเชื้อแบคทีเรีย *R. solancearum* ได้ จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* (PBRC1) ไปผสมกับดินปลูกต้นมะเขือเทศที่ฆ่าเชื้อแล้ว ก่อนปลูกเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบคทีเรียสาเหตุโรค พบว่าการผสมเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* (PBRC1) ลงในดินปลูกต้นมะเขือเทศ ที่ระยะเวลา 5 วัน สามารถช่วยลดการเกิดโรคเหี่ยวเขียวให้กับมะเขือเทศได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved