บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบัน อุปสรรค์ของผลผลิตทางการเกษตรในรูปของผักและผลไม้ในประเทศไทย และประเทศเพื่อนบ้านในเขตภาคพื้นตะวันออกเฉียงใต้ ได้รับผลกระทบอย่างมากจากการติดเชื้อโรคพืชจากกลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (Tsou และ Tsay, 1988; Pattanamahakul และ Strange, 1999) เช่น เชื้อราในสกุล *Alternaria spp.* เป็นเชื้อก่อโรคใบจุดมะเขือเทศที่พบได้ในประเทศไทย (Pattanamahakul และ Strange, 1999) ประเทศออสเตรเลีย (Sivapalan และ Browning, 1992) ไต้หวัน (Wu, 1979) สหราชอาณาจักร (Maude และ Humpherson-Jones, 1980) และสหรัฐอเมริกา (Babadoost และ Gabrielson, 1979) เชื้อ *Alternaria brassicicola* ถูกรายงานว่าพบในประเทศไทยเป็นครั้งแรก แต่ก็ไม่ทราบถึงกลไกการก่อโรค (Sontirat และ คณะ, 1983) อย่างไรก็ตาม เชื้อ *Alternaria spp.* ก็ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างหนักต่อพืชผัก (Visethsung และ Saranak, 1988) เชื้อราโรคพืชอีกสกุลหนึ่งคือ *Corynespora cassiicola* ก็สามารถทำความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจในรูปของโรคจุดด่างบนใบ ลำต้น คอก และราก เช่น แตงกวา (Blazquez, 1967), มะเขือ (Onesirosan และ คณะ, 1974), งา (Stone และ Jones, 1960), ถั่วเหลือง (Seaman และ Shoemaker, 1964),และ มะเขือเทศ (Mohanty and Mohanty, 1955; Blazquez, 1972) นอกจากนี้เชื้อ *Corynespora cassiicola* ยังทำความเสียหายแก่ต้นยางในมาเลเซีย (Newsam, 1960) ใน ศรีลังกา (Liyanage และ คณะ, 1986) และในประเทศไทย (Kajornchaiyakul, 1987) การเสียหายที่เชื้อ *C. cassiicola* มีต่อพืชทั่วไปเป็นการกระตุ้นให้มีการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการกระจายของโรคพืชชนิดนี้ด้วยวิธีทาง RFLP และ RAPD-PCR โดยใช้ internal transcribed spacer (ITS) เป็นตัวตรวจตามพบว่า เชื้อ *C. cassiicola* สามารถก่อโรคในต้นไม้หลายชนิด (Silva *et.al.*, 1998)

นอกจากนี้ยังมีโรคพืชอีกหลายชนิดที่ส่งผลเสียต่อพืชเศรษฐกิจ เช่น โรคใบเหี่ยว ที่เกิดจากการติดเชื้อราในสกุล *Fusarium spp.*, *Ralsonia spp.* และโรคเน่าในผักและผลไม้ ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia spp.* การกำจัดเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ก็ทำติดต่อกันมานาน โดยส่วนใหญ่ใช้สารเคมีหลากชนิด ทำการฉีดพ่น ก่อให้เกิดมลภาวะทั้งทางอากาศและทางน้ำจากสารเคมีตกค้าง ซึ่งมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและคนในพื้นที่นั้น ๆ (Nicholson และ Hirsch, 1998; Rosenau, 1999; Gordon และ Rowsey, 1998) จนเป็นที่ยอมรับและน่าเป็นห่วงของการสะสมในแหล่งน้ำ รวมไปถึงน้ำใต้ดิน (Di, *et.al.*, 1998; Pang และ Letey, 1999)

เชื้อราและความสำคัญในการก่อโรค

เชื้อรา มีลักษณะโดยทั่วไปเป็นเส้นใยที่แตกกิ่งก้านสาขา เท่าที่พบมีมากกว่า 100,000 ชนิด ขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบไม่ใช้เพศ และแบบใช้เพศ เชื้อราจะสร้างหน่วยขยายพันธุ์ขึ้นเป็นจำนวนมาก ใช้ในการแพร่ระบาดและมักจะถูกสร้างขึ้นภายใต้สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เชื้อราก่อโรคพืชสามารถมีชีวิตข้ามฤดูแล้งได้ นอกจากเชื้อราสาเหตุจะอาศัยภายในพืชอาศัยที่เป็นโรคแล้ว ยังสามารถหลบอาศัยอยู่ภายในรากพืช ซากสัตว์ที่ทับถมในดิน ในเมล็ดพืช และในพืชอาศัยนอกฤดูปลูก การเข้าทำลายพืชของเชื้อรามักทำลายได้หลายวิธี เชื้อราก่อโรคพืชบางชนิดใช้เส้นใยที่งอกจากสปอร์แทงเข้าทางผิวของพืชโดยตรง บางชนิดใช้เส้นใยแทงเข้าทางบาดแผล ทางช่องเปิดธรรมชาติของพืช เช่น ปากใบ ช่องเปิดปลายใบ รอยแตกตามลำต้น และรากพืชเป็นต้น การเข้าไปอยู่ในเนื้อเยื่อพืชจะอาศัยอยู่ภายในเซลล์พืช อาศัยอยู่ตามช่องว่างระหว่างเซลล์และใช้อาหารจากพืช เพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของเชื้อทำให้พืชขาดอาหาร นอกจากนี้เชื้อยังขับถ่ายสารต่าง ๆ ออกมาและไปมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและกิจกรรมเมตาบอลิซึมของเนื้อเยื่อพืช สารที่เชื้อราสร้างขึ้นได้แก่ เอนไซม์ ทอกซิน สารควบคุมการเจริญเติบโต และสารปฏิชีวนะต่าง ๆ เชื้อราบางตัวอาจสร้างสารเพียงชนิดเดียวบางตัวก็สร้างหลายชนิดรวมกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ สารต่าง ๆ เหล่านี้ อาจจะทำลายเซลล์พืชโดยตรง หรือมีอิทธิพลกับกลไกการควบคุมขบวนการเมตาบอลิซึ่มต่าง ๆ ในเซลล์พืช (ประเทือง, 2533)

โรคพืชที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา

1. โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อราฟิวซาเรียม (Fusarium wilt)

สาเหตุโรคเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. Lycopersici ลักษณะอาการ อาการเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา มักเริ่มจากใบตอนล่างก่อน โดยใบและกิ่งก้านจะเหี่ยวห้อยลู่ลงมีลักษณะสีเหลืองซีด และร่วงทีละก้านอาการจะลุกลามสู่ส่วนบน ในที่สุดใบจะเหลืองและแห้งตายทั้งต้น เมื่อผ่าลำต้นดูจะพบบริเวณท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลายกลายเป็นสีน้ำตาล อาจมีการสร้าง adventitious roots ขึ้นที่โคนต้น เป็นจำนวนมาก แต่ไม่ค่อยเจริญเห็นเป็นปุ่มหรือรากสั้นๆ เท่านั้น บริเวณโค้นต้นพืชที่เป็นโรคมักจะเหี่ยวแฟบ สีเหลืองซีด และอาจพบเส้นใยละเอียดสีขาวฟูของเชื้อราสาเหตุโรคเจริญอยู่ในบริเวณนั้น หรือพบได้หลังจากนำต้นพืชที่เป็นโรคไปบ่มไว้ในที่ชื้น

กลไกของการเกิดอาการเหี่ยวเนื่องจากเชื้อรา

1) เกิดจากการทวีจำนวนของเชื้อราสาเหตุโรค เมื่อเชื้อราเข้าไปตั้งรกรากในท่อลำเลียงน้ำของพืชได้ จะดูดสารอาหารและสิ่งจำเป็นของพืชมาใช้ในการเจริญเติบโต กลุ่มของเส้นใยที่แผ่ขยายมากขึ้นจะทำให้เกิดการอุดตัน ไม่สามารถลำเลียงน้ำได้สะดวก

2) เชื้อราสร้างเอนไซม์และสารพิษเช่น สาร lycomarasmine, กรด fusaric acid และ dehydrofusaric acid ปล่อยออกมา ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของท่อลำเลียงน้ำ สูญเสียคุณสมบัติในการยึดเก็บกักน้ำ

3) เกิดจากกลไกในการป้องกันตนเองของพืช เมื่อมีเชื้อราเข้าทำลาย พืชจะสร้าง gums หรือ tylose เพื่อสกัดกั้นการลุกลามของเชื้อรา ปฏิกิริยาการตอบสนองนี้ ทำให้พืชยิ่งอ่อนแอต่อโรคมากขึ้น เชื้อราลุกลามได้ดีขึ้น ทำให้ยับยั้งเชื้อไม่สำเร็จในขณะเดียวกันสิ่งต่าง ๆ ที่พืชสร้าง ยิ่งก่อให้เกิดการอุดตันในท่อลำเลียงน้ำมากขึ้น

2. โรคเน่าคอดินของกล้าพืช (Damping off of seedlings)

สาเหตุโรค *Pythium* sp. *Phytophthora* sp. *Sclerotium* sp. *Rhizoctonia* sp. *Fusarium* sp.

ลักษณะอาการ เชื้อราที่เป็นจะเข้าทำลายได้ตั้งแต่พืชอยู่ใต้ดิน โดยทำลายส่วนยอดและราก ทำให้ต้นกล้าที่เพิ่งจะงอกออกจากเมล็ดตายก่อนที่จะโผล่ขึ้นมาเหนือดิน เราเรียกอาการในระยะนี้ว่าอาการเน่าก่อนการงอก (pre-emergence damping off) หรือเมล็ดเน่า (seed rot) แต่ถ้าเชื้อเข้าทำลายตรงโคนต้นกล้าที่อยู่ระดับดิน ในขณะที่ต้นกล้าโผล่ขึ้นมาเหนือดิน โคนต้นกล้ามีรอยช้ำสีน้ำตาลทำให้ต้นกล้าหักพับลง และแห้งตายในที่สุด ในแปลงเพาะกล้ามักจะมีต้นกล้าล้มตายเป็นหย่อม ๆ อาการระยะนี้เรียกว่า อาการเน่าหลังการงอก (post – emergence damping off) (สุนทรี, 2525)

3. โรคแอนแทรคโนสของพริก (Anthracnose of Pepper)

สาเหตุโรค *Colletotrichum piperatum, colletotrichum capsici* และ *Gloesporium piperatum* ลักษณะอาการของโรคนี้มักจะเกิดอาการให้เห็นชัดเจนบนผลพริกที่แก่จัด หรือผลสุก เกิดจุดวงกลมช้ำสีน้ำตาล เนื้อผลบุ๋มลงไปเล็กน้อย จุดแผลจะขยายเป็นวงกลมหรือวงรีรูปไข่ แผลด้านนอกจะเห็นเป็นวงกลมสีดำซ้อนกันเป็นชั้น ๆ กระจายไปตามวงกว้างของแผล วงกลมสีดำนี้ประกอบด้วยปุ่มสีดำเล็ก ๆ ซึ่งภายในบรรจุไปด้วยสปอร์ของเชื้อรา ถ้าอากาศชื้นมากที่แผลจะมีเมือกสีส้มอ่อน ๆ เยิ้มออกมาคล้ายหยดน้ำ ถ้าเขี่ยแล้วส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบสปอร์สีใสเป็นจำนวนมาก (สุนทรี, 2525)

ปัญหาและผลกระทบของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

ศัตรูพืชสร้างความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้กำจัด สารเคมีสังเคราะห์กำจัดศัตรูพืชได้ถูกนำมาใช้เมื่อประมาณ 50 ปีที่ผ่านมา ก่อให้เกิดปัญหาตามมามากมาย ประการแรกก็คือ พิษตกค้างที่ก่อให้เกิดมลภาวะในสภาพวดล้อม แต่ที่สำคัญที่สุดคือในขณะที่มีการใช้สารเคมีมากขึ้น ๆ นั้น สารเคมีกลับมีประโยชน์น้อยลง นั่นคือศัตรูพืชที่มนุษย์ต้องการกำจัดให้สิ้นซากกลับสร้างความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้กำจัดมากขึ้น จนในปัจจุบันศัตรูพืชกว่า 250 ชนิดได้สร้างความต้านทานแล้ว (สิริวัฒน์,

2523) และด้วยสาเหตุนี้เองที่บังคับให้เกษตรกรจำเป็นต้องพ่นสารกำจัดบ่อยครั้งขึ้น และเพิ่มความเข้มข้นของสารกำจัดมากขึ้น ซึ่งทำให้ต้นทุนเพิ่มมากขึ้นเป็นเงาตามตัว นับเป็นเรื่องที่ไม่น่าเชื่อว่าในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์กลับแนะนำว่าหากประสงค์จะให้การป้องกันพืชผลให้รอดพ้นการทำลายของศัตรูพืชนั้น วิธีที่ง่ายที่สุดคือ การหยุดใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชเสียโดยเด็ดขาด ซึ่งเกิดผลดียิ่งกับเกษตรกรจำนวนมากที่ทำตามคำแนะนำนี้ กล่าวคือแมลงที่มีประโยชน์ที่ช่วยกำจัดศัตรูพืชกลับทวีจำนวนมากขึ้นอีกครั้งอย่างน่าประหลาดใจ และช่วยควบคุมศัตรูพืชไม่ให้เกิดการระบาดจนทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น (ชนวน, 2542)

ปัญหาการระบาดเพิ่มมากขึ้นของศัตรูพืชหลังจากการใช้สารเคมี

ตั้งแต่ได้มีการพัฒนาการเกษตรในระบบปฏิวัติเขียว (Green revolution) ประเทศไทยได้นำข้าวพันธุ์ที่มีผลผลิตสูง (high vielding variety, HYV) เข้ามาแทนที่พันธุ์พื้นเมือง ถึงแม้จะทำให้ผลผลิตข้าวสูงขึ้นแต่จำเป็นต้องใช้ปุ๋ยเคมีมากขึ้น และการใช้ปุ๋ยเคมีโดยเฉพาะประเภทไนโตรเจนจะเป็นปัจจัยที่กระตุ้นในศัตรูพืช โดยเฉพาะจำพวกเพลี้ย (plant hopper) ขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว จนก่อให้เกิดระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (Brown plant hopper) อย่างรุนแรง เมื่อมีการระบาดเกิดขึ้นก็มีการใช้สารเคมีในการกำจัด แต่ดูเหมือนจะเป็นการทำให้การระบาดเกิดติดตามมามากขึ้น เฉพาะในปี 2523 – 2524 ทั้งประเทศมีพื้นที่การระบาดถึงประมาณ 1.07 ล้านไร่ คิดเป็นมูลค่าของผลผลิตที่เสียหายไม่ต่ำกว่า 300 – 500 ล้านบาทต่อปี (ชนวน, 2542)

ปัญหาพิษตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในสภาพแวดล้อม

จากปัญหาการระบาดที่เพิ่มมากขึ้น มาพร้อมกับการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืช จึงเป็นสาเหตุทำให้เกษตรกรต้องใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชเพิ่มขึ้น ปัญหาที่ติดตามมาก็คือ พิษตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในสภาพแวดล้อมในปริมาณที่มาก หรือน้อย และยาวนานแตกต่างกันออกไปตามชนิดของสารกำจัดศัตรูพืช สารกำจัดศัตรูพืชพวกคลอริเนเตดไฮโดรคาร์บอน (Chlorinated Hydrocarbons) สลายตัวได้ช้ามาก โดยเฉพาะเมื่ออยู่ในดินแล้วจะมีพิษตกค้างได้นานเป็นปี ๆ สารกำจัดศัตรูพืชพวกสารประกอบฟอสฟอรัส (Organophosphorus Compounds) แม้จะสลายตัวได้เร็วกว่าพวกแรก แต่ก็สามารถตกค้างอยู่ในดินได้นานไม่น้อยกว่า 3 เดือน หรือ 1 ฤดูเพาะปลูก ส่วนสารกำจัดศัตรูพืชที่มีส่วนผสมของปรอท ทองแดง ตะกั่ว และสารหนูนั้นเมื่ออยู่ในดินแล้วจะไม่สลายตัวเลย (ประยูร 2517)

ปัญหาสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในโซ่อาหาร (Food chains)

สารกำจัดศัตรูพืชนอกจากจะอยู่ในดินที่ใช้ปลูกพืชหรือในดินที่ได้รับการฉีดพ่น สารกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้ยังสามารถกระจายไปที่อื่นที่ไม่เคยมีการฉีดพ่นสารกำจัดศัตรูพืชมาก่อนด้วย การชะล้าง

ของน้ำฝนหรือน้ำที่ใช้ในการเกษตรกรรมต่าง ๆ หรือโดยลม ทำให้สารกำจัดศัตรูพืชหมุนเวียนในระบบนิเวศน์ และเข้าไปสะสมในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ทางโซ่อาหาร (Food chains) เนื่องจากสารกำจัดศัตรูพืชส่วนมากจะไม่ละลายน้ำ ดังนั้น จึงตกตะกอนหรือปะปนลงแหล่งน้ำต่าง ๆ และไปสะสมอยู่ในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ และมีผลทำให้แพลงตอน (Plankton) และสัตว์น้ำขนาดเล็กซึ่งเป็นโซ่อาหารของปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ ที่เป็นอาหารของมนุษย์ตาย (ชนวน, 2542)

การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี : ทางเลือกใหม่ของเกษตรกรไทย

การควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยชีววิธีได้มีการศึกษาทั้งในและต่างประเทศมาเป็นเวลานานหลายสิบปี แต่ในปัจจุบันเพิ่งเป็นที่ยอมรับว่าเป็นวิธีที่มีโอกาสสูงในการนำเป็นกลยุทธป้องกันกำจัดโรค เนื่องจากมีการนำไปใช้อย่างได้ผลดี และมีบทบาทที่สำคัญมากในศตวรรษที่ 21 (Cook, 1993) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นนอกจากจะต้องมีคุณภาพดีในการควบคุมโรคพืชแล้วยังต้องผ่านมายอมรับในมาตรฐานความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมและความเป็นพิษ เนื่องจากแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตเมื่อจะนำมาใช้ในการควบคุมศัตรูพืช จึงถูกควบคุมโดย EPA ซึ่งเป็นกฎเดียวกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่สังเคราะห์ขึ้นมา นอกจากนี้ยังต้องผ่านการควบคุมก่อนนำไปใช้ในธรรมชาติ โดย USDA – APHIS (Animal and plant Health Inspection Service) เนื่องจากถือว่าเป็นเชื้อที่อาจมีพันธุกรรมพิเศษหรือเป็นเชื้อแปลกปลอม (exotic) ที่ไม่มีอยู่ในธรรมชาติ (Jacobsen and Backman, 1993)

นอกจากปัญหาด้านกฎหมายความปลอดภัยดังกล่าวแล้ว การพัฒนาผลิตภัณฑ์จะต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องมากมายซึ่งมักเป็นปัญหาและอุปสรรค เช่น ประสิทธิภาพ ความน่าเชื่อถือในคุณภาพและขอบข่ายในการควบคุมโรคกว้างขวางเพียงใด ซึ่งจะต้องอาศัยการศึกษาค้นคว้าทำความเข้าใจในเรื่องต่าง ๆ เช่น นิเวศวิทยาของพืชและเชื้อจุลินทรีย์ กลไกในการควบคุมโรคของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ โดยจะมีผลเกี่ยวข้องทั้งทางตรงและทางอ้อม สิ่งเหล่านี้ถ้าทั้งนักวิชาการและเกษตรกรได้มีการศึกษาและทำความเข้าใจอย่างละเอียดดีแล้ว จะช่วยให้การพัฒนาผลิตภัณฑ์และการนำไปใช้ควบคุมโรค ประสบความสำเร็จตามวัตถุประสงค์ทุกประการ

กลไกการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีของเชื้อแบคทีเรีย (Mechanisms of Biocontrol by Bacteria)

มักนิยมเรียกแบคทีเรียชนิดนี้ว่า (antagonistic bacteria) หรือเชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) เชื้อปฏิปักษ์นี้จะมีกลไกควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้ 4 ลักษณะ ดังนี้

1. การแข่งขัน (Competition)

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีความสามารถแข่งขันกับเชื้อโรคพืชในด้านต่าง ๆ เช่น การใช้ธาตุอาหาร อากาศ และการครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่า ทำให้เชื้อโรคพืชไม่สามารถเจริญเติบโต หรืออาศัยอยู่ในบริเวณที่มีเชื้อปฏิปักษ์ พืชจะเจริญเติบโตแข็งแรง มีผลผลิตสูงขึ้น การแข่งขันที่พบมาก คือการนำเอาธาตุอาหาร หรือสารต่าง ๆ ที่มีอยู่ในดินหรือสภาพแวดล้อมนั้นมาใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโต ทำให้

เชื้อโรคขาดสารไม่สามารถเจริญเติบโตเข้าทำลายพืช เช่น เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* จะผลิตสาร siderophore ที่ช่วยในการจับยึดธาตุเหล็ก (Fe) ในธรรมชาติมาใช้ได้ดีกว่าเชื้อรา *Gaeumannomyces graminis* var. tritici สาเหตุโรค Take-all ของข้าวสาลี (Schipers, *et.al.* 1987) ทำให้เชื้อรานี้ไม่สามารถทำลายรากของข้าวสาลี ช่วยให้ข้าวสาลีเจริญเป็นปกติ ให้ผลผลิตดีขึ้น ซึ่งนิยมเรียกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีลักษณะแบบนี้ว่า แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria PGPR) โดยแบคทีเรียนี้ชอบอาศัยอยู่ในดินบริเวณ ผิวราก (rhizoplane) หรือบริเวณรอบราก (rhizosphere)

*2. การทำลายชีวิต (*Antibiosis)

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ได้รับความสนใจคัดเลือกมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีนั้น จะเน้นคุณสมบัติการทำลายชีวิตของเชื้อโรคเป็นส่วนใหญ่ และนับว่าเป็นกลไกชนิดแรกที่มีการศึกษาและนำมาใช้ โดยเชื้อปฏิปักษ์นี้มีความสามารถผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายเชื้อโรค หรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ เช่น สารพิษ (toxins) หรือสารปฏิชีวนะ (antidiotics) ที่นำมาผลิตใช้เป็นยารักษาโรคกับมนุษย์ สัตว์และพืชมากมายในปัจจุบัน นอกจากนี้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่สำเร็จเป็นครั้งแรก เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Agrobacterium radiobacter* สายพันธ์ K 84 จะผลิตสาร bacteriocins ที่มีชื่อว่า agrocin 84 ไปยับยั้งหรือทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens* biotype 1 และ 2 สาเหตุโรค crown gall ของพืช ช่วยปกป้องกันการเกิดโรคกับต้นพืชได้ (Thomason, 1987)

3. การเป็นปรสิต (Parasitism)

เชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นปรสิต (parasite) เข้าไปเจริญอาศัยทำลายสิ่งมีชีวิตอื่นนั้น พบไม่มากจนถึงปัจจุบัน การใช้ควบคุมโรคพืช ยังไม่ประสบความสำเร็จเหมือนปฏิกิริยาแบบการทำลายชีวิต ได้แก่ *Erwinia urediniolytica* เข้าทำลาย pedicel ของสเปอร์เชื้อราสนิม (rust) *Bdellovibrio bacteriovorus* สาเหตุโรคใบไหม้ของถั่วเหลือง หรือเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus penetrans* ที่เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* สาเหตุโรครากปม (Cook and Baker, 1983) แบคทีเรียเหล่านี้ยังไม่ได้รับความสนใจศึกษาปรับปรุงให้เกิดประโยชน์อย่างจริงจัง จึงนับว่าเป็นสิ่งหนึ่งที่น่าศึกษาพัฒนานำมาใช้ในการควบคุมโรคต่อไป

4. วิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Methods of Application)

การศึกษานำเอาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปใช้ประโยชน์ควบคุมโรคพืช นิยมนำไปใช้กับโรคพืชที่เกิดบริเวณผิวราก (rhizoplane) หรือบริเวณผิวพืชที่อยู่เหนือดิน (phylloplane) ซึ่งการใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคที่บริเวณทั้งสองจะมีกรรมวิธีการใช้แตกต่างกัน

บริเวณผิวราก จะมีกรรมวิธีการใช้เชื้อปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคได้หลายแบบแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความสะดวกในการปฏิบัติของผู้ใช้แต่ละวิธี อาจให้ประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ไม่เท่ากัน ซึ่ง

ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ตั้งแต่คุณสมบัติของพืชเอง ตลอดจนลักษณะของผลิตภัณฑ์เชื้อปฏิปักษ์ (formulation) ที่มีหลายรูปแบบ ดังนี้

การคลุกเมล็ด (Seed treatment) นิยมใช้กับพืชที่ใช้เมล็ดเพาะปลูก โดยเมล็ดจะต้องมีขนาดไม่ใหญ่โตมากนัก ช่วยให้ปฏิบัติได้ง่ายและไม่สิ้นเปลืองผงเชื้อ หรือสารแขวนลอยเชื้อมักนิยมคลุกเมล็ดก่อนปลูก

การราดดิน (Soil drench) เป็นวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้ปฏิบัติกันมาก แต่จะไม่ค่อยสะดวกหากจะนำไปใช้ในสภาพไร่ของเกษตรกรที่อาจมีน้ำสะอาดไม่เพียงพอ หรือขาดแคลนน้ำ และถ้าหากปลูกพืชเป็นปริมาณมากจะทำให้เกิดปัญหาความไม่สะดวกในการปฏิบัติยิ่งขึ้น

การคลุกดิน (Soil amandment) เป็นวิธีการนำเอาผงเชื้อหรือสารละลายเชื้อปฏิปักษ์ใส่ไปในดินและคลุกเคล้าผสมกันให้ทั่วก่อนปลูกพืช การใส่ในรูปของผงเชื้อ (powder) ค่อนข้างสะดวกกว่าในรูปของสารละลาย (suspension)

การจุ่มราก (Root dipping) เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้กับพืชที่ต้องเพาะเมล็ดแล้วย้ายกล้าไปปลูก (transplaning) เช่น มะเขือเทศ พริก หรือ พืชที่มีเมล็ดพันธุ์ราคาแพง โดยจะต้องทำให้ดินบริเวณรากหลุดออกไปให้หมดก่อนไปจุ่มในสารละลายเชื้อที่เข้มข้น 10 หน่วยโคโลนี (cfu) / มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปปลูกในแปลงต่อไป วิธีนี้จะทำให้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคได้ดี เพราะรากจะสัมผัสกับเชื้อได้หมดทุกส่วน ไม่ก่อให้เกิดช่องว่างให้เชื้อโรคเข้าทำลายบริเวณผิวพืชเหนือดิน

การทา (paste painting) เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชยืนต้นที่ถูกทำลายมีแผลปรากฏให้เห็นชัดเจนบนส่วนของต้น หรือ กิ่ง บริเวณที่สามารถนำเอาเชื้อปฏิปักษ์ที่เตรียมให้มีความเข้มข้นและเหนียวไปทา เพื่อให้ยึดติดกับผิวพืชได้คงทน สามารถป้องกันและรักษาพืชให้คืนเป็นปกติ ถ้าหากเป็นพืชยืนต้นสูง ๆ หรือพืชล้มลุกจะไม่สะดวกในการปฏิบัติ

การพ่น (Spraying) เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากกับพืชที่ปลูกเป็นบริเวณมาก หรือมีลำต้นสูง ซึ่งมีหลักการปฏิบัติเช่นเดียวกับการพ่นสารเคมีกำจัดโรคพืช โดยมากแล้วนิยมใช้เชื้อที่เลี้ยงบนอาหารมาทำเป็นสารละลายแล้วจึงนำไปพ่นลงบนพืช เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคที่แพร่ระบาด โดยปลิวไปกับลม ฝน เป็นต้น

5. ข้อดี ของการใช้จุลินทรีย์ปราบศัตรูพืชในรูปของสารฆ่าแมลง

เชื้อจุลินทรีย์บางชนิดเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่สำคัญ ที่ได้มีการค้นคว้านำมาใช้เป็นสารฆ่าแมลงที่เรียกว่า "ยาเชื้อ" (Microbial insecticides) ในระบบการจัดการศัตรูพืชทางการเกษตรเป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติพิเศษ

คุณสมบัติที่ดีของการเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคกับแมลง มีดังนี้

1) มีความปลอดภัย เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ประโยชน์ไม่มีอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่ไม่ต้องการควบคุม (non target organisms)

2) ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม เชื้อจุลินทรีย์สามารถนำมาใช้และเข้ากันได้ดีกับศัตรูธรรมชาติอื่น ๆ โดยช่วยเสริมประสิทธิภาพให้สูงขึ้น และในช่วงเวลาที่แมลงศัตรูธรรมชาติมีจำนวนน้อย เชื้อจุลินทรีย์ก็อาจมีบทบาทแทนได้
3) สามารถผลิตเป็นแบบอุตสาหกรรม บรรจุขวด บรรจุหีบห่อ และวางขายตามท้องตลาดได้เช่นเดียวกับสารเคมีฆ่าแมลง
4) สามารถใช้กับเครื่องพ่นสารเคมีฆ่าแมลงที่ใช้กันอยู่ทั่วไปในการปราบศัตรูพืชทางการเกษตรได้
5) เมื่อใช้เชื้อจุลินทรีย์พ่นไปแล้ว อาจจะต้องทำการพ่นเชื้อซ้ำอีกเช่นเดียวกับการพ่นสารเคมีฆ่าแมลง ถ้าเป็นเชื้อที่มีอายุและมีประสิทธิภาพในระยะเวลาสั้น แต่เชื้อจุลินทรีย์บางชนิดก็มีประสิทธิภาพอยู่ได้นานและสามารถแพร่ระบาดในการควบคุมศัตรูพืชบางชนิดได้ ถ้าสิ่งแวดล้อมเหมาะสม

การผลิตเชื้อจุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้ในรูปของสารฆ่าแมลงมีขบวนการที่คล้ายคลึงกับการผลิตสารเคมีฆ่าแมลง เชื้อจุลินทรีย์นับว่าเป็นทรัพยากรธรรมชาติและวัตถุดิบที่สำคัญของวิทยาการทางเทคโนโลยีชีวภาพในอนาคต สารฆ่าแมลงชนิดใหม่ ๆ หลายชนิดอาจจะได้มาจากจุลินทรีย์เหล่านี้

ถึงแม้ว่าเชื้อจุลินทรีย์จะมีคุณสมบัติที่ดีหลายประการดังได้กล่าวมาแล้ว แต่ในปัจจุบันนี้ยังไม่มีการใช้กันแพร่หลายมากนัก เนื่องจากในปัจจุบันยังพบปัญหาและอุปสรรคหลายประการจากการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ซึ่งยังต้องการการสนับสนุนงานวิจัยทั้งจากภาครัฐและภาคเอกชนอีกมาก

6. ปัญหาการใช้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Problems of Biocontrol Application)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในปัจจุบันมักพบปัญหาและอุปสรรคหลายประการ ซึ่งพอสรุปได้ดังนี้

6.1 ความน่าเชื่อถือ (Reliability) เนื่องจากผลิตภัณฑ์เชื้อปฏิปักษ์ที่ใช้เป็นสิ่งมีชีวิต มีความผันแปรได้ง่าย ถ้าหากไม่มีการควบคุมคุณภาพในการผลิตให้ดีแล้ว จะทำให้มีผลการควบคุมโรคแตกต่างกัน ก่อให้เกิดความไม่น่าเชื่อถือขึ้น นอกจากนี้การปฏิบัติต่าง ๆ หลังจากการใช้ผลิตภัณฑ์เชื้อไปแล้วจะต้องมีการเอาใจใส่ดูแลตามวิธีที่แนะนำไว้อย่างเคร่งครัด มิฉะนั้นจะทำให้ผลการควบคุมโรคไม่ได้ผลดีสม่ำเสมอทุกครั้งที่ใช้ เป็นเหตุให้ลดความน่าเชื่อถือ

6.2 ประสิทธิภาพ (Efficacy) การผลิตเชื้อปฏิปักษ์แต่ละชนิดจะมีการใช้เชื้อแบคทีเรียต่างชนิดต่างสายพันธุ์กัน ซึ่งเชื้อเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชได้แตกต่างกัน และหากผู้ทำการคัดเลือกไม่ระมัดระวังแล้ว จะทำให้ได้เชื้อมีคุณภาพและประสิทธิภาพไม่ดีเมื่อใช้ไปแล้วอาจสูญเสียคุณสมบัติการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ไปได้ หรือเชื้อสูญเสียชีวิตเร็วไม่

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 10 ต.ค. 2553
เลขทะเบียน 226412
เลขเรียกหนังสือ

ทนทานต่อสภาพแวดล้อม ก็จะทำให้เสื่อมประสิทธิภาพเร็วตามไปด้วย มีผลทำให้ควบคุมโรคไม่ได้

6.3 ขอบเขตในการควบคุมโรค (Spectrum of activity) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ได้รับการคัดเลือกนำมาใช้โดยทั่วไปมักจะมีคุณสมบัติในการควบคุมโรคได้เฉพาะโรค หรือเฉพาะสาเหตุโรคใดโรคหนึ่งเท่านั้น แต่ก็มีการพยายามคัดเลือกหาเชื้อปฏิปักษ์ที่มีขอบเขตในการควบคุมโรคได้กว้างขวางมากขึ้น คือสามารถใช้ควบคุมได้หลายโรค หลายพืช จะช่วยทำให้ข้อจำกัดในการนำไปใช้ควบคุมโรคลดน้อยลง เกษตรกรอาจจะนิยมนำไปใช้มากขึ้น

7. การปรับปรุงกิจกรรมการควบคุมโรคโดยชีววิธี (Improvement of Biocontrol Activity)

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถนำมาเพิ่มกิจกรรมในการควบคุมโรคให้มากขึ้นได้หลายวิธี ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะเป็นการปรับปรุงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการดำรงชีวิตของเชื้อปฏิปักษ์ในธรรมชาติ ซึ่งมีการศึกษาปรับปรุงในด้านต่างๆ ดังนี้

7.1 สภาพแวดล้อม (Environment) เชื้อปฏิปักษ์ที่ดีควรจะต้องเป็นเชื้อที่สามารถเจริญเติบโตและควบคุมโรคได้ทุกสถานะ ไม่ว่าจะมีอุณหภูมิร้อนหรือเย็น ชื้นหรือแห้งแล้ง ดินเป็นกรดหรือด่าง มีอาหารสมบูรณ์หรือขาดแคลน ดังนั้นการคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์จึงนิยมคัดเลือกในสภาวะที่ต้องการนำไปใช้

7.2 เชื้อสาเหตุโรค (Pathogen) เชื้อสาเหตุโรคพืชเป็นปัจจัยหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโรคโดยชีวะวิธี ซึ่งเชื้อจะมีความแตกต่างกันที่ race, biovar, pathovar ดังนั้นการคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์ จะต้องมีการทดสอบให้สามารถควบคุมเชื้อโรคได้ทุก race, biovar, pathovar เช่นกันจะทำให้มีคุณภาพดียิ่งขึ้น

7.3 พืชอาศัย (Host) หรืออาศัยเชื้อโรคทั้งชนิดที่ปลูกและชนิดที่ไม่ได้ปลูก จากแหล่งอยู่อาศัยของเชื้อโรค ดังนั้นการนำเชื้อปฏิปักษ์มาใช้จะต้องเป็นเชื้อที่สามารถเจริญอยู่ร่วมกับพืชต่าง ๆ เหล่านี้ได้ดีและจะดียิ่งขึ้นถ้าหากเจริญได้ดีกว่าเชื้อโรคในพืชทุกชนิด และทุกส่วนของพืช อย่างไรก็ตามเชื้อปฏิปักษ์บางชนิดอาจมีความสามารถเจริญได้ดีเฉพาะบนใบหรือส่วนที่อยู่เหนือดิน หรือบางชนิดชอบอยู่ในดินบริเวณรากที่อยู่ใต้ดิน ดังนั้นการคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์จึงควรให้เหมาะสมกับสภาพที่จะนำไปใช้เพื่อให้ความคุ้มครองพืชได้เป็นอย่างดี

7.4 เชื้อปฏิปักษ์ (Biocontrol agent) ความสามารถในการควบคุมเชื้อโรคของเชื้อปฏิปักษ์มักจะมีประสิทธิภาพไม่สูงนักเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพจากสารเคมี และยังมีผลค่อนข้างแคบ หรือมีความเฉพาะเจาะจงมาก เมื่อนำมาใช้จึงค่อนข้างจะได้ผลไม่สม่ำเสมอทุกครั้งและทุก ๆ พื้นที่ ดังนั้นจึงมีความพยายามปรับปรุงกิจกรรมการควบคุมโรคของเชื้อปฏิปักษ์ให้มีคุณภาพสูงยิ่งขึ้น และสามารถมีกิจกรรมการควบคุมได้กว้างขวางทุกพื้นที่

8. การพัฒนาชีวะภัณฑ์ (Development of Biocontrol products)

เชื้อปฏิปักษ์ที่ได้ทำการคัดเลือกทดสอบว่ามีความสามารถควบคุมโรคได้ดีในห้องปฏิบัติการและสภาพไร่แล้วจำเป็นจะต้องมีการศึกษาพัฒนาชีวะผลิตภัณฑ์ เพื่อนำเอาไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพในเชิงการค้าต่อไปซึ่งจะต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้

8.1 มีมาตรฐานที่เชื่อถือได้ (Acceptable standard) เชื้อปฏิปักษ์ที่พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จะต้องมีปริมาณของเชื้อที่ใกล้เคียงได้มาตรฐานทุก ๆ ครั้งที่ผลิต ไม่มีเชื้ออื่นปะปนและคุณภาพการควบคุมโรคคงที่สม่ำเสมอ

8.2 มีอายุเก็บรักษานาน (Acceptable shelf–life) ชีวะภัณฑ์ที่ดีจะต้องสามารถเก็บรักษาในบรรยากาศที่ร้อนของประเทศไทยไว้ได้นานในสภาพที่ไม่ต้องดูแลรักษามากนัก ทั้งในขณะที่ต้องจำหน่ายอยู่ในร้านค้า หรือที่เกษตรกรเก็บไว้ใช้

8.3 มีความปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม (Environmental safety) ชีวะภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นจะต้องไม่มีโทษต่อสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ และสิ่งแวดล้อม คือไม่ทำให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตของสิ่งมีชีวิตอื่น และทำไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทำความเสียหายกับสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ

8.4 มีการใช้ร่วมกัน (Combine use) หากชีวะภัณฑ์สามารถนำไปใช้ร่วมกับวิธีการอื่น ๆ ได้จะทำให้มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ดียิ่งขึ้น และยังเป็นการประหยัดทั้งทุนทรัพย์ตลอดจนความสะดวกสบายในการปฏิบัติที่ไม่ต้องเสียเวลามาก

9. การใช้เชื้อแบคทีเรียควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีวะวิธี (Application of bacteria for Biocontrol)

ในประเทศไทยได้มีการศึกษาวิธีการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีมาไม่ต่ำกว่า 20 ปี แต่ผลที่ได้ยังไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร จนกระทั่งเมื่อ 10 กว่าปีที่มีรายงานการใช้เชื้อแบคทีเรียควบคุมโรคปุ๋มปมสำเร็จจึงทำให้มีการสนใจศึกษากันมากและได้ผลดียิ่งขึ้น และอาจเป็นทางเลือกใหม่ของเกษตรกร (นิพนธ์, 2538) โดยมีการศึกษาการควบคุมโรคที่สำคัญ ดังนี้

9.1 โรคที่เกิดกับเชื้อรา (fungal disease) มีการนำเอาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มาใช้ควบคุมโรครากเน่า โคนเน่า ของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivara*. ซึ่งก็มีเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ส่วนใหญ่เป็นพวก *Bacillus* sp. เช่น *B. subtilis*. ซึ่งพบว่าทำให้แผลเน่าแห้งไม่เกิดยางไหลหลังเอาเชื้อข้น ๆ ทาไปบริเวณแผล นอกจากนี้ยังมีการควบคุมโรคกาบใบไหม้ของข้าว (Sheath blight of rice) เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonai solani*. (มานะ และคณะ, 2536)

9.2 โรคที่เกิดกับเชื้อแบคทีเรีย (Bacterial disease) การนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย มีการศึกษาได้ผลดี คือ การนำเชื้อ *B .subtilis* สายพันธุ์ CH4 ควบคุมโรคเน่าของมันฝรั่ง ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* sub sp. Carotovora. (ปริญญา และคณะ, 2533) ซึ่งต่อมาได้พัฒนาเป็นผงชีวะภัณฑ์ ที่สามารถ

เก็บไว้ได้นานถึง 6 เดือนที่อุณหภูมิห้อง (ช่อทิพย์, 2538) นอกจากนี้ยังนำไปใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum.* โดยพบว่าเชื้อ *B. subtilis.* และ *P. fluorescens.* สามารถใช้ควบคุมเชื้อโรคได้ดี อีกทั้งยังพบว่าถ้าใช้ร่วมกับสายพันธุ์ต้านทานจะให้ผลควบคุมโรคได้ดียิ่งขึ้น (อุรัจฉทา และคณะ, 2535; สุภกิจ, 2536)

McKeen และคณะ (1986) ทำการทดลองศึกษาคุณลักษณะบางประการของสารต้านเชื้อราที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* ซึ่งแยกได้จากรอยเน่าบนผลไม้เปลือกแข็ง สารต้านเชื้อราดังกล่าวถูกแยกออกจากส่วนใสของน้ำเลี้ยงเชื้อ โดยการตกตะกอนด้วยกรด pH 2.5 สกัดซ้ำด้วย 80% ethanol และทำให้อยู่ในรูปของตะกอนแห้ง ผลการทดสอบคุณสมบัติการละลายในตัวทำละลายต่าง ๆ พบว่าสามารถละลายได้ใน ethanol, methanol, isopropanol และน้ำที่มี pH สูงกว่า 7.5 ตามลำดับ และประสิทธิภาพการยับยั้งคงอยู่ และนำมาทดสอบด้วย TLC ในตัวทำละลายแต่ละชนิดข้างต้น พบแถบสีในแต่ละตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด เมื่อฉีดพ่นด้วย ninhydrin จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างทั้ง 4 ชนิด ด้วย HPLC พบว่ามีโครงสร้างเป็นแบบ Cyclic polypeptide คล้ายกันทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบว่าสารต้านเชื้อราเพียง 1μg/ml ยังสามารถยับยั้งเชื้อราทดสอบได้อีกด้วย

Podile และ Prakash (1996) พบว่า ammonium sulfate precipitated extracellular proteins จาก *B. subtilis* AF1 ความเข้มข้น 1 มก./มล. สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus niger* สาเหตุของโรค crown rot ของถั่วลิสง และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น สารดังกล่าวสามารถย่อยสลายผนังของเส้นใยราได้ จากการนำ *B. subtilis* AF1 เลี้ยงร่วมกับเชื้อราด้วยความเข้มข้นและปริมาตรเดียวกัน (10^7 cfu / มล : 10^7 spore / มล) พบว่า *B. subtilis* AF1 ในระยะ log phase (ระยะเวลาการเลี้ยงน้อยกว่า 12 ชั่วโมง และก่อนจะพบ spore forming cells) สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยราได้ดีกว่าสารที่ได้รับจากการเลี้ยง *B. subtilis* AF1 ในช่วงเวลามากกว่า 12 ชม.

Chan และคณะ (2003) ทำการทดลองแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Fusarium graminearum* ซึ่งเป็นสาเหตุก่อโรค carrot head และ blight ในต้นข้าวโพด พบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต D ½ ที่แยกได้จากดินแปลงเพาะปลูก สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium* ชนิดต่าง ๆ ได้ถึง 8 ชนิด ทั้งที่อยู่ใน Family Ascomycetes และ Family Basidiomycetes เชื้อแบคทีเรียนี้จะผลิตสารต้านเชื้อราออกสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตรส่วนใสของน้ำเลี้ยงเชื้อที่นำมาทดสอบเพื่อยับยั้งการเจริญของ macrocomidium และเส้นใยของเชื้อรา *F. graminearum* นี้ จะขึ้นอยู่กับความหนาแน่นเริ่มต้นของ macrocomidium โดยสารต้านที่อยู่ในส่วนใสจะเหนียวนำให้เส้นใยของราพองตัวและแตกหัก ผลการบ่งชี้ชนิดของแบคทีเรีย D ½ โดยการทดสอบทาง phynotypic และ 16s RNA ชี้บ่งว่าเป็นเชื้อ *Bacillus subtilis.*

แนวคิดในความพยายามศึกษาเพื่อนำกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มาใช้เป็น biopesticides ในการป้องกันกำจัดโรคพืช แทนการใช้ chemical pesticides เพื่อลดค่าใช้จ่ายในการซื้อสารเคมี และรักษาสมดุลย์ของสภาพแวดล้อมไว้ให้นานที่สุด ได้แนวคิดริเริ่มมาจากการที่ได้มีการแนะนำการใช้สาร EM (Effective Micro-organisms) ซึ่งเป็นประชากรรวมของจุลินทรีย์หลากชนิดมาใช้เป็นปุ๋ยธรรมชาติ ประกอบกับการรายงานว่ามีแบคทีเรียหลายสกุล สามารถผลิตสารที่ออกฤทธิ์เป็น biopesticides ได้ดี และควรได้รับความสนใจนำมาใช้ในการผลิต biopesticides เชื้อเหล่านี้ได้แก่แบคทีเรียใน genus *Pseudomonas sp.* และ *Bacillus sp.* โดยเฉพาะ *Pseudomonas fluorescence* สามารถสร้างสารต้าน fungal root pathogens (Weiler1988) สามารถสร้างสารปฏิชีวนะชะงักการเจริญของโรคในปลาซึ่งมีเชื้อต้นเหตุคือ *Vibrio anguillarum* (Gram *et.al.*, 1999) สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช สาร antimicrobial metabolites เหล่านี้คือ 2,4-diacetylphloroglucinol, pyoluteorin, hydrogen cyanide, pyoverdine, salicylic acid และ pyochelin (Schmidli-Sacherer *et. al.*, 1997) Ellis และคณะ (1999) ยังรายงานว่า *Pseudomonas fluorescens* 54/96 ที่คัดเลือกจาก rhizosphere ของต้น sugar beet สามารถสร้างสารยับยั้งโรคเชื้อรากินเมล็ดอย่างได้ผล นอกจากนั้น สารดังกล่าวยังมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Pythium ultimum* ซึ่งถือว่าเป็นต้นเหตุของโรค damping-off disease นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* DR54 สร้างสารที่เป็นปรปักษ์ต่อเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรค potato ring rot, black root rot ในต้นยาสูบ (Nielsen *et. al.*,1998) เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* strain Pf1 ได้ถูกผลิตในรูปของแป้งฝุ่น เพื่อผสมคลุกเคล้ากับเมล็ดข้าว เมื่อนำไปเพาะ เจริญขึ้น เชื้อแบคทีเรียจะแพร่กระจายไปสู่ราก ลำต้น และใบ ป้องกันต้นข้าวจากโรค rice blast ซึ่งมีเชื้อ *Pyricularia oryzae* เป็นต้นเหตุ (Vidhyasekaran, 1997) และยังป้องกันโรค damping-off disease ของหัว sugarbeet จากเชื้อรา *Pythium spp.*(Moenne-Loccoz, 1999) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้ส่วนใสจากน้ำเลี้ยงเชื้อ (cell-free culture filtrates) ของเชื้อ *Pseudomonas antimicrobica* ที่มีผลต้านโรคราสีน้ำตาลชื่อ *Botrytis cinerea* ทั้งในการทดสอบแบบ *in vitro* และ *in vivo* (Walker *et.al.*, 1996) Clarkson และ Lucas (1997) ยังมีรายงานอีกว่า cell-free culture filtrate ใน nutrient broth ของ *Pseudomonas fluorescens* สามารถยับยั้งการเจริญ และการงอกของสปอร์ของเชื้อ *Pseudocercosporella herpotrichoides* ซึ่งเป็นต้นเหตุของโรค eyespot disease ในต้นธัญญะพืช

นอกจากนี้เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ยังถูกนำไปใช้เป็นกรณีพิเศษในด้านของ biocontrol ยังมีการศึกษาเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อที่ก่อโรคประเภท soil-borne และ seed-borne ได้เช่นกัน (Weller 1988; O'Sullivan และ O'Gara 1992; Clark และ Lucas, 1997; Whipps 1997)