

บทที่ 1

บทนำ

1. 1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นพืชที่มีประโยชน์และมีความสำคัญต่อประชากรโลกเป็นอย่างมาก เพราะเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญนิยมบริโภคกันมากในหลายประเทศ ในปี 1985 ทั่วโลกมีการผลิตมะเขือเทศจำนวนมากกว่า 50 ล้านเมตริกตัน มีพื้นที่ปลูกมากกว่า 6.3 ล้านเอเคอร์ (Marlatt et al., 1996) กลุ่มประเทศที่นิยมบริโภคมะเขือเทศมาก ได้แก่ อเมริกาและยุโรป ซึ่งมีการผลิตทั้งในรูปผลสดและผลิตภัณฑ์แปรรูป สำหรับประเทศไทยโดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือในเขตจังหวัดหนองคาย กาฬสินธุ์ นครพนม และขอนแก่น เป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเพื่อการส่งออกและมะเขือเทศผลสดสำหรับส่งโรงงานอุตสาหกรรมมากที่สุด ซึ่งนอกจากจะทำรายได้เข้าประเทศปีละหลายร้อยล้านบาทแล้วยังเป็นการเสริมรายได้ให้กับเกษตรกรในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นอย่างดีอีกด้วย แต่ก็พบว่าการปลูกมะเขือเทศส่วนใหญ่่มักจะประสบปัญหาเกี่ยวกับโรคและแมลง โรคเหี่ยวเหือง (*Fusarium wilt*) ของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* เป็นโรคที่ทำให้ความเสียหายอย่างมากต่อแหล่งปลูกมะเขือเทศทั่วโลก เชื้อราชนิดนี้มีแหล่งอาศัยทั่วไปในดินพบการทำลายมะเขือเทศได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงระยะที่มะเขือเทศให้ผลผลิต โดยที่สปอร์ของเชื้อในดินจะงอกเป็นเส้นใยเล็ก ๆ (germ tube) แทงทะลุเข้าไปโดยตรงหรือผ่านทางบาดแผลที่ราก หรือจุดที่มีการสร้างรากแขนง (lateral root) จากนั้นเส้นใยจะมีการพัฒนาและแทงทะลุผ่านส่วนของ cortex จนถึงท่อน้ำ (xylem vessels) เจริญแตกกิ่งก้านและสร้างไมโครโคนิเดียจำนวนมากทำให้ท่อน้ำเกิดการอุดตัน น้ำไหลผ่านท่อน้ำน้อยลงหรือไหลผ่านไม่ได้ และท่อน้ำยังเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ต้นมะเขือเทศแคระแกร็น ต่อมาจะเกิดการเหี่ยวขึ้น มะเขือเทศที่เป็นโรคจะไม่ได้ผลผลิตเนื่องจากต้นมะเขือเทศจะตายในที่สุด การควบคุมโรคนี้สามารถทำได้โดยการอบดินด้วยไอน้ำร้อนซึ่งนิยมทำกันเฉพาะในเรือนกระจก หรือการอบดินด้วยสารเคมีเมทิลโบไมด์ (methyl bromide) ซึ่งสารเคมีชนิดนี้ถูกห้ามจำหน่ายในท้องตลาดของประเทศสหรัฐอเมริกาตั้งแต่ปี 2001 และการใช้สารเคมีจะเป็นอันตรายต่อมนุษย์ และสัตว์ ขณะเดียวกันก็เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม และยังมีค่าใช้จ่ายสูงทางเลือกใหม่ของการควบคุมโรคนี้คือใช้วิธีควบคุมโดยชีววิธี เช่น การปลูกพืชหมุนเวียน การใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปลอดเชื้อจากแหล่งที่เชื่อถือได้ การใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืช และการใช้พันธุ์ต้านทานซึ่งวิธีนี้เป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย แต่การใช้พันธุ์ต้านทานก็มีข้อจำกัด เพราะจะมี *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* สายพันธุ์ใหม่ ๆ เกิดขึ้นอยู่เสมอเป็นปัญหาสำคัญของ

การปรับปรุงพันธุ์ ปัจจุบันการควบคุมโดยชีววิธีได้รับความสำเร็จเป็นอย่างมาก อีกทั้งไม่มีอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม และยังประหยัดค่าใช้จ่ายอีกด้วย

เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* มีลักษณะเป็นรูปท่อน กรัมนลบ (gram negative bacilli) มีขนาด $0.5 - 0.8 \times 1.0 - 3.0$ ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้โดยใช้ polar flagella บางสายพันธุ์เคลื่อนที่ได้โดย lateral flagella เจริญได้ดีใน differential media อาศัยอย่างอิสระพบได้ทั่วไปในดินบริเวณรอบ ๆ รากพืช (rhizosphere) มีรายงานการใช้เชื้อ *Pseudomonas* ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น *P. fluorescens* หลายสายพันธุ์มีความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุของโรคกาบใบแห้งของข้าว (rice sheath blight) (Mew et al., 1986; Nagarajkumar et al., 2004) *P. aureofaciens* เจริญได้อย่างรวดเร็วรอบรากข้าวสาลีซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (Pierson, 1996) Scher และ Baker, 1982 พบว่า *P. putida* สามารถลดการเกิดโรค Fusarium wilt ของป่าน, ปอ, แดง และ หัวผักกาด Larkin และ Fravel, 1998 ได้นำเชื้อ *P. fluorescense*, ราและแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ ได้แก่ non-pathogenic *Fusarium* spp., *Trichoderma* spp., *Gliocladium virens*, *Burkholderia cepacia* มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พบว่าสามารถลดการเกิดโรคดังกล่าวได้ 35-100% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อต่อต้าน เป็นต้น นักวิจัยหลายท่านได้ศึกษาพบว่าหลายสายพันธุ์ของ *Pseudomonas* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ได้หลายชนิด เช่น pyrolnitrin, pyoluteorin และ phenazine - 1 - carboxylate และ lytic enzymes เช่น chitinase และ β - 1, 3 glucanase ซึ่งมีรายงานว่าสารเหล่านี้สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Nagarajkumar et al., 2004; Weller, 1988; Thomashow and Weller, 1988) นอกจากนี้ *Pseudomonas* บางสายพันธุ์ยังสามารถผลิตสาร siderophores ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช และส่งเสริมการเจริญของพืชโดยให้ธาตุเหล็กแก่พืช (Kloepper et al., 1986; Leong, 1986; Loper, 1988) จากข้อมูลดังกล่าวจะพบว่า *Pseudomonas* spp. เป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชและสามารถนำมาใช้บำรุงดินได้เนื่องจากส่งเสริมการเจริญของพืชได้ดี

สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีผู้นำ *Pseudomonas* มาใช้อย่างเป็นรูปธรรม ทั้งนี้เนื่องจากขาดข้อมูลวิจัยสนับสนุน คณะผู้วิจัยสนใจที่จะนำเชื้อ *Pseudomonas* มาใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* จึงได้ทำการแยก คัดเลือกเชื้อ *Pseudomonas* ที่มีอยู่ในดินเพาะปลูกในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราดังกล่าวได้ผลดีในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้รายงานข้อมูลทั้งหมดในรายงานฉบับสมบูรณ์ปีพ.ศ.2550 ข้อมูลดังกล่าวได้นำมาศึกษาเพิ่มเติมโดยได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Pseudomonas* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในระดับเรือนทดลอง นอกจากนี้ยังนำเชื้อ *Pseudomonas* ที่คัดเลือกได้ไปทดลองใช้ร่วมกับน้ำหมักชีวภาพ เนื่องจากปัจจุบันน้ำหมักชีวภาพมีการผลิตและใช้กันอย่างแพร่หลายใน

ไร่ สวนผัก สวนผลไม้ทั่วประเทศ มีทั้งที่ผลิตใช้เองจากวัสดุเหลือทิ้งในไร่ นา หรือซื้อผลิตภัณฑ์มาจากท้องตลาด มีการพัฒนาสูตรน้ำหมักชีวภาพให้หลากหลายเพื่อวัตถุประสงค์ที่นำไปใช้แตกต่างกัน แต่ทั้งนี้การผลิตและการใช้น้ำหมักชีวภาพของเกษตรกรยังต้องการข้อมูลทางวิชาการสนับสนุนอีกมาก การนำน้ำหมักชีวภาพจากพืชผักมาใช้ร่วมกับเชื้อ *Pseudomonas* sp. เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ เป็นอีกแนวคิดหนึ่งที่นอกจากจะควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยการลดการใช้สารเคมีลง เกษตรกรยังได้ประโยชน์จากน้ำหมักชีวภาพอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยในปีที่ 3 (ปีงบประมาณพ.ศ. 2552)

- 1) ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำหมักชีวภาพที่ใช้ร่วมกับเชื้อ *Pseudomonas* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองในสภาพเรือนทดลอง
- 2) ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำหมักชีวภาพที่ใช้ร่วมกับเชื้อ *Pseudomonas* sp. ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในสภาพเรือนทดลอง
- 3) ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดที่เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. สร้างขึ้น

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

- 1) ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำหมักชีวภาพที่ใช้ร่วมกับเชื้อ *Pseudomonas* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองในสภาพเรือนทดลอง
- 2) ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดที่เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* สร้างขึ้น ได้แก่ indole-3-acetic acid, siderophore, volatile compound, lytic enzyme เช่น chitinase, beta -1,3-glucanase และ protease

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ :

- 1) ได้เชื้อ *Pseudomonas* sp. ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*
- 2) ได้ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ในน้ำหมักชีวภาพจากพืช
- 3) ได้แนวทางการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศโดยใช้น้ำหมักชีวภาพ และการใช้น้ำหมักชีวภาพร่วมกับเชื้อ *Pseudomonas* sp.