

## บทที่ 2

### บททวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 คำจำกัดความและบทบาทสำคัญทางนิเวศวิทยาของเชื้อรา

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์จำพวกยูคาริโอต ที่เซลล์มีนิวเคลียสที่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสล้อมรอบอยู่ (de Hoog *et al.*, 2000) ในอดีตเคยจัดเชื้อราอยู่ในอาณาจักรยูคาริโอตา (Eukaryota) ในขณะที่ปัจจุบันได้จัดให้เชื้อราอยู่ในอาณาจักรฟังไจ (Fungi) [Moncalvo, 2005] เชื้อราเป็นตัวแทนของจุลินทรีย์กลุ่มเฮเทอโรโทรฟ (heterotroph) ที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ ไม่สามารถสร้างอาหารเองได้ ผนังเซลล์ประกอบด้วยสารพวกเบต้ากลูแคน ( $\beta$ -glucans) และไคติน (chitin) (Adams, 2004) มีเซลลูโลส (cellulose) หรือไคโตซาน (chitosan) เป็นองค์ประกอบหลัก โดยทั่วไปมีลักษณะรูปร่างเป็นเส้นสาย แตกกิ่งก้านสาขา อาจมีเซลล์เดี่ยวหรือหลายเซลล์ มีนิวเคลียสเห็นเด่นชัด พวกที่มีผนังกันจะมีนิวเคลียสจำนวนหนึ่งหรือสองต่อหนึ่งเซลล์ ส่วนเส้นใยที่ไม่มีผนังกัน (coenocyte) จะมีนิวเคลียสมากมาย (multinucleate mycelium) เชื้อรามีการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (asexually) โดยการสร้างสปอร์ ซึ่งเป็นการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) และขยายพันธุ์แบบใช้เพศ (sexually) โดยมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis) วงชีวิตของเชื้อราส่วนใหญ่ มักมีช่วงระยะเวลาที่มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและแบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า ระยะเวลาโฮโลมอร์ฟ (holomorph) ซึ่งจัดเป็นวงชีวิตที่สมบูรณ์ โดยช่วงระยะที่เกิดการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า ระยะเวลาแอนามอร์ฟ (anamorph/imperfect stage) และระยะที่สร้างสปอร์ที่เกิดการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เรียกว่า ระยะเวลาเทเลมอร์ฟ (teleomorph/perfect stage) เชื้อรานอกจากจะมีรูปร่างเป็นเส้นใย และเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ แล้ว บางชนิดยังมีรูปร่างสองแบบ (dimorphism) คือ ถ้าเจริญในดินหรือในอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้องจะมีรูปร่างเป็นเส้นใย แต่ถ้าเจริญที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสหรือในร่างกายคนจะมีรูปร่างเป็นเซลล์เดี่ยวแบบยีสต์

ปัจจุบันอาณาจักรฟังไจประกอบด้วยสมาชิกจำนวน 6 ไฟลัม เพิ่มเติมจากเดิมที่เคยยอมรับกันไว้ที่ 5 ไฟลัม คือ Phylum Ascomycota, Phylum Basidiomycota, Phylum Chytridiomycota, Phylum Glomeromycota และ Phylum Zygomycota โดยมี Phylum Microsporidia ที่เพิ่มขึ้นมา (de Hoog *et al.*, 2000; Kirk *et al.*, 2008) เชื้อราจัดเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีการศึกษากันน้อย จากที่มีการประมาณจำนวนเชื้อราทั่วโลกไว้ที่ 1.5 ล้านสปีชีส์ (Hawksworth, 1991; 2001; Kirk *et al.*, 2001) โดยค่าประมาณการดังกล่าวได้จากการคำนวณเปรียบเทียบกับจำนวนชนิดของพืชที่มีอยู่ในโลกนี้ (Rodríguez, 2000; ตารางที่ 2.1) โดยพบว่าค่าของการประมาณการมีค่าอยู่ระหว่าง 100,000 (Ainsworth and Bisby, 1943) ถึง 9.9 ล้านสปีชีส์ (Hawksworth, 1991; 2001; Cannon, 1997) แม้ว่าปัจจุบันยังไม่สามารถระบุได้ว่าจำนวนเชื้อราที่แท้จริงมีมากน้อยเท่าใดแน่ชัด แต่นักরাวิชาส่วนใหญ่ก็เชื่อว่ายังมีเชื้อราอีกจำนวนมหาศาลที่รอดอยการค้นพบอยู่ (Dreyfuss and Chapela, 1994; Fröhlich and Hyde, 1999; Arnold *et al.*, 2000)

ตารางที่ 2.1 ค่าโดยประมาณการของจำนวนเชื้อราและพืชที่มีรายงานจากภูมิภาคต่าง ๆ ของโลก

ภูมิภาค (Region)	จำนวนที่มีการรายงาน	จำนวนที่เคยมีการประมาณการไว้	ร้อยละของจำนวนที่เป็น unknown หรือยังไม่มีการค้นพบ
Asia	20,000 (70,000)	600,000 (77,000)	>95 (10)
Europe	25,000 (12,000)	65,000 (12,000)	60 (>1)
Africa	10,000 (60,000)	450,000 (67,000)	>95 (10)
North America	21,000 (18,000)	250,000 (18,000)	>90 (1)
Central and South America	10,000 (85,000)	500,000 (100,000)	>95 (15)
Oceania	6,000 (17,000)	250,000 (21,000)	>95 (20)
Antarctica	750 (2)	1,750 (2)	55 (0)
Global	72,000	1,470,000	95

<sup>a</sup> ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนของพืช

ดัดแปลงจาก Hawksworth and Mueller (2005)

เชื้อรามีบทบาทสำคัญหลายอย่างในระบบนิเวศ เช่น ช่วยในการหมุนเวียนสารอาหารในดิน มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช เป็นดัชนีที่ไวต่อมลภาวะทางอากาศ นอกจากนี้ยังมีความสำคัญทางเศรษฐกิจในแง่ของการเป็นเชื้อราก่อโรคในพืช (Agrios, 2005) และในสัตว์ เป็นแหล่งอาหารแก่สิ่งมีชีวิต สามารถทำให้อาหารเน่าเสีย และทำให้เกิดการย่อยสลายทางชีวภาพ (Alexopoulos *et al.*, 1996; Dighton, 2003; ตารางที่ 2.2) เชื้อราหลายสปีชีส์ยังมีความสำคัญอย่างมากในทางเกษตรกรรม เทคโนโลยีชีวภาพ และอุตสาหกรรมด้านเภสัชศาสตร์และการดูแลสุขภาพ (Alexopoulos *et al.*, 1996; Hyde, 1997) ซึ่งบทบาททางนิเวศวิทยาเหล่านี้ได้มีการรายงานไว้อย่างกว้างขวาง (เช่น ในงานของ Carroll and Wicklow, 1992; Alexopoulos *et al.*, 1996; Guest and Smith, 2002; Santana *et al.*, 2006)

## ตารางที่ 2.2 บทบาททางนิเวศวิทยาของเชื้อรา

	Ecosystem service	Fungal functional group
Soil formation	Rock dissolution	Lichens, Saprotrophs, Mycorrhizae
Providing fertility for primary production	Particle binding	Saprotrophs, Mycorrhizae
	Decomposition of organic residues	Saprotrophs (Ericoid and ectomycorrhizae)
	Nutrient mineralization	Saprotrophs (Ericoid and ectomycorrhizae)
Primary production	Soil stability (aggregates)	Saprotrophs, Arbuscular mycorrhizae
	Direct production	Lichens
	Nutrient accessibility	Mycorrhizae
	Plant yield	Mycorrhizae, Pathogens
	Defense against pathogens	Mycorrhizae, Endophytes, Saprotrophs
Plant community structure	Defense against herbivory	Endophytes
	Plant-plant interactions	Mycorrhizae, Pathogens
Secondary production	As a food source	Saprotrophs, Mycorrhizae
	Population/biomass regulation	Saprotrophs, Mycorrhizae, Pathogens
Modification of pollutants		Saprotrophs, Mycorrhizae
Carbon sequestration and storage		Mycorrhizae (Saprotrophs)

ที่มา: Dighton (2003)

### 2.1.1 คำจำกัดความของเชื้อราเอนโดไฟต์

Wilson (1995) ให้คำจำกัดความของคำว่าเอนโดไฟต์ที่พบมีการใช้กันอย่างแพร่หลายว่า “สิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ช่วงหนึ่งหรือทั้งหมดของวงจรชีวิตอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชที่ปกติโดยไม่ก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืช” เชื้อราเอนโดไฟต์จึงหมายถึงเชื้อราที่ช่วงหนึ่งหรือตลอดทั้งช่วงชีวิตอาศัยอยู่ในพืชโดยไม่ทำให้พืชแสดงอาการเป็นโรค (Wilson, 2000)

นับตั้งแต่มีการค้นพบเชื้อราเอนโดไฟต์ที่เมืองดาร์เนล ประเทศเยอรมนี ในปี 1904 ก็ได้มีการศึกษาด้านนี้เพิ่มขึ้นอีกมากมาย โดยทั่วไปเชื้อราเอนโดไฟต์จะอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืช สามารถแฝงตัวอยู่ในเนื้อเยื่อและมีความสัมพันธ์กับพืช ในปัจจุบันเชื่อกันว่าโลกนี้มีพืชประมาณ 300,000 ชนิด ซึ่งคาดว่าในพืช

แต่ละชนิดจะมีเชื้อราเอนโดไฟต์อาศัยอยู่อย่างน้อยหนึ่งชนิด (Strobel, 1996) หรือมากกว่านั้น ดังนั้นในบรรดาจุลินทรีย์ต่าง ๆ แล้วจึงนับว่าเชื้อราเอนโดไฟต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่น่าสนใจในแง่การศึกษาด้านชีววิทยา

เชื้อราเอนโดไฟต์ที่ค้นพบส่วนใหญ่จะจัดอยู่ในไฟลัม Ascomycota และเป็นเชื้อระยะแอนามอร์ฟที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชอาศัยนั้นมีปริมาณมากน้อยอย่างไรขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อราเอนโดไฟต์จำนวนหนึ่งซึ่งนับเป็นจำนวนเพียงเล็กน้อยที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของพืชอาศัยนั้นด้วย ถึงแม้ว่าเชื้อราชนิดนั้น ๆ จะมีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของพืชอาศัย ก็ไม่ได้หมายความว่าเชื้อราชนิดนั้น ๆ ทุกครั้งที่ทำการแยกเชื้อ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะสภาพของพื้นที่ปลูกของพืชอาศัยนั้นด้วย นอกจากนี้ผลของลักษณะภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และ สภาพแวดล้อมก็มีผลต่อชนิดและจำนวนของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ด้วย (ชินนทร ดวงสะอาด, 2545)

เชื้อราเอนโดไฟต์สามารถพบอาศัยอยู่ในเกือบทุกส่วนของพืช (Stone *et al.*, 2000; Suryanarayanan and Vijaykrishna, 2001; Kumar and Hyde, 2004) ปัจจุบันสามารถพัฒนาเชื้อราเอนโดไฟต์ไปสู่การประยุกต์ใช้ประโยชน์ในหลาย ๆ ด้าน ไม่ว่าจะเป็นใช้ในแง่การยับยั้งศัตรูพืชโดยเฉพาะกลุ่มแมลงและสัตว์กินพืช ตลอดจนช่วยให้พืชมีความทนทานต่อเชื้อก่อโรคและความแห้งแล้ง จึงมีส่วนช่วยในการเพิ่มผลผลิตได้อย่างมาก นอกจากนี้ยังมีเชื้อราเอนโดไฟต์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ที่ทนอุณหภูมิสูง และมีศักยภาพในการสร้างเอนไซม์อีกหลายชนิด อีกทั้งยังสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ชีวภาพบางชนิด เช่น สารต้านแบคทีเรีย สารต้านมะเร็งและสารต้านมาลาเรีย (Wiyakrutta *et al.*, 2004) เป็นต้น

### 2.1.2 บทบาททางชีววิทยาของเชื้อราเอนโดไฟต์

เมื่อเชื้อราเอนโดไฟต์เข้าไปอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช (host) จะทำให้เกิดความสัมพันธ์ที่เป็นประโยชน์ร่วมกันระหว่างพืชและเชื้อรา โดยเชื้อราเอนโดไฟต์ที่อยู่ในพืชจะสร้างสารออกฤทธิ์กลุ่มอัลคาลอยด์และสารพวกมัยโคท็อกซิน (Petrini *et al.*, 1992) ต่อต้านต่อสัตว์ที่มากินพืช (Carroll, 1988; Faeth, 2002) นอกจากนี้เชื้อราเอนโดไฟต์บางชนิดยังสามารถช่วยป้องกันเชื้อราที่ก่อโรค (Christensen and Latch, 1991) ทำให้พืชมีความทนทาน (Arnold *et al.*, 2003) สามารถทนและอยู่รอดได้ในช่วงฤดูแล้ง ซึ่งมีสภาวะไม่เหมาะสมต่อการเจริญเนื่องจากการขาดแคลนอาหารและน้ำอีกทางหนึ่งด้วย

### 2.1.3 เชื้อราเอนโดไฟต์กลุ่ม mycelia sterilia

เป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ที่ไม่มีการสร้างสปอร์ ซึ่งเป็นเชื้อรากลุ่มหลักที่พบในการจัดกลุ่มของเชื้อราที่สร้างสปอร์และไม่สร้างสปอร์ (Currah and Tsuneda, 1993) ซึ่งเชื้อรากลุ่มนี้สามารถคัดแยกจากพืชแต่ละชนิดได้ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน (Promputtha, 2006) สามารถศึกษาเชื้อราในกลุ่มนี้โดยดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ อาทิเช่น ลักษณะโคโลนี การสร้างเส้นใย การสร้างสารสี และรูปแบบการเจริญของเชื้อรา (Bills, 1996; Umali *et al.*, 1999; Fröhlich *et al.*, 2000) อย่างไรก็ตามสำหรับเชื้อรากลุ่ม mycelia sterilia นี้ ในปัจจุบันยังไม่สามารถระบุลักษณะกลุ่มสัณฐานวิทยาที่แน่นอนได้ (Guo *et al.*, 2000, 2003) การจัดจำแนกเชื้อในกลุ่มนี้จึงต้องใช้เทคนิคทางอนุชีววิทยาเข้ามาช่วยอีกทางหนึ่ง



ตัวอย่างการศึกษาหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อราที่แยกจากพืชอื่นนอกเหนือไปจากพืชสมุนไพร คือ การศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์ของพืชตระกูลหญ้า *Thysanoleana latifolia* ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่า เชื้อรา *Periconia siamensis* (strain CMUGE015) ซึ่งเป็นเชื้อเอนโดไฟต์ชนิดใหม่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, MRSA (Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus*) และ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ก่อให้เกิดโรคหลายชนิด (Bhilabutra *et al.*, 2007)

### 2.1.5 คำจำกัดความและบทบาททางชีววิทยาของเชื้อราแซฟโพรบ

Hawksworth *et al.* (1995) และ Kirk *et al.* (2001, 2008) ให้คำจำกัดความในพจนานุกรมของเชื้อราว่าแซฟโพรบเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยซากสิ่งมีชีวิตอื่นเป็นอาหาร อาทิเช่น ซากพืชและซากสัตว์ และโดยทั่วไปมักจะทำให้ซากสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ เกิดการย่อยสลาย เชื้อราแซฟโพรบจึงเป็นจุลินทรีย์สำคัญที่ทำให้หน้าที่ในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ โดยมีความสามารถในการย่อยสลายโครงสร้างเชิงซ้อน เช่น โครงสร้างของเนื้อไม้และเปลือกของแมลงที่มีความซับซ้อนมาก โดยเชื้อราจะผลิตสารบางอย่างออกมาทางผนังเซลล์เพื่อใช้ในการย่อยโครงสร้างเหล่านั้น (de Hoog *et al.*, 2000) โดยปกติเชื้อราแซฟโพรบจะอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชที่ตายแล้ว (เช่น กิ่งไม้ ใบไม้ ขอนไม้) และเพราะความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและลิกนินซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเนื้อไม้ ทำให้เชื้อราแซฟโพรบเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญยิ่งต่อระบบนิเวศ โดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่ม basidiomycetes และกลุ่ม white rot fungi และบางสปีชีส์ในกลุ่ม Hyphomycetes (เช่น *Aspergillus fumigatus*, *Coriolus versicolor* เป็นต้น) นอกจากนี้ผลที่ได้จากการย่อยสลายซากสิ่งมีชีวิตยังส่งผลในการเพิ่มจำนวนอิวมัสให้มากขึ้น จึงเป็นประโยชน์โดยตรงต่อการหมุนเวียนของวัฏจักรสารอาหาร

### 2.1.6 การดำรงชีวิตของเชื้อราแซฟโพรบ

ข้อแตกต่างที่เชื้อราอาศัยอยู่เพื่อการเจริญหรือดำรงชีวิตนั้น อาจจะทั้งมีชีวิตหรือไม่มีชีวิต โดยทั่วไปสามารถแบ่งเชื้อราตามรูปแบบของการได้มาของสารอาหารในการดำรงชีวิตได้เป็น 3 กลุ่ม คือ เชื้อรากลุ่มปรสิต เชื้อราเอนโดไฟต์ และเชื้อราแซฟโพรบ (Kodsueb, 2007) โดยเชื้อราแต่ละกลุ่มจะมีความสามารถในการใช้สารประกอบอินทรีย์ เช่น สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน ได้แตกต่างกัน โดยเชื้อราในกลุ่มปรสิต จะเป็นจุลินทรีย์ที่ดำรงชีวิตโดยการเข้าไปอาศัยในสิ่งมีชีวิตอื่น (Kirk *et al.*, 2001) และจะดูดแย่งอาหารจากสิ่งมีชีวิตที่มันเข้าไปอาศัยอยู่ (host) จนเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคแก่ host ของมัน ในขณะที่เชื้อรากลุ่มเอนโดไฟต์เป็นเชื้อราที่มีการดำรงชีวิตอยู่ในเนื้อเยื่อของพืช (Petrini, 1991) โดยไม่ทำให้เกิดโรคต่อพืชที่เชื้อราเข้าไปอาศัย และเชื้อราในกลุ่มแซฟโพรบเป็นเชื้อราที่พบมีการดำรงชีวิตอาศัยอยู่บนซากของสิ่งมีชีวิต โดยได้รับอาหารจากการย่อยสลายซากอินทรีย์วัตถุเหล่านั้น จึงเป็นที่รู้จักกันโดยทั่วไปในการเป็นสาเหตุของการเน่าเปื่อยผุพังของอินทรีย์วัตถุ (Hawksworth *et al.*, 1983; Cook and Rayner, 1984; Dix and Webster, 1995) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาในปัจจุบันพบว่าเชื้อราหลายชนิดสามารถเปลี่ยนรูปแบบการดำรงชีวิตในวงจรชีวิตของมัน ทำให้เชื้อกลุ่มนี้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ทั้งในซากพืชที่ตายแล้วหรือยังมีชีวิตอยู่โดยการปรับเปลี่ยน mode of life ไปตามลักษณะ host ที่มันอาศัยอยู่ (Boddy and Griffith, 1989; Fisher and Petrini, 1992; Sridhar and Raviraja, 1995) โดยมีงานวิจัยหลายชิ้นที่สนับสนุนแนวความคิดการเปลี่ยนแปลงของเชื้อราเอนโดไฟต์ไปเป็นเชื้อราก่อโรคเมื่อพืชอ่อนแอ หรือเปลี่ยนเป็นเชื้อราแซฟโพรบเมื่อพืชร่วงหล่นจากต้นหรือตายไป (Photita *et al.*, 2004; Promptuttha *et al.*, 2007)

## 2.2 พรรณไม้วงศ์จำปี (Magnoliaceae)

พรรณไม้วงศ์จำปีเป็นพรรณไม้ที่มีความเก่าแก่ดึกดำบรรพ์ที่สุดในหมู่ของไม้ดอกที่มีอยู่ในปัจจุบัน มีวิวัฒนาการในการปรับตัวเพื่อความอยู่รอดต่ำ จึงมีโอกาที่จะสูญพันธุ์ในธรรมชาติได้ตลอดเวลา ผลจากการขุดค้นพบซากของไดโนเสาร์ที่มีอายุหลายล้านพันปีที่ซานกรุงปักกิ่ง พบมีซากดอกแมกโนเลียที่มีลักษณะใกล้เคียงกับในปัจจุบันติดมาด้วย ซึ่งเป็นเครื่องยืนยันได้ว่าแมกโนเลียมีวิวัฒนาการน้อยมาก จากการสำรวจการกระจายพันธุ์ในประเทศไทย พบว่าหลายชนิดมีการกระจายพันธุ์ต่ำมาก จนอาจทำให้อยู่ในสถานะที่ใกล้จะสูญพันธุ์ได้มากที่สุด (ปิยะ เฉลิมกลิ่น, 2545) พรรณไม้ในวงศ์จำปีที่มีอยู่ในประเทศไทยในปัจจุบันมีอยู่ 3 สกุล คือ สกุลจำปี (*Magnolia*) สกุลจำลา (*Pachylarnax*) และสกุลมณฑา (*Manglietia*) โดยพบมีการกระจายตัวอยู่บนภูเขาหรือริมธาร ตามยอดดอยสูง ที่มีอากาศเย็นและชื้น

### 2.2.1 พรรณไม้สกุลมณฑา (*Manglietia*)

พรรณไม้สกุลนี้จากการสำรวจทั่วโลกพบว่า มี 29 ชนิด มีถิ่นกำเนิดในเอเชียเขตร้อนและเขตอบอุ่น สำหรับในประเทศไทยมีการสำรวจพบเพียง 4 ชนิด คือ มณฑาป่า มณฑาจิรา จำปีหลวง และมณฑาขาว อ่างช้าง (ปิยะ เฉลิมกลิ่น, 2545)

#### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นมณฑาป่า (*Manglietia garrettii* Craib) (ภาพที่ 2.1)

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Manglietia garrettii* Craib

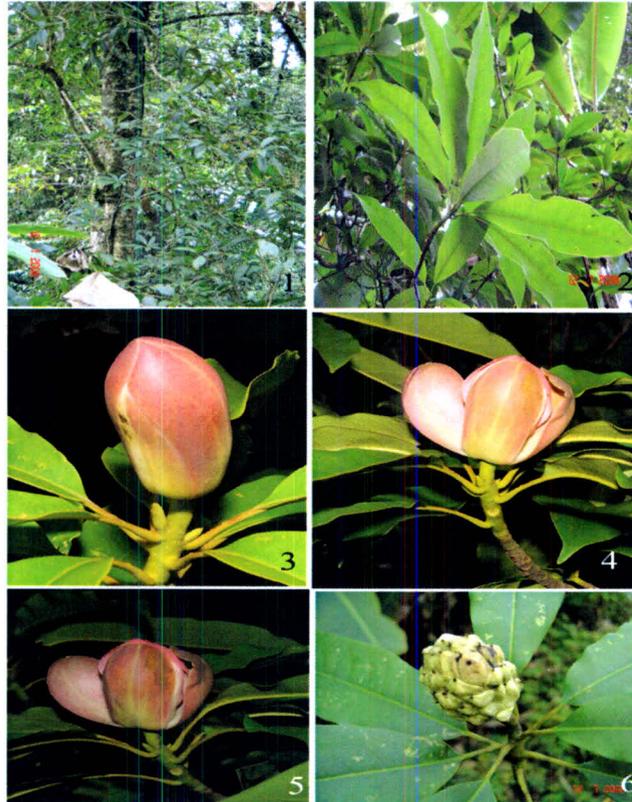
ชื่อวงศ์ : Magnoliaceae      ชื่ออื่น: มณฑาดอย มะอังก (เชียงใหม่)

เป็นไม้ต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง สูงได้ประมาณ 20 เมตร ใบเดี่ยวเรียงสลับ ใบค่อนข้างหนา รูปรีหรือรูปขอบขนาน ยาว 18-30 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลม หรือแหลมสั้น ๆ โคนใบรูปกลมหรือกลม เส้นแขนงใบ 15-25 คู่ ก้านใบยาว 3-5 เซนติเมตร โคนก้านใบป่อง มีขนสั้นสีน้ำตาลหนาแน่นปกคลุม ดอกออกเดี่ยว ๆ ตามปลายกิ่ง ตาดอกรูปขอบขนาน ปลายแหลม ยาว 6-7 เซนติเมตร สีน้ำตาลอมเขียว ก้านดอกยาว 2.5-4 เซนติเมตร กลีบรวมสีม่วงอมเขียวและแดง อวบน้ำ รูปขอบขนานแกมรูปไข่กลับ กลีบด้านนอกยาว 6-9 เซนติเมตร ขอบกลีบห่อและปลายกลีบโค้งเข้า กลีบด้านในแคบและเล็กกว่าเล็กน้อย มีสีเข้มกว่ากลีบด้านนอก เกสรเพศผู้จำนวนมาก ยาว 1-1.5 เซนติเมตร ปลายมีรังไข่สั้น ๆ ยาวประมาณ 0.3 เซนติเมตร รังไข่ไร้ก้าน มีคาร์เพลจำนวนมาก ผลกลุ่ม รูปไข่หรือทรงกระบอก ยาว 4-12 เซนติเมตร ผลย่อยแตกอ้า ยาว 0.5-1.5 เซนติเมตร ห้อยลง มีจะงอยสั้น ๆ เมล็ดสีแดงรูปรีแบน ยาวได้ประมาณ 1 เซนติเมตร มณฑาป่ามีเขตการกระจายพันธุ์เฉพาะจีนตอนใต้ (ยูนนาน) เวียดนาม และภาคเหนือของไทย พบที่จังหวัดเชียงใหม่ (ดอยอินทนนท์และดอยสุเทพ-ปุย) เชียงราย แม่ฮ่องสอน น่าน พิชณุโลก และตาก ขึ้นในป่าดิบเขา ระดับความสูง 1000-1850 เมตร (ที่มา: สำนักงานหอพรรณไม้, 2555)

### 2.2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชวงศ์จำปี

พืชในวงศ์ Magnoliaceae มีรายงานการเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิด สารออกฤทธิ์ที่สกัดแยกได้จากพืชในวงศ์นี้ประกอบไปด้วยสารกลุ่มต่าง ๆ ยกตัวอย่างเช่น Neolignans เช่น magnolol 1 และ honokiol 2 ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น anti-HIV (Amblard *et al.*, 2007; Chinsembu and Hedimbi, 2010), sesquiterpenes (El-Ferally and Chan, 1978; El-Ferally *et al.*, 1979; El-Ferally, 1984; Luo *et al.*, 2001), biphenyls (El-Ferally and Li, 1978), lignan glycosides (Rao and Wu, 1978) และ alkaloids (Nakano, 1954; Barros *et al.*, 2009; Stefanello and Alvarenga, 1997;

Stafenello *et al.*, 2002; 2009) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านเชื้อรา (Ahmed and Abdelgaleil, 2005; Wu *et al.*, 2012) และ sesquiterpene lactone costunolide ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และช่วยลดไข้ (antipyretic) [Kassuya *et al.*, 2009] ตลอดจนสามารถระงับปวด (antinociceptive) [Mori *et al.*, 2011] นอกจากนี้ยังมีสารอื่น ๆ ที่มีคุณสมบัติเป็น anti-oxidant, antimicrobial และ antitumor (Patočka *et al.*, 2006) จึงพบมีการใช้ประโยชน์จากพืชวงศ์นี้ในแง่การเป็นพืชสมุนไพรอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะในประเทศจีนและญี่ปุ่น (Sarker and Maruyama, 2002)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะใบ ดอก และผลของมณฑาป่า

### 2.3 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี หมายถึง การลดปริมาณประชากรและลดกิจกรรมของเชื้อโรคพืชที่จะก่อให้เกิดโรคให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืชโดยอาศัยสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ซึ่งรวมถึงพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) ตลอดจนสารพันธุกรรมหรือผลิตภัณฑ์จากสารพันธุกรรม (genes or gene products) ของสิ่งมีชีวิต (นิตยา โนคำ, 2552) ในธรรมชาติมีสิ่งมีชีวิตหรือจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืช และแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีกลไกหรือวิธีการเป็นศัตรูต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชอยู่ 4 รูปแบบประกอบด้วย

1. การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) หมายถึง การสร้างผลิตภัณฑ์จากกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งมักมีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ที่สามารถยับยั้งหรือทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ เช่น เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Phaenibacillus lentimorbus* สายพันธุ์ CBCA-2 สามารถ

สร้างปฏิชีวนสารที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Botryosphaeria dothidea* โดยทำให้เส้นใยและสปอร์เกิดการสลาย (lysis) หรือมีรูปร่างผิดปกติไปจากเดิม (Chen, 2003) แบคทีเรียปฏิชีวนสารบางชนิดสามารถผลิตเอนไซม์เพื่อยับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคได้ เช่น *Bacillus subtilis* และ *B. lentimorbus* ที่สามารถผลิตเอนไซม์มาย่อยผนังเซลล์ของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้ (Montealegre et al., 2003) ปัจจุบันยังมีการค้นพบสารระเหยจากเชื้อรา *Muscodor albus* ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium digitatum* และเชื้อรา *Geotrichum citri-aurantii* สาเหตุโรค green mold ของส้มและมะนาวได้ (Mercier and Smilanick, 2005)

**2. การแข่งขัน (competition)** หมายถึง การแข่งขันระหว่างสิ่งมีชีวิตสองหรือมากกว่าสองชนิดที่มาอยู่ร่วมกันในด้านต่าง ๆ เช่น ที่อยู่อาศัย แหล่งอาหาร ก๊าซออกซิเจนและสารที่จำเป็นต่อการเจริญตัวอย่างเช่น การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ในยุคาลิปต์สของจีน ด้วยการใส่เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Pseudomonas* ไปแข่งตรึงธาตุเหล็กไปใช้ จนเชื้อโรคขาดธาตุเหล็กและไม่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ (Ran et al., 2005) ซึ่งในปัจจุบันได้มีการใช้จุลินทรีย์หลายชนิดร่วมกันเพื่อเอื้อประโยชน์แก่กันและกันและเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืช เริ่มได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น ดังเช่นการใช้เชื้อราไมคอร์ไรซาร่วมกับจุลินทรีย์ปฏิชีวนสารหลายชนิดในการควบคุมโรครากเน่าในไม้ดอกที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium solani* และ *Macrophomina phaseolina* พบว่าการใช้เชื้อไมคอร์ไรซา (VAM) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเด่นในการตรึงธาตุฟอสฟอรัสและเจริญอยู่ในรากพืชได้ดินนั้น สามารถยักระยะเวลาการเจริญครอบครองบริเวณผิวราก (rhizosphere colonization) ของเชื้อปฏิชีวนสารทั้ง 3 ชนิด นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มเอนไซม์ chitinase ในพืชและส่งเสริมการเจริญของพืชให้ดียิ่งขึ้น (Wafaa et al., 2001)

**3. การเป็นเชื้อปรสิตและตัวทำ (parasitism and predation)** หมายถึงกรณีที่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิชีวนสาร ซึ่งเจริญอยู่ใกล้เคียงหรือบนส่วนของเชื้อโรคพืชเข้าทำลายเชื้อโรคพืชเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหาร หรือสารประกอบต่าง ๆ จากเชื้อโรคพืช ตัวอย่างเช่น เชื้อรา *Trichoderma* spp. ซึ่งเป็นปรสิตที่สำคัญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด

**4. การชักนำให้พืชต้านทานต่อเชื้อโรค (induction of resistance in plant)** เป็นกลไกที่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิชีวนสารไปกระตุ้นให้ต้นพืชสร้างกลไกหรือสร้างสารต่าง ๆ ที่มีผลในการต่อต้านหรือยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช กลไกดังกล่าวอาจเกิดจากสปอร์หรือเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิชีวนสารโดยตรง หรืออาจเกิดจากผลผลิตของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิชีวนสาร ตัวอย่างเช่น เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ CHAO สามารถกระตุ้นให้มะเขือเทศผลิต salicylic acid (SA) ซึ่งเป็นสารที่สำคัญต่อกระบวนการกระตุ้นให้เกิดความต้านทานในพืช จนพืชสามารถต้านทานการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica* ทำให้ตัวอ่อนตายและปริมาณไส้เดือนฝอยลดลงจนไม่ทำให้เกิดโรค (Siddique and Shaukat, 2004) โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิชีวนสารที่มีรายงานเกี่ยวกับความสามารถในการชักนำให้พืชต้านทานโรคมามากที่สุดคือ เชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยพบว่าสามารถกระตุ้นการผลิตสาร phytoalexin ในพืช หรือผลิตสารเพื่อต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อโรคพืชหลายชนิดทั้งในกลุ่มเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อไวรัส (Harman et al., 2004)

## 2.4 โรคแอนแทรคโนสกล้วย (Anthracnose of Banana)

เป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งของกล้วย พบทำความเสียหายต่อทั้งปริมาณและคุณภาพของผลผลิตกล้วยจำนวนมาก สาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อ *C. musae* ซึ่งสามารถเข้าทำลายผลิตผลได้ทุกส่วน เช่น ส่วนของขั้วหวี (crown) ปลายผล หรือเป็นจุดบนผิวของผลและใบ ลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโดยการเข้าทำลายแฝง และการเข้าทำลายหลังการเก็บเกี่ยว ในการเข้าทำลายแฝงนั้นผลกล้วยจะได้รับเชื้อราตั้งแต่ผลยังดิบอยู่ เชื้อราจะผ่านเข้าทางคิวดิเคิลโดยตรง และพักตัวอยู่ในรูปของเส้นใยใต้ผิวของเปลือก ทำให้ต้านทานต่อสารเคมี เมื่อผลสุกเชื้อราจะเจริญและทำให้เกิดอาการของโรค การเข้าทำลายในระยะเก็บเกี่ยวหรือหลังเก็บเกี่ยว จะเกิดอาการของโรคทันทีหลังจากผลกล้วยได้รับเชื้อ และมักเข้าทำลายทางแผลที่เกิดขึ้นระหว่างการเก็บเกี่ยวหรือขนส่ง (दनัย บุญยเกียรติ, 2543) นอกจากนี้เชื้อรา *C. musae* อาจจะทำลายผลกล้วยตั้งแต่ในแปลงปลูกหรือในระหว่างการขนส่ง โดยไม่ทำให้กล้วยแสดงอาการของโรค และจะแสดงอาการแอนแทรคโนสเมื่อกล้วยเริ่มสุก (นิตยา โนคำ, 2552)

### อนุกรมวิธานและลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Colletotrichum musae*

Classification Kingdom : Fungi

Division : Ascomycota

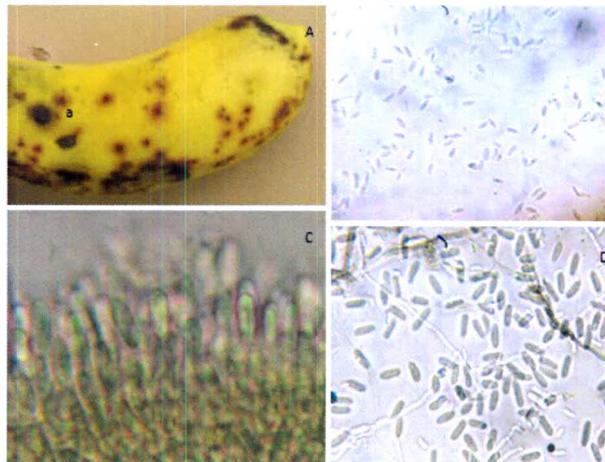
Class : Sordariomycetes

Order : Phyllachorales

Family : Phyllachoraceae

Genus : *Colletotrichum*

เชื้อรา *C. musae* สร้าง conidia บน conidiophore ขนาดสั้น ในโครงสร้างสืบพันธุ์ แบบ acervulus conidia รูปรีมีเซลล์เดียว ไม่มีสี มีขนาด 12-17 x 4.5-5.5 ไมโครเมตร ไม่พบ setae และมีเชื้อรา *Glomerella musarum* เป็น perfect stage สร้าง ascocarp ที่ภายในมี ascus จำนวนมาก ซึ่งบรรจุ ascospore เซลล์เดียวอยู่ใน ascus (Sutton, 1992)



ภาพที่ 2.2 ลักษณะของเชื้อรา *Colletotrichum musae*

A=ลักษณะของเชื้อรา *C. musae* ที่เกิดบนผลกล้วยหอมทอง

B=ลักษณะ Conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

C=ลักษณะ Conidia และ conidiophore ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

D=ลักษณะเส้นใย และ Conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

## 2.5 ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค

Postmaster *et al.* (1997) รายงานว่า yeast ที่แยกได้จากผลกล้วยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum musae* ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ โดยทดสอบในใบกล้วยด้วยวิธี detached leaf ให้ผลดีกว่าการทดสอบในผลกล้วยและในจานอาหาร

อุดมลักษณ์ เทียนถาวร (2545) ได้รายงานเชื้อรา mycelia sterilia G155 และเชื้อรา *Cladosporium* sp. ซึ่งแยกได้จาก *Euphorbia thymifolia* Linn. ที่เก็บจากบริเวณมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สามารถสร้างสารต้านเชื้อราที่ยับยั้งการเจริญของ *Colletotrichum musae* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกล้วยได้

จินนัทนา จอมดวง และวิชา สะอาดสุด (2546) นำเชื้อ *Gliocladium virens* มาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยว พบว่าเชื้อรา *G. virens* สามารถยับยั้งการเจริญและการเข้าทำลายเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวได้ผลดีเป็นที่น่าพอใจ

Lixiang *et al.* (2004) ได้แยกเชื้อแอคติโนมัยซีตเอนโดไฟต์จากผิวรากของกล้วย แล้วใช้ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* สาเหตุโรคตายพรายของกล้วย พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีตเอนโดไฟต์ จำนวน 24 ไอโซเลต (18.3%) มีประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุได้ดี

สุทธิพงษ์ วทานิยเวช (2547) ได้ทดลองใช้เชื้อราเอนโดไฟต์ *Acremonium* sp., *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Nigrospora* sp. และ *Phomopsis* sp. ที่แยกได้จากใบข้าวโพด มาแช่เมล็ดข้าวโพดก่อนนำไปปลูก พบว่าเมล็ดข้าวโพดที่แช่ใน inoculum ของเชื้อรา *Acremonium* sp. แสดงระดับความเสียหายจากโรคใบไหม้แผลใหญ่ต่ำที่สุด และเมื่อทำการฉีดพ่นด้วย spore suspension ของเชื้อราเอนโดไฟต์ก่อนและหลังทำการปลูกเชื้อราสาเหตุลงบนต้นกล้าข้าวโพดที่อายุ 3 สัปดาห์ พบว่ากล้าข้าวโพดที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อรา *Acremonium* sp. แสดงระดับความเสียหายต่ำที่สุด ทั้งก่อนและหลังปลูกเชื้อราสาเหตุ

ชไมพร สุริยศ (2548) ได้ทดลองนำเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. และ *Penicillium* sp. ที่แยกได้จากผิวใบของสตรอเบอรี่ มาควบคุมใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum musae* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกล้วย พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum musae* ได้ดีที่สุดที่ 88.61 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อราปฏิปักษ์ *Penicillium* sp. สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum musae* ได้ที่ 51.46 เปอร์เซ็นต์

วิพรพรรณ เนื่องเม็กและสายสมร ลำยอง (2549) ทำการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากชิ้นส่วนใบ ก้าน และกาบกล้วยป่า (*Musa* sp.) ซึ่งเก็บจาก 4 แหล่งเก็บในจังหวัดพะเยา น่านและกำแพงเพชร พบว่าเชื้อราที่พบมากที่สุดคือเชื้อราในกลุ่ม Xylariaceae ซึ่งแยกได้จากใบแต่กลับไม่พบในส่วนของก้านและกาบ ในขณะที่เชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบมากในส่วนของก้านและกาบ และสามารถแยกได้จากตัวอย่างกล้วยที่เก็บมาจากทุกแหล่งเก็บ จากตัวอย่างกล้วยที่เก็บจำนวน 800 ตัวอย่าง พบเชื้อราแซบโพรบทั้งหมด 46 ชนิด ประกอบด้วยเชื้อราในกลุ่ม Ascomycetes 5 ชนิด และเชื้อราในกลุ่ม anamorphic fungi 41 ชนิด (Coelomycetes 3 ชนิด และ Hyphomycetes 38 ชนิด) และจากการศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อราเอนโดไฟต์ เชื้อราแซบโพรบและเชื้อราสาเหตุโรคกล้วย พบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อราแซบโพรบมากกว่าเชื้อราสาเหตุโรค เมื่อทดสอบความสามารถในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ของเชื้อราเอนโดไฟต์ในงานทดลองพบว่าเชื้อรา *Cordana* sp. (KPP4-3) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. musae*

ได้สูงสุด (90%) โดยเชื้อราเอนโดไฟต์มีการเจริญอย่างรวดเร็วเจริญคลุมเชื้อทดสอบ ในขณะที่เชื้อรา *Nodulisporium* sp. (JWL1-8) สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้โดยการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ

เกศินี แก้วมาลา (2551) ได้ทดลองนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 4 ไอโซเลต มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสถั่วเหลือง พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 4 ไอโซเลต ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูง เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในระยะต้นอ่อนของถั่วเหลืองพันธุ์ ชม. 60 และ สจ. 5 ในสภาพโรงเรือน พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลตที่ 3 และ 4 ช่วยลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสในต้นอ่อนของถั่วเหลืองได้

นิตยา โนคำ (2552) ศึกษาการควบคุมโรคแอนแทรคโนสด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์ โดยแยกเชื้อจากใบและก้านกล้วยไข่พันธุ์เกษตรศาสตร์ 2 และผลกล้วยไข่พันธุ์พื้นเมือง ด้วยวิธี triple surface sterilization สามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ได้ทั้งสิ้น 314 ไอโซเลต จากการทดสอบความสามารถของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ในกาเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *C. musae* ด้วยวิธี dual culture พบว่า เชื้อรา mycelia sterilia ไอโซเลต 5 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุ รongลงมาคือเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. ไอโซเลต 4 ซึ่งยับยั้งได้ระหว่าง 54.07%- 57.40% เมื่อนำเชื้อราเอนโดไฟต์ Mycelia Sterilia ไอโซเลต 5 มาวินิจฉัยพบว่าเป็นเชื้อรา *Sarcopodium* sp. และเมื่อนำ *Sarcopodium* sp. *Curvularia* sp. ไอโซเลต 4 และ *Alternaria* sp. มาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนใบในสภาพโรงเรือน พบว่ากรรมวิธีที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อรา *Sarcopodium* sp. ก่อนปลูกเชื้อสาเหตุทำให้เกิดโรคในระดับต่ำสุดที่ 1.67%