บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ลำไย (longan, lungan, longyen และ linkeng) จัดอยู่ในตระกูล Sapindaceae มีชื่อเรียกทางวิทยาศาสตร์ว่า *Euphoria longana* Lamk. นอกจากนี้ลำไยยังมีชื่อวิทยาศาสตร์อื่น ๆ อีกคือ *E. lonyan* Stend., *Nephelium longana* Combess., *Dimocarpus lonyan* Lour. ลำไยเป็นไม้ผลยืนต้นที่มีความใกล้เคียงกับลิ้นจี่ และเงาะซึ่งอยู่ในตระกูลเดียวกัน (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2530)

ลำไยมีลำต้นสูงประมาณ 20 เมตร มีการแตกกิ่งก้านสาขาดี ใบเขียวตลอดปี เปลือกขรุขระสีน้ำตาล หรือเทา กิ่งเปราะ และหักได้ง่าย (Othman และ Suranant, 1995) ลำต้นตั้งตรง มีทรงพุ่มสวยงาม ใบของลำไยเป็นแบบ pinnately compound รูปร่างลักษณะของใบต่างกัน มีตั้งแต่รูปรีจนถึงรูปหอก สีเขียวเข้มเป็นมันจนถึงสีเขียวแกมเทา ดอกลำไยออกเป็นช่อ (inflorescence) มีสีขาวค่อนข้างเหลือง ดอกลำไยมี 2 ชนิดคือ ดอกสมบูรณ์เพศ และดอกตัวผู้ ผลของลำไยค่อนข้างกลม หรือรูปไข่ มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5 เซนติเมตร เปลือกบางมีสีน้ำตาลอ่อน (พิชัย, 2532)

สำหรับถิ่นกำเนิดของลำไย มีนักวิชาการบางท่านสันนิษฐานว่า ลำไยน่าจะมีแหล่งกำเนิด (center of origin) บริเวณประเทศศรีลังกา เรื่อยมาจนถึงทางด้านตะวันตกเฉียงใต้ของอินเดีย พม่า และตอนใต้ของประเทศจีน (Choo และ Ketsa, 1991) อย่างไรก็ตามเมื่อไม่นานมานี้มีผู้พบลำไยพันธุ์ป่า (wild longan) ที่เมืองยูนนาน ประเทศจีน ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นแหล่งกำเนิดของลำไยที่แท้จริง (Li, 1985)

ลำไยเป็นพืชเศรษฐกิจ ซึ่งทำรายได้ให้แก่ชาวสวนภาคเหนือปีละหลายร้อยล้านบาท โดยเฉพาะที่จังหวัดเชียงใหม่ และลำพูน ซึ่งปลูกมากที่สุด พันธุ์ที่นิยมปลูกมากได้แก่ พันธุ์กะโหลกเห้ว อีดอ สีชมพู และเบี้ยวเขียว พันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่อไร่มากที่สุดคือ พันธุ์อีดอ และเบี้ยวเขียว (พิชัย, 2532)

นักวิชาการหลายท่านได้รายงานถึงโรคที่เป็นปัญหาสำคัญในการปลูกลำไยมีดังนี้

1. โรคพุ่มไม้กวาดลำไย สาเหตุเกิดจากเชื้อ mycoplasma สามารถแพร่ระบาดไปกับกิ่งตอนกิ่งติดตา อาการพบที่ส่วนยอด และส่วนที่เป็นตา โดยอาการเริ่มแรกใบยอดแตกออกเป็นฝอย มีลักษณะเหมือนพุ่มไม้กวาด ใบมีขนาดเรียวยาว ใบมีความแข็งกระด้าง ใบมีลักษณะไม่คลี่ออกมาเป็นกระจุกปะปนไปกับใบปกติ ยอดที่เป็นโรคเมื่อออกช่อดอก จะออกช่อชนิดติดใบติดดอกปะปน

กัน และเป็นช่อสั้น ๆ ถ้าเป็นโรครุนแรงดอกลำไยที่เกิดขึ้น จะแตกเป็นกิ่งฝอย โรคนี้อาจเกิดตามกิ่งโดยยอดที่แตกออกมา มีลักษณะอาการกิ่งเป็นมัดไม้กวาด เกิดอยู่เป็นกระจุก ๆ จึงเรียกว่าโรคพุ่มไม้กวาด ลำไยที่เป็นโรครุนแรงจะไม่ผลิดอกออกผล (เอี่ยน, 2536)

2. โรคราสีชมพู สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Cortinum samonicola* ระบาดมากในฤดูฝน โดยสปอร์ของเชื้อราสามารถระบาดไปกับลมและน้ำ ลักษณะอาการพบที่กิ่ง โดยเฉพาะตรงง่ามกิ่ง หรือลำต้น กิ่งที่เป็นโรค ใบมีสีเหลืองซีด ใบร่วงเหลือแต่กิ่ง บริเวณกิ่งที่ถูกทำลาย มีคราบของเชื้อราสีขาวอมชมพูแผ่ขยายปกคลุม เห็นคราบนี้ชัดขึ้นเป็นสีชมพู หรือสีปูนแห้ง เนื้อไม้ยุ่ย กิ่งแห้งตายไปในที่สุด (นิพนธ์, 2531)

3. โรคจุดสาหร่ายสนิม สาเหตุเกิดจากพืชชั้นต่ำพวกสาหร่าย *Cephaleuros virescens* ทำลายพืชได้หลายชนิด แพร่ระบาดโดยสปอร์ ระบาดไปกับน้ำ และลม ระบาดมากในที่ ๆ มีความชุ่มชื้นสูง โดยเฉพาะฤดูฝน ส่วนมากปรากฏอาการที่ใบ เป็นจุดค่อนข้างกลม ขนาด 0.5-1 เซนติเมตร ระยะแรกเป็นขุยสีเขียว ต่อมาเกิดสปอร์สีแดง หรือสีสนิมเหล็ก ผิวเป็นขุยคล้ายกำมะหยี่ อาการรุนแรงจะปรากฏที่กิ่ง ถ้าเป็นมากทำให้ต้นทรุดโทรม กิ่งที่ถูกแสงจะถูกทำลาย โดยเกิดเป็นขุยเหมือนที่ใบเป็นจุด หรือต่อเนื่อง ต่อมาขุยจะแห้งหายไป จุดที่ถูกทำลายเปลือกจะแตก และแห้งใบเหลืองร่วง รากเทียมของสาหร่ายเข้าไปไชชอนในเนื้อเยื่อ ดูดกินน้ำเลี้ยง ทำให้เซลล์เน่าตาย (เอี่ยน, 2536)

4. โรคราดำ สาเหตุเกิดจากเชื้อราที่มีอยู่ในอากาศ คือ *Capnodium ramosum* และ *Meliola euphoriae* ปลิวมาติดอยู่บนส่วนที่มีน้ำหวาน ที่แมลงพวกปากดูดขับถ่ายออกมา แล้วเจริญเป็นคราบสีดำ แมลงที่พบคือ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย เพลี้ยจั๊กจั่น และเพลี้ยอ่อน เป็นต้น คราบสีดำของเชื้อราขึ้นปกคลุมใบ กิ่ง ช่อดอก และผิวของผล มีลักษณะคล้ายเขม่า บนใบที่ถูกเคลือบด้วยแผ่นคราบดำของเชื้อรานี้ เมื่อแห้งจะหลุดออกเป็นแผ่นได้ง่าย เชื้อราไม่ได้ทำลายพืชโดยตรง แต่ไปลดการปรุงอาหารของใบ อาการที่ช่อดอก ถ้าเป็นรุนแรง ทำให้ดอกร่วง ไม่สามารถผสมเกสรได้ (เอี่ยน, 2536)

5. โรคใบจุดดำลำไย เกิดจากเชื้อราสาเหตุหลายชนิดร่วมกัน ได้แก่ *Colletotrichum* sp., *Pestalotia* sp., *Helminthosporium* sp. และ *Phyllosticta* sp. ระบาดมากในสภาพอากาศชื้นหรือมีฝนตก สปอร์ของเชื้อราสามารถแพร่กระจายไปตามลม และละอองของน้ำฝน ลักษณะอาการที่เกิดขึ้นบนใบ โดยเริ่มแรกจะเป็นจุดสีน้ำตาลอ่อน ต่อมาแผลเริ่มแห้ง และบางครั้งอาจพบเส้นใย หรือส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา เช่น fruiting body ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp., *Pestalotia* sp. และ *Phyllosticta* sp. นอกจากนี้บริเวณที่เป็นรอยแผลจุดดำ มักพบเส้นใยเป็นขุยสีขาวเจริญอยู่ จากการตรวจสอบพบว่าเป็นเชื้อ *Zygospora* sp. ซึ่งเป็นเชื้อที่เข้าทำลายระยะหลังที่เกิดอาการจุดดำแล้ว (วิชชา, 2540)

Paraquat เป็นสารปราบวัชพืชที่มีการนำมาใช้เป็นครั้งแรกในการตรวจหา latent infection ในถั่วเหลือง โดยทำการฆ่าเชื้อที่ผิวของฝัก และลำต้นของถั่วเหลือง แล้วจุ่มในสารละลาย paraquat และบ่มเชื้อในที่ความชื้นสูงนาน 4 วัน ภายใต้สภาพแสงและอุณหภูมิ 25 °C ปรากฏโครงสร้างของ fruiting body และสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum truncatum*, *Phomopsis phaseoli* และ *Cercospora kikuchii* จำนวนมาก (Cerkauskas และ Sinclair, 1980) ต่อมาได้นำ paraquat มาใช้ในการศึกษาปัจจัยของสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเข้าทำลาย และการพักตัวของเชื้อ *Phomopsis longicolla* (Rupe และ Ferriss, 1987) มีการศึกษาการแพร่ระบาดและการเจริญแบบแฝงของเชื้อ *Colletotrichum* spp. ในเนื้อเยื่อของถั่ว และวัชพืช โดยใช้ paraquat ในการตรวจสอบ คือพบ *C. destructivum*, *C. truncatum* และ *Glomerella glycines* บนตอซังของถั่วเหลือง และยังสามารถตรวจพบ *Colletotrichum* spp. บนใบอ่อนของถั่วเหลือง และบนส่วนของก้าน หรือใบของวัชพืชด้วย (Hartman และคณะ, 1986) การศึกษาการเจริญของเชื้อ *Phomopsis leptostromiformis* บนต้น lupin ในออสเตรเลียตะวันออก (Cowling, 1984) มีการใช้ยาปราบวัชพืชกระตุ้นให้เกิดเชื้อ *Cercospora canescens* บนเนื้อเยื่อของถั่วใน Brazil (Dhingra และ Asmus, 1983) และเชื้อ *Monilinia fructicola* บนผล palm ที่ยังไม่แสดงอาการของโรค blossom blight (Northover และ Cerkauskas, 1994) การตรวจสอบเชื้อราบนใบมะม่วง โดยนำใบมะม่วงปกติมาทำการแช่น้ำนาน 5-6 ชั่วโมง แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่ผิวใบ แล้วจึงนำไปแช่ในสารละลาย paraquat เข้มข้น 0.5 % นาน 1 นาที และนำไปบ่มเชื้อในสภาพที่มีความชื้น และในที่มีแสงนาน 4-5 วัน จึงปรากฏโครงสร้างของ fruiting body ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pestalotia* sp. (กาญจนา, 2536) และยังมีการศึกษาการตรวจหา latent infection ในผลแอปเปิล พบว่าเกิด acervuli ของ *Colletotrichum acutatum* ก้านชูสปอร์ของ *Alternaria alternata* และ pycnidia ของ *Botryosphaeria dethidea* บนผลแอปเปิลที่จุ่มด้วยสารละลาย paraquat และพบมากกว่าบนผลที่ไม่ได้จุ่มในสารละลาย paraquat เมื่อนำผลแอปเปิลมาปลูกเชื้อด้วย *C. acutatum* ทิ้งไว้จนพัฒนาเป็นอาการของโรค จึงนำมาจุ่มในสารละลาย paraquat พบ acervuli ของเชื้อนี้เจริญอยู่บนผิวของผลแอปเปิล 80 % ของพื้นที่ผิวทั้งหมด ส่วนผลที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อก่อน ไม่พบว่ามีเชื้อเกิดขึ้นบนผลแอปเปิล (Biggs, 1995)

มีการศึกษาผลของการใช้ paraquat ต่อเนื้อเยื่อ และเชื้อสาเหตุของต้นถั่วเหลือง โดย Cerkauskas และ Sinclair (1982) พบว่า *Alternaria* sp., *Colletotrichum dematium* var. *truncatum*, *Macrophomina phaseolina* และ *Phomopsis* sp. ที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลือง (*Glycine max*) มีความทนทานต่อ paraquat ได้แตกต่างกัน โดยวัดจากการสร้างเส้นใย การเจริญของเส้นใย การงอกของสปอร์ และ การใช้ glucose ของเชื้อรา *Phomopsis* sp. ทนทานต่อ paraquat ได้มากที่สุด *Alternaria* sp. ทนทานได้น้อยที่สุด เมื่อนำชิ้นส่วนของก้านถั่วเหลืองมาจุ่มลงใน paraquat ที่มีความเข้มข้นที่

แตกต่างกัน แล้วนำมาทำการฆ่าเชื้อที่ผิว พบว่า paraquat ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. phaseolina* แต่กระตุ้นให้เชื้อ *Phomopsis* sp. เจริญ พบ amino acid, carbohydrate และสารอื่น ๆจากเนื้อเยื่อพืช ถูกปลดปล่อยออกมาเพิ่มมากขึ้น ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคที่เพิ่มมากขึ้น และยังพบว่าในฝักของถั่วเหลืองที่ถูก paraquat ทำลายนั้น จะปลดปล่อยสาร electrolytes และ amino acid จากสารที่ปลดปล่อยออกมานี้อาจมีความสัมพันธ์กับการพบเชื้อ *C. dematium* var *truncatum* และ *Phomopsis* sp. ที่สามารถเจริญและปรากฏให้เห็นเนื้อเยื่อของถั่วเหลืองที่ถูก paraquat ทำลาย

มีรายงานว่าสารปราบวัชพืชชนิดอื่น เช่นยาพวก chlorophenoxy และพวก benzoic acid (dicamba) สามารถใช้ตรวจสอบเชื้อ *Drechlera rosokiniana* บนพืช *Pea pratensis* บริเวณเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย (Hodges, 1980)

มีการศึกษาเกี่ยวกับโรคหลังเก็บเกี่ยวของมะม่วง (*Mangifera indica* L.) พบว่าผลมะม่วงแสดงอาการของโรคขณะเก็บรักษาในโรงเก็บ โดยปกติใบมะม่วงถูกโรคเข้าทำลายตลอดปี อาจเป็นไปได้ว่า ทำให้เกิดแหล่งของ primary infection บนผลมะม่วง latent infection นั้นจะอยู่ในผลจนผลโตเต็มที่ หลังจากนั้นจะพัฒนาไปสู่การเกิดโรคหลังเก็บเกี่ยวในระหว่างที่เก็บรักษาอยู่ ซึ่งมี *Pestalotiopsis glandicola* เป็นเชื้อสาเหตุ (Ullasa และ Rawal, 1989)

โรคหลังเก็บเกี่ยวของไม้ผลหลายชนิด มักพบว่าเชื้อราอาศัยอยู่แบบแฝง จนกระทั่งผลเริ่มสุก ผลมะเขือเทศ อะโวคาโด และกล้วยที่เริ่มสุก จะสร้างสารระเหย (volatile) จนกระทั่งผลเริ่มสุก ซึ่งชักนำให้เกิดการงอกของสปอร์ และการสร้าง appressorium ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. musae* การตอบสนองของสปอร์ของเชื้อราเหล่านี้ต่อ ethylene ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ทำให้ผลไม้สุก เมื่อทดสอบ ethylene ในปริมาณที่น้อยกว่า หรือเท่ากับ 1 mu l/liter จะทำให้สปอร์งอก เกิดการแตกแขนงของ germ tube และสร้าง appressorium ตั้งแต่ 1-6 อันจาก 1 สปอร์ ผลของ ethylene ต่อเชื้อรานั้น คล้ายคลึงกับการตอบสนองของพืช (plant-like response) และสามารถถูกยับยั้งโดย silver ion และ 2,5 norbornadiene แต่เมื่อปริมาณของ ethylene เพิ่มสูงขึ้น สารเหล่านี้จะไม่มีผลยับยั้งเชื้อราเหล่านี้ได้อีกต่อไป การชักนำของ ethylene นี้จะไม่มีผลต่อ *Colletotrichum* sp. สายพันธุ์อื่น แต่การชักนำของ ethylene ต่อการสร้าง multiple appressorium นั้นมีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อหลังเก็บเกี่ยว โดยสังเกตจากที่สปอร์ของ *C. gloeosporioides* สร้าง multiple appressorium บนผลมะเขือเทศที่สุก ซึ่งมีการสร้าง ethylene แต่เชื้อราจะไม่สร้าง multiple appressorium บนผลของมะเขือเทศ และส้ม ที่ได้รับการตัดต่อยีน (transgenic plant) ผลของพืชเหล่านี้จะไม่ผลิต ethylene แสดงว่า ethylene ที่ปลดปล่อยออกมามีผลต่อการสร้าง multiple appressorium และการแสดงอาการของโรค จากเหตุผลนี้ เชื้อรามีวิวัฒนาการ เพื่อพัฒนากลไกที่ใช้

ฮอร์โมน ethylene เป็นสัญญาณ (signal) ให้เกิดการสร้าง multiple appressorium ในขั้นตอนของการเข้าทำลายของเชื้อรา (Flaishman และ Kolattukody, 1994)

Kim และคณะ (1998) พบว่าการยึดติดของสปอร์บนผิวหน้าที่แข็ง และหนาของพืช (hard-surface) เป็นสัญญาณของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ตอบสนองต่อชั้นไข (wax layer) ที่เคลือบอยู่ และฮอร์โมนที่ทำให้ผลไม้สุก (ethylene) ทำให้เกิดการงอกของสปอร์ และสร้าง appressorium ซึ่งจำเป็นต่อการเข้าทำลายพืช

สปอร์ของเชื้อรามีสารเคมีซึ่งยับยั้งการงอก และการสร้าง appressorium จนกว่าสารเหล่านี้จะกระจายออกไปสู่สิ่งแวดล้อมที่เหมาะสม ซึ่งพบการยับยั้งตนเองในสปอร์ของ *Magnaporthe grisea* และพบว่าชั้นไขที่เคลือบผิวหน้าของพืช ลดการยับยั้งตัวเองของสปอร์นี้ (Liu และ Kolattukudy, 1999)

เชื้อราในสกุล *Colletotrichum* มีขั้นตอนในการเข้าทำลายพืชได้หลายวิธี ตั้งแต่การเข้าทำลายแบบ intracellular hemibiotrophy จนไปถึง subcuticular intramural necrotrophy เชื้อรานี้ได้สร้างโครงสร้างในการเข้าทำลายพืช เช่น germ tubes, appressorium, intracellular hyphae และ secondary necrotrophic hyphae (Perfect และคณะ,1999)

Colletotrichum gloeosporioides f.sp. *malvae* สามารถงอกบนชิ้นวุ้นได้มากกว่าบนแผ่นใบของพืชตระกูล Malvaceae และ safflower อย่างไรก็ตามการงอกของสปอร์บนชิ้นวุ้นลดลงเมื่อมีจำนวนของสปอร์เพิ่มขึ้น หลังจากปลูกเชื้อ 31-36 ชั่วโมง *C. gloeosporioides* f.sp. *malvae* แทงผ่านชั้นผิว cuticle ของพืชโดยตรง และสร้าง infection structure ในชั้น epidermal cell เมื่อเชื้อเข้าสู่ผิวพืชแล้วทำให้เกิด intracellular vesicle และ primary hypha ที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งเกิดรอยคอดรัดบริเวณ transcellular penetration sites และ secondary hypha (Louise และคณะ, 1996)

จากการศึกษาขั้นตอนการเข้าทำลายของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ในระยะ hemibiotroph ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค anthracnose ของต้น cowpea (*Vigna unguiculata*) พบว่าในระยะ biotroph เชื้อรานี้สร้าง infection vesicle ที่มีขนาดใหญ่ มีหลาย lobe มีผนังกั้นหลายอัน และมีส่วนที่ยืดยาว แต่ยังถูกจำกัดให้อยู่ในบริเวณที่เชื้อเข้าทำลายในช่วงแรก คือใน epidermal cell ในระยะที่เชื้อเข้าทำลายเนื้อเยื่อพืช และเนื้อเยื่อพืชเริ่มเกิดอาการจุดตาย (necrotic spot) จะมีการพัฒนาการเข้าทำลายของ secondary hypha อย่างรวดเร็ว ซึ่งเจริญมาจาก multilobed vesicles ไปสู่เนื้อเยื่อที่อยู่รอบ ๆ และสร้างแผลฉ่ำน้ำบนผิวใบของเนื้อเยื่อที่ถูกเข้าทำลาย acervulus แต่ละอันจะมี melanized seta 1 อัน และมีผนังกั้นด้วย (Latunde-Dada และคณะ, 1996)

Scheffer (1983) ได้ให้คำจำกัดความของ phytotoxin ว่าเป็นสารที่สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กผลิตขึ้น สามารถทำลายเนื้อเยื่อพืช และยังก่อให้เกิดโรคพืชด้วย phytotoxin ส่วนมากมีมวลโมเลกุลต่ำ

ลักษณะอาการที่เกิดจาก phytotoxin นั้นมีหลายชนิดขึ้นอยู่กับส่วนประกอบทางเคมี และคุณสมบัติของพืช ลักษณะอาการที่พบบ่อยคือ เหี่ยว จุดฉ่ำน้ำ necrosis (การตายของเนื้อเยื่อ) และ chlorosis (การสูญเสีย chlorophyll) อาการเหี่ยวที่เกิดจาก phytotoxin คือระบบน้ำของพืชผิดปกติ และมีผลต่อการทำงานของ membrane และยังพบว่าท่อน้ำมีการทำงานที่ผิดปกติ อาจเป็นเพราะว่าเกิดภาวะอุดตันที่ท่อ vessel การเกิดจุดฉ่ำน้ำชี้ให้เห็นถึงความผิดปกติทางหน้าที่ของ membrane และส่งผลกระทบต่อเซลล์ และยังทำให้เกิด necrosis ได้ ส่วน chlorosis เป็นผลมาจากการรบกวนขบวนการเมตตาบอลิซึมของ chlorophyll แต่ phytotoxin จะส่งผลโดยทางอ้อมต่อขบวนการนี้ อย่างไรก็ตามพบว่า host-selective toxin ของ *Helminthosporium carbonum* นั้นยับยั้งการสังเคราะห์ chlorophyll ได้ (Strange, 1993) ตัวอย่างลักษณะอาการต่าง ๆ ที่มีสาเหตุจาก phytotoxin ดังแสดงในตารางที่ 1 (Staples และ Toenniessen, 1981)

ตารางที่ 1 Phytotoxin จากเชื้อสาเหตุต่าง ๆ และลักษณะอาการที่เกิดขึ้นกับพืช

ลักษณะอาการ	เชื้อสาเหตุ	Phytotoxin
เหี่ยว	*Corynebacterium michiganense*	Glycopeptide
	C. insidiosum	Glycopeptide
	Ceratocystis ulmi	Glycopeptide
	Pseudomonas solanacearum	Polysaccharide
	Xanthomonas campestris	Polysaccharide
	Verticillium spp.	Protein lipopolysaccharide
	Fusarium oxysporum	5-n-Butylpicolinic acid
	Fusicoccum amygdali	Carbotricyclic diterpene glucoside
Chlorosis	*Psedomonas phaseolicola*	Phaseotoxin: n-phospho-glutamic acid
		Phaseolotoxin: tripeptide
	P. tabaci	Tabtoxin
		2-Serine tabtoxin
	Rhizobium japonicum	Enol-ether amino acid
	Alternaria alternata	Tenuazonic acid
จุดฉ่ำน้ำ	*Psedomonas lachrymans*	Lipomucopolysaccharide
Local necrosis	*Septoria nodoru*	8-Methyl isocoumarin
	Pseudomonas syringae	Syringomycin peptide

Rudolph (1976) และ Scheffer (1983) ได้จำแนกประเภทของ toxin ดังนี้

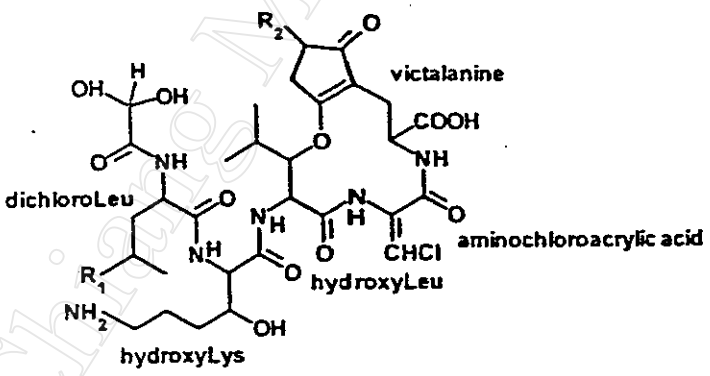
1. host selective (host-specific) toxin
2. non selective (non-specific) toxin

host selective toxin เป็นพิษต่อพืชที่มี species หรือสายพันธุ์ที่เป็นพืชอาศัย และสร้าง toxin ของเชื้อสาเหตุ และจะไม่เป็นพิษต่อพืชอื่น

non selective toxin เป็นพิษกับพืชหลายสายพันธุ์ แต่ความเป็นพิษจะมีความสัมพันธ์ตรงกับพืชอาศัยและเชื้อสาเหตุที่ผลิต toxin นั้น

เชื้อราที่ผลิต host selective toxin

1. Cochliobolus ผลิต host-selective toxin (HSTs) ซึ่งมีอยู่ 3 ชนิดคือ (Walton และคณะ, 1994)
   1.1 Victorin (HV-toxin) ผลิตโดย *Cochliobolus victoriae* ทำให้เกิดโรค Victoria blight กับข้าวโอ๊ต



victorin
(*Cochliobolus victoriae*)

ภาพที่ 1 โครงสร้างของ Victorin ;

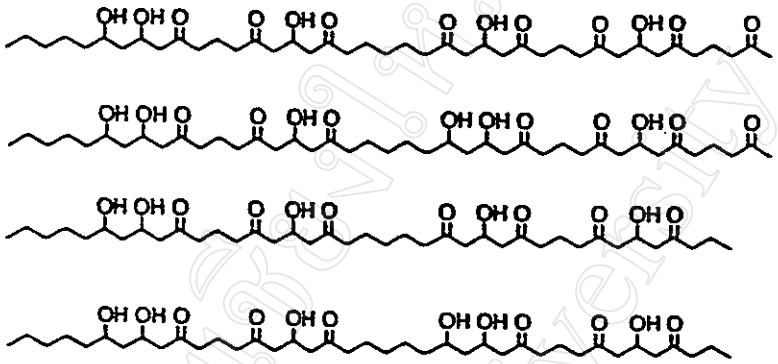
Victorin B: R1 = CH_2CI R2 = OH

Victorin C: R1 = CHCI R2 = OH

Victorin D: R1 = $CHCI_2$ R2 = H

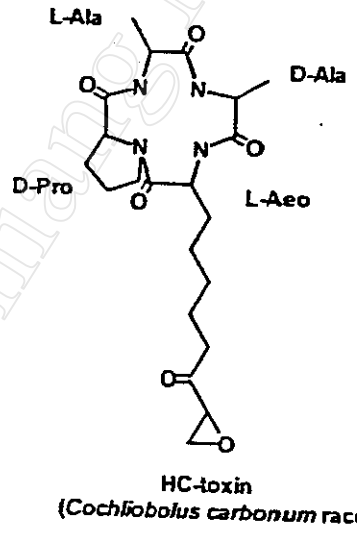
Victorin E: R1 = CCI_3 R2 = OH

1.2 T-toxin ผลิตโดย *C. heterostrophus* race T (anamorph =*Bipolaris maydis*) ทำให้เกิดโรคใบไหม้กับข้าวโพด



ภาพที่ 2 โครงสร้างของ T-toxin

1.3 HC- toxin ผลิตโดย *C. carbonum* race I ทำให้เกิดโรคกับใบจุดข้าวโพด



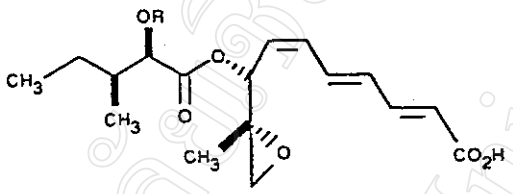
ภาพที่ 3 โครงสร้างของ HC-toxin

2. *Alternaria fragariae* ทำให้เกิดโรคก้นผลเน่า (blossom end rot) กับต้นสตรอเบอรี่ สร้าง toxin 3 ชนิดคือ (Strange, 1993)

   2.1 AF-toxin I

   2.2 AF-toxin II

   2.3 AF-toxin III



ภาพที่ 4 โครงสร้างของ AF-toxin ;

AF-toxin I: R = $COCH(OH)C(CH_3)_2OH$

AF-toxin II: R = H

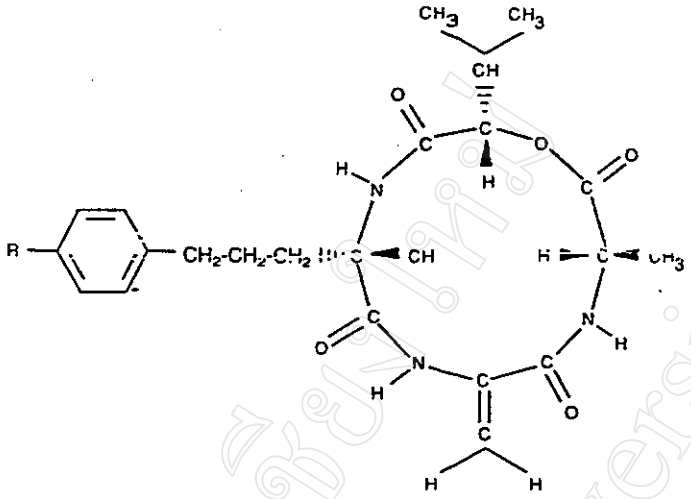
AF-toxin III: R = $COCH(OH)CH(CH_3)_2$

3. *Alternaria mali* ทำให้เกิดโรคผลเน่า ของแอปเปิ้ล (Alternaria bloth) สร้าง toxin 3 ชนิดคือ (Strange, 1993)

   3.1 AM-toxin I

   3.2 AM-toxin II

   3.3 AM-toxin III



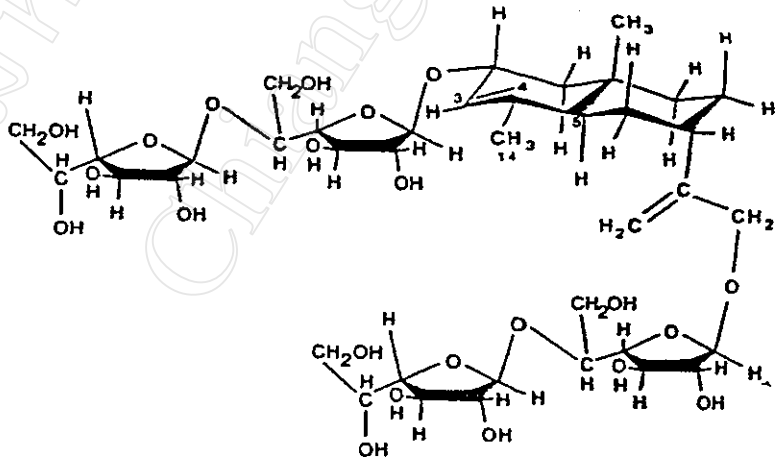
ภาพที่ 5 โครงสร้างของ AM-toxin ;

AM-toxin I: R = OCH_3

AM-toxin II: R = H

AM-toxin III: R = OH

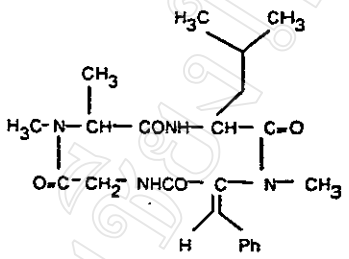
4. *Helminthosporium sacchari* เป็นเชื้อสาเหตุของต้นอ้อย ทำให้เกิดโรคใบจุดรูปตา หรือใบจุดแผลใหญ่ สร้าง toxin ที่มีชื่อว่า Helminthosporoside (Strange, 1993)



ภาพที่ 6 โครงสร้างของ Helminthosporoside

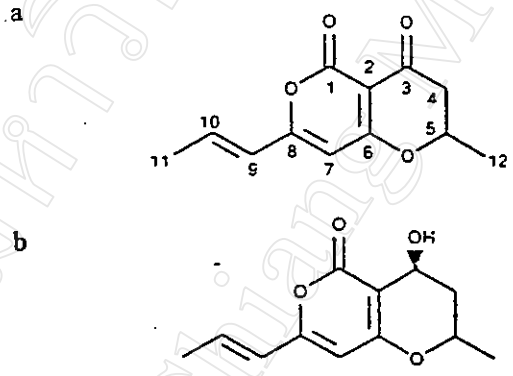
เชื้อสาเหตุที่ผลิต non - selective toxin

1. *Alternaria alternata* ทำให้เกิดโรคใบจุดใบไหม้กับพืชหลายชนิด ผลิต Tentoxin มีโครงสร้างแบบ cyclic tetrapeptide (Strange, 1993)



ภาพที่ 7 โครงสร้างของ Tentoxin

2. *A. helianthi* ทำให้เกิดโรคใบไหม้กับดอกทานตะวัน ผลิต Deoxyradicinin และ 3-epoxyradicinin เป็น polyketide toxin (Strange, 1993)



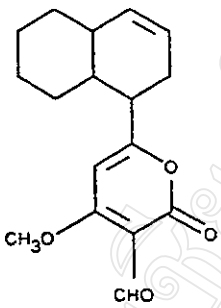
ภาพที่ 8 โครงสร้างของ polyketide toxin ที่สกัดได้จาก *A. helianthi*

a = Deoxyradicinin

b = 3-epoxyradicinin

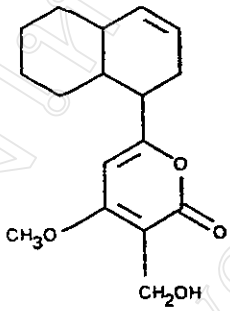
3. *A. solani* เป็นเชื้อสาเหตุของโรค early blight ของมันฝรั่ง และมะเขือเทศ ผลิต Solanapyrones (Strange, 1993)

a

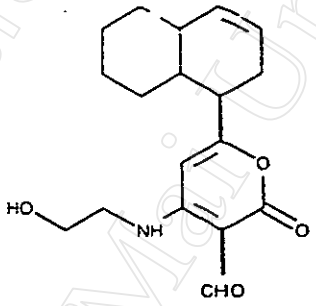


Solanapyrone A

b



Solanapyrone B



Solanapyrone C

c

ภาพที่ 9 โครงสร้างของ Solanapyrones ;

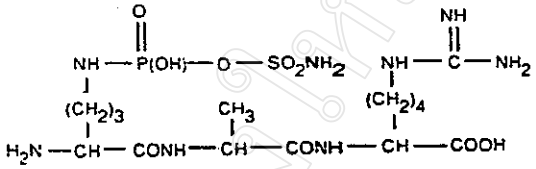
a = Solanapyrone A

b = Solanapyrone B

c = Solanapyrone C

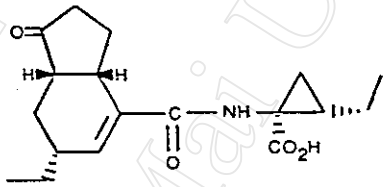
4. *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* เป็นเชื้อสาเหตุของโรคใบจุดกับต้นยาสูบ ผลิต Tabtoxin (Strange, 1993)

5. *P. syringae* pv. p*haseolicola* ทำให้เกิดโรคใบไหม้ (halo blight) กับต้นถั่วเขียว ผลิต Phaseolotoxin (Strange, 1993)



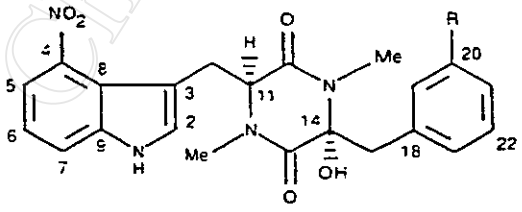
ภาพที่ 10 โครงสร้างของ Phaseolotoxin

6. *P. syringae* pv. *atropurpurea* ทำให้เกิดโรคใบจุดกับต้นข้าวไรน์ ผลิต Coronatine (Strange, 1993)



ภาพที่ 11 โครงสร้างของ Caronatine

7. *Streptomyces scabies* เป็นเชื้อสาเหตุของโรค common scab ของมันฝรั่ง ผลิต Thaxtomins A และ B (Strange, 1993)

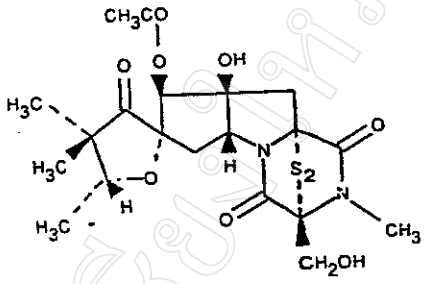


ภาพที่ 12 โครงสร้างของ Thaxtomins

Thaxtomin A: R = OH

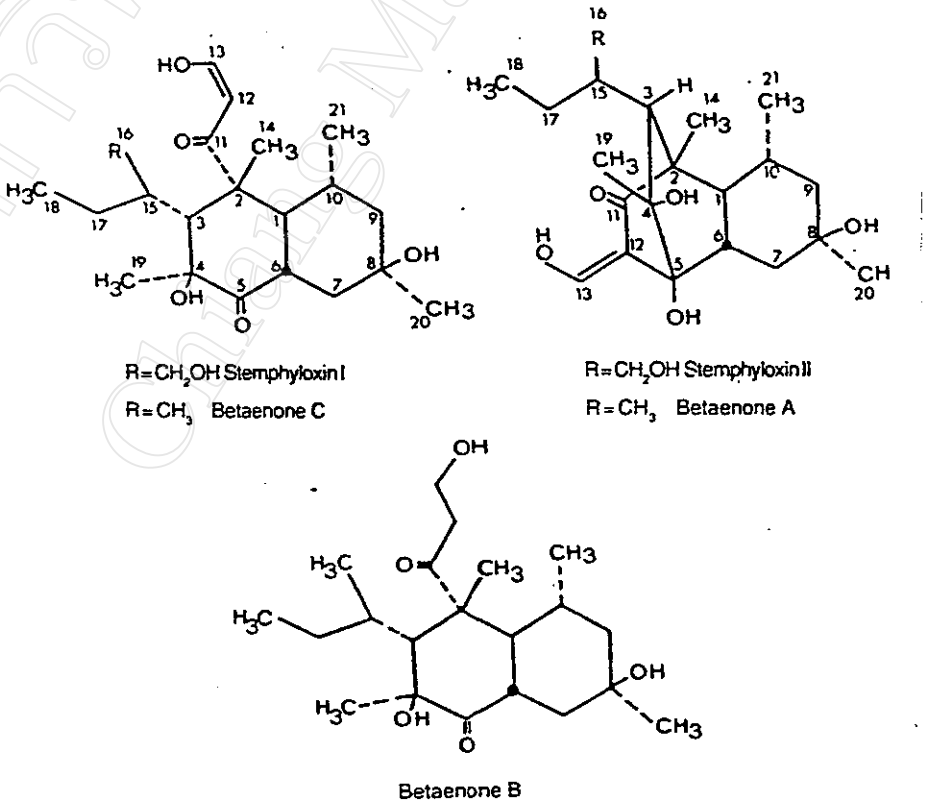
Thaxtomin B: R = H

8. *Leptoshaeria maculans* สาเหตุของโรค black leg ของต้น oilseed rape ผลิต Sirodesmin PL (Strange, 1993)



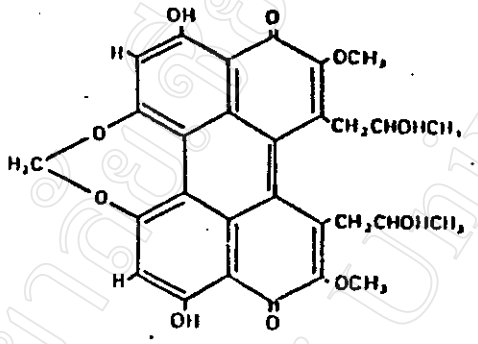
ภาพที่ 13 โครงสร้างของ Sirodermin PL

9. *Stemphylium botryosum* f.sp. *lycopersici* เป็นเชื้อสาเหตุของโรคใบจุดสีเทา (Gray Leaf-spot) ของต้นมะเขือเทศ ผลิต Stemphyloxin I และ II (Strange, 1993)
10. *Phoma betae* เป็นเชื้อสาเหตุของโรค Phoma leaf spot กับต้นบีท ผลิต Betaenone A,B,C (Strange, 1993)



ภาพที่ 14 โครงสร้างของ Stemphyloxin I และ II กับ Betaenone A, A และ C ซึ่งมีความสัมพันธ์กัน

11. *Helminthosporium* หลายชนิด รวมทั้ง *Cochliobolus heterostroplus* (เชื้อสาเหตุของโรค Souther Corn leaf blight ของข้าวโพด) และ *C. miyabeanus* (เชื้อสาเหตุของโรคใบจุดสีน้ำตาล) ผลิต Ophiobolins (Strange, 1993)
12. *Cercospora* หลายชนิด ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช ผลิต Cercosporin (Strange, 1993)



ภาพที่ 15 โครงสร้างของ Cercosporin

13. *Exserohilum turcicum* ทำให้เกิดโรค Northern Corn leaf blight ของข้าวโพด ผลิต non specific toxin ที่เป็นสารพวก peptide ประกอบด้วย amino acid 3 ชนิดเรียงกันคือ glycine-serine-glutamine สารพิษนี้สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ chlorophyll ของใบข้าวโพด (Bashan และคณะ, 1995)
14. *Curvularia andropogenis* เป็นเชื้อสาเหตุของโรคใบไหม้ของต้น *Java citronella* สร้าง non-specific toxin ชื่อ CA-phytotoxin ในอาหารเลี้ยงเชื้อและพืชอาศัย (Alam และคณะ, 1997)

เชื้อ *Colletotrichum* หลายชนิดสร้าง phytotoxin ที่มีความเป็นพิษต่อพืช ดังรายงานของการทดลองต่อไปนี้

Colletotrichum trifolii สร้างสารประเภท polysaccharide ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถทำให้ ใบ ยอด และต้นกล้าของต้น alfalfa เกิดรอยซีดจาง แห้ง เหี่ยว และตายในที่สุด ยังพบว่าสารพิษนี้มีความเป็นพิษต่อต้นมะเขือเทศ ข้าวโพด และถั่วเหลืองทั้งที่เป็นพันธุ์ต้านทาน และพันธุ์อ่อนแอ ทำให้เกิด hypersensitive กับ cotyledon ของถั่วเหลือง และ hypocotyl ของต้นถั่ว เมื่อทำ partial purified สารโดยใช้วิธีตกตะกอนด้วย acetone, ultrafiltration และ column chromatography พบว่าสารพิษนี้ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 98-99 เปอร์เซ็นต์ (galactose, mannose และ glucose) และ

โปรตีน 1-2 เปอร์เซ็นต์ (uronic acid) ความเป็นพิษของสารนี้ลดลงโดยการทำ periodate oxidation หรือใช้ α–mannosidase หรือ β –galactosidase แต่การใช้ Proteinase K การผ่าน autoclave และที่ pH 2 และ 11 ไม่ทำให้ความเป็นพิษเสื่อมลง (Frantzen และคณะ, 1982)

ทำการสกัดสาร glucan-containing polysaccharides จากเชื้อ. *Colletotrichum lindemuthianum* ทำให้เกิดโรคกับต้นถั่ว (*Phaseolus vulgaris*) *C. trifolii* และ *Colletotrichum destructivum* พบว่าสารนี้ทำให้เกิดอาการ browning และทำให้ต้นถั่วสร้าง phytoalexin จากการทำ gel filtration แสดงให้เห็นว่า *Colletotrichum* แต่ละ species สร้าง glucan เป็นส่วนที่มีมวลโมเลกุลสูง เป็นตัวกระตุ้นทำให้เกิดอาการกับ cotyledon กับต้นถั่ว ส่วนที่สกัดได้จาก *Colletotrichum* แต่ละ species ที่เป็นส่วนที่มีมวลโมเลกุลต่ำ สามารถทำให้เกิดอาการบนต้นถั่ว และส่วนที่มีมวลโมเลกุลต่ำนี้ ประกอบไปด้วย glucose, mannose และ galactose แต่ *C. trifolii* และ *C. destructivum* ยังมี rhamnose เป็นองค์ประกอบอีกด้วย (Anderson, 1978)

Grove และคณะ (1966) ได้ทำการสกัด toxin จากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* พบว่าเชื้อราสร้างสาร metabolite 2 ชนิด คือ acetylcolletotrichum และ colletodiol สาร acetylcolletotrichum มีความเป็นพิษต่อพืช ประกอบด้วย $C_{28}H_{42}O_7$ terpenoid มี hydroxyl, methoxyl และกลุ่ม unsaturated ketone ส่วน colletodiol ประกอบด้วย $C_{14}H_{20}O_6$ alcohol ซึ่งไม่มีความเป็นพิษต่อพืช

Colletotrichum lindemuthianum, *C. truncatum* และ *C. graminicola* สร้างสารพิษ (toxic metabolite) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งสารนี้ชักนำให้เกิดแผลจุดตาย (necrotic lesion) บนพืชอาศัยที่อ่อนแอ สารพิษนี้เชื้อจะสร้างขึ้นเป็นจำนวนมากบนอาหาร Richard's medium ที่เขย่าตลอดเวลาระหว่างบ่มเชื้อ (shake incubation) สารพิษนี้สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 nm ภายใต้แสง UV สารพิษของเชื้อ *Colletotrichum* spp. สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ด และสามารถยับยั้งการเจริญของต้นกล้าที่ความเข้มข้น 100 µg/ml ในขณะที่ความเป็นพิษจะลดลงเมื่อลดความเข้มข้นเหลือ 0.1 µg/ml (Amusa, 1994)

Colletotrichum gloeosporioides สร้างสารประกอบ phytotoxin ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรค anthracnose กับยางพารา (*Hevea brasiliensis*) สารนี้สามารถสกัดและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี chromatography สารที่ได้ส่วนมากจะเป็นสารประเภท carbohydrate คือพวก galactose, mannose และ rhamnose ซึ่งเป็นน้ำตาลที่พบอยู่ในธรรมชาติ และพบกรดอะมิโนประกอบอยู่ด้วยบางส่วน คือ serine และ threonine มวลโมเลกุลของสารนี้มีค่าเท่ากับ 50333 Da. (Barjau และคณะ, 1995)

เชื้อสาเหตุโรคพืชมีสารที่เป็นส่วนประกอบตามธรรมชาติอยู่เป็นจำนวนมาก มีศักยภาพเหมือนกับเป็นยาปราบวัชพืช แต่สารประกอบเหล่านี้มีโครงสร้างที่แตกต่างจากยาปราบวัชพืชที่มีขายอยู่ทั่วไปคือมีตำแหน่งเป้าหมายในการเข้าทำลายพืชที่แตกต่างไป การศึกษาเบื้องต้นส่วนมากจะ

มีการแยก phytotoxin ชนิด non-host specific ซึ่งมีหลายชนิด จากเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราสาเหตุโรคพืช และพบว่ามีความจำเพาะเจาะจงที่ต่ำ เมื่อนำมาทดสอบกับพืชหลายชนิด รวมทั้งพวก วัชพืชด้วย การศึกษาเกี่ยวกับการผลิต phytotoxin โดยเชื้อสาเหตุของโรคบนวัชพืชนั้น ซึ่งเป็นโอกาสที่ดีในการพัฒนาสารปราบวัชพืชเป็นการค้า เพราะว่าเป็นสารที่ได้มาจากเชื้อที่ทำลายวัชพืช phytotoxin นั้นจึงเป็นพิษต่อวัชพืช และมีความปลอดภัยต่อคนและสัตว์ต่าง ๆ มากกว่าสารกำจัดวัชพืชที่สังเคราะห์ขึ้นมา (Abbas และ Duke, 1997)

Duke และคณะ (1996) ทำการศึกษา phytotoxin จากเชื้อรา คือ AAL-toxin, cornexistin, cyperin และ tentoxin

AAL-toxin เป็นพิษต่อวัชพืชหลายชนิด โดยเป็นพิษได้ถึงแม้จะมีความเข้มข้นต่ำมาก ๆ AAL-toxin และอนุพันธ์หลายชนิด ทำลายพืชโดยยับยั้ง ceramide synthase-like enzyme ซึ่งช่วยในการสะสม free sphingoid bases ทำให้เกิดการทำลาย membrane

Cornexistin ยับยั้ง aspartate amino transferase isoenzyme ผลของ toxin นี้ สามารถย้อนกลับโดยการให้ aspartate และ glutamate หรือใช้สารที่เกิดขึ้นระหว่างขบวนการ tricarboxylic acid cycle การกระทำของ toxin นี้เหมือนกับการกระทำของ (aminooxy) acetate

Cyperin เป็น diphenylether phytotoxin ซึ่งยับยั้งเอนไซม์ protoperphyrinogen oxidase โดยจะไม่ทำลายพืชโดยตรง แต่พบว่ามีผลต่อเมตาบอลิซึมของ porphyrin

Tentoxin มีความเป็นพิษโดยมีกลไกอยู่ 2 กลไก คือ ไปรบกวนการพัฒนาของ chloroplast โดยยับยั้งขั้นตอนของ nuclear-codid plastid protein และยับยั้งขบวนการสังเคราะห์แสง โดยยับยั้งการถ่ายทอดพลังงานของ ATPase

การสกัดสารจากพืช สามารถเลือกทำได้หลายวิธี ตามความเหมาะสมกับพืช ได้แก่ (อารมณ์, 2536)

การหมัก หรือการทำให้วัสดุอ่อนนิ่มด้วยการแช่น้ำ คือการนำตัวอย่างพืชมาบดละเอียด แช่น้ำตั้งทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง แล้วนำมากรองเอากากออก

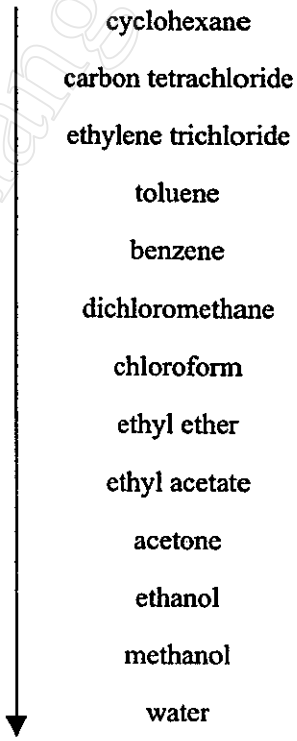
การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) วิธีนี้ใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ ที่มีคุณสมบัติสามารถละลาย และระเหยออกมาพร้อมกับไอน้ำ เช่นพวกน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น การสกัดทำได้โดยการต้มน้ำให้เดือด แล้วนำไอน้ำจากน้ำเดือดที่มีกำลังดันสูง ซึ่งปรับได้คงที่ตลอดเวลาผ่านลงไปในพืชที่บด สารจะละลายออกมาพร้อมกับไอน้ำ แล้วผ่านเข้าสู่ท่อทำความเย็น ไอน้ำจะจับตัวควบแน่น แล้วกลายเป็นหยดน้ำไหลลงสู่ภาชนะ

การสกัดแบบซอคเลท (Soxhlet extraction) เป็นวิธีที่ใช้ได้ดีกับตัวอย่างที่เป็นผงละเอียด โดยต้มตัวอย่างให้เดือด แล้วไอของสารละลายที่เป็นตัวทำละลายจะไปหมุนเวียนไหลผ่านผงพืช และพาตัวสารออกมาพร้อมกับตัวทำละลาย

การสกัดด้วยสารเคมีโดยวิธีแยกชั้น (Partition) การสกัดแบบนี้มักจะใช้สำหรับตัวอย่างพืชสด โดยนำมาหั่นเป็นท่อนสั้น ๆ ปั่นกับตัวทำละลายในเครื่องปั่น แล้วกรองผ่านกระดาษกรองสารละลายที่ได้นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอีกชนิด ซึ่งแยกชั้นกับตัวทำละลายแรก เพื่อทำให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น

ประเสริฐ (2528) กล่าวว่าการสกัดมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่าง ๆ กันโดยอาจสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่ำไปจนถึงที่มีขั้วสูง ในการสกัดจะให้ผลดีหรือไม่นั้น ขึ้นอยู่กับการคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมซึ่งตัวทำละลายที่เหมาะสมควรมีคุณสมบัติคือ สามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้ ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป ไม่เป็นพิษ ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด ราคาถูก ตัวทำละลายที่ใช้กันมากได้แก่ chloroform เป็นตัวทำละลายที่ดี สามารถละลายสารได้มากชนิด hexane เหมาะสำหรับสกัดสารที่ไม่มีขั้ว มักใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับกำจัดไขมันจากสมุนไพร มีราคาถูก สารพวก alcohol ที่นิยมใช้กันมากได้แก่ methanol และ ethanol เนื่องจากมีความสามารถในการละลายสารได้มากชนิด และยังใช้ทำลายเอนไซม์ในพืชด้วย

เรียงลำดับตัวทำละลายตามลำดับความมีขั้วจากน้อยไปมากได้ดังนี้



หลักในการแยกองค์ประกอบของสาร สามารถทำได้หลายวิธี เช่น อาศัยความเป็นกรดเบส ในการแยก อาศัยจุดเดือดที่แตกต่างกัน หรืออาศัยความสามารถที่แตกต่างในการเคลื่อนที่บนตัวพา ในการแยก Chromatography เป็นวิธีที่อาศัยหลักการกระจายตัวของสารระหว่าง 2 วัฏภาค ซึ่งไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกันคือ วัฏภาคคงที่และวัฏภาคเคลื่อนที่ สารจะเคลื่อนไปบนวัฏภาคคงที่โดยอาศัยการพาของวัฏภาคเคลื่อนที่ หากสารที่ถูกดูดซับกับวัฏภาคคงที่ได้ดี สารก็จะเคลื่อนที่ได้ช้า แต่หากสารที่ถูกดูดซับกับวัฏภาคคงที่ได้ไม่ดี สารก็จะเคลื่อนที่ได้เร็ว จึงสามารถแยกสารออกจากกันได้ (อนุศักดิ์, 2538)

ในการตรวจเอกลักษณ์สารโดยเทคนิค Spectroscopy เป็นวิธีการซึ่งอาศัยรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ถูกสารดูดกลืน (absorb) หรือเปล่ง (emit) ออกมา สารแต่ละชนิดจะมีลักษณะที่แตกต่างกัน จึงสามารถแยกสารออกจากกันได้ การตรวจสอบเอกลักษณ์สารอาจทำได้โดยการเปรียบเทียบกับสารตัวอย่างที่รู้โครงสร้างแล้ว (authentic sample) หรือเปรียบเทียบจาก spectrum ที่มีรายงานไว้ (อนุศักดิ์, 2538)

การป้องกันกำจัดโรคใบจุดดำ วิชชา (2540) ได้รายงานว่าให้ใช้สารเคมี benomyl, mancozeb, captan, carbendazim และ metalaxyl นิพนธ์ (2533) และ Horst (1987) พบว่า Dithane M-45, Benlate, Hinosan, carbendazim, captan, mancozeb และ benalaxyl มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุของโรค anthracnose ของไม้ผลหลายชนิดได้