บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

มะเขือเทศ เป็นพืชที่จัดอยู่ใน Order *Polemoniales* Family *Solanaceae* มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mill. (Jone , 1991) เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบชายฝั่งทะเลด้านตะวันตกของทวีปอเมริกาใต้ ตั้งแต่เส้นศูนย์สูตร จนถึงเส้นรุ้งที่ 30 องศาใต้ ซึ่งเป็นที่ตั้งของประเทศชิลี (สมภพ , 2530) ได้มีการนำมาปลูกเป็นครั้งแรกในประเทศ เม็กซิโก จนกระทั่งในศตวรรษที่ 16 มีพ่อค้าชาวยุโรป ได้นำเข้าไปเผยแพร่ในทวีปยุโรป และเอเชีย จึงทำให้มีการปลูกมะเขือเทศอย่างแพร่หลายทั่วโลก โดยมีผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 70.17 ล้านตัน ในพื้นที่ปลูก 17.4 ล้านไร่ ทั่วโลก และมีผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ประมาณ 4 ตัน ซึ่งประเทศเขตหนาว เช่น ยุโรป และสหรัฐอเมริกาได้จัดให้มะเขือเทศเป็นพืชที่อยู่ในกลุ่มผลไม้ แต่ในประเทศเขตร้อนได้จัดให้มะเขือเทศอยู่ในกลุ่มพืชผัก แหล่งใหญ่ที่มีการปลูกมะเขือเทศมากที่สุดอยู่ในประเทศ รัสเซีย จีน สหรัฐอเมริกา อิตาลี อียิปต์ และตุรกี

สำหรับประเทศไทย มีการปลูกมะเขือเทศกันอย่างแพร่หลายทั่วประเทศเช่นกัน โดยพื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัด หนองคาย นครพนม นครราชสีมา สกลนคร อุดรธานี และภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง และพะเยา เนื่องจากมะเขือเทศเป็นพืชที่ต้องการอากาศหนาวเย็นในการเจริญเติบโต จึงจะให้ปริมาณผลผลิตสูงและมีคุณภาพดี อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตในตอนกลางคืนประมาณ 15.6 - 18.5 ^{0}C และในตอนกลางวันประมาณ 18 - 20 ^{0}C (เกียรติเกษตร , 2540) สภาพดินที่ร่วนซุยมีอินทรีย์วัตถุสูง มีการระบายน้ำและอากาศได้ดี และความเป็นกรดด่าง (pH) ประมาณ 6.0 - 6.5 เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

ในปัจจุบันความต้องการมะเขือเทศภายในประเทศมีมากขึ้น แต่ปริมาณผลผลิตก็ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด จึงต้องมีการนำเข้าจากต่างประเทศ เนื่องจากปัญหาที่สำคัญในด้านการผลิตอีกอย่างหนึ่ง คือ ปัญหาทางด้านโรคและแมลงศัตรูพืช ซึ่งมีผลทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก โดยพบว่า โรคที่มีผลทำให้ผลผลิตเสียหายมากที่สุดโรคหนึ่งคือ โรคเหี่ยวซึ่งเกิดจากแบคทีเรีย (bacterial wilt) ซึ่งมีรายงานการแพร่ระบาดครั้งแรกที่ ประเทศ อิตาลี ในปี คศ. 1882 โดย Walker และต่อมา Erwin F. Smith ได้เป็นผู้ตั้งชื่อแบคทีเรียที่เข้าทำลายมะเขือเทศและทำให้เกิดอาการเหี่ยวว่า *Pseudomonas solanacearum* E. F. Smith เชื้อนี้มีความสามารถในการเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจได้หลายชนิด เช่น มันฝรั่ง มะเขือเทศ ยาสูบ ถั่วลิสง กล้วย มะเขือ พริก และขิง (Kempe

and Sequeira , 1983 ; Hartman *et al.*, 1992 ; Wall and Sanchez , 1992 ; Trigalet *et al.* , 1994) รวมทั้งวัชพืชบางชนิด และมีรายงานการแพร่ระบาดของโรคเหี่ยวมะเขือเทศที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อนี้ทั่วโลกทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น (Rao *et al.* , 1975 ; Jone 1991 ; Boucher *et al.* , 1992 ; AVRDC , 1991 ; Aspirus *et al* , 1985 ; Somodi *et al.* , 1992) เช่นในประเทศ ญี่ปุ่น อินเดีย ทางตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย ฟีจิ ปาปัวนิวกินี ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา อินโดนีเซีย สหรัฐอเมริกาทางตอนใต้ของรัฐ Marryland รวมทั้งประเทศไทย (Persley *et al.* , 1985) โรคนี้สามารถเข้าทำลายมะเขือเทศได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยว จึงทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตเป็นอย่างมาก โดยมีรายงานความสูญเสียที่เกิดจากโรคเหี่ยวนี้เข้าทำลายในประเทศต่างๆ เช่น อินเดีย มีรายงานความสูญเสียของผลผลิตทั้งหมด (Rao *et al.* ,1975) และไต้หวัน ประมาณ 50 % ซึ่งโดยทั่วไปแล้วผลผลิตจะเสียหายโดยเฉลี่ยประมาณ 15 - 75 %

โรคเหี่ยวมะเขือเทศมีรายงานการแพร่ระบาดครั้งแรกในประเทศไทย ระหว่างปี คศ.1957 และมะเขือม่วงในปีเดียวกัน ยาสูบในปี คศ. 1965 พริกในปี คศ. 1972 รวมไปถึงมีรายงานความสูญเสียที่เกิดจากแบคทีเรียชนิดนี้เข้าทำลายในขิง และ งา ในปี คศ. 1981 ที่จังหวัด นครสวรรค์ และมหาสารคาม ต่อมาในช่วงปี คศ. 1983 มีรายงานการแพร่ระบาดของแบคทีเรียชนิดนี้ใน มันฝรั่ง ที่จังหวัด เชียงใหม่ ด้วย (Titatarn , 1985) ดังนั้นแบคทีเรียชนิดนี้ เป็นเชื้อสาเหตุที่มีความสำคัญ เพราะมีการแพร่ระบาดอย่างกว้างขวางทั่วประเทศ และสามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจ รวมทั้งวัชพืชได้หลายชนิด เช่น *Solonum nigrum* (black berry night shade) , *Crassocepholum crepidioides* (thick head) , *Physalis minima* (caper gooseberry) และ *Solonum mauritianum* (wild tobacco tree) ซึ่งเป็นวัชพืชที่พบในแปลงปลูกทั่วไปของประเทศไทย (Pegg *et al.* ,1974)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีของ *Pseudomonas solanacearum*

Pseudomonas solanacearum เป็นแบคทีเรียที่ต้องใช้ออกซิเจนในการหายใจ (aerobe) แกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) หัวท้ายมน มีขนาดประมาณ 0.5 - 0.7 x 1.5 - 2.0 μm สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้ flagella ที่ติดอยู่ที่ขั้วด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์จำนวน 1 - 4 เส้น และมีรายงานว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่รุนแรงส่วนใหญ่จะเป็นพวก non - flagella ส่วนพวกสายพันธุ์ไม่รุนแรงจะใช้ flagella ในการเคลื่อนที่ เกี่ยวกับเรื่องนี้ได้รับการยืนยัน จากการทดลองเลี้ยงเชื้อบนอาหาร TZC เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง พบว่ามีสายพันธุ์รุนแรงเพียง 2 - 5 % เท่านั้น ที่มี flagella ในขณะที่สายพันธุ์ไม่รุนแรงมี flagella เป็นส่วนประกอบของเซลล์ 80 - 90 % และสายพันธุ์ไม่รุนแรง

จะสามารถเคลื่อนที่ในอากาศได้เร็วกว่า แต่เมื่อนำไปเลี้ยงในสภาพบรรยากาศที่มีก๊าซไนโตรเจนไม่พบการเคลื่อนที่ ดังนั้นการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย *P. solanacearum* สายพันธุ์รุนแรงภายในหรือระหว่างเซลล์พืช จึงไม่จำเป็นต้องมี flagella ช่วย แต่ต้องอาศัยบรรยากาศอย่างอื่นที่ไม่ใช่อ็อกซิเจนช่วย (พรทิพย์ , 2533) แบคทีเรียชนิดนี้ไม่สร้างสปอร์ ไม่มีแคปซูล เมื่อย้อมด้วย methylene blue , carbol fuchsin หรือ alkaline anilineyes จะติดสีที่ขั้วทั้งสองของเซลล์ สามารถสร้างเอนไซม์ คะตะเลส (catalase) และอ็อกซิเดส (oxidase) สามารถเปลี่ยนไนเตรท (NO_3) ไปเป็นไนไตรท์ (NO_2) แต่ไม่สามารถย่อยแป้ง (starch) และเจลลาติน(gellatin)ได้ นอกจากนี้ยังสามารถผลิตสาร intracellular refracitile sudanophilic ที่ประกอบด้วย polyhydroxybutyric acid ได้ แบคทีเรียชนิดนี้ยังสามารถใช้แหล่งคาร์บอนต่างๆได้ เช่น glucose , sucrose , galactose , manose และ ribose (Holt *et al.* , 1994) ลักษณะของแบคทีเรียชนิดนี้เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็ง โคโลนีมีขนาดค่อนข้างเล็ก ลักษณะไม่แน่นอน ค่อนข้างกลม ผิวหน้าเรียบ เมื่ออายุน้อยจะมีสีขาวขุ่น (Okabe , 1971) และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่ออายุมากขึ้น (Walker , 1952) บาง strain ยังสามารถผลิต pigment สีน้ำตาลและ / หรือ สีดำบนอาหาร รวมทั้งยังสามารถเจริญได้บนอาหารที่มี NaCl 0.5 และ 1 % แต่ไม่สามารถเจริญได้บนอาหารที่มี NaCl 2 % (Jone , 1991) แบคทีเรียชนิดนี้เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร TZC (Tetrazolium Chloride Agar) จะสามารถระบุความรุนแรงได้กล่าวคือ พวกที่เป็น vilurent strain ลักษณะโคโลนีค่อนข้างกลม กระจายตัวได้ดีในน้ำ ขอบของโคโลนีมีสีขาวขุ่นตรงกลางมีสีชมพู ส่วนพวกที่เป็น avilurent strain โคโลนีค่อนข้างกลม ขอบเรียบใส ตรงกลางมีสีแดง (Chen and Echandi , 1982)

การจัดจำแนกกลุ่มของเชื้อ แบคทีเรีย *P. solanacearum* (Holt *et al.* , 1994)

แบคทีเรีย *P. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ จัดอยู่ใน

Kingdom *Procaryote*

Class *Bacteria*

Order *Pseudomonadales*

Family *Pseudomonadaceae*

Genus *Pseudomonas*

Hayward (1991) ได้อธิบายถึงเชื้อ *P. solanacearum* ไว้ว่าเป็นแบคทีเรีย ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมได้อย่างรวดเร็ว จึงมีผลทำให้เกิดความแตกต่างในคุณสมบัติหลายประการ เช่น พืชอาศัย (host range) ลักษณะทางสรีรวิทยา (physiological) ความสามารถในการทำให้เกิดโรค (pathogenicity) รวมทั้งการแพร่กระจาย ดังนั้นจึงมีการจัดจำแนกกลุ่มของแบคทีเรียชนิดนี้ไว้หลายแบบด้วยกัน เช่น อาศัยความสามารถในการเข้าทำลายพืช (host) ที่แตกต่างกันเป็นตัวจัดจำแนกกลุ่ม โดยให้ชื่อว่า " race " ซึ่งสามารถจัดจำแนกออกเป็น 5 races ด้วยกัน ดังนี้

race 1 สามารถเข้าทำลายพืชในตระกูล Solanaceae (Solanaceous strain) ซึ่งมีพืชอาศัยกว้าง การแพร่กระจายพบในเขตร้อน (Tropical) และเขตอบอุ่น (Subtropical)

race 2 สามารถเข้าทำลายกล้วย และ พืชในสกุล Heliconia (Musaceous strain) พบทางตอนเหนือของทวีปอเมริกาและปัจจุบันพบในทวีปเอเชีย

race 3 สามารถเข้าทำลายมันฝรั่งและพืชอีกหลายชนิด (Potato strain) พบในเขต อบอุ่นและเขตร้อน

race 4 สามารถเข้าทำลายขิง (Ginger strain) พบในประเทศฟิลิปปินส์

race 5 สามารถเข้าทำลายหม่อน (Mulberry strain) พบในประเทศ จีน

นอกจากการจัดจำแนกแบคทีเรียออกเป็น race แล้วยังสามารถจัดจำแนกแบคทีเรียชนิดนี้ออกเป็น biovars โดยอาศัยคุณสมบัติทางชีวเคมี (biochemical) คือ ความสามารถในการ oxidize hexose alcohol และ disaccharide หลายชนิด แบ่งออกเป็น 5 biovars ด้วยกัน โดยพบว่า biovar 1 และ biovar 2 ไม่สามารถใช้ galactose , lactose , manitol , sorbitol และ β - hydroxybenzole เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ดังนั้นความสามารถในการใช้อาหารจึงน้อยกว่า biovar 3 และ biovar 4 นอกจากนั้นยังสามารถแยกเป็น biovars ต่างๆได้ โดยการใช้ DNA probe (AVRDC , 1993) หรือการใช้เทคนิคทาง RFLP (Restriction Fragment Lenght Polymorphisms) ซึ่งอาศัยคุณสมบัติของ protein membrane เป็นตัวจัดจำแนก ใน biovar 1 พบว่า มีรายงานการเข้าทำลายพืชในรัฐ Florida และ North Corolina แต่ไม่พบในทวีปเอเชีย ส่วน biovar 2 , 3 และ 4 พบในประเทศ ออสเตรเลีย อินโดนีเซีย ปาปัวนิวกีนี ศรีลังกาและ จีน สำหรับในประเทศจีนพบ biovar 5 ด้วยเช่นกัน ประเทศฟิลิปปินส์ พบ biovar 1 ถึง 4 ทวีปเอเชียพบ biovar 3 ซึ่งต่อมาพบว่าเป็น biovar 2 ที่เกิดการแพร่กระจายของมันฝรั่งที่เป็นโรคจากทวีปอเมริกาใต้ หรือเกิดจาก latent infection ของเมล็ด หรือเกิดจากเชื้อ biovar 2 มีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม โดยพบว่าเชื้อ *P. solanacearum* race 3 และ biovar 2 มีคุณสมบัติเหมือนกัน ดังนั้นการแพร่กระจายและการควบคุม

แบคทีเรียชนิดนี้ใน biovar 2 จึงมีความสำคัญ เพราะสามารถแพร่ระบาดได้ทั่วโลก โดยมี primary host คือ มันฝรั่ง และยังสามารถเข้าทำลาย มะเขือเทศ และวัชพืชต่างๆ ได้ นอกจากนี้แบคทีเรียใน biovar 2 ยังมีความสามารถในการเจริญเติบโตและ ปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี รวมทั้งสามารถเข้าทำลายพืชที่อุณหภูมิต่ำ และดำรงชีวิตอยู่ในดินได้นานกว่า biovar 3

สำหรับประเทศไทย แบคทีเรีย *P. solanacearum* เกือบทั้งหมดจัดอยู่ใน biovar 3 ยกเว้นแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของขิง จัดอยู่ใน biovar 4 (Titatarn , 1985)

ขบวนการเกิดโรคเหี่ยวและอาการที่เกิดจากแบคทีเรียสาเหตุโรค

โรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ที่เกิดจากแบคทีเรีย *P. solanacearum* สามารถเข้าทำลายมะเขือเทศได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต ตั้งแต่ระยะกล้า จนถึงระยะออกดอก (สมภพ , 2530) โดยสามารถเข้าทำลายพืชทางบาดแผล หรือ รูเปิดทางธรรมชาติ (Wall and Sanchez , 1992) เมื่อแบคทีเรียชนิดนี้เข้าสู่ต้นพืชแล้วเข้าไปบริเวณ xylem vessel และ parenchyma cell ภายใน pith และ cortex จากนั้นแบคทีเรียจะเคลื่อนที่ระหว่าง vessel ทำให้เกิดเป็นกลุ่มเซลล์ของแบคทีเรียและภายใต้สภาพที่เหมาะสมแบคทีเรียดังกล่าวจะมีการพัฒนาอยู่รอบๆท่อน้ำท่ออาหาร จนทำให้ท่อน้ำท่ออาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและเกิดการอุดตันบริเวณ cortex เป็นผลให้พืชแสดงอาการเหี่ยว นอกจากนั้นเชื้อนี้ยังมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ extracellular hydrolytic รวมทั้ง เอนไซม์ cellulase และ pectinase แต่ไม่สามารถผลิตเอนไซม์ protease จากการศึกษาพบว่ามี เอนไซม์ 2 ชนิดที่เกี่ยวข้องกับขบวนการเกิดโรคเหี่ยวของพืช คือ endoglucanase และ polygalacturonase รายงานดังกล่าวได้รับการยืนยันจากผลงานของ Schell ในปี 1987 อ้างโดย Salmond (1994) พบว่าความสามารถของเอนไซม์ cellulase มีผลมาจากการการปลดปล่อยสารโดยเอนไซม์ 43 - kd endoglucanase นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงการผ่าเหล่าของแบคทีเรีย *P. solanacearum* โดยการสอดแทรกยีนใน wild type ทำให้ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ endoglucanase ลดลงถึง 200 เท่า แต่ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ polygalacturonase ยังมีอยู่ เมื่อเปรียบเทียบกับ wild type และความสามารถนี้ไม่เกี่ยวข้องกับปริมาณเชื้อและวิธีการปลูกเชื้อ แบคทีเรีย *P. solanacearum* ที่เป็น wild type ยังมีความสามารถในการผลิต exopolysaccharides (EPS) ซึ่งมีความสำคัญในการพัฒนาการเกิดโรค โดยพบว่า EPS จะเข้าไปเพิ่มปริมาณภายใน vessel ของท่อน้ำ ทำให้การเคลื่อนที่ของของเหลวภายในพืชลดลง พืชจะเริ่มแสดงอาการเหี่ยวรุนแรงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 2 - 3 วัน ในระยะกล้าถ้าอาการรุนแรงมากสามารถทำให้ต้นกล้าตายได้ แต่ในระยะต้นโตเมื่อถูกแบคทีเรียชนิดนี้เข้าทำลาย จะแสดงอาการเหี่ยวในตอนกลางวันและจะฟื้นในตอนกลางคืน หลังจากนั้นจะ

เหี่ยวทั้งกลางวันและกลางคืน โดยเริ่มจากระบบท่อน้ำท่ออาหารของลำต้นเปลี่ยนเป็นสีเหลือง น้ำตาล และสีน้ำตาลดำในเวลาต่อมา ปรากฏอาการฉ่ำน้ำภายในลำต้น ซึ่งเป็นอาการเหี่ยวอย่างสมบูรณ์ เมื่อถอนลำต้นขึ้นมาและตัดลำต้นตามขวางนำไปแช่น้ำ นานประมาณ 2 - 3 นาที จะพบว่ามีของเหลวสีขาวขุ่น (ooze) ไหลออกจากรอยตัด โดยต้นมะเขือเทศที่มีอาการรุนแรงจะพบว่าภายในลำต้นกลวง เนื่องจากท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลายจนเนื้อเยื่อเน่ากลายเป็นสีน้ำตาล ซึ่งเกิดจากการ oxidation ของสารประกอบ phenol โดยแบคทีเรียจะสร้างเอนไซม์ ชื่อ phenol oxidase ขึ้นมาทำปฏิกิริยากันจนได้สารประกอบ quinones ซึ่งจะไปจับกับ melanin แพร่ไปตามเซลล์ต่างๆ และสามารถเกาะติดไปกับเซลล์ได้ง่าย จึงทำให้เซลล์ที่ถูกเกาะติดนั้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเข้าทำลายของแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (Hayward , 1991)

มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายอย่าง ดังนี้

1. อุณหภูมิ

อุณหภูมิ เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวกับพืช โดยทั่วไปแบคทีเรีย *P. solanacearum* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง ระหว่าง 30 - 35 °C ในมะเขือเทศ พบว่า พืชจะแสดงความต้านทานต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรียชนิดนี้ ที่อุณหภูมิปานกลางแต่จะอ่อนแอเมื่อสภาพอากาศมีอุณหภูมิสูงขึ้น เนื่องจากสภาพอากาศมีผลต่อความสามารถในการแสดงออกของ gene ที่ต้านทานของพืชอาศัย นอกจากความต้านทานของพืชจะตอบสนองต่ออุณหภูมิแล้ว ยังเกี่ยวข้องกับความเฉพาะเจาะจงใน strain ต่างๆ ของ *P. solanacearum* อีกด้วย ดังที่ Krous and Thurston ได้รายงานไว้ในปี ค.ศ. 1975 ว่าที่อุณหภูมิ 32 ° C อัตราการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจาก *P. solanacearum* จะสูงขึ้น และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอัตราการเกิดโรคเหี่ยวที่อุณหภูมิ 26 °C แต่ทั้งนี้ขึ้นกับ สายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุที่แตกต่างกันด้วย เช่น แบคทีเรีย strain K- 60 จากสหรัฐอเมริกา เมื่อนำมาทดสอบกับมะเขือเทศพันธุ์ Venus พบว่าไม่มีความแตกต่างกันที่อุณหภูมิ 26 °C และ 32 °C แต่เมื่อนำมาทดสอบกับแบคทีเรีย สายพันธุ์ LB - 60 จากฟิลิปปินส์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในมะเขือเทศพันธุ์อ่อนแอที่อุณหภูมิดังกล่าว

2. ความเข้มของแสงและระยะเวลาการได้รับแสง

ความเข้มของแสงและระยะเวลาการได้รับแสง อาจมีผลต่อความต้านทานโรค ในการศึกษาการเข้าทำลายของ *P.solanacearum* ของพืช พบว่าในมะเขือเทศ พันธุ์ 1169 เมื่อได้รับเชื้อ *P.solanacearum* สายพันธุ์ LB -60 ที่อุณหภูมิ 26.6 °C ไม่ทำให้ความต้านทานโรคลดลงแต่ที่อุณหภูมิ 29.4 ° C และเมื่อลดระยะเวลาการได้รับแสง ทำให้ความสามารถในการต้านทานโรคลดลงด้วย ในขณะที่ความเข้มแสงไม่มีผลต่อความต้านทานโรคเลย

3. ความชื้นและชนิดของดิน

ความชื้นในดินที่สูงขึ้นซึ่งเกิดจากปริมาณน้ำมีมาก หรือมีฝนตกมาก เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อเชื้อแบคทีเรีย *P. solanacearum* ในแง่การเข้าทำลายพืช การเพิ่มปริมาณ และการมีชีวิตอยู่ในดิน ของแบคทีเรียชนิดนี้ พบว่าแบคทีเรียจะเพิ่มปริมาณภายใน 7 - 10 วันในสภาพที่ดินมีความชื้นสูง (- 1 bar) แต่จะไม่มีการเพิ่มปริมาณในดินที่แห้ง (- 19 bars) และ ความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียชนิดนี้คือที่ - 0.5 ถึง - 1 bar ในปี ค.ศ. 1983 Moffelt *et al.* รายงานผลการทดสอบการมีชีวิตของแบคทีเรีย *P. solanacearum* biovar 2 และ 3 ในดิน 3 ชนิดคือ clay , clay loam และ sandy loam ที่ความดัน 3 ระดับ คือ - 0.03 , - 0.05 และ - 0.15 kPa พบว่าปริมาณของแบคทีเรียใน biovar 2 ลดลงอย่างรวดเร็วมากกว่า biovar 3 และทั้ง 2 biovar มีอัตราการลดลงอย่างสม่ำเสมอในดินที่แห้ง รวมทั้งพบอัตราการลดลงของประชากรในแต่ละ biovar ที่ - 0.03 และ - 0.05 kPa ในดินชนิด clay loam มากกว่า sandy loam และที่ความดันทุกระดับดินชนิด clay loam และ sandy loam มากกว่า clay

4. จำนวนประชากรไส้เดือนฝอย

การเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยจะมีความสัมพันธ์ต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรีย *P. solanacearum* เนื่องจากไส้เดือนฝอยรากปมเมื่อเข้าทำลายพืชจะทำให้เกิดบาดแผลที่ราก ทำให้แบคทีเรียสามารถเข้าทำลายพืชได้ง่ายขึ้น

การเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรของแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ

ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรของแบคทีเรีย *P. solanacearum*

1. ปริมาณน้ำในดิน

ปริมาณน้ำในดิน 40-50 % เป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. solanacearum* มากกว่าที่ 15 - 20 %

2. ความชื้นในดิน

ดินที่มีความชื้นสูง อัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรีย *P. solanacearum* จะมีมากขึ้น รวมทั้งความสามารถในการเข้าทำลาย การพัฒนาการเกิดโรค และความสามารถในการแพร่ระบาดของแบคทีเรียชนิดนี้ก็จะมีสูงขึ้นด้วยเช่นกัน

3. ความชื้นสัมพัทธ์

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในขบวนการเกิดโรคอีกอย่างคือความชื้นสัมพัทธ์ พบว่าเมื่อมีความชื้นสัมพันธ์สูงขึ้นอัตราการเกิดโรคและการเพิ่มปริมาณของ *P. solanacearum* ในพืชจะมีมากขึ้น

4. อุณหภูมิ

โรคเหี่ยวที่เกิดจาก *P. solanacearum* พบว่ามีการระบาดมากในสภาพอากาศร้อน และอุณหภูมิของดินมีการเปลี่ยนแปลง Galligly and Walker (1949) ได้รายงานไว้ว่าหลังจากปลูกแบคทีเรียดังกล่าว พืชจะแสดงอาการของโรคอย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงจาก 26.7 เป็น 37.8 ^{0}C นอกจากนี้ Vaughan (1964) ยังรายงานไว้ในทำนองเดียวกันนี้ว่าที่อุณหภูมิสูงกว่า 21^{0} C อัตราการเกิดโรคเหี่ยวมีสูงขึ้น แต่ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 21 ^{0}C อัตราการเกิดโรคจะไม่เปลี่ยนแปลง

5. ธาตุอาหารในดิน

ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสสูงและไนโตรเจนต่ำมีผลต่อความรุนแรงของโรค Walker (1952) ได้รายงานผลการศึกษาโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในประเทศอินโดนีเซีย ว่าอัตราการเกิดโรคเหี่ยวเพิ่มขึ้นเมื่อให้ปุ๋ย ซุปเปอร์ฟอสเฟตแก่ดินในอัตราสูงและให้ไนโตรเจนต่ำ นอกจากนี้ยังอ้างผลงานของ Smith ว่าการเพิ่มปุ๋ยไนโตรเจน โดยเฉพาะยูเรีย สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของยาสูบ ในรัฐ North Carolina แต่ต้องใช้ในปริมาณ 1,000 ปอนด์ต่อเอเคอร์ และปลูกข้าวโพดสลับกับยาสูบ

6. ความเป็นกรดด่างของดิน

ดินที่เป็นกรดช่วยลดความรุนแรงของโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย Eddin (1936) พบว่าที่ pH ดินประมาณ 6.8 แบคทีเรีย *P. solanacearum* สามารถทำให้เกิดความเสียหายกับพืชได้รุนแรงแต่ที่ pH 4.3 ความรุนแรงจะลดลง

วงจรชีวิตและการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

แบคทีเรีย *P. solanacearum* สามารถเข้าทำลายพืชได้มากกว่า 200 species และวัชพืชได้ถึง 33 familes โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กล้วย และพืชในตระกูล Solanaceae ซึ่งเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก นอกจากนี้มีรายงานว่า พืชบางชนิดที่ไม่ใช่พืชอาศัยของแบคทีเรียชนิดนี้ยังสามารถเข้าอาศัยอยู่ได้ รวมทั้งพืชตระกูลหญ้าก็อาจจะเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของเชื้อชนิดนี้ได้เช่นกัน จึงทำให้แบคทีเรีย ชนิดนี้สามารถอยู่ในดินได้เป็นระยะเวลานาน (Okabe , 1971) ความสามารถในการมีชีวิตอยู่ในดินของแบคทีเรียชนิดนี้ในขณะที่ไม่มีพืชอาศัยขึ้นอยู่กับ race หรือ strain ของแบคทีเรีย และขึ้นอยู่กับปัจจัยทางฟิสิกส์ เคมี และชีวของดิน ดินที่มีการระบายน้ำดี อุณหภูมิระดับกลางถึงสูง pH ดินอยู่ระดับต่ำถึงระดับกลาง ลักษณะดังกล่าว เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการมีชีวิตอยู่ในดินของแบคทีเรียชนิดนี้ (Walker , 1952)

P. solanacearum เป็นเชื้อสาเหตุที่สามารถเข้าทำลายพืชทางระบบราก โดยผ่านทางบาดแผลที่เกิดจากการย้ายปลูก การเขตกรรม การทำลายของแมลงและไส้เดือนฝอย และจากการเกิดรอยแผลตามธรรมชาติ แบคทีเรียชนิดนี้มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับระบบท่อน้ำท่ออาหารของพืช โดยพบเซลล์ของแบคทีเรีย และ เมือก (slime) เพิ่มจำนวนภายในท่อน้ำท่ออาหารอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความรุนแรงในการเข้าทำลายพืชของแบคทีเรียชนิดนี้ ซึ่งขึ้นอยู่กับ ความอ่อนแอของพืชอาศัย ความรุนแรงของเชื้อสาเหตุ ความชื้นและอุณหภูมิ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการติดเชื้อและการพัฒนาของโรคปกติจะอยู่ระหว่าง 30 - 35 ^{0}C เมื่อแบคทีเรียชนิดนี้เข้าทำลายพืชแล้วสามารถซึมผ่านผิวของลำต้นออกมาและกลับลงสู่ดินอีกครั้งหนึ่งได้ ดังนั้นแบคทีเรียนี้สามารถแพร่กระจายได้ทั้งทางน้ำ ทางดิน พืชและซากพืชที่เป็นโรค

การป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย *P. solanacearum* (Hayward , 1991)

การป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวที่เกิดจากการแบคทีเรีย *P. solanacearum* มีด้วยกันหลายวิธี แต่ค่อนข้างยากที่จะประสบผลสำเร็จ หากเลือกใช้วิธีการใดวิธีการหนึ่งเพียงอย่างเดียว เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้มีพืชอาศัยกว้าง

1. การใช้พันธุ์ต้านทาน

วิธีการหนึ่งที่มีความสำคัญในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยว คือ การใช้พันธุ์ต้านทาน มีรายงานความสำเร็จในการใช้พันธุ์ต้านทาน ในการควบคุมโรคเหี่ยวใน ยาสูบและถั่ว ส่วนในมะเขือเทศ ถึงแม้ว่าจะมีสายพันธุ์มะเขือเทศจำนวนมาก ที่พัฒนาขึ้นมาให้ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย แต่ว่ายากที่จะให้ต้านทานต่อโรคเหี่ยว ในสภาพที่อุณหภูมิและความชื้นสูงซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดของโรค ได้มีความพยายามในการที่จะปรับปรุงวิธีการคัดเลือก germplasm ให้ต้านทานต่อโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ และคัดเลือกสายพันธุ์มะเขือเทศที่ต้านทานต่อโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *P. solanacearum* ซึ่งมีรายงานสายพันธุ์มะเขือเทศจำนวนมากที่ค่อนข้างต้านทาน เช่น Rodade , Scorpio , Redlands , Summertaste , Redlander , Kewada , Rosita Caribo , Durable และ Shinburo โดยพันธุ์ดังกล่าวอาจจะต้านทานต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรียเฉพาะพื้นที่ที่ทำการทดสอบเท่านั้น เนื่องจากมีความแตกต่างกันใน strain ของเชื้อสาเหตุและสภาพแวดล้อม (Jone ,1991) ดังจะเห็นได้จากการทดลองของ Rao *et al.*(1975) ได้ทำการทดสอบมะเขือเทศจำนวน 23 พันธุ์ ที่มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว แต่พบว่ามีเพียง 1 พันธุ์ เท่านั้นที่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรียสาเหตุ ส่วนพันธุ์ Venus และ Saturn จาก North Carolina ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีรายงานว่าต้านทานต่อแบคทีเรียดังกล่าว เมื่อนำมาทดสอบกับแบคทีเรีย *P. solanacearum* ซึ่งแยกได้จากประเทศอินเดีย พบว่าอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้มะเขือเทศพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยวอาจจะไม่ประสบผลสำเร็จในทุกพื้นที่

Winstead and Kelman (1953) ได้เปรียบเทียบวิธีการปลูกเชื้อ *P. solanacearum* ในมะเขือเทศพันธุ์อ่อนแอ 3 กรรมวิธี คือ การราด inoculum การตัดปลายรากแช่ใน inoclum และ การฉีด inoculum เข้าบริเวณลำต้น พบว่าการฉีด inoculum เข้าที่ลำต้นมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงกว่ากรรมวิธีอื่น

AVRDC (1991) ได้เปรียบเทียบเทคนิคการปลูกแบคทีเรีย *P. solanacearum* ในมะเขือเทศ 3 พันธุ์ คือ L 285 , CL 143 และ L390 พบว่าการปลูกเชื้อโดยวิธีตัดใบมะเขือเทศด้วยกรรไกรที่จุ่ม

ใน suspension ของเชื้อสาเหตุ การทำแผลที่ตาใบด้วยไม้จิ้มฟันที่มีเชื้อสาเหตุ และการราด suspensionโดยการทำแผลที่รากและไม่ทำแผล ปริมาณ 30 มิลลิลิตรต่อต้น พบว่าทุกกรรมวิธีสามารถทำให้เกิดโรคแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธีการตัดใบมะเขือเทศด้วยกรรไกรมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวสูงกว่าวิธีการอื่นๆ และเมื่อเปรียบเทียบสายพันธุ์มะเขือเทศ ที่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของ *P. solanacearum* พบว่าพันธุ์ L 285 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวเฉลี่ย 42 % , พันธุ์ CL 143 44 % และพันธุ์ L 390 มี 96 % ซึ่งแสดงว่าพันธุ์ L 285 และพันธุ์CL 143 เป็นพันธุ์ที่ค่อนข้างต้านทานต่อโรคเหี่ยวในขณะที่พันธุ์ L 390 เป็นพันธุ์ที่อ่อนแอ

AVRDC (1994) ได้ทำการคัดเลือกสายพันธุ์มะเขือเทศ ที่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรีย *P. solanacearum* จำนวน 313 สายพันธุ์ โดยใช้ต้นกล้าอายุ 30 วันและปลูกเชื้อโดยวิธีการราด inoculum ของแบคทีเรีย จำนวน 30 มิลลิลิตรต่อต้น พบว่าสายพันธุ์ส่วนใหญ่ค่อนข้างอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *P. solanacearum* โดยพันธุ์ L1947 , L 3387 , L 141 , L 180 , L 159 , L 4237 , L 4422 , L 4445 , L 4449 , L 4450 , L 4451 , Fla 7421 , Ranti , Intan putih Magic MT - 1 , MT- 11 , TML 114-48-5-N spreding , TML 46-N-12-N-early N.T. , R 3034-3-10-N-UG และ F 7-80-465-10 pink มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเพียง 30 % ส่วนพันธุ์ L 180 TML 114-48-5-N-spreading TML 46-N-12-N early N.T. , R 3034-3-10-N-UG F 7-80-465-10-pink และ MT -11 เป็นพันธุ์ที่ค่อนข้างต้านทานต่อการเกิดโรคเหี่ยว โดยมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดสูงถึง 80 %

2. การปลูกพืชหมุนเวียน

วิธีการหนึ่งที่อาจนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวได้ คือการปลูกพืชหมุนเวียน มีรายงานผลงานที่ประสบผลสำเร็จในประเทศ Costarica โดยการปลูก ข้าวโพด มันฝรั่ง ถั่ว Kudzu ถั่วลันเตาและมะเขือเทศพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยว พบว่ามีความแตกต่างกันในการลดจำนวนประชากรของแบคทีเรียในดิน แต่บางครั้งการปลูกพืชหมุนเวียนก็ไม่สามารถลดจำนวนประชากรและการแพร่กระจายของเชื้อได้ เนื่องจากบริเวณนั้นมีวัชพืชที่เชื้อสาเหตุสามารถอาศัยอยู่ได้

3. การปรับปรุงดิน (Soil Amendment)

ในประเทศไต้หวันได้รายงานการใช้ S-H mixture ซึ่งเป็น Soil Amendment พบว่ามีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคในดิน และโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย *P. solanacearum* ใน

สภาพเรือนทดลอง โดยสามารถป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศเมื่อเติมลงไปในดินอัตรา 0.5 - 1 % (W / V) 7 วันก่อนย้ายปลูก

4. หลีกเลี่ยงช่วงที่มีการระบาดของโรค

วิธีการป้องกันการเกิดโรคอีกวิธีหนึ่ง คือการหลีกเลี่ยงช่วงที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคเหี่ยว โดยเฉพาะอย่างยิ่งสภาพที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคคือสภาพที่ดินมีอุณหภูมิและความชื้นสูง ดังนั้น ควรกำหนดระยะเวลาการปลูกพืชให้ไม่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรีย เช่น ในรัฐ Florida พบว่ามะเขือเทศ 5 พันธุ์ ไม่มีพันธุ์ใดที่แบคทีเรีย *P. solanacearum* เข้าทำลายได้หลังจากปลูกพืช ในวันที่ 30 พฤศจิกายน ของแต่ละปี

5 การป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมี

Enfinger *et al.* (1979) ได้รายงานความสามารถของสารเคมีที่ใช้ในการอบดินเพื่อฆ่าเชื้อ *P. solanacearum* ในแปลงมะเขือเทศ พบว่า สารเคมี Chloropicrin เมื่อใช้อบดินแล้วปิดด้วย polyethyline film สามารถป้องกันโรคเหี่ยวได้ตลอดฤดูปลูก และการใช้ methybromide สามารถป้องกันโรคเหี่ยวได้ถึงกลางฤดูปลูก ส่วนการใช้ PMDC (Potassium - N - hydroxymethyl - N - methyl - N - dithiocarbamate and sodium azide) สามารถป้องกันโรคเหี่ยวได้ในช่วงต้นฤดูปลูก เท่านั้นซึ่งคล้ายกับการใช้ formaldehyde

6. การป้องกันกำจัดแบบผสมผสาน

การรวมเอาวิธีการควบคุมโรคหลายวิธีที่กล่าวมาเข้าด้วยกัน เรียกว่าการป้องกันกำจัดแบบผสมผสาน เช่น ในประเทศญี่ปุ่นได้ทำการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจาก *P. solanacearum* biovar 2 (race 3) อย่างได้ผล โดยการใช้หลายวิธีร่วมกัน เช่น การอบดินด้วย Chloropicrin การใช้พันธุ์ต้านทาน การหลีกเลี่ยงการปลูกพืชในช่วงที่มีอุณหภูมิสูงซึ่งเหมาะสมต่อการเข้าทำลายพืชของแบคทีเรีย

7. การป้องกันกำจัดโดยชีววิธี

การป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธี เป็นทางเลือกหนึ่งที่นำมาใช้ในการควบคุมการแพร่ระบาดของโรค ซึ่งเป็นการเลียนแบบธรรมชาติ เนื่องจากปกติในธรรมชาติมีเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้านทานต่อเชื้อสาเหตุอยู่แล้ว แต่ในปัจจุบันปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคในธรรมชาติ มีจำนวนลดลงอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากมีการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคมากขึ้น ทำให้ไม่สามารถ

ควบคุมโรคได้ตามธรรมชาติ รวมทั้งได้ตระหนักถึงอันตรายที่เกิดจากการใช้สารเคมีที่มีผลต่อผู้ผลิต ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม (Cook and Baker , 1983) ดังนั้นจึงมีผู้หันมาสนใจใน การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีกันมากขึ้น โดยเริ่มมีการศึกษากันตั้งแต่ปี 1964 จนถึงปัจจุบัน จึงมีรายงานมากมายเกี่ยวกับการควบคุมโรคพืช โดยการนำเอาสิ่งมีชีวิตหรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นมาใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุของโรค ดังตารางที่ 1 ซึ่งเป็นรายงานการควบคุมโรคที่เกิดจากแบคทีเรียโดยชีววิธี ซึ่งหมายถึง การลดปริมาณเชื้อสาเหตุ (inoculum) หรือการลดกิจกรรมการเกิดโรคของเชื้อสาเหตุของโรค หรือปรสิต ที่อยู่ในระยะเจริญเติบโต หรือระยะพักตัว โดยการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งหรือมากกว่าเข้ามา15ช่วยในการป้องกันกำจัด โดยการจัดการกับสิ่งแวดล้อม พืชอาศัย และการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค (Baker , 1987)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโดยชีววิธี

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโดยชีววิธีมี 4 อย่างด้วยกัน คือ พืชอาศัย (host plant) เชื้อโรค (pathogen) สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ (physical environment) และ เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค (antagonist หรือ microantagonist) (Baker and Cook , 1974)

1. พืชอาศัย (host plant)

ในธรรมชาติพืชอาศัยเกี่ยวข้องอย่างมากต่อการควบคุมโรคโดยชีววิธี เนื่องจากมีส่วนช่วยควบคุมปริมาณเชื้อโรค โดยสารที่ปลดปล่อยออกมาจากรากพืช (plant exudate) มีคุณสมบัติเป็นสิ่งกระตุ้นและเป็นอาหารสำหรับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค รวมทั้งเชื้อโรคด้วย เช่นกัน ดังนั้นพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อโรค เมื่อมีเชื้อโรคเข้าทำลายจะเกิดอาการของโรคอย่างรุนแรง เว้นแต่ว่าในสภาพแวดล้อมนั้นมีเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคที่เหมาะสม ต่อการกำจัดโรคอยู่ แต่ถ้าพืชอาศัยมีความต้านทานโรค ถึงแม้ว่าจะมีเชื้อโรคเข้าทำลาย ก็อาจจะเกิดโรคเพียงเล็กน้อยหรือไม่เกิดเลย ไม่ว่าสภาพแวดล้อมจะเหมาะสมหรือไม่

2. เชื้อโรค หรือ ปรสิต (pathogen or parasite)

ปรสิต หมายถึง สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่อาศัยอยู่ในหรือบนสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง และได้รับอาหารพวกสารอินทรีย์จากสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น ทั้งนี้อาจเป็นหรืออาจจะไม่เป็นเชื้อโรคก็ได้ เชื้อโรค หมายถึง สิ่งมีชีวิตที่เข้าทำลายพืชอาศัยแล้วมีผลต่อการแสดงอาการผิดปกติต่างๆที่เกิดกับพืชได้ ซึ่งเชื้อโรคมีทั้งสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรครุนแรง (virulent strains) และสายพันธุ์ที่ไม่รุนแรง

(avirulent strains) ดังนั้นการเกิดโรคขึ้นอยู่กับว่าสายพันธุ์ใดที่เข้าทำลาย เชื้อโรคส่วนมากเข้าสู่พืชอาศัยและเจริญอยู่ในพืชก่อนที่พืชจะแสดงอาการ ฉะนั้นการที่จะป้องกันเชื้อโรคดังกล่าวได้ โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคนั้น จะต้องใช้ก่อนที่พืชจะ ได้รับเชื้อสาเหตุ ซึ่งในการควบคุมโรคโดยชีววิธีสามารถใช้สายพันธุ์ที่ไม่รุนแรงต่อการเกิดโรคมาควบคุม ก่อนที่จะมีเชื้อสาเหตุของโรคที่รุนแรงเข้าทำลาย จึงเป็นการป้องกันกำจัดที่ได้ผลอีกวิธีหนึ่ง

3. สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ (physical environment)

สิ่งแวดล้อมเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีบทบาทต่อการควบคุมโรคโดยชีววิธี เนื่องจากสภาพแวดล้อมทางกายภาพ เช่น ระดับน้ำในดิน ระดับการระบายอากาศในดิน ศักยภาพของน้ำ (water potential) และระดับความเข้มข้นของก๊าซที่แตกต่างกัน รวมทั้งสิ่งต่างๆที่ละลายอยู่ในดิน มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้น ดินจึงจัดเป็นสิ่งแวดล้อมที่สำคัญอย่างหนึ่ง โดยเฉพาะเมื่อมีเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆอาศัยอยู่ จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า เชื้อสาเหตุของโรคในดิน สามารถควบคุมได้ด้วยการนำจุลินทรีย์ต่อต้านโรคใส่ลงในดินโดยตรง หรือผสมกับวัสดุปลูกต่างๆ จุลินทรีย์ต่อต้านโรคดังกล่าว เข้าไปมีบทบาทและช่วยในการจัดการเกี่ยวกับกิจกรรมและปฏิกริยาต่างๆในดิน และอาศัยในบริเวณรากพืชทำให้ดินนั้นมีคุณสมบัติในการกำจัดเชื้อโรค (suppressive soil)

4. จุลินทรีย์ต่อต้านโรค (antagonist)

เชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการต่อต้านโรคนั้น จะต้องมีความสามารถในการเข้าทำลาย หรือเจริญครอบคลุมเชื้อสาเหตุโรคพืช และมีความสามารถในการเจริญเติบโตได้ในบริเวณรากพืช (Baker and Cook , 1974) ปัจจุบันพบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคจำนวนมาก ที่มีคุณสมบัติในการเป็น biocontrol agent เช่น *Actinoplanes* , *Agrobacterium* , *Alcaligecus Amorphosporangium* , *Arthrobacter* , *Azotobacter* , *Bacillus* , *Cellulomonas* , *Enterobacter* , *Erwinia* , *Flavobacterium* , *Hafnia* , *Micromonospora* , *Pseudomonas* , *Pasteuria* , *Rhizobium* , *Streptomyces* และ *Xanthomonas* (Weller , 1988)

Kelman ในปี 1953 อ้างโดย Aspirus and Cruz (1985) ได้รายงานว่า มีเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด ที่มีคุณสมบัติในการเป็นเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค ที่สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. solanacearum* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคพืช เช่น *Bacillus mesentericus* , *B. megaterium* , *B subtilis* , *B. prodigisus* , *B. mycoides* , *B. proteus* , *Pseudomonas fluorescens* , *P. glumae* , *P. cepacia* , *Azotobacter chrococcum* , *Erwinia aroideae* , *Aspergillus oryzae* *Actinomyces colifornicus* และ *A . violaceus - ruber* (Trigalet *et al.* , 1990)

Kempe and Sequeira (1983)ได้ศึกษาความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค ในการป้องกันการเข้าทำลายของแบคทีเรีย *P. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในมันฝรั่งพันธุ์ Ontario โดยใช้ avirulent strain B 82 ของ *P. solanacearum* , *P. fluorescens* strain W 16 และ strain WP 95 , *P. syringae pv. glycenea* strain S 9 - 4 และ *P. syringae pv. lachrymans* strain PHN 214 - 6 ชุบท่อนพันธุ์ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคดังกล่าว พบว่าสามารถลดอัตราการเกิดโรคได้เมื่อทำการปลูกเชื้อด้วยแบคทีเรีย *P. solanacearum* ที่เป็น virulent strain strain 276 โดยแช่รากใน inoculum เมื่อต้นกล้ามันฝรั่งมีความสูงประมาณ 20 - 30 เซนติเมตร

Klopper *et al.* (1980) รายงานว่าแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* (Trevisan) Migula สายพันธุ์ B 10 และ *P. putida* (Trevisan) Migula ที่แยกได้จากมันฝรั่ง สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* ที่เป็นสาเหตุของโรคเน่าและในมันฝรั่งได้ ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง โดยเชื้อดังกล่าวสามารถขับสาร fluorescent siderophore " pseudobactin " ออกมาจับยึดธาตุเหล็กไว้ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ รวมทั้งแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* ไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ได้ จึงช่วยให้ลดจำนวนประชากรของเชื้อสาเหตุลงได้ถึง 15 - 100 % และ 28 - 95 % ตามลำดับ

Colyer and Mount (1984) ได้รายงานถึงประสิทธิภาพของสาร fluorescent siderophore " pseudobactin " ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Pseudomonas putida* strain (M 17) ว่าสามารถลดอัตราการเกิดโรคเน่าและของมันฝรั่ง ได้ 6.8 - 18.2 % เมื่อชุบท่อนพันธุ์ใน suspension ของเชื้อดังกล่าวก่อนนำไปปลูกเชื้อสาเหตุ

Ling ในปี 1977 อ้างโดย Aspirus and de la Cruz (1985) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 106 isolates ซึ่งเป็นเชื้อรา แบคทีเรีย และ Actinomyces ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P. solanacearum* พบว่ามีเพียง 13 isolates ที่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียดังกล่าว ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ ในจำนวนดังกล่าวได้คัดเลือกเชื้อรา 3 ชนิดและแบคทีเรีย 1 ชนิด มาทดสอบกับต้นกล้ามะเขือเทศ พบว่าเชื้อราทั้ง 3 ชนิดไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคดังกล่าวได้ แต่พบว่า *Bacillus sp.* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P. solanacearum* ได้ดี โดยสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลงตั้งแต่ 46 ถึง 70 %

Aspirus and de la Cruz (1985) ได้รายงานความสามารถของ *Bacillus polymyxa* FU6 และ *Pseudomonas fluorescens* ในการยับยั้งการเข้าทำลายของ *P. solanacearum* ที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ Yellow Plum ซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคเหี่ยว โดยจะแสดงอาการเหี่ยวหลังจากปลูกเชื้อ 4 วัน แต่เมื่อได้รับเชื้อ *B. polymyxa* FU6 หรือ *P. fluorescens* 5 วัน

ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ ต้นมันฝรั่งจะมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดสูงถึง 60 และ 90 % ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ VC - 11 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอปานกลาง ต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุแสดงอาการเหี่ยวหลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดสูงถึง 90 และ97 % เมื่อได้รับ *B. polymyxa* FU6 และ *P. fluorescens* ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุของโรค

Xu and Gross (1983) ได้แยกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *atroceptica* ที่เป็นสาเหตุของโรค เน่าและ ของมันฝรั่ง จากส่วนต่างๆ เช่น หัว ลำต้น ราก และดินในแหล่งปลูก โดยวิธี Dilution plate บนอาหาร King' s medium B ที่อุณหภูมิ 24 ^{0} C นาน 48 ชม. จากนั้นนำ suspension ของเชื้อสาเหตุที่ความเข้มข้น 10 ^{8} cfu/ml เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าจานอาหารดังกล่าว เพื่อคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคที่มีประสิทธิภาพ พบแบคทีเรียในกลุ่ม fluorescent pseudomonads จำนวน 293 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพ โดยมีความกว้างของ clear zone เฉลี่ยประมาณ 1.33 ซม. และเมื่อนำมาทดสอบในสภาพเรือนทดลอง พบว่าสามารถควบคุมโรคเน่าและได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับในสภาพแปลงปลูก ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อนำแบคทีเรียดังกล่าวมาจัดจำแนกชนิด พบว่าเป็น *Pseudomonas putida* และ *P. fluorescens*

Cilino and Gettlieb (1952) รายงานความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค *Bacillus polymyxa* B_3 A ที่ผสมลงในดินที่มี *P. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พบว่าสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลงเหลือเพียง 33 % เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมะเขือเทศที่ปลูกแบคทีเรีย *P. solanacearum* เพียงอย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 70 %

Shekhwat *et al.* (1992) ได้รายงานว่ามีจุลินทรีย์ต่อต้านโรคหลายชนิด เช่น *Bacillus sp.* , *B. subtilis* และ Actinomyces ที่แยกได้จากบริเวณรากมันฝรั่ง และ *Pseudomonas fluorescens* ที่แยกได้จากบริเวณรากส้ม มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ*P. solanacearum* ที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวในมันฝรั่ง โดย *Bacillus sp.* strain S1 สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวได้ถึง 71 % ในสภาพเรือนทดลอง และในสภาพแปลงปลูก เชื้อ *Bacillus sp.* strain S1 , S4 , BSN 1 และ BSN 2 สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ 52 % , 62 % , 79 % และ 79 % ตามลำดับ และยังสามารถเพิ่มผลผลิตได้ตั้งแต่ 19 ถึง 90 % ส่วน *P. fluorescens* strain PF 1 และ PF 2 สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในสภาพเรือนทดลอง 43 % และ 51 % ตามลำดับ และลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในสภาพแปลงปลูกได้ 63 % และ 75 % ตามลำดับ เชื้อ Actinomyces สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ถึง 79 % ในสภาพแปลงปลูก ส่วนเชื้อ *B. subtilis* strain BS2 และ BS3 ไม่สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวได้ทั้งในสภาพเรือนทดลองและในสภาพแปลงปลูก แต่

สามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตได้มากกว่า 100 % ในสภาพเรือนทดลองและ 28 - 32 % ในสภาพแปลงปลูก

Hsu *et al.* (1992)ได้ศึกษาความสามารถของ *Pseudomonas fluorescens* ที่แยกได้จากรากมะเขือเทศ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P. solanacearum* และได้ทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ในสภาพเรือนทดลองพบว่า การแช่รากมะเขือเทศพันธุ์ Known You 301 ใน suspension ของเชื้อ *P. fluorescens* 4 strains คือ D-4 , T-9 , G-14 และ G-59 ความเข้มข้น 10^{8} cfu/ ml นาน 30 นาที ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุของโรค สามารถลดอัตราการเกิดโรคลงถึง 50 - 70 % เมื่อเปรียบเทียบกับมะเขือเทศที่ได้รับเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว

Misaghi *et al.* (1992) ได้ทดสอบความสามารถของแบคทีเรียที่เจริญอยู่บริเวณรอบๆรากพืช จำนวน 65 isolates พบว่ามี 10 isolates ที่มีความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวในมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *P. solanacearum* ได้ หลังจากนั้นนำไปจัดจำแนกชนิดได้เป็น *Bacillus sp.* , *Pseudomnas fluorescens* และ *P. putida*

Hartman *et al.* (1992) ได้รายงานความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 3 ชนิด คือ *Pseudomonas cepacia* , *P. fluorescens* และ *P. gladioli* ว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. solanacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ ส่วนในสภาพเรือนทดลอง พบว่าเมื่อนำ suspension ของแบคทีเรีย *P. cepacia* ไปราดลงดิน 7 วัน ก่อนทำการปลูกเชื้อสาเหตุ สามารถลดเปอร์เซนต์การเกิดโรคได้ถึง 65 % เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค

สุภกิจ (2536) ได้ทดสอบความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ NA 1 ที่แยกได้จากบริเวณรากของมะเขือเทศ ที่แสดงอาการเหี่ยว ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P. solanacearum* สายพันธุ์ SR 21 ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่า *P. fluorescens* สายพันธุ์ NA 1สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. solanacearum* สายพันธุ์ SR 21 ได้โดยเกิด clear zone ขนาด 3.05 , 1.93 , 1.21 และ 0.91 เซนติเมตร เมื่อใช้เชื้อ *P. fluorescens* สายพันธุ์ NA 1 ที่ความเข้มข้น 10^{8} , 10^{6} , 10^{4} และ 10^{3} cfu / ml ตามลำดับ ส่วนการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง เมื่อใช้ *P. fluorescens* สายพันธุ์ NA 1 ร่วมกับเชื้อสาเหตุสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ *P. fluorescens* สายพันธุ์ NA 1 ร่วมกับสารเคมี Dexan และการใช้สารเคมี Dexan เพียงอย่างเดียว ในมะเขือเทศพันธุ์อ่อนแอ (L 390) และในสภาพแปลงปลูก เมื่อทำการแช่รากมะเขือเทศ พันธุ์ L 390 ใน suspension ของ *P. fluorescens* สายพันธุ์ NA 1 ก่อนการย้ายปลูกลงแปลงที่มีเชื้อสาเหตุ พบว่า ช่วยให้มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของมะเขือเทศเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ได้รับเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว

ปัจจุบันมีการยอมรับเรื่องการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *P. solanacearum* มากขึ้น ซึ่งรวมทั้งการใช้แบคทีเรียที่ผ่าเหล่า ของ gene Hrp ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมความสามารถของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค ไม่ให้แสดงอาการของโรคได้ Frey *et al.* (1994) ได้รายงานการใช้ *P. solanacearum* 3 strain จาก Guadeloupe ซึ่งได้ผ่านการทำให้หมดความสามารถในการเกิดโรค โดยการสอดแทรก omega - km - interposon ใน Hrp gene แล้วนำไปทดสอบความสามารถในการควบคุมโรค โดยการปลูกเชื้อดังกล่าว ในสภาพเรือนทดลอง เปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อ *P. solanacearum* ที่ทำให้เกิดโรค พบว่า *P. solanacearum* ที่เป็นเชื้อสาเหตุของโรค สามารถแพร่กระจายไปได้ทั่วทุกส่วนของพืชในขณะที่ *P. solanacearum* ที่เกิดการผ่าเหล่ามีการแพร่กระจายอยู่เฉพาะบริเวณรากพืชและโคนต้นเท่านั้น จึงทำให้อัตราการเกิดโรคเหี่ยวลดลง

เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคในกลุ่มของ fluorescent pseudomonads เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้าง pigment สีเขียวอมเหลืองเมื่อส่องดูด้วยแสง UV เชื้อนี้ยังมีความสามารถในการสร้างสาร Siderophore ที่มีคุณสมบัติในการดูดยึดธาตุเหล็กเอาไว้ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ไม่สามารถนำไปใช้ได้ (Kloepper , 1991) และยังสามารถผลิตสาร secondary metabolites ซึ่งเป็นสารที่มีความสามารถในการเจริญครอบคลุมได้ดีบริเวณรากพืช รวมทั้งยังสามารถป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อราได้ด้วยเช่น *Pseudomonas fluorescens* ที่แยกได้จากบริเวณรากฝ้าย สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ที่เป็นสาเหตุของโรค Damping off ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดย *P. fluorescens* ผลิตสาร antibioticที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา คือ pyrrolnitrin (3-chlo-4- (2′- nitro -3′- chlorophenyl) - pyrrole) (Huwell and Stipannovic , 1977) นอกจากนี้ *P. fluorescens* ยังสามารถควบคุมเชื้อรา *Thielaviopsis brassicola* , *Alternaria sp.* *Verticillium clabliae* , *Stemphylium vesicarium* (Monitesinos *et al* , 1996) , *Pytium ultimum* (Arndt and Buchenauer , 1998 ; Leong , 1986 ; Weller , 1988) และ *Rhizoctonia solani* (Kataria , 1997)

Fravel and Spurr (1971) ได้ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค จากใบยาสูบ พบแบคทีเรีย ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternata* ที่เป็นสาเหตุของโรคใบจุดสีน้ำตาล 1 ชนิด คือ เชื้อ *Bacillus cereus* subsp. *mycoides* ที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ถึง 88 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

AVRDC (1994) ได้รายงานความสามารถของแบคทีเรีย 7 ไอโซเลท คือ *Bacillis subtilis* strain DP 2 และ HP 2 , *Pseudomonas cepacia* strain PC23 , PC29 , A009 และ A090 และ *P. aeruginosa* ที่แยกได้จากดินในแปลง ปลูกมะเขือเทศ โดยวิธี Dilution Plate ที่ความเข้มข้น 10^{4} บนอาหาร PDA และเมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium*

oxysporum f.sp. *lycopersici* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้ทั้ง 7 ไอโซเลท รวมทั้งเมื่อนำมาทดสอบในสภาพเรือนทดลอง โดยวิธีการ แช่ราก แช่เมล็ด และการราด suspension ของเชื้อทั้ง 7 ไอโซเลท ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ พบว่าแบคทีเรียทั้ง 7 ไอโซเลท สามารถชะลอการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศลงได้ ในกรรมวิธีการแช่ราก ส่วนกรรมวิธีการราดนั้น สามารถชะลอการเกิดโรคได้เฉพาะการใช้เชื้อ *B. subtilis* strain DP 2 และ HP 2 *Pseudomonas cepacia* strain PC23 และ PC29 เท่านั้น ส่วนการแช่เมล็ดไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้

แบคทีเรียในกลุ่ม fluorescent pseudomonads เป็นเชื้อจุลินทรีย์ ที่มีความสามารถในการเจริญครอบคลุมบริเวณรากพืชได้ดี Burr *et al.* (1978) ได้รายงานว่าแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* และ *P. putida* เมื่อนำไปใช้กับเมล็ดพันธุ์ สามารถช่วยในการเจริญเติบโตของมันฝรั่ง , sugar beet และ แรดิส ได้ดี Schroth and Hancock (1982) ได้รายงานข้อมูลที่สอดคล้องกันคือ แบคทีเรียในกลุ่ม fluorescent pseudomonads เมื่อนำไปใช้ในการปลูกพืชจะช่วยในการเพิ่มผลผลิตของมันฝรั่งได้ตั้งแต่ 5 ถึง 33 % , sugar beet 4 - 8 ตันต่อ hectare และ แรดิส เพิ่ม 60 - 144 % ดังนั้นจึงมีผู้ตั้งชื่อแบคทีเรียชนิดนี้ และแบคทีเรียที่มีลักษณะใกล้เคียงกันว่า Planth Growth - Promoting Rhizosphere (PGPR) เนื่องจากมีความสามารถในการเจริญครอบคลุมบริเวณรากพืช และช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดี

Bacillus spp. หลาย strain ที่มีคุณสมบัติในการเป็นจุลินทรีย์ต่อต้านโรคพืช เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้ สามารถผลิต endospores ที่ทนต่อความร้อนและความแห้งแล้งได้ เช่น *Bacillus subtilis* A 13 ซึ่งแยกได้จากเส้นใยของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุของโรคหลายชนิดและมีความสามารถในการเจริญครอบคลุมบริเวณรากพืช ทั้งในสภาพแปลงปลูกและสภาพห้องปฏิบัติการ นอกจากนั้นแบคทีเรีย ชนิดนี้ยังช่วยในการเพิ่มผลผลิตของ แครอท ได้ 48 % , ข้าวโอ๊ต 33 % และถั่ว 37 % (Broadbent *et al.* , 1977) ในปี 1983 ได้มีการผลิตแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strain A 13 ขึ้น ในรูปการค้ามีชื่อว่า QUANTUM - 4000

Baker and Cook (1974) ได้กล่าวว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการเป็นเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคนั้น จะต้องมีคุณสมบัติในการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุและสามารถเจริญเติบโตได้ดีในบริเวณรอบๆรากพืช เช่นเดียวกับเชื้อสาเหตุ ดังนั้นในการควบคุมแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชโดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคมีกลไกในการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุ 3 ขบวนการด้วยกัน คือ

1. การสร้างสาร Anti - microbial (Antibiosis)

การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง เป็นกระบวนการที่เกิดจากการใช้สารที่สร้างขึ้นจากสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง ซึ่งสารดังกล่าวมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตและอาจจะมีผลในการทำให้เชื้อโรคตายได้ (Fravel , 1988 ; Jone , 1993) โดยสารที่เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคผลิตขึ้นมี 3 ชนิดคือ

1.1 Antibiotics

สารประกอบอินทรีย์ที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตขึ้นชนิดหนึ่งคือ ปฏิชีวนะสาร (antibiotic) โดยเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช หรือระงับกิจกรรมของเชื้อสาเหตุชนิดนั้นๆ สาร antibiotic แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันขึ้นกับ สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิต องค์ประกอบของสาร คุณสมบัติทางเคมี และสภาพอาหารที่ใช้เลี้ยง Winkelman *et al.* (1980) รายงานว่า *Erwinia herbicolar* , Streptomyces และ *Bacillus* สามารถสร้างสาร peptide antibiotic ซึ่งเป็น cyclic compound ที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ peptidase และ protease นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้แบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* strain 2- 79 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุของโรค take - all ของข้าวสาลี โดย *P. fluorescens* strain 2 -79 สามารถผลิตสาร phenazines antibiotic ซึ่งเป็น dimer ของ phenazine - 1 - carboxylate นอกจากนี้ Rothroch and Gottlieb (1989) ยังได้รายงานไว้ว่าแบคทีเรีย *Streptomyces hygrascopicus* var *geldanus* สามารถผลิตสาร geldanamycin antibiotic ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ที่ทำให้เกิดโรครากเน่า ของถั่ว ในสภาพเรือนทดลอง

1.2 Bacteriocin

bacteriocin เป็นสารที่เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคพืชหรือเชื้อสาเหตุของโรคผลิตขึ้น ซึ่งเป็นสารที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ bacteriocin จะมีลักษณะคล้าย antibiotic แต่สามารถแยกความแตกต่างออกจากกันได้โดยดูจาก องค์ประกอบของสาร สารชนิดนี้มีความเฉพาะเจาะจงใน

การเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชมากกว่า antibiotic แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างสาร bacteriocinได้เช่น *Erwinia* , *Corynebacterium* และ *Pseudomonas* Vidaver (1976) ได้จัดจำแนก bacteriocin ออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและ sensitive ต่อ trypsin กับ กลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและต้านทานต่อ trypsin ในปี ค.ศ. 1985 Vidavar อ้างโดย Sigee (1993)ได้อธิบายกลไกในการเข้าทำลายของสาร bacteriocin ต่อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ว่าสารชนิดนี้มีลักษณะคล้ายไวรัส และสามารถเกาะจับกับโปรตีนในตำแหน่งที่เฉพาะเจาะจง (specific binding protein) ภายใน periplasmic ของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ซึ่งมีผลทำให้เซลล์ของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชเกิดความผิดปกติในการสังเคราะห์โปรตีน ความผิดปกติของ DNA มี bacteriocin จำนวนมากที่ผลิตขึ้นโดยแบคทีเรียชนิดต่างๆ เช่น *Agrobacterium* species ผลิต agrocin , syringcin ผลิตจาก *Pseudomonas syringae* และ Corynecin ผลิตจาก *Corynrbacterium* specie

1.3 Siderophore

Sderophore เป็นสารอินทรีย์ที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้ มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เป็นสารที่มีความสามารถในการรวมกับอะตอมของเหล็กได้ (ferric ion) โดยขนส่งเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย เมื่อแบคทีเรียเจริญในสภาพที่มีเหล็กต่ำ fluorescent peudomonas ผลิต siderophore pigment สีเขียวอมเหลือง เข้าไปจับกับอะตอมของเหล็กเป็น Siderophore - iron complex เข้าสู่เซลล์ ทำให้สามารถแข่งขันกับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆได้ และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืช (Hsu *et al,* 1992 . : Sigee , 1993) เช่น *Pseudomonas fluorescens* และ *P. putida* ที่มีความสามารถในการผลิตสารชนิดนี้ได้มากในบริเวณรากพืช ซึ่งสารดังกล่าวเป็นพวก Pyoverdines และ Pseudobactin ตามลำดับ ซึ่งเป็นสารที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี และแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว

2. การแก่งแย่งแข่งขันซึ่งกันและกัน (Competition)

เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคพืชมีความสามารถ ในการอาศัยอยู่ในพื้นที่และสภาพแวดล้อมที่เหมือนกับเชื้อสาเหตุ จึงมีการแข่งขันกันในการครอบครองพื้นที่และอาหาร ได้ทดลองนำเอาเชื้อสายพันธุ์ที่ไม่รุนแรง ในการทำให้เกิดโรคเป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้ มีความแตกต่างกับเชื้อสาเหตุของโรคตรงยีนที่ทำให้เกิดโรคเท่านั้น Trigalet

Trigalet-Deneg (1990) ได้ทดสอบวิธีการชักนำให้แบคทีเรีย *P. solanacearum* กลายพันธุ์โดยการใช้ Transponsable element ใน gene Hrp (Tn 5) มาควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ โดยการปลูกเชื้อสายพันธุ์รุนแรงภายหลังจากการปลูกเชื้อสายพันธุ์ไม่ รุนแรง 1 และ 8 วัน โดยอัตราในการใช้สายพันธุ์ที่รุนแรงเท่ากันหรือน้อยกว่าสายพันธุ์ที่ไม่รุนแรง พบว่าสามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. การเป็นปรสิตกับเชื้อสาเหตุของโรค

Bacteriophage เป็นไวรัสที่มีความสามารถในการเข้าทำลายแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชได้ และมีการเพิ่มปริมาณภายในเชื้อสาเหตุ รวมทั้งสามารถใช้องค์ประกอบภายในเซลล์และขบวนการทางชีวเคมีของเชื้อสาเหตุได้ โดย Bacteriophage แต่ละชนิดจะมีความเฉพาะเจาะจงต่อ host ได้มีรายงานการใช้ Bacteriophage ในการควบคุมการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. solanacearum* และพบว่าสามารถนำมาใช้ในการป้องกันโรคเหี่ยวได้ (Wall and Shanchez , 1992)

ขั้นตอนการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค (Baker and Cook , 1974)

ในการสุ่มคัดเลือกพื้นที่ที่คาดว่าจะมีเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคพืชนั้น มีหลักการอยู่ว่าควรเลือกพื้นที่ที่มีเชื้อสาเหตุของโรคแต่ไม่ปรากฏอาการของโรค หรือพบแต่พบน้อย หรือไม่มีการพัฒนาการเกิดโรคทั้งๆที่พืชอาศัยอ่อนแอต่อการเกิดโรค มากกว่าบริเวณที่มีโรคปรากฏ ถึงแม้ว่าจะเป็นการยากที่จะค้นพบเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค แต่ก็อาจจะค้นพบเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในพื้นที่ที่คาดไม่ถึงก็ได้ ในพื้นที่ที่คาดคะเนว่าน่าจะพบเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค มีวิธีในการสุ่มคัดเลือกตัวอย่างดินดังนี้

1. เก็บตัวอย่างดินในช่วงที่เหมาะสมต่อ เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคมีประสิทธิภาพต่อการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุ ในกรณีที่พบว่า แบคทีเรีย และ Actinomyces เป็นจุลินทรีย์ต่อต้านโรคที่มีประสิทธิภาพ การเก็บดินควรเก็บในช่วงที่อากาศมีความชื้นสูงและอุณหภูมิค่อนข้างอบอุ่น ถ้าเก็บในช่วงที่สภาพอากาศร้อนเชื้อจุลินทรีย์อาจจะอยู่ในระยะพักตัวและอาจจะมีปริมาณน้อย
2. ความลึกของดินในการเก็บตัวอย่าง ควรลึกประมาณ 5 - 15 เซนติเมตร ตรงบริเวณรอบๆรากพืช

3. การเก็บดินควรเก็บบริเวณรอบๆรากพืชมากกว่าบริเวณอื่นๆ หรือรอบๆเมล็ดพันธุ์ที่หว่านลงไป หรือดินที่อยู่ต่ำกว่าบริเวณโคนต้น

ในสภาพพื้นที่ที่ต้องการแยกและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค มีขั้นตอนที่ Cook and Baker (1974)แนะนำไว้ดังนี้

1. แยกเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ ที่มีสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน
2. ทดสอบความสามารถขั้นต้นของเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้ ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ
3. ทดสอบความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ที่คาดว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุจากข้อ 2 ในสภาพเรือนทดลอง
4. ทดสอบความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ที่คาดว่ามีประสิทธิภาพ ในการควบคุมเชื้อสาเหตุจากข้อ 3 ในสภาพแปลงปลูก

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตาราง 1 ชนิดเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุของโรค*

เชื้อสาเหตุของโรค	เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค
1.. *Agrobacterium tumefaciens*	*Agrobacterium radiobacter* strain K 84
	strain K 1026
2. *Xanthomonas campestris* pv. *graminis*	*Erwinia herbicola*
	Pseudomonas fluorescens
3. *Pseudomonas syringae* pv. *papulans*	Fluorescent pseudomonads
4. *Erwinia amylovola*	*Erwinia herbicola*
	Pseudomonas syringae
5. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*	*Erwinia carotovora* subsp *tetravasculorum*
	Bdellovibrio sp.
6.*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* & *atroseptica*	*Pseudomonas fluorescens*
7. *Pseudomonas solanacearum*	*Pseudomonas fluorescens*
	Pseudomonas glumae
	Pseudomonas cepacia
	Bacillus sp.
	Erwinia sp.
	vilulent mutant of *P. solanacearum*

* Sigee D.C. . Bacterial P;ant Pathology Cell and Molecular Aspects. Britain University Press England. London. 1992.