บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

โรคแอนแทรคโนส

โรคแอนแทรคโนส มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จัดเป็นโรคที่สำคัญชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดความสูญเสียกับพืชเศรษฐกิจ เนื่องจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สามารถเข้าทำลายพืชหลายชนิด ทั้งพืชตระกูลถั่ว หญ้า ผัก ธัญพืช ไม้ผล และไม้ประดับ เป็นต้น (Bailey and Jeger, 1992) และสามารถเข้าทำลายพืชได้แทบทุกระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะกล้า แทงช่อดอก ติดผล และระยะหลังการเก็บเกี่ยว (นิพนธ์, 2542) การเข้าทำลายของเชื้ออาจเป็นได้ทั้งแบบมีเชื้อหลายสปีชีส์เข้าทำลายพืชชนิดเดียว หรือเชื้อสปีชีส์เดียวเข้าทำลายพืชหลายชนิดก็ได้ ส่วนใหญ่การเกิดโรคมักเกิดกับส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน แต่อย่างไรก็ตามบางครั้งส่วนที่อยู่ใต้ดิน เช่น ราก หรือหัว ก็มีโอกาสได้รับผลกระทบจากโรคนี้เช่นกัน (Freeman *et al.*, 1998) โรคแอนแทรคโนสพบได้ทั้งในช่วงการเจริญของผลและผลสุก (Bailey *et al.*, 1992) ผลกระทบจากการเข้าทำลายของดังกล่าวมี 2 ลักษณะ คือหากการเข้าทำลายเกิดขึ้นในแปลงปลูกจะส่งผลต่อการเจริญของผล (ระยะก่อนเก็บเกี่ยว) แต่หากการเข้าทำลายเกิดขึ้นในระยะเก็บรักษาผลผลิต เชื้อราจะเข้าทำลายผลโดยตรง (ระยะหลังการเก็บเกี่ยว) ก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ มีผลทำให้ผลผลิตเน่าเสีย อายุการเก็บรักษาสั้น ไม่สามารถขนส่งระยะไกลได้ ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค และไม่สามารถส่งออกผลผลิตได้ (สมศิริ และคณะ, 2539) โรคนี้พบกระจายอยู่ทั่วโลก โดยเฉพาะประเทศในเขตอบอุ่นจนถึงเขตร้อนในประเทศไทยพบการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. มากกว่าในประเทศแถบอื่นๆ ของโลก (นิพนธ์, 2535) โดยมีรายงานพืชอาศัยที่เป็นโรคแอนแทรคโนสในประเทศไทยมากถึง 111 ชนิด เข้าทำลายทั้งไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ พืชสมุนไพร และอื่นๆ (พัฒนาและคณะ, 2537) อาการโดยทั่วไปของโรคแอนแทรคโนส จะเกิดเป็นแผลฉ่ำน้ำ สีน้ำตาลเข้ม และมีการสร้างกลุ่มของโคนิเดียเป็นหยดสีส้มบริเวณแผล (Freeman *et al.*, 1998)

ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนส

มีรายงานหลายฉบับในต่างประเทศ ที่กล่าวถึงความเสียหายจากโรคแอนแทรคโนสในพืชอาศัยหลายชนิด ซึ่งบางแห่งเกิดความสูญเสียของผลผลิตมากถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (Freeman *et al.*, 1998) พืชที่พบโรคแอนแทรคโนสเข้าทำลาย เช่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กล้วย (banana) โรคแอนแทรคโนสเป็นโรคสำคัญชนิดหนึ่งที่เกิดกับผลกล้วย (Jones, 2000) เข้าทำลายได้ตั้งแต่ช่วงระยะก่อนเก็บเกี่ยว ในหลายๆ ประเทศทั่วโลก เช่น ออสเตรเลีย อินเดีย ฟิจิ และฟิลิปปินส์ เป็นต้น แต่ไม่พบในเขตหนาวหรือในแอฟริกา (Cook, 1975) อาการของโรคจะเกิดขึ้นที่บริเวณเปลือกและขั้วผลของผลที่สุกแล้ว หรือในผลที่ยังไม่สุกแต่มีแผล อาการจะเริ่มจากเกิดจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กบริเวณเปลือก ต่อมาจะขยายใหญ่ขึ้นจนเป็นสีดำไปทั่วทั้งผล ทำให้เกิดอาการผลเน่า บางครั้งอาจเกิดอาการเน่าแห้งได้ มีการสร้างกลุ่มของโคนิเดียสีส้มบริเวณแผล ต่อมาภายในผลจะเกิดอาการเน่าหลังจากเปลือกเน่าทั่วทั้งหมดแล้ว (Ploetz, 2003) ส่วนอาการบนผลที่ยังไม่สุก จะเห็นเป็นแผลสีน้ำตาลถึงดำ รูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด ขนาดประมาณ 3x8 มิลลิเมตร เนื้อเยื่อยุบลงไป ขอบแผลสีซีด และมีการสร้างกลุ่มของ conidium บริเวณแผล การแพร่กระจายของ conidium แพร่กระจายโดยอาศัยน้ำฝน อาการของโรคจะลุกลามได้เร็วเมื่ออากาศมีสภาพอบอุ่นและความชื้นสูง (Cook, 1975) มีรายงานว่าหากมีฝนตกก่อนออกดอก 35 วัน อาการของโรคจะรุนแรงมากขึ้น (Ploetz, 2003) นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนของดอกเป็นแหล่งเพาะเชื้อที่สำคัญมากอีกด้วย (de Lapeyre de Bellaire *et al.*, 2000)

ฝรั่ง (guava) โรคแอนแทรคโนสสามารถเข้าทำลายผลฝรั่งได้ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว ในทุกพื้นที่ที่มีการปลูกฝรั่ง สร้างความสูญเสียแก่ผลผลิตโดยเฉพาะในระยะหลังการเก็บเกี่ยว อาการของโรคในระยะเริ่มแรกจะเกิดกับผลสุกบนต้น ลักษณะเป็นแผลฉ่ำน้ำ สีคล้ำ และมีการสร้างกลุ่มของ conidium ขึ้นบริเวณแผลในเวลาต่อมา ในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูง แผลจะขยายใหญ่เชื่อมต่อกันจนกลายเป็นแผลขนาดใหญ่ และเข้าทำลายเนื้อเยื่อภายในผลทั้งหมด (Ploetz, 2003) ในช่วงฤดูฝนจะมีอาการยอดไหม้เกิดขึ้นร่วมด้วย (Quimio and Quimio, 1975)

มะม่วง (mango) มีรายงานการเข้าทำลายของโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงตั้งแต่ปี 1893 ในรัฐฟลอริดา ประเทศอเมริกา และมีรายงานการเกิดโรคต่อมาในประเทศคิวบา ฮาวาย อินเดีย ฟิลิปปินส์ เปอร์โตริโก และทรินิแดด (Cook, 1975) โรคแอนแทรคโนสเป็นโรคที่สำคัญมากของมะม่วง พบการแพร่กระจายของโรคในทุกพื้นที่ที่มีการปลูก ยกเว้นในพื้นที่ที่มีความชื้นต่ำหรือแห้งแล้ง (Dodd *et al.*, 1997; Ploetz and Prakash, 1997) โรคดังกล่าวเป็นปัญหาหลักทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว เนื่องจากเป็นโรคที่เกิดกับผล ทำให้ผลผลิตไม่เป็นที่ต้องการของตลาด นอกจากนี้โรคแอนแทรคโนส ยังสามารถเข้าทำลายใบได้ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีความชื้นสูง ส่งผลกระทบต่อการเพาะต้นกล้าในเนิสเซอรีอีกด้วย (Bose *et al.*, 1973) อาการที่พบบนใบอ่อนจะพบในช่วงฤดูฝน ซึ่งเป็นช่วงที่มะม่วงอ่อนแอต่อการเข้าทำลายมากที่สุด (Fitzell and Peak, 1984; Jeffries *et al.*, 1990) แผลบนใบจะเริ่มจากเกิดเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก ขอบสีน้ำตาลเข้ม แผลจะขยายใหญ่ขึ้นไปตามเส้นเวน เนื้อเยื่อบริเวณกลางแผลจะแตกและหลุดออกไป เกิดเป็นรูบริเวณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กลางแผล นอกจากนี้โรคแอนแทรคโนสยังสามารถเข้าทำลายกิ่งทำให้เกิดอาการ dieback ได้อีกด้วย (Lim and Khoo, 1985; Ploetz *et al.*, 1996) และในบางครั้งพบว่าการแสดงอาการเริ่มมาจากปลายกิ่ง อาการที่พบบนผล จะพบจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก ต่อมาจะขยายขนาดใหญ่ขึ้นเป็นแผลสีน้ำตาลถึงดำ เนื้อเยื่อบริเวณแผลจะแห้ง สามารถเกิดขึ้นได้ทั่วทั้งผล โดยเฉพาะบริเวณปลายผลทั้งสองข้าง อาการของโรคจะเห็นชัดในระยะที่ผลเริ่มสุก เมื่อมีความชื้นสูงจะพบการสร้างกลุ่มของโคนิเดียสีส้มบริเวณแผล และเนื้อเยื่อภายในผลถูกทำลายลึกลงไปกว่า 5 มิลลิเมตร (Ploetz, 2003) การแพร่กระจายของเชื้อ แพร่กระจายโดยอาศัยน้ำฝน โดย conidium จะงอกภายใน 6-8 ชั่วโมง เมื่ออยู่ในน้ำ และจากนั้น 10-12 ชั่วโมง จะสร้าง appressorium Dodd *et al.* (1991) ในฟิลิปปินส์ พบว่าใบที่งอกออกมาใหม่ สามารถถูกเชื้อเข้าทำลายได้ง่ายที่สุด อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ conidium อยู่ระหว่าง 25-30 องศา

มะละกอ (papaya) โรคแอนแทรคโนสเป็นโรคสำคัญมากของมะละกอในระยะหลังการเก็บเกี่ยว โดยเฉพาะในระหว่างการขนส่งไปยังตลาด (Alvarez and Nishijima, 1987) โรคนี้สามารถเกิดขึ้นได้ทุกพื้นที่ที่มีการปลูกมะละกอ มีรายงานการเกิดโรคบริเวณใบในฮาวายและอินเดีย (Cook, 1975) อาการเริ่มจากเกิดจุดฉ่ำน้ำขนาดเล็ก จากนั้นแผลจะขยายใหญ่ขึ้น มีลักษณะกลมขอบแผลมีสีน้ำตาล (Alvarez and Nishijima, 1987) พบกลุ่มของ conidium สีส้มหรือสีชมพูบริเวณแผล กลุ่มของ conidium อาจเรียงตัวกันเป็นรูปวงแหวนซ้อนกัน (Dickman, 1994) เนื้อเยื่อภายในผลจะถูกทำลายเปลี่ยนเป็นสีเทาและสีน้ำตาลตามลำดับ (Alvarez and Nishijima, 1987) เชื้อจะอาศัยอยู่บริเวณกลีบดอกและใบ แพร่กระจายโดยอาศัยฝนและลม conidium สามารถงอกเข้าทำลายส่วนต่างๆ ของพืชได้ทั้งส่วนที่ไม่มีแผลหรือผลอ่อน โดยอาศัยความดัน และการทำงานของเอนไซม์ (Dickman and Alvarez, 1983; Latunde-Dada, 2001) เชื้อจะพักตัวอยู่ภายในเนื้อเยื่อจนกระทั่งผลสุกจึงแสดงอาการ ในสภาพแวดล้อมมีอุณหภูมิและความชื้นสูง การเกิดโรคจะยิ่งรุนแรงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเชื้อราจะไม่เจริญในสภาพที่แห้งแล้ง (Dickman, 1994)

ส้ม (tangerine) โรคแอนแทรคโนสของส้มมีรายงานตั้งแต่ก่อนปี 1900 โดยพบในทุกประเทศที่มีการปลูกและมีสภาพแวดล้อมเหมาะต่อการเจริญของเชื้อ เช่น ประเทศออสเตรเลีย รัฐแคลิฟอร์เนีย และฟลอริดา ประเทศอเมริกา เป็นต้น (Cook, 1975) นอกจากนี้ยังมีรายงานความเสียหายของผลผลิตในอาร์เจนตินา และบราซิล (Denham and Waller, 1981) ความเสียหายที่เกิดจากโรคแอนแทรคโนสกับพืชพวกส้มมีอยู่ด้วยกัน 3 ลักษณะอาการคือ อาการ ผลร่วง (postbloom fruit drop; PFD) และ lime anthracnose ซึ่งเป็นอาการที่สำคัญมากในระยะปลูก สร้างความเสียหายกับผลผลิตเป็นอย่างมาก ส่วนโรคแอนแทรคโนสหลังการเก็บกี่ยว (postharvest anthracnose) ถือว่าส่งผลกระทบเพียงเล็กน้อย (Timmer and Brown, 1999) อาการ PFD เกิดได้กับพืชตระกูลส้ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทุกชนิด โดยเฉพาะในพื้นที่ปลูกที่มีความชื้นสูงในเขตร้อน ส่วน lime anthracnose สร้างความเสียหายแก่ส้มสายพันธุ์ mexican เท่านั้น อาการของโรคจะเกิดขึ้นที่ใบหลังจากถูกเชื้อ เข้าทำลาย 4-7 วัน โดยเกิดเป็นแผลฉ่ำน้ำ ต่อมาแผลจะขยายใหญ่ขึ้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้ม สร้าง acervulus บริเวณกลางแผล นอกจากนี้กิ่งอ่อนก็สามารถถูกเชื้อเข้าทำลายได้เช่นกัน หากอาการของโรคเกิดอย่างรุนแรงจะทำให้เกิดอาการ wither-tip ได้ (Ploetz, 2003) การแพร่กระจายของเชื้อแพร่กระจายโดยอาศัยลม ฝน และแมลง (Fagan, 1984)

โรคแอนแทรคโนสในประเทศไทย

โรคแอนแทรคโนสก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจสำคัญๆ ของไทยหลายชนิด เช่น เงาะ มะม่วง มะละกอ ขนุน กล้วย องุ่น สตรอเบอรี และฝรั่ง เป็นต้น ส่งผลให้ปริมาณ และคุณภาพของผลผลิตลดลง ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ จัดเป็นปัญหาที่สำคัญยิ่งในการส่งออกของผลไม้ไทย (วิชัย, 2540) มีรายงานการเข้าทำลายของโรคดังกล่าวอยู่หลายฉบับเช่น

พัฒนาและคณะ (2537) รายงานการพบพืชอาศัยที่เป็นโรคแอนแทรคโนสทั้งหมด 111 ชนิด มีทั้งไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ พืชสมุนไพร และอื่นๆ

Dhirabhava *et al.* (1980) และ Sangchote and Pongpisuta (1995) รายงานการเกิดโรคแอนแทรคโนสของมังคุดในไทยไว้ว่า แผลที่พบบนผลจะเป็นสีน้ำตาลจนถึงดำ แห้งแข็ง มีการสร้าง acervulus เรียงเป็นรูปวงแหวนซ้อนกันบริเวณแผล จากนั้น conidium จะถูกสร้างขึ้นภายใน acervulus แล้วแพร่กระจายไปกับฝน conidium สามารถอยู่บนผลได้นานนับเดือน ก่อนที่พืชจะแสดงอาการของโรค (Sangchote and Pongpisuta, 1995) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา 3 ชนิดที่เป็นสาเหตุโรคบนมังคุดสามารถเข้าทำลายทุเรียน ฝรั่ง มะม่วง และเงาะได้อีกด้วย (Alahakoon *et al.*, 1994)

สมศิริและคณะ (2539) สมศิริและรัติยา (2539) รายงานว่าโรคแอนแทรคโนสเข้าทำลายผลในส่วนเปลือกของทุเรียน ก้านผล กลีบเลี้ยง และปลายผลของมังคุด ทำให้ผลเน่าเสียอายุการเก็บรักษาสั้น และไม่สามารถขนส่งในระยะไกลได้

ชะลอ (2539) รายงานว่าโรคแอนแทรคโนสเป็นโรคที่เกิดได้กับมะละกอเกือบทุกสายพันธุ์ และทุกระยะการเจริญเติบโต โดยจะแสดงอาการที่ใบและผล โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลสุกจะได้รับความเสียหายจากโรคนี้เป็นอย่างมาก และเป็นอุปสรรคสำคัญต่อการส่งออกของมะละกอสุกไปยังต่างประเทศด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ธารทิพย์และคณะ (2547) รายงานการเกิดโรคแอนแทรคโนสในสตรอเบอรี โดยอาการของโรคเริ่มจากแผลขนาดเล็กรูปรี บนไหล (stolon) ขอบแผลสีม่วงแดง ตรงกลางแผลสีน้ำตาลอ่อน แล้วขยายยาวไปตามไหล ต่อมาแผลจะเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลเข้ม ขอบแผลสีเหลืองอมชมพู แผลมีลักษณะแห้งทำให้เกิดรอยคอดของไหลบริเวณแผล เมื่อสภาพอากาศเหมาะสมกับการเจริญของเชื้อรา สตรอเบอรีจะแสดงอาการใบเฉาและเหี่ยวอย่างรวดเร็ว เนื้อเยื่อส่วนกอด้านในมีลักษณะเน่าแห้ง สีน้ำตาลแดง บริเวณผลจะเกิดแผลรูปรี สีน้ำตาลเข้ม เนื้อเยื่อบุ๋มลึกลงไปในผิวผล ขอบแผลไม่เด่นชัด เมื่อความชื้นสูง จะเห็นกลุ่ม conidium ลักษณะเป็นหยดของเหลวข้นสีส้มบริเวณแผล และยังพบเชื้อที่เกิดขึ้นกับพืชอาศัยอีกจำนวน 25 ชนิด เช่น หอม กาแฟ มะม่วง ส้ม หน่อไม้ฝรั่ง องุ่น อะโวกาโด กล้วยไม้ และดาหลา เป็นต้น

พัชรา (2543) รายงานว่าเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่แยกได้จากมะม่วง ทุเรียน ฝรั่ง ชมพู่ ลิ้นจี่ องุ่น และมะละกอ จำนวน 45 ไอโซเลท สามารถเข้าทำลายพืชต่างชนิดได้ โดยเชื้อราทุกไอโซเลท สามารถเข้าทำลายฝรั่งและชมพู่ได้โดยไม่ต้องทำแผล และทำลายมะม่วง องุ่น พุทรา และเงาะได้โดยการทำแผลก่อนการปลูกเชื้อ

จากรายงานการเกิดโรคแอนแทรคโนสหลายๆ ฉบับทั้งในและต่างประเทศ ทำให้ทราบว่าโรคแอนแทรคโนสเป็นโรคที่สำคัญที่ควรมีการศึกษาถึงสาเหตุของการเกิดโรค และการควบคุมโรคให้ละเอียดยิ่งขึ้น

ลักษณะโดยทั่วไปของเชื้อรา *Colletotrichum* sp.

การจัดจำแนกชั้นของเชื้อ *Colletotrichum* sp. (Sutton, 1992)

Kingdom Mycetae
Division Eumycota
Sub division Deuteromycotina
Class Deuteromycetes
Order Melanconiales
Family Melanconiaceae
Genus *Colletotrichum*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อราคือ สร้างเส้นใยฝังอยู่ในผิวพืช เส้นใยไม่มีสี หรือสีน้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลแก่ แตกกิ่งก้าน มีผนังกั้น conidium เกิดบน conidiophore ซึ่งมีกำเนิดจาก stromatic cell ของโครงสร้างสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศที่เรียกว่า acervulus ใต้ชั้น epidermis ของพืช

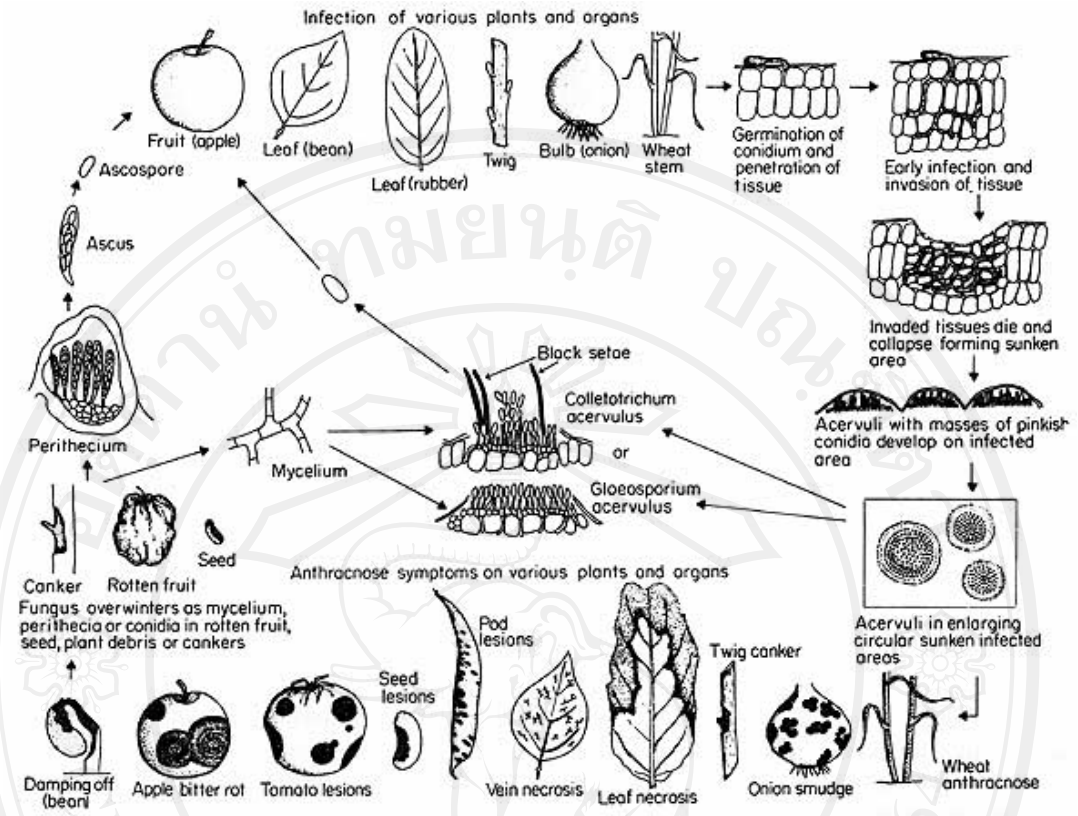
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อแก่จะดันผิวพืชให้แตกออก conidium จะถูกปล่อยออกมาเป็นกลุ่มในลักษณะแห้งหรือของเหลวข้น สีเหลืองอ่อนหรือสีส้มอมชมพู เมื่อนำเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้อจะสร้าง conidium เป็นกลุ่มบน stromatic cell คล้าย sporodochium การสังเกตลักษณะของ acervulus จึงต้องดูจากสภาพธรรมชาติ หรือบนพืชอาศัย บางครั้งพบการสร้าง sclerotium บนอาหารเลี้ยงเชื้อ conidium เดี่ยวๆ ไม่มีสี เซลล์เดียว ผนังบาง เรียบ ลักษณะรูปร่างรูปไข่ หรือยาวรี ตรงหรือโค้งงอ อาจมี guttule ลักษณะคล้ายฟองอากาศอยู่ภายใน มีการสร้าง sterile hypha สีน้ำตาล ผนังหนาเรียบ ปลายแหลมคล้ายหนามเรียกว่า seta บริเวณขอบของ acervulus หรือปะปนอยู่กับ conidiophore ลักษณะการสร้าง seta ของเชื้อรานี้เป็นลักษณะที่ไม่คงที่ เปลี่ยนแปลงได้ตามสภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ appressorium สีน้ำตาล มีผนังสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะรูปร่างค่อนข้างกลม กลมรี คล้ายกระบอง หรือรูปร่างไม่แน่นอน บางครั้งผนังมีรอยหยัก (lobe) สร้างเดี่ยวๆ หรือเกิดติดกันเป็นกลุ่ม teleomorph state ของเชื้อราสกุล *Colletotrichum* จัดอยู่ในสกุล *Glomerella* (Sutton, 1992; วิชัย, 2546)

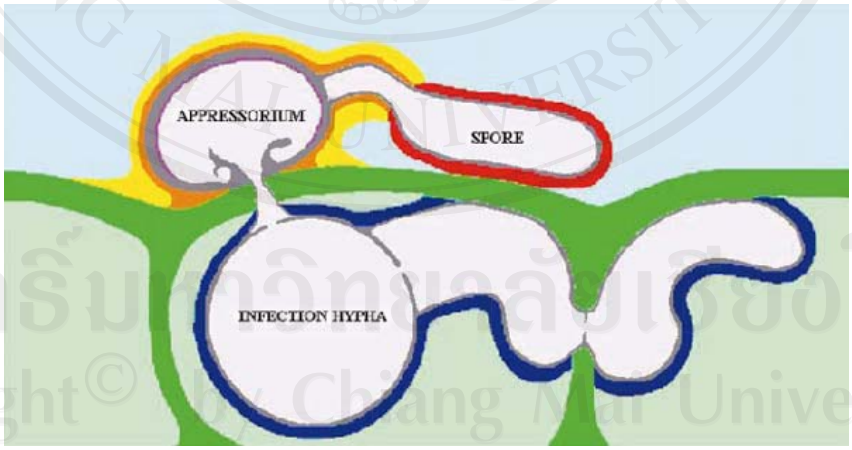
วงจรชีวิตและการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum* (Swart, 1999)

การเข้าทำลายของเชื้ออาศัยการพาของน้ำในช่วงที่ฝนตก และเกิดขึ้นตั้งแต่ระยะเริ่มติดผล จนถึงระยะเก็บรักษา แหล่งพักตัวของเชื้อที่สำคัญคือเศษซากพืชที่เป็นโรคแล้วร่วงหล่นอยู่ในบริเวณแปลงปลูก (Dodd *et al.*, 1992) conidium จะแพร่กระจายไปได้ทั่วทั้งแปลงปลูกเมื่อมีการทดน้ำเข้าแปลง หรือมีฝนตกหนัก และสภาพอากาศมีความชื้นสูง (ภาพ 1) จะส่งเสริมให้เชื้อเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น (Prusky, 1994) เมื่อ conidium ตกลงบนผิวพืช จะเริ่มงอกเส้นใยภายใน 12-48 ชั่วโมง (Jeffries *et al.*, 1990) โดยอาศัยเมือกเหนียวที่อยู่รอบ conidium ช่วยในการยึดเกาะกับผิวพืช (Jeffries and Koomen, 1992) การงอกเส้นใยจะเกิดขึ้นเป็นสายสั้นๆ หลังจากนั้นจะเริ่มสร้าง appressorium (Jeffries *et al.*, 1990) appressorium ที่ยังอ่อนจะมีลักษณะใสหรือไม่มีสี แต่เมื่อเวลาผ่านไปความเหนียวและสีจะเพิ่มมากขึ้น (Jeffries *et al.*, 1990) จากนั้นจะสร้าง peg เพื่อแทงเข้าสู่เนื้อเยื่อพืช แต่การสร้าง peg จะขึ้นอยู่กับช่วงการพัฒนาของผล (Coates *et al.*, 1993) และปริมาณความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะที่อยู่บริเวณเปลือกของผล ซึ่งลักษณะดังกล่าวมีผลต่อความยาวของ peg ที่เชื้อสร้างขึ้น (Prusky *et al.*, 1991) (ภาพ 2) โดยช่วงก่อนที่เชื้อราจะสร้างเส้นใยเข้าไปในเนื้อเยื่อพืชนั้น จะมีการพักตัว จึงเป็นช่วงที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ด้วยการเคลือบ wax ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่เปลือกของผล (Prusky and Plumbley, 1992) เมื่อผลสุก การสร้างสารต่อต้านเชื้อรา หรือกลไกการป้องกันตัวเองของพืชจะลดลง เชื้อจะเข้าไปทำลายภายในเซลล์พืช และลุกลามไปยังเซลล์ที่อยู่ถัดไปอย่างรวดเร็ว (ภาพ 3) ทำให้ผลผลิตเน่าเสีย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

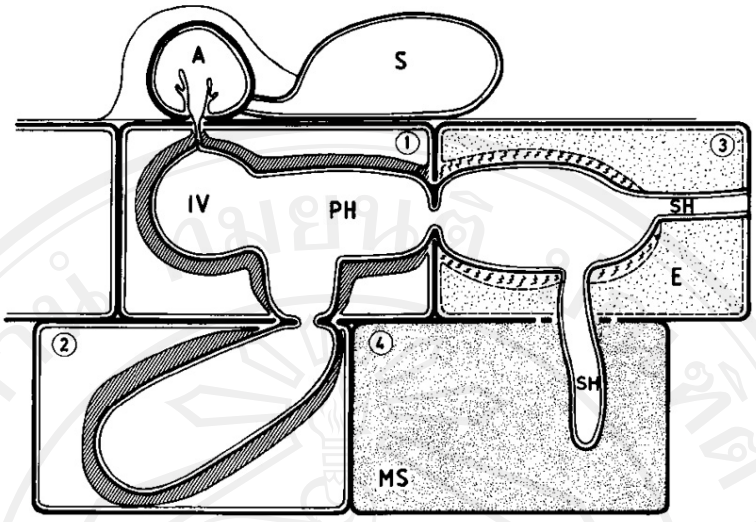


ภาพ 1 วงจรชีวิตของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. (Agrios, 1997)



ภาพ 2 การงอกของ conidium เชื้อรา *Colletotrichum* spp. เข้าสู่เนื้อเยื่อพืช (Sarah *et al.*,1997)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 3 การเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum lindemuthianum* ในถั่ว โดย conidium (S) สร้าง appressorium (A) แทงเข้าไปในเนื้อเยื่อชั้น epidermal cell (E) เกิดเป็น infection vesicle (IV) และสร้าง primary hypha (PH) ขึ้นภายในเซลล์พืช จากนั้นจึงสร้าง secondary hypha (SH) ลุกลามไปยังเซลล์ในชั้น mesophyll (MS) (Sarah *et al.*, 2001)

การควบคุมโรคแอนแทรคโนส

การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส สามารถทำได้หลายวิธี ตั้งแต่การเขตกรรมหรือการจัดการภายในแปลงปลูก เช่นการทำความสะอาดภายในแปลงปลูกอย่างสม่ำเสมอ (ชะลอ, 2539) เตรียมเพาะต้นกล้าให้ห่างไม่แน่นทึบ ตัดแต่งทรงพุ่มต้นโต ให้โปร่งแสง มีการระบายอากาศที่ดี และมีการฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อราเป็นครั้งคราว เน้นฉีดพ่นระยะพืชที่เนื้อเยื่ออ่อน คือระยะแตกยอดใหม่ ระยะแทงช่อดอก และระยะติดผล (นิพนธ์, 2542)

อังสนา (2547) แนะนำว่าการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส ควรมีการควบคุมแหล่งสะสมของเชื้อโดยการตัดกิ่งที่เป็นแผลออก เก็บใบร่วงหล่นบนพื้นแปลงให้สะอาด หรือใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด ได้แก่ สารประกอบทองแดง, สารประกอบกำมะถัน หรือสารในกลุ่ม benzimidazole เช่น เบโนมิล (benomyl), คาร์เบนดาซิม (carbendazim) และไทอะเบนดาโซล (thiabendazole) เป็นต้น หรืออาจใช้สารเคมีเช่น แคปแทน (captan), แมนโคเซป (mancozeb), คลอโลทาโลนิล (chlorothalonil) ในการควบคุมโรค

ดารา (2535) แนะนำการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสว่าควรใช้ carbendazim, mancozeb, benomyl, maneb, captan, myclobutanil และ myclobutanil + mancozeb ฉีดพ่นทางใบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Delp and Klopping (1968 อ้างโดย Sariah, 1989) พบว่าการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส โดยส่วนใหญ่จะใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา ในกลุ่ม benzimidaole เช่น benomyl หรือ carbendazim ซึ่งเป็นสารเคมีชนิดดูดซึม (systemic fungicide) เพราะสามารถควบคุมโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อราชั้นสูงได้ดี

ประเทศไทยจดทะเบียนและนำเข้าสารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่มนี้ ได้แก่ benomyl, thaibendazole และ carbendazim เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบัน carbendazim มีการใช้อย่างกว้างขวาง โดยมีปริมาณการนำเข้าในปี พ.ศ. 2546 ถึง 1,494,349 กิโลกรัม หรือมีมูลค่าการนำเข้า 149,304,745 บาท (กรมวิชาการเกษตร, 2549)

จากรายงานจะเห็นว่าการควบคุมโรคแอนแทรคโนส ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันวิธีที่นิยมมากที่สุดคือ การใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl และ carbendazim ซึ่งการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราดังกล่าวติดต่อกันเป็นเวลานานก่อให้เกิดปัญหาที่รุนแรงตามมา ได้แก่ ความเป็นพิษต่อมนุษย์ การทำลายระบบนิเวศ การชักนำให้เกิดศัตรูพืชชนิดใหม่ และการที่เชื้อดื้อยามากยิ่งขึ้น (Fry, 1982)

Gilpatrick (1983) พบว่าสารเคมีประเภทดูดซึม กลุ่ม benzimidazole ทำให้เชื้อราสร้างความต้านทานได้มากที่สุด เช่น เชื้อรา *C. musae* สาเหตุโรค แอนแทรคโนสของกล้วยต้านทานต่อสาร benomyl ได้สูงถึง 8000 ppm (Griffe, 1973)

กรองจิต (2528) รายงานว่า เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะละกอ สามารถต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl และสารป้องกันกำจัดเชื้อรากลุ่ม benzimidazole ได้หลังจากที่มีการใช้สารเคมีดังกล่าวติดต่อกันในระยะหนึ่ง ซึ่งทั้ง benomyl และ carbendazim สามารถชักนำให้เชื้อต้านทานต่อสารเคมีกลุ่มนี้ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถต้านทานต่อสาร benomyl เมื่อใช้ในระยะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวในปริมาณที่มากเกินไป(Spalding, 1982; Jeffries *et al*., 1990)

Delfs – Frits (1970) โรคแอนแทรคโนส ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *C. gloesporioides* มีการแพร่ระบาดอย่างกว้างขวาง โดยเชื้อจะเข้าทำลายเนื้อเยื่อที่อ่อนแอ การควบคุมโรคทำโดยการฉีดพ่นสารเคมีที่มีสารประกอบทองแดง (copper) หรือ ไทโอคาร์บาเมท (thiocarbamate) แต่ Cook (1975) ไม่แนะนำให้ใช้สารประกอบทองแดงในการควบคุมโรค PFD ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *C. acutatum* และให้ใช้สาร benomyl ในการควบคุมโรค แต่ก็พบว่าเชื้อดังกล่าว สามารถทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ได้

Davidse and Flach (1974) รายงานว่า สารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม benzimidazole มีอิทธิพลต่อการสร้าง tubulin ภายในนิวเคลียสของเชื้อราซึ่งเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในตำแหน่งของ beta-tubulin gene จะมีผลให้ลำดับเบสของกรดอะมิโนเปลี่ยนแปลงไป เชื้อจึงเกิดการทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราดังกล่าวขึ้น

Sariah (1989) ได้ทดลองแยกเชื้อรา *C. capsici* จำนวน 340 ไอโซเลท จากตัวอย่างพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 และ 1000 µg/ml พบว่า เชื้อรา *C. capsici* ที่แยกได้จำนวน 73 ไอโซเลท สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหาร PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ความเข้มข้น 1000 µg/ml และเมื่อนำเชื้อราที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim ที่ความเข้มข้น 1.2, 5, 10, 25, 50 และ 100 µg/ml พบว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim ได้เช่นเดียวกัน ซึ่งผลของความทนทานดังกล่าว คาดว่าเกิดจากการกลายพันธุ์ (mutation) ของเชื้อรา โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในตำแหน่งยีน beta-tubulin

Sholberg *et al*. (2004) ใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม benzimidazole และ diphenylamine ในการควบคุมโรคราสีน้ำเงิน ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Penicillium* sp. ในแอปเปิ้ล โดยนำเชื้อราที่แยกได้จากผลที่เป็นโรคหลังเก็บเกี่ยว มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม benzimidazole คือ benomyl และ thiabendazole และสารป้องกันกำจัดเชื้อรา diphenylamine ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าตัวอย่างเชื้อรา *Penicillium* sp. ทั้งหมด 150 ไอโซเลท มีเชื้อดังกล่าวจำนวน 25 ไอโซเลท ที่สามารถทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม ดังกล่าวได้ และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ของเบสที่จำเพาะของกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 198 พบว่า ลำดับเบสของเชื้อรา *P. expasum* จากเดิมที่มีลำดับเบส GAG เมื่อถูกแทนที่ด้วย GCG หรือ GTG ในกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 198 มีผลให้เชื้อราดังกล่าวสามารถทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl และ thiabendazole ได้ในระดับสูง (HR)

Yarden and Katan (1993) ทำการวิเคราะห์ลำดับเบสของ beta-tubulin gene ของเชื้อราที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomy พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ single nucleotide ของเบสในกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 198 และ 200 ทำให้ทราบว่าการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสของกรดอะมิโนใน 2 ตำแหน่งนี้ มีผลทำให้เชื้อราทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomy และมีลักษณะที่แสดงออกแตกต่างกัน เช่นในเชื้อรา *Venturia inaequalis* เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน glutamic acid เป็น lysine, glycine หรือ alanine ของเบสในกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 198 ซึ่งมีผลทำให้สามารถทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ในระดับสูง (HR) ส่วนการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสในกรดอะมิโนจาก phenylalanine เป็น tyrosine ตรงตำแหน่งที่ 200 มีผล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทำให้เชื้อราดังกล่าวทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ในระดับปานกลาง (MR) (Koenraadt *et al*., 1992)

การสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าเชื้อรา

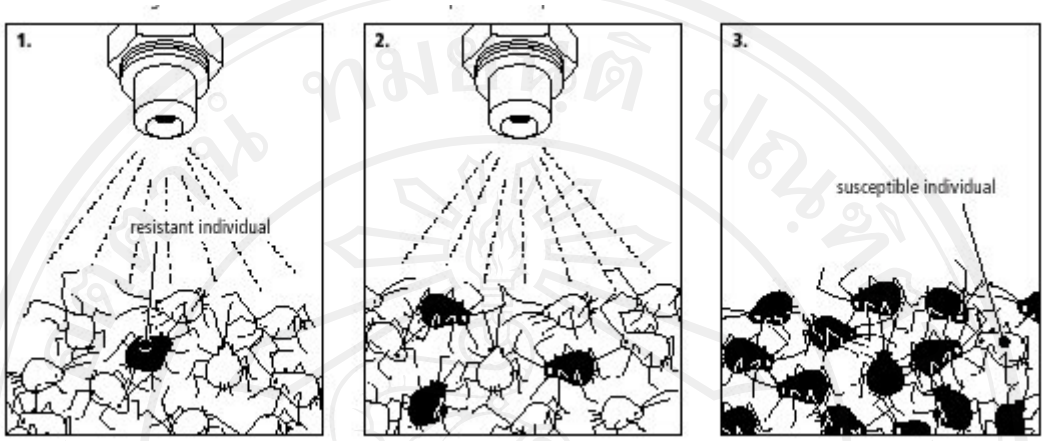
การควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชส่วนใหญ่จะเน้นวิธีการป้องกัน กล่าวคือทำการฉีดพ่นสารฆ่าเชื้อราชนิดป้องกัน (protectant fungicides) ก่อนที่จะปล่อยให้เกิดการระบาดรุนแรงของโรค หากมีการปล่อยให้ระบาดรุนแรง การใช้สารกลุ่มดังกล่าวควบคุมไม่ได้ผล จะต้องใช้สารที่มีคุณสมบัติในการรักษาเพื่อหยุดการลุกลามของโรคต่อไปได้ และสารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่มีคุณสมบัติในการดูดซึมเข้าสู่ส่วนต่างๆ ของพืชได้ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มแรก และจากการใช้สารชนิดดูดซึมนี้เองที่ก่อให้เกิดปัญหาการสร้างความต้านทานขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีการนำสารbenomyl ซึ่งเป็นสารดูดซึมเข้ามาใช้ในปี ค.ศ. 1970 ซึ่งก่อนหน้านั้นมีการใช้สารชนิดป้องกัน ได้แก่ maneb, macozeb และสารประกอบทองแดงในการควบคุมโรคพืช โดยปราศจากปัญหาการสร้างความต้านทานต่อสารเหล่านี้ แต่หลังจากค้นพบสาร benomyl และนำมาใช้ในการควบคุมโรคพบว่ามีข้อดีกว่าสารกลุ่มเดิมคือดูดซึม และหากโรคไม่ระบาดรุนแรงมากนัก สามารถหยุดการลุกลามของโรคได้ ดังนั้นจึงทำให้เกษตรนิยมใช้สารชนิดนี้อย่างกว้างขวาง และบ่อยครั้งขึ้น ทำให้มีการสร้างความต้านทานอย่างรวดเร็วภายในเวลา 2-3 ปี นอกจากนี้มีสารอีกหลายชนิดที่มีกลไกการออกฤทธิ์ทำลายที่มีความเฉพาะเจาะจงเหมือนกับ benomyl มีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดการสร้างความต้านทานขึ้นตามมา (ธรรมศักดิ์, 2543)

การพัฒนาการสร้างความต้านทาน

การพัฒนาการสร้างความต้านทานของศัตรูพืชต่อสารเคมี เกิดจากการคัดเลือก (selection) ของสมาชิก (individual) ในประชากร (population) ของศัตรูพืชหลายๆ รุ่น หลังจากใช้สารเคมีที่มีกลไกการออกฤทธิ์เหมือนกันติดต่อกันเป็นเวลานานๆ ในประชากรของศัตรูพืชหนึ่งๆ ประกอบด้วยสมาชิกจำนวนมาก และสมาชิกแต่ละตัวมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไป เช่นมีความแข็งแรง หรือความทนทานต่อสภาพแวดล้อม หรือสารเคมีที่แตกต่างกัน หลังจากฉีดพ่นสารเคมีครั้งแรกสมาชิกส่วนใหญ่ในประชากรจะตายไป แต่จะมีสมาชิกส่วนหนึ่งที่หลงเหลือหรือมีชีวิตรอดหลังจากฉีดพ่นสารเคมี สมาชิกที่หลงเหลือเหล่านี้จะทำการแพร่พันธุ์ให้ลูกรุ่นถัดไป และหากมีการใช้สารชนิดเดิมฉีดพ่นกับรุ่นลูกดังกล่าว จะมีจำนวนของสมาชิกที่รอดจากการใช้สารเคมีเพิ่มขึ้นและเกิดการคัดเลือกสมาชิกที่ต้านทานเกิดขึ้น จนกระทั่งในระยะเวลานานๆ สารเคมีที่เคยควบคุมศัตรูพืชชนิดนั้นได้ผล กลับใช้ไม่ได้ผล จึงเกิดการสร้างความต้านทานขึ้น มีข้อยกเว้นว่าการใช้สารที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไม่ได้ผลดังกล่าว ไม่ได้มีสาเหตุ มาจากปัจจัยอื่นๆ เช่นเทคนิคการฉีดพ่นไม่ดี สภาพภูมิอากาศไม่เหมาะสม ตัวอย่างการพัฒนาการสร้างความต้านทานแสดงในภาพที่ 4



ภาพ 4 การพัฒนาการต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของเพลี้ยอ่อน (Goodell *et al.,* 2001)

จากภาพจะเห็นว่า หลังจากฉีดพ่นสารครั้งแรก สมาชิกของเพลี้ยอ่อนที่ต้านทาน (resistant individual) มีจำนวนน้อย ขณะที่สมาชิกของเพลี้ยอ่อนที่อ่อนแอ (susceptible individual) มีมาก เมื่อฉีดพ่นครั้งที่ 2 และ 3 จำนวนสมาชิกของเพลี้ยอ่อนที่ต้านทานเพิ่มขึ้น ในขณะที่จำนวนสมาชิกของเพลี้ยอ่อนที่อ่อนแอลดลงตามลำดับ (Goodell *et al.,* 2001)

ประเภทของความต้านทาน

ความต้านทานต่อสารเคมีที่เกิดขึ้นโดยศัตรูพืชแบ่งเป็น 3 ประเภทคือ

- **ความต้านทานเดี่ยว (single resistance)** หมายถึง การที่ศัตรูพืชสามารถสร้างความต้านทานต่อสารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียว
- **ความต้านทานข้าม (cross resistance)** หมายถึง การที่ศัตรูพืชสร้างความต้านทานต่อสารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง แล้วสามารถสร้างความต้านทานต่อสารเคมีชนิดอื่นที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน หรือคนละกลุ่มกัน แต่มีกลไกการออกฤทธิ์เข้าทำลายศัตรูพืชเหมือนกัน หรือคล้ายกัน ถึงแม้ว่าสารเคมีที่ถูกสร้างความต้านทานข้ามนั้นไม่เคยมีการใช้มาก่อน ในพื้นที่นั้นเลย เช่นแมลงที่สร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต แล้วสร้างความต้านทานข้ามต่อสารกลุ่มคาร์บาเมท แม้สารกลุ่มหลังไม่เคยใช้มาก่อนสาเหตุเนื่องจากสารทั้ง 2 กลุ่มดังกล่าวมีกลไกการออกฤทธิ์เหมือนกัน คือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- **ความต้านทานรวม (multiple resistance)** หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า dual resistance หมายถึง การสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าเชื้อราได้มากกว่า 1 กลุ่มของเชื้อราชนิดหนึ่ง เช่น การสร้างความต้านทานต่อสารกลุ่ม benzimidazole และ dicarboximide ของเชื้อ *Botrytis cinerea* ในประเทศนิวซีแลนด์ (Beresford, 1994)

บทบาทของสารกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึมต่อเชื้อรา

สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึม มีการใช้อย่างกว้างขวางและคาดคะเนไม่ได้ บางครั้งทำให้เกิดปัญหาในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่อย่างได้ผล เช่น สารกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึมบางชนิดไปกระตุ้นให้เกิดการดื้อยา (resistance or tolerance) นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการดื้อยาร่วม (cross resistance) ขึ้นได้อีกด้วย โดยเฉพาะสารเคมีที่มีฤทธิ์จำเพาะเจาะจงต่อส่วนประกอบของเซลล์ (cell organelle) และมีฤทธิ์มี toxic moiety อย่างเดียวกัน เช่น การดื้อต่อสาร benzimidazole ก็ย่อมจะดื้อต่อสาร thiophanate-methyl หรือสาร benomyl ได้ด้วย

สารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim เมื่อใช้ในปริมาณ 1 ppm จะไม่มีผลต่อการงอกของเชื้อรา *Neurospora crassa* แต่หยุดการเจริญของ germ tube ได้ และยังพบอีกว่าน้ำหนักแห้งของสปอร์จะเพิ่มขึ้นในเวลา 6 ชั่วโมง ระหว่างกำลังงอกเท่านั้น หลังจากนั้นจะลดลง ทำให้ได้เซลล์ที่ผิดปกติ เนื่องจาก carbendazim ไปมีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์ DNA แต่โปรตีน และ RNA ไม่ถูกกระทบกระเทือนซึ่งขบวนการนี้จะพบได้ในยีสต์และราเขม่าดำ ซึ่งต่อมาพบว่าพิษของ carbendazim นั้นทำให้การแบ่งตัวแบบ mitosis ผิดปกติ เพราะทำให้เกิดเซลล์ใหม่ที่มีนิวเคลียส 1 นิวเคลียส และมีขนาดใหญ่แต่ไม่มีการแบ่งตัว ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับสาร colchicine คือไปยับยั้งหน่วยย่อยของ ไมโตคอนเดรียที่จะสร้าง spindle fiber จึงทำให้ chromatic ไม่สามารถแยกออกจากกันไปเป็นนิวเคลียสใหม่ได้ ด้วยเหตุนี้จึงสันนิษฐานว่าขบวนการดังกล่าวเป็นสาเหตุของการดื้อยา (ธรรมศักดิ์, 2543)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขบวนการทางชีวเคมีของการดื้อต่อสารกำจัดเชื้อรา (Biochemical Mechanism)

ธรรมศักดิ์ (2543) การดื้อยา มีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเชื้อรา และต่อมาได้มีผู้ศึกษาเกี่ยวกับขบวนการทางชีวเคมี เพื่อให้ทราบกลไกการดื้อยา ซึ่งอาจจะมีกลไกการดื้อยาต่อไปนี้เกิดขึ้นได้ คือ

1. การลดพิษสารเคมี (detoxification)

การทำลาย หรือการทำให้สารพิษไม่มีพิษหรือเสื่อมพิษ อาจเกิดภายนอกเซลล์ เช่นการปล่อยเอนไซม์ lactamase ซึ่งจะไป hydrolyse พันธะ lactan ในโมเลกุลของ penicillin และ cephalosporin ทำให้เสื่อมพิษลง การลดพิษนี้ไม่ได้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมี แต่เกี่ยวข้องกับการยึดเกาะกันของสารประกอบของเซลล์กับสารพิษ ตัวอย่างการดื้อยาของเชื้อราโดยวิธีการลดพิษได้แก่ การใช้สารกลุ่ม organomercury compound ในการคลุกเมล็ดเพื่อป้องกันเชื้อ *Pyrenophora avenae* โดยในปี ค.ศ. 1960 มีรายงานจากหลายๆ ประเทศว่าเกิดการดื้อยาของเชื้อต่อสารนี้ จากการศึกษาพบว่า isolate ที่ต้านทานจะเป็นจุดเริ่มต้นของการดื้อยา ซึ่งเรียกว่า pre-existing pool ซึ่งจุดนี้จะมีสารไปเกาะกับไอออนของสารพิษ และเปลี่ยนรูปของสารพิษให้เสื่อมพิษลง และพบว่าสาร red anthraquinone ซึ่งเป็นเม็ดสี ที่อยู่ใน pre-existing pool นี้ จะสามารถเกาะกับไอออนของสารพิษ และนำออกไปจากไซโตพลาสซึมได้โดยกระบวนการ chelation ซึ่งการดื้อยาแบบนี้ยังไม่มีการศึกษาทางพันธุกรรม และขบวนการลดพิษซึ่งเกี่ยวข้องกับจุดที่จับพิษนี้มี thioles ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเกิดจากการเปลี่ยนแปลงปรอทไปอยู่ในรูปของไอระเหย (volantile form)

ส่วนการดื้อยาโดยการเปลี่ยนแปลงสารกำจัดเชื้อราไปเป็นสารอนุพันธุ์ (derivative) ที่ไม่มีพิษนั้น มีรายงานว่ามีเชื้อราที่สามารถเปลี่ยน PCNB ไปเป็น pentachlorothioanisol และ pentachloroaniline ซึ่งพบได้ในเชื้อราพวก *Botrytis cinerea*

2. การลดการเปลี่ยนรูปสารพิษ (decreased conversion)

Analogues ของพิวรีน และไพริมิดีน เบส เป็นตัวอย่างของสารประกอบ ซึ่งจะไม่เป็นพิษ นอกจากจะถูกเปลี่ยนแปลง (conversion) ไปเป็นกรดนิวคลีโอไทด์ การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดได้โดยเอนไซม์ชนิดเดียวกับที่เปลี่ยนไนโตรจีนัสเบส ไปเป็นนิวคลีโอไทด์ ได้มีการทดลองใช้ 6-azauracil (AzU) เพื่อควบคุมโรคสแค็ปและโรคราแป้งของพืชตระกูลแตง พบว่าเกิดการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Cladosporium cucumerinum* สาเหตุโรคสแค็ป แต่ผลการยับยั้งไม่ได้มาจาก 6-azauridine-5-phosphate (AzUMP) ซึ่งถูกสังเคราะห์จาก 6-azauridine (AzUR) เมื่อทดลองใช้สายพันธุ์ที่ผ่านแสงอุลตราไวโอเลตแล้ว พบว่าเชื้อดังกล่าวดื้อต่อ AzU แต่ไม่ดื้อต่อ AzUR หรือ AzUMP ซึ่งขบวนการดื้อยาแบบนี้แสดงว่าเชื้อที่ดื้อยาไม่สามารถเปลี่ยนแปลง AzU ได้ เพราะเกิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การสูญเสียปฏิกิริยาของเอนไซม์ uridine phosphorylase ซึ่งนำไปสู่การไม่สามารถเปลี่ยนแปลงยูราซิล และยูริดีนได้

นอกจากนี้สายพันธุ์ที่ดื้อยาอีกสายพันธุ์หนึ่ง ซึ่งเรียกว่า strain R ของเชื้อรา *Cladosporium cucumerinum* พบว่าสายพันธุ์นี้ไม่ขาดเอนไซม์ uridine phosphorylase แต่จะดื้อยาต่อ AzUR และ AzUMP เพราะว่าในสายพันธุ์นี้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ uridine kinase ซึ่งทำให้ไม่สามารถเปลี่ยนแปลง AzUR และ AzUMP ได้ ขบวนการนี้สามารถอธิบายการดื้อต่อ AzU และ AzUR ได้ แต่การดื้อต่อ AzUMP นั้น เกี่ยวข้องกับการลดความสามารถซึมผ่านเซลล์ หรือการเสื่อมพิษ (detoxification) มากกว่า

ในเชื้อรา *Pythuim debaryanum* และ *S. cerevisiae* ที่ดื้อต่อสาร pyrasophos โดยเชื้อทั้งสองจะลดการเปลี่ยนแปลงของ pyrasophos ไปเป็น [2-hydroxy-5-methyl-6-ethoxy-carbonyl pyrazole-(1,5-)-pyrimidine (PP)]

3. การลดระดับความสามารถซึมผ่านเซลล์ (decreased permeability)

ผนังเซลล์ของเชื้อรามีคุณสมบัติเป็นพวก semi-permeability เมื่อสารกำจัดเชื้อราที่ล้อมรอบอยู่ทำปฏิกิริยาบนผิวของผนังเซลล์ การแทรกซึมของสารกำจัดเชื้อราจะมีมากหรือน้อยขึ้นกับการควบคุมทางพันธุกรรม ตัวอย่างเช่น เชื้อรา *Pyricularia orizae* จะดื้อต่อ Blasticidin-S เนื่องจากการลดการผ่านของสารเข้าไปยัง cytoplasmic membrane เชื้อ *N. crassa* จะดื้อต่อ ededine เนื่องจากการยับยั้งการรับสาร

ความแตกต่างของเซลล์เชื้อกลายพันธุ์ (mutant cell) และเซลล์เชื้อดั้งเดิม (wild type cell) คือเชื้อกลายพันธุ์จะลดปฏิกิริยา affinity หรือปฏิกิริยาของการตอบรับภายในเซลล์ (intracellular receptor) ของสารประกอบ ทำให้สูญเสียความสามารถในการรับสาร เนื่องจากมีการดัดแปลงปฏิกิริยาของแมมเบรน ทำให้สูญเสียความสามารถในการซึมผ่านของเซลล์

ในกรณีของเชื้อ *S. cerevisiae* ดื้อต่อสาร (5-fluoro-cytosine) และเชื้อ *C. lagopus* ดื้อต่อสาร (2-deoxy-D-glucose) นั้น เป็นผลมาจากการสูญเสียความสามารถซึมผ่านเซลล์ ทำให้การส่งผ่านสารในเซลล์ผิดปกติ และเชื้อ *A. nidulans* ทำให้ความสามารถที่จะส่งผ่านกรดอะมิโนหลายชนิด รวมทั้ง analogues อื่นๆ เสียไป carbendazim มีรายงานว่าแทรกซึมเข้าสู่เซลล์ของเชื้อรา *Sporomyces roseus* ได้โดยผ่านเข้าไปแบบการส่งผ่านในเซลล์ท่ออาหาร (active transport system) ซึ่งการดื้อต่อ carbendazim เกิดขึ้นเนื่องจากการสูญเสียการรับสารของเซลล์นั่นเอง เชื้อรา *Alternaria kikuchiana* จะดื้อต่อสาร polyxin-D โดยเชื้อที่ดื้อยาและไม่ดื้อยา จะไม่มีความแตกต่างกันในเรื่องการดูดซึมระหว่างการเคลื่อนย้ายของสารปฏิชีวนะนี้ แต่จะแตกต่างกันมากในเรื่อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณสารสะสมในไซโตพลาสซึม โดยระบบการส่งผ่านในเซลล์ท่ออาหาร ซึ่งการลดการซึมผ่านเซลล์ ทั้งของเซลล์และไมโตคอนเดรีย เมมเบรน และนิวเคลียส เมมเบรน จะเกี่ยวข้องกับจุดที่จะทำปฏิกิริยา (target site) ของสารเคมี และจะเกี่ยวข้องกับการลดการเกาะ (bind site) ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อ ส่วนเชื้อ *Torulopsis utillis* ซึ่งดื้อต่อ antimycin ไม่เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านสารในเซลล์ แต่เกี่ยวข้องกับการลดการเกาะกันของสารยับยั้ง (inhibitor) กับ mitochondrial respiratory particel

4. การดัดแปลงตำแหน่งของปฏิกิริยา (site modification)

การเปลี่ยนแปลงตำแหน่งของเซลล์ที่กลายพันธุ์ (mutant cell) ต่อสารพิษนั้น เป็นการลดตำแหน่งที่ทำปฏิกิริยากับสารพิษ ซึ่งขบวนการแบบนี้พัฒนาให้ดื้อต่อสารเคมี ซึ่งสารพิษทำปฏิกิริยาเกี่ยวข้องกับขบวนการต่างๆ มากมาย ดังนั้นการดัดแปลงตำแหน่งของปฏิกิริยา (site modification) ถือว่าเป็นขบวนการดื้อต่อสารกำจัดเชื้อราอีกอย่างหนึ่ง

วิวัฒนาการของการดื้อยา

ธรรมศักดิ์ (2543) การดื้อต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราทำให้มีการพยายามค้นหาวิธีในการป้องกันการพัฒนาของเชื้อ ซึ่งจะต้องศึกษาข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีวเคมี และทางพันธุกรรม และแนวโน้มของการดื้อยา ว่าเกิดขึ้นมากเพียงใด ในปี ค. ศ. 1960 ได้มีรายงานว่าการใช้สารเคมีควบคุมโรคพืชไม่ได้ผล เพราะเกิดการพัฒนาของเชื้อราให้ดื้อต่อสารเคมี ในขณะนั้นไม่เพียงแต่เกิดการต่อยาฆ่าแมลง และสารปฏิชีวนะเท่านั้น ยังพบว่าพืชที่ปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ต้านทานต่อโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรายังสามารถเกิดโรคได้ เพราะมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเชื้อราให้สามารถเข้าทำลายพืชได้ดีขึ้น ซึ่งการดื้อยาดังกล่าวมี 2 ลักษณะคือ

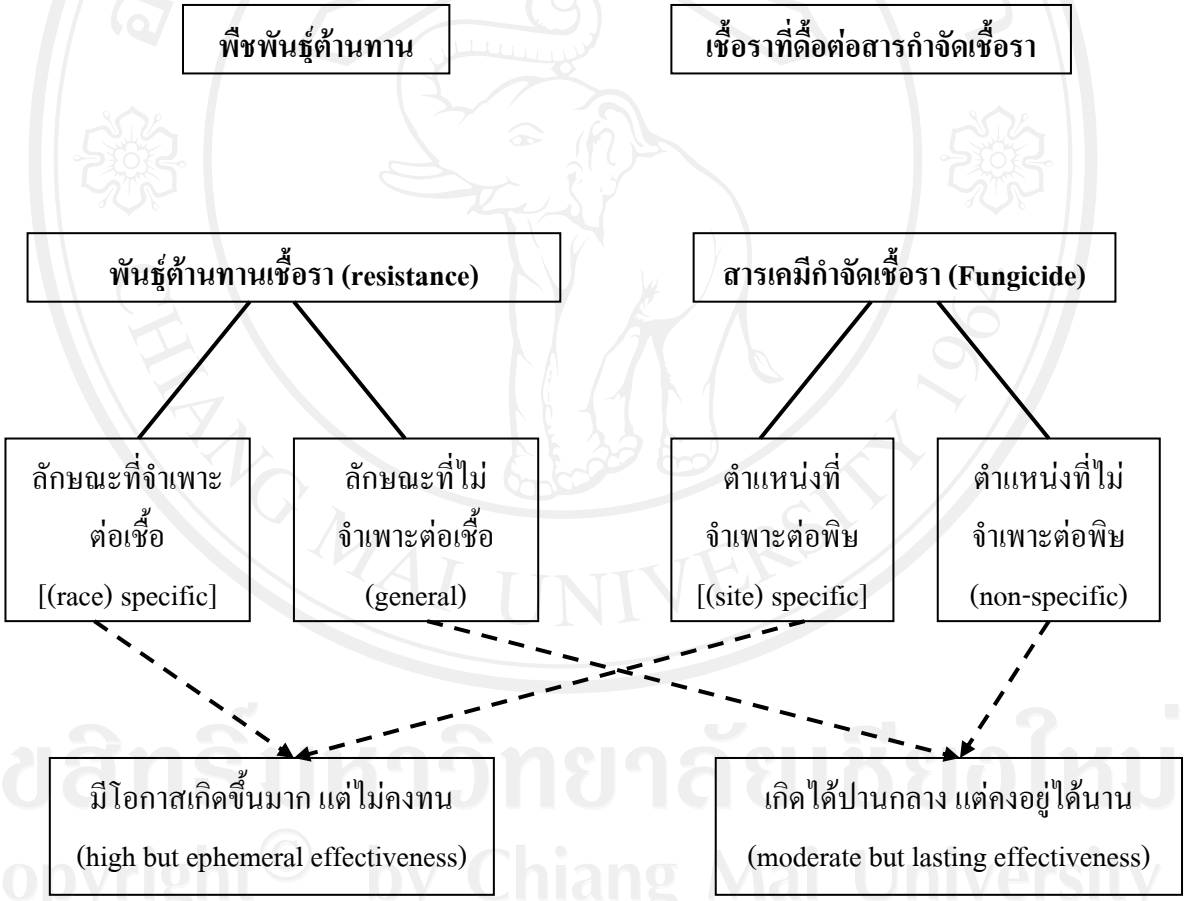
1. การดื้อยาที่มีพิษเจาะจงและไม่เจาะจงของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา (A resistance to multisite and specific- site fungicide)

การควบคุมโรคส่วนใหญ่จะใช้สารเคมีประเภทดูดซึม และโดยส่วนมากสารประกอบที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อราจะถูกใช้โดยเกษตรกรโดยไม่ได้คำนึงถึงบทบาทของสาร ซึ่งทำให้เกิดผลเสียอย่างมาก เช่นในกรณีการใช้สารในกลุ่ม dimethyl และ diethyl dithiocarbamate เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของเชื้อรา ซึ่งสันนิษฐานว่าเกิดโดยทำให้เกิด chelation ซึ่งสารที่มีพิษไม่จำกัดนั้น ทำให้เกิดความเป็นพิษกว้าง จึงจะสามารถป้องกันการดื้อยาได้ ในปัจจุบันการดื้อต่อสารที่มีพิษไม่เจาะจง (multisite fungicide) ยังไม่มีรายงานในห้องปฏิบัติการ เหตุผลสำคัญคือการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เปลี่ยนแปลงในยีนของเชื้อกลายพันธุ์นี้จะไม่มีผลต่อสารพิษพวกไม่เจาะจง ซึ่งต้องการยีนมากกว่า 1 ยีน จึงจะดื้อยาได้

หลักฐานเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการนำสารกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึมเข้ามา จะทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับการดื้อยาของเชื้อราต่อสารเคมีกลุ่มดูดซึมมากขึ้น การใช้สารเคมีกลุ่มดูดซึมในการเกษตร แสดงให้เห็นความผันแปรของเชื้อราสามารถดื้อต่อการควบคุมของสารเคมีเหล่านี้ได้คล้ายกับการต้านทานที่เกิดในพืชพันธุ์ต้านทาน ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพ 5 การเปรียบเทียบการดื้อยาของเชื้อราต่อสารเคมีและการต้านทานโรคพืช (ธรรมศักดิ์, 2543)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ถึงแม้ว่าการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึมจะได้ผลดี หรือสามารถต่อต้านเชื้อราได้ แต่ก็ไม่ยาวนานนัก ปัญหาของการดื้อยาจะเพิ่มขึ้นหรือไม่ ขึ้นอยู่กับชนิดของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ถ้าชนิดของสารป้องกันกำจัดเชื้อรามีพิษเจาะจงกับเชื้อรา ก็จะเกิดการผันแปรพอที่จะเกิดการดื้อยาภายใต้สภาพแวดล้อมนั้นได้ง่ายและเร็ว

อย่างไรก็ตามสารที่มีพิษเฉพาะเจาะจงและสารที่มีพิษไม่เฉพาะเจาะจง ยังไม่มีข้อบ่งชี้แน่ชัดว่าสารดูดซึมกลุ่มใดก่อให้เกิดการดื้อยาเร็วกว่ากัน

อีกเหตุผลหนึ่งที่ทำให้เกิดการดื้อยา คือ วิธีการใช้ เช่นการใช้สาร oxycarboxin ฉีดพ่นเพื่อควบคุมโรคราสนิมของเบญจมาศ จะพบการพัฒนาของเชื้อที่ดื้อยาได้ง่ายกว่าการใช้สาร carboxymide สำหรับคลุกเมล็ด (seed treatment) จึงเป็นที่น่าสังเกตว่าการพัฒนาการดื้อยาของเชื้อราขึ้นอยู่กับวิธีการใช้ด้วย

2. การปรับตัวและการคัดเลือกกลุ่มเชื้อดื้อยา (Selection and adaptability of resistance)

อัตราการเปลี่ยนแปลงโดยการคัดเลือก (selection) ขึ้นกับจำนวนของการผันแปรของการถ่ายทอดไปสู่ลูกหลานได้ของกลุ่มประชากร และความถี่ของการคัดเลือก การดื้อต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรานั้น ความผันแปรของการถ่ายทอดไปสู่ลูกหลานจะแสดงออกโดยจำนวนและการกลายพันธุ์ของยีนที่จะเกิดขึ้น ทำให้เกิดการดื้อต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ความกดดันระหว่างการคัดเลือก ขึ้นกับวงจรของการสืบพันธุ์ (reproductive cycle) ของเชื้อรา ความคงทนของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ความแตกต่างของความอ่อนแอ (sensitive) ในพวกดั้งเดิม (wide type) และพวกกลายพันธุ์ (mutant type) ซึ่งจะแสดงโดยการตอบสนองต่อความยาวของช่วงเวลาที่ใช้ความเข้มข้นของสารเคมีที่แตกต่างกัน การต้านทานต่อการคัดเลือกในสภาวะกดดัน (selection pressure) ดังกล่าวจะเกิดขึ้นแตกต่างกันไประหว่างใน obligate parasite และ non- obligate parasite ด้วย โรคพืชที่เกิดจากเชื้อราพวก non- obligate parasite ผลของการควบคุมโรคโดยใช้สารเคมีอาจประสบผลสำเร็จในหลายๆ ปี ถ้าเชื้อดังกล่าวมีสภาพเป็น virulent form

อีกปัจจัยหนึ่งของการคัดเลือกในสภาวะกดดัน คือวิธีการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา ไม่ว่าจะเป็นแบบคลุกเมล็ด หรือแบบฉีดสเปรย์ หรือการให้ตามร่องน้ำ (furrow) ถ้าฉีดสเปรย์ไปในพื้นที่กว้างของระบบนิเวศน์การเกษตร จะพบว่าประชากรของเชื้อราจะได้รับสารเคมีพร้อมกันแต่อาจจะต่างระดับกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อเหล่านั้น ในสภาพแบบนี้ เชื้อที่จำเพาะเจาะจงต่อสารเคมีอยู่ภายใต้การคัดเลือกในสภาวะกดดัน เชื้อจึงเกิดการดื้อยาได้ โดยไม่ต้องคำนึงถึงว่าจะเป็นเชื้อราในกลุ่ม obligate parasite หรือ non- obligate parasite

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในอดีตสารป้องกันกำจัดเชื้อราถูกใช้โดยไม่คำนึงถึงว่าอาจเกิด strain ใหม่ของเชื้อราจนกระทั้งผลของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ต่อการควบคุมกลุ่มประชากรไม่สามารถควบคุมเชื้อดังกล่าวได้ในระดับไร่นา อัตราการเปลี่ยนแปลงอาจเกิดขึ้นตั้งแต่ในการใช้ในช่วงแรก ทำให้เกิดการระบาดของโรคในระดับที่เป็นปัญหาทางเศรษฐกิจขึ้น ดังนั้นชนิดและความถี่ของการใช้จึงถูกนำมาพิจารณาว่าจำเป็น คือต้องใช้สารนั้นอย่างต่อเนื่องในประชากรของเชื้อจึงจะถือว่ามีเชื้อกลายพันธุ์ได้

ในนิวยอร์ค การใช้สารโดดีนระดับรุนแรงเพื่อควบคุมโรคสแค็บ จะเกิดปัญหาการดื้อยาภายใน 10 ปี ขณะที่การใช้สาร captan ในปริมาณที่เท่ากันในเวลา 20 ปี เชื้อก็ยังไม่แสดงการดื้อยา และการใช้สาร benomyl ในการป้องกันโรคสแค็บในพื้นที่เดียวกัน และในออสเตรเลียตอนใต้เกิดปัญหาการไม่สามารถควบคุมโรคได้ ในระยะเวลาเพียง 3 ปี

ตาราง 1 รายงานการดื้อของเชื้อราต่อสารเบนซิมิดาโซลจากแหล่งต่างๆ (reports of field developed resistance to benzimidazole fungicides) (ธรรมศักดิ์, 2543)

เชื้อรา	พืชอาศัย	ประเทศ	ปี ค. ศ.
Botrytis cinerea	แตงกวา	ญี่ปุ่น	1975
	cyclamen	เนเธอร์แลนด์	1971
	ผักกาดหอม	อังกฤษ	1974
	raspberry	สก๊อตแลนด์	1973
	strawberry	อังกฤษ	1974
		สก๊อตแลนด์	1973
		อเมริกา	1976
	มะเขือเทศ	อังกฤษ	1974
		อเมริกา	1974
Ceratocystis ulmi	elms	อเมริกา	1976
Cercospora apii	celery	อเมริกา	1976
C. arachidicola	ถั่วลิสง	อเมริกา	1974
C. beticola	sugar beet	กรีก	1973
		อิตาลี	1974
		อเมริกา	1974

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 1 (ต่อ) รายงานการดื้อของเชื้อราต่อสารเบนซิมิดาโซลจากแหล่งต่างๆ (reports of field developed resistance to benzimidazole fungicides) (ธรรมศักดิ์, 2543)

เชื้อรา	พืชอาศัย	ประเทศ	ปี ค. ศ.
Cercosporidium personatum	ถั่วลิสง	อเมริกา	1974
Colletotrichum coffeanum	กาแฟ	เคนยา	1976
C. musae	กล้วย	หมู่เกาะอินเดียตะวันออก	
Erysiphe cichoracearum	มะเขือ	ญี่ปุ่น	1975
E. graminis	blue grass	อเมริกา	1973
Fusarium oxysporum	gladiolus	อเมริกา	1974
Penicillium brevicompactum	cyclamen	เนเธอร์แลนด์	1971
P.corymbiferum	lily	เนเธอร์แลนด์	1971
P. digitatum	พืชตระกูลส้ม	อเมริกา อิสราเอล ญี่ปุ่น	1972 1974 1976
Sclerotinia fructicola	cherry	ออสเตรเลีย	1976
S.homoeocarpa	turf grass	อเมริกา	1974
Sphaerotheca fuliginea	พืชตระกูลแตง	อเมริกา อิสราเอล ญี่ปุ่น กรีก	1969 1970 1975 1976
S. humuli	strawberry	ญี่ปุ่น	1975
Venturia inaequalis	apple	ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น	1974 1975
V. pyrina	pear	อิสราเอล	1976
Verticillium dahliae	มะเขือเทศ	อังกฤษ	1976
V. malthousei	เห็ด	อเมริกา เนเธอร์แลนด์	1974 1975

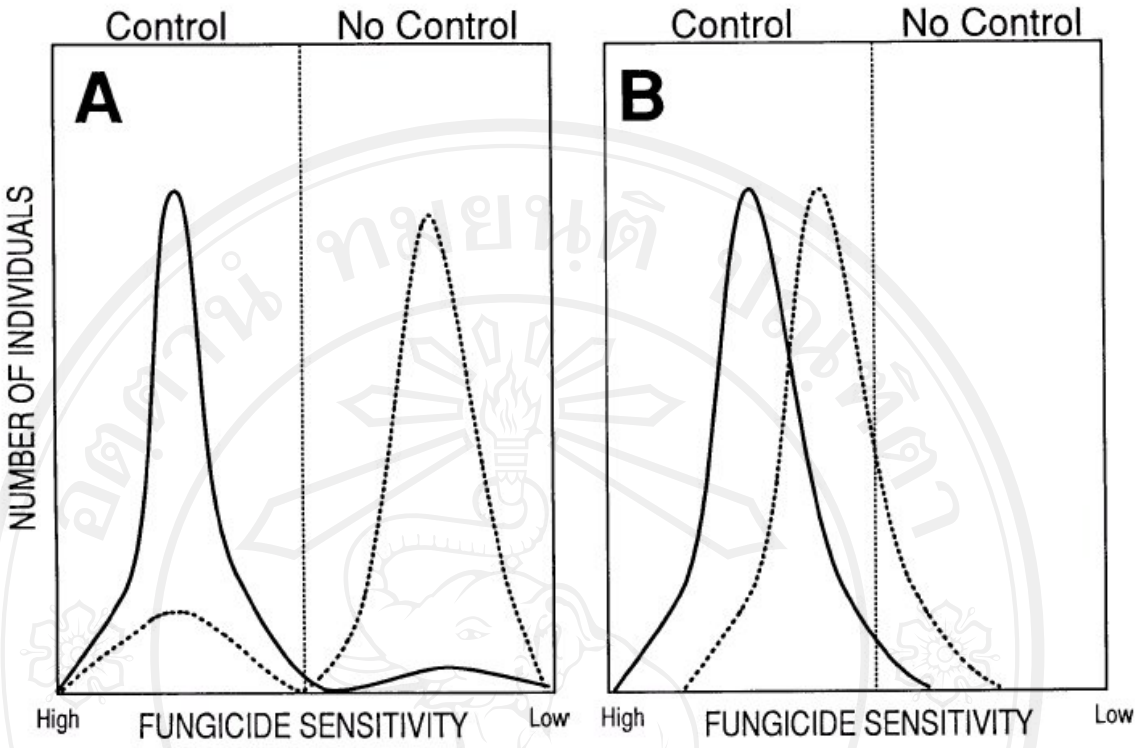
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การพัฒนาและกลไกการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าเชื้อรา

การสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าเชื้อราเป็นการดัดแปลงพันธุกรรมของเชื้อรา เพื่อลดการตอบสนองต่อสารเคมี นักวิทยาศาสตร์เชื่อกันว่าการลดการตอบสนองต่อสารเคมีนั้น เกิดจากการกลายพันธุ์ (mutation) ของเชื้อรา ซึ่งอาจมีเชื้อจำนวนน้อยมาก อาจมีเพียง 1 ในล้านที่จะเกิดการกลายพันธุ์ ส่วนของเชื้อราที่จะเกิดการกลายพันธุ์นั้นอาจเป็นส่วนของเส้นใย (mycelium) ส่วนที่ใช้ในการขยายพันธุ์ที่เรียกว่า sclerotium หรือสปอร์ หรือนิวเคลียสของเซลล์ที่ขยายพันธุ์และแพร่กระจายไปที่อื่นได้ การกลายพันธุ์นั้น อาจเกิดมาจากการเปลี่ยนแปลงของยีนเพียง 1 ยีน (single gene) หรือ หลายยีน (multiple gene) ซึ่งการต้านทานที่เกิดมาจากการกลายพันธุ์ของยีนเพียง 1 ยีน จะใช้เวลาในการพัฒนาความต้านทานสั้นกว่าการต้านทานที่เกิดมาจากการกลายพันธุ์ของยีนมากกว่า 1 ยีน เชื้อรามีกลไกการสร้างความต้านทานโดยการลดการเข้าไปของสารเคมี และการสลายพิษของสารเคมี

ระดับความต้านทานต่อสารฆ่าเชื้อราสามารถวัดได้ในห้องปฏิบัติการ โดยการเก็บตัวอย่างเชื้อราในสภาพไร่มาทดสอบความเป็นพิษของสารเคมีโดยดูผลจากการยับยั้งการเจริญเติบโต การยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา หรืออาจใช้พืชที่เกิดโรคมาทดสอบโดยตรง หากไม่สามารถเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการได้ แล้ววัดค่าความเป็นพิษโดยแสดงในรูปของค่า effective concentration 50 % (EC_{50}) ซึ่งได้จากการคำนวณโดยอาศัยหลักการเดียวกับค่า LD_{50} ของสารเคมีในสัตว์ทดลอง การกระจายตัวของประชากรของเชื้อราเป็นแบบปกติ (normal-shaped) เมื่อสารเพิ่งถูกนำเข้ามาใช้ เชื้อราส่วนใหญ่จะกระจายตัวอยู่ในช่วงที่ตอบสนองต่อสารฆ่าเชื้อรา ซึ่งสามารถถูกควบคุมได้นั่นเอง จึงมีความเสี่ยงต่อการต้านทานต่ำ แต่ขณะเดียวกันก็มีเชื้อราส่วนหนึ่งที่ต้านทานและกระจายอยู่ในช่วงที่ไม่ตอบสนองต่อสารเคมี ดังนั้นจึงไม่ถูกควบคุมโดยสารเคมี (ภาพ 6 A เส้นทึบ) เมื่อมีการใช้สารชนิดเดิมติดต่อกันเป็นเวลานาน ทำให้เชื้อราที่ต้านทานเพิ่มสัดส่วนมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากการต้านทานนั้นเกิดขึ้นจากการกลายพันธุ์ของยีนเพียง 1 ยีนก็จะทำให้สัดส่วนของเชื้อราต้านทานเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (ภาพ 6A เส้นประ) ส่งผลให้จำนวนประชากรของเชื้อราที่ตอบสนองต่อสารเคมีต่ำมีสัดส่วนสูงขึ้น ทำให้การควบคุมโดยสารเคมีไม่ได้ผล ในทางตรงกันข้าม หากการต้านทานนั้นเกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนมากกว่า 1 ยีนขึ้นไป จะส่งผลให้การพัฒนาการต้านทานช้าลง ดังนั้นประชากรของเชื้อราที่ต้านทานจะค่อยๆ เพิ่มสัดส่วนขึ้น การตอบสนองต่อสารเคมีในประชากรจะค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ (ภาพ 6B) ดังนั้นในบางครั้งจึงไม่สามารถแยกประชากรของเชื้อราที่ต้านทานกับประชากรที่อ่อนแอได้อย่างชัดเจนเหมือนลักษณะการต้านทานที่เกิดขึ้นจากการกลายพันธุ์ของยีนเพียง 1 ยีน (Damicone, 2002)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 6 การสร้างความต้านทานของเชื้อราที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว (A) และเกิดขึ้นอย่างช้าๆ (B) (Damicone, 2002)

ปัจจัยที่ก่อให้เกิดความต้านทานต่อสารฆ่าเชื้อรา

O'Brien (2001) มีปัจจัยหลายปัจจัยที่ก่อให้เกิดความเสี่ยง ในการสร้างความต้านทาน ดังนั้นในการทำนายความต้านทานจึงมีความซับซ้อนและยุ่งยาก ปัจจัยที่สำคัญที่จะก่อให้เกิดการสร้างความต้านทานได้เร็วหรือช้าเพียงใด ได้แก่ คุณสมบัติของสารเคมี เช่นกลไกการออกฤทธิ์ ชีววิทยาของเชื้อรา และการปฏิบัติต่างๆ ในการผลิตพืช

1. คุณสมบัติทางเคมีและการออกฤทธิ์ของสาร

สารฆ่าเชื้อราบางกลุ่มเช่น กลุ่ม benzimidazole และ phenylamide จะถูกสร้างความต้านทาน โดยการกลายพันธุ์ของยีนเพียง 1 ยีน ดังนั้นจึงมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดการต้านทาน ส่วนสารกลุ่ม dicarboximide และกลุ่มที่ยับยั้งการสร้าง sterol หรืออาจเรียกว่าเป็นพวก demethylation inhibitor (DMI's) ถูกสร้างความต้านทานช้ากว่า เนื่องจากจะต้องมีการกลายพันธุ์ของยีนมากกว่า 1 ยีน สารฆ่าเชื้อราที่มีตำแหน่งการออกฤทธิ์หลายตำแหน่ง (multi-site fungicide) ซึ่งไปรบกวนหลายกระบวนการของเชื้อรา และส่วนใหญ่สารเหล่านี้มีการออกฤทธิ์แบบป้องกันโดย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การยับยั้งการงอกของสปอร์ ความเสี่ยงที่จะเกิดความต้านทานจึงมีต่ำหรืออาจไม่มีการสร้างความต้านทาน

2. ชีววิทยาของเชื้อรา

เชื้อราที่มีวัฏจักชีวิตสั้น สามารถขยายพันธุ์ได้เร็วและขยายพันธุ์ได้ครั้งละมากๆ และหากมีการแพร่กระจายสปอร์ของเชื้อราไปในอากาศ (air-borne fungi) เช่น เชื้อสาเหตุโรคราสนิม ราแป้ง และราน้ำค้าง มีความเสี่ยงในการพัฒนาสร้างความต้านทานต่อสารเคมีสูง เนื่องจากส่วนที่ใช้ในการขยายพันธุ์ เช่นสปอร์มีโอกาสสัมผัสกับสารเคมีสูง ดังนั้นความรุนแรงในการคัดเลือกเพื่อสร้างความต้านทานจึงมีสูง เชื้อราพวกนี้ได้แก่ พวกที่ก่อให้เกิดโรคกับส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน เช่น ใบ โดยบนใบหนึ่งๆ อาจพบจำนวนสปอร์หลายพันสปอร์ ในทางตรงข้ามเชื้อราที่มีวัฏจักรชีวิตยาว โดยอาจมีเพียง 1 รุ่นต่อฤดูกาลปลูกพืชและมีการขยายพันธุ์ต่ำ เช่นเชื้อราที่อยู่ในดิน (soil-borne fungi) บางชนิดมีจำนวนของส่วนที่ใช้ในการขยายพันธุ์ เช่น เม็ด sclerotium น้อยกว่าเชื้อรากลุ่มที่กล่าวมาข้างต้น โดยอาจมีจำนวนเม็ด sclerotium เพียงร้อยเม็ดต่อต้น ดังนั้นจึงมีโอกาสสร้างความต้านทานได้ช้ากว่า

3. การปฏิบัติต่างๆ

ในการผลิตพืช การปฏิบัติและการดูแลต่างๆ ในการปลูกพืชส่งผลในการพัฒนาการสร้างความต้านทานต่อสารเคมี การใช้พันธุ์ที่อ่อนแอปลูก ส่งผลให้มีการคัดเลือกให้เกิดความต้านทานต่อสารเคมีมากขึ้น เนื่องจากจำเป็นจะต้องมีการฉีดพ่นสารเคมีมากยิ่งขึ้น เมื่อเทียบกับพันธุ์ต้านทาน การให้ปุ๋ยไม่เพียงพอ หรือให้ปุ๋ยไนโตรเจนมากเกินไป ทำให้เกิดโรคมากขึ้นในพืชบางชนิด เช่น โรคใบไหม้ในมะเขือเทศและมันฝรั่ง จะมีการระบาดรุนแรงขึ้น หากขาดธาตุไนโตรเจนในขณะที่ข้าวสาลี หากมีไนโตรเจนมากเกินไป จะทำให้โรคบางโรคระบาดรุนแรงขึ้น การให้น้ำบ่อยครั้งเกินไป แต่ให้ทีละน้อยๆ จะก่อให้เกิดโรคมากขึ้น เนื่องจากจะทำให้ใบพืช และดินเปียกชื้นอยู่ตลอดเวลา ทำให้การระบาดและการแพร่กระจายของเชื้อมากขึ้น การไม่รักษาความสะอาดแปลงปลูกหลังจากเก็บเกี่ยวแล้ว ทำให้ฤดูปลูกถัดไปมีโอกาสการระบาดของโรครุนแรงขึ้น การปลูกพืชในเรือนกระจก การปลูกพืชเชิงเดี่ยวติดต่อกันเป็นเวลานาน ส่งผลให้มีการระบาดของโรครุนแรงขึ้น ปัจจัยดังกล่าวข้างต้นที่ส่งผลให้เกิดการระบาดของโรคมากขึ้น นำมาสู่การใช้สารเคมีในการฉีดพ่นมากยิ่งขึ้น ทำให้ความรุนแรงในการคัดเลือกการต้านทานต่อสารเคมีเพิ่มมากขึ้นด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. ลักษณะการใช้สารฆ่าเชื้อรา

การใช้สารอย่างต่อเนื่อง และฉีดพ่นบ่อยครั้ง มีโอกาสเสี่ยงสูงที่จะเกิดการสร้างความต้านทาน วิธีการใช้สารที่แตกต่างกันส่งผลให้การพัฒนาการสร้างความต้านทานแตกต่างกัน สารที่ใช้ฉีดพ่นทางใบ มีโอกาสเสี่ยงต่อการพัฒนาความต้านทานสูงกว่า สารที่ใช้คลุกเมล็ดเนื่องมาจากสารคลุกเมล็ดใช้เพียงครั้งเดียวก่อนปลูก ในขณะที่สารฉีดพ่นทางใบต้องฉีดพ่นหลายครั้ง เทคนิคในการฉีดพ่น และอัตราในการใช้ มีผลต่อการสร้างความต้านทานเช่นเดียวกัน การฉีดพ่นสารที่กระจายไม่ทั่วถึง หรือใช้อัตราต่ำเกินไป ทำให้ควบคุมโรคไม่ได้ผล จำเป็นต้องฉีดพ่นซ้ำทำให้เกิดการสร้างความต้านทานเร็วขึ้น

โดยสรุป อิทธิพลของสารเคมีต่อเชื้อราอาจแบ่งเป็นผลกระทบขั้นต้น (primary effect) และผลกระทบขั้นปลาย (secondary effect) เมื่อมีสารเคมีชนิดใหม่ๆ ถูกสังเคราะห์ออกมา หรือนำมาใช้ทดสอบในงานต่างๆ เมื่อมีการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อราในห้องทดลอง การศึกษาอีกระดับหนึ่งคือการตรวจสอบการยับยั้งการหายใจ การยับยั้งการเร่งการเจริญเติบโต หรือยับยั้งการสังเคราะห์สารประกอบสำคัญอื่นๆ ภายในเซลล์ เช่น กรดอะมิโน สารประกอบเอสเอช (-SH compound) ซึ่งการศึกษาในระดับนี้ยุ่งยากขึ้น เมื่อรวมการศึกษาด้านการยับยั้งการสร้างสปอร์ การงอก การยืดยาวของเส้นใย หรือการศึกษาทางสัณฐานวิทยา ประกอบกับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ที่กล่าวมาทั้งหมดนี้อาจจะไม่ละเอียดในแง่ของงานทดลองแบบ bioassay ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์บางคนจึงศึกษารายละเอียดถึงโครงสร้างโมเลกุล ระหว่างสารพิษกับส่วนประกอบเซลล์ที่จะถูกทำปฏิกิริยา (target system) ซึ่งงานดังกล่าวค่อนข้างจะได้รับความสนใจโดยเฉพาะการศึกษาการดื้อต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม benzimidazole (ธรรมศักดิ์, 2543)

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเริ่มมีข้อจำกัด เนื่องจากสารหลายชนิดได้ถูกห้ามใช้ อีกทั้งตลาดผู้บริโภคให้ความสนใจเลือกซื้อผลิตผลที่มาจากระบบการผลิตที่ไม่ใช้สารเคมีกันมากขึ้น ดังนั้นเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดโรคพืชจึงต้องปรับเปลี่ยนให้สอดคล้อง ซึ่งแนวทางการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธีนั้นได้รับความสนใจยิ่งและอาจจะเป็นทางเลือกใหม่ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนส (พรชนก และคณะ, 2549)

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ ต่างให้ความสนใจกับสารที่ได้จากธรรมชาติ เช่น สมุนไพรมากขึ้น เพราะพืชสมุนไพรมีสรรพคุณหลายด้าน เช่นเป็นยารักษาโรค เป็นอาหาร และนำมาสกัดเพื่อใช้เป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของสปอร์ของเชื้อจุลินทรีย์ อีกทั้งยังเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่มากในประเทศไทย จึงน่าจะนำมาใช้ให้มากขึ้น เนื่องจากปลอดภัยกว่าการใช้สารเคมี จึงช่วยลดปริมาณสารพิษตกค้าง ลดการดื้อยาของศัตรูพืชบางชนิดได้ (กรรณิกา และคณะ, 2548) ซึ่งมีการเปรียบเทียบข้อดี – ข้อเสียระหว่างการใช้สารสกัดจากพืชกับสารเคมีสังเคราะห์ (ตาราง 2)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2 การเปรียบเทียบข้อดี – ข้อเสีย ระหว่างการใช้สารสกัดจากพืชกับสารเคมีสังเคราะห์ (ณรงค์, 2536)

สารสกัดจากพืช	สารเคมีสังเคราะห์
1. เลือกทำลายหรือทำลายเฉพาะเจาะจง	1. ทำลายครอบจักรวาล
2. มีความเป็นพิษต่ำ หรือค่อนข้างต่ำ	2. ความเป็นพิษมีตั้งแต่ต่ำถึงสูง
3. สลายตัวได้ง่าย	3. สลายตัวได้ยาก
4. ไม่มีอิทธิพลต่อระบบนิเวศน์หรือมีน้อย	4. มีอิทธิพลต่อระบบนิเวศน์มาก
5. หาวัตถุดิบได้ง่าย	5. หาได้ง่าย
6. ราคาถูก	6. ราคาแพง
7. มีโอกาสเกิดความต้านทานหรือดื้อยาน้อย	7. เกิดความต้านทานหรือดื้อยาได้ง่าย
8. ต้นทุนการผลิตต่ำ	8. ต้นทุนการผลิตสูง
9. ใช้เทคโนโลยีการผลิตที่ง่าย	9. ใช้เทคโนโลยีการผลิตที่ยุ่งยากซับซ้อน
10. ใช้กับศัตรูพืชในดินให้ประสิทธิภาพสูงกว่าและมีพิษตกค้างต่ำกว่า	10. ใช้กับศัตรูในดินให้มีประสิทธิภาพ และมีพิษกับจุลินทรีย์และสัตว์ที่มีประโยชน์เกิดพิษตกค้างในดิน

บัญญัติ (2518) ทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องเทศ 27 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ 33 ชนิด พบว่ากระชายยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus* sp. ข่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ *Curvularia* sp. ขิงแก่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *Aspergillus* sp. ขิงอ่อนยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Curvularia* sp. และ *Rhizopus* sp. ได้เป็นอย่างดี

นันทนีย์ (2534) ได้นำสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ กระชาย กระเทียม ขิง กระเพรา กระวาน ดีปลี โป๊ยกั๊ก พริกขี้หนู พริกไทย และมะกรูด มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* บนอาหาร PDA ที่ผสมผงสมุนไพรในอัตราความเข้มข้นต่างๆ 10 ระดับคือ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10% ตามลำดับ พบว่ากระชายและพริกไทยเป็นสมุนไพรที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ได้ทุกระดับความเข้มข้น รองลงมาคือ ดีปลี ขิง มะกรูด กระเทียม พริกขี้หนู โป๊ยกั๊ก กระวาน และกระเพราตามลำดับ ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสมุนไพรให้สูงขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ธารทิพย์ (2540) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด ที่สกัดด้วยเอทานอลจากข่า ทองพันชั่ง และว่านน้ำ พบว่าสารสกัดจากข่า ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย และการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporiodes* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่า ED_{50} เท่ากับ 1,300 ppm

สุเทพ (2544) ได้ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากข่าในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก พบว่า สารสกัดหยาบจากข่าที่สกัดด้วยเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ 84.26 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำสารสกัดหยาบจากข่ามาทดสอบฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดโรคแอนแทรคโนส บนผลพริก พบว่า เมื่อปลูกเชื้อ 6 ชั่วโมง ก่อนแล้วนำไปชุบสารสกัดหยาบจากข่าที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm ให้ผลในการยับยั้งการเกิดโรคได้ดีเท่ากับการใช้สาร Benomyl ทั้งในด้านการควบคุมโรค และคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยว

อนุศักดิ์ (2538) ศึกษาสารต้านเชื้อราจากข่า (*Languas galangal* Linn.) พบว่าส่วนสกัดหยาบโดย dichloromethane จากเหง้ามีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* การแยกสารต้านเชื้อราจากสารสกัดหยาบจากเหง้าโดยวิธีทางโครมาโตรกราฟฟีและตรวจสอบทางชีววิทยา ได้ส่วนที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราคือ LG I, LG II, LG III เมื่อวิเคราะห์สารด้วย GC-MS, IR และ CHNS/O Analyzer พบว่าสารที่ออกฤทธิ์ใน 3 ส่วน คือ 1'acetoxychavical acetate และไอโซเมอร์ เมื่อนำสารสกัดหยาบนี้ไปทดสอบกับลำไย ลิ้นจี่ และมะม่วง 11 สายพันธุ์ พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อราได้ทุกชนิด โดยยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้สูงสุด ที่ความเข้มข้น 1:1000 (v/v) ยกเว้น *C. gloeosporiodes* กับ *Lasiodiplodia* sp. เฉพาะส่วนสกัดหยาบเข้มข้นเท่านั้นที่ยับยั้งได้ ส่วนการทดสอบบนผลลำไยไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Lasiodiplodia* sp, *Fusarium* sp. และ *Pestalotiopsis* sp.

สุภัทรา (2548ก) ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบ 17 ชนิด ที่ได้จากสมุนไพรวงศ์ขิง ในการต่อต้านการเจริญของเส้นใยของรา 6 ชนิด คือ *C. capsici* (2 สายพันธุ์), *C. gloeosporioides* (2 สายพันธุ์), *Dothiorella sp., Lasiodiplodia theobromae, Pestalotiopsis sp.* และ *Pythium aphanidermatum* พบว่า สารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดี คือ สารสกัดที่ได้จาก ขิง (Ginger) และไพล (Jengibre Colorado) ความเข้มข้น 10,000 ppm ในอาหาร PDA โดยสารสกัดหยาบจากขิง มีผลทำให้การเจริญของเส้นใยของรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ทุกสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบลดลง ระหว่าง 83-87% และทำให้เชื้อรา *P. aphanidermatum* ไม่สามารถเจริญได้ ในการทดสอบผลต่อการงอกของสปอร์ พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จาก ขิง เร่ว ข่า ขมิ้นอ้อย และว่านชักมดลูก สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของ *C. capsici* สายพันธุ์ 152 และ 170 เชื้อรา *C. gloeosporioides* สายพันธุ์ 163, และ *Pestalotiopsis sp.*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ที่นำมาทดสอบได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อมีความเข้มข้นของสารสกัด 25,000 ppm สปอร์ของเชื้อรา *C. capsici* ทั้ง 2 สายพันธุ์ และเชื้อรา *C. gloeosporioides* สายพันธุ์ 163 ไม่สามารถงอกได้ในสารสกัดหยาบที่ได้จากกระชาย เมื่อสารสกัดมีความเข้มข้น 5,000 ppm ขึ้นไป

สุภัทรา (2548ข) ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดน้ำมันระเหยที่ได้จากสมุนไพรวงศ์ขิง 3 ชนิด คือ กระชาย, ข่า, และ ขิง ในการต่อต้านการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด คือ *C. capsici* (2 สายพันธุ์), *C. gloeosporioides* (2 สายพันธุ์), *Dothiorella* sp., *Lasiodiplodia theobromae*, *Pestalotiopsis* sp. และ *Pythium aphanidermatum* พบว่า น้ำมันระเหยที่มีประสิทธิภาพดีในการศึกษาครั้งนี้ คือน้ำมันระเหยที่ได้จากกระชาย และขิง ความเข้มข้น 1,000 ppm ในอาหาร PDA โดยน้ำมันกระชายมีผลทำให้ เชื้อรา *C. capsici* (สายพันธุ์170), *Dothiorella* sp. และ *P. aphanidermatum* ไม่สามารถเจริญได้ และทำให้การเจริญของเชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. ลดลง 88 % น้ำมันระเหยที่สกัดจากขิงสามารถทำให้การเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สายพันธุ์ 163, *C. gloeosporioides* สายพันธุ์ 458, *L. theobromae*, *Pestalotiopsis* sp. และ *P. aphanidermatum* ลดลง 69, 73, 82, 65 และ 64 % ตามลำดับ และจากการศึกษาผลของน้ำมันระเหยที่มีต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราพบว่า น้ำมันระเหยที่สกัดจากกระชายและขิง ให้ผลดีมากในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. capsici* ทั้ง 2 สายพันธุ์ *C. gloeosporioides* (สายพันธุ์ 163) และ *Pestalotiopsis* sp. เมื่อมีความเข้มข้นของสารสกัดน้ำมันระเหยตั้งแต่ 100 ppm ขึ้นไป

นุชนารถ และคณะ (2547) เก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์ข้าวจากเกษตรกร 11 ราย ใน 4 อำเภอ ของจังหวัดเชียงใหม่ แล้วตรวจหาปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ด และทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบด้วยน้ำจากสมุนไพร ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุ 4 ชนิด คือ *Alternaria* sp., *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp. และ *Fusarium* sp. โดยใช้ กระเทียม ข่า และขมิ้น และสารสกัดเอธานอลจากขมิ้น ผสมในอาหาร PDA พบว่าสารสกัดน้ำจากข่าและขมิ้นความเข้มข้น 60% ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 4 ชนิดได้อย่างสมบูรณ์ (100%) ยกเว้นสารสกัดขมิ้นที่ความเข้มข้นนี้ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Curvularia* sp. ได้เพียง 90.03 % และเมื่อนำสารสกัดน้ำจากกระเทียม ข่า และขมิ้นสด และสารสกัดเอธานอลจากขมิ้นแห้ง และผงแห้งของพืชเหล่านี้มาคลุกเมล็ด ตรวจสอบโดย blotter method พบว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำจากข่าผง ความเข้มข้น 40 % และ 60%, กระเทียมผง 60 %, สารสกัดเอธานอลจากขมิ้นความเข้มข้น 10000 ,20000 และ 30000 ppm สามารถลดปริมาณเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ดี และไม่ทำให้ข้าวสูญเสียความงอก แต่สารสกัดเอธานอลและผงแห้งของพืชทั้ง 3 ชนิด ดังกล่าวทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในการวิจัยหาสมุนไพรในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสนั้น พบว่ามีสมุนไพรหลายชนิดที่สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้ ซึ่งงานวิจัยต่างๆ เหล่านี้ส่วนใหญ่ได้รับผลสำเร็จอย่างดีในสภาพห้องปฏิบัติการ ส่วนการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชจริงๆในโรงเรือนและในแปลงทดลองนั้น ยังไม่ค่อยมีงานวิจัยเท่าที่ควร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved