

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ความสำคัญของโรคแอนแทรคโนส (นิพนธ์, 2542)

โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. เป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งของไม้ผลในเขตร้อน สามารถพบการระบาดของโรคได้ทุกระยะการเจริญเติบโต เช่น ระยะแทงช่อดอก ติดผล และระยะเก็บเกี่ยว และสามารถทำลายไม้ผลได้หลายชนิด เมื่อเข้าทำลายระยะกล้าจะทำให้เป็นจุดสีน้ำตาล เกิดการจัดกระจายบนใบอ่อน ทำให้ใบเจริญผิดปกติ ใบบิดเบี้ยว เข้าทำลายช่อดอกอ่อนก็จะทำให้ใบแห้งตาย และบริเวณลำต้นของต้นกล้าที่มีสีเขียวจะเป็นจุดมุมสีดำ ต้นกล้าหักพับและยอดแห้งตาย ในระยะต้น โตจะพบอาการเป็นจุดๆ สีน้ำตาลบนใบ เนื้อเยื่อใบที่เป็นโรคมักแตกกลางจุดมองเห็นเป็นรูๆ และมักมีกลุ่มสปอร์สีชมพูหรือตุ่มสีดำเกิดขึ้นการจัดกระจายบนเนื้อเยื่อที่แห้งตาย เชื้อราที่แพร่ระบาดเข้าช่อดอกทำให้ช่อดอกเน่าดำพบโรคแอนแทรคโนสมากในเขตมรสุมที่อากาศร้อนและชื้น เชื้อโรคทำให้ผลไม้ระยะพัฒนาขนาดต่างๆ ปรากฏจุดดำ หรือน้ำตาลบนผล ทำให้ผลไม้ชะงักการเจริญ ผลอ่อนที่เป็นโรคแอนแทรคโนสจะเน่าดำเสียหายและผลร่วงอย่างรวดเร็ว ในระยะที่ผลมีการพัฒนาขนาดใหญ่จนถึงระยะใกล้เก็บเกี่ยวจะพบโรคแอนแทรคโนสเป็นจุดดำบนผล หากมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคจะปรากฏจุดดำขยายตัวอย่างรวดเร็ว ในผลแก่ที่ไม่ปรากฏอาการเป็นจุดมาก่อน เมื่อนำมาบ่มสุกจะมีโรคแอนแทรคโนสซึ่งสามารถพักตัวอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อได้ผิวของผลมาจากสวนและจะเริ่มทำลายผลเมื่อสุก ยิ่งผลไม้สุกงอมมากจะปรากฏจุดดำจำนวนมากเป็นแอ่งบวมมีขนาดขยายโต เป็นอุปสรรคในการส่งออกผลไม้ไปต่างประเทศ ตัวอย่างโรคแอนแทรคโนสที่สำคัญได้แก่ โรคแอนแทรคโนสในมะม่วง กล้วย สตรอเบอร์รี่ และส้ม

โรคแอนแทรคโนสของมะม่วง

โรคแอนแทรคโนสนับเป็นโรคหนึ่งของมะม่วงที่ทำความเสียหายต่อมะม่วงมากทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพของผลผลิตเป็นอย่างมากสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งสามารถเข้าทำลายได้เกือบทุกส่วนของมะม่วง เช่น ต้นกล้า ยอดอ่อน ใบอ่อน ช่อดอก ดอก ผลอ่อน ผลแก่ รวมทั้งผลหลังการเก็บเกี่ยว และสามารถเกิดขึ้นได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของมะม่วง โรคนี้เกิดขึ้นได้กับมะม่วงเกือบทุกพันธุ์ แต่พบว่าพันธุ์น้ำดอกไม้จะอ่อนแอต่อโรคนี้มาก โรคจะระบาดมากในช่วงฤดูฝน โดยลม และฝนเป็นพาหะ โดยสปอร์ของเชื้อราจะปลิวไปตามลมและฝน ในช่วงฤดูฝนเชื้อจะเข้าทำลายมากกับใบอ่อนที่ผลิใหม่ และจะแพร่ระบาดอีกช่วงในระยะ

ที่มะม่วงออกดอกในหน้าแล้ง ในระยะนี้หากมีพายุฝนการเกิดโรคแอนแทรกคโนสบนผลจะรุนแรงและระบาดไปทั่วทั้งสวน

สำหรับลักษณะอาการนั้นโรคแอนแทรกคโนสจะแสดงอาการของโรคในระยะต่างๆบนมะม่วง ดังนี้

ระยะกล้า ใบอ่อนของกล้ามะม่วงจะมีลักษณะเป็นจุดดำ สีน้ำตาลกระจายทั่วไป ต่อมาจะขยายใหญ่ขึ้น และเชื่อมหากัน มีการลุกลามอย่างรวดเร็ว ทำให้ใบแห้งและร่วงหล่น บางครั้งใบจะโค้งงอ บิดเบี้ยว และทำให้ต้นแคระแกรนได้ ถ้าอยู่ในสภาพชื้นนานๆ อาการจะลุกลามสู่ก้านใบ หรือกิ่งอ่อน ซึ่งในระยะกล้านี้ เชื้อจะแพร่ในขณะให้น้ำ และโดยลม

ระยะต้นโต ในช่วงก่อนติดผลมักไม่ปรากฏอาการรุนแรงนัก แต่บริเวณยอดอ่อนๆที่อยู่ตรงปลายกิ่ง ถ้ามีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เชื้อจะเข้าทำลายเช่นเดียวกับระยะกล้า

ระยะแทงช่อดอก ยอดมะม่วงที่มีช่อดอก เมื่อได้รับน้ำฝนสลับกับสภาพอากาศร้อนเป็นบางระยะ จะแสดงอาการดอกเน่าดำ แห้ง และร่วง บริเวณก้านช่อดอกจะปรากฏเป็นจุดดำเล็กๆเชื่อมกัน ทำให้ก้านช่อดอกลุกลามจากปลายไปยังโคนช่อดอก

ระยะติดผล ระยะผลอ่อนที่เริ่มพัฒนาเป็นระยะที่อ่อนแอที่สุด เชื้อราจะเข้าทำลายผลอ่อน ตั้งแต่ระยะที่เป็นรังไข่ ทำให้เป็นจุดเทาดำ เมื่อในกรณีที่สภาพอากาศแห้ง เชื้อราพักตัวในเนื้อเยื่อใต้ผิวของผล ตลอดระยะที่ผลมะม่วงพัฒนา มีฝนตกชุก ความชื้นสูง ก็จะเกิดอาการเป็นลักษณะจุดดำกระจุกกระจาย จุดเล็กๆ เหล่านี้จะไม่ขยายขนาด และพบมากตามแนวไหลของน้ำค้ำจากขั้วผล ในพื้นที่ที่อ่อนแอ จุดดำจะโตกว่าพื้นที่ด้านทาน จุดดำของโรคแอนแทรกคโนสทำให้ผลมะม่วงที่กำลังเจริญเติบโต เป็นแผลแตกตามความยาวของผล เชื้อราที่ไหลย้อยไปกับหยดน้ำบนผลลงสู่ก้นผล จะทำให้ก้นผลเน่าอย่างรุนแรง ผลมะม่วงส่วนมากที่อยู่ในระยะการบ่มสุก แผลจะขยายโตขึ้นเป็นแอ่งนูน ต่อมาผลมะม่วงจะเน่าเนิมมีกลิ่นเหม็น โรคแอนแทรกคโนสแสดงอาการเน่าจากขั้วผล (stem end rot) โดยเฉพาะในพื้นที่มะม่วงที่อ่อนแอต่อโรค เช่น พันธุ์น้ำดอกไม้ พันธุ์แรด และพันธุ์อร่อง (นิพนธ์, 2542)

สำหรับอาการของโรคนี้ในผลมะม่วงหลังจากเก็บเกี่ยวจะเห็นได้ชัดเจนกว่าขณะที่ผลอยู่บนต้น เพราะผลเริ่มสุกจะอ่อนแอต่อโรคนี้ โดยเชื้อราที่ติดมากับผลในลักษณะพักตัวจะเริ่มเจริญอย่างรวดเร็ว เมื่อผลเริ่มสุกทำให้เกิดจุดดำๆ กระจายอยู่บนผล จุดดำๆเหล่านี้จะขยายตัวตามการสุกของผลจนเชื่อมกันเป็นแผลใหญ่ ตรงกลางจุดมักจะมีนูนเล็กลงไป และมีกลุ่มสปอร์สีชมพูหรือส้มบริเวณเนื้อเยื่อที่เน่าดำ และผลมะม่วงจะเน่าดำไปเรื่อยๆจนทั้งหมดผล โรคแอนแทรกคโนสที่เกิดขึ้นกับผลมะม่วงหลังจากเก็บเกี่ยวแล้วนี้ นับเป็นปัญหาสำคัญสำหรับมะม่วงที่ต้องการเก็บรักษาไว้เวลานาน และใช้เวลาในการขนส่งหรือจำหน่ายนาน (คณัย, 2543)

โรคแอนแทรกโนสของกล้วย (เบญจมาศ, 2545)

กล้วยจัดเป็นพืชไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งมีการปลูกกันเพิ่มมากขึ้น เพราะปริมาณการส่งออกไปจำหน่ายในต่างประเทศได้มีการขยายตัวเพิ่มขึ้น ทำให้มีปัญหาและอุปสรรคในการปลูกกล้วย โดยเฉพาะการเข้าทำลายของโรคหลายชนิด โดยเชื้อแพร์ระบาดเข้าทำลายก่อนความเสียหายต่อกล้วยตามแหล่งปลูกทั่วประเทศซึ่งเป็นผลทำให้ผลผลิตลดลง สำหรับโรคที่สำคัญของกล้วย ได้แก่โรคแอนแทรกโนส ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum musarum* โดยจะสร้างสปอร์ conidia ใน acervulus และมีเชื้อรา *Glomerella cingulata* เป็น perfect stage โดยมีสปอร์ ascospore อยู่ใน ascus การแพร่ระบาด เชื้อจะแพร่กระจายไปกับน้ำ หรือลม ตลอดจนติดไปกับเนื้อเยื่อของผลกล้วย สำหรับลักษณะอาการนั้น จะพบกับกล้วยในระยะผลแก่เต็มที่ หรือใกล้สุก โดยสปอร์ของเชื้อราจะไปตกและติดอยู่บนปลายสุดของผล เมื่อได้รับความชื้นก็จะงอก และเข้าทำลายปลายผลก่อนเกิดเป็นจุดสีดำ ฉ่ำน้ำ แล้วขยายการทำลายเข้าไปสู่ผลกล้วยส่วนใน ผลจะขยายใหญ่สีน้ำตาลดำ ขอบแผลสีน้ำตาล และถัดออกมาจะเป็นสีเขียวจาง เชื้อราจะขยายการทำลายเข้าสู่เนื้อเยื่อภายในทำให้เน่าอ่อนนุ่ม ผิวเปลือกของผลกล้วยจะเป็นแผลสีน้ำตาลดำ ขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน เมื่อสังเกตให้ดีจะพบว่าบนผิวดำที่เป็น โรคจะมีตุ่มนูนสีน้ำตาลเข้มขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุดเกิดอยู่ทั่วไป แผลอาจนุ่มลงไปเล็กน้อย โรคนี้สามารถเกิดได้ทั้งก่อน และหลังการเก็บเกี่ยว และแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วในระหว่างการขนส่งถ้ามีการปฏิบัติไม่ถูกต้องย่อมจะได้รับความเสียหายมาก

โรคแอนแทรกโนสของสตอเบอร์รี่ (ณรงค์ชัย, 2543)

สตอเบอร์รี่จัดเป็นไม้ผลเศรษฐกิจชนิดใหม่ ที่นิยมบริโภคเป็นผลสด และใช้ในเชิงอุตสาหกรรมแปรรูป ซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ ปัญหาหนึ่งที่สำคัญของเกษตรกร คือโรคแอนแทรกโนส เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคคือ *Colletotrichum fragaria* ต่อมาได้มีการค้นพบว่ามีเชื้อที่เป็นสาเหตุเพิ่มขึ้น คือ *C. dematium*, *C. acutatum* และ *C. gloeosporioides* ซึ่งอาการของโรคนี้พบมากที่สุดของสตอเบอร์รี่ สามารถเข้าทำลายที่ต้น และผลของสตอเบอร์รี่ด้วยผลเน่าที่เกิดจากโรคแอนแทรกโนส จะมีสีน้ำตาลดำ แผลกลม เนื้อผลยุบลง เป็นรอยแผลเน่าและกลายเป็นสีดำภายในสองสามวัน สำหรับรอยแผลนี้ปรากฏทั่วไปในผลที่สุก โดยมีส่วนที่เป็นสปอร์ปกคลุมอยู่ ถ้าหากโรคนี้เข้าทำลายที่ลำต้นจะทำให้เกิดการเหี่ยวของต้นในทันที ในตอนแรกเนื้อเยื่อ vascular เป็นสีเทาถึงดำ โรคแอนแทรกโนสอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดรอยแผลดำบริเวณก้านดอก ใหล ก้านใบ และใบ อาการขั้นแรกที่ปรากฏบนใหลและก้านใบ คือเป็นจุดเล็ก กลมดำ และรอยแผลฝักเล็ก ต่อมารอยแผลขยายบริเวณใหญ่ไปรอบๆ ใหลหรือก้านใบ ซึ่งเป็นผลทำให้เนื้อเยื่อถูกทำลายในตอนสุดท้าย ที่บริเวณใบ ก้านดอก และผลที่ถูกโรคเข้าทำลาย เชื้อจะผลิตสปอร์ขึ้นมาปกคลุมเป็นจำนวนมาก สปอร์เหล่านี้สามารถแพร่กระจายไปได้โดยฝนหรือแมลง

โรคแอนแทรกโนสของส้ม

ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่สามารถปลูกส้มได้ดี ให้ผลผลิตสูง และทำรายได้สูงให้แก่เกษตรกร จะเห็นได้จากสถิติเนื่องที่การปลูกส้มเขียวหวานได้เพิ่มมากขึ้นทุกปี แต่ผลผลิตที่ได้ค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อที่ปลูก เพราะเกษตรกรพบอุปสรรคหลายอย่าง รวมทั้งโรคส้ม (วิมล, 2545) แต่เดิมพบว่าโรคแอนแทรกโนสนี้ระบาดและทำความเสียหายไม่มากนัก แต่ปัจจุบันพบโรคนี้ระบาด และทำความเสียหายเพิ่มขึ้นและพบการเข้าทำลายเกือบทุกแห่งที่มีการปลูกส้ม ซึ่งโรคนี้สามารถเข้าทำลายทั้งบนใบและผล ซึ่งสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เชื้อราจะเข้าทำลายใบส้มที่กำลังเจริญเติบโตเต็มที่ และปรากฏอาการชัดเจนบนใบแก่เป็นแผลไหม้ ลักษณะของแผลจะมีรูปร่างกลม กลางแผลมีสีน้ำตาลอ่อน แผลมักแห้ง และมีจุดสีดำเล็กๆ จำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป ขอบแผลไม่เรียบ หนูน และเป็นมันตรงกลางแผลเล็กน้อย มองดูคล้ายกับกลางแผลมีลักษณะนุ่มลงไป สำหรับอาการบนผลนั้น พบว่า ผลจะเป็นแผลเหมือนกับที่พบบนใบ แต่ขนาดของแผลสามารถลามขยายได้ยาวใหญ่กว่า และส่วนมากมักพบแผลเป็นแนวยาวจากบริเวณขั้วผลลงไป อาการที่เกิดบริเวณขั้วผลจะทำให้เกิดผลร่วงได้ในเวลาต่อมา (ฮาไพอรรถ และคณะ, 2542)

สำหรับการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนสในปัจจุบัน เกษตรกรจะใช้สารเคมีในปริมาณมาก ในการป้องกันกำจัด ซึ่งทำให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้สารเคมี ผู้บริโภค และต่อสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังทำลายสมดุลธรรมชาติของระบบนิเวศน์วิทยา เพราะการใช้สารเคมีเป็นระยะเวลานาน ทำให้เกิดการสะสมของสารพิษในดิน ทำให้เกิดการคื้อยาของเชื้อ และทำให้ทวีความรุนแรงของโรคเพิ่มมากขึ้น ดังนั้น ในปัจจุบันจึงคิดค้นและหาวิธีการในการควบคุมโรคโดยชีววิธี เพื่อลดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรค โดยการคัดแยกเชื้อซึ่งอาศัยอยู่ในธรรมชาติที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งเป็นวิธีที่ปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม และยังเป็นแนวทางในการควบคุมโรคได้ในระยะยาว (ประสาทพร, 2534)

ลักษณะโดยทั่วไปของเชื้อรา *Colletotrichum*

เชื้อราในสกุล *Colletotrichum* มีการจัดจำแนกได้ดังนี้ (CABI Bioscience, 2005)

Division Ascomycota

Class Ascomycetes

Order Phyllachorales

Family Phyllachoraceae

Genus *Colletotrichum*

เชื้อรา *Colletotrichum* มีรายงานการพบครั้งแรกโดย Tode ในปี 1790 ซึ่งได้จัดจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* ไว้ในสกุล *Vermilaria* และได้มีการปรับเปลี่ยนชื่ออยู่หลายครั้ง จนในที่สุดจึงแยกออกมาเป็นสกุล *Colletotrichum* โดย Fries ในปี ค.ศ.1821 สำหรับการจัดจำแนกเชื้อราชนิดนี้ในระดับสปีชีส์มีมากถึง 900 สปีชีส์ จึงมีวิธีการในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราเป็นกลุ่มๆ ตามลักษณะทาง taxanomy (taxa) ทำให้มีการจัดจำแนกโดยอาศัยความจำเพาะเจาะจงต่อพืชอาศัย ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถจำแนกได้ ดังนี้ *C. acutatum*, *C. capsici*, *C. caricae*, *C. caudatum*, *C. circinans*, *C. coccodes*, *C. coffeanum*, *C. corchori*, *C. crassipes*, *C. curvatum*, *C. dematium*, *C. destructivum*, *C. falcatum*, *C. fragariae*, *C. fusarioides*, *C. fuscum*, *C. gloeosporioides*, *C. gloeosporioides var. minus*, *C. gnaphalii*, *C. graminicola*, *C. helichrysi*, *C. higginsianum*, *C. lilicearum*, *C. lindemuthianum*, *C. linicola*, *C. malvarum*, *C. musae*, *C. nigrum*, *C. nymphaeae*, *C. paludosum*, *C. phyllachoroides*, *C. psoraleae*, *C. spinaciae*, *C. sublineolum*, *C. trichellum*, *C. trifolii*, *C. truncatum*, *C. typhae* (อ้างโดย Sutton, 1980)

ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Colletotrichum* คือ สามารถสร้างเส้นใยได้ดี มีการแตกกิ่งก้านและเส้นใยพนักกัน สีของเส้นใยมีตั้งแต่ไม่มีสีถึงสีน้ำตาลเข้ม สร้าง fruiting body เพื่อให้กำเนิดโคนิเดีย เรียกว่า conidiomata แบบ acervulus ซึ่งมีสีอ่อนถึงสีน้ำตาล (วีระณีย์ และคณะ, 2537) acervulus จะสร้างบนผิวพืชตรงชั้นของ subcuticle, epidermal, subepidermal หรือ peridermal ของพืช โดยอาจจะสร้างขึ้นเดี่ยวๆ หรือเป็นกลุ่ม ก้านชูสปอร์(conidiophore) ไม่มีสีถึงสีน้ำตาล มีพนักกั้น ผิวเรียบ แตกกิ่งก้านเฉพาะเซลล์ฐาน conidiophore เกิดจากเซลล์บนสุดของ conidiomata ในการสร้าง conidia พนักชั้นนอกของเซลล์ที่ให้กำเนิด conidia จะไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการสร้าง conidia conidia จะเกิดโดยพนักชั้นในของ conidiogenous cell ดันทะลุพนักชั้นนอกออกมาคล้ายลูกโป่ง จึงเรียกเซลล์นี้ว่า enteroblastic conidiogenous cell โดย conidiogenous cell ที่สร้างจะมีลักษณะใส ไม่มีสี พนักเรียบ รูปทรงกระบอก conidia เป็นเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ 7-20 x 2.5-5 ไมโครเมตร สปอร์ใส ไม่มีสี รูปทรงกระบอกหัวท้ายมน (Ploetz *et al.*, 1994) ไม่มีพนักกั้น (ยกเว้นขณะ germination) ลักษณะตรง หรือโค้งงอ มีรูปร่างหลายแบบ appressoria มีสีน้ำตาล ผิวเรียบหรือขรุขระ อาจเกิดเดี่ยวๆ หรือสร้างหลายอันต่อกัน สปอร์จะงอก germ tube ภายใน 6-8 ชั่วโมง

และสร้าง appressorium สีนํ้าตาลเข้ม ภายใน 10-20 ชั่วโมง หลังจากนั้น appressorium จะสร้าง infection peg แทะเข้าไปในชั้น cuticle เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง infection peg บางอันงอก primary hypha ขึ้นๆ และจะหยุดแผ่ตัวในระยะนี้ โดยไม่มีการเจริญต่อจนกว่าสภาพแวดล้อมเหมาะสมจึงแสดงอาการของโรค imperfect stage ของเชื้อราคือ *Glomerella* sp. (ดวงใจ, 2545) ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA มีสีขาวอมเทาถึงสีน้ำตาลดำ เส้นใยฟู สร้างกลุ่มโคโคนีเดียสีส้มอมชมพู ลักษณะเป็นวงซ้อนๆ กัน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อคือ 10 -30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95-97 % เชื้อราจะแพร่ระบาดโดยลม และฝน โดยสปอร์ของเชื้อรา (ชะลอ, 2539) อย่างไรก็ตาม เชื้อราใน species นี้อาจแตกต่างกันได้ในรูปร่างตามลักษณะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ชนิดของพืชอาศัย และความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Sutton, 1980) เชื้อรานี้จะสร้าง acervuli รูปร่างที่มีผนังแบบ pseudoparenchyma ลักษณะเป็นผนังตั้งอยู่ใต้ผิว epidermis ของพืช โดยทั่วไปจะมีหนาม(spines) หรือ setae อยู่ที่ปลายหรือระหว่าง conidiophore เชื้อราในสกุล *Colletotrichum* spp. มีขั้นตอนการเข้าทำลายพืชได้หลายวิธี ตั้งแต่การเข้าทำลายแบบ intracellular hemibiotrophy ไปจนถึง subcuticular intramural necrotrophy เชื้อรานี้ได้สร้างโครงสร้างในการเข้าทำลายพืช เช่น germ tube, appressorium, intracellular hyphae และ secondary necrotropic hyphae (Perfect *et al.*, 1999) นอกจากนี้ ยังพบว่าเชื้อรา *Colletotrichum* spp. หลายชนิดสร้าง phytotoxin ที่มีความเป็นพิษต่อพืช เช่น สารประเภท polysaccharide ในอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถทำให้ใบ ยอด และต้นกล้าของต้น alfalfa เกิดรอยขีดจาง แห้ง เหี่ยว และตายในที่สุด (Frantzen *et al.*, 1982) เชื้อรา *Colletotrichum* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในพืชหลายชนิด เช่น มะละกอ ฝรั่ง อะโวคาโด ส้ม องุ่น กล้วย พืชตระกูลถั่ว ผักและผลไม้ต่างๆ เป็นต้น โดยสามารถทำลายส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ ต้น ดอก และผล พบว่ามีการแพร่ระบาดแทบทุกพื้นที่ที่มีการเกษตร (Johnson and Coates, 1993)

การควบคุมและป้องกันกำจัด (ขงยุทธ, 2547)

ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสนั้น ในระยะต้นกล้าเกษตรกรนิยมใช้สารเคมี สารเคมีที่ใช้ให้ผลดีในการควบคุมโรค ได้แก่ captan, zineb, maneb หรือยาที่มีสารออกฤทธิ์พวก benomyl ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาประเภทคูดซิม ในการใช้สารป้องกันกำจัดโรคนี้อาจต้องใช้ให้ถูกกับจังหวะการทำลายของโรค เพื่อลดความเสียหาย และช่วยให้การใช้สารเคมีมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น สำหรับการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวนั้น ในขณะที่เก็บผลจะต้องระมัดระวังอย่าให้ผลบอบช้ำ พ่นสารเคมีดังกล่าวทันทีหลังจากการเก็บเกี่ยว แล้วผึ่งให้แห้งก่อนทำการบรรจุหีบห่อ โดยเฉพาะเพื่อการส่งออก ให้ใช้หีบระบายอากาศได้ดี อย่าบรรจุผลแน่นจนเกินไป หรือหลังการเก็บผลมาแล้วอาจจุ่มผลลงในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส นาน 5-10 นาที

ผลกระทบจากการใช้สารเคมีมีผลโดยตรงต่อสุขภาพของเกษตรกร และผลทางอ้อมคืออาจทำให้เชื้อโรคและแมลงต้านทานได้ และอาจทำให้เกิดสารพิษตกค้างในผลผลิตที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค รวมไปถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในปัจจุบันความสนใจในการวิจัยหาวิธีการอื่นๆ มาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีมากขึ้น วิธีการหนึ่งที่น่าสนใจในปัจจุบัน คือการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biological control)

การควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ หมายถึง การลดปริมาณของ inoculum หรือการลดปฏิกิริยาการเกิดโรคของเชื้อสาเหตุที่อยู่ในระยะที่มีปฏิกิริยา (active) หรือระยะพักตัว (dormant) ด้วยการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งหรือมากกว่า 1 ชนิดเข้ามาทำการป้องกันกำจัด ให้บรรลุผลสำเร็จโดยวิธีธรรมชาติ หรือโดยการจัดการสภาพแวดล้อมของพืชอาศัย หรือเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Baker และ Cook, 1974) สิ่งมีชีวิตที่ใช้สำหรับควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ (Biocontrol agents) ที่รายงานไว้ในเอกสารต่างๆ ดังได้รวบรวมไว้มีอยู่หลายชนิดในตารางต่อไปนี้ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีรายงานในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ
(อ้างโดย ยอดชาย, 2544)

Antagonist	Pathogen	Host	References
Actinomycetes			
<i>Streptomyces</i> species	<i>Macrophomina phaseolina</i>	Sunflower and Mungbean	Hussain <i>et al.</i> , 1990
	<i>Pythium debaryanum</i>	Sugarbeet	Tahvonen , 1982
	<i>P. splendens</i>	Geranium	Bolton, 1978
	<i>P. ultimum</i>	Pepper	Turhan, G and K. Turhan, 1989
	<i>Rhizoctonia solani</i>	Pepper	Turhan, G and K. Turhan, 1989
Bacteria			
<i>Arthobacter</i> species	<i>P. debaryanum</i>	Tomato	Mitchell and Hurwitz, 1965
<i>Bacillus</i> species	<i>P. ultimum</i>	Snapdragon	Broadbent <i>et al.</i> , 1971
	<i>Sclerotium cepivorum</i>	Onion	Utkhede and Rahe, 1983
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>P. ultimum</i>	Cotton	Nelson, 1988
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Aphanomyces euteiches</i>	Pea	Parke <i>et al.</i> , 1991
	<i>F. oxysporum f.sp. dianthi</i>	Carnation	Van and Schippers, 1991
	<i>P. aphanidermatum</i>	Cucumber	Elad and Chet, 1987
Fungi			
<i>Chaetomium globosum</i>	<i>P. debaryanum</i>	Squash	Harman <i>et al.</i> , 1978
<i>Gliocladium virens</i>	<i>P. ultimum</i>	Cotton	Howell, 1991
<i>Penicillium oxalicum</i>	<i>Pythium</i> spp.	Chickpea	Trapero <i>et al.</i> , 1990
<i>Trichoderma hamatum</i>	<i>Pythium</i> spp.	Pea, Radish	Harman <i>et al.</i> , 1980
<i>T. harzianum</i>	<i>Pythium</i> spp.	Cucumber	Taylor <i>et al.</i> , 1991
	<i>Botrytis cinerea</i>	Strawberry	Tronsmo and Dennis, 1977
	<i>Mucor mucedo</i>	Strawberry	Tronsmo and Dennis, 1977
<i>T. koningii</i>	<i>Pythium</i> spp.	Pea	Lifschitz <i>et al.</i> , 1986
<i>T. pseudokoningii</i>	<i>B. cinerea</i>	Strawberry	Tronsmo and Rao, 1977
<i>T. viride</i>	<i>P. ultimum</i>	Pea	Papavizas and Lewis, 1983
	<i>B. cinerea</i>	Strawberry	Sutton and Peng, 1993
<i>Verticillium biquittatum</i>	<i>R. solani</i>	Potato	Jarger and Velvis, 1985

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ หมายถึง การควบคุมโรคใดๆ ก็ตามที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ต่อต้าน เป็นการควบคุมโรคโดยชีววิธี ซึ่งกิจกรรมของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโดยชีววิธี คือ

1. ขบวนการสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiosis) หมายถึงการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง ที่เกิดขึ้นจากสารที่สร้างโดยสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง สารดังกล่าวจะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต หรืออาจจะทำให้ตายได้

2. การแข่งขันซึ่งกันและกัน (Competition) การที่สิ่งมีชีวิตสองชนิดหรือมากกว่าเจริญอยู่ด้วยกัน และมีความต้องการอาหารและที่อยู่อาศัยซึ่งสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดต้องการ และเมื่ออาหารที่มีอยู่ไม่เพียงพอจึงทำให้เกิดการแข่งขันกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ธาตุอาหารและปัจจัยอื่นๆ สำหรับการเจริญเติบโต

3. การเป็นปรสิตของเชื้อราปฏิปักษ์ (Parasitism) การที่เชื้อราปฏิปักษ์สร้างเส้นใยแทงทะลุเข้าไปในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ แล้วดูดของเหลวจากรา ทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชเหี่ยวเฉาแฟบลง หรือการที่เชื้อราปฏิปักษ์สร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุก่อนการเข้าทำลายเส้นใย (เกษม, 2532) ตัวอย่างเช่น เชื้อรา *Trichoderma harzianum* เป็นปรสิตกับเชื้อรา *Rhizoctonia solani* โดยการสร้างเส้นใยพันรัดแล้วแทงเข้าไปในเส้นใย (Elad and Chet, 1987) ส่วนราปฏิปักษ์ *T. hamatum* เป็นปรสิตกับเชื้อรา *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp. และ *Sclerotium* sp. โดยการสร้างเอนไซม์ β -1,3-glucanase, chitinase และ cellulase ทำลายเส้นใยเชื้อราดังกล่าวเหี่ยวและแฟบลง (Bruckner and Przybylski, 1984)

ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชนั้น สามารถพบได้ทั่วไป เช่น จากดินบริเวณ rhizosphere จากในเนื้อเยื่อพืช (Endophyte) บนส่วนต่างๆ ของพืช (Epiphyte) บนกิ่ง ดอก ผล และใบ ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนผิวใบพืชนี้จะมีอยู่หลายชนิด และสามารถที่จะนำมาใช้ในการเป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคพืช

ปัจจุบันมีเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดสามารถเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งแบคทีเรียปฏิปักษ์มีกลไกในการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุ 3 ขบวนการด้วยกัน คือ

1. การสร้างสาร Antibiosis

การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง เป็นกระบวนการที่เกิดจากการใช้สารที่สร้างขึ้นจากสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง ซึ่งสารดังกล่าวมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโต และอาจจะมีผลในการทำให้เชื้อโรคตายได้ (Otis, 1993) โดยสารที่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ผลิตขึ้นมี 3 ชนิด คือ

1.1 Antibiotic

สารปฏิชีวนะ (Antibiotic) เป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช หรือระงับกิจกรรมของเชื้อสาเหตุชนิดนั้นๆ สารปฏิชีวนะแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ขึ้นกับสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิต องค์ประกอบของสารคุณสมบัติทางเคมี และสภาพอาหารที่ใช้เลี้ยง Winkelman *et al.* (1980) รายงานว่าแบคทีเรีย *Erwinia herbicola*, *Streptomyces* spp. และ *Bacillus* spp. สามารถสร้างสาร peptide antibiotic ซึ่งเป็น cyclic compound ที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ peptidase และ protease นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้แบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* strain 2-79 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรค take-all ของข้าวสาลี โดยแบคทีเรีย *P. fluorescens* strain 2-79 สามารถผลิตสาร phenazines antibiotic ซึ่งเป็น dimer ของ phenazine-1-carboxylate นอกจากนี้ Rothroch and Gottlieb (1989) ยังได้รายงานว่า แบคทีเรีย *Streptomyces hygrascopicus* var. *geldanus* สามารถผลิตสาร geldanamycin antibiotic ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ที่ทำให้เกิดโรครากเน่าของถั่วในสภาพเรือนทดลอง

1.2 Bacteriocin

bacteriocin เป็นสารที่เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ หรือเชื้อสาเหตุของโรคผลิตขึ้น ซึ่งเป็นสารที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ bacteriocin จะมีลักษณะคล้าย antibiotic แต่สามารถแยกความแตกต่างออกจากกันได้โดยดูจากองค์ประกอบของสาร สารชนิดนี้มีความเฉพาะเจาะจงในการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชมากกว่า antibiotic แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างสาร bacteriocin ได้แก่ *Erwinia* spp., *Corynebacterium* spp. และ *Pseudomonas* spp. Vidaver (1976) ได้จัดจำแนก bacteriocin ออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และ sensitive ต่อ trypsin กับกลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง และต้านทานต่อ trypsin ในปี ค.ศ.1985 Sige (1993) ได้อธิบายกลไกในการเข้าทำลายของสาร bacteriocin ต่อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชว่าสารชนิดนี้มีลักษณะคล้ายไวรัส และสามารถเกาะจับกับโปรตีนในตำแหน่งที่เฉพาะเจาะจงภายใน periplasmic ของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ซึ่งมีผลทำให้เซลล์ของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชเกิดความผิดปกติในการสังเคราะห์โปรตีนความผิดปกติของ DNA มี bacteriocin จำนวนมากที่ผลิตขึ้นโดยแบคทีเรียชนิดต่างๆ เช่น *Agrobacterium* species ผลิต agrocin, syringcin ผลิตจาก *Pseudomonas syringae* และ corynecin ผลิตจาก *Corynebacterium* species

1.3 Siderophore

Siderophore เป็นสารอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ สามารถรวมกับอะตอมของเหล็กโดยขนส่งเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย เมื่อแบคทีเรียเจริญในสภาพที่มีเหล็กต่ำ *Pseudomonas*

fluorescens ผลิต siderophore pigment สีเขียวอมเหลือง เข้าไปจับกับอะตอมของเหล็กเป็น siderophore-iron complex เข้าสู่เซลล์ ทำให้สามารถแข่งขันกับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆได้ และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืช (Sigeo, 1993) เช่น *Pseudomonas fluorescens* และ *P. putida* ที่มีความสามารถในการผลิตสารชนิดนี้ได้มากกว่าบริเวณรากพืช ซึ่งสารดังกล่าวเป็นพวก Pyoverdines และ Pseudobactin ตามลำดับ ซึ่งเป็นสารที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี และแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว

2. การแก่งแย่งแข่งขันซึ่งกันและกัน (Competition)

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีความสามารถในการอาศัยอยู่ในพื้นที่และสภาพแวดล้อมที่เหมือนกับเชื้อสาเหตุ จึงมีการแก่งแย่งแข่งขันในการครอบครองพื้นที่และอาหาร ซึ่งเชื้อสาเหตุสายพันธุ์ที่ไม่รุนแรงในการทำให้เกิดโรคมักมีความแตกต่างกับเชื้อสาเหตุของโรคตรงยีนที่ทำให้เกิดโรคนั้น

3. การเป็นปรสิตกับเชื้อสาเหตุของโรค

Bacteriophage เป็นไวรัสที่มีความสามารถในการเข้าทำลายแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชได้ และมีการเพิ่มปริมาณภายในเชื้อสาเหตุ รวมทั้งสามารถใช้ออกซิเจนประกอบภายในเซลล์ และขบวนการทางชีวเคมีของเชื้อสาเหตุได้ โดย bacteriophage แต่ละชนิดจะมีความเฉพาะเจาะจงต่อ host ซึ่ง Wall and Sanchez (1992) ได้รายงานการใช้ bacteriophage ในการควบคุมการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum* และพบว่าสามารถนำมาใช้ในการป้องกันโรคเหี่ยวได้

ตัวอย่างการใช้ประโยชน์จากเชื้อแบคทีเรียในการควบคุมโรคพืช

Broadbent *et al.*(1977) รายงานว่ามี *Bacillus spp.* หลาย strain ที่มีคุณสมบัติเป็นจุลินทรีย์ต่อต้านโรค เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิต endospore ที่ทนต่อความร้อนและแห้งแล้งได้ เช่น *B. subtilis* A₁₃ ซึ่งแยกได้จากเส้นใยของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคหลายชนิด และมีความสามารถในการเจริญครอบคลุมบริเวณรากพืชทั้งในสภาพแปลงปลูก และสภาพห้องปฏิบัติการ

บรรเจิด(2530) ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่างๆ ได้แก่ *Penicillium spp.*, *Trichoderma spp.*, *Bacillus spp.* และ *Pseudomonas fluorescens* ที่แยกได้จากดินที่ใช้ในการเพาะปลูกในการควบคุมโรคพืช พบว่า *T. harzianum* และ *T. viride* สามารถยับยั้งการเจริญของ *Sclerotium rolfsii* ได้ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลงถึง 99.4 และ 98.8 %

พากเพียร และคณะ (2538) ได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus spp.* (No.90-562) และ *Pseudomonas fluorescens* (No.90-321) มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว สาเหตุจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในสภาพไร่เนา โดยใช้เส้นใยของเชื้อที่เลี้ยงบนเมล็ดข้าวเปลือก หนึ่งฆ่าเชื้อแล้วสอดในกลางกอข้าว ระยะข้าวแตกกอสูงสุด พบว่า การใช้เชื้อ

Bacillus spp.(No. 90-562) และเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* (No. 90-321) อัตราความเข้มข้น 3.33×10^8 cfu/ml. ร่วมกับสาร benomyl 13.33 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ในการแช่เมล็ดก่อนปลูก และพ่นซ้ำ 3 ครั้ง สามารถควบคุมความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งได้ดี เท่ากับการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช benomyl ที่อัตรา 30 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่

ปัทมารัตน์ (2538) ได้ทำการศึกษาการควบคุมโรคไหม้ของเกาลัด (Chestnut blight) ด้วยแบคทีเรีย ซึ่งได้ทำการทดสอบโดยทำแผลที่ลำต้นของหน่อที่อายุ 6 สัปดาห์ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ sterilized scapel กรีดเป็นรอยเล็กๆ แล้วนำเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่แยกได้จากต้นที่ไม่มีโรค ทิ้งไว้ 0, 1, 2, 3 และ 7 วัน แล้วปลูกเชื้อราสาเหตุ *Cryphonectria parasitica* ที่แยกได้จากต้นที่เป็นโรคไหม้ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C พบว่า เกาลัดที่ทำการปลูกเชื้อแบคทีเรียทิ้งไว้ 7 วัน ก่อนที่จะถูกปลูกเชื้อราจะสามารถควบคุมการเกิดโรคได้ และความสามารถนี้ยังถ่ายทอดไปยังพืชรุ่นต่อไปได้

Berger *et al.* (1996) ได้ทดสอบความสามารถของเชื้อ *Bacillus subtilis* Cot1. ในการควบคุมเชื้อ *Phytophthora* sp. และ *Pythium* sp. สาเหตุโรค damping - off ในพืชสกุล Photinia และ Brassica พบว่า *Bacillus* sp. มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค damping - off ได้ดี

กาญจนา (2542) ได้ทำการแยกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากดิน 5 แหล่งในจังหวัดเชียงใหม่ ได้เชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา จำนวน 165 ไอโซเลท นำจุลินทรีย์ที่ได้มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวได้ ในจำนวนนี้มี 3 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุด คือ RH14 (*Bacillus cereus*), RH19 (*Pseudomonas aeruginosa*) และ RH39 (*Ps. putida*) จากนั้น นำแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดมาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์ Pep. T.K. ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด สามารถชะลอการเกิดโรคและลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลงได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ตัวอย่างการใช้ประโยชน์จากเชื้อบนผิวของพืชในการควบคุมโรคพืช

Fravel and Spurr (1971) ทำการแยกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากใบยาสูบ พบแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternata* ที่เป็นสาเหตุของโรคใบจุดสีน้ำตาล 1 ชนิด คือ เชื้อ *Bacillus cereus* subsp. *mycoides* ที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ถึง 88 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Klopper *et al.* (1980) รายงานว่า *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ B10 และ *P. putida* ที่แยกได้จากผิวมันฝรั่ง สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* ที่เป็นสาเหตุของโรคเน่าและเน่ามันฝรั่งได้ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง

นวลวรรณ และคณะ (2530) ทำการแยกยีสต์จาก phylloplane เงามะ และเพิ่มปริมาณของยีสต์โดยเลี้ยงในอาหารที่เป็นกรดอ่อน ทำการศึกษาการเป็น antagonist ของยีสต์ โดยการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการงอกของ conidia ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Type II ในสภาพที่มีเซลล์ของยีสต์ปะปนอยู่ พบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกของ conidia ลดลงอย่างมาก และสามารถสังเกตพบการโป่งพองของ germ tube ในระยะแรกของการงอก หลังจากนั้น 24 ชั่วโมงมีการพัฒนาที่ผิดปกติของเชื้อราที่เห็นได้ชัดเจนคือ เส้นใยของเชื้อรามือการบวมพอง การแตกแขนงของเส้นใยผิดปกติ ร่วมด้วยการหดสั้นลงของ hyphal cell อีกด้วย

Korsten *et al.*(1995) ได้รายงานถึงการทดสอบแบคทีเรีย *Bacillus sp.* 33 ไอโซเลท ซึ่งแยกได้จากส่วนของใบและบริเวณผิวของผล avocado เมื่อนำไปทดสอบความสามารถในการเป็นเชื้อต่อต้านการเจริญของเชื้อราต่างๆ เช่น เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*, *Thyronectria pseudotrichia*, *Phomopsis perseae*, *Pestalotiopsis versicolor* และ *Fusarium solani* พบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* (ไอโซเลท B246) ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้สูงที่สุด

Cotes *et al.* (1997) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรีย และยีสต์ที่อยู่บนผิวของผลและใบของมะม่วงและอะโวคาโด นำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี leaf disc assay (LDA) ที่ตัดจากใบมะม่วงในโรงเรือน นำมาจุ่มด้วยน้ำเดือดนาน 30 วินาที แล้วนำมาทดสอบกับ *C. gloeosporioides* และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ ทำการบ่มเชื้อไว้ 7 วันในสภาพชื้น พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus sp.* 359 สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสในอะโวคาโดได้ผลดี

Intanoo *et al.* (2000) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากผิวใบของผักคะน้า พบเชื้อแบคทีเรียจำนวน 2 ไอโซเลท คือ WS16 และ WS18 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* โดยทำให้เกิด clear zone บนอาหาร PDA และยังสามารถลดขนาดของแผลให้เล็กลงได้ถึง 67.19 และ 64.43% ตามลำดับ เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี detached leaf technique กับเชื้อ WS16 และ WS18 , *Trichoderma sp.*(GV16) และ *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) โดยทำการ spray เชื้อลงบนใบในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่าสามารถลดการเกิดโรคที่ 27, 26 และ 23% ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในส่วนของ *Trichoderma sp.* และ *Trichoderma harzianum* สามารถลดบริเวณที่เกิดโรคลง 18 และ 14% ตามลำดับ เมื่อทำการจำแนกแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท คือ WS16 และ WS18 พบว่า WS16 คือ *Bacillus cereus* ในขณะที่ WS18 คือ *Bacillus megaterium* ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดสามารถลดการงอกของสปอร์ และยังทำให้เส้นใยของเชื้อรา *A. brassicicola* เจริญผิดปกติ และยังลดความสามารถในการเข้าทำลายของเชื้อรา *A. brassicicola* ได้

Lavermicocca (2001) ได้แยกเชื้อแบคทีเรียจากผิวใบของต้นมะกอกได้จำนวน 200 isolate พบว่า เชื้อ *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Leuconostoc* spp., *Enterococcus faecium* และ *Enterococcus* spp. ซึ่งเป็นเชื้อพวก lactic acid bacteria จากคุณสมบัติทางกายภาพพบว่า สามารถผลิตกรดแลกติก ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของ เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้

Nunes *et al.* (2001) ได้ทดลองแยกเชื้อจากผิวใบของแอปเปิ้ล และลูกแพร์ พบเชื้อแบคทีเรีย *Pantoea agglomerans* (CPA-2) ซึ่งสามารถลดความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อ *Botrytis cinerea* ได้มากกว่า 80% และยังสามารถยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อรา *Penicillium expansum* ภายใต้การเก็บรักษาในสภาพเย็น และมีออกซิเจนต่ำได้ดี

Yuen *et al.* (2001) ได้แยกเชื้อจากผิวใบของ bluegrass พบเชื้อแบคทีเรีย *Pantoea agglomerans* B1 และ *Stenotrophomonas maltophilia* มีประสิทธิภาพในการควบคุม และลดความรุนแรงของโรคราสนิมของถั่ว (*Phaseolus vulgaris*) ที่เกิดจากเชื้อรา *Uromyces appendiculatus* ได้

จินันทนา (2541) ได้ทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหาร PDA โดยเชื้อแบคทีเรีย 53 ไอโซเลท ที่แยกได้จากใบและผลมะม่วง คีบพันธุ์น้ำดอกไม้ และผลไม้ต่างๆ พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท NFB7 และ NFB15 ที่แยกได้จากผลมะม่วงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุด เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยว โดยการฆ่าเชื้อที่ผิวของผลมะม่วงที่แก่จัด แล้วนำมาจุ่มใน conidial suspension ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ แล้วนำมาวางในกล่องพลาสติกขึ้น ทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ลงบนผลมะม่วงที่ บ่มเพาะเชื่อนาน 10 วัน พบว่า แบคทีเรียที่ทำให้พื้นที่แผลเล็กลงมากที่สุด คือ ไอโซเลท NFB15

วิลาวัณย์ (2542) ได้ทำการศึกษาถึงการควบคุมโรคถั่วเหลือง ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum truncatum* สาเหตุโรคแอนแทรกโนส และเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *glycines* สาเหตุโรคใบจุดนูน โดยใช้ antagonist 12 ตัวอย่างในการควบคุมโรค คือ *Bacillus subtilis* 2 ไอโซเลท ได้แก่ MK007 และ Abs042, *Bacillus* sp. 6 ไอโซเลท ได้แก่ NFB7 และ NFB15 (จากมะม่วง) B4 (จากใบลำไย) G1, G2 และ G3 (จากหญ้าข้าวหนวด) , ยีสต์ 4 ไอโซเลท ได้แก่ Ciku (จากผลตะมุตะมาเลย์) MG1 (จากผลมะเกี๋ยง) Pr1 และ Pr2 (จากผลสาเกก้านยาว) แล้วทำการทดสอบบนอาหาร PDA และ NA ตามลำดับ พบว่า ผลการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของถั่วเหลือง พบว่า แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุดคือ MK007 และ B4 รองลงมาคือ NFB15, G3, G1, NFB7, ABS042 และ G2 ตามลำดับ ในกลุ่มของยีสต์นั้น พบว่าทั้ง 4 ไอโซเลทไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งของเชื้อ เมื่อทำการทดสอบการควบคุมโรคแอนแทรกโนสบนลำต้นถั่วเหลือง โดยนำ antagonist ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. truncatum* บนอาหาร PDA ได้ คือ MK007, B4 และ NFB15 มาทำการปลูกเชื้อบนลำต้นร่วมกับเชื้อสาเหตุเพื่อหาตัวที่สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด

พบว่า แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ MK007 และ NFB15 รองลงมาคือ B4 สำหรับผลการควบคุมเชื้อสาเหตุของโรคใบจุดบนอาหาร NA นั้น พบว่า ไม่มีเชื้อ antagonist ใดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. campestris* pv. *glycines* ได้

สำหรับการใช้ประโยชน์จากเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยบนผิวของผลผลิต และการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคปลุกลงบนผลผลิตนั้น จุลินทรีย์ที่ดีจะต้องสามารถเจริญบนผลผลิตได้ในระดับที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค และต้องทนต่อกระบวนการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวต่างๆ สามารถเจริญในที่อุณหภูมิต่ำได้ นอกจากนี้จะต้องสามารถเพิ่มปริมาณได้ดีในอาหารที่มีราคาถูก (คนัย, 2543)



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved