บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ส้ม (*Citrus* spp.) มีถิ่นดั้งเดิมอยู่ในประเทศจีน มีการปลูกกันมานานในประเทศจีนและญี่ปุ่น จัดเป็นผลไม้ที่ทุกคนรู้จักและนิยมบริโภค เนื่องจากมีราคาไม่แพงนักและมีจำหน่ายทั่วไป ทั้งยังเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูง (ตาราง 2) นิยมบริโภคทั้งในรูปผลสดหลังอาหารแต่ละมื้อในยามว่าง หรือในรูปของสินค้าแปรรูป เช่น น้ำส้มคั้น ซึ่งนอกจากจะให้คุณค่าทางอาหารสูงแล้ว การบริโภคในลักษณะทั้งผลที่รวมทั้งเส้นใยและกากนั้นก็สามารถเป็นยาระบายอ่อนๆ ได้เป็นอย่างดี

ตาราง 2 องค์ประกอบทางอาหารของผลส้มเขียวหวานต่อ 100 กรัมส่วนที่บริโภคได้

องค์ประกอบ	ปริมาณ	
พลังงานอาหาร	44	แคลอรี
คาร์โบไฮเดรต	9.9	กรัม
โปรตีน	0.6	กรัม
ไขมัน	0.2	กรัม
น้ำ	88.7	กรัม
เส้นใย	0.2	กรัม
แคลเซียม	31	มิลลิกรัม
เหล็ก	0.8	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	18	มิลลิกรัม
วิตามิน เอ	4000	หน่วยสากล
วิตามิน บี1	0.04	มิลลิกรัม
วิตามิน บี2	0.05	มิลลิกรัม
วิตามิน ซี	18	มิลลิกรัม

ที่มา : กองโภชนาการ กรมอนามัย, 2535 อ้างโดย กฤษฎา, 2545

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส้มเขียวหวาน

ส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata* Blanco) เป็นพืชอยู่ในตระกูล Rutaceae จัดเป็นผลไม้เขตกึ่งร้อน (subtropical fruit) อยู่ในกลุ่มแมนดาริน (mandarin) เป็นพวกแทนเจอรีน (tangerine) โดยส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง เป็นส้มในกลุ่มเปลือกล่อนที่ขายได้ราคาดีที่สุดในกลุ่มส้มเปลือกล่อนด้วยกัน เนื่องจากมีรสชาติเข้มข้นและมีกลิ่นหอม แหล่งเพาะปลูกส้มสายพันธุ์นี้เริ่มต้นปลูกกันที่อำเภอฝางจังหวัดเชียงใหม่ เมื่อประมาณปี 2531 โดย ดร.บัณฑูร จิระวัฒนากูล (เฮียเป๋งฮวด) เจ้าของสวนส้มธนาธร ได้นำส้มพันธุ์โชกุนมาทดลองปลูกในพื้นที่ ซึ่งจากสภาพดินฟ้าอากาศที่เอื้ออำนวยทำให้ผลผลิตส้มที่ออกมานั้นมีคุณภาพดีขึ้นกว่าเดิม ดังนั้น ดร.บัณฑูรจึงตั้งชื่อส้มพันธุ์ที่ปลูกว่า " ส้มสายน้ำผึ้ง " ส้มสายพันธุ์นี้เป็นที่นิยมบริโภคและเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ โดยขายได้ราคาดีกว่าผลไม้ชนิดอื่น เช่น ลิ้นจี่ ลำไย และมะม่วง ดังนั้นเกษตรกรในท้องถิ่นจึงหันมาปลูกส้มสายน้ำผึ้งแทนผลไม้ชนิดอื่น ทำให้พื้นที่เพาะปลูกส้มสายพันธุ์นี้เพิ่มมากขึ้นและกระจายไปสู่อำเภอใกล้เคียง เช่น อำเภอเชียงดาวและอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ เป็นต้น (ปาน, 2543)

สัณฐานวิทยาของผลส้ม

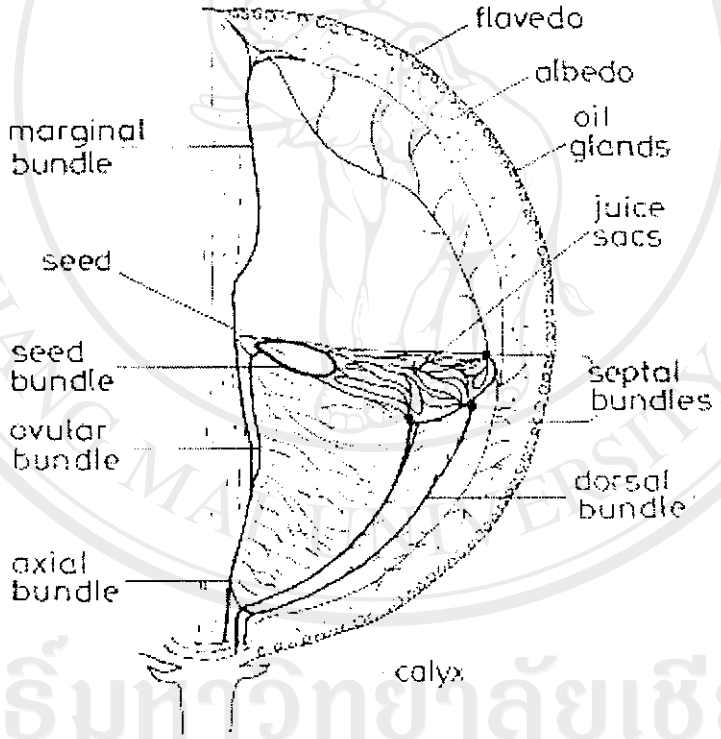
ส้มจัดเป็นผลไม้ hesperidium เจริญมาจาก superior ovary แบ่งตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันได้ 3 ส่วน (Ting and Attaway, 1971 อ้างโดย กฤษฎา, 2545)

1. ชั้นเปลือกนอก (exocarp) ประกอบด้วยส่วนที่เป็นสีของเปลือกส้ม หรือที่เรียกว่าชั้น flavedo ประกอบด้วยเซลล์จำนวนมากที่มีแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบ โดยจะเป็นตัวให้สีแสดงออกต่างๆกัน ในพืชตระกูลส้ม บนผนังเซลล์ด้านนอกของเซลล์ผิวถูกปกคลุมด้วยคิวติน (cutin) และขี้ผึ้ง (wax) เป็นเครื่องป้องกันการสูญเสียน้ำของผลส้ม ต่อมน้ำมันสามารถพบได้ในชั้น flavedo เป็นโครงสร้างที่เกาะติดกับผิวของส้ม ภายในประกอบไปด้วย essential oil โดยจะมีลักษณะแตกต่างกันออกไปตามแต่ละสายพันธุ์ส้ม

2. เปลือกชั้นกลาง (mesocarp) ถัดจากชั้น exocarp คือชั้น mesocarp หรือที่เรียกว่า albedo เป็นชั้นบางๆ สีขาว มีลักษณะคล้ายฟองน้ำ ประกอบด้วยสารจำพวกเพคตินและเฮมิเซลลูโลส ความหนาบางของชั้น albedo จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ เช่น ในส้มเขียวหวานหรือส้มจำพวกที่ปอกเปลือกง่ายเนื้อเยื่อชั้นนี้จะค่อนข้างบาง แต่ในเกรฟฟรุตและส้มโอพบว่าเนื้อเยื่อในชั้นนี้มักจะมีความหนาถึง 1-3 เซนติเมตร ชั้น albedo และ flavedo รวมกันจะเรียกเป็น pericarp ซึ่งโดยทั่วไปจะรู้จักกันว่าเป็นเปลือกส้ม (rind หรือ peel)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. เปลือกชั้นใน (endocarp) หรือ pulp จะประกอบด้วยกลีบส้มจำนวนมาก (carpels หรือ segments) ภายในกลีบส้มแต่ละกลีบประกอบด้วยเมล็ดเล็กน้อยและเต็มไปด้วยถุงน้ำส้มจำนวนมากที่เชื่อมติดกับผนังกลีบส้มโดย vesicle stalk โดยถุงน้ำส้มจะขยายตัวตามการพัฒนาของผลส้ม องค์ประกอบทางเคมีจะถูกสร้างขึ้นในเนื้อเยื่อ โดยจะมีความเข้มข้นขององค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันออกไปตามชนิดของเนื้อเยื่อ เช่นสาร flavonone glycoside ที่ผลิตในชั้นเนื้อเยื่อ albedo จะมีความเข้มข้นมากกว่าที่พบในถุงน้ำส้มหรือที่พบในชั้น flavedo และองค์ประกอบที่ทำให้รสขมจะพบมากที่เมล็ดและเนื้อเยื่อของถุงน้ำส้ม



ภาพ 1 ส่วนประกอบของโครงสร้างภายในผลส้ม

ที่มา : Spiegel-Roy and Goldschmidt, 1996

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะประจำพันธุ์ของส้มเขียวหวาน (อภิชาติ, 2543)

ส้มเขียวหวานจัดเป็นไม้ผลเขตกึ่งร้อน ไม่ชอบอากาศที่หนาวจัดเกินไปและสามารถปลูกได้ในดินทุกชนิด ลักษณะทั่วไปของส้มเขียวหวาน เป็นส้มเปลือกล่อน ติดผลตลอดปี แต่ออกมากช่วงเดือนกันยายน-กุมภาพันธุ์ ต้นเป็นพุ่มสูง 2-8 เมตร แน่นทึบ กิ่งที่แตกใหม่สีเขียวและเนื้อไม้อ่อน ต้นไม่มีหนาม เปลือกต้นเมื่อมีอายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน ใบแยกเป็น 2 ส่วน คือแผ่นใบและก้านใบ เป็นใบเดี่ยว รูปไข่ค่อนข้างยาว ผิวหลังใบสีเขียวเข้มออกดำเป็นมัน ใต้ใบมีสีตองอ่อน ขอบใบเรียบ และมีต่อมน้ำมันกระจายอยู่เต็มทั้งใบ ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ กลีบดอกสีขาวและมีต่อมน้ำมันกระจายอยู่ทั่วไป ทรงผลกลมแป้น ไม่มีจุก ส่วนสูงจะสั้นกว่าส่วนกว้าง วัดได้กว้าง 7.5 เซนติเมตร สูง 5.9 เซนติเมตร ผลที่มีขนาดใหญ่สูงประมาณ 6.5 เซนติเมตร ด้านก้นผลเรียบถึงเว้าเล็กน้อย ด้านขั้วผลมน เปลือกอ่อนบาง วัดได้หนา 0.2-0.3 เซนติเมตร ล่อน ปอกง่าย ผิวเปลือกเรียบ มีต่อมน้ำมันขนาดเล็กทั่วผล ผลแก่จัดผิวจะมีสีเขียวถึงเขียวอมเหลือง หรือเหลืองอมส้มจนถึงแดงอมส้ม เมื่อเจริญเติบโตในที่มีอากาศเย็น เช่น ทางภาคเหนือมีผิวผลสีเหลืองส้ม สีผิวสม่ำเสมอ เปลือกบาง ปอกง่าย มีกลิ่นหอมแรง ในหนึ่งผลมี 10–15 กลีบ แต่ละกลีบมีผนังบาง มีรกน้อย ชานนิ่ม เนื้อมีสีส้ม มีน้ำมาก และมีรสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย มีของแข็งที่ละลายน้ำได้ 12-13 องศาบริกซ์ และเมล็ดมีขนาดเล็กมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5–8 เซนติเมตร และยาว 4–7 เซนติเมตร ติดผลในลักษณะหัวห้อยลง เมล็ดมีรูปร่างรูปไข่หัวกลับ จำนวนเมล็ดมีมากน้อยแตกต่างกันในแต่ละกลีบ

ดัชนีการเก็บเกี่ยว

ดัชนีการเก็บเกี่ยวของส้มแต่ละพันธุ์อาจแตกต่างกัน เช่น ส้มพันธุ์วาเลนเซีย ต้องมีสีผิวเปลี่ยนอย่างน้อยประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ ส้มบางพันธุ์ใช้อัตราส่วนของของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรดและหาปริมาณของน้ำผลไม้ต่อน้ำหนักผล ซึ่งปริมาณจะผันแปรไปตามชนิดและพันธุ์ของส้ม (ดนัยและนิธิยา, 2535) สำหรับส้มเขียวหวานจะเริ่มเก็บเกี่ยวเมื่อมีอายุประมาณ 9.5–10.5 เดือนหลังจากดอกบานสีผิวเริ่มมีสีเหลือง มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ขั้นต่ำ 8.0-8.8 เปอร์เซ็นต์ (จริงแท้, 2542)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

✓ **โรคเน่าราสีเขียวของผลส้ม**

Snowdon (1990) ได้รายงานเกี่ยวกับโรคที่พบมากในระยะหลังเก็บเกี่ยวของส้ม คือ โรค aspergillus black mold rot (*Aspergillus niger* v. Tieghem) โรค grey mold rot (*Botrytis cinerea*

Press.) โรค sour rot (*Geotrichum canndidum* Link.) โรค stem end rot (*Dothiorella gregaria* Sacc., *Phomopsis citri* Frawcett., *Botryodiplodia theobromae* Pat.) โรค green mold rot (*Penicillium digitatum* Sacc.) และโรค blue mold rot (*P. italicum* Wehmer) ซึ่งโรค green mold rot และ blue mold rot นั้นพบได้ทุกที่ที่มีการปลูกส้ม เป็นโรคที่สำคัญและพบมากในระยะหลังเก็บเกี่ยวของส้ม ซึ่งพบได้ในหลายๆประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา คิวบา อิสราเอล อียิปต์ ออสเตรเลีย รวมถึงประเทศไทยด้วย ลักษณะอาการเริ่มแรกของทั้งสองโรคนี้ เริ่มจากจุดฉ่ำน้ำบริเวณเปลือกส้ม หลังจากนั้นก็จะมีกลุ่มเส้นใยของเชื้อราสีขาวเกาะอยู่บริเวณแผลและเริ่มสร้างสปอร์บริเวณกลางแผล โรค green mold rot มักพบกลุ่มของสปอร์สีเขียวกระจายอยู่ทั่วบริเวณแผลแต่โรค blue mold rot จะพบกลุ่มของสปอร์สีฟ้าบริเวณกลางแผลเท่านั้น มักพบเชื้อราทั้งสองชนิดนี้อยู่ด้วยกัน ในช่วงการขนส่งหรือการเก็บรักษามักพบโรค green mold rot มากกว่า เพราะว่าสามารถเจริญเติบโตได้เร็วกว่า

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุ *Penicillium digitatum*

การจัดจำแนกกลุ่มของเชื้อ *P. digitatum* จัดอยู่ใน (Alexopoulos, 1996)

Kingdom *Fungi*
Phylum *Deuteromycota*
Class *Deuteromycetes*
Order *Moniliales*
Family *Moniliaceae*
Genus *Penicillium*
Species *Penicillium digitatum*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *P.digitatum* (Barnett and Hunter, 1998)

จัดอยู่ในกลุ่ม Imperfect fungi ซึ่งเป็นจีนัส (genus) ที่ใหญ่ มีอยู่หลายสปีชีส์ (species) การจำแนกความแตกต่างระดับสปีชีส์ใช้ลักษณะของสปอร์เป็นเกณฑ์ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 25-30 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิสูงที่สุดที่สามารถเจริญได้ คือ 37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสม คือ 89-91 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะของโคโลนีเมื่อเลี้ยงบนอาหาร sugar gelatin, potato agar และ bean agar จะมีสีเขียวมะกอก รูปร่างไม่แน่นอน ไมซีเลียม (mycelium) เจริญแผ่กว้าง เส้นใยมีผนังกั้น (septate) และแตกแขนงฟูคล้ายปุยฝ้าย แตกเป็นกิ่งก้าน 2-3 กิ่ง โคนิดิโอฟอร์ (conidiophore)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

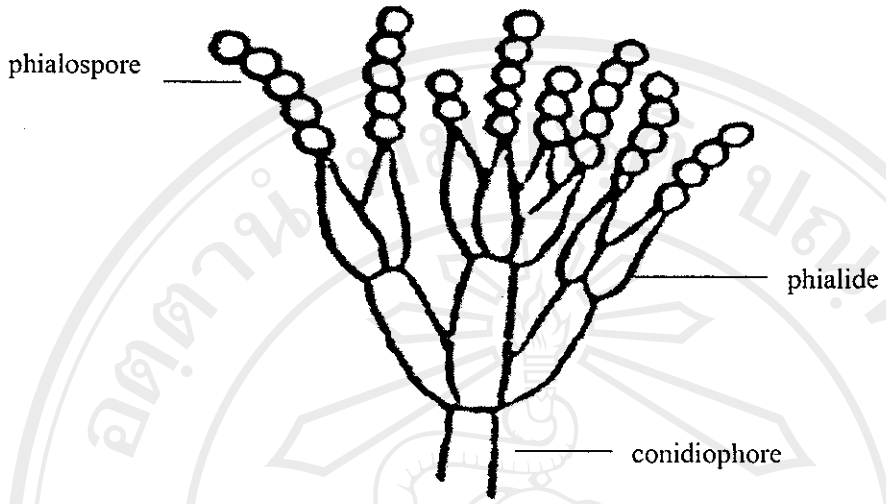
เกิดจากไมซีเลียม ไม่มีสี มีรูปร่างสั้น แตกแขนง มีแขนงไม่สม่ำเสมอ ยาวประมาณ 30-100 × 4-5 ไมโครเมตร สายของสปอร์มักจะพันกันยาวประมาณ 160 ไมโครเมตร ในบางครั้งจะพบโคโลนีที่มีสีน้ำตาลหรือสีดำด้วย ที่ปลายโคนิดิโอฟอร์แตกเป็นสาขาของ phialide และมีโคนิเดียหรือไฟอะโลสปอร์ (conidia or phialospore) เกิดที่ปลายยอดของ phialide มีสปอร์ 13-16 อัน จะมีสีอ่อน (hyaline) หนึ่งเซลล์ รูปร่างเม็ดกลมหรือทรงไข่ ขนาด 4-7 × 6-10 ไมโครเมตรต่อเป็นเส้นสาย

การสืบพันธุ์เป็นแบบไม่อาศัยเพศโดยสร้างโคนิเดีย แต่ถ้าพบว่ามีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยสร้างแอสโคสปอร์จะจัดไว้เป็นอีกจีนัสหนึ่ง การดำรงชีวิตเป็นแบบ saprophyte หรือเป็น parasite คือ เป็นปรสิตที่สามารถเจริญอยู่ได้โดยได้รับอาหารจากทั้งสิ่งมีชีวิต และไม่มีชีวิต สามารถเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในสภาพธรรมชาติสามารถขึ้นทำลายพืชและดำรงชีวิตอยู่ในซากพืชต่อไปได้อีกหลังจากพืชนั้นตายแล้ว แต่มีความเคยชินต่อการเจริญและดำรงชีวิตอยู่ในสภาพการเป็นปรสิตมากกว่า (ไพโรจน์, 2525) ทำความเสียหายเฉพาะพืชตระกูลส้มเท่านั้น และเป็นเชื้อโรคอย่างอ่อน (weak parasite) จึงเข้าทำลายทางบาดแผลเท่านั้น

ภาพ 2 ลักษณะของเชื้อราสาเหตุ *Penicillium digitatum*

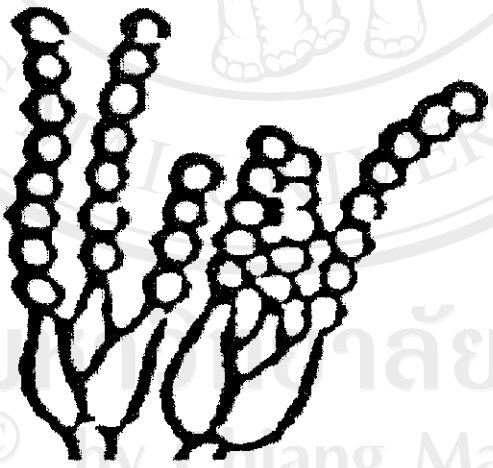
ที่มา : Barnett and Hunter, 1998

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 3 ปลาย conidiophore ของเชื้อราสาเหตุ *P. digitatum* แตกแขนงเป็นกลุ่ม phialide

ที่มา : Barnett and Hunter, 1998



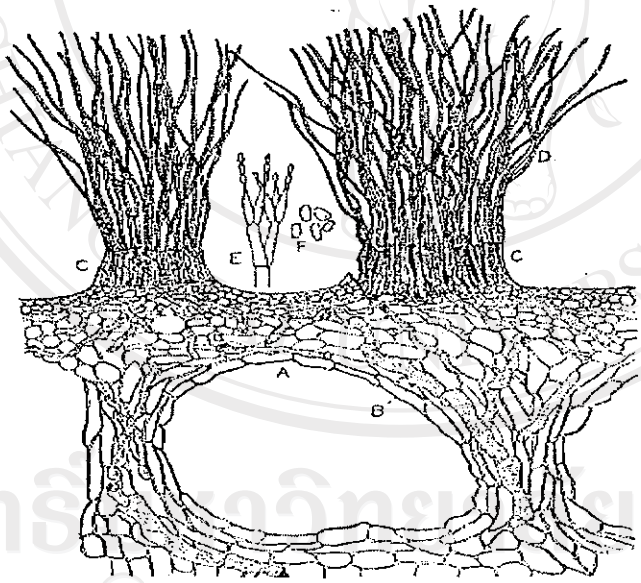
ภาพ 4 Phialospore มีสีอ่อน เซลล์เดี่ยว รูปร่างกลมหรือทรงไข่ ต่อเป็นเส้นสาย

ที่มา : Barnett and Hunter, 1998

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะอาการโรคเน่าราสีเขียว

เชื้อ *Penicillium digitatum* สามารถเข้าทำลายผลิตผลทางบาดแผลเท่านั้น อาการจะเริ่มที่เปลือกของผลส้ม โดยเกิดเป็นจุดฉ่ำน้ำที่เปลือก เนื้อเยื่อจะนิ่ม แผลมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตรแผลจะค่อยๆ ขยายออกไปเป็นวงกว้าง เมื่อกดด้วยนิ้วจะทะลุถึงส่วนที่เป็นเนื้อได้ ต่อมาลักษณะอาการนิ่มนี้จะเกิดทั่วทั้งผล บริเวณที่เป็นจุดฉ่ำน้ำจะมีเส้นใยสีขาวเจริญปกคลุม เส้นใยจะสร้างกลุ่มของสปอร์สีเขียวมะกอกขึ้นมาตรงบริเวณกลางแผล สปอร์สีเขียวมะกอกจะฟุ้งกระจายได้ง่าย ปัจจัยสำคัญที่ทำให้การเข้าทำลายของเชื้อรา *P. digitatum* ประสบความสำเร็จ ได้แก่ จำนวนสปอร์ของเชื้อราและความลึกของบาดแผล บาดแผลที่ลึกถึงแค่ชั้น flavedo หรือบริเวณส่วนนอกสุดของเปลือกเป็นส่วนที่มีสีส้ม เหลือง ของชั้นเปลือกหุ้มผลพบว่ามีอัตราการเข้าทำลายต่ำ เนื่องจากบาดแผลที่ผลส้มจะมีการพัฒนาในการต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อรา เป็นผลมาจากการเกิด lignification และบาดแผลที่ลึก 2-3 มิลลิเมตร ซึ่งลึกถึงชั้น albedo หรือบริเวณส่วนสีขาว ลักษณะคล้ายฟองน้ำของชั้นเปลือกหุ้มผล พบว่ามีอัตราการเข้าทำลายที่สูง (Eckert and Brown, 1992)



ภาพ 5 เชื้อราสาเหตุ *Penicillium digitatum* ที่เข้าทำลายบริเวณผิวส้ม

A คือ ต่อมน้ำมัน B คือ เส้นใยของเชื้อรา
C คือ ลักษณะของแผลที่เป็นตุ่ม D คือ ก้านชูสปอร์
E คือ สปอร์ที่เกิดบริเวณปลายเส้นใย F คือ สปอร์
ที่มา : Fawcett, 1936

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กระบวนการเกิดโรค

กระบวนการเกิดโรคนั้นต้องประกอบด้วยองค์ประกอบ 3 อย่างที่สอดคล้องกัน หรือที่เรียกว่า disease triangle ได้แก่ พืชอาศัย (host) เชื้อจุลินทรีย์ (pathogen) และสภาพแวดล้อม (environment) ที่เหมาะสม แต่ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันแล้วว่า ส่วนประกอบของโรคมีปัจจัยเพิ่มขึ้นเป็นปัจจัยที่ 4 คือ เวลา (time) ได้แก่ ระยะเวลาที่พืชและเชื้อโรคสัมผัสกัน ระยะเวลาที่ใบเปียกในขณะที่มีอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเกิดโรค ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการแพร่กระจายของสปอร์ การงอกของสปอร์ ตลอดจนการติดเชื้อ เป็นต้น (ไพโรจน์, 2525) ผลิตผลที่ยังคงความแข็งแรง มีการป้องกันตัวเองดีทั้งด้านกายภาพและเคมี โอกาสที่จะเกิดโรคเป็นไปได้น้อยซึ่งตรงข้ามกับผลิตผลที่เข้าสู่ระยะชราภาพ (senescence) หรือที่เกิดบาดแผล ความแข็งแรงและระบบป้องกันตัวเองลดลง เชื้อจุลินทรีย์สามารถเข้าทำลายได้ง่าย (จริงแท้, 2541) โดย *P. digitatum* นั้นจะสร้างสปอร์จำนวนมาก โดยลมและฝนจะลอยไปในอากาศ และสปอร์จะติดปนเปื้อนบริเวณผิวส้ม ลำต้น ดินที่ปลูก อุปกรณ์เครื่องใช้ และสถานที่ใกล้เคียง โดยเชื้อนี้เป็น weak parasite จะเข้าทำลายทางบริเวณที่เกิดบาดแผล

ขั้นตอนการพัฒนาของโรค (disease cycle)

วงจรโรค เป็นการเจริญของโรคบนพืชรวมทั้งระยะต่างๆ ของการเจริญของเชื้อและผลของโรคพืชนั้นที่เกิดต่อเนื่องกัน โดยเริ่มตั้งแต่ การปลูกเชื้อบนพืช (inoculation) การแทงผ่าน (penetration) การติดเชื้อ (incubation period) การเจริญลุกลามของเชื้อในพืช (invasion) การขยายพันธุ์ของเชื้อ (reproduction of the pathogen) การแพร่กระจายของเชื้อ (dissemination of the pathogen) และการอยู่ข้ามฤดูของเชื้อ (overwintering of the pathogen)

การปลูกเชื้อบนพืช

การปลูกเชื้อเป็นขบวนการที่เชื้อหรือหน่วยขยายพันธุ์ของเชื้อที่สามารถก่อโรคได้ถูกนำไปสัมผัสกับพืช เชื้อหรือส่วนของเชื้อนั้น เรียกว่า inoculum หน่วยขยายพันธุ์ที่เป็น inoculum เหล่านี้ต้องเจริญเป็นส่วนเจริญของเชื้อก่อนจึงจะสามารถทำให้พืชติดเชื้อได้ เช่น สปอร์ ขบวนการงอกและระยะเวลาที่ใช้ดังกล่าว จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม เช่น ความชื้น อุณหภูมิ และการกระตุ้นทางเคมีที่เกิดจากการซึมผ่านของสารที่ออกจากพืช สปอร์บางชนิดต้องการเวลาไม่กี่นาทีแต่บางชนิดเป็นชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การแทงผ่านเข้าสู่พืช

เชื้อเข้าสู่พืชได้โดยทางแผลหรือทางรูเปิดตามธรรมชาติ เช่น ปากใบ hydratodes, lenticel หรือทางผิวพืชโดยตรง เชื้อสามารถเข้าสู่พืชได้โดยทางเดียวหรือหลายทางขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ เชื้อบางโรคอาจผ่าน cuticle แล้วพืชก็สามารถติดเชื้อได้ การเข้าสู่พืชของเชื้อทางผิวพืชโดยตรงเกิดขึ้นได้ด้วยแรงกล (mechanical pressure) ของเชื้อที่ผิวพืช หรือโดยเอนไซม์ที่เชื้อสร้างขึ้นไปย่อยเซลล์ผิวพืชตรงจุดที่เชื้อสัมผัสเป็นการเปิดทางให้เชื้อเข้าสู่พืช ส่วนมากการเข้าสู่พืชของเชื้อมักเกิดร่วมกันทั้งแรงกลและการสร้างเอนไซม์ของเชื้อ

การติดเชื้อ

การติดเชื้อ เป็นขบวนการที่เชื้อโรคได้ใช้อาหารจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืช การติดเชื้อจะเกิดขึ้นได้โดยที่เชื้ออยู่ในระยะที่ทำให้เกิดโรคได้ มีพืชอาศัยและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม การติดเชื้อนี้เชื้อบางชนิดจะฆ่าเซลล์ก่อนล่วงหน้า ทำให้เนื้อเยื่อส่วนนั้นเปลี่ยนไป แต่เชื้อจะไม่ฆ่าเซลล์เลย หรือชั่วระยะเวลาหนึ่ง และเชื้อจะได้อาหารจากเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่นั้น สร้างสารต่างๆ ทำให้โครงสร้างของเซลล์พืชและเนื้อเยื่อเปลี่ยนไป ส่วนพืชเองก็มีปฏิกิริยาตอบโต้ป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อ โดยระดับของการต้านทานโรคของพืชจะขึ้นอยู่กับกลไกของพืชแต่ละชนิดและพันธุ์ซึ่งปรากฏให้เห็นได้ชัดจากการเจริญของโรคและการตายของพืชที่เป็นโรคนั้น

ระยะฟักตัว

ระยะฟักตัวเป็นระยะเวลาที่เริ่มต้นจากการติดเชื้อจนถึงพืชแสดงอาการของโรคให้เห็น ระยะเวลาที่ใช้ในการฟักตัวของโรคนี้ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาของเชื้อและพืชร่วมกัน ตลอดจนสิ่งแวดล้อมซึ่งเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดโรค ระยะฟักตัวของโรคที่เกิดกับพืชอายุสั้นปีเดียว มักพบประมาณ 2-3 วัน จนถึง 2-3 สัปดาห์

การเจริญลุกลามของเชื้อในพืช

เป็นการเกิดต่อเนื่องจากการติดเชื้อ โดยเชื้อเจริญแพร่จากเนื้อเยื่อที่เป็นโรคไปยังส่วนอื่นๆ เชื้อบางชนิดมีขอบเขตจำกัดเจริญอยู่เฉพาะบริเวณใต้ผิว cuticle เท่านั้น เช่น เชื้อรา *Venturia inaequalis* สาเหตุโรค scab ของแอปเปิล

การขยายพันธุ์ของเชื้อ

หลังจากมีการติดเชื้อแล้ว เชื้อจะเพิ่มขนาดและทวีจำนวนมากขึ้น เชื้อราทวีจำนวนโดยการเจริญเป็นเส้นใยมากมาย แล้วสร้างสปอร์แบบใช้เพศ และ/หรือ ไม่ใช้เพศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การแพร่กระจายของเชื้อ

เชื้อโรคบางชนิดสามารถเคลื่อนที่ได้เองแต่ก็ไม่สู้มีความสำคัญมากนัก เพราะมีระยะใกล้กันมาก เช่น บักเตรีและ zoospore ของเชื้อรา สามารถว่ายน้ำได้ไกลประมาณ 2-3 เซนติเมตร การเจริญของเส้นใยสามารถไปได้ไกลหลายเมตร การแพร่กระจายของเชื้อโรคสามารถไปได้ไกลอย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีขนาดเล็ก โดยติดไปกับ ลม น้ำ แมลง มนุษย์และสัตว์ต่างๆ

การอยู่ข้ามฤดูของเชื้อ

เชื้อสาเหตุโรคของพืชอายุหลายปีมักอยู่ในรูปของเชื้อที่เป็นส่วนเจริญ ส่วนในพืชอายุสั้นจะมีชีวิตอยู่นอกฤดูปลูกพืชในลักษณะของสปอร์ที่พักตัว (resting spore) อยู่ในดิน หรือเศษซากพืช

สภาพที่เหมาะสมต่อโรคที่เกิดจากเชื้อรา

เชื้อราต้องการออกซิเจนและอินทรีย์วัตถุเพื่อการเจริญเติบโต การขยายพันธุ์ และการทำให้พืชเกิดโรค เชื้อราไม่สามารถใช้แสงสว่างเพื่อการสังเคราะห์ หรือปรุงอาหารเหมือนพืชสีเขียวทั่วไป เชื้อราจึงเจริญเติบโตได้ดีในที่มืดและชื้น มีอากาศถ่ายเทน้อย เพื่อไม่ให้สูญเสียความชื้นมากไป บางชนิดอาจชอบเจริญในสภาพอากาศเย็น แต่เชื้อราส่วนมากเจริญได้ดีที่สุดระหว่างอุณหภูมิ 20-30 องศา-เซลเซียส ซึ่งมักอยู่ในช่วงฤดูที่เพาะปลูกพืชในท้องถิ่นต่างๆทั่วไป

สภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญและการขยายพันธุ์ของเชื้อรา มักเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของโรคด้วย การปลูกพืชในร่ม หรือปลูกใกล้ชิดกันมากเกินไป มีอากาศถ่ายเทน้อย อากาศชื้น ทำให้เชื้อราเข้าทำลายพืชได้ง่ายกว่าการปลูกพืชที่มีระยะห่าง มีอากาศถ่ายเทสะดวก และพืชได้รับแสงแดดพอเพียงเพราะพืชที่อยู่ในที่ร่มนั้นหลังจากฝนตกแล้วใบพืชเปียกอยู่นานทำให้เชื้อราเจริญเร็ว เข้าทำลายพืชได้ง่าย ตลอดจนพืชเองอาจปรุงอาหารไม่พอเพียงต่อการเจริญเติบโตเพราะขาดแสงแดด (ไพโรจน์, 2525)

วัตถุประสงค์ของการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีต่อเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชโดยทั่วไป

1) เพื่อลดโอกาสของการเกิดโรค โดยลดปริมาณเชื้อก่อโรคด้วยการลดความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อโรคในระยะที่ปลูกพืช และเป็นการลดการสร้างส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อโรคที่มีชีวิตหรือลดการแพร่กระจาย (epidermis) ของการเจริญเติบโตของเส้นใยรา

2) ลดการติดเชื้อโรค (infection) บนสิ่งที่อาศัย

3) ลดความเสียหายในการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control หรือ biocontrol)

การควบคุมโดยชีววิธี หมายถึง การลดปริมาณเชื้อก่อโรค (inoculum) หรือการลดกิจกรรมการเกิดโรคของเชื้อโรคหรือปรสิตที่อยู่ในระยะที่มีปฏิกิริยา (active) หรือระยะที่พักตัว (dormant) ด้วยการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งหรือมากกว่าเข้ามาทำการป้องกันกำจัด เพื่อให้บรรลุผลสำเร็จโดยวิธีธรรมชาติ หรือโดยการจัดการสิ่งแวดล้อม สิ่งอาศัย จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ หรือ ด้วยการนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) ชนิดหนึ่งหรือมากกว่ามาใช้ในการควบคุม (เกษม, 2532)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี เป็นวิธีการที่ได้รับความสนใจมากในประเทศต่างๆ เพราะเป็นวิธีการที่ประยุกต์พฤติกรรมทางธรรมชาติ โดยทำการศึกษาค้นคว้าเพื่อนำเอาจุลินทรีย์ที่สามารถควบคุมจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชมาใช้ประโยชน์ เพื่อแก้ปัญหาการแพร่ระบาดของโรคพืชที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ ซึ่งวิธีการนี้คนส่วนใหญ่อาจมองข้ามความสำคัญไปจนกระทั่งเมื่อประสบปัญหาในการป้องกันโรคพืชโดยใช้สารเคมีแล้วจึงจะมองหาวิธีการอื่นๆ มาลองใช้ การใช้สารเคมีในการคุมโรคพืชไม่เพียงแต่จะทำลายจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชเท่านั้น แต่ยังทำลายจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์หรือสิ่งมีชีวิตในบริเวณนั้น ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยงด้วยเช่นกัน และสารเคมียังก่อให้เกิดปัญหาพิษตกค้างบนต้นพืช ในดิน ในน้ำ ทำให้เกิดมลพิษขึ้นในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้การใช้สารเคมีเป็นเวลานานไปจะทำให้จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชมีความต้านทานและใช้สารเคมีนั้นไม่ได้ผลอีก ซึ่งเป็นผลจากการใช้สารเคมีอย่างไม่ถูกต้อง โดยเฉพาะเชื้อบางสายพันธุ์อาจมีการเปลี่ยนแปลง (variation) หรือกลายพันธุ์ (mutation) เกิดขึ้นได้เสมอ และการกลายพันธุ์ของเชื้อโรคพืชที่เกิดขึ้นในต่างประเทศกับในประเทศไทยอาจไม่เหมือนกัน การใช้สารเคมีที่ได้รับการแนะนำจากบริษัทที่นำเข้าสารเคมีจากต่างประเทศอาจให้ข้อมูลจากต่างประเทศมาใช้แก้ปัญหาซึ่งเมื่อนำมาใช้สำหรับพื้นที่ในประเทศไทยอาจไม่ได้ผล ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น เนื่องจากสารเคมีมีราคาแพง ดังนั้นควรมีการค้นคว้าวิจัยป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยวิธีอื่นที่ได้ผลดีมีประสิทธิภาพ ปลอดภัย ประหยัด และได้ผลอย่างถาวรในระยะยาว

งานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโรคพืชในประเทศไทย นอกจากจะใช้สารเคมีและสายพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคแล้ว พบว่าการใช้จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคนั้นมีแนวโน้มสูงมากที่จะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง จึงเกิดแนวคิดที่จะคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุม *P. digitatum* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคราเขียวในประเทศไทย และหาวิธีการใช้แอนทาโกนิสต์ในการควบคุมโรคพืชให้มีประสิทธิภาพสูงสุด ทั้งนี้เนื่องจากการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์นอกจากจะยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคแล้ว เชื้อนี้ยังมีชีวิตรอดและเพิ่ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณได้มากเมื่อได้รับสารอาหารหรือเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม วิธีการใช้จะทำได้โดยใช้จุลินทรียปฏิปักษ์ฉีดพ่นลงบนผลผลิตพืชเป้าหมายที่ต้องการควบคุมการระบาดของเชื้อโรคพืช ดังนั้นการควบคุมโรคพืชแบบนี้จึงสามารถที่จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตผลหลังเก็บเกี่ยวได้ต่อเนื่องและยาวนานกว่าการใช้สารเคมีที่ให้ผลในการควบคุมโรคแต่เพียงระยะเวลาสั้นๆ ซึ่งจะสิ้นเปลืองค่าสารเคมีและค่าแรงงานมาก

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist)

Baker and Cook (1974) อ้างโดย มธุรส (2543) ได้กล่าวว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถเป็นตัวต่อต้านโรคพืชนั้น จะต้องมีคุณสมบัติในการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชและสามารถเจริญเติบโตได้ดีในบริเวณรอบๆ รากของพืชเช่นเดียวกับเชื้อสาเหตุ

กลไกการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืช แบ่งเป็น 3 กระบวนการ ได้แก่

1. การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) และการทำลายเชื้อโรค (lysis)

กระบวนการสร้างสารปฏิชีวนะ หมายถึง การยับยั้งของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่เกิดขึ้นจากสารที่สร้างขึ้นจากสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง (เกษม, 2532) โดยทั่วๆ ไปแล้วสารดังกล่าวนี้จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและอาจทำให้ตายได้ สารที่สร้างขึ้นอาจจะซึมผ่านเข้าสู่เซลล์และความเป็นพิษของสารเคมีดังกล่าวมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง สารนี้อาจเรียกโดยทั่วไปว่า สารปฏิชีวนะ (antibiotics)

การเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืช (มธุรส, 2543) เป็นการทำให้สารประกอบในเซลล์ของเชื้อสาเหตุเกิดการเน่าสลาย (lysis) หรือถูกทำลาย (damage) แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ

1) Exolysis เป็นการย่อยผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุด้วยน้ำย่อยซึ่งหลั่งออกมาภายนอกเซลล์ของจุลินทรีย์ต่อต้านโรค

2) Endolysis เป็นการทำให้ภายในเซลล์ของเชื้อสาเหตุเกิดความเสียหายด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งทำให้กระบวนการภายในเซลล์ของเชื้อสาเหตุนั้น มีการเปลี่ยนแปลงในส่วนของกระบวนการเมแทบอลิซึมหรือกระบวนการสร้างภูมิคุ้มกัน โดยเกิดขึ้นจาก

2.1) การเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมแทบอลิซึมภายใน ซึ่งเกิดจากเนื่องจากการมีอายุมากหรือแก่ การขาดธาตุอาหาร ความไม่สามารถในการใช้ธาตุอาหารเนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น การขาดออกซิเจน หรือการสะสมของสารพิษที่สร้างขึ้นมาเอง ความเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้เอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มีผู้เรียกว่า autolysis และยังเป็นผลจากจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรียซึ่งเพิ่มขยายจำนวนอยู่รอบๆ เส้นใยราที่ทำให้เส้นใยของราเกิดรูรั่วเพิ่มมากขึ้นและตายในที่สุด ลักษณะดังกล่าวนี้ปกติเรียกว่า heterolysis จุลินทรีย์อาจเป็น saprophyte แท้ๆ อยู่บนผิวหน้าของเส้นใยที่ตายแล้วหรืออาจเป็นอันตรายต่อเส้นใยที่มีชีวิตด้วยการสร้างสารพิษโดยการเพิ่มการไหลออกจากเซลล์ หรือโดยการใช้ออกซิเจนและธาตุอาหารจากภายนอก การเกิดการเข้าทำลายของเชื้อโรคภายใน (endolysis) นั้นส่วนมากแล้วจะเกิดในดิน

2.2) สารพิษที่สร้างจากสิ่งมีชีวิตอื่น หรือจากการเน่าสลายของอินทรีย์วัตถุ หรือจากการที่มนุษย์ใช้สารป้องกันกำจัดรา ผลของคาร์บอนไดออกไซด์ในระดับต่ำ และการใช้ความร้อนอ่อนๆ มีผลต่อเส้นใยรา ซึ่งตัวอย่างดังกล่าวนี้เป็นผลจากสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ซึ่งอาจซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ ไม่สามารถละลายรวมกับ protoplasm มีผลทำให้เซลล์แตกและตายในที่สุด ลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อโรคภายในนี้ได้ทำให้เซลล์แห้งตาย เนื่องจากแบคทีเรียอาจจะถูกยับยั้งด้วยสารปฏิชีวนะ bacteriocin ที่สร้างจากแบคทีเรีย streptomycin จากแอคติโนมัยซี และเพนนิซิลลินจากรา

2.3) การเกิดปฏิกิริยา การสร้างภูมิคุ้มกัน (immunological reaction) แบคทีเรียรวมกับ antibody ซึ่งสร้างโดยสัตว์ซึ่งเกิดปฏิกิริยาป้องกัน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้สารในเซลล์รั่วออกมา สิ่งนี้มักเกิดกับเชื้อโรคของสัตว์ และอาจเกี่ยวข้องกับความตายอันเนื่องจากความไม่สามารถรวมกันกับ cytoplasm (lethal cytoplasmic incompatibility) หรือเรียกว่า killer reaction ที่เกิดขึ้นในระหว่างสายพันธุ์ (strains) ที่แตกต่างกันของราในอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น (เกษม, 2532)

2. การแข่งขันซึ่งกันและกัน (competition)

เป็นการพยายามของสิ่งมีชีวิตสองชนิดหรือมากกว่าในการที่จะได้รับอาหาร ซึ่งสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่มีลักษณะรูปร่างเฉพาะและอยู่ภายใต้สภาพที่เฉพาะ และเมื่ออาหารมีไม่เพียงพอต่อสิ่งมีชีวิตทั้งสองมีผลทำให้เกิดการแข่งขันหรือแย่งอาหารกันบนวัสดุรองรับนั้นๆ นับว่ามีความจำเป็นยิ่งในการแข่งขันซึ่งกันและกันในการได้รับอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งคาร์โบไฮเดรตที่มีพลังงานสูง และไนโตรเจนและปัจจัยที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตอื่นๆ นอกจากนี้การแข่งขันซึ่งกันและกัน ยังอาจเป็นการแย่งใช้ออกซิเจน หรือแย่งพื้นที่อาศัย แต่จะไม่แข่งขันกันในแง่ศักยภาพของน้ำ, อุณหภูมิ และสภาพความเป็นกรดและด่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การเป็นปรสิตในเชื้อสาเหตุของโรค (parasitism)

การที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งมีความสามารถในการเข้าทำลายจุลินทรีย์ที่เข้าอาศัย (host) ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคและเพิ่มจำนวนเชื้อในเซลล์ของ host นั้น รวมทั้งสามารถใช้องค์ประกอบภายในเซลล์และขบวนการทางชีวเคมีของเชื้อสาเหตุได้ เช่น bacteriophage, *Tuberculina* และ *Fusarium* เป็นปรสิตของราสนิม และ *Pythium* เป็นต้น (ปฏิพันธ์, 2544)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโดยชีววิธี

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโดยชีววิธีมี 4 อย่างด้วยกันคือ พืชอาศัย (host plant) เชื้อโรค (pathogen) สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ (physical environment) และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist หรือ microantagonist) (Baker and Cook, 1974 อ้างโดย ปฏิพันธ์, 2544)

1. พืชอาศัย (host plant)

ในธรรมชาติพืชอาศัยเกี่ยวข้องอย่างมากต่อการควบคุมโรคโดยชีววิธี เนื่องจากมีส่วนช่วยควบคุมปริมาณเชื้อโรค โดยสารที่ปลดปล่อยออกมาจากรากพืช (plant exudate) มีคุณสมบัติเป็นสิ่งกระตุ้นและเป็นอาหารสำหรับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ รวมทั้งเชื้อโรคด้วย เช่นกัน ดังนั้นพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อโรค เมื่อมีเชื้อโรคเข้าทำลายจะเกิดอาการของโรคอย่างรุนแรง เว้นแต่ว่าในสภาพแวดล้อมนั้นจะมีเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เหมาะสมต่อการกำจัดโรคอยู่ แต่ถ้าพืชอาศัยมีความต้านทานโรค ถึงแม้ว่าจะมีเชื้อโรคเข้าทำลาย ก็อาจจะเกิดโรคเพียงเล็กน้อยหรือไม่เกิดเลยไม่ว่าสภาพแวดล้อมจะเหมาะสมหรือไม่

2. เชื้อโรค หรือ ปรสิต (pathogen or parasite)

ปรสิต หมายถึง สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่อาศัยอยู่ในหรือบนสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง และได้รับอาหารพวกสารอินทรีย์จากสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น ทั้งนี้อาจเป็นหรืออาจจะไม่เป็นเชื้อโรคก็ได้ เชื้อโรค หมายถึง สิ่งมีชีวิตที่เข้าทำลายพืชอาศัยแล้วมีผลต่อการแสดงอาการผิดปกติต่างๆ ที่เกิดกับพืชได้ ซึ่งเชื้อโรคมีทั้งสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรครุนแรง (virulent strains) และสายพันธุ์ที่ไม่รุนแรง (avirulent strains) ดังนั้นการเกิดโรคขึ้นอยู่กับว่าสายพันธุ์ใดที่เข้าทำลาย เชื้อโรคส่วนมากเข้าสู่พืชอาศัยและเจริญอยู่ในพืชก่อนที่พืชจะแสดงอาการ ฉะนั้นการที่จะป้องกันเชื้อโรคดังกล่าวได้โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์นั้น จะต้องใช้ก่อนที่พืชจะได้รับเชื้อสาเหตุ ซึ่งในการควบคุมโรคโดยชีววิธีสามารถใช้สายพันธุ์ที่ไม่รุนแรงต่อการเกิดโรคมาควบคุม ก่อนที่จะมีเชื้อสาเหตุของโรคที่รุนแรงเข้าทำลาย จึงเป็นการป้องกันกำจัดที่ได้ผลอีกวิธีหนึ่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ (physical environment)

สิ่งแวดล้อมเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีบทบาทต่อการควบคุมโรคโดยชีววิธี เนื่องจากสภาพแวดล้อมทางกายภาพ เช่น ระดับน้ำในดิน ระดับการระบายอากาศในดิน ศักยภาพของน้ำ (water potential) และระดับความเข้มข้นของก๊าซที่แตกต่างกัน รวมทั้งสิ่งต่างๆ ที่ละลายอยู่ในดิน มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ เป็นต้น

4. จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist)

ปัจจุบันพบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวนมาก ที่มีคุณสมบัติในการเป็น biocontrol agent เช่น *Actinoplanes*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Amorphosporangium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Hafnia*, *Micromonospora*, *Pseudomonas*, *Pasteuria*, *Rhizobium*, *Streptomyces* และ *Xanthomonas* (Weller, 1998) โดยในปัจจุบันการเก็บเกี่ยวโดยชีววิธี ที่ปรากฏเป็นรายงานแล้วมีในผลไม้หลากหลายชนิด เช่น ผลไม้ในตระกูลแอปเปิล มะนาว และผลไม้ในเขตร้อนอีกหลายชนิด โดยในขณะนี้แบคทีเรีย ได้แก่ *Pseudomonas syringae* และ ยีสต์ *Candida oleophila* Montrocher ได้รับการจดทะเบียนโดย US Environment Protection Agency (EPA) เพื่อใช้สำหรับควบคุมโรคภายหลังการเก็บเกี่ยวของแอปเปิล ลูกแพร์ และพืชจำพวกมะนาว (Teixido *et al.*, 1999) นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์จากเชื้อราอีกบางส่วน (ตาราง 3) ที่ได้ผลิตเป็นสารควบคุมโดยชีววิธีเชิงการค้าแล้วในยุโรปซึ่งคาดว่าจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นในอีกไม่กี่ปีข้างหน้านี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 3 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการค้าของยุโรปที่ผลิตจากเชื้อรา ซึ่งใช้เป็นสารควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

Active ingredient	Target	Crops	Trade name (company)
Coniothyrium Minitans	*Sclerotinia sclerotiorum, S. minor*	Vegetable and field crops	Contans (Prophyta, Germany)
	S. sclerotiorum	Sunflower	(Russian Government)
Non-pathogenic *Fusarium oxysporum*	*F. oxysporum*	Carnation and tomato	Fusaclean L and G [Fo47] (NPP, France)
Gliocladium catenulatum	*Pythium* spp, *Rhizoctonia* spp, *Botrytis* spp, *Didymella* spp	Greenhouse ornamentals and vegetables	PreStop [formerly Primastop] (Kemira Agro Oy, Finland)
Peniophora (Phlebiopsis) gigantea	*Heterobasidion annosum*	Stem and root rot of pine	PG suspension (Ecological Laboratoties Ltd and the Forestry Commission, UK) Rotstop (Kemira Agro Oy, Finland)
Trichoderma spp	*Pythium* spp, *Sclerotinia* spp, *Verticillium* spp	Fruit and vegetables	Trichodermin (Bulgarian and Soviet Governments)
	Various fungi (mainly *Trichoderma* spp)	Fruit and vegetables	Solsain, Hors-Solsain, Platsain (Prestabiol, France)
	Pythium spp, *R. solani* And other soil-borne pathogens	Flowers, strawberry, trees, vegetables	Bio-Fungus (De Ceuster, Belgium)
	Fusarium spp, *P. ultimum, R. solani, S. homeocarpa*	Range of crops, ornamentals and turf	Tri002 and Tri003 (Asperg, Germany)
	Various fungi	Ornamentals, Forest trees and pea	Supresevit (Borregaard and Reitzel, Denmark, and Fytovita, Czech Republic)
	Armillaria mellea (honey fungus)	Trees	Harzian 20 (NPP, France)
	Pythium spp, *Sclerotinia* spp	Fruit and vegetables	Harzian 10 (NPP, France)
T. harzianum	Soil-borne pathogens	Protected crops	Binab-T WP (Binab, Sweden)
T. polysporum	*Botrytis cinerea*	Strawberry	Binab-T WP (Binab, Sweden)
T. viride	*Phytophthora* spp	Ornamentals	Bip T (Poland)

ที่มา : De Vrije *et al.*, 2001

เนื่องจากในการใช้สารเคมีนั้นทำให้เชื้อโรคเกิดการดื้อยา ยกตัวอย่างในผลไม้ เช่น แอปเปิล ซึ่งมักใช้ thiabendazole (TBZ) หรือยาฆ่าเชื้อรา benzimidazole แช่ผลแอปเปิลก่อนการเก็บแช่แข็ง หรือสเปรย์ผลก่อนที่จะทำการบรรจุหีบห่อ ซึ่งผลที่เกิดตามมาก็คือ เกิดการดื้อยา benzimidazole ของ *Penicillium expansum* ในโรงเก็บ Zhou *et al.* (2001) จึงคิดแนวทางในการป้องกันโรคที่เกิดจากราสีน้ำเงิน *P. expansum* และราสีเทา *Botrytis cinerea* ในแอปเปิล แบบชีววิธี โดยทำการแยกเชื้อบริเวณ phyllospore ของต้นแอปเปิลและแยก *Pseudomonas syringae* ได้ 3 สายพันธุ์ คือ MA-4, MD-3b และ NSA-6 จากการทดสอบพบว่า *P. syringae* ทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ความเข้มข้น $1x10^7$ CFU/ml สามารถยับยั้งการเจริญของราสีน้ำเงินได้ 78-94% หลังจากเพาะเชื้อไปแล้วที่ 20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

และควบคุมได้ 64-70% ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน ส่วนราสีเทา *B. cinerea* ก็มีการลดลงของโรคอย่างมีนัยสำคัญกับไอโซเลท MD-3b, NSA-6 และ MA-4 ภายใต้สภาวะเดียวกัน แต่ว่าความเข้มข้นของไอโซเลท MA-4 และ NSA-6 จะต้องใช้ความเข้มข้นมากกว่าในการยับยั้งการเจริญราสีน้ำเงินเมื่อเปรียบเทียบกับเมื่อใช้ในราสีเทา ส่วนชุดการทดลองที่ทำการสเปรย์ด้วยไอโซเลท MA-4 มีการยับยั้งการเจริญของราสีฟ้าที่เกิดบนแอปเปิลพันธุ์ Empire และ Delicious แบบมีนัยสำคัญที่อุณหภูมิ 18 และ 4 องศาเซลเซียส ส่วนการควบคุมที่สภาวะเมื่อเก็บเพื่อจำหน่ายนั้น โดยการจุ่มผลด้วยสายพันธุ์ MA-4 จะควบคุมราสีน้ำเงิน ได้อย่างมีนัยสำคัญต่อแอปเปิลพันธุ์ Empire และ Delicious และมีผลในการควบคุมมากกว่าการใช้ Biosave™ ซึ่งเป็น biofungicide ที่ใช้อยู่ทั่วไป นอกจากนี้ยังมีผลการทดสอบที่แสดงถึงความสามารถของ MA-4 ที่ความเข้มข้น 1×10^{7}CFU/ml ว่าสามารถควบคุมราสีน้ำเงินได้ดีเท่าๆ กับการใช้ thiabendazole ร่วมกับ diphenylamine

นอกจากนี้ Smilanick (1996) ได้นำ *Pseudomonas syringae* สายพันธุ์ ESC-10 และ ESC-11 มาใช้ในการควบคุม *P. digitatum* บนผลมะนาว พบว่าแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์สามารถช่วยลดการเกิดโรคได้ และเมื่อทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อ *P. digitatum* บนผลมะนาว พบว่า *P. syringae* สายพันธุ์ ESC-10 และ ESC-11 ช่วยลดขนาดของบาดแผลที่เกิดขึ้นได้ โดยต่อมา Nunes *et al.* (2001) ได้คัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์อื่นๆ ที่สามารถยับยั้งราก่อโรคต่อพืชตระกูลแอปเปิล (pome fruit) คือ *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea* และ *Rhizopus stolonifer* โดยแยกจากผิวใบและผลของแอปเปิลและลูกแพร์ จากจุลินทรีย์ทั้งหมด 247 ไอโซเลท ที่ได้นำมาทดสอบ คัดเลือกแบคทีเรียได้ 1 สายพันธุ์ คือ *Pantoea agglomerans* (CPA-2) ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งโรคที่เกิดบนแผลได้อย่างสมบูรณ์เมื่อใช้ *Pan. agglomerans* (CPA-2) ที่มีความเข้มข้น 2×10^{7}, 8×10^{7} และ 1×10^{8} CFU/ml เมื่อเพาะเชื้อโดยใช้ *P. expansum* และ *R. stolonifer* 10^{3}, 10^{4} และ 10^{5} conidia/ml ส่วน *Pan. agglomerans* (CPA-2) ที่ความเข้มข้น 8×10^{7} CFU/ml จะลดการเน่าเสียที่เกิดจาก *B. cinerea* ลงได้มากกว่า 80% เมื่อทดสอบกับโคนิเดียทั้ง 3 ความเข้มข้น จากการทดลองแบบกึ่งการค้ามากว่า 3 ปี *Pan. agglomerans* (CPA-2) สามารถควบคุม *B. cinerea* และ *P. expansum* ในสภาวะที่แช่เย็น แม้แต่ในบรรยากาศหรือที่ที่มีออกซิเจนต่ำโดยใช้ที่ความเข้มข้น 8×10^{7} CFU/ml ให้ผลการควบคุมได้ดีเท่าๆกับการใช้สารฆ่าเชื้อรา imazalil ต่อมา Britta *et al.* (2000) ได้ใช้ *Pseudomonas syringae* ในการควบคุมโรคราสีน้ำเงิน ในแอปเปิลพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ *Penicillium expansum* ในผลที่ปลูกเชื้อและไม่ทำแผลได้ดีกว่าในผลที่ปลูกเชื้อและทำแผล และ Janisiewicz (2002) ได้แยกเชื้อ *Pseudomonas syringae* สายพันธุ์ L-59-66 จากใบและผลของแอปเปิล มาใช้ควบคุมเชื้อราก่อโรคในผลแอปเปิลและสาลี่ ซึ่งได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แก่ *P. expansum* *B. cinerea* และ *Mucor* spp. (mucor rot) ภายหลังการปลูกเชื้อแล้วเก็บไว้ในที่เย็น ($1^{o}C$, 90%RH และ 20%O_2) เป็นเวลา 30 วัน แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สามารถควบคุมอาการเกิดโรคได้ในระดับหนึ่ง

ในการทดลองของ Fan and Tain (2001) ได้แยกเชื้อ *Crytococcus albidus* (Saito) Skinner จากผลลูกท้อมาใช้ในการควบคุมเชื้อก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวของแอปเปิลพันธุ์ " Fuji " ได้แก่ *B. cinerea* ความเข้มข้น 1×10^{5} สปอร์/มิลลิลิตร และ *P. expansum* ความเข้มข้น 5×10^{4} สปอร์/มิลลิลิตร พบว่าสามารถลดการเน่าเสียของแอปเปิลได้ที่อุณหภูมิ 1 และ 23 องศาเซลเซียส โดยความเข้มข้นของเชื้อปฏิปักษ์และสปอร์ของราก่อโรคจะมีผลต่อการควบคุมการเกิดโรคอย่างมีนัยสำคัญ โดยเชื้อจะเพิ่มจำนวนบริเวณบาดแผลได้อย่างรวดเร็วใน 48 ชั่วโมงแรก ส่วนน้ำกรองเลี้ยงเชื้อของยีสต์กลับไม่มีผลในการป้องกันราก่อโรคทั้งสองชนิด เมื่อเปรียบเทียบการทำงานระหว่างเชื้อปฏิปักษ์กับ iprodione และ calcium chloride พบว่ายีสต์ที่ความเข้มข้น 1×10^{6} CFU/ml ผสมกับ iprodione ที่ 50 ppm จะควบคุมการเน่าได้ดีกว่าการใช้สารอย่างใดอย่างหนึ่งเพียงชนิดเดียว ส่วน calcium chloride นั้นจะส่งเสริมการควบคุมของยีสต์ต่อ *B. cinerea* และ *P. expansum* ที่ความเข้มข้นต่ำเพียง 10^{5} CFU/ml และประสิทธิภาพของ *C. albidus* ในการต่อต้าน *B. cinerea* และ *P. expansum* จะยังคงอยู่ถ้าใช้ก่อนการติดเชื้อแต่ความสามารถในการควบคุมจะลดลงเมื่อเชื้อราก่อโรคเริ่มสร้างสปอร์หรือสร้างสปอร์แล้ว ต่อมา Vero *et al.* (2002) ได้แยกเชื้อจากผิวของแอปเปิล พบว่า *Cryptococcus laurentii* (สายพันธุ์ 317) และ *Candida ciferrii* (สายพันธุ์ 283) ซึ่งแยกออกมาได้สามารถนำมาใช้ควบคุม *P. expansum* ได้ โดยใช้ *C. laurentii* (สายพันธุ์ 317) และ *C. ciferrii* (สายพันธุ์ 283) ช่วยลดการเน่าเสียได้ประมาณ 80% ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ส่วน *C. ciferrii* (สายพันธุ์ 283) สามารถช่วยลดการเน่าเสียได้ 50% ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเวียส และสามารถใช้ป้องกันการเกิดโรคได้ในระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ต่ำกว่าการใช้ *C. laurentii* (สายพันธุ์ 317) และยังพบว่าจำนวนยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถเพิ่มจำนวนขึ้นในบาดแผลของผลแอปเปิลได้ที่อุณหภูมิ 5 และ 25 องศาเซลเซียส และมีชีวิตรอดอยู่ได้นาน 35 วัน ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดยกลไกหลักของการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ของเชื้อทั้งสองคือการแข่งขันแย่งสารอาหารบริเวณบาดแผลที่เกิดขึ้น

นอกจากนี้ในการศึกษาของ Droby (1998) และBrown *et al.* (2000) พบว่าการใช้ *Candida oleophila* หรือ Aspire สามารถควบคุม *P. digitatum* และ *P. italicum* ได้ โดยทำการฉีดพ่นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และเก็บไว้ที่ 21 องศาเซลเซียส พบว่าการเจริญของเชื้อลดต่ำลงและเมื่อนำมาผสมกับ thiabendazole จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้นาน 45 วันที่ 5 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยที่ไม่ทำให้คุณภาพลดลง และจากงานวิจัยของ Vinas *et al.* (1998) โดยใช้ *Candida sake* (CPA-1) สามารถยับยั้งการเกิดโรคราสีน้ำเงินในแอปเปิลได้โดยมีประสิทธิภาพที่ 2.6 $\times 10^6$ CFU/ml และพบว่าจะได้ผลมากขึ้นเมื่อนำแอปเปิลมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำโดยที่เชื้อสาเหตุไม่สามารถเจริญได้ โดยในการศึกษาของ Scerra *et al.* (1999) ได้มีการนำ *Penicillium camemberti* และ *Penicillium roqueforti* มาใช้ทดสอบพบว่าทำให้องค์ประกอบต่างๆ ในผลส้มเปลี่ยนไป เช่น ไนโตรเจน และ เซลลุโลส ซึ่งจากการที่ได้ทำการศึกษางานทดลองที่ใช้สารเคมีในการควบคุมพบว่า Diaz *et al.* (1987) ได้ใช้ imazalil และ prochloraz ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ แต่จากการทดลองของ Lindsay (2001) ปรากฏว่าสารกำจัดเชื้อรา benzimidazole, benomyl , carbendazim , thiabendazole และ thiophanate methyl สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium digitatum* ได้ แต่ไม่ค่อยได้ผลในส้ม ดังนั้นจึงนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการทดลองครั้งนี้ เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค สภาพแวดล้อม และลดการใช้ปริมาณสารเคมีลง นอกจากนั้นยังมีรายงานที่ได้รวบรวมรายชื่อของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชไว้ด้วยดังใน ตาราง 4 เพื่อบ่งบอกถึงความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถใช้ควบคุมเชื้อสาเหตุของโรคพืชได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4 ชนิดเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุของโรค

เชื้อสาเหตุของโรค	เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
1. *Agrobacterium tumefaciens*	*Agronacterium radiobacter* strain K 84
	strain K 1026
2. *Xanthomonas campestris* pv. *graminis*	*Erwinia herbicola*
	Pseudomonas fluorescens
3. *Pseudomonas syringae* pv. *papulans*	*Fluorescent pseudomonads*
4. *Erwinia amylovola*	*Erwinia herbicola*
	Pseudomonas syringae
5. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*	*Erwinia carotovora* subsp. *tetravasculorum*
	Bdwellovibrio sp.
6. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* & *atroseptica*	*Pseudomonas fluorescens*
7. *Pseudomonas solanacerum*	*Pseudomonas fluorescens*
	Pseudomonas glumae
	Pseudomonas cepacia
	Bacillus sp.
	Erwinia sp.
	vilulent mutant of *P. solanacearum*

ที่มา : Sigee, 1993

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved