บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

ข้าวเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประชากรกว่าครึ่งโลกที่ใช้บริโภคเป็นอาหารหลัก ได้มีการเพาะปลูกและใช้บริโภคกันมากในประเทศแถบทวีปเอเชีย เช่น อินเดีย ปากีสถาน เนปาล บังกลาเทศ พม่า ไทย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ จีน เกาหลี และญี่ปุ่น นอกจากบริเวณดังกล่าวแล้วก็พบว่ามีการเพาะปลูกและบริโภคกันบ้างในอเมริกา บราซิล แอฟริกา ออสเตรเลีย และประเทศในยุโรป-ตะวันออกกลาง บางประเทศ (จำรัส, 2534)

ข้าวเป็นพืชตระกูลหญ้า (Family Gramineae) มีลำต้นเป็นไม้เนื้ออ่อน (herbaceous or non-woody plant) และส่วนใหญ่เป็นพืชหญ้าล้มลุกที่มีอายุได้เพียงปีเดียว (annual grass) มีใบเป็นชนิดใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledon) มีรากเป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) สามารถเจริญเติบโตได้ในทั้งเขตร้อน (Tropical zone) ซึ่งเป็นเขตมรสุม และเขตอบอุ่น (Temperate zone) สามารถปลูกข้าวได้ทั้งในที่ราบไปจนถึงพื้นที่ที่มีความสูง 2,500 เมตรจากระดับน้ำทะเล สามารถปลูกได้ในที่ที่มีน้ำขังหรือปลูกในที่ซึ่งไม่มีน้ำขังเลยก็ได้ นอกจากนี้ยังสามารถเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันและแต่ละพันธุ์ก็มีความเหมาะสมกับสภาวะแวดล้อมแต่ละแห่งแล้วแต่กรณี ดังนั้นจึงนับได้ว่าข้าวเป็นพืชที่มีความสามารถในการพัฒนาและปรับตัวให้เหมาะกับภูมิประเทศและภูมิอากาศได้อย่างกว้างขวางพืชหนึ่งของโลก ในประเทศไทยมีพันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกอยู่ประมาณ 3,500 พันธุ์ ปัจจุบันข้าวที่มนุษย์เราได้นำมาปลูกไว้เพื่อใช้บริโภคแบ่งออกเป็น 2 ชนิด (species) คือ *Oryza sativa* L. ซึ่งปลูกในทวีปเอเชีย และ *Oryza glaberrima* Steud. ซึ่งปลูกในทวีปแอฟริกา ข้าวอื่นนอกเหนือจากข้าวทั้งสองสกุลนี้แล้ว สามารถจัดไว้เป็นพวกข้าวป่า (wild rice) *Oryza sativa* มีจำนวนพันธุ์และความแตกต่างในลักษณะของพันธุ์มากกว่า *Oryza glaberrima* มาก และข้าวที่ผลิตขายในตลาดโลกปัจจุบันเป็น *Oryza sativa* เกือบทั้งหมด โดยแบ่งเป็น 3 ชนิดย่อย (subspecies) คือ ข้าวอินดิกา (Indica) ข้าวจาปอนิกา (Japonica) และข้าวจาวานิกา (Javanica) (วิโรจน์ และ อัมพร, 2533)

การวิวัฒนาการและการแพร่กระจายของข้าวเอเชีย (*Oryza sativa*) คงเกิดขึ้นจากมนุษย์โบราณที่ได้นำข้าวป่ามาเพาะปลูกและคัดเลือกพันธุ์ในบริเวณใกล้เคียงที่ตั้งรกรากหรือที่อยู่อาศัย (homesteads) และได้ทำการคัดเลือกจนกลายเป็นพืชปลูก (cultivated rice) การเกษตรกรรมที่เก่าแก่ที่สุดคงจะเกิดขึ้นเมื่อประมาณ 10,000 ปีที่แล้ว จากหลักการการวิวัฒนาการและการปรับตัวเพื่อความอยู่รอด หรือเพื่อการเผยแพร่พืชพันธุ์ให้มีอยู่ต่อไปในสภาวการณ์ที่เหมาะสมกับระบบการ

ใช้น้ำ (water regime) โดยถือเอาวิธีการปลูกข้าวเป็นหลัก (type of rice cultural method) และสามารถแบ่งข้าวออกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้เป็น 3 กลุ่มคือ (จำรัส, 2534)

1. ข้าวไร่ (hill rice or upland rice) ได้แก่ข้าวที่ปลูกหรือเจริญเติบโตในสภาพไร่ ไม่มีน้ำขัง (no standing water) หรือมีน้ำแช่ขังเพียงเล็กน้อยชั่วครั้งชั่วคราวเท่านั้น เป็นข้าวที่มีต้นสูงปานกลางหรือสูงพอสมควร (medium to tall) มีความสูงอยู่ระหว่าง 130-150 เซนติเมตร มีพื้นที่การเพาะปลูกประมาณ 10% ของพื้นที่เพาะปลูกข้าว

2. ข้าวนาสวน (lowland rice) ได้แก่ข้าวที่ปลูกหรือเจริญเติบโตในที่มีน้ำแช่ขังระหว่าง 5-50 เซนติเมตร ลักษณะต้นข้าวค่อนข้างเตี้ยหรือสูงปานกลางและอาจมีพวกที่ความสูงพอสมควรอยู่บ้าง (semidwarf to medium to tall) กล่าวคือ มีความสูงระหว่าง 1-2 เมตร และสามารถแบ่งประเภทตามแหล่งน้ำได้ 2 แบบคือ นาชลประทาน (irrigated lowland) มีพื้นที่การเพาะปลูก 45% ของพื้นที่การเพาะปลูกข้าว และนาน้ำฝน (rainfed lowland) มีพื้นที่การเพาะปลูก 30% ของพื้นที่การเพาะปลูกข้าว

3. ข้าวนาเมือง ข้าวน้ำลึก ข้าวขึ้นน้ำหรือข้าวฟางลอย (deep water rice or floating rice) ได้แก่ข้าวที่สามารถปลูกหรือสามารถเจริญเติบโตในที่ลุ่มและที่ที่มีน้ำแช่ขังค่อนข้างลึกหรือลึกมาก กล่าวคือ เป็นบริเวณที่มีน้ำแช่ขังถึงกว่า 50 เซนติเมตรขึ้นไป และบางแห่งอาจลึกถึง 5-6 เมตร เป็นต้น ข้าวจำพวกนี้มักจะมีความสามารถพิเศษในการยืดปล้อง และสามารถยืดปล้องได้ดีกว่าข้าวไร่และข้าวนาสวนในสภาพที่ระดับน้ำค่อยๆสูงขึ้น แบ่งย่อยได้เป็น 2 ประเภทคือ

3.1 ข้าวน้ำลึก (deep water rice) จัดอยู่ในพวกความสูงปานกลางถึงสูงมาก ถ้าไม่มีน้ำแช่ขังมากนักจะสูงประมาณ 120-150 เซนติเมตร แต่อาจพบต้นสูงมากถึง 2-3 เมตร ถ้าระดับน้ำลึกมากขึ้น มีการเพาะปลูก 11 % ของพื้นที่เพาะปลูกข้าว

3.2 ข้าวขึ้นน้ำ (floating rice) จัดอยู่ในพวกต้นสูงและสูงมาก กล่าวคือมีความสูงกว่า 150 เซนติเมตร ในสภาพที่ไม่มีน้ำแช่ขังมากนัก และอาจจะสูงถึง 5-6 เมตร ในสภาพน้ำท่วมที่ลึกมากๆ มีการเพาะปลูก 4% ของพื้นที่การเพาะปลูกข้าว

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ซึ่งมีการเพาะปลูกข้าวมาช้านานและยังเป็นอาชีพหลักของเกษตรกร โดยมีผลผลิตข้าวในแต่ละปีเป็นจำนวนมาก ซึ่งเพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศและยังเป็นสินค้าส่งออกอันดับหนึ่งของปริมาณสินค้าที่ส่งออกทั้งหมด ถึงแม้ว่าจะมีการนำเอาเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้ในขั้นตอนต่างๆของการปลูกข้าว แต่การปลูกข้าวของเกษตรกรก็ยังประสบปัญหาต่างๆ ซึ่งปัญหาบางอย่างก็ไม่สามารถควบคุมได้เช่น ขาดแหล่งน้ำ ฝนไม่ตกตามฤดูกาล เกิดน้ำท่วม เกิดโรคและแมลง ศัตรูข้าวระบาด ปัญหาต่างๆ เหล่านี้หากจะแก้ไขก็ต้องเสียค่าใช้จ่ายที่มากขึ้นและอาจไม่คุ้มกับการลงทุน ปัญหาเกี่ยวกับโรคข้าวซึ่งเป็นปัญหาหนึ่งที่เกษตรกรพบ

อยู่เสมอในการปลูกข้าว ซึ่งโดยปกติแล้วถ้าต้นข้าวเป็นโรคจะยากต่อการรักษา ดังนั้นจึงเน้นในการป้องกันไม่ให้โรคเกิดการระบาดออกไปมากยิ่งขึ้น (สมคิด, 2532)

ปัญหาที่สำคัญของการปลูกข้าวคือปัญหาโรคและแมลง ซึ่งโรคที่เกิดกับข้าวมักมีสาเหตุที่สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มคือ โรคข้าวที่มีเชื้อราเป็นเชื้อสาเหตุโดยโรคที่สำคัญ เช่น ใบไหม้ (rice blast) เกิดจากเชื้อ *Pyricularia oryzae* โรคกาบใบแห้ง เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia solani* (imperfect stage) หรือ *Thanatephorus cucumeris* (perfect stage) โรคถอดฝักดาบ เกิดจากเชื้อ *Fusarium moniliforme* (imperfect stage) หรือ *Gibberella fujikuroi* (perfect stage) โรคข้าวที่เกิดจากแบคทีเรียได้แก่ โรคขอบใบแห้ง (bacterial leaf blight) เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* โรคใบขีดโปร่งแสง (bacterial leaf streak) เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas translucens* f. sp. *oryzicola* โรคข้าวที่เกิดจากเชื้อไวรัส ได้แก่ โรคใบสีส้ม (yellow orange leaf) โรคใบหงิกหรือโรคจู๋ (rice ragged stunt) โรคเขียวเตี้ย (rice grassy stunt) และโรคข้าวที่เกิดจากไส้เดือนฝอยโดยไส้เดือนฝอยที่สำคัญมีเพียงชนิดเดียวคือ *Meloidogyne graminicola* (Surajit, 1981)

โรคถอดฝักดาบของข้าว (bakanae) สาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* Sheldon

โรคถอดฝักดาบของข้าวมีเชื้อราสาเหตุคือ *Fusarium moniliforme* โรคนี้พบระบาดครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่น ต่อมาพบระบาดทั่วเอเชีย (Ou, 1985) สำหรับประเทศไทยโรคนี้พบระบาดมากในภาคเหนือ ภาคอีสาน และพบประปรายในภาคกลาง โรคที่เกิดในระยะกล้า ต้นกล้าจะแห้งตาย ข้าวที่เป็นโรคจะผอมกว่ากล้าข้าวโดยทั่วไป ต้นข้าวผอมซีดและมีอาการย่างปล้อง มีรากเกิดขึ้นที่ข้อต่อของลำต้นตรงระดับน้ำ บางกรณีข้าวจะไม่ย่างปล้องแต่รากจะเน่า ถ้าเป็นรุนแรงกล้าข้าวจะตาย ซึ่งมีความเสียหายต่อการผลิตข้าวและโดยส่วนใหญ่จะมีการถ่ายทอดโรคทางเมล็ด ถ้าหากอาการไม่รุนแรงอาการจะแสดงหลังจากย้ายกล้าไปปักดำ ถ้าโรคเข้าทำลายระยะข้าวออกดอก เมล็ดที่ติดเชื้อรุนแรงจะแสดงอาการเป็นจุดผงสีชมพูแดงบนเมล็ด ซึ่งคือกลุ่ม conidia ของเชื้อรา เมื่อนำเมล็ดติดเชื้อโรคไปเพาะก็จะแสดงอาการของโรค ซึ่งมีอาการทั้งต้นเตี้ยแคระแกรน ไปจนถึงต้นข้าวแสดงอาการสูงชะลูดผิดปกติ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของการติดเชื้อว่ามีมากน้อยเพียงใด (สมคิด, 2532) เชื้อราสาเหตุสามารถเป็นได้ทั้ง seed borne และ soil borne สามารถเข้าทำลายต้นที่แข็งแรงได้ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณของผลผลิตลดลง (Ou, 1985)

ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* Sheldon

เชื้อรา *Fusarium moniliforme* อยู่ใน class Hyphomycetes, order Moniliales โคโลนีของเชื้อรา *F. moniliforme* มีหลายสี ตั้งแต่สีขาว peach salmon, vinaceous purple จนถึงสีม่วง microconidia มีลักษณะเซลล์เดียวรูปร่างแบบ fusoid ไปจนถึง clavate microconidia มีขนาด 5-12 x 1.5-2.5 ไมโครเมตร เชื้อราไม่สร้าง chlamydospore แต่บางครั้งพบว่าเชื้อราสร้าง globose stromatic initial cells และ perfect stage ของเชื้อรา *F. moniliforme* คือ *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw. (Booth, 1977; Nelson *et al.*, 1983) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *F. moniliforme* เป็น nonobligate parasite ซึ่งไม่มีความจำเพาะเจาะจงต่อพืชอาศัย สามารถเข้าอาศัยและทำความเสียหายแก่พืชได้หลายชนิดเช่น ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี ข้าว ข้าวโอ๊ต ฝ้าย กล้วย อ้อย ถั่ว ฯลฯ (Bacon and Nelson, 1994) และยังพบว่าเชื้อรา *F. moniliforme* สร้างสาร mycotoxin หลายชนิด เช่น beauvericin, moniliformin, gibberellic acid และ fumonisin และเชื้อราสามารถอาศัยอยู่ในพืชในลักษณะเป็นเอนโดไฟต์ เมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมหรือพืชอ่อนแอ พืชก็จะแสดงอาการของโรค (Desjardins *et al.*, 2000; Bacon and Hinton, 1996)

การควบคุมโรคถอดฝักดาบของข้าวสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme*

ในอดีตมีการแนะนำสารเคมีจำพวก organo-mercury compound เช่น mercury chloride เป็นต้น แต่เนื่องจากสารดังกล่าวมีพิษตกค้างเป็นอันตรายต่อคนและสัตว์เลี้ยงอย่างแรง จึงถูกห้ามใช้ ปัจจุบันมีสารเคมีหลายชนิดที่ผ่านการทดสอบแล้ว และกลุ่มงานวิจัยโรคข้าว กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ได้แนะนำ 2 ชนิดคือ benomyl + thiram และ mancozeb กรรมวิธีการ คลุกหรือแช่เมล็ดด้วยสารเคมีทั้งสองชนิดนี้ ทำได้โดยคลุกสารเคมี (อย่างแห้ง) กับเมล็ดโดยตรง หรือแช่เมล็ดข้าวในน้ำยาก็จะได้ผลในการป้องกันกำจัดโรคถอดฝักดาบของข้าวได้ผลดี และถ้าใช้สารเคมีกับข้าวงอก (รากงอกยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร) จะยิ่งได้ผลดีมากขึ้น (สมคิด, 2532) อย่างไรก็ตามพบว่าเชื้อราสาเหตุเกิดความต้านทานต่อสารเคมีฆ่าเชื้อราได้ (Ogawa, 1988)

ผลกระทบจากการใช้สารเคมีในการป้องกันและกำจัด

การใช้สารเคมีในการควบคุมโรคแม้ว่าจะให้ผลดี แต่อาจมีพิษตกค้างจนก่อให้เกิดมลพิษต่อระบบสิ่งแวดล้อม ซึ่งเกิดจากการใช้สารเคมีในปริมาณที่มากเกินไป สารเคมีอาจไปทำลายจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์แก่พืชในดิน (Cook and Baker, 1983) นอกจากนี้การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคนอกจากสูญเสียเงินในการใช้แล้วยังเป็นพิษต่อแมลงศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าว ซึ่งมีผลกระทบต่อความสมดุลย์ของธรรมชาติและสภาพแวดล้อม (ทัศนีย์, 2540) ปัจจุบันพบว่าการใช้

จุลินทรีย์ควบคุมโรคสามารถใช้แทนการใช้สารเคมีในกรณีที่ไม่สามารถใช้สารเคมี หรือมีสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะต่อการใช้สารเคมี เช่น อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป หรือไม่สามารถจัดหาซื้อสารเคมีได้ อีกทั้งจุลินทรีย์สามารถเพิ่มปริมาณและคงทนอยู่ในดินในระยะเวลานานกว่าสารเคมี (Suslow, 1982) ด้วยเหตุดังกล่าวการควบคุมโรคโดยชีววิธีจึงมีบทบาทมากขึ้น

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

ความหมายของการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control) ได้มีผู้ให้คำจำกัดความของคำนี้แตกต่างกัน แต่อาจสรุปโดยรวมได้ว่า หมายถึง การลดปริมาณเชื้อสาเหตุของโรค หรือลดกิจกรรมการก่อให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุของโรค หรือปรสิตที่อยู่ในระยะที่มีปฏิกิริยา โดยการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งหรือมากกว่ามาใช้ในการควบคุม และอาจรวมถึงการใช้สารพันธุกรรม (gene หรือ gene product) จากสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นด้วย ซึ่งสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ไม่รวมถึงมนุษย์ (Cook and Baker, 1983; Cook, 1985)

กลไกในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

กลไกในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชซึ่งอยู่ในดินโดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั่วไปมี 3 ประการคือ

1. การสร้างสารปฏิชีวนะ สารปฏิชีวนะเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ที่สร้างขึ้นโดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ซึ่งมีผลในการกำจัด เช่น เชื้อรา *Peltaster fructicola* สร้างสารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botryosphaeria dothida, B. obtusa, Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. acutatum* โดยสารที่เชื้อราสร้างขึ้นมี 4 ชนิดคือ trichothecolone, trichothecolone acetate, 6-methylsalicylic acid และ 2,5-dihydroxybenzoic acid (Venkatasubbaiah *et al.*, 1995)

2. การแก่งแย่งอาหารและพื้นที่อาศัย จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถแย่งอาหารจากเชื้อโรค ทำให้ปริมาณสารอาหารซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคลดลง เนื่องจากจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความสามารถในการใช้อาหารได้มากชนิด และสามารถใช้ได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว เช่น แบคทีเรียในกลุ่ม fluorescent pseudomonads มีความสามารถในการใช้สารอาหารได้หลายชนิดและเจริญอย่างรวดเร็วเข้าครอบครองพื้นที่บริเวณรากพืชได้ทั้งหมด ซึ่งเป็นการแก่งแย่งที่อยู่อาศัยบริเวณรากพืช ทำให้เชื้อสาเหตุของโรคไม่มีโอกาสเข้าทำลายรากได้ (อนุภาพ, 2536)

3. กระบวนการเป็นปรสิต จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถสร้างเอนไซม์ไปย่อยผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ และใช้ส่วนประกอบภายในเซลล์มาเป็นอาหารโดยตรง บางกรณีอาจมีกลไก

antibiosis ร่วมด้วย เช่น *Talaromyces flavus* TF1 (anamorph คือ *Penicillium dangeardii*) สามารถควบคุมโรค Verticillium wilt ของมะเขือยาวและมันฝรั่ง โดยการสร้าง glucose oxidase ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อย glucose ได้ดี และจะได้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ออกมาด้วย ซึ่ง H_2O_2 สามารถทำลาย microsclerotia ของ *Verticillium dahliae* ได้ดี (Fravel, 1988)

ปัจจุบันได้มีการศึกษาและพัฒนาอย่างมากในการนำเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ มาใช้ประโยชน์ เช่น เชื้อจุลินทรีย์เอนโดไฟต์ มาใช้ประโยชน์ในแง่ biological control ซึ่งสามารถส่งเสริมการเจริญและเพิ่มความแข็งแรงแก่พืช เพิ่มความทนทาน ต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืชได้ดี (Belanger, 1996)

เชื้อราเอนโดไฟต์ (endophytic fungi)

เชื้อราเอนโดไฟต์ หมายถึง เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่อาศัยในพืช โดยไม่ทำให้พืชเกิดโรคและมีความสัมพันธ์กับแบบ mutualistic symbiosis เชื้อราเอนโดไฟต์บางชนิดสร้างสารประกอบบางอย่างหรือปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ระหว่างเชื้อรากับพืชอาศัย ทำให้เนื้อเยื่อพืชลดความดึงดูดต่อพวก herbivores และบางสายพันธุ์กระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทาน ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ในทางกลับกันเชื้อราเอนโดไฟต์ได้รับประโยชน์จากพืชโดยอาศัยสารอาหารต่างๆจากพืช และดำรงชีวิตอยู่ภายในต้นพืช นอกจากนี้แล้วยังพบว่า เชื้อราเอนโดไฟต์บางสายพันธุ์สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้ และสามารถใช้เป็น biological control agents โดยเป็นปฏิปักษ์ต่อ microbial pathogens หรือกระตุ้นให้เกิดความต้านทานต่อโรคแบบ systemic ได้ (Chanway, 1998) เชื้อราเอนโดไฟต์เป็นเชื้อราที่อยู่ในต้นพืชโดยไม่ทำให้พืชเกิดโรค แต่ก็มีโอกาสเป็นไปได้ที่จะทำให้เกิดโรคหรือแสดงอาการหากพืชยังอยู่ในสภาพเครียด (Carroll, 1988)

เชื้อราเอนโดไฟต์สามารถเข้าทำลายและอาศัยอยู่ในพืชโดยที่พืชอาศัยไม่แสดงอาการออกมาให้เห็นมีจำนวนมากที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงของพืช โดยแสดงให้เห็นได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ฆ่าเชื้อที่ผิวแล้ว ในพืชตระกูลหญ้าและพืชอาศัยอื่นๆ บางชนิดสามารถนำชิ้นพืชมาย้อมสีแล้วตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้ เชื้อราหลายชนิดที่ปัจจุบันรู้จักกันว่าเป็นเชื้อราเอนโดไฟต์เคยจัดว่าเป็นเชื้อราโรคพืชมาก่อนและเชื้อราเอนโดไฟต์ที่ปัจจุบันทราบว่า เป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่แบบพึ่งพากันกับพืชอาศัยนั้น จะเปลี่ยนจากการควบคุมและรักษาเฉพาะตัวของมันให้เป็นการป้องกันทางเคมี ซึ่งมีผลต่อสัตว์และศัตรูที่ทำให้เกิดกับพืช เชื้อราเอนโดไฟต์ในพืชชนิดหนึ่งอาจมีอิทธิพลต่อปฏิกิริยาการแก่งแย่งกับพืชชนิดอื่นๆ และยังมีบทบาทในวงจรอาหารอีกด้วย แต่ผลของการมีบทบาทในวงจรอาหารยังไม่สามารถแสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจน นอกจากนี้เชื้อราเหล่านี้อาจนำมาใช้ในการควบคุมโรคและศัตรูพืชทางชีววิทยาหรือเป็นแหล่งของสารพิษที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อสัตว์และศัตรูพืชและเชื้อโรคได้ (Carroll, 1990)

การแยกและความหลากหลายของเชื้อราเอนโดไฟต์ในพืชต่างๆ

ในการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ต้องอาศัยความรู้ด้านชีวเคมี ทราบลักษณะและคุณสมบัติทางกายภาพของพืช ประกอบกับมีเทคนิคและวิธีการสุ่มตัวอย่างที่ดี จึงจะทำการแยกได้ชนิดและจำนวนตามความต้องการ นอกจากนี้เชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ส่วนมากจะไม่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค เพราะการจะเกิดโรคได้นั้นจะต้องมีความสัมพันธ์ระหว่างพืชอาศัย เชื้อสาเหตุ และสภาพแวดล้อม ซึ่งลักษณะเฉพาะตัวของพืชอาศัยกับเชื้อรานี้ยังไม่เป็นที่กระจ่างชัดนัก (Sinclair, 1991)

การเก็บตัวอย่างพืชที่จะนำมาแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ ส่วนของพืชทั้งหมดที่จะทำการแยกควรเก็บในถุงพลาสติกและควรทำการแยกเชื้อภายใน 24 ชั่วโมง (Fisher *et al.*, 1986) และในการแยกควรฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยวิธีการที่เหมาะสม ซึ่ง Spurr and Welty (1975) พบว่าการเพิ่มแอลกอฮอล์เข้าไปในขั้นตอนการฆ่าเชื้อที่ผิวจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ในการฆ่าเชื้อที่ผิวพืช และช่วยให้ชิ้นพืชเปียกอย่างทั่วถึง ทำให้การฆ่าเชื้อที่ผิวเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น

Bacon *et al.* (1977) ได้แยกเชื้อราจากใบและลำต้นของหญ้า tall fescue และ ryegrass โดยใช้อาหาร potato dextrose agar และ corn meal extract agar ที่เติม streptomycin sulfate 50 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ chloramphenicol 50 มิลลิกรัม/ลิตร เชื้อราที่พบได้แก่ *Acremonium, Atkinsonell, Balansia* และ *Epichloe* เป็นต้น

Petrini and Fisher (1988) ได้แยกทั้งเชื้อราเอนโดไฟต์และแบคทีเรียเอนโดไฟต์จากข้าวโพด โดยเชื้อราเอนโดไฟต์ที่พบคือ *Alternaria alternata* พบมากที่ใบ *Aureobasidium pullulans* var. *melanigerum* พบมากที่เนื้อเยื่อผิว *Microdochium bolleyi* และ *Fusarium* spp. พบมากที่โคนต้น นอกจากนี้พบว่าเชื้อ *Alternaria* sp. และ *Fusarium* spp. บางชนิดอาจเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช แต่เชื้อราที่พบว่าเป็นเอนโดไฟต์อาจเป็น avirulent strain หรือเป็น virulent strain แต่ไม่ทำให้เกิดโรค เนื่องจากสภาพแวดล้อมหรือการเปลี่ยนแปลงทางนิเวศน์วิทยา

Sieber (1989) ได้แยกเชื้อราเอนโดไฟต์จาก Norway spruce (*Picea abies*) และ white fir (*Abies alba*) ทั้งจากต้นที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค พบว่าชนิดและจำนวนของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชทั้งสองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นเชื้อราบางชนิดที่แยกได้จากเนื้อเยื่อบางส่วนเท่านั้น ทั้งนี้อาจเป็นผลจากสภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น *Phomopsis umensis* ชอบอากาศแบบแห้งแล้งและเย็น แต่ *Cornicullariella abietis* ที่ชอบอากาศชื้นเป็นต้น ชนิดเชื้อราเอนโดไฟต์ที่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในเนื้อเยื่อเพียงส่วนเดียวของ Norway spruce ที่เป็นโรคและต้นปลอดโรคที่พบคือ *Sirodothis* sp. และ *Phomopsis occulta*

Petrini and Fisher (1990) ได้แยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากเนื้อเยื่อท่อน้ำและเปลือกของ *Salix fragilis* และ *Quercus robur* เชื้อราที่แยกได้จาก *Salix* ส่วนใหญ่เป็นชนิดที่พบทั่วไป แต่พบว่า *Phomopsis salicina* มีความจำเพาะกับเชื้อ *Quercus* เชื้อราจากกิ่งพืชทั้งสองมี dominant species จำนวนไม่มากนักและเป็นกลุ่มเดียวกันเพียงเล็กน้อย ประชากรของเชื้อราเอนโดไฟต์ในกิ่ง *Quercus robur* จากทิศต่างๆกันพบว่าเป็นกลุ่มเดียวกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทิศทางไม่มีผลต่อการสร้างโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟต์ในกิ่งของ *Quercus* นี้

Sieber *et al.* (1991) ได้แยกเชื้อโรคและเชื้อราเอนโดไฟต์จาก red alder (*Alnus rubra*) โดยนำใบและกิ่งที่มีอายุ 2-3 ปีที่ไม่เป็นโรคจาก 3 และ 8 แห่งตามลำดับ หลังจากผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วนำไปตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ไปวางบนอาหาร malt extract agar 2% พบว่า ใบ 90% และกิ่งมากกว่า 80% มีเชื้อราเอนโดไฟต์เจริญอยู่ สามารถแยกเชื้อราได้ 40 ชนิด และพบเชื้อราเอนโดไฟต์ซึ่งเดิมจัดเป็นเชื้อราก่อโรคในใบเป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ *Gnomonia setacea, Gnomoniella tabaeformis* และ *Septoria alni* ส่วน *Malanconis alni* และ *Nectria* sp. พบเป็นส่วนน้อยในประชากรเชื้อราที่พบในกิ่ง ชนิดของเชื้อราที่พบขึ้นอยู่กับส่วนต่างๆของพืช และแหล่งที่เก็บตัวอย่าง ในกิ่งมี 3 จำพวกหลักที่พบในแหล่งต่างๆได้แก่ พวกแรกที่สำคัญคือ unidentified "Black Mycelium 2" พวกที่สองคือ *Phomopsis* sp. 2 พวกที่สามคือ *Ophiovalsa suffusa, Pezicula livida* และ *Phloeosporella* sp. สำหรับ *G. setacea* เป็นชนิดสำคัญที่มักพบในใบยกเว้นในแหล่งหนึ่งซึ่งมี *G. tabaeformis* มากกว่า

Fisher and Petrini (1992) ทำการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากใบ ลำต้น และรากข้าว สามารถแยกเชื้อราได้ 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่จะเป็น saprobe และกลุ่มที่เป็น pathogen กลุ่มแรกได้แก่ *Alternaria alternata, Epicoccum purpurascens* และอีกกลุ่มคือ *Cladosporium tenuissimum, Fusarium equiseti, F. oxysporum, Phoma sorghina* และ *Nigrospora oryzae* และยังพบอีกว่าการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากลำต้นหรือกาบใบที่ทำให้แห้ง จะพบความหลากหลายของเชื้อมากกว่าชิ้นพืชที่ยังเปียกอยู่

Bettucci and Saravay (1993) แยกเชื้อราเอนโดไฟต์ได้ 41 ไอโซเลท จากลำต้นและใบของยอดอ่อนที่แตกจากตอและต้นอ่อนของ *Eucalyptus globulus* เชื้อราสำคัญที่พบในต้นอ่อน ยอดอ่อน ใบที่โตเต็มที่และท่อน้ำคือ *Plectosphaera eucalypti* ชนิดที่พบเพียงในท่อน้ำคือ *Cytospora* spp. และ *Microsphaeropsis* sp. ส่วน *Comella minima* พบในลำต้นของต้นอ่อน ใบอ่อนและใบโตเต็มที่มีการเจริญของเชื้อราแตกต่างกัน กล่าวคือ เริ่มด้วยการติดเชื้อ *C. minima* แล้วตามด้วย *P. eucalypti* และ *Harknessia harwaiiensis* การวิเคราะห์ความเหมือนของทุก taxa ของตัวอย่างจากลำต้นแสดงให้เห็นความแตกต่างอย่างชัดเจนของ 3 ส่วน คือ ต้นอ่อน ท่อน้ำ และก้านยอดอ่อนดังนี้ เปอร์เซ็นต์ของดัชนีความเหมือนระหว่างประชากรจากท่อน้ำ ก้านยอดอ่อน และลำต้นของต้นอ่อนต่ำมาก ซึ่งแสดง

ให้เห็นว่าประชากรเชื้อราเอนโดไฟต์มีความจำเพาะเจาะจงต่อเนื้อเยื่อแตกต่างกัน Basidiomycetes หลายไอโซเลทที่สามารถผลิตเอนไซม์พบอยู่ในลำต้นของทั้งสามส่วน

Fisher and Punithalingum (1993) แยกได้เชื้อราเอนโดไฟต์ใน class Coelomycetes ชนิดใหม่ คือ *Stagonospora pteridiicola* sp. nov. จากเฟริ์น *Pteridium aquailinum* โดยนำจากเนื้อเยื่อส่วนใบ ก้านใบ และ rhizome มาล้างน้ำแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ตามวิธีการของ Petrini and Fisher (1988) ก่อนวางบนจานอาหาร malt extract agar บ่มที่อุณหภูมิ 20-25 °C เป็นเวลา 5-14 วัน ซึ่งเชื้อรานี้พบได้ทั่วไปในส่วนใบและก้านใบ แต่ในส่วนของ rhizome ไม่พบเชื้อราดังกล่าวเลย

Rodrigues (1994) ได้สำรวจเชื้อราเอนโดไฟต์ในใบพืชและเก็บตัวอย่างจาก *Euterpe oleracea* เป็นเวลานานกว่า 2 ปี โดยเฉลี่ยชิ้นส่วนใบ 25% จากตัวอย่าง 10 ต้น และจากตัวอย่างชิ้นพืช 10 ชิ้นต่อชิ้น พบว่ามีโคโลนีเชื้อราเอนโดไฟต์เจริญขึ้นกว่า 4 ชิ้น โดยการมีเชื้อราเอนโดไฟต์ขึ้นอยู่กับอายุใบ ระยะการเจริญเติบโตควบคู่กับฤดูกาลและระยะการเจริญเติบโตควบคู่กับแหล่งที่อยู่ มีเพียงบางไอโซเลทซึ่งน้อยมากที่แยกได้จากใบอ่อนมากกว่าใบแก่ และได้จากต่างต้นมากกว่าต่างชิ้นตัวอย่าง เชื้อราที่แยกได้จำนวน 57 species และ 6 family ส่วนใหญ่เป็น Ascomycotina และ Deuteromycotina โดยทั่วไปมักพบ *Xylaria cubensis* และ *Letendraeopsis palmarum* จำนวนไอโซเลทที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงสุด 21% ซึ่งมีความสัมพันธ์กับระยะการเจริญเติบโต ฤดูกาล และแหล่งที่อยู่ของพืช จากการวิเคราะห์ระดับลักษณะร่วมกันของเชื้อพบว่าขึ้นอยู่กับเนื้อเยื่อพืช อาศัย เส้นกลางใบหรือเส้นใบย่อยของต้นพืช ตัวอย่างที่อยู่ต่างแหล่งกันสามารถบ่งบอกความแตกต่างกันได้อย่างเด่นชัดโดยใช้ลักษณะสังคมของเอนโดไฟต์

Yang *et al.* (1994) ได้สำรวจและศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์ของ *Taxus wallachina* (Nepalase yew) พบว่า *Phoma* sp. เป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ของพืชชนิดนี้ซึ่งอาศัยใน intercellular spaces ในเนื้อเยื่อของ phloem หรือ cambium และเชื้อราชนิดนี้สร้างสาร antibiotic 2 ชนิด คือ altersolanol A และ 2-hydroxy-6-methylbenzoic acid และนอกจากจะพบว่า *Phoma* sp. เป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ของ Nepalase yew แล้วยังพบเชื้อรา *Pestalotiopsis microspora* ว่าเป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ของพืชชนิดนี้ด้วย (Li, 1998)

Lumyong *et al.* (1996) แยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากส่วนของลำต้นและใบของต้นกล้าพืชที่พบขึ้นในท้องถิ่นซึ่งมีอายุประมาณ 6-8 เดือน โดยเพาะจากเมล็ดที่เก็บจากบริเวณอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ ทำการแยกเชื้อบนอาหาร MA 2% ซึ่งผสม streptomycin และ rose bengal และชิ้นส่วนที่จะนำมาแยกผ่านการฆ่าเชื้อโดยวิธี triple surface sterilization พบว่าเชื้อราเหล่านี้สาสามารถสร้างสาร organic acid ซึ่งสามารถตรวจพบได้โดยวิธี paper และ TLC chromatography เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อใน substrate ต่างๆ เช่น inulin, xylan, mannan, starch, fructose

และ glucose บางไอโซเลทเชื้อสามารถสร้าง organic acid ได้ ซึ่งชนิดและปริมาณแตกต่างกันไปขึ้นกับ substrate ที่ใช้

Barrow *et al.* (1997) ศึกษาการเกิดเชื้อราเอนโดไฟต์ในราก ใน fourwing saltbush, *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. โดยศึกษาบริเวณ root cortex cell และพบเชื้อราเอนโดไฟต์ 3 ประเภท คือ septate fungi, VAM (vesicular arbuscular mycorrhizae) และ Chytridiomycetes และพบว่าสภาพแวดล้อมที่แห้งเป็นสภาพที่เหมาะสมของเชื้อราในการอยู่รอดในพืช

Bettucci and Alonso (1997) แยกเชื้อราจากกิ่งของต้น *Eucalyptus grandis* ทั้งกิ่งปลอดโรคและกิ่งที่เป็นโรคจำนวน 920 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 782 ไอโซเลท โดยใช้อาหารที่มีค่า water potential 2 แบบคือ 0.138 และ 4.19 Mpa เชื้อราทั้งหมดสามารถจัดลำดับอนุกรมวิธานได้ทั้งสิ้น 52 taxa มี 30 taxa ที่แยกเชื้อราได้ในอัตราประมาณ 2% ของทั้งหมด species ที่แยกได้จากเปลือกของกิ่งปลอดโรคบนอาหารทั้งสองเป็นส่วนใหญ่คือ *Aureobasidium pullulans* ส่วน *Sistrotrema brikmanii* เป็น species ที่สำคัญที่แยกได้จากท่อน้ำของกิ่งปลอดโรคบนอาหารที่มีค่า water potential 0.138 Mpa ขณะที่บนอาหารที่มีค่า water potential 4.19 ส่วนใหญ่จะพบ *Pleospora* sp. และ *Sphaeropsis eucalyptus* ส่วนเปลือกท่อน้ำของกิ่งเป็นโรคมักแยกได้ *Fusicoccum eucalypti* และ *Cytospora chrysosperma* และยังพบว่าชนิดของเชื้อรามีความเกี่ยวพันกันกับเนื้อเยื่อแต่ละส่วนของพืช ในช่วงเปลี่ยนฤดูจากฤดูร้อนแห้งแล้งเป็นฤดูหนาวที่เย็นจัดจนเกิดน้ำค้างแข็ง อาจเป็นสิ่งกระตุ้นทำให้เกิดบาดแผลที่เปลือกของกิ่งไม้ซึ่งทำให้เชื้อรารุกรานและแพร่กระจายได้ดี

Bayman *et al.* (1998) ศึกษาเปรียบเทียบความถี่ของ *Xylaria* ซึ่งเป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ในใบและเมล็ดของพืช 2 ชนิดใน Puerto Rico คือ *Casuarina equisetifolia* (Australian pine) และ *Manikara bidentata* (ausubo) การเลือกศึกษาพืชทั้งสองนี้เนื่องจากมีลักษณะทางกายภาพ แหล่งที่อยู่ การกระจาย และแหล่งกำเนิดแตกต่างกัน *Xylaria* จาก *C. equisetifolia* มักพบที่ใบมากกว่าเมล็ด ไอโซเลทที่แยกได้จากเมล็ดของต้นที่เจริญในสวนดินธรรมดาไม่เหมือนกับไอโซเลทที่แยกได้จากเมล็ดของต้นจากชายหาด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอาจมีการแพร่กระจายผ่านทางเมล็ด (vertical transmission) แต่ไม่จำเป็นสำหรับการติดเชื้อใน *M. bidentata* สามารถแยก *Xylaria* ได้จากใบ 97% แต่เมล็ดไม่สามารถแยกได้เลย ซึ่งถือว่าเป็นการกระจายแบบ horizontal transmission หรือแพร่จากต้นหนึ่งไปอีกต้นหนึ่ง ต้น *M. bidentata* ที่เพาะในโรงเพาะซึ่งอยู่ไกลจากต้นที่อยู่ในป่ามีการติดเชื้อของ *Xylaria* สูงเหมือนกัน แสดงให้เห็นว่าเชื้อราเริ่มต้นสามารถมาจากแหล่งอื่นได้และสายพันธุ์ของเชื้อราเอนโดไฟต์ไม่จำเพาะเจาะจงกับพืชอาศัย

Lumyong *et al.* (1998) ได้ทำการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากพืชป่า 9 ชนิดคือ *Cleidion spiciflorum* (ดีหมี), *Cinnamomum iners* (อบเชย), *Maglietia garretii* (มณฑาดอย), *Camellia sininsis* var. ariamica (ชา), *Garcinia cowa* (ชะมวง), *Shorea roxburgii* (พยอม), *Mesua ferrea* (บุนนาค), *Litsea salicifolia* และ *Trichilla connarroides* จากการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากใบ กิ่งและลำต้นของกล้าพืชทั้ง 9 ชนิดดังกล่าว สามารถแบ่งได้เป็น 20 taxa โดยที่พบมากคือ *Gloeosporium* spp., *Glomerella* spp., Mycelia Sterilia, *Colletotrichum* spp., *Phoma* spp., *Cladosporium* sp., *Phomopsis* spp., *Guignnardia* sp., *Xylaria* spp., *Nigrospora* spp. และ *Pestalotiopsis* spp.

Naffaa *et al.* (1998) ทำการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากพืชตระกูลหญ้า 12 ชนิด พบเชื้อราเอนโดไฟต์ 3 genera คือ *Epichloe, Neotyphodium* และ *Acremonium*

Pelaez (1998) ได้แยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากพืชที่ขึ้นอยู่บนดินที่มี gypsum และดินที่มีเกลือผสมอยู่ในตอนกลางของประเทศสเปน 9 ชนิดคือ *Arundo donax, Atriplex halimus, Diplotaxis erucoides, Ephedra nebrodensis, Phragmitis autralis, Rosmarinus officinalis, Scirpus holochoenus, S. maritimus* และ *Stipa tenacissima* ได้เชื้อราทั้งสิ้น 2880 ไอโซเลท และสามารถจัดเป็นกลุ่มได้ 152 taxa จากใบ ลำต้น และกิ่ง โดยแยกในพืชแต่ละชนิดจำนวนชนิดละ 45 ต้น พบว่า *Ephedra* และ *Rosmarinus* มีความหลากหลายมากที่สุด แต่ *Scirpus* ทั้งสอง species มีความหลากหลายน้อยที่สุด เชื้อราที่มีความถี่สูงที่สุดคือ *Alternaria alternata, Spormiella intermedia, Rhizoctonia* sp., *Epicoccum purpurascens, Pleospora herbarum, Cladosporium herbarum, Spormiella australis* และ Mycelia Sterilia จากนั้นได้นำเชื้อราจำนวน 187 ไอโซเลท จาก 136 taxa มาทดสอบการผลิตสารต้านจุลินทรีย์คือ ยีสต์และแบคทีเรียที่ทราบชนิด ซึ่งแบคทีเรียบางชนิดเกี่ยวข้องกับทางการแพทย์ พบว่า 45 ไอโซเลท จาก 37 taxa สามารถผลิตสารประกอบต้านจุลินทรีย์ ซึ่งแต่ละชนิดมีความสามารถในการผลิตสารต้านจุลินทรีย์ได้แตกต่างกันออกไป

Lumyong *et al.* (1999) ศึกษาและแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากใผ่ 13 ชนิด จากบริเวณมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ และบ้านหาดแฟน จังหวัดพะเยา โดยนำมาฆ่าเชื้อที่ผิวโดยวิธี triple surface sterilization ได้เชื้อราจำนวนทั้งสิ้น 636 ไอโซเลท เมื่อตรวจสอบและบ่งบอกชนิดแล้วพบว่า Mycelia Sterilia พบในปริมาณมากที่สุด จำนวน 97 ไอโซเลท รองลงมาคือ *Fusarium* spp. เชื้อราที่พบมากเป็นอันดับสามคือ *Xylaria* spp. และ *Phoma* spp. ส่วนเชื้อราที่ไม่สามารถระบุชื่อหมายเลข 1, 2 และ *Colletotrichum* spp. พบมากเป็นอันดับสี่ *Phomopsis* spp., *Cladopsorium* sp., *Artrinium* sp. และเชื้อราที่ไม่สามารถระบุชื่อหมายเลข 3 พบในความถี่ต่ำ เชื้อราที่พบเพียงเล็กน้อยคือ *Arthrographis* sp., *Aspergillus* sp.,

Cephalosporium sp., *Chaetasbolisia* sp., *Curvularia sp., Drechslera* spp., *Harknessia* sp., *Helicon* sp., *Nigrospora* sp., *Papularia* spp., *Penicillium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Pithomyces* spp., *Syringospora* sp., Xylariaceae นอกจากนี้ยังพบเชื้อราที่ไม่สามารถระบุชื่อได้ใน class Hyphomycetes และ Coelomycetes จำนวน 27 และ 3 กลุ่มย่อยตามลำดับ

Marshall *et al.* (1999) ได้ศึกษาและประเมินชนิดของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่พบใน *Triticum* spp. (wheat) จาก Turkey พบเชื้อราเอนโดไฟต์ 2 genus คือ *Neotyphodium* spp. สามารถถ่ายทอดสู่รุ่นลูกได้ 100% แต่เชื้อรา *Acremonium* spp. ไม่สามารถถ่ายทอดได้ และยังพบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์มีผลต่อนิเวศน์วิทยาและการกระจายของ *Triticum* spp. และอาจใช้เป็น biological control ในการต่อต้าน pest หรือ abiotic stress factors ใน wheat

Bussaban *et al.* (2001) ทำการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากขิงป่า (*Amomum siamense*) ที่ไม่แสดงอาการของโรคและการเข้าทำลายของแมลง โดยแยกจากใบ pseudostems และราก ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างจากบริเวณอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย พบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้มี percent isolation prevalence 70-83 % และสามารถแยกได้เชื้อรา Ascomycetes 7 taxa และ mitosporic fungi 26 taxa โดยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, Glomerella* spp., Xylariaceous fungi และ *Phomopsis* spp. เป็นเชื้อราที่สามารถตรวจพบได้มาก และเชื้อรากลุ่ม Mycelia sterilia สามารถพบได้น้อย นอกจากนี้ยังพบเชื้อราชนิดใหม่ ซึ่งอยู่ในกลุ่ม Ascomycetes 2 species ได้แก่ *Gaeumannomyces amomi* และ *Leiosphaerella amomi* ซึ่งพบได้จากส่วนของใบและราก เชื้อรา *Pyricularia* อีก 4 species ซึ่ง 3 ใน 4 เป็นเชื้อราชนิดใหม่โดยแยกได้จากส่วนของใบ

Okane *et al.* (2001) ศึกษาและแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากใบของ *Bruguiera gymnorrhiza* พบว่าสามารถแยกเชื้อราจากใบพืชที่เก็บในฤดูหนาวได้มากกว่าแยกจากใบที่เก็บในฤดูร้อน และสามารถแยกเชื้อได้จากส่วนของหลังใบได้มากกว่าจากส่วนของท้องใบ โดยเชื้อราที่สามารถแยกได้คือ *Pestalotiopsis* spp., *Phyllosticta* spp., *Phoma* sp., *Acremonium* sp. เชื้อราในกลุ่ม Xylariaceae, Ascomycetes, Coelomycetes, Mycelia sterilia และพบว่าสามารถแยกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ในปริมาณมากที่สุด

Romero *et al.* (2001) ศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์จากใบของ *Parthenium hysterophorus* ซึ่งเป็นวัชพืชชนิดหนึ่งและทำการฆ่าเชื้อที่ผิวโดยวิธี seven surface sterilization โดยทำการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ชนิดที่ได้มีการบันทึกว่ามักทำให้เกิดโรคกับใบของพืชชนิดนี้ เชื้อที่สามารถแยกได้คือ *Alternaria zinnae, A. helianthi, Cylindrocarpon* sp., *Curvularia brachyspora, Fusarium* sp., *Nigrospora oryzae, Penicillium funiculosum* และ *Periconia* sp.

เชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกจากพืชที่ทำการศึกษาเป็นจำนวนมากมักจะแยกได้จากเชื้อราในกลุ่ม Xylariaceae เสมอ ถึงแม้ว่าบางครั้งจะพบในปริมาณที่น้อยก็ตาม การที่พบเชื้อรา Xylariaceae ในลักษณะที่เป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ ทำให้นักวิทยาเกิดความสนใจเพราะว่าเชื้อราจำพวกนี้ส่วนใหญ่เป็นพวก saprophyte (Petrini *et al.*, 1995) แต่มักพบเชื้อราจำพวกนี้เสมอในพืชอาศัยจึงเป็นที่น่าสนใจว่า อาจมีบางสิ่งที่เกี่ยวข้องกับพืชอาศัย แต่ยังคงไม่พบรายงานอย่างละเอียดว่าเชื้อรา Xylariaceae มีบทบาทอย่างไรต่อพืชอาศัยที่มีชีวิต

ผลของลักษณะภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และสภาวะแวดล้อมมีผลต่อชนิดและจำนวนของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืช (Sieber, 1989) และเชื้อราเอนโดไฟต์ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มของ Ascomycotina และ Deuteromycotina เชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชอาศัยนั้นมีปริมาณมาก อย่างไรก็ตามชนิดของเชื้อราเอนโดไฟต์จำนวนหนึ่งซึ่งเป็นจำนวนน้อยที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของพืชอาศัย ถึงแม้ว่าเชื้อราชนิดนั้นๆ จะมีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของพืชอาศัย ก็ไม่ได้หมายความว่าจะพบเชื้อราชนิดนั้นทุกครั้งที่ทำการแยกเชื้อ ทั้งนี้ขึ้นกับสภาพของพื้นที่ปลูกพืชอาศัยนั้นด้วย เชื้อราเอนโดไฟต์มักสร้างเอนไซม์ที่มีความจำเป็นในการเจริญในเนื้อเยื่อพืชและพบอีกว่าสารที่เชื้อราเอนโดไฟต์สร้างยังเป็นประโยชน์ต่อเซลล์พืชด้วย ซึ่งสารที่สร้างขึ้นสามารถใช้ประโยชน์ในทางเภสัชกรรมหรือทางเกษตรกรรมด้วย (Bacon, 1977)

ประโยชน์และความสำคัญของเชื้อราเอนโดไฟต์

การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอาศัยโดยเชื้อราเอนโดไฟต์

เชื้อราเอนโดไฟต์ส่วนใหญ่สามารถใช้ส่วนประกอบของเซลล์พืชได้ มีการสร้างเอนไซม์และสร้างองค์ประกอบที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืช และสร้างสารที่สามารถใช้ประโยชน์ในทางเภสัชกรรมหรือทางเกษตรกรรม (Bacon, 1977)

Clay (1988) พบว่าพืชตระกูลหญ้าหลายชนิดที่ถูก infect ด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์ (familiy Clavicipitaceae, Ascomycetes) มักจะสร้างสาร alkaloids ซึ่งสามารถพบได้ในเนื้อเยื่อของพืชอาศัย และทำให้พืชอาศัยนั้นมีความเป็นพิษต่อแมลงจำพวก herbivores และจากผลการทดสอบพบว่าพืชอาศัยที่ถูกปลูกด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์ จะมีผลทำให้การเจริญและผลผลิตเพิ่มขึ้น

Rice *et al.* (1990) ได้ศึกษาผลของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการผลิตผลของข้าว พบว่าเมื่อปลูกด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์ *Acremonium coenophialum* คุณภาพและปริมาณของผลผลิตที่ดีกว่า เมื่อไม่ได้ปลูกด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์ นอกจากนี้ Cook *et al.* (1991) ได้ทดสอบปลูกเชื้อราเอนโดไฟต์ *Acremonium lolii* บน perennial ryegrass 9 ชนิดและมีชุดที่ไม่ได้ปลูกเชื้อราเอนโดไฟต์เป็นชุดควบคุม พบว่าต้นที่ปลูกด้วยเชื้อรา *A. lolii* มีขนาดรากที่ใหญ่ขึ้น เชื้อราเอนโดไฟต์ทำให้พืชมี

ชีวิตที่ยืนยาวขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบความแข็งแรงของพืชอาศัยและเชื้อราเอนโดไฟต์เมื่ออยู่อย่างเป็นอิสระต่อกัน กับเชื้อราที่อาศัยอยู่ในพืชในลักษณะเอนโดไฟต์ พบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์ช่วยให้พืชเจริญเติบโตดีขึ้น (Sinclair, 1991)

Schardl and Tsai (1992) ได้ศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์ของ forage grass (*Festuca arundinacea* Schreb. (tall fescue) พบเชื้อราเอนโดไฟต์ *Acremonium coenophialum* ซึ่งเชื้อราชนิดนี้สามารถเพิ่มความแข็งแรงให้กับต้นหญ้า โดยทำให้หญ้า (tall fescue) สามารถทนทานต่อโรคและแมลงได้ (Belanger, 1996) และสามารถใช้ในแง่ biological control ได้ดี แต่เชื้อราสร้างสาร "antimammalian ergot alkaloid" ซึ่งไม่มีผลดีเมื่อนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์

Christiansen (1996) ได้แยกเชื้อราเอนโดไฟต์ *Azorhizobium caulinodans* จาก *Sesbania rostrata* และทำการปลูกเชื้อในต้นกล้าข้าวโดยปลูกเชื้อราบริเวณราก พบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์กระตุ้นให้รากข้าวเกิดการสร้างปุ่มปมขึ้น ซึ่งทำให้พืชสามารถตรึงไนโตรเจนได้

Magan and Smith (1996) ศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์ของ Sitka spruce needles 2 ชนิด คือ *Lophodermium piceae* และ *Rhizosphaera kalkhoffii* พบว่าในต้นพืชที่มีความสมบูรณ์ เจริญในสภาพแวดล้อมที่ดี จะพบเชื้อราเอนโดไฟต์ทั้งสองชนิดในปริมาณน้อย แต่ต้นพืชที่เจริญในสภาพแวดล้อมที่ไม่ดี มีมลภาวะ (pollution) จะพบเชื้อราทั้งสองชนิดมาก โดยพบ *R. kalkhoffii* มากกว่า *L. piceae* ทั้งนี้ *R. kalkhoffii* สามารถทนทานต่อระดับของ sulphur dioxide ที่สูง สภาพแห้งแล้งและอุณหภูมิต่ำ ซึ่ง sulphur dioxid มีพิษต่อพืช และสามารถใช้ *R. kalkhoffii* เป็น bioindicators ในการพิจารณาความแข็งแรงสมบูรณ์ของพืช

Bush *et al.* (1997) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพืชตระกูลหญ้ากับเชื้อรา *Epichloe* ซึ่งเป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ และ *Neotyphodium* (เชื้อราในระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของ *Epichole*) มักแยกได้จากพืชอาศัยตระกูลหญ้า อีกทั้งยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่พืชอาศัย เชื้อราเอนโดไฟต์สามารถปกป้องพืชอาศัยจากสภาพเครียดต่างๆ ที่เกิดจากสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังรวมไปถึงทำให้พืชอาศัยต้านทานต่อแมลงจำพวก herbivore เชื้อสาเหตุโรคพืช และไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ทำให้พืชเกิดความต้านทานและเพิ่มความสามารถในการแข่งขันสูงขึ้น แต่ mechanism ระหว่างพืชอาศัยกับเชื้อราเอนโดไฟต์ยังไม่ทราบแน่ชัด อย่างไรก็ตามระหว่างพืชอาศัยกับเชื้อราเอนโดไฟต์ พบว่ามีการสร้างสาร alkaloids 4 กลุ่มคือ lolines, peramine, ergot alkaloids และ lolitrems

Gasoni and De Gurfinkel (1997) ศึกษาพบว่ามีเส้นใยของ *Cladorrhinum foecumdissimum* อยู่ล้อมรอบบริเวณเนื้อเยื่อรูปทรงกระบอกของรากฝ้าย โดยเฉพาะภายในขนรากของต้นฝ้ายที่เจริญบนวัสดุเพาะที่มีเชื้อราเอนโดไฟต์อยู่ ทำให้ฝ้ายเจริญเติบโตเร็วและมีความสูงมากกว่าฝ้ายกลุ่มควบคุม

ถึง 50% ในวัสดุเพาะที่ขาดแคลนฟอสฟอรัสหลังจากใช้ปลูกพืชทดลองกลุ่มเดียวกันพบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์ทำให้วัสดุเพาะมีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสมากกว่าพืชกลุ่มควบคุมถึง 2 เท่า ในพืชอายุ 25 วันที่เจริญในวัสดุที่มีฟอสฟอรัสสูงๆ โดยใช้ ^{32}P มีค่า L value (ปริมาณฟอสฟอรัสที่ใช้ได้ : $mgP100g^{-1}$) สูงถึง 29% ในวัสดุที่มีเชื้อราเอนโดไฟต์อยู่ ซึ่งดีกว่าวัสดุที่ไม่มีเชื้อราเอนโดไฟต์ แต่น้ำหนักแห้งและปริมาณฟอสฟอรัสในพืชไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

Yanni *et al.* (1997) ทำการแยก *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* ซึ่งเป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ โดยแยกได้จากรากข้าว (*Oryza sativa*) และจากการศึกษาพบว่าเชื้อราชนิดนี้สามารถเพิ่มอัตราการเจริญของยอดและรากข้าว และช่วยในการเพิ่มปริมาณผลผลิตข้าวโดยช่วยในการตรึงไนโตรเจน

Ajit *et al.* (1999) ศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์ *Piriformospora indica* (Hyphomycetes, Basidiomycota) ซึ่งเป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ที่พบในราก พบว่าเมื่อปลูกเชื้อราเอนโดไฟต์ชนิดนี้ให้กับต้นพืชจะช่วยเพิ่มความแข็งแรงและส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพืช

Chaintreuil *et al.* (2000) ศึกษา endophytic rhizobia ในรากของ wetland wild rice (*Oryza breviligulata*) ซึ่งเป็นต้นสายพันธุ์ของ African cultivated rice (*Oryza glaberrima*) ข้าวพันธุ์ดั้งเดิมนี้ปลูกในแถบที่เปียกชื้นเช่นเดียวกับ *Aeschynomene sensitiva* ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่ปลูกในน้ำ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับ Bradyrhizobium พบเชื้อราเอนโดไฟต์ 20 ชนิด จาก *O. breviligulata* ซึ่งทำการเก็บจาก 3 พื้นที่ใน West Africa โดยแยกจากรากและบริเวณรอบๆ น้ำ โดยใช้ *A. sensitiva* เป็น trap legumes endophytic และ aquatic isolates ส่วนใหญ่เป็น photosynthetic ซึ่งแยกได้จากส่วนลำต้น และจากการศึกษาพบว่าสามารถตรวจพบ nitrogen fixing activity ซึ่งสามารถวัดได้โดย acetylene reduction จากข้าวที่ปลูกด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์ ผลผลิตและการเจริญของรากของ *O. breviligulata* เพิ่มขึ้น 20% "Photosynthetic Bradyrhizobium" มักใช้ในการเพิ่ม nitrogen fixation และเป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ของ *O. breviligulata* ซึ่งช่วยทำให้ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้น

การควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีโดยเชื้อราเอนโดไฟต์

การนำจุลินทรีย์มาใช้เพื่อการป้องกันกำจัดโรคพืชนั้น ได้มีนักวิจัยสนใจทำการศึกษาทดลองเป็นเวลานาน ซึ่งเป็นผลมาจากการพบปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติที่มีความสมดุลย์ของปริมาณสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ โดยมีการควบคุมกันเองอยู่แล้ว การค้นคว้าวิจัยมีเพิ่มขึ้นเมื่อผลของสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดโรคพืชมีผลตกค้างในดินและเป็นปัญหาต่อสภาพแวดล้อม ทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชสามารถปรับตัวให้สามารถต้านทานหรือดื้อต่อสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช (ศิริพงษ์และรัศมี, 2539) โรคพืชส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา อย่างไรก็ตามเชื้อราสาเหตุโรคพืชมักจะมีศัตรู

ธรรมชาติอยู่แล้ว จึงได้มีการศึกษาการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช เชื้อราปฏิปักษ์บางชนิดได้มีการผลิตในรูปการค้าแล้ว ซึ่งให้ผลดีในการควบคุมโรค โดยเป็นการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี เชื้อดังกล่าวเช่น *Trichoderma* และ *Gliocladium* ยังคงมีเชื้อราอีกหลายชนิดที่สามารถพัฒนามาเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ได้ แต่ยังต้องได้รับการพัฒนาและปรับปรุงสายพันธุ์ต่อไป (Mkhopadhyay and Mukherjee, 1996)

มีรายงานการใช้เชื้อราปฏิปักษ์มาควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราต่างๆ อย่างได้ผลโดยใช้ในการคลุกเมล็ด หรือผสมในดินก่อนปลูกพืช Harman *et al.* (1981) รายงานว่าเมื่อคลุกเมล็ดถั่วและเมล็ดหัวผักกาดด้วยเชื้อรา *Trichoderma hamatum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Rhizoctonia solani* ได้ดี และ Marshall (1982) ได้ทำการทดลองคล้ายกันโดยใช้เชื้อรา *T. hamatum* ทำการทดลองในเรือนกระจก และพบว่าสามารถลดการเกิดโรคของเมล็ดถั่วแขกที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani* ได้ร้อยละ 36-65

เชื้อราเอนโดไฟต์ส่วนใหญ่นอกจากไม่เป็นอันตรายต่อพืชแล้วยังสามารถช่วยปกป้องพืชอาศัยจากการเข้าทำลายจากแมลงศัตรูพืชได้อีก โดยการสร้างสารพิษหรือผลิตภัณฑ์ที่มีพิษต่อแมลงหลายชนิด โดยพบว่าเชื้อรา *Acremonim* เป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ที่ป้องกันสนามหญ้าให้พ้นจากการเข้าทำลายของแมลงได้ดี และก่อให้เกิดประโยชน์ระยะยาวคือ ทำให้หญ้าสามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่เครียดและแห้งแล้ง อีกทั้งยังทำให้เกิดความทนทานต่อโรคสูง (Carroll, 1988; Petrini, 1991)

Clay (1989) พบว่าในพืชตระกูลหญ้าจำนวนมากมีเชื้อราเอนโดไฟต์อยู่ทั้งใน ใบ ต้น และเมล็ด จากการทดลองในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดลองแสดงให้เห็นว่า พืชที่ได้รับการปลูกด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์ จะมีความต้านทานต่อโรคและแมลงสูงกว่าพืชที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อรา เช่นเดียวกับ McGee *et al.* (1991) ได้แยกเชื้อรา *Acremonium strictum* จาก ryegrass, kikuyu และพืชอื่นๆในวงศ์ Pennisetum พบว่า *A. strictum* 2 ไอโซเลท สามารถยับยั้งอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา 5 ชนิด ซึ่งทำให้เกิดโรคกับพืชตระกูลหญ้าได้ในสภาพห้องทดลอง และสกัดสารจาก culture ของ *A. strictum* พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราและมีผลต่อ hyphal elongation ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด

Gasoni *et al.* (1993) ศึกษาและแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ (nonpathogenic sterile fungus) จาก alfalfa soil เพื่อใช้ในการทดสอบควบคุมโรค damping off ของต้น flax ที่เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia solani* พบว่าสามารถเพิ่มความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุของโรคได้ดี เมื่อทำการปลูกด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์ก่อนการปลูก เพื่อให้พืชพัฒนา defense mechanism

Venkatasubbaiah *et al.* (1995) พบว่าเชื้อรา *Peltaster fructicola* สร้างสารที่เป็น antifungal ต่อเชื้อรา *Botryosphaeria dothida, B. obtusa, Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. acutatum* โดยสารที่เชื้อราสร้างขึ้นมี 4 ชนิด trichothecolone, trichothecolone acetate, 6-methylsalicylic acid และ 2,5 –dihydroxybezoic acid

Trevathan (1996) ศึกษาผลตอบสนองของเชื้อรา *Acremonium coenophialum* ต่อเชื้อรา *Cochliobolus sativus* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยปลูกเชื้อรา *A. coenophialum* ให้ต้น tall fescue แล้วปลูกด้วยเชื้อราสาเหตุ *C. sativus* เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการปลูกด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์และชุดที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อราสาเหตุ พบว่า tall fescue ที่ได้รับเชื้อราและไม่ได้รับเชื้อรา *A. coenophialum* เมื่อปลูกด้วยเชื้อราสาเหตุพบว่า ความสูง น้ำหนักสดของยอด ฯลฯ ลดลง เมื่อเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ปลูกด้วยเชื้อราสาเหตุ จากการศึกษาพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราเอนโดไฟต์และเชื้อราสาเหตุนี้เป็นแบบ neutral

Faeth and Hammon (1997a; 1997b) ศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์ใน woody plants ซึ่งพบเชื้อราเอนโดไฟต์จำนวนมาก และจากการศึกษาพบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์ช่วยเพิ่มระดับความต้านทานของต้นไม้ต่อแมลงพวก invertebrate และ vertebrate herbivores (Lepidoptera: Gracillariidae: *Cameraria* sp.) โดยเชื้อราเอนโดไฟต์ที่ใช้ในการศึกษาแยกได้จากต้นโอ๊ค ได้แก่ *Asteromella* sp., *Plectophomella* sp. และ *Ophiognomonia cryptica* เช่นเดียวกับ Belanger (1996) พบว่าเมื่อปลูกเชื้อราเอนโดไฟต์ *Acremonium* และ *Epichloe* ให้กับ turf grasses และ forage grasses พบว่าต้นพืชสามารถเพิ่มระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลง นอกจากนี้ Bultman *et al.* (1997) แยกเชื้อราเอนโดไฟต์ *Acremonium coenophialum* จาก tall fescue (*Festuca arundinacea*) และจากการศึกษาพบว่าต้น tall fescue ที่มีเชื้อราเอนโดไฟต์ เกิดการสร้างสาร alkaloids จำพวก N-acetyl และ N-formyl ซึ่งเป็นสาร alkaloid ที่ความเฉพาะเจาะจงซึ่งเกิดจากการกระตุ้นโดยความสัมพันธ์ของต้นพืชกับเชื้อราเอนโดไฟต์ และสาร alkaloids นี้ให้ผลในการป้องกันการเข้าทำลายของแมลงพวก herbivores

Rosales (1997) ได้แยกเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บริเวณ rhizosphere และจากต้นข้าวปกติ (*Oryza sativa*) เพื่อศึกษาการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ ต่อเชื้อรา *Fusarium moniliforme* พบว่าเชื้อแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งและระงับการเกิดอาการของโรคถอดฝักดาบของข้าวได้

Boontim and Lumyong (1998) นำเชื้อราเอนโดไฟต์จำนวน 26 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการสร้างสาร metabolites เพื่อใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบจำนวน 4 ชนิดคือ *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans* และ *Aspergillus niger* โดยนำเชื้อราเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลทมาเพาะเลี้ยงใน basal medium ที่มี substrate ที่แตกต่างกันหลาย

ชนิดได้แก่ xylan, inulin, locust, bean gum และ CMC แล้วนำเขย่าโดยใช้ repiprocal shaker ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน ใช้ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที และนำ supernatant ที่ได้มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบโดยวิธี paper disk susceptibility test พบว่ามีเชื้อราจำนวน 2 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ น้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์จำนวน 9 ไอโซเลทจากจำนวนทั้งหมด 10 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในอาหารที่มี CMC เป็น substrate สามารถยับยั้งการสร้างเส้นใยของเชื้อรา *A. niger* แต่ไม่พบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์ใดที่สามารถต้านทานการเจริญของ *C. albicans* และ *P. aeruginosa* ซึ่งการชี้ผลให้เห็นว่าเชื้อราเอนโดไฟต์สามารถผลิตสาร metabolites บางชนิดที่มีความสำคัญและมีประโยชน์ในการป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา

Danielsen and Jensen (1999) ได้สำรวจและแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากพืชตระกูลหญ้าและข้าวโพดได้ 34 ไอโซเลท เพื่อทำการคัดเลือกหาเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Fusarium verticillioides* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุของโรคในข้าวโพด พบว่าต้นข้าวโพดที่ปลูกด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์ พบ 6 ไอโซเลทที่ทำให้ต้นข้าวโพดเกิดอาการ necrosis น้อยกว่าชุดควบคุมซึ่งปลูกเชื้อราสาเหตุเพียงอย่างเดียว แต่พบว่ามี 1 ไอโซเลท คือ *Trichoderma koningii* S8 สามารถลดอาการ stalk necrosis ได้เมื่อทำการทดสอบซ้ำ แต่ไม่มีไอโซเลทใดสามารถยับยั้งอาการ necrosis ได้ ทั้งนี้เชื้อ *F. verticillioides* เป็นเชื้อราที่มีความรุนแรง และสามารถปรับตัวให้อยู่อาศัยกับข้าวโพดได้เป็นอย่างดี

Greulich *et al.* (1999) พบว่าหญ้า timothy (*Phleum pratense*) ที่ infect ด้วยเชื้อรา *Epichloe typhina* มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Cladosporium phlei* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคของหญ้าชนิดนี้ จากการศึกษาและพัฒนา ปรับปรุงจนทำให้หญ้าที่ปลูกด้วยเชื้อรา *E. typhina* สามารถปลูกในสภาพ field โดยไม่ทำให้หญ้าแสดงอาการของโรคและให้ผลดีเทียบเท่ากับการทดสอบในสภาพห้องทดลอง

Schulz *et al.* (1999) ทำการศึกษาการสร้างสาร seondary metabolites ซึ่งเป็นผลที่เกิดจาก interaction ระหว่างเชื้อราและพืชอาศัย โดยพยายามที่จะศึกษาและทำความเข้าใจในการที่เชื้อราเอนโดไฟต์สามารถอยู่ในพืชอาศัยได้โดยไม่ทำให้พืชแสดงอาการ และศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์ที่สามารถผลิต secondary metabolites ที่สามารถเป็น antibacterial, antifungal หรือ herbicide โดยในการทดสอบวัดผลจากความเข้มข้นของ phenolic metabolites ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของสาร phenolic metabolites ในรากพืชที่ปลูกด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์มากกว่ารากพืชที่ปลูกด้วยเชื้อราสาเหตุ จากผลการศึกษาสามารถตั้งสมมติฐานได้ว่า ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสาเหตุของโรคกับพืชอาศัยและเชื้อราเอนโดไฟต์กับพืชอาศัย เป็นความสัมพันธ์แบบ mutual antagonism และมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างกันโดยการสร้างสาร secondary metabolites ขณะที่ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสาเหตุโรค

กับพืชอาศัยอยู่ในลักษณะ imbalance ทำให้ผลแสดงออกในรูปของการเกิดโรค ในขณะที่ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราเอนโดไฟต์กับพืชอาศัยอยู่ในลักษณะ balance จึงทำให้พืชไม่แสดงอาการใดๆ ของโรค

Narisawa *et al.* (2000) ทดสอบปลูกเชื้อราเอนโดไฟต์ *Heteroconium chaetospira* ซึ่งแยกได้จากราก ลงบนต้นกล้าของ Chinese cabbage พบว่าหลังจาก 3 เดือนที่ย้ายกล้าไปปลูก พบว่าสามารถลดอาการ club root ได้ 52-97 % และลดอาการ Verticillium yellow ได้ 49-67 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและเชื้อรา *H. chaetospira* ไม่ทำให้พืชเกิดโรคและเชื้อสามารถเจริญได้ในต้นพืช 18 ชนิด ซึ่งแสดงให้เห็นว่า มี host range กว้าง ซึ่งจะสามารถใช้เป็น biocontrol agent ในการควบคุมโรค club root และ Verticillium yellow ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University