บทที่ 4

วิจารณ์

การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียในพื้นที่ปลูกต่าง ๆ ของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย สกลนคร อุบลราชธานี กาญจนบุรี สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ภูเก็ต ตรัง พัทลุง และสงขลา ระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2543-กันยายน 2544 และได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์อารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวง จังหวัดเชียงใหม่ แปลงปลูกที่เก็บตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นแปลงปลูกขนาดเล็ก มีพื้นที่น้อยกว่า 1 ไร่ มิได้เป็นแปลงใหญ่ระดับอุตสาหกรรม ในขณะที่บางตัวอย่าง เก็บได้จากสวนหลังบ้าน ระดับการเกิดโรคในแต่ละแปลงปลูกจึงไม่รุนแรง ประกอบกับเกษตรกรปลูกพืชที่เป็นพืชอาศัยสลับกับพืชที่ไม่ใช่พืชอาศัย หรือปล่อยให้เป็นที่ว่าง มีผลให้ปริมาณเชื้อในดินลดลง การเกิดโรคในช่วงที่ไปสำรวจจึงไม่รุนแรงมาก พบโรค เพียง 1-2 เปอร์เซ็นต์ในฤดูร้อน ส่วนในฤดูฝนอาจพบโรคได้ระหว่าง 3-6 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเชื้อ เจริญและระบาดได้ดีในฤดูฝน

จากตัวอย่างโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียจำนวน 62 ตัวอย่างแยกได้เชื้อบริสุทธิ์จำนวน 198 ไอโซเลท เมื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนมะเขือเทศสีดาทิพย์ 3 พบว่ามะเขือเทศ แสดงอาการโรคภายใน 3-15 วัน บางไอโซเลทก่อให้เกิดโรครุนแรง มะเขือเทศเหี่ยว แห้งตาย ภายใน 4 วัน จึงเป็นการบ่งบอกขั้นต้นได้ว่าเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้นั้น มีทั้งสายพันธุ์ที่ก่อ ให้เกิดโรค ได้รวดเร็วรุนแรง และก่อให้เกิดโรคไม่รุนแรง

จากการคัดเลือก *R. solanacearum* สายพันธุ์รุนแรงและไม่รุนแรง โดยคัดเลือกจากลักษณะและสีของโคโลนีของเชื้อบนอาหาร TZC พบเชื้อโคโลนีสีขาว ตรงกลางสีชมพูอ่อน มี เมือกรอบ ๆ โคโลนี จำนวน 133 ไอโซเลท โดยที่บางโคโลนี มีเมือกรอบ ๆ ค่อนข้างแคบหรือมีขอบ ขาวค่อนข้างแดง ส่วนโคโลนีสีแดงเข้ม ไม่มีเมือก มีจำนวน 65 ไอโซเลท ซึ่งเมื่อทดสอบความ รุนแรงในการก่อให้เกิดโรค พบว่าโคโลนีสีขาวตรงกลางสีชมพูอ่อน มีเมือกรอบ ๆ โคโลนี ก่อโรค รุนแรงโดยมีดัชนีการเกิดโรคระหว่าง 60-100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อที่มีโคโลนีสีแดง ไม่มีเมือก จำนวน 65 ไอโซเลท มีดัชนีการเกิดโรค ระหว่าง 27.78-38.89 เปอร์เซ็นต์ สำหรับโคโลนีที่มี ขอบขาว ค่อนข้างแดงนั้น มีดัชนีการเกิดโรค 75.56 เปอร์เซ็นต์ จึงสรุปได้ว่า จากเชื้อ *R. solanacearum* จำนวน 198 ไอโซเลท นั้นเป็นเชื้อสายพันธุ์รุนแรง 133 ไอโซเลท และสายพันธุ์ไม่

รุนแรง 65 ไอโซเลท ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kelman (1954) ซึ่งรายงานว่า เชื้อที่ มีโคโลนีสีชมพูล้อมรอบด้วยเมือกใส บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC จะเป็นเชื้อที่ก่อโรคได้รุนแรง ส่วน เชื้อที่มีโคโลนีสีแดง ไม่มีเมือกนั้น ก่อโรคไม่รุนแรง และกล่าวว่า การที่เซลล์แบคทีเรียสามารถ สร้างสารเมือก ซึ่งต่อมาเรียกว่า extrapolysaccharide (EPS) ได้นั้น แบคทีเรียจะก่อให้เกิดโรค ได้รุนแรงกว่าพวกที่ไม่สร้าง EPS โดยที่ EPS ที่ห่อหุ้มเซลล์นั้น จะช่วยเพิ่มมวลของแบคทีเรียใน ท่อน้ำของพืชที่เชื้อเข้าทำลาย ทำให้เกิดการอุดตันของท่อน้ำ และทำให้พืชเหี่ยวเร็วกว่าแบคทีเรีย ที่ไม่มี EPS ในขณะที่ Sigee (1993) กล่าวว่าการเกิดโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียนั้น นอกจากเกิดจาก การสะสมเพิ่มปริมาณแบคทีเรียแล้ว บางส่วนของ EPS อาจผ่านเข้าไปใน vessel ทำให้ xylem cavities ถูกอุดตัน และมีการสะสมที่ pit membrane หรือการที่ EPS ไม่สามารถเคลื่อนผ่านจุด เชื่อมระหว่างก้านใบกับกิ่งก้าน ท่อมีขนาดเล็กมาก EPS เคลื่อนผ่านไม่ได้ ก็จะทำให้เกิดแรงดัน ทำให้ vessel แตกออก ส่งผลให้พืชเหี่ยวเร็วและรุนแรง

การทดสอบปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญของเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง ต่อเชื้อสายพันธุ์รุนแรงในห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อสายพันธุ์รุนแรงแต่ละไอโซเลท ถูกยับยั้งโดยเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรงได้ชัดเจน ในขณะที่บางสายพันธุ์สามารถยับยั้งได้เล็กน้อย เชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง ที่ยับยั้งสายพันธุ์รุนแรงได้ดีที่สุดคือสายพันธุ์ 1031-4 ซึ่งยับยั้งสายพันธุ์รุนแรงได้ 8 ไอโซเลท ได้แก่ 1003-5, 1021-4, 1032-2, 1073-2, 1134-5, 1167-2, 1170-2 และ 1184-6 โดยมีค่าเฉลี่ยวงใสสูงที่สุดคือ 2.89 มิลลิเมตร และเมื่อศึกษาประวัติข้อมูลของเชื้อ 1031-4 นี้ พบว่าเป็นเชื้อที่แยกได้จากมะเขือยาว ที่แสดงอาการใบเหลืองหม่น ไม่เป็นมัน ไม่แสดงอาการเหี่ยว แต่เมื่อตัดโคนต้นมาตรวจสอบ พบ bacterial ooze และแยกได้เชื้อบริสุทธิ์ การที่ตรวจพบเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง (โคโลนีสีแดง ไม่ เป็นมัน มีดัชนีการเกิดโรค 32.83 เปอร์เซ็นต์) จากต้นที่แสดงอาการโรคไม่รุนแรงในแปลง แสดง ว่าในธรรมชาติ ก็มีการคัดเลือก และการแสดงออกของเชื้ออยู่แล้ว

ประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรงต่อเชื้อสายพันธุ์รุนแรงในเรือนกระจก ทุกคู่ให้ผลไปในทำนองเดียวกัน ตัวอย่างเช่น ชุดการทดลอง 1031-4 X 1170-2 การปลูกเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง 30 นาที แล้วตามด้วยสายพันธุ์รุนแรง 30 นาที (T1) กรรมวิธีปลูกเชื้อสายพันธุ์ ไม่รุนแรง และสายพันธุ์รุนแรงพร้อมกัน 30 นาที (T3) กรรมวิธีปลูกเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง ในวัสดุ ปลูก 3 วัน ด้วยวิธีราดเชื้อในดิน จากนั้นปลูกเชื้อสายพันธุ์รุนแรง 30 นาที ด้วยวิธีแช่ราก (T4) กรรมวิธีแช่เมล็ดมะเขือเทศในสารแขวนลอยแบคทีเรียสายพันธุ์ไม่รุนแรง 30 นาที ตามด้วยเชื้อ สายพันธุ์รุนแรงอีก 30 นาที (T5) และกรรมวิธีปลูกเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรงเพียงอย่างเดียว (T7)

ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับการปลูกเชื้อสายพันธุ์รุนแรงก่อนแล้วตามด้วยสายพันธุ์ไม่รุนแรง (T2) หรือกรรมวิธีการปลูกเชื้อสายพันธุ์รุนแรงเพียงอย่างเดียว (T6) โดยมีดัชนีการเกิดโรค 20.00, 19.33, 21.33 , 20.67 และ 12.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีปลูกเชื้อสายพันธุ์รุนแรง 30 นาที แล้วตามด้วยสายพันธุ์ไม่รุนแรง 30 นาที (T2) และกรรมวิธีปลูกเชื้อสายพันธุ์รุนแรงเพียงอย่างเดียว (T6) มีดัชนีการเกิดโรค 53.33 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เนื่องจากเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรงสามารถเจริญ และตั้งรกราก ก่อนสายพันธุ์รุนแรง นอกจากนี้เชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซิน เพื่อ ยับยั้งการเจริญของเชื้อสายพันธุ์รุนแรง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Arwiyanto และคณะ (1994) ที่พบว่าเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ ไม่รุนแรง str-10 ซึ่งมีการกลายพันธุ์ตาม ธรรมชาติ สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซิน ควบคุมโรคเหี่ยวได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่อุณหภูมิ 18-28 องศาเซลเซียส เมื่อศึกษาข้อมูลการถูกยับยั้งโดยเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง ในห้องปฏิบัติการ พบว่ามี เชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรงจำนวน 20 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเชื้อสายพันธุ์รุนแรง 1170-2 ซึ่งมีดัชนีการเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ได้ โดยเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง 1031-4 มีประสิทธิภาพยับยั้ง ได้สูงสุด มีค่าเฉลี่ยวงใสสูงสุด 2.75 มิลลิเมตร (ตารางผนวกที่ 9) จึงสรุปได้ว่าเชื้อสายพันธุ์ไม่รุน แรง 1031-4 มีประสิทธิภาพในการลดการก่อโรคของเชื้อสายพันธุ์รุนแรงได้

R. solanacearum สายพันธุ์ไม่รุนแรงที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ สามารถลดความรุนแรงในการเกิดโรคได้ระดับหนึ่ง การปลูกเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรงก่อน เพื่อให้เชื้อสามารถตั้งรกรากที่บริเวณรากพืชและบริเวณโดยรอบ จะลดความรุนแรงของการเกิดโรคได้ดีกว่าการใช้หลังจากที่เชื้อสายพันธุ์รุนแรงตั้งรกรากก่อนแล้ว อย่างไรก็ตามการนำไปปรับใช้ในแปลงปลูกของเกษตรกร ควรเลือกใช้เฉพาะในแหล่งที่มีการระบาดของโรครุนแรงมาก ๆ เพื่อลดปริมาณของเชื้อสายพันธุ์รุนแรง สำหรับแหล่งที่มีการระบาดของโรคน้อย ไม่แนะนำให้ใช้เชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง เนื่องจากอาจเป็นการเพิ่มปริมาณเชื้อโรค ถึงแม้เป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรคไม่รุนแรงก็ตาม นอกจากนี้ควรที่จะมีการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรงในแปลงทดลอง รวมทั้งสกัดสารแบคเทอริโอซินต่อไป