

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ไส้เดือนฝอยรากปม

ไส้เดือนฝอยรากปม (root-knot nematode) จัดเป็นไส้เดือนฝอยที่สำคัญที่สุดในจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูพืชด้วยกัน ทำความเสียหายระดับโลก จึงมีองค์กรหนึ่งคือ International Meloidogyne Project (IMP) จัดตั้งขึ้นมาเพื่อหาทางป้องกันกำจัด เช่น การหาพันธุ์ต้านทานและการศึกษาเพื่อให้มีความเข้าใจในเรื่องไส้เดือนฝอยรากปมมากยิ่งขึ้น จึงมีประเทศต่างๆ ทั่วโลก เป็นสมาชิกประมาณ 70 ประเทศ รวมทั้งประเทศไทยด้วย

ไส้เดือนฝอยรากปมมีพืชอาศัยมากกว่า 2,500 ชนิด มี chromosome หลายคู่ทำให้มีพืชอาศัยกว้างมาก ซึ่งนักวิชาการไส้เดือนฝอยตั้งสมมติฐานว่าเป็นวิวัฒนาการของไส้เดือนฝอยรากปมเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม เพื่อความอยู่รอดมีการสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ ซึ่งส่วนมากเป็นแบบ parthenogenesis ชนิดลด chromosome ลดลงเหลือครึ่งหนึ่ง (meiotic parthenogenesis) หรือไม่ลด chromosome (mitotic parthenogenesis) โดยที่ไข่ไม่ต้องได้รับการผสมจากเชื้อตัวผู้ก็สามารถเจริญเป็นตัวอ่อนได้ และตัวเมีย 1 ตัว สามารถออกไข่ได้ 300-1,000 ฟอง Taylor and Sasser (1978) คำนวณไว้ว่าถ้าตัวเมียหนึ่งตัวออกไข่ได้ 500 ฟอง และถ้ามีเพียง 5 เปอร์เซนต์ ที่รอดชีวิตภายในเวลา 4 เดือน ก็สามารถเพิ่มจำนวนประชากรได้ถึง 4 เท่า คิดเป็นจำนวนได้ถึง 390,625 ตัว

อนุกรมวิธานของไส้เดือนฝอยรากปม

Phylum	Nemata
Clase	Secementea
Order	Tylenchida
Family	Heteroderidae
Sub – Family	Heteroderidae
Genus	Meloidogyne
Species	incognita

ลักษณะที่ใช้ในการจำแนกชนิด (species) ของไส้เดือนฝอยรากปม

1. การใช้ลักษณะต่างๆ ของตัวเมียเต็มวัยและตัวอ่อนระยะที่สอง (Franklin, 1979)

1.1 ลักษณะต่างๆ ของตัวเมียเต็มวัยที่ใช้ในการจำแนกชนิด

- รั้วรอยย่นส่วนก้น (perineal pattern)
- รูปร่างของส่วนหัว และหลอดดูดอาหาร (spear หรือ stylet)
- ความยาวของหลอดดูดอาหาร
- ตำแหน่งของรูเปิดระบบขับถ่าย

1.2 ลักษณะต่างๆ ของตัวอ่อนระยะที่สองที่ใช้ในการจำแนกชนิด

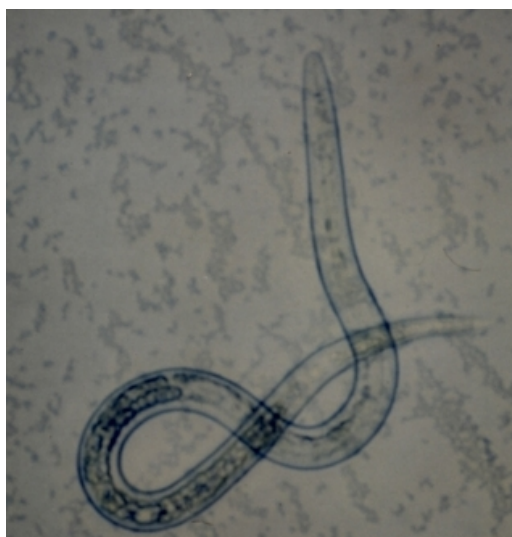
- รูปร่างของส่วนหัวและหลอดดูดอาหาร
- ความยาวของลำตัวและความยาวของส่วนหาง
- ความยาวของหลอดดูดอาหาร
- ตำแหน่งของเฮมิโซนิต (hemizonid)
- ตำแหน่งของรูเปิดระบบขับถ่าย

2. การใช้ลักษณะต่างๆ ของตัวผู้เต็มวัยในการจำแนกชนิด (Eisenback et al., 1981)

ลักษณะของตัวผู้มีประโยชน์ในการจำแนกไส้เดือนฝอยเพียงบางชนิดโดยดูจากรูปร่าง

ลักษณะของส่วนหัว หลอดดูดอาหารและเส้นข้างลำตัว

ปัจจุบันในประเทศไทยมีรายงานว่าพบไส้เดือนฝอยรากปม 8 ชนิด คือ *M. incognita*, *M. javanica*, *M. graminicola*, *M. arenaria* (จรัสและอานนท์, 2526) *M. hapha* (สืบศักดิ์และคณะ, 2530) *M. exigua* (อรุณ, 2505) *M. microcephala* (Cliff and Hirschma, 1984) และ *M. naasi* (ประชา, 2515) ที่ระบาดมากที่สุดในประเทศไทยคือ *M. incognita* มีทั้งในพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ พืชไร่ ไม้ผล และในวัชพืชหลายประเภท (จรัสและอานนท์, 2526; สืบศักดิ์, 2532) ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ระยะ J2 larva แสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 2.1 ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ระยะ J2 larva

ที่มา http://www.ibwf.de/ibwf_mainframe_r.htm

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* นี้มีรูปร่างแตกต่างกันในเพศผู้และเพศเมียกล่าวคือ ตัวอ่อนระยะที่ 2 ทั้งเพศผู้และเพศเมียมีรูปร่างยาวเรียวคือประมาณ 380-450 ไมโครเมตร กว้าง 331-520 ไมโครเมตร (Whitehead, 1968) spear แข็งแรงยาวประมาณ 10 - 7 ไมโครเมตร รังไข่มี 2 อันรูปร่างโค้งไปทางส่วนหัว ส่วนปลายของลำตัวมีลักษณะกลมมีช่องเปิดอวัยวะสืบพันธุ์และทวารหนัก ซึ่งมี rectal gland จำนวน 6 ต่อม ทำหน้าที่ผลิตสารเมือกออกมาปิดคลุมกลุ่มไข่เพื่อป้องกัน

อันตราย นอกจากนี้อบริเวณช่องเปิดอวัยวะสืบพันธุ์มีรอยย่นรอบๆ ช่องเปิดดังกล่าว รอยย่นนี้เรียกว่า perineal pattern ซึ่งใช้เป็นหลักสำคัญในการจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย ไส้เดือนฝอยเพศเมียฝังส่วนของลำตัวในรากของพืช ส่วนของกลุ่มไข่หุ้มด้วยสารที่คล้ายเจลาติน กลุ่มไข่ของ *M. incognita* มีปริมาณไข่จำนวน 250-525 ฟอง ไข่ที่อยู่ในกลุ่มไข่สามารถฟักออกเป็นตัวได้อย่างรวดเร็วเมื่อนำกลุ่มไข่ไปแช่ในน้ำ นอกจากนี้ถ้าตัดเอากลุ่มไข่ออกมาแล้วนำไปเก็บไว้ในที่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลา (0.3 M NaCl) นาน 30 เดือน เมื่อนำมาแช่ในน้ำอีกไข่สามารถฟักออกเป็นตัวได้ ไม่เฉพาะแต่น้ำเท่านั้นที่ทำให้ไข่สามารถฟักออกเป็นตัว สารซึมจากราก (root diffusate) สามารถกระตุ้นให้ไข่ฟักออกมาเป็นตัวได้มากกว่า 14-30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับไข่ที่ฟักในน้ำ อย่างไรก็ตามความชื้นในดินมีส่วนทำให้ไข่ฟักออกมาเป็นตัวอ่อนได้ดีกว่าสารซึมจากรากในไส้เดือนฝอย *M. incognita* ไข่ฟักเป็นตัวอ่อนในดินที่มีความชื้นและมีสารสกัดจากรากพืชตระกูลถั่วมากกว่าในน้ำกลั่นธรรมดา

ตัวเต็มวัยเพศผู้ มีรูปร่างเหมือนระยะตัวอ่อนคือ มีรูปร่างยาวเรียวประมาณ 1,108-1,953 ไมโครเมตร ผนังลำตัวใสมีรอยย่นเล็กน้อย spear ยาวประมาณ 20-24 ไมโครเมตร อันทะมีจำนวน 1 อัน ลักษณะหางสั้น โค้งมน และที่ปลายหางมี spicule ที่เห็นได้ชัด

วงจรชีวิต

วงจรชีวิตของไส้เดือนฝอยรากปมมี 2 ระยะ (สืบทัด, 2532) คือ

1. ระยะหากินเป็นอิสระ

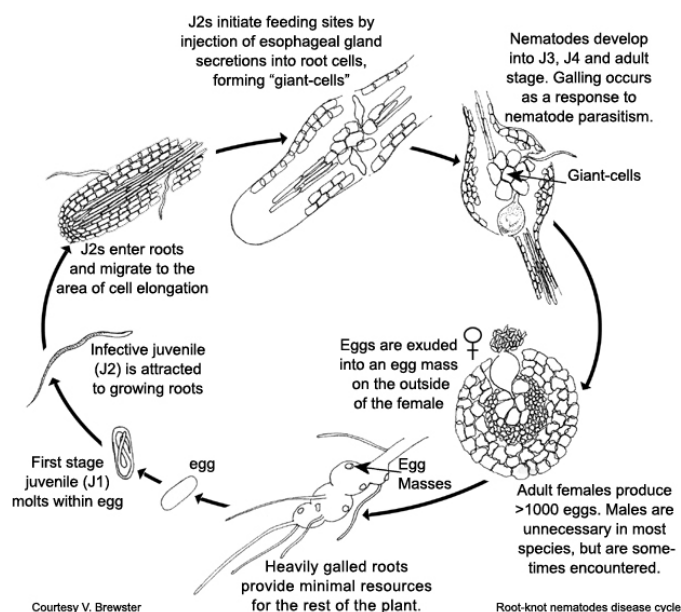
ระยะนี้ไข่ของไส้เดือนฝอยอยู่ในกลุ่มไข่ ซึ่งหุ้มด้วยสารพวกเจลาติน และมีน้ำเป็นองค์ประกอบ กลุ่มไข่หลุดออกจากปมเมื่อรากเน่าเปื่อยและตกลงในดิน บางครั้งอาจพบว่ายังคงอยู่ภายในปมของรากถ้าสภาพอากาศแห้งแล้งน้ำภายในกลุ่มไข่ระเหยทำให้ถุงไข่มีลักษณะย่น ผิวของกลุ่มไข่แข็งและเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและมีการแข็งตัวของน้ำเมือกภายในกลุ่มไข่

ถ้าสภาพอากาศในดินมีความชื้นมากที่ทำให้ไข่ฟักออกมาเป็นตัวแล้ว ไข่ฟักออกมาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 และเคลื่อนที่อยู่ระหว่างฟิล์มของน้ำที่ผิวดิน มีชีวิตเป็นอิสระ ตัวอ่อนระยะนี้ สะสมอาหาร ได้แก่ ไขมัน 43 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีน 23-24 เปอร์เซ็นต์ อยู่ภายในเซลล์ของลำไส้เล็ก เมื่ออุณหภูมิสูงอาหารสะสมถูกนำไปใช้มาก ถ้าอุณหภูมิต่ำ และความชื้นสูงอาหารถูกใช้ไปน้อย

โดยทั่วไปตัวอ่อนระยะที่ 1 ลอกคราบอยู่ในไข่ซึ่งอยู่ในกลุ่มไข่อีกทีหนึ่ง ดังนั้นเมื่อตัวอ่อนระยะที่ 1 ลอกคราบออกจากไข่จึงกลายเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 ในระยะนี้เซลล์สืบพันธุ์ยังไม่เจริญเป็นอวัยวะสืบพันธุ์ เพศผู้หรือเพศเมียอย่างเด่นชัด ถ้าภายในดินมีอาหารเพียงพอและสภาพแวดล้อมเหมาะสม เซลล์สืบพันธุ์เปลี่ยนแปลงเป็นรูปตัววี และเจริญเป็นอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย มีรังไข่ 2 อัน และเคลื่อนที่เข้าหาราก ซึ่งอธิบายต่อในระยะเป็นปรสิตรากับรากพืช ถ้าภายในดินมีอาหารไม่อุดมสมบูรณ์ และสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เซลล์อวัยวะสืบพันธุ์มีรูปร่างยาว และเจริญเป็นอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ มีอันทะ 1 อัน อวัยวะภายในอื่น ๆ เริ่มเจริญเต็มที่ ต่อมารูปร่างของลำตัวขยายใหญ่เล็กน้อย โดยขยายตามความยาวมากกว่าความกว้างมี spear เห็นชัดเจน ตัวอ่อนระยะที่ 4 และ 5 ไม่กินอาหาร อยู่กับที่ระยะหนึ่งก่อนจากนั้นจึงหาอาหารตามรากพืช ใช้ส่วนของ spear แทะลงไป เซลล์ของพืชบริเวณชั้นที่เซลล์กำลังยึดตัวและรากขนอ่อน จากนั้นเคลื่อนที่มาอาศัยอยู่ในดินคอยดูดน้ำเลี้ยงจากรากพืชภายนอก

2. ระยะเป็นปรสิต

ตัวอ่อนระยะที่สองเคลื่อนที่เข้าหาราก โดยเข้าทำลายบริเวณปลายรากที่อยู่เหนือหมวกรากขึ้นมาเล็กน้อย ซึ่งบริเวณนี้มีเนื้อเยื่อเจริญของรากอยู่ระยะนี้ตัวอ่อนระยะที่ 2 ใช้สเปียร์ แทะลงไปในเซลล์ชั้น cortex ของรากและฝังตัวเฉพาะส่วนหัวและแทงลงไปถึงเซลล์ชั้น pericycle และหยุดนิ่งอยู่กับที่ ต่อมาเริ่มเจริญเป็นตัวเต็มวัย ตัวเมียเมื่อเริ่มพักไข่จนพักเป็นตัวอ่อนใช้เวลาประมาณ 9 วัน ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และใช้เวลา 31 วัน ที่อุณหภูมิ 16.5 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ใช้เวลาประมาณ 15 - 18 วัน ในการขยายขนาดและเจริญเป็นเพศเมียที่สมบูรณ์ การลอกคราบครั้งที่ 3 ใช้เวลา 1 วัน สำหรับการลอกคราบครั้งที่ 4 (ครั้งสุดท้าย) เป็นไปอย่างรวดเร็ว และเห็นรอยคราบติดอยู่ ระยะที่ 3 - 4 ใช้เวลา 2 - 3 วัน โดยเริ่มเห็นอวัยวะบางอย่างชัดเจนขึ้น เช่น อวัยวะสืบพันธุ์ อวัยวะย่อยอาหาร เป็นต้น รวมระยะเวลาทั้งหมดประมาณ 20 - 27 วัน หรืออาจใช้เวลาน้อยกว่าหรือมากกว่านี้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของไส้เดือนฝอย อุณหภูมิและพืชอาศัยที่เหมาะสม หลังจากนั้นอีกประมาณ 1 อาทิตย์ เพศเมียเริ่มวางไข่



ภาพที่ 2.2 วงจรการก่อโรคของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

ที่มา <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/Nematodes/Pages/RootknotNematode.aspx>

การเกิดปม

มีสาเหตุเกิดจาก (สืบศักดิ์, 2541)

1. Hypertrophy เกิดจากการที่เซลล์ของรากมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้นผิดปกติ เนื่องจากเอนไซม์ของไส้เดือนฝอยรากปมเข้าไปละลายผนังเซลล์ที่อยู่รอบๆ ส่วนหัวแล้วมารวมกันเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ เรียกว่า giant cell เป็นเซลล์ที่คอยให้อาหารแก่ไส้เดือนฝอยตลอด ทำให้เกิดการบวมของราก

2. Hyperplasia เกิดจากการที่เซลล์ที่อยู่รอบๆ ตัวไส้เดือนฝอย ถูกอิทธิพลของเอนไซม์ ทำให้บริเวณที่โคนเกิดการแบ่งเซลล์ผิดปกติอย่างรวดเร็ว ทำให้มีการแบ่งเซลล์มาก เนื้อเยื่อบริเวณนั้นบวมใหญ่ออกมารอบราก เกิดจากการที่ไส้เดือนฝอยตัวเมียขยายขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้รากเกิดเป็นปมเกิดขึ้น ถ้ามีไส้เดือนฝอยหลายตัว ปมก็มีขนาดใหญ่ขึ้นมาก

ความสำคัญทางเศรษฐกิจ

ไส้เดือนฝอยหรือพยาธิพืช เป็นศัตรูพืชอีกกลุ่มหนึ่งที่สามารถทำความเสียหายหรือทำอันตรายให้กับพืชได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม หรือทั้ง 2 ทาง ในเวลาเดียวกันความเสียหายทางตรงที่เกิดขึ้นคือการทำให้ต้นพืชไม่เจริญเติบโต แคร่แกรนเพราะถูกแย่งอาหาร ส่วนที่ถูกทำลายเสียหายผิปกติหรือแห้งตายไป ความเสียหายทางอ้อมคือการลดคุณภาพของผลผลิตและการเปิดทางให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นเข้าทำลายซ้ำเติมหรือเกิดเป็น secondary invasion ซึ่งปรากฏการณ์นี้พบเห็นกันอยู่ทั่วไป (สืบทักดี, 2541)

โดยทั่วไปความเสียหายของพืชเล็กน้อยแค่ไหน ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น พันธุ์พืช อายุของพืช ลักษณะและวิธีการทำลาย จำนวนประชากรเมื่อแรกเริ่มเข้าทำลาย ระยะเวลาสภาพแวดล้อม ซึ่งรวมทั้งสภาพ และชนิดของดิน อุณหภูมิ ความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง และจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่มีอยู่ในดิน ตัวอย่างการเกิดโรคในพืชผลที่เกิดจากการทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม ได้แก่

โรครากปมในข้าว จัดเป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งของข้าวในประเทศที่มีการปลูกข้าวทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย ซึ่งพบในแหล่งปลูกข้าวทั่วไปรวมทั้งข้าวนาดอน ข้าวไร่ และข้าวขึ้นน้ำของทุกภาค สาเหตุเกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne*) หลายชนิด (species)

โรครากปมในข้าวโพด เกิดจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. ซึ่งโดยทั่วไปมักไม่ทำความเสียหายกับข้าวโพดและการเกิดโรคนี้พบเฉพาะแห่งเท่านั้น โดยทั่วไปพบว่า การเกิดเซลล์ยักษ์เริ่มเห็นได้ชัดเมื่อพืชถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายเพียง 6 วัน จากนั้นจึงเริ่มแสดงอาการ chlorosis ข้าวโพดบางพันธุ์เป็นปมน้อย แต่บางพันธุ์ก็เป็นปมมาก วงจรชีวิตของไส้เดือนฝอยปมกับข้าวโพดมีประมาณ 30 วัน ถ้าอาการของโรครุนแรงมีผลทำให้ผลผลิตลดลงได้มากเช่นกัน

โรครากปมในพืชเส้นใย ได้แก่ ฝ้าย ปอ หม่อน เป็นต้น เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปมที่มีหลายชนิด จัดเป็นโรคที่สำคัญที่สุดในบรรดาโรคที่เกิดจากไส้เดือนฝอยทุกชนิด

โรครากปมในไม้ดอก ไม้ประดับ ซึ่งเป็นพืชอีกกลุ่มหนึ่งที่มีปัญหาเกี่ยวกับไส้เดือนฝอยศัตรูพืชทั่วไปทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* หลายชนิดส่วนใหญ่การสำรวจพบ *M. incognita*, *M. javanica* และ *M. hapla* ทำให้เกิดอาการรากปม ซึ่งถ้าปลูกใน

แปลงหรือในกระถางที่รวมกันอยู่เป็นพื้นที่กว้าง อาการแคะแกรน ใบเหลืองซีด สามารถเห็นการจัดกระจายได้ทั่วแปลง

โรครากปมในพืชผัก พืชผักจัดเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมาก เนื่องจาก สรีรวิทยาของพืชผักอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย พืชกลุ่มนี้จึงมีความสำคัญในอาชีพ การเกษตรของประเทศไทยเป็นอย่างมาก ซึ่งโรครากปมจัดเป็นโรคที่สำคัญที่สุดของพืชผักทุกชนิด พบอยู่ทั่วไปและทำความเสียหายให้กับอุตสาหกรรมปลูกผักทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย เกิดจาก ไส้เดือนฝอยรากปมที่สำคัญมี 4 ชนิด คือ *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* และ *M. hapla* อาการทำให้เกิดปมที่ระบบราก ลักษณะของปมต่างจากปมที่เกิดจากแบคทีเรียในพืชตระกูลทั่วไป ปมที่เกิดนี้ถ้ายังมีจำนวนปมมาก ความสูญเสียย่อมมีมากตามไปด้วย เนื่องจากพืชไม่สามารถดูดน้ำ และอาหารได้อย่างเต็มที่ การพองโตของเซลล์จนเกิดเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่เรียกเซลล์ยักษ์และของ ตัวไส้เดือนฝอยในระบบรากเอง ทำให้ระบบท่อน้ำ-อาหาร ถูกอุดตันหรือบิดเบี้ยวไป โดยทั่วไป ลักษณะของปมมีตั้งแต่กลม กลมรี กลมยาวหรือรูปร่างคล้ายกระบอง มีขนาดเท่าหัวเข็มหมุดเช่นปม พริก จนถึงปมขนาดใหญ่เช่นปมของมะเขือเทศ ทำให้การเจริญเติบโตของพืชทุกชนิดลดลง ความเสียหายย่อมมีมากเมื่อไส้เดือนฝอยเข้าทำลายในขณะที่พืชอายุน้อยหรืออยู่ในระยะที่เป็นต้นกล้า เช่นแปลงเพาะกล้ามะเขือเทศเมื่อถูก *M. incognita* เข้าทำลายมีความสูงของต้นเพียง 6 นิ้วก็ออก ดอกและมีผลขนาดเล็กตัวเหลือง เมื่อถอนดูจึงพบว่าระบบรากเสียหายมาก รากเหลือน้อยและ เป็นปมเต็มไปหมด อาการของโรคมีมากในบริเวณที่เป็นดินทรายหรือดินร่วนปนทราย ในแปลงที่เป็นดินเหนียวมีน้อย

การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอย

อาการโรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอยมีลักษณะเฉพาะ ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยโรคในเบื้องต้น จะใช้วิธีตรวจจากอาการโรคเช่นเดียวกับเชื้อชนิดอื่น จากนั้นจึงตรวจลักษณะอื่นๆ

1. อาการโรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอย

ไส้เดือนฝอย (nematodes) อยู่ใน Kingdom : Animalia ไส้เดือนฝอยหลายพันชนิด อาศัยอิสระอยู่ในน้ำหรือในดิน ได้รับอาหารจากสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กๆ และหลายร้อยชนิดเป็น

ปรสิตอาศัยอยู่กับพืชและทำให้พืชเป็นโรค ไร้เดือนฝอยทำให้พืชเป็นโรคโดยแสดงอาการที่รากและส่วนเหนือดิน ได้แก่ รากปม รากแผล ใบไหม้ และเมล็ดบวม โรคที่ระบาดและเป็นปัญหาสำคัญทั่วโลก ได้แก่ โรคกรปม โรคพืชที่เกิดจากไร้เดือนฝอยมีลักษณะอาการ ดังนี้

- อาการรากปม (root knot) ลักษณะปมอาจเล็กหรือใหญ่แตกต่างกันไปตามชนิดของไร้เดือนฝอยและตามชนิดพืชที่พบ ปมที่เกิดมีลักษณะเหมือนการบวมพองของราก ปมมีลักษณะกลมและมีขนาดใหญ่ประมาณ ½ นิ้ว หรือมากกว่านั้น ลักษณะปมบวมน้ำ (succulent) พบในมะเขือเทศ แตง สตวอช รักเร่ แตกต่างจากปมรากถั่ว ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับมีเม็ดกลมๆ ขนาดเล็กมาติดที่ราก

- อาการรากแผล (root lesion) เกิดแผลสีน้ำตาลบนราก ซึ่งในระยะแรกแผลมักมีขนาดเล็ก จากนั้นแผลจะขยายลามไปทั่วทั้งราก

- อาการรากกุด (stubby root) ส่วนของปลายรากไม่เจริญยืดยาว ทำให้เกิดลักษณะรากกุด ปลายรากจะบวมใหญ่กว่าปกติ

- เมล็ดบวม (seed gall) ไร้เดือนฝอยที่เข้าทำลายส่วนของเมล็ดพืช จะทำให้เมล็ดมีลักษณะบวม โตกว่าปกติได้หลายเท่า

- ใบไหม้ (leaf blight) พบโรคใบไหม้ที่เกิดจากไร้เดือนฝอยศัตรูพืชเกิดกับเบญจมาศ โดยใบเป็นสีน้ำตาล

- ต้น ใบและดอกบิดเบี้ยว เสี่ยงรูปร่าง (malformation)

- แคระแกรน (stunting) พืชชะงักการเจริญ ส่วนใบมักจะมีสีซีด อาการนี้พบร่วมกับอาการที่รากถูกทำลาย

2. การตรวจสอบโรคที่เกิดจากไร้เดือนฝอย

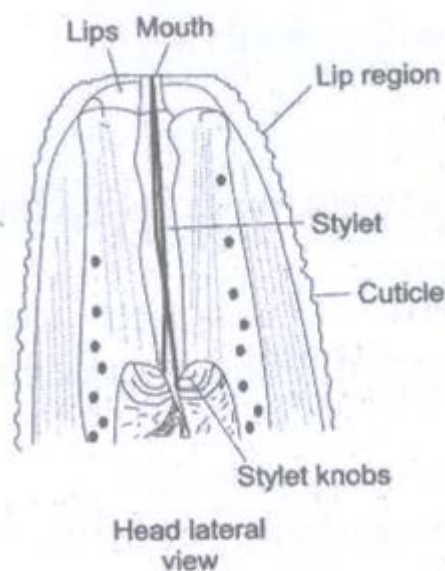
2.1 การแยกไร้ฝอยจากดิน

โดยการเก็บดินหรือตัวอย่างพืชมาแยกไร้เดือนฝอย โดยวิธีที่ใช้โดยทั่วไป ได้แก่ การใช้ตะแกรง ซึ่งตะแกรงที่ใช้จะมีขนาดต่างกัน คือ 20, 100, 200 และ 325 mesh (จำนวนช่องต่อพื้นที่ 1 ตารางนิ้ว) โดยนำดิน 500 กรัม ผสมน้ำ 4 ลิตร หลังจากการผสมให้เข้ากันดี ให้เทผ่านตะแกรง 60 mesh เพื่อกำจัดดินที่มีขนาดใหญ่ออกไป โดยเก็บส่วนที่ไหลผ่านตะแกรง จากนั้นให้นำมาผ่านตะแกรง 100, 200 และ 325 mesh ส่วนน้ำที่ผ่านตะแกรงขนาด 325 mesh ให้ทิ้งได้ ไร้เดือนฝอยที่เก็บได้บนตะแกรงขนาด 100 mesh จะเป็นไร้เดือนฝอยขนาดใหญ่ ส่วนไร้เดือนฝอย

ที่เก็บได้บนตะแกรงขนาด 200 และ 325 mesh จะมีขนาดเล็กลงตามลำดับ โดยไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคพืชทุกชนิดจะคงอยู่บนตะแกรง 325 mesh จากนั้นให้นำไส้เดือนฝอยที่เก็บรวบรวมไว้ ไปแยกด้วยวิธีการใช้กรวยแยก เก็บตัวไส้เดือนฝอยและนำไปจำแนกเชื้อโดยดูลักษณะรูปร่าง และส่วนประกอบต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์

2.2 การตรวจสอบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช

ใช้วิธีการตรวจดูโครงสร้างส่วนหัวของไส้เดือนฝอยซึ่งไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคพืชมีลักษณะเฉพาะที่สำคัญ คือ จะต้องประกอบด้วย stylet หรือ spear จากนั้นให้ตรวจรูปร่างและการขดตัวของไส้เดือนฝอย ซึ่งใช้ในการวินิจฉัยโรค



ภาพที่ 2.3 ภาพวาดส่วนประกอบบริเวณหัวของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช

ที่มา Agrios, 2005

2.3 การตรวจไส้เดือนฝอยด้วยเทคนิคพีซีอาร์

แม้ว่าไส้เดือนฝอยศัตรูพืชจะมีขนาดใหญ่กว่าสิ่งมีชีวิตสาเหตุโรคพืชชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะเชื้อโรคกลุ่มจุลินทรีย์ แต่การตรวจสอบไส้เดือนฝอยในระดับชนิด ต้องใช้เทคนิคเฉพาะ เช่น การตรวจรอยหยักบริเวณส่วนก้นของไส้เดือนฝอย ดังนั้นการนำเทคนิคการตรวจสอบในระดับ

โมเลกุลมาใช้ จะช่วยให้จำแนกได้ง่ายขึ้น รวมทั้งเป็นประโยชน์ในการสืบสายทางบรรพบุรุษ โดยมี รายงานไพรเมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Meloidogyne* spp. ให้เลือกใช้

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

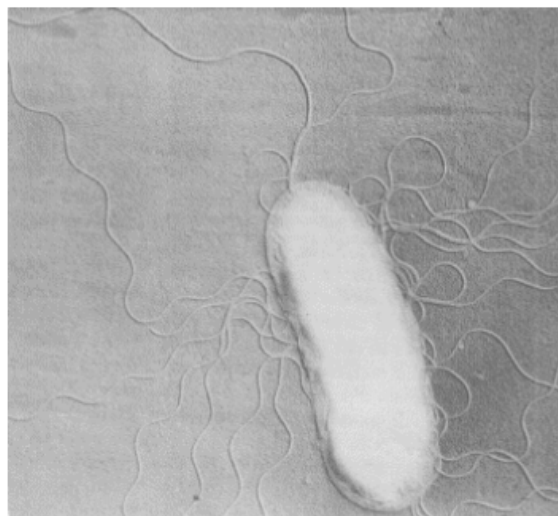
Plant Growth Promoting Rhizobacteria หรือ PGPR เป็นกลุ่มของแบคทีเรียหลากหลาย species และหลากหลายสายพันธุ์ ซึ่งกลุ่มของ PGPR ส่วนใหญ่จะอยู่ในสกุล *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Gluconacter* และ *Serratia* เป็นต้น (ตัวอย่าง เซลล์ของ PGPR ดังแสดงในรูปที่ 2.4) โดย PGPR จะสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ

1. พวกที่มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกันกับพืช หรือที่เรียกว่าความสัมพันธ์แบบ Symbiosis คือแบคทีเรียจำพวกที่สามารถเข้าสู่รากพืชแล้วเกิดกระบวนการต่างๆ ที่จะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้
2. พวกที่อาศัยแบบอิสระในดิน (Free-living form) และจะพบอยู่ใกล้ๆ บริเวณรากพืช โดยแบคทีเรียจำพวก PGPR จะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ช่วยให้ผลผลิตของพืชสูงขึ้น



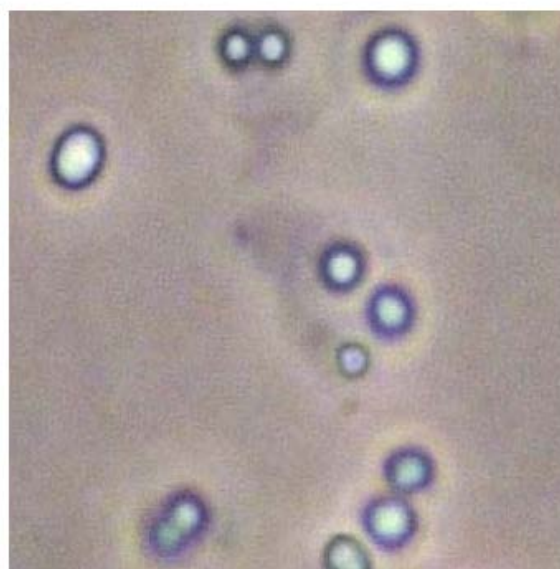
ภาพที่ 2.4 *Pseudomonas* spp.

ที่มา : <http://www.astrosurf.com/lombry/bioastrocontamin-alh84001.html>



ภาพที่ 2.5 *Azospirillum* spp.

ที่มา : <http://www.cnpab.embrapa.br/servicos/baby/azospiri.html>



ภาพที่ 2.6 *Azotobacter* spp.

ที่มา : <http://www-micro.msb.le.ac.uk/video/Azotobacter.html>

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่าง PGPR ที่ช่วยในการควบคุมเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืช

PGPR	เชื้อราสาเหตุโรคพืช	ชนิดพืช
<i>Actinoplanes</i> spp.	<i>Pythium ultimum</i>	Table beet
	<i>Rhizoctonia solani</i>	Table beet
<i>Bacillus</i> spp.	<i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i>	ข้าวสาลี
<i>Bacillus subtilis</i> GB03	<i>Fusarium oxysporum</i> sp. <i>ciceris</i>	ถั่วเขียว
<i>B. subtilis</i> BACT-D	<i>Pythium oxysporum</i> sp. <i>ciceris</i>	มะเขือเทศ
<i>Burkholderia cepacia</i> A3R	<i>Fusarium graminearum</i>	ข้าวสาลี
	<i>Fusarium</i> spp.	ข้าวสาลี
<i>Burkholderia cepacia</i> PHQM 100	<i>Phythium</i> spp.	ข้าวโพด
<i>Comamonas acidovorans</i> HF42	<i>Magnaporthe poae</i>	Kentucky
		bluegrass
<i>Enterobacter</i> sp. BF14	<i>Magnaporthe poae</i>	Kentucky
<i>Pseudomonas chloroaphis</i> MA342	<i>Drehslera graminea</i>	ข้าวบาเลย์
	<i>D. avenea</i>	ข้าวโอ๊ต
	<i>Ustilago avenea</i>	ข้าวโอ๊ต
<i>P. chloroaphis</i> PCL1391	<i>Fusarium oxysporum</i> sp. <i>Radicis-lycopersici</i>	มะเขือเทศ
<i>P. fluorescens</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> sp. <i>raphani</i>	หัวผักกาด
<i>P. fluorescens</i> Q8rl-96	<i>Gaeumannomyces graminis</i>	ข้าวสาลี
<i>P. fluorescens</i> VO61	<i>Pythium ultimum</i>	ข้าว
	<i>Rhizoctonia solani</i>	
<i>P. putida</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> sp. <i>Raphani</i>	หัวผักกาด
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> C3	<i>Rhizoctonia solani</i>	Tall fescue

ที่มา : Glick *et al.*, 1999

กลไกการให้ธาตุอาหารและการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช

ดังที่ได้กล่าวไปแล้วว่าแบคทีเรียจำพวก PGPR จะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้ 2 ทาง คือ โดยทางตรงและทางอ้อม ซึ่งต่อไปจะกล่าวถึงกลไกในทางอ้อมก่อน

กลไกทางอ้อม

ซิเดอโรฟอรัส (Siderophores)

ธาตุเหล็กจัดเป็นธาตุอาหารมีปริมาณมากบนพื้นผิวโลก แต่โดยทั่วไปธาตุเหล็กอยู่ในรูปของสารประกอบที่ละลายน้ำได้ยาก หรือไม่สามารละลายน้ำได้เลย ความสามารถในการละลายน้ำของเหล็กมีประมาณ 10^{-18} ที่ pH 7.4 ซึ่งปริมาณของการละลายได้เท่านี้ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ดังนั้นจากความต้องการเพื่อการอยู่รอด จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินจึงต้องผลิตสารที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อธาตุเหล็กสูง ซึ่งเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (0.5-1.5 กิโลดาลตัน) ที่เรียกว่า ซิเดอโรฟอรัส ขึ้นมา

PGPR สามารถป้องกันการแพร่พันธุ์หรือป้องกันการขยายจำนวนของเชื้อโรคพืชได้โดยการผลิตซิเดอโรฟอรัสขึ้นมา โดยซิเดอโรฟอรัสจะไปจับกับธาตุเหล็กที่อยู่บริเวณรอบๆ รากพืช ดังนั้นผลจากการขาดธาตุเหล็กจะสามารถป้องกันเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้คือ ทำให้เชื้อราสาเหตุโรคพืชไม่สามารถแพร่พันธุ์ได้นั่นเอง แต่พืชจะไม่ได้รับผลกระทบจากการลดลงของธาตุเหล็กในบริเวณนั้นเพราะว่าพืชสามารถเจริญเติบโตได้ด้วยความเข้มข้นของธาตุเหล็กต่ำๆ น้อยกว่า (ประมาณ 1,000 เท่า) ของจุลินทรีย์ โดยนักวิทยาศาสตร์พบว่าในสภาพแวดล้อมที่ขาดธาตุเหล็ก หรือมีธาตุเหล็กในปริมาณน้อย จะกระตุ้นให้จุลินทรีย์เกือบทุกชนิดมีการสร้างซิเดอโรฟอรัสมากขึ้น และในทางกลับกัน การสร้างจะถูกยับยั้งเมื่อในสภาพแวดล้อมมีปริมาณของธาตุเหล็กมากขึ้น ยกเว้นในกลุ่มของแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* ซึ่งสามารถเจริญได้ในสภาพที่ไม่มีธาตุเหล็กอยู่เลย ใน *Pseudomonas putida* นั้นสามารถผลิตซิเดอโรฟอรัสได้ในปริมาณมากและมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Fusarium oxysporum* ซึ่งเป็นเชื้อรา ที่ทำให้โรคน้ในมะเขือเทศ ในบางรายงานกล่าวว่า mutant ของแบคทีเรียสายพันธุ์ *P. aeruginosa* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สร้างซิเดอโรฟอรัสได้น้อยนั้นจะไม่สามารถป้องกัน โรค damping off จากเชื้อรา *Phythium* ได้

เอนไซม์ (Enzymes)

PGPR บางชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ที่ช่วยป้องกันเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้โดยไปย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราเหล่านั้น มีรายงานว่า Plant Growth Promoting Rhizobacteria บางสายพันธุ์เช่น *Pseudomonas stutzeri* สามารถผลิตเอนไซม์ extracellular chitinase และเอนไซม์ laminarinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยเส้นสายของเชื้อรา *Fusarium solani* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรครากเน่าได้ (Lim *et al.*, 1991)

และได้มีรายงานว่า PGPR สายพันธุ์ *P. cepacia* สามารถผลิตเอนไซม์ B-1, 3-glucanase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยเส้นสายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Rhizoctinia solani*, *Sclerotium rolfsii* และ *Phytophthora ultimum* ได้ (Fridlender *et al.*, 1993)

สารปฏิชีวนะ (antibiotics)

หนึ่งในกลไกที่สำคัญในการที่ PGPR จะป้องกันการแพร่พันธุ์ หรือขยายจำนวนของเชื้อโรคพืชก็คือความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotics)

ตัวอย่างของสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดย PGPR ได้แก่ agrocin 84, agrocin 434, 2, 4-diacetylphloroglucinol, herbicidin, oomycin, phenazines, pyoluteorin, pyrrolnitrin เป็นต้น

สารต้านเชื้อรา (Antifungal Metabolites)

นอกจาก PGPR จะสามารถผลิตซิเตอร์โรฟอร์ และสารปฏิชีวนะซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการต้านทานเชื้อโรคพืชแล้ว PGPR บางชนิด ยังสามารถผลิตสารต้านทานเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ด้วย เช่น *Pseudomonas fluorescens* สามารถสังเคราะห์ hydrogen cyanide ซึ่งทำให้ *Pseudomonas* สายพันธุ์นี้มีความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชบางชนิดได้ ตัวอย่างเช่น สามารถยับยั้ง *Thielaviopsis basicola* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรค black root rot ในยาสูบได้ (Ramette *et al.*, 2003)

ในบางรายงานกล่าวว่า จุลินทรีย์หลากหลายสายพันธุ์รวมทั้ง *Cladosporium weneckii*, *Pseudomonas cepacia* และ *P. solanacearum* สามารถย่อยสลายสารประกอบ fusaric acid ได้ซึ่ง

สารประกอบ fusaric acid ตัวนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความเสียหายในพืชหลังจากที่พืชถูกเข้าทำลายโดย *Fusarium* (Ramamoorthy et al., 2001)

กลไกทางตรง

ซิเดอรอฟอร์ (Siderophores)

ดังที่กล่าวไปแล้วว่าซิเดอรอฟอร์นั้นคืออะไรในหัวข้อกลไกทางอ้อม ดังนั้นในหัวข้อกลไกทางตรงจึงขอกล่าวถึงความสำคัญของซิเดอรอฟอร์ในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของพืชในทางตรง (ช่วยในการนำธาตุเหล็กเข้าสู่พืช) และกลไกการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์โดยโมเลกุลของซิเดอรอฟอร์

กลไกทั่วไปของการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์โดยโมเลกุลซิเดอรอฟอร์นั้นประกอบไปด้วยขั้นตอนหลัก 3 ขั้นตอน คือ

1. เริ่มการสังเคราะห์โมเลกุลของซิเดอรอฟอร์ จากนั้นจึงแพร่ผ่านผนังเซลล์ออกไปสู่สิ่งแวดล้อม
2. ซิเดอรอฟอร์จับกับธาตุเหล็ก แล้วถูกดึงกลับเข้าสู่เซลล์ โดยกระบวนการ active transport
3. ปลดปล่อยโมเลกุลของซิเดอรอฟอร์ที่ดึงธาตุเหล็กออกแล้วคืนสู่ภายนอกเซลล์

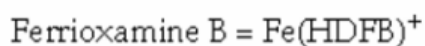
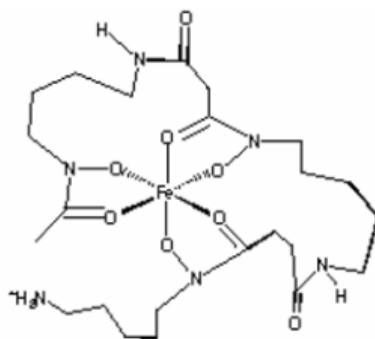
เมื่อโมเลกุลของซิเดอรอฟอร์เข้าจับกับธาตุเหล็กแล้วนั้น โมเลกุลของซิเดอรอฟอร์จะจับกับโปรตีนที่ผนังเซลล์ซึ่งทำหน้าที่เป็น receptor protein จากนั้นจะถูกขนย้ายผ่านเข้ามายังผนังเซลล์ โดยกระบวนการ active transport กล่าวคือ สาร ATP ที่ผนังเซลล์จะเป็นตัวกระตุ้นให้โปรตีนอีกชนิดหนึ่งที่มี ATP เกาะอยู่แล้ว โดยการส่งผ่านพลังงานทำให้ธาตุเหล็กเข้าสู่ภายในส่วนของ cytoplasm ได้ ทั้งนี้แต่ละชนิดของซิเดอรอฟอร์เองจะมีความจำเพาะเจาะจงต่างกันไปกับโปรตีนต่างๆ ที่ผนังเซลล์ด้วย เมื่อโมเลกุลของซิเดอรอฟอร์ที่จับธาตุเหล็กถูกนำผ่านเข้ามายังผนังเซลล์แล้ว ธาตุเหล็กก็จะปลดปล่อยออกจากโมเลกุลของซิเดอรอฟอร์ โดยอาศัยกลไกสำคัญ 3 ขั้นตอนแรก เมื่อโมเลกุลของซิเดอรอฟอร์ที่มีธาตุเหล็กจับอยู่ก่อนที่จะเข้ามายัง cytoplasm นั้น บริเวณ

โมเลกุลที่เป็น ligand ที่เชื่อมกับธาตุเหล็กจะถูกสลาย เช่น เอนไซม์ esterase จะเข้าทำปฏิกิริยากับ ซิเตอร์โรฟอร์กลุ่ม enterebactin หรือธาตุเหล็ก อาจถูกปลดปล่อยโดยปฏิกิริยาเคมีแบบ reduction เมื่อธาตุเหล็กถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลของซิเตอร์โรฟอร์แล้ว ส่วนที่เป็นโมเลกุลของซิเตอร์โรฟอร์เอง อาจถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปจากเดิมหรือไม่ก็ได้ แล้วจึงถูกปลดปล่อยออกสู่นอกเซลล์ ไปสู่สิ่งแวดล้อมเพื่อจับกับธาตุเหล็กต่อไป

ตัวอย่างกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างซิเตอร์โรเฟอร์

Streptomyces

แบคทีเรียกลุ่มนี้จะสร้างซิเตอร์โรฟอร์จำพวกที่เรียกว่า Ferrioxamine ซึ่งประกอบด้วย โมเลกุลของ diamines และ carboxylic acid ปัจจุบันพบว่า Ferrioxamine มีด้วยกันทั้งหมด 9 ชนิด ได้แก่ Ferrioxamine A₁, A₂, B, D₁, D₂, E, G และ I นอกจาก Ferrioxamine จะพบในสกุลอื่นๆ ด้วย เช่น *Arthrobacter*, *Chromobacterium*, *Pseudomonads* และ *Erwinia herbicola* เป็นต้น (Teaumroong and Boonkerd, 1996)



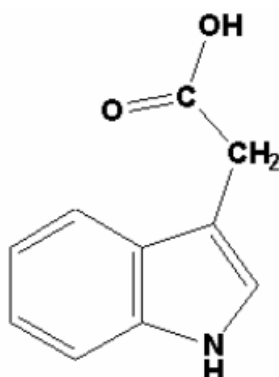
ภาพที่ 2.7 โครงสร้าง ferrioxamine B

Bacillus

แบคทีเรียในกลุ่มที่นิยมศึกษา ได้แก่ *Bacillus megaterium* ซึ่งสร้างซีเดอร์โรฟอร์ที่ชื่อ Schizokinen ส่วน *B. subtilis* นั้นสร้างซีเดอร์โรฟอร์ชื่อ DHB-glycine การนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์ด้วย Schizokinen พบว่ามีบทบาทร่วมกับซีเดอร์โรฟอร์กลุ่มอื่นด้วยเช่น Ferrioxamine และในขณะเดียวกัน DHB-glycine ก็มีบทบาทร่วมกับสารประกอบที่มีกลุ่มของ phenol ด้วย (Teaumroog and Boonkerd, 1996)

ฮอร์โมนพืช (phytohormones)

การผลิต phytohormones โดย PGPR เป็นกลไกที่สำคัญในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตของพืช โดยรายงานเกี่ยวกับการผลิต phytohormones จาก PGPR ส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นไปที่บทบาทของ phytohormones กลุ่มที่เรียกว่า Auxins ซึ่ง phytohormones ในกลุ่มของ Auxins ก็ได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งจะช่วยกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ (cell elongation), การแบ่งเซลล์ (cell division) และการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ (cell differentiation)

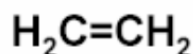


Indole-3-acetic Acid (Auxin)

ภาพที่ 2.8 โครงสร้าง indole-3-acetic acid (IAA)

เอทิลีน (Ethylene)

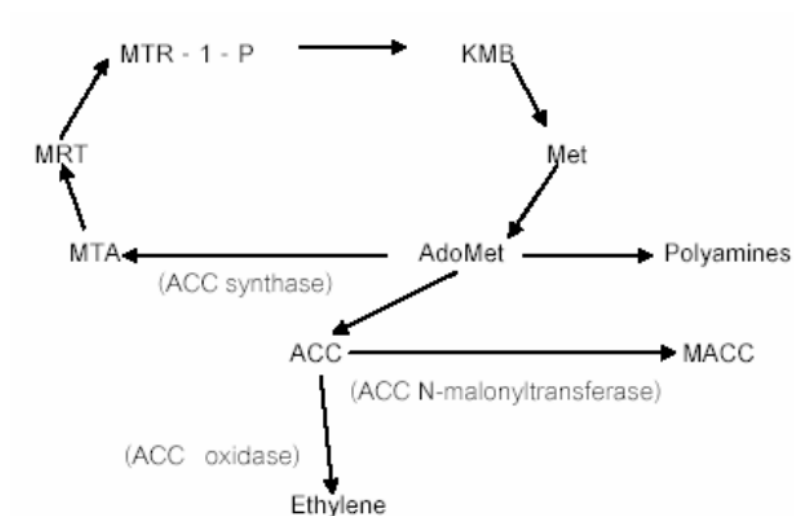
เอทิลีน (Ethylene) เป็นฮอร์โมนพืชเพียงตัวเดียวที่อยู่ในรูปแก๊ส โดยพืชสร้างขึ้นเพื่อใช้ควบคุมการเจริญเติบโตและการพัฒนาการต่างๆ เช่น การออกดอก การสุกของผล และมีผลต่อการเลื้อยและการร่วงของใบด้วย



ภาพที่ 2.9 โครงสร้างของเอทิลีน

วิถีการสังเคราะห์เอทิลีนเริ่มจากกรดอะมิโนเมไธโอนีน (Methionine) ทำปฏิกิริยากับ ATP เกิด S-adenosylmethionine (SAM) ต่อมา SAM จะเปลี่ยนเป็น 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) และ ACC จะสลายตัวเป็นเอทิลีน โดยกิจกรรมของเอนไซม์ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มแวคิวโอลคือ EFE (ethylene forming enzyme) จากการศึกษพบว่าขั้นตอนที่จำกัดอัตราการสังเคราะห์เอทิลีน คือขั้นตอนการสร้าง ACC จาก SAM ซึ่ง catalyse โดยเอนไซม์ ACC synthase ซึ่งถูกกระตุ้นโดยปัจจัยภายนอก เช่น การเกิดแผล การขาดน้ำ เป็นต้น และปัจจัยภายใน เช่น ปริมาณออกซิเจนสูง กระบวนการสุกของผล เป็นต้น

นอกจากนี้ PGPR บางชนิดยังสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชผ่านกลไกของเอนไซม์ 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase ได้อีกทางหนึ่งด้วย และยังพบว่าเมื่อ PGPR สังเคราะห์ออกซิเจนได้ในปริมาณสูง ก็จะมีการสังเคราะห์ เอนไซม์ ACC synthase สูงด้วยซึ่งทราบผลมาจากการที่พบปริมาณ ACC สูงขึ้นในพืชนั่นเอง หลังจากนั้น แบคทีเรียจะย่อย ACC โดยเอนไซม์ 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase แล้วเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย และ alpha-ketobutyrate และถ้าระดับของเอทิลีนมีปริมาณที่สูงเกินไปก็จะสามารถยับยั้งการงอกและสามารถยับยั้งการยืดยาวของรากพืชได้ และจากการที่แบคทีเรียสามารถย่อย ACC ได้ ดังนั้นระดับ ACC ก็จะต่ำลงจนทำให้อยู่ภายในระดับที่ไม่สามารถจะยับยั้งการเจริญของรากและการงอกได้นั่นเอง



Met = Methionine

AdoMet = adenosylmethionine

ACC = 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid

MTR = methylthioribose

MACC = malonyl ACC (inactive)

MTR-1-P = methylthioribose-1-phosphate

MTA = methylthioadenine

KMB = 2-keto-4-methylbutyrate

ภาพที่ 2.10 วิธีการสังเคราะห์เอทิลีน

ในขณะนี้ยังไม่มีหัวเชื้อ PGPR ที่ผลิตและใช้ในเชิงการค้าภายในประเทศไทย แต่มีรายงานการใช้ PGPR เป็นหัวเชื้อเชิงการค้าในต่างประเทศแล้วดังสรุปในตารางที่ 3 และมีรายงานการทดสอบและทดลองใช้ *Azotobacter* spp. และ *Azospirillum* spp. เป็นหัวเชื้อเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของพืชภายในประเทศไทยแล้ว

ตารางที่ 2.2 หัวเชื้อ Plant Growth Promoting Rhizobacteria เชิงการค้าที่ใช้ในต่างประเทศ

เชื้อ	ชื่อทางการค้า	เชื้อสาเหตุโรคพืช/โรค	ชนิดของพืช	การประยุกต์ใช้งาน
<i>Agrobacterium raiodbacter</i>	Galltrol-A	โรค Crown Gall ที่เกิดจาก เชื้อ <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	ไม้ผล, ถั่ว, ไม้ ประดับ	แบบ Cell suspension ใช้แช่กับเมล็ดพืช, ใช้ กับต้นกล้าพืช, กิ่งปัก ชำ, ราก, ลำต้น และใส่ ลงบนดิน
<i>Agrobacterium raiodbacter</i>	Nogall	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	ต้นไม้ใหญ่	แบบ Cell suspension ใช้แช่กับรากพืช
<i>Agrobacterium raiodbacter</i>	Diegall	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	ต้นไม้ใหญ่	แบบ Cell suspension ใช้แช่กับรากพืช
<i>Agrobacterium raiodbacter</i>	Norbac 84C	โรค Crown Gall ที่เกิดจาก เชื้อ <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	ไม้ผล, ถั่ว, ไม้ ประดับ	แบบ Cell suspension ใช้แช่กับรากพืชหรือลำ ต้น, ใช้จุ่มกับกิ่งปักชำ หรือใช้พ่น
<i>Bacillus subtilis</i>	Epic	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria</i> spp. และ <i>Aspergillus</i> spp. ซึ่งเป็นเชื้อโรคที่เข้าทำลาย รากพืช	ฝ้าย, พืชจำพวก ถั่ว	เป็นผงแบบแห้ง อาจใช้ ร่วมกับยาฆ่าเชื้อรา เพื่อใช้เป็น seed treatment
<i>Bacillus subtilis</i>	Kodiak	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria</i> spp. และ <i>Aspergillus</i> spp. ซึ่งเป็นเชื้อโรคที่เข้าทำลาย รากพืช	ฝ้าย, พืชจำพวก ถั่ว	เป็นผงแบบแห้ง อาจใช้ ร่วมกับยาฆ่าเชื้อรา
<i>Bacillus subtilis</i>	System 3	เชื้อที่เข้าทำลายต้นกล้า	ข้าวบาเลย์, ถั่วลิสง, ถั่วเหลือง, ฝ้าย, ข้าว	ใช้เป็น seed treatment ในกระบะปลูกพืช

ตารางที่ 2.2 หัวเชื้อ Plant Growth Promoting Rhizobacteria เชิงการค้าที่ใช้ในต่างประเทศ

เชื้อ	ชื่อทางการค้า	เชื้อสาเหตุโรคพืช/โรค	ชนิดของพืช	การประยุกต์ใช้งาน
<i>Burkholderia cepacia</i>	Blue circle	<i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> spp. และพวก nematodes	พืชผัก	ใช้เป็น seed treatment โดยผสมร่วมกับดินพืช หรือใช้ร่วมกันกับตอนให้น้ำ
<i>Burkholderia cepacia</i>	intercept	<i>Rhizoctonia solant</i> , <i>Fusarium</i> spp.	ข้าวโพด, ฝ้าย, พืชผัก	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	BlightBan A506	<i>Erwinia amylovora</i>	อัลมอลส์, แอปเปิ้ล, เชอร์รี่, ลูกแพร์, มันฝรั่ง, สเตอเบอร์รี่, ลูกพีช	Wettable powder ใช้หลังจากการเก็บเกี่ยวเกี่ยวกับพวกไม้ผล โดยอาจใช้แบบฉีดพ่น หรือใช้แช่ก็ได้
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Mycotsop	<i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria brassicola</i> , <i>Phomopsis</i> spp., <i>Botrytis</i> spp., <i>Botrytis</i> spp., <i>Pythium</i> spp., <i>Phytophthora</i> spp.	ไม้ประดับ, พืชผล	ใช้รดลงบนหน้าดิน, ใช้ฉีดพ่น หรือใช้ผสมร่วมกันกับระบบการให้น้ำ

ที่มา : Glick *et al.*, 1999

การทำการเกษตรของประเทศไทยตลอดระยะเวลา 50 กว่าปีที่ผ่านมา ได้ใช้พื้นที่ป่าไม้ไปมาก เป็นเหตุให้ปริมาณฝนตกลดน้อยลง และตกไม่ถูกต้องตามฤดูกาล ขาดการปรับปรุงบำรุงดินอย่างถูกต้อง นำมาซึ่งต้องใช้ปุ๋ยเคมีอย่างมากเพื่อเพิ่มผลผลิตให้เพียงพอับความต้องการของพลเมืองที่เพิ่มมากขึ้น เมื่อใส่ปุ๋ยเคมีมากเกินไป เป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต และก็จะทำให้ดินพีชอ่อนแอได้ นอกจากนี้ยังมีการใช้สารเคมีฆ่าแมลงและเชื้อโรคกันมากขึ้น ผลที่เกิดขึ้นคือดินเสื่อมโทรม ปลุกพีชไม่ขึ้น สารพิษตกค้างในผลผลิต ดิน น้ำ คน และสัตว์เจ็บป่วย คนทั่วโลกจึงหันมาสนใจทำการเกษตรแบบไม่ใช้สารเคมีหรือการเกษตรแบบอินทรีย์มากขึ้น และการประยุกต์ใช้ PGPR จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรอินทรีย์ และได้เข้ามามีบทบาทมากขึ้นในการทำการเกษตรแบบไม่ใช้สารเคมี แต่เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีการใช้หัวเชื้อ PGPR ในการเกษตรในประเทศไทยอย่างจริงจัง ดังนั้นการทดลอง และวิจัยเกี่ยวกับการช่วยประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของพืชจึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อที่จะเพิ่มความมั่นใจในการใช้ PGPR ในระบบการเกษตรที่แท้จริงนั่นเอง

มันฝรั่ง

การปลูก

ปัจจุบันคนไทยได้นิยมบริโภคอาหาร แบบตะวันตกเพิ่มมากขึ้นทั้งอาหารประเภทเร่งด่วน และอาหารว่างประเภทขนมเคี้ยว ดังนั้นมันฝรั่งซึ่งเป็นวัตถุดิบ หลักในการผลิตอาหารดังกล่าว เพิ่มปริมาณความต้องการบริโภคขึ้นอย่างรวดเร็วในสังคมไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปมันฝรั่งทอดแผ่นบางได้ขยายตัวอย่างรวดเร็ว และมีความต้องการมันฝรั่งเพื่อเป็นวัตถุดิบประมาณ ปีละ 124,100 ตัน มันฝรั่งจัดเป็นพืชเศรษฐกิจ ที่สำคัญในภาคเหนือ ให้ผลตอบแทนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพืชอื่น ๆ หลายชนิด โดยจะมีกำไรอยู่ระหว่าง 6,000 – 9,000 บาทต่อไร่ แหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ในจังหวัดเชียงใหม่ และตาก ซึ่งมีผลผลิตรวมกันประมาณร้อยละ 90 ของผลผลิตทั้งหมดนอกจากนี้ ยังมีการผลิตมันฝรั่งในจังหวัดลำพูน เชียงราย สกลนคร และ เลย การปลูกมันฝรั่งในประเทศไทยมี 2 ประเภท คือ มันฝรั่งสำหรับ

บริโภคน้ำมันฝรั่งแปรรูปส่งโรงงาน พื้นที่ปลูกรวมทั้งประเทศในปี 2541 ประมาณ 40,000 ไร่ และในจำนวน ร้อยละ 90 เป็นการผลิตมันฝรั่งเพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับแปรรูปส่งโรงงาน

ลักษณะทั่วไป

มันฝรั่งเป็นพืชล้มลุกตระกูลเดียวกับพริก มะเขือ มะเขือเทศ ยาสูบ ฯลฯ หัวมันฝรั่งเกิดจากส่วนของ

ลำต้น ทำหน้าที่สะสมอาหารและขยายพันธุ์ ซึ่งจะเริ่มสร้างหัวหลังปลูกไปแล้ว 1 – 3 สัปดาห์ โดยเฉลี่ยจะให้ผลผลิตระหว่าง 6 - 10 หัวต่อต้น ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและความอุดมสมบูรณ์ของดิน

ราก ต้นที่เจริญจากเมล็ดจริงจะมีระบบรากแก้วบอบบาง และรากแตกแขนง ส่วนต้นเจริญมาจากหัว จะมีแต่รากแขนงที่งอกงามจากโคนของแต่ละหน่อ และจากข้อของลำต้นที่อยู่ใต้ดิน

ลำต้น ต้นที่เจริญมาจากเมล็ดจริงจะมีลำต้นหลักเพียงต้นเดียว ส่วนตัวที่เจริญจากหัวจะมีหลายลำต้นหลัก ส่วนลำต้นแขนงจะแตกกิ่งออกมาจากลำต้น ลำต้นมันฝรั่ง จะมีลักษณะตั้งตรง สูงระหว่าง 50 - 100 เซนติเมตร เมื่อตัดตามขวางจะมีลักษณะกลมจนถึงเหลี่ยม สีของลำต้นโดยทั่วไปมีสีเขียวแต่อาจมีสีน้ำตาลแดงหรือม่วง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์

ไหล เกิดจากส่วนตาของลำต้นที่อยู่ใต้ดิน เจริญออกไปด้านข้าง ส่วนปลายของไหลจะเจริญเป็นหัว แต่ถ้าไหลโผล่พ้นดินขึ้นมาก็จะเจริญเป็นลำต้นมีใบปกติ

หัว เป็นส่วนของไหลหรือลำต้นใต้ดินที่เปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่สะสมอาหาร หัวมันฝรั่งจะมีตา ซึ่งเปรียบเสมือนเป็นข้อของลำต้น ซึ่งตานี้จะเจริญเป็นหน่อ และงอกเป็นลำต้นต่อไป ลักษณะหัวของมันฝรั่งจะมีตั้งแต่รูปร่างกลมถึงกลมรี และรูปร่างยาว มีผิวสีขาว เหลือง ส้มแดง หรือสีม่วง หากกลบดินไม่ดีปล่อยให้ผิวที่หัว มันฝรั่งถูกแสงแดดระยะหนึ่ง หัวจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว เนื้อในของหัวมันฝรั่งจะมีสีขาว เหลือง แดง และสีม่วง แล้วแต่สายพันธุ์ นอกจากนี้ที่หัวมันฝรั่งยังมีในสภาพดินที่ชื้น

หน่อ เจริญออกจากตาของหัวมันฝรั่ง หลังจากปลูกจะออกรากและ เจริญไปเป็นลำต้นต่อไป

ใบ มีลักษณะเป็นใบประกอบ ประกอบด้วยเส้นกลางใบ กับ ใบย่อยหลายคู่ กับหนึ่งใบยอด

ดอก เป็นดอกช่อ แต่ละก้านดอกจะแบ่งย่อยออกเป็น 2 ก้าน ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีเกสรตัวผู้ 5 อัน เกสรตัวเมีย 1 อัน กลีบดอกมี 5 กลีบ สีของดอกมีทั้งสีขาว น้ำเงิน แดง และม่วง

ผลและเมล็ด ผลมีลักษณะกลม คล้ายมะเขือเทศ มีสีเขียว บางพันธุ์อาจมีสีขาวเป็นจุดหรือเป็นแถบ จำนวนเมล็ดในผลหนึ่งอาจมีมากกว่า 200 เมล็ด

สภาพที่เหมาะสม

สภาพปลูกที่เหมาะสมจะมีผลอย่างมากต่อผลผลิตมันฝรั่งใน เขตหนาวจะให้ผลผลิตสูงกว่าในเขตร้อน เนื่องจากมีสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความยาวของวัน ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต และการสร้างหัวมันฝรั่ง

อุณหภูมิ มันฝรั่งเป็นพืชที่ชอบอาหารหนาวเย็น มันฝรั่งจะเจริญเติบโต ได้ดีในอุณหภูมิเฉลี่ยตลอดฤดูปลูกระหว่าง 15 – 18 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 21 องศาเซลเซียส จะมีการเจริญทางลำต้นอย่างรวดเร็วแต่การลงหัวจะน้อย และผลผลิตจะต่ำลงอย่างมากเมื่ออุณหภูมิสูงถึง 30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำกว่า 18 องศาเซลเซียสจะทำให้มันฝรั่งเติบโตช้าแต่การลงหัวจะเพิ่มมากขึ้น ดังนั้น การปลูกมันฝรั่งในฤดูฝน จึงจำเป็นต้องปลูกบนพื้นที่สูง ที่มีระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 800 เมตรขึ้นไป เพื่อให้มีอุณหภูมิต่ำพอที่มันฝรั่งจะลงหัว

ความยาวของวัน ช่วงความยาวของวันจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของมันฝรั่ง หากปลูกมันฝรั่งในฤดูหนาวที่กลางวันสั้น กลางคืนยาว จะลงหัวได้เร็ว ไหลจะสั้น ทรงพุ่มเล็ก และอายุแก่เร็ว ในสภาพวันยาว มันฝรั่งจะลงหัวช้า ไหลจะยาวขึ้น และการเจริญทางลำต้นมาก อายุเก็บเกี่ยวจะยืดออกไป

ดิน มันฝรั่งจะเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีการระบายน้ำดี อาจเป็นดิน ร่วนหรือดินร่วนปนทราย ระดับความเป็นกรดเป็นด่างของดิน (pH) ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 5.5 – 6.5 สภาพดินเหนียวจัดไม่เหมาะกับการปลูกมันฝรั่ง เพราะการระบายน้ำและอากาศไม่ดี เป็นอุปสรรคต่อการสร้างหัว

การปลูก

1. ฤดูปลูก

การปลูกมันฝรั่งในประเทศไทยแบ่งเป็น 2 ฤดู ดังนี้

1.1 ฤดูแล้ง เป็นฤดูปลูกมันฝรั่งในเขตพื้นที่ราบ ช่วงที่เหมาะสมควร ปลูกเดือนพฤศจิกายน ถึงกลางเดือนธันวาคม และเก็บเกี่ยวประมาณเดือนกุมภาพันธ์ – มีนาคม

1.2 ฤดูฝน เป็นฤดูการปลูกมันฝรั่งในเขตพื้นที่ภูเขาสูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 800 เมตรขึ้นไป ซึ่งเป็นเขตที่มีอุณหภูมิต่ำเหมาะกับการปลูกมันฝรั่ง การปลูกแบ่งเป็น 2 รุ่น คือ รุ่นหนึ่ง ปลูกเดือน มีนาคม – เมษายน เก็บเกี่ยวเดือนมิถุนายน - กรกฎาคม และรุ่นสอง ปลูกเดือน กรกฎาคม – สิงหาคม เก็บเกี่ยวเดือนตุลาคม-พฤศจิกายน

2. พันธุ์มันฝรั่ง

มันฝรั่งที่ปลูกในประเทศไทยนั้น ปัจจุบันมีอยู่ 2 ประเภทคือ มันฝรั่งบริโภคสด และมันฝรั่ง ส่งโรงงานแปรรูป ดังนั้น พันธุ์ที่ใช้ปลูกจึงแตกต่างกันตามวัตถุประสงค์ของการใช้ประโยชน์ พันธุ์มันฝรั่งที่มีการปลูกมากในปัจจุบันมี 3 พันธุ์ คือ

2.1 พันธุ์สปุนต้า (Spunta) เป็นพันธุ์สำหรับการบริโภคสดจัดเป็นพันธุ์เบาปานกลาง มีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 100 - 120 วัน เจริญเติบโตเร็ว ทรงต้นสูง ทรงพุ่มแน่น ใบเล็ก ทนแล้งได้ดี โคนต้นสีม่วง ดอกขาว หัวรูปร่างยาวและมีขนาดใหญ่ ผิวเรียบสีเหลือง ตาดี เนื้อสีเหลือง ให้ผลผลิตสูง

2.2 พันธุ์เคนเนเบค (Kennebec) เป็นพันธุ์สำหรับแปรรูปเป็นมันทอดแผ่นบาง (Potato Chip) จัดเป็นพันธุ์เบาปานกลาง มีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 100 - 120 วัน ใบใหญ่ ถ่มหนา ทนแล้งได้ดี ลักษณะหัวกลมรีรูปไข่ ผิวเรียบสีเหลืองอ่อน ตาดี เนื้อสีขาว ให้ผลผลิตสูงปานกลาง

2.3 พันธุ์แอตแลนติก (Atlantic) เป็นพันธุ์สำหรับการแปรรูปเช่นเดียวกับพันธุ์เคนเนเบค มีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 100 - 120 วัน ทรงต้นตั้งตรง พุ่มหนา ใบใหญ่สีเขียวเข้ม หัวกลมขนาดปานกลางถึงเล็กผิวสีเหลืองอ่อนเป็นร่างแหเล็กน้อย เนื้อสีขาวครีม ให้ผลผลิตสูง

3. การเตรียมพันธุ์

โดยทั่วไปการปลูกมันฝรั่งจะนิยมใช้หัวปลูก การจัดการเตรียมหัวพันธุ์ก่อนลงปลูกที่ถูกต้องเหมาะสมจึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะทำให้มันฝรั่งเจริญเติบโตดี และให้ผลผลิตสูง หัวพันธุ์มันฝรั่งหลังจากขุดเก็บเกี่ยวแล้วจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็น 4 ระยะ คือ

3.1 ระยะพักตัว ระยะนี้ตามบนหัวมันฝรั่งจะไม่แตกหน่อโดยปกติระยะพักตัวจะใช้เวลาประมาณ 12 - 15 สัปดาห์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น

- พันธุ์ มันฝรั่งพันธุ์เบา เช่น พันธุ์สปุนต้าจะพักตัวสั้นกว่าพันธุ์หนัก เช่น พันธุ์อัลฟา
- อายุหัวพันธุ์เมื่อเก็บเกี่ยว ถ้าเก็บเกี่ยวเมื่อยังไม่แก่เต็มที่ที่มีระยะพักตัวนานกว่าหัวพันธุ์เก็บเกี่ยวเมื่อแก่จัด
- หัวพันธุ์จากแปลงที่ปลูกในแหล่งอากาศร้อนจะพักตัวสั้นกว่าหัวพันธุ์ปลูกในแหล่งอากาศเย็น
- อุณหภูมิที่เก็บรักษาหัวพันธุ์ ถ้าเก็บในโรงเก็บที่อุณหภูมิสูงจะพักตัวสั้นกว่าหัวพันธุ์ที่เก็บไว้ในที่อุณหภูมิต่ำ
- สภาพของหัวพันธุ์ หัวพันธุ์ หัวพันธุ์ที่มีบาดแผลหรือกระทบกระเทือนจากการเก็บเกี่ยวและขนส่ง หัวพันธุ์ที่มีโรคแมลงเข้าทำลายจะพักตัวสั้นกว่าหัวพันธุ์ที่มีสภาพสมบูรณ์

3.2 ระยะเริ่มงอก เมื่อพันธุ์ระยะพักตัว ตาที่อยู่ปลายหัวจะเริ่มแตกหน่อเพียง 1 ตา ส่วนตาอื่น ๆ เริ่มแตก ดังนั้น ระยะที่สองนี้จึงไม่ควรนำไปปลูกเพราะจะเจริญเติบโตช้า และมักจะงอกเพียงลำต้นเดียว ทำให้ผลผลิตจำนวนหัวน้อย แต่หัวจะมีขนาดใหญ่

3.3 ระยะแตกหน่อข้าง เมื่อพันธุ์ระยะที่สอง ตาอื่น ๆ บนหัวจะเริ่มแตก หัวพันธุ์มันฝรั่งที่ผลิตใน เขตหนาวและเก็บรักษาในห้องเย็นจะมีช่วงระยะนี้ยาวนานกว่าหัวพันธุ์ที่ ผลิตในเขตร้อนและเก็บรักษาในสภาพอากาศร้อน ระยะนี้อาจกินเวลานานหลายเดือนพอควร เป็นระยะที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปปลูก ต้นมันฝรั่งจะเจริญเติบโตเร็วมีจำนวนต้นมากทำให้ได้หัวมาก ผลผลิตสูง

3.4 ระยะเสื่อมสภาพ หัวมันฝรั่งจะเหี่ยวและเสื่อมสภาพหน่อที่แตกออกมาจะผอมและยาว ไม่แข็งแรง และแตกกิ่งก้านมากบางครั้งจะเกิดลักษณะผิดปกติ คือเกิดหัวเล็กๆ ที่หน่อ ระยะสั้นไม่เหมาะสมที่จะนำไปปลูก เพราะจะได้ต้นที่อ่อนแอ

การจัดการหัวพันธุ์

หัวพันธุ์มันฝรั่งที่ปลูกในประเทศไทย ส่วนใหญ่จะนำเข้ามาจากต่างประเทศ หากเป็นพันธุ์จากประเทศในแถบยุโรป เช่น เนเธอร์แลนด์ สกอตแลนด์ เยอรมัน ซึ่งจะเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ในเดือนสิงหาคม - กันยายน เมื่อส่งมาปลูกในไทยในช่วงเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม หัวพันธุ์ที่นำเข้ามา ก็จะมีพันธุ์ระยะพักตัวพอดี กรณีที่หน่อยอดงอกงามออกมาแล้วควรจะปลิดทิ้งเพื่อกระตุ้นให้ตาข้างแตก แล้วนำหัวพันธุ์ไปวางฝึ้งเป็นชั้น ๆ หัวทับซ้อนกันไม่เกิน 2 - 3 ชั้น ฝึ้งในที่ร่มที่มีแสงสว่างแต่อย่าให้ถูกแดดโดยตรงภายใน 3 - 6 สัปดาห์หัวพันธุ์แตกหน่อจากตาต่างๆ รอบหัว เมื่อหน่อออกยาว 1 - 2 เซนติเมตร ก็สามารถนำไปปลูกได้ การปลูกมันฝรั่งนั้นสามารถปลูกทั้งหัว หรือผ่าหัวพันธุ์ออกเป็นชั้น ๆ การปลูกทั้งหัวจะมีข้อดี คือ จะมีอาหารสะสมที่จะช่วยเร่งการเจริญเติบโตได้ดีกว่า และผลผลิตจะสูงกว่าการปลูกด้วยหัวพันธุ์ที่ผ่าเป็นชั้น แต่ข้อเสีย คือ สิ้นเปลืองหัวพันธุ์มาก อาจถึงประมาณ 400 กิโลกรัมต่อไร่ แต่เมื่อผ่าหัวพันธุ์ปลูกจะใช้ประมาณ 100 - 150 กิโลกรัมเท่านั้น แต่การผ่าหัวพันธุ์ก็มีข้อเสีย คือ จะทำให้เชื้อโรคเข้าทำลายและเน่าเสียได้ง่าย มีโอกาสติดโรคจากหัวพันธุ์ที่เป็นโรคไปยังหัวพันธุ์ที่ดี โดยติดไปกับมิดที่ใช้ผ่าได้ง่าย ดังนั้นจึงควรปฏิบัติในการผ่าหัวพันธุ์มันฝรั่ง ดังนี้

1. เมื่อหัวพันธุ์เริ่มแตกตาข้างพอสังเกตเห็นได้ก็พร้อมที่จะนำไปผ่าได้ ควรผ่าหัวพันธุ์ก่อนปลูกอย่างน้อย 1 สัปดาห์ การผ่าใช้มีดคมชุบแอลกอฮอล์ หรือน้ำยาฆ่าเชื้อโรค ผ่ากลางหัวแบ่งครึ่งตามยาว โดยผ่าจากด้านท้ายไปด้านหัว จากนั้นตัดแบ่งเป็นชั้น ๆ ตามแนวยาวและแนวดิ่งให้ 1 ชั้นมีตาอยู่อย่างย่อย 1 ตา
2. หลังจากผ่าเสร็จแต่ละหัว ควรจุ่มใบมีดในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ หรือน้ำยาฆ่าเชื้อโรค ก่อนที่จะผ่าหัวต่อไป เพื่อป้องกันการติดโรค
3. นำหัวพันธุ์ที่ผ่าแล้วไปแช่น้ำยาฆ่าเชื้อรา เช่น สารละลายเมตาเล็กซิล (เอพรอน) อัตราส่วน 1 ช้อนแกง ผสมน้ำ 20 ลิตร แช่นาน 5 นาที แล้วนำไปฝึ้งให้แห้ง
4. นำหัวพันธุ์ที่ฝึ้งแห้งแล้วไปเพาะในแปลงเพาะที่ใช้ทรายหรือขี้เถ้ากลบเป็นวัสดุเพาะ โดยเกลี่ยทรายให้เรียบหนาประมาณ 3-5 เซนติเมตร นำหัวพันธุ์มาวางเรียงบนแปลงเพาะ โดยวางส่วนตา

อยู่ด้านล่างกลบด้วยทรายบาง ๆ หนาประมาณ 1 เซนติเมตร รดน้ำให้ชื้นอยู่เสมอระวังอย่าให้เปียกแฉะหรือน้ำขัง หลังจากชำประมาณ 1 สัปดาห์ หน่อจะงอกยาว 1 - 2 เซนติเมตร นำไปปลูกได้

5. หากไม่นำหัวพันธุ์ที่ผ่าแล้วไปชำในแปลงเพาะ อาจนำไปเก็บในลังไม้หรือกระสอบป่าน โดยใส่เพียงครึ่งกระสอบเพื่อไม่ให้เบียดชิดกันแน่นเกินไปแล้วคลุมด้วยกระสอบป่านที่ขึ้น ๆ ระวังอย่าให้อุณหภูมิของภาชนะที่บรรจุหัวพันธุ์สูงเกินไป จะทำให้เน่าเสียได้ง่าย

4. การเตรียมดิน

ไถดินให้ลึกอย่างน้อย 20 เซนติเมตร ตากดินไว้ก่อนปลูก 10 - 15 วัน หากดินเป็นกรดมาก ควร ใช้โดโลไมท์หว่านให้ทั่วแปลง อัตรา 200 - 500 กิโลกรัม/ไร่ ขึ้นอยู่กับระดับความเป็นกรดของดิน จากนั้นไถพรวนอีก 2-3 ครั้ง เพื่อให้ดินร่วนซุยดี จึงยกร่องหรือยกแปลงปลูก

5. วิธีปลูก

สามารถปลูกได้ 3 วิธีคือ

5.1 ปลูกแบบแถวเดี่ยวไม่ยกร่อง วิธีนี้จะขุดร่องยาวตามแนวแปลงลึกประมาณ 1 หน้าจอบ ระยะระหว่างร่อง 75 - 90 เซนติเมตร ควรใส่ปุ๋ยคอกและปุ๋ยเคมีรองกันหลุมก่อนปลูก โดยโรยไม่ร่องแล้วคลุกเคล้ากับดิน วางหัวพันธุ์ในร่องห่างกัน 20 - 30 เซนติเมตร แล้วกลบดินหนาประมาณ 5 - 10 เซนติเมตร ขึ้นอยู่กับความชื้นของดินและอุณหภูมิของอากาศ หากดินแห้งและอุณหภูมิสูง ควรปลูกให้ลึก วิธีการปลูกแบบนี้ อาจใช้รถไถเดินตามขนาดเล็ก ตัดผ่านหัวหมูไถเปิดร่อง และไถกลบร่องหลังวางหัวพันธุ์แล้วก็ได้ จะช่วยประหยัดเวลาและแรงงาน เกษตรกรที่อำเภอพบพระ จังหวัดตาก นิยมปลูกด้วยวิธีนี้

5.2 ปลูกแบบแถวเดี่ยวยกร่อง วิธีนี้จะขุดยกร่องให้สูงขึ้นสันร่องสูงประมาณ 20 เซนติเมตร ระยะระหว่างร่องประมาณ 75 - 90 เซนติเมตร ขุดหลุมปลูกบนสันร่องห่างกัน 20 - 30 เซนติเมตร ควรใส่ปุ๋ยคอกและปุ๋ยเคมีรองกันหลุมเช่นเดียวกับวิธีที่ 1 วางหัวพันธุ์ลงในหลุมแล้วกลบดินหนา 5 - 10 เซนติเมตร

5.3 ยกแปลงปลูกแบบแถวคู่ วิธีนี้จะยกแปลงปลูกขนาดกว้าง 1 - 1.2 เมตร ยาวตามพื้นที่ ขุดหลุมปลูกแถวคู่บนหลังแปลง ระยะระหว่างแถว 40 - 80 เซนติเมตร ระยะระหว่างหลุม 30 - 40

เซนติเมตรใส่ปุ๋ยรองกันหลุมและกลบดินเช่นเดียวกับ 2 วิธีแรกวิธีนี้นิยมปลูกโดยเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่

การปลูกมันฝรั่งทั้ง 3 วิธีนี้ เกษตรกรสามารถเลือกแบบใดแบบหนึ่งได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความชำนาญ และควรพิจารณาว่าจะนำเครื่องจักรกลทุ่นแรงมาช่วยหรือไม่ นับตั้งแต่การยกร่องปลูก การพรวนดินพูนโคน การใช้เครื่องเก็บเกี่ยว ซึ่งวิธีการปลูกแถวเดี่ยว ทั้งแบบปลูกในร่องและปลูกแบบยกร่องจะสะดวกต่อการใช้เครื่องมือจักรกล สำหรับการเตรียมดินและความลึกของการปลูก มีข้อความคำนึงถึง คือ สันร่องควรมีความกว้างค่อนข้างมาก และปลายสันร่องโค้งมนซึ่งจะช่วยให้หัวมันฝรั่งมีขนาดใหญ่ และควรวางหัวพันธุ์ให้อยู่สูงกว่าระดับท้องร่อง เพื่อว่ากรณีที่มือน้ำขังในร่องหัวมันฝรั่งจะไม่แช่อยู่ในน้ำ

การปฏิบัติดูแลรักษา

1. การใส่ปุ๋ย การใส่ปุ๋ยมันฝรั่งควรใส่ทั้งปุ๋ยคอกและปุ๋ยเคมีการใส่ปุ๋ยควรคำนึง ความอุดมสมบูรณ์ของดินที่ใช้ปลูกมันฝรั่งว่ามีธาตุอาหารอยู่แล้วมากน้อยเพียงใด โดยการนำดินไปตรวจวิเคราะห์ แล้วจึงพิจารณาใช้ชนิดและอัตราปุ๋ยที่เหมาะสม ตามค่าวิเคราะห์ดิน

โดยทั่วไปแล้ว ควรแบ่งการใส่ปุ๋ยให้มันฝรั่งเป็น 3 ครั้ง ดังนี้

ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 100 กิโลกรัม/ไร่ โดยใส่รองกันหลุมก่อนปลูก

ครั้งที่ 2 เมื่อมันฝรั่งอายุได้ 15 - 20 วัน ใส่ปุ๋ยยูเรียอัตรา 25 กิโลกรัม/ไร่ โดยใส่เป็นแถวข้างต้นพร้อมกับพูนดินกลบโคน

ครั้งที่ 3 เมื่อมันฝรั่งอายุได้ 30 วัน ใส่ปุ๋ยโปตัสเซียมซัลเฟต อัตรา 25 กิโลกรัม/ไร่ โดยใส่โรยเป็นแถวพร้อมกับพูนดินกลบโคนอีกครั้งหนึ่ง

ปุ๋ยไนโตรเจน ช่วยเร่งการเจริญเติบโตทางลำต้น ถ้าใส่มากเกินไปจะเหี่ยวใบ ต้นมันฝรั่งจะแก่ช้าลง การลงหัวจะช้าด้วย หัวมันฝรั่งจะมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งต่ำ มีผิวบาง ถลอกได้ง่ายเวลาขุดเก็บเกี่ยว และมีอายุการเก็บรักษาได้ไม่นาน

ปุ๋ยฟอสฟอรัส ช่วยเร่งการพัฒนาและการเจริญเติบโตของลำต้นและราก เร่งการลงหัว และช่วยเพิ่มจำนวนหัวต่อต้น

ปุ๋ยโปตัสเซียม ช่วยในการดูดซึมและการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารการสะสมแป้งในหัว ถ้าใส่มากเกินไป อาจมีผลต่อคุณภาพของหัว ทำให้มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งต่ำ โดยเฉพาะปุ๋ยที่อยู่ในรูปคลอไรด์ หรือโปตัสเซียมคลอไรด์ ดินที่เป็นกรด มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างหรือค่า pH ต่ำกว่า 4 อาจทำให้ต้นมันฝรั่ง ขาดธาตุแคลเซียมกับแมกเนเซียม ซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญของหน่อ ควรใส่ปุ๋ยโดโลไมท์ ช่วงเตรียม ดินก่อนปลูกอย่างน้อย 1 เดือน

2. การพูนโคน คือ การขุดดินบริเวณกลางระหว่างแถวต้นมันฝรั่งขึ้นมากลบที่โคนต้น ควรทำอย่างน้อย 2 ครั้ง พร้อมกับการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 และ 3 ให้ดินที่กลบโคนต้นสูงประมาณ 20-25 เซนติเมตร การพูนโคนมีความสำคัญต่อผลผลิตของมันฝรั่ง เนื่องจากหัวมันฝรั่งเกิดจากลำต้นใต้ดินที่เรียกว่าไหล ซึ่งงอกออกมาจากส่วนโคนของลำต้น ตรงส่วนปลายของไหลนี้จะพองตัวออกทำหน้าที่เก็บสะสมอาหารเป็นหัวมันฝรั่ง แต่ถ้าไหลนี้เกิดโผล่พ้นดินขึ้นมาก็คงจะเจริญเป็นลำต้นมีใบตามปกติ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องพูนดินกลบโคนต้นเพื่อให้มีการลงหัวดีรวมทั้ง เป็นการป้องกันไม่ให้หัวมันฝรั่งถูกแสงแดด ซึ่งจะทำให้หัวเกิดสีเขียว ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดหรือโรงงาน

3. การให้น้ำ มันฝรั่งเป็นพืชที่ต้องการน้ำสม่ำเสมอ ความถี่ของการให้น้ำจะ ผันแปรตามระยะการเจริญเติบโตของมันฝรั่ง ในระยะแรกหลังจากปลูกมันฝรั่งต้องการน้ำน้อย และจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อต้นเจริญเติบโตคลุมดินเต็มที่ และต้องการปริมาณน้ำมากจนต้นฝรั่งแก่ดังนั้นช่วงแรกปลูกควรให้น้ำปริมาณ น้อยเพียงพอแก่การงอกเท่านั้นถ้าน้ำมากเกินไปอาจทำให้หัวพันธุ์ที่ปลูกเน่าเสีย หลังมันฝรั่งงอกแล้วให้น้ำปริมาณมากขึ้นและสม่ำเสมอ หลังจากที่มีมันฝรั่ง ลงหัวแล้วถ้าได้รับน้ำไม่สม่ำเสมอจะทำให้หัวที่มีลักษณะผิดปกติ การให้น้ำโดยทั่วไป ใช้วิธีปล่อยน้ำไปตามร่องให้น้ำไหลซึมไปสู่บริเวณราก เกษตรกรอาจช่วยตัดกรดได้ ให้ดินมีความชื้นพอเหมาะ ไม่แห้งหรือแฉะเกินไป ทำให้ผิวไม่สวยและมีโอกาสเน่าเสียได้ง่าย เมื่อใกล้ช่วงเก็บเกี่ยวควรงดให้น้ำก่อนขุดประมาณ 2 สัปดาห์

4. การกำจัดวัชพืช ควรทำการกำจัดวัชพืชไปพร้อมกับการใส่ปุ๋ยและพูนโคน การพ่น สารเคมีคุมการงอกของเมล็ดวัชพืช เช่น เมทริบูซิน (เซ็งคอร์) ฉีดพ่นหลังจากปลูกมันฝรั่งเสร็จก่อนงอก จะลดปริมาณวัชพืชลงได้มาก ช่วงที่มันฝรั่งลงหัวแล้วไม่ควรพรวนดินกำจัดวัชพืช จะทำให้หัวมันฝรั่งได้รับการกระทบกระเทือน ทำให้หัวเกิดรอยแผลได้

5. การเก็บเกี่ยว อายุการเก็บเกี่ยวมันฝรั่งจะขึ้นอยู่กับพันธุ์ เช่น พันธุ์เคนนี่เบค พันธุ์แอตแลนติก และพันธุ์สปุนต้า ซึ่งเป็นพันธุ์ใบปานกลางจะมีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 100 - 120 วัน ตันมันฝรั่งที่แก่ใบจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ลำต้นจะล้มเอนราบไปกับพื้นดิน ควรขุดมันฝรั่งเมื่อแก่จัดเต็มที่เมื่อลำต้นและใบเริ่มแห้งตายเท่านั้น

6. การป้องกันกำจัดโรคแมลง

โรคและแมลงที่เป็นศัตรูของมันฝรั่งมีมากมายหลายชนิด แต่จะกล่าวถึงศัตรูที่สำคัญ ๆ ดังนี้

โรคใบไหม้

ลักษณะอาการ

เริ่มแรกแผลบนใบเป็นจุดช้ำน้ำน้ำ มีลักษณะกลม จะลุกลามขยายเป็นแผลใหญ่ ตรงกลางแผลแห้งสีน้ำตาล ขอบแผลเปื่อยขึ้นสีดำ เนื้อเยื่อใบรอบ ๆ ขอบแผลมีสีเหลืองซีดและน้ำ ในสภาพอากาศชื้นจะปรากฏเส้นใยและสปอร์สีขาวหรือเทาที่วงรอบนอกของแผลด้านท้องใบ แผลจะเริ่มปรากฏตรงปลายหรือริม ๆ ขอบใบ ขนาดแตกต่างกันไปตั้งแต่ 2 - 3 มิลลิเมตร ถึง 3 - 4 เซนติเมตร กรณีที่เป็นโรครุนแรงใบจะแห้งและดำ จะเกิดแผลเน่าแห้งสีน้ำตาลแก่หรือสีดำตามแนวของลำต้นและกิ่งก้าน เมื่อเป็นมากจะหักพับและแห้งตาย

สาเหตุของโรค

และการแพร่ระบาด เกิดจากเชื้อราไฟทอปทอรา ซึ่งอาศัยอยู่ในเศษ ซากพืชที่เป็นโรคและต้นพืชที่หลงเหลือจากการเก็บเกี่ยว การระบาดเกิดจากสปอร์ถูกพัดพาหรือถูกน้ำให้แพร่กระจายไปโดยลม น้ำฝน แมลง และเครื่องมือกลกรรม เป็นต้น

การป้องกันกำจัด

1. หลีกเลี่ยงการปลูกพืชลงในแปลงเก่าที่เคยมีโรคระบาด หรือใกล้กับแปลงปลูกพริกและมะเขือเทศ
2. ไม่ควรปล่อยให้วัชพืช หรือต้นที่ออกขึ้นมาเองหลังเก็บเกี่ยวแล้วหลงเหลืออยู่ในแปลง
3. รักษาแปลงปลูกให้สะอาดอยู่เสมอ โดยเก็บหรือทำลายเศษซากพืชที่เคยเป็นโรคให้หมด โดยการเผาไฟหรือฝังดินลึก ๆ

4. การใช้สารเคมีควรเน้นหนักไปในการป้องกันการเกิดโรคหรือ ดิดเชื้อ ควรเริ่มพ่นเมื่อพืชมีขนาด 15-30 เซนติเมตร อย่างน้อย 10 วัน ก่อนที่โรคจะเกิดขึ้น โดยพ่นทุก ๆ 7-10 วัน หรือ 3-5 วันต่อครั้งเมื่ออากาศเริ่มชื้น หมอกน้ำค้างจัดหรือฝนชุก และมีการระบาดของรุนแรง จากนั้นให้พ่นติดต่อกันไปจนเก็บเกี่ยว สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ได้ผลดี เช่น โพรพิเนบ เมตาแซกซิล เอฟโพโซท์ อะลูมินัม แมนโคเซ็บ มาเน็บ ซีเน็บและคอปเปอร์ออกไซด์ คลอไรด์

ส่วนโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เช่น โรคเหี่ยว และโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสทำให้ใบต่างและต้นแคระแกรน ยังไม่มียาป้องกันกำจัดที่ได้ผลดี การควบคุมโรค คือ ถ้าพบต้นเป็นโรคให้ถอนทิ้งทันที แล้งนำไปฝังหรือเผาทำลาย สำหรับโรคที่เกิดจากไวรัสควรพ่นสารฆ่าแมลง เพื่อกำจัดเพลี้ยอ่อนที่เป็นพาหะของโรค การควบคุมแมลง พวกเพลี้ยอ่อน พ่นด้วยสารคาร์บาริล (เซพวิน 85) สลับกับคาร์โบซัลเฟน (พอสซ์) ทุก 10 วัน ถ้ามีหนอนชอนใบและเพลี้ยไฟระบาด ควรพ่นด้วยสารฆ่าแมลงอิมิดาโคลพริค (คอนฟิเตอร์ 100 เอสแอล) สลับไซเพอร์เมทริน/ไพฟาโลน (พาร์ซอน) ฉีดพ่นทุก ๆ 5-7 วัน

ไส้เดือนฝอยรากปม

ลักษณะอาการ

ไส้เดือนฝอยจะเข้าทำลายรากก่อนจนเกิดรากปม แล้วจึงเข้าทำลายห้วงมันฝรั่งเกิดปุ่มปมเหมือนหูด ทำให้ห้วมีลักษณะบิดเบี้ยว เกษตรกรนิยมเรียกว่า โรคหูด สาเหตุและการแพร่ระบาด เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม เผลอลอยไต่ดิน โดยมีน้ำเป็นตัวพัดพาไปพบมากในบริเวณที่ดินการระบายน้ำไม่ดี ไส้เดือนฝอยจะอาศัยอยู่ตามพืชมากมายหลายชนิด เช่น มะเขือเทศ คื่นช่าย พริก กระหล่ำปลี และวัชพืช เช่น ผักเผ็ดแมว ไทรงheng หญ้ายาว ฯลฯ การทิ้งห้วงมันที่เป็นโรคไว้บนแปลงจะทำให้การแพร่ระบาดของ ไส้เดือนฝอยรากปมออกไปได้เรื่อย ๆ

การป้องกันกำจัด

1. ดูแลรักษาแปลงให้สะอาด หมั่นกำจัดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของไส้เดือนฝอยรากปม และเก็บห้วงมันฝรั่งที่เป็นโรคหูดออกนอกแปลง
2. ไถพรวนดินให้ดีและลึก และควรไถตากดินทิ้งไว้ระยะหนึ่งก่อนทำการปลูก

3. ปลุกพืชที่ไม่เป็นพืชอาศัยของไส้เดือนฝอยรากปม หมุนเวียนเพื่อลดปริมาณของไส้เดือนฝอย
4. การใช้สารเคมี ควรใช้ด้วยระมัดระวัง สารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัด ไส้เดือนฝอยรากปมมีหลายชนิด เช่น รักบี้ ไวเดท เป็นต้น

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

สืปศักดิ์ สนธิรัตน์ (1996) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ในการเข้าทำลายไข่ไส้เดือนฝอยรากปม กับ enzyme activity ของเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* 5 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ที่ทำลายไข่ไส้เดือนฝอย 100 เปอร์เซ็นต์ 4 สายพันธุ์ คือ AK 3-09 AK6-03 NK 1-14 NK 1-15 สายพันธุ์ที่ทำลายไข่ 66 เปอร์เซ็นต์ คือ NK 1-12 เปรียบเทียบกับเชื้อรา *Penicillium turbatum* สายพันธุ์ที่ไม่ทำลายไข่เลย พบว่า *P. lilacinus* ทุกสายพันธุ์สร้างเอนไซม์ chitinase ได้ แต่ *Penicillium turbatum* ไม่สร้างเอนไซม์นี้ เชื้อราสายพันธุ์ที่ทำลายไข่ 100 เปอร์เซ็นต์ สร้าง chitinase ได้น้อยกว่าเชื้อสายพันธุ์ที่ทำลายไข่ 66.6 เปอร์เซ็นต์ 3.3-4.0 แต่สร้าง protease และ glucoamylase ได้มากกว่าสายพันธุ์ที่ทำลายไข่ 66 เปอร์เซ็นต์ 1.2-4.2 และ 20-120 เท่าตามลำดับ

มัทนา วานิชย์ และคณะ (2007) ได้ศึกษาศักยภาพของเชื้อรา 3 กลุ่ม คือ *Verticillium* spp., *Pleurotus* spp. (*P. abalones*, *P. ostreatus* และ *P. sajor-caju*) และ *Omphalotus* sp. ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยนำ culture filtrate ที่ความเข้มข้น 50 % และ 80% ของเชื้อรา 3 กลุ่ม ที่เลี้ยงบนอาหารเหลวต่างชนิดกัน ทดสอบการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) และการฟักออกของกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม พบว่า culture filtrate ความเข้มข้นความ 50 % และ 80% ของเชื้อราในกลุ่ม *Omphalotus* ทุกไอโซเลต ที่เลี้ยงในอาหาร potato dextrose broth (PDB) และ yeast malt glucose (YMG) มีเปอร์เซ็นต์การตายของ J2 มากที่สุด (100%) ส่วนเชื้อราในกลุ่ม *Verticillium* spp. พบว่า filtrate ความเข้มข้น 50 % และ 80% ของไอโซเลต 11, 60 ในอาหาร PDB และไม่มีเปอร์เซ็นต์การตายของ J2 ไอโซเลต 11, 34 ในอาหาร Czapek dox broth (Cz) มีเปอร์เซ็นต์การตายของ J2 ปรากฏผลชัดเจนที่ เวลา 72 ชั่วโมง (17-47%) ส่วนไอโซเลต 12 ในอาหาร Cz ปรากฏผลชัดเจน ที่เวลา 96 ชั่วโมง (17, 37% ตามลำดับ) และเฉพาะ filtrate 80%

ของไอโซเลต 21 ในอาหาร PDB ปรากฏผลชัดเจนที่เวลา 72 ชั่วโมง (37%) ส่วนเชื้อราในกลุ่ม *Pleurotus* spp. พบว่า filtrate ทั้ง 50 และ 80% ของเชื้อ *P. ostreatus* ทำให้ J2 ตายมาก ปรากฏผลชัดเจน ที่ 48 ชั่วโมง (27, 77%) ส่วน *P. abalones* และ *P. sajor-caju* ปรากฏผลการตาย ของ J2 ที่เวลา 72 ชั่วโมง (17 - 40%) ส่วนการทดสอบ culture filtrate กับการออกของกลุ่มไข่ พบว่า culture filtrate 50% ของเชื้อราทั้ง 3 กลุ่ม ทำให้การฟักของกลุ่มไข่ลดลงมากที่สุดที่ 96 ชั่วโมง (ลดลง 59-90%) โดยที่ culture filtrate ของเชื้อรา *Verticillium* spp. ไอโซเลต 21 ในอาหาร PDB และ Cz และไอโซเลต 60 ในอาหาร Cz ของเชื้อราในกลุ่ม *Omphalotus* sp. ไอโซเลต PW1 ในอาหาร PDB และ YMG และของเชื้อรา *P. ostreatus* และ *P. sajor-caju* ในอาหาร PDB มี เปอร์เซ็นต์การฟักของกลุ่มไข่ลดลงมากที่สุด

พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์ และคณะ (2544) ได้ศึกษาการควบคุมทางชีววิธีในไส้เดือนฝอย *M. incognita* ของมะเขือเทศโดยราออบัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรีย โดยเก็บตัวอย่างดินจากแปลง มะเขือเทศ 5 แหล่ง คือ จังหวัดนครปฐม นครราชสีมา ชลบุรี เพชรบุรี และหนองคาย นำมาแยก สปอร์ราออบัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา พบว่ามี 11 ชนิดที่สามารถคือ *Acaulospora scrobiculata* 1, *Acaulospora scrobiculata* 2, *Glomus* sp.1, *Glomus* sp.2, *Glomus* sp.3, *Glomus fasciculatum*, *Glomus geosporum*, *Glomus leptotichum*, *Glomus occultum*, *Scutellospora erythropia* และ unknown นอกจากนั้นยังทำการแยกแบคทีเรียจากผิวของสปอร์ของราไมคอร์ไรซา ได้ทั้งหมด 29 ไอโซเลต จากดินบริเวณรอบๆ รากมะเขือเทศและจากรากมะเขือเทศได้ 35 ไอโซเลต ผลของ แบคทีเรียบริเวณดินรอบๆ ราก Plant Health Promoting Rhizobacteria (PHPR) ต่อการเจริญและ ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในต้นมะเขือเทศ พบว่าแบคทีเรียในดินบริเวณรอบๆ ราก ไอโซเลตที่ 9 สามารถลดการเกิดปมจากไส้เดือนฝอยได้มากที่สุด โดยมีดัชนีการเข้าทำลาย 25 เปอร์เซ็นต์ มีความสูง น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นมากกว่าต้นที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ และต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยิ่ง ผลของแบคทีเรียรอบผิวสปอร์ของของราไมคอร์ไรซา Mycorrhiza Helper Bacteria (MHB) ต่อ มะเขือเทศพบว่า *Acinetobacter baumannii* สามารถลดการเกิดปมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีดัชนีการเข้าทำลาย 40 เปอร์เซ็นต์ มีความสูง น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นมากกว่าต้นที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างราไมคอร์ไรซา PHPR และ MHB ต่อการเจริญ

และการควบคุมไส้เดือนฝอยของมะเขือเทศ พบว่าการปลูกเชื้อจุลินทรีย์ชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงเชื้อเดียว ทำให้มะเขือเทศมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าที่ไม่ปลูกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ การปลูกเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิดร่วมกัน มีแนวโน้มที่ทำให้การเจริญของต้นมะเขือเทศดีขึ้น และลดการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมมากกว่า control ส่วนการปลูกเชื้อจุลินทรีย์ 3 ชนิดร่วมกัน ไม่มีผลต่อการเจริญของมะเขือเทศแต่ลดการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม

สืบทักดิ์ สนธิรัตน์ (2549) ได้ศึกษาผลของสารสกัดและ root exudates จากพืชบางชนิด ได้แก่ สะเดา ดาวเรือง สาบเสือ ละหุ่ง พิกุล ยี่โถ ประทัดจีน เลี่ยน และยูคาลิปตัส ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 1:1 มีความเป็นพิษสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้น 1:10 การใช้เวลา 24 ชั่วโมงทำ immersion test มีความเป็นพิษต่อไส้เดือนฝอยสูงกว่าเวลา 12 ชั่วโมง การทดสอบประสิทธิภาพ root exudate ของดาวเรืองและสาบเสือ ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ มีความเป็นพิษค่อนข้างสูง มีระดับการเกิดปมเพียง 0.4 แต่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ ไม่ได้ผล การทดสอบสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์โดยวิธีราดดิน ที่ความเข้มข้น 1:1 มีความเป็นพิษต่อไส้เดือนฝอยสูงมีระดับการเกิดปมเพียง 0.2-0.4 ความเข้มข้นต่ำกว่านี้ไม่ได้ผล

Lian และคณะ (2007) ได้ศึกษาบทบาทและ mechanism ของเอนไซม์ proteases จาก *Bacillus* sp. ซึ่งเป็น rhizobacteria ในการควบคุม nematode โดยแยก *Bacillus* sp. strain RH219 จากดิน พบว่าเอนไซม์ proteases Apr219 ที่หลั่งออกมาออกเซลล์มีคุณสมบัติในการทำลาย cuticle ของ nematode โดย (protease activity units: 930 U ml⁻¹ ที่ 37 °C, pH 7.0) ฆ่าไส้เดือนฝอยได้ 73% ภายใน 24 ชั่วโมง และหลังจากนั้น 48 ชั่วโมง ฆ่าไส้เดือนฝอยได้ 97% นอกจากนี้ยังพบว่าเอนไซม์ proteases นี้มีความคล้ายคลึงกับเอนไซม์ proteases ที่สร้างจาก *Brevibacillus laterosporus* strain G4 และ *Bacillus nematocida*

Siddiqui และคณะ (2005) ได้ศึกษาเอนไซม์ proteases หลั่งออกมาออกเซลล์ของ *Pseudomonas fluorescens* CHA0 ที่มีวาทะที่ GacA-controlled aprA gene (encoding the major extra-cellular protease) หรือ gacA regulatory gene พบว่ามีคุณสมบัติในการควบคุมทาง

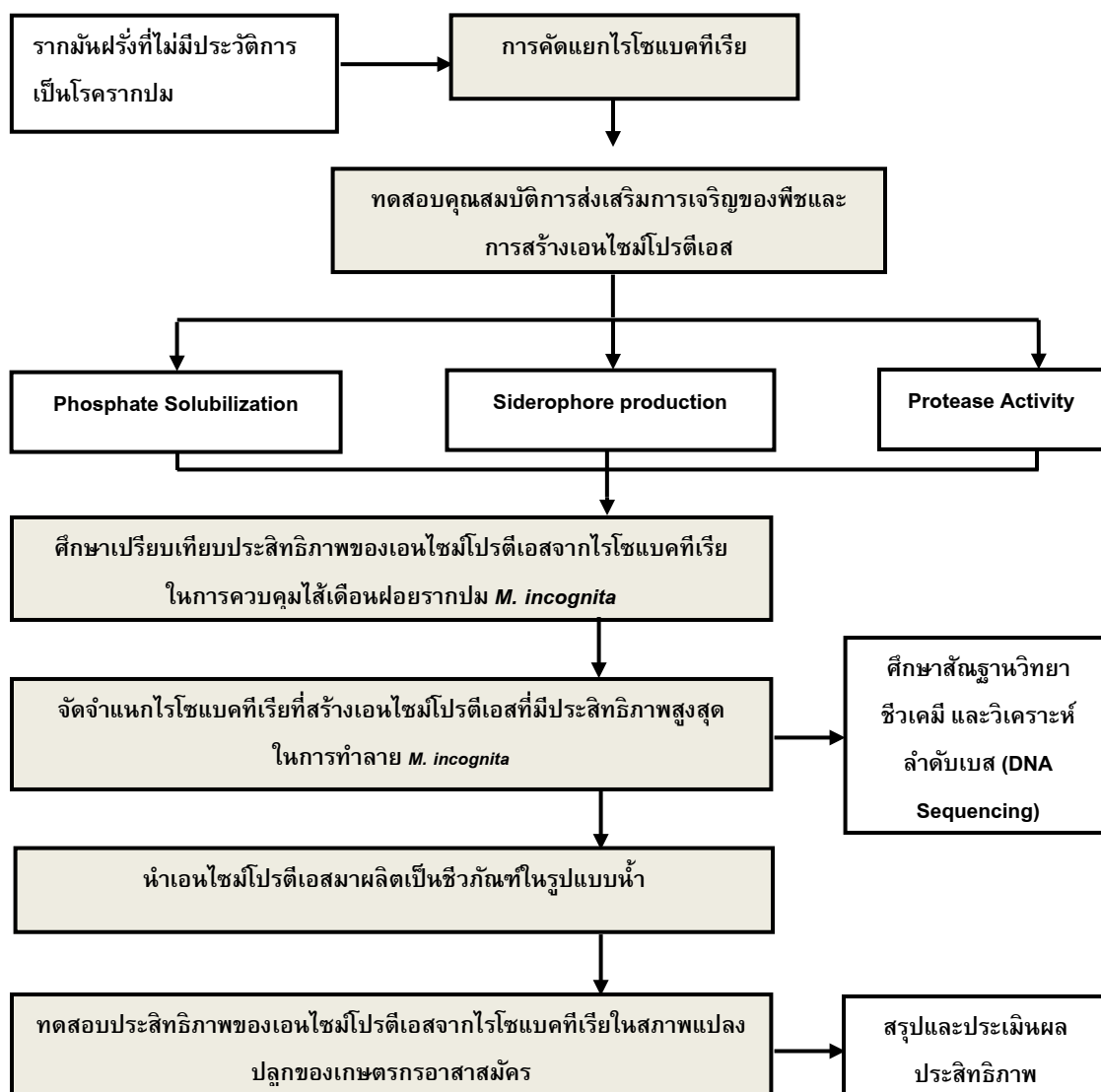
ชีววิธีต่อ root-knot nematode *M. incognita* ที่เข้าทำลายต้นถั่วเหลือง โดย Culture supernatants ของ strain CHA0 สามารถทำลายไข่และตัวอ่อนระยะ juveniles ของ *M. incognita* ดังนั้น AprA protease จึงมีความเหมาะสมในการนำมาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมโดยชีววิธี

สมมติฐานการวิจัย

เอนไซม์โปรตีเอสจากไรโซแบคทีเรียที่แยกจากดินรอบรากพืช มีประสิทธิภาพในการทำลายไข่และตัวอ่อนระยะ J2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* อีกทั้งเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและสะดวกแก่การนำไปประยุกต์เป็นชีวภัณฑ์ เพื่อใช้ในพื้นที่เกษตรกรรม

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

การคัดเลือกไรโซแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์โปรตีเอสเพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* และการทดสอบประสิทธิภาพของเอนไซม์โปรตีเอสในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดลอง มีกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัยดังนี้



ภาพที่ 2.11 กรอบแนวคิดในการวิจัย