บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

จุลินทรีย์เอนโดไฟท์

จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ (Endophytic microbe) เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชทั้งพืชบกและพืชน้ำ โดยอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชโดยที่ไม่ก่อให้เกิดโรคต่อพืชเจ้าบ้าน ซึ่งจุลินทรีย์เอนโดไฟท์และต้นพืชจะอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (mutualistic symbiosis) โดยต้นพืชให้อาหารและที่อาศัยแก่จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ ในขณะเดียวกันจุลินทรีย์เอนโดไฟท์ก็สามารถสร้างสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหรือฮอร์โมนที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (Bacon and White, 2000)

จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ มีทั้งเชื้อราเอนโดไฟท์และแบคทีเรียเอนโดไฟท์โดยส่วนใหญ่เชื้อราเอนโดไฟท์จะได้รับความสนใจในการศึกษาที่กว้างขวางกว่า ทำให้มีข้อมูลของเชื้อราเอนโดไฟท์กับพืชอาศัยมากมาย มีรายงานว่าเชื้อราบางชนิดสามารถผลิตสารที่นำมาใช้ประโยชน์ในด้านเกษตรกรรมและเภสัชกรรม เช่น การสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ในกลุ่มของสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคในของคน สัตว์ หรือพืช เป็นต้น ส่วนแบคทีเรียเอนโดไฟท์ เป็นแบคทีเรียที่มีช่วงใดช่วงหนึ่งของวงชีวิตอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช ซึ่งอาจอยู่ในส่วนของราก ลำต้น กิ่ง หรือใบ แบคทีเรียชนิดนี้เป็นกลุ่มที่ได้รับการศึกษาน้อย มีรายงานถึงการผลิตสารในกลุ่มของสารปฏิชีวนะในแบคทีเรียเอนโดไฟท์น้อยมาก แต่จากคุณสมบัติที่เด่นของแบคทีเรีย คือมีการแบ่งตัวที่รวดเร็วกว่าเชื้อราจึงน่าที่จะนำคุณสมบัตินี้มาทำการศึกษาค้นคว้าเพื่อเชื่อมโยงความสัมพันธ์อื่น ๆ ต่อไปได้ (นิตยา และสายสมร, 2543)

แอคติโนมัยซีส (Waksman, 1967; Mendez *et al*., 1985)

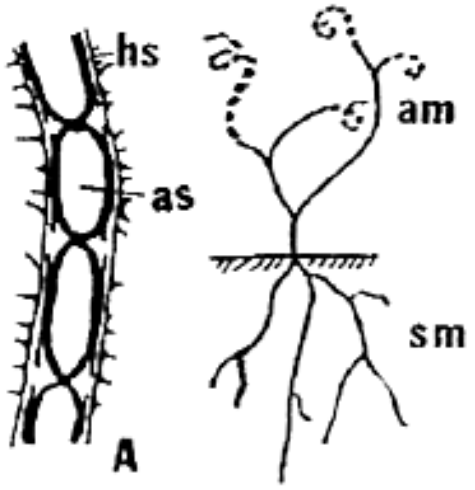
แอคติโนมัยซีส (actinomycete) เป็นกลุ่มของจุลินทรีย์เซลล์เดียว จัดเป็นแบคทีเรียกรัมบวกที่มีลักษณะเป็นเส้นสายคล้ายเส้นใย สามารถเจริญบนอาหารสังเคราะห์ชนิดแข็ง โดยสร้างเส้นใยที่เรียกว่า เส้นใยใต้ผิวอาหาร (substrate mycelium) และ เส้นใยเหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) โดย substrate mycelium จะเจริญบนผิวหน้าอาหารก่อน และแทงเส้นใยเข้าไปในอาหารเพื่อนำสารอาหารไปใช้ได้อย่างเต็มที่ เมื่อโคโลนีเจริญขึ้น aerial mycelium จะเกิดขึ้นมาภายหลังและยื่นไปในอากาศเพื่อทำหน้าที่หลัก คือ สืบพันธุ์ระหว่างที่โคโลนีเจริญ aerial mycelium จะมีขึ้นใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สภาวะพิเศษ เช่น ขาดน้ำ ขาดอาหาร หรือมีการสะสมของ inhibition compound ดังนั้น aerial mycelium จึงต้องมี hydrophobic sheath เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ

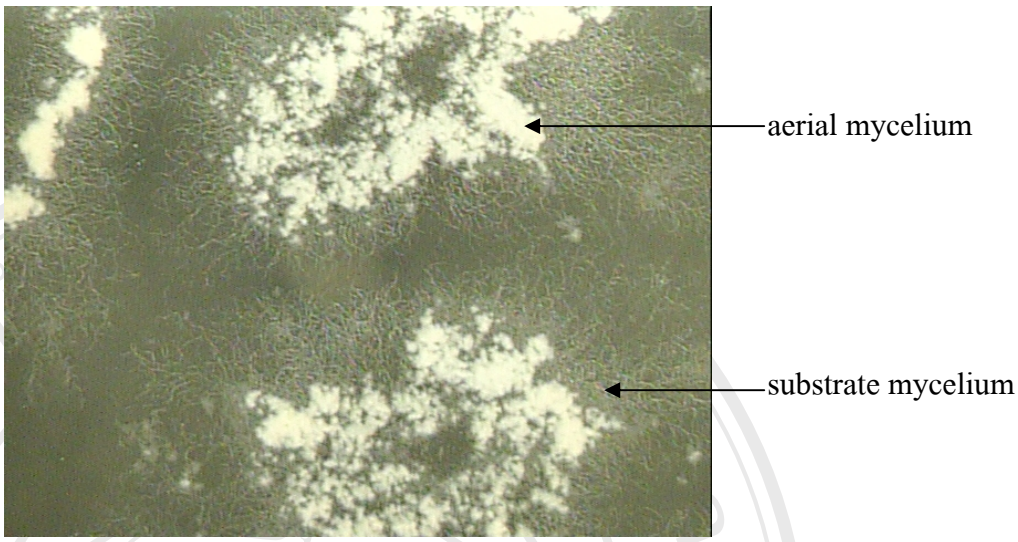
เส้นใยใต้ผิวอาหารจะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2-0.8 μm สีของเส้นใยมีตั้งแต่ สีขาว ใสไม่มีสี สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอ่อน แดง ชมพู ส้ม เขียว หรือสีดำ สามารถสร้างรงควัตถุได้ทั้งชนิดที่ละลายและไม่ละลายน้ำ ส่วนเส้นใยเหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 1.0-1.4 μm สามารถสร้างรงควัตถุได้หลายสี เช่น สีขาว เทา เหลือง ส้ม แดง ม่วง ฟ้า และสีเขียว โดยที่สีของรงควัตถุอาจเปลี่ยนแปลงไปขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการเจริญเติบโต และชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในปี ค.ศ. 1976 Kalakoutskii และ Agre ได้รายงานว่า แอคติโนมัยซีสสร้างผนังกั้นเส้นใยแบบต่างๆ ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ การแตกแขนงของเส้นใยส่วนใหญ่เป็นแบบ monopodial ซึ่งพบในสกุล *Streptomyces* การแตกแขนงแบบ dichotomous พบใน *Actinobifida* และการแตกแขนงแบบ verticillate พบใน *Streptoverticillium* แอคติโนมัยซีสส่วนใหญ่มีการสร้างเส้นใย 2 ชนิดคือ primary (substrate) mycelium และ secondary (aerial) mycelium ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ลักษณะการสร้างเส้นใยของ *Streptomyces* sp. มีการสร้าง anthrospore (as) ที่มี hydrophobic sheath (hs) หุ้ม ลักษณะสปอร์ต่อกันเป็นสายโซ่บน aerial mycelium (am) ซึ่งไม่พบใน substrate mycelium (sm)
ที่มา: William *et al.,* 1989

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 2 ลักษณะของเส้นใยเหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) และเส้นใยใต้ผิวอาหาร(substrate mycelium) ของเชื้อ *Streptomyces* sp.

ความแตกต่างระหว่าง aerial mycelium และ substrate mycelium (ภาพที่ 2)

1. aerial mycelium จะมีลักษณะของเส้นใยที่บางกว่า substrate mycelium
2. aerial mycelium มักจะมีสีเข้ม สร้างรงควัตถุที่ไม่ละลายน้ำรวมกันที่ผนังหุ้มชั้นนอก ปรากฏเป็นสีเทาเมื่อมีการสะท้อนแสง
3. มีการแตกกิ่งก้านสาขา (branching) น้อยกว่า substrate mycelium
4. ลักษณะของ aerial mycelium ส่วนใหญ่จะไม่มีการเจริญแบบแทงลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. มีการสร้างสปอร์โดยการหักหลุด (fragmentation) ของเส้นใย
6. aerial layer มีคุณสมบัติเป็น hydrophobic ปกติเซลล์จะติดสีกรัมบวก แต่ถ้ามีอายุมากอาจเป็นกรัมผันแปรได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ดรุณี (2541) กล่าวว่าลักษณะการเจริญของเชื้อบนอาหารแข็ง (surface culture) และในอาหารเหลว (submerge culture) มีลักษณะต่างกันคือ การเจริญในอาหารเหลวเซลล์จะเจริญจับกันเป็นกลุ่มของเส้นใยที่เรียกว่า pellets แต่สำหรับเชื้อบางชนิด เช่น *Nocardia coralline* เมื่อเจริญในอาหารเหลวที่มีการเขย่าให้อากาศ เชื้อจะมีลักษณะเป็นรูปแท่ง (rod) มีการแบ่งเซลล์แบบ binary fission และแบบ fragmentation เมื่อหยุดการเจริญ ในขณะที่การเจริญบนอาหารแข็งที่มีส่วนประกอบของอาหารเช่นเดียวกับในอาหารเหลว เชื้อเจริญแบบสร้างเส้นใย (filamentous form)

ในลักษณะที่ยึดติดแน่นกับผิวหน้าอาหารวุ้น และมีการหักหลุด (fragmentation) ของเส้นใยเมื่อมีอายุมากขึ้น โดยทั่วไปลักษณะการเจริญของเชื้อบนอาหารแข็งจะมีลักษณะของโคโลนีหลายแบบ ได้แก่

1. โคโลนีแบบหยาบหรือเรียบยึดเกาะกับผิวหน้าอาหารอย่างหลวมๆ สร้าง aerial mycelium ปกคลุมผิวหน้าอาหาร (มักพบแอคติโนมัยซีสที่มีการเจริญในระยะ transient mycelial มีการเจริญของ mycelia ที่ไม่แน่นอน)
2. โคโลนีไม่มี substrate mycelium มี aerial mycelium ที่ยึดเกาะกับอาหารด้วยส่วนพิเศษที่เรียกว่า holdfast
3. โคโลนีที่มีลักษณะเกาะกันคล้ายแผ่นหนัง สร้าง aerial mycelium ที่มีลักษณะค่อนข้างโป่งและยึดกับ substrate ด้วยเส้นใยที่แทงลงไปในอาหาร (substrate mycelium) สำหรับในอาหารเหลว เรียกเส้นใยที่บนผิวอาหารว่า generative mycelium และเส้นใยที่อยู่ในอาหารว่า vegetative mycelium

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแอคติโนมัยซีสโดยทั่วไปพบได้ 2 แบบ คือแบบ mycelium fragmentation และแบบ sporulation ในพวก *Streptomyces* spp. จะมีการสร้างเซลล์ที่มีลักษณะพิเศษตามความยาวของ aerial mycelium โดยเซลล์ขยายใหญ่และมีผนังหนาขึ้นเรียกว่า chlamydospore หรือ arthrospore มักพบแบบเดี่ยวๆ (single spore) หรือต่อกันเป็นสายโซ่ (chain) ในพวก *Actinoplane armenicus* สามารถสร้างสปอร์ได้ 2 แบบคือ สปอร์แบบมี flagella เรียกว่า zoospore ที่สามารถเคลื่อนที่ได้ และสร้างสปอร์แบบ arthrospore บน aerial mycelium ในการสร้างสปอร์แบบใดนั้นมักขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่เชื้อเจริญอยู่

แอคติโนมัยซีสต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตและเป็น chemoheterotrophic แต่บางชนิดมีคุณสมบัติเป็น anaerobe ซึ่งต่างจากเชื้อราและยีสต์ที่ไม่มีคุณสมบัตินี้ เมื่อเจริญในอาหารเหลวจะเจริญเป็นกลุ่มเป็นก้อน ไม่กระจัดกระจายเหมือนกับแบคทีเรีย ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะใส การเพิ่มจำนวนจะคล้ายกับเชื้อราคือเป็นแบบ apically ซึ่งต่างจากแบคทีเรียซึ่งมีการเพิ่มจำนวนเป็นแบบ exponential อัตราการเจริญของแอคติโนมัยซีสจะช้ากว่าแบคทีเรียและเชื้อรามาก โดยจะใช้เวลาประมาณ 7-14 วัน การสร้างโคโลนีที่สมบูรณ์มีทั้งเส้นใยใต้ผิวอาหารและเส้นใยเหนือผิวอาหารปรากฏให้เห็น สำหรับชนิดที่มีการเจริญช้า และสร้างเส้นใยทั้ง 2 แบบ อาจใช้ระยะเวลาถึง 1 เดือน แอคติโนมัยซีสมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยวิธีการ fission ของเส้นใยแล้วพัฒนาไปเป็น สปอร์ที่เรียกว่าโคนิเดีย (conidia) ที่มีลักษณะคล้ายกับสปอร์ของเชื้อรา คือมีการแตกหักของเส้นใย ซึ่ง สปอร์ดังกล่าวมีอยู่หลายลักษณะคือ เป็นสปอร์เดี่ยวๆ ที่ไม่เคลื่อนที่และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เคลื่อนที่ได้ หรือสปอร์คู่ สปอร์จะเรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ หรือบิดเป็นเกลียวคล้ายสปริง หรือเป็นถุงขนาดใหญ่ภายในบรรจุ สปอร์เรียกว่า สปอร์แรงเจีย (sporangia) แอคติโนมัยซีสมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับแบคทีเรียทั้งขนาดและรูปร่างโดยลักษณะสำคัญที่จัดแอคติโนมัยซีสเป็นแบคทีเรียที่แท้จริงคือมีเซลล์เป็นแบบ prokaryote และผนังเซลล์ประกอบด้วย peptidoglycan ไม่มีไคตินและเซลลูโลส แยกความแตกต่างของแต่ละสกุลได้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและองค์ประกอบของผนังเซลล์ นอกจากนั้นที่ผนังเซลล์ยังมีบริเวณที่จำเพาะสำหรับการเกาะติดของ bacteriophage ซึ่งเป็นลักษณะที่พบได้เฉพาะในแบคทีเรียเท่านั้นแต่ไม่พบในเชื้อรา แอคติโนมัยซีสส่วนใหญ่เป็นพวก aerobe บางสกุลเป็น facultative anaerobe หรือ obligate anaerobe บางสกุลเป็นเชื้อสาเหตุก่อโรคในมนุษย์ สัตว์ และพืช บางสกุลเป็น obligate symbiotic ในปมรากพืชและตรึงไนโตรเจนได้ เช่น สกุล *Frankia*

แอคติโนมัยซีสเป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลากหลาย ได้อาหารจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ (saprophytic) และชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophilic) (Porter, 1971) แอคติโนมัยซีสพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ในดิน น้ำ อากาศ อาหาร และในพืช แหล่งที่พบมากได้แก่บริเวณที่มีการสะสมสารอินทรีย์ เช่น ดินที่เพาะปลูก วัตถุเน่าเปื่อย โคลน ตะกอนใต้แม่น้ำ ใต้ทะเล ดินบริเวณน้ำพุร้อน หรือป่าชายเลน โดยจะพบแอคติโนมัยซีสจำนวนมากบริเวณดินชั้นบนและจะลดจำนวนลงในชั้นดินที่ลึกลงไป ในดินค่อนข้างเป็นกลาง หรือค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 6.5-8.0 โดยทั่วไปสามารถพบแอคติโนมัยซีสได้มากกว่า 100 สกุล นอกจากนี้ยังพบมากในดินบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นแอคติโนมัยซีส กลุ่มของ *Streptomycetes* และ *Nocardia* และในชิ้นส่วนของต้นพืช (endophytic actinomycetes) ก็ยังสามารถพบแอคติโนมัยซีสได้อีกหลายชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของพืช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การจัดจำแนกเชื้อแอคติโนมัยซีส

แอคติโนมัยซีสแบ่งออกได้เป็น 8 กลุ่มตาม Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) เริ่มตั้งแต่ กลุ่มที่ 22 ถึง กลุ่มที่ 29 (กลุ่มที่ 1 ถึง 21 เป็นกลุ่มของแบคทีเรีย) ซึ่งมีลักษณะที่สำคัญดังนี้

Group 22 Nocardioform Actinomycetes

เป็นกลุ่มที่มีลักษณะการสร้างเส้นใยสายสั้นๆ บางสกุลสร้าง aerial mycelium และอาจสร้างสปอร์เป็นสายโซ่ แยกความแตกต่างของแต่ละสกุลโดยใช้องค์ประกอบของผนังเซลล์ และสารกรดมายคอลิก (mycolic acid) ที่พบภายในเซลล์และลักษณะทางเคมีอื่นๆ ประกอบ แบ่งได้ 4 กลุ่มย่อย คือ

subgroup 1 Mycolic – containing bacteria

subgroup 2 *Pseudonocardia* และ related genera

subgroup 3 *Nocardioides* และ Terrabacter

subgroup 4 *Promicromonospora* และ related genera

Group 23 Genera with multilocular sporangia

แอคติโนมัยซีสในสกุลนี้สร้างเส้นใยที่มีผนังกั้นตามขวาง สปอร์ที่มีลักษณะทรงกลม อาจเคลื่อนที่ได้ เช่น *Dermatophilus* และ *Geodermmatophilus* หรือไม่เคลื่อนที่ เช่น *Frankia*

Group 24 Actinomycetes

สร้างเส้นใยที่คงทน (stable filament) อาจมี aerial mycelium น้อยถึงไม่มีเลย สร้างสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้อยู่ภายในสปอร์แรงเงีย เช่นในสกุล *Actinoplanes, Ampullariella, Dactylosporangiun* และ *Pilimelia* หรืออาจสร้างสปอร์เดี่ยวๆ ไม่เคลื่อนที่ เช่น *Micromonospora* หรือในบางกรณีสร้าง สปอร์ที่เป็นสายโซ่สั้นๆ เช่น *Catrllaspola* ผนังเซลล์ของแอคติโนมัยซีสกลุ่มนี้ ประกอบด้วยสาร diaminopimelic acid แบบ *meso* – DAP และ glycine เมื่อวิเคราะห์น้ำตาลพบว่าเป็นน้ำตาลพวก arabinose และ xylose

Group 25 Streptomycetes and related genera

เป็นกลุ่มที่มีลักษณะแตกต่างกัน มีผนังเซลล์ที่ประกอบไปด้วยสาร aminopimelic acid เป็นแบบ *L* – DAP และ glycine, aerial mycelium สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายโซ่ เช่นในสกุล *Streptomyces* และ *Streptoverticillium* ส่วนสกุลอื่นๆ เช่น *Intrasporangium, Kineosporia* และ *Sporichthya* สร้าง aerial mycelium น้อยหรือไม่สร้างเลย และสปอร์มีหลายรูปแบบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Group 26 Madolomycetes

มีการสร้างเส้นใยที่คงทนและสร้างสปอร์แบบไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เช่น ในสกุล *Microbispora* (สร้าง 2 spore/chain) *Microtetraspora* (สร้าง 4 spore/chain) และ *Actinomadura* (มากกว่า 4 spore/chain) ส่วนสกุลอื่นๆ สร้างสปอร์ในสปอร์แรงเจีย พบใน *Streptosporangium* ผนังเซลล์ของแอคติโนมัยซีสในกลุ่มนี้ ประกอบด้วยสาร *meso* – DAP แอคติโนมัยซีสในกลุ่มนี้สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มย่อย คือ

subgroup 1 *Streptosporangium* and related genera

subgroup 2 *Actinomadura*

Group 27 Thermomonospora and related genera

มี aerial mycelium เป็นเส้นใยแบบคงทน สร้างสปอร์เป็นคู่ ซึ่งอยู่เดี่ยวๆ ทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดี เช่น แอคติโนมัยซีสในกลุ่ม *Thermomonospora* กลุ่มที่สร้างสปอร์เป็นสายโซ่ พบใน *Actinosynnema* และ *Nocardiopsis* ในบางกลุ่มสร้างโครงสร้างที่คล้ายสปอร์แรงเจีย พบใน *Streptoalloteichus* ผนังเซลล์ของแอคติโนมัยซีสในกลุ่มนี้ประกอบด้วย *meso* – DAP ไม่พบ amino acid และน้ำตาล

Group 28 Thermoactiomycetes

มีการสร้างเส้นใยที่คงทน และสร้างสปอร์แบบเดี่ยวๆ บน aerial mycelium และ substract filament แอคติโนมัยซีสในกลุ่มนี้พบเพียงแค่สกุลเดียวคือ *Thermoactinomyces* ทุกสปีชีส์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง (thermophilic) ผนังเซลล์ประกอบด้วยสาร aminopimelic acid แบบ *meso* – DAP แต่ไม่พบสาร amino acid หรือ น้ำตาลชนิดอื่นๆ

Group 29 Other genera

แอคติโนมัยซีสในกลุ่มนี้มี 3 สกุล ซึ่งมีลักษณะไม่เหมือนกับแอคติโนมัยซีสในกลุ่มอื่นๆ สร้าง aerial mycelium ที่มีสปอร์เป็นสายโซ่ ไม่พบสาร mycolic acid ในเซลล์ ได้แก่ *Glycomyces, Kitasatosporia* และ *Saccharotrix*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีส

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีส (Lechevalier, 1968 อ้างโดย Stanley *et al*., 1989) ที่ใช้ในการศึกษา มีดังต่อไปนี้

1. เส้นใย (mycelium) แบ่งออกเป็นเส้นใยแบบคงสภาพและเส้นใยที่สามารถแตกหักย่อยสลายได้ ถ้ามีเส้นใยที่มีการแตกหักและมีอวัยวะที่ใช้ในการเคลื่อนที่จัดเป็น *Oerskovia* spp. หรือมีการสร้างทั้ง substrate mycelium และ aerial mycelium ซึ่งพบได้ทั่วไป หรือเส้นใยอาจมีการสร้างเส้นใยเพียงแต่อย่างใดอย่างหนึ่ง ในบางสกุลอาจมีการสร้าง vesicle ภายในเส้นใยซึ่งไม่ใช่สปอร์บนเส้นใย

2. โคนิเดีย (conidia) หมายถึง สปอร์ที่เกิดจากการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศไม่ใช่ chlamydospore หรือ sporangiospore โดยสามารถแบ่งออกเป็น

a. การสร้างโคนิเดียเดี่ยวๆ พบในหลาย genus เช่นใน *Thermoactinomyces* สร้างเอนโดสปอร์ที่ทนต่ออุณหภูมิสูง พบใน genus *Saccharorionospora*
b. การสร้างโคนิเดียต่อกันเป็นคู่ พบใน genus *Microbispora* สร้างเฉพาะบน aerial mycelium เท่านั้น ใน *Faenia* spp. อาจมีการสร้างโคนิเดีย ทั้งบน aerial และ substrate mycelium
c. สร้างโคนิเดียเป็นสายสั้นๆ ต่อกันเป็นสายไม่เกิน 20 สปอร์ต่อสาย พบในสกุล *Nocardia, Pseudonocardia, Faenia, Saccharorionospora, Streptoverticillium, Sporichthya, Actinomadura, Microtetraspora, Streptoalloteichus* และ *Glycomyces*
d. สร้างโคนิเดียเป็นสายยาว พบใน *Nocardia, Nocardioidddes, Pseudonocadia, Saccharopolyspora, Actinopolyspara, Streptomyces, Streptoverticillium, Actinosynnema, Nocardiopsis, Streptoalloteichus, Kibdelosporangium,Kitasatosporia, Glycomyces, Sccharothrix* และ *Amycolatopsis*

3. สปอร์แรงเจีย (sporangia) ภายในบรรจุสปอร์ที่เกิดจากการพัฒนาของผนังเซลล์ใน aerial mycelium พบในสกุล *Actinoplanes, Ampullariella, Pilimelia, Dactylosporangium, Planobispora, Planomonospara, Spirillospora* และ *Streptosporangium*

4. โครงสร้างอื่นๆ ที่แอคติโนมัยซีสสร้างขึ้น ในบางสกุลอาจสร้าง synnemata และสร้างสปอร์ อยู่ภายใน พบใน genus *Actinosynnema* การสร้างโครงสร้างที่เรียกว่า multilocular

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

sporangia ซึ่งมีสายของสปอร์ขดเป็นวงม้วนอยู่ภายใน พบใน *Kibdelosporangium* ส่วน *Streptomyces* มีการสร้างโครงสร้างที่เรียกว่า sclerotia คล้ายกับในเชื้อรา

การตรวจวิเคราะห์ทางเคมีซึ่งมีความจำเป็นเพื่อใช้แยกความแตกต่างระหว่างเชื้อแอคติโนมัยซีส ที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาคล้ายกันหรือในกรณีที่ไม่มีการสร้างสปอร์ ความแตกต่างกันขององค์ประกอบผนังเซลล์ (cell wall type) และ whole cell sugar pattern สามารถตรวจสอบได้โดย thin layer chromatography

การวิเคราะห์สาร manaquinone โดยวิธี gas chromatography และการวิเคราะห์ phospholipid composition พบว่ามี 5 แบบ คือ

PI ไม่มี nitrogenous phospholipid

PII มี phosphatidylethanolamine

PIII มี phosphatidylcholine

PIV มี phosphatidylethanolamine และ glucosamine containing phospholipid

PV มี glucosamine containing phospholipids

การแยกเชื้อบริสุทธิ์และการจำแนกชนิดของแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์

การแยกแอคติโนมัยซีสบนอาหารที่จำเพาะผสมร่วมกับสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรียบางกลุ่มที่ไม่ต้องการ เพื่อให้เชื้อแอคติโนมัยซีสซึ่งเจริญเติบโตช้ากว่าที่อยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชสามารถเจริญออกมา การจำแนกชนิดของแอคติโนมัยซีสโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้แก่ลักษณะโคโลนี โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า และการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจดูลักษณะ การสร้างสปอร์ สามารถจำแนกเชื้อแอคติโนมัยซีสในระดับสกุลได้ ส่วนการจำแนกในระดับสปีชีส์ พบว่าต้องอาศัยการตรวจสอบในหลายๆ ด้านประกอบกัน ได้แก่ ลักษณะกรดอะมิโนภายในผนังเซลล์ ลักษณะของน้ำตาลใน whole cell hydrolysate และ การตรวจในระดับโมเลกุลเป็นต้น (Lechevalier, 1968 อ้างโดย Holt *et al.*, 1994)

Mirza *et al.* (1991) แยก *Frankia* sp. จากบริเวณปมรากของพืชหลายชนิด จำแนกโดยการศึกษา whole cell fatty acid ใน *Frankia* ที่แยกได้จาก *Coriaria nepalensis* และ *Datisca cannabina* พบว่าลักษณะรูปแบบ fatty acid เท่ากับ 15:0, 15:1, 16:0 iso, 17:0 และ 17:1 เหมือนกับใน *Frankia* ที่แยกได้จากพืชชนิดต่างๆ คือ alnus, casauriana, colletia, comptonia, elaeagnus และ hippophae

Sardi *et al.* (1992) แยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากรากพืชจำนวน 28 ชนิด บนอาหาร starch casein medium ที่ผสมด้วยสารปฏิชีวนะ nystatin และ cycloheximide พบว่าเป็นเชื้อ *Streptomyces*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

มากที่สุด 482 ไอโซเลทรองลงมาคือ *Nocardia, Strepverticillum, Micromonospora* และ *Streptosporangium* จำนวน 4 2 1 และ 1 ไอโซเลทตามลำดับ

Takao *et al.* (1995) แยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากใบของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว 8 ชนิด บนอาหาร salt agar medium ที่ผสม yeast โดยผสมกับสารปฏิชีวนะได้แก่ nystatin และ cycloheximide พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสที่ได้ คือ *Streptomyces, Nocardia, Micromonospora, Actinomadura, Streptosporangium, Actinoplanes* และ *Thermomonospora*

Wu and Chen (1995) ได้จัดจำแนกและบ่งบอกชนิดของเชื้อแอคติโนมัยซีสซึ่งแยกได้จากตัวอย่างดินที่เก็บในประเทศไต้หวัน โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยการเลี้ยงแอคติโนมัยซีสที่แยกได้บนอาหาร czapek – dox agar, nutrient agar, sabouraud agar และ ISP medium เมื่อแอคติโนมัยซีสเจริญได้ 7, 14 และ 21 วันตามลำดับ โดยทำการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM) และศึกษาลักษณะทางชีวเคมี การใช้คาร์โบไฮเดรต โดยเลี้ยงในอาหาร carbon nutrient medium การตรวจสอบสารประกอบในผนังเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีสและการศึกษา DNA– DNA Homology วิธีการดังกล่าวช่วยให้สามารถจำแนกชนิดของเชื้อได้คือ *Streptomyces toxytricini*

Kundo *et al.* (1998) แยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากตัวอย่างพืช จากนั้นทำการจำแนกโดยศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยา ส่วนประกอบในผนังเซลล์ และรูปแบบของน้ำตาลใน whole – cell และได้ยืนยันผลการจำแนกชนิดโดย phylogenetic analysis ในส่วน 10s RNA และ DNA – DNA hybridization พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสที่ได้เป็นสปีชีส์ใหม่คือจัดอยู่ในสกุล *Kineospitia* ได้แก่ *K. mukuniensis* sp. nov., *K. succinea* sp. nov., *K. rhizophila* sp. nov. และ *K. rhamnosa* sp. nov.

Shimisu *et al.* (2000) แยกแอคติโนมัยซีสจากราก ต้น และใบของต้น rhododendron บนอาหาร IMA–2 ที่ผสมสารปฏิชีวนะ ได้แก่ amphotericin B, riphampin – viccillin solution และ heritage หลังจากนั้นบ่มเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3–4 สัปดาห์ พบเชื้อแอคติโนมัยซีสจำนวน 10 ไอโซเลท จากนั้นทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคของ rhododendron จากการทดลองพบว่า เชื้อไอโซเลท R–5 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญ *Phytophthora cinnamoni* และ *Pestalotiopsis sydowiana* ดีที่สุดโดยสามารถสร้าง clear zone ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ ไอโซเลท R–5 และจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ chemotaxonony พบว่าเป็นเชื้อแอคติโนมัยซีสในสกุล *Streptomyces*

Jonete *et al.* (2000) แยกแอคติโนมัยซีสจากใบและรากของข้าวโพด พบเชื้อแอคติโนมัยซีสจำนวน 31 ไอโซเลทจากใบ และ 22 ไอโซเลทจากราก เมื่อทำการจัดจำแนกพบว่าสามารถจัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* และ *Streptosporangium* ซึ่งจากจำนวนไอโซเลททั้งหมด พบว่ามีเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

แอคติโนมัยซีสประมาณ 43.4 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อทั้งหมด สามารถสร้างสารปฏิชีวนะต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ที่ใช้ทดสอบ

Berg *et al.* (2000) แยกเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บริเวณรากของสตรอเบอรี่ 2 สายพันธุ์ คือ *Fragaria viridis* และ *F. xananassa* บนอาหาร King' B medium และ glycerol- arginine agar เพื่อคัดเลือกหาเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Verticillium dahliae* พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อที่มีกลไกการยับยั้งเชื้อ *V. dahliae* ได้จำนวน 300 ไอโซเลท จาก *F. xananassa* และ 20 ไอโซเลทจาก *F. viridis* เมื่อจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และ ribosomal DNA restriction analysis (RDRA) พบว่าเป็นเชื้อ *Streptomyces albidoflavus* S1 และ *Pseudomonas fluorescens* P6 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยว *Verticillium* ในเรือนเพาะชำ

Wang *et al.* (2001) แยกแอคติโนมัยซีสจากดินในประเทศสิงคโปร์ จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบเชื้อแอคติโนมัยซีสสปีชีส์ใหม่ ซึ่งทนต่อความเป็นด่างและเจริญได้ดีในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 สายพันธุ์ เมื่อศึกษาลักษณะทางเคมีพบว่าผนังเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเป็นแบบ LL-diaminopimelic acid, menaquinone เป็นแบบ type PI, phospholipid และ MK-9(H6) การวิเคราะห์ 16s rDNA sequence พบว่าสามารถจำแนกเชื้อแอคติโนมัยซีส ชนิดนี้อยู่ในตระกูล (family) Nacardioidaceae สกุล *Actinopolymorpha singaporensis*

Otogura *et al.* (2001) แยก *Actinokineospora* spp. จากดินและตัวอย่างพืช โดยนำตัวอย่างดินและพืชไปรมด้วยสารแคลเซียมคาร์บอเนตเพื่อเพิ่มปริมาณของ *Actinokineospora* spp.จากนั้นผึ่งให้แห้งแล้วแช่ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์เพื่อแยกเอา zoospore ของเชื้อออกมา นำ suspension ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร humic acid vitamin agar ที่ผสมสารปฏิชีวนะคือ fradiomycin, kanamycin, nalidixic acid และ trimethoprim พบว่าสามารถแยกเชื้อ *Actinikineospora* spp. ได้ 17 ไอโซเลท

Stamford *et al.* (2001) แยกแอคติโนมัยซีสจากมันแกว ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ศึกษาองค์ประกอบของผนังเซลล์ และลำดับเบสของ 16s rDNA ตรวจการผลิต paclitaxel โดยวิธี monoclonal antibody assay พบว่าสามารถจำแนกและจัดอยู่ในสกุล *Nocardiopsis* sp. ซึ่งเป็นเชื้อสกุลเดียวกับเชื้อแอคติโนมัยซีสที่พบในพืช *Taxus baccata*

Caruso *et al.* (2002) แยกเชื้อราเอนโดไฟท์และแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ จากเนื้อเยื่อภายในกิ่ง ราก และใบของพืชในสกุล *Taxus* 22 ชนิด สามารถพบเชื้อราจำนวนทั้งสิ้น 150 ไอโซเลท และ แอคติโนมัยซีส 71 ไอโซเลท ต่อมาทำการคัดเลือกความสามารถในการผลิตสาร taxane เชื้อเอนโดไฟท์ที่แยกได้ทั้งหมดในอาหารเหลว และตรวจสอบการผลิตสารดังกล่าวโดยวิธี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Competitive Inhibition Enzyme Immunoassay (CIEIA) พบว่า สามารถตรวจสอบพบเชื้อราที่สามารถผลิตสาร taxane ได้ 15 ไอโซเลท และ แอคติโนมัยซีส 10 ไอโซเลท

Chris (2002) แยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากพืชในประเทศออสเตรเลีย พบเชื้อแอคติโนมัยซีสจากพืชที่นำมาทดสอบจำนวนมาก ต่อมาได้ทำการศึกษาความสามารถในการสร้างสารเมแทบอไลต์ (metabolite) พบว่า เชื้อ แอคติโนมัยซีสที่ได้ สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อทั้งหมด และ 9 เปอร์เซ็นต์ มีการสร้างสารที่ช่วยส่งเสริมการเจริญและสร้างเสริมความแข็งแรงให้กับต้นพืช

วันวิสาข์ (2546) แยกเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์จากต้นข้าวบนอาหาร IMA-2 พบว่าสามารถแยกได้ทั้งสิ้นรวม 16 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยซีสมาทดสอบประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชต่างๆ ได้แก่ *Pyricularia oryzae*, *Colletotrichum gloeosporioides, Phytophthora infestans, Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* และ *Rhizoctonia solani* พบว่าเชื้อ *Streptomyces* ไอโซเลท MN 2 มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อราที่ใช้ทดสอบได้ดีที่สุด

ความสำคัญของแอคติโนมัยซีส

แอคติโนมัยซีส เป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางการแพทย์และเภสัชกรรม เนื่องจากสามารถผลิตสารเมตาโบไลท์ได้หลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะที่มีความสำคัญทางการเกษตรและอุตสาหกรรม อีกทั้งยังมีความสำคัญทางระบบนิเวศวิทยาอีกด้วย จึงมีผู้สนใจทำการศึกษากันอย่างกว้างขวาง

Walter and Crawford (1995) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces lydicus* WYEC108 ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและเมล็ดเน่าของข้าวโพด พบว่า *Streptomyces lydicus* WYEC108 มีความสามารถในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด โดยสามารถสร้างสาร extracellular antifungal metabolite เมื่อทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการ พบว่า *Streptomyces lydicus* WYEC108 สามารถยับยั้งการงอกของ oospore ของเชื้อรา *Pythium ultimum* นอกจากนี้ยังสามารถทำลายผนังเซลล์ของเส้นใยเชื้อราได้ ดังนั้นเชื้อแอคติโนมัยซีสชนิดนี้จึงสามารถใช้เป็นจุลินทรีย์ชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium ultimum* ได้

Cecilia and Deborah (1996) ศึกษาการควบคุมโรคเน่าคอดินในต้นกล้าถั่วโดยใช้เชื้อ *Streptomyces* strain 93 เป็นเชื้อปฏิปักษ์ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินของต้นกล้าได้ในสภาพห้องปฏิบัติการและไม่มีผลต่อการเจริญของ *Rhizobium meliloti* ที่อาศัยอยู่ภายในปมรากถั่ว โดยในการทดลองได้ศึกษาโดยแบ่งการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็น คลุกเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* เพียงอย่างเดียวและการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* ร่วมกับสารฆ่าเชื้อรา จากการทดลองพบว่า การอยู่รอดของต้นกล้าและความสมบูรณ์ของต้นกล้าในวิธีที่มีการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* ร่วมกับสารฆ่าเชื้อราสูงกว่าในกรรมวิธีที่มีการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* เพียงอย่างเดียว

Marja (2000) ศึกษาเชื้อ *Streptomyces griseoviridis* ในการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดพบว่า *S. griseoviridis* มีกลไกยับยั้งการเจริญของเชื้อราในหลายๆ รูปแบบ ได้แก่

1. การเจริญใน rhizosphere ของพืชและแย่งอาหารและสารต่างๆ ที่พืชปล่อยออกเป็นการแข่งขันการเจริญกับเชื้อสาเหตุโรคพืชอื่นๆ
2. hyperparasitism โดย *S. griseoviridis* สามารถผลิตเอนไซม์ chitinase ที่สามารถย่อยสลาย chitin ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์เชื้อรา และเจริญแทงทะลุผ่านเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา ทำให้เชื้อรานั้นๆ ถูกทำลายได้
3. *S. griseoviridis* สร้างสาร aromatic heptaene polyene (antifungal) ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช
4. *S. griseoviridis* ผลิตฮอร์โมน auxin (ß-indole–3–acetic acid, IAA) ที่กระตุ้นการเจริญ ความแข็งแรง และการเพิ่มผลผลิตของพืช

Gomes *et al.* (2000) สกัดเอนไซม์ที่สร้างจากแอคติโนมัยซีสที่แยกจากดินในเมือง Cerrado พบว่าเชื้อ *Streptomyces* ที่แยกได้สามารถสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับ endochitinolytic activity โดย *Streptomyces* 3 สายพันธุ์ สร้างเอนไซม์ที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช สามารถพัฒนาใช้เป็น biocontrol agent ที่มีประสิทธิภาพได้

Abd-Allah (2001) ศึกษาประสิทธิภาพของ *Streptomyces plicatus* ในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช โดยแยกเชื้อจากดินจำนวน 372 ไอโซเลท จากนั้นคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไคติเนส พบว่าเชื้อ *S. plicatus* เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุด เมื่อเลี้ยงเชื้อดังกล่าวในอาหารเหลวที่มีสารไคติน ซูโครส และแคลเซียม เป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน เป็นเวลา 3 วันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ การยืดตัวของ germ tube และการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Alternaria alternata* และ *Verticillium alboatrum* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว stem canker และโรคเหี่ยว *Verticillium* ของมะเขือเทศได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Chris (2002) แยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากพืชในประเทศออสเตรเลียและพบว่าเชื้อชนิดนี้มีความสามารถในการผลิต secondary metabolite ที่มีผลในการป้องกันต้นข้าวสาลีจากเชื้อสาเหตุโรคในระหว่างการเจริญจนถึงการเก็บเกี่ยว

Getha and Vikineswary (2002) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของ *Streptomyces violaceusniger* strain G10 ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 จากการทดลองในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยวิธี dual method พบการสร้าง clear zone บริเวณที่เส้นใยของเชื้อราที่เจริญแผ่ออกมาในระหว่างเชื้อทั้งสองชนิดนั้น เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบเส้นใยของเชื้อราถูกย่อยสลาย จากนั้นเลี้ยงเชื้อ *S. violaceusniger* strain G10 ในอาหารเหลวร่วมกับเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 พบว่าเส้นใยของเชื้อราดังกล่าว แสดงอาการผิดปกติ ไม่มีการเจริญ จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าเชื้อ *S. violaceusniger* strain G10 มีความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด รวมทั้งเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคเหี่ยวของกล้วยได้

Nishimura *et al.* (2002) แยกเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ จากใบ ต้น และรากของพืช mountain laurel (*Kalmia latifolia* L.)ได้จำนวน 73 ไอโซเลท และคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด ซึ่งได้แก่เชื้อ *Streptomyces* sp. AOK-30 อันเนื่องมาจาก

1. เป็นเชื้อที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชในตระกูล Ericaceae ได้หลายชนิด
2. สามารถเจริญได้ดีบนอาหารกระตุ้นการเกิดรากที่เลี้ยงร่วมกับเนื้อเยื่อพืช mountain laurel (*Kalmia latifolia* L.)
3. ต้นกล้าของพืชที่มีเชื้อ *Streptomyces* sp. AOK-30 สามารถต้านทานต่อโรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *Pestalotia* sp. ได้โดยพบว่าไม่เกิดอาการรูปร่างผิดปกติ แคระแกรน ใบด่าง และใบร่วง

Pilunthana (2003) แยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากใบ ลำต้นและรากของมะเขือเทศ แตงกวา ถั่วลันเตา และ *Vicia sativa* L. ได้ 20 ไอโซเลท และนำไปทดสอบความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช พบว่าเชื้อที่แยกได้จากรากของถั่วลันเตา ไอโซเลท P-4 มีความสามารถในการยับยั้งได้ดีที่สุดและเชื้อดังกล่าวจัดอยู่ในสกุล *Streptomyces*

วันวิสาข์ (2546) แยกเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์จากต้นข้าวบนอาหาร IMA-2 พบว่าสามารถแยกได้ทั้งสิ้นรวม 16 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยซีสมาทดสอบประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้แก่ *Pyricularia oryzae*, *Colletotrichum gloeosporioides,*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Phytophthora infestans, Fusarium oxysporum f. sp. *cucumerinum* และ *Rhizoctonia solani* พบว่าเชื้อ *Streptomyces* ไอโซเลท MN 2 มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อราที่ใช้ทดสอบได้ดีที่สุด และจากการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวระยะต้นกล้า พบว่าเชื้อ *Streptomyces* ไอโซเลท MN 2 สามารถยับยั้งโรคใบไหม้ของข้าวได้โดยมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบถูกทำลายน้อยกว่าต้นกล้าข้าวชุดควบคุม

สารปฏิชีวนะ

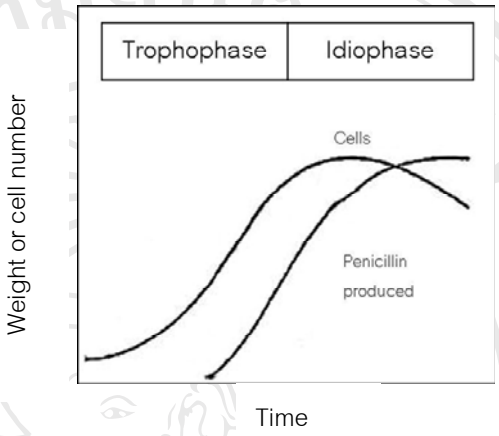
สารปฏิชีวนะ (antibiotics) หมายถึง สารประกอบที่ผลิตหรือสร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์ชนิดใดชนิดหนึ่ง อาจเป็น แบคทีเรีย เชื้อรา หรือแอคติโนมัยซีท สารที่ผลิตขึ้นได้นี้สามารถไปยับยั้งหรือชะลอการเจริญเติบโตของจุลชีพกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง หรือไปมีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์กลุ่มนั้น ๆ ได้โดยใช้ในปริมาณน้อย ดังนั้นยาปฏิชีวนะเป็นยาที่จัดอยู่ในกลุ่มยาต้านจุลชีพที่แยกได้จากจุลชีพนั่นเอง (มาลิน, 2540) ปัจจุบันจะรวมถึงสารกึ่งสังเคราะห์ (สารกึ่งสังเคราะห์ หมายถึง สารที่ใช้วิธีการสังเคราะห์ทางเคมีร่วมกับวิธีผลิตตามธรรมชาติ) ที่ใช้ยาปฏิชีวนะเป็นต้นแบบด้วย (ดวงพร, 2530)

สารปฏิชีวนะที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นเป็นสารเมแทบอไลต์ขั้นที่สอง (secondary metabolite) ซึ่งเป็นสารเมแทบอไลต์ที่ไม่มีความจำเป็นต่อการเจริญ แต่ถ้ามีอาจก่อให้เกิดประโยชน์ต่อเซลล์ที่ผลิต ส่วนใหญ่จะสร้างในช่วง late log phase จนถึงช่วง stationary phase อันเป็นช่วงที่จุลินทรีย์เริ่มมีการเจริญคงที่ สารปฏิชีวนะที่ถูกผลิตขึ้นในช่วงนี้มีประโยชน์เพราะยับยั้งการสร้างสารโมเลกุลใหญ่บางชนิดในเซลล์ได้ อันจะช่วยรักษาพลังงานส่วนหนึ่งไว้ นอกจากนี้ถ้าอยู่ร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นในสภาวะแวดล้อมที่ต้องแก่งแย่งอาหาร สารที่สร้างขึ้นจะช่วยยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ที่อยู่รอบข้างบางชนิดลงไปได้ จึงช่วยยืดชีวิตของจุลินทรีย์ให้อยู่นานขึ้น (ชนิกานต์, 2544)

การสร้างสารเมแทบอไลต์ขั้นที่สองที่สำคัญของแอคติโนมัยซีส คือ สารปฏิชีวนะ พบว่าเชื้อมีการสร้างขึ้นในช่วง idiophase ของการเจริญ โดยสารที่สร้างขึ้นนี้ไม่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเจริญของเซลล์ จัดเป็นสารที่มีคุณสมบัติพิเศษจำเพาะต่อเชื้อบางชนิดเท่านั้น ดังนั้นจึงพบว่ามีเชื้อเพียงบางกลุ่มเท่านั้นที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ โดยมักจะมีการสร้างในรูปของสารประกอบที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน สามารถจัดจำแนกเป็นกลุ่มตามลักษณะที่คล้ายคลึงกันออกเป็น family หรือ series ในการเลี้ยงเชื้อเพื่อการสร้างสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่มักเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวแบบ batch culture โดยการเพาะเชื้อในลักษณะของ spore suspension หรือ seed culture (vegetative) ลงในอาหาร ในระยะแรกเชื้อมีการปรับตัวและมีการแบ่งเซลล์อย่างช้าๆ (lap phase) ต่อมาเชื้อจะมี metabolism และอัตราการเจริญสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว (acceleration phase) จนกระทั่งถึงจุดสูงสุดของการเจริญ (exponential phase) อาหารถูกใช้ไปอย่างรวดเร็ว ปริมาณอาหารที่ลดลงเป็นผลให้เกิดการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สะสม biochemical intermediate บางชนิด ทำให้อัตราการเจริญถูกจำกัด (deceleration phase) เชื้อเริ่มมีการเปลี่ยน biochemical pathway ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารปฏิชีวนะออกมา (Isaac and Jennings, 1995) ดังภาพที่ 3 แสดงระยะที่เชื้อมีการสร้างสารปฏิชีวนะ



ภาพที่ 3 ระยะที่มีการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อในสภาวะการเลี้ยงเชื้อแบบ batch culture (Tortora *et al.,* 1992)

ชนิกานต์ (2544) รายงานว่าสารปฏิชีวนะที่เชื้อสร้างขึ้นพบว่ามีการสะสมอยู่ที่บริเวณ mycelium หรือสะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อหรืออาจพบได้ทั้งในบริเวณ mycelium และในอาหารเลี้ยง สารปฏิชีวนะที่เชื้อสร้างขึ้นมีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะที่สามารถละลายน้ำได้ (water soluble antibiotic) และสารปฏิชีวนะที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ (water insoluble antibiotic) เช่นสารปฏิชีวนะในกลุ่ม polyene จัดเป็นสารปฏิชีวนะที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ โดยมักพบในรูปของผลึกสะสมที่บริเวณผิวของเซลล์หรือในอาหารเลี้ยงเชื้อ คุณสมบัติที่ปรากฏมักจะขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อและสภาพแวดล้อมที่เชื้อเจริญ สำหรับบทบาทหน้าที่ที่แท้จริงของสารปฏิชีวนะยังไม่เป็นที่เข้าใจอย่างแน่ชัด มีข้อเสนอแนะมากมายเกี่ยวกับบทบาทและหน้าที่ของปฏิชีวนะที่เชื้อสร้างขึ้นซึ่งได้แก่

1. สารปฏิชีวนะที่เชื้อสร้างขึ้นเป็นวิวัฒนาการอันหนึ่งของเชื้อในการดำรงชีพ
2. เป็นของเสียที่เชื้อปล่อยออกมาในขบวนการ metabolism
3. เป็นแหล่งที่เชื้อใช้สำหรับเก็บอาหาร หรือเป็นสารที่เป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มสปอร์ของเชื้อ
4. เป็นผลิตผลที่ได้จากการแตกย่อยของสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่ภายในเซลล์
5. สารปฏิชีวนะมีบทบาทในการฆ่า หรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นๆ ในธรรมชาติอันเป็นการแก่งแย่งเพื่อความอยู่รอดของเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

6. การที่เชื้อผลิตสารปฏิชีวนะ ถือเป็นกลวิธีหนึ่งที่จะรักษากลไกการทำงานของเซลล์ให้เป็นไปอย่างเดิมในระหว่างที่เชื้อไม่สามารถจะเจริญต่อไปได้เนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม
7. การผลิตสารปฏิชีวนะ เป็นวิธีการหนึ่งที่จะหลีกเลี่ยงมิให้เซลล์ของเชื้อตาย อันเนื่องมาจากความไม่สมดุลย์ของการเจริญเติบโต
8. เป็นกลไกในการกำจัดสารพิษของเชื้อ
9. ช่วยในการขนส่งพวกโลหะเข้าสู่เซลล์
10. ระงับการงอกของสปอร์ของตัวเชื้อเอง

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสร้างสารปฏิชีวนะ (ดรุณี, 2541)

1. แหล่งคาร์บอน

คาร์บอนเป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อเชื้อในการสังเคราะห์เซลล์และพลังงาน อัตราการเมแทบอไลต์อาหารเป็นแหล่งคาร์บอนมักจะมีอิทธิพลต่อการสร้างมวลเซลล์หรือผลผลิตทั้งสารสารเมแทบอไลต์ขั้นที่หนึ่งและสารเมแทบอไลต์ขั้นที่สอง ในการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อพบว่าถ้าให้แหล่งคาร์บอนที่เชื้อสามารถเมแทบอไลต์ได้อย่างรวดเร็วในปริมาณสูง จะทำให้เชื้อเจริญได้อย่างรวดเร็ว และอัตราการสร้างสารปฏิชีวนะจะต่ำ ในการเลือกใช้แหล่งคาร์บอนเป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการสร้างสารปฏิชีวนะนั้นขึ้นอยู่กับชนิดชองเชื้อและชนิดของสารปฏิชีวนะที่เชื้อสามารถสร้างได้ นอกจากนี้ส่วนประกอบชนิดอื่นๆในอาหารและสภาวะในการเลี้ยงเชื้อก็มีผลต่อการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อด้วยเช่นกัน

2. แหล่งไนโตรเจน

เชื้อแต่ละชนิดมีความสามารถในการใช้สารประกอบไนโตรเจนได้แตกต่างกัน ในการใช้แหล่งในโตรเจนในขบวนการหมักเพื่อการสร้างสารปฏิชีวนะ ถ้าใช้สารประกอบไนโตรเจนที่เชื้อเมแทบอไลต์ได้อย่างรวดเร็ว อาจทำให้มีการสร้างสารปฏิชีวนะได้น้อย โดยทั่วไปจึงนิยมใช้แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อเมแทบอไลต์ได้ช้าๆ เช่นการสร้างสาร polyene นิยมใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจน เนื่องจากมีโปรตีนซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เชื้อย่อยสลายและดูดซึมไปได้อย่างช้าๆ นอกจากนี้ปริมาณของไนโตรเจนที่ใช้จะต้องสอดคล้องกับสัดส่วนของคาร์บอน คือต้องศึกษาหาค่า C/N ที่เหมาะสมด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. อนินทรีย์ฟอสเฟต

ถ้ามีปริมาณสูงทำให้เชื้อเจริญดี แต่การสร้างสารปฏิชีวนะจะลดลง จึงจำเป็นต้องศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสารปฏิชีวนะ

4. เกลืออนินทรีย์

เกลืออนินทรีย์ที่นิยมใช้เพื่อให้เชื้อมีการสร้างสารปฏิชีวนะได้ในปริมาณสูง ได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ แต่ก็ต้องขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อและความเข้มข้นที่ใช้ด้วย ถ้าใช้ในปริมาณสูงบางครั้งอาจไปมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

5. โลหะที่ต้องการในปริมาณน้อย

โลหะมีความจำเป็นเนื่องจากเป็นตัวกระตุ้น (activator) ของเอนไซม์ในการสร้างสารสารปฏิชีวนะ ได้แก่ แมงกานีส เหล็ก และสังกะสี

6. สารตั้งต้น

การเติมสารตั้งต้นลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้เชื้อสร้างสารปฏิชีวนะได้เพิ่มขึ้น

7. ตัวยับยั้ง

ส่วนใหญ่ของการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ จะถูกยับยั้งด้วยสารปฏิชีวนะที่เชื้อสร้างขึ้นมา เรียกว่าเป็น feedback ของ end product อาจหลีกเลี่ยงได้โดยการทำสายพันธุ์ที่เป็น feedback resistant mutants

8. สารชักนำ

เป็นสารที่ช่วยให้มีการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อ เช่นการผลิต streptomycin จากเชื้อ *Streptomyces griseus* พบว่าสายพันธุ์ที่ผลิต streptomycin ได้จะผลิต A-factor ที่มีบทบาทในการกระตุ้นการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะของเชื้อ

9. ปัจจัยอื่นๆ

ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้ออาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ membrane permeability ซึ่งอาจทำให้การผลิตเพิ่มหรือลดได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สภาวะในการเลี้ยงเชื้อ (ดวงพร, 2537)

1. ความเป็นกรดด่างของอาหาร มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อ ดังนั้นจะต้องมีการเติมสารที่มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) หรือ โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ($NaHCO_3$)
2. อุณหภูมิ เป็นสิ่งที่มีความจำเป็น ที่จะต้องศึกษาถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อ เพราะอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้ออาจจะไม่ใช่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อเชื้อในการสร้างสารปฏิชีวนะ
3. ออกซิเจน การสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อทุกชนิดต้องการออกซิเจน แต่ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำพบว่ามีปริมาณต่ำ จึงจำเป็นต้องมีการให้อากาศในอาหารเหลวที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อเพื่อการสร้างสารปฏิชีวนะ
4. ปัจจัยอื่นๆ เช่น ความดันภายในถังหมัก ค่า redox และแสง เป็นต้น

การควบคุมโรคด้วยชีววิธี (เกษม, 2532)

หมายถึง การควบคุมโรคโดยใช้จุลินทรีย์หรือสิ่งที่มีชีวิตชนิดอื่นช่วยลดจำนวนประชากรของเชื้อโรค ลดการเกิดโรคหรือลดความเสียหายของพืชที่เกิดจากเชื้อโรค ซึ่งอาจรวมถึงจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ พันธุกรรมหรือผลผลิตจากพันธุกรรมด้วย ยกเว้นการกระทำโดยตรงของมนุษย์ต่อเชื้อโรคเท่านั้น การควบคุมโรคพืชด้วยวิธีนี้เป็นวิธีการค่อนข้างใหม่สำหรับประเทศไทย แต่ในปัจจุบันเกษตรกรจำนวนมากและนักวิชาการเกษตรสมัยใหม่เริ่มเห็นความสำคัญและนิยมนำมาควบคุมโรคแทนการใช้สารเคมีซึ่งมีต่อสภาพแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตมากขึ้น

กลไกในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อ

เชื้อปฏิปักษ์ไม่ว่าจะเกิดเองในธรรมชาติหรือที่นักวิชาการนำมาเลี้ยงและขยายให้ผลิตเป็นการค้าได้มีวิธีการทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลายรูปแบบ แต่ละรูปแบบก็มีผลแตกต่างกันออกไป ดังนี้

1. การเป็นปรสิต (parasite) โดยตรง หมายถึง การที่เชื้อปฏิปักษ์เข้าทำลายส่วนต่าง ๆ ภายในของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้โดยตรง

2. การเป็นตัวห้ำ (predator) เป็นวิธีการที่คล้ายกับการเป็นปรสิตแตกต่างกันที่วิธีการกินหรือการทำลาย กล่าวคือตัวห้ำเป็นการกินทั้งตัว เช่น ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus myceliophagus* กินเชื้อราหรือเส้นใยของดอกเห็ด หรือไส้เดือนฝอย *Mononchus* spp., *Mylonchulus* spp. กินไส้เดือนฝอยด้วยกันเองเป็นอาหาร เป็นต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การแข่งขันกันเอง คือ การที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งเข้าไปยึดพื้นที่หรืองอกเจริญเติบโตก่อนที่เชื้อสาเหตุโรคพืชจะสามารถเข้าทำลายพืชได้ เช่น การพ่นสปอร์ของเชื้อรา *Phlobia gigantea* ลงบนตอที่ตัดใหม่ของต้นสนสามารถลดการทำลายของเชื้อราที่ทำให้เกิดโรครากเน่า *Heterobasidium amnosum* ลงได้มากเนื่องจากเชื้อรา *P. gigantea* สามารถยึดครองผิวหน้าของตอไม้สนและป้องกันไม่ให้เชื้อรา *H. amnosum* เข้าทำลายและลุกลามต่อไปยังระบบรากจนทำให้รากเน่าได้

4. การสร้างสารปฏิชีวนะ จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสร้างสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราในดินหลายชนิดและเชื้อแอคติโนมัยซีส

5. การสร้างภูมิต้านทาน หมายถึง การใช้สายพันธุ์ของเชื้อโรคที่อ่อนแอหรือจุลินทรีย์คนละกลุ่มกันและไม่เกี่ยวข้องกันเลยพ่นไปยังต้นพืชเพื่อป้องกันการทำลายของเชื้อสายพันธุ์ที่รุนแรงกว่า การวัดค่าความเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อ สามารถประมาณค่าการยับยั้งดังนี้ (เกษม, 2532)

> 75 เปอร์เซ็นต์	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก
61-75 เปอร์เซ็นต์	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง
51-60 เปอร์เซ็นต์	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง
< 50 เปอร์เซ็นต์	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ

โรคของคะน้า

เชื้อสาเหตุโรคพืช จะมีความจำเพาะเจาะจงกับชนิดของพืชอาศัย โดยทั่วไปแล้วพืชในวงศ์เดียวกันหรือใกล้ชิดกัน มีโอกาสที่จะเป็นโรคหรือถูกทำลายโดยเชื้อสาเหตุโรคชนิดเดียวกันได้มาก แต่อาจจะแตกต่างกันในแง่ของความรุนแรงของโรคและความเสียหายที่เกิดขึ้น ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อราซึ่งเกิดกับคะน้า โรคที่สร้างความเสียหายแก่ผักพวกนี้ ได้แก่ (อนงค์, 2527)

1). โรคแผลวงกลมสีน้ำตาลไหม้ (Leaf spot)

อาการ ใบมีแผลวงกลมสีน้ำตาลซ้อนกันหลายชั้น เนื้อเยื่อรอบๆ แผลเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ขนาดของแผลมีทั้งใหญ่และเล็กบนแผลมักจะมีเชื้อราขึ้นบางๆ มองเห็นเป็นผงสีดำ ผักบางชนิดและบางพันธุ์มีแผลที่ก้านใบเป็นจุด หรือแผลรูปวงกลมรีสีน้ำตาลดำ เนื้อเยื่อบุ๋มลงไปเล็กน้อย ในที่บางแห่งพบแผลวงกลมบนฝักอ่อนด้วย ทำให้ฝักอ่อนแห้งเป็นสีน้ำตาล ใบแก่ที่อยู่ตอนล่างมักจะเป็นโรคมากกว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สาเหตุ เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* sp.

การป้องกันกำจัด การฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อราอยู่เสมอๆ จะช่วยป้องกันกำจัดเชื้อรานี้ และเชื้อราโรคอื่นๆด้วยสารเกือบทุกชนิดให้ผลดี ยกเว้น สารเบนโนมิล หรือ เบนเลท และกำมะถันที่ไม่ให้ผลแต่อย่างใด

2). โรคโคนก้านใบ และต้นเน่า (Stem canker of Rhizoctonia rot)

อาการ ลำต้นระดับดินและโคนก้านใบมีเชื้อราสีขาวนวลขึ้นเป็นแผลวงกลมหรือรูปไข่ ซึ่งขยายกว้างออกไป และเนื้อเยื่อตรงกลางแผลเน่าบุ๋มลึกลงไปคล้ายขนมครก และมีสีน้ำตาลอ่อนหรือสีน้ำตาลแก่ เชื้อราจะค่อยๆ ลามเข้าไปภายใน ทำให้กาบใบที่อยู่ข้างในมีแผลเน่าด้วย ใบที่มีแผลใหญ่ที่โคนจะเหี่ยว และหักหลุดไปตรงแผล ต้นอาจตายได้ถ้าเชื้อราทำลายโคนใบและลำต้นหมด มักจะเกิดในแปลงที่มีการระบายน้ำไม่ดี ในแปลงกล้าผักจะมีโรคนี้ระบาดด้วย ผักจะเน่าเร็วขึ้นเมื่อมีเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการเน่าและเข้ามาภายหลัง

สาเหตุ เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani*

การป้องกันกำจัด

1. ทำทางระบายน้ำให้ดีอย่าให้มีน้ำขังแฉะ
2. ควรใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราละลายน้ำรดที่ผิวดิน และฉีดพ่นยาที่โคนใบ
3. ให้ถอนต้นที่มีแผลออกไปทำลายเสีย

3). โรครากเน่า (Sclerotial root rot)

อาการ ใบเหลืองเหี่ยวตาย เมื่อตอนต้นขึ้นมาจะพบว่า บริเวณโคนต้นระดับดินและรากเน่าเปื่อย มีเส้นใยราสีขาวขึ้นฟูทั้งบนรากและแทรกอยู่ในดิน และมีรากลมเล็กๆสีน้ำตาลเข้มและสีขาวขึ้นประปราย เป็นที่สังเกตได้ง่าย

สาเหตุ เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*

การป้องกันกำจัด ปรับดินด้วยปูนขาวประมาณ 200-300 กิโลกรัม ต่อไร่ เพื่อลดกรดในดิน เพิ่มปุ๋ยอินทรีย์ให้มาก หลังจากใส่ปูนขาวแล้ว ขุดต้นและดินบริเวณที่เป็นโรคออกไปเผาไฟทำลายเสีย ในหลุมที่ขุดดินไปแล้ว ให้ใส่ปูนขาวแล้วใส่ปุ๋ยอินทรีย์และใส่ยาป้องกันกำจัดเชื้อราด้วย โดยผสมน้ำรดให้ชุ่ม เช่น สารพีซีเอนบี หรือสารเทอราคลอ 75 ฯลฯ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved