บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างมันฝรั่งที่เป็นโรคใบไหม้ ในแปลง เพาะปลูกของเกษตรกร เขต จ.เชียงใหม่ และตาก ซึ่งเป็นแหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทย พบว่าเกษตรกรของทั้งสองจังหวัดปลูกมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติค (Atlantic) ซึ่ง เป็นพันธุ์ที่เหมาะสำหรับนำไปแปรรูปเป็นมันฝรั่งทอดแผ่นบาง (potato chip) มันฝรั่งพันธุ์นี้มีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 100- 200 วัน เนื้อสีขาวครีม และให้ผลผลิตสูง คุณภาพในการแปรรูปดี (มาโนช, 2541) เกษตรกรปลูกเพื่อส่งขายให้กับโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปมันฝรั่งทอดกรอบ (บริษัท ฟริโต้-เลย์ ประเทศไทยจำกัด) จากการสอบถามเกี่ยวกับการเพาะปลูกมันฝรั่งจากเกษตรกรนั้น พบว่า การผลิตหัวมันฝรั่งยังไม่ประสบความสำเร็จมากเท่าที่ควรทั้งนี้เนื่องจากมีปัญหาเรื่องโรคและแมลง โดยเฉพาะโรคใบไหม้ซึ่งเป็นโรคที่นำความเสียหายให้กับมันฝรั่งได้มากที่สุด หากมันฝรั่งเริ่มแสดงอาการของโรคในช่วงที่มีสภาพอากาศชื้นหนาวเย็นหรือช่วงที่ฝนตก ภายในระยะเวลา 3-4 วันหลังจากการเริ่มแสดงอาการ โรคจะแพร่ระบาดทั่วทั้งแปลงปลูก ทำให้เกิดความเสียหายเป็นอย่างมาก โรคนี้สามารถเกิดได้กับทุกส่วนของมันฝรั่ง ถ้าหากอาการของโรครุนแรงจะทำให้ต้นแห้งตาย หัวมันเน่า จึงทำให้ไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ จากการสำรวจโรคใบไหม้ในหลายพื้นที่เพาะปลูกเขต จ.เชียงใหม่ และตาก พบว่าโรคใบไหม้มีการระบาดไม่มาก อาจเป็นเพราะสองสาเหตุหลัก คือ สาเหตุแรกอาจมาจากในช่วงที่ทำการสำรวจนั้นสภาพอากาศค่อนข้างหนาวเย็นในช่วงเช้าแต่ความชื้นสัมพันธ์ไม่สูง จึงทำให้ไม่ค่อยพบการระบาดของโรค ซึ่งโดยปกติแล้วโรคนี้มักระบาดได้ดีในช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำและความชื้นสูง (นุชนารถ, 2537; Erwin and Ribeiro, 1996) เนื่องจากสภาพดังกล่าวเหมาะต่อการสร้าง sporangia ของเชื้อ *P. infestans* (Cox and Large,1960) ส่วนอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้โรคระบาดไม่มากก็คือ เกษตรกรหมั่นสำรวจแปลงปลูกอย่างสม่ำเสมอซึ่งถ้าหากสำรวจพบว่ามันฝรั่งเริ่มเป็นโรคก็จะใช้แรงงานคนในการตัดแต่งกิ่งหรือใบที่เป็นโรคนำไปเผาทำลายทันที ซึ่งก็เป็นการป้องกันการระบาดโรคใบไหม้อีกวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและเกษตรกรผู้ปลูกมันฝรั่งนิยมปฏิบัติกัน อย่างไรก็ตามได้พบการระบาดของโรคในพื้นที่เพาะปลูกมันฝรั่งบางพื้นที่ ซึ่งมีระบบการการให้น้ำที่เอื้อต่อการแพร่กระจายของโรค กล่าวคือ ในเขต จ.เชียงใหม่ เกษตรกรได้ปลูกมันฝรั่งแบบยกร่องและให้น้ำแบบปล่อยน้ำเข้าแปลง (furrow) การให้น้ำในรูปแบบนี้ทำให้เกิดน้ำขังในแปลงปลูกเป็นเวลานาน ส่งผลให้ในแปลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ปลูกมีความชื้นสูง จึงมีส่วนส่งเสริมการระบาดของโรค สำหรับในเขต จ.ตาก เกษตรกรให้น้ำแบบสปริงเกอร์โดยสังเกตเห็นว่าฝอยน้ำจากสปริงเกอร์นั้นเปรียบเสมือนละอองหมอกและโดยส่วนมากเกษตรกรให้น้ำแก่มันฝรั่งในช่วงเช้า ซึ่งเป็นช่วงที่สภาพอากาศค่อนข้างหนาวเย็น จึงเป็นสภาพที่เหมาะแก่การแพร่ระบาดของโรค การแยกเชื้อ *P. infestans*

จากใบมันฝรั่งที่เป็นโรคใบไหม้นั้นทำโดยการนำตัวอย่างใบมันฝรั่งที่เป็นโรคไปบ่มไว้ที่มืด อุณหภูมิ 18-22 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์สูง ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมสำหรับการสร้าง sporangium ของเชื้อขึ้นมาใหม่ เนื่องจากในการขนย้ายตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติการต้องใช้เวลานาน ในระหว่างนี้การพัฒนาของโรคที่ใบอาจหยุดลง โดยจะไม่มีการสร้างเส้นใย และ sporangium ของเชื้อบริเวณใต้ใบ แต่ถ้านำใบพืชมาบ่มไว้ในสภาพดังกล่าวแล้วเชื้อจะมีการสร้างเส้นใยและ sporangium บริเวณใต้ใบปรากฏให้เห็นอีกครั้งหนึ่ง หลังจากนั้นจึงย้าย sporangia จากใบพืชลงบนอาหาร Rye A ที่ผสมสารปฏิชีวนะและสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป ดังเช่นจากรายงานของนุชนารถ (2537) พบว่า การแยกเชื้อ *P. infestans* ทำได้โดยใช้ selective medium ที่มีส่วนผสมของสารปฏิชีวนะ pimaricin หรือใช้สาร pentachloronitrobenzene (PCNB) นอกจากนี้ยังมีการแยกเชื้อดังกล่าวโดยใช้ อาหาร Rye B ที่ผสม nystatin และ sodium ampicillin (Hermansen *et al*., 2000; Kato *et al*., 1997) และอาหาร Rye A ที่เติม rifamycin ampicillin และ nystatin (Griffith and Shaw, 1998; Day *et al*., 2002; Cooke *et al*., 2003) โดยปกติแล้วการแยกเชื้อ *P. infestans* นี้ต้องอาศัยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสม สารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งหรือช่วยลดอัตราการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย หรือเชื้อราที่เจริญขึ้นมาปนเปื้อนกับเชื้อสาเหตุของโรค เพราะว่าเชื้อ *P. infestans* มีการเจริญเติบโตที่ช้า ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของกมลศิริ (2546) ได้กล่าวไว้ว่า ในการแยกเชื้อ *P. infestans* ต้องใช้เวลานาน บางครั้งอาจต้องใช้เวลานานถึง 1 เดือน จึงจะปรากฏการเจริญของเชื้อให้เห็น จากการเก็บตัวอย่าง ในช่วงปี พ.ศ. 2552-2552 นี้ สามารถแยกเชื้อ *P. infestans* ที่บริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 117 ไอโซเลท โดยแยกได้จากใบมันฝรั่งที่เป็นโรคใบไหม้ในเขต อ.สันทราย และ อ.พร้าว จ.เชียงใหม่ และ อ.พบพระ จ.ตาก

ผลการตรวจวิเคราะห์ลักษณะโคโลนีของเชื้อทั้งหมด ที่เลี้ยงบนอาหาร Rye A ในที่มืด อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อทั้งหมดมีโคโลนีมีสีขาว และมีลักษณะคล้ายปุยฝ้าย (fluffy) และจากการตรวจวิเคราะห์รูปร่างสัณฐานของ sporangia และเส้นใยของเชื้อที่แยกได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยของเชื้อไม่มีผนังกั้น (non-septate hyphae) และ sporangia สร้างอยู่บนฐานของ sporangiophore โดยลักษณะของ sprangia มีรูปร่างคล้ายผลมะนาว (lemoniform) หรือรูปไข่ (ovoid) มีความยาวเฉลี่ยประมาณ 45.6 ไมโครเมตร และความกว้างเฉลี่ยประมาณ 27.2 ไมโครเมตร โดยอัตราส่วนระหว่างความยาว และความกว้างอยู่ที่ ประมาณ 1.66 ถือเป็นลักษณะโดยทั่วไปของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อ *P. infestans* ซึ่งสอดคล้องกับ Alexopoulos (1962) ที่พบเชื้อ *P. infestans* มีลักษณะเช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้

ผลการวิเคราะห์ mating type ของเชื้อ *P. infestans* ทั้งหมด 117 ไอโซเลทนั้น พบว่าเชื้อทุกไอโซเลทมี mating type A1 เนื่องจากมีการตรวจพบ oospores ตรงกลางระหว่างเชื้อ *P. infestans* แต่ละไอโซเลทกับเชื้อ *P. infestans* มาตรฐานที่มี mating type A2 (E13) โดยลักษณะของ oospores ที่พบจากการตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรรศน์มีลักษณะรูปร่างกลม ใส และมีผนังหนา และพบ sporangia ตรงกลางระหว่างเชื้อแต่ละไอโซเลทกับเชื้อ *P. infestans* มาตรฐานที่มี mating type A1 (NM16F2) และ sporangia ใส มีลักษณะคล้ายผลมะนาว ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเชื้อทั้งหมดมี mating type A1 ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ กมลศิริ (2546) พบว่าเชื้อ *P. infestans* ที่แยกได้จากใบมันฝรั่งที่เป็นโรคใบไหม้ในเขต อ.พบพระ จ.ตาก และ อ.สันทราย อ.แม่ริม อ.แม่แตง และ อ.พร้าว จ.เชียงใหม่ ทั้งหมดมี mating type A1 จากข้อมูลที่ได้แสดงให้เห็นว่า ณ ปัจจุบัน ในพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างดังกล่าวข้างต้น เชื้อ *P. infestans* ยังไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ จึงเป็นผลดีต่อการควบคุมโรค เพราะถ้าหากเชื้อมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเกิดขึ้น เชื้ออาจมีความหลากหลายมากขึ้น หรือเกิดเชื้อสายพันธุ์ใหม่ที่มีความรุนแรงในการเข้าทำลายพืชได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนั้นในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเชื้อสร้าง oospore ซึ่งเป็นส่วนขยายพันธุ์ที่สามารถพักตัวอยู่ในดินได้เป็นเวลานานและยังเป็นเชื้อเริ่มต้นในการเข้าทำลายพืชในฤดูปลูกต่อไปได้ (Erwin and Riberio, 1996) จากการรายงานโดย Nishimura *et al*. (1999) ตรวจพบเชื้อที่มีทั้ง mating type A1 และ A2 ในพื้นที่เพาะปลูกมันฝรั่งในเขต จ.เชียงใหม่ เมื่อปี 2537 โดยพบเชื้อที่มี mating type A2 (32 ไอโซเลท) ในอัตราที่มากกว่าเชื้อที่มี mating type A1 (5 ไอโซเลท) อย่างไรก็ตามในรายงานไม่ได้ระบุอำเภอที่เก็บตัวอย่าง แต่ในการทดลองครั้งนี้ไม่พบเชื้อที่มี mating type A2 ซึ่งเป็นไปได้ว่าพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างเป็นคนละที่กัน อาจเป็นเพราะเกิดการสูญหายไปของ mating type A2 จากการเปลี่ยนชนิดพืชในแปลงปลูก หรือไม่เชื้อที่มี mating type A2 ที่มีอยู่ในพื้นที่อาจถูกแทนที่ด้วยเชื้อที่มี mating type A1 ก็อาจเป็นไปได้

การทดสอบความต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl ของ *P. infestans* ที่แยกได้จากมันฝรั่งที่เป็นโรคใบไหม้ในเขต จ.เชียงใหม่ และตาก ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549-2552 รวมทั้งหมด 117 ไอโซเลท พบว่าเชื้อส่วนใหญ่ 67.5 เปอร์เซ็นต์ อ่อนแอและพบเพียง 9.4 เปอร์เซ็นต์ที่ต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl และนอกจากนั้นในการศึกษาในครั้งนี้ยังพบอีกว่าเชื้อมีระดับความต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl ในแต่ละพื้นที่แตกต่างกันโดยพบว่าเชื้อที่เก็บได้จากแหล่งปลูกใน จ.ตาก นั้นจะมีความสามารถในการต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl ได้มากกว่าเชื้อที่เก็บได้จาก จ.เชียงใหม่ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของกมลศิริ (2546) ที่ทำการเก็บเชื้อ *P. infestans* ในมันฝรั่งจากแหล่งปลูก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ใน จ.ตาก และ เชียงใหม่ พบว่า 97.6 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อที่เก็บได้จาก จ.ตาก นั้นต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl แต่ใน จ.เชียงใหม่ พบเพียง 38.4 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่ต้านต่อสารเคมี metalaxyl ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเกษตรกรใน จ.ตาก ปลูกมันฝรั่งติดต่อกันหลายรุ่นในรอบ 1 ปีและใช้สารเคมี metalaxyl ในการควบคุมโรคใบไหม้ในมันฝรั่งโดยเกษตรได้ทำการพ่นสารเคมีทุกๆ 3-5 วันเพื่อป้องกันการระบาดของโรค ซึ่งเกษตรกรเชื่อว่าถ้าหากรอให้มีการระบาดของโรคแล้วค่อยพ่นจะไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ จากการใช้สารเคมีติดต่อกันนานเกินไปจึงทำให้เชื้อต้องมีการปรับตัวให้ต้านทานต่อสารเคมีเพื่อที่จะสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ (Dowley and Sullivan, 1981) ส่วนเกษตรกรใน จ.เชียงใหม่ นั้นโอกาสที่ใช้สารเคมี metalaxyl น้อยกว่า จ.ตาก เนื่องจากส่วนใหญ่แล้วเกษตรกรปลูกมันฝรั่ง 1 รุ่นต่อปี ในช่วงฤดูหนาว โดยจะปลูกหลังจากการทำนาหรือหลังจากปลูกพืชผักชนิดอื่น เช่น กะหล่ำดอก ถั่วฟู และแตง ซึ่งพืชดังกล่าวนี้เป็นพืชต่างตระกูลกับมันฝรั่ง ดังนั้นโอกาสที่เชื้อจะพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl จึงมีน้อยกว่าเชื้อจากแหล่งปลูกใน จ.ตาก ที่มีการปลูกพืชชนิดเดียวกันเกือบตลอดทั้งปี ซึ่งสอดคล้องกับ Erwin and Riberiro (1996) ที่กล่าวไว้ว่าการปลูกพืชในตระกูลเดียวกันซ้ำในแปลงปลูกเดิมทำให้เชื้อนั้นมีพืชอาศัยอยู่ตลอดเวลา

ในส่วนของการวิเคราะห์ mtDNA haphotype ของเชื้อนั้นพบว่าเชื้อ *P. infestans* ทั้งหมด 117 ไอโซเลทมี mtDNA haphotype เป็น IIa ผลที่ได้การศึกษาในครั้งนี้พบว่าไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Gotoh *et al*. (2005) ซึ่งรายงานว่าเชื้อ *P. infestans* ในเขต จ.เชียงใหม่ (พ.ศ. 2537) มี mtDNA haphotype 2 ชนิด คือ Ia และ Ib จากระยะเวลาที่ Gotoh *et al*. (2005) ได้ทำการศึกษาจนถึงปัจจุบันรวมแล้วมากกว่า 10 ปี มีความเป็นไปได้ว่าเชื้ออาจมีการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรโดยกลุ่มประชากรที่พบในปัจจุบันนี้อาจเข้ามาแทนที่กลุ่มประชากรดั้งเดิม เพราะว่าปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่ได้ซื้อหัวพันธุ์มันฝรั่งจากบริษัท มีส่วนน้อยที่เก็บหัวมันฝรั่งไว้ทำพันธุ์ต่อ ด้วยเหตุนี้จึงเป็นการช่วยลดจำนวนประชากรของเชื้อที่ติดอยู่กับหัวมันฝรั่งเพื่อแพร่ระบาดในฤดูปลูกถัดไป ดังที่ Van der Zaag (1956) กล่าวไว้ว่า เชื้อ *P. infestans* สามารถอยู่ข้ามฤดูได้โดยอยู่ในรูปของการสร้างเส้นใยภายในหัวพันธุ์ ไม่เช่นนั้นก็อาจเป็นไปได้ว่าเชื้อที่มี mtDNA haphotype Ia และ Ib ดังที่ Gotoh *et al*. (2005) ได้รายงานไว้ อาจพบได้ในมะเขือเทศซึ่งในการทดลองในครั้งนี้ไม่ได้ทำการศึกษาในมะเขือเทศ จึงไม่สามารถระบุได้ว่ากลุ่มประชากรของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคใบไหม้ในมะเขือเทศนั้นมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไร

จากผลการศึกษา mating type ความต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl และ mtDNA haplotypes ของเชื้อ สามารถสรุปได้ว่า ความหลากหลายของประชากรเชื้อ *P. infestans* ในพื้นที่เพาะปลูกมันฝรั่ง ในการศึกษาทดลองครั้งนี้ มีความหลากหลายทางชีวภาพต่ำ จากการรายงานของ Gotoh *et al*. (2005) พบว่าเชื้อที่เป็นไอโซเลทของไทยที่เก็บได้จากจังหวัดเชียงใหม่ ในปี 2537

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นั้น มีความหลากหลายทางด้านพันธุกรรมเนื่องจากพบเชื้อที่มีจีโนไทป์ US-1.2 (Ib) US-1.3 (Ib) และยังพบสายพันธุ์ที่มีลักษณะเฉพาะของไทย คือ จีโนไทป์ TH-1 (Ia) อย่างไรก็ตามในการศึกษาในครั้งนี้ยังไม่สามารถบอกได้ว่าเชื้อที่พบในประเทศไทยนั้นเป็นจีโนไทป์ใดบ้าง เป็นจีโนไทป์ที่ได้จากการผสมข้ามสายพันธุ์หรือไม่ และมีจีโนไทป์ที่เหมือนหรือต่างจากการศึกษาของ Gotoh *et al*. (2005) ดังนั้นการศึกษาในอนาคตเพื่อความเข้าใจที่ดีขึ้นเกี่ยวกับประชากรเชื้อ ความหลากหลายของเชื้อ การถ่ายเทข้อมูลทางพันธุกรรมของเชื้อ (gene flow) ที่พบในประเทศไทย ควรมีการเก็บเชื้อเพิ่มเติมจากแหล่งเพาะปลูกมันฝรั่งรวมทั้งแปลงปลูกมะเขือเทศ และควร ศึกษาวิเคราะห์ข้อบ่งชี้ทางอณูวิทยา (molecular markers) อื่นๆ เช่น การใช้เทคนิค RFLP โดยใช้ RG57 เป็นตัวติดตาม ลักษณะความแตกต่างของ allozyme ร่วมด้วย การตรวจสอบความเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อ (Population dynamic change) และการศึกษาเพื่อแจงลักษณะของเชื้อที่พบในประเทศไทย เป็นสิ่งจำเป็นและควรปฏิบัติอย่างสม่ำเสมอ เพื่อ ประโยชน์ในแง่ของการระวังความเสียหายทางด้านเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นกับพืชเศรษฐกิจคือ มันฝรั่งและมะเขือเทศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved