

RESEARCH ARTICLE

การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ dsRNA เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสในพริก Evaluation of the Efficacy of dsRNA Product for Controlling Anthracnose Disease in Chili Peppers

วรารณ เรือนแก้ว^{1*}, วรรัตน์ ศรีประพัฒน์², ศรีณภิมย์ งามล้วน², วรรัตน์ สมประทุม¹, เครือวัลย์ บุญเงิน¹ และ อารดา มาสรี¹
Warakorn Ruankaew¹, Wararat Sriprapat^{2*}, Sarunpirom Ngamluan², Wareerat Sompratoom¹, Kruawan Boonngoen¹ and Arada Masari¹

¹ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 ชัยนาท

¹ Office of Agricultural Research and Development Region 5, Chai Nat

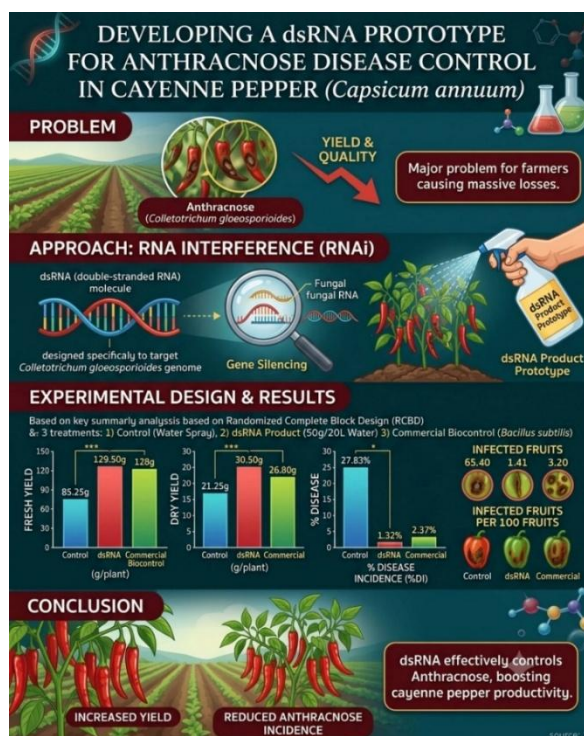
² สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ปทุมธานี

² Biotechnology Research and Development Office, Pathum Thani

*Correspondence: : jankmutt@gmail.com

| Received: 26 December 2025 | Revised: 08 June 2026 | Accepted: 08 June 2026

GRAPHICAL ABSTRACT



บทคัดย่อ

แอนแทรคโนส (Anthracnose) ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* เป็นปัญหาสำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตพริก เนื่องจากส่งผลกระทบต่อทั้งปริมาณและคุณภาพของผลผลิต ทำให้เกษตรกรต้องรับภาระความสูญเสียอย่างมาก การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบจากการนำเทคโนโลยี RNA interference (RNAi) มาใช้ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในพริกชี้ฟ้า ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยออกแบบการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) 3 กรรมวิธี ประกอบด้วย กรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) กรรมวิธีผลิตภัณฑ์ dsRNA ความเข้มข้น 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ทางการค้า พบว่า น้ำหนักผลสดของพริกจากแต่ละกรรมวิธี เท่ากับ 85.25 129.50 และ 128 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ขณะที่น้ำหนักผลแห้งของพริกแต่ละกรรมวิธี เท่ากับ 21.25 30.50 และ 26.80 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ในด้านการป้องกันโรค จำนวนผลพริกที่เกิดโรคในกรรมวิธี dsRNA น้อยที่สุด เพียง 1.41 ผลต่อ 100 ผล เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีถึง 65.40 ผล และชีวภัณฑ์ทางการค้าที่มี 3.20 ผล ดัชนีการเกิดโรค (%Disease Incidence, %DI) ของกรรมวิธี dsRNA ก็ต่ำที่สุดที่ 1.32% เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ 27.83% และชีวภัณฑ์ทางการค้าที่ 2.37% จากผลการศึกษาสรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์ dsRNA มีประสิทธิภาพสูงในการเพิ่มผลผลิตพริกชี้ฟ้าและลดการเกิดโรคแอนแทรคโนส

คำสำคัญ: อาร์เอ็นเออินเตอร์เฟียร์เรนซ์, อาร์เอ็นเอสายคู่, เชื้อคอลเลทโตทริคัม, แอนแทรคโนส, พริกชี้ฟ้า

Abstract

Anthracnose, caused by the fungus *Colletotrichum*, poses a significant challenge to the chili pepper industry due to its detrimental effects on both yield and product quality, resulting in considerable economic losses for farmers. This study examines the application of RNA interference (RNAi) technology as a strategy for controlling anthracnose in spur chili (Prik Chee Fah), with a focus on targeting the pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. The experiment followed a Randomized Complete Block Design (RCBD) with three treatments: a control (water), a dsRNA-based product, and a commercial bioproduct. Results indicated that the mean fresh fruit weights for the treatments were 85.25, 129.50, and 128 grams per plant, respectively, while the dry fruit weights were 21.25, 30.50, and 26.80 grams per plant, respectively, with statistically significant differences ($P < 0.01$) observed. In terms of disease suppression, the dsRNA treatment exhibited the lowest number of infected fruits, with only 1.41 fruits per 100, compared to 65.40 fruits in the control and 3.20 fruits in the commercial bioproduct treatment. Additionally, the disease incidence index (%DI) was the lowest in the dsRNA treatment at 1.32%, compared to 27.83% in the control and 2.37% in the commercial bioproduct group. These findings suggest that the dsRNA product was highly effective in enhancing chili pepper yield and minimizing anthracnose incidence.

Keywords: RNA interference, Double-stranded RNA, *Colletotrichum* sp., anthracnose, spur chili

1. บทนำ

พริก (*Capsicum* spp.) ถือเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญที่มีการผลิตและบริโภคอย่างแพร่หลายในประเทศไทยและต่างประเทศ เนื่องจากพริกมีคุณค่าทางโภชนาการสูง จึงเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ อย่างไรก็ตาม ปัญหาหลักในการปลูกพริกสำหรับประเทศไทยคือโรคแอนแทรคโนส หรือที่เรียกว่า "โรคกุ้งแห้ง" ที่ส่งผลให้ผลผลิตต่อพื้นที่ลดลงและทำให้ผลผลิตที่เก็บเกี่ยวมีการเน่าเสีย ส่งผลให้เกษตรกรต้องขายผลผลิตในราคาที่ต่ำ (Sukwiboon *et al.*, 2013) โรคแอนแทรคโนสในพริกที่พบในประเทศไทยมีสาเหตุจากเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *C. gloeosporioides*, *C. capsici* และ *C. acutatum* (Than *et al.*, 2008) มีรายงานชนิดของเชื้อสาเหตุเพิ่มเติมในช่วงหลัง ได้แก่ *C. javanense*, *C. makassarensense* และ *C. tainanense* เป็นต้น (de Silva *et al.*, 2019) ซึ่งโรคแอนแทรคโนสในพริกถือเป็นปัญหาสำคัญสำหรับเกษตรกรผู้ปลูกพริก แม้ว่าในปัจจุบันนี้จะมีการพัฒนาเทคนิคการปลูกพริกในระบบโรงเรือน เพื่อป้องกันแมลงศัตรูพืชและรักษาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม แต่ยังมีรายงานการระบาดของโรคแอนแทรคโนสในพริกที่ปลูกในระบบโรงเรือน (Utkhede and Mathur, 2003; Choi *et al.*, 2011; O'Neill and Mayne, 2015)

การใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสในพริกส่งผลกระทบต่อเกษตรกรและสิ่งแวดล้อม โดยหนึ่งในปัญหาที่สำคัญคือเชื้อสาเหตุโรคมีการพัฒนาเพื่อต้านทานต่อการใช้สารเคมีซ้ำ ๆ ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลดลง ทำให้เกษตรกรต้องใช้สารเคมีใหม่ที่มีราคาแพงกว่า นอกจากนี้ การใช้สารเคมียังสามารถก่อให้เกิดมลพิษต่อดิน น้ำ และอากาศ ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศโดยรอบและความหลากหลายทางชีวภาพในพื้นที่เกษตรกรรม รวมถึงอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภคจากการสัมผัสหรือบริโภคผลผลิตที่มีสารเคมีตกค้าง (Santos and Costa, 2018) ปัจจุบันเกษตรกรมีการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัย เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่มีราคาอยู่ที่ประมาณ 500-700 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งต้องใช้ในปริมาณมาก ใช้อัตรา 40-50 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และฉีดพ่น ซ้ำทุก 5-7 วัน เป็นจำนวน 4-5 ครั้ง จึงเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิตให้กับเกษตรกร นอกจากนี้ การดูแลผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อป้องกันความเสียหายอาจถือเป็นการแก้ปัญหาที่ปลายทาง และยังทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น เพราะเชื้อราอาจเข้าทำลายพริกตั้งแต่ช่วงต้นกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยว

อย่างไรก็ตาม มีการนำเทคโนโลยี RNA interference (RNAi) มาประยุกต์ใช้ในการเกษตร ได้แก่ การควบคุมโรคพืช การควบคุมแมลงศัตรูพืช การปรับปรุงคุณภาพของผลผลิต และการสร้างพืชต้านทานสภาพแวดล้อม เป็นต้น (Bock, 2015; Kumar and Kaur, 2017; Miller and Kunkel, 2017; Köppel and Ewald, 2017; Meyer and Harn, 2017) ซึ่งเทคโนโลยี RNAi เป็นกระบวนการที่ใช้เพื่อควบคุมการแสดงออกของยีน โดยใช้โมเลกุล RNA ขนาดสั้นที่มีชื่อว่า double-stranded RNA (dsRNA) เมื่อ dsRNA ถูกฉีดพ่นหรือดูดซึมเข้าสู่พืช จะถูกตัดเป็น small interfering RNA (siRNA) ซึ่งช่วยในการยับยั้งการแปลผลของ mRNA ที่เป็นเป้าหมาย ทำให้ยีนที่เกี่ยวข้องไม่สามารถแสดงออกได้ เทคโนโลยีนี้มีข้อดีคือ มีความจำเพาะต่อเชื้อโรคหรือควบคุมยีนภายในพืชเอง ลดการใช้สารเคมี และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Fire *et al.*, 1998; Sundaresha *et al.*, 2022) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ต้นแบบ dsRNA ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับชีวภัณฑ์ทางการค้า เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ในการจัดการโรคพืชอย่างยั่งยืน

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

2.1. การเพิ่มปริมาณ dsRNA ในระบบเซลล์แบคทีเรีย

ออกแบบ RNA สายคู่หรือ dsRNA เริ่มจากการหาตำแหน่งยีนเป้าหมายบนจีโนมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยยีนเป้าหมายคือยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์และการสังเคราะห์เส้นใยของ

เชื้อรา เนื่องจากเป็นกระบวนการสำคัญต่อการเจริญเติบโต การเข้าทำลายพืชอาศัย และการก่อโรคของเชื้อรา ทั้งนี้ ลำดับเบสของ dsRNA ที่ออกแบบได้มีขนาด 285 bp ดังนี้

```
AGATCTACCGAAGTAAACTCAAATCCCAACGTCACCGTCCTTGTCGGCGAGCTCTACACAAGACACAA  
GCCTACGCCCCGACAACAGAGACGTGACAACAAACGGTCCCATCTCCGGCGTAGGCGTGAACCATGACTTGAT  
CAACGATCTCTTCCGCGGCGTCCAGCTCGCCTTCATCAACACCACATTTTATGGAGACGAGTTCCAAATCGGC  
AAGGCACTTGCCGATGCCGCAAAGAAGGCAGGTGTTTCAGCACTACGTGGTACC
```

จากนั้นนำลำดับเบสดังกล่าวเชื่อมต่อเข้ากับเวกเตอร์ L4440 โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ BglII และ KpnI แล้วถ่ายฝากเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย *Escherichia coli* เพื่อผลิต dsRNA ด้วยเทคนิค *In vivo* transcription โดยเพาะเลี้ยงเชื้อในระบบถังหมักแบบ spinner flask เป็นเวลา 16 ชั่วโมง และกระตุ้นการแสดงออกของ dsRNA ด้วย isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside (IPTG) จากนั้นสกัด dsRNA ด้วย TRIzol ตามวิธีของ Afifah *et al.* (2020) ทำตรวจสอบคุณภาพของ dsRNA ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบขนาดและความสมบูรณ์ของแถบ dsRNA และวัดปริมาณรวมถึงความบริสุทธิ์ด้วย Nanodrop เพื่อยืนยันว่า dsRNA ที่ผลิตได้มีคุณภาพและปริมาณเพียงพอสำหรับนำไปสังเคราะห์เป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ dsRNA สำหรับทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของพริกในสภาพโรงเรือน

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ต้นแบบ dsRNA

ทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ในพริกชี้ฟ้าพันธุ์เรตฮอต (แดงจินดา) ภายในโรงเรือนความปลอดภัยทางชีวภาพของ กรมวิชาการเกษตร ที่มีการควบคุมอุณหภูมิอากาศอยู่ในช่วง 28–35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 70–90 เปอร์เซ็นต์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อก (Randomized complete block: RCBD) โดยเปรียบเทียบ 3 กรรมวิธี ซึ่งแต่ละกรรมวิธีทดสอบ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 4 กระถาง กระถางละ 4 ต้น เป็นจำนวน 20 กระถางต่อกรรมวิธี เริ่มเพาะเมล็ดพันธุ์พริกในถาดเพาะกล้า และย้ายกล้าลงกระถางปลูกเมื่ออายุ 15 วัน โดยเว้นระยะห่าง 0.50 เมตรระหว่างซ้ำ หลังจากการย้ายกล้าปลูกคลุมกระถางด้วยฟางข้าวและปฏิบัติตามมาตรฐานการเกษตรที่ดี (GAP) เช่น การใส่ปุ๋ยและพ่นสารเคมีกำจัดแมลงตามที่เหมาะสม ทำการปลูกเชื้อด้วยการพ่นเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่ความเข้มข้น 1×10^6 spores/ml ปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อต้น โดยฉีดพ่นทั้งต้นเมื่อพริกอายุ 60 วัน จากนั้นฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ตามกรรมวิธีที่ทดสอบ โดยเริ่มพ่นเมื่อพริกเริ่มติดดอกชุดที่ 1 และพ่นในช่วงเย็นทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 5 ครั้ง โดยพ่นตามกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (พ่นน้ำเปล่า)

กรรมวิธีที่ 2 กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์จาก dsRNA อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 กรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์ทางการค้า *Bacillus subtilis* อัตรา 70 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

ทำการบันทึกข้อมูลสุ่มต้นภายในพื้นที่เก็บเกี่ยวขนาด 12 ตารางเมตรหรือจำนวน 20 ต้นต่อกรรมวิธี โดยเว้นแถวริมขอบกระถางข้างละ 1 แถว และเว้นแถวหัวและแถวท้ายข้างละ 1 แถว บันทึกปริมาณผลผลิตโดยเก็บผลสุกแก่สีแดงภายหลังดอกแรกบาน 60 วัน เก็บผลผลิตสัปดาห์ละครั้ง เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ซึ่งน้ำหนักผลสดทั้งหมดจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักแห้งที่ได้

สำหรับการประเมินการเกิดโรคแอนแทรกซ์ซึ่งเกิดจากการฉีดเชื้อ ทำการสุ่มเก็บผลผลิตสดจำนวน 100 ผล และให้คะแนนตามขนาดและลักษณะของแผลที่เกิดขึ้นบนผลพริก โดยการใช้การแบ่งระดับความรุนแรงของโรคตาม 6 ระดับ (0-9 คะแนน) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Montri *et al.* (2009) โดยคะแนนถูกกำหนดตามขนาดของแผลและลักษณะอาการของแผลดังนี้

- 0 คะแนน ไม่พบรอยแผล
- 1 คะแนน ขนาดแผล 1-2% เป็นแผลเน่ายุบ หรือแผลฉ่ำน้ำ
- 3 คะแนน ขนาดแผล > 2-5% เป็นแผลเน่ายุบ หรือแผลฉ่ำน้ำ 5%
- 5 คะแนน ขนาดแผล > 5-15% ปรากฏ acervuli หรือแผลเน่ายุบ 25%
- 7 คะแนน ขนาดแผล > 15-25% ปรากฏแผลเน่ายุบ พร้อม acervuli
- 9 คะแนน ขนาดแผล > 25% ปรากฏกลุ่มของสปอร์เรียงเป็นวงรื้อรอบแผล

การคำนวณเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค (Disease index, %DI) ตามวิธีของ Phialathounheune et al. (2012) โดยการแบ่งลักษณะความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส 6 ลักษณะ ได้แก่ ต้านทานมาก (highly resistant, HR = 17% DI) ต้านทาน (resistant, R = 18-34% DI) ต้านทานปานกลาง (moderate resistant, MR = 35-50% DI) อ่อนแอปานกลาง (moderate susceptible, MS = 51-67% DI) อ่อนแอ (Susceptible, S = 68-84% DI) และอ่อนแอมาก (highly susceptible, HS = 85-100% DI)

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค Disease Index (\%DI)} = \frac{\sum(N_i \times V_i) \times 100}{N \times V}$$

เมื่อ N_i = จำนวนผลที่แสดงการเกิดโรคในแต่ละระดับ

V_i = ระดับการเกิดโรค (1, 3, 5, 7, 9)

V = ระดับการเกิดโรคสูงสุด

N = จำนวนผลทั้งหมดที่นำมาทดสอบเพื่อนำไประบุลักษณะความต้านทานของผลพริก

2.3 การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ น้ำหนักผลสด (กรัม/ต้น) น้ำหนักผลแห้ง (กรัม/ต้น) จำนวนผลเกิดโรค (ผล/100 ผล) และ ดัชนีการเกิดโรค (%DI) และต้นทุนการผลิต

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกรรมวิธีด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยใช้โปรแกรม STAR (Statistical Tool for Agricultural Research) version 2.0.1

3. ผลการทดลอง

3.1. การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ต้นแบบ dsRNA

จากการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ dsRNA เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสในพริก พบว่าน้ำหนักผลสด พริกชี้ฟ้าจากกรรมวิธีฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์จาก dsRNA ให้น้ำหนักผลสดสูงสุดที่สุด คือ 129.50 กรัมต่อต้น รองลงมา คือ กรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์ทางการค้า *B. subtilis* ให้น้ำหนักผลสด 128.00 กรัมต่อต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นด้วยผลิตภัณฑ์จาก dsRNA ส่วนกรรมวิธีฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (กรรมวิธีควบคุม) ให้น้ำหนักผลสด 85.25 กรัมต่อต้น และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% จากกรรมวิธีอื่น ๆ (Table 1) ขณะที่ น้ำหนักผลแห้งพริกชี้ฟ้า พบว่า กรรมวิธีพ่นด้วยผลิตภัณฑ์จาก dsRNA มีผลให้น้ำหนักผล

แห้งสูงสุด คือ 30.50 กรัมต่อต้น รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์ทางการค้า *B. subtilis* ให้น้ำหนักผลแห้ง 26.80 กรัมต่อต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นด้วยผลิตภัณฑ์จาก dsRNA ส่วนกรรมวิธีพ่นด้วยน้ำเปล่า (กรรมวิธีควบคุม) ให้น้ำหนักผลแห้ง 21.25 กรัมต่อต้น และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% จากกรรมวิธีพ่นด้วยผลิตภัณฑ์จาก dsRNA (Table 1)

Table 1 Average Fresh Weight and Dry Weight of Spur Chili (Prik Chee Fah) in Chainat Province, 2024

Treatment	Fresh Weight (grams/plant)	Dry Weight (grams/plant)
Control (water)	85.25 ^{a1/}	21.25 ^a
dsRNA Product	129.50 ^b	30.50 ^b
Bioproduct (<i>Bacillus subtilis</i>)	128.00 ^b	26.80 ^{ab}
F-Test	**	**
C.V. (%)	14.9	10.3

**= Statistically Different at the 99 Percent Confidence Level

1/= Letters in the Same Column Are Not Statistically Different

ผลการวิเคราะห์การเกิดโรคแอนแทรกโนส พบว่ากรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์จาก dsRNA มีจำนวนผลเกิดโรคและดัชนีการเกิดโรค (%DI) ต่ำที่สุด คือ 1.41 ผลต่อ 100 ผล และ 1.32% ตามลำดับ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์ทางการค้า *B. subtilis* (3.20 ผลต่อ 100 ผล และ 2.37%) ซึ่งทั้งสองกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีควบคุม (พ่นน้ำเปล่า) มีจำนวนผลเกิดโรคและดัชนีการเกิดโรคสูงที่สุดคือ 65.40 ผลต่อ 100 ผล และ 27.83% ตามลำดับ และแตกต่างจากกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (Table 2)

Table 2 Average Number of Diseased Fruits and Percentage of Disease Incidence in Spur Chili (Prik Chee Fah) in Chainat Province, 2024

Treatment	Number of Diseased Fruits (fruits/100 fruits)	Disease Index (%DI)
Control (water)	65.40 ^{a1/}	27.83 ^a
dsRNA Product	1.41 ^b	1.32 ^b
Bioproduct (<i>Bacillus subtilis</i>)	3.20 ^b	2.37 ^b
F-Test	**	**
C.V. (%)	15.70	16.90

**= Statistically Different at the 99 Percent Confidence Level

1/= Letters in the Same Column Are Not Statistically Different

จากการศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ dsRNA เพื่อควบคุมโรคแอนแทรกโนสในพริกเปรียบเทียบกับกรรมวิธีต่าง ๆ พบว่าการเข้าทำลายของเชื้อราก่อโรคในกรรมวิธีพ่นด้วยน้ำเปล่า (กรรมวิธีควบคุม) สามารถสร้าง

ความเสียหายต่อผลผลิตพริกชี้ฟ้าได้ทุกส่วน เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ dsRNA และกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์ทางการค้า *B. subtilis* ที่พบลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อราก่อโรคเพียงบางตำแหน่ง (Figure 1)



Figure 1 Symptoms of anthracnose disease in Spur Chili (Prik Chee Fah) under different treatment methods.

3.2 ข้อมูลด้านเศรษฐศาสตร์

ข้อมูลด้านเศรษฐศาสตร์ของกรรมวิธีควบคุมเปรียบเทียบกับกรรมวิธี dsRNA และกรรมวิธี BS พบว่า ต้นทุนเฉลี่ยของกรรมวิธีควบคุมต่ำกว่ากรรมวิธี dsRNA ร้อยละ 3.47 แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธี dsRNA และกรรมวิธี BS พบว่า ต้นทุนการผลิตของกรรมวิธี dsRNA ต่ำกว่ากรรมวิธี BS ร้อยละ 2.61 (Table 3)

4. วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ dsRNA ที่พัฒนาจากเทคโนโลยีอาร์เอ็นเออินเตอร์เฟียร์เรนซ์ ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในพริกชี้ฟ้า โดยใช้อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พบว่าผลิตภัณฑ์ dsRNA สามารถควบคุมการเกิดโรคแอนแทรคโนสในพริกชี้ฟ้าได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ McLoughlin *et al.* (2018) ที่พบว่า การพ่น dsRNA ให้กับต้นคาโนลา สามารถช่วยลดการเกิดโรคต้นเน่าได้ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Koch *et al.* (2016) ที่ทำการพ่น siRNA และ dsRNA ที่ออกแบบให้มีความจำเพาะกับเชื้อ *Fusarium graminearum* ในข้าวบาร์เลย์ จากผลการวิจัยพบว่า พืชสามารถดูดซึมและเคลื่อนย้าย siRNA และ dsRNA ผ่านทางระบบท่อลำเลียงของพืช (plant vascular system) ไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ จากนั้น siRNA และ dsRNA เหล่านี้จึงถูกดูดซึมเข้าไปในเซลล์ของเชื้อราก่อโรค ส่งผลให้สามารถยับยั้งการแสดงออกของยีนเป้าหมายและลดการเกิดโรคในต้นข้าวบาร์เลย์ได้ อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้แสดงประสิทธิภาพของ dsRNA ในระดับโรงเรือน แต่ยังไม่ได้ยืนยันกลไกการทำงานโดยตรง จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องการวิเคราะห์การลดการแสดงออกของยีนเป้าหมายต่อไปในห้องปฏิบัติการ

Table 3 Economic data of the control method compared to the dsRNA and BS Methods

Control Method		dsRNA Method		BS Method	
Labor Cost	(Baht/rai)	Labor Cost	(Baht/rai)	Labor Cost	(Baht/rai)
Planting cost	300	Planting cost	300	Planting cost	300
Maintenance cost (e.g., watering, fertilizing, pest control)	1,000	Maintenance cost (e.g., watering, fertilizing, pest control)	1,000	Maintenance cost (e.g., watering, fertilizing, pest control)	1,000
Harvesting, collecting, packing cost	450	Harvesting, collecting, packing cost	450	Harvesting, collecting, packing cost	450
Material Cost	(Baht/rai)	Material Cost	(Baht/rai)	Material Cost	(Baht/rai)
Seed cost	465	Seed cost	465	Seed cost	465
Hose and irrigation line	1,250	Hose and irrigation line	1,250	Hose and irrigation line	1,250
Chemical fertilizer 15-15-15	850	Chemical fertilizer 15-15-15	850	Chemical fertilizer 15-15-15	850
Chemical pesticide	450	Chemical pesticide	450	Chemical pesticide	450
Organic pesticide	480	Organic pesticide	480	Organic pesticide	480
Disease control material	0	Disease control material	200	Disease control material	360
Fuel (machine)	120	Fuel (machine)	120	Fuel (machine)	120
Packaging (box, plastic bag)	400	Packaging (box, plastic bag)	400	Packaging (box, plastic bag)	400
Total Cost	5,765	Total Cost	5,965	Total Cost	6,125
Difference (Control X dsRNA)	-200	percentage	3.47		
Difference (dsRNA X BS)	-160	percentage	2.61		
Difference (Control X BS)	-360	percentage	6.24		

ความสำเร็จของการทดลองในครั้งนี้ได้รับประโยชน์จากการทดสอบในสภาพโรงเรือน ซึ่งช่วยควบคุมสภาพแวดล้อม ลดการปนเปื้อนจากภายนอก และป้องกันแมลงศัตรูพืช จึงทำให้สามารถประเมินประสิทธิภาพของ

ผลิตภัณฑ์ dsRNA ได้อย่างแม่นยำ อย่างไรก็ตาม สภาพการทดลองดังกล่าวอาจแตกต่างจากสภาพแปลงเกษตรกรจริง ซึ่งมีปัจจัยแวดล้อมที่หลากหลายและไม่สามารถควบคุมได้ทั้งหมด ทั้งนี้ งานวิจัยนี้ได้ดำเนินการในสภาพพื้นที่ที่มีการควบคุมความปลอดภัยทางชีวภาพอย่างเข้มงวด ในช่วงเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในพื้นที่ของเกษตรกรผู้ปลูกพริกเพื่อให้ได้ผลการทดลองจากสภาพแปลงปลูกและสภาพแวดล้อมจริงทั้งฤดูร้อนและฤดูฝนก่อนที่จะนำ dsRNA ไปสู่การพัฒนาต่อยอดในเชิงพาณิชย์ในอนาคต นอกจากนี้ยังต้องมีการวิจัยต่อไปในเรื่องต่าง ๆ เหล่านี้คือ (1) ความถี่และช่วงเวลาในการฉีดพ่น (2) ผลกระทบต่อผลผลิตของพริกในการประยุกต์ใช้ dsRNA ควบคุมแอนแทรคโนสมากกว่า 1 ฤดูปลูก (3) การพัฒนารูปแบบของ dsRNA เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและยืดอายุการเก็บรักษา เป็นต้น รวมทั้งต้องมีการทดสอบในพื้นที่เกษตรกรเพื่อให้เกิดข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การขยายผลทางเศรษฐกิจและเพิ่มศักยภาพการแข่งขันของเกษตรกรผู้ปลูกพริก

5. สรุปผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ dsRNA เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสในพริกชี้ฟ้า โดยใช้อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริกได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ ทั้งน้ำหนักผลสด น้ำหนักผลแห้ง จำนวนผลเกิดโรค และดัชนีการเกิดโรค ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ dsRNA มีศักยภาพในการนำไปใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสในพริกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) (ทะเบียนวิจัย FF65-14-03-65-00-03-67) ที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัย ขอขอบคุณผู้บริหาร ผู้เชี่ยวชาญ นักวิจัย และผู้ช่วยวิจัยทุกท่านของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 กรมวิชาการเกษตรและ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพกรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยสนับสนุนและปฏิบัติงานในการศึกษาวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Afifah, A., Nounurai, P., Ferniah, R.S., Kusumaningrum, H.P., Wulandari, D., and Budiharjo, A. (2020). An optimised Trizol-based protocol for the improvement of RNA extraction yield of tomato stem. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 44(3), 673–684. <https://doi.org/10.47836/pjtas.44.3.10>
- Bock, R. (2015). Plant mitochondrial RNA processing and RNA interference. *Annual Review of Plant Biology*, 66, 169–192.
- Choi, H.W., Hong, S.K., Kim, W.G., and Lee, Y.K. 2011. First report of internal fruit rot of sweet pepper in Korea caused by *Fusarium lactis*. *Plant Disease*, 95(11), 1476. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-11-0157>
- de Silva, D.D., Groenewald, J.Z., Crous, P.W., Ades, P.K., Nasruddin, A., Mongkolporn, O., and Taylor, P.W.J. (2019). Identification, prevalence and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing anthracnose of *Capsicum annuum* in Asia. *IMA Fungus*, 10(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s43008-019-0001-y>

- Fire, A., Xu, S., Montgomery, M.K., Kostas, S.A., and Driver, S.E. (1998). Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 391(6669), 806–811. <https://doi.org/10.1038/35888>
- Koch, A., Biedenkopf, D., Furch, A., Weber, L., Rossbach, O., Abdellatef, E., Linicus, L., Johannsmeier, J., Jelonek, L., Goesmann, A., Cardoza, V., McMillan, J., Mentzel, T., and Kogel, K.H. (2016). An RNAi-based control of *Fusarium graminearum* infections through spraying of long dsRNAs involves a plant passage and is controlled by the fungal silencing machinery. *PLoS Pathogens*, 12(10), e1005901. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005901>
- Köppel, R., and Ewald, D. (2017). RNA interference as a tool for crop improvement. *Plant Biotechnology Journal*, 15(5), 619–631.
- Kumar, S., and Kaur, M. (2017). Role of RNA interference in plant disease management. *Plant Pathology Journal*, 33(1), 1–11.
- McLoughlin, A.G., Walker, P.L., Wytinck, N., Sullivan, D.S., Whyard, S., and Belmonte, M.F. (2018). Developing new RNA interference technologies to control fungal pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 40(3), 325–335. <https://doi.org/10.1080/07060661.2018.1495268>
- Meyer, K., and Harn, K. (2017). RNA interference in agricultural biotechnology: The quest for new solutions. *Trends in Biotechnology*, 35(11), 1023–1031.
- Miller, M., and Kunkel, B. (2017). Advances in RNA interference: A focus on plant systems. *Journal of Plant Research*, 130(1), 15–23.
- Montri, P., Taylor, P. J. W., and Mongkolporn, O. (2009). Pathotypes of *Colletotrichum capsici*, the causal agent of chili anthracnose, in Thailand. *Plant Disease*, 93, 17–20. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-1-0017>
- O'Neill, T., and Mayne, S. (2015). Sweet pepper: Aspects of the biology and control of *Fusarium* fruit rot. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 80(3), 569–573.
- Phialathounheuane, K., Thummabenjapone, P., Hiransalee, A., and Techawongstien, S. (2012). Screening chilli cultivars for broad spectrum resistance to anthracnose. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 41(4), 41–47. (in Thai).
- Santos, J.R., and Costa, M.M. (2018). Chemical control of anthracnose in chilli peppers. *Journal of Plant Pathology*, 100(3), 695–706.
- Sundaresha, S., Sharma, S., Bairwa, A., Tomar, M., Kumar, R., Bhardwaj, V., Jeevalatha, A., Bakade, R., Salaria, N., Thakur, K., Singh, B.P., and Chakrabarti, S.K. (2022). Spraying of dsRNA molecules derived from *Phytophthora infestans*, along with nanoclay carriers as a proof of concept for developing novel protection strategy for potato late blight. *Pest Management Science*, 78(9), 3183–3193. <https://doi.org/10.1002/ps.6949>
- Sukwiboon, N., Jaroenkid, S., Yotharath, S., Kiattanan, K., Saengphanet, S., Kaenhom, P., and Jai-ai, P. (2013). Quality chili production technology in the upper northern region.

<https://www.doa.go.th/share/attachment.php?aid=3116> [accessed on 16 June 2019]. (in Thai).

- Than, P.P., Jeewon, R., Hyde, K.D., Pongsupasamit, S., Mongkolporn, O., and Taylor, P.W.J. (2008). Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chili (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant Pathology*, 57(3), 562–572. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01782.x>
- Utkhede, R., and Mathur, S. (2003). *Fusarium* fruit rot of greenhouse sweet peppers in Canada. *Plant Disease*, 87(1), 100. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.1.100C>

Disclaimer: The opinions expressed in the articles are solely those of the authors and do not necessarily reflect the views of the editorial board or the Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University.