บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

2.1 พริก (chilli)

เป็นพืชในตระกูล (Family) Solanaceae ซึ่งอยู่ในตระกูลเดียวกับมะเขือ มันฝรั่งและยาสูบ ประโยชน์ของพริกมีมากมายหลายด้าน เช่น ใช้ในการประกอบอาหาร ซึ่งมีคุณค่าทางอาหาร สี และรสชาติที่ไม่สามารถใช้พืชอื่นทดแทนได้ (ทวีศักดิ์, 2539) และพริกยังถือเป็นพืชสมุนไพรรักษาโรคได้ เช่น ผลมีรสเผ็ดร้อนใช้ขับเสมหะ แก้ไข้ ในปัจจุบันมีการนำพริกมาใช้เป็นส่วนผสมในยาขับลม ยาขี้ผึ้งทา ถู นวด โดยสารออกฤทธิ์คือ สาร capsaicin (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2539) สารสีเหลือง สีส้ม และสีแดงของผล จัดเป็นสารจำพวกแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ซึ่งมีอยู่มากมายถึง 20 ชนิด ที่สำคัญได้แก่ เบตาแคโรทีน (beta-carotene) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอที่ช่วยบำรุงสายตา แคโรทีนอยด์เป็นสารที่ไม่ละลายในน้ำแต่สามารถละลายในไขมันได้ ดังนั้นการใช้พริกในส่วนผสมของอาหารทั้งการต้มแกงนาน ๆ จึงไม่ทำให้สีของพริกจางลง แต่อาจจะละลายออกมาบ้างกับไขมันที่อยู่ในน้ำแกง นอกจากนี้ พริกยังเป็นแหล่งให้วิตามินซีในปริมาณที่สูงมาก กล่าวคือ ผลพริก 1 ออนซ์ (28 กรัม) มีวิตามินซีสูงถึง 100 มก. และวิตามินเอ 16,000 หน่วย ปริมาณดังกล่าวนี้สูงกว่าปริมาณวิตามินซีและวิตามินเอที่ร่างกายต้องการในแต่ละวัน แต่วิตามินซีสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน ดังนั้นถ้าต้องการได้วิตามินซีสูงควรรับประทานในรูปของพริกสดร่วมกับผักสลัด สำหรับผลพริกหรือดอกพริกที่มีสีม่วงนั้นเกิดจากสารพวกแอนโทไซยานิน ประโยชน์ของพริกในด้านสุขภาพ ได้แก่ ช่วยบรรเทาอาการไข้หวัด ลดการอุดตันของเส้นเลือด ลดปริมาณคอเลสเทอรอล ลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็ง

แหล่งผลิตที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ เชียงใหม่ นครสวรรค์ ลำพูน เพชรบูรณ์ ชัยภูมิ ขอนแก่น ราชบุรี กาญจนบุรี นครศรีธรรมราช และชุมพร เป็นต้น

สถิติการปลูกพริกของประเทศไทยในปี 2550 - 2552 มีดังนี้คือ

พริกขี้หนู

ปี	เนื้อที่เพาะปลูก (ไร่)	เนื้อที่เก็บเกี่ยว (ไร่)	ผลผลิต (ตัน)	ราคา (บาท/กก.)	มูลค่าผลผลิต (ล้านบาท)
2550	294,183	268,423	371,293	69.72	25,886.897
2551	264,003	245,842	349,976	77.74	27,207.134
2552	263,659	245,565	361,769	73.02	26,416.372

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พริกหยวก

ปี	เนื้อที่เพาะปลูก (ไร่)	เนื้อที่เก็บเกี่ยว (ไร่)	ผลผลิต (ตัน)	ราคา (บาท/กก.)	มูลค่าผลผลิต (ล้านบาท)
2550	6,318	5,228	7,763	18.08	140.355
2551	5,811	4,702	7,169	25.34	181.653
2552	5,851	4,741	7,490	18.94	141.869

พริกใหญ่

ปี	เนื้อที่เพาะปลูก (ไร่)	เนื้อที่เก็บเกี่ยว (ไร่)	ผลผลิต (ตัน)	ราคา (บาท/กก.)	มูลค่าผลผลิต (ล้านบาท)
2550	137,882	131,709	137,421	15.67	2,153.39
2551	138,048	131,961	144,052	20.17	2,905.53
2552	144,452	132,004	152,949	19.4	2,979.45

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2552)

ในการผลิตพริกมีปัญหาสำคัญ คือ การเข้าทำลายของโรคและแมลง ทำให้ผลพริกได้รับความเสียหาย ทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ ซึ่งสาเหตุโรคมีทั้งที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต เช่น การขาดธาตุอาหาร และเกิดจากสิ่งมีชีวิต ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และไส้เดือนฝอย ตัวอย่างโรคที่พบเป็นประจำ ได้แก่ โรคใบจุดตากบที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora capsici* โรคเหี่ยวเขียวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum* โรคเหี่ยวหรือโรคโคนเน่าเกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* โรคใบแห้งเกิดจากเชื้อรา *Alternaria* sp. โรคใบด่างเกิดจากเชื้อไวรัส และโรครากแผลที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* sp. เป็นต้น (มณีฉัตร, 2541) แต่โรคที่จัดว่าเป็นโรคสำคัญและก่อให้เกิดความเสียหายต่อเกษตรกรผู้ปลูกพริกมากที่สุด คือ โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) หรือโรคกุ้งแห้งที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp.

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2 โรคแอนแทรคโนสของพริกและเชื้อราสาเหตุโรค

Hadden and Black (1989) รายงานว่า โรคแอนแทรคโนสของพริกเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* 4 ชนิด คือ *C. capsici, C. gloeosporioides, C. acutatum* และ *C. coccodes* ในประเทศไทย ฉัตรนัททรี และคณะ (2550) รายงานว่า เชื้อราทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวเป็น

สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกเช่นกันโดยพบแพร่ระบาดเข้าทำลายพริกที่ปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือตอนล่าง

อาการโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* แต่ละชนิดเป็นดังนี้

1. **อาการโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides*** บนผลพริกมีแผลมีรูปร่างค่อนข้างกลม กลางแผลมีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลไหม้ แผลมักแห้งและมีจุดสีดำเล็ก ๆ จำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป ขอบแผลไม่เรียบ และเป็นมันตรงกลางแผลเล็กน้อย มองดูคล้ายกับกลางแผลมีลักษณะบุ๋มลงไป ขนาดของแผลสามารถลามขยายได้ และส่วนมากมักพบแผลเป็นแนวยาวจากบริเวณขั้วผลลงไป เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสเป็นเชื้อราที่สามารถสร้างสปอร์ขนาดเล็กจำนวนมากในโครงสร้างสำหรับผลิตสปอร์ที่เรียกว่า acervulus ซึ่งมองเห็นเป็นจุดสีดำขนาดเล็กบนแผล สปอร์สามารถปลิวแพร่ระบาดไปกับลม น้ำ หรือน้ำฝน ดังนั้นจึงพบโรคนี้เกิดระบาดมากในฤดูฝน ซึ่งมีความชื้นสูง และอุณหภูมิค่อนข้างสูง (นิพนธ์, 2542; เปรมปรี, 2544)

2. **อาการโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici*** บนผลพริกมีแผลรูปวงรีหรือกลมสีน้ำตาล ขนาดไม่แน่นอน เมื่อเกิดอาการรุนแรงขึ้นเนื้อเยื่อแผลจะบุ๋มต่ำกว่าระดับผิวผลเล็กน้อย พบจุดสีดำเรียงเป็นวงซ้อนกันบนแผล ในสภาพอากาศชื้นจะพบกลุ่มสปอร์ของเชื้อราเยิ้มออกมาเป็นสีครีมหรือสีอมชมพู โรคนี้สามารถเกิดอาการกับใบ กิ่ง และดอกพริกได้ (Hadden and Black, 1989)

3. **อาการโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. coccodes*** บนผลพริกมีแผลรูปร่างรีขอบแผลไม่สม่ำเสมอ มี acervulus เป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก ส่วนของ spore mass มีสีส้ม เมื่อดูใต้กล้องจุลทรรน์แบบสเตอริโอ พบ setae สีน้ำตาลดำ ปลายงอเล็กน้อยและมีขนาดความยาวสั้นกว่า setae ที่พบใน *C. capsici* ลักษณะ conidia รูปกระสวย (Sutton, 1980)

4. **อาการโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. acutatum*** บนผลพริกมีแผลกลมเมื่อแผลขยายใหญ่เป็นรูปวงรี บริเวณกลางแผลสีน้ำตาลอ่อน มีตุ่มแข็งเล็กสีดำเรียงซ้อนกันเป็นชั้นเชื้อไม่มีการสร้าง setae พบ spore mass สีส้มจำนวนมากบนแผล (Sutton, 1980)

เชื้อราในสกุล *Colletotrichum* เข้าทำลายพืชได้หลายวิธี มีการเข้าทำลายทั้งแบบ intracellular hemibiotrophy จนไปถึง subcuticular necrotrophy เชื้อราสร้างโครงสร้างในการเข้าทำลายพืช เช่น germ tube, appressorium, intracellular hyphae และ secondary necrotropic hyphae (Perfect *et al.*, 1999) สมศิริ และไพโรจน์ (2527) รายงานว่า *C. capsici* สามารถเข้าทำลายผลพริกได้โดยตรง โดยจะรุนแรงมากในระยะผลพริกสุก เมื่อสปอร์ตกลงบนผลพริก สปอร์จะงอก และสร้าง infection tube ผ่านผิวพริกลงไป เส้นใยของเชื้อราจะปล่อยสารพิษ

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ออกมา ทำให้เซลล์พืชตาย ก่อนที่เส้นใยจะเจริญต่อไป เชื้อราสามารถติดไปกับเมล็ด โดยอาจติดอยู่แค่เปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) แต่บางครั้งอาจเข้าทำลายลึกลงไปถึง endosperm และ embryo ได้

เชื้อรา *Colletotrichum* มีรายงานพบครั้งแรกโดย Tode ในปี 1790 ซึ่งได้จัดจำแนกเชื้อราชนิดนี้ไว้ในสกุล Vermilaria ต่อมาได้มีการปรับเปลี่ยนชื่ออยู่หลายครั้ง จนในที่สุดจึงแยกออกมาเป็นสกุล *Colletotrichum* โดย Fries ในปี ค.ศ.1821 สำหรับการจัดจำแนกเชื้อราชนิดนี้ในระดับสปีชีส์มีมากถึง 900 สปีชีส์ โดยอาศัยความจำเพาะเจาะจงต่อพืชอาศัยร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถจำแนกได้ ดังนี้ *C. acutatum, C. capsici, C. caricae, C. caudatum, C. circinans, C. coccodes, C. coffeanum, C. corchori, C. crassipes, C. curvatum, C. dematium, C. destructivum, C. falcatum, C. fragariae, C. fusarioides, C. fuscum, C. gloeosporioides, C. gloeosporioides var. minus, C. gnaphalii, C. graminicola, C. musae, C. nigrum, C. nymphaeae, C. paludosum, C. phyllachoroides, C. psoraleae, C. spinaciae, C. sublineolum, C. trichellum, C. trifolii, C. truncatum, C. typhae* (Sutton, 1980)

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อคือ 10-30°ซ ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 95-97 สปอร์ของเชื้อราแพร่ระบาดโดยลมและฝน (ชะลอ, 2539) มีการแพร่ระบาดของโรคแอนแทรคโนสแทบทุกที่ที่มีการเกษตร (Johnson and Coates, 1993) เชื้อรา *Colletotrichum* หลายชนิดสร้าง phytotoxin ซึ่งมีความเป็นพิษต่อพืช เช่น สารประเภท polysaccharide ทำให้ใบ ยอด และต้นกล้าของต้น alfalfa เกิดรอยซีดจาง แห้ง เหี่ยว และตายในที่สุด (Frantzen *et al*., 1982) เชื้อรา *Colletotrichum* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพืชหลายชนิดเช่น มะละกอ ฝรั่ง ส้ม องุ่น อะโวกาโด ธัญพืช พืชตระกูลถั่ว ผักผลไม้ต่าง ๆ เป็นต้น สามารถทำลายส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ ต้น ดอก และ ผล

การจัดจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* มีการจัดจำแนกดังนี้ (CABI Bioscience, 2005)

Division	Ascomycota
Class	Ascomycetes
Order	Phyllachorales
Family	Phyllachorales
Genus	Colletotrichum

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวิจัยครั้งนี้เน้นที่เชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* เนื่องจากเป็นชนิดที่พบแพร่ระบาดทั่วไปในแปลงพริกในพื้นที่จังหวัดลำปางและเชียงใหม่ ลักษณะทั่วไปของเชื้อทั้ง 2 ชนิด มีดังต่อไปนี้

1. เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เส้นใย (mycelium) มีการแตกกิ่งก้านได้ดี และเส้นใยมีผนังกั้น สีของเส้นใยมีตั้งแต่ไม่มีสีถึงสีน้ำตาลเข้ม สร้าง fruiting body เพื่อให้กำเนิดโคนิเดีย เรียกว่า acervulus ซึ่งมีสีอ่อนถึงสีน้ำตาล (วีระณีย์ และคณะ, 2537) acervulus จะสร้างบนผิวพืชตรงชั้นของ subcuticle, epidermal, subepidermal หรือ peridermal ของพืช โดยอาจจะสร้างขึ้นเดี่ยว ๆ หรือเป็นกลุ่ม ก้านชูสปอร์ (conidiophore) ไม่มีสีถึงสีน้ำตาล มีผนังกั้น ผิวเรียบ conidia เกิดโดยผนังชั้นในของ conidiogenous cell ดันทะลุผนังชั้นนอกออกมาคล้ายลูกโป่ง จึงเรียกเซลล์นี้ว่า enteroblastic conidiogenous cell โดย conidiogenous cell ที่สร้างมีลักษณะใส ไม่มีสี ผนังเรียบ รูปทรง กระบอก conidia เป็นเซลล์เดียว ขนาดประมาณ 7 - 20 x 2.5 - 5 ไมโครเมตร สปอร์ใส ไม่มีสี รูปทรงกระบอกหัวท้ายมน (Ploetz *et al*., 1994) ไม่มีผนังกั้น appressoria มีสีน้ำตาล ผิวเรียบ หรือขรุขระ อาจเกิดเดี่ยวๆ หรือสร้างหลายอันต่อกัน สปอร์จะงอก germ tube ภายใน 6 - 8 ชม. และสร้าง appressorium สีน้ำตาลเข้ม ภายใน 10 - 20 ชม. หลังจากนั้น appressorium จะสร้าง infection peg แทงเข้าไปในชั้น cuticle เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชม. infection peg บางอันงอก primary hypha สั้น ๆ และจะหยุดการเจริญและแฝงตัวในระยะนี้ โดยไม่มีการเจริญต่อจนกว่าสภาพแวดล้อมเหมาะสมจึงแสดงอาการของโรค (ดวงใจ, 2545) ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารพีดีเอ มีสีขาวอมเทาถึงสีน้ำตาลดำ เส้นใยฟู สร้างกลุ่มโคนิเดียสีส้ม ลักษณะเป็นวงซ้อน ๆ กัน บางครั้งจะพบว่ามีการสร้าง sclerotia น้ำตาลเข้มถึงสีดำ เป็นกลุ่มอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (ชะลอ, 2539)

2. เชื้อรา *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butler & Bisby เชื้อรา *C. capsici* มีโคโลนีสีขาวจนถึงสีเทาดำ เส้นใยมีผนังกั้น สร้าง acervulus และ stroma ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 70 – 120 ไมครอน มี setae สีน้ำตาลดำ ความยาวตั้งแต่ 150 ไมครอนขึ้นไป ส่วนใหญ่มีผนังกั้น conidiophore ไม่มีผนังกั้น และไม่แตกกิ่งก้าน conidia มีเซลล์เดียว สีใส รูปโค้งคล้ายพระจันทร์เสี้ยว (fusaroid) มีขนาด 17 – 28 × 3 – 4 ไมครอน เกิดเดี่ยว ๆ บน conidiophores (Singh, 1980)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีภาคเหนือ

2.3 การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส

การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การเขตกรรม การใช้เมล็ดพันธุ์ปราศจากโรค การใช้พันธุ์ต้านทานโรค และการใช้สารเคมี ซึ่งการใช้สารเคมีนั้นเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในปัจจุบัน และเกษตรกรมักนิยมใช้ในการป้องกันกำจัดโรค แอนแทรคโนส ซึ่งอาจเกิดสารพิษตกค้างทำให้เป็นอันตรายต่อผู้ใช้สารเคมี ผู้บริโภค และสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังทำลายสมดุลธรรมชาติของระบบนิเวศวิทยา ทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อ และทำให้ทวีความรุนแรงของโรคเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการค้นคว้าวิจัยและหาวิธีในการควบคุมโรคโดยชีววิธีเพื่อลดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรค โดยคัดแยกเชื้อซึ่งอาศัยอยู่ในธรรมชาติที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคและนำมาใช้ทดแทนสารเคมี การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นวิธีการที่ปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมและยังเป็นแนวทางการควบคุมโรคได้ในระยะยาว นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชและสารชนิดต่าง ๆ เพื่อใช้ทดแทนสารเคมี

2.3.1 การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสโดยใช้สารสกัดจากพืช

เสาวลักษณ์ และคณะ (2543) ศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและพบว่าที่ได้ผลดีที่สุด คือ น้ำมันข่าลิงซึ่งยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดี

สิริวรรณ และคณะ (2546) พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอล จากส่วนของราก ใบ และลำต้นของเจตมูลเพลิงแดง สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง จากการทดสอบโดยใช้วิธี glass slide สารสกัดจากรากแสดงผลการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราทุกไอโซเลทได้ร้อยละ 100 ไม่พบการยับยั้งในการใช้สารสกัดจากใบและก้านใบ แต่สารสกัดจากใบทำให้เส้นใยที่งอกมีความผิดปกติ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากรากเจตมูลเพลิงแดง อาจจะนำมาใช้ในการป้องกันการเกิดโรคแอนแทรคโนสของผลมะม่วงได้

บุญญวดี และคณะ (2547) พบว่า สารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย โชคอนันต์ น้ำดอกไม้ แรด และหนังกลางวัน 3 ระยะหลังเก็บเกี่ยว คือ ผลแก่ ผลสุก และผลสุกเป็นโรค โดยการสกัดด้วย ethanol – dichloromethane แล้วแยกสารสกัดให้เป็นสารกึ่งบริสุทธิ์ เมื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบ พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides*

สุภัทรา และคณะ (2547) นำสารสกัดจากกระชาย ขมิ้น และขิง ทั้งที่อยู่ในรูปสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหย มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา

สถาบันวิจัยและพัฒนาเกษตร

สาเหตุโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว ได้แก่ เชื้อรา *C. gloeosporioides*, *Lasiodiplodia theobromae* และ *C. capsici* พบว่า สารสกัดหยาบมีประสิทธิภาพชัดเจนเมื่อมีความเข้มข้น 10,000 ppm ส่วนน้ำมันหอมระเหย มีประสิทธิภาพชัดเจนเมื่อมีความเข้มข้น 1,000 ppm สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่นำมาทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราเกือบทุกชนิด

พรชนก และคณะ (2548) พบว่า สารสกัดว่านน้ำ (*Acorus calamus* L.) ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีและการงอกสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ร้อยละ 77.11

ชัยณรงค์ และคณะ (2548) พบว่า น้ำมันกระชายประกอบไปด้วยสารหลักอยู่ 5 ชนิดคือ camphene, eucalyptol, ocimen, camphor และ geraniol เมื่อนำน้ำมันกระชายและสารที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันกระชายไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชเช่น *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* พบว่าสารบริสุทธิ์ของ geraniol สามารถที่ยับยั้งเชื้อราทดสอบ ได้ดีกว่าสารประกอบชนิดอื่น ๆ

วีระณีย์ และคณะ (2548) ศึกษาการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* โดยใช้สารสกัดใบพุทธชาดก้านแดงในเมทานอล พบว่า สามารถยับยั้งการงอก germ tube ของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

กัทลีวัลย์ (2549) ทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์หางไหลในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าสารสกัดสูตร 6 (หางไหล : ดีปลี : กานพลู อัตราส่วน 1:1:1 โดยปริมาตรที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 มีประสิทธิภาพดีที่สุดสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค ได้ร้อยละ 100 สารสกัดสูตร 6 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 มีแนวโน้มในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของมะม่วงน้ำดอกไม้ ช่วยลดการเกิดแผลและขนาดของแผลได้ดีกว่า mancozeb ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ภายหลังการทดสอบ 7 วัน แต่ภายหลังการทดสอบ 10 วัน ทุกกรรมวิธีไม่สามารถควบคุมโรคได้

ชาคลีย์ และคณะ (2549) ทดสอบผลของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยวิธี poisoned food technique พบว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้น 10,000 และ 15,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ร้อยละ 78.22 - 83.78 และ 88.40 - 100 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 20,000 ppm ขึ้นไป สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ร้อยละ 100 และจากการทดสอบผลของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราโดยวิธี glass slide พบว่า ที่ความเข้มข้น 10,000 และ 15,000 ppm

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ ได้ร้อยละ 74.33 – 85.33 และ 88.33 – 95.67 ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 20,000 ppm ขึ้นไป สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ร้อยละ 100

ชลิดา และชัยณรงค์ (2550) นำพืชสมุนไพรมาใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลพริก พบว่าสารสกัดจากข่า กระเจี๊ยบแดง พริกไทยดำ และเจตมูลเพลิงแดง สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้

ปิยนันท์ และคณะ (2550) พบว่า สารสกัด 5 ชนิด คือ ขมิ้นชัน ว่านน้ำ ข่า กระเทียม และพริกไทย ที่ระดับความเข้มข้น 1,000, 3,000, 5,000 และ 10,000 ppm มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สารสกัดจากว่านน้ำความเข้มข้น 10,000 ppm ยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้สูงสุด คือร้อยละ 87.72 สารสกัดจากขมิ้นชัน ข่า กระเทียม และสารแมนโคแซบที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ได้ร้อยละ 100 และทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ที่แช่ในสารสกัดมีเปอร์เซ็นต์เชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ติดมากับเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดสอบการงอกของเมล็ดพันธุ์หลังการแช่ในสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 5,000 และ 10,000 ppm พบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และพบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการแช่ในสารสกัดจะมีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่งอกและถูกเชื้อราเข้าทำลายแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่งอกและถูกเชื้อราเข้าทำลายสูงถึงร้อยละ 15.25 นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อใช้สารสกัด ที่ระดับความเข้มข้นที่สูง คือ 10,000 ppm เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพันธุ์ลดลง การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งการเกิดโรคของผลพริกในห้องปฏิบัติการ มีแนวโน้มช่วยลดความสูญเสียจากการเข้าทำลายของเชื้อราได้ แต่การทดสอบการเกิดโรคบนต้นพริกไม่สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกได้

ชลิดา (2552) พบว่า สารสกัดจากไพลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ได้อย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 2,000 ppm เมื่อทดสอบสารจากไพลในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก ด้วยการปลูกเชื้อรา *C. capsici* โดยวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อราบนผลพริกบริเวณที่ทำแผลไว้ และพ่นสารสกัดพืชจากไพลหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 48 ชม. ประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดจากไพลในการควบคุมโรคจากเปอร์เซ็นต์ผลที่แสดงอาการเป็นโรค และขนาดแผลที่ลดลง ผลการทดลอง พบว่า สารสกัดจากไพลทำให้พริกเป็นโรคลดลง ร้อยละ 20 ลักษณะอาการของโรคที่ปรากฏบนผลพริกที่พ่นสารสกัดจากไพลมีขนาด

แผลลดลง แตกต่างจากที่ไม่ได้พ่น ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากไพลมีศักยภาพในการนำไปใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก

2.3.2 การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสโดยใช้ไคโตซาน

สุดคนึง (2546) ทดสอบไคโตซานที่ความเข้มข้น 4 ระดับคือ ร้อยละ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ซึ่งละลายอยู่ในกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และพบว่าไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 2.0 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้สูงสุด จากการทดลองเคลือบไคโตซานบนผิวมะม่วงที่ทำแผลและไม่ทำแผลก่อนการปลูกเชื้อรา พบว่า การเคลือบไคโตซานบนผิวมะม่วงที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 สามารถลดการเกิดโรคได้ดี

ดารุณี (2548) ทดสอบการใช้สารละลายไคโตซานต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและลักษณะทางสรีรวิทยาของพริกพันธุ์จินดา โดยการทำแผลก่อนการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* และเคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1.2 และ 1.6 พบว่า สารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.6 สามารถชะลอการเกิดโรค และรักษาความแน่นเนื้อของผลพริกได้ดีกว่าสารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1.2

ธวัช (2548) พบว่า สารละลายไคโตซานเข้มข้น 800 และ 1,600 ไมโครกรัม/มล.(pH 4.5) สามารถยับยั้งการงอกของโคนิเดียและยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ด้านหนึ่งของผลมะม่วงแล้วจุ่มทั้งผลลงในสารละลายไคโตซานเข้มข้น 800 ไมโครกรัม/มล.ที่ pH 4.5 สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ร้อยละ 73.2 ผลมะม่วงที่เก็บรักษาภายหลังการจุ่มในสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นเดียวกันที่อุณหภูมิ 15 °ซ. เป็นเวลา 5 วัน แล้วจึงนำมาปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* นั้น ประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงและยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงของสารละลายไคโตซานลดลงมากกว่าครึ่งเทียบกับผลที่ไม่ผ่านการเก็บรักษา

2.3.3 การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสโดยชีววิธี

จุลินทรีย์หลายชนิดมีลักษณะการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ ซึ่งมีรายงานการศึกษาถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค ตลอดจนการนำไปทดสอบการป้องกันกำจัดโรคในพืชชนิดต่าง ๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การใช้เชื้อราปฏิปักษ์

Bankole and Adebanjo (1996) ได้แยกเชื้อจากผิวของถั่วพุ่มที่ไม่เป็นโรคพบเชื้อรา *T. virens* และเมื่อนำเมล็ดของถั่วพุ่มมาจุ่มลงใน spore suspension ของเชื้อรา *T. virens* ที่ความเข้มข้น 10^8 สปอร์/มล. พบว่าสามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. truncatum* สาเหตุโรค brown blotch และผลการทดสอบในแปลงโดยปลูกเชื้อรา *C. truncatum* บนต้นถั่วพุ่มและพ่นสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ของเชื้อรา *T. virens* ลงไป พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้

สุมิตรา (2540) พบว่า *T. harzianum*, PC01 *T. hamatum* PC02, *Ch.globosum* และ *Ch.cupreum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสได้ ส่วนในแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium, Trichoderma* และใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรามีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสและปริมาณเชื้อก่อโรคในเศษซากพืชในดินไม่แตกต่างกันทางสถิติ ภายหลังการทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* ชนิดเม็ดหว่านรอบโคนต้น ทุก 4 เดือน ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ พบว่าในแปลงทดลองใช้ *Chaetomium* สามารถที่จะลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสลงได้ร้อยละ 55.93 และลดปริมาณเชื้อก่อโรคในดินได้ร้อยละ 79.88 ส่วนในแปลงทดลองที่ใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ดหว่านรอบโคนต้นทุก 4 เดือน ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ พบว่าสามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนส และปริมาณเชื้อก่อโรคในดินได้ร้อยละ 55.53 และ 81.26 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่พ่นสลับกันทุก 7 วัน พบว่า สามารถลดการเกิดโรคได้ร้อยละ 50.16 และลดปริมาณเชื้อก่อโรคได้ร้อยละ 23.83 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* และ *Trichoderma*

ปริญญา และคณะ (2544) ได้ทำการศึกษาพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. และเชื้อรา *Gliocladium virens* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและควบคุมการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ และพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญปกคลุมเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* นอกจากนี้ยังพบว่าสารที่เชื้อรา *T. harzianum* สร้างสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* และลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนพริกได้ดีเทียบเท่าการใช้สารเคมี

สุธาสินี และเกษม (2544) ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Chaetomium* และ *Trichoderma* ในการควบคุมโรครากเน่าและโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวานในแปลงทดลองที่มีการระบาดของโรค พบว่าแปลงทดลองที่ใช้ชีวภัณฑ์ดังกล่าวทั้งการใช้เดี่ยวและใช้ร่วมกันสามารถลดระดับการเกิดโรครากเน่าและโรคแอนแทรคโนสได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สิทธิศักดิ์ (2546) นำเชื้อรา *Trichoderma* sp. มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. truncatum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลืองโดยวิธี dual culture พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. แสดงการเป็นปรสิตโดยเข้าทำลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยการแทงทะลุเข้าไปเจริญอยู่ภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช นอกจากนี้ได้ทำการคัดเลือกเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลือง โดยพบว่าไอโซเลท ที่เป็นเชื้อรา *Trichoderma* sp. มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *C. truncatum* สูงถึงร้อยละ 80.05 และการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ เชื้อรา *Trichoderma* sp. และสารกำจัดเชื้อรา Thiram ในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส *C. truncatum* บนเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ชม.2 โดยการคลุกเมล็ด พบว่า ทั้ง *Trichoderma* sp. และ Thiram สามารถลดการเกิดโรคและช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงของต้นกล้าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

วราภรณ์ และคณะ (2548) ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับแบคทีเรีย *Bacillus* sp. พบว่า สามารถยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองได้

จินันทนา และวิชชา (2548) นำเชื้อ *Gliocladium virens* มาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรคโนส บนผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยว พบว่า เชื้อรา *G. virens* สามารถยับยั้งการเจริญและการเข้าทำลายเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวได้ผลดีเป็นที่น่าพอใจ

พรอุษา (2548) พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากใบที่ไม่เป็นโรคของสตรอเบอรี่ สามารถควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ของสตรอเบอรี่

Rocha and Oliveira (1998) รายงานว่าเชื้อรา *T. koningii* มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพาสชั่นฟรุ๊ตทั้งในสภาพแปลงและผลผลิตหลังเก็บเกี่ยว

เลขา และคณะ (2549) แยกเชื้อราบนซากใบพืชที่ร่วงหล่น 7 ชนิด ได้แก่ ใบสัก ไผ่ ยูคาลิปกล้วยไม้ กล้วย มะม่วง ชมพู่ รวมทั้งใบไม้ที่ไม่ทราบชนิด พบว่าเชื้อรา *Myrothecium verrucaria* และ *Ciliochorella* sp. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* ในห้องปฏิบัติการ

วาริน และคณะ (2549) ได้ทำการศึกษาเชื้อรา *T. hazianum 7* ไอโซเลท เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญ และการปกคลุมเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides*

สถาบันวิทยบริการ

สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง พบว่า เชื้อรา *T. hazianum* สามารถยับยั้งการเจริญและปกคลุมเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้

Soytong *et al.* (2005) ทดลองพ่นเชื้อรา *Chaetomium, Penicillium* และ *Trichoderma* บนต้นองุ่น พบว่า ช่วยลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสทั้งบนกิ่ง ใบ และผลได้ดีซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

มโนรัตน์ และคณะ (2550) ทดสอบเชื้อรา *Trichoderma* sp. กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส *Collectotrichum* spp. โดยวิธี dual culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อและทดสอบกับผลพริกชี้ฟ้าและพริกหยวก พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส *Collectotrichum* spp. ได้ดี และผลพริกที่ปลูกเชื้อด้วย culture filtrate ของเชื้อรา *Trichoderma* sp. มีขนาดของแผลที่เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum* spp. ลดลง

ธิดา และคณะ (2550) ได้เก็บตัวอย่างดินจาก 32 จังหวัด นำมาแยกรา *Talaromyces* ได้จำนวน 309 ไอโซเลท สามารถจำแนกเชื้อรา *Talaromyces* ได้ 11 ชนิด (species) ได้แก่ *Talaromyces austrocalifornicus*, *T. bacillisporus, T. flavus, T. luteus, T. macrosporus, T. helicus T. indigoticus, T. stipitatus, T. rotundus, T. trachyspermus* และ *T. wortmannii* และคัดเลือกเชื้อรา *T. flavus* จำนวน 20 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา *T. flavus* ส่วนใหญ่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici*, และ *C. gloeosporioides* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

อรอุมา และคณะ (2550) ทดสอบมูลสัตว์จำนวน 13 ชนิด ได้แก่ มูลเก้ง กระบือ อูฐ วัว กวาง ละมั่ง ช้าง กระทิง แพะ ม้า กระต่าย หนู และ ผลการศึกษาการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Sordaria fimicola* กับเชื้อราสาเหตุโรคพืช 9 ชนิดในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อรา *S. fimicola* จำนวน 6 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. capsici* ได้มากกว่าร้อยละ 50

Marikar *et al.* (2008) ทดลองจุ่มผลเงาะ *(Nephelium lappaceum*) ในสปอร์แขวนลอยเชื้อรา *T. harzianum* ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มล.ที่ผสมกับสารละลายเกลือแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1,100 มก./ลิตร พบว่าสามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้

นิพนธ์ และคณะ (2552) ทดสอบโดยการนำเชื้อรา *T. harzianum* มาทดสอบการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในห้องปฏิบัติการเปรียบเทียบกับสารเคมี carbendazim พบว่า เชื้อรา *T. harzianum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* สาเหตุโรคได้

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สาวิตรี (2552) แยกจุลินทรีย์ได้หลายชนิดจากใบและผลของพริกเมื่อนำมาทดสอบโดยวิธี bioassay กับเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส พบว่า มี 3 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อบนอาหารและลดการเกิดแผลบนผลพริกได้

วรรณวิไล และจิระเดช (2552) ได้ทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกสาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในสภาพแปลงด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ไอโซเลท CB-Pin-01 และเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg - 13 พบว่า ทุกกรรมวิธีสามารถลดการเกิดโรคได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ โดยเชื้อรา *T. harzianum* ไอโซเลท CB-Pin-01 และเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* ไอโซเลท DGg-13 รูปแบบ LB สามารถลดการเกิดโรคได้เท่าเทียมกับการใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา carbendazim

การใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์

Korsten *et al.* (1995) ได้รายงานถึงการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 33 ไอโซเลท ซึ่งแยกได้จากส่วนของใบและบริเวณผิวของผลอะโวกาโด เมื่อนำไปทดสอบความสามารถในการเป็นเชื้อต่อต้านการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporiodes* พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้สูงที่สุด

Cotes *et al.* (1997) ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียที่อยู่บนผลและใบของมะม่วงและผลของอะโวกาโด นำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporiodes* ด้วยวิธี leaf disc assay ที่ตัดจากใบมะม่วงในโรงเรือน นำมาจุ่มด้วยน้ำร้อนนาน 30 วินาที แล้วนำมาทดสอบกับเชื้อรา *C. gloeosporiodes* และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ทำการบ่มเชื้อไว้ 7 วันในสภาพชื้น พบว่า *Bacillus* sp. ไอโซเลท 359 สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในอะโวกาโดได้ผลดี

Jeyalakshmi *et al.* (1998) ได้ทดลองใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ต่าง ๆ ในการต่อต้านเชื้อรา *C. capsici* ทั้งในห้องปฏิบัติการ และบนต้นพริก พบว่า เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *B. subtilis* โดยการฉีดพ่น 105 และ 120 วัน หลังปลูก

จินันทนา (2541) ได้ทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporiodes* บนอาหารพีดีเอ โดยเชื้อแบคทีเรีย 53 ไอโซเลท ที่แยกได้จากใบและผลมะม่วงดิบพันธุ์น้ำดอกไม้และผลไม้ต่าง ๆ พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท NFB7 และ NFB15 ที่แยกได้จากผลมะม่วงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุด เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเกิดโรค

สถาบันวิทยบริการเฉลิมพระเกียรติ

แอนแทรคโนสบนผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยว โดยการฆ่าเชื้อที่ผิวของผลมะม่วงที่แก่จัด แล้วนำไปจุ่มในสปอร์แขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ แล้วนำมาวางในกล่องพลาสติกชื้น ทำการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporiodes* ลงบนมะม่วงที่บ่มเพาะเชื้อนาน 10 วัน พบว่า แบคทีเรียที่ทำให้พื้นที่แผลเล็กลงมากที่สุด คือ ไอโซเลท NFB15

วิลาวัลย์ (2542) ได้ทำการศึกษาถึงการควบคุมโรคถั่วเหลือง ที่เกิดจากเชื้อรา *C. truncatum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส และเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv.*glycines* สาเหตุโรคใบจุดนูน โดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 12 ไอโซเลทในการควบคุมโรค คือ *B. subtilis* 2 ไอโซเลท ได้แก่ MK007 และ Abs042, *Bacillus sp.* 6 ไอโซเลท ได้แก่ NFB7 และ NFB15 (มะม่วง) B4 (จากใบลำไย) G1, G2, และ G3 (จากหญ้าข้าวนก) ยีสต์ 4 ไอโซเลท ได้แก่ Ciku (จากผลละมุดมาเลย์) MG1 (จากผลมะเกี๋ยง) Pr1 และ Pr2 (จากผลสาลี่ก้านยาว) แล้วทำการทดสอบบนอาหารพีดีเอ และเอ็นเอ ตามลำดับ พบว่า ผลการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลือง แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุดคือ MK007 และ B4 รองลงมาคือ NFB15, G3, G1, NFB7, Abs042 และ G2 ตามลำดับ ในกลุ่มยีสต์นั้น พบว่า ทั้ง 4 ไอโซเลทไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งของเชื้อราสาเหตุโรค ทำการทดสอบการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนลำต้นถั่วเหลือง โดยนำ antagonis ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. truncatum* บนอาหาร พีดีเอ ได้ คือ MK007, B4 และ NFB15 มาทำการปลูกเชื้อบนลำต้นร่วมกับเชื้อสาเหตุโรคเพื่อหาตัวที่สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด พบว่า แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ MK007 และ NFB15 รองลงมาคือ B4

ชลิดา และนวลวรรณ (2544) ทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* โรคแอนแทรคโนสของส้มโอ โดยวิธี paper - disc diffusion พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส เห็นเป็นบริเวณใส (clear zone) เกิดขึ้นระหว่างเชื้อทดสอบ

ประคอง และคณะ (2547) ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ 267 ไอโซเลท ซึ่งประกอบด้วยเชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ จากใบ ช่อดอก และผิวผลของมะม่วง เมื่อนำแบคทีเรียและยีสต์จำนวน 146 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหารพีดีเอ พบว่า มีแบคทีเรีย 74 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ร้อยละ 24.5 - 49.1 คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 40 ไอโซเลท มาใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนใบมะม่วงด้วยวิธี detached leaf technique โดยการปลูกเชื้อสาเหตุโรคเป็น

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เวลา 24 ชม. ก่อนพ่นเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักษ์ ผลการทดสอบ พบว่า มีแบคทีเรีย 12 ไอโซเลทสามารถลดความรุนแรงของโรคได้ร้อยละ 48.61 - 86.11 จึงได้นำแบคทีเรียทั้ง 12 ไอโซเลทไปทดสอบอีกครั้งโดยการปลูกเชื้อสาเหตุโรค หลังจากปลูกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แล้วเป็นเวลา 24 ชม. พบว่าแบคทีเรียทุกไอโซเลทสามารถลดความรุนแรงของโรคได้ร้อยละ 15.39 - 61.54 โดยที่ไอโซเลท BB133, BB167 และ BB165 สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ร้อยละ 61.54 56.41 และ 51.29 ตามลำดับ ในขณะที่ *T. harzianum* CB-Pin-01 ลดความรุนแรงของโรคได้ร้อยละ 46.16

ประคอง (2547) ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียจำนวน 40 ไอโซเลทในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนใบมะม่วงด้วยวิธี detached leaves ผลการทดสอบพบว่า แบคทีเรีย 12 ไอโซเลทสามารถลดอาการโรค และเมื่อพ่นเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียก่อนและหลังปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นเวลา 24 ชม. พบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกไอโซเลทสามารถลดอาการของโรคได้ แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงคือ *B. licheniformis, B. subtillis* และ *B. cereus* นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียเหล่านี้สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ ทั้งยังทำให้ spore และ germ - tube ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บวมพองและมีรูปร่างผิดปกติ ส่วนการทดสอบในสภาพสวน พบว่า สารเคมี benomyl และแบคทีเรียปฏิปักษ์ สามารถลดอาการของโรคได้และในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยว พบว่า การใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ร่วมกับน้ำร้อน (55 °ซ. เป็นเวลา 5 นาที) สามารถลดอาการของโรคได้ เมื่อใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นเวลา 24 ชม.

ศิริรัตน์ และคณะ (2549) แยกจุลินทรีย์ผิวพืชจากทรงพุ่มมะม่วงโดยใช้อาหารเอ็นจีวี และจีวายพี ร่วมกับขั้นตอน enrichment technique และนำมาทดสอบเพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถคัดเลือกได้ 4 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรีย 3 ไอโซเลท และยีสต์ 1 ไอโซเลท จากจุลินทรีย์ผิวพืชทั้งหมด 347 ไอโซเลท ผลการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราบนมะม่วงน้ำดอกไม้ แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถลดระดับความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสลงได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์พร้อมหรือก่อนการปลูกเชื้อรา 12 ชม.

ปฏิมาพร และคณะ (2549) พบว่า เชื้อ *Bacillus* spp. มีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคของพริก สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส และ *Cercospora capsici* สาเหตุโรคใบจุดตากบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตร

จิราพร และคณะ (2550) แยกเชื้อแบคทีเรียจำนวน 54 ไอโซเลท และนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก รวมทั้งทดสอบการกำจัดเชื้อราแอนแทรคโนสที่ติดมากับเมล็ดโดยวิธีเคลือบเมล็ดด้วยแบคทีเรียแต่ละไอโซเลท เปรียบเทียบกับสารเคมี carbendazim และน้ำกลั่น และตรวจสอบด้วยวิธี blotter plate พบว่า carbendazim สามารถกำจัดเชื้อที่ติดมากับเมล็ดพริกได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่แบคทีเรียปฏิปักษ์ สามารถกำจัดเชื้อที่ติดมากับเมล็ดได้ระหว่างร้อยละ 74.40 - 87.20 และจากการจำแนกชนิดแบคทีเรียปฏิปักษ์ พบว่า ทั้งหมดเป็น *Bacillus* spp.

อุดม และคณะ (2551) ศึกษาศักยภาพของแบคทีเรีย *B. magaterium* ในการเป็นศัตรูธรรมชาติต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยการปลูกเชื้อแบบไม่ทำแผลในห้องปฏิบัติการด้วย spore suspension ของราร่วมกับ cell culture ของแบคทีเรีย *B. magaterium* ลงบนใบอ่อนของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ระยะหลังของการเปลี่ยนสี (mango - leaf assay) พบว่า แบคทีเรีย *B. magaterium* สามารถทำให้ขนาดของแผลลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญ

จุฑารัตน์ และคณะ (2552) นำแบคทีเรียมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของผลองุ่น ด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อแบคทีเรีย สามารถสร้างปฏิชีวนะสารเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้โดยเฉพาะไอโซเลท Endo 2(2) และ Endo 3(1) ที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ถึงร้อยละ 55.67 และ 54.33 จากการทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลองุ่น โดยทำแผลด้วยเข็มที่ผ่านการฆ่าเชื้อบนผลองุ่นแต่ละผล แล้วหยดเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบปริมาตร 100 มล./แผล หลังจากนั้นบ่มผลองุ่น 24 ชม. จึงหยดสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* แล้วบ่มต่ออีก 7 วัน พบว่า แบคทีเรียทดสอบไอโซเลท Endo 2(2) สามารถยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลองุ่นได้ร้อยละ 89.60

การใช้เชื้อยีสต์ปฏิปักษ์

นวลวรรณ และคณะ (2530) แยกยีสต์จากเงาะและเพิ่มปริมาณของยีสต์โดยเลี้ยงในอาหารที่เป็นกรดอ่อน ทำการศึกษาเป็นปฏิปักษ์ของยีสต์ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporiodes* ในสภาพการเจริญที่มีเซลล์ยีสต์ปะปนอยู่ พบว่า การงอกของสปอร์ลดลงอย่างมาก และสังเกตพบว่า germ tube มีลักษณะโป่งพองในระยะแรกของการงอก หลังจากนั้น 24 ชม. มีการพัฒนาที่ผิดปกติของเส้นใย คือ มีอาการบวมพองและแตกแขนงผิดปกติ รวมทั้งการหดสั้นลงของเส้นใยอีกด้วย

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จินันทนา และวิชชา (2549) พบว่า เชื้อยีสต์ *Issatchenkia orientalis* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคได้เมื่อเลี้ยงร่วมกันในอาหารเหลวพีดีบี สปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคที่ปลูกเชื้อบนผลมะม่วงไม่สามารถเจริญงอกได้เช่นกันเมื่อมีเชื้อยีสต์ พบลักษณะที่บ่งชี้ว่าเชื้อยีสต์สร้างสารบางชนิดที่มีผลยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ทั้งชนิดสารที่ซึมแผ่ไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ และที่เป็นสารระเหย การแช่ผลมะม่วงในเซลล์ยีสต์แขวนลอยในน้ำกลั่นนาน 40 นาที ช่วยลดการเกิดแผลแอนแทรคโนสบนผลได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อแช่ผลมะม่วงในน้ำร้อน 52 °ซ. นาน 5 นาที ก่อนแช่ในเซลล์ยีสต์แขวนลอยในน้ำกลั่น พบว่า เพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคได้ดี เชื้อยีสต์ *I. orientalis* มีศักยภาพสูงในการนำไปใช้ป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว

2.4 ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Trichoderma* และแบคทีเรีย *Bacillus*

เชื้อรา *Trichoderma*

เป็นเชื้อราจำพวก saprophyte (Troutman and Matejka,1978) จัดเป็น soil saprophyte และเป็น mycoparasite โดยใช้เส้นใยขดเป็นวงรอบ ๆ เส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช จากนั้นเข้าไปเจริญในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้โดยการย่อยผนังเซลล์ แล้วใช้อาหารจากเชื้อราโรคพืชเจริญได้ดีในดินที่มีความชื้นแต่ไม่แฉะ มีชีวิตยืนยาวได้ในสภาพดินที่มีความชื้นสูง พบว่า ในดินที่ปราศจากแหล่งอาหารเชื้อราชนิดนี้อยู่ได้นานกว่า 130 วัน การเจริญเติบโตของ เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถถูกกระตุ้นให้เจริญเติบโตได้โดยการใช้สารไธแรม (thiram) แต่จะถูกยับยั้งโดยสารเบโนมิล (banomyl) เชื้อราชนิดนี้มีความทนทานต่อสารเมตาแลกซิล (metalaxyl) และแอมโมเนีย เชื้อรา *Trichoderma* spp. จัดเป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช เนื่องจากมีการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็วจึงสามารถแข่งขันและเข้าทำลาย เชื้อราสาเหตุโรคพืชกับเชื้อราชนิดอื่นได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนั้นเชื้อรา *Trichoderma* spp. ยังสามารถดำรงชีวิตอยู่ในดิน พบได้ทั่วไปในโลกและง่ายต่อการแยกจากดิน เศษซากไม้ที่ย่อยสลาย และอินทรียวัตถุอื่น ๆ เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีอัตราการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างรวดเร็วและสร้างสปอร์สีเขียวเป็นจำนวนมาก บางครั้งพบว่าโคโลนีจะไม่มีสี หรือมีสีเหลืองอ่อน สีเหลือง สีน้ำตาลเหลือง สีเขียว หรือสีเหลืองอมเขียว และมีหลายชนิด (species) ที่สร้าง chlamydospore เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า มีการใช้ครั้งแรกในช่วงปี ค.ศ. 1930 และปีต่อมาได้มีการนำเอาเชื้อรา *Trichoderma* spp. มาใช้ในการควบคุม เชื้อสาเหตุ

สถาบันวิทยบริการเทคโนโลยีเกษตร

โรคพืชชนิดต่าง ๆ (Gams and Bisset, 1998, Howell, 2003) เนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิด (Robert and Deboras, 1998)

เชื้อรา *Trichoderma* จัดจำแนกดังนี้ (Rifia, 1969; Beagle–Ristaino and Papavizas, 1985)

Kingdom	Fungi
Phylum	Ascomycota
Class	Euascomycetes
Order	Hypocreales
Family	Hypocreaceae
Genus	*Trichoderma*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Trichoderma*

เชื้อราไตรโคเดอร์มา *Trichoderma* spp. จัดเป็นเชื้อราชั้นสูงที่เจริญได้ดีในดิน เศษซากพืช ซากสิ่งมีชีวิตรวมทั้งอินทรียวัตถุตามธรรมชาติ เชื้อรา *Trichoderma* spp. บางไอโซเลทสามารถเป็นปรสิตโดยการพันรัดเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชแล้วสร้างเอนไซม์ เช่น ไคติเนส (chitinase) เบต้า – 1,3 กูลคาเนส (ß – 1,3 – glucanase) และเซลลูเลส (cellulose) ซึ่งมีคุณสมบัติย่อยสลายผนังเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช จากนั้นแทงเส้นใยเข้าไปเจริญอยู่ภายในเส้นใยเชื้อโรคพืช เป็นสาเหตุให้เชื้อโรคพืชสูญเสียความมีชีวิต ส่งผลให้ปริมาณของเชื้อโรคพืชลดลง นอกจากนี้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ส่วนใหญ่จะเจริญสร้างเส้นใยและสปอร์ได้ค่อนข้างรวดเร็ว จึงทำให้มีความสามารถสูงในการแข่งขัน (competition) กับเชื้อโรคพืช ด้านการใช้อาหารและแร่ธาตุต่าง ๆ จากแหล่งอาหารในธรรมชาติ ตลอดจนการใช้สารที่จำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยได้เป็นอย่างดี ขณะที่บางไอโซเลทสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ไตรโคเดอร์มิน (trichodermin) ออกมาเพื่อยับยั้งหรือเข้าทำลายเส้นใยของเชื้อโรคพืชจนเกิดการเหี่ยวสลาย (lysis) ได้ (จิระเดช และวรรณวิไล, 2542) Bissett (1984) ได้อธิบายลักษณะของเชื้อราชนิดนี้ว่าเป็นเชื้อราที่เจริญรวดเร็วบนอาหารหลายชนิด สร้าง conidiophore ที่แตกกิ่งก้านสาขาโดยที่ปลาย conidiophore มีโครงสร้างให้กำเนิด conidium หรือ spore เรียกว่า phialide รูปร่างคล้ายลูกโบว์ลิ่ง conidium ที่เกิดจากปลาย phialide จะรวมกันเป็นกลุ่มก้อน (slime head) เห็นเป็นสีเขียวหรือใส (hyaline) เชื้อรา *Trichoderma* spp. จัดเป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูงในการเจริญแข่งขันกับเชื้อราสาเหตุโรคพืชเนื่องจากมีการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็วและสามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ในที่มีอุณหภูมิเย็นจัดประมาณ 10 – 12 °ซ (Johnson *et al*., 1987)

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลักษณะโคโลนี (colony) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีการสร้างเส้นใยที่เจริญเติบโตรวดเร็ว เส้นใย (mycelium) ไม่มีสี มีผนังกั้นระหว่างเซลล์ ผนังเรียบ มีการแตกกิ่งก้านมากมาย เริ่มแรกโคโลนีมีผิวหน้าเรียบ ไม่มีสี (translucent) หรือสีขาว ต่อมาโคโลนีมีลักษณะเป็นปุยฝ้ายฟูอย่างหลวมๆ (loosely floccose) หรือเป็นกระจุกหนาแน่น (compactly tuft) หรือมีลักษณะทั้งสองแบบในโคโลนีเดียวกันหรือมีลักษณะอยู่ระหว่างทั้ง 2 แบบ การเกาะกันเป็นกระจุกของโคโลนีมีส่วนเกี่ยวข้องกับโครงสร้างของก้านชูสปอร์ (conidiophore) ตัวอย่าง เช่น *T. hamatum* มีโคโลนีเป็นกระจุกหนาแน่น สังเกตพบว่าระบบการแตกกิ่งก้านของก้านชูสปอร์ของเชื้อราชนิดนี้มีความซับซ้อนมาก (complicate)

การสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* ที่สำคัญ คือ บริเวณที่สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นวงรอบ หรือเป็นวงแหวน ซึ่งเกิดจากอิทธิพลของแสง และเมื่อโคโลนีมีอายุมากขึ้นจะมีการสร้าง conidiophore ขึ้นมาใหม่ บริเวณรอบนอกที่สร้างสปอร์ ทำให้เห็นการเกิดวงรอบ (zonation) ไม่ชัดเจน บางไอโซเลทมีลักษณะเป็นแบบปุยฝ้าย (floccose) การสร้าง zonation สามารถสังเกตได้ในขณะที่เชื้อยังมีอายุน้อยเท่านั้น (นุชนารถ, 2535)

สีของโคโลนีส่วนใหญ่เกิดมาจากการสร้างสีของสปอร์ (phialospore) โดยปกติเชื้อรา *T. virens* มีโคโลนีสีเขียวเข้ม แต่บางครั้งอาจจะแสดงสีที่แตกต่างออกไปอย่างชัดเจน ตั้งแต่สีเหลืองไปจนถึงสีเขียวอ่อน ส่วนโคโลนีของเชื้อรา *T. polysporum* มีสีขาวเนื่องจาก phialospore ไม่มีสี นอกจากสีสปอร์ที่มีผลต่อสีของโคโลนีแล้วยังมีปัจจัยอื่นอีก คือ ปริมาณสปอร์ที่สร้าง ทำให้โคโลนีมีสีเข้มขึ้นหรืออ่อนลง การสร้างผลึกสี หรือปล่อยสีออกมา ทำให้สีของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนไป ชนิด และความเป็นกรดด่าง (pH) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ มีผลต่อสีของโคโลนี และการสร้างเส้นใยที่ยืดตัวออกและเป็นหมัน (sterile hyphal elongation) เหนือกระจุกของ conidiophore ของเชื้อรา *T. hamatum* ทำให้โคโลนีมีสีเขียวหรือสีเขียวอมเทา (grayish – green)

ลักษณะของ chlamydospore มีผนังหนา เป็นโครงสร้างเพื่อความอยู่รอดหรือการอยู่ข้ามฤดู ส่วนใหญ่จะสร้างระหว่างเส้นใย ส่วนที่บริเวณปลายเส้นใยไม่ค่อยพบ มีรูปร่างกลม (globose) เป็นส่วนใหญ่ ส่วนรูปกระสวย (ellipsoid) พบน้อยมาก (Rifia, 1969)

ก้านชูสปอร์ (conidiophore) ของเชื้อรา *Trichoderma* มีการแตกกิ่งก้านหลายแบบและสร้างสลับซับซ้อนกันมาก มองดูโครงสร้างด้านนอกเป็นรูปกรวย (conical) หรือเป็นแบบปิรามิด (pyramid) ตัวอย่างเช่น เชื้อรา *T. hamatum* และ *T. polysporum* มีก้าน conidiophore ยาว แตกกิ่งก้านด้านข้างสั้นและหนา มีลักษณะเฉพาะ คือ สร้างเส้นใยที่ยืดตัวออกและเป็นหมัน

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เป็นเส้นยาวคล้ายแส้ พบอยู่ที่ปลายก้านของ conidiophore ส่วนเชื้อรา *T. longibrachiatum* มีเส้นแกนกลางของก้าน conidiophore ค่อนข้างยาว และแตกกิ่งก้านสั้นเช่นกัน สำหรับเชื้อรา *T. virens* และ *T. Koningii* สร้าง conidiophore ที่มีการแตกกิ่งก้านด้านข้างออกมาจากจุดเดียวกันเหมือนกับพวกเชื้อรา *Verticillium*

ก้านชูสปอร์ (phialide) ที่อยู่ปลายสุดของก้านสปอร์เป็นแหล่งให้กำเนิดสปอร์ ส่วนมากจะมีรูปร่างคล้ายขวดรูปชมพู่ (flask) หรือลูกพินโบว์ลิ่งที่ฐานแคบกว่าตรงกลางเล็กน้อยและค่อย ๆ เรียวไปยังส่วนปลาย ซึ่งตรงปลายจะเป็นรูปกรวยแคบ ๆ (conical neck) หรือใกล้จะเป็นทรงกระบอก (subcylindrical terminal phialide) โดยทั่วไป phialide จะแตกออกมาจากจุดกำเนิดเป็นวงกว้างและปลายโค้งงอ ทำให้มองด้านข้างคล้ายเขาสัตว์ (horn – shaped) และอาจเกิดบนกิ่งก้านของ conidiophore ที่แตกด้านข้าง ลักษณะเรียงกันของ phialide เป็นวงรอบไม่สม่ำเสมอ มีจำนวนถึง 5 อัน เกิดที่ปลายก้านของ conidiophore ซึ่งเกิดจากเซลล์ที่ให้กำเนิด หรือเกิดตลอดกิ่งก้านแบบเดี่ยว ๆ และสลับกันไป หรือเกิดตรงข้ามเป็นคู่ ๆ แต่ส่วนใหญ่อันที่อยู่ปลายสุดมักเกิดเดี่ยว ๆ และค่อนข้างยาวกว่าอันที่อยู่ข้างล่าง (นุชนารถ, 2535)

ลักษณะทั่วไปของ phialide ในเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละชนิด (Beagle–Ristaino and Papavizas (1985) มีดังนี้

1. **เชื้อรา *T. koningii*** phialide มีลักษณะกลมและสั้น การจัดเรียง phialide แตกออกจากจุดเดียวกันแบบ verticillate เป็นมุมกว้างกว่าเชื้อรา *Verticillium* แต่ไม่สม่ำเสมอและเป็นมาตรฐานอย่างเชื้อรา *Verticillium* เพราะไม่ได้เกิดที่ระดับเดียวกัน

2. **เชื้อรา *T. virens*** ส่วนใหญ่แสดงการเรียงตัวของ phialide และมีลักษณะที่แตกต่างไปจากกลุ่มอื่นโดยการแตกกิ่งก้าน conidiophore เป็นแบบง่าย ๆ ไม่ยุ่งยาก และมีความเป็นระเบียบน้อย ไม่อยู่เป็นกลุ่มหนาแน่นอย่างเชื้อรา *T. koningii* และ ชนิด (species) อื่น ๆ จึงมีลักษณะที่ต่างไปจากเชื้อรา *Verticillium* มากขึ้น

3. **เชื้อรา *T. hamatum* และ *T. polysporum*** การเรียงตัวของ phialide มีลักษณะเฉพาะคือ เกิดการรวมกลุ่มกันเป็นก้อน (aggregate) เนื่องจาก conidiophore เป็นแบบกระจุกหนาแน่น ลักษณะ phialide อ้วนและสั้น และรูปร่างเป็นแบบผลสาลี่ (pear – shaped) จนถึงรูปไข่ (ovoid) ส่วนใหญ่เป็นรูปไข่ เรียงตัวกันอย่างใกล้ชิดและหนาแน่นบนกิ่งก้านที่แตกแขนง (side branch) ออกไปซึ่งมีขนาดสั้นและหนา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตร

4. เชื้อรา ***T. piluliferum*** มีลักษณะเรียงตัวของ phialide ซึ่งอาจจะแยกเป็นอีกแบบหนึ่ง เนื่องจากมีการแตกกิ่งก้านของ conidiophore เป็นแบบ koningii – type แต่การเรียงตัวของ phialide เป็นแบบ hamatum - type

ลักษณะของสปอร์ (phialospore) เกิดเดี่ยว ๆ หรือเกาะกลุ่มกันเป็นก้อนกลม (globose) หรือค่อนข้างกลม (subglobose) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางต่ำกว่า 15 ไมครอน อยู่บนปลาย phialide สปอร์ต่อกันเป็นแถวพบน้อยมากและเป็นแถวสั้น ๆ บางครั้งกลุ่มสปอร์ที่เกิดบน phialide ข้างเคียงอาจรวมกันเป็นก้อน (conidial head) ที่ใหญ่ขึ้น ผนังของสปอร์เรียบหรือขรุขระเล็กน้อย ไม่มีสี (hyaline) หรือสีเขียวเหลือง (yellowish - green) จนถึงสีเขียวเข้ม (dark green) รูปร่างค่อนข้างกลม (subglbose) รูปไข่หัวกลับและสั้น (short obovoid) หรือรูปไข่หัวกลับ (obovoid) รูปกระสวย (ellipsoid) หรือรูปทรงกระบอกเรียวแบบกระสวย (elliptic-cylindrical) จนถึงเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า (oblong) (นุชนารถ, 2535)

การจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* ใช้ลักษณะความแตกต่างของโคโลนี (colony) ก้านสปอร์ (conidiophore) เซลล์ที่ให้กำเนิดสปอร์ (phialide) และสปอร์ (phialospore) (Rifia, 1969)

การเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรคพืชของเชื้อรา *Trichoderma* (Bilai, 1963)

เชื้อรา *Trichoderma* มีลักษณะการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ 3 แบบคือ

1. การเป็นปรสิต (parasitism)
2. การแข่งขัน (competition)
3. การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotics)

1. การเป็นปรสิต (parasitism) เชื้อรา *Trichoderma* บางไอโซเลทเป็นปฏิปักษ์โดยตรงต่อเชื้อโรคพืช โดยการพันรัด แล้วแทงส่วนของเส้นใยเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ทำให้เส้นใยตาย (จิระเดช และวรรณวิไล, 2542) เชื้อราที่สามารถเจริญเบียดเบียนบนเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยอาศัยอาหารจากเชื้อสาเหตุโรค เรียกว่า ไมโคปรสิต (mycoparasite) การเป็นปรสิตของเชื้อรา *Trichoderma* sp. เป็นการสร้างเส้นใยเจริญพันรอบๆ เส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคพืชและส่งเอนไซม์ B-1,3-glucanase และ chitinase เพื่อจะย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรค (วีรศักดิ์, 2544) Weindling (1932) ได้อธิบายถึงขบวนการเป็นปรสิตของเชื้อรา *T. lignorum* ต่อ *Rhizoctonia solani* โดยเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์จะพันรอบ ๆ เส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคแล้วจึงแทงเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งต่อมาพบว่า cytoplasm ของเชื้อสาเหตุโรคจะสลายตัว และ Elad *et al*. (1980) ได้รายงานว่า เชื้อรา *T. harzianum* เป็นปรสิตกับเชื้อรา

สถาบันวิทยบริการ เทคโนโลยีการเกษตร

Rhizoctonia solani โดยการสร้างเส้นใยเจริญเข้ามาใกล้เส้นใยของเชื้อรา *R. solani* แล้วจึงพันรัดและเจริญเข้าไปในเส้นใย *R. solani* เส้นใยเชื้อรา *T. harzianum* เจริญบนผิวของ sclerotia โดยใช้กล้อง light microscopy พบเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* มากมายบนผิวของ sclerotia และเจริญแทงเข้าสู่ชั้น rind ของ sclerotia (Benhamou and Chet, 1996) เช่นเดียวกับปฏิกิริยาระหว่างเชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อสาเหตุโรคพืช *Sclerotina sclerotiorum* ที่เลี้ยงร่วมกันบนอาหารและในดินที่อบฆ่าเชื้อ ซึ่งเมื่อตรวจสอบโดยใช้กล้อง light microscopy และกล้อง SEM พบว่า บนอาหารที่เลี้ยงร่วมกันนั้นเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* เจริญไปสู่เส้นใยของเชื้อรา *S. sclerotiorum* และพันรัดล้อมรอบเส้นใย ทำให้ผนังเซลล์บางส่วนของ sclerotia แตกออก ส่วนในดินที่อบฆ่าเชื้อ พบว่า conidium ของเชื้อรา *T. harzianum* จะงอกเส้นใยแตกแขนงและสร้างส่วนคล้าย appressorium ซึ่งใช้ยึดและแทงผนังเซลล์ของเชื้อรา *S. sclerotiorum* (Inbar *et al.*, 1996)

2. **การแข่งขัน** (competition) เป็นกลไกหนึ่งที่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้คือการเจริญที่รวดเร็วเพื่อครอบคลุมพื้นที่และการแย่งอาหาร เพื่อการดำรงชีพก่อนที่เชื้อสาเหตุโรคพืชจะเจริญเติบโตทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชขาดอาหารเช่น เชื้อรา *Trichoderma* จะมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วเกิดการแข่งขันและแก่งแย่งเพื่อที่อยู่อาศัยและอาหารได้ดี ทั้งนี้ปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อการแก่งแย่งแข่งขันก็คือ ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) คุณสมบัติของดิน รวมทั้งสภาพแวดล้อมอื่น ๆ ด้วย (วีรศักดิ์, 2544) เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีความสามารถเข้าครอบครองรากพืชได้เร็วกว่าเชื้อสาเหตุโรค เมื่อเติมจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปในวัสดุปลูกที่ใช้เพาะปลูกมะเขือเทศ ส้ม พริก คื่นไฉ่ และฝรั่ง พบว่ามีการครอบครองพื้นที่รากพืชของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร้อยละ 76 – 100 โดยเชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* เจริญเข้าครอบครองได้ดีที่สุด (Nemes *et al.*, 1996)

3. **การสร้างสารปฏิชีวนะ** (antibiotics) ขบวนการสร้างสารปฏิชีวนะ หมายถึงการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่เกิดจากสารที่สร้างขึ้นจากสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง โดยทั่วไปแล้วสารดังกล่าวนี้ จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและอาจทำให้เชื้อโรคตายได้ สารที่สร้างขึ้นดังกล่าวนี้อาจจะซึมผ่านเข้าสู่เซลล์เชื้อโรคพืช และความเป็นพิษของสารเคมีอินทรีย์ดังกล่าว จะมีผลต่อการยับยั้งเชื้อโรคพืช สารดังกล่าวนี้อาจเรียกโดยทั่วไปว่า สารปฏิชีวนะ (เกษม, 2532) ซึ่งเชื้อรา *Trichoderma* ผลิตสาร viridian และ trichodermin นอกจากนี้ยังผลิตสารปฏิชีวนะที่มีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง gram + และ gram – เช่น Suzukacillin® และ Alamethicine® การผลิตเอนไซม์ที่ย่อยเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยตรง เป็นปัจจัยร่วมอย่างหนึ่งของการยับยั้งการเจริญ

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ของเชื้อสาเหตุโรคพืช เอนไซม์ที่สำคัญในการย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ คือ เอนไซม์ protease, B-1,3-glucanase, chitinase และ cellulose ทั้งการสร้างเอนไซม์และการสร้างสารปฏิชีวนะหรือสารพิษอาจออกฤทธิ์ร่วมกัน ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้อย่างกว้างขวาง (วีรศักดิ์, 2544) Lorito *et al.* (1993) รายงานว่า เชื้อรา *T. harzianum* ไอโซเลท P1 สร้าง chitinolytic enzymes สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของ germ tube สำหรับเชื้อราที่มี chitin เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ พบว่า ระดับของการยับยั้งจะสัมพันธ์กับระดับของ chitin ในผนังเซลล์เชื้อราเป้าหมาย ในการประเมินความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Cylindocladium floridanum* ของเชื้อรา *T. harzianum, T. viride, T. koningii, T. virens, T. polysporum* และ *T. hamatum* พบว่า ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดจะผลิตสาร 6 – n – pentyl – 2H – pyran – 2 – one ในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย และการสร้าง microsclerotia ของเชื้อรา *C. floridanum* (Dumas *et al.,* 1996)

แบคทีเรีย *Bacillus*

ลักษณะทั่วไปของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. คือเซลล์รูปร่างเป็นท่อนตรง ขนาด 0.3 – 2.2 x 1.2 – 7.0 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้โดยมีหาง (flagella) ที่ด้านข้างของเซลล์ ติดสีแกรมบวก มีเมตาโบลิซึมแบบหายใจโดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับ electron ตัวสุดท้าย เป็น strictly fermentative มีทั้ง 2 แบบ คือ strict aerobe หรือ fucultative anaerobe ปกติพบได้ในดิน ปริมาณ G-C อยู่ในช่วงกว้าง คือ 32 - 62 โมลเปอร์เซ็นต์ ตาม Bergey 's Manual of Bacterminative Bacteriology เล่มที่ 8 จัดเป็นสิ่งมีชีวิตพวกโปรคารีโอต (procaryotae) อยู่ใน Kingdom Procaryotea แบ่งออกเป็น 2 division โดย แบคทีเรียอยู่ใน division ที่ 2 ซึ่ง *Bacillus* ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 15 คือ Endospore - forming rods and cocci (อภิญญา, 2526)

การจัดจำแนกกลุ่มของเชื้อ *Bacillus subtillis* ตามรายงานของ Madigan *et al.* (2009)

Kingdom	*Bacteria*
Phylum	*Proteobacteria*
Class	*Bacilli*
Order	*Bacillales*
Family	*Bacillaceae*
Genus	*Bacillus*
Species	*Bacillus subtilis*

สถาบันวิทยบริการ เทคโนโลยีเกษตร

B. subtilis เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์กลุ่มแบคทีเรียที่ได้รับการคัดเลือกว่ามีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราที่สำคัญในประเทศไทย ได้แก่ โรครากเน่า โคนเน่าในทุเรียนที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* โดยใช้ผสมน้ำพ่น หรือทาแผล สามารถพ่นได้ทั้งในช่วงดอกบานเพื่อป้องกันเชื้อราเข้าทำลายดอกไม่ทำให้ดอกไหม้หรือร่วง และไม่มีผลต่อแมลงผสมเกสร นอกจากนี้พบว่าสามารถใช้ควบคุมโรคพืชได้อีกหลายชนิด อาทิ โรคกุ้งแห้ง (แอนแทรคโนส) ในพริก โรคกาบใบแห้งในข้าว โรคหน้าดอกเน่าในกะหล่ำดอก โรคลำต้นไหม้ในหน่อไม้ฝรั่ง โรคดอกเน่า ใบจุดลำไย โรคแคงเกอร์ (ขี้กลาก)ในส้ม มะนาว และโรคของไม้ดอกไม้ประดับบางชนิด

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร