

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

พริกหวาน (*Capsicum annuum*) จัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae ซึ่งเป็นตระกูลเดียวกับมะเขือ มะเขือเทศ ยาสูบ มันฝรั่ง คำที่ใช้เรียกชื่อนั้นมีอยู่หลายคำเช่น chile, chillies, aji, piment, pimento, paprika และ capsicum (นิพนธ์, 2546) พริกหวานมีถิ่นกำเนิดจากอเมริกาใต้และแพร่กระจายพันธุ์ไปทั่วโลกตั้งแต่ปี ค.ศ.1493 มีด้วยกันหลายสี คือ สีเขียว สีแดง สีเหลือง สีส้ม สีม่วง สีดำ และ สีขาว แต่ที่นิยมปลูก รับประทานและมีผลขายทั่วไปได้แก่ชนิด สีเขียว สีแดง และ สีเหลือง โดยที่สีเขียวจะมีความหวานน้อยที่สุด ส่วนสีแดงกับสีเหลืองหวานที่สุด (ข่าวเกษตรการปลูกพริกหวาน ศูนย์รวมข่าวสารการเกษตร, 2552) พริกหวานเป็นพืชข้ามปีแต่นิยมปลูกฤดูเดียวในระยะแรกพืชจะเจริญเป็นลำต้นเดี่ยวหลังจากติดดอกแรกตรงยอดของลำต้นเดี่ยวจะแตกกิ่งแขนงในแนวตั้งอีกสองกิ่ง เมื่อกิ่งแขนงมีดอกเจริญที่ปลายกิ่งจะเกิดกิ่งแขนงเจริญเป็นสองกิ่งทำให้จำนวนกิ่งเพิ่มขึ้น ผลผลิตจะขึ้นอยู่กับจำนวนกิ่งและจำนวนผลต่อต้น โดยทั่วไปต้นจะสูง 0.5-1.5 เมตรสามารถเจริญได้ทั้งในสภาพช่วงแสงสั้นหรือช่วงแสงยาวเป็นพืชผสมตัวเอง แต่อาจมีโอกาสผสมข้ามโดยธรรมชาติสูง (นิพนธ์, 2546) พริกหวานเป็นพริกที่มีสีส้มสวยงามและมีคุณค่าทางอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายทำให้สุขภาพผิว เอ็น และกระดูกแข็งแรงช่วยในเรื่องการขับถ่าย สารสีเหลือง สีส้ม และสีแดงของผลจัดเป็นสารจำพวกแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ซึ่งมีอยู่มากมายถึง 20 ชนิด ที่สำคัญได้แก่ เบตาแคโรทีน (betacarotene) เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอช่วยบำรุงสายตา นอกจากนี้พริกหวานยังอุดมไปด้วยวิตามินซีซึ่งพริกหวานสีเหลืองมีมากกว่าสีส้มถึง 4 เท่า พริกหวานสีเขียว 100 กรัมมีวิตามินซีถึง 100 มิลลิกรัมแต่วิตามินซีสามารถสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกความร้อนสูงดังนั้นควรรับประทานในรูปของพริกสดร่วมกับผักสด (อมรรัตน์และคณะ, 2545)

โรคของพริกหวาน

ปัญหาของการปลูกพริกหวานในโรงเรือนที่สำคัญคือ ปัญหาเรื่องโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา ไวรัสรวมทั้งแมลงซึ่งนำความเสียหายและส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลผลิต โรคของพริกหวานที่มีสาเหตุมาจากเชื้อราแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ประเภทที่ 1 คือโรคที่เกิดจากเชื้อสาเหตุทางดิน ได้แก่ โรค damping-off ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อราหลายชนิดเช่น *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn, *Fusarium* spp. และ *Alternaria* spp. โรค white mould ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Sclerotium sclerotiorum* (Lib.) de Bary และ *Sclerotinia minor* Jagger โรค Fusarium wilt ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. และ *Fusarium oxysporum* Schlechtend. : Fr. โรค Verticillium wilt ที่เกิดจากเชื้อรา *Verticillium dahlia* Kleb. และ *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthier โรคเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora capsici* Leonian ประเภทที่ 2 คือโรคที่เกิดกับส่วนใบ ได้แก่ โรคราแป้งที่เกิดจากเชื้อ *Leveillula taurica* (LéV.) G. Arnaud โรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *Phaeoramularia capsicicola* (Vassiljevsky) และโรคราสีเทาที่เกิดจากเชื้อ *Botrytis cinerea* Pers.:Fr.) (Aleid et al., 1999)

โรคไฟทอปธอราไบลท์

โรคไฟทอปธอราไบลท์เป็นโรคที่สำคัญในการผลิตพริกหวานซึ่งเกิดจากเชื้อ *Phytophthora capsici* Leonian ซึ่งเป็นเชื้อที่สำคัญและก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก (Babadoost, 2000; Erwin and Ribeiro, 1996; Hwang and Kim, 1995; Lee et al., 2001; Leonian, 1922; Ristaino and Johnston, 1999; Tamietli and Valentino, 2001) เชื้อ *P. capsici* ถูกพบครั้งแรกโดย Leonian ซึ่งเข้าทำลายและก่อให้เกิดความเสียหายกับพริกในรัฐนิวเม็กซิโก สหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ. 1922 (Leonian, 1922) เชื้อชนิดนี้สามารถก่อให้เกิดโรคกับพืชหลายชนิด ได้แก่ มะเขือเทศ มะเขือยาว แตงกวา แตงโม ฟักทอง น้ำเต้า โกโก้ แมคคาเดเมีย และพริก (Kreutzer et al., 1940; Kunimoto et al., 1976; Leonian, 1922; Polach and Webster, 1972; Ristaino, 1990) เชื้อสาเหตุของโรคสามารถอยู่รอดได้ในดินและวัสดุปลูกในรูปของ oospore และอยู่ในเศษซากพืชในรูปของ mycelium (Lamour and Hausbeck, 2001) เชื้อสามารถอยู่ในดินได้นาน 4-6 ปี หรืออาศัยบนเมล็ดของพริกที่เป็นโรคได้นานมากกว่า 1 ปี (อมรรัตน์และคณะ, 2545) เชื้อสามารถเพิ่มปริมาณในพื้นที่เพาะปลูกที่เกิดการระบาดของโรคได้ และมีวงจรของโรคสั้นเพียง 3-5 วัน (Zheng, 1997) หากมีความชื้นสูงเชื้อจะสร้างและปล่อยสปอร์มีหางว่ายน้ำได้ (zoospore) โดยน้ำฝน น้ำชลประทาน แพร่กระจายไปตามน้ำสู่แหล่งปลูกพริกใกล้เคียงต่อไป

โรคไฟทอปธอราไบลท์สามารถเกิดกับพริกหวานได้ทุกระยะการเจริญเติบโต และทุกส่วนของพืช นอกจากนี้จะมีลักษณะการเข้าทำลายพืชได้หลายลักษณะ ขึ้นอยู่กับระยะการเจริญและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย การเข้าทำลายในระยะต้นอ่อน อาการจะคล้ายกับการทำลายของโรครากเน่า โดยเชื้อจะทำลายบริเวณ โคนต้นแผลจะมีลักษณะคล้าย โคนน้ำร้อนลวก ทำให้ต้นกล้าหักพับลงและแห้งตาย (นิพนธ์, 2546) ส่วนการทำลายในระยะต้นโต จะเข้าทำลายทั้งส่วนราก ลำต้น ใบและผล มักทำให้เกิดอาการเหี่ยวของพริกในระยะกำลังออกผลแล้วตายทั้งต้น อาการที่ใบจะเริ่มจากเป็นแผลจุดเล็กๆ และขยายขนาดอย่างรวดเร็ว หากเกิดแผลหลายแผลในใบ จะทำให้ใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหดย่น ใบที่เกิดโรคมักจะเหี่ยวในสภาพอากาศร้อนอบอ้าว การเข้าทำลายลำต้นเกิดขึ้นตรงระดับดิน แผลสีน้ำตาลดำขยายลุกลามไปรอบๆ ต้นทั้งด้านบนและด้านล่างของลำต้น ทำให้ระบบรากถูกทำลาย ลำต้นเน่า ต้นพืชเหี่ยว ผลมีลักษณะฉ่ำน้ำ เนื้อผลเป็นสีเข้มดำ หากเกิดรุนแรงเชื้อจะเข้าทำลายเมล็ด (อมรรัตน์และคณะ, 2545)

วงจรการเกิดโรค (Babadoost, 2001)

P. capsici เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดิน เชื้อสามารถผลิต spores ได้หลายชนิด ทั้งชนิดที่สามารถแพร่กระจายโรคไปทั่วทั้งแปลงและชนิดที่มีความคงทนสามารถอยู่ข้ามฤดูได้ *P. capsici* สามารถอยู่รอดข้ามฤดูปลูกได้ในรูปของ oospores หรือ mycelium ภายในเศษซากพืชที่เป็นโรคซึ่ง oospores เป็น sexual spore ที่มีผนังหนาซึ่งเกิดขึ้นจากการรวมกันของเส้นใย 2 เส้นใยที่มี mating types ต่างกันมาผสมกัน oospores มีความคงทนต่อสภาพแห้งแล้ง อุณหภูมิต่ำ สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่างๆ และสามารถมีชีวิตอยู่ภายในดิน โดยปราศจากพืชอาศัยได้หลายปี เมื่อทำการเพาะปลูกพริกหวานและสภาพแวดล้อมเหมาะสม oospore จะงอกผลิต sporangia และ zoospores (asexual spores) สภาพฝนตก ความชื้นสัมพัทธ์สูง อุณหภูมิระหว่าง 24-29 องศาเซลเซียส เหล่านี้เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของโรคไฟทอปธอราไบลท์ ซึ่งการปลดปล่อย zoospores เพื่อไปสัมผัสกับเนื้อเยื่อพืช เป็นขั้นตอนเริ่มต้นในการเข้าทำลายพืช (infection) ของเชื้อ หลังการเข้าทำลายของเชื้อจะเกิดแผลรอบลำต้นในส่วนที่ติดกับดินเป็นลักษณะที่พบโดยทั่วไปของโรคนี้ sporangia จะถูกสร้างบนแผลและแพร่กระจายไปตามน้ำฝน เมื่อสัมผัสกับพืช sporangia จะปลดปล่อย zoospores เพื่อเข้าทำลายพืช การผลิตและแพร่กระจายของ sporangia จะเกิดขึ้นๆ หลายครั้ง ตลอดฤดูปลูก เมื่อพืชตายเชื้อจะสร้าง oospores อยู่ภายในแผลและแพร่กระจายลงสู่ดินไปกับเศษซากพืช มีชีวิตอยู่ภายในดินในรูปของ oospores เพื่อเข้าทำลายพืชในฤดูปลูกอื่นต่อไป

ชีววิทยาของ *Phytophthora* (ทวี, 2548)

จีนัส *Phytophthora* เป็น 1 ใน 9 genera ที่เป็นสาเหตุโรคพืช ในกลุ่ม Oomycetes ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีรูปร่าง และการเจริญคล้ายรา (fungus-like) และถูกกำหนดให้อยู่ในกลุ่ม Stramenopiles ซึ่งเป็นกลุ่มที่สร้าง zoospores มี 2 หาง ที่มีความยาวไม่เท่ากัน การสร้าง zoospores ของ *Phytophthora* เกิดจากการแบ่งตัวของ cytoplasm ภายใน sporangia ซึ่ง zoospores ดังกล่าวไม่มี cell wall แต่มี plasma-membrane เมื่อ zoospores ว่ายน้ำหรือเคลื่อนที่ไปเจอพืชอาศัย จะปลดหางทิ้งและเข้าสปอร์ (encyst) พร้อมกับมีการสร้าง cell wall ที่มีส่วนประกอบของ cellulose ทันที (ภายใน 5-10 นาที) สปอร์ดังกล่าวพร้อมที่จะงอกเส้นใยเข้าทำลายพืชโดยตรง

Phytophthora ส่วนมากมีการปรับตัวในการเป็นปรสิตของโรคพืชได้อย่างดี ในวงจรชีวิตมีระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ประมาณ 50 % ของ *Phytophthora* species ที่พบทั้งหมดเป็นกลุ่มที่ผสมตัวเอง (homothallic) เมื่อเข้าทำลายพืชได้แล้วจะมีการผสมตัวเองเกิด oospores ผนังหนาอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืช ส่วนที่เหลือเป็นกลุ่มที่มีคู่ผสมต่างกัน (heterothallic) ระหว่าง 2 mating types (A1 และ A2) ที่ผสมเข้ากันได้ จึงจะเกิด oospores และ oospores เหล่านี้มีความคงทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีเยี่ยม สามารถมีชีวิตอยู่ได้นานหลายปีในเศษซากพืชหรืออินทรีย์วัตถุในดิน เป็นส่วนขยายพันธุ์ที่มีอายุยืนยาวกว่าสปอร์ชนิดอื่นๆ

นอกจาก oospores แล้ว asexual spores ที่ถูกสร้างขึ้นเป็นจำนวนมากบนเนื้อเยื่อของพืชอาศัย เช่น sporangia ของบางชนิด (species) เมื่อแก่หรือมีอายุสปอร์นี้จะหลุดจากก้านได้ง่าย ทำให้สามารถแพร่กระจายไปตามกระแสลมได้ไกลๆ ส่วน sporangia พวกที่ไม่หลุดจากก้านจะอาศัยน้ำเป็นตัวกลางพาไปในลักษณะของสปอร์เคลื่อนที่ด้วยหางหรือ zoospores ที่มี 2 หางว่ายน้ำไปตามแรงดึงดูดของสารเคมีที่ผลิตหรือปล่อยออกมาจากรากพืชอาศัยที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียง ทำให้ *Phytophthora* เปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างได้ดีตามสภาพแวดล้อมในหลายรูปแบบ ในวงจรชีวิตมีสปอร์ 4 ชนิด คือ sporangia, zoospores, chlamydozoospores และ oospores เชื้อ *Phytophthora* ส่วนมากเป็นพวกที่อาศัยอยู่ในดินบนเศษซากพืช บางระยะเวลาเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกับรากและโคนต้นพืช โดยมี oospores และ chlamydozoospores เป็นส่วนที่อยู่ข้ามฤดู

Phytophthora มีลักษณะพิเศษเฉพาะที่แตกต่างจากราทั่วไปหลายประการดังนี้

1. สารปฏิชีวนะ polyene (Pimaracin) มีประสิทธิภาพในการควบคุมหรือยับยั้งการเจริญของราชนิดอื่นๆ ยกเว้น *Phytophthora* ฉะนั้นจึงได้ใช้สารปฏิชีวนะตัวนี้ผสมในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้แยก *Phytophthora* โดยเฉพาะ
2. โดยธรรมชาติตลอดระยะเวลาการเจริญของเส้นใย *Phytophthora* อยู่ในลักษณะเป็น diploid (2N) มีเพียงระยะสั้นๆ ที่เป็น haploid (N) คือการแบ่งเซลล์แบบ meiosis ของ antheridium (เพศผู้) และ oogonium (เพศเมีย) ก่อนผสมกันเกิด oospore ซึ่งแตกต่างจากราอื่น ๆ ที่เป็น haploid
3. การศึกษาส่วนประกอบของผนังเซลล์ (cell wall) ของ *Phytophthora* มีส่วนประกอบของ cellulose และ β - glucan ซึ่งแตกต่างไปจากราอื่นๆ ซึ่งมี chitin เป็นส่วนประกอบสำคัญ
4. *Phytophthora* ไม่สามารถสังเคราะห์ sterols ด้วยตัวมันเองเหมือนราชนิดอื่นๆ จึงต้องการ sterols จากภายนอกมาใช้ในการเจริญและสร้างเซลล์สืบพันธุ์
5. การเกิดวิวัฒนาการของกลุ่ม oomycetes รวมทั้ง *Phytophthora* มีความใกล้ชิดกับพวกสาหร่าย (heterokont algae) มากกว่าราจึงทำให้พวกนี้จัดอยู่ในสิ่งมีชีวิตคล้ายรา เพราะลักษณะของ zoospores มี 2 หาง ขนาดความยาวไม่เท่ากันและมีลักษณะรูปร่างภายนอกแตกต่างกัน ซึ่งเป็นลักษณะประจำที่สืบทอดมาจากบรรพบุรุษที่มีวิวัฒนาการมาด้วยกันและจากผลการศึกษาวิจัยในระดับโมเลกุลเรื่องความเหมือนของการเรียงลำดับของ small sub unit ribosomal RNA ซึ่งยืนยันจากการวิเคราะห์ส่วนประกอบในระดับโมเลกุลของกลุ่ม oomycetes มีความแตกต่างไปจากราแต่มีความใกล้ชิดกับ heterokont algae มากกว่า

การจัดลำดับชั้นของเชื้อ *Phytophthora* sp. (Agrios, 2005)

Kingdom	Chromista
Phylum	Oomycota
Class	Oomycetes
Order	Peronosporales
Family	Pythiaceae
Genus	<i>Phytophthora</i>

เชื้อ *Phytophthora* sp. เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดิน สร้างเส้นใยไม่มีผนังกัน แต่อาจสร้างผนังกันเมื่อมีอายุมากขึ้น การขยายพันธุ์โดยไม่ใช่เพศ โดยจะสร้างสปอร์ที่ว่ายน้ำได้เรียกว่า zoospore เกิดภายใน sporangium ซึ่งส่วนใหญ่มีรูปร่างลักษณะคล้ายผลมะนาว การขยายพันธุ์โดยใช่เพศ มีการสร้าง oospore ซึ่งเกิดจากการผสมระหว่าง oogonium และ antheridium นอกจากนี้เชื้อจะสร้าง chlamydospore ซึ่งเป็นสปอร์ผนังหนา สามารถพักตัวอยู่ในดินได้เป็นอย่างดี วงจรชีวิตของเชื้อ *Phytophthora* sp. มีความซับซ้อนมากมักสร้างสปอร์ 4 ชนิด คือ

1. Sporangia (Greek: spora, seed + angeion, vessel) เป็น vegetative structures บางครั้งมีลักษณะคล้าย sexual spore ซึ่งจะงอก germ tube เพื่อสร้างเส้นใยใหม่ โดยที่ sporangia งอกโดยตรงเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมมีอาหารอุดมสมบูรณ์ มีน้ำน้อย และอุณหภูมิสูง ความชื้น steral และออกซิเจนในอากาศจะมีผลต่อการสร้าง sporangia แสง near-UV ที่ช่วงคลื่น 320 - 475 nm สามารถกระตุ้นการสร้าง sporangia ได้ ส่วนแอมโมเนีย ธาตุ Cu^+ และ pH ที่สูงจะมีผลต่อเชื้อโดยจะยับยั้งความสามารถในการสร้าง sporangia ได้

2. Zoospore เป็นสปอร์ที่สร้างภายใน sporangium ต้องมีน้ำและอุณหภูมิที่ต่ำประมาณ 15-18 องศาเซลเซียส ไม่มีผนังเซลล์ ไม่ต้องอาศัยเพศ มีรูปร่างคล้ายไต สามารถว่ายน้ำได้โดยมี flagella 2 เส้น สามารถว่ายน้ำได้ไกล 563 มิลลิเมตรต่อชั่วโมง การว่ายน้ำต้องอาศัยช่องว่างภายในดินขนาด 50 ถึง 140 ไมโครเมตร การปะทะกับผิวหนังของน้ำทำให้ zoospore ไม่สามารถกลับตัวได้ และลดความสามารถในการเคลื่อนที่ลง ทิศทางการว่ายน้ำและการงอกจะขึ้นอยู่กับ amino acids ซึ่งได้แก่ serine, glutamate และ asparagines ซึ่งเป็นสารที่รากพืชปล่อยออกมา การเคลื่อนที่ของ zoospore จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น pH ต่ำ สัมผัสกับผิวหนัง และมีปริมาณ zoospore น้อย zoospore ถูกปล่อยออกจากช่องที่อยู่ตรงปลายของ sporangium การปล่อย zoospore นี้ทำให้ปริมาณเชื้อที่สามารถเข้าทำลายพืชมีมากกว่าการที่ sporangium งอกโดยตรง เมื่อ zoospore พบกับพื้นผิวที่เหมาะสมต่อการงอกรูปร่างจะเปลี่ยนเป็นทรงกลม สลัดหางทิ้ง และสร้าง germ tube อย่างรวดเร็วเพื่อทำลายพืชและสร้างเส้นใยในการเจริญเติบโต zoospore มักจะเข้าสู่พืชทางรากหรือปากใบโดยตรง

3. Oospore เป็นสปอร์ที่สร้างแบบอาศัยเพศ เกิดจากการรวมตัวกันของ gametangia ที่เรียกว่า oogonia และ antheridia การสร้าง oospore จะถูกยับยั้งด้วยแสงและอุณหภูมิซึ่งขึ้นอยู่กับแต่ละ species แต่ส่วนมากแล้วอุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การสร้าง oospore มักจะต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างเส้นใย อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ 94:1 จะส่งเสริมการสร้าง oospore รวมไปถึงการปรากฏของแคลเซียมด้วย oospore เป็นสปอร์ที่มีลักษณะที่เหมาะสมต่อการพักตัว มัก

สร้างเมื่อมีสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม และเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมแก่การเจริญแล้วจะงอก germ tube เพื่อสร้างเส้นใยเหมือน sporangia และ zoospore

4. Chlamydospore (Chlamys, cloak + spora, seed) เป็นสปอร์ที่สร้างแบบไม่อาศัยเพศ เป็นเซลล์ที่สร้างภายในเส้นใย หรือปลายเส้นใย โดยเส้นใยสร้างผนังเซลล์ที่หนาขึ้น เพื่อให้สามารถคงอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิประมาณ 15 องศาเซลเซียส มี sterol ในอาหารที่เจริญ และมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูง (30:1) การงอกสามารถเกิดขึ้นเมื่ออาหารมีความอุดมสมบูรณ์มากขึ้น โดยเฉพาะ glucose และ asparagines

การป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* sp. (กรมวิชาการเกษตร, 2551)

ใช้วิธีการผสมผสานในการป้องกันกำจัดโรคดังนี้

1. การเลือกพื้นที่ปลูกให้มีการระบายน้ำได้ดี ไม่ชื้นแฉะ หรือเป็นแอ่งน้ำ ซึ่งสามารถตรวจพบได้ชัดเจนภายหลังฝนตกใหม่ ๆ หากพบสภาพดังกล่าวควรปรับพื้นที่ไม่ให้มีสภาพน้ำขัง ทำร่องระบายน้ำในส่วนที่เป็นพื้นที่ต่ำ เพื่อป้องกันน้ำขังสวน
2. การปรับสภาพดิน หากพบว่าดินเป็นกรดควรปรับสภาพโดยใช้ปูนขาวหรือปูนโดโลไมท์ ลดความเป็นกรดลง ใช้ปุ๋ยคอก ปุ๋ยอินทรีย์ ในการบำรุงดิน
3. ใช้ต้นพันธุ์แข็งแรงปลอดโรคที่ได้จากแหล่งปลูกที่ไม่มีการระบาดของโรค
4. หมั่นดูแลตรวจตราสวนอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนซึ่งเป็นฤดูกาลที่เชื้อ

Phytophthora sp. สามารถระบาดทำลายพืชได้ดี

5. เมื่อพบอาการผิดปกติ เช่น อาการใบสลด ใบเหลือง หรือใบร่วง ควรตรวจสอบการเกิดแผลตามบริเวณต่าง ๆ ของโคนต้น รากและปลายราก เมื่อพบอาการเน่าเสีย ในกรณีของไม้ยืนต้นให้ขุดส่วนที่เน่าเสียออกแล้วทาแผลด้วยปูนแดง หรือสารป้องกันกำจัดโรค เช่น เมทาแลกซิล หรือ ฟอส-เอทิลอะลูมิเนียม

6. เก็บเศษชิ้นส่วนที่เป็นโรคเผาทำลาย หากเป็นโรครุนแรงจนต้นพืชตาย ทำการตัดต้นทิ้ง เมื่อตัดต้นแล้วให้ขุดราก ถอนโคนออกให้หมด นำไปเผาทำลาย ไม่ปล่อยทิ้งไว้ในสวนเพราะจะเป็นแหล่งแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุและเนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถสร้างสารพิษที่มีคุณสมบัติเป็นกรด จึงควรปรับสภาพดินให้ลดความเป็นกรดลง โดยใช้ปูนขาวโรยให้ทั่วบริเวณนั้น ใช้ปุ๋ยคอกปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อเพิ่มจุลินทรีย์ชนิดอื่นลงดิน เมื่อปรับสภาพดินแล้ว หากจะปลูกพืชในที่เดิม ให้หลีกเลี่ยงไม่ปลูกพืชที่เชื้อนี้สามารถเข้าทำลายได้

การจำแนกชนิด (species) *Phytophthora* sp.

วิธีการจำแนกชนิดของเชื้อ *Phytophthora* สามารถทำได้หลายวิธีเช่น การศึกษาลักษณะของ sporangium ลักษณะการเกิด antheridium ขนาดของ oogonium การเกิด oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไปและความหนาของผนัง ลักษณะการเจริญของเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดของการเจริญเติบโตและความจำเพาะเจาะจงกับ host (จอร์จ คี และ ศรีสุรงค์, 2545) ซึ่งวิธีการเหล่านี้ใช้ระยะเวลาในการศึกษานาน และต้องอาศัยผู้ที่มีความรู้ ความชำนาญในการจัดจำแนกเชื้อราเป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังได้มีการนำเทคนิคทางด้านเซรุ่มวิทยา (serological techniques) มาใช้ในการแยกความแตกต่างของเชื้อรา *Phytophthora* แต่ละ species อีกด้วย (Jones and Shew, 1988; McDonald *et al.*, 1990; Grote and Gabler, 1999) แต่เทคนิคนี้ก็มิได้ถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่องด้วยเหตุผลที่ขาด antibodies ที่จำเพาะและมีขั้นตอนการผลิต monoclonal antibodies ที่ยุ่งยาก (Bonants *et al.*, 1997) เทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction ; PCR) เป็นเทคนิคหนึ่งที่ได้ผลดีในการจัดจำแนกและตรวจสอบความแตกต่างของเชื้อราโรคพืช (Lacourt and Duncan, 1997; Schena *et al.*, 2002 a,b; Ippolito *et al.*, 2002) เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง แม่นยำ และรวดเร็วกว่าวิธีการอื่น

Polymerase chain reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) หรือที่เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า *In vitro* enzymatic gene amplification ค้นพบครั้งแรกโดย Kary Mullis และคณะในปี 1985 เป็นเทคนิคการเพิ่มปริมาณยีนหรือชิ้นส่วนของดีเอ็นเอเฉพาะบริเวณที่ต้องการศึกษาให้มีจำนวนมากขึ้นกว่าเดิมหลายล้านเท่าในหลอดทดลองโดยใช้ระยะเวลาอันสั้น ซึ่งกระบวนการต่างๆ เลียนแบบจากการจำลองตัวเองของสายดีเอ็นเอในสภาพธรรมชาติ (In vitro DNA replication) ซึ่งการทำปฏิกิริยา PCR ที่ต่อเนื่องซ้ำๆ กันในขั้นตอนที่ 1-3 หลายๆ รอบ จะพบว่ามีสายดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น โดยเริ่มจากสายดีเอ็นเอต้นแบบ 1 คู่ เมื่อสิ้นสุดรอบที่ 1 จะได้สายดีเอ็นเอเป็น 2 คู่ ดังนั้นเมื่อทำหลายๆ รอบของ PCR ดีเอ็นเอก็จะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ของทุกๆ รอบ ถ้าทำ PCR 20 รอบ ก็จะได้สายดีเอ็นเอเพิ่มเป็น 2^{20} สาย ถ้าทำปฏิกิริยา n รอบ ก็จะได้สายดีเอ็นเอเท่ากับ 2^{n+1} เมื่อประสิทธิภาพการผลิต 100 เปอร์เซ็นต์ซึ่งโดยทั่วไปมักจะทำ PCR ประมาณ 30-40 รอบ ก็จะได้ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอเป็นจำนวนมากถึงพันล้านเท่าของจำนวนดีเอ็นเอต้นแบบ (อังสนา, 2546)

หลักการของเทคนิค PCR โดยใช้หลักเลียนแบบธรรมชาติของดีเอ็นเอที่ว่า โดยทั่วไปสายดีเอ็นเอสามารถจับคู่กันได้เพราะมีเบสคู่สมกัน (complementary) ดังนั้นการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอชิ้นใหม่ในหลอดทดลองจึงใช้หลักการเดียวกัน โดยอาศัยดีเอ็นเอเดิมเป็นต้นแบบ (template) และอาศัยดีเอ็นเอสายสั้นๆ (primer) ที่สามารถจับกับดีเอ็นเอต้นแบบเป็นจุดเริ่มต้น และมีเอนไซม์พวก DNA polymerase ช่วยทำให้สายดีเอ็นเอยาวออกไป โดยเลือกจับนิวคลีโอไทด์ตัวใดตัวหนึ่งใน 4 ชนิด (dNTPs) คือ dATP, dCTP, dTTP และ dGTP เข้ามาต่อให้เป็นเบสคู่สมกับดีเอ็นเอสายต้นแบบเดิม ดังนั้นก็จะได้ดีเอ็นเอสายใหม่เกิดขึ้น (อังสนา, 2546) โดย PCR สามารถสังเคราะห์สายดีเอ็นเอได้คราวละ 2 สายพร้อมกัน โดยใช้ primer 1 คู่ ปฏิกิริยา PCR มี 3 ขั้นตอนและหมุนเวียนต่อเนื่องกันไป ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละขั้นตอน ขั้นแรกเรียกว่า denaturation เป็นการแยกสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจากสภาพที่เป็นสายคู่ให้เป็นสายเดี่ยวโดยใช้อุณหภูมิ 92 - 95 องศาเซลเซียส ขั้นที่สองเรียกว่า annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงและจัดให้ primer สายสั้นๆ (14 - 30 mers) ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจับคู่กัน ซึ่งนิยมใช้ช่วงอุณหภูมิ 37 - 60 องศาเซลเซียส ขั้นที่สามเรียกว่า extension เป็นขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่โดยสังเคราะห์ต่อจากส่วนปลาย 5' ของ primer ตามข้อมูลของต้นแบบดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบแต่ละสาย โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA Polymerase ที่อุณหภูมิ 72 - 75 องศาเซลเซียส เอนไซม์ DNA Polymerase ที่ใช้จะต้องมีคุณสมบัติอยู่ได้ภายใต้สภาวะของปฏิกิริยาตลอดสามขั้นตอน จากขั้นตอนที่ 1 - 3 รวมกันเป็นหนึ่งรอบ (one cycle) ซึ่งจะให้ผลผลิตเป็นดีเอ็นเอสายคู่จำนวนที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบ เมื่อจัดให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่จากขั้นที่หนึ่งถึงขั้นที่สาม หมุนเวียนไปอีกหลายๆ รอบ จะเพิ่มปริมาณ (amplify) ดีเอ็นเอได้มากมาย (พิศสุวรรณ, 2540)

ในการทำ PCR ต้องใช้สารเคมีต่างๆ ดังนี้ บัฟเฟอร์สำหรับทำปฏิกิริยา คือออกซิไดซ์นิวคลีโอไทด์ไตรฟอสเฟต (Deoxynucleotide triphosphate : dNTPs) ประกอบด้วย dATP, dCTP, dTTP และ dGTP ส่วน primer ที่นิยมใช้คือ โอลิโกนิวคลีโอไทด์ขนาด 20 - 24 นิวคลีโอไทด์ ดีเอ็นเอเป้าหมายใช้ได้ทั้งดีเอ็นเอที่มีคุณภาพและที่มีคุณภาพไม่ดีนัก แต่ถ้าใช้คุณภาพดีจะได้ผลผลิตมากกว่า แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) เป็นส่วนสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาและมีรายงานว่าความเข้มข้นของแมกนีเซียมมีผลต่อปฏิกิริยา และเอนไซม์ เลือกลงใช้เอนไซม์ที่ทนความร้อนได้ (thermostable DNA polymerase) ชนิดที่ใช้กันมากคือ *Taq* polymerase (สุรินทร์, 2545)

การแยกขนาดของดีเอ็นเอโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) เป็นเทคนิคที่ใช้แยกโมเลกุลของสารที่มีประจุออกจากกันโดยใช้กระแสไฟฟ้า โดยให้สารที่มีประจุนั้นเคลื่อนผ่านตัวกลางชนิดหนึ่งในสารละลาย สารที่มีประจุต่างกันจะเคลื่อนที่ไปในทิศทางตรงข้าม นอกจากนี้ประจุแล้วอัตราการเคลื่อนที่ก็ยังขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่าง โมเลกุล แรงเคลื่อนไฟฟ้า และตัวกลางที่ใช้ด้วย

อะกาโรสเจล (agarose gel) เป็นโพลีเมอร์ของ D-galactose สลับ 3,6-anhydrogalactose แยกได้จากวุ้น (agar) เนื่องจากอะกาโรสจับตัวกับสารละลายต่างๆ ได้น้อยมาก จึงนิยมใช้เป็นตัวกลางในการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส การแยกโมเลกุลของดีเอ็นเอโดยทั่วไปจะใช้อิเล็กโทรโฟรีซิสเป็นส่วนใหญ่เพราะมีช่วงที่ใช้ได้มากกว่า การเตรียมทำได้ง่ายและไม่มีอันตรายเมื่อเทียบกับโพลีอะครีลาไมด์ การทำอิเล็กโทรโฟรีซิสมักทำในแนวราบ (horizontal gel) (สุรินทร์, 2545)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีหรือชีวภาพ (biological control)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี หมายถึง การลดปริมาณประชากรของเชื้อโรคพืชหรือลดกิจกรรมของเชื้อโรค อันก่อให้เกิดโรคจนอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจโดยอาศัยสิ่งมีชีวิตซึ่งรวมถึงพืชชั้นสูงและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) พันธุกรรมหรือผลผลิตจากพันธุกรรม (genes or genes products) ยกเว้นผลจากการกระทำต่อเชื้อโดยตรงจากมนุษย์ (เกษม, 2532) ปัจจุบันมีจุลินทรีย์หลายชนิดทั้งเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และจุลินทรีย์อื่นๆ สำหรับเชื้อราต่างๆ ได้แก่ *Trichoderma* spp. *Penicilium* spp. และ *Chaetomium* spp. และแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ฯลฯ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และบางชนิดได้ถูกนำมาใช้ผลิตออกจำหน่ายเป็นสารชีวภัณฑ์แล้ว จึงควรนำมาใช้ในการควบคุมศัตรูพืชโดยใช้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เหล่านี้ไม่เป็นอันตรายต่อพืช สัตว์ และผู้บริโภค

กลไกการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช โดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

ในธรรมชาติทั่วไปจะมีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี มักนิยมเรียกจุลินทรีย์เหล่านี้ว่า จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) หรือเชื้อปฏิปักษ์ ซึ่งเชื้อเหล่านี้มีกลไกในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้ 4 ลักษณะ ดังนี้ (สมคิด, 2549)

1. การทำลายชีวิต (antibiosis) เชื้อปฏิปักษ์ที่ได้รับความสนใจคัดเลือกมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีนั้น จะเน้นคุณสมบัติการทำลายชีวิตของเชื้อโรคส่วนใหญ่และนับว่าเป็นกลไกชนิดแรกที่นำมาใช้ โดยเชื้อปฏิปักษ์จะมีความสามารถในการผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายชีวิตของเชื้อโรคหรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ เช่น สารพิษ (toxin) หรือสารปฏิชีวนะ (antibiotic)

ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่สร้างขึ้นโดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ซึ่งมีผลในการกำจัดเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

2. การแก่งแย่งอาหารและพื้นที่อาศัย (competition) การที่สิ่งมีชีวิต 2 ชนิดหรือมากกว่าเจริญอยู่ด้วยกันและมีความต้องการอาหารและที่อยู่อาศัย เมื่ออาหารที่มีอยู่ไม่เพียงพอ สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะเกิดการแข่งขันกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ธาตุอาหารและปัจจัยอื่นๆ สำหรับการเจริญเติบโต ซึ่งการแก่งแย่งอาหารและพื้นที่อาศัยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถแย่งอาหารจากเชื้อสาเหตุโรค ทำให้ปริมาณของสารอาหารซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคลดลงเนื่องจาก จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความสามารถในการแก่งแย่งอาหารหรือพื้นที่อาศัยได้ดีกว่าเชื้อสาเหตุของโรคและมีความสามารถในการใช้สารอาหารได้ มากชนิด และใช้ได้อย่างรวดเร็ว ทำให้พืชแข็งแรง มีผลผลิตที่สูงขึ้น (เกษม, 2532)

3. การเป็นปรสิต และตัวห้ำ (parasitism and predation) จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถสร้างเอนไซม์ไปย่อยผนังเซลล์ของเชื้อโรคพืชได้และใช้ส่วนประกอบภายในเซลล์มาเป็นอาหารโดยตรง บางกรณีอาจมีกลไก antibiosis ร่วมด้วย หรือการที่เชื้อราปฏิปักษ์สร้างเส้นใยแทงทะลุเข้าไปในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุแล้วดูดของเหลวที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ทำให้เส้นใยเหี่ยวแฟบลงหรือเส้นใยเชื้อราปฏิปักษ์พันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชแล้วปล่อยเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ ส่งผลให้เส้นใยเหี่ยวแฟบและตายไปในที่สุด

4. การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค (induced disease resistance) เป็นกลไกที่ปัจจุบันกำลังให้ความสนใจศึกษาอย่างแพร่หลาย ทั้งนี้เนื่องจาก เชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เคยเป็นเชื้อก่อโรค เมื่อนำมาให้เสียความสามารถในการทำให้เกิดโรคไปแล้ว สามารถจะชักนำหรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการทำลายของเชื้อโรคได้

วิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (นิพนธ์, 2538)

มีการศึกษาเพื่อนำเอาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคพืช ซึ่งนิยมนำไปใช้กับโรคพืชที่เกิดบริเวณผิวราก (rhizoplane) หรือบริเวณผิวพืชที่อยู่เหนือดิน (phylloplane) ซึ่งการใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคที่บริเวณทั้งสองนี้จะมีกรรมวิธีการใช้แตกต่างกัน

1. บริเวณผิวราก จะมีกรรมวิธีการใช้เชื้อปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคได้หลายแบบแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความสะดวกในการปฏิบัติของผู้ใช้และแต่ละวิธีอาจให้ประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ไม่เท่ากันซึ่งขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยหลายอย่าง ตั้งแต่คุณสมบัติของพืชเอง ตลอดจนคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์เชื้อปฏิปักษ์ที่มีหลายรูปแบบดังนี้

1.1 การคลุกเมล็ด (seed treatment) นิยมใช้กับพืชที่ใช้เมล็ดเพาะปลูกโดยเมล็ดจะต้องมีขนาดใหญ่โตมากนัก ช่วยให้ปฏิบัติได้ง่ายและไม่สิ้นเปลืองผงเชื้อ หรือสารแขวนลอยของเชื้อ มักนิยมใช้คลุกเมล็ดก่อนปลูก

1.2 การราดดิน (soil drench) เป็นวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้ปฏิบัติกันมาก แต่จะไม่ค่อยสะดวกหากนำไปใช้ในสภาพไร่นาของเกษตรกรที่อาจมีน้ำสะอาดไม่เพียงพอหรือขาดแคลนน้ำ และถ้าหากปลูกพืชเป็นปริมาณมากจะทำให้เกิดปัญหาความไม่สะดวกในการปฏิบัติยิ่งขึ้น

1.3 การคลุกดิน (soil amendment) เป็นวิธีการนำเอาผงของเชื้อหรือสารละลายเชื้อปฏิปักษ์ใส่ไปในดินและคลุกเคล้าผสมกันให้ทั่วก่อนปลูกพืช การใส่ในรูปของผงเชื้อค่อนข้างจะสะดวกกว่าในรูปของสารละลาย

1.4 การจุ่มราก (root dipping) เป็นวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้กับพืชที่ต้องการเพาะเมล็ดแล้วย้ายกล้าไปปลูก เช่น มะเขือเทศ พริก หรือ พืชที่มีเมล็ดพันธุ์ราคาแพง โดยจะต้องทำดินบริเวณรากหลุดออกให้หมดก่อนนำไปจุ่มในสารละลายเชื้อที่ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml แล้วจึงนำไปปลูกในแปลงต่อไป วิธีนี้จะทำให้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคได้ดีเพราะรากจะสัมผัสกับเชื้อได้หมดทุกส่วน ไม่ก่อให้เกิดช่องว่างให้เชื้อโรคเข้าทำลาย

2. บริเวณผิวพืชที่อยู่เหนือดิน การใช้รูปแบบที่แตกต่างกันค่อนข้างมาก และมีวิธีใช้ที่นิยมเพียง 2 วิธี คือ

2.1 การทา (paste painting) เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชยืนต้นที่ถูกทำลาย มีแผลปรากฏให้เห็นชัดเจนบนส่วนของต้นหรือกิ่ง บริเวณที่สามารถนำเอาเชื้อปฏิปักษ์ที่เตรียมให้มีความเข้มข้นและเหนียวไปทา เพื่อให้ยึดติดกับผิวพืชได้คงทน สามารถป้องกันและรักษาพืชให้คืนเป็นปกติ ถ้าหากเป็นพืชยืนต้นสูงๆ หรือพืชล้มลุกจะไม่สะดวกในการปฏิบัติ

2.2 การพ่น (spraying) เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากกับพืชที่ปลูกเป็นปริมาณมากหรือมีลำต้นสูง ซึ่งมีหลักการปฏิบัติเช่นเดียวกับการพ่นสารเคมีกำจัดโรคพืช โดยมากแล้วนิยมใช้เชื้อที่เลี้ยงบนอาหารมาทำเป็นสารละลายแล้วจึงนำไปพ่นลงบนพืช เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคที่แพร่ระบาดโดยปลิวไปกับลม ฝน เป็นต้น

จุลินทรีย์เอนโดไฟท์

จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ (endophyte microbe) เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชทั้งพืชบกและพืชน้ำ โดยอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชโดยที่ไม่ก่อให้เกิดโรคต่อพืชเจ้าบ้าน ซึ่งจุลินทรีย์เอนโดไฟท์และต้นพืชจะอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (mutualistic symbiosis) โดยต้นพืชให้อาหารและที่อาศัยแก่จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ ในขณะที่จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ก็สามารถให้

ประโยชน์ต่อพืชมากมายเช่น ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Barka *et al.*, 2002; Kang *et al.*, 2007) ลดความรุนแรงของโรค (Coombs *et al.*, 2004; Kloepper *et al.*, 2004; Senthikumar *et al.*, 2007) ชักนำให้พืชสร้างกลไกในการป้องกันตนเอง (defense mechanism) (Bargabus *et al.*, 2002; Mishra *et al.*, 2006; Bakker *et al.*, 2007) และสร้างสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหรือฮอร์โมนที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (Bacon and White, 2000)

จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ มีทั้งเชื้อราเอนโดไฟท์และแบคทีเรียเอนโดไฟท์ โดยส่วนใหญ่เชื้อราเอนโดไฟท์จะได้รับความสนใจในการศึกษาที่กว้างขวางกว่าทำให้มีข้อมูลของเชื้อราเอนโดไฟท์กับพืชอาศัยมากมาย มีรายงานว่าเชื้อราบางชนิดสามารถผลิตสารที่นำมาใช้ประโยชน์ในด้านเกษตรกรรมและเภสัชกรรม เช่น การสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ในกลุ่มของสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคในคน สัตว์ หรือพืช เป็นต้น ส่วนแบคทีเรียเอนโดไฟท์ เป็นแบคทีเรียที่มีช่วงใดช่วงหนึ่งของวงจรชีวิตอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช ซึ่งอาจอยู่ในส่วนของราก ลำต้น กิ่ง หรือใบ แบคทีเรียชนิดนี้เป็นกลุ่มที่ได้รับการศึกษาน้อย มีรายงานถึงการผลิตสารในกลุ่มของสารปฏิชีวนะในแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่น้อยมาก แต่จากคุณสมบัติที่เด่นของแบคทีเรียคือมีการแบ่งตัวที่รวดเร็วกว่าเชื้อราจึงน่าจะนำคุณสมบัตินี้มาทำการศึกษา ค้นคว้าเพื่อเชื่อมโยงความสัมพันธ์อื่นๆ ต่อไปได้ (นิตยา และสายสมร, 2543)

แบคทีเรียปฏิปักษ์

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่พบทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ไม่ว่าจะเป็นดิน น้ำ อากาศ หรือเจริญภายในต้นพืช ซึ่งกระบวนการทางสรีรวิทยาเพื่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตอื่นบนโลก บางชนิดทำให้เกิดโรคในคน สัตว์และพืช บางชนิดทำประโยชน์ให้คน สัตว์และพืชมีชีวิตที่สมบูรณ์ขึ้น บางกลุ่มทำให้เกิดผลเสียต่อสภาพแวดล้อม แต่บางกลุ่มช่วยปรับปรุงและรักษาสภาพแวดล้อมได้ดีในดิน น้ำและอากาศให้มีสภาพดีขึ้นได้ ช่วยกำจัดสารพิษ ทั้งนี้เกิดจากกระบวนการทางสรีรวิทยา หรือ metabolism เพื่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรีย ซึ่งมนุษย์ได้หาประโยชน์จากกระบวนการดังกล่าว นำมาปรับปรุงใช้เพื่อความเป็นอยู่ที่ดีขึ้นของสิ่งมีชีวิตอื่นบนโลก (เสาวนีย์, 2547)

ในปัจจุบันมีการยอมรับและให้ความสนใจในการใช้แบคทีเรียในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช ซึ่งเรียกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติดังกล่าวว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถพบได้โดยทั่วไป เช่น จากดินบริเวณไรโซสเฟียร์ (rhizosphere) ในเนื้อเยื่อพืช (endophyte) บนส่วนต่างๆ ของพืช (epiphyte) บนกิ่ง ดอก ใบ ผล และพบว่าแบคทีเรียหลายชนิดมีคุณสมบัติในการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งมีกลไกในการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุ 4 ประการด้วยกันคือ

1. การสร้างสารทำลายชีวิต (antibiosis) เป็นกระบวนการที่เกิดจากการใช้สารที่สร้างขึ้นจากสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง สารดังกล่าวมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตและอาจมีผลในการทำลายชีวิตของเชื้อโรคได้ โดยสารที่สร้างจากแบคทีเรียปฏิปักษ์มี 4 ชนิดคือ

- สารปฏิชีวนะ (antibiotic) เป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีผลยับยั้งการเจริญหรือระงับกิจกรรมของเชื้อสาเหตุอย่างไม่จำเพาะเจาะจง โดยสารปฏิชีวนะแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรีย องค์ประกอบ คุณสมบัติทางเคมีและสภาพของอาหารที่ใช้เลี้ยง Notz *et al.* (2001) รายงานว่าเชื้อ *P. fluorescence* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ 2,4-diacetyl phloroglucinol มีผลในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ ส่วน Swan *et al.* (1994) พบว่า *Streptomyces antibioticus* ผลิตสารปฏิชีวนะ oleandomycin ที่สามารถไปจับกับไรโซเนียมและไปยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุของโรคได้หรืออย่างกรณีของ *Pseudomonas fluorescens* 2-79 สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ phenazine-1-carboxylic acid (PCA) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* เชื้อสาเหตุโรครากเน่าของข้าวสาลีได้ถึง 50-90 เปอร์เซ็นต์ (Ownley *et al.*, 1991; Thomashow *et al.*, 1990) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Silo-suh *et al.* (1994) ซึ่งพบว่าเชื้อ *Bacillus cereus* UW85 สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ swittermicin A และ antibiotic B ยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อ *Phoma medicaginis* โดยทำให้เส้นใยโปร่งและไม่มีขี้ดยาวออกไป Szczech and Shoda (2006) รายงานว่า *Bacillus subtilis* RB14-C มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะ Iturin A ซึ่งเป็นสารชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรค damping-off ของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Mahadtanapuk *et al.* (2007) ซึ่งใช้ *Bacillus* spp. ได้แก่ *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* และ *B. subtilis* ในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum musae* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสในปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) โดยวิธี Dual culture พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. musae* ได้และพบว่าสารแขวนลอยของแบคทีเรียความเข้มข้น 2×10^8 cfu/ml ขึ้นไปสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. musae* ได้และจากการศึกษาสารที่ *Bacillus* spp. สร้างขึ้นโดยวิธี paper chromatography พบว่าเป็นสาร Iturin A ซึ่งตรวจพบใน *B. amyloliquefaciens* และ *B. subtilis* แต่ไม่พบใน *B. licheniformis*

- Bacteriocin เป็นโมเลกุลของโปรตีนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากแบคทีเรียชนิดหนึ่งและมีผลจำเพาะเจาะจงในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียอีกชนิดหนึ่งที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียในจีนัสเดียวกัน ตัวอย่างที่เห็นชัดสำหรับการควบคุมเชื้อโรคด้วยกลไกนี้ คือ การควบคุมโรค crown gall ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* โดยใช้แบคทีเรีย *A. radiobacter* strain K - 84 ผลิตสาร bacteriocin ที่มีชื่อว่า Agrocin 84 มีการควบคุมโรค crown gall โดยใช้

A. radiobacter strain K – 84 ในรูปแบบของการค้าตั้งแต่ปี ค.ศ. 1973 ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์ทางการค้า 3 ชนิดที่มี *A. radiobacter* strain K – 84 เป็นองค์ประกอบหลักและขายในตลาดทั่วโลก คือ Galltrol A, Norbac 84-C และ Diegall ในปีค.ศ. 1991 ประเทศออสเตรเลียได้ทำพันธูธิสัญญากับ *A. radiobacter* strain K – 84 เพื่อป้องกันการถ่ายทอดพลาสมิดที่มียีน Agrocin 84 ไปยังเชื้อโรคอื่น และได้ตั้งชื่อแบคทีเรียนี้ว่า *A. radiobacter* strain K – 84 ซึ่งมีชื่อทางการค้าว่า Norgall (กัญชลี, 2542) นอกจากนี้ Sigee (1993) อธิบายกลไกของสาร bacteriocin ในการเข้าทำลายแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชว่า สารนี้มีลักษณะคล้ายไวรัส สามารถเกาะจับกับ โปรตีนในตำแหน่งที่เฉพาะเจาะจงภายใน periplasmic ของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ส่งผลให้เซลล์ของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชเกิดความผิดปกติในการสังเคราะห์โปรตีนและยังพบว่าแบคทีเรียหลายชนิดสามารถผลิตสาร bacteriocin ได้ เช่น *Pseudomonas syringae* ผลิตสาร syringicin และ *Corynebacterium* sp. ผลิตสาร corynecin

- ไซเดอโรฟออร์ (siderophore) เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติชนิดหนึ่งแบบเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่จุลินทรีย์ผลิตออกมาเมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่มีธาตุเหล็กหรือมีในปริมาณต่ำมาก ไซเดอโรฟออร์จะไปจับกับธาตุเหล็กที่อยู่บริเวณรอบๆ รากพืชดังนั้นผลจากการขาดธาตุเหล็กจะสามารถป้องกันเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ โดยทำให้เชื้อราสาเหตุโรคพืชไม่สามารถแพร่พันธุ์ได้ ไซเดอโรฟออร์มีโครงสร้างหลายลักษณะขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ ปัจจุบันทราบลักษณะโครงสร้างทางเคมีแล้วไม่น้อยกว่า 200 โครงสร้าง จำแนกได้เป็น 3 ประเภท คือ ไฮดรอกซามेट (hydroxamate) หรือ ไธโอไฮดรอกซามेट (thiohydroxamate), คาเทโคเลท (catecholate) หรือฟีโนเลท (phenolate) และ คาร์บอกซิเลท (carboxylate) Villegas *et al.* (2002) พบว่า *Pseudomonas aeruginosa* PSS สามารถผลิตสารไฮเดอโรฟออร์ มีผลไปยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ทั้งในสภาพที่ไม่มี Fe^{3+} และมี Fe^{3+} สูง (284 μ M) แต่ความเข้มข้นของ Fe^{3+} ไม่สัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราดังกล่าว เช่นเดียวกับการศึกษาของ Piyush *et al.* (2005) รายงานว่าเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* GRC₁ ที่แยกจากดินรอบรากมันฝรั่ง สามารถผลิตสารไฮเดอโรฟออร์ ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาด (*Brassica campestris* var. Pusa Gold (Indian mustard) มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมความยาว น้ำหนักทั้งในส่วนของรากและส่วนยอดของต้นพืช นอกจากนี้ Cao *et al.* (2005) ได้ทำการแยกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟท์จากรากกล้วยเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวในกล้วยที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* พบว่า *Streptomyces* sp. strain S 96 มีการสร้างสารไฮเดอโรฟออร์ทำให้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้ โดยทำให้ต้นกล้วยเป็นโรคลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

- เอนไซม์ (enzyme) แบคทีเรียปฏิปักษ์หลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์ซึ่งส่งผลกระทบต่อโดยตรงต่อเชื้อสาเหตุ เช่น chitinolytic enzyme ที่ *B. cereus* และ *Pentoea (Enterobacter) agglomerans* สร้างขึ้น มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* (Pleban *et al.*, 1997) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Gil (2005) ได้สกัดสารจาก *Streptomyces halstedii* AJ-7 เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อ *Phytophthora capsici* สาเหตุโรค Phytophthora blight ของพริกแดงโดยทำการเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเหลวผสมสารสกัดของจุลินทรีย์ ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์สร้างสาร chitinases มีผลทำให้เส้นใยของเชื้อสาเหตุ มีลักษณะที่ผิดปกติ เส้นใยโป่งพอง และแตก ในปี ค.ศ. 1991 Lim *et al.* รายงานว่า Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) บางสายพันธุ์เช่น *Pseudomonas stutzeri* สามารถผลิตเอนไซม์ chitinase และ laminarinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยผนังเซลล์ของเชื้อรา *Fusarium solani* สาเหตุโรครากเน่าได้เช่นเดียวกับการศึกษาของ Moataza (2006) พบว่าเชื้อ *Ps. fluorescens* สามารถสร้างเอนไซม์ได้หลายชนิดเช่น β - 1,3 และ β - 1,4 glucanases, chitinase, protease และ lipase ซึ่งไปมีผลต่อผนังเซลล์ของเชื้อ *P. capsici* และ *R. solani* สาเหตุโรครากและลำต้นเน่าของมะเขือเทศ

2. การแก่งแย่งอาหารและพื้นที่อาศัย (competition) การแข่งขันที่พบมากคือ การนำเอาธาตุอาหารหรือสารต่างๆ ที่มีอยู่ในดินมาใช้ในการเจริญเติบโต ทำให้เชื้อโรคขาดสารอาหารและไม่สามารถเข้าทำลายพืชได้ เช่นแบคทีเรียในกลุ่มของ fluorescent pseudomonas *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. เป็นต้น มีความสามารถในการใช้สารอาหารได้หลายชนิดและเจริญรวดเร็วเข้าครอบครองพื้นที่บริเวณรากพืชได้ทั้งหมด ซึ่งเป็นการแก่งแย่งที่อยู่อาศัยบริเวณรากพืช ทำให้เชื้อโรคไม่มีโอกาสเข้าทำลายรากได้และยังช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชและเพิ่มปริมาณของผลผลิตอีกด้วย จึงมีผู้ตั้งชื่อแบคทีเรียเหล่านี้และที่มีลักษณะใกล้เคียงกันนี้ว่า Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) (อนุภาพ, 2536) ตัวอย่างการศึกษาของ Lemessa and Zeller (2007) ทำการคัดเลือกแบคทีเรียบริเวณรอบๆ รากของมันฝรั่ง มะเขือเทศ พริกหวาน กาแฟ และข้าวโพด เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากการศึกษาพบว่าแบคทีเรีย strain APF1 และ B2G มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวโดยทำให้การเกิดโรคลดลง 60 และ 56 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น 96 และ 70 เปอร์เซ็นต์ จากการจำแนกของแบคทีเรียปฏิปักษ์พบว่า แบคทีเรีย strain APF1 คือ *Pseudomonas fluorescens* ส่วน B2G คือ *Bacillus subtilis* เช่นเดียวกับการศึกษาของ Guo *et al.* (1996) พบว่าเชื้อ *Pseudomonas* spp. และ *Bacillus* spp. หลายชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* Smith โดยการเจริญครอบครองพื้นที่บริเวณราก ในปีค.ศ. 2006 Jiang และคณะได้

ประเมินความสามารถและการประยุกต์ใช้ *Bacillus* sp. เพื่อควบคุมโรคไฟทอปธอราไบลท์ของพริกหวานในสภาพแปลง โดยใช้เชื้อ *Bacillus* sp. BB11, FH17 และ BF (BB11 ผสมกับ FH17 อัตราส่วน 1:1) จากการทดลองพบว่าการใช้ BF สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรค 60.3 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มปริมาณผลผลิตได้ถึง 200 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้ BB11 เพียงอย่างเดียวให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเป็น 55.8 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มปริมาณผลผลิตได้ 80.6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้ FH17 ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเป็น 37.1 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มปริมาณผลผลิตได้ 50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จากนั้นจึงทำการทดลองใช้ BF ภายในสภาพแปลงปลูกโดยประกอบด้วย 4 กรรมวิธีคือ 1. ผสม BF ในกาก rapeseed 2. ผสม BF ในกาก rapeseed แล้วหมักก่อนใช้ 3. ฟัน BF และ 4. ราด BF จากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของ *Bacillus* sp. ที่เหมาะสมที่สุดคือ 10^6 cfu/ml และใช้ในอัตรา 7.5 l/ha ซึ่งกรรมวิธีที่ 2 ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด คือ 88 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลผลิตมากที่สุด 88 %

3. การเป็นปรสิต และตัวทำ (parasitism and predation) เชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นปรสิตเข้าไปเจริญอาศัยทำลายสิ่งมีชีวิตอื่นนั้นพบไม่มากและการใช้ควบคุมโรคพืชยังไม่ประสบความสำเร็จเหมือนการทำลายชีวิต ตัวอย่างเช่น *Erwinia uredinolytica* เข้าทำลาย pedicel ของสปอร์เชื้อราสนิม *Bdellovibrio bacteriovorus* เป็นปรสิตของแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* สาเหตุโรคใบไหม้ของถั่วเหลือง หรือเชื้อแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* (Syn. *Bacillus penetrans*) ที่เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne inconita* สาเหตุโรครากปม (สมคิด, 2549)

4. การชักนำให้เกิดการต้านทานโรค (induced disease resistance) เป็นกลไกที่ปัจจุบันกำลังให้ความสนใจศึกษาอย่างแพร่หลาย ทั้งนี้เนื่องจาก เชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เคยเป็นเชื้อก่อโรค เมื่อนำมาให้เสียความสามารถในการทำให้เกิดโรคไปแล้วสามารถจะชักนำหรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการทำลายของเชื้อโรคได้ เช่น เกิดการกลายพันธุ์ในยีนเดียวของเชื้อรา *Colletrichum magna* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพืชตระกูลแตง (cucurbit) จะไม่ทำให้เกิดโรคแต่จะเจริญอยู่ในพืช ช่วยให้พืชทนทานต่อการเข้าทำลายไม่รุนแรง (avirulent) ที่มีชีวิตอยู่ สามารถชักนำให้พืชสร้างสาร tomatine ปลดปล่อยออกมาที่บริเวณราก ทำให้มะเขือเทศต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *P. solanacearum* (*R. solanacearum*) สายพันธุ์ดั้งเดิมได้ (Arwiyanto *et al.*, 1994 อ้างโดย สมคิด, 2549) นอกจากนี้ Zehnder *et al.* (2000) รายงานว่า PGPR ได้แก่ *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis* และ *B. pumilus* เกี่ยวข้องกับการชักนำให้มะเขือเทศเกิดการต้านทานต่อไวรัส cucumber mosaic cucumo virus (CCMV) ซึ่งตรงกับรายงานของ Murphy

and Zehnder (2000) พบว่าการใช้ *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis* และ *B. pumilus* สามารถลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจาก tomato mottle virus ในมะเขือเทศ หรือในกรณีของ *Bacillus amyloliquefaciens* ช่วยชักนำให้ต้นยาสูบเกิดการต้านทานต่อไวรัส pepper mild mottle virus (PPMoV) โดยเกี่ยวข้องกับ การสร้างกรด salicylic และ jasmonic ในกลไกการชักนำให้เกิดการต้านทานโรค (Ahn *et al.*, 2002)



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved