

## บทที่ 2

### ตรวจเอกสาร

ข้าวโพด (corn หรือ maize) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays* L. จัดอยู่ในวงศ์ Gramineae เป็นขัญพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยมากที่สุดพืชหนึ่ง (ถาวร, 2531) ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการปลูก และผลิตข้าวโพดมากที่สุดในโลก โดยมีปริมาณการผลิตเกือบครึ่งหนึ่งของผลผลิตรวมทั่วโลก ประเทศไทยผลิตข้าวโพดลงมา ได้แก่ จีน บราซิล เม็กซิโก และแอฟริกาใต้ ตามลำดับ สำหรับประเทศไทยผู้ส่งออกข้าวโพดที่สำคัญ ได้แก่ ประเทศไทย สหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา เนเธอร์แลนด์ ไทย ฝรั่งเศส และ แอฟริกา เป็นต้น (ทรงเจ้าว, 2531)

ข้าวโพดที่ผลิตได้ในประเทศไทยส่วนใหญ่จะส่งออกในรูปของเมล็ดพันธุ์ ไปยังประเทศญี่ปุ่น สิงค์โปร์ ไต้หวัน มาเลเซีย ฯลฯ การส่งออกในระหว่างปี พ.ศ. 2535-2538 มีปริมาณ 152,503 ตันต่อปี มีมูลค่าการส่งออกเฉลี่ยปีละ 593.8 ล้านบาท ต่อมานายปี พ.ศ. 2538, 2544 และ 2546 มีการส่งออกเพิ่มมากขึ้น คือ 3.95, 4.56 และ 2.24 ล้านตัน มีมูลค่า 1830.62, 2216.58 และ 1240.47 ล้านบาท ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการส่งออกในระยะหลังนี้มีปริมาณลดลง เนื่องจาก มีการใช้ในประเทศไทยสูงขึ้น (กองมาตรฐานสินค้านำเข้าส่งออก, 2547) ด้วยเหตุที่มีความต้องการ ข้าวโพด มีปริมาณสูงและราคาดี ดังนั้นเกษตรกรจึงนิยมปลูกข้าวโพดกันอย่างแพร่หลาย กระจาย ทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะในเขตภาคเหนือนับว่าเป็นเขตที่มีการผลิตมากที่สุด รองลงมาคือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ตามลำดับ ข้าวโพดมีประโยชน์ในด้าน อุดหนุนภาระการผลิตอาหารต่าง ๆ เช่น ครีมข้าวโพด ข้าวโพดบรรจุกระป๋อง ผลิตอาหารสัตว์ เช่น ใช้เมล็ดข้าวโพดเป็นอาหารสัตว์ ใช้สกัดน้ำมัน ทำกระดาษ สา苦 สี เชือเพลิง ฯลฯ ด้านอุปโภค และบริโภค เช่น บริโภค ผักสด ทำน้ำหมอม เครื่องสำอาง ยาทาเต็บ และใช้เป็นส่วนประกอบของ ยาภัณฑ์ 医药 (สุมิตรราและคณะ, 2535; โอวาท, 2519)

#### โรคสำคัญที่เกิดกับข้าวโพด

โรคที่เกิดกับข้าวโพดมีมากมายหลายชนิดด้วยกัน จากการสำรวจและวิจัยของภาควิชา กีฏวิทยาและโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ปี พ.ศ.2529

พบว่าโรคที่สำคัญของข้าวโพดตามแหล่งปลูกต่าง ๆ มีดังนี้ โรคที่เกิดจากเชื้อรา ได้แก่ โรคใบไหม้แพลใหญ่ (northern corn leaf blight) เกิดจากเชื้อรา *Exserohilum turcicum*, โรคใบไหม้แพลเล็ก (southern corn leaf blight) เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris maydis*, โรครา่น้ำค้าง (downy mildew) เกิดจากเชื้อรา *Sclerospora sorghi* โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ โรคเหี่ยวแบคทีเรีย (bacterial wilt) เกิดจาก *Erwinia stewartii*, โรคต้น嫩่าแบคทีเรีย (bacterial stalk rot) เกิดจาก *Erwinia chrysanthemi* pv. *zeae* และโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส Maize Dwarf Mosaic Virus (MDMV) และ Maize Ring Mottle Virus (MRMV) นอกจากนี้ยังมีโรคที่เกิดจากการขาดธาตุอาหารอิกด้วย เช่น การขาดธาตุใน ไตรเจน(N) และการขาดธาตุฟอสฟอรัส(P) (ทรงเจ้าว, 2531)

โรคต่างๆเหล่านี้สร้างความเสียหายให้กับข้าวโพด โดยพบว่าโรคที่สร้างความเสียหายมากที่สุด คือโรคใบไหม้แพลใหญ่ (northern corn leaf blight) (ชาตรี, 2539)

### โรคใบไหม้แพลใหญ่ข้าวโพด (northern corn leaf blight)

โรคใบไหม้แพลใหญ่ข้าวโพดเกิดจากเชื้อรา *Exserohilum turcicum* Leonard & Suggs (syn. *Helminthosporium turcicum* Pass) มีรายงานการพบครั้งแรกในประเทศอิตาลีเมื่อปี ก.ศ. 1876 และพบในสหรัฐอเมริกา เมื่อปี ก.ศ. 1878 เนื่องจากโรคนี้ระบาดสร้างความเสียหายแก่ข้าวโพด ในมลรัฐทางเหนือของสหรัฐอเมริกา จึงได้ชื่อว่า northern corn leaf blight (สกุลศักดิ์, 2540) ซึ่งจะพบโรคนี้ทั่วไปตามท้องถิ่นที่มีการปลูกข้าวโพด สำหรับประเทศไทยเป็นผู้สำรวจพบ และรายงานว่าพบการระบาดรุนแรงของโรคนี้ ในเขตอาเภอสีคิว เมื่อปี พ.ศ. 2517 (ทรงเจ้าว, 2531) โดยอาการเริ่มแรกจะปรากฏเป็นจุดแพลงล่อน้ำเล็ก ๆ สีเขียวปนเทา ต่อมาแพลงจะลุกลามขยายใหญ่ขึ้นแพลงเป็นรูปปีาวรี หรือรูปกระ繇 (elliptical-shaped) ตามความยาวของใบ แพลงมีสีน้ำตาลเกิดบริเวณใบล่าง ๆ ก่อน (ภาคร, 2531) ขนาดแพลงกว้าง 2 เซนติเมตร ยาว 10-15 เซนติเมตร และหากมีความชื้นพอเพียง เชื้อราจะสร้างสปอร์ (conidia) บนกลางแพลงเห็นเป็นสีดำ ถ้าแพลงเกิดรวมกันจำนวนมากจะทำให้ใบ เกิดอาการแห้งหักใน (นิพนธ์, 2523) หากเชื้อราเข้าทำลายลำต้นในพันธุ์ที่อ่อนแอดต้นจะเน่าตายได้ (ชาตรี, 2539) เชื้อราสามารถเจริญเข้าทำลายใบข้าวโพด และแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วสู่ส่วนอื่น ๆ ได้ ไม่ว่าจะเป็นลำต้น ก้านใบ และฝัก เชื้อราชนิดนี้สามารถอยู่ข้ามฤดูได้โดยอาศัยเศษชากของข้าวโพด ที่ทิ้งกองในไร่ และยังสามารถอาศัยอยู่ในเมล็ดได้อีกด้วย (ทรงเจ้าว, 2531)

## ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Exserohilum turcicum* Pass. (CABI Bioscience., 2004)

### Classification

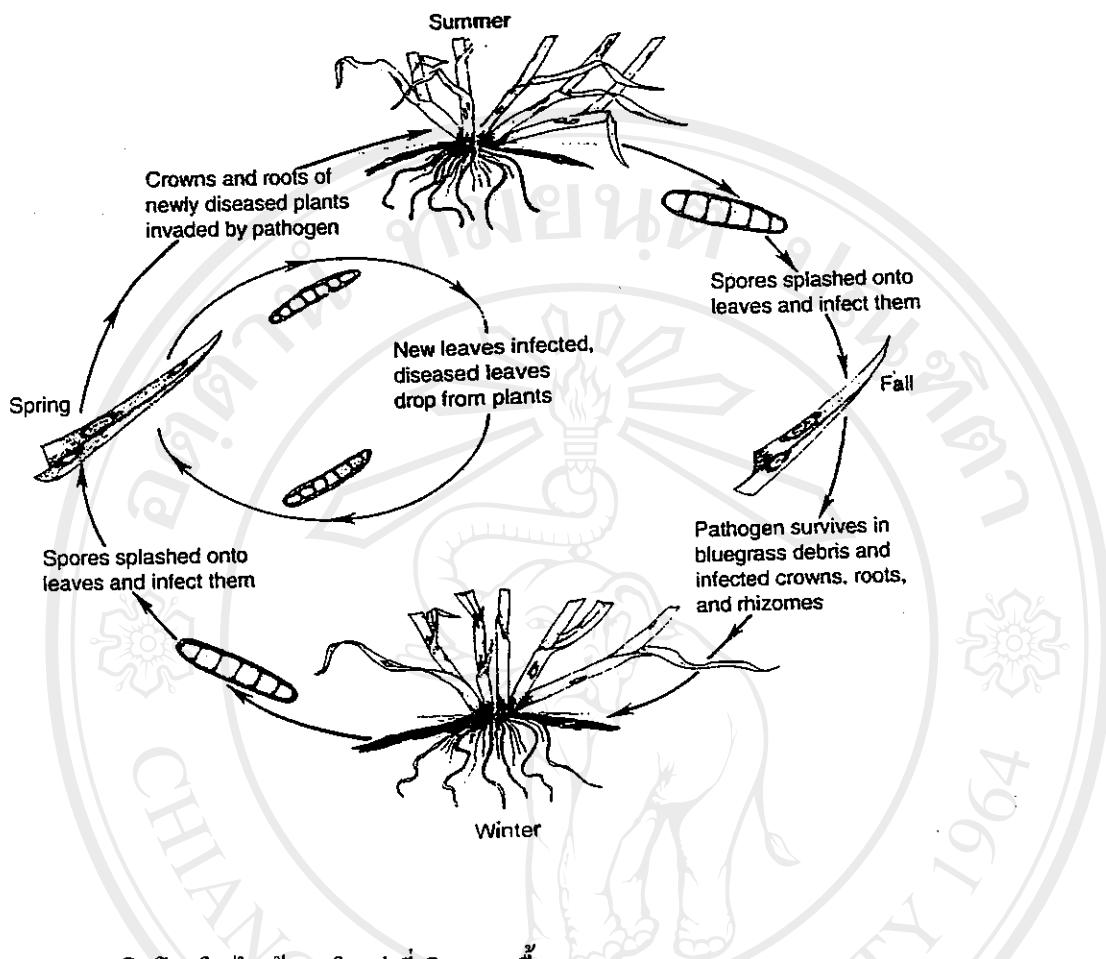
Sub-division	Pezizomycotina
Class	Dothideomycetes
Order	Pleosporales
Family	Pleosporaceae, Setosphaeridae

เชื้อรา *Helminthosporium turcicum* Pass. หรือ *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs เมื่อมีการขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual stage) จะอยู่ใน Sub-division Ascomycotina มีชื่อว่า *Setosphaeria turcica* (syn. *Trichometasphaeria turcica*) สปอร์ (conidia) มีสีเทาปนเขียว (olive gray) รูปกระสวยหัวท้ายเรียกวัล (spindle-shaped) โถ้งงอเล็กน้อย มีผนังก้น (septa) 3-8 อัน ขนาด 20x105 ไมครอน สปอร์เกิดเดี่ยว ๆ ที่ปลายก้านชูสปอร์ (conidiophore) มี hilum โผล่ออกมานอกหัวสปอร์ ให้เห็นอย่างชัดเจน ก้านชูสปอร์มีผนังก้น 3-4 อัน มีสีเขียวมะกอก (olivaceous) มีขนาด 7-9x 150-250 ไมครอน (ชาตรี, 2539) sexual stage สร้าง perithecia รูปร่างกลมสีดำ สร้าง ascus รูปร่างยาว มีก้านสั้น ๆ ภายในบรรจุ ascospore 2-4 สปอร์ ใส่ไม่มีสีรูปร่างตรงหรือโถ้งงอเล็กน้อย มีผนังก้น 3 อัน ขนาด 13-17x42-78 ไมครอน (นิพนธ์, 2533; ศักดิ์สกัด, 2540)

### วงจรของโรค (นิพนธ์, 2533)

เชื้อรา *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs ทำให้เกิดโรคกับพืชหลายชนิด เมื่อพืชตายเชื้อราถล่มสามารถที่จะอยู่ในเศษซากพืชที่เป็นโรคนั้นได้ นอกจากนี้ยังอาจอยู่ในเมล็ดข้าวโพดหรือพืชอื่นได้มากกว่า 22 ชนิด เมื่อถึงฤดูปลูกต่อไปก็จะเข้าทำลายพืชนั้นได้อีก โดยสปอร์จะออก germ tube ที่เซลล์หัวท้าย และเข้าทำลายข้าวโพดทางปากใบและเซลล์พิวของพืชโดยตรง (direct penetration) เชื้อราสามารถเข้าทำลายได้ภายใน 5 ชั่วโมง และจะแสดงอาการให้เห็นภายใน 3 วัน หลังระยะฟักตัว ถ้าอาการของโรคระบาดรุนแรงมากในข้าวโพดจะแห้งตาย เมื่อมีความชื้นสูงพอ ก็จะสร้างสปอร์สำหรับแพร่กระจายต่อไป โดยสปอร์จะน้ำดีโดยอาศัยลมพัดพาไป และติดไปกับเมล็ดข้าวโพด สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรานี้อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 24-30 องศาเซลเซียส อาการของโรคจะทวีความรุนแรงมากขึ้น ถ้ามีอากาศร้อนและชื้นชื้น และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 90-100 เปอร์เซ็นต์ จะเกิดโรคจำนวนมาก

การอยู่ข้ามฤดูกาลของเชื้อราสามารถอยู่ในรูปของเส้นใย (mycelium) และคลามิโดสปอร์ (chlamydospore) ในเศษซากพืชที่เป็นโรค และติดอยู่บนเมล็ดข้าวโพด (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1: วงจรการเกิดโรคใบใหม่แพดใหญ่ ที่เกิดจากเชื้อราก *Helminthosporium* spp. Pass.

(Otis et al., 2001)

#### การป้องกันกำจัด (ถาวร, 2531; นิพนธ์, 2533)

1. การใช้พันธุ์ต้านทาน
2. ทำลายเศษหากพืชที่เป็นโรค พืชอาศัยชนิดอื่นๆ จากการศึกษาพบเชื้อรากนี้อยู่ในเศษหากพืช ได้นานถึง 5 เดือน
3. ปลูกพืชหมุนเวียน 2-3 ปีต่อครั้ง เพื่อลดปริมาณและความรุนแรงของโรค
4. ไม่นำแมล็ดพันธุ์จากแหล่งที่เป็นโรคมาปลูก
5. ใช้สารเคมีกำจัดเชื้อโรคที่มากับแมล็ดพันธุ์ โดยใช้สารกำจัดเชื้อรากลูกแมล็ดเพื่อป้องกัน เช่น Dithane M-45, SDP หรือฉีดพ่นด้วย zineb, maneb และ nabam ผสมกับ zinc sulphate อัตรา 2-3 ช้อนแกงต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อเริ่มเป็นโรคทุก 7-10 วัน

แต่การป้องกันกำจัดแต่ละวิธีมีขิดจำกัด เช่น การใช้พันธุ์ต้านทานมีขิดจำกัด เนื่องจากข้าวโพดเป็นพืชที่ผสมข้ามได้จึงเกิดการกลายพันธุ์ทำให้ไม่มีพันธุ์ต้านทานถาวร ส่วนวิธีการอื่น ๆ ก็ทำให้สิ่นเปลืองทุนทรัพย์ และแรงงานในการป้องกันกำจัด การควบคุมโรคโดยใช้สารเคมีถึงแม้จะได้ผลดี แต่อาจมีพิษต่อก้างต่อระบบภูมิเวคัน และทำลายจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (Cook and Baker, 1983) ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมทั้งทางอากาศ และทางน้ำ เนื่องจากทางภาคเหนือเป็นแหล่งต้นน้ำลำธาร จึงอาจมีการแพร่กระจายของสารเคมีลงสู่แม่น้ำลำคลองได้ นอกจากนี้การใช้สารเคมียังทำให้ดินทุน การผลิตสูงตามไปด้วย และข้อจำกัดในเรื่องของประสิทธิภาพสารเคมีอีกข้อหนึ่งคือ ช่วงอุณหภูมิที่สูงหรือต่ำเกินไป (ทัศนีย์, 2540) นอกจากนี้การใช้สารเคมีบางชนิดทำให้เชื้อโรคพืชสามารถพัฒนาตนเองจนดื้อหรือทนทานต่อสารเคมีได้ (Suslow, 1982)

สำหรับการป้องกันกำจัดโรคพืชยังมีวิธีการอื่น ๆ ที่น่าจะได้ผลดีขึ้น ทั้งด้านประสิทธิภาพ การป้องกันกำจัดโรคพืช และการประหยัดดินทุน รวมไปถึงการลดความกว้างได้ ซึ่งในปัจจุบัน มี การป้องกันกำจัดโรคพืชที่นักวิชาการให้ความสนใจเป็นอย่างมากคือ การป้องกันกำจัดโดยชีววิธี (biological control) ซึ่งเป็นผลมาจากการพบรากภูมิการณ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ที่มีความสมดุลของสิ่งมีชีวิต ต่าง ๆ ที่มีการควบคุมกันเองอยู่แล้ว กลุ่มของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในดิน (soil-borne fungi) และกลุ่มแบคทีเรียฟิทฟาร์มอย่างเช่น เชื้อราสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้โดยอาศัยเศษชากสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้วเป็นอาหาร (ศิริพงษ์และรัศมี, 2539)

### **การควบคุมโรคโดยชีววิธี หรือชีวภาพ (biological control)**

การควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี หมายถึง การลดปริมาณประชากรของเชื้อโรคพืชหรือลดกิจกรรมของเชื้อโรค อันก่อให้เกิดโรคจนอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ โดยอาศัยสิ่งมีชีวิต (organism) ซึ่งรวมถึงพืชชั้นสูง และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) พันธุกรรมหรือผลผลิตจากพันธุกรรม (genes or genes products) ยกเว้นผลจากการกระทำต่อเชื้อโรคโดยตรงจากมนุษย์ (จยะเดช, 2531) ปัจจุบันมีจุลินทรีย์หลายชนิดทั้งเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และจุลินทรีย์อื่น ๆ สำหรับราต่าง ๆ ได้แก่ *Trichoderma*, *Penicillium* และ *Chaetomium* และแบคทีเรีย เช่น *Bacillus* ฯลฯ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ และบางชนิดได้ถูกนำมาใช้และผลิตออกจำหน่ายเป็นสารชีวภัณฑ์แล้ว จึงควรนำมาใช้ในการควบคุมศัตรูพืชโดยจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เหล่านี้ ไม่เป็นอันตรายต่อพืช สัตว์ และผู้บริโภค

## กลไกการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช โดยจุลินทรีย์ปฎิปักษ์ทั่วไปมี 3 ประการคือ

1. การสร้างสารปฎิชีวนะ (antibiotic) สารปฎิชีวนะเป็นสารอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่สร้างขึ้นโดยเชื้อจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรียปฎิปักษ์ชื่อ *Agrobacterium radiobacter K48* สร้างสาร Agrocin 84 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A.tumefaciens* ที่เป็นสาเหตุโรคของมันฝรั่ง (Cooksey and Moore, 1982) และ *Pseudomonas fluorescens* รหัส 2-79 สามารถผลิตสารปฎิชีวนะชื่อ phenazine-1-carboxylate สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* เชื้อสาเหตุโรคแวงน้ำของข้าวสาลี (Brisbane and Rovira, 1988) ส่วน *P. fluorescens* สร้าง siderophore ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* เชื้อสาเหตุโรคเพียวยองป่าน (Scher and Baker, 1982)

2. การแก่งแย่งอาหารและพื้นที่อาศัย (competition) จุลินทรีย์ปฎิปักษ์ที่มีความสามารถในการแก่งแย่งอาหาร หรือพื้นที่อาศัยได้ดีกว่าเชื้อสาเหตุของโรค ซึ่งจุลินทรีย์ปฎิปักษ์จะมีความสามารถในการใช้สารอาหารได้มากชนิด และใช้ได้อย่างรวดเร็ว เช่น แบคทีเรียในกลุ่ม fluorescent pseudomonads มีความสามารถในการใช้สารอาหารได้หลากหลายชนิดและเจริญอย่างรวดเร็วเช่น ครอบครองพื้นที่บริเวณรากพืชได้ทั้งหมด ซึ่งเป็นการแก่งแย่งที่อยู่อาศัยบริเวณรากพืชทำให้เชื้อโรคไม่มีโอกาสเข้าทำลายรากได้ (อนุภาพ, 2536)

3. การเป็นปรสิต และตัวทำลาย (parasitism and predation) จุลินทรีย์ปฎิปักษ์สามารถสร้างเอนไซม์ป่าย่อยผนังเซลล์ของเชื้อโรคพืชได้และใช้ส่วนประกอบภายในเซลล์มาเป็นอาหาร โดยตรงบางกรณีอาจมีกลไก antibiosis ร่วมด้วย เช่น *Talaromyces flavus* TF1 (anamorph คือ *Penicillium dangeardii*) สามารถควบคุมโรค Verticillium wilt ของมะเขือยาว และมันฝรั่งได้ โดยการสร้าง glucose oxidase ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อย glucose ได้ดี และจะได้ไอโอดีเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) ออกมาน้ำด้วย ซึ่งสามารถทำลาย microsclerotia ของ *V.dahliae* ได้ดี (Fravel, 1988)

มีรายงานการใช้เชื้อราปฎิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชเป็นจำนวนมากดังนี้

Dennis and Webster (1971) ได้รายงานว่าสารปฎิชีวนะที่ผลิตโดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. บางสายพันธุ์มีผลต่อเชื้อราอื่น ๆ ในลักษณะยับยั้ง หรือทั้ง 2 ลักษณะ ซึ่งบางสายพันธุ์สามารถผลิตสารปฎิชีวนะที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อราชนิดหนึ่ง แต่จะมีผลต่อเชื้อราชนิดอื่น ๆ ในลักษณะยับยั้งเท่านั้น สาร trichodermin และ dermadine มีคุณสมบัติละลายได้ใน chloroform ผลิตโดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. หลายสายพันธุ์ บางสายพันธุ์สามารถผลิตสารประกอบประเภทราชเทยได้ และมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดอื่น ตัวอย่างเช่น acetaldehyde ซึ่งผลิตโดย *T.viride* และสาร volatile metabolite ผลิตโดย *Trichoderma* spp. ซึ่งมีผลในการลดการ

เจริญของ *Phytophthora* spp. ตามด้วยการเกิด vacuolation ของสารประกอบภายในเซลล์ ท้ายที่สุด จะเกิดการย่อยสถาปาย (lysis) ที่ปลายเส้นใยได้ (Erwin *et al.*, 1996)

Chung and Hong (1993) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. isolates St-11 และ St-20 ซึ่งแยกได้จากดินปลูกพักหวาน และงา ในเมือง Chungbuk ประเทศเกาหลี สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย และการออกสปอร์ (conidia) ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* var. *vasinfectum* และเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ได้ พบร่วมกันที่ใส่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. isolate St-11 สามารถควบคุมเชื้อโรคทั้ง 2 ชนิดได้ 40-70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

Berger *et al.* (1996) รายงานว่า *Bacillus subtilis* Cot1 สามารถป้องกันโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ให้กับพืชในสกุลต่าง ๆ ได้แก่ Astibe, Hemerocalis และ Photinia ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและต้นกล้าของพืชในสกุล Brassica โดยทำการทดลองภายใต้สภาพความชื้นสูงในโรงเรือนที่มีระบบพ่นหมอก (foggy glasshouse) ในการควบคุมโรคเน่าคอดินให้กับพืช Photinia พบร่วมมีประสิทธิภาพเท่าเทียมกับการใช้สารเคมีแลคซิล ถ้าใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เข้มข้นไม่ต่ำกว่า  $3 \times 10^5$  cfu/g ของน้ำหนักกรากสด (Root Fresh Weight: RFW) และเชื้อราสาเหตุโรคไม่เกิน  $10^2$  oospore ต่อกรัมของ peat หลังจากนั้นทำการทดลอง 28 วัน เมื่อใส่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เข้มข้น  $4 \times 10^6$  และ  $3 \times 10^5$  cfu/g RFW พบร่วมกับมีปริมาณเชื้ออุ่رระหว่าง  $10^5$ - $10^6$  cfu/g RFW ที่ส่วนของราคแก่ และที่ปลายรามี  $10^4$ - $10^5$  cfu/g นอกจากนี้พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* Cot1 สามารถลดอาการโรคเน่าคอดินให้กับพืช daphne ได้เพียงเล็กน้อย เนื่องจากไม่สามารถที่จะเจริญอยู่ที่รากของพืชได้نان เพราะหากสามารถปลดปล่อยสารยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* Cot 1 ออกมานะเช่นกัน

Hebber and Lumsden (1999) รายงานว่าเชื้อรา *Penicillium funiculosum* (PF) สามารถยับยั้งการเกิดโรคราคเน่าของไม้ดอก azalea และส้มที่เกิดจากเชื้อรา *P. cinnanomi*, *P. citrophthora* และ/หรือ *P. parasitica* โดยทำการเลี้ยง PF ในรำข้าวผสมพืท (bran/peat) และวัสดุกับวัสดุปลูกพืท ผสมเพอไรท์ (peat/perite) ในสัดส่วน 3:1 บรรจุในกระถางปลูก โดยปฏิกรณีการยับยั้งเป็นแบบ mycoparasitism, lysis และ antibiosis PF สามารถใช้ร่วมกับสารป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl ได้โดยที่ PF ไม่ได้รับผลกระทบ ซึ่งวิธีการนี้จะเป็นวิธีการที่ใช้ในการควบคุมโรคราคเน่าโคน嫩 ในเรือนเพาะชำ นอกจากนี้ Arnold *et al.* (2000) มีรายงานเพิ่มเติมถึงการใช้ PF ในรูปของส่วนผสม bran/peat กับวัสดุปลูกให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคราคเน่าของส้มและ azalea ได้ดีกว่า การใช้รากพืชจุ่มลงใน สปอร์ เช่นเดียวกับของ PF และมีผลทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี เมื่อใช้ในส่วนผสมของ bran/peat ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 0.7 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าการใช้ PF ในส่วนผสม

ของ bran/peat ที่ความเข้มข้น 0.35 เบอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค ได้ดีกว่าใช้ครั้งเดียว

Coosemans (2002) รายงานว่า *Pseudomonas fluorescens* 12 strains สามารถยับยั่งเชื้อราที่ทำให้เกิดอาการรากเน่าของมะเขือเทศ ซึ่งได้แก่ *Didymella lycopersicii*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* และ *Phytophthora nicotinae* var. *parasitica* โดยเฉพาะ *P.nicotianae* var. *parasitica* ถูกยับยั่งอย่างเห็นได้ชัด โดย *P.fluorescens* ทั้ง 12 strains ซึ่งมีหลายปฏิกิริยารวมกันได้แก่ การเกิด siderophore, antibiotics หรือ cyanide โดยสภาพแวดล้อมจะมีอิทธิพลอย่างมากต่อการเกิดปฏิกิริยาการยับยั่ง

### เอนโดไฟฟ์ (Endophytes)

เอนโดไฟฟ์ หมายถึง จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในพืชโดยไม่ทำให้พืชเกิดอาการผิดปกติ และมีความสัมพันธ์กันแบบพึ่งพา (mutualistic symbiosis) โดยเอนโดไฟฟ์จะได้รับสารอาหารต่าง ๆ จากพืชการคำรงชีวิตในต้นพืช และยังมีบทบาทในวงจรอาหารอีกด้วย แต่บทบาทไม่แสดงให้เห็นชัดเจน ในทางกลับกันเชื้อเอนโดไฟฟ์ก็ช่วยให้เนื้อเยื่อพืชลดความดึงดูดต่อศัตรูพืชพวกกินพืช (herbivores) และบางสายพันธุ์กระตุ้นให้เกิดความด้านทาน ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และสามารถใช้เป็นการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืช (biological control agent) โดยเป็นปฏิกิริยาต่อเชื้อโรคพืช (microbial pathogen) โดยเอนโดไฟฟ์จะสร้างสารประกอบเคมี และเอนไซม์จากส่วนประกอบของเซลล์พืช ซึ่งมีปฏิกิริยาเคมีต่อกันดังกล่าว (Carroll, 1990; Chanway, 1998; Bacon, 1999)

เอนโดไฟฟ์ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในพืชโดยไม่แสดงอาการอุบัติให้เห็น มีจำนวนมากที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงของพืช โดยสามารถตรวจพบได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีเชื้อที่ผิวแล้ว ในพืชตระกูลหญ้าและพืชอาศัยอื่น ๆ บางชนิดสามารถนำเชื้อพืชมาขึ้นเพื่อตรวจสอบโดยกล้องจุลทรรศน์ได้ (Carroll, 1990; Chanway, 1998; Bacon, 1999) นอกจากนี้ยังเพิ่มความแข็งแรงให้กับต้นพืช และสร้างความด้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลงศัตรูพืชได้อย่างดี (Belanger, 1996) และเปลี่ยนจากการควบคุมและรักษาสภาพตัวนันให้เป็นการป้องกันทางเคมี ซึ่งมีผลต่อสัตว์และศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายกับพืช นอกจากนี้เชื้อราเอนโดไฟฟ์ยังอาจนำมาใช้ในการควบคุมโรค และศัตรูพืชทางชีววิทยา หรือเป็นแหล่งของสารพิษ ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อสัตว์และศัตรูพืชหรือเชื้อโรคได้ (Carroll, 1990)

ปกติเอนโดไฟฟ์ที่พบในหญ้าอาหารสัตว์ เช่น tall fescue และ fine fescue บางชนิดจะมีชีพมากกว่า 2 ปี แต่ไม่พบในหญ้า Kentucky bluegrass เอนโดไฟฟ์ส่วนใหญ่มักจะพบอยู่ใน

เนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของพืช ได้แก่ ใบ ก้านใบ ลำต้น กิ่งก้าน รวมทั้ง ใบเมล็ดด้วย แต่ไม่ค่อยพบ ในส่วนของหัวสถานะ ดังนั้นเอนโดไฟฟ์จะไม่สามารถป้องกันแมลงพักที่หากินได้ดี เช่น Japanese beetle grub นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนของเอนโดไฟฟ์ยังแปรผันตามฤดูกาลอีกด้วย เช่น ในเมืองเยื่อส่วนใบ มักจะพบเอนโดไฟฟ์จำนวนมากในฤดูร้อน และฤดูใบไม้ร่วง

พืชเศรษฐกิจจำพวกตระกูลหัวสถานะมีการใช้เอนโดไฟฟ์เพื่อทำหน้าที่เป็น natural insecticide ซึ่งมีผลต่อแมลงที่หากินเห็นอีกвидิน ช่วยลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรุพืชได้เป็นอย่างดี ถือได้ว่าเป็นแบบวิธีการปลดปล่อยแมลงและยังก่อให้เกิดผลประโยชน์ในระยะยาว คือทำให้หัวสถานะสามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่บีบคั้น (abiotic stress) ทนทานต่อความแห้งแล้ง ทนต่อการรุกรานของวัชพืช ที่มักเกิดการแพร่หลายในฤดูร้อน อันเป็นสิ่งที่ทำให้พืชที่มีเอนโดไฟฟ์ อาศัยอยู่มีความต้านทานโรคสูง (Anonymous, 1999)

### เทคนิคการแยกเชื้อรากเอนโดไฟฟ์

Spurr and Welty (1975) พบว่าการเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์เข้าไปในขั้นตอนการฆ่าเชื้อที่ผิวจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของโซเดียมไซโปคลอโรต์ที่ใช้ฆ่าเชื้อที่ผิวพืช และช่วยให้เชื้อพืชเปียกชื้นอย่างทั่วถึง ทั้งยังช่วยทำให้การฆ่าเชื้อที่ผิวในเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ต่อมา Petrini *et al.* (1984) รายงานว่าการฆ่าเชื้อที่ผิวต้องปรับให้เหมาะสมกับเนื้อเยื่อของพืช และระยะเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อที่ผิวจะชี้นอยู่กับความหนาของชั้นพืชด้วย Fisher *et al.* (1996) กล่าวว่า การเก็บตัวอย่างชั้นส่วนของพืชทั้งหมดที่นำมาทดลองในห้องปฏิบัติการ ต้องเก็บไว้ภายในถุงพลาสติก และทำการแยกเชื้อรากภายใน 24 ชั่วโมง Petrini (1996) ยังถึงผลงานที่ทำไว้ในปี 1994 เกี่ยวกับการแยกเชื้อรากเอนโดไฟฟ์ว่า จะต้องกำจัดเส้นใย หรือสปอร์ของเชื้อรากที่ผิวของชั้นพืช ออกให้หมด โดยวิธีการฆ่าเชื้อที่ผิวได้พัฒนาขึ้น เนื่องจากปรากฏว่าสปอร์และเส้นใยของเชื้อราก เปียงส่วนน้อยที่อยู่ที่ผิวของพืชสามารถครอบพื้นจากการฆ่าเชื้อที่ผิวได้ นอกจากนี้ Anonymous (1999) พบว่าในการแยกเชื้อรากเอนโดไฟฟ์ (endophytic fungi) ต้องอาศัยความรู้ทางชีวเคมี เพื่อทราบถึงลักษณะและคุณสมบัติทางกายภาพของพืช ประกอบกับจะต้องรู้เทคนิคและการ สุ่มตัวอย่างที่ดี จึงจะทำให้แยกได้ชนิดและจำนวนตามความต้องการ ดังเช่นตัวอย่างในการแยก เอนโดไฟฟ์ในพืชตระกูลหัวสถานะท่องบ่มเชื้อนานถึง 2 เดือน เชื้อจึงเจริญขึ้นมาได้

ปี ก.ศ.1979 Rogers (อ้างโดย Petrini *et al.*, 1995) ได้กล่าวว่าพืชที่นำมาศึกษาวิธีการแยก เชื้อรากเอนโดไฟฟ์ให้สามารถแยกเอนโดไฟฟ์ได้เป็นจำนวนมาก พบว่าได้เชื้อรากในกลุ่มของ Xylariaceous เสมอ ถึงแม้ว่าบางครั้งจะพบในปริมาณน้อยก็ตาม สำหรับเชื้อราก Xylariaceous ได้พนในลักษณะที่เป็น endophytic fungi ทำให้นักวิทยาศาสตร์ว่าเชื้อรากจำพวกนี้เป็นพวง

saprophytes แต่เมื่อจะพนเขื้อร้าจำพวกนี้แส漫อยู่ในพืชอาศัย จึงเป็นที่ น่าสงสัยว่าอาจมีความสัมพันธ์ กันกับพืชอาศัยและมีผลต่อทางสรีรวิทยาของพืชด้วย อ่าย่างไรก็ได้ยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับ Xylariaceous ว่ามีบทบาทอย่างไรต่อพืชอาศัยที่มีชีวิต และมีความเกี่ยวข้องกับพืชอาศัยอย่างไร ระหว่างการเข้าไปอยู่ในพืชของเชื้อรากลุ่มนี้ และความเฉพาะเจาะจงต่อพืชของ Xylariaceous จากการสังเกต โครงสร้างพิเศษของเชื้อรากที่เก็บในสภาพธรรมชาติ จึงทำให้สามารถสรุปได้ว่าเชื้อรากกลุ่ม Xylariaceous เป็นพากที่ย่อยสลายเนื้อไม้ได้

Fisher and Petrini (1992) ทำการแยกเชื้อร้าเอนโดไฟฟ์จากใบ ลำต้นและรากข้าวสามารถแยกเชื้อรากได้ 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่เป็น saprobe ได้แก่ *Alternaria alternata*, *Epicoccum purpurascens* และ อีกกลุ่มเป็น pathogen ได้แก่ *Cladosporium tenuissimum*, *Fusarium equiseti*, *F. oxysporum*, *Phoma sorghina* และ *Nigrospora oryzae* และยังพบอีกว่าการแยกเชื้อร้าเอนโดไฟฟ์จากลำต้น หรือจากใบ ที่แห้งจะพบความหลากหลายของเชื้อมากกว่าชนิดพืชที่ยังสดอยู่

Toni 1993 (อ้างโดย Petrini, 1995) รายงานว่านักโรคพีชวิทยาและนักราivicithy มีความเชื่อว่า เชื้อร้าเอนโดไฟฟ์ของพืชตระกูลหญ้ามีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ไม่ได้มีเพียงในกลุ่มของ Clavicipitaceous เท่านั้นที่อาศัยอยู่ในพืชตระกูลหญ้า แต่จะมีราเอนโดไฟฟ์ที่อยู่ในกลุ่มของ ascomycetous และ deuteromycetous ด้วย แต่การเข้าไปอยู่ในพืชจะอยู่ในพื้นที่จำกัด ไม่เคลื่อนย้ายไปในท่อลำเลียง (non-systemic) และสปอร์ทำหน้าที่ถ่ายทอดไปยังพืชอาศัยใหม่

Lumyong *et al.* (1996) ทำการแยกและศึกษาเชื้อร้าเอนโดไฟฟ์จากชิ้นส่วนของลำต้นและใบของต้นกล้าพืชที่พ่นในห้องคลินซึ่งมีอายุประมาณ 6–8 เดือน โดยเพาะจากเมล็ดที่เก็บจากบริเวณอุทกานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ ทำการแยกเชื้อบนอาหาร MA 2% ที่ผสม streptomycin และอาหาร Rose Bengal Agar ชิ้นส่วนที่นำมาแยกผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธี Triple Surface Sterilization พบร่องรอยเชื้อรากแล้วนี้สามารถสร้างกรดอินทรีย์ (organic acid) ซึ่งสามารถตรวจพบได้โดยวิธี Paper Chromatography และ Thin Layer Chromatography (TLC) จากนั้นทำการเดี่ยงเชื้อใน substrate ต่างๆ เช่น inulin, xylan, mannan, starch, fructose และ glucose บางไอโซเลทสามารถสร้างกรดอินทรีย์ได้ สำหรับชนิดและปริมาณที่พบแตกต่างกัน ไปขึ้นกับ substrate ที่ใช้

Naffa *et al.* (1998) ทำการแยกเชื้อร้าเอนโดไฟฟ์จากพืชตระกูลหญ้า 12 ชนิด พบร่องรอยเชื้อร้าเอนโดไฟฟ์ 3 genera คือ *Epichloe*, *Neotyphodium* และ *Acremonium* ในปีต่อมา Bacon *et al.* (1999) ได้แยกเชื้อร้าเอนโดไฟฟ์จากใบและลำต้นของหญ้า tall fescue และ ryegrass โดยเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose agar (PDA) และ Corn Meal Agar (CMA) ที่เติม streptomycin sulfate ปริมาณ 50 mg/ลิตร หรือ chloramphenicol 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เชื้อรากที่พบได้แก่ *Acremonium*, *Atkinsonell Balansia* และ *Epichloe* เป็นต้น และในปีเดียวกัน Lumyong *et al.* (1999) ได้รายงาน

ผลการศึกษาและแยกเชื้อราก่อนโอดไฟที่จากไฝ่ 13 ชนิด จากบริเวณมหาวิทยาลัยเชียงใหม่อุทัยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ และบ้านหาดเพน จังหวัดพะเยา โดยนำมาผ่าเชื้อที่ผิวด้วยวิธี Triple Surface Sterilization ได้เชื้อราก้านวนทั้งสิ้น 636 ไอโซเลต พนว่าเป็น *Mycelia Sterilia* มากที่สุด (97 ไอโซเลต) รองลงมาคือ *Fusarium* spp. เชื้อรากที่พบเป็นอันดับ 3 คือ *Xylaria* spp. และ *Phoma* spp. ส่วนเชื้อรากที่ไม่สามารถระบุชื่อหมายເລີງ 1, หมายເລີງ 2 และ *Colletotrichum* พนมากเป็นอันดับ 4 *Phomopsis* spp., *Cladosporium* sp., *Artrinum* sp. และเชื้อรากที่ไม่สามารถระบุชื่อหมายເລີງ 3 เชื้อรากที่พบเพียงเล็กน้อยคือ *Arthrophic sp.*, *Aspergillus* sp., *Chaetabolisia* sp., *Curvularia* sp., *Cephalosporium* sp., *Drechslera* sp., *Harknessia* sp., *Helicon* sp., *Nigrospora* sp., *Papularia* spp., *Penicillium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Pithomyces* spp., *Syringospora* sp., เชื้อรากในtribe Xylariaceae นอกจากนี้ยังพบเชื้อรากที่ไม่สามารถระบุชื่อได้ใน Class Hyphomycetes และ Coelomycetes จำนวน 27 และ 3 กลุ่มย่อยตามลำดับ

Marshall et al. (1999) ได้ศึกษาและประเมินชนิดของเชื้อราก่อนโอดไฟที่พบในข้าวสาลี *Triticum* spp. ในประเทศไทย พนเชื้อราก่อนโอดไฟ 2 genera คือ *Neotyphodium* spp. สามารถถ่ายทอดสู่รุ่นลูกได้ 100% แต่เชื้อราก *Acremonium* spp. ไม่สามารถถ่ายทอดได้

เลขา และคณะ (2544) ได้ศึกษาเชื้อรากโรคพืชและราชนิดอื่น ๆ บนข้าวโพดและหญ้าหлатยชนิดจากแหล่งต่าง ๆ โดยใช้วิธี tissue transplanting พนเชื้อราก้านวน 19 ชนิด ได้แก่ *Alternaria* sp., *Arthrinum* sp., *Beltrania rhombica*, *Bipolaris maydis*, *Curvularia lunata*, *C.eragrostidis*, *C.akaiensis*, *C.pallescens*, *Curvularia* spp., *Drechslera australiansis*, *D.bicolor*, *D.carbonum*, *D.hawaiiensis*, *D.orzae*, *D.turcica*, *Drechslera* spp., *Magnaporthe grisea*, *Nigrospora* spp. และ *Nodulosporium* sp. และได้ศึกษาเชื้อราก่อนโอดไฟ บนกลวยไม่ดิน 3 ชนิด โดยใช้แอลกอฮอล์ 70% และ Clorox 10% แล้ววางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้อรากที่พบได้แก่ *Colletotrichum*, *Nodulosporium* และ Xylariaceae การศึกษาเชื้อรากในดินบริเวณรอบรากกลวยไม่จำนวน 5 ชนิด โดยวิธี soil plate โดยใช้เมล็ดข้าวเป็นเยื่ออ่อน พนเชื้อราก้านวน 24 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Chaetomium* sp., *Cunninghamella echinulata*, *C.elegans*, *Eupenicillium* sp., *Fusarium* sp., *Gelasinospora* sp., *Gongronella* sp., *Hamigera* sp., *Monodictys* sp., *Mucor* sp., *Myrothecium verrucaria*, *Neurospora* sp., *Paecilomyces lilacinus*, *Papulospora immersa*, *P.irregularis*, *Penicillium rubrum*, *Phomopsis* sp., *Rhizopus stolonifer*, *Syncephalastrum*, *Talaromyces* sp., *Thielaviopsis* sp. และ *Trichoderma polysporum*

## ประโยชน์และความสำคัญของเชื้อรานเอนโดไฟฟ์

เชื้อรานเอนโดไฟฟ์ส่วนใหญ่นอกจากจะไม่เป็นอันตรายต่อพืชแล้วยังสามารถช่วยป้องกันพืชอาศัยจากการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช โดยการสร้างสารพิษหรือผลิตภัณฑ์ที่มีพิษต่อแมลงดังรายงานว่า *Acremonium* ซึ่งเป็นเชื้อรานเอนโดไฟฟ์สามารถป้องกันสนามหญ้าให้พ้นจากการเข้าทำลายของแมลงได้ดี และก่อให้เกิดประโยชน์ระยะยาวคือ ทำให้สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่เครียดและแห้งแล้งเสื่อมอีกทั้งยังทำให้เกิดความทนทานต่อโรคสูง (Carroll, 2000; Perini, 1991)

เชื้อรานเอนโดไฟฟ์ส่วนใหญ่สามารถใช้ส่วนประกอบของเซลล์พืชในการสร้างเอนไซม์ และสร้างองค์ประกอบที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืช และพบอีกว่าสารที่เชื้อรานเอนโดไฟฟ์สร้างขึ้นสามารถใช้เป็นประโยชน์ในทางเกษตรกรรมหรือเกษตรกรรมได้ (Bacon, 1999)

## เชื้อรานเอนโดไฟฟ์ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและเพิ่มผลผลิต

Petrini และ Fisher (1988) ได้รายงานว่าผลของการแยกเชื้อรานเอนโดไฟฟ์ และแบคทีเรียเอนโดไฟฟ์จากข้าวโพด พบนเชื้อรา *Alternaria alternata* จำนวนมากที่ใบ และเชื้อรา *Aureobasidium pullulan* var. *melanigerum* พบมากที่เนื้อเยื่อผิว เมื่อทำการทดลองต่อไปพบว่า ราเอนโดไฟฟ์ *Microdochium bolleyi* และ *Fusarium* spp. บางชนิดอาจเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชได้แต่อาจเป็น avirulent strain หรือ virulent strain ซึ่งไม่ทำให้พืชเกิดโรคเนื่องจากสภาพแวดล้อมหรือการเปลี่ยนแปลงทางนิเวศน์วิทยา

ดังรายงานของ Rice *et al.* (1990) ว่าได้ศึกษาผลของเชื้อรานเอนโดไฟฟ์ต่อการผลิตข้าวพบว่าเมื่อปลูกเชื้อด้วยราเอนโดไฟฟ์ *Acremonium coenophialum* ทำให้ได้ข้าวที่มีคุณภาพและปริมาณของผลผลิตดีกว่าไม่ได้ปลูกด้วยเชื้อรานเอนโดไฟฟ์ นอกจากนี้ Cook *et al.* (1991) ได้ทดลองปลูกเชื้อรานเอนโดไฟฟ์ *A. lolii* ให้กับข้าวพบว่าหากข้าวมีขนาดใหญ่ขึ้น เชื้อรานเอนโดไฟฟ์ทำให้พืชมีชีวิตที่ยาวนานขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบความแข็งแรงของพืชอาศัยและเชื้อรานเอนโดไฟฟ์เมื่ออยู่อย่างเป็นอิสระต่อกันกับเชื้อราที่อาศัยอยู่ในพืชในลักษณะเอนโดไฟฟ์ พบว่าเชื้อรานเอนโดไฟฟ์ช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดีขึ้น

Christiansen (1996) ได้แยกเชื้อรานเอนโดไฟฟ์ *Azorhizobium canlinodans* จากพืช *Sesbania rostrata* และทำการปลูกเชื้อดังกล่าวให้กับรากของต้นข้าว พบว่าเชื้อรานเอนโดไฟฟ์กระตุนให้รากข้าวเกิดการสร้างนูมปมขึ้น ทำให้พืชสามารถดึงไนโตรเจนได้

Bush (1997) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพืชตระกูลหญ้ากับเชื้อรา *Epichloe* (ที่เป็นเชื้อรานเอนโดไฟฟ์) หรือ *Neotyphodium* (ซึ่งที่เรียกในระยะสืบพันธุ์แบบไม่มีอาศัยเพศของ *Epichloe*)

ซึ่งแยกได้จากพืชตระกูลหญ้าเสมอ ๆ ราชนิดนี้สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่พืชอาศัย และสามารถป้องพืชอาศัยจากปัจจัยต่าง ๆ ที่ทำให้สภาพแวดล้อมอยู่ในสภาพเครียดได้ นอกจากนี้ยังทำให้พืชอาศัยด้านทานต่อแมลงที่กินพืชเป็นอาหาร (herbivore) ด้านทานเชื้อสาเหตุ โรคพืชและไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ทำให้เกิดความด้านทานและเพิ่มความสามารถในการแข่งขันในการใช้พื้นที่อาศัยและการใช้อาหารสูงขึ้น แต่กลไกระหว่างพืชอาศัยกับเชื้อรากเอนโคไฟฟ์ ยังไม่ทราบแน่ชัด อย่างไรก็ตามพบว่ามีการสร้างสาร alkaloids 4 กลุ่ม ได้แก่ lolitrem, peramine, ergot alkaloids และ lolines ในพืชที่มีรากเอนโคไฟฟ์อาศัยอยู่

Yanni *et al.* (1997) ทำการแยกเชื้อรากเอนโคไฟฟ์จากรากของข้าว (*Oryza sativa*) พบร่อง *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* และศึกษาพบว่า เชื้อรากนิดนี้สามารถเพิ่มอัตราการเจริญของยอดและรากข้าวและช่วยในการเพิ่มปริมาณผลผลิตข้าวซึ่งเป็นผลจากการช่วยตรึงไนโตรเจน

Clay (2001) พบร่วมกับเชื้อรากเอนโคไฟฟ์ (family: Clavicipitaceae, Ascomycetes) ที่อาศัยในพืชตระกูลหญ้าหลายชนิดมักสร้างสาร alkaloids ซึ่งสามารถพบได้ในเนื้อเยื่อของพืชอาศัย และทำให้พืชอาศัยนี้มีความเป็นพิษต่อแมลงจำพวกกินพืชเป็นอาหาร (herbivore) และจากผลการทดลองพบว่าพืชอาศัยที่ถูกปลูกด้วยเชื้อรากเอนโคไฟฟ์จะมีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น

### การควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีด้วยเชื้อรากเอนโคไฟฟ์

การนำจุลินทรีย์มาใช้ป้องกันการเกิดโรคพืชนั้น มีการศึกษามานานแล้ว โดยเริ่มจากการพบรากภูภารณ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติที่มีความสมดุลของปริมาณสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ที่มีการควบคุมกันเอง ต่อมามีการค้นคว้าวิจัยเพิ่มมากขึ้น จึงพบว่าผลของการใช้สารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดโรคนั้น มีผลตอกด้านในดินและเป็นปัจุหต่อสภาพแวดล้อม ทำให้เชื้อโรคพืชสามารถปรับตัวให้สามารถด้านทานหรือดื้อต่อสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชได้ (ศิริพงษ์และรศมี, 2539) โรคพืชส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรากเป็นสาเหตุ เชื้อรากต่างๆ มักจะมีศัตรูธรรมชาติอยู่แล้ว จึงมีการศึกษาการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อรากเอนโคไฟฟ์ ซึ่งเชื้อราปฏิปักษ์บางชนิด ได้มีการผลิตในรูปการค้าแล้ว และให้ประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรค เช่น *Trichoderma* และ *Gliocladium* เป็นต้น ยังมีเชื้อรากอิกเหลยชนิดที่สามารถพัฒนามาเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ได้ แต่ยังต้องได้รับการพัฒนาและปรับปรุงสายพันธุ์ต่อไป (Hermann *et al.*, 1981)

Clay (1989) พบร่วมกับเชื้อรากเอนโคไฟฟ์อยู่ในส่วนต่าง ๆ ของพืชตระกูลหญ้า ได้แก่ ใบ ต้น และเมล็ด การทดลองในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดลอง พบร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ที่ได้รับการปลูกด้วยเชื้อรากเอนโคไฟฟ์ จะมีความด้านทานต่อโรคและแมลงสูงกว่าพืชที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อราก ต่อมาก็ McGee *et al.* (1991) ได้รายงานผลการแยกเชื้อราก *Acremonium strictum* จากพืชได้แก่ rye grass, kiluyn

และพืชอื่น ๆ ในตระกูล *Pennisetum* พบว่า *A. strictum* 2 ไอโซเลท สามารถยับยั้งอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อร้า 5 ชนิด ที่ทำให้เกิดโรคในพืชตระกูลหญ้าในห้องทดลอง และได้ทดสอบสารสกัดจาก culture ของ *A. strictum* พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อร้าและมีผลต่อการเจริญของเส้นใย (hyphal elongation) ของเชื้อร้าทั้ง 5 ชนิด

Belanger (1996) ได้ศึกษาเชื้อร้าเอนโอดไฟท์ของหญ้า forage grass (*Festuca arundinacea* Schreb.) และหญ้า tall fescue พบเชื้อร้าเอนโอดไฟท์ *Acremonium coenophialum* ซึ่งเชื้อรานี้สามารถเพิ่มความแข็งแรงให้กับต้นหญ้าได้ โดยทำให้ต้นหญ้า tall fescue สามารถทนทานต่อโรคและแมลงได้ดี ต่อนา Berg and Lottmann (1999) รายงานว่าสามารถใช้เชื้อร้า *A. Coenophialum* ในด้าน การควบคุมโรคโดยชีววิธี (biological control) ได้ดี แต่เชื้อร้าสร้างสาร “antimammation ergot alkaloid” ซึ่งมีอันตรายเมื่อนำมาไปใช้เป็นอาหารสัตว์

Denielsen and Jensen (1999) ทำการแยกเชื้อร้าเอนโอดไฟท์จากพืชตระกูลหญ้า ข้าวโพด และข้าว พบเชื้อร้า 32 ไอโซเลท แล้วทำการคัดเลือกเชื้อร้าที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อร้า *Fusarium verticillioides* ซึ่งเป็นเชื้อร้าสาเหตุของโรคลำต้นเน่าของข้าวโพด พบว่าต้นข้าวโพดที่ปลูกด้วยเชื้อร้าเอนโอดไฟท์ 6 ไอโซเลทที่คัดเลือกได้ทำให้ต้นข้าวโพดเกิดอาการ necrosis น้อยกว่า ชุดควบคุมซึ่งปลูกด้วยเชื้อร้าสาเหตุเพียงอย่างเดียว แต่พบว่ามีเพียง 1 ไอโซเลท คือ *Trichoderma koningii* S8 สามารถลดอาการ stalk necrosis ได้ แต่ไม่มีไอโซเลทใดเลยที่สามารถยับยั้งอาการ necrosis ได้ ทั้งนี้เชื้อร้า *F. verticillioides* เป็นเชื้อร้าที่มีความรุนแรงและสามารถปรับตัวให้อุ้ยงกับข้าวโพดได้ เป็นอย่างดี

Narisawa *et al.* (2000) ได้ใช้เชื้อร้าเอนโอดไฟท์ *Heterconium chaetospira* ที่แยกได้จาก rak ต้นกัสต้าของผักกาดขาวปีลี (Chinese cabbage) ลงไว้ในกัสต้าของผักกาดขาวปีลี พบว่าหลังจากที่ข้ายกกล้าไปปลูก 3 เดือน สามารถลดอาการ club root ได้ 59-97% และลดอาการ *Verticillium yellow* ได้ 49-67% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เชื้อร้า *H. chaetospira* นี้ไม่ทำให้พืชเกิดโรคและสามารถเจริญเติบโตในต้นพืชได้ 18 ชนิด ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีเอนโอดไฟท์ในพืชอาศัยหลายชนิดที่สามารถนำไปใช้ในการควบคุมโรคโดยชีววิธีได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น ใช้ในการควบคุมโรค club root และ *Verticillium yellow* ได้