คู่มือองค์ความรู้

โครงการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวในมะเขือเทศโดยชีววิธีด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรุณ วงศ์จิรัฐิติ
อาจารย์ ดร.สุวภา สาวิภาค
อาจารย์ ดร.ชนัญกาญจน์ แสงประสาน

คำนำ

คณะทำงานได้ดำเนินการวิจัยโดยการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองและโรคเหี่ยวเขียว ซึ่งโรคทั้งสองจะทำลายมะเขือเทศทุกระยะการเจริญเติบโต ทำให้ผลผลิตมะเขือเทศลดลง การใช้สารเคมีในการป้องกันและกำจัด นอกจากไม่ค่อยได้ผลเพราะเชื้อจะเข้าทำลายอยู่ภายในลำต้นแล้ว ยังเป็นอันตรายต่อผู้ใช้และสภาพแวดล้อมอีกด้วย การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ได้ผลดี ปลอดภัยต่อเกษตรกรและสภาพแวดล้อม รวมทั้งมะเขือเทศที่ได้ยังมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

อรุณ วงศ์จิรัฐิติ

สุวภา สาวิภาค

ชนัญกาญจน์ แสงประสาน

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	2
สารบัญ	3
สารบัญภาพ	4
การควบคุมโรคโดยชีววิธี	5
โรคเหี่ยวเหลือง (Fusarium wilt)	6
โรคเหี่ยวเขียว (Bacterial wilt)	8
องค์ความรู้จากงานวิจัย	11
การผลิตเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	16
วิธีการเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ก่อนนำไปใช้	17
การควบคุมโรคในมะเขือเทศโดยชีววิธีด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์	18
การเก็บรักษา	19
เอกสารอ้างอิง	19

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 ลักษณะโคโลนี *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ที่แยกได้จากโรคเหี่ยวเหลืองมะเขือเทศ	6
2 ลักษณะการทำลายใบและต้นมะเขือเทศของ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*	7
3 ลักษณะโคโลนี *Ralstonia solanacearum* ที่แยกได้จากโรคเหี่ยวเขียวมะเขือเทศ	8
4 ลักษณะการทำลายใบและต้นมะเขือเทศของ *Ralstonia solanacearum*	9
5 ลักษณะการยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์รหัส SNRUSA1	11
6 ลักษณะการยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์รหัส SNRUSA4	12
7 ลักษณะการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์รหัส SNRUSA1	13
8 ลักษณะการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์รหัส SNRUSA4	14
9 การเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศเมื่อเพาะปลูกในสภาวะต่าง ๆ	15
10 ลักษณะเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	17
11 การผสมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กับน้ำก่อนนำไปใช้	17
12 การควบคุมโรคในมะเขือเทศโดยชีววิธีด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์	18

การควบคุมโรคโดยชีววิธี

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี คือ การใช้สิ่งมีชีวิตหรือเชื้อจุลินทรีย์มายับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคเพื่อไม่ให้สร้างความเสียหายต่อพืช เชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้เรียกว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (นิพนธ์ ทวีชัย, 2553)

การเข้าทำลายเชื้อราโรคพืชของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มี 4 รูปแบบ คือ (นิพนธ์ ทวีชัย, 2553)

- การทำลายชีวิต เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความสามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่สามารถทำลายเชื้อโรค

- การแข่งขัน เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความสามารถในการเจริญเติบโตแข่งขันกับเชื้อโรคพืช ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถเจริญเติบโตทำลายพืช

- การเป็นปรสิต เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความสามารถในการเข้าไปเจริญอาศัยในเชื้อโรคพืช แล้วคอยดูดกินอาหารทำให้เชื้อโรคพืชอ่อนแอและตายในที่สุด

- การชักนำให้ต้านทานต่อโรค เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความสามารถกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค

โรคเหี่ยวเหลือง

(Fusarium wilt)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

ลักษณะของเชื้อ ลักษณะโคโลนีบนอาหารพีดีเอ (PDA) เชื้อราสร้างเส้นใยฟูละเอียด สีขาว สีขาวแซมม่วง สีชมพูม่วง สีม่วงอ่อน จนถึงสีม่วงเข้ม แสดงดังภาพ 1

ภาพ 1 ลักษณะโคโลนี *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ที่แยกได้จากโรคเหี่ยวเหลืองมะเขือเทศ

ลักษณะการทำลาย มะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยวอย่างช้า ๆ ทำให้ต้นและใบมะเขือเทศมีอาการเหลือง แสดงดังภาพ 2 เมื่อผ่าลำต้นพบว่าท่อลำเลียงเป็นสีน้ำตาลแห้ง

ภาพ 2 ลักษณะการทำลายใบและต้นมะเขือเทศของ *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*

การป้องกันและการกำจัด (ไทยเกษตรศาสตร์, 2563)

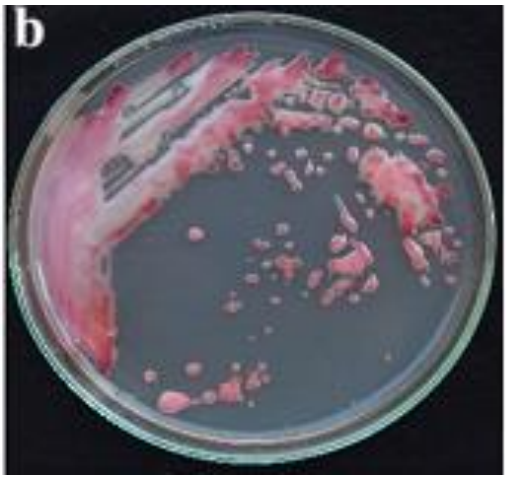
- สารป้องกัน คือไฮเมซาโซล, 6% อีทริไดอะโซล + 6%ควินโทซีน, อีทริไดอะโซล, โพรคลอราซ, แคปแทน และฟอสอีทิล-อะลูมิเนียม
- น้ำหมักชีวภาพ
- เพาะกล้าในดินที่ใหม่สะอาดหรือฆ่าเชื้อแล้ว
- หลีกเลี่ยงการปลูกมะเขือเทศลงในดินที่เคยมีโรคเกิดขึ้น
- การปลูกพืชหมุนเวียนแม้จะไม่สามารถกำจัดทำลายเชื้อได้หมดแต่ก็อาจช่วยลดความรุนแรงหรือความเสียหายจากโรคลงได้ แต่ต้องใช้เวลาที่ค่อนข้างนาน คือ 5 – 7 ปี เป็นอย่างต่ำ
- ระวังเรื่องการเคลื่อนย้ายเชื้อในดินหรือสิ่งที่จะนำเอาเชื้อติดไปด้วย เช่น จอบ เสียม เครื่องมือขุดพรวนดิน ไม้หลักทำค้างที่เคยใช้มาก่อน
- ปลูกมะเขือเทศในดินที่เป็นด่างเล็กน้อยจะปลอดภัยกว่าในดินกรด
- การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์

โรคเหี่ยวเขียว

(Bacterial wilt)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ralstonia solanacearum*

ลักษณะของเชื้อ ลักษณะโคโลนีบนอาหาร Tetrazolium chloride (*TZC*) มีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน บริเวณกลาง*โคโลนีมีสีชมพูอ่อน ขอบโคโลนีมีสีขาวขุ่น* แสดงดังภาพ 3



ภาพ 3 ลักษณะโคโลนี *Ralstonia solanacearum*
ที่แยกได้จากโรคเหี่ยวเขียวมะเขือเทศ
ที่มา: Balamurugan et al. (2018)

ลักษณะการทำลาย เชื้อแบคทีเรียจะเข้าสู่พืชทางช่องเปิดบริเวณราก จากนั้นเชื้อก็จะเจริญไปตามท่อลำเลียงน้ำ และแพร่กระจายไปทั่วต้นมะเขือเทศ และเชื้อจะผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ออกมาในปริมาณมาก สารพอลิแซคคาไรด์จะเข้าไปอุดตันในระบบท่อลำเลียงน้ำ ส่งผลให้ต้นมะเขือเทศขาดน้ำและแสดงอาการเหี่ยวตายทั้งต้นทั้งที่ใบและต้นยังเขียวอยู่ (Balamurugan et al., 2018) แสดงดังภาพ 4

ภาพ 4 ลักษณะการทำลายใบและต้นมะเขือเทศของ *Ralstonia solanacearum*
ที่มา: Balamurugan et al. (2018)

การป้องกันและการกำจัด (ไทยเกษตรศาสตร์, 2563)

- การเติมสารกำมะถันลงในดินปลูกที่เคยมีโรคเกิดขึ้น โดยใช้ในอัตราส่วน 150 – 160 กก. ต่อไร่ทันทีที่เก็บเกี่ยวผลผลิต ข้อเสียดินเป็นกรดแก้ไขโดยการเติมปูนขาวลงไปในปริมาณ 500 – 600 กก. โดยทำอย่างน้อย 1 เดือนหรือ 30 วันก่อนปลูก

- งดปลูกพืชลงในดินที่เคยเป็นโรคอย่างน้อย 6 ปี

- กล้ามะเขือเทศควรเพาะในดินที่เตรียมอย่างดี ที่ปลอดโรคและฆ่าเชื้อแล้วและถ้าต้องการให้ปลอดจากโรค หรือเข้าทำลายของเชื้อ ควรเพาะกล้าในกระบะทรายหรือขี้เถ้าแกลบ เมื่อจะย้ายไปปลูกก็ใช้วิธีล้างออกด้วยน้ำ รากจะถูกทำลายหรือขาดน้อยกว่าเพาะในดินโดยตรง

- เลือกใช้เมล็ดพันธุ์ที่สะอาดปราศจากเชื้อ หากไม่แน่ใจก็ให้ฆ่าเชื้อที่อาจติดมากับเมล็ดเสียก่อนโดยจุ่มแช่น้ำอุ่น ๆ อุณหภูมิ 49-50 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที

- ปรับสภาพดินให้เป็นด่าง หรือเป็นด่างเล็กน้อย โดยการเติมปูนขาวหรือปุ๋ยอินทรีย์ลงไปในดินมาก ๆ เพื่อไม่ให้มีสภาพเหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

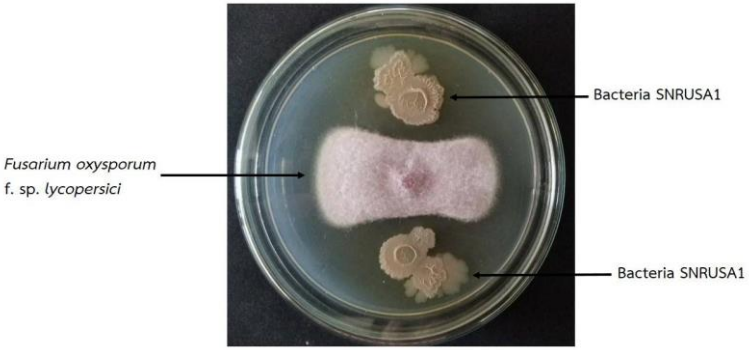
- ปลูกมะเขือเทศโดยใช้พันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรค แม้ในปัจจุบันจะยังไม่ปรากฏว่ามีผู้สามารถผลิตพันธุ์มะเขือเทศที่มีความต้านทานต่อโรคนี้ได้ผล 100% แต่ก็อาจมีพันธุ์ที่เสียหายน้อย วิธีที่ดีที่สุดคือการคัดและเก็บพันธุ์เอง โดยคัดเลือกเมล็ดจากต้นที่ไม่แสดงอาการของโรคหรือเสียหายน้อยที่สุด

- การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์

องค์ความรู้จากงานวิจัย

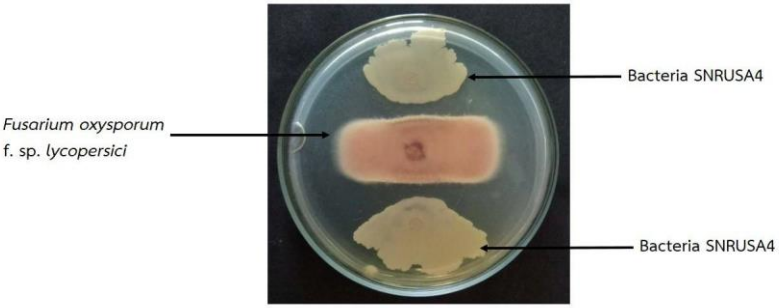
ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการยับยั้งโรคเหี่ยวเหลือง

1. แบคทีเรียรหัส SNRUSA1 เป็นแบคทีเรียแกรมบวก โคโลนีมีสีครีม เหลือง ผิวหน้าย่น สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* แสดงดังภาพ 5



ภาพ 5 ลักษณะการยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์รหัส SNRUSA1

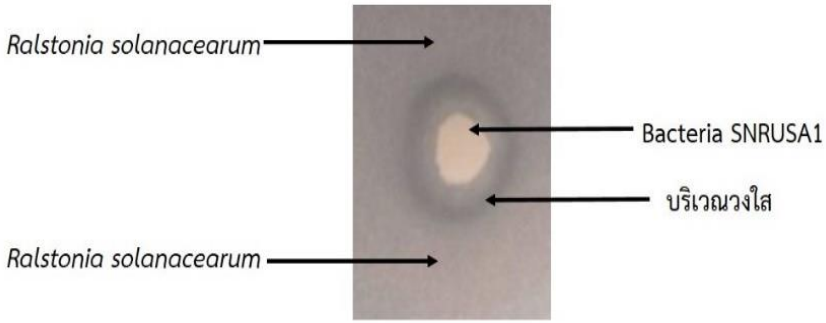
2. แบคทีเรียรหัส SNRUSA4 เป็นแบคทีเรียแกรมบวก โคโลนีมีสีขาว ครีม ผิวหน้าเรียบ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* แสดงดังภาพ 6



ภาพ 6 ลักษณะการยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์รหัส SNRUSA4

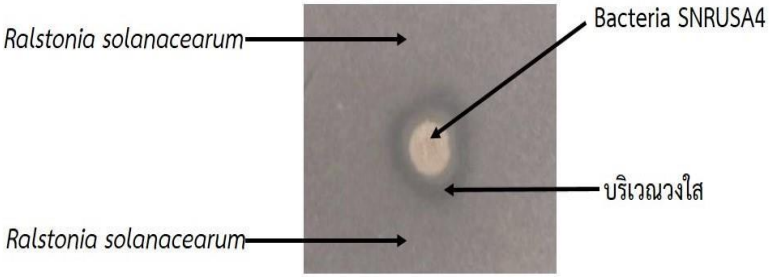
ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการยับยั้งโรคเหี่ยวเขียวแบคทีเรีย

1. แบคทีเรียรหัส SNRUSA1 เป็นแบคทีเรียแกรมบวก และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Ralstonia solanacearum* ซึ่งสังเกตได้จากรอบ ๆ เซลล์ของแบคทีเรียรหัส SNRUSA1 มีลักษณะเป็นวงใส แสดงดังภาพ 7



ภาพ 7 ลักษณะการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์รหัส SNRUSA1

2. แบคทีเรียรหัส SNRUSA4 เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Ralstonia solanacearum* ซึ่งสังเกตได้จากรอบ ๆ เซลล์ของแบคทีเรียรหัส SNRUSA4 มีลักษณะเป็นวงใส แสดงดังภาพ 8



ภาพ 8 ลักษณะการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์รหัส SNRUSA4

ผลของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการลดความรุนแรงของโรคเหี่ยวเหลือง และการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

ผลการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองเมื่อครบ 40 วัน พบว่าการใช้เชื้อปฏิปักษ์ SNRUSA1 (ง), SNRUSA4 (จ) และการใช้เชื้อปฏิปักษ์ร่วมกัน (ฉ) สามารถควบคุมโรคได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกมะเขือเทศที่ไม่ใช้เชื้อปฏิปักษ์ (ข) สำหรับการปลูกมะเขือเทศที่ใช้สารเคมีสามารถลดความรุนแรงของโรคได้ไม่ดีเทียบเท่ากับการใช้เชื้อปฏิปักษ์ ดังแสดงภาพ 9

ภาพ 9 การเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศเมื่อเพาะปลูกในสภาวะต่าง ๆ

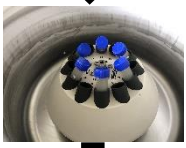
การผลิตเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

เตรียมอาหารสำเร็จรูป Nutrient broth

ถ่ายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์
ลงในอาหารสำเร็จรูป

นำไปบ่มบนเครื่องเขย่า
ความเร็ว 180 รอบต่อนาที นาน 24 ชั่วโมง

ปั่นเหวี่ยงความเร็ว 6,000 รอบ/นาที
นาน 10 นาที



ล้างเซลล์ด้วยน้ำปราศจากเชื้อ

ปรับความเข้มข้นของเชื้อ
ให้ได้ 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร

นำไปผสมน้ำในอัตราส่วนที่
เหมาะสมสำหรับใช้ควบคุมโรค

วิธีการเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ก่อนนำไปใช้

นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ 10 มิลลิลิตร (ภาพ 10) ผสมน้ำ 20 ลิตร ให้เข้ากัน (ภาพ 11)

ภาพ 10 ลักษณะเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ภาพ 11 การผสมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กับน้ำก่อนนำไปใช้

การควบคุมโรคในมะเขือเทศโดยชีววิธี ด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์

คลุกดินเพาะต้นกล้า

ฉีดพ่นต้นกล้า

คลุกดินปลูกบนแปลง

ฉีดพ่นต้นมะเขือเทศบนแปลง

ภาพ 12 การควบคุมโรคในมะเขือเทศโดยชีววิธีด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์

การเก็บรักษา

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดสด ถ้ายังไม่ได้นำไปใช้ ควรเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 4 – 8 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บได้ 10 – 15 วัน (ประมาณ 2 สัปดาห์) หลังจากนั้นจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีชีวิตจะลดลง ทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลดลง

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ ทวีชัย. (2553). โรคพืชและการจัดการด้วยวิธีชีวภาพ. ในสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว. (เล่มที่ 35, หน้า 129-159). กรุงเทพฯ : โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว.

ไทยเกษตรศาสตร์. (2563). *มะเขือเทศ.* ค้นเมื่อ 24 ตุลาคม 2563, จาก https://www.thaikasetsart.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%82%E0%B8%B7%E0%B8%AD%E0%B9%80%E0%B8%97%E0%B8%A8-tomato/

Balamurugan, A., Kumar, A., Muthamilan, M., Sakthivel, K., Vibhuti, M., Ashajyothi, M., ... Arumugam, T. (2018). Outbreak of tomato wilt caused by Ralstonia solanacearum in Tamil Nadu, India and elucidation of its genetic relationship using multilocus sequence typing (MLST). *European Journal of Plant Pathology, 151*(3), 831–839. doi:10.1007/s10658-017-1414-3

ได้รับทุนอุดหนุนการทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัย
ภายใต้โครงการส่งเสริมและสนับสนุน
การจัดการความรู้การวิจัยเพื่อการใช้ประโยชน์
จากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ