

การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ใน
พื้นที่ปลูกหอม กระเทียม เพื่อการส่งออก

Surveillance and Epidemiology of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in
onion and garlic plantation for exportation

ทิพวรรณ กันหาญาติ ดารุณี ปุญญพิทักษ์ ณิชฐิมา โฆษิตเจริญกุล รุ่งนภา ทองเคิ่ง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกหอม และ
กระเทียม ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *P.*
syringae pv. *syringae* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ดำเนินการโดยตรวจเอกสารข้อมูลของ
เชื้อแบคทีเรีย และลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ที่พบใน
หอมและกระเทียม ทดสอบวิธีการตรวจสอบเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* โดยใช้เทคนิค PCR
จากตัวอย่างหอมหาแหล่งปลูกหอมและกระเทียมพร้อมทั้งวางแผนการสำรวจโรค ทำการสำรวจเก็บ
ตัวอย่างหอมแดงและดินปลูกหอม จากจังหวัดศรีสะเกษ อุตรดิตถ์ จำนวน 15 ตัวอย่าง นำมาตรวจ
ในห้องปฏิบัติการเพื่อแยกเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ผลการตรวจแยกเชื้อ *P. syringae* pv.
syringae สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่เรืองแสงได้จำนวน 20 isolate นำมาตรวจสอบโดยเทคนิค PCR
พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae*

รหัสโครงการ 03-04-54-03-06-00-08-54

คำนำ

ในปี 2552 ประเทศอินโดนีเซียได้ออกกฎระเบียบ The Regulation of the Minister of Agriculture No. 18/permentan/OT. 140/2/2008 (plant Quarantine Requirements and Measures Toward the Importation of Fresh Plant Products in the Form of Fresh Bulb Vegetables into the Territory of Republic of Indonesia เมื่อวันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2551 มีผลบังคับใช้ตั้งแต่เดือน เมษายน 2551 โดยมีข้อกำหนดในการนำเข้าสินค้าพืชสดประเภทพืชหัวกลุ่ม bulb ต้องผ่านการตรวจรับรองและออกใบรับรองสุขอนามัยพืช ประเทศไทยส่งออกหัวหอมไปยังประเทศอินโดนีเซีย มูลค่าประมาณ 300 ล้านบาท เมื่อกฎระเบียบมีผลบังคับใช้ทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับการส่งออกหัวหอม เนื่องจากประเทศไทยมีเชื้อศัตรูพืชที่เป็นศัตรูกันพืชของอินโดนีเซีย ได้แก่ ราเขม่าดำสาเหตุเกิดจาก *Urocystis cepulae* และแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ทำให้การส่งออกหอมแดงและกระเทียมไปประเทศอินโดนีเซียต้องมีใบรับรองปลอดจากโรคทั้งสองชนิดกำกับไปด้วย จากการสืบค้นข้อมูลบัญชีรายชื่อโรคพืชที่พบในประเทศไทย พบว่า ไม่พบรายงานการพบแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในหอมและกระเทียมในประเทศไทย แต่มีรายงานของ พัฒนา *et al.* (2537) พบแบคทีเรีย *P. syringae* ในพริกไทย เมื่อสืบค้นข้อมูลต่างประเทศ พบว่า CABI (2007) ได้รายงานไว้ในประเทศไทยพบแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในพืชหลายชนิดได้แก่ มะเขือเทศ พริก พริกไทย ส้มโอ หอมกระเทียม เป็นต้น จากข้อมูลที่สืบค้นดังกล่าวที่ไม่สอดคล้องกันทำให้ไม่ทราบสถานการณ์ในปัจจุบันของแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในหอมและกระเทียม ดังนั้น จึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจในพื้นที่ปลูกหอม และกระเทียมส่งออก ติดตามสถานการณ์ของโรคนี้อามีในประเทศไทยหรือไม่ ซึ่งเป็นการศึกษาการแพร่กระจายและการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกพืชทั้งสองชนิด เพื่อที่จะรายงานและตีพิมพ์ผลงานเพื่อเป็นการปลดโรคชนิดนี้ออกจากบัญชีรายชื่อโรคในประเทศไทย เพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกหอมและกระเทียมในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เชื้อเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดัน

- ไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
 4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการ

แบบการวิจัย การสำรวจแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกหอม และกระเทียม ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. จัดทำคู่มือการสำรวจ โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคของพืชหัว (bulb) ที่เกิดจากแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย
2. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วัน และเวลา สภาพดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) เป็นต้น
3. การสำรวจ โดยกำหนดพื้นที่แหล่งปลูกหอมและกระเทียมในเขตภาคเหนือ (เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูนและพะเยา) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ศรีสะเกษ ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และ สุรินทร์) และภาคกลาง (อุตรดิตถ์และเพชรบูรณ์) วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว ทำการสุ่มตรวจทุกเดือนในระหว่างฤดูปลูก
4. วิธีการตรวจแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ
5. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ การตรวจสอบโดยการนำตัวอย่างที่เก็บมาหรือ สุ่มหัวหอมแดงที่มีลักษณะนิ่มคล้ายจะเน่านำมาแยกเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* บนอาหาร King medium B คัดเฉพาะโคโลนีที่สร้าง fluorescent pigment นำมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ได้แก่ Arginine dihydrolase test ถ้าเป็นเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* จะสร้าง fluorescent

pigment และไม่สามารถใช้สาร Arginine ได้ ยืนยันโดยใช้ specific primer โดยใช้วิธี Polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งจากการตรวจยังไม่พบเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae*

6. เก็บข้อมูลที่ได้ในรูป data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติ จัดทำรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

ต.ค.53 – ก.ย.56 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ แปลงปลูกหอมแดงและกระเทียมของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกหอม และ กระเทียม ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ดำเนินการโดยตรวจเอกสารข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย และลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ที่พบในหอมและกระเทียม ทดสอบวิธีการตรวจสอบเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* โดยใช้เทคนิค PCR จากตัวอย่างหอมหาแหล่งปลูกหอมและกระเทียมพร้อมทั้งวางแผนการสำรวจโรค ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างหอมแดงและดินปลูกหอม จากจังหวัดศรีสะเกษ อุตรดิตถ์ จำนวน 15 ตัวอย่าง นำมาตรวจในห้องปฏิบัติการเพื่อแยกเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ผลการตรวจแยกเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่เรืองแสงได้จำนวน 20 isolate นำมาตรวจสอบโดยเทคนิค PCR พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae*

เอกสารอ้างอิง

- พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 285 หน้า.
- CAB International, 2007. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International.