บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ข้าวเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากชนิดหนึ่ง โดยพบว่าประชากรกว่าครึ่งโลกที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลักโดยเฉพาะในประเทศแถบทวีปเอเชีย เช่น อินเดีย ปากีสถาน เนปาล บังกลาเทศ พม่า ไทย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ จีน เกาหลี และญี่ปุ่น นอกจากบริเวณดังกล่าวแล้วก็พบว่ามีการเพาะปลูกและบริโภคกันบ้างในอเมริกา บราซิล แอฟริกา ออสเตรเลีย ตะวันออกกลาง และประเทศในยุโรป (จำรัส, 2534)

ข้าวเป็นพืชตระกูลหญ้า (Family Gramineae) มีลำต้นเป็นไม้เนื้ออ่อน (herbaceous or non-woody plant) และส่วนใหญ่เป็นพืชหญ้าล้มลุกที่มีอายุได้เพียง 1 ปี (annual grass) มีใบเป็นชนิดใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledon) มีรากเป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) สามารถเจริญเติบโตได้ในทั้งเขตร้อน (tropical zone) ซึ่งเป็นเขตมรสุม และเขตอบอุ่น (temperate zone) โดยสามารถปลูกข้าวได้ทั้งในที่ราบไปจนถึงพื้นที่ที่มีความสูง 2,500 เมตรจากระดับน้ำทะเล สามารถปลูกได้ในที่ที่มีน้ำขังหรือไม่มีน้ำขังก็ได้ สามารถเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันไปซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ตามสภาวะแวดล้อมแต่ละแห่ง ดังนั้นจึงนับได้ว่าข้าวเป็นพืชที่มีความสามารถในการพัฒนาและปรับตัวให้เหมาะกับภูมิประเทศและภูมิอากาศได้อย่างกว้างขวางพืชหนึ่งของโลก ในประเทศไทยมีพันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกอยู่ประมาณ 3,500 พันธุ์ ปัจจุบันข้าวที่มนุษย์เราได้นำมาปลูกไว้เพื่อใช้บริโภคแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ *Oryza sativa* L. ซึ่งปลูกในทวีปเอเชียและ *Oryza glaberrima* Steud. ซึ่งปลูกในทวีปแอฟริกา สำหรับ *Oryza sativa* มีจำนวนพันธุ์และความแตกต่างในลักษณะของพันธุ์มากกว่า *Oryza glaberrima* มาก และข้าวที่ผลิตขายในตลาดโลกส่วนใหญ่ปัจจุบันเป็น *Oryza sativa* เกือบทั้งหมด โดยแบ่งเป็น 3 ชนิดย่อย (subspecies) คือ ข้าวอินดิกา (Indica) ข้าวจาปอนิกา (Japonica) และข้าวจาวานิกา (Javanica) (วิโรจน์และอัมพร, 2533)

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ซึ่งมีการเพาะปลูกข้าวมาช้านานและยังเป็นอาชีพหลักของเกษตรกร โดยมีผลผลิตข้าวในแต่ละปีเป็นจำนวนมาก ซึ่งเพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศและยังเป็นสินค้าส่งออกอันดับหนึ่งของปริมาณสินค้าเกษตรที่ส่งออกทั้งหมด ถึงแม้ว่าจะมีการนำเอาเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้ในขั้นตอนต่าง ๆ ของการปลูกข้าว แต่การปลูกข้าวของเกษตรกรก็ยังประสบปัญหาต่าง ๆ ซึ่งปัญหาบางอย่างก็ไม่สามารถควบคุมได้เช่น ขาดแหล่งน้ำ ฝนไม่ตกตามฤดูกาล เกิดน้ำท่วม เกิดโรคและแมลง ศัตรูข้าวระบาด ปัญหาต่าง ๆ เหล่านี้หากจะแก้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไขต้องเสียค่าใช้จ่ายที่มากขึ้นและอาจไม่คุ้มกับการลงทุน สำหรับปัญหาเกี่ยวกับโรคข้าวซึ่งนับเป็นปัญหาหนึ่งที่เกษตรกรพบอยู่เสมอในการปลูกข้าว ซึ่งโดยปกติแล้วหากปล่อยให้ต้นข้าวเป็นโรคจะยากต่อการรักษา ดังนั้นจึงควรเน้นในเรื่องการป้องกันไม่ให้เกิดโรคกับข้าวมากกว่าการรักษา (สมคิด, 2532)

โรคไหม้ของข้าว (Rice Blast disease) สาเหตุจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* (Cooke) Sacc.

โรคใบไหม้ของข้าว เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* (Cooke) Sacc. ในระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจัดอยู่ใน Form-Class Deuteromycetes From-Order Moniliales และ From-Family Moniliaceae ในระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจัดอยู่ใน Class Ascomycetes มีชื่อว่า *Magnaporthe oryzae* (บัญญัติ, 2527)

โรคไหม้ของข้าว พบครั้งแรกในประเทศจีนในปี ค.ศ. 1637 ต่อมามีรายงานพบโรคนี้ในประเทศญี่ปุ่นเมื่อปี ค.ศ. 1704 และในประเทศอิตาลี เมื่อปี ค.ศ. 1828 เรียกโรคนี้ว่า "Brisome" ต่อมาเมื่อมีการนำข้าวไปปลูกที่ประเทศสหรัฐอเมริกา จึงได้มีรายงานพบโรคนี้เมื่อปี ค.ศ. 1906 ในปี ค.ศ. 1913 มีรายงานความเสียหายที่เกิดจากโรคนี้ในประเทศอินเดีย ประเทศไทยเริ่มสนใจโรคใบไหม้ของข้าวในปี พ.ศ. 2498 และมีการศึกษาถึงการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคในเวลาต่อมา (บัญญัติ, 2527)

อาการของโรค ในระยะกล้าที่ใบมีแผลจุดสีน้ำตาลลักษณะคล้ายรูปตา มีสีเทาอยู่ตรงกลางแผล มีขนาดแตกต่างกันไปความกว้างระหว่าง 2 – 5 มิลลิเมตร และความยาวประมาณ 10 – 15 มิลลิเมตร จุดแผลนี้สามารถขยายลุกลามจนแผลรวมกันทั่วบริเวณใบ ในกรณีที่โรครุนแรง กล้าข้าวจะแห้ง และฟุบตาย อาการคล้ายถูกไฟไหม้ในระยะแตกกอ อาการของโรคพบได้ที่ใบ กาบใบ ข้อต่อของใบ และข้อต่อของลำต้น ขนาดของแผลจะใหญ่กว่าที่พบในระยะกล้า แผลลุกลามติดต่อกันได้ที่บริเวณข้อต่อใบจะมีลักษณะแผลช้ำสีน้ำตาลดำและใบมักหลุดจากกาบใบเสมอ ส่วนในระยะคอรวงพบว่าถ้าข้าวเริ่มให้รวง เมื่อถูกเชื้อรานี้เข้าทำลาย เมล็ดจะลีบหมด แต่ถ้าเป็นโรคตอนรวงข้าวแก่ใกล้เก็บเกี่ยว คอรวงจะปรากฏรอยแผลช้ำสีน้ำตาล ทำให้เปราะหัก พับง่าย รวงข้าวร่วงหล่นเสียหายมาก (สมคิด, 2532)

ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Pyricularia oryzae* (Cooke) Sacc.

เชื้อ *Pyricuraria oryzae* มีการสร้างคอนิเดียบนก้านคอนิดิโอฟอร์ที่มีผนังกั้นเป็นกลุ่มบนเนื้อเยื่อพืช คอนิเดียมี 3 เซลล์ จำนวน 1-20 คอนิเดียต่อ 1 conidiophore คอนิเดียใส ไม่มีสี (hyaline) มีรูปร่างลักษณะเป็นแบบ pyriform มีขนาด 8.1-10.3X19.2-27.3 ไมครอน (Ou, 1973)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราสามารถสร้างสารพิษได้ 2 ชนิดคือ picolinic acid และ pylicularin สารพิษนี้นอกจากจะมีผลในการยับยั้งการเจริญของต้นกล้าแล้วยังสามารถระงับการงอกของคอนิเดียของเชื้อราเองได้ด้วย (สมบัติ, 2526) ซึ่งจากรายงานของ Ogasawara (1974) พบว่าสารพิษที่ผลิตโดย *P. oryzae* ทั้ง 2 ชนิดนี้ จะพบได้ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อและต้นข้าวที่เป็นโรค และเมื่อทา pyircularin หรือ picolinic acid ที่บริเวณที่ทำแผลบนใบข้าว จะเกิดอาการ necrotic spot อย่างเดียวกันกับที่เกิดจากเชื้อรา การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวถูกยับยั้งได้ด้วย picolinic acid ที่ความเข้มข้น 50 ppm และ pyricularin ที่ 10 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสาร chelation ของ picolinic acid และ pyricularin ที่ความเข้มข้นสูงมากกว่า 10 ppm มีผลทำให้ลดอัตราการหายใจและการเจริญเติบโตได้ เนื่องจากเกิดการยับยั้ง oxidative enzyme แต่ที่ความเข้มข้นที่เจือจางที่สุดสามารถกระตุ้นอัตราการหายใจและการเจริญเติบโต เมื่อใช้สาร picolinic acid 400 ppm สามารถยับยั้งการงอกของคอนิเดียของ *P. oryzae* และ pyricurin เพียง 0.3-0.5 ppm สามารถยับยั้งการงอกของคอนิเดียและการเจริญเติบโตได้ ดังนั้นในระหว่างที่มีการเจริญเติบโตเชื้อราต้องกำจัดกระบวนการยับยั้งตัวเองนี้ให้ได้ โดยพบว่า dry matter ของคอนิเดียซึ่งปกติมี picolinic acid อยู่ประมาณ 0.1% และสารนี้จะถูกปลดปล่อยสู่น้ำก่อนที่คอนิเดียจะงอกจึงมีผลให้ไปยับยั้งการงอกของคอนิเดียได้ ดังนั้นหากคอนิเดียจะงอกได้จึงต้องล้างด้วยน้ำอีกครั้ง เป็นไปได้ว่า picolinic acid จะถูกปลดปล่อยออกมาจากคอนิเดีย ของ *P. oryzae* บนใบข้าวและแพร่กระจายไปสู่ epidermal tissue และ depresses tissue ทำให้เกิดการต้านทานต่อการงอกของเชื้อรา Osagawara (1974) ยังได้กล่าวเพิ่มเติมอีกว่า toxin ทั้ง 2 ชนิด สามารถแยกได้โดยใช้อาหารเหลว (culture broth) ของ *P. oryzae* และจากต้นข้าวที่เป็นโรคไหม้ และพบ pyricularin เป็นส่วนประกอบใน cytoplasmic protien ของข้าวพันธุ์ที่อ่อนแอมากกว่าในพันธุ์ที่ต้านทาน ซึ่งจะตอบสนองต่อการเข้าทำลายด้วยการเกิด hypersensitive reaction

การควบคุมโรคไหม้ของข้าวสาเหตุจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* (Cooke) Sacc.

การป้องกันกำจัดที่ประสบผลสำเร็จส่วนใหญ่ต้องการการดูแลบำรุง รวมถึงการใช้พันธุ์ต้านทาน การจัดการ และการใช้สารเคมี หากเป็นไปได้ควรทำลายฟางข้าวและตอข้าวโดยการเผา วิธีนี้เป็นมาตรการกำจัดที่สำคัญมาก แต่จะไม่ได้เป็นวิธีการกำจัดที่สมบูรณ์ เพราะการเผาซากพืชจะช่วยลดเฉพาะเชื้อที่อยู่ในแปลงเท่านั้น แต่ไม่สามารถป้องกันเชื้อที่มาจากที่อื่นได้ ควรใช้เมล็ดที่ปราศจากโรค ใช้เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการตรวจสอบเพื่อหลีกเลี่ยงเมล็ดที่มีการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ การใช้เมล็ดที่ปราศจากโรคจะช่วยควบคุม แต่ก็ไม่สามารถป้องกันคอนิเดียของเชื้อจากที่อื่นได้เช่นกัน สำหรับการจัดการธาตุอาหารควรหลีกเลี่ยงการใช้ธาตุไนโตรเจนในปริมาณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มากเกินไป เพราะจะทำให้เกิดโรคได้ง่ายขึ้นและควรใช้ไนโตรเจนในอัตราที่เหมาะสมกับพื้นที่ หลีกเลี่ยงการใส่ธาตุอาหารซ้ำซ้อน เพราะจะเป็นเหตุให้โรคมีการพัฒนาได้ดีขึ้น และเป็นการเพิ่ม inoculum ให้กับพื้นที่รอบ ๆ ด้วย การจัดการระบบการปลูก การให้น้ำต้นกล้าจะช่วยกำจัดการถ่ายทอดโรคจากเมล็ดไปยังต้นกล้า ระยะห่างในการปลูกไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการถ่ายทอดโรคไปกับเมล็ด การให้น้ำโดยการขังน้ำอย่างกระทันหันหลังจากปลูกประมาณน้อยกว่า 2 วัน จะทำให้มีการถ่ายทอดโรคไหม้จากเมล็ดไปยังต้นกล้าได้ น้ำตื้นจะเหมาะกับการเกิดโรคมากกว่าน้ำลึก (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, (ไม่ระบุปีที่พิมพ์))

การควบคุมโรคด้วยชีววิธี

ความหมายของการควบคุมโรคด้วยชีววิธี (เกษม, 2532)

การควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี หมายถึงการควบคุมโรคโดยใช้จุลินทรีย์หรือสิ่งที่มีชีวิตชนิดอื่นช่วยลดจำนวนประชากรของเชื้อโรค ลดการเกิดโรคหรือลดความเสียหายของพืชที่เกิดจากเชื้อโรค ซึ่งอาจรวมถึงจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ พันธุกรรมหรือผลผลิตจากพันธุกรรมด้วย ยกเว้นการกระทำโดยตรงของมนุษย์ต่อเชื้อโรคเท่านั้น การควบคุมโรคพืชด้วยวิธีนี้เป็นวิธีการค่อนข้างใหม่สำหรับประเทศไทย แต่ในปัจจุบันเกษตรกรจำนวนมากและนักวิชาการเกษตรสมัยใหม่เริ่มเห็นความสำคัญและนิยมใช้แทนสารเคมีกันมากขึ้น เนื่องจากผลของการใช้สารเคมีที่มีต่อสภาพแวดล้อมและต่อสิ่งที่มีชีวิต

ในปัจจุบัน การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีนิยมกระทำกันอยู่ 2 ประเภทคือ

1. การใช้เชื้อที่มีอยู่หรือที่ผลิตขึ้นมาใหม่ทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยตรงในกรณีเชื้อที่มีอยู่แล้ว อาจเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติทั่วไปหรืออาจเป็นจุลินทรีย์ที่มนุษย์เลี้ยงขึ้นมาจากธรรมชาติ แล้วปล่อยให้ทำลายกันเองโดยการช่วยปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม หรือเร่งการเจริญเติบโตเชื้อปฏิปักษ์ด้วยวิธีการต่าง ๆ ก็ได้

2. การใช้เชื้อพันธุ์ที่อ่อนแอกว่าทำลายหรือต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคพืชพันธุ์ปกติ การใช้วิธีนี้คล้ายกับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคที่เกิดกับมนุษย์หรือสัตว์ทั่วไป เป็นการสร้างภูมิคุ้มกันหรือ cross protection

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กลไกในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อ (เกษม, 2532)

เชื้อปฏิปักษ์ไม่ว่าจะเกิดเองในธรรมชาติหรือที่นักวิชาการนำมาเลี้ยงและขยายให้ผลิตเป็นการค้าได้มีวิธีการทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลายรูปแบบ แต่ละรูปแบบก็มีผลแตกต่างกันออกไป ดังนี้

1. การเป็นปรสิต (parasite) โดยตรง หมายถึง การที่เชื้อปฏิปักษ์เข้าทำลายส่วนต่าง ๆ ภายในของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้โดยตรง

2. การเป็นตัวห้ำ (predator) เป็นวิธีการที่คล้ายกับการเป็นปรสิตแตกต่างกันที่วิธีการกินหรือการทำลาย กล่าวคือตัวห้ำเป็นการกินทั้งตัว เช่น ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus myceliophagus* กินเชื้อราหรือเส้นใยของดอกเห็ด หรือไส้เดือนฝอย *Mononchus* spp., *Mylonchulus* spp. กินไส้เดือนฝอยด้วยกันเองเป็นอาหาร เป็นต้น

3. การแข่งขันกันเอง คือ การที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งเข้าไปยึดพื้นที่หรืองอกเจริญเติบโตก่อนที่เชื้อสาเหตุโรคพืชจะสามารถเข้าทำลายพืชได้ เช่น การพ่นสปอร์ของรา *Phlobia gigantea* ลงบนตอที่ตัดใหม่ของต้นสนสามารถลดการทำลายของเชื้อราที่ทำให้เกิดโรครากเน่า *Heterobasidium amnosum* ลงได้มากเนื่องจากรา *P. gigantea* สามารถยึดครองผิวหน้าของตอไม้สนและป้องกันมิให้รา *H. amnosum* เข้าทำลายและลุกลามต่อไปยังระบบรากจนทำให้รากเน่าได้

4. การสร้างสารปฏิชีวนะ จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสร้างสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราในดินหลายชนิดและเชื้อแอคติโนไมซิท

5. การสร้างภูมิต้านทาน หมายถึง การใช้สายพันธุ์ของเชื้อโรคที่อ่อนแอหรือจุลินทรีย์คนละกลุ่มกันและไม่เกี่ยวข้องกันเลยพ่นไปยังต้นพืชเพื่อป้องกันการทำลายของเชื้อสายพันธุ์ที่รุนแรงกว่า

Endophyte (Bacon and White, 2000)

Endophytic microbe เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชทั้งพืชบกและพืชน้ำ ความสัมพันธ์ระหว่างเอนโดไฟท์กับพืชมีหลายแบบด้วยกัน เช่น commesalism หรือ antagonistic pathogen โดยเอนโดไฟต์เป็นตัวควบคุมชีวภาพ (biological control) และเป็นแหล่ง metabolite สำหรับทางการแพทย์ การป้องกันโรคให้กับพืชอาศัย อีกทั้งเป็นต้นแบบในการศึกษาถึงความสัมพันธ์ต่าง ๆ ในธรรมชาติ

จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ หมายความรวมทั้งเชื้อราเอนโดไฟท์และแบคทีเรียเอนโดไฟท์โดยส่วนใหญ่เชื้อราเอนโดไฟท์จะได้รับความสนใจในการศึกษาที่กว้างขวางกว่า ทำให้มีข้อมูลเกี่ยวกับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อราเอนโดไฟต์ที่สัมพันธ์กับพืชอาศัยมากมาย นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า เชื้อราบางชนิดสามารถผลิตสารที่นำมาใช้ประโยชน์ในด้านเกษตรกรรมและเภสัชกรรม เช่น การสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ในกลุ่มของสารปฏิชีวนะ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคในของคน สัตว์ หรือพืช

แบคทีเรียเอนโดไฟท์ เป็นแบคทีเรียที่มีช่วงใดช่วงหนึ่งของวงชีวิตอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช ซึ่งอาจอยู่ในส่วนของราก ลำต้น กิ่ง หรือใบ แบคทีเรียชนิดนี้สามารถใช้ชีวิตร่วมกับพืช โดยมีความสัมพันธ์หลายรูปแบบ เช่น mutualism , neutral หรือ symbiont เป็นกลุ่มเอนโดไฟท์ที่ได้รับการศึกษาน้อย มีรายงานถึงการผลิตสารในกลุ่มของสารปฏิชีวนะในแบคทีเรียเอนโดไฟท์น้อยมาก แต่จากคุณสมบัติที่เด่นของแบคทีเรีย คือมีการแบ่งตัวที่รวดเร็วกว่าเชื้อรา จึงน่าที่จะนำคุณสมบัตินี้มาทำการศึกษาค้นคว้าเพื่อเชื่อมโยงความสัมพันธ์อื่น ๆ ต่อไปได้ (นิตยา และสายสมร, 2543)

ลักษณะทั่วไปของแอคทิโนไมซิท (Actinomycete) (Waksman, 1967; Mendez *et al*., 1985)

แอคทิโนไมซิทเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์เซลล์เดียว และเป็นแบคทีเรียกรัมบวก ที่เมื่อเจริญบนอาหารแข็งจะแตกกิ่งออกไปเป็นเส้นสายชนิดเดียว หรือสองชนิด ที่เรียกว่า substrate mycelium และ aerial mycelium ตามลำดับ substrate mycelium นั้นเกิดขึ้นก่อนบนอาหารและแทงเข้าไปในอาหารเพื่อที่จะนำสารอาหารไปใช้ได้อย่างเต็มที่ เมื่อโคโลนีเจริญขึ้น aerial mycelium เกิดขึ้นภายหลังและยื่นไปในอากาศเพื่อทำหน้าที่หลักคือสืบพันธุ์ aerial mycelium จะสร้างขึ้นในสภาวะพิเศษ เช่น ขาดน้ำ ขาดอาหาร หรือมีการสะสมของ inhibition compound ดังนั้น aerial mycelium จึงต้องมี hydrophobic sheath เพื่อกันการสูญเสียน้ำ แอคทิโนไมซิทสืบพันธุ์โดยวิธีการ fission สร้างสปอร์พิเศษหรือคอนิเดีย ที่ไม่เคลื่อนที่ แต่มีบางจีนัสสร้างสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้ มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับแบคทีเรียที่แท้จริงทั้งขนาด 1 ไมโครเมตร โดยลักษณะสำคัญที่จัดแอคทิโนไมซิทเป็นแบคทีเรียที่แท้จริงคือ มีเซลล์เป็นแบบ prokaryote และผนังเซลล์ประกอบด้วย peptidoglycan (N – acetyl glucosamine เชื่อมกับ N – acetyl muramic acid, L – 2,6 diaminoqimelic acid, glutamic acid, glycine และ alanine) แยกความแตกต่างของแต่ละจีนัสโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและองค์ประกอบของผนังเซลล์ แอคทิโนไมซิทส่วนใหญ่เป็นพวก aerobe บางจีนัสเป็น facultative anaerobe หรือ obligate anaerobe บางจีนัสเป็นเชื้อสาเหตุก่อโรคในมนุษย์ สัตว์ และพืช และบางจีนัสเป็น obligate symbiotic ในปมรากพืชและตรึงไนโตรเจนได้ เช่น จีนัส *Frankia*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แอคทิโนไมซิท เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาหลากหลาย ได้อาหารจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ (saprophytic) ชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophilic) พบอยู่ทั่วทั้งในดิน น้ำ อากาศ แต่พบมากในดินที่เป็นด่างเล็กน้อย อุดมด้วยสารอินทรีย์ (Porter, 1971)

การจัดจำแนกเชื้อแอคทิโนไมซิท

แอคทิโนไมซิท แบ่งออกได้เป็น 8 group ตาม Bergey 's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) ซึ่งได้แก่ group 22 – group 29 ส่วนในกลุ่มที่ 1 – 21 นั้นเป็นกลุ่มของแบคทีเรีย ซึ่งมีลักษณะที่สำคัญดังนี้

Group 22 Nocardioform Actinomycetes

เป็นกลุ่มที่มีลักษณะแตกต่างกัน สร้างเส้นใยสายสั้น ๆ บางจีนัสสร้าง aerial mycelium และอาจสร้างสปอร์เป็นสายโซ่ แยกความแตกต่างของแต่ละจีนัสโดยใช้องค์ประกอบของผนังเซลล์, สาร mycolic acid ที่พบภายในเซลล์และลักษณะทางเคมีอื่น ๆ ประกอบ แบ่งได้ 4 subgroup คือ

subgroup 1 Mycolic – containing bacteria

subgroup 2 *Pseudonocardia* และ related genera

subgroup 3 *Nocardioides* และ Terrabacter

subgroup 4 *Promicromonospora* และ related genera

Group 23 Genera with multilocular sporangia

แอคทิโนไมซิทในจีนัสนี้สร้างเส้นใยที่มีผนังกั้นตามขวาง สปอร์ที่มีลักษณะทรงกลม อาจเคลื่อนที่ได้เช่น *Dermatophilus* และ *Geodermmatophilus* หรือไม่เคลื่อนที่ เช่น *Frankia*

Group 24 Actinomycetes

สร้างเส้นใยที่คงทน (stable filament) อาจมี aeriai mycelium น้อยถึงไม่มีเลย สร้างสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้อยู่ภายใน sporangia เช่นในจีนัส *Actinoplanes, Ampullariella, Dactylosporangiun* และ *Pilimelia* หรืออาจสร้างสปอร์เดี่ยว ๆ ไม่เคลื่อนที่ เช่น *Micromonospora* หรือในบางกรณีสร้าง สปอร์ที่เป็นสายโซ่สั้น ๆ เช่น *Catrllaspola* ผนังเซลล์ของแอคทิโนไมซิทกลุ่มนี้ ประกอบด้วยสาร diaminopomilic acid แบบ meso – DAP และ glycine เมื่อวิเคราะห์น้ำตาลพบว่าเป็นน้ำตาลพวก arabinose และ xylose

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Group 25 Streptomycetes and related genera

เป็นกลุ่มที่มีลักษณะแตกต่างกัน มีผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยสาร aminopomilic acid แบบ L – DAP และ glycine, aerial mycelium สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายโซ่ เช่นในจีนัส *Streptomyces* และ *Streptoverticilium* ส่วนจีนัสอื่น ๆ เช่น *Intrasporangium, Kineosporia* และ *Sporichthya* สร้าง aerial mycelium น้อยหรือไม่สร้างเลย และสปอร์มีหลายรูปแบบ

Group 26 Madolomycetes

สร้างเส้นใยที่คงทนและสร้างสปอร์ที่แบบไม่เคลื่อนที่ เช่นในจีนัส *Microbispora* (สร้าง 2 spore/chain) *Microtetraspora* (สร้าง 4 spore/chain) และ *Actinomadura* (มากกว่า 4 spore/chain) ส่วนจีนัสอื่น ๆ สร้างสปอร์ใน sporangia พบใน *Streptosporangium* ผนังเซลล์ของแอคทิโนไมซิทในกลุ่มนี้ ประกอบด้วยสาร meso – DAP แอคทิโนไมซิทในกลุ่มนี้สามารถแบ่งได้เป็น 2 subgroup คือ

subgroup 1 *Streptosporangium* and related genera

subgroup 2 *Actinomadura*

Group 27 Thermomonospora and related genera

มี aerial mycelium เป็นเส้นใยแบบคงทน สร้างสปอร์เป็นคู่ ซึ่งอยู่เดี่ยว ๆ ทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดี เช่นแอคทิโนไมซิทในกลุ่ม *Thermomonospora* ในกลุ่มที่สร้างสปอร์เป็นสายโซ่ พบใน *Actinosynnema* และ *Nocardiopsis* ในบางกลุ่มสร้างโครงสร้างที่คล้าย sporangium พบใน *Streptoalloteichus* ผนังเซลล์ของแอคทิโนไมซิทในกลุ่มนี้ประกอบด้วย meso – DAP ไม่พบ amino acid และน้ำตาล

Group 28 Thermoactiomycetes

สร้างเส้นใยที่คงทน และสร้างสปอร์แบบเดี่ยว ๆ บน aerial mycelium และ substract filament แอคทิโนไมซิทในกลุ่มนี้พบเพียงจีนัสเดียวคือ Thermoactinomyces ทุกสปีชีส์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง (thermophilic) ผนังเซลล์ประกอบด้วยสาร aminopomilic acid แบบ meso – DAP แต่ไม่พบสาร amino acid หรือ น้ำตาลชนิดอื่นๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Group 29 Other genera

แอคทิโนไมซิทในกลุ่มนี้มี 3 จีนัส ซึ่งมีลักษณะไม่เหมือนแอคทิโนไมซิทในกลุ่มอื่น ๆ สร้าง aerial mycelium ที่มีสปอร์เป็นสายโซ่ ไม่พบสาร mycolic acid ในเซลล์ได้แก่ *Glycomyces, Kitasatosporia* และ *Saccharotrix*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคทิโนไมซิท

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคทิโนไมซิท (Morphology) (Lechevalier, 1989 อ้างโดย Stanley *et al*., 1989) ที่ ใช้ในการศึกษา มีดังต่อไปนี้

1. เส้นใย (mycelium) แบ่งออกเป็นเส้นใยแบบคงสภาพและเส้นใยที่สามารถแตกหักย่อยสลายได้ ถ้ามีเส้นใยที่มีการแตกหักและมีอวัยวะที่ใช้ในการเคลื่อนที่จัดเป็น *Oerskovia* spp. หรือมีการสร้างทั้ง substrate mycelium และ aerial mycelium ซึ่งพบได้ทั่วไป หรือเส้นใยอาจมีการสร้าง mycelium เพียงแต่อย่างใดอย่างหนึ่ง ในบางจีนัสอาจมีการสร้าง vesicle ภายในเส้นใยซึ่งไม่ใช่สปอร์บน เส้นใย

2. คอนิเดีย (conidia) ในที่นี้หมายถึงสปอร์ที่เกิดจากการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ไม่ใช่ chlamydospore หรือ sporangiospore โดยสามารถแบ่งออกเป็น

a. การสร้างคอนิเดียเดี่ยว ๆ พบในหลายๆ genus เช่นใน *Thermoactinomyces* สร้าง endospore ที่ทนต่ออุณหภูมิสูง พบใน genus *Saccharorionospora*

b. การสร้างคอนิเดียต่อกันเป็นคู่ พบใน genus *Microbispora* สร้างเฉพาะบน aerial mycelium เท่านั้น ใน *Faenia* spp. อาจมีการสร้างคอนิเดีย ทั้งบน aerial และ substrate mycelium

c. สร้างคอนิเดียเป็นสายสั้น ๆ ต่อกันเป็นสายไม่เกิน 20 สปอร์ต่อสาย พบใน จีนัส *Nocardia, Pseudonocardia, Faenia, Saccharorionospora, Streptoverticillium, Sporichthya, Actinomadura, Microtetraspora, Streptoalloteichus* และ *Glycomyces*

d. สร้างคอนิเดียเป็นสายยาว พบใน *Nocardia, Nocardioidddes, Pseudonocadia, Saccharopolyspora, Actinopolyspara, Streptomyces, Streptoverticillium, Actinosynnema, Nocardiopsis, Streptoalloteichus, Kibdelosporangium,Kitasatosporia, Glycomyces, Sccharothrix* และ *Amycolatopsis*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. สปอแรงเจีย (Sporangia) ภายในบรรจุสปอร์ที่เกิดจากการพัฒนาของผนังเซลล์ใน aerial mycelium บนผิวของโคโลนี พบในจีนัส *Actinoplanes, Ampullariella, Pilimelia, Dactylosporangium, Pplanobispora, Planomonospara, Spirillospora* และ *Streptosporangium*

4. โครงสร้างอื่น ๆ ที่แอคทิโนไมซิทสร้างขึ้น ในบางจีนัสอาจสร้าง synnemata และสร้างสปอร์อยู่ภายใน พบใน genus *Actinosynnema,* การสร้างโครงสร้างที่เรียกว่า multilocular sporangia ซึ่งมีสายของสปอร์ขดเป็นวงม้วนอยู่ภายใน พบใน *Kibdelosporangium* ส่วน *Streptomyces* มีการสร้างโครงสร้างที่เรียกว่า sclerotia คล้ายกับในเชื้อรา

การตรวจวิเคราะห์ทางเคมีมีความจำเป็นเพื่อใช้แยกความแตกต่างระหว่างแอคทิโนไมซิทที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาคล้ายกันหรือในกรณีที่ไม่มีการสร้างสปอร์ ความแตกต่างกันของ cell wall type และ whole cell sugar pattern สามารถตรวจสอบได้โดยวิธี thin layer chromatography

การวิเคราะห์สาร manaquinone โดยวิธี gas chromatography และการวิเคราะห์ phospholipid composition พบว่ามี 5 แบบ คือ

PI ไม่มี nitrogenous phospholipid

PII มี phosphatidylethanolamine

PIII มี phosphatidylcholine

PIV มี phosphatidylethanolamine และ glucosamine containing phospholipid

PV มี glucosamine containing phospholipid

การตรวจสอบลักษณะของเชื้อ

ตามคำแนะนำของ Cross (1991) สามารถตรวจสอบลักษณะของแอคทิโนไมซิท ได้หลายวิธี คือ

1. ปัก sterile cover glass เฉียงทำมุม 45 องศากับผิวของอาหารวุ้นที่เพาะเชื้อแอคทิโนไมซิทแล้ว จากนั้นปล่อยให้เชื้อเจริญขึ้นบน cover glass
2. ตัดอาหารแข็งเป็นก้อนสี่เหลี่ยมแล้วเพาะแอคทิโนไมซิทบนก้อนอาหารจากนั้น วาง cover glass ทับลงบนก้อนอาหารแล้วปล่อยให้เชื้อเจริญออกไปเกาะกับ cover glass

นำ cover glass ที่ได้จากทั้งสองวิธีไปย้อมสีด้วย lectophenal blue สังเกตลักษณะ aerial mycelium, substrate mycelium, การเรียงตัวของสปอร์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นอกจากนี้ยังศึกษาลักษณะโคโลนีบนอาหารชนิดต่างๆ ตามแบบการทดลองของ Waksman (1967) คือ glucose – asparagine agar, sucrose – nitrate agar, tyrosine agar, yeast extract – malt extract agar และ Hickey and Tresner medium (HT medium)

การแยกเชื้อบริสุทธิ์และการจำแนกชนิดของแอคทิโนไมซิท เอนโดไฟท์

การแยกแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ บนอาหารที่จำเพาะผสมร่วมกับสาร antibiotic เพื่อใช้ในการกดการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรียบางกลุ่มที่ไม่ต้องการเพื่อให้เชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ ซึ่งเจริญเติบโตช้าที่อยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชสามารถเจริญออกมา การจำแนกชนิดของแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้แก่ลักษณะโคโลนี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่าและการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจดูลักษณะการสร้างสปอร์ สามารถจำแนกเชื้อแอคทิโนไมซิทในระดับจีนัส (genus) ได้ ส่วนการจำแนกในระดับสปีชีส์ (species) พบว่าต้องอาศัยการตรวจสอบในหลายๆด้านประกอบกัน ได้แก่ ลักษณะ amino acid ภายในผนังเซลล์ ลักษณะของน้ำตาลใน whole cell hydrolysate และ การตรวจในระดับโมเลกุลเป็นต้น (Lechevalier, 1989 อ้างโดย Holt *et al.*, 1994)

Mirza *et al.* (1991) แยก *Frankia* sp. จากบริเวณปมรากของพืชหลายชนิดได้ จากนั้นทำการจัดจำแนกโดยการศึกษา whole cell fatty acid ใน *Frankia* ที่แยกได้จาก *Coriaria nepalensis* และ *Datisca cannabina* พบว่าลักษณะรูปแบบ fatty acid เท่ากับ 15:0 ; 15:1 ; 16:0 iso ; 17:0 และ 17:1 เหมือนกับใน *Frankia* ที่แยกได้จากพืชชนิดต่างๆ คือ Alnus, Casauriana, Colletia, Comptonia, Elaeagnus และ Hippophae

Sardi *et al.* (1992) ได้ทำการแยกเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์จากรากพืช 28 ชนิด บนอาหาร starch – casein medium ที่ผสมสารแอนติไบโอติกได้แก่ nystatin และ cycloheximide พบเชื้อ *streptomyces* มากที่สุดจำนวน 482 ไอโซเลท รองลงมาคือ *Nocardia*, *Strepverticillum, Micromonospora* และ *Streptosporangium* จำนวน 4, 2, 1 และ 1 ไอโซเลทตามลำดับ

Takao *et al.* (1995) ได้ทำการแยกเชื้อแอคติโนไมซิทจากใบของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว 8 ชนิด บนอาหาร salt agar medium ที่ผสม yeast โดยผสมสารแอนติไบโอติกได้แก่ nystatin และ cycloheximide พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่ได้ คือ *Streptoryces, Nocardia, Micromonospora, Actinomadura, Streptosporangium, Actinoplanes* และ *Thermomonospora*

Wu and Chen (1995) ได้จัดจำแนกและบ่งชนิดของเชื้อแอคทิโนไมซิทซึ่งแยกได้จากตัวอย่างดินที่เก็บในประเทศไต้หวัน โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยการเลี้ยงแอคทิโนไมซิทที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แยกได้บนอาหาร Czapek – dox agar, nutrient agar, Sabouraud agar และ ISP medium เมื่อแอคทิโนไมซิทเจริญได้ 7 14 และ 21 วันตามลำดับ โดยทำการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) และศึกษาลักษณะทางชีวเคมี การใช้คาร์โบไฮเดรตโดยเลี้ยงในอาหาร carbon nutrient medium การตรวจสอบสารประกอบในผนังเซลล์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทและการศึกษา DNA-DNA Homology วิธีการดังกล่าวช่วยให้สามารถจำแนกชนิดของเชื้อคือ *Streptomyces toxytricini*

Kudo *et al.* (1998) ทำการแยกเชื้อแอคทิโนไมซิทจากตัวอย่างพืช จากนั้นทำการจำแนกโดยศึกษาในด้านสัณฐานวิทยา, ส่วนประกอบใน cell wall และ รูปแบบของน้ำตาลใน whole – cell และได้ทำการยืนยันผลการจำแนกชนิดโดย phylogenetic analysis ในส่วน 10s RNA และ DNA – DNA hybridization พบว่าเชื้อแอคติโนไมซิทที่ได้เป็นสปีชีส์ใหม่คือจัดอยู่ในจีนัส *Kineospitia* ได้แก่ *K. mukuniensis* sp. nov., *K.succinea* sp.nov., *K. rhizophila* sp. nov. และ *K. rhamnosa* sp.nov.

Shimisu *et al.* (2000) ทำการแยกแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์จากราก ต้น และใบ ของต้น Rhododendron บนอาหาร IMA – 2 medium ที่ผสม antibiotic mixture ได้แก่ amphotericin B, riphampin – viccillin solution และ Heritage หลังจากบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 3 – 4 สัปดาห์ พบเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์จำนวน 10 ไอโซเลท จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคของ rhododendron จากการทดลองพบว่าเชื้อ isolate R – 5 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญ *Rhytophthora cinnamoni* และ *Pestalotiopsis sydowiana* ดีที่สุดโดยสามารถสร้าง clear zone ซึ่งชี้ให้เห็นว่าผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ Isolale R – 5 จึงถูกนำไปจำแนกชนิดของเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และ chemotaxonony พบว่าเป็นเชื้อแอคทิโนไมซิทในจีนัส *Streptomyces* sp.

Jonete *et al.* (2000) แยกแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์จากใบและรากของข้าวโพด พบเชื้อแอคทิโนไมซิทจำนวน 31 ไอโซเลทจากใบ และ 22 ไอโซเลทจากราก เมื่อทำการจำแนกพบว่าสามารถจัดอยู่ใน genus *Streptomyces* และ *Streptosporangium* ซึ่งจากจำนวนไอโซเลททั้งหมดที่แยกได้พบว่ามีเชื้อแอคทิโนไมซิทประมาณ 43.4% ของเชื้อทั้งหมดสามารถสร้างสาร antibiotic ต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ที่ใช้ทดสอบ

Berg *et al.* ในปี 2000 ได้แยกเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บริเวณรากของสตรอเบอรี่ 2 สายพันธุ์ คือ *Fragaria viridis* และ *F.* x *ananassa* บนอาหาร King' B medium และ glycerol- arginine agar เพื่อคัดเลือกหาเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Verticillium dahliae* พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อที่มีกลไกลการยับยั้งเชื้อ *V. dahliae* ได้จำนวน 300 isolate จาก *F.* x *ananassa* และ 20 isolate จาก *F.*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

viridis เมื่อทำการจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และ ribosomal DNA restriction analysis (RDRA) พบว่าเป็นเชื้อ *Streptomyces albidoflavus* S1 และ *Pseudomonas fluorescens* P6 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยว *Verticillium* ในเรือนเพาะชำได้

Wang *et al.* (2001) ทำการแยกแอคทิโนไมซิทจากดินในประเทศสิงคโปร์ จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบเชื้อแอคทิโนไมซิทสปีชีส์ใหม่ ซึ่งทนต่อความเป็นด่างเจริญได้ดีในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 สายพันธุ์ เมื่อทำการศึกษาลักษณะทางเคมีพบว่าผนังเซลล์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเป็นแบบ LL-diaminopimelic acid, menaquinone เป็นแบบ type PI, phosphlipid และ MK-9(H6) จากการวิเคราะห์ 16s rDNA sequence พบว่าสามารถจัดเชื้อแอคทิโนไมซิทชนิดนี้อยู่ Family Nacardioidaceae จีนัส *Actinopolymorpha singaporensis*

Otogura *et al.* (2001) ทำการแยก *actinokineospora* spp. จากดินและตัวอย่างพืช โดยนำตัวอย่างดินและพืชไปรมด้วยสารแคลเซียมคาร์บอเนตเพื่อเพิ่มปริมาณของ *Actinokineospora* spp.จากนั้นผึ่งให้แห้งแล้วแช่ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์เพื่อแยกเอา zoospore ของเชื้อออกมา นำ suspension ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร humic acid vitamin agar ที่ผสมสารแอนติไบโอติกคือ fradiomycin, kanamycin, nalidixic acid และ trimethoprim พบว่าสามารถแยกเชื้อ *Actinikineospora* spp. ได้ 17 ไอโซเลท

Stamford *et al.* (2001) ทำการแยกแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์จาก yam bean ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) การศึกษาองค์ประกอบของผนังเซลล์ และลำดับเบสของ 16s rDNA ตรวจการผลิต paclitaxel โดยวิธี monoclonal antibody assay พบว่าสามารถจำแนกและจัดอยู่ในจีนัส *Nocardiopsis* sp. ซึ่งเป็นเชื้อจีนัสเดียวกับเชื้อ Actinomycetes ที่พบในพืช *Taxus baccata*

Caruso *et al.* (2002) ได้ทำการแยก endophytic fungi และ Actinomycetes จากเนื้อเยื่อภายในกิ่ง ราก และใบของพืชใน genus *Taxus* 22 ชนิด สามารถพบเชื้อราจำนวนทั้งสิ้น 150 ไอโซเลท และ Actinomycetes 71 ไอโซเลท ต่อมาทำการคัดเลือกความสามารถในการผลิตสาร taxane เชื้อเอนโดไฟท์ที่แยกได้ทั้งหมดในอาหารเหลว และตรวจสอบการผลิตสารดังกล่าวโดยวิธี competitive inhibition enzyme immunoassay (CIEIA) พบว่าสามารถตรวจสอบพบเชื้อราที่สามารถผลิตสาร taxane ได้ 15 ไอโซเลท และ Actinomycetes 10 ไอโซเลท

Chris (2002) ทำการแยกแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์จากพืชในประเทศออสเตรเลีย พบเชื้อแอคทิโนไมซิทจากพืชที่นำมาทดสอบจำนวนมาก ต่อมาได้ทำการศึกษาความสามารถในการสร้าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารเมตาบอไลท์ พบว่า เชื้อแอคทิโนไมซิทที่ได้สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ถึง 40 % ของเชื้อทั้งหมด และ 9 % มีการสร้างสารที่ช่วยส่งเสริมการเจริญและสร้างความแข็งแรงให้กับต้นพืช

ความสำคัญของแอคทิโนไมซิท

แอคทิโนไมซิท เป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางการแพทย์และเภสัชกรรม เนื่องจากสามารถผลิตสาร metabolite หลายชนิด เช่น ยาปฏิชีวนะที่มีความสำคัญทางการเกษตรและอุตสาหกรรม อีกทั้งยังมีความสำคัญทางนิเวศวิทยาอีกด้วย จึงมีผู้สนใจทำการศึกษากันอย่างกว้างขวาง

Walter and Crawford (1995) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces lydicus* WYEC108 ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและเมล็ดเน่าของข้าวโพด พบว่า *Streptomyces lydicus* WYEC108 มีความสามารถในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด โดยสามารถสร้างสาร extracellular antifungal metabolite เมื่อทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการ พบว่า *Streptomyces lydicus* WYEC108 สามารถยับยั้งการงอกของ oospore ของเชื้อรา *Pythium ultimum* นอกจากนี้ยังสามารถทำลายผนังเซลล์ของเส้นใยเชื้อราได้ ดังนั้นเชื้อแอคทิโนไมซิทชนิดนี้จึงสามารถใช้เป็นจุลินทรีย์ชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium ultimum* ได้

Cecilia and Deborah (1996) ศึกษาการควบคุมโรคเน่าคอดินในต้นกล้าถั่วโดยใช้เชื้อ *Streptomyces* strain 93 เป็นเชื้อปฏิปักษ์ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอเน่าของต้นกล้าได้ในสภาพห้องปฏิบัติการและไม่มีผลต่อการเจริญของ *Rhizobium meliloti* ที่อาศัยอยู่ภายในปมรากถั่ว โดยในการทดลองได้ทำการศึกษาโดยแบ่งการทดลองเป็น

1. คลุกเมล็ดด้วย *Streptomyces* เพียงอย่างเดียว
2. การคลุกเมล็ดด้วย *Streptomyces* ร่วมกับสารฆ่าเชื้อรา

พบว่าการอยู่รอดของต้นกล้าและความสมบูรณ์ของต้นกล้าในกรรมวิธีที่มีการคลุกเมล็ดด้วย *Streptomyces* ร่วมกับสารฆ่าเชื้อราสูงกว่าในกรรมวิธีที่มีการคลุกเมล็ดด้วย *Streptomyces* เพียงอย่างเดียว

Marja (2000) ทำการศึกษาเชื้อ *Streptomyces griseoviridis* ในการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดพบว่า *Streptomyces griseoviridis* มีกลไกการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในหลาย ๆ รูปแบบ ได้แก่

1. การเจริญใน rhizosphere ของพืชและแย่งอาหารและสารต่าง ๆ ที่พืชปล่อยออกเป็นการแข่งในการเชื้อสาเหตุโรคพืชอื่น ๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. hyperparasitism โดย *Streptomyces qriseoviridis* สามารถผลิตเอนไซม์ chitinase ที่สามารถย่อยสลาย chitin ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์เชื้อรา และเจริญแทงทะลุผ่านเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา ทำให้เชื้อรานั้น ๆ ถูกทำลายได้
3. *Streptomyces quriseoviridis* สร้างสาร aromatic heptaene polyene (antifungal) ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช
4. *Streptomyces griseoviridis* ผลิตฮอร์โมน auxin (indole – 3 – acetic acid, IAA) ที่กระตุ้นการเจริญ ความแข็งแรง และการเพิ่มผลผลิตของพืช

Gomes *et al.* (2000) ได้ทำการสกัดเอนไซม์ที่สร้างจากแอคทิโนไมซิทที่แยกได้จาก Cerrado soil พบว่าเชื้อ *Streptomyces* ที่แยกได้สามารถสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับ endochitinolytic activity โดย *Streptomyces* 3 สายพันธุ์ สร้างเอนไซม์ที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช และ *Streptomyces* ทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถพัฒนาใช้เป็น biocontrol agent ที่มีประสิทธิภาพได้

Chris (2000) ได้ทำการแยกเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์จากพืชในประเทศออสเตรเลีย และพบว่าเชื้อชนิดนี้มีความสามารถในการผลิต secondery metabolite ที่มีผลในการป้องกันต้นข้าวสาลีจากเชื้อสาเหตุโรคในระหว่างการเจริญจนถึงการเก็บเกี่ยว

Abd-Allah (2001) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของ *Streptomyces plicatus* ในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช โดยทำการแยกเชื้อจากดินจำนวน 372 ไอโซเลทจากนั้นทำการคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไคติเนส พบว่าเชื้อ *Streptomyces plicatus* เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุด จากนั้นทำการเลี้ยงเชื้อดังกล่าวในอาหารเหลวที่มีสารไคติน ซูโครส และแคลเซียม เป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตเจน เป็นเวลา 3 วันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ การยืดตัวของ germ tube และการเจริญของเส้นใยของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Alternaria alternata* และ *Verticillium albo-atrum* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว stem canker และโรคเหี่ยว *Verticillium* ของมะเขือเทศได้

Bordoloi *et al.* (2002) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสาร antibiotic (2 – methylheptylisonicotinate) ซึ่งสกัดได้จากเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวสาเหตุจากเชื้อ *Fusarium* ในพืชตระกูลกะหล่ำ โดยสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้แก่ *Fusarium oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. semitectum*, *F. solani* และ *Rhizoctonia solani* ได้

Getha and Vikineswary (2002) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของ *Streptomyces violaceusniger* strain G 10 ในการควบคุมเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 4 จากการทดลองในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยวิธีการ Dual Method พบว่าเชื้อสามารถสร้าง Clear zone

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บริเวณที่เส้นใยของเชื้อราที่เจริญแผ่ออกมาในระหว่างเชื้อทั้งสองชนิดนั้น เมื่อตรวจสอบภาพใต้กล้องจุลทรรศน์พบเส้นใยของเชื้อราถูกย่อยสลาย จากนั้นเลี้ยงเชื้อ *S. violaceusniger* strain G10 ในอาหารเหลวร่วมกับเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 พบว่าเส้นใยของเชื้อราดังกล่าวแสดงอาการผิดปกติ ไม่มีการเจริญ จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าเชื้อ *S. violaceusniger* strain G10 มีความสามารถในการผลิตสารแอนติไบโอติกที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด รวมทั้งเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *cubense* race 4 ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคเหี่ยวของกล้วยได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved