

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การควบคุมโดยชีววิธี (biocontrol)

การควบคุมโดยชีววิธี หมายถึง การลดปริมาณของเชื้อก่อโรค (inoculum) หรือลดกิจกรรมการเกิดโรคของเชื้อโรคหรือปรสิตที่อยู่ในระยะที่มีปฏิกิริยา (active) หรือระยะที่พักตัว (dormant) ด้วยการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งหรือมากกว่าเข้ามาทำการป้องกันกำจัดเพื่อให้บรรลุผลสำเร็จโดยวิธีธรรมชาติหรือโดยการจัดการสิ่งแวดล้อม สิ่งอาศัย จุลินทรีย์ต่อต้านหรือด้วยการนำจุลินทรีย์ต่อต้าน (antagonist) ชนิดหนึ่งหรือมากกว่ามาใช้ในการควบคุม (เกษม, 2532)

นักกีฏวิทยา ให้ความหมายของการควบคุมโดยชีววิธีไว้ว่า ผลของปรสิต ผู้ล่าหรือเชื้อก่อโรคในการลดความหนาแน่นของประชากรสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งให้อยู่ในระดับต่ำหรือหมดไป หรือในความหมายที่กว้างกว่านั้นควรจะรวมไปถึงผลของสารปฏิชีวนะที่ใช้เป็นยารักษาโรค การพัฒนาของพืชและสัตว์เพื่อให้เกิดความต้านทานต่อเชื้อก่อโรค ปรสิต หรือผู้ล่าที่จะเข้าทำลายพืชหรือสัตว์นั้น หรือผลของสารเคมีที่เป็นพิษต่อเชื้อก่อโรคนั้น (DeBach, 1964)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ได้มีการศึกษาทั้งในประเทศและต่างประเทศมาเป็นเวลานานหลายสิบปี แต่ในปัจจุบันเพิ่งเป็นที่ยอมรับว่าเป็นวิธีที่มีโอกาสสูงในการนำไปเป็นกลยุทธ์ป้องกันกำจัดโรค เนื่องจากการนำไปใช้อย่างได้ผลดีในขั้นดำเนินการค้า และจะมีบทบาทที่สำคัญมากในศตวรรษที่ 21 อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์เพียงจำนวนน้อยที่ผ่านการรับรองจากสำนักงานพิทักษ์สิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกา (U.S. Environmental Protection Agency, EPA) โดยเฉพาะการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะควบคุมโรคพืช ดังแสดงในตาราง 1 ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นนอกจากจะต้องมีคุณภาพดีในการควบคุมโรคพืชแล้ว ยังต้องผ่านการยอมรับในมาตรฐานความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมและความเป็นพิษ และเนื่องจากแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิต เมื่อจะนำมาใช้ในการควบคุมศัตรูพืชจึงถูกควบคุมโดย EPA กฎเดียวกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่สังเคราะห์ขึ้นมา นอกจากนี้ยังต้องผ่านการควบคุมก่อนนำไปใช้ในธรรมชาติโดย USDA-APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service) เนื่องจากถือว่าเป็นเชื้อที่อาจมีพันธุกรรมพิเศษหรือเป็นเชื้อแปลกปลอม (exotic) ที่ไม่มีอยู่ในธรรมชาติ (Jacobsen and Backman, 1993)

ตาราง 1 ผลิตภัณฑ์สำหรับการควบคุมโดยชีววิธีที่เป็นที่ยอมรับของ U.S. Environmental Protection Agency (EPA)

Product	Antagonist-based	Application
BINAB-T	<i>Trichoderma</i> spp.	protection of pruning wounds
Galltrol-A	<i>Agrobacterium radiobacter</i> K84	control of crown gall
Dagger G	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	control of cotton seedling diseases
F-Stop	<i>Trichoderma harzianum</i>	control of damping-off of peas, beans, and corn
GL-21	<i>Gliocladium virens</i>	control of <i>Pythium</i> and <i>Rhizoctonia</i> root rots
Quantum 4000 HB	<i>Bacillus subtilis</i> A-13/GB03	seed treatment for <i>Rhizoctonia</i> root rot of peanut, beans and cotton

ที่มา : Jacobsen and Backman (1993)

สำหรับการศึกษเกี่ยวกับการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในประเทศไทย มีอยู่หลายงานวิจัย ตัวอย่างเช่น งานของนวลวรรณและคณะ (2536) แยกจุลินทรีย์ที่ผิวพืชจากส่วนต่าง ๆ ของต้นเงาะ คือยอดอ่อน ช่อดอก ผลอายุต่าง ๆ และน้ำค้ำจากพุ่มใบ นำแบคทีเรียที่แยกได้ 700 ไอโซเลท มาทดสอบหาเชื้อปฏิปักษ์กับรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 6 ไอโซเลท พบว่ามี 200 ไอโซเลทที่เป็นศัตรูอย่างเด่นชัดและที่พบมากคือการสร้างสารปฏิชีวนะ รองลงมาคือการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วกว่า เมื่อทดสอบกับผลเงาะใน cell suspension ของแบคทีเรีย สามารถลดอาการผลเน่าของเงาะที่เกิดจากรา *C. gloeosporioides* Type II ลงจาก 85% เหลือเพียง 42.5%

วีระศักดิ์และคณะ (2537) ใช้เชื้อรา *Gliocladium roseum* Bain. ป้องกันโรคเหี่ยวของถั่วลิสงที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* โดยเฉพาะเลี้ยง *G. roseum* บนเปลือกไม้สนบดที่ผ่านการแช่ใน 2% malt extract เป็นเวลา 3 ชั่วโมง บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25°C นาน 7 วัน จึงนำไปผสมหัวเชื้อลงในดินปลูกถั่วลิสงในกระถางอัตราส่วน 5, 10 และ 20% โดยปริมาตร พบว่าสามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของถั่วลิสงได้ใกล้เคียงกัน โดยการใส่หัวเชื้อ *G. roseum* ก่อนปลูก *F. oxysporum* f. sp. *pisi* 7 วัน จะให้ผลดีที่สุด เป็นไปได้ว่าเชื้อ *G. roseum* จะสร้างสารพิษและเอนไซม์ หรือสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุของโรคได้

ปัทมรัตน์ (2538) ศึกษาการใช้แบคทีเรียในการควบคุมโรคเหี่ยว (blight) ของต้นเกาลัด โดยแยกแบคทีเรียจากท่อลำเลียงน้ำ (xylem sap) ของต้นเกาลัดที่ไม่เป็นโรค จากการตรวจสอบ

ลักษณะของเชื้อพบว่าเป็น *Bacillus subtilis* จากนั้นจึงทดสอบความสามารถของเชื้อ โดยการทำ
 แผลความยาว 3-5 เซนติเมตร ที่ลำต้นของพืชทดสอบอายุ 6 สัปดาห์แล้วปลูกแบคทีเรีย
B. subtilis 10 μ l รอบรอยแผล เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นจึง
 ปลูกเชื้อรา *Cryphonectria parasitica* (สายพันธุ์ประเทศออสเตรเลีย) โดยตรวจสอบผลทุก
 สัปดาห์เป็นเวลา 6 สัปดาห์ จากผลการทดสอบพบว่าต้นเถาวัลย์ที่ปลูกเชื้อ *B. subtilis* 7 วันขึ้นไป
 ก่อนที่จะปลูกด้วยเชื้อรา จะสามารถควบคุมโรคได้และยังสามารถถ่ายทอดไปยังลูกรุ่นต่อไป
 เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ 3 ชนิดคือ chitinase, β -1,3-glucanase และ peroxidase
 ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคของพืช ยืนยันว่าความสามารถในการควบคุมโรคเป็นผลจากการที่
B. subtilis กระตุ้นให้เกิดความต้านทานต่อโรคขึ้นภายในต้นนั่นเอง

พากเพียรและคณะ (2538) ใช้ *Bacillus* spp. (No.90-562) และ *Pseudomonas fluorescens*
 (No.90-321) ซึ่งผ่านการคัดเลือกแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว
 ในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองมาทดสอบการควบคุมโรคในสภาพนา กับพันธุ์ข้าว กข. 23
 โดยปลูกเชื้อราสาเหตุของโรคโดยใช้เส้นใยของเชื้อที่เลี้ยงบนเมล็ดข้าวเปลือกที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว สอด
 ลงในกลางกองข้าวระยะข้าวแตกกอสูงสุด พบว่าการใช้ *Bacillus* spp. (No.90-562) และ
Pseudomonas fluorescens (No.90-321) ที่อัตราความเข้มข้น 3.33×10^8 CFU/ml ร่วมกับสาร
 benomyl 13.33 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ในการแช่เมล็ดก่อนปลูกและพ่นซ้ำอีก 3 ครั้ง สามารถควบ
 คุมความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งได้ผลดีเท่ากับการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช benomyl ที่อัตรา
 40 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ และสารป้องกันกำจัดโรคพืช validamycin ที่อัตรา 3.38 กรัมสารออกฤทธิ์/
 ไร่ นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิสัมพันธ์ร่วมกับสารป้องกันกำจัดโรคพืช benomyl หรือ
 การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิสัมพันธ์ทั้งสองร่วมในการควบคุมโรคกาบใบแห้ง ผลผลิตของข้าวจะสูงกว่าชุด
 เปรียบเทียบที่พ่นด้วยน้ำกลั่นและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

สุมาลีและคณะ (2542) ทำการคัดเลือกแบคทีเรียแอนทาโกนิสต์ เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของ
 มะเขือเทศซึ่งเกิดจาก *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F1 และ F2 จากการแยกแบคทีเรียจากดิน
 ปลูกมะเขือเทศโดยวิธี soil dilution plate จำนวน 172 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบความสามารถใน
 การยับยั้งการเจริญของ *F. oxysporum* บน PDA ในจานเพาะเชื้อ โดยวางเชื้อราไว้ตรงกลางจาน
 และด้านหนึ่งวางแบคทีเรียห่างจากเชื้อรา 20 mm ส่วนอีกด้านหนึ่งไม่ต้องวางอะไรเลย บ่มที่
 อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 7 วัน และสังเกต inhibition zone ที่เกิดขึ้น พบว่ามีแบคทีเรียที่สามารถ
 ยับยั้งการเจริญของ F1 และ F2 ได้ตั้งแต่ 70% ขึ้นไป จำนวน 8 ไอโซเลท และ 12 ไอโซเลท
 ตามลำดับ และยังสามารถยับยั้ง *F. oxysporum* f.sp. *Lycopersici* ตั้งแต่ 66% ขึ้นไปได้ 6 ไอโซเลท
 คัดเลือกแบคทีเรีย 4 ไอโซเลท คือ แบคทีเรียแอนทาโกนิสต์ NE₁, NE₂, NF₁, NF₃ ที่ยับยั้งเชื้อรา

แบบสร้างสารปฏิชีวนะ และยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบทุกสายพันธุ์ มาทดสอบในเรือนทดลองพบว่า NE_1 และ NE_2 ที่ผสมกับ F2 สามารถควบคุมโรคที่เกิดจาก F2 ได้ 100% ขณะที่ NF_1 และ NF_2 ควบคุมได้ 75% จากการบ่งบอกชนิด (identify) ของ NE_1 และ NE_2 พบว่าเป็น *Bacillus subtilis*

สำหรับงานวิจัยในต่างประเทศ Bhatnagar (1995) ได้นำ *Trichoderma harzianum* และ *Aspergillus niger* ใช้ร่วมกับยากำจัดเชื้อรา 2 ชนิด คือ Foltaf 80w (Captafol 80%) และ Blue Copper-50 เพื่อรักษาโรคเหี่ยวของ piaeon-pea (*Cajanus cajan*) พบว่าเมื่อใช้ *T. harzianum* หรือ *A. niger* ร่วมกับ Foltaf 80w เปรียบเทียบกับผลที่ใช้เฉพาะ Foltaf 80w เพียงชนิดเดียว พบว่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของพืชเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ รวมถึงความยาวของยอดพืชทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ และเมื่อใช้เชื้อราทั้งสองร่วมกับ Blue Copper-50 การลดลงของโรคพืชลดลงอย่างมีนัยสำคัญเปรียบเทียบกับพืชที่ใช้แค่สารเคมีเพียงอย่างเดียว และเมื่อใช้ *T. harzianum* กับ Blue Copper-50 ให้ผลต่อการเพิ่มความยาวของยอดและน้ำหนักสดและปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบสูงกว่าการใช้ *A. niger* ร่วมกับ Blue Copper-50

Safiyazov *et al.* (1995) นำแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ 3 ชนิดคือ *Pseudomonas fluorescens* 41, *Bacillus subtilis* 23 และ *Bacillus megatherium* 26 มาทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อราก่อโรคต่อต้นฝ้าย (*Gossipium hirsutum* 108-F และ Kirgiziya-3) คือ *Xanthomonas malvacearum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium vasinfectum* และ *Verticillium dahliae* จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่า *B. subtilis* 23 ให้ผลดีที่สุดในการต่อต้านเชื้อรา 3 ใน 4 ตัว การงอกของเมล็ดมีเพิ่มขึ้นอีกทั้งมีผลยับยั้งการพัฒนารากเกิดโรคได้เมื่อแช่ในทรีทเมนต์ที่เป็นน้ำเลี้ยงเชื้อ 10% ยกเว้นน้ำเลี้ยงเชื้อของ *B. megatherium* ต่อฝ้าย 108-F จากการทดลองทั้งหมดเชื้อที่มีคุณสมบัติการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ที่ดีที่สุดคือ *B. subtilis* 23 และ *P. fluorescens* 41

Chanto and Ulate (1996) นำน้ำกรองเลี้ยงเชื้อของ *Bacillus* UCR-236 ปรับ pH ด้วย HCl จนได้ pH 2.5 แล้วตกตะกอนด้วย 80% (v/v) ethanol และนำกรองอีกส่วนตกตะกอนด้วย 80% (v/v) ether นำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Mycena citricolor* ซึ่งทำให้เกิดโรค American leaf spot ของกาแฟ พบว่าน้ำกรองเลี้ยงเชื้อและน้ำกรองที่สกัดด้วย ethanol ให้ผลต้านทานต่อเชื้อราสูงกว่าน้ำกรองที่สกัดด้วย ether และเมื่อทดสอบส่วนของตัวเซลล์ที่ถูกล้าง (washed cell) ส่วนของ supernatant และน้ำเลี้ยงที่มีตัวเซลล์ของ *Bacillus* UCR-236 อยู่ด้วย โดยการพ่นบนใบกาแฟที่ทำแผลแล้วปลูกเชื้อ *M. citricolor* พบว่าอัตราการติดเชื้อบนใบที่มีเซลล์ที่ถูกล้างมีการติดเชื้อ 60% น้ำเลี้ยงเชื้อที่มีเซลล์อยู่ด้วย มีอัตราการติดเชื้อ 33% และ supernatant มีอัตราการติดเชื้อ 25% ซึ่งทั้งหมดให้ผลดีกว่าชุดควบคุมที่พ่นด้วยน้ำกลั่นคือพบอัตราการติดเชื้อถึง 89%

Vinas *et al.* (1998) แยกจุลินทรีย์ที่เป็นพวก epiphyte จากผลแอปเปิล ผิวใบแอปเปิลและผลแพร์ ได้ 933 ไอโซเลท เพื่อหาเชื้อที่สามารถต่อต้าน *Penicillium expansum* (blue mold), *Botrytis cinerea* (gray-mold) และ *Rhizopus nigricans* (Rhizopus rot) บนผลแอปเปิล (*Malus domestica*) พบว่าไอโซเลท CPA-1 มีผลต้านทานต่อเชื้อทั้ง 3 ชนิด เมื่อทำการบ่งบอกชนิดของเชื้อปรากฏว่าเป็น *Candida sake* เมื่อใช้เชื้อปริมาณความเข้มข้น 2.6×10^6 CFU/ml ต่อราก่อโรค *B. cinerea* ที่มีความเข้มข้น 10^5 conidia/ml และ *R. nigricans* 10^4 conidia/ml พบว่าไม่มีการเน่าเกิดขึ้นกับแอปเปิลพันธุ์ Golden Delicious และเมื่อทดสอบกับ *P. expansum* ความเข้มข้น 10^3 conidia/ml สามารถควบคุมการเน่าของแอปเปิลภายใต้การเก็บในสถานะที่เย็นได้เช่นกัน

Bapat and Shah (2000) ค้นพบสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ที่สร้างจาก *Bacillus brevis* ซึ่งมีฤทธิ์ต่อการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *Udom* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวของต้นถั่ว pigeon เมื่อนำ *B. brevis* ไปหุบเมล็ดถั่วก่อนปลูก พบว่าอาการเหี่ยวของต้นถั่วจะไม่เกิดขึ้นเมื่อศึกษาคุณสมบัติของสารที่ *B. brevis* สร้างขึ้น พบว่าเป็น extracellular antagonistic substance ที่ทำให้ปลายเส้นใยของเชื้อราเกิดอาการบวมจนแตก และไซโคพลาสซึมเหี่ยว นอกจากนี้สารที่หลั่งออกมาจะไปยับยั้งการงอกของโคนิเดีย และทำให้เส้นใยถูกทำลาย เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่ *B. brevis* สร้างขึ้นกับสารปฏิชีวนะอื่น ๆ ที่ทราบคืออยู่แล้วพบว่าไม่มีลักษณะเหมือนกับสารใด จึงน่าจะเป็นสารใหม่ที่ยังไม่เป็นที่รู้จัก

Yang *et al.* (2000) แยกเชื้อ *Colletotrichum graminicola* KA001 จาก barnyard grass ที่ใบแสดงอาการของโรคแอนแทรคโนส จากนั้นนำไปทดสอบกับ barnyard grass 2 variety ที่เป็นวัชพืชในแปลงข้าวคือ *Eschinochloa crus-galli* var. *praticola* และ *E. crus-galli* var. *caudata* โดยสเปรย์ conidial suspension ที่ความเข้มข้น 4.0, 5.0, 6.0 หรือ 7.0 conidia/ml ส่วนชุดควบคุมถูกสเปรย์ด้วย PDB หลังจากผ่านไป 7 วันพบว่า *C. graminicola* KA001 เป็นเชื้อก่อโรคอย่างแรงกับหญ้าทั้ง 2 variety โดยจะสร้างความเสียหายกับหญ้าในระยะที่มีการเจริญเติบโตที่มีใบ 3-4 ใบ การเป็นโรคจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ inoculum จาก 1×10^4 เป็น 1×10^5 conidia/ml แต่ถ้าความเข้มข้นมากกว่า 1×10^6 conidia/ml จะไม่เพิ่มอัตราการเกิดโรค เมื่อทดสอบกับข้าว 13 cultivar กับเชื้อ *C. graminicola* KA001 พบว่าข้าวไม่แสดงอาการของโรค

Yuen *et al.* (2001) ทำการทดสอบการควบคุมโรคราสนิมของถั่วภายในเรือนกระจกซึ่งเกิดจาก *Uromyces appendiculatus* โดยคัดเลือกแบคทีเรีย 120 สายพันธุ์ในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ ซึ่งแยกได้จากถั่วแดงหลวง (*Phaseolus vulgaris*) และ host อื่น ๆ พบว่ามีเพียง *Pantoea agglomerans* B1 จากถั่วในระยะที่ดอกบาน และ *Stenotrophomonas maltophilia* C3 ที่แยกได้จากใบของ Kentucky bluegrass ซึ่งสามารถลดความรุนแรงของโรคราสนิมได้ และเมื่อเติม colloidal chitin ลงใน cell

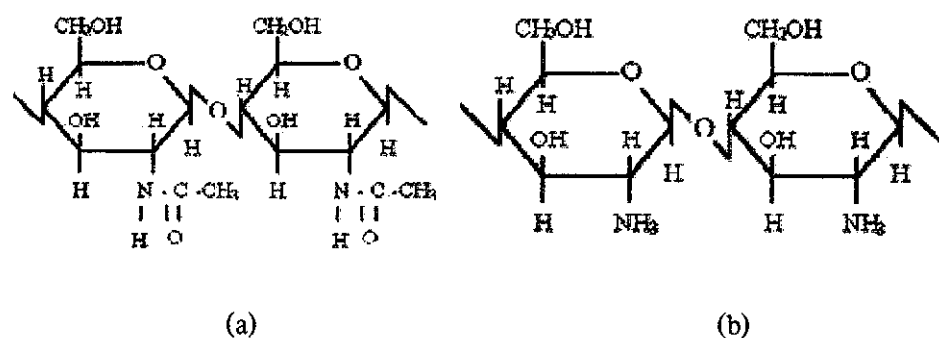
suspension และในอาหาร chitin broth สำหรับเชื้อ C3 จะเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคของ C3 ได้มากขึ้น แต่ไม่มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพต่อ B1

Zahavi *et al.* (2000) แยก epiphyte จากผลองุ่น “Thomson Seedless” จากประเทศอิสราเอล ได้จำนวน 129 ไอโซเลท แล้วนำมาทดสอบหาเชื้อปฏิปักษ์ต่อ *Borytis cinerea*, *Aspergillus niger* และ *Rhizopus stolonifer* จากการทดลองมีเชื้อ 2 ไอโซเลทที่สามารถควบคุมการเน่าเสียขององุ่น โดยวิธีการปลูกเชื้อบนผลองุ่นโดยวิธีการทำแผล หยด suspension ความเข้มข้น 10^8 - 10^9 cell/ml ของเชื้อทดสอบที่แยกได้ปริมาตร 10 μ l คือ A42 (*Candida guilliermondii*) และ B11 (*Acremonium cephalosporium*) การเน่าเสียที่เกิดจาก *B. cinerea*, *A. niger* และ *R. stolonifer* ลดลง 8, 14 และ 22% ตามลำดับจากเชื้อ A42 ส่วนเชื้อ B11 ทำให้เชื้อลดลง 16, 82 และ 60% ตามลำดับ ส่วนวิธีการทดลองโดยจุ่มพวงองุ่นใน suspension ของเชื้อปฏิปักษ์แล้วทิ้งไว้ให้แห้งแล้วสเปรย์ด้วยเชื้อราก่อโรค การจุ่มโดย A42 ทำให้ *B. cinerea*, *A. niger* และ *R. stolonifer* ลดลง 30, 22 และ 22% ตามลำดับ ส่วน B11 ทำให้เชื้อลดลง 48, 39 และ 30% ตามลำดับ นอกจากนี้คุณสมบัติของเชื้อทั้งสองสามารถอยู่รอดได้เป็นอย่างดีในสภาพที่เป็นไร่องุ่นจริงๆ และเมื่อเก็บไว้ในตู้เย็น 0°C

ไคติน

ไคติน เป็นสารธรรมชาติที่ได้มาจากสัตว์ทะเล แมลง เชื้อรา และสาหร่าย เกือบ 10% ของผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำที่ถูกทิ้งทั่วโลกมีไคตินเป็นองค์ประกอบอย่างมากมาย (10-55% ของน้ำหนักแห้ง) ซึ่งรวมถึงกุ้ง ปู หมึก หอยนางรมและหอยมุก มีไคตินกว่า 80,000 เมตริกตันต่อปีที่ได้มาจากวัสดุเหลือทิ้งของสัตว์น้ำเหล่านี้

ไคตินเป็นโพลิเมอร์ของสายโซ่ที่ไม่มีสาขาของ N-acetylglucosamine (GlcNAc) ซึ่งเชื่อมกันด้วยพันธะ β -1-4 (รูป 1 a) มีมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส ในขณะที่ไคโตซาน (รูป 1 b) ประกอบด้วยส่วนของ glucosamine (นพกาญจน์, 2543; พูนสุข, 2539; Patil *et al.*, 2000 และ Wang and Chang, 1997)



รูป 1 (a) โครงสร้างของไคติน (b) โครงสร้างของไคโตซาน (อ้างโดย ศิริลักษณ์, 2542)

เอนไซม์ไคตินเอส (พูนสุข, 2539 และ Shaikh and Deshpande, 1993)

ไคตินเอสเป็น multi-enzyme complex และเป็นเอนไซม์เร่งปฏิกิริยาการสลายไคติน มี 2 แบบคือ แบบที่เป็น endochitinase และ exochitinase ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายไคติน โดย endochitinase คือ oligomer ของ GlcNAc เช่น chitotetraose chitotriose และ diacetylchitobiose เป็นต้น ปฏิกิริยาการสลายดังกล่าวเป็นแบบสุ่ม เกิดที่พันธะ β -1-4 ตำแหน่งต่าง ๆ ภายในโมเลกุลของไคติน ส่วนปฏิกิริยาของ exochitinase นั้นเกิดโดยการตัดโมเลกุลของไคตินจากปลายที่เป็น non-reducing end เข้ามาทีละครั้งให้ผลิตภัณฑ์เป็น diacetylchitobiose เรียกเอนไซม์ที่มีกิจกรรมแบบนี้ว่า chitobiosidase ปฏิกิริยาของ exochitinase เกิดได้อีกลักษณะหนึ่งคือ โดยการตัด GlcNAc ออกจากปลายที่เป็น non-reducing end ทีละครั้ง เรียกเอนไซม์ที่มีกิจกรรมแบบนี้ว่า N-acetylglucosaminidase

การวัด Chitinase activities

การวิเคราะห์การมี endo-chitinase หรือ exo-hydrolytic N-acetylglucosaminidase activities จะใช้สับสเตรทที่จำเพาะเจาะจงกับเอนไซม์แต่ละชนิด ซึ่งมีทั้งชนิดที่ละลายน้ำได้และชนิดที่ละลายน้ำไม่ได้ การใช้สับสเตรทที่ต่างกันจะมีผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นต่างกัน จึงต้องมีวิธีการวัดที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นแต่ละชนิด ดังตาราง 2

ตาราง 2 Substrates of chitinolytic enzymes and the products measured

Product measured	Soluble substrates					Insoluble substrate		
	CMC/EG C/HPC	Chito- oligomers	4-MU- oligomers	pNP- oligomers	CMC-RBV	Chitin	Colloidal chitin	[acetyl- ³ H] Chitin
Formation of reducing sugars	+	+				+	+	+
Release of fluoro-/chromo- phore (electrophoresis)	+		+	+	+		+	
Formation of oligomers (HPLC, NMR)	+	+				+	+	
Decrease in degree of Polymerization (viscosity)	+							
Decrease in degree of Polymerization (staining)	+					+	+	

ที่มา: Patil *et al.* (2000)

โดยทั่วไปจะพบไคตินในสิ่งมีชีวิตที่มีไคติน เช่น Arthropods เชื้อราต่าง ๆ บทบาทของไคตินในสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นคือการสร้าง exoskeleton ของ Arthropods และผนังเซลล์ของเชื้อรา นอกจากนี้ยังพบไคตินในสิ่งมีชีวิตอื่นที่ไม่มีไคตินอีกด้วยเช่น จุลินทรีย์ในดิน ระบบทางเดินอาหารของปลาและพืช

ไคตินและเอนไซม์ย่อยสลายไคติน (chitinolytic enzyme) มีความสำคัญเพิ่มมากขึ้นสำหรับการพัฒนาไปใช้ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ไคตินบางส่วนถูกนำไปใช้ในด้านเกษตรกรรมเพื่อควบคุมศัตรูพืช ไคตินสและไคโตโอลิโกเมอร์ซึ่งเกิดจากการย่อยสลายไคตินสามารถนำมาใช้ในด้านสุขภาพอนามัยของมนุษย์ สำหรับบทบาทของไคตินในแบคทีเรียนั้นมีบทบาทในการให้สารอาหาร การป้องกันปรสิต ขณะที่พวกเชื้อรา โปรโตซัวและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังนั้นจะเกี่ยวข้องกับการป้องกันตัวเอง Baculovirus ซึ่งใช้เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพของแมลงศัตรูพืชก็ผลิตไคตินเช่นกัน อีกทั้งในปัจจุบันก็พบกิจกรรมของไคตินในซีรัมของมนุษย์ซึ่งมีบทบาทมีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อรา เหมือนกับที่ lysozyme ป้องกันเราจากแบคทีเรีย หรือ chitotriosidase ก็ใช้เป็น marker ของ Gaucher disease (Escott and Adams, 1995)

งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์ไคตินเนส

ป้อมและวิรงรอง (2537) สกัดเอนไซม์ไคตินเนสจาก *Bacillus* sp. No.1 แล้วนำมาทำการทดสอบความสามารถของเอนไซม์ที่สกัดได้โดยวิธี Colorimetric method โดยการวัดความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยสลาย colloidal chitin ในหลอดทดลอง วัดปริมาณ N-acetyl-D-glucosamine ที่ถูกปลดปล่อยออกมาเปรียบเทียบกับ standard enzyme จาก *Serratia marcescens* ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราของเอนไซม์ร่วมกับ Amphotericin B และ Nystatin ต่อ *Candida albicans* และเอนไซม์ร่วมกับ Griseofulvin ต่อ *Trichophyton mentagrophytes* และ *Microsporum gypseum* โดยใช้วิธี Dilution method จากการทดลองวัด chitinase activity 0.03 unit สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของยา Amphotericin B โดยลดค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ต่อ *C. albicans* จาก 0.6 µg/ml เป็น 0.15 µg/ml ยา Nystatin ต่อ *C. albicans* จาก 5.0 µg/ml เป็น 2.5 µg/ml และการใช้เอนไซม์ร่วมกับ Griseofulvin จะลดค่า MIC ต่อ *T. mentagrophytes* จาก 2.24 µg/ml เป็น 0.28 µg/ml และ Griseofulvin ต่อ *M. gypseum* จาก 1.13 µg/ml เป็น 0.28 µg/ml

Mahadevan and Crawford (1997) ศึกษาคุณสมบัติของไคตินเนสที่ผลิตจาก *Streptomyces lydicus* WYEC108 ซึ่งแยกได้จาก rhizosphere ของเมล็ดคันท่าพลัด ซึ่งผลิตทั้งสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อรา และ extracellular chitinase โดยศึกษากลไกที่เกี่ยวข้องในการควบคุมเชื้อราที่รากและการเกิดโรคของเมล็ด พบว่า *S. lydicus* ซึ่งเป็นแอคติโนมัยซีตใช้เป็นตัวควบคุมโดยชีววิธี

ต่อเชื้อราได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตไคตินเอสได้สูงสุดอยู่ที่ 25-30°C มีไคตินเป็นส่วนประกอบในอาหาร 0.4-0.8 g/ml ถ้ามี colloidal chitin อยู่ในอาหาร 1% ก็จะผลิตไคตินเอสได้สูงสุดเช่นกัน activity จะถูกชักนำโดย N-acetylglucosamine หรือ N,N'-diacetylchitobiose นอกจากนี้ activity จะเพิ่มขึ้นถ้าเลี้ยงเซลล์ในอาหารที่มี colloidal chitin และมีผนังเซลล์ของเชื้อรา *Pythium* sp. หรือ *Aphanomyces* sp. อยู่ด้วย แต่ activity จะถูกยับยั้งถ้าในอาหารมี glucose, xylose, arabinose, raffinose และ carboxymethyl cellulose เป็นส่วนประกอบ

Mathivanan *et al.* (1998) ทำการแยก chitinase (EC 3.2.1.14) จากน้ำกรองเลี้ยงเชื้อของ *Fusarium chlamydosporum* และนำมาศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ของเอนไซม์โดยทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์ด้วย ion-exchange chromatography และ gel filtration หามวลโมเลกุลของไคตินเอสจากการทำ sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis ได้ 40 kDa ซึ่งค่าความเหมาะสมในการทำงานของไคตินเอสอยู่ที่ pH 5 และคงตัวตั้งแต่ pH 4 ถึง pH 6 ที่อุณหภูมิ 40°C เมื่อทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์พบว่า mercuric chloride สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ และเอนไซม์จะมี activity สูงสุดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี colloidal chitin และไคตินบริสุทธิ์ เมื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งโรคราสนิมของถั่วซึ่งเกิดจาก *Puccinia arachidis* พบว่าเอนไซม์ไคตินเอสสามารถยับยั้งการงอกของ uredospore และ germ tube ของราก่อโรคได้

De Boer *et al.* (1998) ศึกษาคุณสมบัติการต่อต้านเชื้อราของแบคทีเรียที่ผลิตไคตินเอสซึ่งอาศัยอยู่ในดินบริเวณเนินทราย 3 แห่งของฝั่งทะเลเนเธอร์แลนด์ โดยเนินทราย 2 แห่งเป็นบริเวณที่มีแคลเซียมน้อย อีกแห่งมีปริมาณแคลเซียมมาก ซึ่งแบคทีเรียที่แยกได้สามารถย่อยสลาย colloidal chitin (0.2-5.7%) ที่มีอยู่ใน water-agar แบคทีเรียที่พบมากที่สุดคือ *Pseudomonas* spp. มีแหล่งที่มาจากดินที่มีแคลเซียมน้อย ส่วน *Xanthomonas* spp. และ *Cytophaga* spp. ได้จากบริเวณที่มีแคลเซียมสูง และพบแอคทีโนไมซีสได้ในดินทั้ง 3 บริเวณ นำเชื้อทั้ง 3 ทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์กับเชื้อรา *Chaetomium globosum*, *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum*, *Idriella (Microdochium) bolleyi*, *Mucor hiemalis*, *Phoma exigua* และ *Ulocladium* sp. เปรียบเทียบกับแบคทีเรียพวกที่ไม่สามารถสลายไคตินได้ พบว่าเปอร์เซ็นต์ของการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ของแบคทีเรียที่ย่อยสลายไคตินได้ต่อเชื้อราสูงกว่าพวกที่ไม่สามารถสลายไคตินได้

Sakai *et al.* (1998) คัดเลือก *Bacillus* สายพันธุ์ MH-1 ได้จากปุ๋ยหมัก ที่ประกอบไปด้วยผิวส้ม กากชา กาแฟและเศษปลาเล็กปลาน้อยกุ้งและปู โดยเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็น colloidal chitin และทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิ 60°C ศึกษาลักษณะทางกายภาพและคุณสมบัติของเชื้อ พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีเส้นสายและแตกสาขา สร้างเอนโดสปอร์ เมื่อเจริญบน colloidal chitin agar จะเกิดวงใส ช่วงอุณหภูมิที่สามารถเจริญได้อยู่ที่ 40-65°C เชื้อจะเจริญได้ดีเมื่อ

เติม yeast extract ลงไป 0.05% และ (2,6, *O*-dimethyl) β -cyclodextrin (DMCD) 0.03% การเติม ส่วนของยีสหมักลงไป 2.5% จะช่วยเพิ่มการเจริญของ *Bacillus* MH-1 ได้ดีที่สุด แต่ chitinase activity จะสูงสุดถ้าใส่ยีสหมักลงไป 0.5% เมื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของ MH-1 ทำให้ทราบว่า บริเวณผนังเซลล์ ประกอบไปด้วย meso-diamino pimelic acid, Glx, Gly, Ala และ glucosamine นอกจากนี้ยังมีน้ำตาล mannose, xylose, ribose, arabinose และ rhamnose ทั้งเซลล์ของ MH-1 มี ปริมาณ G+C ของ DNA 54.6% และลำดับของ 16S ribosomal DNA ทำให้ทราบว่าสายพันธุ์ MH-1 อยู่ในจีนัส *Bacillus* ซึ่งตัวที่ใกล้เคียงที่สุดคือ *B. denitrificans* เมื่อทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์จะได้ endochitinase 3 แบบ คือ L, M และ S ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 71, 62 และ 53 kDa ตามลำดับ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาของโคติเนส L, M และ S คือ 76, 65 และ 75°C ตามลำดับ pH ที่เหมาะสมคือ 6.5, 5.0 และ 5.5 ตามลำดับ เมื่อทำปฏิกิริยากับ acetylchitohexanose [(GlcNAc)₆] โคติเนส L และ S จะสร้าง (GlcNAc)₂ ได้สูงสุด ขณะที่โคติเนส M สร้าง (GlcNAc)₃ ได้สูงสุด

Krishnamurthy *et al.* (1999) คัดเลือกหาสายพันธุ์ *Trichoderma* spp. ที่ผลิตโคติเนสที่สามารถยับยั้ง *Rhizoctonia solani* อันเป็นเชื้อสาเหตุของโรคกาบใบแห้งของข้าว โดยคัดได้ *T. viride* และ *T. harzianum* ทั้งหมด 35 สายพันธุ์ ซึ่งจากการตรวจสอบ *Trichoderma* spp. พบว่า สามารถผลิตเอนไซม์ chitinase, β -1,3-glucanase, protease รวมถึงสารปฏิชีวนะทั้งที่ระเหยได้และระเหยไม่ได้ จากการศึกษพบว่า chitinase activity ของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อจาก *Trichoderma* จะเพิ่มขึ้นถ้าใช้ colloidal chitin เป็นแหล่งคาร์บอนแทนการใช้ glucose

Krishnaveni *et al.* (1999) ศึกษาโคติเนส 3 ตัวคือ CH1, CH2 และ CH3 ที่แยกได้จากเมล็ดข้าวฟ่าง สายพันธุ์ CS 3541 โดยการทำให้โคติเนสบริสุทธิ์ มีการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต การทำ chromatography ซึ่งโคติเนสทั้ง 3 ตัวนี้ยับยั้งการเจริญของ *Trichoderma viride*, *Rhizoctonia solani* ได้โดยใช้โคติเนสปริมาณ 1 μ g ขณะที่ *Fusarium moniliforme* จะถูกยับยั้งที่ 5 μ g นอกจากนี้โคติเนสทั้ง 3 ตัวยังยับยั้ง *Phytophthora nicotianae* และ *Pyricularia grisea* ยกเว้นไม่สามารถยับยั้ง *Pythium irregulare* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ไม่มีโคติเนสบริเวณผนังเซลล์

Wiwat *et al.* (1999) แยก *Bacillus circulans* No.4.1 จากดินในประเทศไทย และให้ปริมาณโคติเนสสูงสุดเมื่อเลี้ยงในอาหาร tryptic soy broth (TSB) ที่มี 0.3% colloidal chitin เป็นส่วนประกอบ ที่ 35°C 5 วัน มี chitinase activity 0.71 U/ml และมี specific activity ของ extracellular chitinase 0.9 unit/mg protein เมื่อทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์แล้วตรวจหาขนาดโมเลกุลของเอนไซม์จะเกิด band ขนาด 45 kDa เอนไซม์นี้สามารถย่อย colloidal chitin, purified chitin, glycol chitin, carboxymethyl-chitin (CM-chitin) และ 4-methylumbelliferyl- β -D-N'-N'-diacetylchitobioside [4-MU-(GlcNAc)₂] ลำดับกรดอะมิโนบริเวณ N-terminal พบว่ามีเรียงกัน 20

ตัวคือ alanine (A), proline (P), tryptophan (W), asparagine (N), serine (S), lysine (K), glycine (G), asparagine (N), tyrosine (Y), alanine (A), leucine (L), proline (P), tyrosine (Y), tyrosine (Y), arginine (R), glycine (G), alanine (A), tryptophan (W), alanine (A) และ valine (V)

Helisto *et al.* (2000) เลือกแบคทีเรีย *Bacillus* sp. X-b ซึ่งแยกจากดิน มี chitinase activity 49 U และ chitosanase activity 94 U ซึ่งยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ทำให้เกิดการผุพังของไม้ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. X-b ในอาหาร NA ที่มี colloidal chitin 1% และ fruiting body ของ *Macrolepiota procera* 0.5% จะเพิ่ม activity ของเอนไซม์มากขึ้นกว่าอาหารที่มีแค่ colloidal chitin หรือผนังเซลล์ของ *Polyporus squamosus* เพียงอย่างเดียว จากการตรวจสอบหา chitinase activity พบ activity ของ chitinase, chitosanase, laminarinase, lipase และ protease เมื่อทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์ค่า specific activity ของ chitinase เพิ่มขึ้น 36 เท่า มี band ขนาด 46,000 และ 35,000 Da ค่า specific activity ของ chitosanase เพิ่มขึ้น 69 เท่า มี band ขนาด 27,000 Da lipase มี specific activity เพิ่มขึ้น 44 เท่าและ band ขนาด 62,000 Da ส่วน laminarinase เพิ่มขึ้น 15 เท่า แต่ไม่ตรวจพบ specific activity ของ lipase และ Protease

Jwanny *et al.* (2001) ทำการศึกษาและเปรียบเทียบเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ที่สกัดได้จากใบของต้นบีทียิปต์ (*Beta vulgaris*) พบว่ามี chitinase, laminarinase A และ laminarinase B ซึ่ง chitinase มีความคงตัวสูงกว่าเอนไซม์อีก 2 ชนิดเมื่อให้ความร้อนที่ 50°C เป็นเวลา 60 นาที และ chitinase activity ค่อนข้างคงตัวเมื่ออยู่ในน้ำมากกว่าเมื่ออยู่ในบัฟเฟอร์ ค่า Km ของ chitinase, laminarinase A และ B มีค่าเป็น 0.2, 0.27 และ 0.074% ที่ pH 4.5, 4.5 และ 6.5 เมื่อใช้สับสเตรทเป็น colloidal chitin, laminarin A และ laminarin B ตามลำดับ นอกจากนี้ chitinase, laminarinase A และ laminarinase B สามารถยับยั้งการเจริญและย่อยสลายผนังเซลล์ของ *Aspergillus oryza* และ *A. flavus* ได้เมื่อใช้เอนไซม์เพียงชนิดเดียวหรือใช้เอนไซม์ร่วมกันหลายชนิดเพื่อทำการสลาย chitin และ laminarin

Nandakumar *et al.* (2001) ชักนำให้เกิดความต้านทานของข้าว cv. IR50 ต่อโรคกาบใบแห้งซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* โดยใช้ *Pseudomonas fluorescens* จำนวน 2 ไอโซเลท คือ PF1 และ FP7 เปรียบเทียบกับยาฆ่าเชื้อรา carbendazim ซึ่งใช้กันอยู่ทั่วไปในนาข้าว ในชุดการทดลองที่ใช้ *P. fluorescens* ปรากฏว่ามีการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรค ขึ้นสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของ chitinase และ peroxidase activity อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นของ activity จะแปรผันไปตามชุดการทดลอง สายพันธุ์ของ *Pseudomonas* ที่ใช้และระยะเวลา เมื่อทำการตรวจสอบเอนไซม์จะพบ chitinase ขนาด 35 และ 28 kDa และ peroxidase 5 ตัว คือ PO1-PO5 ที่เกี่ยวข้องกับความ

ด้านทานที่เพิ่มขึ้นของข้าว แต่ตัวหลัก ๆ ในการกำหนดความต้านทานคือ 35 kDa chitinase และ peroxidase 3 ตัว (PO3-PO5)

ลำไย (วิรัตน์, 2543, พาวิน, 2543.)

ลำไย (longan) จัดเป็นไม้ผลเขตร้อนและกึ่งร้อน เป็นพืชที่อยู่ในตระกูล *Sapindaceae* มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Dimocarpus longan* Lour. ลำไยจัดเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอันดับหนึ่งของภาคเหนือ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ทั้ง 2 จังหวัดนี้มีผลผลิตรวมกันคิดเป็นร้อยละ 75 ของผลผลิตทั้งประเทศ รองลงมา มีการเพาะปลูกมากในจังหวัดเชียงราย น่าน ลำปาง พะเยาและแพร่ นอกจากนี้ยังมีการเพาะปลูกอีกเล็กน้อยกระจายไปยังจังหวัดอื่น ๆ เช่น จันทบุรี กำแพงเพชร นครราชสีมา และยังมีแหล่งปลูกใน 13 จังหวัดภาคใต้เช่นที่จังหวัดชุมพร สงขลา นครศรีธรรมราช (วิรัตน์, 2542) เป็นต้น พื้นที่เพาะปลูกลำไยของประเทศไทยปี พ.ศ. 2540 มีพื้นที่รวมทั้งสิ้น 481,911 ไร่ ผลผลิตของลำไยสามารถส่งออกจำหน่ายยังต่างประเทศทั้งผลสดและอบแห้ง แห้งแข็งและลำไยกระป๋อง ทำรายได้ให้กับประเทศปีละหลายพันล้านบาท (ตาราง 3) และการส่งออกลำไยแห้งตั้งแต่เดือนมกราคม-เมษายน 2544 มีปริมาณทั้งสิ้น 3,772,792 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 188,908,665 บาท ปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้นร้อยละ 104.43 และมูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นร้อยละ 78.34 เมื่อเปรียบเทียบกับ การส่งออกระยะเดียวกันของปี 2543

ตาราง 3 ปริมาณและมูลค่าส่งออกเป็นรายเดือนของลำไยสดและลำไยแช่แข็ง

เดือน	ปริมาณ : ตัน มูลค่า : ล้านบาท							
	ปี 2540		ปี 2541		ปี 2542		ปี 2543	
	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
มค.	18	1.19	30	1.86	27	3.26	2,806	66.58
กพ.	1	0.02	61	5.35	135	13.82	2,957	64.94
มีค.	2	0.08	6	0.12	130	13.38	3,305	56.62
เมษ.	1	0.02	13	0.43	170	16.82	3,755	71.19
พค.	2	0.03	11	0.46	431	40.74	5,901	128.78
มิย.	129	3.10	37	2.42	4,306	70.78	7,512	167.71
กค.	31,672	860.70	986	61.30	22,456	598.10	36,812	789.17
สค.	48,436	210.44	1,156	93.60	8,742	218.71	28,438	579.68
กย.	1,402	52.14	55	1.37	1,728	56.56	5,874	131.19
ตค.	170	5.33	53	1.63	1,041	30.71	1,688	38.45
พย.	30	1.16	30	0.66	3,034	75.71	1,878	33.55
ธค.	11	0.40	2	0.21	2,546	53.26		
รวม	81,872	2,134.63	2,800	169.41	44,746	1,191.85	100,925	2,127.87

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (oae.go.th) โดยความร่วมมือของกรมศุลกากร (2544)

พันธุ์ลำไยที่พบในปัจจุบันแบ่งได้เป็น 2 ชนิด ตามลักษณะการเจริญเติบโต ลักษณะของผล เนื้อ เมล็ด และรสชาติคือ

ก. ลำไยเครือหรือลำไยเถา (*Euphoria scandens* Winit Kerr. หรือ *Dimocarpus longan* var. *obtusum*) มีลำต้นเลื้อยคล้ายเถาวัลย์ ทรงพุ่มต้นคล้ายต้นเฟื่องฟ้า ลำต้นไม่มีแก่น (pith) ใบขนาดเล็กและสั้น ผลเล็ก ผิวผลสีเขียวปนน้ำตาล เมล็ดโต เนื้อผลบางมีกลิ่นคล้ายกำมะถัน ปลูกไว้สำหรับเป็นไม้ประดับมากกว่าที่จะใช้เพื่อรับประทานผล

ข. ลำไยต้น แบ่งเป็น 2 ชนิดคือ

1. ลำไยพื้นเมืองหรือลำไยกระดุก : ผลมีขนาดเล็ก ขนาดของผลเฉลี่ยกว้าง 1.8 cm หนา 1.6 cm ยาว 1.7 cm รูปร่างของผลค่อนข้างกลม ผิวสีน้ำตาล เปลือกหนา เนื้อบางสีขาวใส ปริมาณน้ำตาล 19% เมล็ดโต เปลือกลำต้นขรุขระมาก ต้นตั้งตรงสูงประมาณ 20-30 m ใบขนาดเล็กกว่า

ลำไยกะโหลก มักพบตามป่าของจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย อายุยืนมาก ปัจจุบันไม่นิยมปลูกเนื่องจากผลมีขนาดเล็ก

2. ลำไยกะโหลก : เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมากเพราะผลใหญ่ เนื้อหนาและมีรสหวาน ปริมาณน้ำตาล 16-24% มีอยู่ด้วยกันหลายพันธุ์ แต่ละพันธุ์มีคุณลักษณะพิเศษแตกต่างกัน

พันธุ์ลำไยกะโหลกที่ปลูกในประเทศไทยได้แก่ พันธุ์คอหรืออีคอ, พันธุ์ชมพูหรือสีชมพู, พันธุ์เหวหรืออีเหว, พันธุ์เบี้ยวเขียวหรืออีเบี้ยวเขียว, พันธุ์ใบคำหรืออีคำหรือกะโหลกใบคำ, พันธุ์ใบแดงหรืออีแดงกลม, พันธุ์อีเหลืองหรือเหลือง, พันธุ์พวงทอง, พันธุ์เพชรสาครทวาย, พันธุ์ปูมาติน โกงและพันธุ์ดัลบันดา

นอกจากพันธุ์ดังกล่าวข้างต้นยังมีลำไยอีกหลาย ๆ พันธุ์ที่มีการสำรวจพบแต่ยังไม่ได้ปลูกแพร่หลาย ได้แก่ พันธุ์ใบหยก อีสร้อย บ้านโฮ้ง 60 (พันธุ์ลิ้นจี่) คอหลวง คอแก้วยี่ เป็นต้น สำหรับพันธุ์ลำไยที่มีการส่งเสริมให้มีการปลูกกันมากในปัจจุบันมีอยู่ 4 พันธุ์คือ พันธุ์อีคอ พันธุ์เหว พันธุ์สีชมพู และพันธุ์เบี้ยวเขียว

การผลิตลำไยของภาคเหนือปัจจุบันมักพบปัญหาเกี่ยวกับโรคมมากขึ้น โรคที่พบก่อนการเก็บเกี่ยวของลำไยนั้น ส่วนมากเป็นโรคที่เกิดขึ้นกับใบ นอกจากนั้นก็มีตามลำต้น กิ่งและช่อดอก (พิชัย, 2532) และปัญหาที่สำคัญคือลำไยเป็นไม้ผลที่มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้นและเน่าเสียง่ายเนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีปริมาณน้ำตาลสูงมาก ดังจะเห็นได้จากปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในผลดังตาราง 4 (อ้างโดยธีรนุช, 2543) ทำให้ลำไยสดมีอายุการเก็บรักษาที่สั้นเพียง 2-3 วันที่อุณหภูมิ 30°C นอกจากนี้ปริมาณน้ำตาลดังกล่าวจะเป็นอาหารชั้นเยี่ยมให้เชื้อต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี เชื้อราที่เข้าทำลายในระยะหลังการเก็บเกี่ยว ได้แก่ *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Cephalosporium* sp., *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* sp., *Nigrospora* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Paecilomyces* sp., *Phomopsis* sp., *Rhizopus* sp., *Rhizoctonia* sp. และ yeast (เสนห์, 2530 และจริยา, 2542)

ตาราง 4 ส่วนประกอบของผลลำไยในระยะเก็บเกี่ยวผล

ส่วนประกอบ	ปีที่ศึกษา (พ.ศ.)	
	2526	2527
เนื้อผล (% น้ำหนักแห้ง)	19.80±0.02	16.50±0.70
เปลือกผล (% น้ำหนักแห้ง)	35.70±0.60	35.60±0.40
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (%)	20.10±0.10	18.30±0.20
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (mg/g)	184.00±7.00	154.00±11.00
ซูโครส (mg/g)	72.00±15.00	29.00±3.00
กลูโคส (mg/g)	22.00±17.00	17.00±1.00
ฟรุคโตส (mg/g)	28.00±17.00	23.00±1.00
ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (meq.g ⁻¹)	2.30±0.10	2.10±0.10
pH	6.20±0.10	6.40±0.10
กรดซัลฟิวริก (meq.g ⁻¹)	0.13±0.01	0.12±0.01
กรดมาลิก (meq.g ⁻¹)	0.89±0.16	0.35±0.07
กรดซัคซินิก (meq.g ⁻¹)	1.85±0.19	1.15±0.11
กรดแอสคอร์บิก (mg/g)	2.00±0.20	1.40±0.20
ปริมาณของฟีนอลทั้งหมด (mg/g)	0.80±0.10	0.50±0.10

ที่มา : อ้างโดยธีรานุช (2543)

การจัดการเพื่อป้องกันโรคเข้าทำลายหลังการเก็บเกี่ยววิธีปัจจุบันที่นิยมใช้โดยเฉพาะกับลำไยที่จะส่งออกไปขายต่างประเทศ คือ การอบด้วยซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ซึ่งจะทำให้ลำไยมีสีเหลืองสวย และมีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น เช่น 4-6 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 0-2°C แหล่งของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ใช้ในการอบมีอยู่ 2 ทางคือ ใช้ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์เหลวจากถังก๊าซความดันสูง หรือจากการเผาฟางกะถันโดยตรง ซึ่งวิธีที่สองเป็นวิธีที่นิยมในบ้านเรา เนื่องจากมีราคาถูก แม้ว่าการจัดการจะค่อนข้างยุ่งยากอยู่บ้าง เนื่องจากก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์เป็นก๊าซที่เป็นพิษต่อระบบทางเดินหายใจของมนุษย์ และทำให้ระคายเคืองได้ ดังนั้นการใช้สารซัลเฟอร์ไดออกไซด์จึงต้องใช้อย่างระมัดระวัง และจะต้องมีการดูแลก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เหลือหลังจากการอบแล้วออกไปกำจัดก่อนที่จะทำการเปิดห้องอบ เพื่อลดอันตรายของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ต่อผู้ปฏิบัติงาน แต่ปัญหาของการใช้ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ก็คือการตกค้างของสาร ซึ่งสร้างปัญหาให้กับการส่งออกลำไยของไทยโดยเฉพาะการส่งออกไปยังประเทศสิงคโปร์ ในอนาคตสิงคโปร์

อาจนำเข้าลำไยสดจากประเทศจีนแทนการนำเข้าจากไทย เนื่องจากขณะนี้ลำไยของไทยถูกตรวจพบปริมาณสารซัลเฟอร์ไดออกไซด์ตกค้างในเนื้อลำไยบ่อยครั้ง ซึ่งรัฐบาลสิงคโปร์ไม่อนุญาตให้มีปริมาณสารซัลเฟอร์ไดออกไซด์ตกค้างในเนื้อลำไยเลยส่วนในเปลือกให้ตกค้างได้ไม่เกิน 350 ppm เท่านั้น

สำนักงานมาตรฐานและตรวจสอบสินค้าเกษตร ได้ตั้งมาตรฐานสำหรับลำไยส่งออกของประเทศไทย โดยในด้านสารปนเปื้อน (contaminants) มีข้อกำหนดดังนี้

สารพิษตกค้าง: สารพิษตกค้างในผลลำไยต้องอยู่ภายใต้พิกัดสูงสุดของสารพิษตกค้างดังต่อไปนี้

AZINPHOS-METHYL ไม่เกิน 1 mg/kg

DICOFOL ไม่เกิน 5 mg/kg

วัตถุเจือปนอาหาร: อนุญาตให้ลำไยที่ผ่านการรมด้วยซัลเฟอร์ไดออกไซด์ มีซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในเนื้อลำไยได้ไม่เกิน 10 mg/kg

สัญลักษณ์: ผลผลิตในมาตรฐานนี้ ให้ดำเนินการไปตามหลักการทั่วไปของการปฏิบัติที่ถูกต้องทางการเกษตร (Good Agricultural Practice: GAP)

เกณฑ์การวิเคราะห์และชักตัวอย่าง:

เกณฑ์การวิเคราะห์ : ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ใช้วิธีวิเคราะห์ตาม AOAC 990.28, 16 Education, 1995 AZINPHOS-METHYL และ DICOFOL ใช้วิธี Modified ของ Luke และคณะ

เกณฑ์การชักตัวอย่าง : ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ AZINPHOS-METHYL และ DICOFOL ชักตัวอย่างโดยวิธีการสุ่ม (random sampling) (มาตรฐานลำไยของประเทศไทย, 2544)