บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

พริก (*Capsicum* spp.) เป็นพืชที่มีความสำคัญในชีวิตประจำวัน และทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เพราะในชีวิตประจำวันคนไทยใช้พริกเป็นส่วนประกอบของอาหารเพื่อการอุตสาหกรรม และใช้เป็นส่วนประกอบมีสรรพคุณทางยารักษาโรค นอกจากนี้ยังส่งออกในรูปผลพริกสด ซอสพริก และพริกแห้งเป็นต้น ตั้งแต่ปี 2540 เป็นต้นมาปริมาณการส่งออกพริกของไทยไม่ต่ำกว่า 10,000 ตัน มูลค่าเฉลี่ย 77-100 ล้านบาทต่อปี และเพิ่มขึ้นปีละ 80-100 ล้านบาททุกปี ประเทศนำเข้าหลักได้แก่ มาเลเซีย เนเธอร์แลนด์ สิงคโปร์ และไต้หวัน (กรมวิชาการเกษตร, 2550)

พริกเป็นพืชที่ปลูกทั่วไปในทุกภูมิภาคทุกจังหวัดของประเทศและสามารถปลูกได้ตลอดปี ถ้ามีน้ำอุดมสมบูรณ์ จังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกพริกมาก ได้แก่ กาญจนบุรี, ประจวบคีรีขันธ์, เพชรบุรี, สมุทรสาคร, สุโขทัย, สุพรรณบุรี, เชียงราย, น่าน, ลำปาง, เชียงใหม่ เป็นต้น

อนุกรมวิธานของพริก

Kingdom: Plantae

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Subclass: Arteridae

Order: Solanales

Family: Solanaceae

Genus: *Capsicum*

Species: *C. annunum* Linn. (พริกหยวก)

C. annunum Linn. var. *grossum* Bail (พริกยักษ์)

C. annunum Linn. var. *acuminatum* Fingrh (พริกชี้ฟ้า)

C. frutescens Linn. (พริกขี้หนู)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะทางพฤษาศาสตร์ทั่วไปของพริก

พริกเป็นไม้พุ่มขนาดเล็กอายุปีเดียวหรือหลายปี อยู่ในตระกูลเดียวกับมะเขือเทศ มันฝรั่ง และยาสูบ พืชตระกูลนี้มีอยู่ประมาณ 90 สกุล หรือ 2,000 ชนิด พฤษศาสตร์ของพริก (สุชีลา, 2549 และมณีฉัตร, 2547) ดังนี้

ราก (root) บริเวณรอบๆ ต้น พบว่ามีรากฝอยสานกันอยู่อย่างหนาแน่นรากพริกมีระบบรากลึก รากแก้วแข็งแรง และมีรากแขนงความยาวถึง 1 – 1.5 เมตร เมื่อต้นเจริญเติบโตเต็มที่จะมีรากฝอยแผ่ออกไปด้านข้างเพื่อดูดธาตุอาหารไปเลี้ยงลำต้น รัศมีมากกว่า 1 เมตร และหยั่งลึกลงไปในต้นเกินกว่า 1.20 เมตร จะพบความหนาแน่นของรากย่อยบริเวณใต้ผิวดินลึกประมาณ 50 – 60 เซนติเมตร

ลำต้น (stem) พริกมีการแตกกิ่งแบบรัศมี (dichotomaus) และกิ่งแขนงจะแตกสาขาแบบทวีคูณจาก 2 เป็น 4 จาก 4 เป็น 8 ไปเรื่อยๆ จึงมักพบว่าต้นพริกที่สมบูรณ์จะมีกิ่งแตกขึ้นมาจากต้นที่ระดับดินหลายกิ่ง จนดูคล้ายกับว่ามีหลายต้นอยู่รวมในที่เดียวกันกิ่ง ต้นพริกที่สมบูรณ์จะแตกขึ้นมาจากลำต้นระดับผิวดินหลายกิ่ง และไม่พบลำต้นหลักแต่จะพบกิ่งหลักเท่านั้น ทั้งต้นและกิ่งในระยะแรกจะเป็นไม้เนื้ออ่อนแต่เมื่อมีอายุมากขึ้นกิ่งจะยิ่งแข็งมากขึ้น

ใบ (leafs) เป็นแบบใบเดี่ยว ใบแบบเรียบ มีขนบ้างเล็กน้อย ใบมีรูปร่างตั้งแต่รูปไข่ไปจนกระทั่งเรียวยาว ขนาดใบมีต่างๆ กัน ใบพริกหวานมีขนาดค่อนข้างใหญ่ ส่วนใบพริกขี้หนูโดยทั่วไปมีขนาดเล็ก

ดอก (flowers) เป็นลักษณะดอกเดียวเกิดตรงมุมที่เกิดใบหรือกิ่ง อาจมีหลายดอกเกิดตรงกิ่งเป็นจุดเดียวกันคล้ายช่อดอกหรือดอกเป็นช่อ ก้านดอกมีความยาว 1.5 เซนติเมตร กลีบดอก กลีบเลี้ยงจะมีตั้งแต่ 4–7 กลีบ กลีบเลี้ยงสั้นประมาณ 2–3 มิลลิเมตร กลีบดอกมีขาวหรือเขียวอ่อน บางพันธุ์อาจจะมีสีม่วง เกสรตัวผู้ (stamen) มี 5–6 อันอยู่ที่ฐานของชั้นกลีบดอก (corolla) อับละอองเกสร (anther) สีฟ้า หรือสีน้ำเงินอ่อน เป็นกระเปาะเล็กยาว เกสรตัวเมียชูสูงกว่าเกสรตัวผู้ ปลายเกสรตัวเมีย (stigma) มีรังไข่ 2 พู หรืออาจมากกว่า ก้านเกสรตัวเมียมีสีขาวหรือสีม่วง

ผล (fruit) พริกเป็นผลประเภท berry ที่มีลักษณะเป็นกระเปาะมีฐาน (peduncle) สั้นและหนา โดยปกติผลอ่อนมักจะชี้ขึ้น ผลมีตั้งแต่แบนกลมยาว จนถึงลักษณะอ้วนสั้น ขนาดของผลมีตั้งแต่ขนาดเล็กไปจนถึงผลขนาดใหญ่ ผนังผล (pericarp) มีตั้งแต่บางจนถึงหนาขึ้นอยู่กับพันธุ์ สีของผลเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง หรือสีแดงพร้อมกับความแก่ของเมล็ดในผล

เมล็ด (seed) เมล็ดพริกมีลักษณะกลม-แบน มีสีเหลืองไปจนถึงสีน้ำตาล มีขนาดค่อนข้างใหญ่กว่าเมล็ดมะเขือเทศ แต่ผิวเมล็ดพริกไม่ค่อยมีขนเหมือนเช่นเมล็ดมะเขือเทศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

พริกที่ปลูกภายในประเทศไทยมีมากมายหลายชนิด ซึ่งมีขนาดรูปร่างของผลและสีที่แตกต่างกัน จึงแยกพริกออกเป็นสองกลุ่มใหญ่ ๆ ตามขนาดของพริก ได้แก่

1. พริกใหญ่ ขนาดยาว 5-10 เซนติเมตร แหล่งปลูกที่สำคัญคือ ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีแหล่งผลิตใหญ่ในจังหวัดเชียงใหม่ นครสวรรค์ ลำพูน อุตรดิตถ์ ชัยภูมิ นครราชสีมา เลย และราชบุรี โดยเฉพาะจังหวัดเชียงใหม่ปลูก ได้แก่ อำเภอจอมทอง ดอยเต่า ฮอด และสันกำแพง ได้แก่

พริกยักษ์ (*Capsicum annuum* var. *grossum* Bail.) เป็นไม้พุ่ม ลำต้นตั้งตรง สูงประมาณ 1–3 ฟุต เป็นพืชอายุหลายปี ใบมีรูปร่างคล้ายหัวใจ แต่ช่วงปลายใบค่อนข้างยาวออกจากลำต้นแบบสลับดอก เป็นดอกเดี่ยวออกตามซอกใบ มีกลีบเลี้ยงสีเขียว 5 กลีบ กลีบดอกสีขาว หรือม่วง 5 กลีบ เป็นพืชที่ผสมตัวเองได้ ดอกมีขนาดค่อนข้างใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางดอกประมาณ 1 นิ้ว ผลชนิดเบอร์รี่ มีรูปร่างคล้ายระฆังหรือคล้ายผลแอปเปิ้ล ผลอ่อนมีสีเขียว ผลแก่จะมีสีแดง มีรสหวานพันธุ์พริกยักษ์ที่นิยมปลูก ได้แก่ แคลิฟอร์เนียวอนเดอร์ 300 เบลล์บอยไฮบริดวอนเดอร์ เบลไฮบริดบลูสตาร์ไฮบริด

พริกหยวก (*Capsicum annuum* var. *longum* Bail.) เป็นไม้พุ่มสูงประมาณ 1–2 ฟุต แตกกิ่งก้านมาก เป็นพืชฤดูเดียว ใบเดี่ยวมีรูปร่างคล้ายหัวใจแต่ค่อนข้างยาว ปลายใบแหลมบางครั้งอาจดูเหมือนรูปหอก ดอกเป็นดอกเดี่ยวออกตรงซอกใบ มีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกอย่างละ 5 กลีบ ดอกมีสีขาวหรือขาวอมม่วง ผลชนิดเบอร์รี่ มีรูปร่างยาว ปลายเรียว ผลจะห้อยลง มีสีเหลืองอมเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นผลสีส้มหรือสีแดง มีกลิ่นฉุน พันธุ์ส่งเสริม ได้แก่ บางบัวทอง

2. พริกเล็ก ขนาดผลยาว 2-5 เซนติเมตร แหล่งปลูกที่สำคัญ ปลูกมากที่สุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รองลงมาได้แก่ ภาคตะวันตก ภาคใต้ ภาคเหนือ และภาคตะวันออก จังหวัดที่ปลูกพริกเล็กมาก ได้แก่ กาญจนบุรี ประจวบฯ ตาก เชียงใหม่ นครราชสีมา เลย นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครศรีธรรมราช และอุบลราชธานี เชียงใหม่ นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ นครราชสีมา มุกดาหาร กาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ศรีสะเกษ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี ได้แก่

พริกขี้หนู (*Capsicum frutescens*) เป็นไม้พุ่มตั้งตรง สูงประมาณ 1–4 ฟุต ใบเดี่ยวออกจากลำต้นแบบสลับ รูปร่างใบเป็นรูปไข่ ส่วนกว้างสุดอยู่ทางฐานใบ และเรียวไปหาปลาย ผิวใบเรียบ ไม่มีขนดอก เป็นดอกเดี่ยว มีกลีบเลี้ยงสีเขียว 5 กลีบดอกสีขาว 5 กลีบ มีจำนวนเกสรตัวผู้ 5 อัน ผลชนิดเบอร์รี่แต่มีลักษณะยาวคล้ายฝัก ผลจะตั้งชี้ขึ้น รูปร่างและขนาดของผลเปลี่ยนแปลงไปตามพันธุ์ ส่วนมากผลมีขนาดเล็กแต่มีรสเผ็ดมาก สภาพอากาศและอุณหภูมิในแต่ละท้องถิ่น จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเผ็ดร้อนของพริกได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พริกชี้ฟ้า (*Capsicum frutescens* var. *longum* Bail.) เป็นไม้พุ่มอายุยืน ใบเดี่ยวรูปไข่มีสีเขียวเข้มออกจากลำต้นแบบสลับ ดอกเป็นดอกเดียวหรือเกิดรวมเป็นช่อ มีกลีบดอกและกลีบเลี้ยงอย่างละ 5 กลีบ กลีบเลี้ยงมีสีเขียว กลีบดอกมีสีขาว หรือขาวอมเขียว ผลมีเมล็ดมากเรียงติดแน่นบนรกสีขาว ผลมักจะห้อยลง ผลยาวใหญ่ ผลอ่อนมีสีเขียวเป็นมันเมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีแดง พันธุ์พริกชี้ฟ้า มีพันธุ์พื้นเมือง พันธุ์คายีนลองสลิม และแพสชั่นไฮบริด

โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) หรือ โรคกุ้งแห้ง

การจัดจำแนกชั้นของเชื้อ *Colletotrichum* sp. (Sutton, 1992)

Kingdom Mycetae

Division Eumycota

Sub division Deuteromycotina

Class Deuteromycetes

Order Melanconiales

Family Melanconiaceae

Genus *Colletotrichum*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อราคือ สร้างเส้นใยฝังอยู่ในผิวพืช เส้นใยไม่มีสี หรือมีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลแก่ แตกกิ่งก้าน มีผนังกั้น conidia เกิดบน conidiophore ซึ่งมีกำเนิดจาก stromatic cell ของโครงสร้างสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศที่เรียกว่า acervulus ใต้ชั้น epidermis ของพืช เมื่อแก่จะดันผิวพืชให้แตกออก conidia จะถูกปล่อยออกมาเป็นกลุ่มในลักษณะแห้ง หรือของเหลวข้นสีเหลืองอ่อนหรือสีส้มอมชมพู เมื่อนำเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้อจะสร้าง conidia เป็นกลุ่มบน stromatic cell คล้าย sporodochium การสังเกตลักษณะของ acervulus จึงต้องดูจากสภาพธรรมชาติ หรือบนพืชอาศัย บางครั้งพบการสร้าง sclerotia บนอาหารเลี้ยงเชื้อ conidia เดี่ยวๆ ไม่มีสี เซลล์เดียว ผนังบาง เรียบ ลักษณะรูปร่างรูปไข่ หรือยาวรี ตรงหรือโค้งงอ อาจมี guttule ลักษณะคล้ายฟองอากาศอยู่ภายใน มีการสร้าง sterile hypha สีน้ำตาล ผนังหนาเรียบ ปลายแหลมคล้ายหนามเรียกว่า setae บริเวณขอบของ acervulus หรือปะปนอยู่กับ conidiophore ลักษณะการสร้าง setae ของเชื้อรานี้เป็นลักษณะที่ไม่คงที่ เปลี่ยนแปลงได้ตามสภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ appressorium สีน้ำตาล มีผนังสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะรูปร่างค่อนข้างกลม กลมรี คล้ายกระบอง หรือรูปร่างไม่แน่นอน บางครั้งผนังมีรอยหยัก (lobe) สร้างเดี่ยวๆ หรือเกิดติดกันเป็นกลุ่ม teleomorph state ของเชื้อราสกุล *Colletotrichum* จัดอยู่ในสกุล *Glomerella* (Sutton, 1992)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะอาการโรคแอนแทรคโนสในพริก (มณีฉัตร, 2547 และสุชีลา, 2549)

โรคนี้สามารถทำลายพริกได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ถ้ามีเชื้อติดมากับเมล็ดพันธุ์เชื้อจะเข้าไปทำลายต้นกล้าทำให้แห้งตาย ในระยะต้นโตจะทำให้เกิดแผลที่ใบ และกิ่งก้านทำให้ใบร่วงและเกิดอาการแห้งตายจากปลายยอดเข้ามา (die back) อาการของโรคจะเห็นได้ชัดเจนมาก ถ้าโรคระบาดในระยะติดผลโดยเฉพาะอย่างยิ่งกับผลพริกที่เริ่มสุก โดยจะเกิดรอยช้ำเป็นแอ่งยุบลงไป แล้วกลายเป็นแผลสีน้ำตาลรูปร่างกลมรีขนาดใหญ่ มีจุดเล็กๆสีดำเรียงซ้อนกันเป็นวง (concentric ring) อยู่ในบริเวณแผล เนื้อเยื่อบริเวณแผลที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะหยุดเจริญในขณะที่บริเวณรอบๆ ยังเจริญต่อไป ทำให้ผลพริกที่เป็นโรคมีลักษณะโค้งงอหรือหดย่น ชาวบ้านจึงมักเรียกว่าโรคกุ้งแห้งถ้าโรคระบาดรุนแรงหรือในสภาพแวดล้อมที่เหมาะต่อการเกิดโรค เชื้อจะเข้าไปทำลายใบ กิ่งก้าน ลำต้น และผล ทำให้ใบร่วงเป็นจำนวนมาก ต้นอาจยืนแห้งตาย

สาเหตุของโรค

ในประเทศไทยเกิดจากเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* ในต่างประเทศ มีรายงานว่าเกิดจากเชื้อรา *C. dematium C. acutatum C. piperatum* และ *C. coccodes* ในระยะสืบพันธ์แบบไม่อาศัยเพศสร้าง conidia เซลล์เดียวใส รูปร่างทรงกระบอกหัวท้ายมนหรือโค้งคล้ายพระจันทร์ครึ่งเสี้ยว ภายในโครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์ (fruiting body) แบบ acervulus เชื้อรา *C. capsici* ก่อให้เกิดแผลสีน้ำตาลเข้มถึงดำขนาด และรูปร่างของแผลไม่แน่นอนมีจุดสีน้ำตาลเข้ม-ดำเรียงซ้อนกันเป็นวงอยู่ในบริเวณแผล conidia เซลล์เดียวใสรูปร่างโค้งคล้ายพระจันทร์ครึ่งเสี้ยวขนาดเฉลี่ย 9-14 X 6.5-11.5 ไมครอน มี setae มาก *C. gloeosporioides* ก่อให้เกิดแผลกลมรีขนาดค่อนข้างใหญ่ประมาณ 1-2 เซ็นติเมตร หรืออาจจะขยายใหญ่มากว่านี้ เนื้อเยื่อบริเวณแผลยุบตัวลงเป็นแอ่ง แผลเริ่มเกิดใหม่ๆสีเหลืองส้มและมี acervulus สีเหลืองส้มเรียงซ้อนกันเป็นวงๆ อยู่ในบริเวณแผล เมื่อเป็นนานๆ แผลจะกลายเป็นสีน้ำตาลดำ conidia เซลล์เดียวใสรูปร่างทรงกระบอกหัวท้ายมนขนาดเฉลี่ย 9-24 X 3-4.5 ไมครอน ไม่มี setae

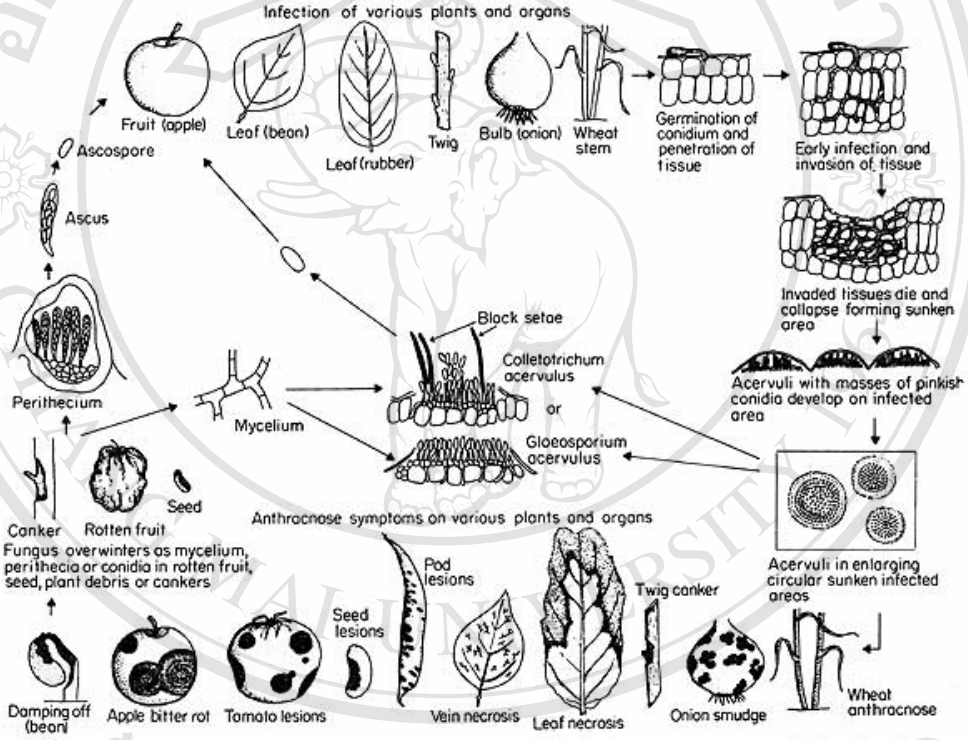
รูปร่างลักษณะของเชื้อและวงจรของโรค

วงจรของโรคแอนแทรคโนสของเชื้อรา *Glomerella cingulata* ซึ่ง conidia stage คือ *Colletotrichum* sp. หรือ *Gloeosorium* sp. มีดังนี้ conidia มีเซลล์เดียวขนาดเล็ก สีจางหรือไม่มีสี เมื่อ conidia เจริญเติมที่จะปลิวไปกับลม หรือแพร่ไปโดยฝน แมลงอื่นๆ เข้า infect พืชโดยสามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด และเข้าทำลายได้ทุกส่วนของพืช เมื่อ conidia ตกลงบนส่วนของพืชจะงอก germ tube แทงผิวพืชเข้าไป เส้นใยจะแผ่เข้าไปในผิวพืช ทำให้เกิดการตายของเซลล์ และเนื้อเยื่อพืช ทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นยุบลงไป ต่อมาจะพบการสร้าง acervulus บริเวณแผลมีกลุ่มของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

conidia ซึ่งเมื่อรวมกันจะกลายเป็นสีชมพู acervulus จะขยายขนาดขึ้นในลักษณะที่กลม เหมือนจานจมลึกในผิวพืช ภายในมี conidia มากมาย เมื่อสภาวะอากาสเปลี่ยนไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศที่มีอากาศหนาวเย็น เชื้อจะสร้าง ascocarp แบบ perithecium ภายในมี ascus จำนวนมาก ซึ่งบรรจุ ascospore เซลล์เดียว อยู่ภายใน ascus รูปกระบอง เมื่อ ascospore เจริญเต็มที่ จะถูกปล่อยออกจาก ascus แล้วปลิวไปกับลมไปตกลงบนพืช และงอก germ tube เข้าทำลายพืช (ภาพ 1)

สำหรับโรคนี้ในประเทศไทย โดยทั่วไปจะพบในระยะที่เป็น conidia stage เสมอ แต่จะมีบ้างที่พบ perfect stage โดยจะพบในพืชที่ปลูกบนที่สูง



ภาพ 1 วงจรของโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. หรือเชื้อรา Gloeosporium ในพืชต่างๆ (Agrios, 2005)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การแพร่ระบาด

conidia ที่เจริญเต็มที่จะถูกดันหรือดีดออกมาภายนอกซึ่งจะแพร่กระจายได้ดีโดยน้ำ ลม แมลง หรือสิ่งที่เข้าไปสัมผัสเข้าสู่พืช และให้เกิดการติดเชื้อโดยตรง ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะต่อการเกิดโรค พืชจะแสดงอาการของโรคให้เห็นภายใน 3-5 วัน ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พริกถ้ามีโรคระบาดในระยะผลแก่ใกล้เก็บเกี่ยว อาจมีเชื้อราสาเหตุโรคติดไปกับเมล็ดพันธุ์พริกโดยติดที่บริเวณ seed ของเมล็ดทำให้โรคสามารถระบาดไปได้ไกลๆเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ที่มีเชื้อติดอยู่ไปปลูกโอกาสเกิดโรคระบาดในแปลงจะค่อนข้างสูง อุณหภูมิ 27-32^{O}C ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 95% ที่เหมาะต่อการเกิดโรค

การควบคุมและการป้องกันกำจัด

1. เลือกซื้อเมล็ดพันธุ์ที่ผลิตจากแหล่งที่ไม่มีโรคระบาด หรือมีการตรวจสุขภาพของเมล็ดที่ได้มาตรฐาน
2. ก่อนปลูกควรคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารเคมีควบคุมเชื้อรา (fungicide) เช่น สารคาร์เบนดาซิม (carbendazim) ผสมแมนโคแซบ (mancozeb) หรือแช่ในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 50-52^{O}C นาน 30 นาที เพื่อกำจัดเชื้อที่ติดมากับเมล็ด
3. เว้นระยะการปลูกให้เหมาะสม ไม่ควรปลูกพริกแน่นเกินไป เพราะจะทำให้ความชื้นในทรงพุ่มสูงซึ่งเป็นสภาพเหมาะแก่การเกิดโรค
4. ในระยะออกดอกถึงติดผล ควรฉีดสารเคมีควบคุมเชื้อรา เช่น แมนโคแซบ โปรคลอราซ หรือคาร์เบนดาซิมผสมแมนโคแซบ เป็นครั้งคราว เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา
5. เมื่อเริ่มพบต้นเป็นโรค ควรตัดแต่งส่วนที่เป็นโรคนำไปเผาทิ้ง แต่งทรงพุ่มให้โปร่ง แล้วฉีดด้วยสารเคมีควบคุมเชื้อรา เพื่อลดปริมาณขอองเชื้อในแปลงลง ระยะนี้ควรให้น้ำน้อยลง
6. การให้น้ำระบบน้ำพ่นฝอย ทำให้ใบเปียก ความชื้นในทรงพุ่มสูง เกิดสภาพเหมาะต่อการเกิดโรค ถ้าเป็นไปได้ควรเปลี่ยนมาให้น้ำทางโคนต้นจะดีกว่า
7. กำจัดวัชพืชในแปลงและบริเวณข้างเคียง ซึ่งอาจเป็นที่อาศัยชั่วคราวของเชื้อ
8. การบรรจุผลผลิต ควรเลือกบรรจุภัณฑ์ที่สามารถระบายอากาศได้ดี
9. ในการเก็บรักษาผลผลิต ระหว่างการขนส่ง หรือรอจำหน่ายควรเก็บผลพริกไว้ในที่เย็นอุณหภูมิคงที่ จะช่วยลดความสูญเสียของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวลงได้มาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การควบคุมโรคแอนแทรคโนส โดยมากมักใช้สารเคมีในการกำจัดเชื้อราเป็นหลักซึ่งในประเทศไต้หวันได้มีรายงานสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 11 ชนิด เป็นสารพวกเบนซิมิดาโซล (benzimidazole), ไดไทโอคาร์บาเมต (dithiocarbamates), ergosterol biosynthesis inhibitors (EBIs) เช่น prochloraz, difenoconazole และ myclobutanil เป็นต้น

สารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม

สารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม จัดอยู่ในกลุ่มเบนซิมิดาโซล ซึ่งสารในกลุ่มนี้เป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราประเภทดูดซึม (systemic fungicide) มีฤทธิ์ป้องกันและกำจัดเชื้อรา เช่นพวกโรคใบจุด โรคราแป้ง โรคกาบใบแห้ง โรคแอนเทรคโนสได้ดี แต่ไม่ควรฉีดยานี้ซ้ำกันในเวลาใกล้กัน เพราะจะทำให้เชื้อราดื้อยาได้

บทบาทของสารกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึมต่อเชื้อรา

สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึม มีการใช้อย่างกว้างขวาง และคาดคะเนไม่ได้บางครั้งทำให้เกิดปัญหาในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่อย่างได้ผล เช่น สารกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึมบางชนิดไปกระตุ้นให้เกิดการดื้อยา (resistant หรือ tolerance) นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการดื้อยาร่วม (cross resistant) ขึ้นได้อีกด้วย โดยเฉพาะสารเคมีที่มีฤทธิ์จำเพาะเจาะจงต่อส่วนประกอบของเซลล์ (cell organelle) และมีฤทธิ์ toxic moiety อย่างเดียวกัน เช่น การดื้อต่อสารในกลุ่มเบนซิมิดาโซล ก็ย่อมจะดื้อต่อสาร thiophanate-methyl หรือสารเบโนมิล ได้ด้วย

สารคาร์เบนดาซิม สารนี้มีผู้พบว่าที่ความเข้มข้น 1 ppm ไม่มีผลต่อการงอกของเชื้อ *Neurospora crassa* แต่หยุดการเจริญของ germ tube และยังพบอีกว่าน้ำหนักแห้งของสปอร์จะเพิ่มขึ้นใน 6 ชั่วโมง ระหว่างกำลังงอกเท่านั้น หลังจากนั้นจะลดลง ทำให้ได้เซลล์ที่ผิดปกติ ที่เป็นดังนี้เป็นเพราะว่าคาร์เบนดาซิมไปมีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์ DNA แต่โปรตีน และ RNA ไม่ถูกกระทบกระเทือนซึ่งกระบวนการนี้ พบในยีสต์ และราเขม่าดำ ซึ่งต่อมาได้พิสูจน์ให้เห็นว่าพิษของคาร์เบนดาซิมนั้นเกิดกับการแบ่งเซลล์แบบ mitosis เพราะทำให้เกิดเซลล์ใหม่ที่มี 1 นิวเคลียส และมีขนาดใหญ่แต่ไม่มีการแบ่งเซลล์ (ตาราง 1) จากการพิสูจน์ต่อมาสันนิษฐานว่าพิษคาร์เบนดาซิมนั้นคล้ายกับสารโคลชิซีน (colchicine) คือไปยับยั้งหน่วยย่อยไมโตคอนเดรียที่จะสร้างเป็น spindle fiber ดังนั้นทำให้ chromatid ไม่สามารถแยกจากกันไปเป็นนิวเคลียสใหม่ได้ ด้วยเหตุนี้จึงมีข้อมูลพอที่จะสันนิษฐานได้ว่าการดื้อยานั้นเกิดขึ้นได้ง่าย (ธรรมศักดิ์, 2543)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 1 ส่วนประกอบของเซลล์เชื้อราที่ถูกทำลายโดยสารพิษของสารดูดซึม

ชื่อสารดูดซึม	ระบบในเชื้อราที่ถูกทำลาย
benomyl	ยับยั้งการสังเคราะห์ DNA ในกระบวนการแบ่งเซลล์แบบ mitosis และ meiosis มีผลทำให้พันธุกรรมเปลี่ยน เช่น เกิดการดื้อยา
carbendazim	
thiophanate	
fuberidazole	

การใช้สารเคมีเพื่อป้องกันกำจัดโรคพืช มักประสบปัญหาในด้านการดื้อยา หรือความต้านทานต่อสารนั้น (resistant of fungicide) หรือเชื้อจะมีการปรับตัวเองเกิดเป็นเชื้อกลายพันธุ์ (mutant) ใหม่ซึ่งลักษณะเหล่านี้สามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้ เชื้อกลายพันธุ์จะเกิดขึ้นหลังจากมีการใช้สารเคมีชนิดนั้นติดต่อกันเป็นเวลานาน และต่อเนื่อง ในครั้งแรกมีการพบลักษณะเชื้อที่กลายพันธุ์เกิดในห้องปฏิบัติการ จึงเริ่มมีผู้ศึกษาถึงลักษณะการดื้อยาของเชื้อในเวลาต่อมา Seveg (1955; อ้างโดย ธรรมศักดิ์, 2543) ได้ให้คำนิยามว่า “การทนทานต่อยา และการดื้อยา” (tolerance และ resistant to a drug) ทั้ง 2 คำนี้ถ้าใช้กล่าวในกรณีว่าเป็นพันธุ์ต้านทานของพืชที่มีต่อเชื้อ จะพบว่า 2 คำนี้มีความหมายต่างกันในแง่ระดับความรุนแรงของโรคคือ จะใช้คำว่าพืชมีการทนทาน (tolerance) หมายถึงพืชเป็นโรคที่แสดงอาการแต่ไม่มีความเสียหายในระดับเศรษฐกิจ ส่วนความต้านทาน (resistant) หมายถึงพันธุ์พืชนั้นมีความต้านทานต่อโรคนั้นๆ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยทั่วไปการทนทานต่อสาร และการดื้อยาต่อสารกำจัดเชื้อราใช้เป็นความหมายเดียวกัน คือเป็นความต้านทานของเชื้อที่มีต่อสารเคมี ซึ่งลักษณะเหล่านี้ต้องคงที่ (stable) และสามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้ และลักษณะนี้ต้องเกิดในประชากรที่ได้รับสารต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 4-10 ปี “คำว่าเชื้อกลายพันธุ์หรือ mutant” นี้หมายถึง สายพันธุ์ (strain) ของเชื้อราที่ดื้อต่อสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช ส่วนคำว่า การดื้อยารวม (cross resistant) หมายถึงกรณีที่เชื้อสามารถดื้อต่อสารพิษในกลุ่มเดียวกันได้มากกว่า 1 ชนิด ขึ้นไปคือ เช่นเมื่อใช้สารกำจัดเชื้อราชนิดที่ 1 พบว่าเกิดเชื้อกลายพันธุ์ดื้อต่อสารกำจัดราชนิดนั้นขึ้นมาพอใช้สารกำจัดราชนิดที่ 2 ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ก็เกิดเชื้อรากลายพันธุ์ดื้อยาขึ้นมาอีก ก็ถือว่าเชื้อนั้นมีการดื้อยาร่วม ข้อจำกัดของการเกิดการดื้อยาร่วม คือจะต้องมีปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factor) เดียวกัน และสารพิษ (toxicant) หรือสารกำจัดราเหล่านั้นอยู่ในกลุ่มเดียวกัน มีความสัมพันธ์กัน และอาจมีกลไกในการทำงาน (mechanism of action) เหมือนกัน จึงเกิดการดื้อยาร่วมขึ้นได้ (Bryson, 1952; อ้างโดย ธรรมศักดิ์, 2543) ให้คำจำกัดความของ collateral sensitivity ว่ากรณีที่เชื้อกลายพันธุ์ หนึ่งอาจเพิ่มการดื้อต่อสารพิษหนึ่งและ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขณะเดียวกันก็จะอ่อนแอ (sensitive) ต่ออีกสารหนึ่ง (การดื้อต่อสารหนึ่งแต่ไม่ดื้อต่อสารหนึ่งในกลุ่มเดียวกัน) สรุปก็คือว่าเชื้อกลายพันธุ์มักจะเฉพาะเจาะจงต่อสารพิษใดสารพิษหนึ่งเท่านั้น หรือถ้าจะดื้อต่อสารพิษหลายชนิดก็ได้ ถ้าสารพิษหลายชนิดมีความสัมพันธ์กัน และมีกลไกการทำงานที่คล้ายกัน (ธรรมศักดิ์, 2543)

วิวัฒนาการของการดื้อยา (ธรรมศักดิ์, 2543)

การดื้อต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราทำให้มีการพยายามค้นหาวิธีการในการป้องกันการพัฒนาของเชื้อ ซึ่งจะต้องศึกษาข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีวเคมี และทางพันธุกรรม และแนวโน้มของการดื้อยา ในปี ค.ศ. 1960 ได้มีรายงานว่าการใช้สารเคมีควบคุมโรคพืชไม่ได้ผล เพราะเกิดการพัฒนาของเชื้อราให้ดื้อต่อสารเคมี ในขณะนั้นไม่เพียงแต่เกิดการดื้อต่อยาฆ่าแมลง และสารปฏิชีวนะเท่านั้น ยังพบว่าพืชที่ปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ต้านทานต่อโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรายังสามารถเกิดโรคได้ เพราะมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเชื้อราให้สามารถเข้าทำลายพืชได้ดีขึ้น ซึ่งการดื้อยาดังกล่าวมี 2 ลักษณะคือ

1. การดื้อยาที่มีพิษเจาะจงและไม่เจาะจงของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา (A resistant to multisite and specific- site fungicide)

การควบคุมโรคส่วนใหญ่จะใช้สารเคมีประเภทดูดซึม และโดยส่วนมากสารประกอบที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อราจะถูกใช้โดยเกษตรกรโดยไม่ได้คำนึงถึงบทบาทของสาร ซึ่งทำให้เกิด ผลเสียอย่างมาก เช่นในกรณีการใช้สารในกลุ่ม dimethyl และ diethyl dithiocarbamate เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของเชื้อรา ซึ่งสันนิษฐานว่าเกิดโดยทำให้เกิด chelation ซึ่งสารที่มีพิษไม่จำกัดนั้น ทำให้เกิดความเป็นพิษกว้าง จึงจะสามารถป้องกันการดื้อยาได้ ในปัจจุบันการดื้อต่อสารที่มีพิษไม่เจาะจง (multisite fungicide) ยังไม่มีรายงานในห้องปฏิบัติการ เหตุผลสำคัญคือการเปลี่ยนแปลงในยีนของเชื้อกลายพันธุ์นี้จะไม่มีผลต่อสารพิษพวกไม่เจาะจง ซึ่งต้องการยีนมากกว่า 1 ยีน จึงจะดื้อยาได้

หลักฐานเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการนำสารกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึมเข้ามา จะทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับการดื้อยาของเชื้อราต่อสารเคมีกลุ่มดูดซึมมากขึ้น การใช้สารเคมีกลุ่มดูดซึมในการเกษตร แสดงให้เห็นความผันแปรของเชื้อราสามารถดื้อต่อการควบคุมของสารเคมีเหล่านี้ได้คล้ายกับการต้านทานที่เกิดในพืชพันธุ์ต้านทาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ถึงแม้ว่าการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึมจะได้ผลดี หรือสามารถต่อต้านเชื้อราได้ แต่ก็ไม่ยาวนานนัก ปัญหาของการดื้อยาจะเพิ่มขึ้นหรือไม่ ขึ้นอยู่กับชนิดของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ถ้าชนิดของสารป้องกันกำจัดเชื้อรามีพิษเจาะจงกับเชื้อรา ก็จะเกิดการผันแปรพอที่จะเกิดการดื้อยาภายใต้สภาพแวดล้อมนั้นได้ง่ายและเร็ว

อย่างไรก็ตามสารที่มีพิษเฉพาะเจาะจงและสารที่มีพิษไม่เฉพาะเจาะจง ยังไม่มีข้อบ่งชี้แน่ชัดว่าสารดูดซึมกลุ่มใดก่อให้เกิดการดื้อยาเร็วกว่ากัน

อีกเหตุผลหนึ่งที่ทำให้เกิดการดื้อยา คือ วิธีการใช้ เช่นการใช้สารออกซี่คาร์บอกซิน (oxycarboxin) ฉีดพ่นเพื่อควบคุมโรค ราสนิมของเบญจมาศ จะพบการพัฒนาของเชื้อที่ดื้อยาได้ง่ายกว่าการใช้สาร carboxymide แบบสำหรับคลุกเมล็ด (seed treatment) จึงเป็นที่น่าสังเกตว่าการพัฒนาการดื้อยาของเชื้อราขึ้นอยู่กับวิธีการใช้ด้วย

1. การปรับตัวและการคัดเลือกกลุ่มเชื้อดื้อยา (Selection and adaptability of resistant)

อัตราการเปลี่ยนแปลงโดยการคัดเลือก (selection) ขึ้นกับจำนวนของการผันแปรของการถ่ายทอดไปสู่ลูกหลานได้ของกลุ่มประชากร และความถี่ของการคัดเลือก การดื้อต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรานั้น ความผันแปรของการถ่ายทอดไปสู่ลูกหลานจะแสดงออกโดยจำนวน และการกลายพันธุ์ของยีนที่จะเกิดขึ้น ทำให้เกิดการดื้อต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ความกดดันระหว่างการคัดเลือก ขึ้นกับวงจรของการสืบพันธุ์ (reproductive cycle) ของเชื้อรา ความคงทนของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ความแตกต่างของความอ่อนแอ (sensitive) ในพวกดั้งเดิม (wilde type) และพวกกลายพันธุ์ (mutant type) ซึ่งจะแสดงโดยการตอบสนองต่อความยาวของช่วงเวลาที่ใช้ความเข้มข้นของสารเคมีที่แตกต่างกัน การต้านทานต่อการคัดเลือกในสภาวะกดดัน (selection pressure) ดังกล่าว จะเกิดขึ้นแตกต่างกันไประหว่างใน obligate parasite และ non-obligate parasite ด้วย โรคพืชที่เกิดจากเชื้อราพวก non-obligate parasite ผลของการควบคุมโรคโดยใช้สารเคมีอาจประสบผลสำเร็จในหลายๆ ปี ถ้าเชื้อดังกล่าวมีสภาพเป็น virulent form

อีกปัจจัยหนึ่งของการคัดเลือกในสภาวะกดดัน คือวิธีการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา ไม่ว่าจะเป็นแบบคลุกเมล็ด หรือแบบฉีดสเปรย์ หรือการให้ตามร่องน้ำ (furrow) ถ้าฉีดพ่นในพื้นที่กว้างของระบบนิเวศน์การเกษตร จะพบว่าประชากรของเชื้อราจะได้รับสารเคมีพร้อมกันแต่อาจจะต่างระดับกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อเหล่านั้น ในสภาพแบบนี้ เชื้อที่จำเพาะเจาะจงต่อสารเคมีอยู่ภายใต้การคัดเลือกในสภาวะกดดัน เชื้อจึงเกิดการดื้อยาได้ โดยไม่ต้องคำนึงถึงว่าจะเป็นเชื้อราในกลุ่ม obligate parasite หรือ non-obligate parasite

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในอดีตสารป้องกันกำจัดเชื้อราถูกใช้โดยไม่คำนึงถึงว่าอาจเกิดสายพันธุ์ใหม่ของเชื้อราจนกระทั้งผลของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ต่อการควบคุมกลุ่มประชากรไม่สามารถควบคุมเชื้อดังกล่าวได้ในระดับไร่นา อัตราการเปลี่ยนแปลงอาจเกิดขึ้นตั้งแต่ในการใช้ในช่วงแรก ทำให้เกิดการระบาดของโรคในระดับที่เป็นปัญหาทางเศรษฐกิจขึ้น ดังนั้นชนิดและความถี่ของการใช้จึงถูกนำมาพิจารณาว่าจำเป็น คือต้องใช้สารนั้นอย่างต่อเนื่องในประชากรของเชื้อ จึงจะถือว่ามีเชื้อกลายพันธุ์ได้

Langston (2001) รายงานว่า พบโรคชนิดใหม่ของพริกในประเทศจอร์เจีย ซึ่งอาจเกิดขึ้นจากเชื้อรา 2 ชนิด คือ *C. capsici* และ *C. piperatum* อาการพบที่ผล ลักษณะบาดแผลบุ๋ม เป็นวงกลมมีสีดำ (*C. capsici*) หรือสีชมพู (*C. piperatum*) เชื้อราสามารถติดไปกับเมล็ด และในเศษซากพืชที่เป็นโรคได้ การติดเชื้อในแต่ละครั้งอาการจะปรากฏประมาณวันที่ 5 นอกจากนี้การให้น้ำจะเป็นปัจจัยแรกในการแพร่กระจายของเชื้อ และเชื้อมีความสามารถในการทำลายมากภายใต้สภาวะความชื้นสัมพัทธ์ (RH; Relative Humidity) มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 80-90^{O}F โรคนี้สามารถควบคุมได้โดยการใช้เมล็ดพันธุ์ปลอดเชื้อ หลีกเลี่ยงดินที่ระบายน้ำไม่ดี และอย่าให้น้ำมากเกินไป นอกจากนี้หากต้องการใช้สารเคมีในการควบคุมเชื้อ ควรใช้สารประกอบทองแดง (copper) ผสมกับมาแนบ (maneb)

Amusa *et al*. (2004) ได้ทำการสำรวจโรคแอนแทรคโนสของพริก ในเขตป่าชื้นแถบตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศไนจีเรียพบโรคแอนแทรคโนสแสดงอาการบนผลพริกมากกว่า 70% และเชื้อสามารถอยู่ข้ามฤดูได้โดยอยู่ในซากต้นพริก ซึ่งพบปริมาณของเชื้อในดินจำนวนมากถึง 4.9 x 10^{6} cfu/g เมื่อนำเมล็ดพริกที่ติดเชื้อมาปลูก พบการติดเชื้อเกิดขึ้นระหว่างกลางฤดูฝน ซึ่งทำให้เกิดการติดเชื้อในแปลงปลูกอย่างรุนแรง

ธารทิพย์ และคณะ (2550) ทำการรวบรวมและจัดจำแนกเชื้อราสกุล *Colletotrichum* spp. สาเหตุของไม้ผล และพืชเศรษฐกิจในประเทศไทย โดยใช้วิธี Tissue transplant technique สามารถแยกเชื้อที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสของพริกได้ 3 species คือ *C. gloeosporioides*, *C. capsici* และ *C. acutatum*

อรพรรณ และจุมพล (2550) ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก โดยนำเชื้อ *Colletotrichum* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท ที่แยกได้จากพริกหลายชนิด ในแหล่งปลูกต่างๆ มาปลูกเชื้อลงบนผลพริกหยวกในระยะการเจริญ 3 ระยะ ได้แก่ ผลเขียว ผลที่เริ่มเปลี่ยนสี และผลแดง หลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน พบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลท มีความสามารถแตกต่างกันในการทำให้เกิดโรคบนผลพริก ผลการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แสดงให้เห็นว่าพริกสายพันธุ์ 36-18 ทนทานต่อการทำลายของเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ทั้งผลเขียวและผลแดงมีความเสียหายน้อย สายพันธุ์ PT มีความทนทานต่อการทำลายของ *C. capsici* ผลพริกแดงของสายพันธุ์ 36-99-04 มีความทนทานต่อการทำลายของเชื้อทั้งสองชนิด

กรองจิต และวิชัย (2531) รายงานว่าเชื้อรา *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก และเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะละกอ เป็นเชื้อราที่สามารถสร้างความต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราประเภทดูดซึมกลุ่มเบนซิมิดาโซล ได้แก่ เบโนมิล และคาร์เบนดาซิม เมื่อนำเชื้อราทั้งสองชนิดที่ถูกชักนำให้เกิดความต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราดังกล่าว ไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ไม่ผสมสารกำจัดเชื้อราดังกล่าวหลายๆ ครั้ง พบว่าเชื้อราทั้งสองชนิดไม่สูญเสียความต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อรา โดยสามารถเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมสารกำจัดเชื้อราที่ความเข้มข้น 400-800 µg/ml ในขณะที่เชื้อราที่แยกได้ในธรรมชาติจากผลพริกและมะละกอ ไม่สามารถเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมสารกำจัดเชื้อราได้ พบเชื้อราที่ต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่มเบนซิมิดาโซล มีลักษณะโคโลนี และเส้นใยที่ผิดปกติ คือโคโลนีมีสีน้ำตาลเข้ม-ดำ ขอบโคโลนีไม่เรียบ ผิวหน้าขรุขระ ลักษณะเส้นใยโป่งกลม เหี่ยวย่น เรียงต่อกันเป็นสาย และอัดตัวกันแน่น

Gopinath *et al.* (2006) ศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารกำจัดเชื้อราโปรพิโคนาโซล (propiconazole) ไดฟีโนโคนาโซล (difenoconazole) และ คาร์เบนดาซิม ที่ใช้ควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ในพริก ในการยับยั้งการงอกของสปอร์ การยับยั้งการเจริญของเส้นใย และการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราต่อสารกำจัดเชื้อ พบว่าโปรพิโคนาโซลมีผลในการยับยั้งการงอกของสปอร์ และการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ได้ดี ถึงแม้จะใช้สารในปริมาณที่น้อยเมื่อเทียบกับไดฟีโนโคนาโซล และ คาร์เบนดาซิม นอกจากนี้เมื่อนำโปรพิโคนาโซลมาทดสอบใช้กับต้นพริกในโรงเรือนพบว่าโปรพิโคนาโซลไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อพืช (phytotoxic) ในพืช

Sariah (1989) ได้ทดลองแยกเชื้อรา *Colletotrichum capsici* จำนวน 340 ไอโซเลท จากตัวอย่างพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารกำจัดเชื้อราเบโนมิล ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 และ 1000 µg/ml พบว่า เชื้อรา *C. capsici* ที่แยกได้จำนวน 73 ไอโซเลท สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหาร PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราเบโนมิล ความเข้มข้น 1000 µg/ml และเมื่อนำเชื้อราที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราเบโนมิล ไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม ที่ความเข้มข้น 1.2, 5, 10, 25, 50 และ 100 µg/ml พบว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถทนทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมได้เช่นเดียวกัน ซึ่งผลของความทนทานดังกล่าวคาดว่าเกิดจากการกลายพันธุ์ (mutation) ของเชื้อรา โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในตำแหน่งของ beta-tubulin gene

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Widjaja (1991) ศึกษาความต้านทานของพริกต่อโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *C. capsici* โดยทำการศึกษาจำนวน 17 สายพันธุ์ ที่แปลง TOP/AVRDC ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม พบว่ามี 4 สายพันธุ์ที่สามารถต้านทานโรคแอนแทรคโนสได้ในระดับสูง

Yarden and Katan (1993) และ Koenraadt *et al*. (1992) ทำการวิเคราะห์ลำดับเบสของ beta-tubulin gene ของเชื้อราที่ทนทานต่อสารเบโนมิล พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ single nucleotide ในเบสลำดับที่ 198 และ 200 ทำให้ทราบว่าการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของกรดอะมิโนใน 2 ตำแหน่งนี้ มีผลทำให้เชื้อราทนทานต่อสารเบโนมิล และมีลักษณะที่แสดงออกแตกต่างกัน เช่นในเชื้อรา *Venturia inaequalis* เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน glutamic acid เป็น lysine, glycine หรือ alanine ในลำดับเบสตำแหน่งที่ 198 ซึ่งมีผลทำให้ระดับการทนทานต่อสารเบโนมิลอยู่ในระดับสูง (highly resistant) ส่วนการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสของ phenylalanine เป็น tyrosine ตรงตำแหน่ง codon ที่ 200 มีผลทำให้เชื้อดังกล่าวทนทานต่อสารเบโนมิลในระดับปานกลาง (moderately resistant)

Sholberg *et al*. (2004) พบเชื้อรา *Penicillium expansum* สาเหตุโรคราสีน้ำเงินในแอปเปิ้ล ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญหลังการเก็บเกี่ยวในประเทศอเมริกาเหนือ ต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราในกลุ่มเบนซิมิดาโซล โดยทำการแยกเชื้อราสาเหตุมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารกำจัดเชื้อราในกลุ่มเบนซิมิดาโซล ได้แก่ เบโนมิล ไทอะเบนดาโซล และในกลุ่มไดฟีนิลเอมีน ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบเชื้อรา *P. expansum* จำนวน 150 ไอโซเลท ที่นำมาทดสอบ มีเชื้อราที่ต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราทั้งสองกลุ่ม จำนวน 25 ไอโซเลท และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเบสที่จำเพาะของกรดอะมิโน codon ที่ 198 พบว่าลำดับกรดอะมิโนของเชื้อรา *P. expasum* เปลี่ยนจาก G**A**G (glutamic acid) เป็น G**C**G (alanine) หรือ G**T**G (valine) ในกรดอะมิโน codon 198 มีผลให้เชื้อราดังกล่าวสามารถต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราเบโนมิล และไทอะเบนดาโซล ได้ในระดับสูง (HR) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *P. expansum* ที่ต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราเบโนมิล จำนวน 5 ไอโซเลท ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลำดับกรดอะโนไปจากเดิมใน codon 198

Peres and Souza (2004) ได้เก็บตัวอย่างเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรค postbloom fruit drop (PFD) โดยเก็บตัวอย่างส้ม จากสวนส้มของเกษตรกรที่ใช้สารกำจัดเชื้อราเบโนมิลในการควบคุมโรคในส้มในประเทศบราซิล และ ฟลอริด้า จากนั้นนำมาแยกเชื้อราสาเหตุ พบเชื้อรา *C. acutatum* จำนวน 20 ไอโซเลท จากสวนส้ม 17 แห่ง และ *C. gloeosporioides* จำนวน 20 ไอโซเลท จากสวนส้ม 7 แห่ง จากนั้นนำเชื้อราที่แยกได้มาทดสอบความต้านทานต่อสารกำจัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อราเบโนมิล โดยนำเชื้อราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารกำจัดเชื้อราเบโนมิล ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 1, 10, 100 และ 1,000 µg/ml พบเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 3 ไอโซเลท อ่อนแอต่อสารกำจัดเชื้อราเบโนมิล โดยสามารถเจริญได้ < 1 µg/ml ในขณะที่เชื้อราที่ต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราเบโนมิลจะสามารถเจริญได้ ≥ 10 µg/ml ส่วนเชื้อรา *C. acutatum* สามารถเจริญบนอาหารที่ผสมสารกำจัดเชื้อราเบโนมิลได้ที่ < 0.1 µg/ml และ < 1 µg/ml เมื่อนำเชื้อราทั้งสองมาวิเคราะห์หาระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในบางส่วนของยีน beta-tubulim พบเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 3 ไอโซเลท ที่ต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราเบโนมิล โดยมีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ codon 198 โดยเปลี่ยนจาก G**A**G (glutamic acid) เป็น G**C**G (alanine) แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ codon 198 และ 200 ในเชื้อรา *C. acutatum* นอกจากนี้ยังพบเชื้อรา *C. gloeosporioides* บางไอโซเลท ที่ต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราเบโนมิล แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ codon 198 และ 200

Canas-Gutierrez *et al*. (2006) ได้ศึกษาเชื้อรา *Mycospohaerella fijiensis* สาเหตุโรควิกาโทกาสีดำ (Black sigatoka)ในกล้วย โดยเก็บตัวอย่างใบกล้วยที่แสดงอาการของโรค จากนั้นนำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อราสาเหตุจำนวน 44 ไอโซเลท และเมื่อนำเชื้อราที่แยกได้มาทดสอบความต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราในกลุ่มเบนซิมิดาโซล โดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารกำจัดเชื้อราเบโนมิล ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 50 µg/ml พบเชื้อราที่ต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราเบโนมิล (resistant) จำนวน 5 ไอโซเลท (≥50 µg/ml) ต้านทานระดับปานกลาง (moderately resistant) จำนวน 3 ไอโซเลท (≤ 10 µg/ml) และอ่อนแอต่อสารกำจัดเชื้อราเบโนมิล (sensitive) จำนวน 36 ไอโซเลท (< 1 µg/ml) และเมื่อนำเชื้อราที่ต้านทาน และต้านทานระดับปานกลางต่อสารกำจัดเชื้อราเบโนมิล จำนวน 4 ไอโซเลท มาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในบางส่วนของยีน beta-tubulin พบเชื้อรา *M. fijiensis* ทั้ง 4 ไอโซเลท มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ codon 198 โดยเปลี่ยนจาก G**A**G (glutamic acid) เป็น G**C**G (alanine) แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ codon 200

ลัดดาวัลย์ (2550) ได้แยกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในกุหลาบจำนวน 93 ไอโซเลท จากนั้นนำมาทดสอบบนอาหาร PDA ที่ระดับความเข้มข้น 1, 10, 100 และ 500 µg/ml พบเชื้อราที่ต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมจำนวน 3 ไอโซเลท และเมื่อวิเคราะห์ลำดับพันธุกรรมของเชื้อราในตำแหน่งบางส่วนของยีน beta-tubulin โดยใช้ไพรเมอร์ CTBF และ CTBR พบการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน beta-tubulin (*TUB2*) ที่ตำแหน่ง 1,286 เปลี่ยนจาก adenine (A) เป็น cytosine (C) เมื่อเปรียบเทียบกับไอโซเลทที่ไม่ต้านทาน ซึ่งเป็นผลทำให้การกลายพันธุ์ปรากฏที่ตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ codon 198 คือ glutamic acid (G**A**G)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ถูกแทนที่ด้วย alanine (G**C**G) นอกจากนี้ยังพบว่านิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 1,278 ของไอโซเลท SC-020 และ SC-021 มีการเปลี่ยนจาก cytosine (C) เป็น thymine (T) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งนี้ไม่มีผลต่อการแปลรหัสไปเป็นกรดอะมิโนตัวอื่น

สุธาสินี (2550) นำเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง มะละกอ ฝรั่ง แอปเปิ้ล และส้ม ทดสอบความต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 1, 10, 100, 500 และ 1,000 µg/ml พบเชื้อราที่ต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม จำนวน 70 ไอโซเลท ($\geq$ 500 µg/ml) และเมื่อวิเคราะห์ลำดับพันธุกรรมของเชื้อราในตำแหน่งบางส่วนของยีน beta-tubulin พบเชื้อราที่ต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมมีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ codon 198 โดยเปลี่ยนจาก G**A**G (glutamic acid) เป็น G**C**G (alanine)

แอคติโนมัยซีส (actinomycetes) (สายสมร, 2547)

"actinomycetes" มาจากภาษากรีก ที่เรียกว่า Aktino ที่หมายถึงรัศมี (ray) และ mykes ที่หมายถึง เห็ดหรือรา (mushroom หรือ fungi) ซึ่งมีความหมายโดยรวมว่าเชื้อราที่เจริญในแนวรัศมี แอคติโนมัยซีส (actinomycetes) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram positive) ที่มีลักษณะบางประการคล้ายกับเชื้อราดังกล่าวคือ มีการจับกลุ่มกันเป็นก้อนหรือเป็นแผ่นเมื่อมีการเจริญในอาหารเหลว (liquid medium) ทั้งนี้เนื่องจากแอคติโนมัยซีสสามารถสร้างเส้นใยได้ โดยพบว่ามีการสร้างเส้นใย 2 ชนิดคือ substrate mycelium ใช้ในการยึดเกาะกับอาหารและดูดอาหารไปใช้ในการเจริญเติบโต และ aerial mycelium ใช้ในการสืบพันธุ์ จากการศึกษาพบว่าเส้นใยที่แก่จะมีการสร้างผนังกั้น (septate) เพื่อแบ่งเซลล์โดยที่แต่ละเซลล์จะมีขนาดประมาณ 20 ไมครอน และอาจมี nucleoid หลายชุดภายใน 1 เซลล์ จากนั้นจึงหักหลุดเป็นท่อนๆ มีรูปร่างหลายแบบเช่น pleomorphic, club shape cell เป็นต้น กลายเป็น spore ซึ่งส่วนมากจะเป็น asexual spore สปอร์ส่วนใหญ่จะไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (non-motile spore) แต่ก็มีบางชนิดที่เป็นส่วนน้อยที่สามารถเคลื่อนที่ได้ (flagellate spore) จากการศึกษาพบว่าจะมีการสร้าง substrate mycelium ก่อน แล้วจึงมีการสร้าง aerial mycelium เพื่อการสืบพันธุ์หรือภายใต้สภาวะความเครียด เช่น สร้างเมื่อขาดน้ำ ขาดอาหาร หรือมีการสะสมของ inhibition compound และจะมี hydrophobic sheath หุ้มเส้นใยอยู่เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ นอกจากนี้ยังพบว่าเส้นใยของแอคติโนมัยซีสมีหลายสีขึ้นอยู่กับชนิด (species) ของแอคติโนมัยซีส เช่น ขาว ใส ไม่มีสี เหลืองอ่อน น้ำตาลอ่อน แดงชมพู ส้ม เขียว หรือดำและสี (pigment) ที่สร้างมีทั้งที่ละลายน้ำได้ และละลายน้ำไม่ได้ หากละลายน้ำได้จะปรากฏสีบนอาหารแต่หากละลายน้ำไม่ได้จะไม่ปรากฏสีบนอาหารเลย ส่วนการเจริญเติบโตของเชื้อแอคติโนมัยซีสจะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คล้ายกับเชื้อราคือ เจริญทางปลายสุดของ hypha เป็นแบบ apical growth และมีอัตราการเจริญ (growth rate) ช้ากว่าแบคทีเรีย และเชื้อราประมาณ 7-14 วัน endophytic actinomyces เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ ราก ลำต้น โดยอาศัยอยู่แบบ free living พืชแต่ละชนิดที่แตกต่างกันอาจมี endophytic actinomyces อาศัยอยู่ต่างชนิดกันไปด้วย ซึ่ง endophytic actinomyceyes ดังกล่าวสามารถสร้างสารป้องกันพืชจากเชื้อสาเหตุโรคพืช (plant pathogen) ซึ่งเป็นสารประเภท antifungal agent, antiviral agent, antibacterial agent และ antiparasitic agent นอกจากนี้ยังมีสารที่ส่งเสริมการเจริญของพืชอาศัยได้

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากแหล่งธรรมชาติยังมีการค้นหาอย่างไม่หยุดยั้ง เนื่องจากมีผลประโยชน์ทางอุตสาหกรรม ทางการแพทย์ ทางเภสัช และทางการเกษตร สารเหล่านี้ได้มาจากพืชหรือจุลินทรีย์ แอคติโนมัยซีสเป็นจุลินทรีย์ที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย เช่น *Streptomyces* สามารถสร้างสารประกอบบ้างอย่างที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น (Haansuu *et al*., 1999; Haansuu *et al*., 2001) การหาสารออกฤทธิ์ชนิดใหม่จากจุลินทรีย์กลุ่มนี้โดยการคัดเลือก แอคติโนมัยซีสที่หายาก (rare actinomycetes) หรือกลุ่มที่ไม่ใช่ *Streptomycetes* ซึ่งเป็นกลุ่มที่เจริญช้า และพบได้น้อยในธรรมชาติ เช่น *Micromonospora*, *Microbispora* เป็นต้น สารปฏิชีวนะที่ผลิตโดยจุลินทรีย์มีมากมายหลายชนิด โดยที่ 2 ใน 3 ของสารปฏิชีวนะที่เป็นประโยชน์นั้นมาจากแอคติโนมัยซีส (Justin *et al*., 2003) โดยสารปฏิชีวนะมีหลายกลุ่มคือ

1. สารปฏิชีวนะในกลุ่ม peptide antibiotic เป็นสารปฏิชีวนะที่มีความสำคัญ และใช้กันอย่างแพร่หลาย สำหรับสารปฏิชีวนะในกลุ่มนี้สามารถแบ่งออกได้เป็นหลายกลุ่มย่อยคือกลุ่ม beta-lactam ที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้จากจุลินทรีย์หลายกลุ่ม เช่น
    a. bacteria (เช่น *Streptomyces*, *Bacillus*)
    b. fungal (เช่น *Penicillium*, *Tolypocladium*, *Aspergillus*)
    c. cyanobacteria (เช่น *Anabaena*, *Microcystis*)

นอกจากนี้ยังมีกลุ่ม GPAS (glycopeptide) เช่น สาร vancomycin ที่ผลิตจาก *Actinoplanes,* มีสาร complestatin ที่ผลิตจาก *Streptomyces* และกลุ่ม cyclic peptide ที่ผลิตสาร cyclosporine จาก *Tolyocladium* กลุ่ม thiopeptide ที่ผลิตสาร thiostrepton และ nonsiheptide จาก *Streptomyces* กลุ่ม lipopeptide ที่ผลิตสาร daptomycin จาก *Streptomyces roseosporus*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. สารปฏิชีวนะในกลุ่ม amino glycoside และ oligosaccharide ที่ผลิตสาร streptomycin และ kasugamycin จาก *Streptomyces*
3. สารปฏิชีวนะในกลุ่ม peptidyl nucleoside ที่ผลิตสาร nikkomycin, blasticidin และ puromycin
4. สารปฏิชีวนะในกลุ่ม polyketide ชนิดที่ 1, 2 และ 3
5. สารปฏิชีวนะที่เป็นสารประกอบอื่นๆ

องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์

องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์เป็นสมบัติที่ใช้ในการจัดจำแนกเชื้อแอคติโนมัยซีส ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ เพื่อการจัดจำแนกในระดับสกุล องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ที่นำมาพิจารณา ได้แก่

1. ชนิดของ 2,6-diaminopimelic acid (DAP) เป็นกรดอะมิโนซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียทุกชนิดยกเว้น mycoplasma และ archaebacteria จะมี peptidoglycan หรือ murein เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ โดยประกอบด้วย peptidoglycan monomer ที่สร้างขึ้นจากการเชื่อมต่อกันของ amino sugar 2 ชนิด คือ *N*-acetylglucosamine (NAG) และ *N*-acetylmuramic acid (NAM) ที่เชื่อมอยู่กับกรดอะมิโน 4 ชนิด เช่น DAP, alanine, glycine, lysine และ glutamic acid เป็นต้น (ภาพที่ 2) ผนังเซลล์ของแอคติโนมัยซีสส่วนใหญ่ยังมีการเชื่อมข้ามสายระหว่าง DAP กับ alanine หรือระหว่าง lysine กับ alanine peptidoglycan ของแอคติโนมัยซีสอาจมี DAP เป็นแบบ *LL*-isomer, *meso*-isomer และ OH-isomer หรือไม่มีก็ได้ จึงสามารถใช้ชนิดของ DAP ในการจัดจำแนกในระดับสกุลได้ (Lechevalier *et al*., 1971)

2. ชนิดของน้ำตาลในเซลล์ ผนังเซลล์ของแบคทีเรียประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด เช่น xylose, arabinose, galactose, rhamnose, , ribose, madurose และ glucose เป็นต้น นอกเหนือจาก glucosamine และ muramic acid ของ peptidoglycan รูปแบบของน้ำตาลสามารถแบ่งแอคติโนมัย-ซีสที่มี DAP เป็นแบบ *meso*-isomer ออกเป็น 4 ประเภท คือ Type A มีน้ำตาล arabinose และ galactose แต่ไม่มี xylose Type B มีน้ำตาล madurose แต่ไม่มี arabinose และ xylose Type C ไม่สามารถระบุรูปแบบน้ำตาลที่เฉพาะได้ และ Type D มีน้ำตาล xylose และ arabinose เป็นองค์ประกอบ (Lechevalier *et al*., 1971)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ความสำคัญของแอคติโนมัยซีส

แอคติโนมัยซีสเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถพบทั่วไปในดิน น้ำ อากาศ และสิ่งมีชีวิต ในปี 1888 มีรายงานว่า เชื้อในกลุ่ม *Norcardia* เป็นเชื้อชนิดที่ทำให้เกิดโรคได้หลังจากนั้นเชื้อแอคติโนมัยซีสจึงกลายมาเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านการแพทย์ และเภสัชกรรม เนื่องจากผลิตสาร metabolites หลายประเภท เช่น ยาปฏิชีวนะ และได้มีการพิสูจน์แล้วว่าแอคติโนมัยซีสเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์สูงสุด ในการผลิตสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญชนิดใหม่ที่มีผลต่อจุลินทรีย์ชนิดอื่น และนอกจากนี้แล้วยังมีความสำคัญทางด้านการเกษตร และอุตสาหกรรม เนื่องจากผลิตเอนไซม์ และ secondary metabolite ที่สำคัญอีกหลายชนิด อีกทั้งยังมีความสำคัญทางนิเวศวิทยาอีกด้วย เช่น แอคติโนมัยซีสในจีนัส *Frankia* sp. ที่อาศัยอยู่ในปมรากของพืชบางชนิด (พืชมากกว่า 200 ชนิดใน 25 กลุ่ม) และสามารถตรึงไนโตรเจน (Benson *et al*., 2000)

ลักษณะโครงสร้างของไคติน (Muzzarelli, 1997)

นับตั้งแต่ปี คศ. 1881 ได้เริ่มศึกษาเกี่ยวกับไคตินโดย Brocannot ได้ศึกษาไคตินในเห็ด ต่อมาในปี คศ. 1823 Odier ได้ศึกษาความแตกต่างของไคตินในโครงร่างของแมลงกับเซลลูโลสในโครงสร้างของพืช หลังจากนั้นได้มีการค้นคว้าวิจัยเรื่อยมา (ฉันทวรรณ, 2550)

ไคตินมีชื่อทางเคมีว่า poly-beta-(1,4)-2-acetamido-2-deoxy-*D*-glucose มีหน่วยย่อย คือ *N*-acetyl-*D*-glucosamine เชื่อมต่อด้วยพันธะ glycosidic bond ที่ตำแหน่ง beta-1,4 สูตรโมเลกุลคือ $(C_8H_{13}O_5)_n$ อนุพันธ์ของไคตินเรียกว่าไคโตซาน มีชื่อทางเคมีว่า poly-beta-(1,4)-2amino-2-deoxy-*D*-glucose

แหล่งของไคติน

ไคตินถือเป็นสารโพลีเมอร์ชีวภาพในกลุ่มในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่พบมากเป็นอันดับรองจากเซลลูโลส มักพบในสิ่งมีชีวิตพวกพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ โดยพบเป็นสารประกอบของโครงสร้างของสัตว์ต่างๆ จำพวก ครัสเตเซียน เช่น เปลือกกุ้ง กระดองปู พวก *Arthropod* เช่น แมลง และ *Mollusca* เช่น กระดองปลาหมึก โดยจะอยู่รวมกันกับสารพวกโปรตีน และแร่ธาตุต่างๆ เช่น calcium carbonate นอกจากนี้ ยังพบในผนังเซลล์ของเชื้อรา เห็ด ยีสต์ และแบคทีเรีย โดยจะรวมอยู่กับโพลีแซคคาไรด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คุณสมบัติของไคติน

ไคตินมีคุณสมบัติที่เด่นชัดคือ ไม่ละลายในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ทั่วไป แต่ละลายในตัวทำละลายจำเพาะเช่น กรดเกลือเข้มข้น และ anhydrous formic acid มีมวลโมเลกุล 1.036×10^{6} ดาลตัน ย่อยสลายได้ง่ายในตัวทำละลายกรด

การย่อยสลายไคตินโดย chitinolytic enzyme

เอนไซม์ที่ย่อยสลายไคติน ได้แก่ chitinase ซึ่งเป็น multi-complex enzyme โดยผลที่ได้จากการย่อยไคตินคือ *N*-acetyl-*D*-glucosamine เอนไซม์กลุ่มนี้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อยใหญ่ๆ ดังนี้

1) Endo-chitinase หรือ chitinase (EC 3.2.1.14) เป็นเอนไซม์ที่ตัดโพลิเมอร์ของ *N*-acetyl-*D*-glucosamine แบบสุ่มได้ผลผลิตส่วนใหญ่เป็น diacetylchitobiose และ triacetyl chotobiose บ้างเล็กน้อย (Shaikh and Dashpande, 1993)
2) Exo-chitinase หรือ *N*-acetylglucosaminidase หรือ chitobiase (EC 3.2.1.30) ซึ่งปัจจุบันถูกรวมไว้กับเอนไซม์ในกลุ่ม *N*-acetylhexosaminidase (EC 3.2.1.51) และจะย่อยสลายไคตินจากด้าน non-reducing end ได้เป็น chitobiose หรือ *N*-acetylglucosamine โมเลกุลเดี่ยว

การแบ่ง chitinase ออกเป็น exo-chitinase และ endo-chitinase จะขึ้นอยู่กับชนิดของซับสเตรท เช่น *Streptomyces* sp. ซึ่ง chitinase complex จะย่อยสลาย pure crystalline beta-chitin ใน diatom spine ตรงปลาย non-reducing end เท่านั้น ได้ผลผลิตเป็น dimer คือ diacetylchitobiose เป็นส่วนใหญ่ ขณะที่ย่อยสลาย colloidal chitin แล้วจะได้ oligomer และ diacetylchitobiose ปนกัน (Shaikh and Deshpande, 1993)

ไคตินจะทำปฏิกิริยาบนตำแหน่ง beta-1, 4-glycisidic bond แต่เนื่องจากไคตินมักอยู่ร่วมกับสารประกอบอื่นๆ เช่น โครงสร้างภายนอกของแมลงจะมีสารประกอบเชิงซ้อนของไคตินอยู่รวมกับโปรตีน แต่ในผนังเซลล์ของเชื้อราจะมีสารประกอบเชิงซ้อนของไคตินกับโปรตีน และกลูแคน ซึ่งทำให้พันธะดังกล่าวมีความหลากหลายในธรรมชาติ จึงทำให้สิ่งมีชีวิตสร้างเอนไซม์ไคติเนส ที่มีคุณสมบัติความจำเพาะต่อสับสเตรท และให้ผลผลิตแตกต่างกันไปแบบจำเพาะด้วยเช่นกัน (Shaikh and Deshpande, 1993)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Lumyong *et al*. (1996) ได้รายงานการแยก และคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากตัวอย่างดิน โดยแยกเชื้อได้ทั้งหมด 81 ไอโซเลท จากนั้นได้นำไปทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไคติเนส บนอาหาร chitin agar พบว่า 54 ไอโซเลทสามารถเจริญบนอาหาร chitin agar ได้ จากนั้นนำไปทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนส ในอาหารเหลวที่มี 1% ball-milled chitin นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27-29^{O}C บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบ/นาที เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไปหากิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส (chitinase activity) โดยตรวจวัดจากปริมาณ *N*-acetylglucosamine ที่ถูกปล่อยออกมาจากปฏิกิริยาที่ใช้ 1%swollen chitin เป็นสับสเตรท บ่มที่อุณหภูมิ 30^{O}C ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส จำนวน 12 ไอโซเลท โดยที่ไอโซเลท CS10 มีกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนสสูงที่สุดคือ 12.07 mUnit/ml และมี specific activity 41.30 mUnit/mg และเมื่อนำไปตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าเป็นเชื้อ *Streptomyces* sp.

Valois *et al*. (1996) ได้ทำการแยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจำนวน 200 ไอโซเลท จากดินบริเวณโคนต้นราสเบอรี่ และมันฝรั่ง จากนั้นนำมาทดสอบความเป็นเชื้อปฏิปักษ์ และการผลิตสารทุติยภูมิ (metabolites) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora* พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสจำนวน 13 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อราสาเหตุได้ และผลิตเอนไซม์ β-1,3, β-1,4 และ β-1,6-glucanases ซึ่งย่อยสลาย glucan substrates เช่น cellulose, laminarin, pustulan และ yeast cell wall ที่ผลิตโดย *Phytophthora* นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสจำนวน 11 ไอโซเลท สามารถลดการเกิดโรครากเน่าในต้นราสเบอรี่ได้หลังจากทำการปลูกเชื้อสาเหตุลงบนต้นราสเบอรี่

Cristina *et al*. (2006) ได้คัดเลือก *Streptomyces* ที่แยกได้จากดิน เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia eragrostides* และ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคใบจุดมันในประเทศบราซิล พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีส 6 ไอโซเลท (*S. thermotolerans*, *S. griseus* subsp. *griseus*, *Streptomyces* sp. N0035, *S. purpurascens* และ 2 ไอโซเลท ของ *Streptomyces* sp.) สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใย และการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุ นอกจากนี้ยังสามารถผลิตสารทุติยภูมิ โดยพบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. (AC26) มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุทั้ง 2 ชนิด ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรานั้น จะมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของทุติยภูมิ ขณะที่ *S. thermotolerans* และ *Streptomyces* sp. N0035 สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้เพียงชนิดเดียว ส่วน *S. griseus* subsp. *griseus* พบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุ และไม่สามารถผลิตสารทุติยภูมิได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Chernin *et al.* (1995) ได้ศึกษา chitinolytic activity จาก *Enterobacter agglomerans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียในดินที่ต้านทานการเจริญเติบโตเชื้อราสาเหตุโรคพืช ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ที่สลายไคตินในอาหารที่มี colloidal chitin 0.2% w/v เป็นแหล่งคาร์บอน สามารถตรวจพบเอนไซม์ทั้งหมด 3 ชนิด คือ *N*-acetyl-*β*-*D*-glucosaminidase, endo-chitinase และ chitobiosidase มีน้ำหนักโมเลกุล 89,000, 67,000 และ 59,000 ดาลตัน ตามลำดับ และใช้ *E. agglomerans* ต่อต้าน *R. solani* ซึ่งทำให้เกิดโรคในฝ้ายโดยทดลองในเรือนเพาะชำ พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ 64-86% และ *E. agglomerans* ที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์จะไม่สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสได้

Gomes *et al*. (2001) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสที่เจริญบนอาหาร solid colloidal chitin จากนั้นศึกษาลักษณะสัณฐาน และสรีรวิทยา พบว่าคือเชื้อ *Streptomyces* sp. จากนั้นเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* sp. (RC1071) ในอาหาร colloidal chitin liquid pH 7 ที่อุณหภูมิ 28^{O}C เป็นเวลา 3 วัน นำไปวิเคราะห์หา endochitinase พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 70 กิโลดาลตัน ทำการสกัดเอา endochitinase ที่ได้จาก *Streptomyces* sp. (RC1071) เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 7 ชนิด ได้แก่ *Fusarium solani, Fusarium graminearum, Fusarium* sp., *Aspergillus parasiticus, Fusarium oxysporum, Colletotrichum gloeosporiodes* และ *Magnaporthe grisea* ซึ่ง endochitinase ที่ได้นั้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุได้

Rodriguez *et al.* (1983) ได้ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนสในดิน โดยนำดินจากบริเวณแปลงปลูกข้าวโพดมาผสม 1% (w/w) colloidal chitin suspension ที่อุณหภูมิ 37^{O}C และ 45^{O}C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นดูดสารละลายมาทำการวิเคราะห์หา *N*-acetyl-*β*-glucosamin released พบว่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไคติเนสจะเกิดได้สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 45^{O}C pH 5.0-5.5 ซึ่งพบว่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์จะเกิดขึ้นได้มากหรือน้อยนั้นจะมีความสัมพันธ์กับจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดิน

สายพิณ และคณะ (2551) ได้ศึกษาจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนส จำนวน 41 ไอโซเลท โดยคัดแยกจากตัวอย่างดินที่มีไคตินสะสมอยู่ปริมาณมาก ได้แก่ ดินจอมปลวก รังมด ป่าชายเลน เป็นต้น โดยสามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์ได้จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Streptomyces* จำนวน 19 ไอโซเลท, *Nocardioform actinomycetes* จำนวน 5 ไอโซเลท แบคทีเรียแกรมบวกสร้างสปอร์ 10 ไอโซเลท, แบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลม จำนวน 5 ไอโซเลท และแบคทีเรียแกรมลบ *Serratia* จำนวน 2 ไอโซเลท จากนั้นทำการทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus niger*, *Botrytis* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium poae* และ *Fusarium* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบเชื้อที่สามารถย่อยไคตินได้ จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อ *Streptomyces* ไอโซเลท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

B1.1, D1.1, และ F1.1 ซึ่งยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger*, *Botrytis* sp., และ *Curvularia* sp. ได้ตามลำดับ เชื้อ *Nocardioform actinomycetes* ไอโซเลท S11.2 และ S22.2 ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท K1.1 ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. niger* และ *Fusarium* sp. และเชื้อแบคทีเรีย *Serratia* ที่สามารถยั้งยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp.

อภิญญา และคณะ (2545) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนสต่อเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Fusarium solani* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในมะม่วง และลำไย โดยสามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์ได้จำนวน 242 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไคตินจากเปลือกกุ้งเป็นองค์ประกอบ พบเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญบนอาหารดังกล่าว จำนวน 48 ไอโซเลท ซึ่งเป็นเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียที่ทนอุณหภูมิสูง เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวมาทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุทั้ง 2 ชนิด พบเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 2 ไอโซเลท เชื้อแอคติโนมัยซีส จำนวน 2 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และเชื้อรา จำนวน 4 ไอโซเลท, เชื้อแบคทีเรีย จำนวน 2 ไอโซเลท ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. solani* จากนั้นนำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุทั้ง 2 ไอโซเลท ด้วยวิธี paper disc method โดยเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ enzyme production medium (EPM) ซึ่งมีเปลือกกุ้งเป็นแหล่งคาร์บอน เขย่าที่อุณหภูมิห้อง พบว่าน้ำกรองเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียไอโซเลท H11 (*Bacillus cereus*) สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *F. solani* โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่เกิดขึ้นได้ 23.3 มิลลิเมตร และ 15.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved