รายงานการวิจัย

โรคต้นแห้งตายของจำปาดะขนุน (Artocarpus sp.) และแนวทางในการป้องกันกำจัดเบื้องต้น

โดย

ที่ส.
เลขหมู่ SB 950.7 ก75 2534 ฉ.1 จำปาดะ, ขนุน - โรค - วิจัย
เลขทะเบียน 016617
-/6 ก.พ. 2535

นางสาวเสมอใจ	ชื่นจิตต์	นายมานะ	กาญจนมณีเสถียร
นายวสันต์	เพชรรัตน์	นายสุทธิรักษ์	แช่หลิม
นางพัลลภา	กฤษณีไพบูลย์	นายบรรหาร	วิสมิตะนันท์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วิทยาเขตหาดใหญ่

บทคัดย่อ

โรคต้นแห้งตายของจำปาดะขนุน Artocarpus sp. สำรวจพบครั้งแรกในปี 2532 ที่ตำบลเกาะยอ จังหวัดสงขลา ลักษณะอาการการแพร่ระบาดรุนแรงมาก พบว่ามี 2 สวนจำปาดะขนุนถูกเชื้อเข้าทำลายมากกว่า 40 เปอร์เซนต์ ต้นที่ถูกเชื้อเข้าทำลายส่วนใหญ่ตาย หากไม่ตายและได้รับการบำรุงอย่างดีจะให้ผลผลิตในระยะเวลาไม่ต่ำกว่า 3 ปี ลักษณะอาการที่ปรากฏภายนอกคือ มียางไหลสีขาวและสีน้ำตาลดำไหลออกจากเปลือกของกิ่งหรือลำต้นที่เจริญเต็มที่ ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ผลร่วง หากไม่ตายมักพบอาการเปลือกแตกร่วมด้วย ใต้เปลือกปรากฏรอยแผลเป็นริ้วหรือบริเวณสีน้ำตาลรูปร่างไม่แน่นอน จากการแยกเชื้อบริสุทธิ์และศึกษาทางโรคพืช พบว่าแบคทีเรียเป็นสาเหตุของโรคแกรมลบ มีขนาด 0.72-0.78x2.9-4.7 ไมครอน มีหางแบบรอบตัว สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้ในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน และไม่สามารถย่อยเพคติน แบคทีเรียที่แยกได้นี้คล้ายคลึงและอยู่ในกลุ่มเดียวกับแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรค bark canker และ phloem canker ของวอลนัท และจากการศึกษาเปรียบเทียบพบว่าแบคทีเรียสาเหตุโรคต้นตายของจำปาดะขนุนนี้คือ Erwinia nigrifluens (Wilson, et al.) Dye ซึ่งเป็นรายงานครั้งแรกที่พบบนจำปาดะขนุน

จากการศึกษาเนื้อเยื่อที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย พบกลุ่มของแบคทีเรียจำนวนมากเข้าทำลายระหว่างเซลล์และภายในเซลล์ของท่ออาหาร และจากการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมี 4 ชนิดในการป้องกันกำจัดในห้องปฏิบัติการโดยวิธี zonal inhibition พบว่า oxytetracycline และ Dexan ที่ 1,000 ppm มีประสิทธิภาพในการกำจัดดีที่สุด จึงนำไปทดลองในสวนมะพร้าวโดยวิธีฉีดเข้าลำต้น (trunk injection) แต่ยังไม่สามารถสรุปผลได้

Abstract

An undescribed die-back disease of champedak jack fruit (Artocarpus sp.) was first found at Ko Yo district, Songkhla province, Thailand, in 1989. The disease incidence and severity was very high, serious outbreaks upto 40% have been observed in two orchards. Most of the affected plants died, if not, they were unreproductive at least 3 years. It is characterized by white latex or dark brown watery exude, appeared on infected branches or trunks of mature trees. Leaves turned to yellow accompany by fruits falled. As the disease progress, the infected branchs wilt and followed by complete defoliation. In the bark, irregular dark brown necrotic areas or brown streaks are extensively formed.

Various pathogens including nematode bacteria, fungi were initially suspected as the causal agents. However, a kind bacterium was isolated and proved to be the causal organism. It is a gram-negative, peritrichous, fermenting glucose anaerobically and non-pectolytic bacterium which relates to the bark canker and phloem canker of walnut. By direct comparisons, the die-back organism of champedak jack fruit was identified as Erwinia nigrifluens (Wilson, et al.) Dye and that Artocarpus sp. is an additional host of E. nigrifluens. (Wilson et al.) Dye.

According to histological study of infected barks, a large number of bacteria were present in intercellular or intracellular space of phloem regions.

สารบาญเรื่อง

	หน้า
บทนำ	1
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
สำรวจการแพร่ระบาดของโรค	2
ศึกษาลักษณะอาการของโรค	2
การแยกเชื้อราและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค	2
การแยกเชื้อจากรากและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค	3
ศึกษาชนิดของไส้เดือนฝอย	3
ศึกษาและแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์	3
ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคโดยแบคทีเรีย	4
ศึกษาตรวจดูกลุ่มของแบคทีเรียในเนื้อเยื่อพืช	5
การจัดจำแนกชนิดของเชื้อในระดับจีนัสและสปีชีส์	5
การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในห้องปฏิบัติการ	6
การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในสวนเกษตรกร	7
ผลการทดลอง	
สำรวจการแพร่ระบาดของโรค	8
ศึกษาลักษณะอาการของโรค	12
การแยกเชื้อราและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค	12
การแยกเชื้อจากรากและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค	12
ศึกษาชนิดของไส้เดือนฝอย	13
ศึกษาและแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์	13
ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคโดยแบคทีเรีย	13
ศึกษาตรวจดูกลุ่มของแบคทีเรียในเนื้อเยื่อพืช	14
การจัดจำแนกชนิดของเชื้อในระดับจีนัสและสปีชีส์	14
การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในห้องปฏิบัติการ	22
การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในสวนเกษตรกร	24
สรุปผลและวิจารณ์	24
เอกสารอ้างอิง	32

สารบัญรูป

รูปที่			หน้า
รูปที่	1	พื้นที่ที่ปลูกจำปาดะขนุน และจุดที่มีการแพร่ระบาด	10
	2	ลักษณะอาการของต้นจำปาดะขนุนที่เป็นโรค	29
	3	เชื้อสาเหตุ และเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย	30
	4	ขั้นตอนการฉีดสารเคมีเข้าในลำต้น	31

สารบาญตาราง

ตารางที่			หน้า
ตารางที่	1	จำนวนต้นปกติ ต้นที่เป็นโรคระหว่างปี 2532-33	11
	2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อจากจำปาดะขนุนที่เป็นโรคเปรียบเทียบกับแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชสกุลต่าง ๆ	16
	3	ลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อ เปรียบเทียบกับ Erwinia nigrifluens, E. rubrifaciens, E. quercina, E. salicis และ E. carotovora var. carotovora	17
	4	การสร้างกรดจากแหล่งคาร์บอนของเชื้อจากจำปาดะขนุน เปรียบเทียบกับ Erwinia nigrifluens, E. rubrifaciens, E. quercina, E. salicis และ E. carotovora var. carotovora	19
	5	ความสามารถในการใช้สารประกอบอินทรีย์ของเชื้อจากจำปาดะขนุน เปรียบเทียบกับ Erwinia nigrifluens, E. quercina, E. rubrifacines, E. salicis และ E. carotovora var. carotovora	21
	6	ANOV ของสารเคมี 4 ชนิดต่อเชื้อ E. nigrifluens หมายเลข 32	22
	7	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคมีทั้ง 4 ชนิดที่ 500, 1,000 และ 1,500 ppm.	23

บทนำ จำปาดะขนุน (Artocarpus sp.) ไม้ผลลูกผสมระหว่างจำปาดะและขนุน เป็นไม้ผลที่มีชื่อเสียงมากของ ต.เกาะยอ จ.สงขลา ในปี 2532 พบว่า ต้นจำปาดะขนุนอายุระหว่าง 6-100 ปี แห้งตายโดยหาสาเหตุไม่ได้ สำนักงานเกษตรจังหวัดสงขลารายงานว่า พืชในตระกูลขนุนตายด้วยโรคอาการเดียวกันนี้จำนวน 340 ต้น เป็นจำปาดะขนุน 321 ต้น อีก 19 ต้นเป็นจำปาดะพื้นบ้านและขนุน (รายงานความเสียหายโรคต้นแห้งตายของสำนักงานเกษตรจังหวัดสงขลา, ไม่ตีพิมพ์)

ความเสียหายที่เกิดขึ้นจากโรคนี้ ทำให้ใบร่วง ผลร่วง กิ่งหรือต้นแห้งตาย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของเชื้อ หากพืชไม่แห้งตายจะทรุดโทรมมาก ต้องใช้เวลานานในการที่จะดูแลรักษาให้ได้ผลผลิตดังเดิม ต้นที่พบโรคนี้มีอายุแตกต่างกันตั้งแต่ 6-100 ปี ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 10-30 ปี จะเห็นว่าต้นที่เป็นโรคนั้นอยู่ในช่วงให้ผลผลิตแทบทั้งสิ้น ซึ่งโดยปกติจำปาดะขนุนจะให้ผลผลิตตลอดปีคิดเป็นรายได้ไม่ต่ำกว่า 1,000 - 1,200 บาท ต่อต้นต่อปี หรือ 25,000 - 30,000 บาทต่อไร่ต่อปี ต่างจากไม้ผลชนิดอื่นที่จะให้ผลิตผลเป็นฤดูกาล จึงนับเป็นการสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก

โรคต้นแห้งตายของจำปาดะขนุนนี้ในประเทศไทยยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน สำหรับในต่างประเทศ Lim (1983) รายงานพบโรค branch die-back บนขนุน (A. heterophyllus) และจำปาดะ (A. integer) โรคดังกล่าวทำความเสียหายให้กับพื้นที่ปลูกขนุนในประเทศมาเลเซียถึง 20 เฮกแตร์ จากพื้นที่ปลูก 50 เฮกแตร์ จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี Lim พบว่าเชื้อ Erwinia carotavora var. carotovora เป็นสาเหตุของโรค นอกจากนี้ในประเทศสหรัฐอเมริกา ก็มีรายงานโรคที่มีอาการคล้ายคลึงกันใน walnut ได้แก่โรค bark canker และ phloem canker ซึ่งเกิดจากเชื้อ E. nigrifluens (Wilson et al., 1957) และ E. rubrifaciens (Wilson et al., 1967) ตามลำดับ ในการศึกษาครั้งนี้มุ่งเน้นในการหาสาเหตุที่แท้จริงของโรคนี้ในประเทศไทย ศึกษาการแพร่กระจายของโรค รวมทั้งแนวทางในการป้องกันกำจัด

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

สำรวจการแพร่ระบาดของโรค วางแผนทำการสำรวจการแพร่กระจายของโรคทั่วทั้งเกาะ โดยออกแบบสอบถามและเข้าไปสำรวจพื้นที่ที่ปลูก นับจำนวนต้นที่ปลูก จำนวนต้นที่เป็นโรค และ/หรือตาย พร้อมทั้งทำแผนที่จุดที่มีโรคระบาดเพื่อเป็นข้อมูลประกอบในการศึกษาหาแนวทางในการป้องกันและกำจัด

สำหรับการศึกษาโดยละเอียดในสวนที่มีการระบาด เลือกทำการศึกษาที่สวนของนายกรี้ม สินธุรัตน์ ซึ่งเป็นสวนที่มีการแพร่ระบาดของโรครุนแรงที่สุด โดยให้หมายเลขและทำแผนที่ต้นจำปาดะขนุนทุกต้นในสวน สวนนี้มีจำปาดะขนุน จำนวน 125 ต้น ในขั้นแรกบันทึกลักษณะและความสมบูรณ์ของทุกต้น ตรวจสอบทุก 2 สัปดาห์ นับและบันทึกจำนวนต้นที่แสดงอาการโรคและจำนวนต้นที่ตาย บันทึกภาพ พร้อมแถบภาพโทรทัศน์เพื่อแสดงถึงความเสียหาย

ศึกษาลักษณะอาการของโรค

เมื่อสำรวจพบต้นที่เริ่มแสดงอาการ ซึ่งจากการสังเกตของเกษตรกรพบว่าจะมียางสีขาวหยดออกมาจากส่วนของเปลือกของกิ่งหรือลำต้น จึงรีบศึกษาลักษณะอาการทั้งภายนอกและภายในลำต้นอย่างใกล้ชิด บันทึกภาพ พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อศึกษาหาสาเหตุที่อาจเป็นไปได้ในรูปแบบต่าง ๆ ตามความเหมาะสมของจุลินทรีย์แต่ละชนิด

การแยกเชื้อราและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค ทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากตัวอย่างโรคที่สำรวจพบ โดยเลือกแผลที่เปลือก และเนื้อเยื่อเจริญ จำนวน 15 ตัวอย่าง แยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี tissue transplanting อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ได้แก่ อาหารวุ้น (water agar, WA), พีดีเอ (potato dextrose agar, PDA) และซีเอ็มเอ (corn meal agar, CMA) ผสมด้วยสารบีเอ็นพีอาร์เอ (BNPRA), เบนเลท (Benlate), ไนสเตติน (Nystatin), พีซีเอ็นบี (PCNB), ไรฟาดิน (Rifadin) และแอมพิซิลิน (Ampicilin) ซึ่งเป็นอาหารสำหรับแยกเชื้อราเมื่อคาดว่าพืชเป็นโรคเนื่องจากเชื้อรา Phytopthora sp. บ่มเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วัน จึงบันทึกผล และแยกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อนำไปศึกษาต่อไป

การแยกเชื้อราจากราก เลือกเก็บรากฝอยจากต้นที่เป็นโรค ล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วจิงเลี้ยงในอาหารวุ้น พีดีเอ และซีเอ็ม+บีเอ็นพีอาร์เอปฏิบัติเช่นเดียวกับการแยกเชื้อราจากลำต้นหรือกิ่ง

หลังจากที่แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้แล้ว นำมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคด้วยวิธี pin-pricking inoculation สำหรับเชื้อราที่แยกจากลำต้น และด้วยวิธีตัดรากสำหรับเชื้อราที่แยกจากราก

การศึกษาชนิดของไส้เดือนฝอย สำรวจและเก็บตัวอย่างดินลึก 8-10 นิ้ว จากบริเวณรอบพุ่มต้นจำปาดะขนุนที่กำลังแสดงอาการโรคจำนวน 4 จุดต่อต้น รวมน้ำหนักดินประมาณ 500 กรัม จำนวน 12 ตัวอย่าง นำตัวอย่างดินมาแยกไส้เดือนฝอยด้วยวิธี Cobb และ Bearman ซึ่งกล่าวถึงใน Thorne[6] จากนั้นตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์และจำแนกสกุล โดยยึดหลักของ Mai & LYON (1975)

การศึกษาแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ จากตัวอย่างที่ได้นำมาทดสอบเบื้องต้นหาแนวโน้มว่าเกิดจากแบคทีเรียหรือไม่ โดยตัดชิ้นส่วนของพืชที่แสดงอาการโรคตามแนวยาวประมาณ 1x1 มม. ให้บางที่สุด วางบนสไลด์หยดด้วย 1% ซูโครส หรือน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที ตรวจดูผลตลอด 15 นาทีด้วยกล้องชนิด light microscope และ phase contrast microscope หากพบแบคทีเรียลอยูซึ่กมีแนวโน้มว่าเชื้อสาเหตุของโรคนี้คือ แบคทีเรีย

จากนั้นทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากตัวอย่างโรคจำนวน 30 ตัวอย่างจาก 8 ต้นที่แสดงอาการด้วยวิธี direct streak และ dilution plate โดยนำชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคเลือกเฉพาะด้านในของเปลือกตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ แช่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อตั้งทิ้งไว้ 15-20 นาที หากมีเชื้อสาเหตุแบคทีเรียจะเคลื่อนตัวมาอยู่ในน้ำกลั่นได้เป็นสารละลายแบคทีเรีย (bacterial

suspension) จากนั้นสตรีค (streak) เชื้อบนอาหารแข็งที่เตรียมไว้ อาหารที่ใช้ได้แก่ เอ็นเอ (Nutrient agar, NA) พีเอสเอ (semi-synthetic potato sucrose agar, PSA) และเอ็มเอส (Miller-Schorth medium, MS) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เลือกเก็บโคโลนีเดี่ยว ๆ ที่คาดว่าจะเป็นสาเหตุโรคสตรีคลงบนอาหารชนิดเดิม เพื่อให้แน่ใจว่าได้เชื้อบริสุทธิ์ไว้เพื่อทำการศึกษาต่อไป

ในขณะเดียวกันทำการแยกเชื้อด้วยวิธี dilution plate ควบคู่ไปด้วย จากสารละลายแบคทีเรียที่ได้นำมาทำให้เจือจางเป็นระดับในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ซีซี จำนวน 3 ระดับ ด้วยลูป (loop) ผสมด้วยอาหารวุ้นที่หลอมและปล่อยให้อุ่นประมาณ 53 °ซ. แล้วจึงเทลงในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง กระทำเช่นเดียวกับข้างต้น

ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคโดยแบคทีเรีย แม้ว่าโรคนี้จะเกิดเฉพาะกับจำปาดะขนุนที่มีอายุไม่ต่ำกว่า 6 ปี ในระยะแรกเนื่องจากไม่มีพืชสำหรับทดสอบ จึงทำการทดลองโดยใช้กล้าอายุประมาณ 2 เดือน และนำมาทดสอบในเรือนกระจก

ทำการปลูกเชื้อ 2 วิธี คือ pin-pricking โดยการทำแผลที่ซอกใบที่ 3 นับจากยอด ซึ่งดัดแปลงจาก Winstead และ Kelman (1952) แล้วปิดทับด้วยสำลีจุ่มสารละลายแบคทีเรียของเชื้ออายุ 24 ชม. ปรับให้มีเชื้อประมาณ 2.2×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร คลุมปิดทับด้วยถุงพลาสติกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงเอาออก ทำการทดลอง 2 ครั้ง ครั้งแรกทดสอบเพียง 3 ต้น เนื่องจากต้นกล้ามีจำกัด ครั้งหลังทดลอง 10 ต้น ส่วนอีกวิธีคือ การตัดราก (root cutting) โดยใช้มีดตัดลงไปในดิน ห่างจากโคน 2 นิ้ว ทั้ง 4 ด้าน เทราดด้วยสารละลายแบคทีเรียประมาณ 20 ซีซี ตรวจผลทุกวัน ทดสอบ 5 ต้น ชุดเปรียบเทียบ (control) ทำการปลูกเชื้อด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

ในปีต่อมาได้ทำการปลูกเชื้อบนต้นที่เจริญสมบูรณ์เต็มที่อายุ 10-12 ปี ด้วยวิธีฉีดเข้าลำต้น (trunk injection) หรือกิ่งใหญ่ ซึ่งดัดแปลงจากเทคนิคโรคพืช มก. (ธรรมศักดิ์, 2532) โดยใช้เชื้อที่อัตราความเข้มข้นประมาณ $1.2x10^{9}$ เซลล์/มล. ทำการทดลอง 20 จุด ตรวจผลทุกสัปดาห์ โดยถากเปลือกตรงจุดที่มีการปลูกเชื้อ เพื่อดูการขยายตัวของแผล

ศึกษาตรวจดูกลุ่มของแบคทีเรียในเนื้อเยื่อพืช

ทำการศึกษากลุ่มของแบคทีเรียในเนื้อเยื่อพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดโดยวิธีซึ่งดัดแปลงจาก อุไรวรรณ (2528) โดยตัดเนื้อเยื่อส่วนที่เป็นโรคเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 0.5x1 มิลลิเมตร แช่ใน 4% glutaraldehyde ใน 0.1 phosphate buffer ซึ่งเป็น fixing solution เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำมา dehydrate ด้วย acetone series ที่ 50%, 75%, 90%, 95%, 100% และ 100% ตามลำดับ ขั้นตอนละ 30 นาที ทำให้แห้งด้วยวิธี critical point drying แล้วจึงเคลือบด้วยโลหะ ในที่นี้ใช้ไอคาร์บอนและทอง จากนั้นนำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด บันทึกภาพ

การจัดจำแนกชนิดของเชื้อในระดับจีนัสและสปีชีส์

จากเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้นำไปศึกษาการจัดเรียงตัวของเซลล์ วัดขนาดและตรวจนับ flagella โดยทำการย้อมแบบ negative staining ด้วย 1% uranyl acetate ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงผ่าน บันทึกภาพ

การทดสอบจำแนกชนิดของเชื้อในระดับจีนัส (genus) : โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาสรีรวิทยา และชีวเคมี ตามวิธีที่กล่าวถึงใน Schaad (1986) โดยนำเชื้อจาก stock-solution มาศึกษา gram reaction, การสร้างสปอร์ ลักษณะและสีของโคโลนีบน YDC, การสร้างสารเรืองแสงบน KB medium, การใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน, การเคลื่อนที่โดยแฟลกเจลลาแบบรอบตัว (peritrichous flagella), การเจริญบน D-1 agar, การเจริญบน MS medium และการสร้างเส้นใย

การทดสอบจำแนกชนิดของเชื้อในระดับสปีชีส์ (species)

- ศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ : โดยศึกษาเปรียบเทียบและดัดแปลงจาก Cowan (1974), Fahy (1983) และ Schaad (1986) ทำการทดสอบปฏิกิริยา hypersensitivity บนใบยาสูบ, การย่อย pectate ที่ pH 4.5-4.7, 6.9-7.1 และ 8.3-8.5 ตามวิธีของ Hildebrand, ศึกษาความต้องการ growth factors ในการเจริญเติบโต, การสร้างเม็ดสีสีชมพูบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YDC, การเจริญที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส, การสร้าง H_2S จากสาร cysteine, การสร้างเอ็นไซม์ urease, การสร้างสาร indole, การใช้ nitrate, การใช้ gelatin และการเคลื่อนที่ในอาหาร

- ศึกษาการสร้างกรดจาก C-source และสารใกล้เคียง ในการศึกษานี้ทำการปลูกเชื้อโดยการ streak เชื้อลงบนอาหารพื้นฐาน C (Dye, 1968) ซึ่งเติม C-source จำนวน 18 ชนิด ได้แก่ adonitol, aesculin, cellobiose, dulcitol, glycerol, inositol, lactose, mannitol, melibiose, alpha-methylglucoside, raffinose, rhamnose, ribose, salicin, sorbitol, starch, trehalose และ xylose ในอัตราความเข้มข้นเท่ากันคือ 0.5% (w/v) บันทึกผลทุกวันเป็นเวลา 1 สัปดาห์

- ทดสอบความสามารถในการใช้พวกสารประกอบอินทรีย์ ในการศึกษานี้ทำการปลูกเชื้อโดยการ streak ลงบนอาหารพื้นฐาน OY (Dye, 1968) ซึ่งเติมสารประกอบอินทรีย์ 3 ชนิด คือ sodium citrate, sodium tartrate และ sodium galacturonate ในอัตราเข้มข้นเท่ากันคือ 0.5% (w/v) เปรียบเทียบความสามารถในการใช้สารเหล่านี้หลังทำการเลี้ยง 1 สัปดาห์ จนถึง 3 สัปดาห์

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในห้องปฏิบัติการ

ทำการทดสอบกับแบคทีเรียระหัส G32 สารเคมีหรือปฏิชีวนสารที่ใช้มี 4 ชนิด ได้แก่ คลอแรมเฟนิคอล (Chloramphenical) เด็กซาน (Dexan) สเตรปโตมัยซิน (Streptomycin) และเตตราซัยคลิน (Tetracycline) ที่ระดับความเข้มข้น 500 1,000 และ 1,500 พีพี

เอ็ม (ppm:past per million) วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 12 ทรีตเมนต์ 3 ซ้ำ ทำการทดลองด้วยวิธี zonal inhibition การทดลองประกอบด้วย การเตรียมอาหารผสมเชื้อ (bacterial lawn) โดยใช้เชื้ออายุ 24 ชั่วโมง ซึ่งเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่อุณหภูมิ 28 °ซ. จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ NA 18 มิลลิลิตร เทในจานเลี้ยงเชื้อปล่อยให้อาหารแข็งตัว วาง antibiotic disc ซึ่งเตรียมโดยใช้ whatman filter paper ตัดให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.55 เซ็นติเมตรจุ่มในปฏิชีวนสารในแต่ละความเข้มข้น กำจัดน้ำส่วนเกินโดยแตะที่ขอบภาชนะ จากนั้นวางบนอาหารผสมจานละ 3 ชิ้น 1 จานเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 1 หน่วยทดลอง ชุดควบคุมใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทนสารเคมี บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส (clear zone) ที่เกิดรอบแผ่นยานั้นมีหน่วยเป็นเซ็นติเมตร

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในสวนเกษตรกร

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในห้องปฏิบัติการนำสารเคมีเหล่านั้นมาทำการทดสอบกับพืชที่เป็นโรคในสวนเกษตรกร เนื่องจากโรคนี้เกิดกระจัดกระจายทั่วไปในสวน ในขั้นแรกจึงได้ทำการให้หมายเลขแก่ต้นจำปาดะขนุนทุกต้นในแต่ละสวน ซึ่งจะมีทั้งต้นปกติ ต้นที่เป็นโรคแล้วไม่ตาย กำลังฟื้นตัว และต้นที่กำลังแสดงอาการโรค ในการนี้ทำการทดลองโดยใช้ต้นที่กำลังแสดงอาการโรค สารเคมีที่เลือกใช้ได้แก่ Tetracycline, Dexan และ Streptomycin ที่ความเข้มข้น 1,000 พีพีเอ็ม

สวนที่ทำการทดลองมี 4 สวนได้แก่ สวนของนายกริ้ม สินธุรัตน์ (G) สวนนายเดชา ภัทรชนม์ (D) สวนนายไพโรจน์ เลาหกุล (P) และสวนนายฮวดเห้ง กาลานุสนธิ์ (H) ทำการสุ่มชนิดของสารเคมีที่จะทรีตให้กับต้นจำปาดะขนุนที่กำลังแสดงอาการโรคทั้งหมด โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ทรีตเมนต์ 8 ซ้ำ 1 ต้นเท่ากับหน่วยทดลอง จากการสุ่มได้ผลดังนี้

ทรีตเมนต์ที่ 1 : ทรีตด้วย Dexan ได้แก่ ต้น G26, G35, G39, G46, D51, G55, G116, H2 และ H6

ทรีตเมนต์ที่ 2 : ทรีตด้วย Streptomycin ได้แก่ D14, P2, G24, G65, G108, G120, H3 และ H11

ทรีตเมนต์ที่ 3 : ทรีตด้วย Tetracycline ได้แก่ ต้นที่ D10, G29, G77, G107, G119, D3, D4 และ H8

ทรีตเมนต์ที่ 4 : ชุดควบคุมทรีตด้วยน้ำกลั่น ได้แก่ ต้นที่ G117, G22 และ G115

ทำการทดลองด้วยวิธี trunk injection โดยดัดแปลงจากเทคนิคโรคพืช มก. (ธรรมศักดิ์, 2532) อุปกรณ์ที่ใช้ได้แก่ สว่านมือพร้อมดอกสว่านขนาด 15/64 นิ้ว, ข้อนและเข็มฉีดยาขนาด 50 มิลลิลิตร ชนิดเดียวกับที่ใช้กับมนุษย์และสัตว์ นำมาดัดแปลงเพื่อให้เหมาะสม โดยทำการตัดปลายเข็มและปลอกเข็ม ให้เข็มสั้นกว่าปลอกเข็มประมาณ 0.5 เซนติเมตร ต่อมาเตรียมก้านฉีดพร้อมกระบอกฉีด โดยตัดปลายที่กดก้านฉีดและกระบอกฉีดเพื่อเป็นที่ยึดของสายยางอัดความดัน แล้วใช้สายยางวงเล็ก 3 วง ผูกกัน 3 ต่อรวม 9 วง เกี่ยวที่ปลายกระบอกฉีดเพื่อเป็นตัวอัดความดัน

สำหรับการฉีดนั้น ใช้สว่านพร้อมดอกขนาด 15/64 นิ้วเจาะตรงลำต้นลึก 2-3 เซนติเมตร ตอกปลอกเข็มลงในรูที่เจาะลึกประมาณ 1 เซนติเมตร จากนั้นใช้หลอดฉีดยาดูดยา 40 มิลลิตรต่อหลอด แล้วใช้เข็มสอดเข้ากับปลายกระบอกฉีดที่ดูดน้ำยาเข้าไปแล้ว นำไปต่อกับปลอกเข็มที่ตอกไว้ที่ต้น (รูปที่ 4ก-ง) สารเคมีจะค่อย ๆ ถูกอัดเข้าไปใช้เวลาประมาณ 4-8 ชั่วโมงต่อต้นต่อเข็ม ทำการฉีด 2 หลอด รวม 80 มิลลิลิตร/ต้น หลังจากสารเคมีถูกดูดซึมเข้าสู่ลำต้นหมดแล้ว ดึงเข็มและปลอกเข็มออก ปิดรูให้สนิทด้วยดินน้ำมัน

ผลการทดลอง

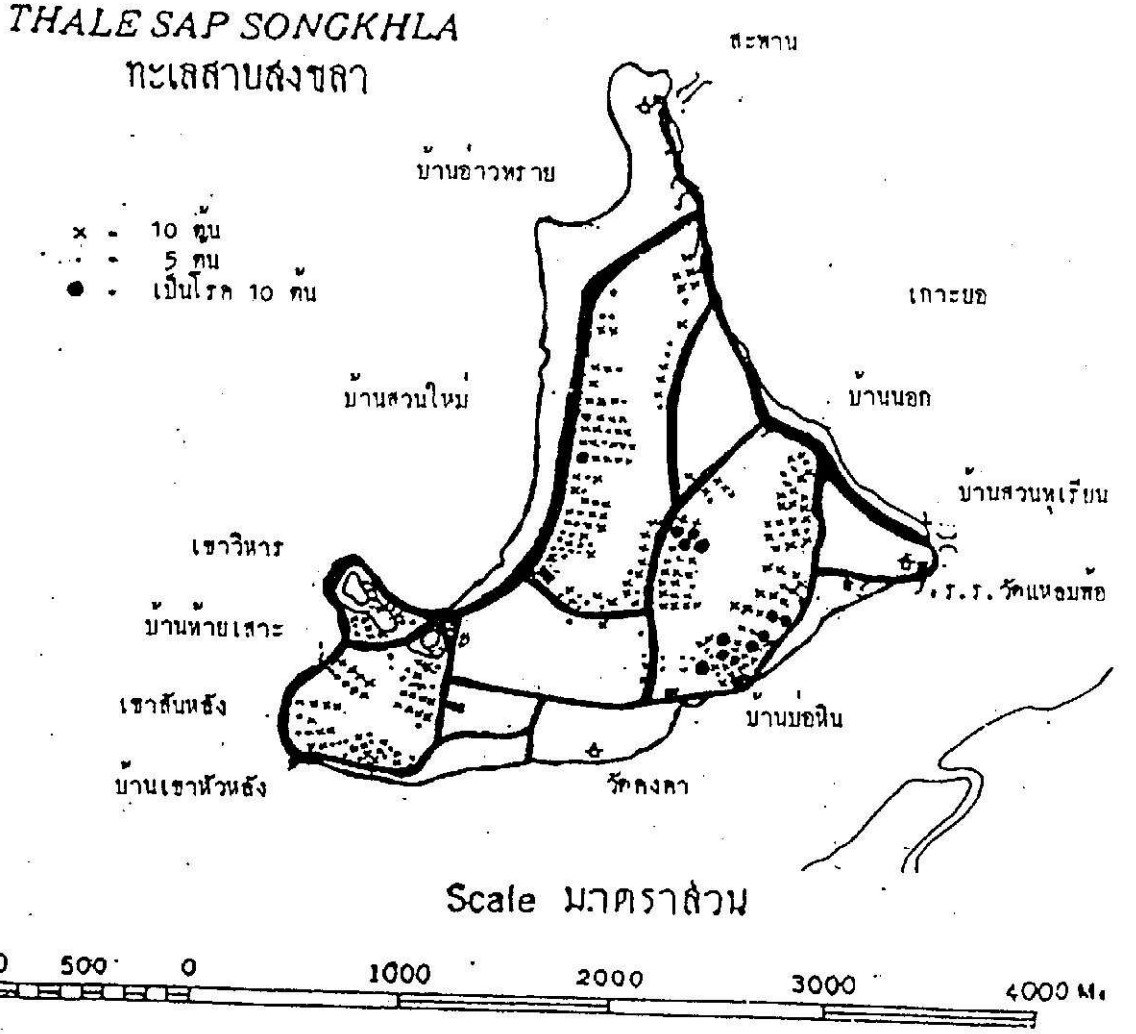
สำรวจการแพร่ระบาดของโรค

ตำบลเกาะยอ เป็นเกาะอยู่ในทะเลสาบสงขลา มีพื้นที่ทั้งสิ้นประมาณ 10 ตร.กม. เป็นพื้นที่ราบประมาณครึ่งหนึ่ง นอกนั้นเป็นภูเขา ปัจจุบันมีสะพานติณสูลานนท์เชื่อมต่อระหว่าง

เกาะและผืนแผ่นดินใหญ่ ประชากรมีอาชีพทำการเกษตรกรรม การประมง และเพาะปลูก ไม้ผลที่ปลูกที่นี้ได้ชื่อว่ามีคุณภาพดี เช่น ละมุด ลางสาด และจำปาดะขนุน

ลักษณะการปลูกจำปาดะขนุนของชาวเกาะยอ เช่นเดียวกับการปลูกไม้ผลอื่น ๆ ทั่วไปในภาคใต้ คือมีทั้งปลูกไว้บริโภคในครัวเรือนเพียง 2-3 ต้น หากมีเหลือจะแบ่งขาย และบางครัวเรือนปลูกเป็นจำนวนมากเพื่อจำหน่าย สภาพพื้นที่ปลูกส่วนใหญ่จะปลูกบนภูเขา หรือที่ราบบริเวณรอบบ้าน

การแพร่กระจายของโรค พบว่าโรคระบาดอยู่ในหมู่ที่ 3, 4, 5 และหมู่ที่ 9 (รูปที่ 1) หมู่ที่ 3, 4 และ 5 ซึ่งมีโรคระบาดรุนแรงนั้นตั้งอยู่ตามแนวเขาลูกเดียวกันแต่คนละด้าน จุดที่เกิดโรคจะเกิดเป็นหย่อม ๆ ต้นที่เป็นโรคอยู่กระจายทั่วไป สวนละ 1-30 ต้นขึ้นกับจำนวนที่ปลูก ที่น่าสังเกตคือ ไม่พบโรคนี้ระบาดในหมู่ที่ 6 ซึ่งมีการปลูกจำปาดะขนุนและขนุนมากเช่นกัน ต้นที่เป็นโรคพบทั้งที่ปลูกในที่ราบและบนเขา ปลูกจำปาดะขนุนจำนวน 125 ต้น อายุอยู่ในระหว่าง 10-25 ปี ลักษณะการเพาะปลูกจะปลูกบนพื้นที่ราบเรื่อยไปจนถึงเชิงเขาและบนเขา จากการตรวจสอบทุกเดือนในระยะเวลาตั้งแต่มกราคม 2532 ถึงมิถุนายน 2534 พบว่าจำปาดะขนุนเป็นโรคทั้งหมด 60 ต้น ตายไปแล้ว 28 ต้น ที่เหลือคือต้นที่เป็นโรคแต่ไม่ตาย 32 ต้น 48 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนที่ปลูกทั้งหมด และจากการศึกษาการแพร่ระบาดโดยให้หมายเลขต้นจำปาดะขนุนทุกต้นภายในสวน บันทึกจำนวนและหมายเลขต้นที่แสดงอาการโรคทั้งที่ตายและไม่ตาย ผลการสำรวจดังสรุปในตารางที่ 1 สำหรับช่วงระยะเวลาที่มีการแพร่ระบาดมากคือในช่วงหน้าฝนระหว่างเดือนพฤศจิกายน-มกราคม ซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศเฉลี่ย 70% ต้นที่แสดงอาการโรคพบกระจายทั่วไป มักแสดงอาการคราวละต้นสองต้นหรือมากกว่า จากการสังเกตพบว่าต้นที่ถูกเชื้อเข้าทำลายในฤดูฝนมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่าต้นที่ถูกเชื้อเข้าทำลายและแสดงอาการในหน้าแล้ง



ภาพที่ 1 พื้นที่ที่ปลูกจำปาดะขนุน และจุดที่มีการแพร่ระบาด

ตารางที่ 1 จำนวนต้นปกติ ต้นที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย ทั้งที่ตายและไม่ตาย ภายใน ปี 2532-2533 ทำการสำรวจที่สวนนายกริ้ม สินธุรัตน์[1]

ต้นที่	ปกติ	เป็นโรค		ต้นที่	ปกติ	เป็นโรค		ต้นที่	ปกติ	เป็นโรค		ต้นที่	ปกติ	เป็นโรค	
		ตาย	ไม่ตาย			ตาย	ไม่ตาย			ตาย	ไม่ตาย			ตาย	ไม่ตาย
1	✓[2]			34	✓			67			●	100	✓		
2	✓			35			×	68	✓			101			●
3	✓			36		●		69	✓			102	✓		
4	✓			37	✓			70	✓			103			●
5	✓			38	✓			71			●	104	✓		
6	✓			39		×		72	✓			105	✓		
7		×[3]		40	✓			73	✓			106			●
8	✓			41		●		74	✓			107		×	
9	✓			42		×		75	✓			108			×
10	✓			43	✓			76	✓			109	✓		
11		●[4]		44	✓			77		×		110			●
12	✓			45	✓			78			●	111		×	
13	✓			46		×		79	✓			112			●
14			●	47			×	80			●	113	✓		
15	✓			48		●		81	✓			114		●	
16		●		49		●		82	✓			115			×
17		●		50			×	83	✓			116			×
18	✓			51			●	84	✓			117		×	
19		●		52	✓			85	✓			118			×
20	✓			53	✓			86			●	119			×
21			×	54	✓			87	✓			120			●
22		×		55	✓		×	88	✓			121	✓		
23	✓			56			×	89	✓			122		×	
24		×		57			×	90	✓			123		×	
25	✓			58			×	91	✓			124		×	
26		×		59	✓			92		×		125	✓		
27		●		60			●	93	✓						
28	✓			61			●	94			●				
29		×		62	✓			95	✓						
30	✓			63	✓			96	✓						
31	✓			64			●	97		×					
32		×		65			×	98	✓						
33			●	66	✓			99	✓						

หมายเหตุ 1 ตั้งอยู่ที่หมู่ที่ 3 ต. เกาะยอ อ. เมือง จ. สงขลา

✓ 2 หมายถึง จำปาตะขนุนปกติ

× 3 หมายถึง จำปาตะขนุนเป็นโรคระหว่างมกราคม-ธันวาคม 2532

● 4 หมายถึง จำปาตะขนุนเป็นโรคระหว่างมกราคม-ธันวาคม 2533

ศึกษาลักษณะอาการ

จำปาดะขนุนที่พบโรคนี้มีอายุตั้งแต่ 6-100 ปี แต่ส่วนใหญ่จะเข้าทำลายในช่วงอายุ 10-20 ปี (อาจเป็นเพราะสวนที่พบโรคระบาดรุนแรงนี้ส่วนใหญ่เฉลี่ยมีอายุ 10-25 ปี) อาการที่พบจะคล้ายคลึงกัน แตกต่างกันบ้างเล็กน้อยในส่วนของรายละเอียด เนื่องจากอายุและความสมบูรณ์ของต้นพืชแตกต่างกัน

อาการภายนอกที่สังเกตพบคือ มียางสีขาวหยดเกาะติดอยู่ที่ผิวเปลือก จากนั้นจะพบยางใสสีน้ำตาลเข้มถึงดำไหลเป็นทางที่เปลือกของลำต้น หรือกิ่งกระโดง หรือกิ่งใหญ่อื่น ๆ (รูปที่ 2 ข) จากนั้นใบบนกิ่งที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองส้ม และร่วงในที่สุด ระยะเวลาตั้งแต่พบยางขาวจนถึงใบร่วงนั้นอาจใช้เวลา 2-8 สัปดาห์ ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของเชื้อ การเข้าทำลายของเชื้ออาจพบเป็นโรคทีละกิ่งหรือพร้อมกันทั้งต้น ทั้งนี้ขึ้นกับจุดที่เชื้อเข้าทำลายนั่นเอง ในขณะที่ใบเริ่มเหลืองนั้น ผลจะร่วงทั้งผลอ่อน และแก่ ใบอาจร่วงหมด ต้นแห้งตายหรือเหลือใบอยู่เล็กน้อยประมาณ 5-10 เปอร์เซนต์ของใบที่เคยมี ในต้นที่มีอายุมากกว่า 15 ปี พบว่าเมื่อใบร่วงแล้ว มักพบอาการเปลือกแตกร่วมด้วย ต้นที่ไม่ตายจะทรุดโทรมมาก หากดูแลบำรุงรักษาอย่างดีอาจให้ผลผลิตเช่นเดิมได้ในเวลาไม่ต่ำกว่า 3 ปี สำหรับอาการภายใน เมื่อถากกิ่งหรือลำต้นตรงจุดที่มียางไหลออกมานั้นพบว่า ส่วนของเปลือกและเนื้อไม้มีรอยแผลเป็นริ้ว หรือเป็นปื้นสีน้ำตาลลึก 1 มม. ขนาดของแผลแตกต่างกันไปตามขนาดของกิ่งหรือลำต้น ในบางครั้งโดยเฉพาะในช่วงฤดูแล้งมักพบว่าขอบของแผลนั้นมียางเหนียวสีเหลืองเกาะอยู่โดยรอบ (รูปที่ 2ง)

การแยกเชื้อราจากลำต้นและราก และทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

จากการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ พบเชื้อรา 3 สกุล คือ Botryodiplodia sp., Fusarim spp. และ Pythium spp. เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดนี้ พบว่าทั้งเชื้อรา Botryodiplodia sp. Fusarium sp. และ Pythium spp. ไม่สามารถทำให้ต้นกล้าจำปาดะขนุนแสดงอาการโรคทั้งโดยวิธีฉีดเข้าลำต้นและวิธีตัดราก

การศึกษาชนิดของไส้เดือนฝอย

จากการแยกไส้เดือนฝอยจากดิน 12 ตัวอย่าง เมื่อนำไส้เดือนฝอยมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ และจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยตามที่หลักของ Mai และ LYON พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 2 สกุล คือ Longidorus sp. และ Xiphinema sp. แต่มีปริมาณน้อยมาก

การแยกเชื้อแบคทีเรีย

เป็นที่น่าสนใจว่าจากการแยกเชื้อบริสุทธิ์ทุกตัวอย่างที่เก็บจากต้นที่เป็นโรคนั้นได้แบคทีเรียชนิดเดียวกันเป็นจำนวนมาก โดยบนอาหารเลี้ยงเชื้อเอ็นเอ และพีเอสเอได้แบคทีเรียมีลักษณะโคโลนีกลม นูน ผิวหน้าเรียบ เป็นมัน ขอบเรียบ สีขาวโปร่งแสง มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-2 มม. และบนอาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มเอส (Miller-Schorth) ซึ่งเป็นอาหารจำเพาะ โคโลนีมีสีเหลืองอมส้ม ขนาด 1-3 มม. ลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ รอบโคโลนีอาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ได้ทำการเก็บเชื้อไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และในพีเอสเอหลอดซึ่งปิดทับด้วยพาราฟินเหลวเพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคด้วยแบคทีเรีย

จากการปลูกเชื้อลงบนต้นกล้าอายุ 2 เดือน พบว่าจำปาดะขนุนแสดงอาการโรคไม่เด่นชัด เมื่อทำการถากเปลือกตรงจุดที่มีการปลูกเชื้อจะพบจุดแผลสีน้ำตาลขนาด 2x5 มิลลิเมตร และไม่ขยายลามออกไปอีก ในขณะที่ต้นที่ใช้น้ำแทนแบคทีเรียจะไม่เกิดอาการลักษณะดังกล่าวนี้ เมื่อทดสอบบนต้นที่สมบูรณ์เต็มที่ก็มีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน จากการถากเปลือกหลังจากปลูกเชื้อ 1 เดือนพบว่าแผลจะขยายใหญ่มีขนาด 2x10 มิลลิเมตร มีความเป็นไปได้ที่เชื้อจะขยายลามเป็นร้อยตามความยาวของลำต้นหากมีสภาพแวดล้อมเหมาะสม สมควรที่จะทำการศึกษาโดยละเอียดต่อไป

การตรวจดูกลุ่มของแบคทีเรียในเนื้อเยื่อพืช

จากเนื้อเยื่อที่แสดงอาการโรค เมื่อนำมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดโดยการตัดเนื้อเยื่อตามแนวยาว ตรวจพบกลุ่มของแบคทีเรียจำนวนมากในส่วนของ phloem fiber และ ray parenchyma การเข้าทำลายมีทั้งอยู่ระหว่างเซลล์ (intercellular) และเข้าไปภายในเซลล์ (intracellular) โดยพบว่าเซลล์ของแบคทีเรียอาจจะรวมอยู่เป็นกลุ่มหรือกระจายตลอดแนวของ phloem fiber ส่วน ray parenchyma นั้นเชื้อมักจะอยู่เป็นกลุ่ม (ภาพที่ 3ก) แบคทีเรียที่พบมีรูปร่างเป็นท่อน ขนาดของเซลล์เล็กกว่าเมื่อนำมาเลี้ยงและศึกษาจำนวนแฟลกเจลลาคือมีขนาด 0.45-0.47x1.71-3.13 ไมครอน ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจากการวัด 30 เซลล์ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาเนื้อเยื่อครั้งนี้ไม่พบเชื้อเข้าทำลาย xylem

การจัดจำแนกชนิดของเชื้อในระดับจีนัสและสปีชีส์

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบ transmission พบว่า เซลล์แบคทีเรียที่แยกได้จากจำปาดะพันธุ์นี้มีรูปร่างเป็นท่อนขนาด 0.72-0.78x2.9-4.7 ไมครอน (เฉลี่ยจากการวัด 30 เซลล์) มักอยู่เซลล์เดียว เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาแบบรอบตัว (perritrichous flagella) มีแฟลกเจลลา 4-5 เส้น (ภาพที่ 3ข)

เชื้อทั้ง 8 isolate สามารถเจริญได้ดีบน NA ลักษณะโคโลนีกลม ผิวหน้านูน เป็นมัน ขอบเรียบสีขาว แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเม็ดสีสีเหลืองบนอาหาร YDC ไม่สร้างสารเรืองแสงในอาหาร KB สามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่มี O_2 และไม่มี O_2 ไม่สามารถเจริญบนอาหาร D-1 agar ไม่สร้างเส้นใย ผลการทดลองทั้งหมดสรุปในตารางที่ 2

เมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคตัวอื่น ๆ ตามที่กล่าวถึงใน Schaad (1986) สรุปได้ว่า เชื้อที่แยกทุก isolate นี้จัดอยู่ในจีนัส Erwinia

ส่วนการทดลองในระดับสปีชีส์ให้ผลดังนี้

เชื้อทั้ง 8 isolate สามารถเจริญและให้โคโลนีสีเหลืองส้มบนอาหาร MS สามารถย่อย pectate ได้ทั้งที่ pH 4.5-4.7, 6.9-7.1 และที่ 8.3-8.5 ไม่ต้องการไวตามินในการเจริญ ไม่สร้างเม็ดสีสีชมพูบนอาหาร YDC สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 36 °ซ. สร้าง H_2S จาก cysteine, สร้างเอนไซม์ urease เพื่อย่อย urea ได้ ไม่สร้าง acetoin, ไม่รีดิวซ์เกลือไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ ไม่ย่อยเจลลาติน เจริญได้ใน 5% NaCl ผลการทดลองสรุปในตารางที่ 3

สำหรับการศึกษาการสร้างกรดจากอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ พบว่าเชื้อทั้ง 8 isolate สามารถสร้างกรดได้ในน้ำตาล aesculin, cellobiose, glyceral, inositol, lactose mannitol, raffinose, rhammose, ribose, salicin trehalose และ xylose ไม่สามารถสร้างกรดในน้ำตาล adonitol, dulcitol, melibiose, alfa-methylglucoside, sorbitol และใน starch ดังสรุปในตารางที่ 4 และสามารถใช้ sodium tartrate แต่ไม่สามารถใช้ sodium citrate และ sodium galacturonate ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ใช้ทดสอบได้ ผลสรุปในตารางที่ 5

จากการศึกษาทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีดังสรุปในตารางที่ 3, 4 และ 5 เปรียบเทียบจากการศึกษาโดย Fahy (1983) และ Schaad (1986) ปรากฏว่าเชื้อที่แยกได้จากจำปาดะชนนั้นมีลักษณะเช่นเดียวกับ Erwinia nigrifluens จึงสรุปได้ว่าเชื้อที่แยกได้จากจำปาดะชนนคือ E. nigrifluens

ตารางที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อจากจำปาดะขนุนที่เป็นโรค เปรียบเทียบกับแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชสกุลต่าง ๆ

Character[a]	Unknown[b]	Clostridium	Bacillus	Streptomyces	Clavibacter	Agrobacterium	Erwinia	Pseudomonas	Xanthomonas
Gram positive	-	+	v[+]	+	+	-	-	-	-
Spores formed	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Yellow colony on YDC medium	-	-	-	-	+[c]	-	v[-]	-	+[d]
Fluorescent pigment on KB medium	-	-	-	-	-	-	-	v[+]	-
Grows anaerobically	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Grows aerobically	+	-	+	+	+	+	+	+	+
More than four peritrichous flagella	+	v[+]	v[+]	-	-	-	+	-	-
Growth on D-1 agar	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Growth on MS medium	+	-	-	-	-	-	+	v[-]	-
Aerial mycelium	-	-	-	+	-	-	-	-	-

a ข้อมูลจาก Schaad (1986)

b เชื้อจำนวน 8 isolates ซึ่งแยกได้จากแต่ละต้น

c โคโลนีของ Clavibacter michiganense subsp. sepedonicum ไม่มีสี

d โคโลนีใน pathovars manihotis และ albilinians ไม่มีสี

v Variation

ตารางที่ 3 ลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อจากจำปาดะขนุนเปรียบเทียบกับ Erwinia nigrifluens, E. rubrifaciens, E. quercina, E. salicis และ E. carotovora var carotovora

Test	Unknown[a]	E. nigrifluens[b]	E. rubrifaciens[b]	E. quercina[b]	E. salicis[b]	E. carotovora var. carotovora[c]
Growth on MS medium	+	+	+	+	-	ND
Tobacco hypersensitivity	-	-	-	-	-	ND
Patato soft rot	-	ND	ND	ND	ND	+
Pectate degradation	+2	+2	+2	+2	+2	ND
Growth factor required	-	-	-	+	-	ND
Pink pigment on YDC medium	-	-	+	-	-	ND
Growth at 36 °C	+	+	+	+	-	+
Growth at 39 °C	ND	ND	ND	ND	ND	-
H_2S from cysteine	+	+	+	+	+	+
Urease production	+	+	-	-	-	ND
Indole production	-	-	-	-	-	-
Nitrate reduction	-	-	-	-	-	ND
Gelatin liquification	-	-	-	-	-	+
Motility	+	+	+	+	+	+
Growth in 5% NaCl	+	+	+	+	+	+

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Test	Unknown[a]	E.nigrifluens[b]	E.rubrifaciens[b]	E.quercina[b]	E.salicis[b]	E.carotovora var.carotovora[c]
Catalase	+	ND	ND	ND	ND	+[s]
oxidase	-	ND	ND	ND	ND	-
acetoin production	+[w]	ND	ND	ND	ND	v
MR production	+[s]	ND	ND	ND	ND	+
phosphatase	ND	ND	ND	ND	ND	-

a เชื้อจำนวน 8 isolates ซึ่งแยกได้จากแต่ละต้น

b ข้อมูลจาก Fahy และ Persley (1983) และ Schaad (1986)

c ข้อมูลจาก Lim (1983)

s ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ

w ปฏิกิริยาเกิดขึ้นเล็กน้อย

ND not determine

ตารางที่ 4 การสร้างกรดจากแหล่งคาร์บอนของเชื้อที่แยกได้ เปรียบเทียบกับ Erwinia nigrifluens, E. quercina, E. rubrifaciens และ E. salicis และ E. carotovora var. carotovora

C-sources/ isolates	G 32	R 1	D 52	D 5	P 2	G 46/1	D n	D 51	E.nigrifluens[a]	E.quercina[a]	E.rubrifaciens[a]	E.salicin[a]	E.carotovora var. carotovora
adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ND
aesculin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	ND
cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	ND
dulcitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
glycerol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	d	ND
inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND
lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND
melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	ND
-metylglucoside													
raffinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	ND
ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND
salicin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	ND

CENTRAL LIBRARY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY

ตารางที่ 4 (ต่อ)

C-sources/ isolates	G 32	R 1	D 52	D 5	P 2	G 46/1	D n	D 51	E.nigrifluens[a]	E.quercina[a]	E.rubrifaciens[a]	E.saticin[a]	E.carotovora var. carotovora
sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	ND
starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
arabinose	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	-	+	ND	-
maltose	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-

a ข้อมูลจาก CMI descriptions of phytopathogenic bacteria and fungi, Fahy (1983) และ Schaad (1986)

b ข้อมูลจาก Lim (1983)

c ND = not determine

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีต่อเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบต่อเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ปฏิชีวนสาร 4 ชนิดที่ความเข้มข้น 500, 1,000 และ 1,500 พีพีเอ็ม พบว่าบริเวณที่เชื้อไม่เจริญ (clear zone) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางต่าง ๆ กัน (รูปที่) วิเคราะห์ผลทางสถิติได้ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างดังนี้

ตารางที่ 6 ANOV. ของสารเคมี 3 ชนิดที่ต่อเชื้อ E. nigrifluens หมายเลข G32

Source	df	SS	MS	F	Prob of > F
Treatment	12	11.646	0.971	209.667	0.0000
Error	26	0.120	0.005		
Total	38	11.707	0.310		

cv = 3.87%

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคมีทั้ง 4 ชนิดที่ 500, 1,000 และ 1,500 ppm.

treatments	ค่าเฉลี่ย เส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone (cm)
streptomycin 500 ppm.	1.3700^{ef}
streptomycin 1,000 ppm.	1.4900^{de}
streptomycin 1,500 ppm.	1.5667^{d}
chloramphenicol 500 ppm.	1.3100^{f}
chloramphenicol 1,000 ppm.	2.0333^{b}
chloramphenicol 1,500 ppm.	2.0900^{b}
tetracycline 500 ppm.	2.0967^{b}
tetracycline 1,000 ppm.	2.6100^{a}
tetracycline 1,500 ppm.	2.6533^{a}
Dexan 500 ppm.	1.4100^{def}
Dexan 1,000 ppm.	1.8033^{c}
Dexan 1,500 ppm.	1.8100^{c}
control	0.5500^{g}
F-test	209.667
cv (%)	3.87

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในสวนเกษตรกร

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในสวนเกษตรกร โดยการฉีดเข้าลำต้น ทำการตรวจผลทุกสัปดาห์ พบว่าบางต้นมีอาการดีขึ้น บางต้นตาย แสดงว่าสารเคมีไม่สามารถยับยั้งการเพิ่มปริมาณ และการทำลายของเชื้อได้ อย่างไรก็ตามเนื่องจากการทดลองยังอยู่ในระยะเริ่มต้น จึงยังไม่อาจสรุปได้ว่าสารเคมีเหล่านี้มีประสิทธิภาพหรือไม่ และสารชนิดใดมีประสิทธิภาพดีที่สุด

สรุปและวิจารณ์

ในการศึกษาการแพร่กระจาย พบโรคระบาดเป็นจุด ๆ ในหมู่ที่ 3, 4, 5 และ 9 สำหรับหมู่ที่ 3 และ 4, 5 นั้น อยู่บนเทือกเขาลูกเดียวกันแต่คนละด้านและพบโรคระบาดรุนแรงมาก ส่วนที่หมู่ 9 พบโรคเพียงสวนเดียวจำนวน 5 ต้น ตายไป 2 ต้น ที่เหลือมีอาการดีขึ้น คาดว่าไม่ตาย จากการติดตามศึกษาการระบาดของโรคสวนนายกริ้ม สินธุรัตน์ ซึ่งปลูกจำปาตะขนุน 125 ต้น พบว่าตายไป 28 ต้น แสดงอาการโรคแต่ไม่ตาย 32 ต้น คิดเป็น 48 เปอร์เซนต์ของจำนวนต้นที่ปลูกทั้งหมด เห็นได้ว่าโรคระบาดรุนแรงมากขึ้นเรื่อย ๆ สวนของกสิกรรายอื่น ๆ ก็พบโรคมากขึ้นเช่นกัน รูปแบบของการระบาดไม่แน่นอน ไม่เป็นวงกว้างหรือเป็นแนวตามทางไหลของน้ำ หรือตามทิศทางลม ต้นที่เป็นโรคพบกระจายทั่วไป ตรงกลางสวนบ้าง ริมสวนบ้าง บนเขาบ้าง ทำให้ไม่สามารถสรุปเข้ากับระบบการเข้าทำลายได้ จึงมีทางหนึ่งที่เป็นไปได้คือมีแมลงเป็นพาหะ (vector) เป็นตัวนำโรคไป ซึ่งจะได้ทำการศึกษาต่อไป

นอกจากมีแมลงเป็นพาหะนำโรคไปยังต้นอื่น ๆ หรือสวนข้างเคียงแล้ว การที่เกษตรกรขยายพันธุ์จำปาตะขนุนจากต้นที่เป็นโรคโดยวิธีทาบกิ่ง นำไปปลูกยังที่ต่าง ๆ เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้โรคแพร่ระบาดไปได้ไกล ดังเช่นจากการสำรวจในท้องที่ตำบลพังลา และตำบลบ้านบริก อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา พบโรคนี้ระบาดประปราย เมื่อสอบถามพบว่านำกิ่งพันธุ์มาจากหมู่ 3 ต. เกาะยอ จ. สงขลา และแสดงอาการโรคในระยะเวลาใกล้เคียงกับที่มีการระบาดรุนแรงที่ตำบลเกาะยอ โดยพบเป็นโรคเฉพาะต้นที่มีอายุมากกว่า 10 ปี ดังนั้นจึงควรแนะนำให้

เกษตรกรระมัดระวังมิให้ขยายพันธุ์โดยการทาบกิ่งจากต้นที่เคยเป็นโรคนี้มาก่อน แม้ว่าในขณะนั้นพืชมิได้แสดงอาการของโรคก็ตาม เนื่องจากเชื้อจะยังคงอาศัยอยู่ภายในลำต้นได้ แต่ไม่มากพอหรือสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมจึงไม่แสดงอาการโรค

ในกรณีเช่นเดียวกันนี้ ได้สำรวจพบโรคซึ่งมีลักษณะอาการเช่นเดียวกัน อ.นาทวี จ.สงขลา ซึ่งมีพื้นที่และจำนวนปลูกไม่มากนัก แต่เป็นขนุนพันธุ์ดีชื่อพันธุ์ทองนาทวี ซึ่งมีขวงใหญ่ยาว เนื้อหนา หวานกรอบ รสชาดดี ขนาดผลใหญ่มาก น้ำหนักต่อผลประมาณ 40-50 กิโลกรัม ผลผลิตสูงสุดที่เคยได้คือ 82 กก. ต่อผล เป็นพันธุ์ที่มีชื่อเสียงมากของ จ.สงขลา (บุญส่ง, 2531) รายได้ส่วนใหญ่ของเกษตรกรจะได้จากการจำหน่ายต้นพันธุ์ ซึ่งได้จากการติดตาและเสียบยอด ในขณะที่ผู้วิจัยไปสำรวจมีขนุน 3 ต้น ที่แสดงอาการชัดเจนว่าเป็นโรคในระยะเริ่มแรกคือ มียางไหลจากเปลือก เมื่อใช้มีดถากดูส่วนของ cambium พบว่าเป็นริ้วสีน้ำตาล แต่ใบยังไม่ร่วง เกษตรกรไม่ทราบว่าเป็นโรค ยังคงใช้ยอดจากต้นที่เป็นโรคนั้นขยายพันธุ์ต่อไป และในวันที่ไปสำรวจนั้นได้มีเกษตรกรจากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์มาซื้อกิ่งพันธุ์ไปเป็นจำนวนมาก จึงเป็นที่น่าวิตกว่า การขยายพันธุ์จากต้นที่เป็นโรคเช่นนี้ จะเป็นการแพร่โรคไปยังที่ต่าง ๆ มากขึ้น

สำหรับจุลินทรีย์ที่แยกได้คือ เชื้อรา Botryodiplodia sp. Fusarium sp. และ Pythium sp. นั้น ไม่สามารถทำให้เกิดอาการของโรคยางไหลกับต้นจำปาดะขนุนแต่อย่างใด และเนื่องจากมีรายงานว่าโรคของพืชยืนต้นบางชนิดมีอาการตายคล้ายกับโรคที่เกิดกับจำปาดะขนุนนี้ โดยเกิดจากเชื้อ Phytophthora sp. จึงทำจากการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดินราก และตัวอย่างจำปาดะขนุนที่แสดงอาการโรค โดยใช้อาหารเฉพาะอย่าง ไม่พบเชื้อดังกล่าวนี้ ส่วนไส้เดือนฝอย 2 ชนิดที่แยกได้คือ Longidorus sp. และ Xiphinema sp. นั้น พบในปริมาณน้อยมาก และจากการตรวจเอกสารไม่พบว่าสามารถทำให้เกิดโรคกับไม้ยืนต้นได้ แต่มีแนวโน้มว่าจะเป็นฆาหะของโรคนี้ได้ จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษาในอนาคต

ส่วนการแยกเชื้อแบคทีเรียจาก 30 ชิ้นตัวอย่าง จากต้นที่เป็นโรค 8 ต้น โดยฆ่าเชื้อที่ผิว (surface sterile) อย่างดี แล้วจึงแยกเชื้อบริสุทธิ์นั้น พบเชื้อบริสุทธิ์ซึ่งมีโคโลนีแบบเดียวกัน ไม่มีเชื้ออื่นปะปนเลย ลักษณะกลม นูน สีขาวโปร่งแสง ขอบเรียบ เป็นมัน และจากการศึกษาเนื้อเยื่อและตรวจพบแบคทีเรียหรือกลุ่มของแบคทีเรียจำนวนมากในส่วนของ phloem fiber และ ray parenchyma ทำให้สันนิษฐานได้ว่าโรคนี้เกิดจากแบคทีเรีย เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนต้นจำปาดะขนุนทั้งบนต้นกล้าอายุ 2 เดือน และต้นที่มีอายุประมาณ 12 ปี พบว่าพืชแสดงอาการโรคไม่เด่นชัดนัก ทั้งนี้อาจเนื่องจากวิธีการปลูกเชื้อไม่เหมาะสม สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมหรืออื่น ๆ รวมทั้งในขณะที่ทำแผลเพื่อปลูกเชื้อพบว่ามียาง (latex) ไหลออกมาจากแผลนั้น ๆ ยางนี้อาจมีผลทำให้ปิดกั้นการเข้าทำลายของเชื้อ หรือทำให้เชื้อเข้าทำลายไม่สะดวก อันเป็นกลไกหนึ่งเพื่อการอยู่รอดของพืช (Agrios, 1978) อย่างไรก็ตามจากลักษณะของแผลที่ปรากฏมีแนวโน้มว่าเชื้อสามารถทำให้เกิดโรคกับจำปาดะขนุนได้ แต่จำเป็นต้องอาศัยเวลาในการพัฒนาการเกิดโรค และปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมยิ่งขึ้น

ดังที่ได้กล่าวแล้วว่าอาการของโรคนี้คล้ายคลึงกับที่พบกับขนุนและจำปาดะในมาเลเซีย (Lim, 1983) และพบกับ walnut (Wilson et al., 1957) จึงได้ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี ซึ่งลักษณะของเชื้อจากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนทั้งแบบส่องกราดและลำแสงผ่าน พบว่าแบคทีเรียมีรูปร่างเป็นท่อนขนาด 0.72-0.78x2.9-4.7 ไมครอน มักอยู่เดี่ยว ๆ เคลื่อนไหวได้ด้วย flagella 4-5 เส้นแบบรอบตัว ลักษณะโคโลนีกลม ผิวหน้านูนเป็นมัน ขอบเรียบ สีขาวโปร่งแสง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตร Gram negative เจริญได้ทั้งในสภาพที่มี O_2 และไม่มี O_2 ไม่สร้างสปอร์ และอื่น ๆ ซึ่งจำแนกได้ว่าเชื้อตัวนี้จัดอยู่ในจีนัส Erwinia

Lim (1983) รายงานว่า branch die-back disease ของขนุนและจำปาดะเกิดจากเชื้อ E. carotovora var. carotovora ซึ่งเป็นเชื้อที่จัดอยู่ใน carotovora group เชื้อ

ในกลุ่มนี้มีลักษณะเด่นคือสามารถทำให้มันฝรั่งเน่าและสามารถย่อยเจลลาตินได้ภายใน 1 สัปดาห์ แต่จากการศึกษาโดยใช้เชื้อจากจำปาดะขนุนพบว่าไม่สามารถทำให้มันฝรั่งเน่าและไม่ย่อยเจลลาติน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเชื้อที่แยกได้จากจำปาดะขนุนทั้ง 8 isolates นี้แตกต่างจากเชื้อสาเหตุที่รายงานโดย Lim และเมื่อศึกษาเปรียบเทียบกับเชื้อ E. rubrifaciens, E. quercina, E. salicis และ E. nigrifluens ใน amylovora group ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคกับไม้ยืนต้นได้ พบว่านอกเหนือจากลักษณะหลายประการที่คล้ายคลึงกันในทั้ง 4 สปีชีส์แล้ว เชื้อที่แยกจากจำปาดะขนุนจะมีคุณสมบัติเหมือนกับ E. nigrifluens คือสามารถสร้างเอนไซม์ urease เพื่อย่อยสารยูเรียซึ่งประกอบอยู่ในอาหารทดสอบได้ ไม่สามารถสร้างเม็ดสีสีชมพูบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YDC สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อแม้ไม่มีอินทรียสารเป็นองค์ประกอบ เจริญเติบโตและให้โคโลนีสีเหลืองส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MS ในขณะที่ E. rubrifaciens จะสร้างเม็ดสีสีชมพูบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YDC เชื้อ E. quercina ต้องการอินทรียสารในการเจริญเติบโต E. salicis ไม่ให้โคโลนีสีเหลืองส้มบนอาหาร MS และทั้ง 3 สปีชีส์หลังนี้ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ urease เพื่อย่อยสาร YDC เชื้อ E. quercina ประกอบยูเรียได้ จึงเห็นได้ว่าเชื้อที่แยกจากจำปาดะขนุนนี้มีคุณสมบัติสอดคล้องกับ E. nigrifluens ดังกล่าวข้างต้น

นอกจากนี้เชื้อทั้ง 8 isolates สามารถใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน พร้อมทั้งสร้างกรดจาก aesculin, cellobiose, glycerol, inositol, lactose, mannitol, raffinose, rhamnose, ribose, salicin, trehalose และ xylose ไม่สร้างกรดจาก adonitol, dulcitol, melibiose, -methylglucoside, sorbitol และ starch สามารถใช้ sodium tartrate และไม่ใช้ sodium citrate, sodium galacturonate เป็นสารประกอบอินทรีย์ในการเจริญ ซึ่งลักษณะทั้งหมดนี้เหมือนกับ E. nigrifluens ซึ่งบรรยายไว้โดย Fahy และ Persley (1983) และ Schaad (1983) จึงสรุปว่าเชื้อที่แยกได้นี้คือ Erwinia nigrifluens

สำหรับการป้องกันกำจัดจากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่าปฏิชีวนสาร 2 ชนิด คือ tetracycline และ Dexan มีแนวโน้มที่จะให้ผลดี จึงได้นำไปทดลองทรีตในสวนเกษตรกรโดยวิธีฉีดเข้าลำต้น ต้นที่กำลังแสดงอาการโรคที่อัตราความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งยังไม่ประสบผลสำเร็จและกำลังอยู่ในระหว่างการทดลอง

ในการป้องกันกำจัดนั้นทางหนึ่งที่คาดว่าเป็นไปได้คือการฉีดยาให้กับพืชก่อนที่เชื้อจะเข้าทำลาย เนื่องจากเมื่อเชื้อเข้าทำลายและพืชแสดงอาการแล้วนั้น จากการทดลองพบว่าไม่มีสารเคมีชนิดใดสามารถกำจัดได้ แม้ที่อัตราความเข้มข้นสูงมากก็ตาม เนื่องจากเชื้อเข้าทำลายและไปอุดตัน vascular bundle ทำให้การเคลื่อนที่ของน้ำและอาหารไปสู่ส่วนยอดไม่ได้ การฉีดยาในระยะนี้จึงไม่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นการฉีดยาให้กับพืชก่อนที่เชื้อจะเข้าทำลายเพื่อป้องกันและยับยั้งการแพร่ของเชื้อเมื่อเชื้อเข้าทำลาย จึงควรจะทำการศึกษาทดลอง ซึ่งต้องลงทุนสูงและใช้ระยะเวลานาน แต่เนื่องจากงบประมาณที่ได้รับการสนับสนุนมีจำกัดและเหลือเพียงเล็กน้อย จึงไม่อาจดำเนินงานต่อไปได้

อย่างไรก็ตามขณะนี้ผู้วิจัยได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนพัฒนามหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์จำนวนหนึ่ง เพื่อดำเนินการวิจัยและเผยแพร่ต่อผลจากงานวิจัยนี้ไปสู่เกษตรกร อันจะเป็นประโยชน์แก่สังคมต่อไป

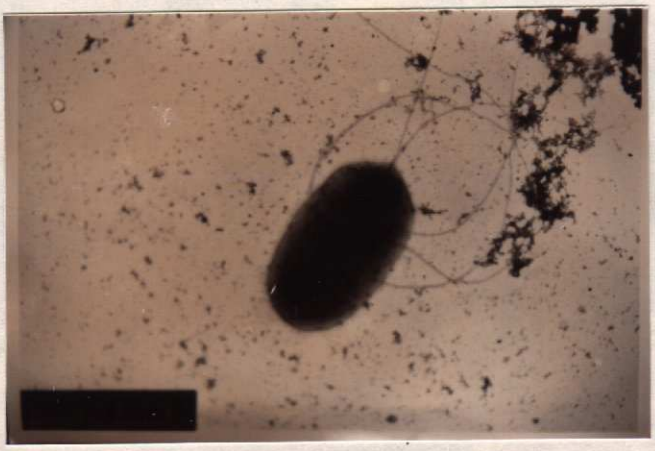
รูปที่ 2 ลักษณะอาการของต้นจำปาดะขนุนที่เป็นโรค

ก. ต้นที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย

ข. ยางไหลสีน้ำตาลดำไหลจากเปลือกของลำต้น

ค. เปลือกและแคมเบียมเป็นแผลสีน้ำตาล

ง. ยางสีเหลืองรอบแผล



รูปที่ 3 ก. ลักษณะเซลล์รูปร่างแบบท่อน x 18,000

ข. กลุ่มของแบคทีเรียที่พบในส่วนของ fiber x 3,000

รูปที่ 4 ขั้นตอนการฉีดสารเคมีเข้าในลำต้น (ดัดแปลงจาก ธรรมศักดิ์, 2532)

ก. เจาะลำต้นด้วยสว่านลึกประมาณ 2-3 เซนติเมตร

ข. เขี่ยขุยไม้ทิ้ง

ค. ตอกปลอกเข็มลึกประมาณ 1 เซนติเมตร

ง. กระบอกฉีดยาที่ดูดน้ำยาแล้ว

จ. เสียบกับปลอกเข็มที่ตอกไว้ที่ต้น

ฉ. สภาพการฉีดยาที่ลำต้น

เอกสารอ้างอิง

1. บุญส่ง ยี่รัญศิริ, 2531. ไปดูขนุนพันธุ์ดีภาคใต้และขนุนยักษ์ที่ จ.สงขลา เคหการเกษตร 141:114-119.
2. ธรรมศักดิ์ สมมาตร, 2532. มิติใหม่ของการรักษาโรคทุเรียนด้วยเข็มฉีดยาและสารเคมีชนิดใหม่. เคหการเกษตร. 2(12):หน้า 35-39.
3. อุไรวรรณ คุณาดิลกนันท์, 2528. เทคนิคทางกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ฯ บางเขน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 65 หน้า
4. Agrios, G.N. 1978. Plant pathology. Academic Press, New York. 703 p.
5. Bradbury, J.F. 1981. Description of pathogenic fungi and bacteria. Commonwealth Mycological Institute. Nos. 691-700.
6. Cowan, S.T. 1974. Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge University Press. London. 238 p.
7. Dye, D.W. 1968. A taxonomic study of the genus Erwinia. New Zealand Journal of Science 11: 690-707.
8. Fahy, P.C. and G.J. Persley. 1983. Plant bacterial diseases. Academic Press. New York 393 pp.
9. Lim, W.H. and Yasin, I. 1983. A new bacterial disease of jack-fruit and champedak. MAPPS Newsletter 7(3):6-8.
10. Mai, W.F. and LYON, H.H. 1975. Pictorial key to genera of plant-parasitic nematodes. 4th ed.
11. Schaad, N.W. and E.E. Wilson. 1969. Pathological anatomy of the bacterial phloem canker disease of Juglans regia. Canadian Jornal of Botany 48:1055-1061.

12. ———, 1970. Survival of Erwinia rubrifaciens in soil. Phytopathology 60:557-558.

13. Schaad, N.W. 1986. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. Dept. of plant pathology, University of Georgia. 245 p.

14. Wilson, E.E., Starr, M.P. and J.A. Berger. 1957. Bark canker, a bacterial disease of the Persian walnut tree. Phytopathology 47:669-673.

15. Wilson, E.E., Zeitoun, F.M. and D.L. Fredricson. 1967. Bacterial phloem canker, a new disease of the Persian Walnut trees. Phytopathology 57: 618-621.

16. Winstead, N.N. and A. Kelman. 1952. Inoculation techniques for evaluating resistance of Pseudomonas solanacearum. Phytopathology 43: 628-643