

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

พริก (*Capsicum* sp.) เป็นพืชในตระกูล Solanaceae มีแหล่งกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกา มีการปลูกกันอย่างกว้างขวางทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อน พริกเป็นพืชที่มีวิตามินซีสูง เป็นแหล่งของกรดแอสคอร์บิก ซึ่งสารชนิดนี้มีประโยชน์ คือ ช่วยขยายเส้นโลหิตในลำไส้และกระเพาะอาหารเพื่อการดูดซึมอาหารที่ดียิ่งขึ้น ช่วยให้ร่างกายขับถ่ายของเสียและนำธาตุอาหารไปยังเนื้อเยื่อของร่างกาย สำหรับพริกชี้ฟ้าและพริกชี้ฟ้าของไทย มีปริมาณวิตามินซี 87 - 90 มิลลิกรัม ต่อผลพริก 100 กรัม นอกจากนี้พริกยังมีสารเบต้าแคโรทีนหรือวิตามินเอสูง ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันและช่วยให้ระบบสืบพันธุ์ทำงานได้ดี อีกทั้งยังมีสารสำคัญอีก 2 ชนิด ได้แก่ แคปไซซิน และโอเลโอเรซิน โดยเฉพาะสารแคปไซซิน ที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและผลิตภัณฑ์รักษาโรคที่มีคุณสมบัติลดความเจ็บปวดของกล้ามเนื้อ หัวไหล่ แขน บั้นเอวและส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย (สุชีลา, 2548)

สำหรับประเทศไทย พริกเป็นพืชผักที่มีความสำคัญอย่างมากในชีวิตประจำวันและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากสามารถใช้เป็นส่วนประกอบในการปรุงแต่งรสชาติของอาหารทั้งในรูปพริกสดและพริกแห้ง รวมทั้งผลิตภัณฑ์แปรรูปอื่น ๆ พริกที่ปลูกมากในประเทศไทย ได้แก่ พริกชี้ฟ้า พริกชี้ฟ้าและพริกชี้ฟ้าสวน ซึ่งแต่ละชนิดก็แบ่งย่อยเป็นหลายสายพันธุ์ พื้นที่ปลูกพริกที่สำคัญอยู่ในจังหวัดอุบลราชธานี ขอนแก่น เลย นครสวรรค์ อุตรดิตถ์และเชียงใหม่ โดยผลผลิตส่วนใหญ่ใช้ในการบริโภคในครัวเรือนและการอุตสาหกรรม (ทศพร, 2531)

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) จัดเป็นพืชในตระกูล Solanaceae เช่นเดียวกับพริก มีแหล่งกำเนิดในเขตอเมริกาใต้ มะเขือเทศเป็นพืชชนิดหนึ่งที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหาร มะเขือเทศหนึ่งผลจะมีวิตามินเอ 1 ใน 3 ของวิตามินเอที่ร่างกายต้องการในหนึ่งวัน นอกจากนี้ยังมีสารจำพวกแคโรทีนอยด์ ชื่อไลโคพีน ซึ่งเป็นสารสีแดงและวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินบี 1 บี 2 วิตามินเค โดยเฉพาะวิตามินซีซึ่งมีในปริมาณสูง มีกรดมาลิก กรดซิตริก ซึ่งให้รสเปรี้ยวและมีกลูตามิก ซึ่งเป็นกรดอะมิโนช่วยเพิ่มรสชาติให้อาหาร นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารเบต้าแคโรทีนและแร่ธาตุหลายชนิด ผลมีรสเปรี้ยว ช่วยดับกระหาย ทำให้เจริญอาหาร บำรุงและกระตุ้นกระเพาะอาหาร ลำไส้ ไต ให้ทำงานได้ดีด้วยช่วยขับพิษและสิ่งคั่งค้างในร่างกายเป็นยาระบายอ่อน ๆ และเหมาะที่จะเป็นอาหารสำหรับคนเป็นโรคนี้่ว วัณโรค ไทฟอยด์ หนูฉกเสบ และเหื่อตาอักเสบ

โดยรับประทานผลสด ผู้ที่รับประทานมะเขือเทศเป็นประจำจะช่วยลดอัตราการเกิดโรคมะเร็งในลำไส้และมะเร็งต่อมลูกหมาก น้ำจากผลมะเขือเทศสุกมีสารไลโคเปอรซซิน ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อราและแบคทีเรีย ใบมีฤทธิ์ฆ่าแมลง โดยชงกับน้ำร้อนใช้กำจัดหนอนและแมลงที่มากินผักได้ (มณีฉัตร, 2541)

แหล่งผลิตมะเขือเทศสดแหล่งใหญ่ในประเทศไทย คือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือซึ่งมีสภาพภูมิอากาศเหมาะสมสำหรับการปลูก มะเขือเทศที่นิยมปลูกเป็นพันธุ์ที่ใช้รับประทานสด ได้แก่ พันธุ์ทานาปาล ฟลอราเดล มาร์โกลบ และสิดา เป็นต้น และปลูกเพื่อส่งโรงงานอุตสาหกรรม ได้แก่ พันธุ์โรมา คาลเจ และวีเอฟ เป็นต้น (มณีฉัตร, 2538)

การปลูกพริกและมะเขือเทศทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมสำหรับการปลูกพริกและมะเขือเทศ เนื่องจากมีอากาศหนาวเย็นในฤดูหนาวและมีความชื้นในอากาศเล็กน้อย ทำให้โรคไม่ค่อยระบาด แต่ทางภาคเหนือแม้จะมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมในแง่อุณหภูมิ แต่ความชื้นในอากาศสูงกว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือจึงทำให้เกิดโรคค่อนข้างรุนแรง โดยโรคของพริกและมะเขือเทศที่สำคัญ คือ โรคใบจุดที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria* sp. และโรคเหี่ยวที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *F. oxysporum* (มณีฉัตร, 2538)

โรคของพริกและมะเขือเทศที่สำคัญ

โรคใบจุด (Leaf spot)

สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Alternaria* sp.

เชื้อราสกุล *Alternaria* เป็นราจัดอยู่ใน

Kingdom Fungi

Division Ascomycota

Class Euascomycetes

Order Pleosporales

Family Pleosporaceae

Genus *Alternaria*

โรคใบจุดเป็นโรคที่พบในแปลงปลูกพืชทั่วไปในเขตร้อนชื้น ความเสียหายมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค อายุ และสายพันธุ์ โดยศศิธร (2545) ได้กล่าวถึงลักษณะอาการของโรค สภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญและการแพร่ระบาดของโรคและการควบคุมโรคใบจุดของพืชตระกูล Solanaceae ไว้ดังนี้

ลักษณะอาการ

พบโรคได้ในทุกระยะการเจริญเติบโต ถ้าเชื้อติดมากับเมล็ดพันธุ์หรืออยู่ในดิน ประกอบกับสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดโรค เชื้ออาจเข้าทำลายดินอ่อนทันทีที่ต้นพืชงอกออกมาจากเมล็ด ก่อให้เกิดอาการเน่าคอดิน (damping-off) ทำให้ต้นกล้าพุ่มตายเป็นจำนวนมาก ในพืชต้นโตจะพบอาการชัดเจนที่ใบแก่ที่อยู่ตอนล่างของต้น โดยเป็นจุดแผลสีน้ำตาลขนาดประมาณ 4-10 มิลลิเมตร ลักษณะแผลขยายออกเป็นวง ๆ ซ้อนกัน มีบริเวณสีเหลืองล้อมรอบแผล เมื่อเกิดแผลมากใบจะเหลืองและร่วง ถ้าโรครุนแรงในระยะที่กำลังติดผลอาจพบแผลที่ผลด้วย พบในต้นพืชพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคหรือผลถูกหนอนเจาะทำลายอยู่แล้ว ลักษณะเป็นแผลสีน้ำตาลขนาดใหญ่ เนื้อเยื่อกลางแผลยุบลงเป็นแอ่ง ลักษณะแผลค่อนข้างแห้ง ขอบแผลขยายออกเป็นวงซ้อนกันแต่โดยทั่วไปแล้วจะพบบนใบมากกว่า

สภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญและการแพร่ระบาดของโรค

ในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูง อุณหภูมิ 24-30 องศาเซลเซียส เชื้อราสาเหตุของโรคจะเจริญเติบโตสร้างโคนิเดียได้มาก โคนิเดียจะงอก germ tube และเข้าทำลายพืชได้ดี เชื้อสาเหตุโรคพืชจะดำรงชีวิตได้ทั้งในสภาพ parasite อยู่บนพืชและเมื่อพืชตายก็จะเป็น saprophyte อยู่ในเศษซากพืชในดิน ดังนั้นในแปลงที่เคยมีโรครุนแรงมาก่อน เมื่อปลูกพืชในรุ่นใหม่ซ้ำลงไป เชื้อจะสามารถเข้าทำลายและก่อให้เกิดโรคได้อีก การแพร่ระบาดในแปลงส่วนใหญ่ มักเกิดจากโคนิเดียที่ถูกสร้างขึ้นเป็นจำนวนมากปลิวไปตามลม แพร่กระจายโดยน้ำหรือติดไปกับปีก ขาของแมลง นอกจากนี้เชื้อยังอาจติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้

การควบคุมโรค

1. กำจัดเศษซากพืชและวัชพืชในแปลง
2. คลุกหรือแช่เมล็ดพันธุ์ในสารเคมีควบคุมเชื้อรา
3. ในกรณีที่เริ่มพบโรคประปรายประกอบกับสภาพอากาศชื้นจัด ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค ควรฉีดพ่นสารเคมีควบคุมเชื้อราเพื่อป้องกันไม่ให้โรครบาดลุกลามมากยิ่งขึ้น
4. เว้นระยะการปลูกให้ห่างกันพอควร ให้มีช่องว่างระหว่างต้น ระหว่างแถว อากาศถ่ายเทได้สะดวก เพื่อลดความชื้นในแปลงในช่วงที่ฝนตกชุก

โรคเหี่ยว (Fusarium Wilt)

สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

เชื้อราสกุล *Fusarium* เป็นราจัดอยู่ใน

Kingdom Fungi

Division Ascomycota

Class Hyphomycetes

Order Hyphales (Moniliales)

Family Hypocreaceae

Genus *Fusarium*

โรคเหี่ยว เป็นโรคที่พบในบางบริเวณบางท้องถิ่นหรือบางส่วนของแปลง ไม่แพร่ระบาด ลูกกลามเสียหายทั้งแปลง เหมือนกับโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย โดยศศิธร (2545) ได้กล่าวถึง ลักษณะอาการของโรค กลไกของการเกิดอาการเหี่ยวเนื่องจากเชื้อรา การแพร่ระบาดและอยู่ข้ามฤดู ของเชื้อ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค และการควบคุมโรคเหี่ยวของพืชตระกูล Solanaceae ไว้ดังนี้

ลักษณะอาการ

อาการเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา มักเริ่มจากใบล่างก่อน โดยใบและกิ่งก้านจะเหี่ยวห้อยลู่ลง ใบมีลักษณะสีเหลืองซีดและร่วงที่ละก้านสองก้าน อาการจะลูกกลามสู่ส่วนบน ในที่สุดใบจะเหลือง และแห้งตายทั้งต้น เมื่อผ่าลำต้นดูจะพบบริเวณท่อน้ำที่อาหารถูกทำลายเป็นสีน้ำตาล อาจมีการสร้าง adventitious roots ขึ้นที่โคนต้นเป็นจำนวนมาก แต่ไม่ค่อยเจริญเห็นเป็นปุ่มหรือรากสั้น ๆ เท่านั้น บริเวณโคนต้นพืชที่เป็นโรคมักจะเหี่ยวแฟบ สีเหลืองซีด และอาจพบเส้นใยสีขาวฟูของเชื้อรา สาเหตุโรคเจริญอยู่ในบริเวณนั้น หรือพบได้หลังจากนำต้นพืชที่เป็นโรคไปบ่มไว้ในที่ชื้น

กลไกของการเกิดอาการเหี่ยวเนื่องจากเชื้อรา

1. เกิดจากการทวีจำนวนของเชื้อราสาเหตุโรค เมื่อเชื้อราเข้าไปเจริญในท่อลำเลียงน้ำของพืชได้ จะดูดสารอาหารและสิ่งจำเป็นจากพืชมาใช้ในการเจริญเติบโต กลุ่มของเส้นใยที่แผ่ขยายมากขึ้นจะทำให้เกิดการอุดตันไม่สามารถลำเลียงน้ำได้สะดวก
2. เกิดจากเชื้อราสร้างเอนไซม์และสารพิษ เช่น lycomarasmine, fusaric acid และ dehydrofusaric acid ปล่อยออกมา ทำให้เชื้อหุ้มเซลล์ของท่อลำเลียง สูญเสียคุณสมบัติในการหยุดเก็บกักน้ำ

3. เกิดจากกลไกในการป้องกันตนเองของพืช เมื่อมีเชื้อราเข้าทำลาย พืชจะสร้าง gums หรือ tylose เพื่อสกัดกั้นการลุกลามของเชื้อ ปฏิบัติการตอบสนองนี้ในพืชที่อ่อนแอ ต่อโรคมักจะเกิดช้ากว่าการลุกลามของเชื้อสาเหตุโรคพืชทำให้ยับยั้งเชื้อไม่สำเร็จ ในขณะเดียวกันสิ่งต่าง ๆ ที่พืชสร้าง ยิ่งก่อให้เกิดการอุดตันในท่อลำเลียงน้ำมากขึ้น

การแพร่ระบาดและอยู่ข้ามฤดูของเชื้อ

เชื้อรา *F. oxysporum* สามารถมีชีวิตอยู่ในเศษซากพืชในดินได้นานและอยู่ข้ามฤดูได้ดีในรูปของ chlamydospore หรือเส้นใยที่พักตัวติดอยู่ในส่วนขยายพันธุ์ของพืช เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ ก็จะงอก germ tube เข้าทำลายพืชทางรากขนอ่อน หรือรอยแตกที่ราก จากนั้นจะลุกลามไปสู่ท่อลำเลียงน้ำของพืช เจริญเติบโตสร้างเส้นใยอยู่ในบริเวณนั้นเมื่อเส้นใยเจริญเต็มที่ผลิต macroconidia และ microconidia เป็นจำนวนมากและใช้เป็น inoculum ในการเข้าทำลายพืชตลอดฤดูปลูก โดยแพร่ระบาดไปตามน้ำ ลม ดินไปกับปีก ขาของแมลง เครื่องมือที่ใช้ในการเกษตร การเคลื่อนย้ายดินจากแหล่งหนึ่งไปยังอีกแหล่งหนึ่ง หรือติดไปกับต้นกล้า เมื่อพืชที่เป็นโรคตายลง เชื้อสาเหตุโรคยังคงมีชีวิตอยู่ในดินได้นานหลายปีในรูปของ chlamydospore

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค

โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* มักพบแพร่ระบาดในเขตร้อนชื้น ในสภาพดินปลูกที่ค่อนข้างแห้งและเป็นกรด อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อและการเกิดโรคได้คือในช่วง 27-32 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 18 องศาเซลเซียส เชื้อจะไม่ค่อยเจริญเติบโต ดังนั้นถ้าหลังการติดเชื้อ แล้วอุณหภูมิลดต่ำลงอย่างรวดเร็วจนกระทั่งเชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตได้ โรคอาจไม่พัฒนาต่อไป พืชก็มีโอกาสที่จะฟื้นคืนเป็นปกติได้

การควบคุมโรค

1. หลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตพืชแต่ละรุ่น ควรกำจัดซากพืชและวัชพืชนำออกจากแปลง เพื่อป้องกันการสะสมของเชื้อโรคในแปลง
2. เลือกซื้อเมล็ดพันธุ์ที่ผลิตจากแหล่งที่ไม่มีโรคระบาด และควรคลุกเมล็ดด้วยสารเคมีควบคุมเชื้อรา เพื่อป้องกันกำจัดเชื้อที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์
3. เพาะกล้าในดินหรือวัสดุปลูกที่สะอาดหรือผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
4. แปลงปลูกพืชที่ยังไม่เคยมีปัญหาโรคระบาดมาก่อน ควรระมัดระวังการเคลื่อนย้ายดิน และควรทำความสะอาดเครื่องมือ ก่อนนำไปใช้ในแปลงเพื่อป้องกันการนำเชื้อโรคจากที่อื่นเข้ามาในแปลง
5. ปรับสภาพดินให้เป็นกลางด้วยการเติมปูนขาวเปลือกหอยเผาและปุ๋ยอินทรีย์
6. การให้น้ำแก่พืชควรทำอย่างสม่ำเสมอ ไม่ควรปล่อยให้ดินแห้งนาน ๆ

7. เมื่อเริ่มพบต้นพืชที่เป็นโรครีบถอนนำไปเผาและคลุกดินบริเวณนั้นด้วยปูนขาว สารเคมีหรือสารชีวภัณฑ์ควบคุมเชื้อรา
8. การปลูกพืชชนิดเดิมหรือพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกันหลาย ๆ รุ่นอย่างต่อเนื่องซ้ำในแปลงเดิม โดยไม่มีการเขตรกรรมที่ดีพอ จะทำให้เกิดการสะสมของเชื้อโรคในแปลง ซึ่งจะทำให้การระบาดของโรคอย่างรุนแรงได้เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม ดังนั้นจึงควรเปลี่ยนไปปลูกพืชอื่นบ้างเพื่อตัดวงจรโรค
9. การไถพลิกกลับดินตากแดดนาน ๆ ในช่วงที่ไม่ได้ปลูกพืช จะช่วยลดปริมาณเชื้อสาเหตุโรคในดินลงได้มาก

วิธีการควบคุมโรคพืชดังกล่าวโดยทั่วไปเกษตรกรจะนิยมใช้สารเคมีฉีดพ่นหรือคลุกเมล็ด เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สามารถควบคุมโรคได้ดีและให้ผลที่รวดเร็ว แต่การใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ทำให้เกิดปัญหาและผลกระทบต่าง ๆ ทำลายจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อพืชที่อาศัยอยู่ในดิน เกิดการปนเปื้อนและตกค้างของสารเคมีในผลผลิต โดยเฉพาะพริกสด พริกแห้ง ขอสพริก พริกเครื่องแกงที่ทำการส่งออก อันตรายจากสารพิษของสารเคมี มิได้จำกัดอยู่แต่ในหมู่เกษตรกรเท่านั้น แต่ยังกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคด้วย ขณะนี้หลายประเทศได้เริ่มกำหนดนโยบายหรือวางแผนลดการใช้สารเคมีควบคุมศัตรูพืช โดยไม่ต้องใช้สารเคมีหรือใช้ให้น้อยลงเข้ามาทดแทน การควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีวภาพหรือชีววิธี (biological control หรือ biocontrol) โดยอาศัยสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ รวมทั้งจุลินทรีย์เพื่อควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช นับเป็นวิธีการหนึ่งที่นักโรคพืชให้ความสนใจอย่างมาก (จิระเดช, 2546)

การควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี

ความหมายของการควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี (เกษม, 2532)

การควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี หมายถึง การควบคุมโรคโดยใช้จุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นช่วยลดจำนวนประชากรของเชื้อโรค ลดการเกิดโรคหรือลดความเสียหายของพืชที่เกิดจากเชื้อโรค ซึ่งอาจรวมถึงจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ พันธุกรรมหรือผลผลิตจากพันธุกรรมด้วย ยกเว้นการกระทำโดยตรงของมนุษย์ต่อเชื้อโรคเท่านั้น การควบคุมโรคพืชด้วยวิธีการค่อนข้างใหม่สำหรับประเทศไทย แต่ในปัจจุบันเกษตรกรจำนวนมากและนักวิชาการเกษตรสมัยใหม่เริ่มเห็นความสำคัญและนิยมนำมาใช้แทนสารเคมีกันมากขึ้น เนื่องจากผลของการใช้สารเคมีที่มีต่อสภาพแวดล้อมและสิ่งมีชีวิต

ในปัจจุบัน การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีนิยมกระทำกันอยู่ 2 ประเภทคือ

1. การใช้เชื้อที่มีอยู่หรือที่ผลิตขึ้นมาใหม่ทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยตรงในกรณีเชื้อที่มีอยู่แล้ว อาจเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติทั่วไปหรืออาจเป็นจุลินทรีย์ที่มนุษย์เลี้ยงขึ้นมาจากธรรมชาติ แล้วปล่อยให้ทำลายกันเอง โดยการช่วยปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม หรือเร่งการเจริญเติบโตของเชื้อปฏิปักษ์ด้วยวิธีการต่าง ๆ ก็ได้
2. การใช้เชื้อพันธุ์ที่อ่อนแอกว่าทำลายหรือต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคพืชพันธุ์ปกติ การใช้วิธีนี้คล้ายกับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคที่เกิดกับมนุษย์หรือสัตว์ทั่วไป เป็นการสร้างภูมิคุ้มกันหรือ cross protection

กลไกในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อ (เกษม, 2532)

เชื้อปฏิปักษ์ไม่ว่าจะเกิดเองในธรรมชาติหรือที่นักวิชาการนำมาเลี้ยงและขยายให้ผลิตเป็นการค้าได้มีวิธีการทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลายรูปแบบ แต่ละรูปแบบก็มีผลแตกต่างกันออกไป ดังนี้

1. การเป็นปรสิตโดยตรง หมายถึง การที่เชื้อปฏิปักษ์เข้าทำลายส่วนต่าง ๆ ภายในของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้โดยตรง
2. การเป็นตัวห้ำ เป็นวิธีการที่คล้ายกับการเป็นปรสิตแตกต่างกันที่วิธีการกินหรือการทำลาย กล่าวคือ ตัวห้ำเป็นการกินทั้งตัว เช่น ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus myceliophagus* กินเชื้อรา หรือเส้นใยของดอกเห็ด หรือไส้เดือนฝอย *Monochus* spp. และ *Mylonchulus* spp. กินไส้เดือนฝอยด้วยกันเองเป็นอาหารเป็นต้น
3. การแข่งขันกันเอง คือ การที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งเข้าไปยึดพื้นที่หรือเจริญเติบโตก่อนที่เชื้อสาเหตุโรคพืชจะสามารถเข้าทำลายพืชได้ เช่น การพ่นสปอร์ของเชื้อรา *Phlebia gigantea* ลงบนดอกที่ตัดใหม่ของต้นสนสามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *Heterobasidium amnosum* ที่ทำให้เกิดโรครากเน่าลงได้มากเนื่องจากเชื้อรา *P. gigantea* สามารถยึดครองผิวหน้าของดอกไม้สนและป้องกันมิให้เชื้อรา *H. amnosum* เข้าทำลายและลุกลามต่อไปยังระบบรากจนทำให้รากเน่าได้
4. การสร้างสารปฏิชีวนะ จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสร้างสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราในดินหลายชนิด และเชื้อแอคติโนไมซีตส์
5. การสร้างภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติ หมายถึง การใช้สายพันธุ์ของเชื้อโรคที่อ่อนแอหรือจุลินทรีย์คนละกลุ่มกันและไม่เกี่ยวข้องกันเลยพ่นไปยังต้นพืช เพื่อป้องกันการทำลายของเชื้อสายพันธุ์ที่รุนแรงกว่า

วิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (นิพนธ์, 2538)

การนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปใช้ในการควบคุมโรคพืช นิยมนำไปใช้กับโรคพืชที่เกิดบริเวณผิวนราก (rhizoplane) หรือบริเวณผิวพืชที่อยู่เหนือดิน (phylloplane) ซึ่งการใช้เชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคจะมีกรรมวิธีการใช้แตกต่างกัน

1. บริเวณผิวนราก จะมีกรรมวิธีการใช้เชื้อปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคได้หลายแบบแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความสะดวกในการปฏิบัติของผู้ใช้และแต่ละวิธีอาจให้ประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ไม่เท่ากัน ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น คุณสมบัติของพืชเองและลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่มีหลายรูปแบบ

1.1 การคลุกเมล็ด นิยมใช้กับพืชที่ใช้เมล็ดในการเพาะปลูก โดยเมล็ดจะต้องมีขนาดไม่ใหญ่มากนัก ช่วยให้คลุกง่ายและไม่ดินเปลือกผงเชื้อ มักนิยมคลุกเมล็ดก่อนปลูก

1.2 การราดดิน เป็นวิธีที่นิยมปฏิบัติกันมาก แต่จะไม่ค่อยสะดวก หากจะนำไปใช้ในสภาพไร่ของเกษตรกรที่น้ำไม่เพียงพอและถ้าปลูกพืชปริมาณมากก็จะยังไม่สะดวกในการปฏิบัติ

1.3 การคลุกดิน เป็นวิธีการนำเอาผงเชื้อหรือสารละลายของเชื้อปฏิปักษ์ใส่ไปในดิน และคลุกเคล้าผสมกันให้ทั่วก่อนปลูกพืช ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ค่อนข้างสะดวก

1.4 การจุ่มราก เป็นวิธีที่นิยมใช้กันกับพืชที่ต้องเพาะเมล็ดแล้วย้ายกล้าไปปลูก เช่น มะเขือเทศ พริก หรือพืชที่มีเมล็ดพันธุ์ราคาแพง โดยจะต้องทำให้ดินบริเวณรากหลุดออกให้หมด ก่อนนำไปจุ่มในสารละลายเชื้อที่เข้มข้น 10^8 cfu/มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปปลูกในแปลงต่อไป วิธีนี้จะทำให้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคได้ดี เพราะรากจะสัมผัสกับเชื้อได้หมดทุกส่วน ไม่ก่อให้เกิดช่องว่างให้เชื้อโรคเข้าทำลาย

2. บริเวณผิวพืชอยู่เหนือดิน มีวิธีที่นิยมใช้ 2 วิธีคือ

2.1 การทา เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชขึ้นต้นที่ถูกทำลาย มีแผลปรากฏให้เห็นชัดเจนบนส่วนของต้นหรือกิ่ง บริเวณที่สามารถนำเอาเชื้อปฏิปักษ์ที่เตรียมให้มีความเข้มข้นและเหนียวไปทาเพื่อให้ยึดติดกับผิวพืชได้คงทน

2.2 การพ่น เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชที่ปลูกเป็นปริมาณมากหรือมีลำต้นสูง ซึ่งใช้หลักการปฏิบัติเช่นเดียวกับการพ่นสารเคมีกำจัดโรคพืช

ตัวอย่างการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี เช่น การใช้อินทรีย์วัตถุป้องกันโรคแผลสะเก็ดของมันฝรั่ง (เชื้อ *Streptomyces scabies*) โดยการใส่ปุ๋ยหมัก หรือปุ๋ยพืชสดลงไปในดินทำให้มีกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินมากขึ้น ซึ่งมีผลต่อเชื้อ *Streptomyces* และกระตุ้นให้มีการสร้างสารปฏิชีวนะในดินได้ดี หรือการใช้ peat ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จาก sphagnum ซึ่งมีลักษณะคล้าย moss เมื่อใส่ลงในดินจะมี

จุลินทรีย์ต่าง ๆ โดยเฉพาะเชื้อรา *Trichoderma* และเชื้อ *Streptomyces* ขึ้นปกคลุม peat ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุของโรคพืช เช่น เชื้อรา *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp. และ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* การใช้เชื้อ *Streptomyces* sp. ที่แยกได้จากดินบริเวณรากมะเขือเทศในโรงเพาะชำ พบว่าสามารถลดความรุนแรงของโรคเน่าคอดินของมะเขือเทศ ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *R. solani* ทั้งการทดสอบกับเมล็ดและต้นกล้าได้ (วีระศักดิ์, 2544) และการใช้เชื้อรา *T. harzianum* คลุกลงในดินปลูกถั่วเหลืองฝักสดที่มีเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* เจริญอยู่ พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถลดความเสียหายของโรค หลังพืชปลูกได้มากที่สุดถึง 62 เปอร์เซ็นต์ และทำให้ความสูงตลอดจนน้ำหนักของถั่วเหลืองฝักสดเพิ่มขึ้น (มณฑา และคณะ, 2541) เป็นต้น

เชื้อแอคติโนไมซีตส์ (Actinomycetes) (Kalakoutsii and Agre, 1976)

เชื้อแอคติโนไมซีตส์ เป็นเชื้อแบคทีเรียที่จัดอยู่ใน

Kingdom Bacteria

Division Actinobacteria

Class Actinomycetes

Order Actinomycetales

ซึ่งประกอบด้วย 8 วงศ์ ได้แก่ *Actinomycetaceae*, *Mycobacteriaceae*, *Frankiaceae*, *Actinoplanaceae*, *Dermatophilaceae*, *Nocardiaceae*, *Streptomycetaceae* และ *Micromonosporaceae*

ลักษณะโดยทั่วไปของเชื้อแอคติโนไมซีตส์

เชื้อแอคติโนไมซีตส์เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะคล้ายเชื้อรา ส่วนมากอาศัยอยู่ในดิน มีการดำรงชีวิตอยู่ภายในดินพืชในลักษณะเป็นแอนโดไฟท์ หรือ saprophyte อยู่บริเวณรอบรากพืช (Coombs and Franco, 2003) เมื่อเจริญบนอาหารสังเคราะห์ชนิดแข็ง จะมีการสร้างเส้นใยที่เรียกว่า substrate mycelium และ aerial mycelium โดย substrate mycelium จะเจริญขึ้นมาภายหลังและขึ้นไปในอากาศเพื่อทำหน้าที่หลักคือสืบพันธุ์ aerial mycelium จะสร้างขึ้นในสภาวะพิเศษ เช่น ขาดน้ำ ขาดอาหาร หรือมีการสะสมของ inhibition compound เป็นต้น ดังนั้น aerial mycelium จึงต้องมี hydrophobic sheath เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ substrate mycelium มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.2-0.8 ไมโครเมตร สีของเส้นใยประกอบด้วยสีต่าง ๆ เช่น สีขาว สีเหลืองอ่อน สีแดง สีส้ม สีเขียว หรือสีดำ เป็นต้น สามารถสร้างรงควัตถุได้ทั้งชนิดที่ละลายและไม่ละลายน้ำ ส่วน aerial mycelium มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.0-1.4 ไมโครเมตร สามารถสร้าง



รงควัตถุได้หลายสี เช่น สีขาว สีเทา สีเหลือง สีส้ม สีแดง สีม่วง สีฟ้า และสีเขียว เป็นต้น (Mendez *et al.*, 1985) เชื้อแอกติโนไมซีสต์สร้างผนังกันเส้นใยแบบต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ การแตกแขนงของเส้นใย ส่วนใหญ่เป็นแบบ monopodial ซึ่งพบในสกุล *Streptomyces* การแตกแขนงแบบ dichotomous พบในสกุล *Actinobifida* และการแตกแขนงแบบ verticillate พบในสกุล *Streptoverticillium* (Kalakoutsii and Agre, 1976) ผนังเซลล์ประกอบด้วย peptidoglycan (*N*-acetyl glucosamine เชื่อมกับ *N*-acetyl muramic acid, *L*-2, 6 diaminopimelic acid, glutamic acid, glycine และ alanine) เชื้อแอกติโนไมซีสต์สืบพันธุ์โดยวิธีการ fission สร้างสปอร์พิเศษหรือโคนิเดียที่ไม่เคลื่อนที่ แต่มีบางสกุลสร้างสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้ (Waksman, 1967)

เชื้อแอกติโนไมซีสต์เป็นจุลินทรีย์มีความสำคัญด้านการแพทย์ และเภสัชกรรม เนื่องจากผลิตสาร metabolite หลายประเภท เช่น สารปฏิชีวนะ เป็นต้น สามารถผลิตสารเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิด (Boudjella *et al.*, 2006) ความสำคัญด้านเกษตรกรรม ได้มีการศึกษาและพัฒนาในการนำเชื้อแอกติโนไมซีสต์มาใช้ประโยชน์ ในด้านการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี โดยมีรายงานว่าเชื้อจุลินทรีย์เอนโดไฟต์สามารถเข้าไปอาศัยอยู่รวมภายในต้นพืชโดยผลิตเอนไซม์ สารปฏิชีวนะ สร้างสาร metabolite ต่าง ๆ เพื่อกระตุ้นให้ต้นพืชมีความแข็งแรง ต้านทานต่อโรคและแมลงได้ดีขึ้น อีกทั้งเชื้อแอกติโนไมซีสต์ที่อาศัยอยู่ในดินยังมีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลาย ลิกนิน ไคติน สารอินทรีย์ ช่วยดินให้มีความอุดมสมบูรณ์ (Xiao *et al.*, 1996)

ลักษณะของเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ที่คล้ายคลึงกับ Imperfect fungi (Kalakoutsii and Agre, 1976)

1. เส้นใยของเชื้อแอกติโนไมซีสต์ชั้นสูงจะแตกสาขากลายเส้นใยของเชื้อรา
2. เชื้อแอกติโนไมซีสต์หลายกลุ่มจะสร้าง aerial mycelium ซึ่งตรงปลายจะมีโคนิเดียคล้ายกับเส้นใย และสปอร์ของเชื้อรา
3. การเจริญของเชื้อแอกติโนไมซีสต์ในอาหารเหลวไม่ค่อยจะปรากฏว่าทำให้เกิดสีขุ่น (turbidity) อันเนื่องมาจากการแขวนลอยของเซลล์ที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวเช่นแบคทีเรีย แต่เชื้อแอกติโนไมซีสต์จะเจริญแบบกลุ่มก้อน
4. การเพิ่มจำนวนของเชื้อแอกติโนไมซีสต์จะคล้ายกับเชื้อรา (apically) ส่วนการเพิ่มจำนวนของพวกแบคทีเรียจะเป็นแบบทวีคูณ (exponential)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
 ห้องสมุดงานวิจัย
 วันที่..... ๒๕๖๑ S.A. 2554.....
 เลขทะเบียน..... 242749.....
 เลขเรียกหนังสือ.....

ลักษณะของเชื้อแอคติโนไมซีสต์ ที่คล้ายคลึงกับแบคทีเรีย (Kalakoutskii and Agre, 1976)

1. มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกัน คือจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 – 1.2 ไมโครเมตร
2. ส่วนที่ขาดออกเป็นท่อน ๆ จะมีลักษณะคล้ายกับแบคทีเรียในกลุ่ม *Mycobacterium* และ *Corynebacterium* ไม่ว่าจะเป็นรูปร่าง การติดสีข้อมและลักษณะทางสรีระวิทยา
3. ถูกทำลายได้โดย bacteriophage และสารปฏิชีวนะประเภทเดียวกับที่ทำลายแบคทีเรีย
4. เป็นเซลล์โปรคาริโอต (prokaryotic cell) ที่ยังไม่มีการพัฒนาของส่วนเยื่อหุ้มนิวเคลียส
5. ผนังเซลล์ไม่มีโคตินหรือเซลลูโลส แต่เป็นสารประกอบเชิงซ้อน (polymer) ของน้ำตาล กรดอะมิโน ซึ่งคล้ายกับผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria)

ลักษณะพื้นฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนไมซีสต์ (Williams *et al.*, 1989)

1. เส้นใย (mycelium)

แบ่งออกเป็นเส้นใยแบบคงสภาพและเส้นใยที่สามารถแตกหักย่อยสลายได้ ถ้ามีเส้นใยที่มีการแตกหักและมีอวัยวะที่ใช้ในการเคลื่อนที่จัดเป็นสกุล *Oerskovia* spp. หรือมีการสร้างทั้ง substrate mycelium และ aerial mycelium ซึ่งพบได้ทั่วไปหรือเส้นใยอาจมีการสร้างเส้นใยเพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง ในบางสกุลอาจมีการสร้าง vesicle ภายในเส้นใยซึ่งไม่ใช่สปอร์บนเส้นใย

2. โคนิเดีย (conidia)

หมายถึง สปอร์ที่เกิดจากการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยสามารถแบ่งออกเป็น

- 2.1 การสร้างโคนิเดียเดี่ยว พบในหลายสกุล เช่น *Thermoactinomyces* สร้างเอนโดสปอร์ ที่ทนต่ออุณหภูมิสูง พบในสกุล *Saccharorionospora*
- 2.2 การสร้างโคนิเดียต่อกันเป็นคู่ พบในสกุล *Microbispora* สร้างเฉพาะบน aerial mycelium เท่านั้น ใน *Faenia* spp. อาจมีการสร้าง โคนิเดีย ทั้งบน aerial และ substrate mycelium
- 2.3 สร้างโคนิเดียเป็นสายสั้น ๆ ต่อกันเป็นสายไม่เกิน 20 สปอร์ต่อสาย พบในสกุล *Nocardia*, *Pseudonocardia*, *Faenia*, *Saccharorionospora*, *Streptoverticillium*, *Sporichthya*, *Actinomadura*, *Microtetraspora*, *Streptoalloteichus* และ *Glycomyces*
- 2.4 สร้างโคนิเดียเป็นสายยาว พบในสกุล *Nocardia*, *Nocardioideae*, *Pseudonocardia*, *Saccharopolyspora*, *Actinopolyspora*, *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Actinosynnema*, *Nocardiosis*, *Streptoalloteichus*, *Kibdelosporangium*, *Kitasatospora*, *Glycomyces*, *Saccharothrix* และ *Amycolatopsis*

3. สปอร์ (spore) ลักษณะการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคติโนไมซีสต์สามารถแบ่งออกเป็น 4 แบบ คือ

- 3.1 Endogenous spore formation เป็นสปอร์ที่มีคุณสมบัติทนความร้อนได้ดี อยู่ภายใน cytoplasm ของเส้นใยเดิม (parent hyphae) พบในพวก thermophilic actinomycetes เช่น สกุล *Actinobifida* และ *Thermoactinomyces* เป็นต้น
- 3.2 Exogenous sporeformation เชื้อแอคติโนไมซีสต์ส่วนใหญ่สร้างสปอร์แบบ exogenous โดยเฉพาะ *Streptomyces* spp.
- 3.3 สปอร์แรงเจียม (sporangium) ภายในบรรจุสปอร์ที่เกิดจากการพัฒนาของผนังเซลล์ใน aerial mycelia พบในสกุล *Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Dactylosporangium*, *Pilimelia*, *Planobispora*, *Planomonospora*, *Spirillospora* และ *Streptosporangium*
- 3.4 โครงสร้างอื่นๆ ที่เชื้อแอคติโนไมซีสต์สร้างขึ้น ในบางสกุลอาจสร้าง synnemata และ สร้างสปอร์อยู่ภายในพบในสกุล *Actinosynnema* การสร้างโครงสร้างที่เรียกว่า multilocular sporangia ซึ่งมีสายของสปอร์ขดเป็นวงม้วนอยู่ภายใน พบใน *Kibdelosporangium* ส่วน *Streptomyces* มีการสร้างโครงสร้างที่เรียกว่า sclerotium คล้ายกับเชื้อรา

การจัดเรียงตัวของสายสปอร์มี 3 แบบ คือ แบบตรงหรือโค้งงอ (rectiflexible) แบบเป็นตะขอ เป็นห่วง (loop) หรือเกลียว 1-2 รอบ (retinaculiaperti) และแบบเกลียว (spirale) ลักษณะผิวสปอร์ (ornamentation) มี 5 แบบ เมื่อส่องดูได้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscopy, SEM) คือ ผิวเรียบ (smooth) ผิวเป็นหนาม (spiny) ผิวเป็นขน (hairy) ผิวเป็นปุ่มปม (warty) และผิวขรุขระ (rugose) (Tresner *et al.*, 1961)

การจำแนกชนิดของเชื้อแอคติโนไมซีสต์

เชื้อแอคติโนไมซีสต์แบ่งออกเป็น 8 group ตาม Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) ซึ่งได้แก่ group 22 - group 29 ส่วนใน group 1 - group 21 นั้นเป็นกลุ่มของแบคทีเรีย โดยลักษณะที่สำคัญของเชื้อแอคติโนไมซีสต์ มีดังนี้

Group 22 Nocardioform Actinomycetes

เชื้อแอคติโนไมซีตในสกุลนี้สร้างเส้นใยสายสั้น ๆ บางสกุลสร้างสปอร์เป็นลูกโซ่ แยกความแตกต่างของแต่ละสกุล โดยใช้องค์ประกอบของผนังเซลล์ คือ สาร mycolic acid ที่พบภายในเซลล์และลักษณะทางเคมีอื่น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบ แบ่งได้เป็น 4 subgroup ดังนี้

Subgroup 1 Mycolic-containing bacteria

Subgroup 2 *Pseudonocardia* และ relate genera

Subgroup 3 *Nocardioides* และ related genera

Subgroup 4 *Promicromonospora* และ related genera

Group 23 Genera with multilocular sporangia

เชื้อแอคติโนไมซีตในสกุลนี้สร้างเส้นใยที่มีผนังกันตามขวาง สปอร์ที่มีลักษณะทรงกลม อาจเคลื่อนที่ได้เช่น *Dermatophilus* และ *Geodermatophilus* หรือไม่เคลื่อนที่ เช่น *Frankia* sp.

Group 24 Actinomycetes

เชื้อแอคติโนไมซีตในสกุลนี้สร้างเส้นใยที่คงทน (stable filament) อาจมี aerial mycelium น้อยถึงไม่มีเลย สามารถสร้างสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้ (motile spore) อยู่ภายใน sporangium เช่น ในสกุล *Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Pilimelia* และ *Dactylosporaangium* เป็นต้น หรืออาจสร้างสปอร์เดี่ยว ๆ ไม่เคลื่อนที่ เช่น สกุล *Catrillaspora* เป็นต้น ผนังเซลล์ของเชื้อแอคติโนไมซีตกลุ่มนี้ประกอบด้วยสาร diaminopomilic acid แบบ meso-DAP และ glycine เมื่อวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาล พบว่าเป็นน้ำตาลพวก arabinose และ xylose

Group 25 Streptomyces and relate genera

เชื้อแอคติโนไมซีตในสกุลนี้มีผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยสาร aminopomilic acid แบบ L-DAP และ glycine aerial mycelium สามารถสร้างสปอร์ท่อกันเป็นสายโซ่ เช่น สกุล *Streptomyces* และ *Streptoverticillium* เป็นต้น ส่วนสกุลอื่นๆ เช่น *Intrasporangium*, *Kineosporia* และ *Sporichthya* เป็นต้น สร้าง aerial mycelium น้อยหรือไม่สร้างเลยและสปอร์มีหลายรูปแบบ

Group 26 Madolomycetes

เชื้อแอคติโนไมซีตในสกุลนี้สร้างเส้นใยที่คงทนและสร้างสปอร์แบบไม่เคลื่อนที่ เช่น สกุล *Microbispora*, *Microtetrastora* และ *Actinomadura* เป็นต้น ส่วนสกุลอื่นๆ จะสร้างสปอร์ใน sporangium พบในเชื้อแอคติโนไมซีตสกุล *Streptosporangium* ผนังเซลล์ของเชื้อแอคติโนไมซีต กลุ่มนี้ ประกอบด้วยสาร meso-DAP และแบ่งเป็น 2 subgroup คือ

Subgroup 1 *Streptosporangium* and related genera

Subgroup 2 *Actinomadura*

Group 27 Thermomonospora and related genera

เชื้อแอกติโนไมซีสต์ในสกุลนี้มี aerial mycelium เป็นเส้นใยแบบคงทนและสร้างสปอร์เป็นคู่ซึ่งอยู่เดี่ยว ๆ สามารถทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดี เช่น เชื้อแอกติโนไมซีสต์ในกลุ่ม *Thermomonospora* ส่วนที่สร้างสปอร์เป็นสายโซ่ พบในสกุล *Actinocinnema* และ *Nocardiopsis* ในบางกลุ่มสร้างโครงสร้างที่คล้าย sporangium พบในสกุล *Streptoallochus* ผนังเซลล์ของเชื้อแอกติโนไมซีสต์ กลุ่มนี้ประกอบด้วย meso-DAP ไม่พบ amino acid และน้ำตาล

Group 28 Thermoactinomyces

เชื้อแอกติโนไมซีสต์ในสกุลนี้สร้างเส้นใยที่คงทนและสร้างสปอร์แบบเดี่ยว ๆ บน aerial mycelium และ substrate filament เชื้อแอกติโนไมซีสต์ในกลุ่มนี้พบเพียงสกุลเดียวคือ *Thermoactinomyces* และทุกสายพันธุ์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง (thermophilic) ผนังเซลล์ประกอบด้วยสาร aminopormilic acid แบบ meso-DAP แต่ไม่พบสาร amino acid หรือน้ำตาลชนิดอื่น ๆ

Group 29 other genera

เชื้อแอกติโนไมซีสต์ในกลุ่มนี้มี 3 สกุล คือ *Glycomyces*, *Kitasatosporia* และ *Saccharotrix* ซึ่งมีลักษณะไม่เหมือนเชื้อแอกติโนไมซีสต์ในกลุ่มอื่น ๆ คือสามารถสร้าง aerial mycelium ที่มีสปอร์เป็นสายโซ่และไม่พบสาร mycolic acid ในเซลล์

การจัดจำแนกเชื้อแอกติโนไมซีสต์ โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยอาศัยลักษณะของเส้นใย สีของโคโลนี รังควัตถุที่สร้างและการเรียงตัวของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์นั้น อาจจัดจำแนกเชื้อได้ยากเพราะเชื้อบางไอโซเลทมีลักษณะใกล้เคียงกันมากและบางไอโซเลทมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่ชัดเจน ทำให้จัดจำแนกกลุ่มได้ยาก ซึ่งการจัดจำแนกในระดับสายพันธุ์พบว่า ต้องอาศัยการตรวจสอบในหลาย ๆ ด้าน ได้แก่ ลักษณะกรดอะมิโนภายในผนังเซลล์ ลักษณะของน้ำตาลใน whole cell hydrolysate และการตรวจสอบในระดับโมเลกุล เป็นต้น นำมาประกอบในการจัดจำแนกชนิด สายพันธุ์ ศึกษาความหลากหลายทางพันธุศาสตร์และความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ของเชื้อแอกติโนไมซีสต์ (Holt *et al.*, 1994)

การจัดจำแนกเชื้อแอกติโนไมซีสต์โดยใช้ลักษณะทางอณูวิทยา

ในช่วง 10-20 ปี ที่ผ่านมา การวิเคราะห์ในระดับอณูวิทยา (molecular biology) ได้เข้ามามีบทบาทอย่างมากเนื่องจากดีเอ็นเอซึ่งให้ Genetic blueprint อย่างหนึ่งสำหรับสิ่งมีชีวิตชนิดใดก็ตามสามารถสกัดออกมาได้โดยตรงจากตัวอย่างที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อมทุกประเภท เช่น น้ำ ดิน อากาศ และในพืช เป็นต้น การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียทางอณูวิทยา (molecular

characterization) โดยทั่วไปแล้วการจัดจำแนกแบคทีเรียจะใช้ลำดับเบสของยีน 16S rDNA ซึ่งคือช่วงสายของดีเอ็นเอในส่วนที่ช่วยในการสร้างไรโบโซม หรือ 16S rRNA ที่มีความยาวประมาณ 1500 เบส 16S rRNA gene เป็นช่วงสายดีเอ็นเอที่มีรหัสสำหรับสร้างไรโบโซม ซึ่งไรโบโซมเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีอยู่ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด 16S rRNA gene ได้ถูกเลือกนำมาใช้ร่วมกับเทคนิคต่างๆ ทางอณูวิทยา เช่น AFLP, PCR-PFLP, DGGE เป็นต้น เนื่องจากมีข้อดีหลายประการ คือ เป็นยีนที่มีอยู่ในแบคทีเรียทุกชนิดเปรียบเสมือนยีนลายเซ็น (signature gene) ซึ่งมีความแตกต่างกันในแบคทีเรียแต่ละชนิดและมีบางช่วงสายของดีเอ็นเอของ 16S rRNA gene ที่เหมือนกันในแบคทีเรียทุกชนิด ในส่วนที่เหมือนกันนี้สามารถนำมาใช้เพื่อออกแบบไพรเมอร์ เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอซึ่งโดยทั่วไปมีปริมาณน้อยในธรรมชาติ ช่วงที่เหมือนกันและช่วงที่แตกต่างกันของลำดับเบสในสายดีเอ็นเอนั้นสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรีย (Hopwood *et al.*, 1999)

Williams *et al.* (1989) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อแอคติโนไมซีสต์โดยอาศัยความคล้ายคลึงกันของยีน 16S rDNA สามารถจัดกลุ่มแอคติโนไมซีสต์ได้ 6 กลุ่ม ซึ่งประกอบด้วย Nocadioform, Multilocular sporangium, Actinoplanete, Streptomycete, Maduromycete และ Thermomonospora

Hopwood *et al.* (1985) ใช้เทคนิค PCR-RFLP โดยใช้ยีนตำแหน่ง 16S rDNA ในการจัดจำแนกเชื้อแอคติโนไมซีสต์ ใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ 13 ชนิด พบว่ามีเอนไซม์เพียง 4 ชนิดเท่านั้นที่ให้ความแตกต่างกันในการจัดจำแนกเชื้อ คือ *EcoRV*, *KpnI*, *PstI* และ *Sau3AI* แต่ไม่สามารถแยกสกุลที่เป็น *Streptomyces* ออกจากสกุลที่ไม่ใช่ *Streptomyces* ได้

Andrew and Meyers (2003) ทำการจัดจำแนกเชื้อแอคติโนไมซีสต์ที่แยกได้จากดิน โดยใช้เทคนิค PCR-RFLP ที่ยีนตำแหน่ง 16S rDNA พบว่ามีเอนไซม์ 4 ชนิด คือ *Sau3AI*, *AsnI*, *KpnI* และ *PstI* ที่สามารถแยกสกุลที่เป็น *Streptomyces* ออกจากสกุลที่ไม่ใช่ *Streptomyces* ได้

เนื่องจากสภาพแวดล้อมและชนิดของพืชมีผลต่อชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ จึงได้มีการนำเทคนิคทางชีวโมเลกุลมาใช้ในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อและศึกษาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อที่มาจากแหล่งและชนิดพืชที่แตกต่างกันเพิ่มขึ้น

Stamford *et al.* (2001) แยกเชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนไมซีสต์จาก yam bean ที่ปลูกในสภาพพื้นที่ที่แตกต่างกัน เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ องค์ประกอบของผนังเซลล์ และและศึกษาทางอณูวิทยาโดยใช้เทคนิค PCR-RFLP ใช้ลำดับเบสของ 16s rDNA ในการจัดจำแนกเชื้อ พบว่าสามารถจัดจำแนกเชื้อทั้งหมดได้เป็น 2 สกุล คือ *Streptomyces* sp. และ *Nocardiopsis* sp.

Hideyuki *et al.* (2003) ทำการศึกษาเปรียบเทียบ สปีชีส์และสกุลของเชื้อแอคติโนไมซีสต์ ที่แยกได้จากดินจากประเทศมาเลเซีย 790 ไอโซเลทและประเทศญี่ปุ่น 981 ไอโซเลท โดยการศึกษาความใกล้เคียงของความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อแอคติโนไมซีสต์ที่พบในทั้ง 2 ประเทศ โดยใช้เทคนิค Nested PCR พบว่าเป็น สปีชีส์และสกุลเดียวกัน 14 เพอร์เซ็นต์ และ 50 เพอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Coombs and Franco (2003) แยกและจำแนกเชื้อแอคติโนไมซีสต์ จากผิวยางของข้าวสาลี สายพันธุ์ต่าง ๆ โดยใช้ 16S rDNA sequence พบว่าเชื้อที่ได้เป็นกลุ่มเชื้อแอคติโนไมซีสต์ ที่เป็นสกุล *Streptomyces*, *Microbispora* และ *Nocardioides* spp. และบางไอโซเลท มีความคล้ายกับเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่แยกได้จากมันฝรั่งที่เป็นโรค scab

Pilunthana (2003) แยกเชื้อแอคติโนไมซีสต์จากใบ ลำต้นและรากของมะเขือเทศ แดงขาว ถั่วลิสงและ *Vicia sativa* L. ได้เชื้อจำนวน 20 ไอโซเลท เมื่อศึกษาความใกล้เคียงของความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อโดยใช้เทคนิค PCR-RFLP พบว่าเชื้อทั้งหมดจัดอยู่ในสกุลเดียวกัน คือ *Streptomyces* และเชื้อไอโซเลท P-4 ที่แยกได้จากรากถั่วลิสงสามารถลดการเกิดโรครากเน่าของต้นถั่วลิสงได้ดีที่สุด

เชื้อแอคติโนไมซีสต์ในสภาพแวดล้อม

เชื้อแอคติโนไมซีสต์สามารถพบได้ทั่วไปทั้งในดิน น้ำ ในส่วนต่าง ๆ ของต้นพืช เชื้อแอคติโนไมซีสต์ที่พบมากที่สุด คือสกุล *Streptomyces* ประมาณ 70-90 เพอร์เซ็นต์ รองลงมา คือสกุล *Nocardia* ประมาณ 10-30 เพอร์เซ็นต์ และสกุล *Micromonospora* ประมาณ 1-15 เพอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Alexander, 1977)

เชื้อแอคติโนไมซีสต์ ส่วนใหญ่ที่พบเป็นกลุ่มพวก mesophile สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส แต่บางชนิดเป็นกลุ่มพวก thermophile สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง 45-60 องศาเซลเซียส (Kleeberg *et al.*, 1998)

ศุภมาส (2529) รายงานว่าเชื้อแอคติโนไมซีสต์กลุ่ม saprophyte มีบทบาทต่อระบบนิเวศของดินคือ เป็นตัวการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุโดยเฉพาะสารอินทรีย์ ที่ย่อยสลายได้ยาก เช่น เซลลูโลส เช่นเดียวกับเชื้อรา แต่จะเจริญหลังจากที่เชื้อราและแบคทีเรียได้เจริญเต็มที่และลดจำนวนลงแล้ว ในแง่ของการเกษตรเชื้อแอคติโนไมซีสต์ ก็มีส่วนช่วยให้เกิดโครงสร้างดินที่เสถียร โดยการสร้างสารที่เป็นยางไม่ละลายน้ำออกมาผสมกับดิน ตั้งแต่ช่วงปลายทศวรรษ 1970 เป็นต้นมาพบว่า เชื้อแอคติโนไมซีสต์กลุ่มเอนโดไฟท์ ที่อาศัยอยู่ในต้นพืชบางชนิดสามารถตรึงแก๊สไนโตรเจนได้โดยการอยู่ร่วมกับรากพืชหลายชนิด พืชที่พบแล้วว่ามีความสัมพันธ์กับเชื้อ

แอกติโนไมซีสต์มีหลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นไม้ผลเขตอบอุ่นประเภทผลไม้เนื้ออ่อน (berry) นอกจากนี้เชื้อแอกติโนไมซีสต์บางชนิดยังสามารถตรึงไนโตรเจนได้เมื่ออยู่ร่วมกับรากข้าวในนา น้ำขัง ชนิดของเชื้อแอกติโนไมซีสต์ที่อยู่ร่วมกับรากพืชชั้นสูงแล้วตรึงไนโตรเจนได้นั้นไม่เฉพาะเจาะจงเหมือนกับแบคทีเรียไรโซเบียมในรากของพืชตระกูลถั่วเท่านั้น ปัจจุบันพบว่าเชื้อแอกติโนไมซีสต์อยู่ร่วมกับพืชต่าง ๆ อย่างน้อย 7 ตระกูล

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ (Endophytic Actinomycetes)

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ อาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชซึ่งอาจอยู่ในส่วนของราก ลำต้น กิ่ง หรือใบ โดยไม่ทำให้พืชแสดงอาการของโรค ในต้นพืชที่มีความแข็งแรงอาจจะมี ความสัมพันธ์แบบ symbiotic จากการศึกษาของ Lechevalier (1989) พบว่า เชื้อแอกติโนไมซีสต์ สกุล *Frankia* สามารถสร้าง vegetative hyphae เจริญอยู่บริเวณส่วนขนราก อีกทั้งเส้นใยยังเข้าไป เจริญอยู่ในเซลล์ epidermis และเจริญอยู่ระหว่างเซลล์ของชั้น cortex ของราก สร้างอาหารโดย วิธีการตรึงไนโตรเจน (nitrogen-fixing) เมื่อเนื้อเยื่อพืชผุพังถูกย่อยสลาย เชื้อ *Frankia* จะกลับไป อาศัยเจริญอยู่ในดินในลักษณะเป็น saprophyte และจากการศึกษาของ Bacon *et al.* (1999) พบว่า เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่อาศัยอยู่ในพืชช่วยลดความดึงดูดต่อแมลง (herbivores) กระตุ้นให้เกิดความต้านทาน ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและสามารถการควบคุม โรคและแมลง ศัตรูพืช (biological control agent)

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์เป็นเชื้อที่มีการเจริญช้ากว่าเชื้อราและแบคทีเรียจึงทำให้เกิดการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นได้ง่าย ดังนั้นในการแยกเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์จากพืช จึงต้องมีการแยกบนอาหารที่จำเพาะผสมร่วมกับสารปฏิชีวนะ เพื่อยับยั้งการปนเปื้อนกับเชื้อชนิดอื่น โดย Spurr and Welty (1975) พบว่าการเพิ่มขั้นตอนการแช่แอลกอฮอล์เข้าไปในขั้นตอนการฆ่า เชื้อที่ผิวจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ผิวพืช ทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ผิวดีขึ้น นอกจากนี้ Petrini (1984) รายงานว่า การฆ่าเชื้อที่ผิวต้องปรับให้เหมาะสมกับ เนื้อเยื่อของพืชและระยะเวลาในการฆ่าเชื้อที่ผิวจะขึ้นอยู่กับความหนาของพืชด้วย

การใช้เชื้อแอกติโนไมซีสต์ในการควบคุมโรคพืชทางการเกษตร

Shimizu *et al.* (2000) ทำการแยกเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์จากราก ต้น และใบ ของต้น rhododendron บนอาหาร Inhibitory Mold Agar 2 (IMA-2) ที่ผสม antibiotic mixture ได้แก่ amphotericin B, riphampin – viccillin solution และ heritage หลังจากบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 – 4 สัปดาห์ พบเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 10

ไอโซเลท จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคของ rhododendron จากการทดลองพบว่าเชื้อไอโซเลท R-5 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญ *Phytophthora cinnamomi* และ *Pestalotiopsis sydowiana* ได้ดีที่สุดโดยสามารถสร้าง clear zone ซึ่งชี้ให้เห็นว่าผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ ไอโซเลท R-5 จึงถูกนำไปจำแนกชนิดของเชื้อ โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีระวิทยาและ chemotaxonomy พบว่าเป็นเชื้อ แอคติโนไมซีตในสกุล *Streptomyces*

Abd-Allah (2001) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces plicatus* ในการควบคุม เชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช เชื้อชนิดนี้สามารถผลิตเอนไซม์ chitinase และสามารถยับยั้งการงอกตัวของสปอร์ การงอกตัวของ germ tube และการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Alternaria alternata* และ *Verticillium albo-atrum* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของ มะเขือเทศ

Getha and Vikineswary (2002) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces violaceusniger* ไอโซเลท G 10 ในการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 สาเหตุของโรคเหี่ยวของ ถั่วฝักยาว จากการทดลองในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยวิธี dual culture พบการสร้าง clear zone เกิดขึ้น เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าเส้นใยของเชื้อราถูกย่อยสลาย และเมื่อเลี้ยงเชื้อ *S. violaceusniger* ไอโซเลท G 10 ในอาหารเหลวร่วมกับเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 พบว่าเชื้อรา *S. violaceusniger* ไอโซเลท G 10 ผลิตสารปฏิชีวนะการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของ เชื้อราและทำให้เส้นใยของเชื้อรามีลักษณะผิดปกติ

Nishimura et al. (2002) แยกเชื้อเอนโดไฟต์จากแอคติโนไมซีต จากใบ ต้น และราก ของพืช mountain laurel (*Kalmia latifolia* L.) ได้จำนวน 73 ไอโซเลท และคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด ซึ่งได้แก่ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท AOK-30 เป็นเชื้อที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชในตระกูล Ericaceae ได้ หลายชนิด สามารถเจริญได้ดีบนอาหารกระตุ้นการเกิดรากที่เลี้ยงร่วมกับเนื้อเยื่อพืช mountain laurel และเมื่อทดสอบในกับต้นกล้า พบว่าพืชที่มีเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท AOK-30 สามารถต้านทานต่อโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Pestalotia* sp. ได้โดยไม่ทำให้เกิดอาการผิดปกติ แคระแกรน ใบด่าง และใบร่วงกับต้นกล้า

Cao et al. (2004) แยกเชื้อเอนโดไฟต์จากแอคติโนไมซีตจากมะเขือเทศ พบว่าเชื้อทั้งหมด สามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่ต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียได้ 21 เปอร์เซ็นต์ และผลิตสารปฏิชีวนะที่ ต้านทานต่อเชื้อราได้ 41 เปอร์เซ็นต์ แต่มีเชื้อเพียง 32 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้นที่ผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้ง การเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และจากการปลูกเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท S30

พบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและเพิ่มความต้านทานโรคในระยะกล้าของมะเขือเทศ

Aghighi *et al.* (2006) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท S2 และไอโซเลท C ที่แยกได้จากดินปลูกข้าวสาลี เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* สาเหตุโรคเน่าคอดินของ sugar beet ด้วยวิธีการ dual culture พบว่า ทั้ง 2 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราได้ โดยไอโซเลท C มีบริเวณยับยั้งมากกว่าไอโซเลท S2 ซึ่งทั้ง 2 ไอโซเลทมีคุณสมบัติเป็น fungistatic และจากการทดสอบในสภาพโรงเรือน พบว่า ไอโซเลท S2 และไอโซเลท C สามารถยับยั้งการเกิดโรคเน่าคอดินของ sugar beet ได้ นอกจากนี้ยังเพิ่มน้ำหนักแห้งของลำต้นและราก และเปอร์เซ็นต์การงอกได้อีกด้วย

Errakhi *et al.* (2007) แยกเชื้อแอคติโนไมซีตส์จากดินได้จำนวน 10 ไอโซเลท สามารถจัดจำแนกเชื้อได้เป็นสกุล *Streptomyces* เมื่อนำเชื้อมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfii* ด้วยวิธี well diffusion พบว่ามีจำนวน 4 ไอโซเลท คือ J-2, B-5, B-11 และ B-40 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคและการงอกของเมล็ด sclerotium โดยการใช้ biomass inoculum ให้ผลดีกว่าการใช้ culture filtrate และ spore suspension ซึ่งไอโซเลท J-2 ยับยั้งการงอกได้มากที่สุดถึง 93 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคลุกเมล็ดด้วยเชื้อแอคติโนไมซีตส์แต่ละไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท J-2 สามารถลดความรุนแรงของโรคได้มากที่สุด ช่วยเพิ่มน้ำหนักสดและความยาวของลำต้นและรากของต้นกล้า นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Streptomyces* สามารถอาศัยอยู่รอดในดินบริเวณรากได้นานกว่า 3 สัปดาห์

Sharifi *et al.* (2007) แยกเชื้อแอคติโนไมซีตส์จากดินได้ทั้งหมด 178 ไอโซเลท จากนั้นทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ด้วย agar disc พบว่าเชื้อแอคติโนไมซีตส์ จำนวน 43 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ โดยไอโซเลท 311 และ 321 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด เชื้อดังกล่าวจัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* และมีคุณสมบัติเป็น fungicidal จากนั้นนำไอโซเลท 311 ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเน่าคอดินของเมลอน (*Cucumis melo* L.) ในสภาพโรงเรือน พบว่าไอโซเลท 311 สามารถควบคุมโรคเน่าคอดินได้และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นเมลอนได้

เชื้อรา *Trichoderma* (Beagle-Ristaino and Papavizas, 1985)

เชื้อราสกุล *Trichoderma* เป็นราจัดอยู่ใน

Kingdom Fungi

Division Ascomycota

Class Euscomycetes

Order Hypocreales

Family Hypocreaceae

Genus *Trichoderma*

ลักษณะโดยทั่วไปของเชื้อรา *Trichoderma*

เชื้อรา *Trichoderma* เป็นเชื้อราที่มีการดำรงชีวิตแบบ saprophyte และเป็น mycoparasite โดยใช้เส้นใยขดเป็นวงรอบ ๆ เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จากนั้นเข้าไปเจริญในเส้นใยของเชื้อราได้โดยการย่อยผนังเซลล์ แล้วใช้อาหารจากเชื้อราสาเหตุโรคพืช เชื้อรา *Trichoderma* ดำรงชีวิตอยู่ในดินโดยทั่วไป อาศัยซากพืชและสัตว์เป็นแหล่งอาหาร เจริญได้ดีในดินที่มีความชื้นแต่ไม่แฉะ สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดินธรรมชาติได้ง่าย เจริญได้รวดเร็วบนอาหารหลายชนิด สร้างก้อนขุสปอร์ ที่แตกกิ่งก้านสาขาโดยที่ปลายก้านขุสปอร์ มีโครงสร้างกำเนิดโคนิเดีย หรือ สปอร์ เรียกว่า phialide รูปร่างคล้ายลูกปืนโบว์ลิ่ง โคนิเดียซึ่งเกิดจากปลาย phialide จะรวมกันเป็นกลุ่มก้อน (slime head) เห็นเป็นสีเขียวหรือใส (hyaline) ส่วนระยะสมบูรณ์เพศหรือ teleomorph ของเชื้อรา *Trichoderma* คือ เชื้อราในสกุล *Hypocrea* หรือสกุลอื่น ๆ ที่ใกล้เคียงกัน (Bissett, 1984) เชื้อรา *Trichoderma* จัดเป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช เนื่องจากมีการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็ว จึงสามารถแข่งขันและเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้อย่างรวดเร็วเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิด โดยวิธีเป็นปรสิต (mycoparasite) สร้างสารพิษ (toxin) และน้ำย่อยจำพวกเอนไซม์ได้ด้วย (Cook and Baker, 1983) การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Trichoderma* สามารถถูกกระตุ้นให้เจริญเติบโตได้โดยใช้สารไรโบรม แต่จะถูกยับยั้งโดยสารเบโนไมล เชื้อราชนิดนี้มีความทนทานต่อสารเมตาแลกซิลและแอมโมเนีย (Lorito *et al.*, 1993)

ลักษณะพื้นฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma* (นุชนารณ, 2535)

1. โคลนิน (colony)

เชื้อรา *Trichoderma* มีการสร้างเส้นใยเจริญเติบโตเร็ว เริ่มแรกโคลนินมีผิวหน้าเรียบ ไม่มีสี ต่อมาโคลนินมีลักษณะเป็นแบบปุยฝ้ายฟูอย่างหลวม ๆ (loosely floccose) หรือเป็นกระจุกหนาแน่น (compactly tuft) หรือมีลักษณะทั้งสองแบบในโคลนินเดียวกัน หรือมีลักษณะอยู่ระหว่างทั้งสองแบบ การเกาะกันเป็นกระจุกของโคลนินมีส่วนเกี่ยวข้องกับโครงสร้างของก้านชูสปอร์ ตัวอย่างเช่น เชื้อรา *Trichoderma hamatum* มีโคลนินเป็นกระจุกหนาแน่น สังเกตพบว่าระบบการแตกกิ่งก้านของก้านชูสปอร์ของเชื้อราชนิดนี้มีความซับซ้อนมาก สีของโคลนินส่วนใหญ่เกิดมาจากการสร้างสีของสปอร์ (phialospore) โดยปกติเชื้อรา *Trichoderma viride* มีโคลนินสีเขียวเข้ม แต่บางครั้งอาจจะแสดงสีที่แตกต่างออกไปอย่างชัดเจน ตั้งแต่สีเหลืองไปจนถึงสีเขียวอ่อน ส่วนโคลนินของเชื้อรา *Trichoderma polysporum* มีสีขาวเนื่องจาก phialospore ไม่มีสี นอกจากนี้สีของสปอร์ที่มีผลต่อสีของโคลนินแล้วยังมีปัจจัยอื่นอีก คือ

1. ปริมาณสปอร์ที่สร้างขึ้น ทำให้สีของโคลนินเข้มขึ้นหรืออ่อนลง
2. สร้างผลิตภัณฑ์หรือปล่อยสีย้อมออกมา ทำให้สีของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนไป
3. ชนิดและความเป็นกรดด่าง (pH) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ มีผลต่อสีของโคลนิน
4. การสร้างเส้นใยที่ยึดตัวออกและเป็นหมัน (sterile hyphal elongation) เหนือกระจุกของก้านชูสปอร์ของเชื้อรา *T. hamatum* ทำให้โคลนินมีสีเขียวหรือสีเทาเขียว (grayish-green)

2. โคนินเดี่ยว (conidia) หรือ สปอร์ (spore)

เกิดเดี่ยว ๆ และเกาะกันเป็นกลุ่มก้อนกลม หรือค่อนข้างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางต่ำกว่า 15 ไมครอน อยู่บนปลาย phialide ซึ่งการเกิดสปอร์ท่อกันเป็นแถวพบน้อยมากและเป็นแถวสั้น ๆ บางครั้งกลุ่มสปอร์ที่เกิดบน phialide ข้างเคียงอาจรวมกันเป็นก้อน (conidial head) ที่ใหญ่ขึ้น ผนังของสปอร์เรียบ หรือบางครั้งพบขรุขระเล็กน้อย ไม่มีสี (hyaline) หรือมีสีเขียวปนเหลือง (yellowish green) จนถึงสีเขียวเข้ม (dark green) รูปร่างค่อนข้างกลม บริเวณที่สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นวงรอบ หรือเป็นวงแหวน ซึ่งเกิดจากอิทธิพลของแสงและเมื่อโคลนินมีอายุมากขึ้นจะมีการสร้างก้านชูสปอร์ ขึ้นมาใหม่อีกบริเวณรอบนอกที่สร้างสปอร์ ทำให้เห็นการเกิดวงรอบ (zonation) ไม่ชัดเจน บางไอโซเลท มีลักษณะเป็นแบบปุยฝ้าย (floccose) การสร้าง zonation สามารถสังเกตได้ในขณะที่เชื้อยังมีอายุน้อยเท่านั้น

3. ก้านชูสปอร์ (conidiophore)

ก้านชูสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* มีการแตกกิ่งก้านหลายแบบและการสร้างสลับซับซ้อนกันมาก มองดูโครงสร้างรอบนอกเป็นแบบรูปกรวย หรือแบบปิรามิด เช่น เชื้อรา *T. hamatum* และ *T. polysporum* มีก้านชูสปอร์ยาว แตกกิ่งก้านด้านข้างสั้นและหนา มีลักษณะเฉพาะ คือ สร้างเส้นใยที่ยึดตัวออกและเป็นหมัน เป็นเส้นยาวคล้ายเส้น เป็นส่วนที่ไม่สร้างสปอร์อยู่ปลายก้านของก้านชูสปอร์ส่วนเชื้อรา *Trichoderma longibrachiatum* มีเส้นแกนกลางของก้านชูสปอร์ ค่อนข้างยาว และแตกกิ่งก้านสั้นเช่นกัน แต่ไม่เหมือน เช่น *T. hamatum* และ *T. polysporum* เป็นต้น ที่สร้างก้านชูสปอร์มีการแตกกิ่งก้านน้อยและสลับกันไป สำหรับเชื้อรา *T. viride* และ *Trichoderma koningii* สร้างก้านชูสปอร์ที่มีการแตกกิ่งก้านด้านข้างออกมาจากจุดเดียวกันเหมือนกับพวกเชื้อรา *Verticillium*

4. Phialide

เป็นก้านสปอร์ที่อยู่ปลายสุด ให้กำเนิดสปอร์ ส่วนใหญ่มีรูปร่างคล้ายขวดชมพู หรือลูกพิน โบว์ลิ่งที่ฐานจะแคบกว่าตรงกลางเล็กน้อยและค่อย ๆ เรียวไปยังส่วนปลาย ซึ่งตรงปลายจะเป็นรูปกรวยแคบ ๆ หรือใกล้จะเป็นทรงกระบอกโดยทั่วไป phialide จะแตกออกมาจากจุดกำเนิดเป็นวงกว้างและปลายงอโค้ง ทำให้มองด้านข้างเหมือนเข้าสัตว์ (horn-shaped) และอาจเกิดขึ้นบนกิ่งก้านของก้านชูสปอร์ที่แตกด้านข้าง ลักษณะเรียงกันของ phialide เป็นวงรอบไม่สม่ำเสมอ มีจำนวนถึง 5 อัน เกิดที่ปลายก้านของก้านชูสปอร์ซึ่งเกิดจากเซลล์ที่ให้กำเนิด หรือเกิดตลอดกิ่งก้านแบบเดี่ยว ๆ และค่อนข้างยาวกว่าอันที่อยู่ข้างล่าง

กลไกการควบคุมโรคโดยวิธีของเชื้อรา *Trichoderma*

1. การสร้างสารปฏิชีวนะ หมายถึง การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่เกิดขึ้นจากสารที่สร้างขึ้นโดยสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง สารดังกล่าวนี้จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต หรืออาจทำให้ตายได้ สารเคมีดังกล่าวอาจเป็นสารปฏิชีวนะ (antibiotics) และสารจำพวกเอนไซม์ (extracellular enzymes) (Bilal, 1963) การผลิตเอนไซม์ที่ย่อยเชื้อสาเหตุโรคพืชได้โดยตรงเป็นปัจจัยร่วมอย่างหนึ่งของการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ เอนไซม์ที่สำคัญในการย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ คือ เอนไซม์ protease, chitinase และ cellulase ทั้งการสร้างเอนไซม์และการสร้างสารปฏิชีวนะหรือสารพิษอาจออกฤทธิ์ร่วมกัน ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้อย่างกว้างขวาง (วีระศักดิ์, 2544) เช่น เชื้อรา *T. harzianum* ไอโซเลท P1 สร้าง chitinolytic enzymes สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ และการเจริญของ



germ tube สำหรับเชื้อราที่มี chitin เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ พบว่าระดับการยับยั้งจะสัมพันธ์กับระดับของ chitin ในผนังเซลล์ของเชื้อราเป้าหมาย (Lorito *et al.*, 1993)

2. การแข่งขันซึ่งกันและกัน หมายถึง การที่สิ่งมีชีวิตสองชนิดหรือมากกว่าเจริญอยู่ด้วยกัน มีความต้องการอาหารและที่อยู่อาศัย เมื่ออาหารที่มีอยู่ไม่เพียงพอจึงทำให้เกิดการแข่งขันกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ธาตุอาหารและปัจจัยอื่น ๆ สำหรับการเจริญเติบโต เชื้อรา *Trichoderma* มีความสามารถในการเข้าครอบครองรากพืชได้รวดเร็วกว่าเชื้อสาเหตุโรคพืช ถ้าในดินที่ใช้ในการเกษตรมีปริมาณของเชื้อรา *Trichoderma* สูงย่อมพิสูจน์ได้ว่าเชื้อรา *Trichoderma* สามารถที่จะเป็นผู้แข่งขันที่ดีในด้านการแย่งที่อยู่อาศัยและแหล่งอาหาร นอกจากนั้นยังสามารถเพิ่มโอกาสในการแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรคได้มากขึ้นด้วย (จิระเดช, 2544)

3. การเป็นปรสิตของเชื้อราปฏิปักษ์ การที่เชื้อราปฏิปักษ์สร้างเส้นใยแทงทะลุเข้าไปในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช แล้วดูดของเหลวจากรากทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชเหี่ยวเฉาหรือการที่เชื้อราปฏิปักษ์สร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชก่อนการเข้าทำลายเส้นใย เชื้อรา *Trichoderma* เป็นปรสิตของเชื้อราต่าง ๆ ในกลุ่มเชื้อราชั้นต่ำพวก Phycomycetes กลุ่มราชั้นสูงพวก Imperfect Fungi (Deuteromycetes) พวก Ascomycetes และ Basidiomycetes ในบางกรณีพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* เป็นศัตรูสำคัญของการเพาะเห็ด กลไกการออกฤทธิ์ของเชื้อรา *Trichoderma* ที่มีผลต่อเชื้อราก่อโรค เช่น *R. solani*, *Sclerotium* sp. และ *Phytophthora* sp. โดยพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* จะสร้าง enzyme บางชนิด เช่น chitinase และ cellulase เป็นต้น เพื่อย่อยสลายผนังเซลล์ของราสาเหตุโรคพืช แล้วเข้าไปเจริญสร้างเส้นใยภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (จิระเดช และวรรณวิไล, 2542) และ Inbar *et al.* (1996) ได้ทำการตรวจสอบปฏิกิริยาระหว่างเชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อรา *S. sclerotiorum* โดยเลี้ยงเชื้อราทั้งสองร่วมกันบนอาหาร เมื่อตรวจสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์และกล้อง SEM พบว่าเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* พันรัดและรบกวนเส้นใยของเชื้อรา *S. sclerotiorum* ทำให้ผนังเซลล์บางส่วนของเมล็ด *sclerotium* แตกออก

ประโยชน์ของเชื้อรา *Trichoderma* sp. (จิระเดช และวรรณวิไล, 2542)

1. ลดกิจกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคพืช เชื้อรา *Trichoderma* sp. บางสายพันธุ์มีคุณสมบัติในการลดกิจกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยสามารถพันรัดเส้นใย แล้วปล่อยเอนไซม์หลายชนิด เช่น chitinase และ cellulase เพื่อสลายผนังเส้นใยของเชื้อโรคพืชก่อนที่จะแทงส่วนของเส้นใยเข้าไปภายในของเชื้อโรคพืช เชื้อรา *Trichoderma* sp. จะเจริญอย่างรวดเร็วโดยใช้อาหารภายในเส้นใย

ของเชื้อโรคพืช กิจกรรมด้านการเจริญของเส้นใยเชื้อโรคพืชจะลดลงอย่างมาก ส่งผลให้กิจกรรมเกี่ยวกับการสืบพันธุ์และการขยายพันธุ์ของเชื้อโรคพืชลดลงไปด้วย

นอกจากนี้ในกรณีที่เชื้อโรคพืชกำลังเข้าทำลายรากพืชหรือส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช เช่น บริเวณแผลหรือรอยตัด เชื้อรา *Trichoderma* sp. จะทำหน้าที่ขัดขวางกิจกรรมการเข้าทำลายของเชื้อโรคบริเวณดังกล่าวได้ โดยการแข่งขันการใช้อาหารและรบกวนการเจริญของเชื้อโรคพืชทุกระยะ เช่น การงอกของสปอร์ การเจริญและพัฒนาของเส้นใย การขยายพันธุ์ การสืบพันธุ์ เป็นผลมาจากการรบกวนและขัดขวางกิจกรรมต่าง ๆ ของเชื้อโรค จะส่งผลให้ความรุนแรงของการเกิดโรคพืชลดลงได้ในที่สุด

2. ลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรคพืช เชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถเข้าทำลายส่วนที่เป็นโครงสร้างของเชื้อราสาเหตุโรคพืชซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อการสืบพันธุ์ หรือ เพื่อความอยู่รอดภายใต้สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ เช่น ในกรณีของเชื้อรา *S. rolfsii* เชื้อรา *Trichoderma* sp. จะทำให้เมล็ด sclerotium ฝ่อตายไปก่อนที่จะมีโอกาสงอกเป็นเส้นใยเพื่อเข้าทำลายพืช

3. เพิ่มการเจริญเติบโตของพืช นอกจากเชื้อรา *Trichoderma* sp. จะช่วยป้องกันการเข้าทำลายเชื้อโรคพืชได้หลายชนิดแล้วยังพบว่าสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตและการสร้างดอกของพืชอีกหลายชนิด ไม้ดอกไม้ประดับที่ปลูกในกระถาง พืชผักต่าง ๆ กล้าไม้ที่เพาะด้วยเมล็ด ตลอดจนกิ่งปักชำและพืชหัว โดยเพิ่มขนาดและความสูงของต้น น้ำหนักของต้นพืชทั้งต้น น้ำหนักของหัว ตั้งแต่ 10-60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. สำหรับกลไกที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติในการเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่ก็มีผู้รายงานว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถสร้างสารเร่งการเจริญเติบโต (hormone) ต่าง ๆ ได้เอง ในขณะที่บางกรณีเชื่อว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. สร้างสารไปกระตุ้นให้พืชสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตมากกว่าปกติและบางกรณีพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไปขัดขวางหรือทำลายจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่รบกวนระบบรากของพืช ทำให้ระบบรากพืชสมบูรณ์และแข็งแรง สำหรับในกรณีของการเพาะเมล็ดที่ปลูกในดินซึ่งคลุกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* sp. พบว่าเมล็ดจะงอกเร็วกว่าปกติ 2-3 วัน และต้นกล้าจะมีขนาดใหญ่โตกว่าปกติ นอกจากนี้พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกและจำนวนต้นรอดตายเพิ่มมากขึ้นด้วย

บทบาทของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ต่อการควบคุมโรค

เชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชหลายชนิด ซึ่งมีผู้ศึกษากันอย่างกว้างขวาง ดังนี้

แสงมณี และคณะ (2540) ศึกษาเชื้อรา *T. harzianum* พบว่าสามารถสร้างเส้นใยพันเป็นวง รัศรอบเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* และ *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยและโรคเน่าดำของวานิลลา เชื้อเจริญแทงเข้าสู่ภายในเส้นใย ทำให้เกิดลักษณะว่างเปล่าภายในเส้นใยของเชื้อรา ผนังเส้นใยถูกย่อยสลาย ส่งผลกระทบต่อการสร้าง sporangium และ chlamydospore ด้วย

มณฑา และคณะ (2541) ทดลองนำเชื้อรา *T. harzianum* คลุกลงในดินปลูกถั่วเหลืองฝักสด ที่มีเชื้อรา *S. rolfii* เจริญอยู่ พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถลดความเสียหายของโรคเมื่อต้นพืช อายุ 30 วัน หลังปลูกได้มากที่สุดถึง 62 เปอร์เซ็นต์ และทำให้ความสูงตลอดจนน้ำหนักของถั่วเหลืองฝักสดเพิ่มขึ้น

วาสนา และคณะ (2548) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ไอโซเลท T-50 และ CB-Pin-01 และเชื้อรา *T. virens* ไอโซเลท Tv-16 ในการควบคุมโรคระดับดินของมะเขือเทศ พันธุ์กิ่งทอง-2 ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลองพบว่า หลังจากย้ายปลูกพืช 14 วัน ทุกกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* และ *T. virens* หรือสารเมทาแลกซิล พบต้นรอดตายสูงกว่าชุดควบคุม โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ในรูป spore suspension ความเข้มข้น 10^8 สปอร์/มิลลิลิตร ราดดินอัตรา 5 มิลลิลิตร/กระถาง และการใช้เชื้อรา *T. virens* ในรูป spore suspension ความเข้มข้น 10^8 สปอร์/มิลลิลิตร แช่เมล็ดเป็นระยะเวลา 30 นาที ก่อนปลูกร่วมกับการใช้แคลเซียมคลอไรด์ราดวัสดุปลูก ช่วยให้มีต้นมะเขือเทศรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์

Sharon et al. (2001) นำเชื้อรา *T. harzianum* มาควบคุมไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica* ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรครากปมในมะเขือเทศ โดยทำการทดสอบภายในโรงเรือนพบว่า การปลูกมะเขือเทศในดินที่ผสมเชื้อรา *T. harzianum* สามารถทำให้จำนวนของปมรากของมะเขือเทศลดลงและทำให้น้ำหนักสดของผลเพิ่มมากขึ้น

Intana et al. (2003) ศึกษาเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ที่เกิดการกลายพันธุ์และสายพันธุ์ดั้งเดิมพบว่าสามารถผลิตสาร harzianic acid, harzianic acid isomer และ penty pyrone ได้ และสารดังกล่าวมีผลในการเพิ่มน้ำหนักสดของต้นและรากแดงกว่าได้ทั้งการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการและในระดับโรงเรือน สำหรับในกรณีของการเพาะเมล็ดแล้วทำการปลูกในดินซึ่งคลุกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* พบว่าเมล็ดจะงอกเร็วกว่าปกติ 2-3 วัน และต้นกล้าจะมีขนาดใหญ่โตกว่าปกติ นอกจากนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและจำนวนต้นรอดตายเพิ่มมากขึ้นด้วย

Widyastuti et al. (2003) ทดลองใช้เชื้อรา *T. harzianum*, *Trichoderma reesei* และ *T. koningii* เพื่อควบคุมเชื้อรา *S. rolfii* โรครากและโคนเน่าของต้นกล้าสน ในพื้นที่เขตร้อนพบว่า

เชื้อราเชื้อรา *T. harzianum* และ *T. reesei* สามารถเข้าพันรัดรอบเส้นใยของเชื้อรา *S. rolfii* และเมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือนพบว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma* ลงในดินก่อนการปลูกเชื้อรา *S. rolfii* เป็นระยะเวลา 4 วัน สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดีที่สุด

Rini and Sulochana (2006) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma pseudokoningii* ไอโซเลท TR17 และ *T. harzianum* ไอโซเลท TR20 และเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescent* ไอโซเลท P28 และไอโซเลท P51 ในสภาพโรงเรือนและแปลงปลูก พบว่าสามารถลดความรุนแรงของโรคเน่าคอดินของพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *R. solani* และยังสามารถส่งเสริมการเจริญของต้นพริกได้

Akami *et al.* (2009) ศึกษาพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* และ *Trichoderma aperellum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. solani* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวที่พบในถั่วเหลือง จากการทดสอบในสภาพโรงเรือนพบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* และ *T. aperellum* คลุกลงในดินปลูกต้นถั่วเหลืองสามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 26.30-61.10 เปอร์เซ็นต์