บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ผักกาดหอม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lactuca sataiva* Linn. จัดอยู่ในตระกูล Compositae หรือ Asteraceae นอกจากนี้ผักกาดหอมยังมีชื่อเรียกอื่น ๆ ได้หลายชื่อเช่น ภาคเหนือเรียกว่า ผักกาดยี ภาคกลางเรียกว่า ผักสลัด มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชียและยุโรปแถบเมดิเตอร์เรเนีย (เกริก, 2537) มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับผักกาดหอมป่า ซึ่งเป็นวัชพืชในแถบอเมริกา (Thompson and Kelly, 1957) ผักกาดหอมเป็นพืชล้มลุกปลูกได้ตลอดปี นิยมปลูกและบริโภคกันมากทั่วทุกภาคของประเทศไทย ให้ผลผลิตได้ดีในช่วงเดือนตุลาคม-เดือนเมษายน ปลูกมากที่จังหวัด นนทบุรี สมุทรสาคร ปทุมธานี และขอนแก่น (เมฆ, 2544) ในภาคเหนือผักกาดหอมปลูกมากที่จังหวัดเชียงใหม่ซึ่งปลูกบนพื้นที่สูงเป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากเป็นผักเมืองหนาวที่ได้รับความสนับสนุนจากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แฮ เพื่อส่งเสริมรายได้ให้แก่เกษตรกรชาวเขา ทดแทนการปลูกฝิ่น และต่อมามีการขยายพื้นที่ปลูกไปยังศูนย์พัฒนาโครงการหลวงต่าง ๆ โดยเฉพาะที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงหนองหอย ซึ่งเป็นแหล่งที่เกษตรกรมีการปลูกผักกาดหอมมากที่สุด แห่งหนึ่งของศูนย์พัฒนาโครงการหลวง (มูลนิธิโครงการหลวง, 2555) นอกจากนี้ผักกาดหอม เป็นผักประเภทหนึ่งที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภค ดูได้จากสัดส่วนยอดการขายผักของมูลนิธิโครงการหลวงซึ่งมูลนิธิโครงการหลวงมีการปลูกมาก เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคภายในประเทศและสามารถส่งไปขายยังต่างประเทศได้ ปริมาณการส่งออก 16.56 ตัน คิดเป็นมูลค่า 7.08 ล้านบาท (จุติมา, 2551) ผักกาดหอมจะอ่อนแอต่อโรคใบจุด สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Cercospora* sp. ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งที่ทำให้เกิดความเสียหายมากกับผักกาดหอม (ชำนาญ, 2549) ส่งผลต่อผลผลิตโดยทำให้ผลผลิตลดลงเป็นจำนวนมาก และเมื่อเชื้อรานี้เข้าทำลายอย่างรุนแรงอาจทำให้พืชอาศัยใบม้วนงอ แห้ง และร่วงจากต้น (Hsieh and Goh, 1990) เกษตรกรจึงหันมาใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรามากขึ้น เนื่องจากสามารถกำจัดเชื้อราสาเหตุได้อย่างรวดเร็วทำให้เชื้อราสาเหตุโรคพืชเกิดการต้านทานต่อสารเคมีกำจัดเชื้อราเพิ่มขึ้น การใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราเป็นระยะเวลานานจะทำให้เกิดพิษตกค้างในพืช อันก่อให้เกิดผลกระทบต่อผู้ผลิต ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นการหาวิธีการต่างๆในการควบคุมโรคพืชที่ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อมโดยการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biocontrol) จากการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพมา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดของผักกาดหอม เพื่อลดการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา รวมทั้งช่วยให้เกษตรกรมีความปลอดภัยในด้านสุขอนามัย และช่วยลดค่าใช้จ่ายในการซื้อสารเคมีกำจัดเชื้อรา

ชนิดและพันธุ์ของผักกาดหอม

ผักกาดหอมที่ปลูกและใช้บริโภคกันในปัจจุบันสามารถจำแนกออกได้เป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ ซึ่งมีลักษณะดังนี้ (สุนทร, 2540; สุทธิชัย, 2543)

1. **ผักกาดหอมห่อ (Head lettuce)** เป็นผักกาดหอมที่ใบห่อเป็นหัว ซึ่งเกิดจากการที่ใบเรียงซ้อนกันหนามาก แบ่งออกเป็น 3 ชนิดด้วยกันคือ
   1.1 ชนิดห่อหัวแน่น (Crisp head) ลักษณะใบบาง กรอบ เปราะง่าย เห็นเส้นกลางใบชัดเจน ใบห่อเป็นหัวแน่นแข็งคล้ายกะหล่ำปลี
   1.2 ชนิดห่อหัวไม่แน่น (Butter head) ลักษณะห่อเป็นหัวหลวม ใบจะอ่อนนุ่มและผิวใบมันใบไม่กรอบเหมือนชนิดห่อหัวแน่น ใบที่ซ้อนอยู่ข้างในจะมีลักษณะเหมือนถูกเคลือบด้วยน้ำมันหรือเนยคืออ่อนนุ่มและเป็นเมือกลื่น ๆ ใบข้างในซ้อนทับกันแน่นพอประมาณ สีเหลืองอ่อนคล้ายเนย เป็นผักกาดหอมชนิดที่ชอบอากาศหนาวเย็น ไม่ทนทานต่ออากาศร้อน แต่อายุการเก็บเกี่ยวจะเร็วกว่าชนิดห่อหัวแน่น
   1.3 ชนิดห่อหัวหลวมค่อนข้างยาว เป็นผักกาดหอมชนิดที่ใบห่อเป็นรูปกลมยาวหรือรูปกรวย ลักษณะหัวคล้ายผักกาดขาวปลี ใบมีลักษณะยาวและแคบ ใบแข็ง
2. **ผักกาดหอมใบ (Leaf lettuce)** เป็นผักกาดหอมที่ใบไม่ห่อเป็นหัว นิยมปลูกกันทั่วไปในประเทศไทย ผักกาดหอมประเภทนี้ ใบจะกว้างใหญ่และหยิกเจริญเติบโตออกไปทางด้านบนและด้านข้าง ไม่ห่อเป็นหัว ต้นเป็นพุ่มเตี้ย ผักกาดหอมใบจะทนต่ออากาศร้อนได้ดีกว่าประเภทอื่น ๆ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดที่มีสีเขียวทั้งต้น และชนิดที่มีสีน้ำตาลทั้งต้น
3. **ผักกาดหอมต้น (Stem lettuce)** เป็นผักกาดหอมที่ปลูกเพื่อใช้ลำต้นรับประทานเท่านั้น มีลักษณะลำต้นอวบ ลำต้นสูงใบจะเกิด ขึ้น ต่อๆ กันไปจนถึงยอดหรือช่อดอก ใบจะมีลักษณะคล้ายผักกาดหอมใบ แต่ใบจะเล็ก หนาและสีเข้มกว่า มีทั้งชนิดกลมและยาว ไม่ห่อหัว โดยทั่วไปไม่ค่อยนิยมปลูกกัน ได้แก่ พันธุ์ Celtuce

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โรคของผักกาดหอม

โรคที่พบและมีความสำคัญที่ทำให้ผลผลิตของผักกาดหอมลดลง เช่น โรคใบจุด สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Cercospora* sp. และ *Alternaria* sp. โรคเน่าเละสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia* sp. โรคราน้ำค้างสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Peronospora parasitica* โรคเน่าดำหรือโรคใบทองสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* และโรครากปมสาเหตุเกิดจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* sp. (นิดดาและสุภาพรรณ, 2546)

การปลูกผักกาดหอมมักมีปัญหาในเรื่องโรคต่าง ๆ ที่ทำความเสียหายให้แก่ผลผลิตเสมอ ได้แก่ โรคเหี่ยว โรคราสีเทา โรคใบเหลือง โรคราน้ำค้าง และโรคใบจุดเป็นต้น โรคเหล่านี้มีเพียงบางชนิดที่ทำให้เกิดอาการ และความเสียหายอย่างรุนแรงยากต่อการควบคุม เนื่องจากลักษณะโดยธรรมชาติของผักกาดหอม ทำให้ยากต่อการใช้สารเคมีป้องกันและกำจัดโรค (Thompson and Kelly, 1957)

ผักกาดหอมเป็นผักทางใบที่นิยมบริโภคกันมากที่สุดและมีการปลูกอยู่ทั่วโลก โรคสำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายแก่ผักกาดหอมได้แก่ โรคแอนแทรกโนส โรคโคนเน่า โรคใบจุดเกิดจากเชื้อรา *Cercospora* sp. และ *Septoria* sp. โรคเน่าคอดิน โรคราน้ำค้าง โรคราสีเทา โรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา โรคเส้นใบใหญ่ โรคใบด่าง โรคเน่าเละ โรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และโรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอย (Richard, 2004)

โรคใบจุดของผักกาดหอม

โรคใบจุดสามารถเกิดขึ้นได้ทุกฤดู โดยเฉพาะฤดูที่มีความชื้นในอากาศสูง เช่น ฤดูฝน แต่ในฤดูร้อนก็สามารถเกิดโรคใบจุดได้ โดยส่วนใหญ่มาจากการสเปรย์น้ำในแปลงปลูกมากเกินไป รวมถึงการระบายอากาศในแปลงปลูกไม่ดี ทำให้เกิดโรคใบจุดได้ โรคใบจุดนี้เกิดจากเชื้อรา *Cercospora* sp. ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งที่ทำให้เกิดความเสียหายมากกับผักกาดหอม พบอาการที่ใบแก่และใบล่างของต้น อาการเริ่มแรกเกิดเป็นจุดเล็ก ๆ สีน้ำตาล โดยเริ่มจากขอบใบก่อนแล้วขยายสู่กลางใบ ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้มส่วนกลางของแผลแห้งและเป็นจุดน้ำตาลอ่อนคล้ายสีฟางข้าวทำให้ดูคล้ายตากบ เมื่อแผลลุกลามมารวมกันมาก ๆ ทำให้เกิดอาการใบไหม้ทั้งใบ (ชำนาญ, 2549) และเมื่อเชื้อเข้าทำลายอย่างรุนแรงอาจทำให้พืชอาศัยใบม้วนงอ แห้ง และร่วงจากต้น (Hsieh and Goh, 1990)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อรา *Cercospora* sp.

Domaim Eukaryota (Kirk *et al*., 2001)

Kingdom Fungi

Phylum Deuteromycota

Class Hyphomycetes

Order Hyphomycetales

Family Dematiaceae

Genus *Cercospora*

เชื้อรา *Cercospora* sp. เป็นเชื้อราที่มีความสำคัญและทำความเสียหายต่อผลผลิตทางการเกษตร พบได้เกือบทุกพืชอาศัยทั่วโลก พบได้ทั้งพืชในตระกูลใบเลี้ยงเดี่ยว ใบเลี้ยงคู่ และพืชชั้นต่ำ เช่น เฟิร์น (Pollack, 1987) นอกจากนั้นยังเข้าทำลายสร้างความเสียหายให้กับพืชผลหลักทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก ได้แก่พวก ธัญพืช พืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ ไม้ยืนต้น หญ้า เป็นต้น (Shin and Kim, 2001) ในการเข้าทำลายของเชื้อรานี้ไม่เพียงแต่จะทำให้เกิดอาการใบจุด (leaf spot) แต่ยังพบอาการเนื้อเยื่อตาย (necrotic lesion) ในดอกไม้ ฐานรองดอก เมล็ด ก้าน ซึ่งสามารถพบบนพืชอาศัยจำนวนมากในทุกภูมิอากาศ (Agrios, 2004)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ลักษณะของเส้นใย (hyphae) มีลักษณะเรียบถึงขรุขระ กว้างประมาณ 6 ไมโครเมตร สามารถแบ่ง mycelium ออกเป็น 2 แบบ คือ internal primary mycelium และ external secondary mycelium ซึ่ง internal primary mycelium มักมีผนังกั้น (septate) แตกกิ่งก้านสาขา (branched) มีสีจางหรือไม่มีสี มีรูปแบบเซลล์ของเส้นใยบวมพอง ลักษณะหลวมจนถึงหนาแน่น ผนังเซลล์มีการพัฒนารวมกันสามารถจัดจำแนก stomata ออกเป็นหมวดหมู่ได้ ส่วน external secondary mycelium นั้นจะมีความสำคัญต่อการกำหนดขอบเขต หรือการจัดจำแนกเบื้องต้นของกลุ่มเชื้อรา *Cercospora* sp.ได้ ลักษณะของเส้นใยมีสีจางจนถึงสีเข้ม (Shin and Kim, 2001) สำหรับ conidiophore เป็นโครงสร้างที่ทำให้เกิด conidium (mitospores) ซึ่งโครงสร้างประกอบไปด้วยเซลล์มากกว่าสองเซลล์ขึ้นไป (Pons and Sutton, 1988) รูปร่างของ conidia ของกลุ่มเชื้อรา *Cercospora* sp. นั้นมีหลายแบบ เช่น กลมรี คล้ายเส้นดายรูปร่างเรียว ตรง เป็นต้น ซึ่งการที่ conidium มีสีที่แตกต่างกันและการมีผนังกั้น หรือไม่มีผนังกั้นสามารถใช้ในการจัดจำแนกได้ (Braun, 1995)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Hotegni *et al*. (2011) รายงานว่าพบลักษณะอาการของแผลเป็นจุดสีน้ำตาลอ่อน รอบๆจุดเป็นสีเทา ขนาดของจุดประมาณ 0.3-0.6 มิลลิเมตร แล้วพบการตายของเนื้อเยื่อจึงนำใบผักกาดหอมมาทำการศึกษาแล้วเลี้ยงใน PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบ conidium ยาวประมาณ 65-165 ไมครอน กว้าง 4-5 ไมครอน สีใส มี septate สีดำกั้น ของเชื้อ *Cercospora beticola* ซึ่งเป็นโรคของผักตระกูลกะหล่ำ และพบในผักกาดหอมด้วย โรคนี้ทำความเสียหายมาก ทำให้คุณภาพและผลผลิตของผักกาดหอมลดลงอย่างมาก

ในปี 2011 To-Anun *et al.* รายงานว่าโรคใบจุดของพืชผักกาดหอม พบลักษณะอาการของแผลเป็นจุดวงกลมสีน้ำตาลถึงสีน้ำตาลเข้ม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-10 มิลลิเมตร กลางแผลสีน้ำตาลอมเทาล้อมรอบจุด ส่วน conidiophore ไม่แตกแขนง สีน้ำตาลมี 3-8 ก้าน ขนาด 47-128×3-6.5 ไมโครเมตร มีผนังกั้น 1-4 septate และ conidium รูปร่างทรงกระบอก สีใส มีขนาดประมาณ 36-182×3-6.5 ไมโครเมตร มี 7-13 septate ซึ่งระบุว่าเป็นเชื้อรา *Cercospora lactucae-sativae* สาเหตุโรคใบจุดที่พบในประเทศไทยที่จังหวัดเชียงใหม่ บนใบของพืชตระกูลผักกาดหอม ได้แก่ ผักกาดหอมห่อ เรดโครอล โอ๊คลีฟเขียว และโอ๊คลีฟแดง

ตัวอย่างการศึกษาเชื้อรา *Cercospora* sp. ในผักกาดหอม

Savary (1983) ศึกษาเกี่ยวกับการสำรวจโรคของผักกาดหอม ซึ่งพื้นที่ที่เพาะปลูกผักกาดหอมนั้นมีความสำคัญต่อการเกิดโรคอย่างมาก โดยพบว่าแหล่งปลูกผักกาดหอมไม่มีการจัดการแปลงปลูกที่เหมาะสม ไม่มีการปลูกพืชหมุนเวียน เป็นผลทำให้เชื้อสาเหตุอาศัยอยู่ในดินและเศษซากพืช จึงทำให้มีการระบาดของเชื้อสาเหตุเข้าทำลายผักกาดหอมเพิ่มมากขึ้น และอุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส มีความเหมาะสมต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุมากที่สุด และจะพบการระบาดรุนแรงมากขึ้นในช่วงฤดูฝน

Szeto and Bau (1975) ได้ศึกษาสภาพอุณหภูมิ ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Cercospora longissima* พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่เชื้อราสามารถเจริญและสร้างสปอร์ได้ดี คือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสปอร์ในการทดสอบการเกิดโรคแก่พืช คือ 4×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Mohamed (1997) รายงานว่าเชื้อรา *Cercospora* sp. นี้สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในสภาพห้องปฏิบัติการส่วนในสภาพแปลงปลูก เชื้อราจะมีระยะฟักตัว ประมาณ 3-4 วัน ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 27 องศาเซลเซียส

Gomes *et al.* (2004) ได้ตรวจพบเชื้อรา *Cercospora longissima* สาเหตุโรคใบจุดของผักกาดหอม พบว่า โรคเกิดขึ้นกับใบของผักกาดหอมเพิ่มมากขึ้น โดยทำการทดลองโดยพ่นสปอร์ของเชื้อราลงไปบนใบผักกาดหอมที่อัตราความเข้มข้นต่างกัน เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน ได้ประเมินผล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองพบว่าใบของผักกาดหอมเกิดโรคถึง 68 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Daub *et al.* (2000) กล่าวไว้ว่าเชื้อราพวก *Cercospora* sp. สามารถสร้างสารพิษพวก Cercosporin เป็นสารพิษในการก่อให้เกิดโรคกับพืชโดยมีผลทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของพืชและสามารถทำให้เนื้อเยื่อพืชตายได้

การควบคุมโรคโดยชีววิธี

การควบคุมโดยชีววิธี หมายถึง การใช้เชื้อจุลินทรีย์ หรือสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ ในการควบคุมโรคพืชเพื่อช่วยลดจำนวนประชากรของเชื้อโรคให้น้อยลง ลดการเกิดโรคหรือความเสียหายของพืชที่เกิดจากเชื้อโรคอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายในทางเศรษฐกิจกับพืช ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยลดการใช้สารเคมีควบคุมโรคพืชลงได้ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีกลไกที่เกี่ยวข้องในการเป็นศัตรูต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) เชื้อจุลินทรีย์จะสร้างผลิตผลจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งจะมีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งหรือทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Phaenibacillus lentimorbus* สามารถสร้างสารที่ยับยั้งเชื้อรา *Botryosphaeria dothidea* ทำให้เส้นใยและสปอร์เกิดการสลาย และมีรูปร่างผิดปกติไปจากเดิม เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* ผลิตสาร siderophore มีส่วนช่วยในการจับธาตุเหล็ก ทำให้ข้าวสาลีเจริญเป็นปกติและให้ผลผลิตดีขึ้นแบคทีเรียบางชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ยับยั้งเชื้อโรคได้ เช่นเชื้อ *Bacillus subtilis* สามารถผลิตเอนไซม์มาย่อยผนังเชื้อรา *Rhizotonia* sp. ได้ (Montealegre *et al*., 2003) นอกจากนี้ยังเกิดการแข่งขัน (competition) เป็นการแข่งขันระหว่างสิ่งมีชีวิตสองชนิดหรือมากกว่าสองชนิดที่มาอยู่ร่วมกันในด้านต่าง ๆ เช่น ที่อาศัย แหล่งอาหาร จำพวกไนโตรเจน และสารที่จำเป็นต่อการเจริญ เมื่ออาหารที่อยู่ไม่เพียงพอ สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะเกิดการแข่งขันกัน เพื่อความอยู่รอด เช่นเชื้อ *Pseudomonas putida* สามารถผลิต siderophore ซึ่งเป็นสารที่สามารถตรึงธาตุเหล็กไปใช้จนเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ขาดธาตุเหล็กส่งผลให้เชื้อโรคลดลงและไม่สามารถให้ก่อโรคได้ (Bhatt and Denny, 2004)

วิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ไม่ว่าจะเป็นดิน น้ำ อากาศ หรือภายในพืช ซึ่งช่วยในการปรับปรุงและรักษาสภาพแวดล้อมให้เกิดความสมดุล ในปัจจุบันจึงมีความสนใจที่จะนำเอาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคพืช เพื่อลดการใช้สารเคมี และรักษาสิ่งแวดล้อม (เสาวนีย์, 2547) การนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไปใช้ในการควบคุมโรคพืช นิยมนำไปใช้กับโรคพืชที่เกิดบริเวณผิวราก (rhizoplane) หรือบริเวณผิวพืชที่อยู่เหนือดิน (phylloplane) ซึ่งการใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคจะมีกรรมวิธีการใช้แตกต่างกัน (นิพนธ์, 2538)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. บริเวณผิวราก จะมีกรรมวิธีการใช้เชื้อปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคได้หลายแบบแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความสะดวกในการปฏิบัติของผู้ใช้ และแต่ละวิธีอาจให้ประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ไม่เท่ากัน ลักษณะการใช้มีหลายรูปแบบดังนี้

1.1 การคลุกเมล็ด ใช้คลุกเมล็ดก่อนปลูกโดยเมล็ดจะต้องมีขนาดไม่ใหญ่มากนัก เพื่อช่วยให้ปฏิบัติได้ง่าย และไม่สิ้นเปลืองผงเชื้อจุลินทรีย์

1.2 การคลุกดิน ใช้ในรูปแบบสารละลาย ซึ่งเป็นวิธีการนำเอาผงเชื้อหรือสารละลายเชื้อปฏิปักษ์ใส่ไปในดิน และคลุกเคล้าผสมกันให้ทั่วก่อนปลูกพืช

1.3 การราดดิน เป็นวิธีที่นิยมปฏิบัติกันมาก โดยจะนำเอาผงเชื้อ หรือสารละลายเชื้อปฏิปักษ์ผสมในน้ำแล้วราดดินโดยตรง

1.4 การจุ่มราก โดยจะต้องทำให้ดินบริเวณรากหลุดออกให้หมดก่อนนำไปจุ่มในสารละลายเชื้อที่เข้มข้น 10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร แล้วจึงนำไปปลูกในแปลงต่อไป วิธีนี้จะทำให้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคได้ดีเพราะรากจะสัมผัสกับเชื้อได้หมดทุกส่วน

2. บริเวณผิวพืชอยู่เหนือดิน นิยมใช้ 2 วิธีคือ

2.1 การพ่น เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชที่ปลูกเป็นปริมาณมาก หรือมีลำต้นสูงซึ่งใช้หลักการปฏิบัติเช่นเดียวกับการพ่นสารเคมีกำจัดโรคพืช

2.2 การทา เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชยืนต้นที่ถูกทำลาย มีแผลปรากฏให้เห็นชัดเจนบนส่วนของต้นหรือกิ่ง บริเวณที่สามารถนำเอาเชื้อปฏิปักษ์ที่เตรียมให้มีความเข้มข้นและเหนียวไปทา เพื่อให้ยึดติดกับ ผิวพืชได้คงทน สามารถป้องกันรักษาพืชให้กลับมาเป็นปกติได้

ตัวอย่างงานวิจัยเกี่ยวข้องกับแบคทีเรียปฏิปักษ์

Berg *et al.* (2000) ได้ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่อาศัยอยู่บริเวณรากของสตรอเบอรี่ 2 ชนิด คือ *Fragaria viridis* และ *F.* x *ananassa* บนอาหาร King' B medium และ glycerol-arginine agar เพื่อคัดเลือกหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Verticillium dahlia* สามารถคัดเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีกลไกในการยับยั้งเชื้อรา *V. dahlia* ได้ 300 ไอโซเลท จาก *F. viridis* และ 20 ไอโซเลทจาก *F.* x *ananassa* เมื่อนำมาจำแนกโดยอาศัยทางสัณฐานวิทยาและ ribosomal DNA restriction analysis (RDRA) พบว่าเป็นเชื้อ *Streptomyces albidoflaves* ไอโซเลท S1 และ *Pseudomonas fluorescens* ไอโซเลท P6 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวของเชื้อรา *V. dahlia* ในเรือนเพาะชำ

Korsten (1993) รายงานว่า ได้มีการสเปรย์เชื้อ *Bacillus subtilis* ลงบนผลของอะโวคาโด พบว่าเชื้อ *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคจุดของเชื้อรา *Cercospora* sp. บนผล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อะโวคาโดก่อนการเก็บเกี่ยวได้ดี โดยส่วนใหญ่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จะผลิตสารออกมายับยั้งกับเชื้อสาเหตุและเกิดการแข่งขันกันเกิดขึ้น เช่นเดียวกับ Korsten and Jager (1995) ได้แยกเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท B246, *B. cereus* ไอโซเลท B247 และ B249 และ *B. licheniformis* ไอโซเลท B248 ที่สามารถยับยั้งโรคหลังการเก็บเกี่ยวของอะโวคาโด โดยสามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, Phomopsis perseae, Drechslera setariae, Pestalotiopsis versicolor* และ *Fusarium solani* ซึ่งแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งสี่ตัวนี้มีประสิทธิภาพในการลดเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Altalhi (2009) ได้คัดเลือก *Bacillus subtilis* บนใบของทับทิม ได้ 15 ไอโซเลทที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Cercospora beeticola* สาเหตุโรคใบจุดของทับทิม ซึ่งสามารถยับยั้งโรคใบจุดของทับทิมได้

Fravel and Spurr (1971) ได้แยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากใบยาสูบ พบแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมเชื้อรา *Alternaria alternate* ที่เป็นสาเหตุของโรคใบจุดสีน้ำตาลได้ คือ *Bacillus cereus* subsp. *mycoides* โดยสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ถึง 88 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ในการทดลองของ ฤดีกร (2552) ได้ศึกษาเชื้อ *Bacillus megaterium* ว่ามีฤทธิ์ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Rhizoctonia solani* โดยการสร้างสารปฏิชีวนะที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค และได้พัฒนาสูตรสำหรับเชื้อแบคทีเรีย *B. megaterium* ให้อยู่ในรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่เกษตรกรสามารถใช้ได้ง่าย มีความคงตัว และมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว

Kucheryava *et al.* (1999) แยกเชื้อแบคทีเรียจาก phyllosphere ของแอปเปิ้ลได้ 150 ไอโซเลท ทำการทดสอบ การยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอก conidia ของเชื้อรา *Venturia inaequalis* สาเหตุโรค apple scab คัดเลือกแล้วได้ 27 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุ พบว่า เป็นเชื้อแบคทีเรียแบบแกรมลบ จำนวน 18 ไอโซเลท คือ genus *Pseudomonas* และ genus *Erwinia* อีกทั้งยังพบแบคทีเรียแบบแกรมบวก จำนวน 6 ไอโซเลท คือ *Bacillus* sp. และอีก 1 ไอโซเลทอยู่ใน genus *Curtobacterium*

วานิด (2552) คัดเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ ซึ่งแยกเชื้อ *Bacillus* sp. ได้ 356 ไอโซเลท จากดินป่าสมบูรณ์ของประเทศไทย มาทดสอบกับเชื้อรา *Alternaria longipes* LRC 4-6 โดยคัดเลือกตัวที่มีประสิทธิภาพที่ดีได้ 18 ไอโซเลท พบว่าไอโซเลท LPDD 3-1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุได้ดีที่สุด โดยให้ผลการยับยั้งเส้นใยเชื้อราที่ผ่านและไม่ผ่านความร้อนสูงถึง 97.6 และ 95.6 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

91.6 และ 86.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดย germ tube ของสปอร์ที่งอกมีลักษณะผิดปกติอย่างชัดเจน คือ สั้นกุดและโป่งพอง

Chung *et al*. (2008) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียจำนวน 500 ไอโซเลท พบว่า เชื้อ *Bacillus subtilis* ไอโซเลทที่ ME 488 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ 39 โรค และยังช่วยยับยั้งการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* บนแตงกวา และเชื้อรา *Phytophthora capsici* ในพริก เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่มีในการยับยั้งโรคพืช

Kishore *et al*. (2005) แยกเชื้อ *Bacillus circulans* GRS 243 และ *Serratia marcescens* GPS 5 จาก 393 ไอโซเลท นำมาใช้ควบคุมเชื้อรา *Phaeoisariopsis personata* สาเหตุโรคใบจุดของถั่วลิสง โดยสเปรย์เชื้อ *Bacillus circulans* GRS 243 และ *Serratia marcescens* GPS 5 ลงบนใบของถั่วลิสงร่วมกับ 1% (wt/vol) colloidal chitin เพื่อเสริมประสิทธิภาพของเซลล์แบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งสามารถลดการเกิดแผลใบจุดถึง 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพียงอย่างเดียวในเรือนกระจก นอกจากนี้ยังมีการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสภาพแปลง พบว่า ควบคุมการเกิดโรคได้ถึง 62 และ 75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มผลผลิตของฝักสูงขึ้นถึง 48 เปอร์เซ็นต์

ตัวอย่างงานวิจัยเกี่ยวข้องกับยีสต์ปฏิปักษ์

จินันทนา และ วิชชา (2555) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของยีสต์ *Issatchenkia orientalis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส ของผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว พบว่า ยีสต์สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ คือสปอร์ของเชื้อราไม่สามารถงอกได้ และผิวของสปอร์ที่มียีสต์เกาะติดอยู่มีลักษณะยุบตัวลง โดยผลการทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดโรค โดยแช่ผลมะม่วงในสารแขวนลอยยีสต์ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 40 นาที พบว่า สามารถลดอาการการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง หลังบ่มสุกได้ดีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดโรคเพิ่มขึ้น เมื่อใช้ยีสต์ร่วมกับการใช้น้ำร้อน คือ แช่ผลมะม่วงในน้ำร้อนอุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วตามด้วยการแช่ในสารแขวนลอยยีสต์ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 30 นาที

Vero *et al.* (2002) ศึกษายีสต์ 2 ไอโซเลท คือ *Cryptococcus laurentii* (ไอโซเลท 317) และ *Candida ciferrii* (ไอโซเลท 283) ที่แยกได้จากผิวของแอปเปิ้ล เพื่อใช้ควบคุมโรคเน่าของแอปเปิ้ลที่เกิดจากเชื้อรา *Penicillium expansum* พบว่า ยีสต์ทั้งสองไอโซเลทลดอาการการเกิดโรคเน่าของแอปเปิ้ลได้ โดยไอโซเลท 283 สามารถลดการเกิดโรคได้ 80 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 25 และ 5 องศา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เซลเซียส ส่วนไอโซเลท 317 สามารถลดการเกิดโรคได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 25 และ 5 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยัง พบว่า ยีสต์ทั้งสองไอโซเลทสามารถเจริญได้ในอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Gholamnejad *et al*. (2010) ได้ศึกษายีสต์สองชนิดที่แยกจากผิวแอปเปิ้ล คือ *Candida membranfaciens* สามไอโซเลท (A2, A4 และ A5) และ *Mucilaginosa rhodotorula* สองไอโซเลท (A1 และ A7) ควบคุมเชื้อรา *Penicillium expansum* พบว่า ยีสต์ของทั้งสองไอโซเลทมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. expansum* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 20.6-61.4 เปอร์เซ็นต์ และ Janisiewicz and Bors (1995) เลือกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* และเชื้อยีสต์ *Sporobolomyces roseus* นำมาควบคุมเชื้อรา *P. expansum* ของแอปเปิ้ลสามารถควบคุมการเกิดโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Wan *et al.* (2003) ทำการศึกษายีสต์สองชนิด คือ *Rhodotorula glutinis* และ *Cryptococcus laurentii* ร่วมกับ sodium bicarbonate และ ammonium molybdate ในการควบคุมโรคเน่าของพุทราที่เกิดจากเชื้อรา *Penicillium expansum* สามารถยับยั้งการเกิดโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของพุทราที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้เชื้อยีสต์ปฏิปักษ์ หรือสารเคมีเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ Tian *et al*. (2004) ทำการสเปรย์เชื้อยีสต์ *Trichosporon pullulans*, *Cryptococcus laurentii* และ *Rhodotorula glutinis* ที่มีความเข้มข้น 1×10^8 cfu ต่อมิลลิลิตรลงในผลเชอร์รี่หวาน (*Prunus avivum* L. cv. Hongdeng) มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค และพบว่ายีสต์ 2 ไอโซเลทคือ *C. laurentii* และ *R. glutinis* มีความสามารถในการอยู่รอดบนผิวเชอร์รี่ภายใต้สภาพแปลงที่มีอุณหภูมิสูง และสามารถปรับตัวเพื่อให้ทนต่อสภาพการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยวในช่วง O_2 ต่ำ และ CO_2 สูง

Ziedan and Farrag (2011) สำรวจโรคทางใบ ของ sugar beet ในช่วงปี ค.ศ. 2008-2009 พบโรคใบจุดที่เกิดจากการเชื้อรา *Cercospora beticola* โรคราแป้งที่เกิดจาก *Erysiphe betae* และราสนิมที่เกิดจาก *Uromyces betae* จึงได้ใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae, Pichia albicans* และ *Candida sake* เป็นตัวแทนควบคุมโรค พบว่าการเกิดโรคลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และน้ำหนักของผลผลิตเพิ่มขึ้น

Chanchaichaovivat *et al*. (2007) ได้ศึกษายีสต์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum capsici* แยกได้จากผลไม้และผักในประเทศไทย แยกได้ยีสต์สี่ไอโซเลท (R13, R6, ER1 และ L2) ได้แก่ *Pichia guilliermondii*, *Candida musae, Issatchenkia orientalis* และ *Candida quercitrusa* พบว่า ยีสต์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. capsici* อย่างมีประสิทธิภาพซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคได้ 93.3, 83.1, 76.6 และ 66.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยเฉพาะเชื้อยีสต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

P. guilliermondii ไอโซเลท R13 แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* ในผลพริก มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุดเท่า 6.5 เปอร์เซ็นต์

ตัวอย่างงานวิจัยเกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์

การควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชนั้น นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ส่วนใหญ่จะใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ในรูปเซลล์สด ที่เตรียมขึ้นใหม่ซึ่งไม่สะดวก ในการนำไปใช้จริงในระดับแปลงของเกษตรกร ดังนั้นจึงมีการศึกษาและพัฒนาแบคทีเรียปฏิปักษ์ให้อยู่ในรูปผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพและมีความคงตัว เพื่อความสะดวกในการนำไปใช้ในสภาพแปลง

อัจฉราและคณะ (ไม่ระบุปีที่พิมพ์) รายงานการพัฒนาสูตรตำรับสำหรับคลุกเมล็ดและสูตรฉีดพ่น สูตรตำรับที่ 1 พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สูงสุด 97.4 และ 92.6 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีผลกระทบต่อการงอกของเมล็ดถั่วหรั่ง และจากการนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยวิธี drop plate ในสูตรตำรับที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (26-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 เดือน พบว่า ทุกสูตรตำรับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ลดลงเล็กน้อย

พากเพียรและคณะ (ไม่ระบุปีที่พิมพ์) นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* No. 33 ซึ่งมาผลิตเป็นผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าว โดยใช้ร่วมกับสารป้องกันกำจัดโรคพืชสามารถควบคุมโรคเมล็ดด่างให้มีระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Vidhyasekaran and Muthamilan (1999) รายงานว่า พัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* ไอโซเลท Pf1 ในรูปแบบผง สามารถควบคุมโรคกาบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้ Arunyanart *et al.* (2001) นำผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* รูปแบบของเหลว สูตร TRF A และ B สามารถควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวได้ดีรองจากการใช้สารเคมี

ปิยรัตน์ และคณะ (ไม่ระบุปีที่พิมพ์) คัดเลือกเชื้อ *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W1 และ KA2 มาพัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นผงอัดเม็ดฟู่ ในการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัว สาเหตุจากแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ทดสอบการควบคุมโรคบนหน้าวัวพันธุ์โรซ่า โดยพ่นสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เปรียบเทียบกับชีวภัณฑ์ พบว่า กรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 20W1 รองมาคือ KA2 และการพ่นชีวภัณฑ์ไอโซเลท 20W1+KA2 ควบคุมโรคได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นและกรรมวิธีเปรียบเทียบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วานิด (2552) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบแกรนูลละลายน้ำสูตรที่ 1 หลังจากพ่นสูตรสำเร็จแกรนูลก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุ 1 วัน และพ่นซ้ำหลังจากปลูกเชื้อรา เป็นเวลา 3 และ 5 วัน สามารถควบคุมโรคใบจุดบนผักกาดหอมได้ดี โดยให้เปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรคต่อต้นในผักกรีนโอ๊ค เรดคอรัล และบัตเตอร์เฮด เท่ากับ 20.0, 19.4 และ 22.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ลดลงจากชุดควบคุมถึง 53.2, 57.9 และ 65.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved