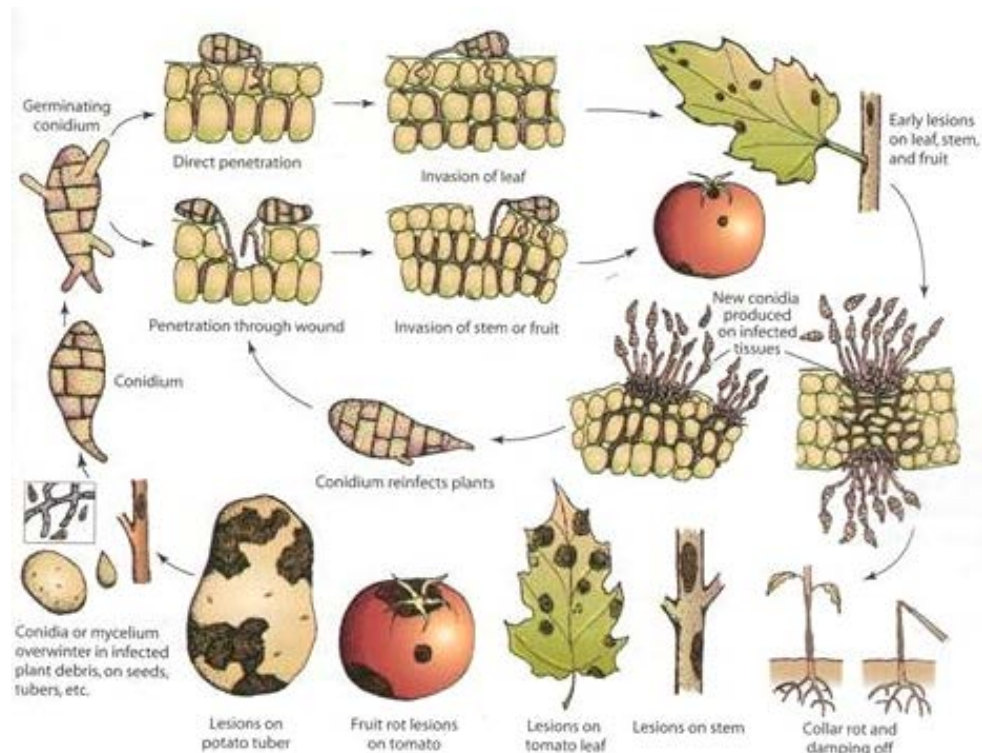


อ่อนแอ จะมีลักษณะแห้งเหี่ยว ต้นกล้าที่เป็นโรคจะพบจุดสีดำบริเวณลำต้น ต่อมาแผลจะขยายขึ้นเป็นสาเหตุให้ต้นกล้าตาย แผลที่พบบนใบในระยะต้นโตจะมีการพัฒนาจากจุดสีเข้มเล็กๆ กลายเป็นจุดดำและขยายออกเรื่อยๆ มีขนาดได้ถึง 5-7.5 เซนติเมตร เมื่อการระบาดมากขึ้นเนื้อเยื่อกลางแผลจะบางคล้ายกระดาษ แผลสามารถลามติดกันได้ทำให้มีขนาดไม่สม่ำเสมอ (Dixon, 1981) เชื้อราสาเหตุโรคจะผลิตสปอร์จำนวนมากอยู่ในบริเวณแผล ทำให้แผลมีสีดำคล้ำขึ้น และแผลอาจลุกลามไปตามก้านใบและลำต้น สำหรับพืชผักที่ให้หัว ถ้าเป็นโรคอย่างรุนแรงเชื้ออาจลุกลามก่อให้เกิดแผลที่หัว และทำให้หัวเน่าหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต ในแปลงที่ปลูกเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ ในระยะเริ่มติดฝัก หากมีการระบาดของเชื้อจะเข้าทำลายฝักทำให้เกิดอาการฝักแห้งหรือน่าสงสารให้เมล็ดลีบไม่สมบูรณ์ แต่หากเชื้อเข้าทำลายหลังจากที่ฝักแก่ใกล้เก็บเกี่ยว อาจมีเชื้อติดไปกับเมล็ดพันธุ์ (seed borne) เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ชุดนี้ไปปลูก อาจเกิดการระบาดของโรคได้ ถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสม (ศศิธร วุฒินิชย์, 2549)

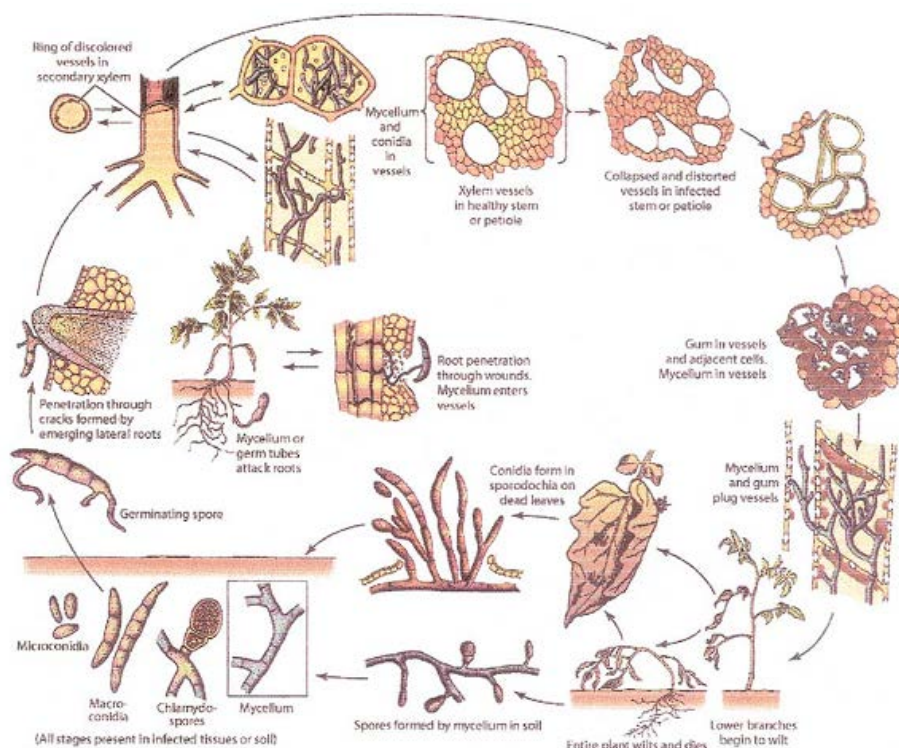
เชื้อสาเหตุของโรคนี้มีชีวิตอยู่ข้ามฤดูในลักษณะเส้นใยเจริญอยู่ในเศษซากพืชที่เป็นโรคหรืออาศัยจำพวกวัชพืชตระกูลใกล้เคียงกันและติดไปกับเมล็ดพันธุ์โดย conidia ติดไปกับส่วนผิวภายนอกของเมล็ดหรือเส้นใยเจริญอยู่ภายในเนื้อเยื่อเมล็ด สปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* ที่ติดไปกับเมล็ดสามารถอยู่รอดได้นานถึง 2 ปี เมื่อเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเส้นใยที่เจริญอยู่ภายในเนื้อเยื่อเมล็ดสามารถอยู่ได้นานถึง 12 ปี (Maude และ Hampherson, 1980) เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม ที่อุณหภูมิระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส และสภาพอากาศชื้น conidia จะงอก germ tube เข้าทำลายพืชได้โดยตรงและพืชจะแสดงอาการของโรคให้เห็นภายใน 2-14 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของเชื้อ ชนิดและพันธุ์ของกะหล่ำและผักกาดซึ่งมีระดับความต้านทานและอ่อนแอต่อโรคต่างกัน (ศศิธร วุฒินิชย์, 2545) การเข้าทำลายของเชื้อ *Alternaria* sp. มีวงจรการเกิดโรคกับพืชชนิดต่างๆ ที่คล้ายกัน (รูปที่ 2.1) การควบคุมโรคใบจุด *Alternaria* สามารถทำได้โดยนำเมล็ดมาแช่น้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-25 นาที ฟ่นสารเคมีกำจัดโรคเมื่อพบการแพร่ระบาดของโรค ได้แก่ แมนโคเซ็บหรือไดเทนเอ็ม 45 ในอัตราส่วน 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกๆ 5-7 วัน (กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2552) การควบคุมโดยชีววิธีเป็นอีกทางเลือกที่นำมาใช้ในการควบคุมโรค เช่น ใช้เชื้อรา *Tricoderma harzianum* (CB-pin-01) และ *Tricoderma* sp. (GV16) ที่ความเข้มข้นเซลล์ 10^8 cell/ml นำมาฉีดพ่นที่ใบกะน้าเพื่อควบคุมโรคใบจุดได้ (วรรณวิไล อินทนู และคณะ, 2546)



รูปที่ 2.1 วงจรการเกิดโรคใบจุด Alternaria ของต้นมะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria solani* (Agrios, 2005)

2.2.2 โรคเหี่ยว *Fusarium* ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

อาการเริ่มแรกของโรคเหี่ยว *Fusarium* จะปรากฏ vein clearing ที่บริเวณด้านนอกของใบอ่อนเพียงเล็กน้อย ต่อมาใบแก่จะแสดงอาการ epinasty ที่บริเวณใบซึ่งเกิดจากการเหี่ยวของ petioles พืชที่ถูกเชื้อเข้าทำลายในระยะต้นกล้ามักจะเกิดอาการเหี่ยว แคระแกร็น และใบล่างเหลือง บางครั้งมีการสร้างรากมากเกินไป ลำต้นและใบเหี่ยว ใบร่วง เกิด necrosis ที่ขอบใบ และจะตายในที่สุด ในกรณีพืชที่เจริญเติบโตเต็มที่ อาการที่เกิดขึ้นมักพบบริเวณด้านข้างของลำต้นและลุกลามขึ้นไปที่ด้านบนจนกระทั่งใบและลำต้นตายในที่สุด ในบางครั้งผลก็ถูกทำลายด้วย ซึ่งจะทำให้เกิดอาการเน่า ผลร่วง และเกิดจุดดำขึ้นบนผล (รูปที่ 2.2) สำหรับรากสามารถถูกเชื้อเข้าทำลายได้เช่นกัน โดยจะเกิดขึ้นเมื่อต้นเริ่มแสดงอาการแคระแกร็น เมื่อทำการผ่าดูด้านข้างของลำต้นพืชที่เป็นโรค พบว่าบริเวณโคนต้นจะปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลที่ทอเลียง อาการดังกล่าวจะแพร่ขยายขึ้นไปด้านบนของต้นพืช ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค บางครั้งต้นพืชอาจถูกทำลายก่อนที่จะถึงฤดูกาลเก็บเกี่ยวโดยทั่วไปแล้วการเข้าทำลายที่รุนแรงจะไม่เกิดขึ้นหากอุณหภูมิของดินและอากาศค่อนข้างสูงในระหว่างฤดูกาลเพาะปลูก (Agrios, 2005)



รูปที่ 2.2 วงจรการเกิดโรคเหี่ยว Fusarium ของเชื้อ *Fusarium* sp. (ดัดแปลงจาก Agrios, 2005)

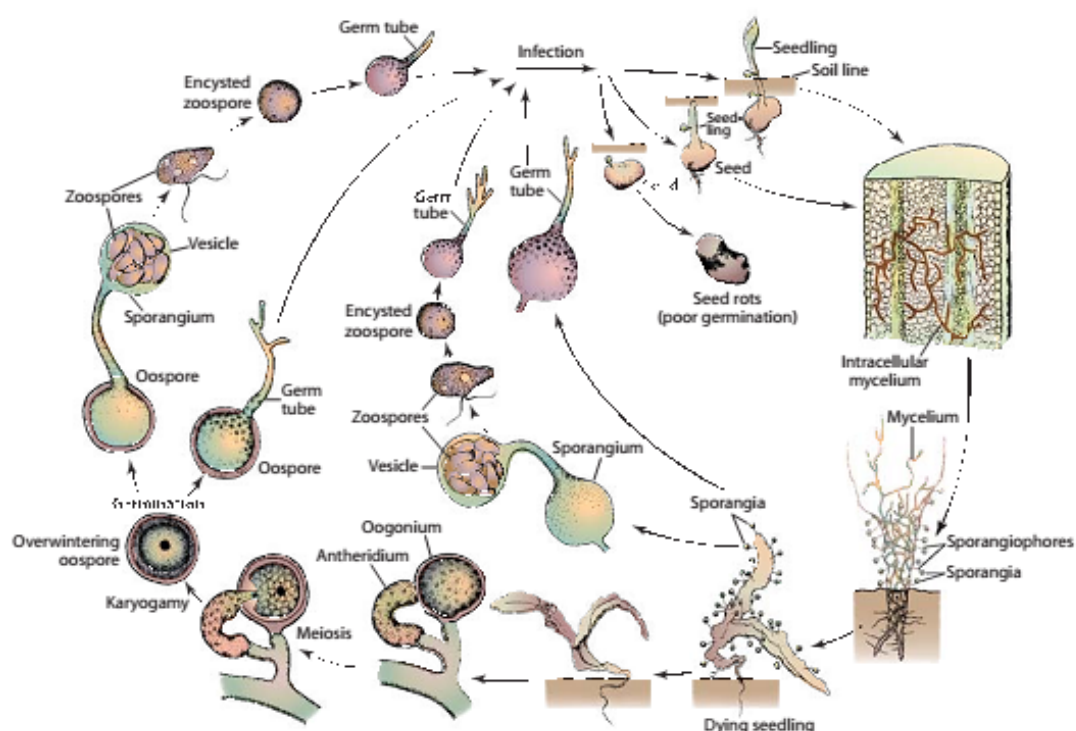
การควบคุมโรคเหี่ยว *Fusarium* สามารถทำได้โดย ย่ำหว่านเมล็ดผักในแปลงปลูกมากเกินไป หรือทำการฆ่าเชื้อที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดโดยการนำเมล็ดไปแช่ในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 49-50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-25 นาที หรือคลุกเมล็ดด้วยสารเคมีเซอรินแซนในอัตรา 1 ช้อนชาต่อเมล็ดหนักประมาณ 100 กรัม หรือไซแรม 1 ช้อนชาต่อเมล็ด 1 กรัม จะสามารถช่วยลดปริมาณเชื้อที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพืชได้ นอกจากนี้ อาจทำการฉีดพ่นสารเคมีพวกแคปแทนหรือไซแรมในอัตราส่วน 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกๆ 5-7 วัน (ไฉน ยอดเพชร, 2542)

2.2.3 โรคเน่าคอดิน ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp.

โรคเน่าคอดินเป็นโรคที่พบได้ทั่วไป โดยเฉพาะพืชที่ปลูกในโรงเรือน เชื้อสาเหตุสามารถเข้าทำลายได้ทุกระยะการเจริญของพืช การเข้าทำลายในระยะเมล็ดและต้นกล้าพืชมักสร้างความเสียหายเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในดินที่มีความชื้นสูงและอุณหภูมิเหมาะสม (Agrios, 2005) การเข้าทำลายพืชและลำต้นอ่อนของต้นกล้ามักเกิดบริเวณใกล้ๆ ผิวดิน ขึ้นอยู่กับความชื้นของหน้าดินและความลึกของเมล็ดที่หว่านลงดิน โดยกลุ่มเส้นใยจะแทงเข้าสู่ epidermal cells และ cortical cells โดยตรง แล้วใช้อาหารจากพืชอาศัยและทำลายผนังเซลล์ของพืช ทำให้เซลล์และเนื้อเยื่อบริเวณนั้นเสียหาย (Cook, 1992) ถ้าเชื้อราเจริญเข้าสู่เนื้อเยื่อในระบบท่อลำเลียงจะพบเนื้อเยื่อจากบริเวณ cortex cells เข้าไปมีสีซีด ต้นกล้าที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะตายอย่างรวดเร็ว ถ้าการเข้าทำลายของเชื้อถูกจำกัดอยู่เพียงชั้น cortex ของส่วนที่

อยู่ใต้พื้นดิน ต้นกล้าอาจจะมีชีวิตต่อไปจนกระทั่งแผลถูกกลืนไปจนถึงส่วนที่อยู่เหนือพื้นดิน และส่วนที่ถูกทำลายไม่สามารถจะพองลำต้นได้ต่อไป จึงเกิดการหักล้มของต้นกล้า แต่ถ้าพืชเป็นพันธุ์ต้านทาน จุดที่เชื้อเข้าทำลายจะไม่สามารถขยายออกไปได้ เนื่องจากกลไกการตอบสนองของพืช โดยการสร้างผนังเซลล์ให้หนาด้วยสารลิกนิน (lignified cell walls) เพื่อสกัดกั้นการรุกเข้าทำลายของเชื้อรา เมื่อเชื้อราเจริญรุกเข้าไปที่เซลล์ใดก็จะทำลายส่วนเนื้อเยื่อบริเวณนั้น โดยเอนไซม์นี้จะทำลาย protoplast ของเซลล์ที่เชื้อเข้าทำลาย นอกจากนั้นยังผลิต cellulolytic enzyme ที่จะช่วยให้ผนังเซลล์สลายตัวโดยสิ้นเชิง เชื้อราสามารถใช้สารหลายชนิดที่เป็นผลจากการสลายตัวของเซลล์พืชอาศัย มาใช้เป็นแหล่งอาหาร เช่น ไนโตรเจน น้ำตาล และสารอินทรีย์ต่างๆ ที่อยู่ในพืช เป็นต้น (Cook, 1992; Watson, 1971)

การเข้าทำลายของเชื้อราอาจเกิดจากการสัมผัสของ oospore ของเชื้อรา *Pythium* spp. กับรากของพืช หรือเมล็ดพืช อาจโดยบังเอิญหรือจาก exudate ซึ่งเป็นของเหลวที่ขับออกจากส่วนของพืชที่สามารถดึงดูดเชื้อราให้เข้าหา (นุชนารถ จงเลขา, 2545) โดยปกติเชื้อราที่อยู่ในดินจะอยู่ในสภาพที่เป็น oospore เมื่อมีพืชอาศัยจะงอก germ tube ซึ่งเป็นเส้นใยสั้นๆ หรือสร้างซุโอสปอร์แรงเจียม (zoosporangium) เมื่อเจริญเต็มที่จะปลดปล่อย zoospore ซึ่งจะว่ายน้ำเพียง 2-3 นาที แล้วจะสลัดหางทิ้งเพื่อเข้า cyst และงอก germ tube เข้าทำลายพืช จากนั้นจะสร้างเส้นใยเพื่อเข้าทำลายพืชต่อไป (Agrios, 2005) ในเมล็ดพันธุ์ที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรคเน่าคอดินแล้ว เมล็ดจะไม่สามารถงอกได้ ต้นกล้าที่งอกแล้วแต่ยังไม่โผล่พ้นผิวดิน เซลล์พืชจะถูกทำลาย ถูกปกคลุมด้วยเชื้อและตายในที่สุด (pre-emergence damping-off) ส่วนต้นกล้าที่งอกโผล่พ้นผิวดินแล้วมักถูกเข้าทำลายบริเวณรากหรือลำต้นในระดับผิวดิน เนื้อเยื่อที่ถูกเข้าทำลายจะแสดงอาการน้ำเน่า เปลี่ยนสี อ่อน หักพับลงกับพื้น และถูกเข้าทำลายต่อโดยเชื้อ จนกระทั่งต้นกล้าเหี่ยวและตายในที่สุด (post-emergence damping-off) (Agrios, 2005) (รูปที่ 2.3)

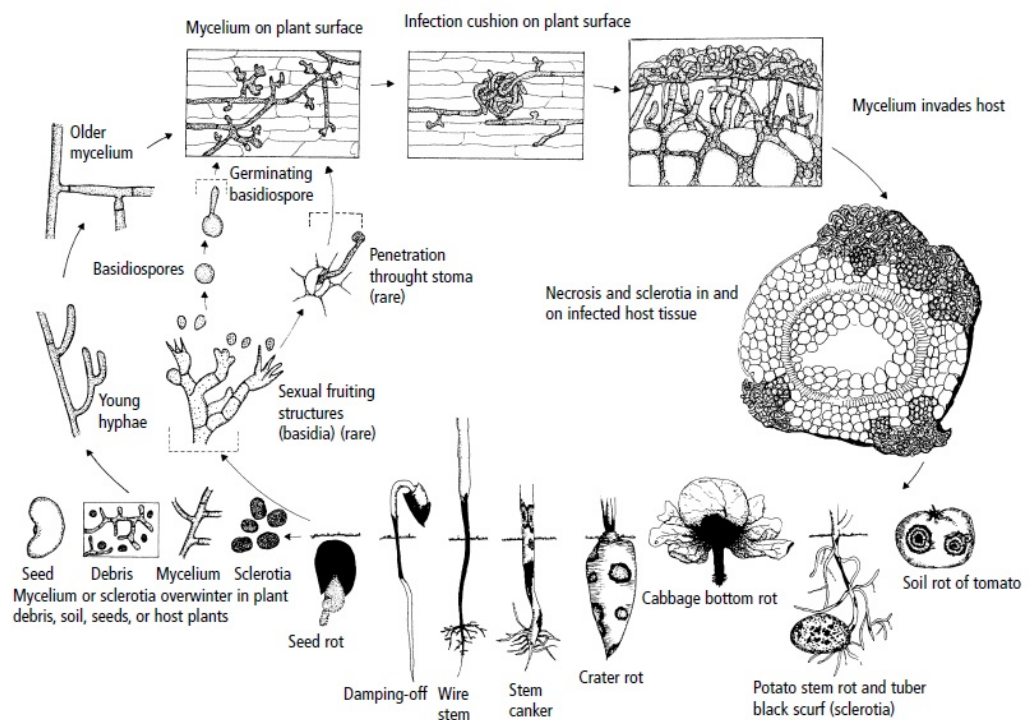


รูปที่ 2.3 วงจรการเกิดโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* sp. (Agrios, 2005)

2.2.4 โรคเน่าคอดินจากเชื้อ *Rhizoctonia* spp.

Rhizoctonia spp. เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สามารถเข้าทำลายพืชได้หลากหลายชนิด เช่น วงศ์กะหล่ำ (Cruciferae) หนุ่ย (Gramineae) ถั่ว (Luguminosae) มะเขือ (Solanaceae) ฝ้าย (Malvaceae) และพืชในวงศ์อื่นๆ อีกหลายชนิด ลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรานี้ส่วนใหญ่ทำให้เกิดอาการเน่าบนเมล็ด และต้นกล้าที่ยังไม่โผล่พ้นดิน (root rot and pre-emergence damping-off) และเน่าระดับดิน (post-emergence damping-off) กับต้นกล้าเป็นส่วนใหญ่ (Holliday, 1980) (รูปที่ 2.4) เชื้อรา *Rhizoctonia* spp. จัดอยู่ใน Sub-division deuteromycotina, Class Agonomycetales ลักษณะที่สำคัญคือไม่สร้าง asexual spore มีแต่เพียงเส้นใยและ resistant structure ที่เรียกว่า microsclerotium หรือ sclerotium ซึ่งเกิดจากการพันตัวของเส้นใยอย่างหลวมๆ มีรายงานว่าการสร้าง anamorphic stage คือ *Thanatephorus cucumeris* (Parneter และคณะ, 1970) นอกจากนี้สภาพแวดล้อมในช่วงการงอกมีอิทธิพลต่ออัตราการเจริญของเชื้อรา โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของ *Rhizoctonia solani* อยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้จะเจริญช้าลง เมล็ดพืชที่สามารถงอกได้ที่อุณหภูมิสูงจะมีอัตราการงอกค่อนข้างต่ำ และจะอ่อนแอต่อโรคนี้ ทำให้เชื้อราจะสามารถเจริญได้ดีที่เมล็ด ในทางตรงกันข้ามเมล็ดของพืชที่ต้องการอากาศเย็นและงอกที่อุณหภูมิต่ำกว่า 13 องศาเซลเซียส ซึ่งเชื้อราเจริญได้ไม่ดี เมล็ดเหล่านี้จึงปลอดภัยจากโรคนี้ได้ ถ้าโรคนี้เกิดขึ้นหลังจากต้นกล้าเริ่มเจริญอาจช่วยได้โดยใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราโรคพืช (นันทิยา วรรณะภูติ, 2542) การ

ควบคุมโรคพืชส่วนใหญ่ยึดการป้องกันเป็นหลักเพราะเชื้อราชนิดนี้สามารถทนอยู่ในดินได้นานในรูปของเส้นใยและ sclerotium ซึ่งสามารถทนอยู่ในดินที่แห้งแล้งได้นานถึง 4 ปี (Holliday, 1980) ดังนั้นการควบคุมโรคสามารถทำได้โดย อบรมาเชื้อดินในแปลงที่ต้องการเพาะกล้าด้วยไอน้ำร้อนหรือใช้สารเคมีชนิดอบดิน หากไม่ต้องการใช้สารเคมีสามารถใช้เชื้อราปฏิปักษ์ไตรโคเดอร์มาในอัตรา 25-50 กรัมต่อตารางเมตร คลุกเคล้ากับดินระดับลึก 5-10 เซนติเมตรก่อนหว่านเมล็ด (ศศิธร วุฒิวิชัย, 2549) หรือสามารถใช้ *Penicillium* spp., *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. คลุกเมล็ดก่อนนำไปปลูกพบว่าสามารถลดจำนวนการเข้าทำลายของเชื้อรา *Rhizoctonia* spp. ได้ (จิระเดช แจ่มสว่าง และบรรเจิด อินทาวง, 2529) นอกจากนี้แล้วการจัดการในแปลงปลูกที่ดีก็สามารถช่วยลดปริมาณของเชื้อรา *Rhizoctonia* spp. ได้โดยการไม่เพาะกล้าแน่นเกินไป ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในระยะกล้ามากเกินไป เมื่อพบโรคควรขุดต้นกล้าที่เป็นโรคและต้นบริเวณรอบๆ ใส่ถุงพลาสติกแล้วนำไปเผาทิ้งนอกแปลงปลูก เป็นต้น (ศศิธร วุฒิวิชัย, 2549)



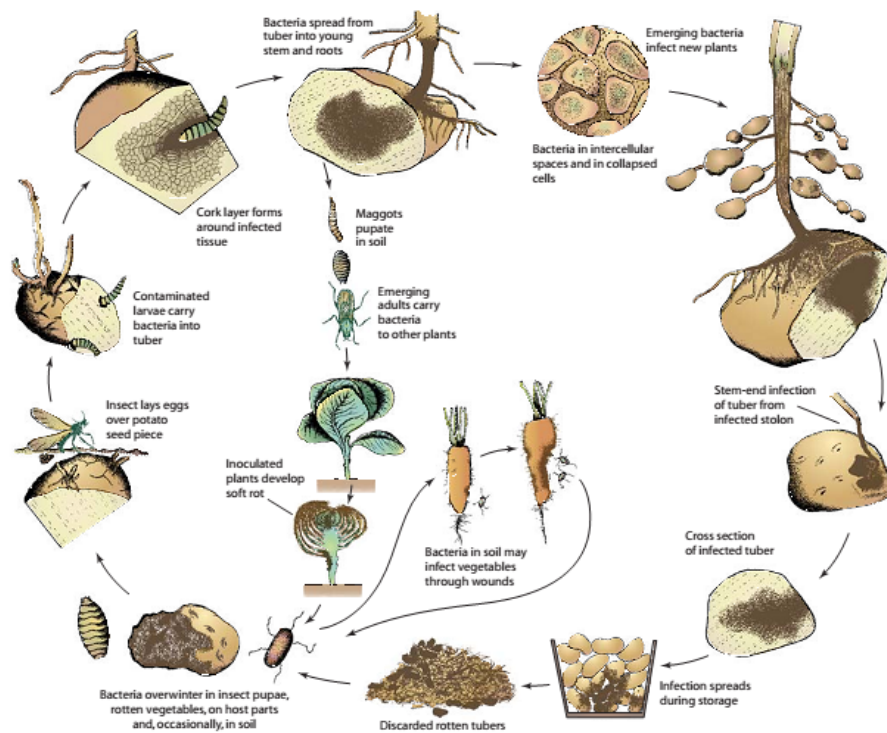
รูปที่ 2.4 วงจรการเกิดโรคเน่าคอดินของเชื้อ *Rhizoctonia* spp. (Agrios, 2005)

2.2.5 โรคเน่าและที่เกิดจากเชื้อ *Erwinia carotovora*

โรคเน่าและของผักต่างๆ (soft rot) มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* โรคเน่าและจัดได้ว่าเป็นโรคที่อยู่ในกลุ่มของโรคที่สำคัญมากโรคหนึ่งของพืชผัก เป็นโรคที่เกิดขึ้นทั่วไปในทุกท้องถิ่นที่มีการปลูกผัก โดยเฉพาะหากสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะสร้างความเสียหายให้กับพืชผัก

อย่างรุนแรงทำให้พืชผักต่างๆ เป็นโรคเน่าและ เช่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปลม ผักกาดขาว ผักกวางตุ้ง ผักกาดเขียวปลี ผักกาดหอม บร็อคโคลี เป็นต้น โดยแบคทีเรียในสกุล (Genus) *Erwinia* อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ มี flagella รอบตัว (peritrichous flagella) สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพที่มีหรือไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobic) มีรูปร่างท่อนตรง (rod shaped) ซึ่งเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Erwinia* นี้มีรายงานว่าเป็นเชื้อก่อโรคกับพืช (plant pathogen), ซาโปรไฟท์ (saprophyte) และ พวกอีพิไฟท์ (epiphytes) โดยเชื้อในกลุ่ม carotovora สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์พืช ทำให้พืชมีลักษณะอาการเน่าและส่วนเชื้อในกลุ่ม amylovora เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ทำให้เกิดลักษณะอาการแห้งตาย (dry necrotic) หรือเหี่ยว (wilt) กับพืชอาศัย ส่วนเชื้อในกลุ่ม herbicola เป็นพวกอีพิไฟท์เกิดโรคกับพืชที่อ่อนแอ และเป็นซาโปรไฟท์ในดิน น้ำ และอากาศ (Beji และคณะ, 1988) เชื้อในกลุ่ม carotovora ประกอบด้วย เชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (Eca), *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc), และ *Erwinia chrysanthemi* (Ech) ทุก species ในกลุ่มนี้ให้ผลเป็นลบในปฏิกิริยา oxidase test แต่ให้ผลเป็นบวกในปฏิกิริยา catalase test สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลชนิดอื่นๆ หลายชนิดแตกต่างกันไปแต่ละ species (Schaad และคณะ, 2001)

กลไกการทำลายพืชของเชื้อชนิดนี้คือ การสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยผนังเซลล์พืชทำให้เซลล์พืชหลุดสลาย และปลดปล่อยสารอาหารออกมา หลังจากนั้นเชื้อแบคทีเรียจะใช้สารอาหารเหล่านั้นในการเจริญเติบโต เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเข้าทำลายเซลล์พืชมีหลายชนิดด้วยกัน เช่น pectinase, cellulases และ proteases เอนไซม์ที่มีความสำคัญในการเกิดโรคคือ pectinase เป็นเอนไซม์ที่ย่อย pectin ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ primary cell wall และ middle lamella (Pérombelon, 2002) เอนไซม์ pectinase ได้แก่ Pectate lyase (PEL), Pectin lyase (Pnl), Pectin methylesterase (PME) และ Polygalacturonase (PEH) แต่ Pectate lyase เป็นเอนไซม์หลักที่ทำให้เกิดโรค soft rot (Collmer และ Keen, 1986) เชื้อแบคทีเรีย *Erwinias* เข้าทำลายพืชโดยผ่านทางบาดแผล หรือช่องเปิดทางธรรมชาติ เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมเชื้อจะทำให้พืชเกิดโรคได้ (รูปที่ 2.5)



รูปที่ 2.5 กลไกการทำลายพืชของเชื้อ *Erwinia* sp. (Agrios, 2005)

การควบคุมโรคเน่าและสาเหตุจากเชื้อ *E. carotovora* สามารถทำได้โดยดูแลบริเวณแปลงปลูกโดยการไถพรวนดิน พลิกหน้าดินขึ้นตากแดดก่อนปลูกพืช การปลูกพืชหมุนเวียนด้วยข้าวโพดหรือธัญพืช (กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2552) การทำลายต้นที่เป็นโรคทิ้งไป สำหรับการใส่สารเคมีเพื่อกำจัดแมลงไม่ค่อยได้ผล จึงนิยมใช้สารปฏิชีวนะ เช่น แอกริมัยซิน ซึ่งมีส่วนประกอบของสเตรปโตมัยซิน หรือ แอกริสเตรป อัตราส่วน 10 - 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร แต่มีข้อควรระวังคืออย่าใช้ในอัตราที่มีความเข้มข้นสูงเกินไป และไปฉีดพ่นบ่อย เพราะเชื้อสาเหตุโรคอาจจะดื้อต่อยาและเกิด Phytotoxic

2.3 การใช้สารเคมีควบคุมโรคพืช

ปัจจุบันการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช มักจะประสบปัญหาในด้านการดื้อยาหรือต้านทานต่อสารนั้น (Resistance to fungicide) โดยเชื้อจะมีการปรับตัวเกิดเป็นเชื้อกลายพันธุ์ (mutant) ซึ่งลักษณะเหล่านี้สามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้ (ธรรมศักดิ์ สมมาตร, 2543) รวมทั้งการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในอัตราที่สูงหลายชนิด ก่อให้เกิดผลกระทบต่อตัวเกษตรกรผู้เข้าร่วมทั้งอาจมีสารพิษตกค้างอยู่ในผลิตผลที่จะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค หรือเกิดผลกระทบต่อการค้าระหว่างประเทศ ตลอดจนเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตอื่นๆ และสภาพแวดล้อมถ้าสารเคมีที่ใช้นั้นตกค้างอยู่ในดินและน้ำ นอกจากนี้คนส่วนใหญ่ยังนิยมบริโภคเป็นผักสด และมีการบริโภคกันเป็นจำนวนมาก (สมบัติ ศรีสุข

วงศ์ และอนงค์นาถ แต่เชื้อสาย, 2545) ถึงแม้ว่าการใช้สารเคมีจะได้ผลดีระดับหนึ่ง แต่หากมีการใช้อย่างต่อเนื่องอาจมีผลตกค้างจากสารพิษในผลิตผลทางการเกษตร ส่งผลโดยตรงต่อสุขภาพของผู้บริโภค รวมทั้งสิ่งแวดล้อม วิธีการหนึ่งที่กำลังเป็นที่สนใจกันอย่างมากคือ การควบคุมโรคโดยชีววิธี เช่น การใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เช่น สารสกัดจากพืช พบว่าสารเหล่านี้มีความเป็นพิษต่อคนและสัตว์เลื้อยคลานน้อยมากไม่เป็นสารที่สะสมในร่างกายของสิ่งมีชีวิต และสลายตัวในสิ่งแวดล้อม (พร จันทร์ ด่านกลาง, 2535) นอกจากนี้ยังมีการนำเชื้อจุลินทรีย์จากธรรมชาติเข้ามาช่วยในการควบคุมโรคซึ่งเป็นอีกทางเลือกเพื่อลดการใช้สารเคมี (Emmert และ Handelsman, 1999) เช่น การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Sclerotium rofsii* การใช้เชื้อ *Bacillus pumilus* SQR-N43 และ *Streptomyces* spp. ในการยับยั้งเชื้อ *Rhizoctonia solani* ซึ่งเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคเน่าคอดินในแตงกวาและในหัวบีทตามลำดับ (เอกสารประกอบการฝึกอบรม การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี, 2545; Huang และคณะ, 2012; Sadeghi, 2006)

2.4 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biological control)

การควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี คือ การใช้สิ่งมีชีวิตในการลดปริมาณประชากรของเชื้อโรคพืชหรือลดกิจกรรมของเชื้อก่อโรคอันจะก่อให้เกิดโรคกับพืช ให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ โดยอาศัยสิ่งมีชีวิต (organism) รวมทั้งพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (เอกสารประกอบการฝึกอบรม การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี, 2545) โดยการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) ชนิดหนึ่งหรือมากกว่า ตลอดจนพันธุกรรมหรือผลผลิตจากพันธุกรรม (gene or gene product) แต่ไม่รวมถึงการกระทำโดยตรงจากมนุษย์ (Cook และ Baker, 1983; Handelsman และ Parke, 1996; Nelson, 1989) ที่มีอยู่ทั่วไปตามบริเวณผิวพืชส่วนเหนือดิน (Munk vald และ Marois, 1993) บริเวณรากและดินรอบราก (Larkin และคณะ, 1989) ที่มีความสามารถในการแข่งขัน (competition) ทางด้านแหล่งแร่ธาตุอาหารและแหล่งที่อยู่อาศัย การเป็นปรสิต (parasite) รวมถึงการผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อชนิดอื่น (Campbell, 1989) ซึ่งถือว่าเป็นกลไกที่สำคัญของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชและถูกนำมาใช้เพื่อลดหรือทดแทนการใช้สารเคมี ในปัจจุบันได้มีการนำวิธีการในการควบคุมโรคโดยชีววิธีมาใช้ควบคุมโรคสำคัญ ๆ ของกะหล่ำดอกมากขึ้น การยับยั้งการก่อโรคของเชื้อปฏิปักษ์จะเป็นไปในลักษณะของ epiphytic fitness โดยการดำรงชีวิตและเพิ่มปริมาณประชากรอย่างรวดเร็ว มีประสิทธิภาพในการแก่งแย่งแข่งขันทั้งทางด้านอาหารและแหล่งที่อยู่อาศัยได้ดี (Suwanto และคณะ, 1996)

ช่วงเวลาหลายปีที่ผ่านมาการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อราและแบคทีเรียที่แยกได้จากดินที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก การควบคุมโรคพืชโดยจุลินทรีย์นั้นเป็นการลดปริมาณเชื้อหรือความสามารถในการก่อให้เกิดโรคลดลง และการศึกษาจะเน้นในส่วนของการ

กลไกการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคเพื่อที่จะนำมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมี ซึ่งเชื่อบางชนิดมีกลไกการทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายกลไก โดยกลไกของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มีดังนี้

กลไกการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

ในธรรมชาติจะมีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการนำมาใช้ควบคุมโรคพืช เรียกว่า เชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) โดยเชื่อนี้จะมีกลไกควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคได้ 4 ลักษณะ คือ

2.4.1 การแก่งแย่ง (Competition) โดยทั่วไปเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถแข่งขันกับเชื้อโรคพืชในด้านต่าง ๆ เช่น การใช้ธาตุอาหาร อากาศ และการครอบครองพื้นที่ ทำให้เชื้อโรคพืชไม่สามารถเจริญเติบโตในบริเวณที่มีเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งการแก่งแย่งของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ

2.4.1.1 การเข้าครอบครองพื้นที่ โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและมากกว่าเชื้อสาเหตุโรค จึงทำให้เชื้อสาเหตุโรคไม่สามารถเจริญและใช้สารอาหารได้อย่างเต็มที่ ซึ่งความสามารถในการเข้าครอบครองพื้นที่ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการควบคุมโรค เช่น *Candida saitoana* ที่ความเข้มข้น 10^7 CFU/ml สามารถควบคุมการเจริญของ *Fusarium expansum* ที่ก่อโรคในผลแอปเปิ้ลได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ *Pichia guilliermondii* ที่ความเข้มข้น 10^{10} CFU/ml สามารถควบคุม *Penicillium digitatum* ในผลองุ่น และ *Botrytis cinerea* ในผลแอปเปิ้ลได้ (McLaughlin และคณะ, 1990; Droby และคณะ, 1991; Sharma และคณะ, 2009)

2.4.1.2 การแก่งแย่งสารอาหาร โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จะเข้าแก่งแย่งสารอาหารกับเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น *Pichia guilliermondii* ด้านการเจริญของ *Penicillium digitatum* Per.: Fries Sacc. ในผลส้ม *Enterobacter cloacae* ด้านการเจริญของเชื้อ *Rhizopus stolonifer* ในผลพีช

2.4.2 การสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiotic) ผลิตผลจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ (antibiotic) สามารถยับยั้งหรือทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ (Sharma และคณะ, 2009) เช่น *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas cepacia* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ iturin เพื่อฆ่าเชื้อสาเหตุโรคพืช (Gueldner และคณะ, 1988; Pusey, 1989) นอกจากนี้ยังพบว่า *Pseudomonas cepacia* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ pyrrolnitrin ออกมาเพื่อควบคุม *Botrytis cinerea* และ *Penicillium expansum* ในผลแอปเปิ้ลได้ (Janisiewicz และ Roitman, 1988; Janisiewicz และคณะ, 1991) โดยสารปฏิชีวนะที่เชื้อปฏิปักษ์สร้างขึ้นมีผลยับยั้งการสร้างเซลล์เมมเบรน เปลี่ยนแปลงหน้าที่ของเซลล์เมมเบรน และการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของสารปฏิชีวนะ (สายใจ อ่อนแก้ว, 2542) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อจุลินทรีย์บาง

สายพันธุ์มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ โดยเอนไซม์ที่สำคัญคือ เอนไซม์ Chitinase และเอนไซม์ β -1,3-Glucanase

2.4.2.1 เอนไซม์ Chitinase เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายไคตินให้เป็นโมโนเมอร์ของไคติน คือ *N*-acetylglucosamine (GlcNAc) ไคตินเป็นสารประกอบที่เกิดจากการเชื่อมกันของ *N*-acetyl D-glucosamin ด้วยพันธะ β -1, 4-glycosidic bond (Felse และ Panda, 1999) พบโดยทั่วไปมี 3 รูปแบบ คือ α -chitin, β -chitin และ γ -chitin ซึ่งไคตินส่วนใหญ่พบในแมลงและในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังเปลือกที่มีแข็งที่หุ้ม โดยเฉพาะในพวก Arthropod และ Mollusca พืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ จากการศึกษากของ Elad และคณะ (1982) พบว่ากลไกการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ของ *Tricoderma hazianum* จะใช้เส้นใยเข้าไปพันและผลิตเอนไซม์ β -1,3-Glucanase และ Chitinase ที่บริเวณรอบๆ เส้นใยของ *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rofsii* ทำให้เส้นใยเกิดความเสียหาย นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. สามารถผลิตเอนไซม์ Chitinase ออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ เช่น *B. cereus*, *B. circulans*, *B. licheniformis*, *S. griseus* และ *S. viridificans* เป็นต้น (Pleban และคณะ, 1997; Gupta และคณะ, 1995) เอนไซม์ Chitinase เป็น multi-complex enzyme ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

1) Endo-Chitinase หรือ Chitinase จะย่อยไคตินแบบสุ่มภายในสายโพลิเมอร์แล้วได้เป็น multimer ของ *N*-acetylglucosamine ซึ่งส่วนมากเป็น diacetylchitobiose และได้ Triacetylchitotriose เล็กน้อย

2) Exo-Chitinase หรือ *N*-acetylglucosaminidase (chitobiase) จะย่อยจากปลายด้าน non-reducing ของสายไคตินได้เป็น Chitobiose หรือ *N*-acetylglucosamine โมเลกุลเดี่ยว แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่มีไคตินเป็นส่วนประกอบในผนังเซลล์เหมือนพวกเชื้อรา การสร้าง Chitinase ของแบคทีเรียพบว่าถูกชักนำด้วยไคติน ซึ่งคาดว่าแบคทีเรียสร้าง Chitinase เพื่อย่อยสลายไคตินแล้วใช้เป็นแหล่งของอาหาร เอนไซม์ Chitinase จากแบคทีเรียหลายชนิดถูกใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เช่น เอนไซม์ Chitinase จาก *Serratia marcescens* ใช้ร่วมกับ β -Glucanase, Propan-2-ol และ Polyoxyethylene lauryl ether ฉีดพ่นในไร่นาข้าวสามารถควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อ *Pyricularia oryzae* ได้ ในขณะที่เดียวกัน *S. marcescens* ยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของต้นฝ้ายที่เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia solani* ในสภาพเรือนทดลอง Watanabe และคณะ (1990) และ Hashimoto (2000) รายงานว่า *B. circulans* WL-12 สามารถสร้างเอนไซม์ Chitinase 6 ชนิด คือ A1, A2, B1, B, C และ D โดยมี Chitinase A1 เป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่สุดในขบวนการย่อยสลายไคติน นอกจากนี้เชื้อ *Streptomyces lividans* สามารถสร้าง Chitinase และปล่อยออกมานอกเซลล์ การสร้าง Chitinase ถูกชักนำด้วยไคตินและอนุพันธ์ของไคติน และสามารถพบ Chitinase และ Chitobiase ที่ย่อยสลายไคตินและไคโตซานได้ (Neugebauer และคณะ, 1991) ในขณะเดียวกันเอนไซม์ Chitinase จากเชื้อ

S. cinereoruber และ *S. viridificans* สามารถย่อยสลายผนังเซลล์เซลล์ของ *Aspergillus niger* และเชื้อราก่อโรคหลายชนิดได้ (Okazaki และ Takawa., 1991; Gupta และคณะ, 1995)

2.4.2.2 เอนไซม์ Glucanase (β -1,3-Glucanase) ทำหน้าที่ย่อยสลาย β -1,3-Glucan พบได้ทั่วไปในพืชและจุลินทรีย์ต่างๆ ในพืชเอนไซม์ชนิดนี้มีบทบาทในกระบวนการป้องกันตัวเองต่อการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ ในขณะที่มีเชื้อจุลินทรีย์บางสายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์ β -1,3-Glucanase ขึ้นมาเพื่อทำลายเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยเอนไซม์ β -1,3-Glucanase ที่ถูกผลิตขึ้นจะไปตัดสายของ 1,3- β -D-Glucosidic ใน β -1,3-Glucans ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์เชื้อรา โดยเอนไซม์ β -1,3-glucanase แบ่งออกเป็น 2 ชนิด (Noronha และ Ulhoa, 2000) คือ

- 1) Exo- β -1,3-Glucanase ทำหน้าที่ย่อยสลาย β -1,3-Glucan ได้ monosaccharides หรือ oligosaccharides
- 2) Endo- β -1,3-Glucanase ทำหน้าที่ย่อยสลาย β -1,3-Glucan ได้เฉพาะ monosaccharides เท่านั้น

2.4.3 การเป็นปรสิต (Parasitism) คือการที่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถเจริญอยู่ใกล้เคียงหรือบนส่วนของเชื้อโรคพืชแล้วเข้าทำลายเพื่อใช้อาหาร หรือสารประกอบต่างๆ จากเชื้อสาเหตุโรคพืช ปรสิตของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (mycoparasite) แบ่งเป็น 2 พวก คือ biotrophic mycoparasite เป็นพวกที่เจริญสัมผัสอยู่กับเส้นใยของเชื้อราโรคพืช แล้วแทงเส้นใยเข้าไปเจริญอยู่ภายในโดยไม่ทำให้ตาย เช่น เชื้อราของ *Pichia guilliermondii* ที่เข้าทำลายเส้นใยของ *Botrytis cinerea* และ *Penicillium* spp. โดยพบว่าเมื่อส่วนของเส้นใยที่สัมผัสกับเชื้อ *P. guilliermondii* บริเวณเส้นใยจะเกิดรอยร้าวทำให้สารบางส่วนที่อยู่ภายในเส้นใยไหลออกมา (Wisniewski และคณะ, 1991) พวกที่สองคือ necrotrophic mycoparasite เป็นพวกที่ต้องฆ่าหรือทำให้เชื้อโรคตายก่อนจึงจะสามารถใช้อาหารจากเส้นใยหรือสปอร์ การฆ่าอาจเกิดขึ้นโดยสร้างสารพิษหรือผลิตเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่ย่อยสลาย โดยเฉพาะการย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรค ตัวอย่างเอนไซม์หลักที่พบ คือ Chitinase, Glucanase (Lorito และคณะ, 1993; Castoria และคณะ, 1997; Jijakli และ Lepoivre, 1998; Kapat และคณะ, 1998; Mortuza และ Ilag, 1999 และ Chernin และ Chet, 2002)

2.4.4 การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค (Induced disease resistance) เป็นกลไกที่เชื้อปฏิปักษ์สามารถชักนำหรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการทำลายของเชื้อโรคได้เมื่อพืชถูกเข้าทำลายด้วยเชื้อสาเหตุโรคพืช (Sharma และคณะ, 2009) โดยเอนไซม์ที่สำคัญที่พืชสร้างขึ้นเมื่อถูกเชื้อสาเหตุโรคพืชเข้าทำลายได้แก่

2.4.4.1 Phenylalanine ammonia lyase (PAL) เป็นเอนไซม์ตัวแรกในกระบวนการสังเคราะห์ Phenylpropanoid โดยการเกิดปฏิกิริยาการขจัดแอมโมเนียแล้วเปลี่ยนรูปของ L-phenylalanine เป็น trans-cinnamic acid (Peiser และคณะ, 1998) เอนไซม์ PAL ยังมีหน้าที่เป็นกุญแจในการควบคุมการสังเคราะห์ Phenolic กิจกรรมเอนไซม์ PAL สามารถเพิ่มสูงขึ้นได้จากการพัฒนาการเจริญเติบโตของพืช โดยจะเกิดการสะสมของ anthocyanin และสารประกอบ phenolic ชนิดต่างในเนื้อเยื่อของผลไม้ (Cheng และ Breen, 1991) นอกจากนี้เอนไซม์ชนิดนี้เกิดได้จากการชักนำโดยสิ่งมีชีวิต เช่น การติดเชื้อไวรัส เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา เป็นต้น และจากสิ่งไม่มีชีวิต เช่น การลดหรือการเพิ่มอุณหภูมิ แสงยูวีบี การเกิดบาดแผล เป็นต้น ซึ่งสาเหตุเหล่านี้ทำให้เกิดการสะสมของพวกสารประกอบ Phenolic, Phenolic acid และ flavonoid (Wen และคณะ, 2005) Zhang และคณะ (2006) รายงานว่าเมื่อทำการปลูกเชื้อ *Bemisia tabaci* ในต้นแตงกวาและทำการตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ PAL ในชั่วโมงที่ 0, 6, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์ PAL มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างช้าๆ โดยมีค่าสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 48 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

2.4.4.2 Chitinase เป็นเอนไซม์ที่ถูกกระตุ้นขึ้นเมื่อพืชถูกเข้าทำลายด้วยเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยไม่ต้องมี substrate เมื่อเชื้อราเข้าทำลายพืชจะพบการสะสมของของเอนไซม์ Chitinase ที่บริเวณเส้นใย ของเชื้อรา เอนไซม์ Chitinase เป็นเอนไซม์ตัวแรกที่แสดงออกเมื่อมีการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ซึ่งชนิดของเอนไซม์ Chitinase ที่พบในพืชจะเป็นแบบ endochitinases ซึ่งจะเป็นการย่อยสลายไคตินแบบสุ่ม โดยจะสุ่มย่อยสาย β -1,4-linkages ของ Chitin-releasing oligosaccharide (Colling และคณะ, 1993) Ippolito และคณะ (2000) รายงานว่า *Aureobasidium pullulans* สามารถกระตุ้นให้แอปเปิ้ลสามารถสร้างเอนไซม์ไคตินเนสเพื่อต้านการเจริญของ *Botrytis cinerea* ที่เข้าทำลายผลแอปเปิ้ลได้

2.4.4.3 β -1,3-Glucanase เมื่อพืชถูกเข้าทำลายด้วยเชื้อราสาเหตุโรคพืช พืชจะมีการสร้างเอนไซม์ β -1,3-Glucanase และเอนไซม์ Chitinase เพื่อย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยเอนไซม์ β -1,3-Glucanase ทำหน้าที่ตัดสาย β -1,3-D-Glucosidic ในโมเลกุลของ β -1,3-Glucan จากการศึกษากของ Sela-Buurlage และคณะ (1993) พบว่าเมื่อต้นยาสูบที่ถูกเชื้อรา *Fusarium solani* เข้าทำลายจะพบเอนไซม์ β -1,3-Glucanase สูงที่บริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา โดยเอนไซม์ β -1,3-Glucanase ทำให้บริเวณปลายเส้นใยของเชื้อราเกิดความเสียหาย นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium solani* ได้อีกด้วย

2.5 ลักษณะทั่วไปและความสำคัญของเชื้อ *Streptomyces* spp.

เชื้อ *Streptomyces* spp. เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Streptomycetaceae เป็นสกุลที่มีจำนวนมากและสำคัญที่สุดในแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีท เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะคล้ายเชื้อราอาศัยอยู่ทั่วไปในดิน ปุ๋ยหมัก น้ำ ละอองฝุ่น อากาศ เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งแรงจะสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) พงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) ลักษณะเส้นใยไม่มีผนังกัน เมื่อเชื้อเจริญเต็มที่เส้นใยอากาศจะสร้างสปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่ ซึ่งมีรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ แบบเส้นตรง (rectiflexibile) แบบคูป (retinaculiaperti) และแบบเวียนเกลียว (spiral) ลักษณะผิวสปอร์ มี 5 แบบ คือ ผิวเรียบ (smooth) ผิวเป็นหนาม (spiny) ผิวเป็นขน (hairy) ผิวเป็นปุ่มปม (warty) และผิวขรุขระ (rugose) (Tresner และคณะ, 1961; Dietz และ Methews, 1971) ลักษณะโคโลนีในระยะแรกผิวโคโลนีเรียบ เมื่ออายุมากขึ้นเส้นใยอากาศจะพัฒนาเป็นสปอร์ ทำให้ผิวโคโลนีมีลักษณะคล้ายแป้ง (powdery) หรือกำมะหยี่ (velvet) มีหลายสี ได้แก่ ขาว เทา แดง เหลือง เขียว น้ำเงิน และม่วง ซึ่งเป็นสีของสปอร์ที่อยู่ด้านบน ส่วนด้านล่างโคโลนีมีเส้นใยอาหารเป็นสีน้ำตาลส่วนใหญ่ แต่อาจพบสีอื่น เช่นเดียวกับสีสปอร์ *Streptomyces* spp. สร้างรงควัตถุหลายชนิด นอกจากนี้ยังผลิตสาร geosmin (Trans-1, 10-dimethyl decalol) มีกลิ่นคล้ายกลิ่นดิน (earth odor) *Streptomyces* spp. ใช้ออกซิเจน ในการเจริญเติบโตเป็นพวก chemo-organotrophic เมตาบอลิซึม เป็นแบบ oxidative สามารถรีดิวซ์ในไตรทให้เป็นไนไตรท ย่อยอะดีนีน (adenine) เอสคูลิน (esculin) เคซีน (casein) เจลาติน (gelatin) ไฮโปแซนทีน (hypoxanthine) แป้ง และไทโรซีน (Tyrosine) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส pH 6.5-8.0 ส่วนใหญ่เป็นพวก mesophile มีบางชนิดที่เป็นพวก psychrophile และ thermophile เปปติโดไกลแคนที่ผนังเซลล์มีส่วนประกอบหลักเป็น L-diaminopimelic (LL-DAP) และไกลซีน (Lechevalier และ Lechevalier, 1970) ใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนเป็นแหล่งพลังงาน เช่น กลูโคส กลีเซอรอล และเปปโตเน เป็นต้น สำหรับการสร้างสารปฏิชีวนะ *Streptomyces* spp. จำเป็นต้องใช้แร่ธาตุบางชนิด ได้แก่ โซเดียม แมกนีเซียม แคลเซียม และฟอสเฟต เป็นต้น (Williams และคณะ, 1989)

Streptomyces spp. สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายชนิด ได้แก่ สารต่อต้านแบคทีเรีย (anti-bacterial agent) เช่น ampicillin, penicillin-N ซึ่งมีโครงสร้างเป็นวงเบต้าแลคแทม (β-lactamring) ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการสร้างเปปติโดไกลแคนที่ผนังเซลล์แบคทีเรีย oleandomycin เป็นสารพวกแมโครไลด์ (macrolide) ผลิตโดย *S. antibioticus* (Swan และคณะ, 1994) ซึ่งจะจับกับไรโบโซมและยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน สารต่อต้านเชื้อรา (anti-fungal agent) เช่น candididin เป็นสารพวก polyene macrolide ผลิตโดย *S. griseus* (Lechevalier และคณะ, 1953) มีฤทธิ์ต่อผนังเซลล์ของเชื้อรา Nystatin มีโครงสร้างเป็น Polyene มีสมบัติฆ่าเชื้อราได้หลายชนิด Polyoxin มีโครงสร้างเป็น nucleoside มีผลต่อการสร้างผนังเซลล์เชื้อรา Anthracycline นอกจากเป็นสารต่อต้านเชื้อรายังเป็นสารต่อต้านมะเร็งด้วย โดยมีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ Topoisomerase II ในเชื้อรา ทำให้ไม่สามารถเกิดการ

จำลองดีเอ็นเอได้ นอกจากนี้ยังสามารถสร้างเอนไซม์ Chitinase ที่มีผลต่อการย่อยสลายของผนังเซลล์ เชื้อรา เช่น *S. griseus* HUT6037 (Watanabe และคณะ, 1999) แสดงในตารางที่ 1 และลักษณะของการออกฤทธิ์ของสารเหล่านั้นแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2.1 สารปฏิชีวนะบางชนิดที่ผลิตจากเชื้อในสกุล *Streptomyces* spp. และฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (อนันต์ วงเจริญ, 2547)

สารปฏิชีวนะ	<i>Streptomyces</i> spp.	เชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้ง
Amphotericin B	<i>S. nodosus</i>	เชื้อรา
Chloramphenicol	<i>S. venezuelae</i>	แบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ ริกเกตเซีย และไวรัส
Erythromycin	<i>S. crythreus</i>	แบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และโปรโตซัว
Kanamycin	<i>S. kanamyceticus</i>	แบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และโปรโตซัว
Vancomycin	<i>S. orientalis</i>	แบคทีเรียแกรมบวก
Aureomycin	<i>S. aureofaciens</i>	แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ
Streptomycin	<i>S. griseus</i>	แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ
Neomycin	<i>S. fradiae</i>	แบคทีเรียแกรมลบ
Tetracycline	<i>S. rimosus</i>	แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ
Novobiocin	<i>S. spheroids</i>	แบคทีเรียแกรมบวก
Coumermycin	<i>S. rishiriensis</i>	แบคทีเรียแกรมบวก
Clorobiocin	<i>S. roseochromogens</i>	แบคทีเรียแกรมบวก
Rapamycin	<i>S. hygrosopicus</i>	เชื้อรา

ตารางที่ 2.2 ลักษณะการออกฤทธิ์ของสารปฏิชีวนะที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces* spp. (อนันต์ วงเจริญ, 2547)

สารปฏิชีวนะ	ลักษณะการออกฤทธิ์	<i>Streptomyces</i> spp.	แหล่งที่มา
Avermectin	Antiparasitic	<i>S. avermitilis</i>	Burg และคณะ (1979)
Anthracyclins	Antitumor	<i>S. galileus</i>	Fujii และ Ebizuka (1997)
Bafilomycin	ATPase-inhibitor of microorganisms, plant and animal cells	<i>S. griseus</i> <i>S. halstedii</i>	Werner และคณะ (2000)
Chloramphenicol	Antibacterial, inhibitor of protein biosynthesis	<i>S. venezuelae</i>	Bewick และคณะ (1976)
Hygromycin	Antimicrobial, immunosuppressive	<i>S. hygroscopicus</i>	Omura และคณะ (1987), Uyeda และคณะ (2001)
Lincomycin	Antibacterial, inhibitor of protein biosynthesis	<i>S. lincolnensis</i>	Peschke และคณะ (1995)
Mitomycin C	Antitumor, binds to doublestranded DNA	<i>S. lavendulae</i>	Mao และคณะ (1999)
Rapamycin	Immunosuppressive, antifungal	<i>S. hygroscopicus</i>	Vezina และคณะ (1975)
Streptomycin	Antimicrobial	<i>S. griseus</i>	Egan และคณะ (1998)
Streptozotocin	Diabetogenic	<i>S. achromogenes</i>	Herr และ Argoudelis (1967)
Tetracyclines	Antimicrobial	<i>S. aureofaciens</i> <i>S. rimosus</i>	Saleh และคณะ (1985), Hansen และคณะ (2001)
Valinomycin	Ionophor, toxic for prokaryotes and eukaryotes	<i>S. griseus</i>	Andersson และคณะ (1998)

2.6 เชื้อ *Streptomyces* spp. เพื่อการควบคุมโรคพืช

การศึกษาการใช้ *Streptomyces* spp. เพื่อควบคุมแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อโรคในมะเขือเทศ พบว่าเมื่อนำเมล็ดของมะเขือเทศมาเคลือบด้วยสปอร์ของ *Streptomyces* sp. ก่อนนำไปปลูก สามารถควบคุมเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด และจากการทดลองในสภาพห้องทดลอง น้ำเลี้ยงเชื้อของ *S. pulcher* หรือ *S. canescens* ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Verticillium alboatrum* และ *A. solani* (El-Abyad และคณะ, 1993) นอกจากนี้ งานวิจัย

ของ Shih และคณะ (2003) เมื่อนำเมล็ดกะหล่ำมาเคลือบด้วยน้ำเลี้ยงเซลล์ของ *Streptomyces padanus* พบว่าสามารถลดการเกิดโรคเน่าคอดินสาเหตุจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้ นอกจากนี้มีรายงานการใช้ *Streptomyces* sp. ในการควบคุมโรคเน่าคอดินและ โรคโคนเน่า ที่เกิดจาก *R. solani* ในถั่วและมะเขือเทศด้วยเช่นกัน (Rothrock และ Gottlieb, 1984; Sabaratnam และ Traquair, 2002) โดยสารปฏิชีวนะที่ *Streptomyces* spp. สร้างส่วนใหญ่จะเป็นสารต่อต้านแบคทีเรีย (Anti-bacterial agent) เช่น โอ ลี น โด มัย ซิน (Oleandomycin) เป็น สาร พ ว ก Macrolide ผลิต โดย *S. antibioticus* (Swan และคณะ, 1994) ซึ่งจะไปจับกับไรโบโซม และยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน สาร clavams ผลิตโดย *S. clavuligerus* (Müller และคณะ, 1983) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ β -lactamase ที่ผลิตโดย *Staphylococci* sp. และแบคทีเรียแกรมลบบางชนิด สเตรปโตมัยซินผลิตโดย *S. griseus* (Herzog, 1964) และ neomycin ผลิตโดย *S. fradiae* (Sasarman และคณะ, 1964) ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบชนิดแท่งและกลมบางชนิด รวมทั้งแบคทีเรียแกรมบวกชนิดกลมบางชนิด และยังมีผลต่อ *Mycobacterium tuberculosis* ด้วย

นอกจากนี้ Blastidicin S ผลิตโดย *S. griseochromogenes* (Takeuchi และคณะ, 1958) ต่อด้านเชื้อราและแบคทีเรียก่อโรคพืชบางชนิด โดยยับยั้งการพัฒนาเส้นใยการสังเคราะห์โปรตีน การงอกของสปอร์และการสร้างสปอร์ของ *Pyricularia oryzae* โดยออกฤทธิ์เหมือน organomercuric fungicide แต่มีความเป็นพิษน้อยกว่าสาร Kasugamycin ผลิตโดย *S. kasugensis* และ *S. kasugaspinus* ออกฤทธิ์ต่อต้านยีสต์และเชื้อรา รวมทั้ง *P. oryzae* และแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Pseudomonas* โดยจะยับยั้งการพัฒนาเส้นใยของ *P. oryzae* ในข้าว ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน แต่ไม่ปรากฏว่ายับยั้งการงอกของสปอร์ (Sato, 1983) Polyoxin ผลิตโดย *S. cacaoi* var. *asoensis* จะไปยับยั้งการสังเคราะห์ไคตินซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของเชื้อราและทำให้เซลล์เกิดการบวม (Isono และคณะ, 1965) นอกจากนี้ Mahadevan และ Crawford (1997) พบว่า *S. lydicus* WYEC108 สามารถสร้าง Chitinase ซึ่งมีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อราได้หลายชนิด โดยสารดังกล่าวจะเข้าไปย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ขณะที่ Ranjeet และคณะ (2002) พบว่า *S. lydicus* WYEC108 นอกจากสามารถควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราได้แล้วยังสามารถเพิ่มขยายจำนวนบริเวณรอบรากต้นถั่ว (*Pisum sativum*) ได้ดี และได้มีการนำมาผลิตในชื่อการค้า Actinovate® (Brain และ Deborah, 2002) เช่นเดียวกับ *S. griseoviridis* ที่ได้นำมาใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ เช่น *Alternaria* sp., *Stemphylium* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Phoma* sp., *Helminthosporium* sp. และ *Botrytis* sp. ซึ่งได้นำมาผลิตในชื่อการค้า Mycostop® นอกจากนี้เชื้อยังสามารถเจริญได้บริเวณรอบรากพืช ทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชเพิ่มมากขึ้นการศึกษาประสิทธิภาพของ *Streptomyces* spp. ในการป้องกันกำจัดโรคพืชชนิดต่างๆ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างการใช้ *Streptomyces* spp. ในการควบคุมโรคพืช

<i>Streptomyces</i> spp.	โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	แหล่งที่มา
<i>Streptomyces</i> sp. S99	Clubroot of crucifers	<i>Plasmodiophora brassicae</i>	Cheah และคณะ (2001)
<i>Streptomyces</i> sp.	Fusarium wilt of tomato	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>Lycopersici</i>	Kopperl และ Mitchell (1998)
<i>Streptomyces</i> sp.	Bacterial leaf spot of pepper	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	Jones และ Samac (1996)
<i>Streptomyces</i> sp. Di-944	Damping-off vegetables	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Sabaratnam และ Traquair (2002)
<i>S. lydicus</i> WYEC180	Seed and root rot	<i>Pythium ultimum</i>	Yuan และ Crawford (1995)
<i>Streptomyces</i> sp. 93	Damping-off of vegetables	<i>Phytophthora</i> sp.	Jones และ Samac (1996)
<i>S. diastatochromogenes</i> PonSSII	Potato scab	<i>Streptomyces scabies</i>	Neeno (2001)
<i>S. viridodiasticus</i>	Basal drop	<i>Sclerotinia minor</i>	Tarabily และคณะ (2000)
<i>Streptomyces</i> sp.	Root rot of soybean	<i>Phytophthora medicaginis</i> , <i>P. sojae</i>	Xiao และคณะ (2001)
<i>S. hygrosopicus</i> 10-22	Rice sheath blight	<i>Pellicularia sasakii</i>	Pang และคณะ (2002)
	Seedling blight	<i>P. filamentosa</i>	
<i>S. exfoliatus</i>	Chocolate spot of faba bean	<i>Botrytis fabae</i>	Mahmoud และคณะ (2004)
<i>Streptomyces</i> sp. AMG-P1	Blights and rots of plan	<i>Phytophthora</i> sp. <i>Pythium</i> sp.	Lee และคณะ (2005)
<i>S. griseorubiginosus</i>	Fusarium wilt of banana	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i>	Cao และคณะ (2005)
<i>Streptomyces</i> sp. Di-944	Damping-off of tomato	<i>Rhizoctonia solani</i>	Sabaratnam และ Traquair (2002)