บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

หน้าวัวมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Anthurium andraeanum* Lind. ex Andre' จัดอยู่ในวงศ์ Araceae (Norman and Yuen, 1999) เป็นไม้ตัดดอกและไม้ใบเขตร้อน มีถิ่นกำเนิดในประเทศโคลัมเบีย นำเข้ามาในประเทศไทยประมาณ พ.ศ. 2440 (สมเพียร เกษมทรัพย์, 2525) หน้าวัวมีความหลากหลายของสายพันธุ์มากถึง 1,500 สายพันธุ์ แต่ที่นำมาเพาะปลูกเป็นการค้ามีเพียง 15-20 สายพันธุ์ (อดิศร กระแสชัย, 2539) ดอกหน้าวัวมีลักษณะพิเศษคือทน มีอายุการใช้งานนาน เลี้ยงง่ายและต้นมีอายุหลายปี ระบบรากเป็นรากอากาศ เจริญเติบโตได้ดีบนพืชหรือก้อนหิน พื้นที่ปลูกควรมีอากาศถ่ายเทได้สะดวก มีน้ำเพียงพอและน้ำไม่ท่วมขัง อุณหภูมิที่หน้าวัวสามารถเจริญได้คือ 15-35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-90 เปอร์เซ็นต์ (วารี เจริญผล, 2544)

หน้าวัวจัดเป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่มีความสำคัญไม่น้อยไปกว่าไม้ดอกชนิดอื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจากดอกหน้าวัวมีสีสันสวยงาม สะดุดตา ก้านดอกยาวและแข็งแรง มีอายุการใช้งาน 15 - 20 วัน เป็นที่นิยมของตลาดต่างประเทศ จากการสำรวจพบว่า หน้าวัวเป็นไม้ตัดดอกที่ทำรายได้สูงสุด คือ 140,000 บาทต่อไร่ต่อปี รองลงมาคือ เบญจมาศ 72,924 บาทต่อไร่ต่อปี มีแนวโน้มที่จะส่งไปขายต่างประเทศ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2538 และ สุรวิช วรรณไกรโรจน์, 2537) ตลาดหน้าวัวที่สำคัญได้แก่ ทวีปยุโรป ประเทศญี่ปุ่น ฮ่องกง และสิงคโปร์ ตามลำดับ แหล่งผลิตหน้าวัวที่สำคัญของโลกได้แก่ เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา ประเทศในแถบทะเลคาริเบียน ทวีปอเมริกาใต้ ส่วนในแถบเอเชียประเทศที่ผลิตหน้าวัวได้แก่ มอริเชียส ไต้หวัน และฟิลิปปินส์ โดยเนเธอร์แลนด์ เป็นประเทศที่ส่งออกกล้าหน้าวัว ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากที่สุด (วารี เจริญผล, 2544)

สำหรับประเทศไทย ซึ่งเป็นประเทศในเขตร้อน สามารถปลูกหน้าวัวให้มีคุณภาพดีได้ แต่เนื่องจากต้นทุนการผลิตค่อนข้างสูงและระยะเวลาที่เริ่มให้ผลผลิตช้า ประกอบกับปริมาณการใช้มีไม่มากนัก ทำให้ในปี พ.ศ. 2540 มีพื้นที่ปลูกรวมเพียงประมาณ 150 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2542) โดยส่วนใหญ่มีการปลูกเลี้ยงหน้าวัวเป็นการค้ามากที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร นนทบุรี เชียงราย ภูเก็ต ชุมพร ปทุมธานี และกระบี่ ได้ผลผลิตประมาณ 70,000 ดอกต่อไร่ต่อปี ราคาดอกละ 2 -20 บาท ซึ่งจะเห็นได้ว่าหน้าวัวเป็นไม้ตัดดอกอีกชนิดหนึ่งที่ทำรายได้สูง (เศรษฐพงษ์ เลขะวัฒนะ, 2543)

ในการปลูกหน้าวัวมักประสบกับปัญหาที่สำคัญประการหนึ่ง คือ ศัตรูพืช แมลงที่สำคัญได้แก่ เพลี้ยไฟ หนอนผีเสื้อ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอยและไรแดง ส่วนโรคที่พบได้แก่ โรคใบจุด รากเน่า ใบไหม้ แอนแทรคโนส และโรคเหี่ยว ในขณะที่โรคใบไหม้ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรง (Soustrade *et al.*, 2000)

สุเนตรา ภาวิจิตร (2537) ได้รายงานพบโรคใบไหม้ของหน้าวัว ในประเทศไทยครั้งแรก ใน ปี พ.ศ. 2537 หลังจากนั้นในปี 2543 เกษตรกรจากอำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา ได้นำตัวอย่างหน้าวัว เพื่อขอความอนุเคราะห์จากภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลา นครินทร์ในการวินิจฉัย ซึ่งจากการวินิจฉัยเบื้องต้น พบว่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และจากการไปสำรวจที่โรงเรือนหน้าวัวนี้ พบว่าโรคระบาดรุนแรงมาก มีต้นหน้าวัวตายไปจำนวนมากกว่า 500 ต้น และสันนิษฐานว่า เชื้ออาจติดมากับต้นพันธุ์ที่ส่งมาจากประเทศเนเธอร์แลนด์ เนื่องจากเกษตรกรสังเกต พบว่าต้นกล้าบางต้นที่ส่งมาใบมีจุดแผลเล็ก ๆ ต่อมามีสีเหลืองบางต้นรากมีสีน้ำตาล เมื่อแจ้งให้บริษัทในประเทศเนเธอร์แลนด์รับทราบบริษัทไม่รับผิดชอบ นอกจากนั้นยังมีรายงานการระบาดของโรคนี้โดยเชื้อติดมากับต้นพันธุ์ (Sathyanarayana *et al.*, 1998 ; Soustrade *et al.*, 2000) ดังนั้นหากสามารถตรวจพบการติดเชื้อ หรือการเข้าทำลายของเชื้อตั้งแต่นำเข้าจากต่างประเทศ หรือก่อนนำไปปลูกในพื้นที่ใหม่ ก็จะเป็นการลดความเสี่ยงของการระบาดของโรค จึงได้วางแผนการทดลอง พัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคนี้ได้อย่างรวดเร็วและถูกต้อง ในรูปแบบของอาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะ (semi-selective media) อีกทั้งพัฒนาเทคนิคทางเซรุ่มวิทยา เพื่อ ใช้ในการตรวจหาเชื้อที่อาจติดมากับต้นกล้าหน้าวัวหรือส่วนขยายพันธุ์อื่น ๆ ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาใช้ในภาคสนามหรือแปลงปลูกเพื่อให้เกษตรกรได้ตรวจสอบการติดเชื้อได้ด้วยตนเองต่อไป

การตรวจเอกสาร

1. โรคใบไหม้ของหน้าวัว

1.1 ความสำคัญและความเสียหายทางเศรษฐกิจ

ในปี ค.ศ. 1991 Doesburg (1991) ได้รายงานถึงการส่งออกต้นพันธุ์หน้าวัวในตลาดการค้าโลกประมาณ 9.1 ล้านต้น คิดเป็นมูลค่า 20 ล้านดอลลาร์สหรัฐ โดยมีแหล่งผลิตและส่งออกที่สำคัญ ได้แก่ มลรัฐฮาวาย ประเทศสหรัฐอเมริกา และเนเธอร์แลนด์ ต่อมาในปี ค.ศ. 1998 Chark (1998) รายงานว่ามลรัฐฮาวายมีการผลิตหน้าวัวเพื่อการส่งออกมูลค่า 69.5 ล้านดอลลาร์สหรัฐ โดยมีประเทศที่นำเข้าต้นพันธุ์หน้าวัวที่สำคัญคือ ประเทศเยอรมัน ฝรั่งเศส อิตาลี ญี่ปุ่น ฮ่องกง และสิงคโปร์

โรคใบไหม้ของหน้าวัวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย (bacterial leaf blight) มีเชื้อสาเหตุของโรค คือ *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* (McCulloch and Pirone, 1939 อ้างถึงใน Norman and Alvarez, 1989) มีรายงานพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1939 โดยเกิดกับสาวน้อยประแป้ง (*Dieffenbachia picta*) ต่อมามีรายงานการระบาดของโรคนี้ครั้งแรกกับหน้าวัวที่ประเทศบราซิล และในปี 1971 Hayward (1972) ได้รายงานการพบโรคใบไหม้กับหน้าวัวที่เกาะกัวไฮ (Kauai) ในมลรัฐฮาวาย ซึ่ง Shehata และคณะ (1990 อ้างถึงใน Norman and Alvarez, 1989) ได้ทำการศึกษาความ

เสียหายของหน้าวัวที่เกิดจากโรคใบไหม้ในระหว่างปี 1984-1988 พบว่า โรคนี้ได้ทำให้พื้นที่การเพาะปลูกหน้าวัวลดลง 24 % และทำให้ปริมาณผลผลิตดอกหน้าวัวส่งออกลดลง 22.8 % ซึ่งคิดเป็นมูลค่าความเสียหาย 2.74 ล้านดอลลาร์

นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงความเสียหายของหน้าวัวอย่างกว้างขวางในเวเนซุเอลา (Guevara and Debrot, 1985 อ้างถึงใน Lipp *et al.*, 1992) ฝรั่งเศส (Prior *et al.*, 1986 อ้างถึงใน Norman *et al.*, 1999) ฟิลิปปินส์ (Natural, 1990 อ้างถึงใน Lipp *et al.*, 1992) จาไมก้า (Young, 1990) ตาฮิติ (Mu, 1990 อ้างถึงใน Lipp *et al.*, 1992) อิตาลี (Zoina *et al.*, 1999) และในมลรัฐต่าง ๆ ของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้แก่ ฮาวาย (Hayward, 1972; Venette *et al.*, 1992 and Lipp *et al.*, 1992) แคลิฟอร์เนีย (Cooksey, 1985) และฟลอริด้า (Norman, 1997 อ้างถึงใน Norman *et al.*, 1999)

Soustrade และคณะ (2000) ได้รายงานพบการระบาดของโรคใบไหม้ ที่เกาะเรยูเนียน (Reunion) ในปี ค.ศ. 1997 โดยเกิดกับต้นกล้าหน้าวัวที่นำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ และจากการสำรวจระหว่างปี 1997-2000 สามารถรวบรวมเชื้อได้ถึง 114 สายพันธุ์จากแหล่งปลูกที่สำคัญบนเกาะ ส่วนในประเทศไทย สุเนตรา ภาวิจิตร (2537) ได้รายงานพบโรคใบไหม้ของหน้าวัวครั้งแรกในปี พ.ศ. 2537

1.2 เชื้อสาเหตุโรคใบไหม้

โรคใบไหม้เกิดจากเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ลักษณะที่สำคัญของแบคทีเรียชนิดนี้คือ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ สามารถเจริญได้ดีในที่ ๆ มีออกซิเจน รูปร่างเป็นแท่งขนาด 0.4-0.7x0.7-1.8 µm มีแฟลกเจลลา 1 เส้นที่ปลาย ให้ผล catalase เป็นบวก สามารถสร้างกรดได้ในอาหารที่มีสารคาร์โบไฮเดรต สร้างเมือกเหนียวขับออกนอกเซลล์ (xanthan gum) ซึ่งเป็นสารพวกโพลีแซ็กคาไรด์บนอาหารที่มีกลูโคสเป็นส่วนประกอบ สร้างรงควัตถุสีเหลืองเรียกว่า xanthomonadin (Jeans, *et al.*,1961)

1.3 ลักษณะอาการและการแพร่ระบาด

ลักษณะอาการของโรคใบไหม้ของหน้าวัวแตกต่างกันเล็กน้อย ขึ้นอยู่กับจุดที่เชื้อเข้าทำลาย โดยเชื้อสามารถเข้าทำลายพืชได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงระยะที่พืชโตแล้ว (Cooksey, 1985) ซึ่งส่วนใหญ่เชื้อเข้าทำลายพืชทางบาดแผล และต่อมคายน้ำ (Norman *et al.*, 1999) อาการเริ่มแรกเป็นแผลฉ่ำน้ำสีเขียวเข้ม (นิยมรัฐ ไตรศรี, 2544 และ Norman *et al.*, 1999) ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และสีน้ำตาลเข้มจนถึงสีดำแต่ยังคงมีสีเหลืองล้อมรอบแผล ขนาดของแผลจะแตกต่างกันออกไป บางครั้งขยายออกไปตามแนวยาวของเส้นกลางใบ (midrib) จนถึงขอบใบ (Lipp *et al.*, 1992) ในกรณีที่บรรยากาศมีความชื้นสัมพัทธ์สูงจะพบว่าเชื้อเข้าทำลายทางปากใบ (Soustrade *et al.*, 2000) อาการบริเวณใต้ใบจะพบหยดน้ำสีเหลืองเกาะติดเนื้อเยื่อผิวใบ ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ถูกขับออกมาจากเนื้อเยื่อของพืช สอดคล้องกับรายงานของ Norman และคณะ (1999) Pohronezny และคณะ (1985) และ

สุเนตรา ภาวิจิตร (2537) นอกจากนี้ยังพบอาการแผลสีน้ำตาลจากปลายปลีลุกลามเข้าไปในก้านดอกและจานรองดอก (spathe) ได้อีกด้วย โรคนี้จึงเป็นโรคที่ทำความเสียหายแก่ต้นหน้าวัวทั้งในต้นอ่อนจนถึงต้นที่กำลังออกดอก (นิยมรัฐ ไตรศรี ,2544)

การระบาดของโรคเกิดจากการแพร่กระจายของเชื้อได้โดยฝน ลม การให้น้ำระบบฉีดพ่นด้านบน อีกทั้งยังติดไปกับเครื่องมือและเสื้อผ้า (Brion, 2000) นอกจากนี้ยังขึ้นกับสภาพการปลูกเลี้ยงภายในโรงเรือนที่ขึ้นแฉะ ความชื้นสูง วัสดุหรือเครื่องปลูกที่มีขี้ตะไคร่หนามาก การระบายน้ำน้อย หรือให้น้ำหน้าวัวมากเกินไป การพรางแสงไม่เหมาะสม การถ่ายเทอากาศภายในโรงเรือนไม่ดี อบอ้าว ส่งผลให้ภายในโรงเรือนมีบรรยากาศร้อนชื้นเหมาะกับการเจริญของเชื้อ การระบาดของโรคจึงรุนแรง รวมทั้งในฤดูฝน ซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศสูง (นิยมรัฐ ไตรศรี, 2544 และ นิรนาม, ม.ป.ป.) นอกจากนั้น Sathyanarayana และคณะ (1998) ซึ่งเป็นเจ้าหน้าที่ด่านกักกันพืชของประเทศอินเดีย ได้ตรวจพบต้นกล้าหน้าวัวที่ส่งมาจากประเทศเนเธอร์แลนด์มีอาการจุดฉ่ำน้ำบนใบ บางใบมีรอยแผลสีเหลือง ขอบใบมีรอยไหม้ จึงได้ทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ ทดสอบโรค และจำแนกชนิดของเชื้อ พบว่าเป็นเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ในกรณีนี้หากนำต้นกล้าหน้าวัวไปปลูกก็จะเป็นแหล่งแพร่การระบาดของโรคนี้ได้ดี

Norman และ Alvarez (1994) ได้รายงานว่าเชื้อสามารถเข้าทำลายหน้าวัวแต่ไม่ทำให้หน้าวัวแสดงอาการโรคใบไหม้ ซึ่งจะเป็นแหล่งการแพร่ระบาดของโรคได้ เมื่อมีการนำหน้าวัวที่มีการปนเปื้อนของเชื้อไปเพาะปลูก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Fukui และคณะ (1999c) นอกจากนี้ Fukui และคณะ (1999a) กล่าวว่า เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถแอบแฝงอยู่ได้กับพืชอาศัยชนิดอื่น รวมทั้งวัชพืช โดยที่พืชไม่แสดงอาการโรค เมื่อนำหน้าวัวเข้ามาปลูกในบริเวณนั้นจึงเกิดการแพร่ระบาดของเชื้อได้

1.4 พืชอาศัย

Sathyanarayana และคณะ (1998) กล่าวว่าเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้นอกจากเข้าทำลายหน้าวัวแล้ว เชื้อยังสามารถเข้าทำลายพืชชนิดอื่น ๆ ได้แก่ สาวน้อยประแป้ง (*Dieffenbachia* sp.) ต้นกระดาษ (*Xanthosoma* sp.) เขียวหมื่นปี (*Aglaonema* sp.) เงินไหลมา (*Syngonium* sp.) ฟิโลเดนดรอน (*Philodendron* sp.) บอนสี (*Caladium* sp.) และ เผือก (*Colocasia* sp.) ส่วน Norman และ Alvarez (1989) พบว่าเชื้อเข้าทำลายเผือก และ *Epipremnum* sp. ในขณะที่นอกจากพืชดังกล่าวแล้ว Norman และคณะ (1999) ยังพบว่าเชื้อสามารถเข้าทำลายเดหลี (*Spathiphyllum* sp.) ได้ ส่วน Pohronezny และคณะ (1985) รายงานว่า Cocoyam (*Xanthosoma caracu*) ก็เป็นพืชอาศัยของเชื้อชนิดนี้เช่นเดียวกัน

1.5 การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้

1.5.1 การเขตกรรม

Lipp และคณะ (1992) และ Nishijima (1989 อ้างถึงใน Fukui *et al.*, 1999a) สรุปการป้อง

กันกำจัดโรคใบไหม้ของหน้าวัวด้วยการใช้หลักเขตกรรม โดยการดูแลจัดการภายในโรงเรือนและแปลงปลูก ได้แก่ ปรับสภาพโรงเรือนให้เหมาะสม อย่าให้ชื้นแฉะ อากาศถ่ายเทได้สะดวก พรางแสงให้พอเหมาะกับการเจริญเติบโตของต้นหน้าวัวในแต่ละระยะ จัดวางกระถางปลูกหรือระยะปลูกไม่ควรชิดแน่นจนใบซ้อนกัน แสงแดดส่องไม่ทั่วถึง จะทำให้เกิดความชื้นบริเวณรอบ ๆ ต้นหน้าวัวสูง แยกกระถางหรือถอนแยกต้นที่เป็นโรคในแปลงปลูกออกจากโรงเรือนเพื่อรักษาหรือเผาทำลาย ส่วน Fukui และคณะ (1999b) กล่าวว่านอกเหนือจากการเขตกรรมที่ดีดังกล่าวแล้ว การจัดการดูแลพืชอาศัย การไม่ปลูกพืชอาศัยในโรงเรือนเดียวกับหน้าวัวจะลดปริมาณเชื้อได้ นอกจากนี้การทำความสะอาดแปลงปลูก โดยการกำจัดเศษวัชพืชหรือต้นที่เป็นโรคไปเผาทำลายก็เป็นการช่วยลดปริมาณเชื้อและการแพร่ระบาดได้ในระดับหนึ่ง (Chase and El-Gholl, 1982 ; Nishijima and Fujiyama, 1985) รวมทั้งการเปลี่ยนวัสดุปลูกในกระถางทุก ๆ 6 เดือน หรือ 1 ปี ก็สามารถลดการแพร่ระบาดได้เช่นเดียวกัน (Pfleger and Gould, 1998) นอกจากนี้การทำความสะอาดเครื่องมือ อุปกรณ์ต่าง ๆ รวมทั้งมือของผู้ที่เข้าไปในแปลงปลูกด้วยการใช้แอลกอฮอล์ 70% ก็เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ช่วยป้องกันการติดเชื้อและการแพร่ระบาดในแปลงปลูกได้ (Sewak *et al.*, 1990) ส่วน Chase และ Poole (1986) กล่าวว่าการให้ปุ๋ยในปริมาณที่เหมาะสม ก็สามารถลดการทำลายจากเชื้อสาเหตุโรคได้

1.5.2 การใช้ต้นพันธุ์ที่ปลอดเชื้อ

Tanabe และคณะ (1995 อ้างถึงใน Fukui *et al.*, 1998) ได้แนะนำให้ใช้ต้นพันธุ์หน้าวัวปราศจากโรคที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเช่นเดียวกับ วารี เจริญผล (2544) และนิยมรัฐ ไตรศรี (2544) แต่จากการศึกษาของ Kuehnle และ Sugii (1991) พบว่าเชื้อสามารถอาศัยแบบแอบแฝงได้บนแคลลัสโดยไม่แสดงอาการ และสามารถถ่ายทอดไปสู่ต้นใหม่ได้ ในขณะที่ Anais และ Darrasse (1988) พบว่าเชื้อสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากการผสมพันธุ์ หากต้นพันธุ์นั้นมีเชื้ออาศัยอยู่ก่อน เมื่อนำเมล็ดมาเพาะก็จะได้ต้นกล้าที่มีเชื้ออาศัยอยู่ และแสดงอาการโรคได้หากสภาพแวดล้อมเหมาะสม

1.5.3 การใช้พันธุ์ต้านทาน

Kamamoto และคณะ (1990 อ้างถึงใน Lipp *et al.*, 1992) และ Fukui และคณะ (1996) ได้แนะนำให้ใช้พันธุ์ต้านทานในการปลูก แต่มีข้อจำกัด คือ พันธุ์ที่ต้านทานโรคมักเป็นพันธุ์ที่ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด เนื่องจากข้อจำกัดของขนาดรูปร่าง และสีของดอก แนวทางที่เป็นไปได้อีกประการหนึ่งคือการปรับปรุงพันธุ์โดยให้มียีนของพันธุ์พื้นเมืองผสมอยู่ด้วย Norman และคณะ (1999) ได้ทำการทดสอบความรุนแรงของการเกิดโรคกับหน้าวัวกระถาง (pot anthurium) 14 สายพันธุ์ และหน้าวัวตัดดอก (cut-flower) 1 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์หน้าวัวมีความต้านทานและอ่อนแอต่อโรคแตกต่างกัน หน้าวัวกระถางสายพันธุ์ Julia และ Gemini มีความต้านทานต่อโรคชนิดนี้มากที่สุด เนื่องจากทั้ง

สองพันธุ์ได้จากการผสมพันธุ์ที่มียีนของพันธุ์พื้นเมืองผสมอยู่ด้วย และหน้าวัวตัดดอกสายพันธุ์ Hearts Desire ซึ่งได้จากการผสมพันธุ์กันเองของ *A. andraeanum* มีความอ่อนแอต่อโรคมากที่สุด

1.5.4 การใช้สารเคมี

Fukui และคณะ (1999b) และนิยมรัฐ ไตรศรี และคณะ (2536) ได้แนะนำให้ใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (copperoxychloride) และสารปฏิชีวนะพวกสเตรปโตมายซิน (streptomycin) ออกซีเตตตระซัยคลิน (oxytetracycline) และโปรเคน เพนนิซิลิน จี (procaine penicillin G 25% WP) แต่ Chase และ Poole (1986) กล่าวว่าสารที่มีคอปเปอร์เป็นองค์ประกอบและสารสเตรปโตมายซิน ซัลเฟต (streptomycin sulphate) มีผลกระทบต่อผลผลิตหน้าวัวโดยทำให้หน้าวัวมีดอกและใบไม่สมบูรณ์ ซึ่งส่งผลราคาขายโดยตรง จึงควรระมัดระวังในการใช้สารเหล่านี้ อย่างไรก็ตาม Nishijima และ Fujiyama (1985) ได้สรุปว่าการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคนั้นควรตัดใบที่แสดงอาการโรคหรือย้ายต้นออกจากแปลงปลูกก่อนแล้วจึงทำการฉีดพ่นด้วยสารเคมี

1.5.5 การใช้เชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค

Alvarez (2001) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งโรคของเชื้อปฏิปักษ์ที่แยกได้จากใบหน้าวัวที่เป็นโรคใบไหม้ ได้แก่ *Pseudomonas* sp. และ *Bacillus* sp.โดยทำการฉีดพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บริเวณราก และผิวใบของเงินไหลมา และสาวน้อยประแป้งที่ผ่านการปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้ว พบว่า ลดการเกิดโรคได้ โดยเชื้อปฏิปักษ์สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อสาเหตุภายใต้สภาพแวดล้อมที่อบอุ่นได้ดีกว่าสภาพแวดล้อมที่หนาวเย็น แต่อย่างไรก็ตาม Fukui และคณะ (1999a) รายงานว่าการควบคุมโรคด้วยวิธีนี้มีข้อจำกัดคือ ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ย่อมส่งผลต่อประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคของเชื้อปฏิปักษ์ชนิดนั้น ๆ

2. การวินิจฉัยและการตรวจหาเชื้อ

ในปัจจุบันวิธีที่นิยมใช้ในการวินิจฉัยโรคและการตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคพืชชนิดต่าง ๆ คือ วิธีทางเซรุ่มวิทยา (serology) และการใช้อาหารเลือกเฉพาะ (selective medium) ความแม่นยำของการทดสอบทางเซรุ่มวิทยาขึ้นกับคุณภาพของแอนติซีรัม และวิธีการทดสอบ (Schaad, 1978) วิธีการทดสอบแบคทีเรียโรคพืชที่มีความไว ถูกต้องและแม่นยำ ได้แก่ Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Alvarez and Lon, 1985 ; Civerolo and Fan, 1982) Dot-immunobiding assay (DIBA) (Leach *et al.*, 1987) และ immunofluorescent staining (Domen and Alvarez, 1978 ; Malin *et al.*,1983 and Schaad, 1978)

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ (2537) ได้กล่าวถึงวิธี immunofluorescence เป็นการใช้สารเรืองแสงเป็นสารติดฉลาก โดยทั่วไปจะใช้แอนติบอดีติดฉลากเพื่อการตรวจหาแอนติเจน สารเรืองแสงที่นิยมใช้

คือ fluorescein ซึ่งอยู่ในรูปของ fluorescein isothiocyanate (FITC) และ rhodamine ซึ่งอยู่ในรูปของ tetramethylrhodamine isothiocyanate (TRITC) ตามลำดับ ซึ่งสารเหล่านี้มีสมบัติที่สามารถดูดซึม (absorb) แสงสีหนึ่งและปล่อย (emit) แสงอีกสีหนึ่งออกมา แสงซึ่งมีสีต่าง ๆ กันมีความยาวคลื่นและพลังงานต่างกัน สารเรืองแสงจะดูดซึมแสงที่มีความยาวคลื่นน้อยซึ่งมีพลังงานสูง และปล่อยแสงที่มีความยาวคลื่นมากกว่าซึ่งมีพลังงานต่ำกว่าออกมา สารเรืองแสงต่างชนิดกันจะดูดซึมและปล่อยแสงความยาวคลื่นต่างกัน FITC ดูดซึมแสงความยาวคลื่น 490-495 นาโนเมตร และปล่อยแสงความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ซึ่งเป็นแสงสีเขียวได้มากที่สุด ส่วน TRITC ดูดซึมแสงความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร และปล่อยแสงความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร ซึ่งเป็นแสงสีแดงได้มากที่สุด การตรวจสอบดูสารเรืองแสงในวิธี immunofluorescence ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ซึ่งมีหลอดไฟพิเศษ สำหรับเป็นแหล่งกำเนิดแสงที่จะส่องผ่านสารเรืองแสงดังกล่าว และมีแผ่นกรองแสงซึ่งกั้นมิให้แสงที่ออกมาโดยตรงจากหลอดไฟนั้นผ่านมาเข้าตา แต่จะยอมให้แสงที่ปล่อยออกมาจากสารเรืองแสง ซึ่งมีความยาวคลื่นยาวกว่านั้นผ่านมาให้มองเห็นได้ ดังนั้น ถ้าตำแหน่งใดมีสารดังกล่าวอยู่ก็จะมองเห็นมีแสงเรือง ซึ่งจะมีสีแตกต่างไปตามชนิดของสารเรืองแสงที่ใช้ การตรวจพบเช่นนี้เป็นเครื่องบ่งชี้ว่าการตรวจสอบนั้นให้ผลบวก โดยหลักการสามารถแบ่งวิธีการทดสอบได้เป็น 2 แบบ คือ direct immunofluorescence และ indirect immunofluorescence

Direct immunofluorescence วิธีการทดสอบนี้มีหลักการคือ นำแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนที่ต้องการตรวจหานั้นมาติดฉลากด้วยสารเรืองแสง และให้ทำปฏิกิริยากับเนื้อเยื่อหรือเซลล์ที่ต้องการตรวจ หาแอนติเจน

Indirect immunofluorescence วิธีการทดสอบนี้มีหลักการคือ ให้แอนติเจนหรือแอนติบอดีที่ต้องการทดสอบทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีหรือแอนติเจนที่จำเพาะ และใช้แอนติบอดีต่ออิมมูโนโกลบุลิน ซึ่งติดฉลากไว้ด้วยสารเรืองแสง แล้วเป็นตัวทำปฏิกิริยาอีกตัวหนึ่ง ซึ่งช่วยบอกว่ามีปฏิกิริยาระหว่างแอนติ เจนและแอนติบอดีที่ต้องการทดสอบนั้นเกิดขึ้นหรือไม่ ดังนั้นเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสงก็จะเห็นแสงเรืองบนแผ่นกระจกได้

Allen และ Kelman (1975) ได้พัฒนาเทคนิค immunofluorescent staining ในการตรวจแยกเชื้อ *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* โดยในขั้นต้นได้ทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดผสมกัน พบว่า สามารถตรวจหาเชื้อ *E. carotovora* var. *atroseptica* ได้ดี จากนั้นจึงได้ทดสอบตรวจหาเชื้อจาก ใบและหัวมันฝรั่ง ดิน และแมลงจากแหล่งที่มีการระบาดของโรค พบว่า สามารถตรวจหาเชื้อ *E. carotovora* var. *atroseptica* ได้ดีเช่นกัน

Schaad (1978) ได้ทำการเปรียบเทียบวิธี direct immunofluorescence และ indirect immunofluorescence ในการตรวจวัดระดับไตเตอร์ของแอนติซีรัมที่ได้จากการใช้ 70S ribosome ของเชื้อ *X. campestris* เป็นแอนติเจน กับเชื้อ *X. campestris* สายพันธุ์ต่าง ๆ ซึ่งผลปรากฏว่าทั้งสอง

วิธีนั้น แอนติซีรัม สามารถทำปฏิกิริยากับเชื้อ *X. campestris* ได้ทุกสายพันธุ์ แต่วิธี indirect immunofluorescence สามารถตรวจวัดระดับไตเตอร์ของแอนติซีรัมที่ได้สูงกว่า เช่นเดียวกับ Malin และคณะ (1983) ศึกษาการตรวจหาและการจำแนกเชื้อ *X. campestris* pv. *phaseoli* โดยวิธี indirect immunofluorescence พบว่าสามารถตรวจจำแนกเชื้อจากเมล็ดถั่วได้ เมื่อมีการปนเปื้อนของเชื้อ *X. campestris* pv. *phaseoli* ต่ำสุดในปริมาณ 10^2 cfu /มิลลิลิตร

Franken (1992) ได้ทำการตรวจแยกเชื้อ X. *campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคเน่าดำ (black rot) จากเมล็ดกะหล่ำปลี โดยใช้วิธี indirect immunofluorescence เปรียบเทียบกับ dilution-plating พบว่าวิธี immunofluorescence สามารถตรวจพบเชื้อได้ดีกว่าวิธี dilution-plating คือ สามารถตรวจพบเชื้อจากเมล็ดกะหล่ำปลี ทั้งที่สังเกตเห็นการปนเปื้อนชัดเจนและไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อ ส่วนวิธี dilution-plating ตรวจพบเชื้อเฉพาะเมล็ดที่สังเกตเห็นการปนเปื้อนของเชื้อชัดเจนเท่านั้น และยืนยันการปนเปื้อนของเชื้อโดยทดสอบการเกิดโรค สำหรับในประเทศไทย ชลิดา เล็กสมบูรณ์ และคณะ (2531) ได้ใช้วิธี indirect immunofluorescent staining ในการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *manihotis* จากใบมันสำปะหลังที่เป็นโรคใบจุดเหลี่ยมและใบไหม้ โดยสามารถตรวจพบเชื้อปริมาณต่ำสุดที่ 10^2 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตรของใบ และจากดินที่คลุกเชื้อ *X. campestris* pv. *manihotis* ที่ 10^3 cfu ต่อดิน 1 กรัม

ส่วนการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช โดยใช้อาหารเลือกเฉพาะ (selective media) นั้นได้มีการศึกษาและพัฒนาอาหารให้เหมาะสมในการแยกเชื้อจากพืชที่เป็นโรค ดิน หรือน้ำ เพื่อประโยชน์ในการแยกเชื้อบริสุทธิ์และวินิจฉัยโรคอย่างรวดเร็ว ซึ่งมีทั้งอาหารที่ใช้สำหรับแยกเชื้อในระดับสกุล (genus) ชนิด (species) และ pathovar การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชระดับสกุล มีการพัฒนาอาหารสำหรับแยกเชื้อ *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* และ *Xanthomonas* โดย Kado และ Heskett (1970) ส่วนการแยกเชื้อระดับ pathovar ได้มีการพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะสำหรับเชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* หลาย pathovar ได้แก่ *X. campestris* pv. *campestris* (Randhawa and Schaad, 1984) *X. campestris* pv. *carotae* (Kuan and Minsavage, 1985) และ *X. campestris* pv. *phaseoli* (Claflin *et al.*, 1987)

ชลิดา เล็กสมบูรณ์ และคณะ (2531) ได้ศึกษาพัฒนาอาหารกึ่งเฉพาะขึ้น เพื่อตรวจหาเชื้อ *X. campestris* pv. *manihotis* สาเหตุโรคใบจุดเหลี่ยมและใบไหม้ จากดินและใบมันสำปะหลัง คืออาหาร SXM (semi-selective medium for *X. campestris* pv. *manihotis*) สามารถตรวจพบเชื้อในดินได้ต่ำสุด 10^3 cfu ต่อดิน 1 กรัม และบนใบมันสำปะหลังได้ต่ำสุดที่ 10^2 cfu ต่อตารางเซนติเมตร โดยเชื้อ *X. campestris* pv. *manihotis* ที่เจริญบนอาหารนี้ โคโลนีใส ตรงกลางโคโลนีมีสีเขียวเข้ม รอบ ๆ โคโลนีจะมีบริเวณใส และมีขนาดโคโลนี 3-6 มิลลิเมตร

Norman และ Alvarez (1989) ได้มีการพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะขึ้นมาใช้ในการแยกเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* เบื้องต้น 2 ชนิด คือ CS medium ซึ่งมี cellobiose และ starch เป็นแหล่งคาร์บอน และ ET medium มี esculin และ trehalose เป็นแหล่งคาร์บอน และมีสารปฏิชีวนะและสารเร่งการเจริญเป็นองค์ประกอบ ซึ่งพบว่าเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* และ *X. campestris* สามารถเจริญได้บนอาหารทั้งสองชนิด แต่เชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่ทำการทดสอบไม่สามารถเจริญได้ลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหาร CS medium คือ โคโลนีเมือก เยิ้ม เป็นมัน ขนาดโคโลนี 5-7 มิลลิเมตร รอบ ๆ โคโลนีจะเกิดบริเวณใสเนื่องจากเชื้อสามารถย่อยแป้งได้ ส่วนบนอาหาร ET medium คือ โคโลนีรูปร่างกลม เมือก รอบ ๆ โคโลนีจะเกิดบริเวณสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เนื่องจากเชื้อสามารถย่อย esculin ได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้ทราบแหล่งที่มีโรคใบไหม้ระบาดในภาคใต้ของประเทศไทย
2. เพื่อให้ได้อาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถใช้แยกเชื้อสาเหตุได้อย่างรวดเร็ว
3. เพื่อให้ได้แอนติบอดีที่สามารถใช้ตรวจหาเชื้อจากชิ้นส่วนของพืช