ชัดเจน การคัดแยกจุลินทรีย์จากดินที่สามารถย่อยไคตินและเซลลูโลสที่เป็นโครงสร้างของเชื้อราได้ และด้วยการทดสอบความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเจริญหรือทำลายเส้นใยของเชื้อราก่อโรคได้นำมาร่วมกับการใช้ไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้ง น่าจะเป็นทางออกที่เป็นชีววิธีที่ดีในการควบคุมโรคแทนการใช้สารเคมี ในการทดลองนี้จะทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์จากดินที่ย่อยไคตินได้และเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *P. aphanidermatum* มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรค Seedling damping off ของถั่วเหลือง ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจสร้างรายได้ให้กับประเทศอย่างมาก การทดสอบจะทำทั้งผลของเชื้อราก่อโรคต่อการงอกของเมล็ด และการรอดของต้นกล้าเมื่อปลูกลงในดินที่มีการปนเปื้อนของเชื้อราก่อโรค ดำเนินการทดลองโดยเพาะเมล็ดหรือต้นกล้าถั่วเหลืองลงในดินที่ใส่เชื้อราก่อโรค *P. aphanidermatum* แล้วใส่ไคโตซานหรือไคโตซานที่ผสมกับเชื้อปฏิปักษ์ลงในดินเพื่อควบคุมโรค ติดตามเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดและเปอร์เซ็นต์การรอดจากการเป็นโรคของต้นกล้าเปรียบเทียบกับชุดที่ไม่ได้ใช้ไคโตซานหรือไคโตซานที่ผสมกับเชื้อปฏิปักษ์

## ผลสำเร็จของงานวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้เชื้อแอคติโนมัยซิทส์ปฏิปักษ์ที่ยับยั้งการเจริญหรือทำลายเชื้อรา *P. aphanidermatum* ที่เป็นสาเหตุของโรคเน่าคอดินในพืช
2. ได้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพซึ่งเป็นแอคติโนมัยซิทส์ปฏิปักษ์เพื่อใช้ร่วมกับสารละลายไคโตซานที่ผลิตจากเปลือกกุ้งในการควบคุมโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum*
3. ได้วิธีการที่สามารถการลดการใช้สารเคมีอันตรายที่ใช้ในการป้องกันหรือยับยั้งการเกิดโรคในพืช ซึ่งจะช่วยลดปัญหาสารพิษตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อม

## การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง

### เชื้อรา *Pythium* สาเหตุโรครากเน่าคอดินของพืช

เชื้อรา *Pythium* เป็น genus ที่มี species มากที่สุดถึง 92 species (Waterhouse, 1968) มีหลาย species พบอยู่ในน้ำเท่านั้น เชื้อรา *Pythium* ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในดินจัดเป็น soil-borne fungi ซึ่งจะก่อให้เกิดความเสียหายกับการเจริญของต้นพืชได้ทุกระยะ เช่น ระยะก่อนเมล็ดงอกทำให้เมล็ดเน่า (seed rot) ระยะที่เมล็ดเริ่มงอกเป็นต้นกล้าโผล่พ้นพื้นดินแล้วทำให้เกิดโรคเน่าระดับดินหรือเน่าคอดิน (pre and post emergence damping-off) ทำให้ต้นกล้าเน่าและต้นหักพับบริเวณโคนต้น (Waterhouse, 1973) สำหรับพืชที่เจริญเติบโตในระยะต่อมาก็อาจถูกเชื้อรา *Pythium* spp. เข้าทำลายทำให้เกิดโรครากเน่า (root rot) โคนเน่า (stem rot) และอาการต้นเหี่ยว (wilt) เป็นต้น เชื้อราชนิดนี้ก่อโรคกับพืชหลายชนิด ได้แก่ ข้าวโพด ถั่วเหลือง แตง มะเขือเทศ ยาสูบ มะละกอ บานชื่น

พิทูเนีย ฯลฯ ข้าวโพดและถั่วเหลืองในสหรัฐอเมริกาเน่าตายมีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Pythium* spp. (Zhang and Yang, 2000) *Pythium* เป็นเชื้อราที่ทำลายพืชที่มีลักษณะอวบอุ้มน้ำซึ่งส่วนใหญ่เป็นระยะต้นกล้าของพืช นิยมและอภิรัชต์ (2543) ได้ศึกษาราสกุล *Pythium* โดยแยกจากพืชที่มีอาการรากเน่า โคนเน่า ผลเน่า ไม้ดอกไม้ประดับ และไม้ผล จำแนก *Pythium* ที่คัดแยกได้เป็น 10 ชนิด คือ *Pythium acanthicum, P. deliense, P. aphanidermatum, P. graminicola, P. helicoides, P. heterogallicum, P. sinense, P. intermedium, P. myriotylum,* และ *P. vexans* มีเพียง *P. aphanidermatum* เท่านั้นที่ทำให้เกิดโรครากเน่าและโคนเน่าของมะละกอ

ผนังเซลล์ของเชื้อราโดยทั่วไปมีองค์ประกอบหลักเป็นไคตินและเบต้า 1, 3 กลูแคน (β-1,3-glucan) แต่ผนังเซลล์ของเชื้อรากลุ่ม oomycetes ซึ่งเชื้อรา *Pythium* จัดอยู่ในกลุ่มนี้มี β-1,3-glucan และ β-1,6-glucan และเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักแทนที่จะเป็นไคติน (Bartnicki-Garcia, 1968) ดังนั้นจะพบว่ามีการศึกษาเอนไซม์ไคติเนส (chitinase) และกลูคาเนส (glucanase) เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราโดยทั่วไป

**การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biological control of plant disease)**

การควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี หมายถึง การลดปริมาณประชากรของเชื้อโรคพืชหรือลดกิจกรรมของเชื้อโรคอันจะก่อให้เกิดโรคจนอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืช โดยอาศัยสิ่งมีชีวิตซึ่งรวมทั้งพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) ตลอดจนพันธุกรรมหรือผลิตผลจากพันธุกรรม (genes or gene products) แต่ยกเว้นผลจากการกระทำต่อเชื้อโรคโดยตรงจากมนุษย์ ในปัจจุบันได้มีการค้นคว้าหาวิธีการควบคุมโรคพืชเพื่อหลีกเลี่ยงและลดปัญหาอันตรายจากการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่นับวันเพิ่มมากขึ้น การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biocontrol) เป็นวิธีที่นับว่าใช้ได้ผลดีในระดับหนึ่ง

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganisms) เป็นจุลินทรีย์ที่อาจจะเป็นเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยซิสท์ หรือเชื้อราที่สามารถเจริญแล้วยับยั้งการเจริญหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรคพืชได้

การควบคุมโรคโดยชีววิธี (Biological control) หมายถึงการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชต่างๆ (pathogenic microorganisms) โดยการนำสิ่งมีชีวิตหนึ่งชนิดหรือมากกว่ามาใช้ในการควบคุม เช่น การใช้เชื้อรากำจัดไส้เดือนฝอย การใช้เชื้อรากำจัดเชื้อราก่อโรคพืช การใช้เชื้อแบคทีเรียกำจัดเชื้อราก่อโรค การใช้เชื้อแบคทีเรียกำจัดแบคทีเรียก่อโรค ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการควบคุมโรคพืช ได้แก่ การใช้เชื้อรา *Chaetomium globosum , C. cupreum* ในการควบคุมโรคโคนเน่าของทุเรียน ส้ม และพริกไทย ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora sp.* โรครากเน่าของอ้อย มะเขือเทศ ข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *Selerotium rolfsii* (เกษม สร้อยทอง, 2533) โรคเหี่ยวของมะเขือเทศ คาร์เนชั่น ผักกาดหอม คะน้า พริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium sp.* นอกจากนี้

ยังมีงานวิจัยที่พบว่า เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และ *T. hamatum* สามารถควบคุมโรคพืชได้หลายชนิด เช่น โรครากเน่าของทุเรียน ส้ม และพริกไทย เป็นต้น (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2531)

กลไกการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชโดยชีววิธี มีกลไกต่างๆดังนี้

1. กลไกการสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiosis) เกิดจาก การเกิดการต่อต้านของจุลินทรีย์

2. เชื้อปฏิปักษ์ผลิตสาร secondary metabolite ซึ่งมีฤทธิ์ไปทำลายเชื้อโรคเป้าหมาย

3. กลไกการแก่งแย่งอาหาร (Competition) จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความสามารถในเจริญและเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว จนสามารถแก่งแย่งอาหาร และเข้าครอบครองบริเวณต้นพืชได้เร็วกว่าเชื้อโรค ทำให้ปริมาณของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีมากกว่า และสามารถลดปริมาณสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อโรคลงได้ด้วย

4. กลไกการเป็นปรสิต (Parasitism) เกิดจากการที่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เข้าไปเจริญเติบโตดูดกินน้ำเลี้ยงที่อยู่ในเซลล์ของเชื้อสาเหตุของโรคพืช ทำให้สภาพทางสรีรวิทยาของเชื้อโรคพืชเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมและตายไปในที่สุด

การควบคุมโรคโดยชีววิธีนี้ ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับว่าเป็นวิธีที่มีโอกาสสูงในการนำไปเป็นกลยุทธ์ในการป้องกันหรือกำจัดโรคเพราะใช้ได้ผลดี และมีการดำเนินการทำผลิตภัณฑ์ในระดับการค้า

การนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไปใช้ในการควบคุมโรคพืช นิยมนำไปใช้กับโรคพืชที่เกิดบริเวณรอบราก หรือบริเวณส่วนพืชที่อยู่เหนือดิน ซึ่งการใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืชจะมีกรรมวิธีการใช้แตกต่างกัน

บริเวณผิวราก จะมีกรรมวิธีการใช้เชื้อปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคได้หลายแบบแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความสะดวกในการปฏิบัติของผู้ใช้ และแต่ละวิธีอาจให้ประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ไม่เท่ากัน ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น คุณสมบัติของพืชเอง และลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่มีหลายรูปแบบ

1. การคลุกเมล็ด นิยมใช้กับพืชที่ใช้เมล็ดในการเพาะปลูก โดยเมล็ดจะต้องมีขนาดไม่ใหญ่มากนัก ช่วยให้คลุกง่ายและไม่สิ้นเปลือง มักนิยมคลุกเมล็ดก่อนปลูก

2. การราดดิน เป็นวิธีที่นิยมปฏิบัติกันมาก แต่จะไม่ค่อยสะดวก หากจะนำไปใช้ในสภาพไร่ของเกษตรกรที่น้ำไม่เพียงพอ และถ้าปลูกพืชเป็นปริมาณมากก็จะยิ่งไม่สะดวกในการปฏิบัติ

3. การคลุกดิน เป็นวิธีการนำเอาผงเชื้อหรือสารละลายเชื้อปฏิปักษ์ใส่ไปในดินและคลุกเคล้าผสมกันให้ทั่วก่อนปลูกพืช ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ค่อนข้างสะดวก

4. การจุ่มราก เป็นวิธีที่นิยมใช้กันกับพืชที่ ต้องเพาะเมล็ดแล้วย้ายกล้าไปปลูก เช่น มะเขือเทศ พริก หรือพืชที่เมล็ดพันธุ์ราคาแพง

บริเวณส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน มีวิธีใช้ที่นิยม 2 วิธี คือ

1. การทา เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชยืนต้นที่ถูกทำลาย มีแผลปรากฏให้เห็นชัดเจนบนส่วนของต้นหรือกิ่ง บริเวณที่สามารถนำเอาเชื้อปฏิปักษ์ที่เตรียมให้มีความเข้มข้นและเหนียวไปทาเพื่อให้ยึดติดกับ ผิวพืชได้คงทน

2. การพ่น เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชที่ปลูกเป็นปริมาณมาก หรือมีลำต้นสูง ซึ่งใช้หลักการปฏิบัติเช่นเดียวกับการพ่นสารเคมีกำจัดโรคพืช

เชื้อปฏิปักษ์ที่นิยมนำมาใช้ในปัจจุบันมีทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา ซึ่งสายพันธุ์ที่ใช้กันและผลิตขาย ในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่

*Bacillus thuringiensis* (BT) เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก สร้าง spore และผลึกโปรตีนหลายรูปแบบ เนื่องจากผลึกโปรตีนที่สร้างขึ้นนี้มีฤทธิ์ในการทำลายแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ ปัจจุบันเชื้อ *Bacillus* spp.ได้เข้ามามีบทบาทในการควบคุมแมลงศัตรูสำคัญทั้งทางด้านการเกษตรและการแพทย์ เช่น การนำมาพัฒนาเป็นสารกำจัดหนอนแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจ เช่น หนอนใยผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และควบคุมปริมาณของลูกน้ำยุงชนิดต่างๆ

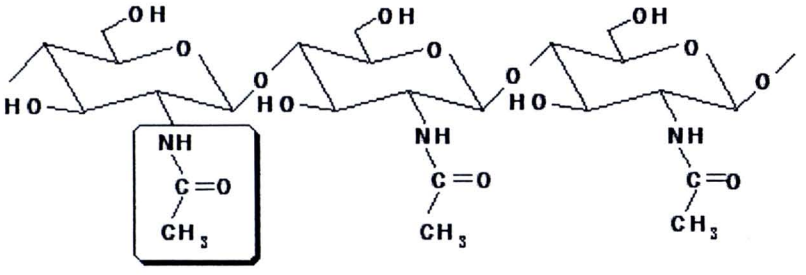
*Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราชั้นสูงที่เจริญได้ดีในดิน เศษซากพืช ซากสิ่งมีชีวิตรวมทั้งจุลินทรีย์และอินทรีย์วัตถุตามธรรมชาติ เชื้อบางสายพันธุ์สามารถเป็น parasite ต่อเชื้อราโรคพืชโดยการพันรัดเส้นใยเชื้อโรคแล้วสร้างเอนไซม์ เช่น chitinase, cellulase, β-1, 3-glucanase ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อยสลายผนังเส้นใยของเชื้อราโรคพืช จากนั้นจึงแทงเส้นใยเข้าไปเจริญอยู่ภายในเส้นใยเชื้อราโรคพืช ทำให้เชื้อโรคพืชสูญเสียความมีชีวิต ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณของเชื้อโรคพืชลดลง นอกจากนี้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ส่วนใหญ่จะเจริญโดยสร้างเส้นใยและ spore ได้ค่อนข้างรวดเร็ว จึงมีความสามารถสูงในการแข่งขันกับเชื้อโรคพืช ด้านการแย่งใช้อาหารและแร่ธาตุต่างๆ จากแหล่งอาหารในธรรมชาติ ตลอดจนการใช้สารที่จำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยได้เป็นอย่างดี ขณะที่บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารปฏิชีวนะออกมาเพื่อยับยั้งหรือทำลายเส้นใยของเชื้อโรคได้ ด้วยคุณสมบัตินี้ จึงได้มีการนำเชื้อรา *Trichoderma* มาใช้เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น *Sclerotium* spp, *Pythium* spp. และ *Fusarium* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเมล็ดเน่า, รากเน่า ฯลฯ

*Chaetomium* spp. เป็นเชื้อราพวก saprophytes ที่จัดอยู่ในกลุ่ม Ascomycetes สามารถเจริญได้ดีในเศษซากพืชและสัตว์ที่เน่าเปื่อยผุพัง และอินทรีย์วัตถุต่างๆ มีการขยายพันธุ์โดยใช้เพศและทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆได้ดี โดยพบว่ามี *C. globosum* และ *C. cupreum* สายพันธุ์ที่เฉพาะเจาะจง สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคพืช ได้แก่ *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp.

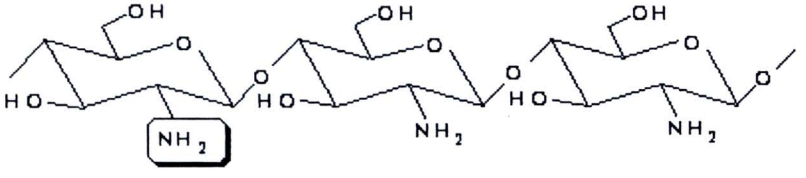
**ไคติน**

ไคติน (chitin) เป็นสารประกอบเชิงซ้อน (high polymer) ของ β-1,4-N-acetyl-D-glucosamine จัดเป็นพวกสารอินทรีย์โมเลกุลยาว (linear macro-molecular biopolymer) โครงสร้าง

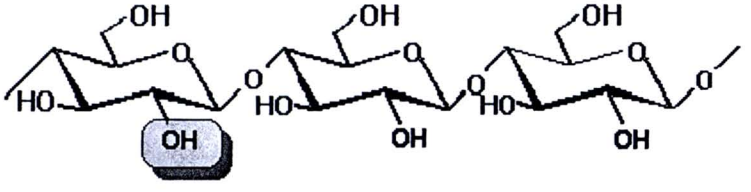
คล้ายเซลลูโลส สูตรโครงสร้างของไคตินต่างจากโครงสร้างเซลลูโลสที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 เป็นหมู่อะซิทิลาไมล์ ($NH\text{-}CO\text{-}CH_3$) แทนที่จะเป็นหมู่ไฮดรอกซิล (OH-) ส่วนไคโตซาน (chitosan) เป็นอนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากการนำหมู่อะเซทิลออกจากไคติน ดังรูปที่ 1



(a) โครงสร้างทางเคมีของไคติน



(b) โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน



(c) โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส

รูปที่ 1. โครงสร้างของ (a) ไคติน (b) ไคโตซาน (c) เซลลูโลส

ไคตินเป็นสารอินทรีย์ที่เกิดตามธรรมชาติ มีปริมาณมากเป็นอันดับ 2 ของโลกรองจากเซลลูโลส ไคตินประกอบไปด้วยไนโตรเจนประมาณ 7% นอกจากนี้ไคตินยังสามารถเชื่อมอยู่กับคาร์โบไฮเดรตได้ด้วยพันธะโควาเลนต์ในรูปของโปรตีน และอาจพบรวมอยู่กับเกลือแคลเซียมคาร์บอเนตในเปลือกสัตว์พวกกุ้ง ปู ในพืชพบไคตินอยู่รวมกับเซลลูโลส ส่วนในสัตว์พบอยู่รวมกับคอลลาเจน ไคตินเป็นสารโมเลกุลยาวที่ไร้ประจุ ซึ่งทำให้ไม่ละลายน้ำหรือสารทำละลาย

อินทรีย์ทั่วไป แต่หากแยกเอาหมู่อะเซทิลออกมา จะได้สารมีชื่อว่า ไคโตซาน ที่ละลายน้ำและละลายในตัวทำละลายหลายชนิดได้ เพราะมีประจุบวกบนหมู่อะมิโน (จิราภรณ์ , 2001)

สารไคตินธรรมชาติที่พบจะมีโครงสร้างต่างกันออกไปขึ้นกับแหล่งที่พบ สารไคตินจะมีการจัดเรียงตัวได้หลายแบบซึ่งจะทำให้ความแข็งแรงต่างกันออกไปด้วย สามารถจัดลักษณะโครงสร้างของไคตินธรรมชาติออกได้ 3 ประเภท คือ

1.อัลฟาไคติน มีโครงสร้างที่แข็งแรง เนื่องจากสายโมเลกุลของอัลฟาไคตินแต่ละสายจะจัดตัวในแบบขนานวิ่งสวนกัน ( anti-parallel) โดยมีพันธะไฮไดรเจนอยู่ในเส้นตรงเดียวกัน มักพบอัลฟาไคตินในเปลือกของแมลงและผนังเซลล์ของเชื้อรา

2.เบต้าไคติน มีการจัดตัวในโมเลกุลไม่แข็งแรง เมื่อเทียบกับอัลฟาไคตินเนื่องจากสายของไคตินแต่ละสายมีการจัดตัวแบบขนานวิ่งไปทางเดียวกัน (parallel) เป็นการจัดตัวที่มีความเสถียรต่ำ เนื่องจากโครงสร้างไม่แข็งแรงนี้เอง ทำให้น้ำสามารถซึมผ่านเข้าไประหว่างสายของไคตินได้ เบต้าไคตินสามารถเปลี่ยนรูปไปเป็นอัลฟาไคตินได้ โดยทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น 6 นอร์มอล โดยทั่วไปมักไม่พบเบต้าไคตินในธรรมชาติมากนัก

3.แกมม่าไคติน การจัดเรียงตัวของโมเลกุลของแกมม่าไคติน โดยทั่วไปจะประกอบไปด้วย ลักษณะผสมของเบต้าไคตินและอัลฟาไคติน เป็นแบบที่เส้นใยเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ เรียงในทิศ ทางเดียวกันบ้าง กลับทิศทางกันบ้าง แกมม่าไคตินสามารถเปลี่ยนรูปให้อยู่ในรูปของอัลฟาไคตินได้โดยทำปฏิกิริยากับลิเทียมไทโอไซยาเนต มักจะพบแกมม่าไคตินในเปลือกที่ห่อหุ้มตัวอ่อนที่เป็นดักแด้ของแมลง

ไคตินพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในพืชบางชนิดอาจมีไคตินแทนเซลลูโลสหรือเกิดร่วมกับเซลลูโลส (วิสิฐและลูกจันทร์, 1990) ส่วนใหญ่ในสัตว์พบไคตินอยู่กับคิวติเคิล (cuticle) ที่ผิวหนังของ epithelium ในยีสต์พบได้ในส่วนที่กำลังแตกหน่อของยีสต์ที่ใช้ทำเบียร์และไวน์ แต่ส่วนมากจะพบไคตินมากในเปลือกของสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น กุ้ง ปู ปลาหมึก หอย โปรโตซัว และ nematode (Cody et al., 1990) ในโครงสร้างชั้นนอกของแมลง เชื้อรา และในสาหร่ายบางชนิด นอกจากนี้ยังพบในเห็ดหลายชนิด แหล่งสำคัญของไคตินคือจากอุตสาหกรรมอาหารทะเล โดยเฉพาะของเสียที่เหลือจากกระบวนการแปรรูปกุ้งและปู องค์ประกอบของเปลือกกุ้งส่วนใหญ่จะเป็นไคติน แคลเซียมคาร์บอเนต และโปรตีน จากการศึกษาพบว่ากุ้งและปู มีไคตินถึง 14-27% และ 13-15% ของน้ำหนักแห้ง (Moiseev and Carroad, 1981) นอกจากนี้ในเชื้อราบางชนิดพบไคตินถึง 22-24% เชื้อราบางชนิดอาจมีน้อยหรือมากกว่านี้แล้วแต่ชนิด เช่น *Schizophyllum commune* มีไคติน 3-5% ส่วน *Allomyces macrogynus* หรือ *Sclerotium rolfsii* พบไคตินถึง 60% ผนังเซลล์ของเชื้อราโดยทั่วไปมีองค์ประกอบหลักเป็นไคตินและเบต้า 1,3 กลูแคน (β-1,3-glucan) แต่ผนังเซลล์ของเชื้อรากลุ่ม oomycetes ซึ่งเชื้อรา *Pythium* จัดอยู่ในกลุ่มนี้มี β-1,3-glucan และ β-1,6-glucan และเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักแทนที่จะเป็นไคติน (Bartnicki-Garcia, 1968) ใน

สาหร่ายสีเขียวพบไคติน 3-5% ส่วนใน arthropods molluses coelenterates และ nematodes พบ 20-50% ของปริมาณคิวติเคิล (Desphande, 1986)

**ไคโตซาน**

ไคโตซาน เป็นไบโอโพลิเมอร์ธรรมชาติอย่างหนึ่ง ซึ่งมีองค์ประกอบสำคัญในรูปของ D-glucosamine พบได้ในธรรมชาติ โดยเป็นองค์ประกอบอยู่ในเปลือกนอกของสัตว์พวก กุ้ง ปู แมลง และเชื้อรา ไคติน-ไคโตซาน จัดเป็นโคโพลิเมอร์ที่อยู่ร่วมกันในธรรมชาติ ไคตินไม่ละลายน้ำแต่จะละลายในกรดเข้มข้น หรือถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไคติเนส ส่วนไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากการนำหมู่อะเซทิลออก (deacetylatation) จึงมีหมู่อะมิโนซึ่งมีประจุเป็นบวกอยู่ปริมาณมาก จัดเป็น cationic polysaccharide ที่ทำให้ไคโตซานละลายได้ในกรดอินทรีย์เจือจาง มีคุณสมบัติจับกับอิออนของโลหะได้ดี และการมีฤทธิ์ทางชีวภาพจัดเป็น fungicidal agent มีผลต่อเชื้อราหลายชนิด ไคโตซานเป็นสารที่ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม (Yu *et al.*, 2007)

มีรายงานการใส่ไคติน (Albouvette *et al.*, 1993) และไคโตซาน (Benhamou and Theriault, 1992) ลงในดินสามารถลดการติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อราในดิน (soilborne diseases) ได้ ไคโตซานยับยั้งเชื้อสาเหตุของโรคพืช ได้แก่ เชื้อไวรัส แบคทีเรีย และเชื้อราบางชนิด โดยไคโตซานจะซึมผ่านเข้าทางผิวใบ ลำต้นพืช ช่วยยับยั้งการเกิดโรคพืช ไคโตซานสร้างความต้านทานโรคให้กับพืช โดยไคติน-ไคโตซานจะกระตุ้นให้พืชผลิตเอนไซม์และสารเคมีบางอย่างเพื่อป้องกันศัตรูพืช เช่น สร้างไคติเนสป้องกันการบุกรุกของแมลงหรือเชื้อรา พืชจึงลดโอกาสที่จะถูกคุกคามโดยเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ (El Ghaouth *et al.*, 1992) ไคโตซานจะกระตุ้นให้พืชมีการผลิตสารลิกนินและแทนนินมาก ขึ้น พืชสามารถป้องกันตัวเองจากการกัด ดูด ทำลายของแมลงศัตรูพืช นอกจากนั้นไคโตซานสามารถส่งเสริมการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดิน ได้แก่ จุลินทรีย์ที่ใช้ไคตินหรือไคโตซานได้ เช่น เชื้อแอคติโนมัยซิทส์ และเชื้อราบางชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นศัตรูของเชื้อราก่อโรค ทำให้ลดปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคพืชในดิน

ปัจจุบันมีการนำสารไคติน-ไคโตซาน มาประยุกต์ใช้นอกจากในภาคเกษตรกรรม ยังนำมาใช้ในภาคอุตสาหกรรม ทางการแพทย์และเภสัชกรรม เช่น ใช้เป็นสารตกตะกอนในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ใช้ป้องกันแบคทีเรียและเชื้อราในอุตสาหกรรมเส้นใยสิ่งทอ ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อลดไขมันและคอเลสเตอรอล ใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในพืชและสัตว์ต่าง ๆ เช่น สุกร กุ้ง เป็ด ไก่ ใช้เป็นสารเคลือบผลไม้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา ใช้เป็นสารถนอมอาหาร และใช้ทำเป็นแผ่นฟิล์มปิดแผลซึ่งช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น

**ถั่วเหลือง**

ถั่วเหลือง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L) Merrill. เป็นพืชลำต้นตรงเป็นพุ่ม สูงประมาณ 50 – 70 เซนติเมตร ถั่วเหลืองเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญและมีบทบาทต่ออุตสาหกรรมได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมน้ำมันพืช และอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับ

การใช้น้ำมันพืช ดังนั้นถั่วเหลืองจึงเป็นพืชน้ำมันที่มีขายกันมากทั้งตลาดในประเทศไทยและในตลาดโลก สำหรับในอุตสาหกรรมอาหารนั้นถั่วเหลืองนำมาใช้ประโยชน์ในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่ใช้บริโภคที่เป็นที่รู้จักกันดีคือ เต้าหู้ เนย ถั่วเหลือง ซีอิ้ว ซอสปรุงรส เป็นต้น ในอุตสาหกรรมเหล่านี้จะใช้ถั่วเหลืองประมาณเกือบครึ่งของปริมาณถั่วเหลืองที่ผลิตได้ทั้งหมด ปัจจุบันเกษตรกรปลูกถั่วเหลืองกำลังประสบปัญหาเกี่ยวกับโรครากเน่าและโคนเน่า ซึ่งส่วนใหญ่โรคพืชเหล่านี้จะมีสาเหตุมาจากเชื้อราหลายชนิด เช่น *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp., *Collectotrichum dermatium* var. truncata (Zhang *et al.*, 1998) เมื่อประสบปัญหาเหล่านี้เกษตรกรมักจะแก้ปัญหาด้วยการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกและเห็นผลชัดเจนในระยะเวลาไม่นานแต่การใช้สารเคมีในปริมาณมากจะส่งผลกระทบและเกิดความเสียหายหลายด้าน เช่นสารเคมีตกค้างในผลผลิตและส่งผลต่อผู้บริโภค

งานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะทำการศึกษาพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เป็นเชื้อแอคติโนมัยซิทส์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนส เอนไซม์เซลลูเลสและได้ทดสอบแล้วว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pytium aphanidermatum* ที่เป็นสาเหตุของโรค seedling damping off ของถั่วเหลืองได้ โดยจะใช้เชื้อปฏิปักษ์นี้ร่วมกับไคโตซานหรือไคตินเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราโรคพืชซึ่งจะเกิดผลต่อเชื้อราก่อโรคทั้งจากเชื้อปฏิปักษ์และจากไคโตซาน ในการที่ใช้ไคโตซานร่วมกับเชื้อปฏิปักษ์แล้วใช้ลงในดินนี้เชื้อปฏิปักษ์สามารถใช้ไคติน-ไคโตซานเป็นแหล่งอาหารในการเจริญในขณะที่เชื้ออื่นในดินส่วนใหญ่ไม่สามารถใช้ไคตินหรือไคโตซานเป็นแหล่งอาหารได้ ด้วยวิธีนี้จะเป็นการเพิ่มโอกาสให้กับเชื้อปฏิปักษ์อยู่รอดและเพิ่มจำนวนในดินเกิดกิจกรรมควบคุมเชื้อราโรคพืชที่มีประสิทธิภาพ