

การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของพริกโดยชีววิธี

Biological control of chili bacterial wilt

วงศ์ บุญสืบสกุล¹ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์¹ บุรณี พัววงศ์แพทย์¹ สุริย์พร บัวอาจ¹
 วิลาวลัย ไคร์ครวญ² ธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์³

¹ = กลุ่มงานבקเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

² = ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี

³ = ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างดินและรากจากต้นที่เป็นโรคในแปลงพริกที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวที่ เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย จากแหล่งปลูกพริกของประเทศไทยเก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจากเขตพื้นที่ปลูกภาคกลางได้ 7 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจากเขตพื้นที่ปลูกภาคเหนือได้ 11 ตัวอย่าง แยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการจากตัวอย่างโรค เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจากเขตพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ 8 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจาก อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ แยกเก็บเชื้อแบคทีเรียและเตรียมทดสอบคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีการเก็บรักษาที่กลุ่มงานבקเตรีวิทยาเพื่อหาเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ รวมแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์สาเหตุโรคเหี่ยวของพริกจากตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกที่เก็บได้จาก ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและจาก อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ ได้เชื้อบริสุทธิ์สาเหตุโรคเหี่ยวของพริก 17 ไอโซเลท แยกเก็บรักษาเชื้อระยะยาวเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป จากการทดสอบคุณสมบัติของความ เป็นเชื้อปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพริก 17 ไอโซเลท และทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวพริก ในเรือนปลูกพืชทดลองพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ DOA-WB 1-5 ไม่สามารถควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของพริกได้เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพริกเป็นเรส 3 ไบโอวา 2 ซึ่งต่างจากเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพืชอื่นๆ ซึ่งจะได้นำเชื้อปฏิปักษ์จากแหล่งอื่นๆ มาทดสอบการ ควบคุมโรคเหี่ยวของพริกต่อไป

คำนำ

พริกจัดอยู่ในสกุลแคปซิคัม (*Capsicum* มาจาก ภาษากรีก *kapto* แปลว่า "กัด") ซึ่งมีประมาณ 25 ชนิด (species) ที่นิยมปลูกกันมีเพียง 5 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ *C. annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinensis* Jacq., *C. frutescens* L., *C. pubescens* R. & P. และมีพันธุ์ที่ถูกพัฒนาขึ้นอีกมากมาย พริกนั้นมีชื่อที่ใช้เรียกกันอยู่หลายคำ ได้แก่ pepper, chili, chilli, chile และ capsicum คนไทยอาจจะคุ้นเคยกับคำว่า chilli พริกเป็นอาหารประจำวันที่มีประโยชน์ เกษตรกรไทยมักนิยมปลูกพริกอยู่ 2 ชนิดซึ่งได้แก่ 1.พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า (ในกลุ่ม *C. annuum*) 2.พริกเผ็ดได้แก่ พริกชี้หนุสวาน พริกชี้หนุใหญ่ (ในกลุ่ม *C. frutescens*) พริกมีวิตามิน C สูง เป็นแหล่งของกรด ascorbic acid ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยขยายเส้นโลหิตในลำไส้และกระเพาะอาหารเพื่อให้ดูดซึมอาหารดีขึ้น ช่วยร่างกายขับถ่าย ของเสียและนำธาตุอาหารไปยังเนื้อเยื่อของร่างกาย (tissue) สำหรับพริกชี้หนุสดและพริกชี้ฟ้าของไทย มีปริมาณวิตามิน ซี 87.0 - 90 มิลลิกรัม / 100 g นอกจากนี้พริกยังมีสารเบต้า - แคโรทีนหรือวิตามิน A สูง พริกยังมีสารสำคัญอีก 2 ชนิด ได้แก่ Capsaicin และ Oleoresin โดยเฉพาะสาร Capsaicin (เอ็งงฟ้า, 2543) เกษตรกรปลูกพริกกันมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคตะวันตก และภาคใต้ สำหรับในภาคกลางนั้นมีการปลูกพริกกันน้อยที่สุด พริกที่ปลูกในประเทศไทยเฉลี่ยปีละ 383,000 ไร่ ผลผลิตรวมประมาณ 356,000 ตัน จังหวัดที่ปลูกพริกมากได้แก่ นครราชสีมา อุบลราชธานี ศรีสะเกษ ชัยภูมิ เชียงใหม่ นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ เลยและกาญจนบุรี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2541)

โรคพริกที่สำคัญ ได้แก่ โรคกุ้งแห้ง เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum* sp., โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum*, โรครากและโคนเน่า *Sclerotium rolfsii*, โรคใบหงิกที่เกิดจากเชื้อไวรัสและโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum*

สำหรับโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียปัจจุบันเชื้อสาเหตุได้เปลี่ยนชื่อวิทยาศาสตร์เป็น *Ralstonia solanacearum* เชื้อนี้เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด ปัจจุบันถูกจัดให้เป็นโรคที่สำคัญมากที่สุดในโลกโรคหนึ่ง เพราะสามารถทำให้เกิดโรคกับพืชต่าง ๆ มากกว่า 200 ชนิด และที่สำคัญยังไม่มีวิธีการใดที่สามารถควบคุมโรคนี้ได้ผลดีพอ โดยเฉพาะการใช้สารเคมีไม่แนะนำให้ใช้ แนวทางในการควบคุมโรคนี้ต้องเน้นที่การป้องกัน เพราะเชื้อสาเหตุโรคนี้มีพืชอาศัยกว้างขวาง สามารถอยู่รอดในดินได้ (soil born disease) สามารถแพร่ระบาดไปกับน้ำได้เป็นอย่างดี สามารถติดไปกับสวนขยายพันธุ์พืชได้ ในประเทศไทยโรคนี้เป็นโรคที่สำคัญที่ทำให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น พริกต่าง ๆ มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา ถั่วลิสง มะเขือต่าง ๆ งาและยาสูบ เป็นต้น สำหรับการป้องกันกำจัด มีรายงานผลการทดลองที่ดำเนินการก่อนหน้านี้ พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* DOA-WB4 ที่แยกได้จากดินบริเวณรากต้นมันฝรั่งที่ไม่เป็นโรคในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคสามารถป้องกันควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่

เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ได้ (วงศ์, 2548) และจากการทดลองใช้วิธีผสมผสานวิธีการต่าง ๆ ร่วมกันในการควบคุมโรคพบว่าการใช้เชื้อปฏิปักษ์ DOA-WB4 เพียงอย่างเดียวสามารถควบคุมการเกิดโรคนี้ได้คุ้มค่าที่สุด (วงศ์, 2549) และขยายผลการใช้เชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร พบว่าได้ผลดี สามารถลดการเกิดโรคได้ 0-65 % (วงศ์, 2550) ถ้ามีการขยายผลการใช้เชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกทำนองเดียวกับงานวิจัยมันฝรั่งโดยการแยกที่มีศักยภาพเป็นเชื้อปฏิปักษ์จากต้นที่ไม่เป็นโรคในที่มีภาวะระบาดของโรค คัดเลือกและทดสอบตามขบวนการทางวิชาการเพื่อหาเชื้อที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวในพริกเช่นเดียวกันกับที่ใช้ได้ในมันฝรั่งจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้ปลูกพริกอย่างมาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทางโรคพืชวิทยาและจุลชีววิทยา

วิธีการ

วิธีการดำเนินการวิจัย แบ่งเป็นขั้นตอน ดังนี้

1. สุ่มและเก็บตัวอย่างดินและรากจากต้นที่ไม่เป็นโรคในแปลงพริกที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย จากแหล่งปลูกพริกของประเทศไทย
2. แยกเชื้อบริสุทธิ์และเก็บรักษาในคลังเชื้อห้องปฏิบัติการกลุ่มงานแบคทีเรียวิทยา เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป
3. ทดสอบและคัดเลือกเชื้อที่คุณสมบัติเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว
4. นำเชื้อเชื้อที่คุณสมบัติเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวไปทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวในโรงเรือนปลูกพืชรทดลอง
5. นำเชื้อที่คุณสมบัติสามารถควบคุมโรคเหี่ยวในโรงเรือนปลูกพืชรทดลองไปทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงทดลอง
6. นำเชื้อที่คุณสมบัติสามารถควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงทดลองไปทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงเกษตรกรที่มีโรคดังกล่าวระบาด
7. เก็บ รวบรวม วิเคราะห์ข้อมูล การเกิดโรคและผลผลิต เขียนรายงาน

ผลการทดลองและวิจารณ์

เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจากเขตพื้นที่ปลูกภาคกลางได้ 7 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจากเขตพื้นที่ปลูกภาคเหนือได้ 11 ตัวอย่าง แยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการจากตัวอย่างโรค เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจากเขตพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ 8 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจาก อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ แยกเก็บเชื้อแบคทีเรียและเตรียมทดสอบคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีการเก็บรักษาที่กลุ่มงานแบคทีเรียวิทยาเพื่อหาเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ รวมแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์สาเหตุโรคเหี่ยวของพริกจากตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกที่เก็บได้จาก ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและจาก อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ ได้เชื้อบริสุทธิ์สาเหตุโรคเหี่ยวของพริก 17 ไอโซเลท แยกเก็บรักษาเชื้อระยะยาวเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป จากการทดสอบคุณสมบัติของความเป็นเชื้อปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพริก 17 ไอโซเลทดังกล่าวพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ DOA-WB1-5 ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพริกได้ และจากทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวพริกในเรือนปลูกพืชทดลองพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ DOA-WB 1-5 ไม่สามารถควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของพริกได้ เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพริกเป็นเรส 3 ไบโอบวา2 ซึ่งต่างจากเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพืชอื่นๆ ซึ่งจะได้้นำเชื้อปฏิปักษ์จากแหล่งอื่นๆ มาทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

(อยู่ในระหว่างดำเนินการทดลอง)

เอกสารอ้างอิง

- วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล, วนิตา สฐิตะฐานและสุนัตตรา เอี่ยมวิจิตร 2540. การศึกษาสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2540 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กทม. 11 หน้า.
- วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล, รุ่งนภา คงสุวรรณและวนิตา สฐิตะฐาน 2543. การพัฒนาชุดตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในขบวนการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2543 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กทม. 17 หน้า.
- วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุลและรุ่งนภา คงสุวรรณ 2546. การพัฒนาชุดตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากน้ำและดินในเขตชลประทานพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2546 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กทม. 22 หน้า.
- วงศ์ บุญสืบสกุล, วิวัฒน์ ภาณุอำไพ, ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล, รุ่งนภา คงสุวรรณและปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ 2548. การใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus subtilis* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2548 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กทม. 22 หน้า.
- วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล, ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ รุ่งนภา คงสุวรรณและวิวัฒน์ ภาณุอำไพ 2549. การควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* สาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่งโดยเชื้อ *Bacillus subtilis* Ehrenberg วารสารวิชาการเกษตร ปีที่ 24 ฉบับที่ 2 หน้า 178-197.
- วงศ์ บุญสืบสกุล 2550 การควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง น.ส.พ. กสิกร (ISSN 0125-3697) ปีที่ 80 ฉบับที่4 หน้า 68-92.
- วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล, วนิตา สฐิตะฐานและสุนัตตรา ภาวิจิตร 2540. การผลิตแอนติเซรัมที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 254 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กทม. 17 หน้า.
- วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล, รุ่งนภา คงสุวรรณและวนิตา สฐิตะฐาน 2543. การพัฒนาชุดตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในขบวนการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2543 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กทม. 15 หน้า.
- Aino, M., Maekawa, Y., Mayama, S and Kato, H. 1998. The use of endophytic bacteria in biocontrol. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number 2.10.5s.

- Asplras, R.B. and A.R. de le Cruz. 1986. Potential biological control of bacterial with in tomato and potato with *Bacillus polymyxa* FUB and *Pseudomonas fluorescens*. In:Persley, G.J. (ed.). Bacterial wilt disease in Asia and the south Pacific. ACIAR Proceedings 13, Canberra, Australia. P. 69-92.
- Ciampi, L., Fuentes, R., Schobitz, R., Bernal, G. and Oyarzun, J. 1998. Biological control of *Ralstonia solanacearum* : Alginate beads as carriers for antagonistic cells. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B2.
- Devaux, A., D. Michelante, and M. Bicamumpaka. 1987. Combination of rotation and resistance to control bacterial wilt (*Pseudomonas solanacearum*) in Rwanda. European Asepolation Potato Research X Triennial Conference Abstracts. P. 100-101.
- French, E.R. 1994. Strategies for integrated control of bacterial wilt of pottoes. In:Hayward, A.C. and G.L. Hartman (eds.) Bacterial wilt: The disease and its acusative agent, *Pseudomonas solanacearum*. CAB International, U.K. 288 p.
- French, E.R., Anguiz, R. and Aley, P. 1997. The usefulness of potato resistance to *Ralstonia solanacearum* for the integrated control of bacterial wilt. *In*. Bacterial wilt : Molecular and Ecology aspects. Prior, P., Allen, C. and Elphinestone, J. (eds.) INRA edn., Springer Verlag, Berlin, Germany. pp. 381 – 385.
- Frey, P., Prior, P., Marie, C., Kotoujansky, A., Trigalet, D.D. and Trigalet, 1994. Hrp-(sup) mutants of *Pseudomonas solanacearum* as potential biocontrol agents of tomato bacterial wilt. *Appl. Environ. Microbiol.* 60 (9) 3175-3181.
- Guo, J., Qi, H. and Li, S. 2002. Biocontrol efficiency of three PGPR strains admixture to pepper bacteria wilt. Bacterial wilt newsletter. 17: 3.
- Karuna, K., Khan, A.N.A. and Ravikumar, M.R. 1998. Potential of biocontrol agents in the management of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum*. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper no. B3.

- Kelaniyangoda, D.B. 1998. Bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) management in potato and tomato using botanicals and chemicals. In : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B13.
- Lloyd, A.B. 1976. Bacterial wilt in a cold-temperature climate of Australia. In: Planning conference and workshop on the ecology and control of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. North Carolina State University, Raleigh, NC. USA. P. 134-136.
- Martin, C. and E.R. French 1985. Bacterial wilt of potato Technical Information Bulletin No. 13. CIP Lima Peru. Nesmith, W.C. and Jenkins, J.S.F. 1985. Influence of antagonists and controlled matrix potential on the survival of *Pseudomonas solanacearum* in four North Carolina soils. *Phytopathology* 75 : 1182-1187.
- Saneviratne, S.N. 1988. Soil survival of *Pseudomonas solanacearum*. In: Bacterial disease of the potato. Report of the Planning conference on Bacterial Disease of the potato, March, 15-20, 1987. Lima, Peru, CIP. Lima, Peru. P. 85-91.
- Tans-Kersten, J., Huang, H. and Allen, C. 2001. *Ralstonia solanacearum* needs motility for invasive virulence on tomato. *Journal of Bacteriology*. 183 (12) 3597-3605.
- Vander Zaag, P. 1986. Potato production under *Pseudomonas solanacearum* conditions. Sources and management of planting materials. In: Persley, G.J. (ed.) Bacterial wilt disease in Asia and South Pacific. ACIAR Proceedings 13, Canberra, Australia. P. 84-88.
- Wong Boonsuesakul *et al.* 2003. Using of biovar type system and host specific pathogenicity to grouping of The bacterial caused bacterial wilt disease of economic crops in Thailand. *Thai Journal of Agricultural Science*. 36 (2) : 173-184.
- Wong Boonsuesakul *et al.* 2005. Study on rapid and easy differentiation of *Bacillus* spp. With Thin-Layer Chromatogram for amino-lipid. *Thai Phytopathology*. 19 (1-2):1-12
- Wong Boonsuesakul *et al.* 2006. Controlling of *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*, a causal agent of potato bacterial wilt by *Bacillus subtilis* Ehrenberg. *Thai Agricultural Research Journal*. 24 (2): 178-197