

การคัดเลือกพันธุ์ปทุมมาลูกผสมต้านทานต่อโรคเหี่ยวเฉาที่เกิดจากแบคทีเรีย

Ralstonia solanacearum species complex

Screening of *Curcuma* sp. (Patumma) Hybrid Lines for Their Resistance to Bacterial Wilt Caused by the *Ralstonia solanacearum* Species Complex

อติตยา คำวินิจ¹ อังสนา อัครพิศาล^{1*} พรสุข ชัยสุข¹ ธีรนิติ พวงกฤษ² และเฉลิมศรี นนทสวัสดิศรี²

Athiditaya Kumvinit¹, Angsana Akarapisan^{1*}, Pornsuk Chaisuk¹, Theeraniti Puangkrit² and Chalerm Sri Nontaswatsri²

บทคัดย่อ

การทดสอบการเกิดโรคในปทุมมาลูกผสม กับเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* species complex สาเหตุโรคเหี่ยวเฉาทั้ง 9 ไอโซเลต พบ 1 ไอโซเลตที่สามารถเข้าทำลายและทำให้ปทุมมาเกิดโรคได้ คือ *R. solanacearum* ไอโซเลต Si16 biovar 4, phylotype I, sequevar 30 ซึ่งแยกจากปทุมมาที่มีลักษณะอาการเหี่ยวเฉา จากอำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ เมื่อคัดเลือกปทุมมาพันธุ์ลูกผสมโดยทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยวเฉา พบว่าพันธุ์ที่มีความต้านทานสูงสุดและแสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเหี่ยวเฉาที่ 0 เปอร์เซ็นต์ คือ พันธุ์ยูกิ พลอยทักษิณ แม่โจ้พิมพ์ 01 และแม่โจ้พิมพ์ 02 ส่วนพันธุ์ชมพูมะลิ ชมพูเส้น และลัดดาวาลย์ แสดงความต้านทานต่อโรค โดยแสดงความรุนแรงของโรคหลังปลูกเชื้อที่ 25, 10 และ 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ขาวมะลิ เชียงใหม่พิกซ์ และบิ๊กเรด แสดงความอ่อนแอสูงสุด โดยแสดงความรุนแรงของโรคที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า พันธุ์ปทุมมาที่มีความต้านทานและต้านทานสูงสุด ต่อเชื้อแบคทีเรีย สาเหตุโรคเหี่ยวเฉาสายพันธุ์ biovar 4, phylotype I, sequevar 30 คือพันธุ์ชมพูมะลิ ชมพูเส้น ลัดดาวาลย์ ยูกิ พลอยทักษิณ แม่โจ้พิมพ์ 01 และแม่โจ้พิมพ์ 02 ซึ่งความรู้ที่ได้จากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกปทุมมาพันธุ์ลูกผสม เพื่อปลูกในเชิงการค้า และเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจในอนาคต

คำสำคัญ: ปทุมมา การคัดเลือกพันธุ์ โรคเหี่ยวเฉา *Ralstonia solanacearum* species complex

Abstract

The pathogenicity of 9 strains of bacterial wilt caused by the *Ralstonia solanacearum* species complex were tested by inoculation on Patumma hybrid lines, and it was only the *R. solanacearum* strain Si16 (biovar 4, phylotype I sequevar 30) that caused disease symptoms in Patumma. The bacterial strain was isolated from bacterial wilt found on Patumma sampled from San Sai District, Chiang Mai Province. The screening of Patumma hybrid lines for their resistance to bacterial wilt was done by inoculation with various bacterial wilt strains. The varieties that showed high resistance to the bacterial wilt with 0% of disease incidence were cv. Yuki, cv. Ploytaksin, cv. Maejo Impress 01 and cv. Maejo Impress 02. The varieties cv. Chom-Phu Mali, cv. Chom-Phu Sen and cv. Ladawan were found to be resistant to the bacterial wilt strain after inoculation at the 25%, 10%, and 5% levels, respectively. On the other hand, the varieties cv. Khao Mali (Chiang Rai), cv. Chiang Mai Pink and cv. Big Red showed highly susceptibility to bacterial wilt, with an incidence of 100%. Furthermore, the varieties that were resistant to the bacterial wilt strain (biovar 4, phylotype I, sequevar 30) included cv. Chom-Phu Mali, cv. Chom-Phu Sen, cv. Ladawan, cv. Yuki, cv. Ploytaksin, cv. Maejo Impress 01, and cv. Maejo Impress 02. The results of this research will be of benefit in Patumma hybrid line selection for commercial cultivation and will provide more economic value in the future.

Keywords: Patumma, varietal selection, bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum* species complex

¹สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

²สาขาวิชาพืชสวนประดับ ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

¹Division of Plant Pathology, Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

²Division of Ornamental Horticulture, Department of Horticulture, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, 50290

*Corresponding author, E-mail: angkana.aka@gmail.com

คำนำ

ปทุมมา (Patumma) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma alismatifolia* Gagnep เป็นไม้ดอกประเภทหัวอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เช่นเดียวกับ ขิง ข่า ขมิ้น และกระเจียว การผลิตปทุมมาสามารถผลิตได้ปีละครั้ง ในช่วงเดือนเมษายนถึง ธันวาคม โดยเริ่มปลูกในช่วงฤดูร้อน ออกดอกในช่วงฤดูฝน และพักตัวในช่วงฤดูหนาว (สุรพล สว่างเนตร, 2548) พบพันธุ์ปทุมมาในประเทศไทยมากกว่า 30 ชนิด ต่อมา มีการผลิตในเชิงการค้าและส่งออกต่างประเทศ การรายงานของ สุภาพร สัมโย และอำนาจ อรรถจักร์ (2563) กล่าวถึงแหล่งผลิตปทุมมา ในปี 2562 ซึ่งมีพื้นที่ประมาณ 400 ไร่ โดยส่วนใหญ่อยู่ในเขตภาคเหนือ ในจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย ส่วนพื้นที่อื่น ๆ ได้แก่ พะเยา ลำพูน เลย ชัยภูมิ และกาญจนบุรี เป็นต้น การส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมา มีมูลค่า 39.17 ล้านบาท ประเทศหลักที่ส่งออก ได้แก่ อินโดนีเซีย ปากีสถาน และมาเลเซีย มีมูลค่า 11.59, 7.38 และ 6.73 ล้านบาท ตามลำดับ นอกจากนี้การผลิตปทุมมามีประสบปัญหาโรคเหี่ยวเหี่ยว ซึ่งทำความเสียหายต่อผลผลิตมากถึง 5-90 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้มีการส่งออกชะลอตัว เนื่องจากมีความกังวลเกี่ยวกับโรคที่จะติดไปกับหัวพันธุ์ (สุรชาติ คูอารยกุล, 2539)

โรคเหี่ยวเหี่ยว เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* species complex ซึ่งเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ สามารถเข้าทำลายพืชได้มากกว่า 200 ชนิด (species) และมากกว่า 50 วงศ์ (families) โดยพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ อยู่ในวงศ์ Solanaceae, Musaceae, Zingiberaceae และ Cucurbitaceae เป็นต้น (Hayward, 1994; She et al., 2017) ทั้งนี้ความรุนแรงก็จะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ชนิดของพืชที่เข้าทำลาย และสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค (Hayward, 1994) ลักษณะอาการที่พบบนพืชโดยทั่วไปคือ ในระยะแรกจะเกิดอาการเหี่ยวในกลางวันที่มีอากาศร้อน และจะฟื้นเป็นปกติในเวลากลางคืน หรืออาจมีอาการเหี่ยวเล็กน้อย หลังจากนั้นจะแสดงอาการเหี่ยวที่รุนแรงมากขึ้น เหี่ยวทั้งต้น ใบเหี่ยวร่วงทั้งที่ต้นยังเขียวอยู่ หากสภาพแวดล้อมเหมาะสม อากาศร้อนจัด และความชื้นสูง การพัฒนาของโรคจะเร็วมาก พืชจะเหี่ยวทั้งต้นเหลือง และตายอย่างรวดเร็ว เมื่อตัดส่วนลำต้นมาแช่ในน้ำสะอาด จะพบของเหลวสีขาวขุ่นไหลออกมา (bacterial ooze) และพบอาการบริเวณท่อน้ำเลี้ยงถูกทำลาย (Dhital et al., 2000; Charkowski et al., 2020)

การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวโดยใช้คุณสมบัติทางชีวเคมี สามารถจัดกลุ่มของ *R. solanacearum* species complex เป็น 4 biovar โดยจัดตามกระบวนการเมแทบอลิซึมของ disaccharides ได้แก่ maltose, lactose, cellobiose, trehalose และ กระบวนการเมแทบอลิซึมของ hexose alcohols ได้แก่ sorbitol, mannitol, dulcitol (Huang et al., 2012) ในปัจจุบันการจัดจำแนกโดยใช้เทคนิคทางโมเลกุลของ *R. solanacearum* species complex ได้รับการศึกษามากขึ้น เพื่อให้สามารถจัดจำแนกเชื้อ และจัดกลุ่มชนิดของเชื้อได้อย่างแม่นยำ นำเชื้อเดิมมากขึ้น โดยการรายงานของ Fegan and Prior (2005) ได้จำแนกเชื้อแบคทีเรียตามถิ่นกำเนิดเป็น 4 กลุ่ม หรือ 4 phylotype โดย phylotype I มีถิ่นกำเนิดจากเอเชีย Phylotype II มีถิ่นกำเนิดจากอเมริกา Phylotype III มีถิ่นกำเนิดจากแอฟริกาใต้และอินเดีย และ Phylotype IV มีถิ่นกำเนิดจากอินโดนีเซีย นอกจากนี้ยังมีการจัดจำแนกให้เฉพาะเจาะจง สามารถบอกถึงความสัมพันธ์ของ sequevar โดยศึกษาตำแหน่งของยีนที่ทำให้เกิดโรค คือตำแหน่งของยีน endoglucanase (*egl*) และ transcriptional regulator (*hrpB*) จัดจำแนกด้วยวิธี DNA sequencing แล้วนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์ โดย BLAST ลำดับนิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ใน GenBank แล้ววิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้รูปแบบ Trees (Santana et al., 2012; Ailloud et al., 2015; Kyaw et al., 2017) ต่อมา Safni et al. (2014) ได้นำเสนอการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* species complex ใหม่เป็น 3 species หลัก ๆ ได้แก่ *Ralstonia pseudosolanacearum* (Phylotype I และ Phylotype III), *R. solanacearum* (Phylotype II), และ *Ralstonia syzygii* (Phylotype IV) ซึ่ง *R. syzygii* สามารถแบ่งได้อีก 3 subspecies ได้แก่ *R. syzygii* subsp. *syzygii*, *R. syzygii* subsp. *celebesensis* และ *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* (Safni et al., 2018)

เชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* species complex เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด และยังไม่มียาหรือการใดที่สามารถควบคุมโรคนี้ได้ผลดีพอ โดยเฉพาะการใช้สารเคมียังไม่มีการแนะนำให้ใช้ แนวทางในการควบคุมโรคนี้ต้องเน้นที่การป้องกัน จึงจะได้ผลดีกว่า เพราะเชื้อสาเหตุนี้มีพืชอาศัยที่กว้าง สามารถมีชีวิตอยู่ในดิน ในน้ำ หรือแฝงในพืชอาศัยอื่น ๆ ได้เป็นเวลากว่าหลายปี การแพร่กระจายของเชื้อสาเหตุ สามารถแพร่กระจายได้ง่ายและแพร่กระจายได้ไกล โดยเฉพาะติดไปกับหัวพันธุ์และวัสดุปลูก (Alvarez et al., 2008) งานวิจัยในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทาน โดย เสรี พิศลิป (2543) ได้ทดสอบความต้านทานโรคเหี่ยวเหี่ยวของมะเขือเทศ 35 สายพันธุ์ทั่วโลก โดยเปรียบเทียบกับพันธุ์อ่อนแอ 2 สายพันธุ์ ในสภาพแปลงทดลองที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวเหี่ยว ผลการศึกษาสามารถคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคได้ 3 สายพันธุ์ คือ Hawaii7998, MT-II และ TML46-N-12-N early NT การคัดเลือกพันธุ์ต้านทานต่อโรคเหี่ยวเหี่ยว จึงเป็นวิธีที่ดีที่สุดอีกวิธีหนึ่ง เพื่อหลีกเลี่ยงความเสียหายที่จะเกิดขึ้นต่อผลผลิต

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อทราบชนิดของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเฉาที่เข้าทำลายปทุมมา ซึ่งจัดจำแนกโดย biovar, phylotype และ sequevar และคัดเลือกพันธุ์ของปทุมมาที่ต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเฉา

วิธีการศึกษา

พืชที่ใช้ปลูกเชื้อทดสอบ

พืชที่ใช้ทดสอบอายุ 21 วัน ได้แก่ มะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*), พริก (*Capsicum annuum* 'Bird's Eye'), ดาวเรือง (*Tagetes erecta*), แตงกวา (*Cucumis sativus*), ฟักทอง (*Cucurbita maxima*) และปทุมมาลูกผสม 16 พันธุ์ อายุ 30 วัน ได้แก่ พันธุ์ขาวมะลิเชียงใหม่ (*Curcuma* sp. cv. Khao Mali (Chiang Rai)), พันธุ์เชียงใหม่พิงค์ (*Curcuma alismatifolia* cv. Chiang Mai Pink), พันธุ์บิ๊กเรด (*Curcuma* cv. Big Red), พันธุ์มวบบลัง (*Curcuma alismatifolia* cv. Mont Blanc), พันธุ์สโนไวท์ (*Curcuma alismatifolia* cv. Snow White), พันธุ์ผีเสื้อ (*Curcuma* sp. cv. Phee Sure), พันธุ์แดงตุง (*Curcuma* sp. cv. Dang Tung), พันธุ์ชมพูกลีบแข็ง (*Curcuma* sp. cv. Chom-Phu Kleeb Kaeng), พันธุ์ชาโดว์ (*Curcuma* sp. cv. Shadow), พันธุ์ชมพูมะลิ (*Curcuma* sp. cv. Chom-Phu Mali), พันธุ์ชมพูเส้น (*Curcuma* sp. cv. Chom-Phu Sen), พันธุ์ลัดดาวัลย์ (*Curcuma* sp. cv. Ladawan), พันธุ์ยูกิ (*Curcuma* sp. cv. Yuki), พันธุ์พลอยทักซิธ (*Curcuma aurantiaca* cv. Ploytaksin), พันธุ์แม่ใจอิมเพลส 01 (*Curcuma* sp. cv. Maejo Impress 01) และพันธุ์แม่ใจอิมเพลส 02 (*Curcuma* sp. cv. Maejo Impress 02) ในการทดสอบปลูกเชื้อทดสอบ ได้ใช้พืชชนิดอื่นที่นอกเหนือจากปทุมมาในการทดสอบด้วย เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของการเข้าทำลายและการเกิดโรคจากเชื้อแบคทีเรียที่ต่างชนิดกัน เมื่อจัดจำแนกทาง biovar, phylotype และ sequevar

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวเฉาที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* species complex จำนวน 9 ไอโซเลต (Akarapisan et al., 2021) เพื่อใช้ในการทดสอบการเกิดโรค จากห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชาการุณวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (Table 1) และเมื่อใช้ยีน *egl* ในการจัดจำแนกความแตกต่าง (sequevar) ของเชื้อทั้ง 9 ไอโซเลตได้ดัง Figure 1

Table 1 *R. solanacearum* species complex strains used in this study.

Strains	Host	Origin	biovar	phylotype/ sequevar	GenBank No. (<i>egl</i> gene)
1. Si16	Patumma	San Sai, Chiang Mai	4	I / 30	MW911479
2. CK1	potato	Chai Prakan, Chiang Mai	2T	IIA / 1	MW911478
3. Ta1	marigold	San Sai, Chiang Mai	3	I / 17	MW911480
4. To1	tomato	Mae Chaem, Chiang Mai	4	I / 47	MW911488
5. To3	tomato	Mueang, Chiang Mai	2T	I / 13	MW911490
6. Pu6	pumpkin	Mae Sai, Chiang Rai	2T	I / 17	MW874830
7. Ch1	bird chili	Mae Sai, Chiang Rai	2T	I / 17	MW911483
8. ChB	bird chili	Sa Moeng, Chiang Mai	4	I / 47	MW911485
9. Eg5	Thai eggplant	Mae Sai, Chiang Rai	4	I / 47	MW911494

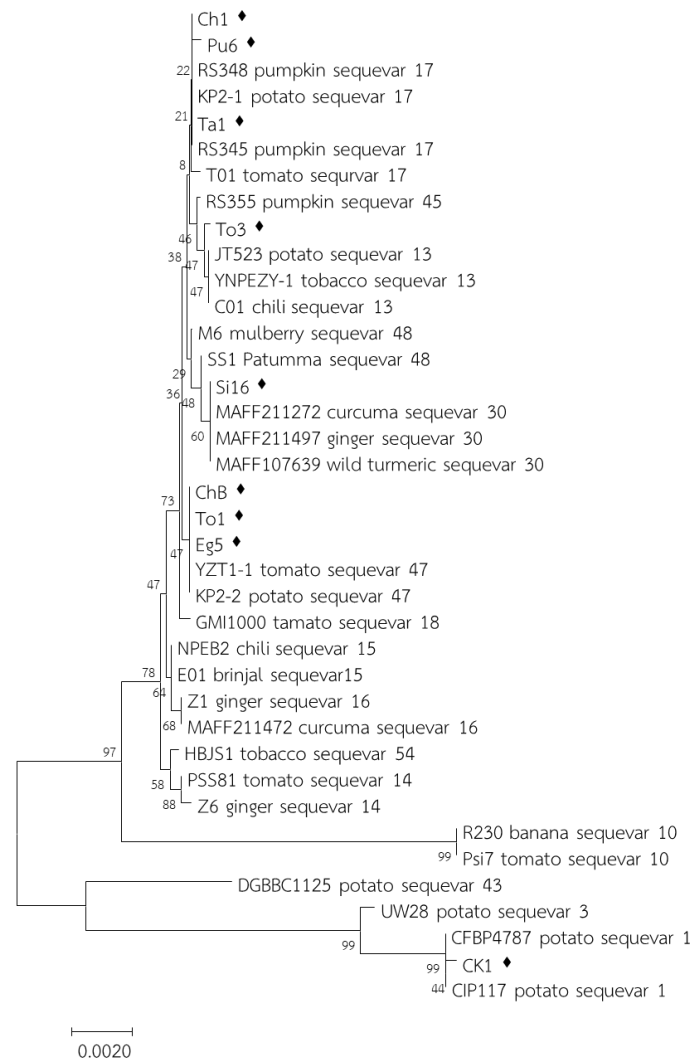


Figure 1 Phylogenetic neighbor-joining tree based on partial endoglucanase gene (*egl*) sequences of 9 strains of *R. solanacearum* species complex. The numbers were the percent bootstrap support for 1,000 resampling and evolutionary analyses conducted in MEGA10.

การปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ *R. solanacearum* species complex บนพืชทดสอบ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร NA (nutrient agar) บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ขูดเชื้อด้วยหัวหยด เชื้อเชื้อลงในน้ำกลั่นหนึ่งฝาเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเชื้อโดยการวัดค่าความขุ่นโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ช่วงความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่า optical density (O.D.) เท่ากับ 0.2 ซึ่งมีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 10^8 cfu/ml โดยขั้นตอนการปลูกเชื้อลงในพืชทดสอบที่ปลูกในกระถางเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 10 เซนติเมตร จะใช้มีดขนาด 1.5×12 เซนติเมตร ตัดส่วนรากให้ห่างจากโคนต้น 2 เซนติเมตร ทั้ง 2 ด้าน แล้วรดเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อต้น ซึ่งชุดควบคุมใช้น้ำกลั่นแทนเซลล์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุโรค โดยวางแผนการทดลองการปลูกเชื้อแบคทีเรียทั้ง 9 ไอโซเลต ในแต่ละชนิดพืชทดสอบ กรรมวิธีละ 20 ต้น จากนั้นสังเกตการเกิดโรค โดยบันทึกการเกิดโรค ซึ่งดัดแปลงวิธีของปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ (2542) และเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคหลังปลูกเชื้อ 15 และ 30 วัน (Yang et al., 2012) ดังนี้

ระดับการเกิดโรค

- 0 = ไม่แสดงอาการ
 1 = ใบม้วนหรือเหี่ยวลู่ลง 1-2 ใบ จากใบล่าง (ต้นสีเขียว)
 2 = ใบม้วนหรือเหี่ยวลู่ลง มากกว่า 2 ใบ (ต้นสีเขียว)
 3 = ใบม้วนหรือเหี่ยวทั้งต้นและต้นเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง
 4 = ใบม้วนหรือเหี่ยวทั้งต้น ต้นเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และโคนจมน้ำ
 5 = โคนจมน้ำและต้นล้มตาย

เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (disease incidence)

$$\text{ความรุนแรงของโรค (\%)} = \frac{\sum (\text{จำนวนต้นพืชที่เป็นโรคในแต่ละระดับ} \times \text{ระดับการเกิดโรค}) \times 100}{\text{จำนวนต้นพืชทั้งหมดที่ทำการทดสอบ} \times \text{ระดับการเกิดโรคสูงสุด}}$$

โดยแบ่งการตอบสนองต่อโรค (disease reaction) แบ่งออกเป็น 6 ระดับ ดัดแปลงจาก Khan et al. (2015)

ต้านทานสูงสุด (highly resistant: HR)	ความรุนแรงของโรค 0 เปอร์เซ็นต์
ต้านทาน (resistant: R)	ความรุนแรงของโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์
ต้านทานปานกลาง (moderately resistant: MR)	ความรุนแรงของโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์
อ่อนแอปานกลาง (moderately susceptible: MS)	ความรุนแรงของโรค 51-75 เปอร์เซ็นต์
อ่อนแอ (susceptible: S)	ความรุนแรงของโรค 76-99 เปอร์เซ็นต์
อ่อนแอสูงสุด (highly susceptible: HS)	ความรุนแรงของโรค 100 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการทดสอบการเกิดโรค โดยปลูกเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* species complex ทั้งหมด 9 ไอโซเลต บนพืชทดสอบ พบว่า เชื้อแบคทีเรียทุกไอโซเลตทำให้เกิดโรคในมะเขือเทศ และดาวเรือง ส่วนการทดสอบการเกิดโรคในพริกชี้ฟ้า พบเพียงไอโซเลต CK1 (biovar 2T, phylotype IIA, sequevar 1) เท่านั้น ที่ไม่ทำให้พริกชี้ฟ้าเกิดโรค ในพืชทดสอบดังกล่าว ไอโซเลตที่ทำให้เกิดโรค ได้แก่ ไอโซเลต To3 (biovar 2T, phylotype I, sequevar 13) ไอโซเลต Pu6 และ Ch1 (biovar 2T, phylotype I, sequevar 17) ส่วนพืชทดสอบพริกทอง พบเชื้อแบคทีเรียเพียง 2 ไอโซเลตที่ทำให้พริกทองเกิดโรค คือ ไอโซเลต Pu6 และ Ch1 (biovar 2T, phylotype I, sequevar 17) และพืชทดสอบปทุมมา พบ 1 ไอโซเลตเท่านั้นที่ทำให้ปทุมมาเกิดโรค คือ ไอโซเลต Si16 (biovar 4, phylotype I, sequevar 30) จะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่ต่าง sequevar ก็มีความสามารถทำให้เกิดโรคในพืชที่แตกต่างกัน หากนำปทุมมาไปปลูกในพื้นที่ที่มีการระบาดของแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยว sequevar 1, 13, 17 และ 47 ปทุมมาจะไม่แสดงอาการของโรคเหี่ยวเหี่ยว

เนื่องจากการรายงานการจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวในปทุมมายังมีไม่มากนัก ในปี 2544 มีการรายงานว่าพบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวในปทุมมา โดยแยกเชื้อจากปทุมมา 15 ตัวอย่าง และจัดจำแนกในระดับ biovar สามารถจำแนกทั้ง 15 ไอโซเลต ได้เป็น biovar 4 (Piyarat et al., 2001) ต่อมา Thanu and Akarapisan (2018) ได้ศึกษาโรคเหี่ยวเหี่ยวในปทุมมา และจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ โดยใช้เทคนิค DNA sequencing ซึ่งสามารถจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากปทุมมาได้เป็น *R. solanacearum* (biovar 4, phylotype I, sequevar 48) เนื่องจากปทุมมาเป็นไม้ดอกประเภทหัวอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เช่นเดียวกับ ขิง ข่า ขมิ้น และกระเจียว การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวในพืชกลุ่มนี้ โดยเทคนิค DNA sequencing ก็ยังมีไม่มากนัก จากการรายงานของ Xu et al. (2009) และ She et al. (2017) ได้แยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวจากขิง พบ sequevar 14, 16, 18, 44 และ 48 อีกทั้งการศึกษาในประเทศญี่ปุ่น Horita and Sakai (2020) ได้จัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยว ในพืชวงศ์ Zingiberaceae (ได้แก่ ขิง ขิงญี่ปุ่น ขมิ้น ขมิ้นป่า ขมิ้นอ้อย และขมิ้นชัน) ได้จัดจำแนกเป็น *R. pseudosolanacearum* (biovar 4, phylotype I, sequevars 14, 16 และ 30) ซึ่ง sequevar 30 ตรงกับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุที่ศึกษาในงานทดลองนี้

เนื่องจากการรายงานการคัดเลือกพันธุ์ปทุมมาที่ต้านทานต่อโรคเหี่ยวเหี่ยวยังมีไม่มากนัก จากผลการทดลอง การทดสอบการเกิดโรคในปทุมมาพันธุ์ต่าง ๆ พันธุ์ที่แสดงอาการเหี่ยวเหี่ยว ได้แก่ พันธุ์ขาวมะลิเขียวราย เขียวใหม่พิงค์ บิ๊กเรด มวยปลั่ง สโนไวท์ ฝีเสื้อ แดงตุง ชมพูกลีบแข็ง ชาโดว์ ชมพูมะลิ ชมพูเส้น และลัดดาวัลย์ ในขณะที่พันธุ์ยูกิ พลอยทักซิณ

แม่โจ้ิมเพลส 01 และแม่โจ้ิมเพลส 02 ไม่พบต้นที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวเฉียว (Table 2) ซึ่งปทุมมาแต่ละพันธุ์แสดงความอ่อนแอต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุดังกล่าวแตกต่างกัน ซึ่งจะกล่าวถึงในงานทดลองต่อไป

Table 2 Pathogenicity of *R. solanacearum* species complex strains on inoculated plants at 30 days after inoculation.

Inoculated plants	<i>R. solanacearum</i> species complex strains									
	control	Si16	CK1	Ta1	To1	To3	Pu6	Ch1	ChB	Eg5
Tomato (<i>Solanum Lycopersicum</i>)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
bird chili (<i>Capsicum annuum</i> 'Bird's Eye')	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Marigold (<i>Tagetes erecta</i>)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cucumber (<i>Cucumis sativus</i>)	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Pumpkin (<i>Cucurbita maxima</i>)	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
<i>Curcuma</i> sp. cv. Khao Mali (Chiang Rai)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma alismatifolia</i> cv. Chiang Mai Pink	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma</i> cv. Big Red	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma alismatifolia</i> cv. Mont Blanc	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma alismatifolia</i> cv. Snow White	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma</i> sp. cv. Phee Sure	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma</i> sp. cv. Dang Tung	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma</i> sp. cv. Chom-Phu Kleeb Kaeng	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma</i> sp. cv. Shadow	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma</i> sp. cv. Chom-Phu Mali	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma</i> sp. cv. Chom-Phu Sen	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma</i> sp. cv. Ladawan	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma</i> sp. cv. Yuki	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma aurantiaca</i> cv. Ploytaksin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma</i> sp. cv. Maejo Impress 01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curcuma</i> sp. cv. Maejo Impress 02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- No wilting, + Wilting.

การทดสอบพันธุ์ต้านทานของปทุมมา เมื่อปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเฉียวในปทุมมา ไอโซเลต Si16 (biovar 4, phylotype I, sequevar 30) โดยทดสอบกับปทุมมาและปทุมมาลูกผสมรวม 16 พันธุ์ แล้วประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคหลังปลูกเชื้อที่ 15 และ 30 วัน แสดงให้เห็นว่า ปทุมมาแต่ละพันธุ์ต้านทานหรืออ่อนแอและต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเฉียวแตกต่างกัน จากผลการทดลองพบว่า พันธุ์ปทุมมาที่อ่อนแอสูงสุด โดยแสดงความรุนแรงของโรค 100 เปอร์เซ็นต์ คือ พันธุ์ขาวมะลิเขียวราย เขียวใหม่พิงค์ และบิกเรด ซึ่งตายอย่างรวดเร็วหลังจากการปลูกเชื้อเพียง 15 วัน เมื่ออ่านผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 30 วัน พบพันธุ์ปทุมมาที่อ่อนแอต่อโรค โดยแสดงความรุนแรงของโรคในช่วง 76-99 เปอร์เซ็นต์ คือ พันธุ์มวยบลัง อีกทั้งพันธุ์ปทุมมาที่อ่อนแอต่อโรคปานกลาง โดยแสดงความรุนแรงของโรคในช่วง 51-75 เปอร์เซ็นต์ คือ พันธุ์ผีเสื้อ สโนว์ไวท์ และแดงตุ้ ในขณะที่ยพันธุ์ชมพูกลีบแข็ง และชาโดว์ แสดงความต้านทานโรคปานกลาง ซึ่งความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 26-50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์ชมพูมะลิ ชมพูเส้น และลัดดาวัลย์ แสดงความต้านทานโรค ซึ่งความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 1-25 เปอร์เซ็นต์ แต่พันธุ์ยูกิ พลอยทักษิณ แม่โจ้ิมเพลส 01 และแม่โจ้ิมเพลส 02 มีความต้านทานสูงสุดต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ โดยไม่พบต้นที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวเฉียว แสดงความรุนแรงของโรคอยู่ที่ 0 เปอร์เซ็นต์ (Table 3 และ Figure 2)

Table 3 Percent of disease incidence by *R. solanacearum* species complex, strain Si16, biovar 4, phylotype I, sequevar 30 at 15 and 30 days after inoculation.

Inoculated plants	Disease incidence (%)		Disease Reaction ¹
	15 days	30 days	
Tomato (<i>Solanum lycopersicum</i>)	100.0	100.0	HS
bird chili (<i>Capsicum annuum</i> 'Bird's Eye')	33.3	41.7	MR
Marigold (<i>Tagetes erecta</i>)	16.0	50.0	MR
Cucumber (<i>Cucumis sativus</i>)	0	0	HR
Pumpkin (<i>Cucurbita maxima</i>)	0	0	HR
<i>Curcuma</i> sp. cv. Khao Mali (Chiang Rai)	100.0	100.0	HS
<i>Curcuma alismatifolia</i> cv. Chiang Mai Pink	100.0	100.0	HS
<i>Curcuma</i> cv. Big Red	94.0	100.0	HS
<i>Curcuma alismatifolia</i> cv. Mont Blanc	52.0	90.0	S
<i>Curcuma alismatifolia</i> cv. Snow White	44.0	70.0	MS
<i>Curcuma</i> sp. cv. Phee Sure	50.0	60.0	MS
<i>Curcuma</i> sp. cv. Dang Tung	50.0	60.0	MS
<i>Curcuma</i> sp. cv. Chom-Phu Kleeb Kaeng	14.0	50.0	MR
<i>Curcuma</i> sp. cv. Shadow	30.0	45.0	MR
<i>Curcuma</i> sp. cv. Chom-Phu Mali	22.0	25.0	R
<i>Curcuma</i> sp. cv. Chom-Phu Sen	5.0	10.0	R
<i>Curcuma</i> sp. cv. Ladawan	0	5.0	R
<i>Curcuma</i> sp. cv. Yuki	0	0	HR
<i>Curcuma aurantiaca</i> cv. Ploytaksin	0	0	HR
<i>Curcuma</i> sp. cv. Maejo Impress 01	0	0	HR
<i>Curcuma</i> sp. cv. Maejo Impress 02	0	0	HR

1/ HR; Highly Resistant, R; Resistant, MR; Moderately Resistant, MS; Moderately Susceptible, S; Susceptible, HS; Highly Susceptible Resistant.

สรุปผลการศึกษา

การทดสอบการเกิดโรคเหี่ยวเฉาในปทุมมาลูกผสมพันธุ์ต่าง ๆ โดยใช้เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเฉา 9 ไอโซเลต พบ 1 ไอโซเลตที่สามารถเข้าทำลายและทำให้ปทุมมาเป็นโรคได้ คือ *R. solanacearum* ไอโซเลต Si16 (biovar 4, phylotype I, sequevar 30) เมื่อปลูกเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวเพื่อคัดเลือกพันธุ์ปทุมมาลูกผสมที่ต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค พบว่า ปทุมมาพันธุ์ที่ต้านทานสูงสุด ไม่แสดงอาการของโรคเหี่ยวเฉา คือ พันธุ์ยูกิ พลอยทักษิณ แม่โจ้มเพลส 01 และแม่โจ้มเพลส 02 ส่วนพันธุ์ปทุมมาที่มีความต้านทานโรค ได้แก่ ชมพูมะลิ ชมพูเส้น และลัดดาวัลย์ ในขณะที่พันธุ์ขาวมะลิ เชียงราย เชียงใหม่ พิงค์ บิ๊กเรด และมวยปล้ำ ไม่ต้านทานโรค แสดงอาการเหี่ยวเฉารุนแรง

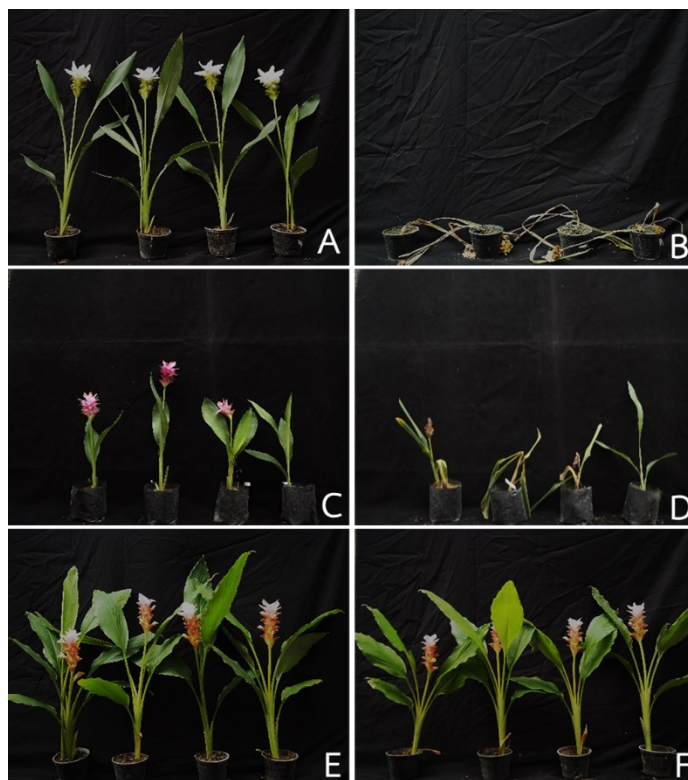


Figure 2 The pathogenicity of *R. solanacearum* species complex, strain Si16 (biovar 4, phylotype I, sequevar 30) on *Curcuma* sp. at 30 days after inoculation.

- (A) Non-inoculated of *Curcuma* sp. cv. Khao Mali (Chiang Rai).
 (B) Pathogenicity test of *Curcuma* sp. cv. Khao Mali (Chiang Rai) at 100% of disease incidence.
 (C) Non-inoculated of *Curcuma* sp. cv. Dang Tung.
 (D) Pathogenicity test of *Curcuma* sp. cv. Dang Tung at 60% of disease incidence.
 (E) Non-inoculated of *Curcuma* sp. cv. Maejo Impress 02.
 (F) Pathogenicity test of *Curcuma* sp. cv. Maejo Impress 02 at 0% of disease incidence.

เอกสารอ้างอิง

- ปิยะรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์, นิพนธ์ ทวีชัย, อำไพวรรณ ภราดรพันธุ์, สุรวิษ วรรณไกรโรจน์ และสุรางค์ สุธิราวุธ. 2542. โรคหัวเน่าจากแบคทีเรียของปทุมมาและการตรวจเชื้อที่ติดมากับหัวพันธุ์. ใน การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37 สาขาพืช สาขาส่งเสริมนิเทศศาสตร์. น. 295-302. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; กระทรวงการเกษตรและสหกรณ์; กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม; ทบวงมหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- สุรชาติ คูอารยกุล. 2539. โรคเหี่ยวหรือหัวเน่าของไม้ดอกตระกูลกระเจียวและการป้องกันกำจัด. ใน เอกสารประกอบคำบรรยายการสัมมนาวิชาการ เรื่อง “ผลกระทบของโรคหัวเน่าของปทุมมาต่อการผลิตและการส่งออก. น.1-22. สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขต 1 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- สุรพล สว่างเนตร. 2548. การศึกษาแนวทางการแก้ไขปัญหาในการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมาไปต่างประเทศ. ใน ผลงานฉบับเต็ม กลุ่มวินิจัยศัตรูพืช ส่วนควบคุมพืชและวัสดุทางการเกษตร. น. 2-52. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- สุภาพร สัมโย และอำนาจ อรรถถังรอง. 2563. สถานการณ์การผลิตปทุมมา (มิถุนายน 2563). สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-6. <https://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2020/10/สถานการณ์ปทุมมามิถุนายน2563.pdf> (30 ธันวาคม 2564).
- เสรี พิศาลปี. 2543. การตรวจสอบและคัดเลือกมะเขือเทศลูกผสมพันธุ์ต้านทานต่อโรคเหี่ยวเหี่ยว. น.1-103. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Alvarez, B., Lopez, M., and Biosca, G. 2008. Survival strategies and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* phylotype II subjected to prolonged starvation in environmental water microcosms. *Microbiology* 154: 3590-3598.
- Ailloud, F., Lowe, T., Cellier, G., Roche, D., Allen, C., and Prior, P. 2015. Comparative genomic analysis of *Ralstonia solanacearum* reveals candidate genes of host specificity. *BMC Genomics* 16(270): 1-11.
- Akarapisan, A., Kumvinit, A., Thungrabeab, M., Thumdee, S., and Kositratana, W. 2021. Phylotype, sequevar and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* species complex from Northern Thailand. *Journal of Phytopathology* 170: 176-184.

- Charkowski, A., Sharma, K., Parker, L. M., Secor, A.G., and John, E. 2020. The potato crop. *In: Bacterial diseases of potato*, pp. 351-388.
- Dhital, P. S., Thaveechai, N., and Shrestha, K. S. 2000. Characteristic of *Ralstonia solanacearum* strains of potato wilt disease from Nepal and Thailand. *Nepal Agriculture Research Journal* 4: 42-47.
- Fegan, M., and Prior, P. 2005. Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. *In: How complex is the Ralstonia solanacearum* species complex, pp. 449-462.
- Hayward, A. C. 1994. "The host of *Pseudomonas solanacearum*" in Bacterial Wilt: The disease and its Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum*, eds Harward AC and Hartman (Wallingford: CAB International). 9-24.
- Horita, M., and Sakai, K. Y. 2020. Specific detection and quantification of *Ralstonia pseudosolanacearum* race 4 strains from Zingiberaceae plant cultivation soil by MPN-PCR. *Journal of General Plant Pathology* 86: 393-400.
- Huang, Q., Yan, X., and Wang, F. J. 2012. Improved biovar test for *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Microbiological Methods* 88: 271-274.
- Khan, M., Rafi, A., Abbas, A., Ali, T., and Hassan, A. 2015. Assessment of yield losses caused by bacterial blight of rice in upper dir, Khyber Pakhtunkhwa province. *Asian Journal of Agriculture and Biology* 3(2): 74-78.
- Kyaw, W. W. H., Tsuchiya, K., Matsumoto, M., Iiyama, K., Aye, S. S., Zaw, M., Kurose, D., Horita, M., and Furuya, N. 2017. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains causing bacterial wilt of Solanaceous crops in Myanmar. *Journal of General Plant Pathology* 83: 216-225.
- Piyarat, T., Nophone, T., Wichai, K., Julapark, C., Frederick, D.R., and Schaad, W. N. 2001. Genetic analysis of *Ralstonia solanacearum* strains from different hosts in Thailand using PCR-restriction fragment length polymorphism. *Kasetsart Journal* 35: 397-408.
- Safni, I., Cleenwerck, I., Vos, D. P., Fegan, M., Sly, L., and Kappler, U. 2014. Polyphasic taxonomic revision of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to emend the descriptions of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia syzygii* and reclassify current *R. syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* subsp. nov., *R. solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp. nov., banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* subsp. nov. and *R. solanacearum* phylotype I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64: 3087-3103.
- Safni, I., Subandiyah, S., and Tegan, M. 2018. Ecology, epidemiology and disease management of *Ralstonia syzygii* in Indonesia. *Frontiers in microbiology*. 9: article 419.
- Santana, B. G., Lopes, C. A., Alvarez, E., Barreto, C. C., Allen, C., and Quirino, B. F. 2012. Diversity of Brazilian biovar 2 strains of *Ralstonia solanacearum*. *Journal of General Plant Pathology* 78: 190-200.
- She, X., Yu, L., Lan, G., Tang, Y., and He, Z. 2017. Identification and genetic characterization of *Ralstonia solanacearum* species complex isolates from *Cucurbita maxima* in China. *Frontiers in Plant Science* 1794(8): 1-11.
- Thano, P., and Akarapisan, A. 2018. Phylotype and sequevar of *Ralstonia solanacearum* which causes bacterial wilt in *Curcuma alismatifolia* Gagnep. *Letters in Applied Microbiology* 66: 384-393.
- Xu, J., Pan, Z. C., Prioi, P., Xu, J. S., Zhang, Z., Zhang, H., Zhang, L. Q., He, L. Y., and Feng, J. 2009. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from China. *European Journal of Plant Pathology* 125: 641-653.
- Yang, W., Xu, Q., Liu, X. H., Wang, P. Y., Wang, M. Y., Yang, T. H., and Guo, H. J. 2012. Evaluation of biological control agents against *Ralstonia* wilt on ginger. *Biological control* 62: 144-151.

วันรับบทความ (Received date) : 11 ก.พ. 65

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 25 มี.ค. 65

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 9 พ.ค. 65