

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

ข้าว (*Oryza sativa*) เป็นธัญพืชที่มีสำคัญทางเศรษฐกิจของประชากรมากกว่าครึ่งโลกที่ใช้บริโภคเป็นอาหารหลัก ได้มีการเพาะปลูกและบริโภคกันมากในประเทศแถบทวีปเอเชีย เช่น อินเดีย ปากีสถาน เนปาล บังกลาเทศ ไทย พม่า มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ จีน เกาหลี และญี่ปุ่น นอกจากบริเวณดังกล่าวแล้ว พบว่ายังมีการปลูกและบริโภคกันบ้างในอเมริกา บราซิล แอฟริกา ออสเตรเลีย และประเทศในแถบยุโรป ตะวันออกกลางบางประเทศ (จาร์ต, 2534)

ข้าวหอมมะลิหรือข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นพันธุ์ข้าวหอมที่ได้จากการนำข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากนาเกษตรกรอำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวน 199 รวง มาปลูกเพื่อศึกษาพันธุ์ข้าวและได้ข้าวรวงที่ 105 ที่มีลักษณะพิเศษ คือและมีกลิ่นหอม โดยมีลักษณะของกลิ่นคล้ายกลิ่นใบเตย ซึ่งมีสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) เป็นหลัก และมีเมล็ดอ่อนนุ่มเมื่อนำมาหุงต้ม ดังนั้นจึงมีการปรับปรุงพันธุ์ให้บริสุทธิ์ตามหลักวิชาการจนได้พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรัฐบาลประกาศให้ขยายพันธุ์ส่งเสริมการปลูกได้ตั้งแต่วันที่ 25 พฤษภาคม 2502 เป็นต้นมา สำหรับพื้นที่ปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่เหมาะสม คือทุ่งกุลาร้องไห้ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 จึงเป็นที่ยอมรับอยู่ในหมู่ผู้บริโภคกันอย่างมาก เนื่องมาจากการมีลักษณะของเมล็ดข้าวสารใส เรียวยาว คุณภาพการขัดสีดี และมีคุณสมบัติพิเศษที่สำคัญคือ ข้าวสุกมีลักษณะเหนียวนุ่ม ลักษณะโดยทั่วไปของข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวที่ไวต่อช่วงแสง สูงประมาณ 140-150 เซนติเมตร ระยะเวลาเก็บเกี่ยวอยู่ในช่วงเดือนพฤศจิกายน มีระยะพักตัวประมาณ 8 สัปดาห์ ขนาดของเมล็ดข้าวกล้องยาวประมาณ 7.5 มิลลิเมตร กว้าง 2.1 มิลลิเมตร หนา 1.8 มิลลิเมตร เมล็ดมีลักษณะเรียวยาว ก้นงอนเล็กน้อย มีสีเหลืองฟางเมื่อสุกแก่เต็มที่ ข้อดีของข้าวพันธุ์นี้คือ มีกลิ่นหอม เมล็ดอ่อนนุ่มเมื่อนำมาหุงต้ม ทนทานต่อสภาพความแห้งแล้งได้ดี สามารถทนต่อดินเปรี้ยวและดินเค็มได้ มีคุณภาพการขัดสีดี เมล็ดข้าวสารใส แข็งและมีท้องไข่น้อย นวดง่าย เนื่องจากเมล็ดหลุดร่วงจากรวงได้ง่าย แต่มีข้อจำกัดคือ จะไม่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง โรคใบสีส้ม โรคใบจุดสีน้ำตาล โรคไหม้และโรคใบหงิก รวมทั้งไม่ต้านทานต่อแมลงอีกด้วย คือแมลงบั่วและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2546)

ปัญหาสำคัญของการปลูกข้าวคือปัญหาของโรคและแมลง ซึ่งโรคที่เกิดกับข้าวมักมีสาเหตุที่สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มคือ โรคข้าวที่มีเชื้อราเป็นสาเหตุที่สำคัญ เช่น ใบไหม้ (*Pyricularia oryzae*) โรคกาบใบแห้ง (*Rhizoctonia solani*) โรคถอดฝักดาบ (*Fusarium moniliforme*) โรคเมล็ดโค้ง (*Curvularia lunata*, *Cercospora oryzae*, *Trichoconis padwickii*, *Fusarium semitectum*) โรค

ข้าวที่เกิดจากแบคทีเรียที่สำคัญได้แก่ โรคขอบใบแห้ง (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) โรคใบขีดโปร่งแสง (*Xanthomonas translucens* f. sp. *oryzicola*) โรคข้าวที่เกิดจากเชื้อไวรัส ได้แก่ โรคใบสีส้ม โรคใบหงิกหรือโรคจู๋ โรคเขียวเตี้ย และโรคข้าวที่เกิดจากไส้เดือนฝอย โดยไส้เดือนฝอยที่สำคัญมีเพียงชนิดเดียวคือ *Meloidogyne graminicola* (Surajit, 1981)

### โรคยอดฝักดาบของข้าว (Bakanae disease)

โรคยอดฝักดาบของข้าว สาเหตุจากเชื้อ *Fusarium moniliforme* Sheldon (ระยะ anamorph) หรือ *Gibberella fujikuroi* (ระยะ telomorph) พบระบาดมากในภาคเหนือ ภาคอีสาน และพบระบาดประปรายในภาคกลาง (สมคิด, 2532) โรคที่เกิดในระยะต้นกล้าอาจทำให้ต้นกล้าแห้งตาย ข้าวที่เป็นโรคมักจะพอมกว่าปกติ ต้นข้าวพอมชืดและมีอาการอย่างปล้อง มีรากเกิดขึ้นที่ข้อต่อของลำต้นตรงระดับน้ำ บางกรณีข้าวจะไม่ย่างปล้องแต่รากจะเน่า ถ้าเป็นรุนแรงกล้าข้าวจะตาย ซึ่งมีความเสียหายต่อการผลิตข้าวและโดยส่วนใหญ่มีการถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดได้ ถ้าหากอาการไม่รุนแรงอาการจะแสดงหลังจากย้ายกล้าไปปักดำ ถ้าโรคเข้าทำลายระยะข้าวออกดอก เมล็ดที่ติดเชื้อรุนแรงจะแสดงอาการเป็นจุดวงสีชมพูแดงบนเมล็ด ซึ่งคือกลุ่ม conidia ของเชื้อรา เมื่อนำเมล็ดติดเชื้อมานี้ไปเพาะกล้าก็จะแสดงอาการของโรคออกมาให้เห็นได้ ซึ่งมีอาการทั้งต้นเตี้ยแคระแกรน ไปจนถึงต้นข้าวแสดงอาการสูงชะลูดผิดปกติ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของการติดเชื่อว่ามีมากน้อยเพียงใด (สมคิด, 2532) เชื้อราสาเหตุสามารถเป็นได้ทั้ง seed borne และ soil borne สามารถเข้าทำลายต้นที่แข็งแรงได้ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณของผลผลิตลดลง (Ou, 1985)

### ลักษณะอาการของโรค

โรคยอดฝักดาบมีอาการที่เด่นชัดและมีรูปแบบที่เหมือน ๆ กัน เช่น ความสูงที่ผิดปกติซึ่งอาจพบได้ทั้งในแปลงปลูกและในกระบะเพาะ ต้นกล้าที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะสูงกว่าปกติหลายนิ้ว หรือเรียกว่าอาการอย่างปล้อง นอกจากนี้ยังพบว่าลำต้นนั้นพอมและใบมีสีเขียวรวมทั้งอาจแตกกอเล็กน้อยอีกด้วย หากอาการรุนแรงจะทำให้ต้นกล้าตายก่อนการย้ายปลูก แต่ถ้าต้นกล้ามีอายุรอดอาจตายได้ในภายหลัง ในกรณีที่ติดเชื่ออย่างรุนแรงในแปลงจะพบว่ามีอาการสูงชะลูด เกิดอาการอย่างปล้องและออกดอกเร็วกว่าปกติ แต่หากเชื้อไม่รุนแรงจะทำให้ต้นข้าวฟื้นตัวขึ้นได้ภายหลังการย้ายกล้า (Lee, 1983) ในต้นที่ได้รับเชื้อจะแสดงลักษณะอาการของโรคขึ้นและตายภายใน 2 – 6 สัปดาห์ โดยลักษณะอาการที่เกิดคือเกิดการแตกรากฝอยมากขึ้นและเกิดรากบริเวณปล้องกลางของต้นข้าว ใบจะแห้งตายโดยเริ่มจากด้านล่างขึ้นสู่ด้านบน ในระยะนี้จะสังเกตเห็นที่บริเวณโคนต้นข้าวมีสีออกชมพูเล็กน้อยและมีเส้นใยสีขาวบนกอที่แตกออกมา ซึ่งจะประกอบด้วยกลุ่มของเส้นใย

และสปอร์จำนวนมาก เชื้อจะเจริญลุกลามขึ้นไปด้านบนหลังจากที่ข้าวตายแล้ว ในบางกรณีก็อาจที่แตกออกมาสามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้จนถึงระยะที่แก่จัด แต่จะทำให้ดอกเป็นหมัน (Ou, 1985) ลักษณะที่เกิดขึ้นจะพัฒนาไปเรื่อย ๆ เนื่องจากสัมพันธ์กับจำนวนของ gibberellic acid และ fusaric acid ที่เพิ่มขึ้นซึ่งเป็นผลผลิตจากเชื้อรา อีกทั้งยังก่อให้เกิดการต้านทานต่อเชื้อในระดับที่แตกต่างกันอีกด้วย (Lee, 1983) ต้นข้าวที่เจริญถึงระยะเก็บเกี่ยวจะพบว่ารวงข้าวให้เมล็ดลีบและแห้ง โดยในประเทศญี่ปุ่นพบว่ารวงข้าวมักจะถูกเชื้อเข้าทำลายเป็นส่วนใหญ่ เรียกอาการเหล่านี้ว่า รวงข้าวสีชมพู (pink panicle) การพัฒนาของโรคขึ้นอยู่กับพันธุ์ของพืชอาศัยรวมทั้งสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิและความชื้น เป็นต้น (Ou, 1985)

Yamanaka and Honkura (1978) จำแนกอาการของโรคยอดฝักดาบออกได้เป็น 5 ลักษณะอาการ ดังนี้

1. มีอาการยืดตัวของลำต้นตามยาว (elongation)
2. มีการยืดตัวของลำต้นตามยาวและปกติ
3. มีการยืดตัวตามยาวแต่การเจริญหยุดชะงัก
4. มีการชะงักการเจริญเติบโต
5. ไม่มีการเจริญเติบโต

โดยอาการแต่ละกลุ่มอาจแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อหรือปริมาณของเชื้อ (Sun and Synder, 1978) บางครั้งอาจพบว่ามียอดฝักดาบใบข้าวอีกด้วย (Sasaki, 1973)

Wang *et al.* (1990) ทำการศึกษาอาการของโรคยอดฝักดาบในช่วงปี 1977-87 และแยกเชื้อจากต้นกล้าทั้งหมด 103 ไอโซเลท พบเชื้อรา *F. moniliforme* var. *zhejiangensis* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ใหม่มากถึง 60.2 % และผลจากการปลูกเชื้อทดสอบให้ผลยืนยันว่าเชื้อราชนิดนี้สามารถทำให้เกิดลักษณะอาการของโรคหลาวได้จริงในแถบเมือง Zhejiang ของประเทศจีน นอกจากนี้ยังเข้าทำลายระยะต้นกล้าของข้าวสาลี บาร์เลย์ ข้าวโพด แดงโมและถั่วได้อีกด้วย

Manandhar (1999) ได้ทำการศึกษาข้าวจำนวน 3 สายพันธุ์ซึ่งอ่อนแอต่อเชื้อรา *Fusarium* ได้แก่พันธุ์ IR50 (ต้านทาน) IR43 (ต้านทานปานกลาง) และ IR841 (อ่อนแอต่อโรค) แล้วทำการปลูกเชื้อโดยใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Gibberella fujikuroi* ในระหว่างที่ข้าวสร้างดอก มีการสร้างเกสรตัวผู้ 3 ครั้ง ผลปรากฏว่า เมล็ดที่ได้จากการเก็บเกี่ยวจำนวนมากติดเชื้อ เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของจำนวนเมล็ดพันธุ์ที่ติดเชื้อสูงสุดได้แก่ IR841 รองลงมาคือ IR43 และน้อยที่สุดคือ IR50

### ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium moniliforme*

เชื้อรา *Fusarium moniliforme* อยู่ใน Class Hyphomycetes และ Order Moniliales โคลโลนีของเชื้อรา *F. moniliforme* มีหลายสี ตั้งแต่สีขาว peach salmon, vinaceous purple จนถึงสีม่วง microconidia มีลักษณะเซลล์เดี่ยวรูปร่างแบบ fusoid ไปจนถึง clavate microconidia มีขนาด 5-12 x 1.5-2.5 ไมโครเมตร เชื้อราไม่สร้าง chlamydospore แต่บางครั้งพบว่าเชื้อราสร้าง globose stromatic initial cells และ perfect stage ของเชื้อรา *F. moniliforme* คือ *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw. (Booth, 1977; Nelson *et al.*, 1983) Wollenweber and Reinking (1935) กล่าวว่าเชื้อรา *F. moniliforme* ในระยะ telomorph จะสร้าง perithecia สีน้ำตาลเข้มค่อนข้างกลมภายนอกดูหยาบ ขรุขระ มีขนาด 250-330 x 220-280  $\mu\text{m}$  มีรูปทรงกระบอกแบนด้านบนมีขนาด 90-120 x 7-9  $\mu\text{m}$  ภายใน ascus จะมี ascospore อยู่ภายใน 4-6 ascospore อาจพบได้ว่ามีมากถึง 8 ascospore มีผนังกันรวมทั้งสร้าง macroconidia หรือ microconidiophore สร้างแบบเดี่ยวชูขึ้นในอากาศ microconidia อาจอยู่เกาะกันเป็นกลุ่มหรือต่อกันเป็นสายโซ่ หากสายโซ่หลุดออกจากกันทำให้ conidia เหล่านี้กระจายมองเห็นเป็นสีเหลืองใสจนถึงสีชมพูจาง ๆ หรือไม่มีสี เป็นรูปไข่อาจมี 1-2 เซลล์ macroconidia ซึ่งมีรูปร่างโค้งงอเล็กน้อยจนเกือบตรง รูปร่างนั้นบอบบาง มีสีใส ปลายทั้งสองด้าน โค้งงอเล็กน้อยคล้ายตะขอกี่แวว เชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ง่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อหลากหลายชนิด เช่น Richard's solution และ Knop's solutions ซึ่งเหมาะกับผู้ที่เริ่มเลี้ยงเชื้อรา *F. moniliforme* เป็นครั้งแรก มีผู้ศึกษาถึงผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยแล้วพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 27-30  $^{\circ}\text{C}$  ช่วงอุณหภูมิสูงสุดที่เชื้อเจริญเติบโตได้คือ 36-40  $^{\circ}\text{C}$  และช่วงอุณหภูมิต่ำสุดที่เชื้อสามารถมีชีวิตรอดได้คือ 7-8  $^{\circ}\text{C}$  โดยทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุ (Kurosawa, 1920; Nisikado *et al.*, 1933; Seto, 1935; Hemmi and Aoyagi, 1941)

นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *F. moniliforme* เป็น non-obligate parasite ซึ่งไม่มีความจำเพาะเจาะจงต่อพืชอาศัย จึงสามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด เช่น ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี ข้าวโอต ฝ้าย กัญชง อ้อย ถั่ว เป็นต้น (Bacon and Nelson, 1994) และยังพบอีกว่าเชื้อราชนิดนี้สามารถสร้างสาร mycotoxin ได้หลายชนิด เช่น beauvericin, moniliformin, gibberellic acid และ fumonisin และเชื้อราสามารถเข้าอาศัยพืชในลักษณะเป็นเอนโดไฟต์ได้อีกด้วย และเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมหรือเมื่อพืชอ่อนแอ พืชจะแสดงอาการของโรคขึ้น (Desjardins *et al.*, 2000; Bacon and Hinton, 1996)

### วงจรชีวิตของโรค

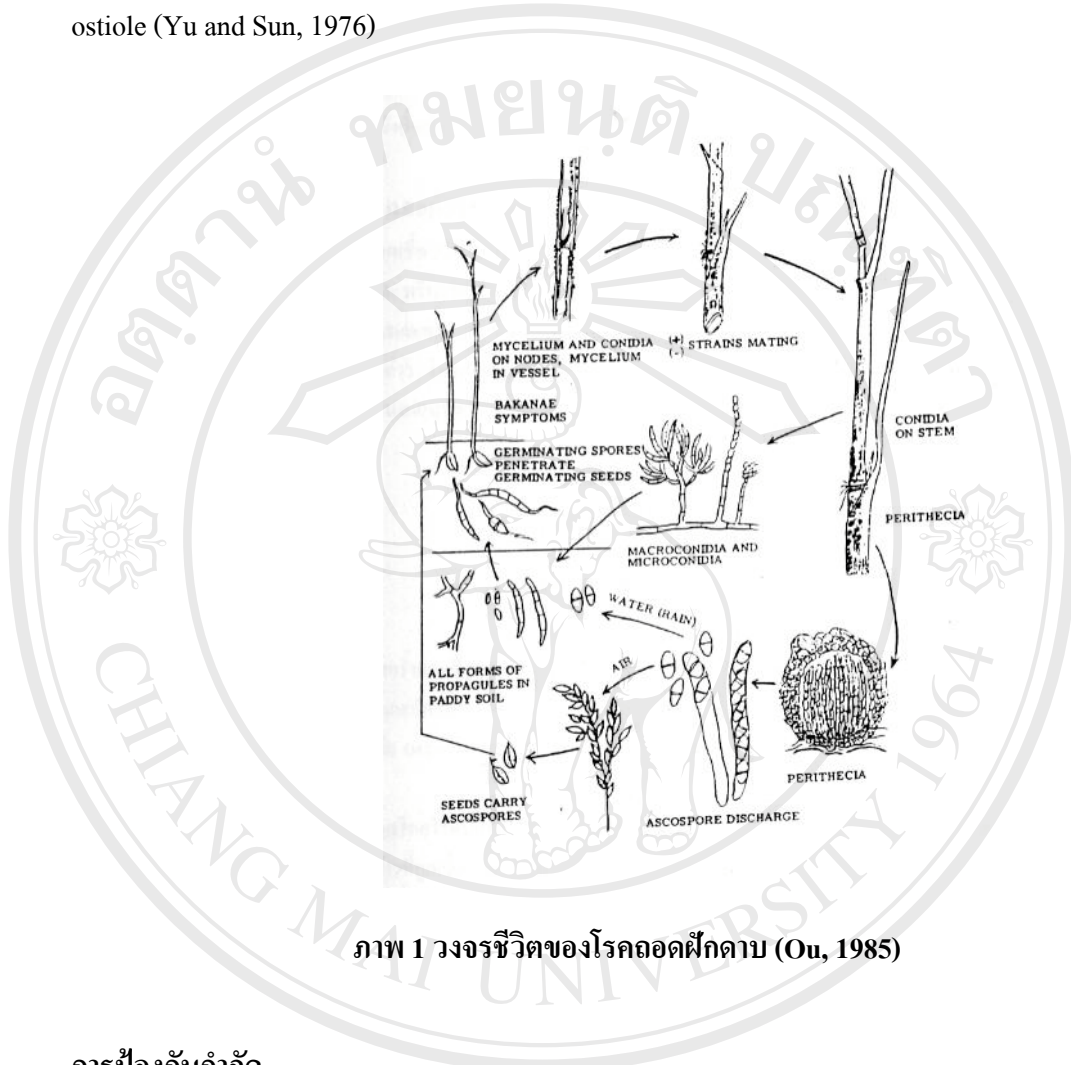
สาเหตุของโรคที่พบโดยทั่วไป มักเกิดจากการที่เชื้อติดไปกับเมล็ด เมล็ดข้าวอาจจะติดเชื้อตั้งแต่ตอนออกดอก เมล็ดที่เป็นโรครุนแรงจะเปลี่ยนสี เพราะว่ามี conidia เกาะอยู่บริเวณแผลบนเมล็ด

เป็นจำนวนมาก เมล็ดที่ไม่เป็นโรคอาจมีเชื้อราติดอยู่ เมื่อนำเมล็ดเหล่านี้ไปเพาะทำให้ต้นกล้าเล็กๆ ติดเชื้อได้ การติดเชื้อจะไม่รุนแรงมากนักถ้าทำให้เมล็ดข้าวงอกก่อนหว่าน 3 วัน เชื้อราอยู่รอดในดินได้ในระยะเวลาไม่นานนัก (ชาตรี, 2539) การทดลองในประเทศไทยมีรายงานว่าเมื่อปลูกเชื้อลงในดินแล้วเพาะเมล็ดทันที ต้นข้าวจะเป็นโรคถึง 93 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้น 90 วัน การติดเชื้อจะลดลงเหลือ 0.7 เปอร์เซ็นต์ และอาจไม่เกิดโรคเลยหลังจาก 180 วันไปแล้ว เชื้อราที่ติดไปกับเมล็ดและติดไปกับพีชที่เป็นโรคสามารถอยู่รอดได้นาน 4-10 เดือนที่อุณหภูมิห้อง แต่หากเก็บไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 7 °C จะสามารถอยู่ได้นานถึง 3 ปี (Kanjanasoon, 1965) (ภาพ 1)

ในต่างประเทศ Seto (1933 อ้างโดย จวงจันทร, 2546) กล่าวว่าโรคอดปักดาบเกิดจากเชื้อที่มีแหล่งอาศัยอยู่ในดินได้และเชื้อยังสามารถติดกับเมล็ดได้อย่างง่ายดาย และยังคงกล่าวอีกว่า เชื้อราสามารถเข้าทำลายต้นกล้าในระยะแรกของการพัฒนาได้ อีกทั้งยังมีการเคลื่อนย้ายไปยังบริเวณอื่น ๆ และเจริญภายในต้นพีช แต่ไม่พบว่าการเข้าทำลายส่วนของดอก (Seto, 1937) Wollenweber and Reinking (1935) กล่าวว่าเชื้อราสามารถมีชีวิตได้อย่างน้อย 3 ปี ในสภาพห้องที่แห้ง หากเป็นสภาพที่อากาศถ่ายเทได้สะดวกอาจทำให้อายุสั้นลงแต่ยังคงมีชีวิตอยู่รอดได้ในปุยพีชสด Nisikado and Kimura (1941) พบ microconidia และ mycelium มีจำนวนมากในท่อลำเลียง โดยเฉพาะในพิต เวสเซลและในช่องว่างของไซเลม แต่ไม่พบในโพลีเอมและพารินโคมา เชื้อสาเหตุจะไม่แพร่กระจายอย่างสม่ำเสมอ เช่น หากพบกลุ่มของเชื้อในข้อที่ 1 ของปล้องจะพบอีกในปล้องที่ 2 หรือ 3 จากนั้นจึงจะพบอีกครั้งในปล้องที่ 4 ของต้น โดยเชื้อราสามารถมีชีวิตรอดในฤดูหนาวเพื่อเข้าทำลายเมล็ดและส่วนต่าง ๆ ของพีช ในญี่ปุ่นมีรายงานว่าเชื้อรามีชีวิตรอดจนถึงฤดูถัดไปได้ถ้าถูกเก็บไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง (Iguchi, 1964) Rajagopalan (1964) พบว่าการหว่านเมล็ดที่มีความงอกต่ำลงในดินที่มีเชื้อสาเหตุจะทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคได้อย่างรวดเร็ว และมีเปอร์เซ็นต์การตายที่สูงในทางตรงกันข้าม อาการของโรคไม่รุนแรงมากนักหากเมล็ดที่หว่านสามารถงอกได้ในช่วง 72 ชั่วโมงแรกหลังจากเมล็ดเริ่มงอกถือว่าเป็นช่วงวิกฤตของการพัฒนาของโรคอย่างมาก เนื่องจากสารที่ปล่อยออกมาจากเมล็ดที่งอกเป็นกรดอะมิโนและน้ำตาล ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของเชื้อราในการเจริญเติบโต

ในประเทศไต้หวัน Sun (1975) รายงานไว้ว่าน้ำฝนจะชะล้าง conidia และ ascospore จากพีชที่เป็นโรคและบริเวณโคนต้นที่เป็นโรคไปยังพื้นดิน และยังรายงานอีกว่าดินในทุ่งนามีเชื้อปะปนอยู่เป็นจำนวนมาก และโรคอาศัยแหล่งอาศัยที่เหมาะสมในการสร้างสปอร์ และมีผู้บันทึกถึงความสำคัญของ ascospore ที่แพร่กระจายในอากาศ ซึ่งทำให้เกิดการปนเปื้อนในเมล็ดตั้งแต่ระยะที่เรียกว่า ออกรวง (heading) จนถึงระยะที่สุกแก่ โดยทั่วไปโรคที่พบในแปลงปลูกของข้าวมักนำมาวางบนอาหารวุ้นจะพบว่าเชื้อรา *F. moniliforme* ติดมาถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำไปเพาะปลูกพบ

ว่า 30 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมดแสดงอาการของโรค ascospore จะถูกปล่อยออกมาในอากาศในช่วงเวลากลางคืนหรือระหว่างที่ฝนตก และเมื่อความชื้นสัมพัทธ์ลดลง ascospore จะไหลออกมาจาก ostiole (Yu and Sun, 1976)



ภาพ 1 วงจรชีวิตของโรคยอดฟักดาบ (Ou, 1985)

### การป้องกันกำจัด

ในการควบคุมโรคยอดฟักดาบของข้าวสาเหตุจากเชื้อรา *F. moniliforme* นี้ ในอดีตมีการแนะนำสารเคมีจำพวก organo-mercury compound เช่น mercury chloride เป็นต้น แต่เนื่องจากสารดังกล่าวมีพิษตกค้างเป็นอันตรายต่อคนและสัตว์เลี้ยงอย่างรุนแรงจึงถูกห้ามใช้ ในปัจจุบันมีสารเคมีหลายชนิดที่ผ่านการทดสอบแล้ว และกลุ่มงานวิจัยโรคข้าว กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ได้แนะนำอยู่ 2 ชนิด คือ benomyl + thiram และ mancozeb กรรมวิธีการคลุกหรือแช่เมล็ดข้าวในน้ำยาที่จะได้ผลในการป้องกันกำจัดโรคยอดฟักดาบของข้าว และถ้าใช้สารเคมีกับข้าวงอก (รากงอกยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร) จะยิ่งได้ผลดีมากขึ้น (สมคิด, 2532) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเชื้อราสาเหตุสามารถเกิดความต้านทานต่อสารเคมีฆ่าเชื้อราได้ (Ogawa, 1988) ในปัจจุบันจึงได้ค้นหาวิธีการในการป้องกันกำจัดโดยหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีให้มากที่สุด

## การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

### ความหมายของการควบคุมโรคโดยชีววิธี

การควบคุมโรคโดยชีววิธี (Biological control) หมายถึงการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Antagonistic microorganism) ตลอดจนพันธุกรรม (Gene) และผลผลิตจากพันธุกรรม (Gene product) ในการลดปริมาณและกิจกรรมของเชื้อสาเหตุโรคพืชลงจนการเกิดโรคพืชน้อยลง และความเสี่ยงหายอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (จิระเดช และวรรณวิไล, 2542) Cook and Baker(1983) และ Cook (1985) อ้างโดย ชนินทร (2545) ได้ให้คำจำกัดความของการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี โดยสรุปว่า คือการลดปริมาณเชื้อสาเหตุโรคหรือลดกิจกรรมการก่อให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุของโรค หรือปรสิตที่อยู่ในระยะที่มีปฏิกริยา โดยการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งหรือมากกว่ามาใช้ในการควบคุม และอาจรวมถึงการใช้สารพันธุกรรม (Gene หรือ Gene product) จากสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นด้วยซึ่งสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ไม่รวมถึงมนุษย์

### กลไกในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

1. การแข่งขันซึ่งกันและกัน (Competition) การที่สิ่งมีชีวิตสองชนิดหรือมากกว่าเจริญอยู่ด้วยกันและมีความต้องการอาหารและที่อยู่อาศัยซึ่งสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดต้องการ และเมื่ออาหารที่มีอยู่ไม่เพียงพอจึงทำให้เกิดการแข่งขันกันขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ธาตุอาหารและปัจจัยอื่น ๆ สำหรับการเจริญเติบโต (เกษม, 2532) ซึ่งการแก่งแย่งอาหารและพื้นที่อาศัยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถแย่งอาหารจากเชื้อโรค ทำให้เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว เช่น แบคทีเรียในกลุ่ม fluorescent และ pseudomonads มีความสามารถในการใช้สารอาหารได้หลายชนิดและเจริญอย่างรวดเร็วเข้าครอบครองพื้นที่บริเวณรากพืช ซึ่งเป็นการแก่งแย่งที่อยู่อาศัยบริเวณรากพืชได้ทั้งหมด ทำให้เชื้อสาเหตุของโรคไม่มีโอกาสเข้าทำลายรากได้ (อนุภาพ, 2536 อ้างโดย ชนินทร, 2545)

2. การเป็นปรสิตของเชื้อราปฏิปักษ์ (Parasitism) การที่เชื้อราปฏิปักษ์สร้างเส้นใยแทงทะลุเข้าไปในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชเหี่ยวเฉาแฟบลง หรือการที่เชื้อราปฏิปักษ์สร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุก่อนเข้าทำลายเส้นใย เช่น เชื้อรา *Trichoderma harzianum* เป็นปรสิตกับเชื้อรา *Rhizoctonia solani* โดยการสร้างเส้นใยพันรัดแล้วจึงแทงเข้าไปในเส้นใย (Elad and Chet, 1987) และเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* เป็นปรสิตกับเชื้อรา *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp. และ *Scerotium* sp. โดยการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -1,3-glucanase, chitinase และ cellulase ทำลายเส้นใยเชื้อราดังกล่าวเหี่ยวและแฟบลง (Bruckner and Przybylski, 1984)

3. ขบวนการสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiotic) หมายถึงการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง ที่เกิดขึ้นจากสารที่สร้างขึ้นโดยมีสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง สารดังกล่าวนี้มีผลต่อการยับยั้งการ

เจริญเติบโตหรืออาจทำให้ตายได้ (เกษม, 2532) ซึ่งสารปฏิชีวนะจะสร้างขึ้นโดยเชื้อจุลินทรีย์โดยมีผลในการกำจัด เช่น เชื้อรา *Peltaster fructicola* สร้างสารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botryosphaeria dothida*, *B. obtuse*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. acutatum* โดยสารที่เชื้อราสร้างขึ้นมี 4 ชนิดคือ trichothecolone, trichothecolone acetate,  $\beta$ -methyl salicylic acid 2,5-dihydroxybenzoic acid (Venkatasubbaiah *et al.*, 1995)

### ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืช

การนำจุลินทรีย์มาใช้เพื่อป้องกันกำจัดโรคพืชนั้น เป็นวิธีการที่นำผลจากปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติซึ่งตามปกติจะมีการควบคุมปริมาณของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ด้วยกันเองอยู่แล้ว การศึกษาและค้นคว้ามีเพิ่มขึ้นเมื่อผลของสารเคมีที่ใช้ในปัจจุบัน เพื่อการป้องกันกำจัดโรคพืช ทำให้เกิดมีผลตกค้างเป็นพิษต่อสภาพแวดล้อม ตลอดจนเชื้อโรคพืชเองสามารถปรับตัวต่อต้านหรือคือต่อสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช กลุ่มของเชื้อราที่นำมาศึกษาเพื่อการป้องกันกำจัดนั้น ส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อราในดิน และโดยเฉพาะกลุ่มที่มีคุณสมบัติเป็น saprophytic behavior คือ สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้โดยอาศัยเศษซากสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้วเป็นอาหาร ตัวอย่างเช่น ใน genera *Trichoderma*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Actinomyces* เป็นต้น คุณลักษณะของเชื้อราที่นิยมนำมาทดลองใช้ส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วมีคุณสมบัติของการสร้าง toxin หรือ enzyme ซึ่งสามารถฆ่าทำลายเชื้อราอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราสาเหตุโรคพืช นอกจากนั้นยังมีคุณสมบัติในการเป็นปรสิต (parasite) อีกด้วย ตัวอย่างของเชื้อราที่มีผู้นิยมใช้กันมากเพื่อศึกษาและเพื่อป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น ใน genus *Trichoderma* ซึ่งประกอบด้วยสปีชีส์ต่างๆ เช่น *T. harzianum*, *T. viride*, *T. hamatum* เป็นต้น เชื้อราตระกูลนี้มีคุณสมบัติครบถ้วนในการเป็นปฏิปักษ์ที่ดึกดำบรรพ์สามารถสร้าง toxin, enzyme และเป็นปรสิตโดยตรงแล้วแต่สปีชีส์ ในต่างประเทศเชื้อรา *Trichoderma* ได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง โดยมีการนำเชื้อราดังกล่าวมาใช้ในรูปแบบต่างๆ เช่น การคลุกดินก่อนปลูก การคลุกเมล็ด รวมทั้งการใส่ลงดินหลังปลูก เชื้อปฏิปักษ์สามารถแยกได้จากดินเพาะปลูกทั่วไป ดินบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) ดินบริเวณผิวรากพืช (rhizoplane) หรือจากตัวอย่างพืชปกติและพืชที่เป็นโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อปฏิปักษ์ที่ขึ้นอยู่บนเชื้อสาเหตุ เช่น เชื้อ *Trichoderma* ที่ขึ้นอยู่บนเมล็ด sclerotium (ศิริพงษ์ และ รัศมี, 2539)

การใช้เชื้อราปฏิปักษ์มาควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราต่างๆ อย่างเป็นผลในรูปแบบของการคลุกเมล็ดก่อนปลูกพืช มีรายงานการใช้เชื้อรา *T. hamatum* ควบคุมเชื้อรา *R. solani* ของเมล็ดถั่วแขกและพบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ ร้อยละ 36 – 65 ในเรือนกระจกและเมื่อนำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *T. viride* มาเคลือบเมล็ด สามารถป้องกันอาการเน่าคอดิน (damping-off) ของระยะ



ก่อนงอกของต้นกล้าได้และเมื่อคลุกเมล็ดมีสตาร์คด้วย *T. viride* และ *Penicillium fregnentans* สามารถป้องกันการเข้าทำลายต้นกล้าจากเชื้อ *Pythium* spp. ได้ (Chang and Thor, 1968) Mew and Kommedahl (1972) รายงานว่าการคลุกเมล็ดข้าวโพดด้วยสปอร์ของ *Chaetomium globosum* ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคจากเชื้อ *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ลดลงจาก 60 เปอร์เซ็นต์เหลือ 9 เปอร์เซ็นต์ Yeh and Sinclair (1980) รายงานว่าได้แยกเชื้อ *C. cupreum* จากเมล็ดถั่วเหลือง นำมาทดสอบกับเชื้อรา *Fusarium* sp., *Macrophomina phaseolina*, *Phomopsis* sp. และ *Rhizoctonia solani* โดยวิธี dual culture พบว่าเชื้อรา *C. cupreum* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราดังกล่าวได้ และ Howell (1991) ได้นำเชื้อรา *Gliocladium virens* มาเคลือบเมล็ดฝ้ายก่อนนำไปปลูก พบว่าสามารถช่วยลดอาการเน่าคอดินของต้นฝ้ายได้ Hsieh et al. (2003) กล่าวว่าในประเทศไทยได้หว่านได้ลดปริมาณการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราลง โดยการนำเอาเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มาใช้ป้องกันกำจัดโรคพืชเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 2001 โดยใช้ควบคุมโรคราน้ำค้างของถั่วอีกทั้งเชื้อ *B. subtilis* ยังช่วยควบคุมโรคทั้งในแปลงและโรงเรือนได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อราและแบคทีเรียปฏิปักษ์ในประเทศฟิลิปปินส์เพื่อควบคุมการเกิดโรคที่เกิดกับรากได้ เช่น เชื้อ *Trichoderma* spp. และ *Gliocladium virens* (Davide, 1990; 1991)

Gohil and Vola (1996) ศึกษาผลของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme* โดยใช้แบคทีเรีย 4 ไอโซเลท ผลการทดสอบพบว่าสามารถยับยั้งโรคเหี่ยวในอ้อยได้ เชื้อราปฏิปักษ์จะขึ้นปกคลุมและทำให้เชื้อสาเหตุยุบตัวลง Pristchepa et al. (2002) ได้รายงานว่าการใช้สารกำจัดเชื้อราที่ผลิตได้จากเชื้อ *Trichoderma harzianum* s-4 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Botrytis cinerea*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum* และ *F. solani* พบว่าเมื่อ *T. harzianum* ใช้คลุกเมล็ดแล้วหว่านจะช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอก สำหรับการทดสอบ lignorin ในแปลงปลูกแตงกวาพบว่าให้ผลยับยั้ง 15.9-22.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

ส่วนในประเทศไทยมีผู้ศึกษาเกี่ยวกับเชื้อราปฏิปักษ์ด้วย โดยเกษม (2533ก) รายงานว่าเมื่อนำ จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ได้แก่ *C. globosum*, *C. cochliodes* และ *C. cupreum* ทั้งโดยการใช้สปอร์คลุกเมล็ดข้าวและใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ปฏิปักษ์พบว่าสามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ของข้าวได้หลายชนิด อาทิเช่น *Pyricularia oryzae*, *Fusarium moniliforme*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Rhizoctonia oryzae* และ *Rhizoctonia solani* ได้เป็นผลสำเร็จและ เกษม (2533ข) ยังได้นำเชื้อรา *Chaetomium cochliodes* และ *C. cuniculorum* คลุกเมล็ดข้าวก่อนปลูกเพื่อทำการควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* พบว่าเชื้อรา *C. cochliodes* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ที่เกิดในระยะกล้าของข้าวสายพันธุ์ IR 442-2-58 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคใบไหม้ได้ดีและเจริญเติบโตได้ดีกว่าเมล็ดที่ไม่ได้คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา

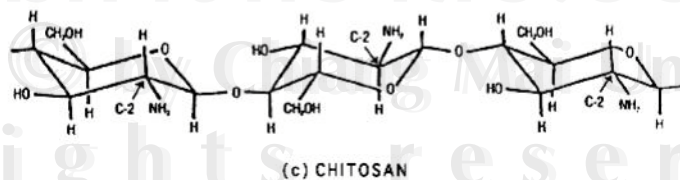
*C. cochliodes* ในปี 2536 เกษมได้ทดสอบคุณสมบัติของเชื้อรา *C. globosum* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Curvularia lunata* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกัน พบว่า *C. globosum* สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. lunata* ได้ 60 เปอร์เซ็นต์

ชนินทร (2545) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์ 50 ไอโซเลทจากต้นข้าว เพื่อทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme* โดยวิธี dual culture พบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์ในข้าวนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme* ได้ในช่วง 44.54-58.76 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำเมล็ดข้าวที่เคลือบด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์ปลูกในดิน พบว่าเมล็ดข้าวมีความงอกสูงกว่าเมล็ดข้าวในชุดควบคุม

จวงจันท์ (2546) ได้นำเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* 3 isolates ที่แยกได้จากเมล็ดข้าวและ *Gliocladium virens*, *T. harzianum* รวมทั้ง *T. viride* มาทดสอบกับเชื้อรา *F. moniliforme* พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ทั้งหมดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme* ได้ในช่วง 48.76-52.19 เปอร์เซ็นต์

### ไคโตซาน (Chitosan)

ไคโตซาน (Chitosan) เป็นอนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากปฏิกิริยา deacetylation ของไคติน โดยไคโตซานถูกค้นพบโดยบังเอิญ ในปี ค.ศ. 1859 โดย Rouget ได้ต้มไคตินในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น (Li *et al.*, 1992) ซึ่งเป็นไคตินที่อยู่ในรูปที่มีปริมาณหมู่อะซีทิลต่ำโดยเกิดจากปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซีทิลของไคตินด้วยด่างเข้มข้น ทำให้โครงสร้างทางเคมีของไคตินเปลี่ยนไปโดยหมู่อะซีตามิโด (-NHCOCH<sub>3</sub>) เปลี่ยนเป็นหมู่อะมิโน (-NH<sub>2</sub>) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ดังนั้น ไคโตซานจึงเป็น polycationic polymer ของ β-1,4-linked D-glucosamine เป็น bioactive agent ที่ใช้เป็น antifungal (Ghaouth *et. al.*, 1992 ; Hirano and Nagao, 1989) (ภาพ 2)



ภาพ 2 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน (ภาวดี และคณะ, 2545)

## คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไคโตซาน (ภาวดี และคณะ, 2545)

### การละลาย (Solubility)

ไคโตซานไม่ละลายในน้ำ ด่างและตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic solvent) แต่สามารถละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรดอินทรีย์ทุกชนิดที่มี pH น้อยกว่า 6 กรดอะซิติกและกรดฟอร์มิก เป็นกรดที่นิยมใช้ในการละลายไคโตซาน กรดอินทรีย์บางชนิด เช่นกรดไนตริก กรดไฮโดรคลอริก กรดเปอร์คลอริก และกรดฟอสฟอริก สามารถละลายไคโตซานได้เช่นกันแต่ภายใต้การคนที่อุณหภูมิสูงปานกลาง อย่างไรก็ตามในบางครั้งอาจมีตะกอนขาวคล้ายเจลเกิดขึ้น สารละลายไคโตซานมีความเหนียว ใส มีพฤติกรรมแบบ non-newtonian ในสารละลาย หมูอะมิโนของไคโตซานจะแตกตัว โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การแตกตัว ( $pK_a$ ) ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของประจุ โพลีเมอร์โดย  $pK_a$  ของไคโตซานมีค่าอยู่ในช่วง 6.2 – 6.8

### ความหนืด (Viscosity)

ความหนืดของสารละลายไคโตซานขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น degree of deacetylation น้ำหนักโมเลกุล ความเข้มข้น ionic strength ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) และอุณหภูมิ โดยทั่วไปแล้วความหนืดของสารละลายโพลีเมอร์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่ชนิดของกรดที่ใช้และการเปลี่ยนแปลง pH ของสารละลายโพลีเมอร์จะให้ผลความหนืดที่แตกต่างกัน

### Coagulating ability

ไคโตซานเป็นตัวสร้างตะกอนและตัวตกตะกอน (Flocculant and coagulating agent) ที่ดี เนื่องจากการมีหมูอะมิโนจำนวนมากที่สามารถแตกตัวเป็นประจุบวก และจับกับสารที่มีประจุลบได้ เช่น โปรตีน ลีซอม และโพลีเมอร์อื่น จากการวิจัยประสิทธิภาพของไคโตซานในการแยกโปรตีนออกจาก cheese whey พบว่าความสามารถในการจับกับโปรตีนเป็นสัดส่วนผกผันกับน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถจับกับโลหะหนักได้ โดยไนโตรเจนในหมูอะมิโนของไคโตซานจะทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน ทำให้ไอออนของโลหะสามารถสร้างพันธะเชิงซ้อน (coordinate) กับหมูอะมิโนได้ นอกจากนี้ยังพบว่าหมูอะมิโนในไคโตซานมีประสิทธิภาพในการจับกับไอออนของโลหะได้ดีกว่าหมูอะซิติกในไคติน ดังนั้นไคโตซานที่มี degree of deacetylation สูงจะมีอัตราการดูดซับหรือความสามารถในการจับกับไอออนของโลหะสูง ความสามารถในการดูดซับไอออนของโลหะของไคโตซานยังขึ้นอยู่กับอีกหลายปัจจัย เช่น ความเป็นผลึก และความสามารถในการดึงดูน้ำของไคโตซาน (Li *et al.*, 1992)

### Molecular conformation

ไคโตซานเป็นโพลีอิเล็กโทรไลต์ประเภทบวก (cationic polyelectrolyte) เนื่องจากในสารละลายกรดหมูอะมิโนในสายโซ่โมเลกุลจะรับโปรตรอน แล้วอยู่ในรูป  $-NH^{3+}$  conformation ของ

โมเลกุลไคโตซานในสารละลาย สามารถบ่งชี้โดยค่า Mark-Houwink exponent (ค่า  $a$ ) ถ้า  $a$  มีค่าประมาณ 0, 0.5-0.8 และ 1.8 บ่งชี้ว่าโพลิเมอร์ขดตัวเป็นทรงกลม (sphere) มีลักษณะเป็น random coil และมีลักษณะเป็นแท่ง (rod) ตามลำดับ conformation ของไคโตซานโมเลกุลที่แตกต่างกันในสารละลายขึ้นอยู่กับ ionic strength ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ ความเข้มข้นของยูเรีย น้ำหนักโมเลกุล และ degree of deacetylation (Chen and Tsaih, 1998)

#### การเสื่อมสลาย (Degradation)

ไคโตซานก็เหมือนกับโพลิเมอร์หรือโพลิแซคคาไรด์อื่นทั่วไป คือเมื่อเกิดการเสื่อมสลายจะให้สายโซ่โมเลกุลที่สั้นลงเป็นโอลิโกเมอร์ (oligomer) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) และเป็นหน่วยย่อยที่เล็กที่สุดที่เรียกว่า โมโนเมอร์ (monomer) หรือโมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide) และโอลิโกเมอร์/โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) ของไคโตซาน คือ N-acetyl-chitooligosaccharide และ chitooligosaccharides ตามลำดับ ส่วนโมโนเมอร์/โมโนแซคคาไรด์ของไคโตซาน คือ N-acetyl-D-glucosamine และ D-glucosamine ตามลำดับ

#### การเสื่อมสลายโดยกรด (Acid hydrolysis)

การเสื่อมสลายของสายโซ่โมเลกุลของไคโตซานเนื่องจากกรดเป็นแบบสุ่ม ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ โอลิโกเมอร์ขนาดต่าง ๆ และโมโนเมอร์ ขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ เช่น ชนิดของกรด เวลา อุณหภูมิ ชนิดของพันธะของสายโซ่โมเลกุล ชนิดของโพลิเมอร์

#### การเสื่อมสลายโดยด่าง (Alkaline degradation)

การเสื่อมสลายของสายโซ่โมเลกุลของโพลิแซคคาไรด์ในด่างจะเริ่มจากปลายสุดของสายโซ่โมเลกุล การเสื่อมสลายแบบนี้เรียกอีกอย่างว่า peeling reaction

#### การเสื่อมสลายโดยการสั่นโดยคลื่นเสียง (Degradation by sonication)

การเสื่อมสลายโดยการสั่นโดยคลื่นเสียงควบคู่กับการใช้กรดมีผลทำให้ได้โอลิโกเมอร์ที่มีขนาดใกล้เคียงกันมากกว่าการเสื่อมสลายโดยใช้กรดเพียงอย่างเดียว

#### การเสื่อมสลายโดยเอนไซม์ (Enzymic degradation)

การเสื่อมสลายโดยใช้เอนไซม์มีข้อดีกว่าการใช้สารเคมีคือ มีความจำเพาะเจาะจงมากกว่า การใช้สารเคมี เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายไคโตซาน ได้แก่

Chitinase (EC 3.2.1.14) สามารถย่อยสลายสายโซ่โมเลกุลของไคตินแบบสุ่ม ตรงตำแหน่งพันธะ -1,4-linkage ได้เป็น N-acetyl-chitooligosaccharide

Chitosanase (EC 3.2.1.132) สามารถย่อยสลายสายโซ่โมเลกุลของไคโตซานแบบสุ่ม ตรงตำแหน่งพันธะ -1,4-linkage ได้เป็น chitooligosaccharide

Lysozyme (EC 3.2.1.17) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่คล้ายกับ chitinase

N-acetylglucosaminidase (EC 3.2.1.30) และ N-acetylhexaminidase (EC 3.2.1.52) ทำหน้าที่ย่อยสลาย N-acetylchitooligosaccharides เป็น N-acetyl-glucosamine โดยเชื่อมจากปลายสายโซ่ไม่ลดกลูค (non-reducing end)

การเสื่อมสลายโดยความร้อน (Thermal degradation)

ความร้อนมีผลต่อสมบัติทางกายภาพของไคโตซาน จากการวิจัยพบว่า ความร้อนจากเตาอบ ซึ่งเป็นความร้อนแบบแห้ง (dry heat) ที่อุณหภูมิน้อยกว่าหรือเท่ากับ 80 องศาเซลเซียส มีผลทำให้สายโซ่ไม่ลดกลูคมีความยืดหยุ่นมากขึ้น Glass transition temperature (Tg) ลดลง ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น ส่วนความร้อนแบบแห้งที่อุณหภูมิสูง มีผลทำให้ไคโตซานเกิดสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาล ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและระยะเวลา ที่อุณหภูมิสูงกว่าหรือเท่ากับ 120 องศาเซลเซียส ความสามารถในการละลายของไคโตซานจะลดลง ที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เวลานานกว่าหรือเท่ากับ 2 ชั่วโมง ไคโตซานจะไม่ละลายในกรดอะซิติก (0.2 M)/ โซเดียมอะซิเตต (0.1 M)

สำหรับการอบแห้งแบบใช้ไอร้อน (Saturated steam) ไคโตซานจะไม่สามารถละลายหลังจากการอบที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง การอบที่อุณหภูมิมากกว่าหรือเท่ากับ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง การอบที่อุณหภูมिन้อยกว่าหรือเท่ากับ 120 องศาเซลเซียส ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อสมบัติทางกายภาพของไคโตซาน (Lim *et al.*, 1999)

#### ความสามารถในการเกิดปฏิกิริยา

ไคโตซานประกอบด้วย 3 หมู่ฟังก์ชันที่มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยา คือ หมู่อะมิโน (-NH<sub>2</sub>) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 (C-2) หมู่ primary alcohol (-CH<sub>2</sub>OH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 (C-6) และหมู่ secondary alcohol (-CHOH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 (C-3) การปรับปรุงโครงสร้างทางเคมี (chemical modification) ของทั้งสามหมู่ฟังก์ชันนี้สามารถก่อให้เกิดวัสดุต่าง ๆ ในการใช้งานที่แตกต่างกันมากมาย

#### ประโยชน์ของไคโตซานทางการเกษตร

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมาช้านาน เป็นแหล่งอาหารที่สมบูรณ์ของโลกแห่งหนึ่ง อีกรายได้หลักของประเทศก็มาจากผลิตผลทางการเกษตร ในปัจจุบันด้วยวิทยาการและเทคโนโลยีสมัยใหม่ มีส่วนส่งเสริมเพิ่มพูนมูลค่าผลิตผลทางการเกษตร แต่การใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชก็มีปริมาณมากขึ้นและส่งผลกระทบต่อตัวเกษตรกร ผู้บริโภคผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร และสิ่งแวดล้อมทั้งทางตรงและทางอ้อม แนวโน้มของเทคโนโลยีการเกษตรในอนาคตจะมุ่งเน้น

การเกษตรอินทรีย์ ไคโตซานเป็นสารธรรมชาติอีกตัวหนึ่งที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในด้านนี้ได้  
อย่างมากมาย

### 1. การเคลือบเมล็ดพันธุ์พืช (Seed coating)

การเคลือบเมล็ดพันธุ์พืชมีประโยชน์หลายประการ เช่น ป้องกันการปลอมปนพันธุ์ (โดยใช้  
สีเคลือบเป็นเอกลักษณ์) ป้องกันเมล็ดพันธุ์จากโรคและแมลงศัตรูพืช และยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ด  
พันธุ์ เป็นต้น ไคโตซานมีบทบาทในการเป็นสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ดังต่อไปนี้

#### 1.1 ตัวเชื่อม (Binder) ในสารเคลือบเมล็ดพันธุ์

Hydroxypropylchitosan เป็นอนุพันธ์ของไคโตซานที่ใช้เป็นตัวเชื่อมในสารเคลือบ  
เมล็ดพันธุ์ เพื่อช่วยในการยับยั้งเชื้อรา ปกป้องพืช ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น (Patent abstracts of Japan,  
1998 อ้างโดย ภาวดี และคณะ, 2545)

#### 1.2 สารเคลือบเมล็ดพันธุ์ป้องกันการขูดขีด (Seed incrustating agents) (Struszczyk *et al.*, 1988)

ถึงแม้ว่าการใช้สารเคมีเคลือบเมล็ดพันธุ์พืชจะสามารถป้องกันรักษาเมล็ดพันธุ์จาก  
โรค และแมลงระหว่างการเก็บ และหลังการหว่านได้ แต่มีข้อเสียคือ 30-60 % ของสารเคมีที่ใช้ใน  
การป้องกันโรคและแมลง สูญเสียไปกับการขูดขีด การบรรจุ และการหว่านของเมล็ดพืช สิ่งนี้ไม่  
เพียงเป็นการสูญเสียเงินไปกับสารเคมีที่มีราคาแพง แต่สารเคมีที่สูญหายไปนั้นยังเป็นอันตรายต่อ  
มนุษย์และสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

ไคโตซานเป็นสารปลอดภัย ไม่ทำให้เกิดการแพ้ ไม้ไวไฟ และ non-phytotoxic ต่อ  
พืช นอกจากนี้ไคโตซานยังถูกพบว่าเป็นสารเคลือบป้องกันการขูดขีด หลุดล่อนของสารเคมี  
(incrustating agent) ที่เทียบกับสารเคมีที่ใช้ในปัจจุบัน ไคโตซานได้ถูกทดลองใช้เป็นสารเคลือบ  
เพื่อป้องกันการขูดขีดของเมล็ดพันธุ์หัวหอม มีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มที่มีความยืดหยุ่น แข็งแรง ยึด  
เกาะบนพื้นผิวเมล็ดได้ดี ทำให้อัตราการงอกสูงขึ้น จำนวนต้นที่ได้รับ ความเสียหายจากแมลงน้อยลง  
ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น รูปแบบแผ่นฟิล์มขึ้นอยู่กับชนิดของไคโตซานและจุดประสงค์การใช้งาน ซึ่งมี  
ทั้งแบบสามารถละลายน้ำได้ ละลายน้ำได้บางส่วนและไม่ละลายน้ำ

#### ข้อดีของการใช้ไคโตซานเป็นสารเคลือบป้องกันการขูดขีด

1. กำจัดปัญหาการสูญเสียสารเคมีเคลือบเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการป้องกันโรคและ  
แมลง ทำให้อัตราการงอกของเมล็ดสูงขึ้น ผลผลิตเพิ่มมากขึ้น
2. แผ่นฟิล์มที่เคลือบบนเมล็ดพันธุ์ช่วยป้องกันความเสียหายของเมล็ดจากสารเคมี  
ภายนอก

### 3. ลดการเกิดฝุ่นในระยะเวลาการเก็บ และการหว่าน

#### 1.3 สารเคลือบเมล็ดพันธุ์ป้องกันโรคและแมลง

การใช้ไคโตซานเป็นอีกวิธีหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร โดยไม่ก่อผลเสียต่อระบบนิเวศน์และสิ่งแวดล้อม ไคโตซานถูกนำมาใช้เป็นสารเคลือบเมล็ดพันธุ์เพื่อป้องกันโรคและแมลงโดยตรง ทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่เป็นพิษ จากการทดลองใช้ไคโตซานเคลือบเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง black pine และ Japanese radish พบว่า สารเคลือบเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากไคโตซานสามารถยึดติดกับผิวของเมล็ดได้ดีและทำหน้าที่เป็นสารยับยั้งแบคทีเรีย ตั้งแต่ช่วงการหว่านจนกระทั่งถึงช่วงการเป็นต้นอ่อน ทำให้อัตราการงอกสูงขึ้น (6-20 %) (Hirano *et al.*, 1988 and 1996)

#### 2. สารปกป้องต้นไม้ (Tree-protecting agent)

##### 2.1 สารเร่งการเจริญเติบโต

ไคโตซานถูกนำมาใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโต ในสารปกป้องต้นไม้ที่ประกอบด้วย carbon black เป็นองค์ประกอบหลัก และ fixing component ที่ประกอบด้วย animal glue และน้ำ สารปกป้องนี้จะเกิดเป็นชั้นที่สามารถกั้นน้ำ ป้องกันการผุกร่อนของพื้นผิวส่วนที่เสียหายของพืชจากเชื้อราหรือการกัดเซาะของน้ำฝน (Patent abstracts of Japan, 1998 อ้างโดย ภาวดี และคณะ, 2545) นอกจากนี้ไคโตซานยังให้ผลเช่นเดียวกับฮอร์โมนเร่งราก ใช้กระตุ้นการงอกของรากของกิ่งชำ แช่ในสารละลายเจือจางประมาณ 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปปักชำในวัสดุเพาะชำ

##### 2.2 สารยับยั้งเชื้อไวรัสพืช (Plant antiviral preprate)

โดยไคโตซานจะซึมผ่านเข้าทางใบ ช่วยในการยับยั้ง รักษาพืชที่ติดเชื้อ และสร้างความต้านทานโรคให้กับพืชที่ไม่ติดเชื้อ (Struszczyk *et al.*, 1988)

#### 3. อาหารสัตว์ (Animal feed)

ไคโตซานมีสมบัติเป็นตัว flocculent ซึ่งสามารถจับโปรตีนจากน้ำเสีย และโปรตีนนี้สามารถนำกลับมาใช้เป็นอาหารสัตว์ เช่น ปลา วัว ควาย ไคโตซานสามารถเป็นตัวเชื่อม (binder) ในอาหารสัตว์ได้เช่นกัน อาหารที่ได้มีความปลอดภัย ประหยัด สามารถถูกย่อยและดูดซึมได้ นอกจากนี้ไคโตซานยังเป็น dietary dye carrier และเป็นเส้นใยอาหาร (Food fiber) ของสัตว์ปีกจำพวกไก่ ทำให้ไข่ไก่มีสีแดงขึ้น และเนื่องจากความสามารถในการจับสีที่ดีของไคโตซาน ไก่จึงมีความเครียดน้อยลง น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น (Watkins and Knorr, 1989; Austin *et al.*, 1981)

#### 4. ปุ๋ย (Fertilizers/ Soil stabilizers)

##### 4.1 ปุ๋ยน้ำ (Liquid multicomponent fertilizers) (Struszczyk *et al.*, 1988)

ไคโตซานทั้งในรูปแบบมาตรฐานหรือในรูปแบบ microcrystalline ถูกใช้ผสมในปุ๋ยน้ำสำหรับไม้ดอก มีข้อดีหลายประการ เช่น

1. สามารถยึดติดกับผิวของพืช ผิวดินได้ดี และทนต่อการถูกชะล้าง
2. ลดการระเหยของน้ำ
3. สามารถเป็นตัวควบคุมการปลดปล่อยสารอาหารและยาให้กับพืช
4. ทำให้การกระจายตัวของปุ๋ยน้ำได้ดีขึ้นและมีความคงตัวสูง
5. ลด phytotoxic effect

##### 4.2 ปุ๋ยไนโตรเจนสำหรับพืชตระกูลถั่ว (Nitrogen fertilizers)

พืชตระกูลถั่วเป็นพืชที่อุดมไปด้วยโปรตีน ดังนั้นจึงมีความต้องการไนโตรเจนสูงกว่าพืชตระกูลอื่น ถ้าปริมาณไนโตรเจนในดินน้อยเกินไป จะไม่ก่อให้เกิดการสร้างปม และการตรึงไนโตรเจน แต่อย่างไรก็ตามการให้ไนโตรเจนในอัตราที่สูงเกินไป มีผลให้เกิดปม (nodulation) และการตรึงไนโตรเจนของพืชลดลงเช่นกัน ไคตินเป็นแหล่งไนโตรเจน (ประมาณ 20 %) ที่ได้จากของเหลือจากเปลือกกุ้ง ไนโตรเจนจากไคตินสามารถถูกปลดปล่อยออกมาตามความต้องการของพืช ซึ่งเป็นผลให้เกิดปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสม ในการเร่งการเกิดปมรากถั่วและการตรึงไนโตรเจน (Boonkerd *et al.*, 1996 อ้างโดย ภาวดี และคณะ, 2545)

##### 4.3 สารทำความสะอาดดิน (Soil cleaning agents)

สารทำความสะอาดดินประกอบด้วย ไคโตซานในกรดโพรพิโอนิก (propionic acid) มีผลให้สภาพแวดล้อมของดิน เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของพืช โดยรากต้นกล้าจะแช่ในสารละลายเจือจางของสารทำความสะอาดดิน ก่อนย้ายปลูกลงดิน (Patent abstracts of Japan, 1998 อ้างโดย ภาวดี และคณะ, 2545)

##### 4.4 ดินเพาะต้นกล้า (Seedling raising soil)

ดินเพาะต้นกล้านี้ประกอบด้วยสารประเภทแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก (ประมาณ 60 %) และไคโตซานหรืออนุพันธ์ของไคโตซานที่ยึดติดผิวได้ดี (ประมาณ 0.001-5 %) ดินนี้สามารถถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในดิน ไม่ทำให้เกิดการเสื่อมโทรมของพื้นดิน ไม่ทำลายพืชพันธุ์รุ่นต่อไป และเหมาะสมสำหรับ rationalisation ของพืชจำพวกผัก (Patent abstracts of Japan, 1998 อ้างโดย ภาวดี และคณะ, 2545)



#### 4.5 สารอุ้มน้ำ (Water feeding materials)

สารอุ้มน้ำนี้ได้จากการละลายไคโตซานและเกลือ เพื่อเร่งการเกิดเจล สารอุ้มน้ำที่ไม่แพงนี้สามารถให้น้ำหรือสารอาหารในปริมาณที่เหมาะสมต่อพืช อีกทั้งง่ายต่อการขนย้าย (Patent abstracts of Japan, 1998 อ้างโดย ภาวดี และคณะ, 2545)

### 5. การเก็บรักษาผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว

#### 5.1 การยืดอายุผลผลิต

ได้มีการศึกษาถึงไคโตซาน พบว่าไคโตซานมีประสิทธิภาพในการลดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราบางชนิดได้ โดยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยตรง และกระตุ้นกระบวนการต่าง ๆ ในเนื้อเยื่อพืชให้เกิดภูมิคุ้มกันต้านเชื้อราบางชนิด ดังนั้นจึงได้มีการนำไคโตซานมาใช้ในการเคลือบผลผลิตทางการเกษตร ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่ายาฆ่าเชื้อราบางชนิด และยังปลอดภัยมากกว่า และได้มีการใช้ไคโตซานในการเก็บรักษา ยืดอายุของส้มในเวียดนาม เนื่องจากวิธีการเก็บรักษาผลผลิตสมัยใหม่ราคาแพง และไม่เหมาะสมกับสถานะเศรษฐกิจของประเทศเวียดนาม การใช้สารเคมีเป็นวิธีที่นิยมอย่างแพร่หลายแต่สารเคมีที่ตกค้างอาจมีอันตรายต่อผู้บริโภคได้ การใช้ไคโตซานเป็นทางเลือกใหม่ที่ดี เนื่องจากเป็นสารธรรมชาติ สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ไคโตซาน (70 % d.a., 1.6-1.8 % ในกรดอะซิติก) ถูกทดลองใช้ในการเคลือบผิวส้มด้วยความหนาประมาณ 30-35 ไมครอน พบว่าสามารถเก็บรักษาส้มได้ถึง 35-40 วัน โดยคุณภาพ เช่น สีของเปลือกนอกไม่เปลี่ยนแปลง (Dien and Binh, 1996) ผลไม้อื่น เช่น ลูกท้อ สาลี่ กีวี และ สตรอเบอร์รี่ มีรายงานการใช้ไคโตซานในการยืดอายุและควบคุมการเน่าเสียได้เช่นเดียวกัน (Shahidi *et al.*, 1999)

นอกจากผลไม้แล้ว Ghaouth *et al.* (1991) ได้ทำการทดลองใช้ในการเคลือบผิวของผักพวงมะเขือเทศ แตกกว และพริกหยวก พบว่าสามารถลดอัตราการหายใจ ลดการสูญเสียน้ำจากการคายน้ำ และลดอัตราการผลิตก๊าซเอทิลินที่ทำให้ผลไม้สุกเร็ว นอกจากนี้ไคโตซานฟิล์มยังเป็นตัวกั้นการไหลออกของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ผัก ผลไม้คงความกรอบ ผิวไม่เหี่ยวยุบ สีผิวไม่เปลี่ยนแปลง

ไคโตซานสามารถเคลือบบนเครื่องเทศ เพื่อรักษาและป้องกันการสูญเสียกลิ่นของเครื่องเทศ จากการสเตรอไรซ์ด้วยไอน้ำ (Patent abstracts of Japan, 1998 อ้างโดย ภาวดี และคณะ, 2545)

ไคโตซานยังใช้ในการเคลือบบนผิวไข่ เพื่อการเก็บรักษาความสดของไข่ให้ยาวนานขึ้น โดยที่คุณภาพ เช่น ลักษณะของไข่แดง ความหนาของไข่ขาว และรสชาติ ไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ไคโตซานที่เคลือบบนเปลือกไข่ ยังมีผลให้เปลือกไข่มีความแข็งแรงขึ้น ป้องกันการแตก สะดวกต่อการขนส่ง (Patent abstracts of Japan, 1998 อ้างโดย ภาวดี และคณะ, 2545)

## 5.2 การควบคุมการเกิด enzymatic browning (Shahidi *et al.*, 1999)

ในระหว่างการขนย้ายหรือในกระบวนการผลิตหลังการเก็บเกี่ยว บางครั้งทำให้ผลผลิตเกิดรอยช้ำ/รอยแผล ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดเป็นรอยช้ำสีน้ำตาลขึ้น ทำให้สูญเสียทั้งคุณภาพและมูลค่าของผลผลิตอย่างยิ่ง สาเหตุของการเกิดรอยช้ำสีน้ำตาลนี้ เนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) กับสารประกอบฟีนอล เป็นผลให้เกิดสีเข้มของ O-quinones ที่เป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยานี้ นอกจากสีแล้วยังมีผลกระทบต่อรสชาติและคุณค่าทางอาหารของผัก-ผลไม้อีกด้วย ในอดีตได้มีการใช้สารพวกซัลไฟต์ (sulphite) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลนี้ แต่พบว่าการใช้สารนี้อาจทำให้เกิดผลต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นไคโตซานจึงเป็นทางเลือกใหม่สำหรับการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผัก-ผลไม้ ได้มีการทดลองใช้แผ่นฟิล์มไคโตซานเคลือบลิ้นจี่ เพื่อป้องกันการเกิด enzymatic browning และพบว่าการเคลือบด้วยไคโตซานทำให้การเปลี่ยนแปลงปริมาณของ anthocyanin, flavonoid และ phenolic ซ้ำลง และยังทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase ลดลงอีกด้วย

## 6. ภาชนะ/อุปกรณ์ทางการเกษตร (Agricultural containers)

### 6.1 แผ่นคลุมพืช (Agricultural mulching sheet)

แผ่นคลุมนี้ทำจากกระดาษประกอบด้วยชั้นกันแสง (light-shielding layer) ที่ทำจาก carbon black และตัวเชื่อม (binder) ที่ไม่ละลายน้ำ ชั้นที่สองประกอบด้วยไคโตซานหรืออนุพันธ์ของไคโตซาน เช่น carboxyl methyl-chitosan แผ่นคลุมนี้มีความสามารถในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช เพิ่มอุณหภูมิพื้นดิน เพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดิน และง่ายต่อการเผาหรือย่อยสลายในดินหลังการใช้งาน (Patent abstracts of Japan, 1998 อ้างโดย ภาวดี และคณะ, 2545)

### 6.2 ภาชนะเพาะต้นกล้าชีวภาพ (Biodegradable seedling raising pot)

กระดาษ/ถุงเพาะต้นกล้านี้ที่ทำจากเส้นใยเรยอนแล้วเคลือบผิวภาชนะด้วยตัวเชื่อม (binder) ที่ประกอบด้วยไคโตซานและผงเซลลูโลส ดังนั้นภาชนะชนิดนี้จึงสามารถถูกย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์ในดิน (Patent abstracts of Japan, 1998 อ้างโดย ภาวดี และคณะ, 2545)

### ประสิทธิภาพของไคโตซานในการควบคุมโรคพืช

ไคโตซานเป็นสารที่มีลักษณะเป็นเอกลักษณ์โดดเด่นเฉพาะตัว คือเป็นสารธรรมชาติ เป็นวัสดุทางชีวภาพ (biomaterials) ที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) อีกทั้งยังย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ (biodegradable) ดังนั้นจึงปลอดภัยในการนำมาใช้กับมนุษย์และไม่เกิดผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม อีกทั้งไคโตซานยังสามารถกระตุ้นให้ต้นพืชเกิดปฏิกิริยาหรือกระบวนการป้องกันตนเองขึ้นได้ รวมทั้งยังเป็นตัวกระตุ้นให้พืชสังเคราะห์เอนไซม์ไคตินเนสที่สามารถย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ได้ จึงมีการนำไคโตซานมาใช้ประโยชน์ทางการควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคพืช

Barber and Ride (1988) กล่าวว่าเมื่อให้ไคโตซานทางใบแก่ข้าวสาลีที่มีแผลอยู่ พบว่าไคโตซานสามารถเพิ่มกระบวนการ lignification และด้วยเหตุนี้จึงสามารถจำกัดการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญของข้าวสาลีได้ ไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aspergillus flavus* และการผลิต aflatoxin ในสภาพ liquid culture ของข้าวโพดและถั่วลิสงช่วงก่อนการเก็บเกี่ยว อีกทั้งยังเพิ่มปริมาณการผลิต phytoalexin ขึ้นในถั่วลิสงกำลังงอกได้อีกด้วย (Cuero *et al.*, 1991) และมีการศึกษาถึงการใช้ระดับความเข้มข้นของไคโตซานในการต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคพืช นำไคโตซานไปใช้ในการปรับปรุงดิน, เคลือบเมล็ดพันธุ์ และฉีดพ่นให้กับใบพืช เพื่อป้องกันและควบคุมเชื้อสาเหตุโรค (Hadwiger, 1994) ในปี 1994 Benhamou *et al.* ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการลดการเกิดโรค Fusarium crown rot ของมะเขือเทศโดยใช้ไคโตซานที่ให้ทางดินและเคลือบเมล็ด อีกทั้งการ elicitation of pathogenesis-related protein ในต้นพืช ในปี 1998 Bhaskara *et al.* พบว่าไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญและการผลิต toxin ของเชื้อ *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* ได้ ในปี 1999 Bhaskara *et al.* พบว่าการใช้สารไคโตซานที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขึ้นไปกับเมล็ดข้าวสาลี สามารถช่วยเพิ่มความงอกของเมล็ด และสามารถควบคุมการเข้าทำลายของเชื้อ *Fusarium graminearum* ได้มากกว่า 50 % อีกทั้งยังช่วยเพิ่มความต้านทานให้กับต้นกล้าโดยสามารถเพิ่มปริมาณ phenolic และ lignin ให้มากขึ้นได้

Yu *et al.* (1998) ได้ทดลองใช้ chitosan S-II แخمเมล็ดข้าวเพื่อควบคุมเชื้อรา *F. moniliforme* โดยใช้ในอัตรา 0-2 กรัม/เมล็ด 1 กิโลกรัม พบว่าถ้าเพิ่มอัตราการใช้ให้สูงมากขึ้นจะช่วยควบคุมเชื้อได้มากขึ้น ทั้งนี้การควบคุมจะให้ผลดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับระยะเวลาการเจริญของต้นข้าวด้วย ผลจากการวิเคราะห์สรุปได้ว่า การควบคุมโรคนั้นจะแปรผันตามความเข้มข้นของสาร chitosan S-II และนอกจากนี้ Jiang *et al.* (1999) ยังได้ศึกษาการควบคุมเชื้อรา *F. moniliforme* โดยการخمเมล็ดใน chitosan S-II พบว่า chitosan S-II ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของข้าวเฉพาะเพียงการเข้าควบคุมการ

เข้าทำลายเชื้อสาเหตุเท่านั้น การแช่เมล็ดนั้นยังสามารถช่วยลดอัตราการเกิดโรค 91-98 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งยังส่งผลให้ผลผลิตที่ได้สูงกว่าชุดควบคุมถึง 34 เปอร์เซ็นต์

Yu and Chen (2002) ได้ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme* ด้วยไคโตซาน ผลการทดสอบพบว่าไคโตซานมีผลต่อการยอมให้สารผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา และยังกระตุ้นให้เกิดการร่วงไหลของโปรตีนภายในเซลล์ นอกจากนี้ไคโตซานยังส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ เช่น มีรูปร่างผิดปกติ บวม โคนงอ บิดเบี้ยวหรือแตกกิ่งก้านมากกว่าปกติ

### การใช้สารสกัดจากพืชในการควบคุมโรค (พัฒนา, 2537)

สารสกัด (Plant extract) ที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์สามารถจำแนกได้ 2 พวก คือ

1. สารสกัดจากพืชสมุนไพร เครื่องเทศและพืชหอม เป็นสารธรรมชาติที่มีอยู่ในพืช หมายถึงได้มาจากพืชโดยมิได้มีการเปลี่ยนแปลงสภาพโครงสร้างภายใน สามารถนำมาใช้รักษาโรคต่างๆ ได้ กลุ่มสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาได้แก่ alkaloid, glycosine, cyanogenic glycosine, flavonoid, gum, latex, saponin, steroid, tannin และน้ำมันหอมระเหย (essential oil)
2. สารสกัดจากพืชทั่วไป เป็นสารที่พืชสร้างขึ้น (Inducible substance) เมื่อถูกเชื้อสาเหตุเข้าทำลายหรือรุกราน สารนี้เรียกว่า phytoalexin ซึ่งเป็นสารที่มีพิษต่อจุลินทรีย์ มีคุณสมบัติต่อต้านการเจริญของเชื้อในพืช เช่น สาร pisatin จากถั่ว (pea) rishitin จากมันฝรั่ง phaseolin และ keritone จากถั่ว (bean)

สารสกัดจากพืชที่ใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชหรือ botanical pesticide มีคุณสมบัติที่ดีหลายประการคือ

- 1) สลายตัวง่าย ไม่มีพิษตกค้างในผลิตภัณฑ์และสิ่งแวดล้อม ทำให้มีผลกระทบต่อระบบนิเวศน้อย
- 2) ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์เลือดอุ่น หรือมีพิษน้อยกว่าสารเคมีสังเคราะห์
- 3) ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์หลายชนิด
- 4) มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกันเมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีสังเคราะห์
- 5) เลือกทำลายเฉพาะเจาะจง ศัตรูพืชมีความต้านทานสารเคมีน้อย
- 6) ต้นทุนในการผลิตต่ำ
- 7) ใช้เทคโนโลยีการผลิตแบบง่ายๆ
- 8) ใช้กับศัตรูในดินให้ประสิทธิภาพสูง และมีพิษตกค้างน้อย

### น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) (เบญจวรรณ, 2542)

น้ำมันหอมระเหยเป็นกลุ่มของสารอินทรีย์ ที่เกิดจากสารประกอบทางเคมีพวก Secondary metabolite พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด และในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ ผล กลีบเลี้ยง เป็นต้น ซึ่งเกิดจากขบวนการชีวสังเคราะห์ ที่มีเอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาเคมีด้วย น้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติเด่นชัดคือ มีกลิ่นระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ ส่วนใหญ่น้ำมันหอมระเหยจะไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์มีรสและกลิ่นเฉพาะตัว ซึ่งกลิ่นดังกล่าวไม่จำเป็นต้องหอมเสมอไป มีลักษณะเบาว่าน้ำ มีสภาวะเป็นทั้งของแข็ง กึ่งแข็งกึ่งเหลว และของเหลว แต่ส่วนใหญ่เป็นของเหลวมากกว่า ตามปกติน้ำมันหอมระเหยจะไม่มีสี แต่เมื่อทิ้งไว้นาน ๆ อาจจะถูกออกซิไดซ์ ทำให้สีเข้มขึ้นตั้งแต่ไม่มีสีจนถึงสีเหลืองหรือสีน้ำตาล (Hay, 1993) อีกทั้งมีค่าดัชนีหักเหของแสง (Refractive index) สูงถึงประมาณ 1.5 มีค่าความถ่วงจำเพาะอยู่ระหว่าง 0.842-1.172 และมีจุดเดือดระหว่าง 150–300 °C (อ้อมบุญ, 2536 อ้างโดย เบญจวรรณ, 2542)

### ผลของสารสกัดจากพืชในรูปน้ำมันหอมระเหยต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช

เกษม และจรัส (2529) และธารหทัย (2542) รายงานว่าสารสกัดจากกานพลูที่ระดับความเข้มข้น 1,000-10,000 ppm. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. oryzae* และ *A. terreus* สิริวิภา (2536; อ้างโดย สุนนทิพย์, 2534) สกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืช 18 ชนิด นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของพริก *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงและมะละกอบนอาหาร PDA ที่ระดับความเข้มข้น 0.2, 0.5 และ 1% พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอม ผักแขยง กะเพรา กานพลู สะระแหน่ และจันทร์เทศ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* ได้ 100% ทุกความเข้มข้น ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอม ผักแขยง กะเพรา กานพลู สะระแหน่ และไพลสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ 100% ทุกความเข้มข้นเช่นกัน

พัฒนา และคณะ (2537) ทำการศึกษาสารสกัดสมุนไพรต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยของหอมหัวใหญ่ โดยสกัดพืชในรูปของน้ำมันหอมระเหยจากพืช 21 ชนิด พบว่า กระเพราแดง กระเพราขาว ตะไคร้ โหระพา และยูคาลิปตัส มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ถึง 100% ส่วนกานพลูสามารถยับยั้งได้เพียง 93–96%

Chatterjee (1990) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศ 12 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อรา และยับยั้งการติดเชื้อจากเมล็ดข้าวโพดระหว่างการเก็บเกี่ยว พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขี้เหล็กและกานพลูที่ความเข้มข้น 30  $\mu\text{g/g}$  หรือ

สูงกว่า และไปยักที่ความเข้มข้น  $50 \mu\text{g/g}$  สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ด ได้แก่ *Aspergillus flavus*, *A. glaucus*, *A. niger* และ *A. sydoni* Ansari and Shrivastava (1991) ศึกษาอิทธิพลของน้ำมันยูคาลิปตัสต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสาร aflatoxin โดยเชื้อรา *A. flavus* ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.05 0.1 และ 0.2 มิลลิลิตรต่ออาหาร SMKY 50 มิลลิลิตร พบว่าน้ำมันยูคาลิปตัสในอาหาร SMYK ที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.1 มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษ ส่วนที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิลิตร ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญ แต่เมื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 9 วัน พบว่าสามารถยับยั้งการสร้างสารพิษได้ดีเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

Paster *et al.* (1995) ศึกษาอิทธิพลของน้ำมันหอมระเหยจากออริกานและไทม์ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus*, *A. niger* และ *A. ochraceus* พบว่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยจากออริกานที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราและการงอกของสปอร์คือ 0.2 มิลลิลิตรต่อลิตร และ 0.2 – 2.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนน้ำมันจากไทม์มีผลในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเพียงเล็กน้อยแต่มีความเป็นพิษต่อการงอกของสปอร์ โดยส่วนใหญ่เป็นสารพวก carvacol และ thymol นอกจากนี้สารดังกล่าวยังมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อที่ผิวของข้าวสาลี และมีฤทธิ์ต้านเชื้อที่ติดมากับเมล็ดในโรงเก็บอีกด้วย ส่วนในน้ำมันมัสตาร์ดยังสามารถยับยั้งเชื้อรา *Aphanomyces euteiches*, *Fusarium sambucinum*, *F. oxysporum* f. sp. *conglutinase* และ *Verticillium dahliae* (Hilary *et al.*, 1996) Basilio (1999) ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากออริกาน, มินต์, ไปยัก, เฉาก และคอเรียนเดอร์ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสารพิษโดยเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* บนอาหาร Yeast Extract Sucrose (YES) Broth พบว่าน้ำมันหอมระเหยออริกานและมินต์ให้ผลดีในการยับยั้งการเจริญและการสร้างสาร ochratoxin ได้ถึง 21 วัน โดยน้ำมันหอมระเหยจากไปยักให้ผลยับยั้งถึง 7 วันที่ความเข้มข้น 750 ppm ส่วนออริกานให้ผลยับยั้งถึง 14 วัน และมินต์ให้ผลยับยั้งการเจริญและการสร้างสาร ochratoxin-A จนถึง 14 วันที่ความเข้มข้น 500 ppm สำหรับฉากและคอเรียนเดอร์ไม่มีผลในการยับยั้งในระดับความเข้มข้นที่ทดสอบ

Rai *et al.* (1999) ศึกษาอิทธิพลของน้ำมันหอมระเหยจากพืช 18 ชนิด ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 5 ชนิด ได้แก่ *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. pallidoroseum*, *F. acuminatum* และ *F. chlamydosporum* โดยวิธี paper disc และ serial dilution technique เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี microzole พบว่าสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากยูคาลิปตัสแสดงผลในการยับยั้งเชื้อราสูงสุด ส่วนพืชอื่นที่ใส่ทดสอบ เช่น *Prosopis cineria* ไม่แสดงผลในการยับยั้งดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบว่า *F. oxysporum* มีความต้านทานต่อสารสกัดที่ทดสอบด้วย

Basilico and Basilico (1999) พบว่าน้ำมันหอมระเหยของมินต์และออริกาโนสามารถยับยั้งการสร้าง ochratoxin A ใน *A. ochraceus* และที่สำคัญน้ำมันหอมระเหยสามารถนำมาใช้เป็น seed protectant เพื่อยับยั้งการถ่ายทอดของเชื้อจุลินทรีย์ผ่านทางเมล็ด

Hammer *et al.* (1999) และ Dorman and Deans (2000) ศึกษาว่าน้ำมันหอมระเหยจาก กานพลู อบเชย สะระแหน่ ออริกาโน กระเทียม ตะไคร้หอม และไทม์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด ซึ่งมีรายงานที่สอดคล้องกันนี้ น้ำมันหอมระเหยจากไทม์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* และ *Penicillium chrysogenum* ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 100-1,000 ppm

รวีวรรณ (2546) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชบางชนิด ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงระยะเก็บเกี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าน้ำมันหอมจากตะไคร้และว่านน้ำ ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุได้ 100% และยังพบว่าสามารถใช้น้ำมันหอมระเหยร่วมกับน้ำร้อนในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

อนงค์นาค (2547) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืช 11 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำมันหอมระเหย พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอม ตะไคร้ต้น และเปปเปอร์มินต์ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm และ 2,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้ 100 % และยังพบว่าน้ำมันตะไคร้หอมและตะไคร้ต้นสามารถช่วยลดการติดเชื้อของเมล็ด เพิ่มเปอร์เซ็นต์ความออกของเมล็ด ความงอกโผล่พื้นดิน ต้นกล้าปกติ ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้ากะหล่ำปลีได้ดี