บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง
(Literature Reviews)

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

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

เชื้อราและความสำคัญในการก่อโรค

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

โรคพืชที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา

1. โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อราฟิวซาเรียม (Fusarium wilt)

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

กลไกของการเกิดอาการเหี่ยวเนื่องจากเชื้อรา

1) เกิดจากการทวีจำนวนของเชื้อราสาเหตุโรค เมื่อเชื้อราเข้าไปตั้งรกรากในท่อลำเลียงน้ำของพืชได้ จะดูดสารอาหารและสิ่งจำเป็นของพืชมาใช้ในการเจริญเติบโต กลุ่มของเส้นใยที่แผ่ขยายมากขึ้นจะทำให้เกิดการอุดตัน ไม่สามารถลำเลียงน้ำได้สะดวก

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

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

2. โรคเน่าคอดินของกล้าพืช (Damping off of seedlings)

สาเหตุโรค *Pythium* sp. *Phytophthora* sp. *Sclerotium* sp. *Rhizoctonia* sp. *Fusarium* sp. ลักษณะอาการ เชื้อราที่เป็นจะเข้าทำลายได้ตั้งแต่พืชอยู่ใต้ดิน โดยทำลายส่วนยอดและรากทำให้ต้นกล้าที่เพิ่งจะงอกออกจากเมล็ดตายก่อนที่จะโผล่ขึ้นมาเหนือดิน เราเรียกอาการในระยะนี้ว่าอาการเน่าก่อนการงอก (pre-emergence damping off) หรือเมล็ดเน่า (seed rot) แต่ถ้าเชื้อเข้าทำลายตรงโคนต้นกล้าที่อยู่ระดับดิน ในขณะที่ต้นกล้าโผล่ขึ้นมาเหนือดิน โคนต้นกล้ามีรอยช้ำสีน้ำตาลทำให้ต้นกล้าหักพับลง และแห้งตายในที่สุด ในแปลงเพาะกล้ามักจะมีต้นกล้าล้มตายเป็นหย่อม ๆ อาการระยะนี้เรียกว่า อาการเน่าหลังการงอก (post – emergence damping off) (สุนทรี, 2525)

3. โรคแอนแทรคโนสของพริก (Anthracnose of Pepper)

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

ปัญหาและผลกระทบของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

ศัตรูพืชสร้างความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้กำจัด สารเคมีสังเคราะห์กำจัดศัตรูพืชได้ถูกนำมาใช้เมื่อประมาณ 50 ปีที่ผ่านมา ก่อให้เกิดปัญหาตามมามากมาย ประการแรกก็คือ พิษตกค้างที่ก่อให้เกิดมลภาวะในสภาพวดล้อม แต่ที่สำคัญที่สุดคือในขณะที่มีการใช้สารเคมีมากขึ้น ๆ นั้น สารเคมีกลับมีประโยชน์น้อยลง นั่นคือศัตรูพืชที่มนุษย์ต้องการกำจัดให้สิ้นซาก กลับสร้างความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้กำจัดมากขึ้น จนในปัจจุบันศัตรูพืชกว่า 250 ชนิดได้สร้างความต้านทานแล้ว (สิริวัฒน์, 2523)

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

ปัญหาการระบาดเพิ่มมากขึ้นของศัตรูพืชหลังจากการใช้สารเคมี

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

ปัญหาพิษตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในสภาพแวดล้อม

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

ปัญหาสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในโซ่อาหาร (Food chains)

สารกำจัดศัตรูพืชนอกจากจะอยู่ในดินที่ใช้ปลูกพืชหรือในดินที่ได้รับการฉีดพ่น สารกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้ยังสามารถกระจายไปที่อื่นที่ไม่เคยมีการฉีดพ่นสารกำจัดศัตรูพืชมาก่อนด้วย การชะล้างของน้ำฝนหรือน้ำที่ใช้ในการเกษตรกรรมต่าง ๆ หรือโดยลม ทำให้สารกำจัดศัตรูพืชหมุนเวียนในระบบ

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

การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี : ทางเลือกใหม่ของเกษตรกรไทย

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

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

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

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

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

แนวคิดในความพยายามศึกษาเพื่อนำกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มาใช้เป็น biopesticides ในการป้องกันกำจัดโรคพืช แทนการใช้ chemical pesticides เพื่อลดค่าใช้จ่ายในการซื้อสารเคมี และรักษาสมดุลย์ของสภาพแวดล้อมไว้ให้นานที่สุด ได้แนวคิดริเริ่มมาจากการที่ได้มีการแนะนำการใช้สาร EM (Effective Micro-organisms) ซึ่งเป็นประชากรรวมของจุลินทรีย์หลากชนิดมาใช้เป็นปุ๋ยธรรมชาติ ประกอบกับการรายงานว่ามีแบคทีเรียหลายสกุล สามารถผลิตสารที่ออกฤทธิ์เป็น biopesticides ได้ดี และควรได้รับความสนใจนำมาใช้ในการผลิต biopesticides เชื้อเหล่านี้ได้แก่แบคทีเรียใน genus *Pseudomonas* sp. และ *Bacillus* sp. โดยเฉพาะ *Pseudomonas fluorescence* สามารถสร้างสารต้าน fungal root pathogens (Weller1988) สามารถสร้างสารปฏิชีวนะชะงักการเจริญของโรคในปลาซึ่งมีเชื้อต้นเหตุคือ *Vibrio anguillarum* (Gram et.al., 1999) สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช สาร antimicrobial metabolites เหล่านี้คือ 2,4-diacetylphloroglucinol, pyoluteorin, hydrogen cyanide, pyoverdine, salicylic acid และ pyochelin (Schmidli-Sacherer et. al., 1997) Ellis และคณะ (1999) ยังรายงานว่า *Pseudomonas fluorescens* 54/96 ที่คัดเลือกจาก rhizosphere ของต้น sugar beet สามารถสร้าง

สารยับยั้งโรคเชื้อราทินเมล็ดอย่างได้ผล นอกจากนั้น สารดังกล่าวยังมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Pythium ultimum* ซึ่งถือว่าเป็นต้นเหตุของโรค damping-off disease นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* DR54 สร้างสารที่เป็นปรปักษ์ต่อเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรค potato ring rot, black root rot ในต้นยาสูบ (Nielsen et. al.,1998) เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* strain Pf1 ได้ถูกผลิตในรูปของแป้งฝุ่น เพื่อผสมคลุกเคล้ากับเมล็ดข้าว เมื่อนำไปเพาะ เจริญขึ้น เชื้อแบคทีเรียจะแพร่กระจายไปสู่ราก ลำต้น และใบ ป้องกันต้นข้าวจากโรค rice blast ซึ่งมีเชื้อ *Pyricularia oryzae* เป็นต้นเหตุ (Vidhyasekaran, 1997) และยังป้องกันโรค damping-off disease ของหัว sugarbeet จากเชื้อรา *Pythium* spp.(Moenne-Loccoz, 1999) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้ส่วนใสจากน้ำเลี้ยงเชื้อ (cell-free culture filtrates) ของเชื้อ *Pseudomonas antimicrobica* ที่มีผลต้านโรคราสีน้ำตาลชื่อ *Botrytis cinerea* ทั้งในการทดสอบแบบ in vitro และ in vivo (Walker et.al., 1996) Clarkson และ Lucas (1997) ยังมีรายงานอีกว่า cell-free cell-free culture filtrate ใน nutrient broth ของ *Pseudomonas fluorescens* สามารถยับยั้งการเจริญ และการงอกของสปอร์ของเชื้อ *Pseudocercosporella herpotrichoides* ซึ่งเป็นต้นเหตุของโรค eyespot disease ในต้นธัญญะพืช

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

การผลิตสารออกฤทธิ์ชนิดต่างๆ ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ส่วนมากจะใช้กากน้ำตาล (molasses) เป็นวัตถุดิบในการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบันนี้พบว่าอุตสาหกรรมการผลิตสารเคมีหรือเอนไซม์ต่างๆ ที่ใช้จุลินทรีย์เป็นฝ่ายผลิตทั้งในประเทศและต่างประเทศมักจะใช้กากน้ำตาล (molasses) เป็นวัตถุดิบจึงทำให้มีการส่งออกเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้กากน้ำตาล มีราคาสูง เนื่องจากไม่ใช่ของเหลือทิ้งจากโรงงานน้ำตาลอีกต่อไป ดังนั้นหากใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ จะทำให้ราคาต้นทุนของการผลิตสารออกฤทธิ์สูงขึ้นไปด้วย ดังนั้นจึงควรเลือกวัตถุดิบที่หาง่าย มีจำนวนมาก ราคาถูกหรือไม่ต้องซื้อ แหล่งวัตถุดิบที่น่าสนใจนำมาใช้คือเนื้อแป้งจากมาจากน้ำเสียของโรงงานผลิตแป้งขนมจีน แป้งเป็น polymer ของน้ำตาล glucose เพียงแต่แบคทีเรียที่น่าสนใจภายใต้การศึกษาสร้างเอนไซม์ amylases ได้ ก็สามารถใช้เนื้อแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญต่อไป ไม่พบว่ามีรายงานการใช้เนื้อแป้งข้าวเจ้าเป็นแหล่งคาร์บอนเพาะเลี้ยงแบคทีเรียผลิตสารออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา อย่างไรก็ตามมีรายงานการนำขยะอินทรีย์ที่น่าจะถือได้ว่าเป็นวัตถุดิบที่น่าสนใจเพราะขยะอินทรีย์มีองค์ประกอบที่เป็นอินทรีย์สาร

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 01 ต.ค. 2555
เลขทะเบียน 247364
เลขเรียกหนังสือ

หลากหลายชนิด เช่น malate, citrate, acetate, lactate, levurinate, glutamate และ asparaginate (Ishii et.al., 2000) แต่รายงานดังกล่าวไม่ได้เน้นการสร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา ก่อโรค

การศึกษาค้นคว้าในที่นี้ ผู้ทำวิจัยต้องการมุ่งเน้นการคัดเลือกแบคทีเรียจากน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่มีความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ยับยั้งหรือทำลายเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici พร้อมกลุ่มเชื้อราชนิดอื่น โดยที่จะดูการปลดปล่อยสารละลายที่มีฤทธิ์ยับยั้งหรือทำลายเชื้อราก่อโรคพืชจากประชากรแบคทีเรียที่เจริญอยู่ในน้ำเสีย ที่นี่ก็ถือได้ว่าเป็นที่รวมของจุลินทรีย์หลากชนิด Deportes และ คณะ (1998) มีการรายงานว่ามีจุลินทรีย์หลายชนิด ทั้งเชื้อก่อโรคและเชื้อทั่วไป เชื้อแบคทีเรีย แต่ละชนิดต่างต้องการมีชีวิตรอดอยู่ในสภาวะดังกล่าว การแข่งขันเพื่อความอยู่รอดมีให้เลือกไม่มากนัก นอกจากการสร้างสารปฏิชีวนะหรือสารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยกันเอง สารออกฤทธิ์เหล่านี้จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะได้ศึกษา เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช และถ้าได้ผลลัพธ์ดังที่คาดการณ์ไว้ จะได้นำมาสกัด เพื่อนำไปใช้ได้โดยปราศจากสารพิษตกค้างต่อไป