บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ไส้เดือนฝอยรากปมมันฝรั่ง (Root-knot nematode) *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood จัดเป็นศัตรูพืชสำคัญของมันฝรั่งที่มีการระบาดในประเทศไทย โดยเฉพาะในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งในเขตภาคตะวันตก เช่น ที่จังหวัดตาก ซึ่งประสบปัญหาการระบาดมาเป็นเวลานานและก่อให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิตเป็นอย่างมาก โดยไส้เดือนฝอยรากปมจะทำให้เกิดโรครากปมและหัวหูดในมันฝรั่ง ทำให้ผิวบริเวณรอบๆหัวมันฝรั่ง มีลักษณะเป็นผิวคางคกหรือผิวหูด ซึ่งจะส่งผลต่อคุณภาพของมันฝรั่ง เนื่องจากหัวมันฝรั่งที่เป็นโรค เมื่อนำไปแปรรูปเป็นมันฝรั่งแผ่นทอดกรอบนั้น บริเวณขอบของแผ่นมันจะขาดแหว่งหรือเป็นสีดำ ดังนั้นโรงงานจึงไม่รับซื้อหัวมันฝรั่งที่เป็นโรคจากเกษตรกร ทำให้เกษตรกรประสบปัญหาขาดทุน นอกจากนี้ ไส้เดือนฝอยรากปมยังทำให้มันฝรั่งมีลำต้นแคระแกรน เหี่ยวเฉาและขนาดของหัวมันเล็กลง เนื่องจากน้ำและแร่ธาตุไม่สามารถเคลื่อนที่ไปเลี้ยงลำต้นได้ (มนตรี, 2543) การเข้าทำความเสียหายกับพืชนั้น ไส้เดือนฝอยรากปมจะเข้าทำทางรากฝอย โดยความเสียหายเกิดขึ้นได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม ทางตรงคือไส้เดือนฝอยรากปมเข้าแย่งอาหารพืช ทำให้ต้นพืชแคระแกรน ไม่เจริญเติบโตหรือตายไป และปล่อยเอนไซม์ละลายผนังเซลล์พืช ทำให้เซลล์หลายเซลล์รวมเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ อีกทั้งปล่อยฮอร์โมนกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์บริเวณรากมากผิดปกติ จึงทำให้เกิดปมบริเวณรากพืช ส่วนทางอ้อมคือ การเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมทำให้พืชต้านทานต่อโรคน้อยลง จึงเป็นตัวเปิดทางให้จุลินทรีย์ก่อโรคพืชอื่นเข้ามาทำลายพืชเพิ่มเติม (secondary invasion) (สืบศักดิ์, 2528) ซึ่งการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม ทำให้เกษตรกรประสบปัญหาขาดทุน เนื่องจากจะต้องเสียค่าใช้จ่ายในการกำจัดและป้องกัน อีกทั้งวิธีการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมที่เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้คือ การใช้สารเคมี (สืบศักดิ์, 1996) ซึ่งสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ในระยะเวลาสั้นๆ ประมาณ 2 - 4 สัปดาห์ เมื่อสารเคมีหมดฤทธิ์ ไส้เดือนฝอยรากปมก็จะเข้าทำลายซ้ำและเกิดการระบาดต่อไปอีก และการใช้สารเคมี นอกจากจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในดินลดลงแล้ว ยังทำให้ไส้เดือนฝอยรากปมดื้อต่อสารเคมีอีกด้วย นอกจากนี้การใช้สารเคมีบางชนิดที่ใช้ความเข้มข้นมากเกินไปจะมีผลทำให้เกิดการทำลายรากพืช ทำให้รากเน่าหรือยับยั้งการแตกรากใหม่ ทำให้ไม่ได้ผลผลิตตามที่ต้องการ

และคุณภาพของผลผลิตลดลง ทั้งยังส่งผลต่อสุขภาพของเกษตรกร และเกิดการตกค้างในระบบนิเวศ ส่งผลให้เกิดอันตรายต่อห่วงโซ่อาหาร ตลอดจนผู้บริโภค

จากปัญหาดังกล่าวข้างต้น ทางเลือกที่เหมาะสมในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม คือการควบคุมโดยชีววิธี ซึ่งมีการศึกษาพบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ (antagonistic bacteria) ในกลุ่มของไรโซแบคทีเรีย (Rhizobacteria) หรือแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria; PGPR) ที่อาศัยในดินบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานโรคในพืชและสร้างปฏิชีวนะควบคุมโรคพืชได้ ตลอดจนสร้างเอนไซม์ที่หลั่งออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) เพื่อย่อยผนังเซลล์ของเชื้อโรคพืช โดยจากการศึกษาของ Siddiqui และคณะ ในปี ค.ศ. 2005 พบว่า เอนไซม์โปรตีเอส (Protease) จาก *Pseudomonas fluorescens* สามารถควบคุมโรครากปมจาก *Meloidogyne incognita* ได้ (Siddiqui และคณะ ในปี ค.ศ. 2005) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lian และคณะ ในปี ค.ศ. 2007 ที่พบว่าเอนไซม์โปรตีเอสจาก *Bacillus* sp. ซึ่งอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรีย PGPR สามารถกำจัดไส้เดือนฝอยรากปมได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไปทำลายผนังเซลล์ของไส้เดือนฝอยรากปม ทำให้ไส้เดือนฝอยรากปมตาย (Lian และคณะ, 2007) จากเหตุผลที่ได้กล่าวมาข้างต้น เอนไซม์โปรตีเอสจากไรโซแบคทีเรียจึงมีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยจะทำการคัดเลือกไรโซแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์โปรตีเอสที่มี ประสิทธิภาพในการทำลายไข่และตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม (J2) ซึ่งเป็น infective stage ดังนั้นเอนไซม์โปรตีเอสจากแบคทีเรีย PGPR เป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการแก้ไขปัญหาไส้เดือนฝอยรากปมให้กับเกษตรกรอย่างเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ลดการใช้สารเคมี สามารถนำไปใช้ได้ในทุกสภาพพื้นที่ รวมทั้งได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ สามารถพึ่งพาตนเองและแข่งขันในตลาดต่างประเทศได้

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกไรโซแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์โปรตีเอส
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเอนไซม์โปรตีเอสในการทำลายไข่และตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (Kofoid and White) Chitwood ในห้องปฏิบัติการ
3. จัดจำแนกไรโซแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์โปรตีเอสที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการทำลายไข่และตัวอ่อนระยะ J2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (Kofoid and White) Chitwood

4. ทดสอบประสิทธิภาพของเอนไซม์โปรตีเอสจากไรโซแบคทีเรียในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรอาสาสมัคร โดยนำมาผลิตเป็นชีวภัณฑ์ในรูปแบบน้ำและทำการถ่ายทอดเทคโนโลยีในการใช้ชีวภัณฑ์ให้แก่เกษตรกร ตั้งแต่ขั้นตอนการปลูกจนถึงการเก็บเกี่ยว โดยมีเกษตรกรเข้าร่วมจำนวน 15 ราย และผู้ที่เกี่ยวข้องเช่น นักวิชาการเกษตรและนักส่งเสริมการเกษตรเข้าร่วม

ขอบเขตของโครงการวิจัย

เพื่อให้บรรลุความสำเร็จในการวิจัยในครั้งนี้ ผู้วิจัยจึงกำหนดขอบเขตของโครงการวิจัยดังต่อไปนี้

1. คัดแยกไรโซแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากมันฝรั่ง ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์โปรตีเอสจากพื้นที่ปลูกมันฝรั่งที่ไม่มีประวัติการเป็นโรครากปม ในเขตอำเภอพบพระ จังหวัดตาก และนำแบคทีเรียที่แยกได้มาศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์โปรตีเอสที่มีประสิทธิภาพในการทำลายตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (Kofoid and White) Chitwood

2. ไส้เดือนฝอยรากปมที่ศึกษา ได้แก่ *M. incognita* (Kofoid and White) Chitwood ซึ่งเป็นไส้เดือนฝอยรากปมก่อโรคในมันฝรั่งที่มีรายงานการระบาดที่รุนแรงในประเทศไทย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การศึกษานี้เป็นการคัดเลือกไรโซแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรตีเอสที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (Kofoid and White) Chitwood ซึ่งเป็นไส้เดือนฝอยรากปมก่อโรคในมันฝรั่งที่มีรายงานการระบาดที่รุนแรงในประเทศไทย และทำการถ่ายทอดเทคโนโลยีในระดับชุมชนที่ง่ายต่อการทำความเข้าใจและปฏิบัติ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการแก้ปัญหาการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (Kofoid and White) Chitwood ในพื้นที่เกษตรกรรม ซึ่งมีจุดเด่นตรงที่เมื่อนำมาผลิตเป็นชีวภัณฑ์ จะได้ชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำ

1. เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป ในการวิจัยในครั้งนี้จะทำให้เกิดความรู้ในเรื่องการประยุกต์ใช้ธรรมชาติบำบัดธรรมชาติ ซึ่งไม่ก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะการนำเทคโนโลยีเอนไซม์ในแบคทีเรียมากำจัดไส้เดือนฝอยรากปม ทำให้เกิดองค์ความรู้ที่เฉพาะเจาะจง รวมถึงการต่อยอดการวิจัยถึงประโยชน์ของเอนไซม์ในงานด้านต่างๆ

2. บริการความรู้แก่เกษตรกร มีการถ่ายทอดความรู้จากการวิจัยให้แก่ชุมชน และผู้ที่สนใจในการพัฒนาต่อยอดต่อไป รวมถึงนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมสายพันธุ์อื่น

3. บริการความรู้แก่ภาคธุรกิจ สามารถขยายผลไปสู่ผลิตภัณฑ์เอนไซม์สำเร็จรูปที่ใช้งานในการกำจัดศัตรูพืชได้สะดวก โดยอาจอยู่ในรูปน้ำ ผงหรือเม็ดที่สามารถนำไปใช้ได้อย่างกว้างขวาง รวมถึงการขยายสู่เชิงพาณิชย์และอุตสาหกรรมได้