

การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของแบคทีเรีย *Pantoea stewartii*

Surveillance and Dissemination of *Pantoea stewartii*

ณัฐริมา ไชยิตเจริญกุล พิระวรรณ พัฒนวิภาส ณัฐพร อุทัยมงคล ชลธิชา รักใคร่
1/ กลุ่มวิจัยโรคพืช 2/ กลุ่มวิชาถักกันพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* สาเหตุโรคเหี่ยวของข้าวโพด (stewart's bacterial wilt disease of corn) เป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางถักกันพืช จากการที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดทำให้มีความเสี่ยงในการเป็นเส้นทาง(pathway) ของเชื้อนี้อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ เนื่องจากเป็นโรคที่ถ่ายทอดได้ทางเมล็ดพันธุ์(seed transmission) จึงจำเป็นต้องมีการสำรวจติดตามและเฝ้าระวังโรคเหี่ยวของข้าวโพดเชื้อนี้อย่างเป็นระบบ เพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และการกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพด 5 แหล่ง ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2551- กันยายน 2552 จำนวน 50 แปลง ได้แก่ จังหวัดแม่ฮ่องสอน จำนวน 10 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 10 แปลง จังหวัดเชียงราย จำนวน 10 แปลง จังหวัดลำปาง จำนวน 10 แปลง และจังหวัดอุตรดิตถ์ จำนวน 10 แปลง ไม่พบอาการโรคเหี่ยวบนต้นกล้าของข้าวโพด ได้ทำการเก็บตัวอย่างที่มีอาการใบไหม้ (leaf blight) ที่มีลักษณะอาการคล้ายกับอาการโรคเหี่ยวในต้นข้าวโพด จำนวน 60 ตัวอย่าง นำมาตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *P. stewartii* ด้วยวิธี enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปจากบริษัท Agdia, Elkhart, Indiana, USA พบว่าทุกตรวจอย่างตรวจไม่พบเชื้อ *P. stewartii*

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตข้าวโพดที่สำคัญของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีพื้นที่ปลูกประมาณ 7 ล้านไร่ ในปี 2547 มีปริมาณการส่งออกข้าวโพด 871,791 ตันต่อปี มูลค่าการส่งออกประมาณ 4,651 ล้านบาท (ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร) นอกจากนี้ประเทศไทยยังมีการนำเข้าเมล็ดข้าวโพดมีมูลค่านำเข้า เพื่อการบริโภคและเพื่อใช้เป็นพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ เพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม สำหรับใช้ในประเทศและส่งออก โดย ในปี 2547 มีปริมาณนำเข้า 75,753 ตัน มีมูลค่าการนำเข้า 212 ล้านบาท จากการที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ทำให้มีความเสี่ยงในการเป็นเส้นทาง(pathway) ของศัตรูพืชที่สำคัญที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ เช่นโรคเหี่ยวของข้าวโพด (stewart's bacterial wilt of corn) ได้ เนื่องจากเป็นโรคที่ถ่ายทอดได้ทางเมล็ดพันธุ์(seed transmission) ในข้าวโพดทุกพันธุ์ เชื้อสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* ที่มีแหล่งกำเนิดดั้งเดิมในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยมีรายงานว่าแมลง corn flea beetle (*Chaetocnema pulicaria*) เป็นแมลงพาหะ มีรายงานการระบาดของโรคเหี่ยวของข้าวโพดในประเทศอิตาลี ในปี 1950 สาเหตุจากการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากประเทศอเมริกา (FAO, 1983) ประเทศไทยมีรายงานการพบโรคเหี่ยวของข้าวโพดตั้งแต่ปี 1967 (Bradbury, 1967) หลังจากนั้นมาไม่มีรายงานการพบโรคนี้อีก(CMI.1987)ต่อมาในปี 2547 สุดฤดีและคณะ ได้รายงานการพบโรคเหี่ยวของข้าวโพดในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา จากรายงานการตรวจพบโรคเหี่ยวของข้าวโพดนี้จึงจำเป็นต้องมีการสำรวจติดตามและเฝ้าระวังโรคเหี่ยวของข้าวโพดและเชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* อย่างเป็นระบบเพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ในการจัดทำวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช และใช้ในการจัดเตรียมบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เย็บเชื้อชนิดปลอดเชื้อ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอน้ำ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ

- เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven) อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
 3. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
 4. ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปจากบริษัท Agdia, Elkhart, Indiana, USA

วิธีการ

1. ศึกษา รวบรวมข้อมูลการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากแหล่งผลิตที่มีการแพร่ระบาดของเชื้อ *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* ระหว่างปี 2550 – ปี 2551
2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลที่ต้องการบันทึกได้แก่ แหล่งปลูก ตำบล อำเภอ จังหวัด ช่วงเวลาในการสำรวจ พิกัดของแหล่งปลูก(GPS) ลักษณะอาการ เป็นต้น
3. การสำรวจ การสำรวจโรคเหี่ยวของข้าวโพดดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลโรคเหี่ยวของข้าวโพดและเชื้อสาเหตุโรค *P. stewartii* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด กำหนดพื้นที่สำรวจโดยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ที่สำคัญของประเทศ จำนวน 5 แหล่งปลูก ใน 5 จังหวัด ได้แก่ แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง และจังหวัดอุดรดิตถ์ วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 20 ไร่ แบ่งพื้นที่ออกเป็น 4 ส่วนๆละประมาณ 5 ไร่ แต่ละส่วนทำการสุ่มสำรวจโดยวิธี completely randomized design (CRD) . จำนวน 10 จุด ขนาดพื้นที่จุดละ 2x2 เมตร สุ่มตรวจ จุดละ 20 ตัวอย่าง ตรวจแบบตัวอักษร W ซ้าย ตามวิธีของ Delp *et.al.* (1986) ทำการสุ่มตรวจทุกเดือน
4. วิธีการตรวจวินิจฉัยโรคเหี่ยวของข้าวโพดในแปลงปลูก จัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสำรวจ เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างโรคที่พบได้สูงหรือภาชนะที่ใช้เก็บตัวอย่างพร้อมเขียนรายละเอียดกำกับ รีบนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันผล
5. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ ตรวจสอบตัวอย่างด้วยวิธี ELISA โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปจากบริษัท Agdia, Elkhart, Indiana, USA และ วิธี PCR ตามวิธีของ Blakemore *et.al.* (1992) ยืนยันโดยการทำการแยกเชื้อสาเหตุจากตัวอย่างโรคที่เก็บมาโดยใช้อาหารเฉพาะ Nigrosine medium
6. เก็บข้อมูลที่ได้ในรูป data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติ จัดทำรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

ต.ค.50 – ก.ย.53 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ แปลงปลูกข้าวโพด ในแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ของประเทศไทย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพด 5 แหล่ง ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2551- กันยายน 2552 จำนวน 50 แปลง ได้แก่ จังหวัดแม่ฮ่องสอน จำนวน 10 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 10 แปลง จังหวัดเชียงราย จำนวน 10 แปลง จังหวัดลำปาง จำนวน 10 แปลง และจังหวัดอุดรธานี จำนวน 10 แปลง ไม่พบอาการโรคเหี่ยวบนต้นกล้าของข้าวโพด ได้ทำการเก็บตัวอย่างที่มีอาการใบไหม้ (leaf blight) ที่มีลักษณะอาการคล้ายกับอาการโรคเหี่ยวในต้นข้าวโพด จำนวน 60 ตัวอย่าง นำมาตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *P. stewartii* ด้วยวิธี enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปจากบริษัท Agdia, Elkhart, Indiana, USA พบว่าทุกตัวอย่างตรวจไม่พบเชื้อ *P. stewartii*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพด 5 แหล่ง ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2551- กันยายน 2552 จำนวน 50 แปลง ได้แก่ จังหวัดแม่ฮ่องสอน จำนวน 10 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 10 แปลง จังหวัดเชียงราย จำนวน 10 แปลง จังหวัดลำปาง จำนวน 10 แปลง และจังหวัดอุดรธานี จำนวน 10 แปลง ไม่พบอาการของโรคเหี่ยวของข้าวโพด และยังไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *P. stewartii*

เอกสารอ้างอิง

สุดฤดี ประเทืองวงศ์ ประชุม จุฑาวรรณะ กุลชญา เกศสุวรรณ และ สุพจน์ กาเข็ม. 2547.

การระบาดของโรคข้าวโพดจากแบคทีเรียชนิดใหม่ในประเทศไทย ใน การประชุมเชิงปฏิบัติการโครงการข้าวโพดข้าวฟ่าง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 19-21 พฤษภาคม 2547. จ.อยุธยา 249-262.

Block CC, Hill JH, McGee DC, 1998. Seed transmission of *Pantoea stewartii* in field and sweet corn. *Plant Disease*, 82(7):775-780.

Bradbury JF, 1967. *Erwinia stewartii*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No. 123. Wallingford, UK: CAB International

- Claflin LE, 1999. Stewart's bacterial wilt. In: Compendium of Corn Diseases. 3rd Edition. St. Paul, Minnesota, USA: American Phytopathological Society, 4-5.
- CMI, 1987. Distribution Maps of Plant Diseases, No. 41, Edition 4. Wallingford, UK: CAB International.
- Elliot C, Poos FW, 1940. Seasonal development, insect vectors, and host range of bacterial wilt of corn. Journal of Agricultural Research, 645-686
- EPPO, 2005. PQR database (version 4.4). Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization
- FAO, 1983. Reappearance of *Erwinia stewartii* in the Po valley. FAO Plant Protection Bulletin 31,96.
- Guo YF, Liang ZQ, Lu GQ, Xie BC, 1987. Survival conditions of *Erwinia stewartii* in stored corn. Acta Phytophylactica Sinica, 14(1):39-44.
- OEPP/EPPO, 1987. Data sheet on quarantine organisms No. 54, *Erwinia stewartii*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 8:2.
- Pepper EH, 1967. Stewart's Bacterial Wilt of Corn. Monogr. 4. St. Paul, Minnesota, USA: American Phytopathological Society.
- Robert AL, 1955. Bacterial wilt and Stewart's leaf blight of corn. USDA Farmer's Bulletin, 2092.

ภาคผนวก



ภาพที่ 1 ลักษณะอาการของโรคเหี่ยวบน
เหี่ยวบนต้นกล้าข้าวโพด



ภาพที่ 2 ลักษณะอาการของโรค
ต้นข้าวโพด