บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

คะน้าเป็นผักที่อยู่ในตระกูล Cruciferae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica alboglabra* นิยมปลูกและบริโภคกันมากทั่วทุกภาคของประเทศไทย และสามารถบริโภคได้ตลอดทั้งปี ช่วงเวลาที่ปลูกได้ผลดีที่สุดอยู่ในช่วงเดือนตุลาคมถึงเมษายน มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชียและมีปลูกกันมากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศจีน ฮ่องกง ไต้หวัน มาเลเซียและประเทศไทย

พันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทยเป็นคะน้าดอกขาวที่ได้ปรับปรุงพันธุ์จากการนำเข้าของเมล็ดพันธุ์ต่างประเทศ ที่นิยมปลูกในประเทศไทยมีอยู่ 3 พันธุ์ด้วยกัน คือ

1. พันธุ์ใบกลม มีลักษณะใบกว้างใหญ่ ปล้องสั้น ปลายใบมน และผิวใบเป็นคลื่นเล็กน้อย ได้แก่ พันธุ์ฝางเบอร์ 1 เป็นต้น
2. พันธุ์ใบแหลม เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะใบแคบกว่าพันธุ์ใบกลม ปลายใบแหลม ข้อห่าง ผิวใบเรียบ ได้แก่ พันธุ์ P.L.20 เป็นต้น
3. พันธุ์ยอดหรือก้าน มีลักษณะใบเหมือนกับคะน้าใบแหลม แต่จำนวนใบต่อต้นมีน้อยกว่า ปล้องยาวกว่า ได้แก่ พันธุ์ แม่โจ้ เป็นต้น (ทศพร, 2531)

การขยายพื้นที่ปลูกผักเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มีการระบาดของโรคและแมลงเพิ่มขึ้น และหากปล่อยให้โรคระบาดต่อไปโดยไม่มีการป้องกันกำจัดอย่างทันท่วงที และถูกต้องตามหลักวิชาการ จะทำให้เกิดความเสียหายหรือไม่ได้ผลผลิตตามต้องการ (ปราโมทย์, 2540) โรคที่พบและมีความสำคัญที่ทำให้ผลผลิตของคะน้าลดลง เช่น โรคโคนเน่าคอดินของคะน้า (Damping-off of Chinese kale สาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp. หรือ *Phytophthora* sp. หรือ *Fusarium* sp. หรือ *Rhizoctonia* sp. (จุมพลและอรพรรณ, 2540) โรคขอบใบแห้งหรือโรคเน่าดำ (Black Rot) เชื้อสาเหตุของโรคคือ *Xanthomonas compestris* (สมศิริ, 2532) โรคราน้ำค้าง (downy mildew) เชื้อสาเหตุของโรคคือเชื้อรา *Peronospora parasitica* (Sherf, 2000) โรคใบจุดเชื้อสาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola*

โรคใบจุด เป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งที่ทำให้เกิดความเสียหายมากกับคะน้า โดยเชื้อสามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยว ถ้าเชื้อเข้าทำลายในระยะต้นกล้า จะทำให้ต้นกล้าเน่าตาย หรือต้นกล้าแคระแกรน และเมื่อย้ายลงในแปลงปลูก ต้นพืชจะไม่โต แต่ถ้าเชื้อเข้าทำลายในระยะต้นโต จะเกิดอาการเป็นจุดเล็กๆ ที่ใบในระยะเริ่มต้น และถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสมกับการเกิดโรคคือ อากาศเย็นและความชื้นสูง จะทำให้แผลขยายออกเป็นวงคลุมสีน้ำตาลหรือดำซ้อนกันหลายชั้น บริเวณแผลจะปรากฏกลุ่มโคโลนีสีเข้มเรียงซ้อนกันเป็นวงหลายชั้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(concentric circle) (สกุลศักดิ์, 2540) และเมื่อการระบาดมากขึ้นเนื้อเยื่อกลางแผลจะบางคล้ายกระดาษ ทำให้มีขนาดไม่สม่ำเสมอ (Dixon, 1981) แผลเหล่านี้จะขยายและลามติดกัน ทำให้ใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และแห้งกรอบ (ภาพที่ 1) และถ้าเชื้อเข้าทำลายระยะดอก จะทำให้ดอกเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และถ้าสภาพอากาศเหมาะสมก็จะทำให้เกิดอาการบนช่อดอกและฝักด้วย ส่วนฝักที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะแห้งและแตกก่อนกำหนด นอกจากนี้ยังทำให้เชื้อสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ ซึ่งสามารถทำให้เกิดความเสียหายได้ถึง 100% แก่ผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ในเขตภาคเหนือ และเป็นสาเหตุของโรคในระยะต้นกล้า รวมทั้งการแพร่ระบาดในแปลงปลูก อย่างไรก็ตามลักษณะอาการและความรุนแรงของโรค จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของผัก และความต้านทานโรคของสายพันธุ์ (จุมพลและอรพรรณ, 2540)

ภาพที่ 1 โรคใบจุดของคะน้าจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola*

การแพร่ระบาด เชื้อราสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 6-30°C จึงสามารถพบโรคได้ในทุกพื้นที่ที่มีการปลูกผักกาดในประเทศไทย แต่การระบาดจะรุนแรงเมื่อมีสภาพอากาศเย็นและมีความชื้นสูง โดยเฉพาะเมื่อมีหยดน้ำเกาะบริเวณผิวใบ ทำให้ความสามารถในการเข้าทำลายเพิ่มมากขึ้น จึงพบว่าโรคนี้ได้ทำความเสียหายรุนแรงในหลายๆ พื้นที่ปลูก ทั้งภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รวมทั้งแปลงเกษตรกรที่ทำการผลิตเมล็ดพันธุ์ โดยเฉพาะการผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลีจะอ่อนแอมากต่อโรคนี้ เมื่อเกิดการระบาดของโรคจะทำให้ผักกาดเขียวปลีแห้งตายและทำให้เกิดอาการโรคเน่าเละตามมา ซึ่งสามารถทำให้เกิดความเสียหายได้ถึง 100% แก่ผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ในเขตภาคเหนือ (จุมพลและอรพรรณ, 2540)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในระหว่างปี ค.ศ. 1933 – 1964 มีรายงานว่าเชื้อรา *A. brassicicola* เป็นเชื้อสาเหตุที่สำคัญที่ทำความเสียหายต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ในประเทศอังกฤษ (Moore, 1944 อ้างโดยสมพร, 2541) เพราะเชื้อราชนิดนี้สามารถติดไปกับเมล็ดของพืชตระกูลผักกาดได้ถึง 40% โดยเมล็ดของกะหล่ำปลีมีเชื้อปนเปื้อนไปได้ 50% ในประเทศไทยมีรายงานจากฝ่ายวิชาการกักกันพืชว่าเมล็ดกะหล่ำปลีที่นำเข้ามาจากประเทศญี่ปุ่นมีเชื้อรา *A. brassicicola* ปนเปื้อนอยู่สูงถึง 90% ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การงอกของเมล็ดลดลง ต้นอ่อนไม่เจริญเติบโตตามปกติ (จุมพลและอรพรรณ, 2531)

การป้องกันกำจัดในปัจจุบัน เกษตรกรจะใช้สารเคมีในปริมาณมาก ในการป้องกันกำจัด ซึ่งทำให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้สารเคมี ผู้บริโภค และต่อสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังทำลายสมดุลย์ธรรมชาติของระบบนิเวศน์วิทยา เพราะการใช้สารเคมีเป็นระยะเวลานานทำให้เกิดการสะสมของสารพิษในดิน ทำให้เกิดการเชื้อดื้อยาของเชื้อ และทำให้ทวีความรุนแรงของโรคเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นในปัจจุบันจึงคิดค้นและหาวิธีการในการควบคุมโรคโดยชีววิธี เพื่อลดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคโดยการคัดแยกเชื้อซึ่งอาศัยอยู่ในธรรมชาติที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งเป็นวิธีที่ปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม และยังเป็นแนวทางในการควบคุมโรคได้ในระยะยาว (ประสาท พร, 2534)

ลักษณะโดยทั่วไปของรา Alternaria (Agrios, 1997)

เชื้อราสกุล Alternaria Nees เป็นราจัดอยู่ใน

Kingdom Mycetae

Division Eumycota

Sub – Division Deuteromycotina

Class Hyphomycetes

Order Hyphales (Moniliales)

Family Dematiaceae

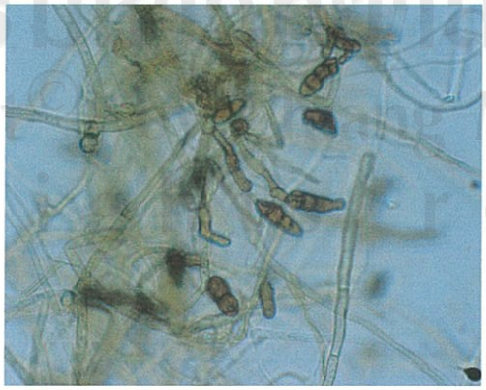
Genus Alternaria

ราสกุล Alternaria มีลักษณะทั่วไปดังนี้ คือ conidia (asexual spore) ปกติมีสีเทา สีน้ำตาลเข้มหรือดำ เจริญในแนวราบอยู่บนผิวของใบพืช (effuse) กลุ่มของเส้นใยฝังอยู่ใต้เนื้อเยื่อใบ หรือโผล่พ้นขึ้นมาบางส่วน เส้นใยมีสีซีดจนถึงสีน้ำตาลอมเขียว (olivaceous brown) หรือสีน้ำตาล ไม่สร้างโครงสร้างที่ให้กำเนิดสิ่งสืบพันธุ์ขยายพันธุ์ (stroma) conidia เกิดเดี่ยวๆ หรือต่อกันเป็นลูกโซ่ (catenulate) รูปร่างเป็นรูปไข่ (ovoid) กระบองหัวกลับ (obclavate) รูปทรงกระบอก (cylindrical) หรือมีส่วนปลายยื่นเป็นจงอยที่เรียกว่า rostrate ซึ่งมีลักษณะสีซีดจนถึงสีน้ำตาลอมเขียว รูปร่างอ้วนสั้น หรือยาวมากคล้ายเส้นด้าย (filiform) ผนังเรียบหรือขรุขระ (verruculose) conidia มีผนังกั้นตาม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

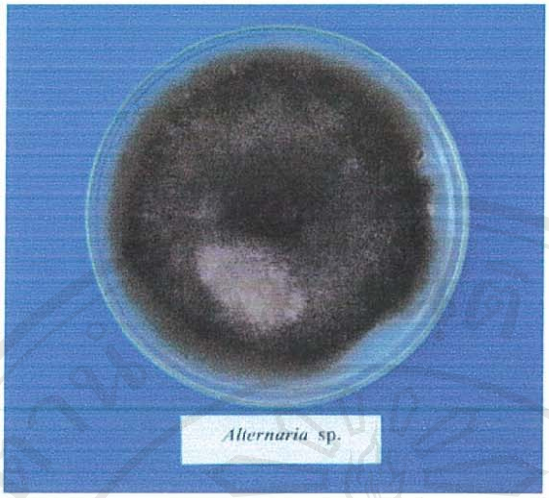
ขวางเป็นระยะๆ ไปจนถึง beak นอกจากนี้ยังมีผนังกั้นตามยาวและผนังตามยาวกั้นเฉลียง (oblique septa) ก้านชูสปอร์ (conidiophore) มีลักษณะแตกต่างกับเส้นใยโดยทั่วไป อาจเป็นแบบอยู่เป็นกลุ่ม (macronematous) แบบธรรมดา (mononematous) หรือลักษณะไม่แน่นอน (irregular) บางครั้งแตกกิ่งก้านสาขา สีน้ำตาลอ่อนหรือสีน้ำตาลเข้ม เกิดเดี่ยวๆ หรือเป็นกลุ่ม fasicles conidiogenous cell (เซลล์ที่สร้าง conidia) มีลักษณะไม่แตกต่างไปจากเซลล์อื่น conidia เกิดได้โดยที่ผนังกั้นชั้นในของ conidiogenous cell ดันทะลุผนังชั้นนอกออกมาคล้ายลูกโป่ง (enteroblastic) เซลล์นี้จึงเรียกว่า enteroblastic conidiogenous cell หรือ conidia ที่เกิดขึ้นโดยวิธีดังกล่าวเรียกว่า tretic conidium สำหรับ *Alternaria* ส่วนมากการผลิต conidia เป็นแบบ polytretic คือ conidia ผลิตออกมาจาก conidiogenous cells หลายแห่ง เมื่อ conidia หลุดออกมาจากเซลล์แม่แล้วคงเหลือรอย (scar) ทิ้งไว้เป็นรูเล็กๆ ที่ผนัง บางครั้งมีเซลล์ใหม่เจริญออกมาจากใต้ scar พร้อมที่จะสร้าง conidia ต่อไป ทำให้รูปร่างของ conidiogenous cell เหล่านั้น ต่อเรียงคดงอไปมาตาม conidia ที่เกิดใหม่อย่างต่อเนื่องจากบริเวณที่เหนือจุดกำเนิดเดิม (sympodial) (ภาพที่ 2)

ลักษณะของเชื้อ *A. brassicicola* โคโลนีมีสีเขียวมะกอกอมเทา (greyish olive) ถึงสีน้ำตาลดำ มีลักษณะคล้ายกำมะหยี่ เมื่อเชื้อราอายุได้ 5 วัน โคโลนีจะเป็นสีเขียวมะกอกอ่อน เมื่ออายุได้ 7 วัน โคโลนีจะกลายเป็นสีดำอมเขียวมะกอก (พัฒนาและคณะ, 2526) (ภาพที่ 3) เส้นใยแตกแขนง มีผนังกั้น (septate mycelium) ตอนแรกมีสีใส (hyaline) ต่อมามีสีน้ำตาลหรือเขียวมะกอกอมเทา สร้างก้านชูสปอร์สีน้ำตาลอ่อน มักเกิดเดี่ยว ๆ หรือเกิดเป็นกลุ่ม 2-12 ก้านหรือมากกว่า มีลักษณะตรงหรือโค้งงอเล็กน้อย รูปร่างเป็นทรงกระบอกที่ปลายมีลักษณะพองออกเล็กน้อย มีผนังกั้นตามขวาง ขนาดกว้าง 5-18 ไมครอน ยาว 5-20 ไมครอน หรืออาจมีความยาวถึง 70 ไมครอน สร้าง conidia ต่อกันเป็นลูกโซ่ยาวมาก บางครั้งลูกโซ่แตกแขนงด้วย conidia มีรูปร่างทรงกระบอก หรือกระบองหัวกลับ มีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้ม ขนาดของ conidia กว้าง 8-30 ไมครอน ยาว 18-130 ไมครอน มีผนังกั้นตามขวาง (tranverse septa) 1-11 อันแต่ส่วนใหญ่จะพบน้อยกว่า 6 อันมักไม่ค่อยพบผนังตามยาว (longitudinal septa) มีจงอย (beak) ยาวประมาณ 1 ใน 6 เท่าของความยาว conidia (Holliday, 1980 ; Dixon, 1981)



ภาพที่ 2 สปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 3 โคโลนีของเชื้อรา *A. brassicicola* บนอาหาร PDA

A. brassicicola เป็นสาเหตุของโรคพืชในพืชตระกูลผักกาดซึ่งสามารถอาศัยอยู่บนซากพืช เมล็ด และในวัชพืช สปอร์ถูกสร้างขึ้นบนซากพืชที่เก่าและบนใบจุด อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างสปอร์อยู่ระหว่าง 24-28°C การสร้างสปอร์จะต่ำถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 16°C หรือมากกว่า 28°C แต่อย่างไรก็ตามถ้าใบพืชเปียกเป็นเวลา 20 ชั่วโมงหรือมากกว่าเชื้อสามารถสร้างสปอร์ได้มากมาย (Agrios, 1969) โดยเฉลี่ยแล้วเวลาที่เชื้อราสร้างสปอร์คือ 13 ชั่วโมง ยกเว้นเมื่อมีฝนตกหรือความชื้นสูงจะสร้างสปอร์ที่ 9-18 ชั่วโมง (Humperson-Jones and Phelps, 1981)

การผลิตสปอร์จะเกิดขึ้นมากในช่วงเวลากลางคืนหรือช่วงที่มืดครึ้มเป็นเวลานาน สปอร์ที่สร้างจะสังเกตพบมากในใบสีเหลือง สปอร์จะถูกปลดปล่อยในช่วงเวลากลางวันที่มีความชื้นสัมพัทธ์ลดลง การเคลื่อนย้ายเครื่องมือต่างๆ หรือการเคลื่อนย้ายคนงานในแปลงปลูกและลมช่วยให้เกิดการปลดปล่อยและการแพร่กระจายของสปอร์ (Buttler, 1961)

สปอร์ของเชื้อจะงอก ในช่วงระหว่าง 1-40°C แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมกับ คือ 33-35° C จากรายงาน Degenhardt *et al.* (1982) พบว่าสปอร์ของ *A. brassicicola* เริ่มงอก 98% ที่ 10 ชั่วโมง อุณหภูมิ 15°C และที่ 3 ชั่วโมง อุณหภูมิ 31°C

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเข้าทำลายพืชของเชื้อในกะหล่ำดอกเกิดที่อุณหภูมิ 10–35°C และอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 28-31°C การเข้าทำลายที่หัวกะหล่ำเกิดที่อุณหภูมิ 25-30°C

ช่วงที่ใบพืชเปียกเป็นระยะเวลานานเนื่องจากน้ำค้าง หรือฝนตกหนักต่อเนื่องการ infection ของเชื้อจะรุนแรง และขนาดของแผลจะขยายใหญ่ขึ้น

ในพืชตระกูลกะหล่ำอาการของโรคจะเกิดขึ้นภายใน 1-2 วันหลังจากการ infection โดยเฉพาะที่หัวกะหล่ำ ช่วงเวลาในการ incubation นั้นใช้เวลาประมาณ 7-10 วัน ตั้งแต่ penetration จนถึงการสร้างสปอร์ใหม่บนใบจุด (Tom, 1994)

เชื้อรา *A. brassicicola* มีชีวิตอยู่ข้ามฤดูในลักษณะเส้นใยเจริญอยู่ในเศษซากพืชที่เป็นโรคหรืออาศัยวัชพืชที่ตระกูลใกล้เคียง และสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์โดย conidia ติดไปกับส่วนผิวภายนอกเมล็ดหรือเส้นใยเจริญอยู่ภายในเนื้อเยื่อเมล็ด สปอร์ของเชื้อที่ติดไปกับเมล็ดสามารถอยู่รอดได้นานถึง 2 ปี เมื่อเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิ 10°C ความชื้น 50% ส่วนเส้นใยที่เจริญอยู่ภายในเนื้อเยื่อเมล็ดสามารถอยู่ได้นานถึง 12 ปี (Maude and Humpherson-Jones, 1980) นอกจากนี้เชื้อราสามารถอยู่รอดในรูปของ microsclerotia และ chlamydospore ซึ่งเกิดขึ้นหลังจากใบพืชถูกเชื้อเข้าทำลาย (Tripathi and Kaushik, 1984) microsclerotia และ chlamydospores จะพัฒนาได้ดีที่อุณหภูมิต่ำคือ 3°C และ chlamydospore สามารถพัฒนาจากเซลล์ของ conidia ที่งอกอยู่บนดินทั่วไปที่อุณหภูมิห้อง (Tsuneda and Skoropad, 1977)

การควบคุมและป้องกันกำจัด

1. โดยการซื้อเมล็ดพันธุ์ที่แข็งแรงและมีความงอกสูง หรือการแช่ในน้ำร้อน ซึ่งสามารถลดปริมาณ inoculum ของโรคนี้ได้
2. การคลุกเมล็ด ด้วยสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่มีฤทธิ์ครอบคลุม หลังจากแช่เมล็ดในน้ำร้อนสามารถลดปริมาณ inoculum และสามารถลดอาการใบไหม้ในต้นอ่อน ซึ่งเกิดจาก Alternaria species หรือเชื้อราชนิดอื่น (Neergaard, 1977)
3. ปลูกพืชหมุนเวียน ไม่ปลูกพืชตระกูลผักกาดในดินที่มีการปลูกมากันอย่างต่อเนื่องหรือปลูกติดต่อกันมาหลายปี
4. ย้ายที่ปลูกไปยังแหล่งที่ปลอดโรค ทำให้พืชที่ทำการย้ายที่เพาะปลูกปลอดจากโรค
5. พ่นยากำจัดเชื้อรา เริ่มทำการฉีดพ่นก่อนที่อาการใบจุด จะเกิดขึ้น ถ้าใบจุด *Alternaria* เกิดขึ้นในปริมาณที่น้อย ต้องควบคุมโรคนี้โดยฉีดพ่นครั้งแรกและอีกหลายครั้งจนกระทั่งพืชนั้นใกล้ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว
6. ความถี่ในการฉีดพ่นยากำจัดเชื้อรา ในบริเวณที่มีฝนตกหนักและบ่อยหรือพื้นที่เพาะปลูกที่มีการให้น้ำแบบไหลมาจากด้านบน มีความจำเป็นจำเป็นต้องใช้ fungicide บ่อยครั้งขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7. กำจัดเศษซากพืชเนื่องจากสปอร์สามารถแพร่กระจายไปกับลมได้ดี สปอร์สามารถอาศัยในเศษซากพืชที่เก่าที่ถูกทิ้งบนดิน ดังนั้นควรไถกลบเศษซากพืชต่างๆ ให้เรียบร้อย
8. สารคลุกเมล็ด การคลุกเมล็ดหรือส่วนที่ใช้ในการขยายพันธุ์ การใช้ Bordeaux mixture แล้วยังพบว่า copper sulfate และ mercuric chloride ก็มีคุณสมบัติดีในการคลุกเมล็ดเช่นกัน แต่สารดังกล่าวก็เป็นพิษต่อพืชโดยตรง ข้อดีของสารคลุกเมล็ด สารคลุกเมล็ดมีข้อดีในการกำจัดเชื้อโรคที่ติดมากับเมล็ด และป้องกันเชื้อโรคในดินมิให้ทำลายเมล็ด ในขณะที่กำลังงอกหรืองอกใหม่ๆ (Chuaiprasit and Neergaard, 1974)

ในปัจจุบันในการป้องกันกำจัดโดยการใช้สารเคมีคลุกเมล็ด ซึ่งส่วนใหญ่มีส่วนประกอบของสารปรอท ซึ่งสามารถทำลายเชื้อราที่อยู่บนผิวเมล็ดหรือใน seed coat (De Tempa, 1961) สำหรับสารเคมีที่นิยมใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Alternaria brassicicola* และ *Alternaria brassicae* คือ chlorothalonil ชื่อทางการค้า คือ Bravo 75% WP, Daconil 75% WP และ mancozeb ชื่อทางการค้า คือ Mancozeb 80% WP, Manzate 200 80% WP, Dithane M-45 80% WP วิธีการใช้ คือใช้ 48 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นให้ทั่วถึง

ผลกระทบจากการใช้สารเคมีมีผลโดยตรงต่อสุขภาพของเกษตรกร และผลทางอ้อมคืออาจทำให้เชื้อโรคและแมลงต้านทานต่อสารเคมี และอาจทำให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิตที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค รวมไปถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในปัจจุบันความสนใจในการวิจัยหาวิธีการอื่นๆ มาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีมากขึ้น วิธีการหนึ่งที่น่าสนใจในปัจจุบันคือการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ

การควบคุมโรคโดยชีววิธี จากคำจำกัดความหมายถึง การลดปริมาณของเชื้อก่อโรค (inoculum) หรือลดกิจกรรมการเกิดโรคของเชื้อหรือปรสิตที่อยู่ในระยะที่มีปฏิกิริยา (active) หรือระยะพักตัว (dormant) ด้วยการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งหรือมากกว่าเข้ามาทำการป้องกันกำจัด เพื่อให้บรรลุผลสำเร็จโดยวิธีธรรมชาติหรือการจัดการสิ่งแวดล้อม สิ่งอาศัย จุลินทรีย์ต่อต้าน หรือการนำจุลินทรีย์ต่อต้าน (antagonist) ชนิดหนึ่งหรือมากกว่ามาใช้ในการควบคุม (เกษม, 2532)

ปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ได้แก่

1. สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ (physical environment) ต้องมีสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อสิ่งอาศัยและเป็นเหตุให้สิ่งอาศัยนั้นสามารถรักษาสภาพความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคได้
2. จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) ซึ่งกิจกรรมของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโรคโดยชีววิธี คือ
   - ขบวนการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) หมายถึง จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งสร้างสารบางอย่างที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งและอาจมีผลทำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ให้ตายได้ สารดังกล่าวอาจจะซึมผ่านเข้าสู่เซลล์และเป็นพิษต่อจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง สารดังกล่าว คือ สารปฏิชีวนะ (antibiotic)

- การแข่งขันซึ่งกันและกัน (competition) การที่สิ่งมีชีวิตสองชนิดหรือมากกว่าเจริญอยู่ด้วยกันและมีความต้องการปัจจัยต่างๆ ในการดำรงชีวิต แต่เมื่อปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการดำเนินชีวิตไม่เพียงพอต่อสิ่งมีชีวิตทั้งสองจึงมีผลทำให้เกิดการแข่งขัน หรือแก่งแย่งปัจจัยในการดำรง ชีวิตขึ้น
- การเป็นปรสิตของเชื้อราปฏิปักษ์ (parasitism) จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถสร้างเอ็นไซม์ไปย่อยผนังเซลล์ของเชื้อโรคได้ และใช้ส่วนประกอบภายในเซลล์มาเป็นอาหารโดยตรง

3. พืชอาศัย (host) ตามธรรมชาติจะปล่อยสารต่างๆ ออกมา ซึ่งสารเหล่านั้นมีคุณสมบัติเป็นสิ่งกระตุ้น และเป็นแหล่งอาหารของเชื้อต่างๆ กรณีที่พืชอาศัยมีความอ่อนแอต่อเชื้อโรค พืชจะแสดงอาการของโรคอย่างรุนแรง เว้นเสียแต่ว่าในสภาพแวดล้อมนั้นมีจุลินทรีย์ปฏิปักษ์อยู่ด้วย

ผิวใบพืชมีความแตกต่างจากบริเวณอื่นในด้านของโครงสร้าง และนิเวศน์วิทยาอย่างมีนัยสำคัญ โดยทั่วบริเวณผิวใบพืชจะปกคลุมด้วย wax และ cutin ซึ่งเป็นตัวกำหนดปริมาณของสารต่างๆ ที่พืชสร้างจากผิวใบ (exudate) สารต่างๆ ดังกล่าวจะมีประโยชน์ต่อจุลินทรีย์ ทั้งพวกที่ทำให้เกิดโรคและไม่ทำให้เกิดโรค จุลินทรีย์ที่เจริญอยู่บนผิวใบพืช จะเกิดการแก่งแย่งแข่งขันเพื่อครอบครองพื้นที่โดยการ สร้างสารชนิดต่างๆ เพื่อไล่หรือฆ่าเชื้อชนิดอื่น ซึ่งลักษณะดังกล่าวก็คือกิจกรรมอย่างหนึ่งของเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ดังกล่าวมาใช้ในการควบคุมโรคได้ (Andrew, 1992)

ในการควบคุมโรคโดยชีววิธีโดยการแยกเชื้อจากผิวใบนั้น McLaughlin *et al.* (1992) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ *Kaoecker apiculata*, strain 138 ที่แยกได้จากผิวขององุ่น ในการควบคุมการเน่าที่เกิดจากเชื้อ *B. cinerea* และ *R. stolonifer* ในองุ่น พีช (peach) และแอปเปิล เปรียบเทียบกับยีสต์ *C. guilliermondii*, strain 87 โดยทำการจุ่มองุ่นลงในสารละลายยีสต์ความเข้มข้น 5 $X10^8$ cfu/ml จากนั้นทำการปลูกเชื้อ *R. stolonifer* ด้วยความเข้มข้น 10^3 สปอร์/มิลลิลิตร พบว่า *K. apiculata*, strain 138 สามารถลดการเน่าเสียได้อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ *C. guilliermondil* ไม่สามารถลดการเน่าเสียได้ แต่พบว่ายีสต์ทั้งสองชนิดมีความสามารถในการควบคุมการเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Aspergillus niger* ได้ ต่อมาทำการทดสอบยีสต์ *K. apiculata* ที่แยกได้จากแหล่งอื่นๆ เปรียบเทียบกับ *K. apiculata*, strain 138 และ *C. guilliermondii*, strain 87 ในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *R. stolonifer* สาเหตุของโรคเน่าในพีช และเชื้อ *B. cinerea* ในแอปเปิล พบว่า 2 ใน 3 strain ของ *K. apiculata* สามารถลดการเน่าได้ดีเท่ากับ *K. apiculata*, strain 138 และ *C. guilliermondii*,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

strain 87 ทั้งยังพบว่าทุก strain มีความสามารถในการควบคุมเชื้อ *B. cinerea* ของแอปเปิลได้เท่าๆ กัน

Sardi *et al.* (1992) ได้แยกแอคติโนไมซีสจำนวน 499 isolate เป็น *Streptomyces* 482 strain ส่วนใหญ่แยกได้จากใบพืชที่แข็งแรงและสมบูรณ์ และจากการใช้ EM ตรวจสอบภายในเนื้อเยื่อ แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่าง *Streptomyces* กับรากพืช การเจริญของเส้นใยแอคนิโนไมซีสมีผลในทางส่งเสริมต่อการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของพืช เช่น การดูดใช้ธาตุอาหาร หรือ การสร้าง secondary metabolite ที่จะไปกระตุ้นหรือระงับการเจริญเติบโตของพืช ขณะเดียวกันพบว่าสามารถที่จะป้องกันเชื้อสาเหตุของโรคในดินได้ด้วย

Bankole and Adebanjo (1996) ได้แยกเชื้อจากผิวของ cowpea ที่ไม่เป็นโรคพบเชื้อรา *Trichoderma viridae* และเมื่อนำเมล็ดของ cowpea มาทดสอบโดยจุ่มลงใน spore suspension ของ *Trichoderma viridae* ที่ความเข้มข้น 10^8 conidia/ml พบว่าสามารถลดการเข้าทำลายจากเชื้อรา *Colletotrichum trumcatum* เชื้อสาเหตุของโรค brown blotch และเมื่อปลูกเชื้อ *Colletotrichum trumcatum* บนต้น cowpea และพ่น spore suspension ของ *Trichoderma viridae* ลงไปพบว่าสามารถลดการเกิดโรคในแปลงปลูกได้

Vinas *et al.* (1997) ได้ทำการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญบนผิวใบพืชของแอปเปิ้ลและแพร์ เพื่อดูความเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Penicillium expansum* สาเหตุของโรคราสีน้ำเงิน (blue mold) และเชื้อรา *Botrytis cinerea* สาเหตุของโรคราสีเทา (gray mold) และเชื้อรา *Rhizopus nigrican* สาเหตุของโรคเน่าไรโซพัส (Rhizopus rot) สามารถแยกเชื้อได้ 92 ไอโซเลทที่สามารถลดขนาดของแผลบนผลแอปเปิลได้มากกว่า 50% ต่อมาได้คัดเลือกเอา 31 ไอโซเลทที่แยกได้จากผลแอปเปิ้ลมาทำการทดลองความเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อพบว่า ไอโซเลท CPA-1 ให้ผลดีที่สุด หลังจากทำการจำแนกชนิดพบว่าเป็นยีสต์ *Candida sake* จึงนำไปทดสอบต่อในสภาพแปลงปลูก โดยใช้เซลล์แขวนลอยของยีสต์ (yeast suspension) ที่มีความเข้มข้น 2.6 X 10^6 cfu/ml ฉีดพ่น จากนั้นปลูกเชื้อ (inoculate) สาเหตุโรค คือ *B. cinerea* ที่ความเข้มข้น 10^6 cfu/ml และเชื้อ *R. nigrican* ที่ความเข้มข้น 10^4 cfu/ml พบว่าไม่พบอาการของโรค ซึ่งสามารถควบคุม *P. expansum* ได้อย่างสมบูรณ์

Loren and Gary (1998) ได้ทำการแยกเชื้อ *Stenotrophomonas maltophilia* strain C3 จากใบหญ้า ซึ่งเชื้อนี้สามารถยับยั้งโรค brown patch ซึ่งมีเชื้อสาเหตุโรคคือ *Rhizoctonia solani* และเชื้อ *Stenotrophomonas maltophilia* ยังสามารถป้องกันการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณของเชื้อราบนแผ่นใบ และลดความรุนแรงของแผลในระยะกล้าได้

Tirtza *et al.* (1999) ได้ทำการแยกเชื้อที่ผิวขององุ่นที่ใช้ทานสด (table grape) และองุ่นที่ใช้ทำไวน์ (wine grape) ในประเทศอิสราเอล เพื่อดูความเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *B. cinerea*, *A. niger* และ *R. stolonifer* บนองุ่นทานสด พบว่ามียีสต์ 2 ไอโซเลท คือ *C. guilliermondil*, strain A42 และ *Acremonium cephalosporium*, strain B11 มีสามารถควบคุมการเน่าเสียที่เกิดจากเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

B. cinerea, A. niger และ *R. stolonifer* บนรอยแผลที่เป็นรอยแตกของผลองุ่นก็ลดลงถึง 8, 14 และ 22% ตามลำดับเมื่อใช้ strain A42 และลดลง 16, 82 และ 60% ตามลำดับเมื่อใช้ strain B11 ส่วนในองุ่นที่สมบูรณ์พวงเล็กพบว่าการเน่าลดลง 30, 22, และ 22% ตามลำดับเมื่อใช้ strain A42 และลดลง 48, 39 และ 30% ตามลำดับเมื่อใช้ strain B11 ผลการควบคุมโรคดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับสภาพของพื้นที่ การเก็บที่ 0°C และจำนวนเชื้อปฏิปักษ์บนผิวของผลองุ่น สำหรับการทดลองในสภาพแปลงมีการทดลองทั้งองุ่นทานสดและองุ่นทำไวน์ โดยทำการพ่นเซลล์แขวนลอยของยีสต์ 2-5 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7-10 วัน และได้ทำการวัดการเน่าเสียขององุ่นที่ใช้ทำไวน์ก่อนที่จะเก็บเกี่ยว และองุ่นทานสดหลังการเก็บเกี่ยว พบว่าสามารถควบคุมการเน่าเสียจากเชื้อรา *A. niger* ขององุ่นทานสดได้อย่างมีนัยสำคัญ

Motoo *et al.* (2001) ได้คัดแยกเชื้อราจำนวน 408 isolate จากผิวใบของข้าวสาลี พบเชื้อราที่ผิวใบจำนวน 10 isolate ที่สามารถยับยั้งโรคราแป้งของข้าวสาลีได้ เชื้อรากลุ่มนี้ได้ให้ชื่อว่า Kyu-W63 ซึ่งสร้างโคโลนีสีขาวโดยไม่สร้างสปอร์ เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA Kyu-W63 จะสร้างสารที่มีกลิ่นแรง เมื่อนำมาเพาะเลี้ยง ซึ่งสารที่เชื้อราสร้างขึ้นมานี้มีน้ำหนักโมเลกุล 164-166

Nunes *et al.* (2001) ได้ทดลองแยกเชื้อจากผิวใบของแอปเปิ้ล และลูกแพร์ พบเชื้อแบคทีเรีย *Pantoea agglomerans* (CPA-2) ซึ่งสามารถลดความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อ *Botrytis cinerea* ได้มากกว่า 80% และยังสามารถยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อรา *Penicillium expansum* ภายใต้การเก็บรักษาในสภาพเย็นและมีออกซิเจนต่ำได้ดี

Yuen *et al.* (2001) ได้แยกเชื้อจากผิวใบของ bluegrass พบเชื้อแบคทีเรีย *Pantoea agglomerans B1* และ *Stenotrophomonas maltophilia* มีประสิทธิภาพในการควบคุมและลดความรุนแรงของโรคราสนิมของถั่ว *(Phaseolus vulgaris)* ที่เกิดจากเชื้อ *Uromyces appendiculatus* ได้

Lavermicocca *et al.* (2001) ได้แยกเชื้อแบคทีเรียจากผิวใบของต้นมะกอกได้จำนวน 200 isolate พบว่าเชื้อ *Lactobacillus plantarum, Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides, Leuc*onostoc spp., *Enterococcus faecium* และ *Enterococcus* spp. ซึ่งเป็นเชื้อพวก lactic acid bacteria จากคุณสมบัติทางกายภาพพบว่าสามารถผลิตกรดแลคติกซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้

Rodgers and Shaw (2001) แยกเชื้อจากผิวใบของข้าวสาลีโดยเก็บตัวอย่างจากใบยอดพบเชื้อแบคทีเรียที่สร้างโคโลนีสีชมพู ได้แก่ *Sporobolomyces roseus* โคโลนีสีเหลืองได้แก่ *Pantoea agglomerans, Pseudomonas fluorescens* ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ผลิตสาร antibiotic ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Septoria tritici*

Munsanje and Elliot (2001) พบว่า แบคทีเรียที่แยกได้จากผิวใบของถั่วเหลืองคือ *Methylobacterium mesophilicum* ซึ่งมีสีชมพู นำมาทดสอบใช้กับถั่วเหลืองในสภาพโรงเรือน ทดลองพบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตของถั่วเหลืองได้ถึง 40-70%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Kalenich and Padalko (2001) ได้ทดลองแยกเชื้อจากผิวใบของแอปเปิ้ลพบทั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งปริมาณและชนิดของเชื้อเหล่านี้แตกต่างกันตามฤดูกาล เขาพบว่าเชื้อเหล่านี้มีความสามารถในการยับยั้งโรค scab ของแอปเปิ้ลในระยะ conidial stage ได้

Perello *et al.* (2003) ได้แยกเชื้อจากผิวของเมล็ดข้าวสาลีพบเชื้อ *Trichoderma* spp. Isolate Th5, Th11, Th13, Tk6, Tk1, Th2 and Th81 ซึ่งเมื่อนำมาใช้เป็นสารควบคุมโรคพบว่าสามารถลดความรุนแรงของโรค tan spot ของข้าวสาลีได้อย่างมีนัยสำคัญ

Douglas and Barry (2003) พบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* Isolate BacB สามารถควบคุมโรค Cercospora leaf spot ที่เกิดจากเชื้อ *Cercospora beticola* ของ sugar beet ได้ โดยใช้ฉีดพ่นที่ความเข้มข้น 1×10^6 CFU/ml

ยอดชาย (2544) ทำการแยกราปฏิปักษ์จากดินและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากผิวใบสตรอเบอรี่โดยวิธี Dilution Plate ได้เชื้อราปฏิปักษ์จากดิน 38 isolate และได้แบคทีเรียจากผิวสตรอเบอรี่จำนวน 18 isolate นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 8 ชนิด บนอาหาร PDA และ NA ในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยใช้ Dual Culture Technique พบว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มี แนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุจากโรคพืชได้ดีจำนวน 5 ไอโซเลท เป็นรา *Trichoderma sp.* 3 isolate คือ CMU 2000-9, CMU 2000-14 และ CMU 2000-16 เมื่อได้ทำการจำแนกชนิดพบว่าเป็นเชื้อรา *T. viride*, *T. harzianum* และ *T. hamatum* ตามลำดับ ส่วนอีก 2 isolate เป็นแบคทีเรียคือ CMUb 2000-1 และ CMUb 2000-6 ต่อมาได้นำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Ramularia tulasnei* และ *Phomopsis obscurans* ผลปรากฏว่า *T. viridae* สามารถยับยั้งการเจริญของ *R. tulasnei* ได้ 39.15 % และ *P. obscurans* ได้ 54.84 % สูงกว่า *Trichoderma sp.* ชนิดอื่น ๆ การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดตานกและโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ในเรือนทดลอง โดยพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุ 1 วันและพ่นซ้ำอีกทุก 5 วัน หลังฉีดพ่นครั้งแรกจำนวน 4 ครั้ง เทียบกับการใช้ชีวภัณฑ์ Larminar (*Bacillus subtilis*) และ Antracol (propineb) พบว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถลดระดับการเกิดโรคได้ในทุกกรรมวิธีที่ทดสอบเมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว

สำหรับการควบคุมโรคใบจุดของคะน้าโดยชีววิธี พบว่าได้มีการนำเชื้อ Actinomycete fungus, *Streptomyces arabicus* ควบคุมเชื้อ *A. brassicae* และ *A. brassicicola* ที่เป็นสาเหตุของโรคใบจุดได้ทดสอบทั้งในห้องปฏิบัติการและในไร่นา ประเทศฟินแลนด์ โดยการฉีดพ่นที่ใบด้วย *Streptomyces griseoviridis* (15 mg/g seed) พบว่าสามารถควบคุม *A. brassicicola* ได้ แต่ไม่สามารถควบคุม *A. raphani* ซึ่งเข้า ทำลาย ส่วนชั้นในของเมล็ดได้ (Sharma *et al.*, 1984-1985)ในประเทศไทย Intanoo *et al.* (2000) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากผิวใบของผักคะน้า พบเชื้อแบคทีเรียจำนวน 2 isolate คือ WS16 และ WS18 ซึ่งมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Alternaria brassicicola โดยทำให้เกิด clear zone บนอาหาร PDA และยังสามารถลดขนาดของแผลให้เล็กลงได้ถึง 67.19 และ 64.43% ตามลำดับเมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี detached leaf technique กับเชื้อ WS16 และ WS18, *Trichoderma* sp. (GV16) และ *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) โดยทำการ spray เชื้อลงบนใบในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่าสามารถลดการเกิดโรคที่ 27, 26 และ 23% ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในส่วนของ *Trichoderma* sp. และ *Trichoderma harzianum* สามารถลดบริเวณที่เกิดโรคลง 18 และ 14% ตามลำดับ เมื่อทำการจำแนกแบคทีเรียทั้ง 2 isolate คือ WS16 และ WS18 พบว่า WS16 คือ *Bacillus cereus* ในขณะที่ WS18 คือ *Bacillus megaterium* ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดสามารถลดการงอกของสปอร์และยังทำให้เส้นใยของเชื้อรา *A. brassicicola* เจริญผิดปกติ และยังลดความสามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *A. brassicicola* ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved