

การจำแนกชนิดแบคทีเรีย *Erwinia* สาเหตุโรคน้ำและ
โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

Characterization of *Erwinia*

the Causal Agent of Soft Rot Diseases in Thailand

รุ่งนภา คงสุวรรณ^{1/} บุรณี พัววงศ์แพทย์^{1/} สุรีย์พร บัวอาจ^{1/} ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์^{2/}

^{1/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

ทำการแยกเชื้อสาเหตุโรคน้ำและจากตัวอย่างพืชและดิน นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ ไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

คำนำ

โรคน้ำและของพืชผักมีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม soft rot *Erwinia* โดยแบคทีเรียในกลุ่มนี้สร้างเอ็นไซม์ย่อยสลายเซลล์พืช ที่มีกพบเข้าทำลายพืชได้อย่างกว้างขวางได้แก่ *Erwinia carotovora* และ *Erwinia chrysanthemi* สำหรับเชื้อ *Erwinia carotovora* สามารถแบ่งได้เป็น 5 subspecies ได้แก่ *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*, *Erwinia carotovora* ssp. *betavasculorum*, *Erwinia carotovora* ssp. *wasabiae* และ *Erwinia carotovora* ssp. *odorifera*. (Goto and Matsumoto, 1987; Gallois et al., 1992) อาการน้ำและสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งบนต้นพืชที่กำลังเจริญเติบโต และเก็บเกี่ยวแล้ว รวมทั้งพืชหรือส่วนของพืชที่เก็บไว้ในตู้ฉาง หรือระหว่างการขนส่ง โดยสภาพอากาศที่ร้อนและมีความชื้นสูงจะเหมาะแก่การเกิดโรคนี้

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-08-54

ความเสียหายทางเศรษฐกิจที่เกิดจากโรคนี้นั้นขึ้นอยู่กับมูลค่าของพืชที่เชื้่นนี้เข้าทำลาย ความเสียหายที่เกิดจากโรคนี้นี้จะแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ และสภาพอากาศ

ทั้งนี้แบคทีเรียสาเหตุโรคน้และ เป็นเชื้อที่ทนร้อนได้ถึง 37 องศาเซลเซียส จึงเป็นปัญหาที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจในประเทศไทยหลายชนิด โดยเฉพาะในพืชผักซึ่งพบการระบาดของแพร่หลายในทุกพื้นที่ที่มีการปลูกผัก เช่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปม ผักกาดขาว ผักกวางดั่ง ผักกาดเขียวปลี บรอกโคลี คื่นช่าย แครอท ผักกาดหัว พริกหยวก พริกยักษ์ พริกชี้หนู พริกจินดา ผักชี ผักกาดหอม ผักกาดทางหงส์ ผักกาดฮ่องเต้ มันฝรั่ง มันเทศ มะเขือเทศ ถั่วแขก ถั่วลันเตา ถั่วฝักยาว ข้าวโพดหวาน หน่อไม้ฝรั่ง หอม กระเทียม และ พืชผักอื่นๆอีกหลายชนิด นอกจากนี้ยังมีรายงานการเกิดโรคน้จากเชื้อ *Erwinia* ในพืชอื่นๆอีก เช่น บุก กล้วยไม้ (พัฒนาและคณะ, 2537; ศักดิ์, 2537; นิตยา, 2545; วงศ์และคณะ, 2538; วิชัย, 2531) ปัจจุบันในยุคการค้าเสรี การเตรียมความพร้อมของข้อมูลเป็นสิ่งสำคัญ *Erwinia* จัดเป็นเชื้อที่สำคัญชนิดหนึ่ง จึงควรมีการสำรวจ รวบรวม ศึกษาคุณสมบัติทางชีววิทยาและการอยู่ข้ามฤดูปลูกของเชื้อ ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อกับพืชอาศัย สำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐานการเกิดโรค การแพร่ระบาด การจัดการโรคและเป็นฐานข้อมูลสำหรับงานกักกันพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

การทดลองย่อยที่ 1 อนุกรมวิธานและชีววิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia* สาเหตุโรคน้และในประเทศไทย

อุปกรณ์

อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างโรคพืช ดินและน้ำที่ใช้เพาะปลูก, กล้องถ่ายภาพ, วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างโรคพืช, อาหารเลี้ยงเชื้อ, สารเคมีและอาหารสำหรับทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ, เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องทดลอง, ตู้บ่มเชื้อ, ขวดสำหรับเก็บเชื้อบริสุทธิ์

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลการเกิดโรคน้และในพืชต่างๆที่มีรายงานใหม่ วางแผนการสำรวจโรคในพื้นที่ปลูกพืชต่างๆ และจัดเตรียมอุปกรณ์สารเคมีที่จะใช้ในการทดลอง

2. สำรวจโรค เก็บตัวอย่างโรคจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ เก็บตัวอย่างวัชพืชและดินในแปลงที่พบโรค และน้ำที่ใช้ในการเพาะปลูก

3. แยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าและบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์
4. ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ การใช้แหล่งคาร์บอน
5. เก็บเชื้อแบคทีเรียที่บริสุทธิ์ใน culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืชเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป
6. รวบรวมข้อมูลและเขียนรายงานความก้าวหน้าของการทดลอง

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2554-กันยายน 2555 กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคเน่าและของพืชผักในพื้นที่จังหวัด ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร อุดรดิตถ์ ลำปาง ลำพูน แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ เพชรบุรี และ ประจวบคีรีขันธ์ พบพืชผักที่มีอาการเน่า 34 ตัวอย่าง คือ ผักกาดขาวปลี 4 ตัวอย่าง ผักกวางตุ้ง 3 ตัวอย่าง ผักคะน้า 1 ตัวอย่าง กระเทียม 3 ตัวอย่าง กะหล่ำปลี 4 ตัวอย่าง กะหล่ำดอก 4 ตัวอย่าง หอมแดง 3 ตัวอย่าง ผักกาดเขียวปลี 3 ตัวอย่าง มันฝรั่ง 5 ตัวอย่าง หอมแดงพม่า 1 ตัวอย่าง ผักกาดแก้ว 1 ตัวอย่าง ว่านหางจระเข้ 2 ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างดิน 4 ตัวอย่าง แยกเชื้อสาเหตุโรคเน่าและจากตัวอย่างพืชและดิน ทดสอบการสร้าง pectolytic enzyme ของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้บนชิ้นมันฝรั่ง ได้เชื้อที่ทำให้ขึ้นมันฝรั่งเน่า จำนวน 22 ไอโซเลท นำไปทดสอบแกรม ปฏิกริยา catalase, oxidation/fermentation, oxidase, lecithinase, การสร้างกรดจากน้ำตาล lactose, maltose และ trehalose การทนต่อเกลือ 5% การใช้ citrate และ malonate การสร้าง indole การไวต่อสาร erythromycin การเจริญของเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C และ ที่ ความเป็นกรด-ด่าง 5, 6 และ 8 และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการแยกเชื้อสาเหตุโรคเน่าและจากตัวอย่างพืชและดิน ได้เชื้อที่สร้าง pectolytic enzyme ทำให้ขึ้นมันฝรั่งเน่าได้ 22 ไอโซเลท สำหรับใช้ในการทดลองการจัดจำแนกและศึกษา ลักษณะทางพันธุกรรมต่อไป

คำขอบคุณ (ถ้ามี)

เอกสารอ้างอิง

- พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช อยู่บำรุง และ อุบล คือ ประโคน. 2537. ธรรมชาติโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร สหมิตรพรีนติ้ง นนทบุรี 285 หน้า.
- นิตยา ก้นหลง. 2545. สมุดภาพโรคสำคัญของพืชสกุลหอมกระเทียมในประเทศไทย เอกสารวิชาการ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี พ.ศ. 2545 31หน้า
- ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 198 หน้า.
- วงศ์ บุญสืบสกุล ณีฐิมา บุญวัฒน์ สุทธิพงษ์ ญาณวารี สุเนตรา ภาวิจิตร. 2538. การศึกษาสาเหตุโรคเน่าของบุกที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย หน้า 82-92 ใน: รายงานผลวิจัย พ.ศ. 2538 กลุ่มงานแบคทีเรียวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา
- วิชัย โฆษิตรัตน์. 2531. โรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 133 หน้า
- Gallois A, R. Samson and P.A.D. Grimont. 1992. *Erwinia carotovora* subsp. *odorifera*, subsp. *nov.*, associated with odorous soft rot chicory (*Cichorium intybus* L.). *International Journal of Systematic Bacteriology* 42: 582-588.
- Goto M. and K. Matsumoto. 1987. *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae* subsp. *nov.* isolated from diseased rhizomes and fibrous roots of Japanese horseradish (*Eutrema wasabi* Maxim). *International Journal of Systematic Bacteriology* 37: 130-135.

ภาคผนวก (ถ้ามี)