

รายงานผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2555

- |    |                 |   |
|----|-----------------|---|
| 1. | ชุดโครงการวิจัย | วิจัยและพัฒนาปทุมมาและกระเจียว  |
| 2. | โครงการวิจัย    | การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาและกระเจียว  |
|    | กิจกรรม         | -   |
|    | กิจกรรมย่อย     | -   |
| 3. | ชื่อการทดลอง    | การศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ใบจุดของปทุมมา<br>Study on Fungal, Causal Agent Leaf Blight and<br>Leaf Spot of <i>Curcuma alismatifolia</i> Gagnep |

- |    |                     |                    |                              |
|----|---------------------|--------------------|------------------------------|
| 4. | คณะผู้ดำเนินงาน     |                    |                              |
|    | ชื่อหัวหน้าโครงการ  | วิภาดา ทองทักษิณ   | สถาบันวิจัยพืชสวน            |
|    | ชื่อหัวหน้าการทดลอง | ธารทิพย์ ภาสบุตร   | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
|    | ชื่อผู้ร่วมงาน      | ทัศนาวพร ทศคร      | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
|    |                     | พีระวรรณ พัฒนวิภาส | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
|    |                     | อภิรัชต์ สมฤทธิ์   | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
|    |                     | สุธามาศ ฦ น่าน     | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |

5. บทคัดย่อ

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างปทุมมาพันธุ์การค้าที่ตำบลสามควายเผือก อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม และ ตำบลหนองตากยา อำเภอนาทม จังหวัดกาญจนบุรี ได้ตัวอย่างใบปทุมมาที่แสดงอาการใบไหม้ใบจุด 5 ตัวอย่าง เมื่อนำมาแยกเชื้อโดยวิธี Tissue transplant ได้เชื้อรา 9 ไอโซเลท ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อราเพื่อจำแนกชนิด พบว่าเป็นรา *Sphaceloma* sp. 3 ไอโซเลท *Curvularia* sp. 1 ไอโซเลท *Acremonium* sp. 2 ไอโซเลท *Fusarium* sp. 1 ไอโซเลทและที่จำแนกชนิดไม่ได้ 2 ไอโซเลท จากนั้นทำการพิสูจน์โรค โดยเตรียมวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของแกลบดิบ ถ่านแกลบ ทราเยและปุ๋ยคอก แล้วปลูกปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่ชมพูและไข่มุกสยาม ปลูกเชื้อราที่คาดว่าเป็นสาเหตุโรคที่แยกได้ลงบนใบพืช ผลการปลูกเชื้อรา *Sphaceloma* sp. 3 ไอโซเลทโดยการพ่น spore suspension พบว่ารา *Sphaceloma* sp. เพียง 1 ไอโซเลท ที่สามารถทำให้ปทุมมาเป็นโรคได้ โดยแสดงอาการจุดสนิมเหมือนกับที่พบในแปลงปลูกแต่อาการปรากฏขึ้นเพียงเล็กน้อย ส่วนการปลูกเชื้อรา *Curvularia* sp. *Acremonium* sp. และ *Fusarium* sp. โดยการวาง culture disc ลงบนใบพืช พบว่ารา *Curvularia* sp. และ *Fusarium* sp. ไม่ทำให้ใบปทุมมาเป็นโรค ส่วนรา *Acremonium* sp. ทั้ง 2 ไอโซเลท ทำให้ใบปทุมมาเป็นโรค เกิดอาการใบเป็นจุดสีน้ำตาล มีวงสีเหลืองล้อมรอบ จากนั้นแยกเชื้อจากจุดแผลที่เกิดขึ้น นำเชื้อที่แยกได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานพบว่ามีลักษณะเช่นเดียวกับ

เชื้อราที่ปลูกเชื้อให้กับพืช การทดลองนี้ยังไม่สิ้นสุดยังต้องดำเนินการพิสูจน์โรคซ้ำอีกครั้งและศึกษา ลักษณะทางสัณฐานของเชื้อราเพิ่มเติมในปี 2555

## 6 คำนำ

ปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep) เป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับขิงและข่า แต่ปทุมมาอยู่ในสกุลย่อยที่มีชื่อว่า *Paracurcuma* มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบประเทศ อินโดจีนเช่น ไทย พม่า ลาวและเขมร เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีลำต้นสะสมอาหารอยู่ใต้ดินแบบเหง้า มีการเจริญเติบโตทางลำต้นและให้ดอกในช่วงฤดูฝน จากนั้นจะทิ้งใบจนหมดแล้วพักตัวอยู่ในดินตลอด ช่วงฤดูหนาว เมื่อถึงฤดูฝนก็จะเจริญเติบโตออกดอกอีกครั้ง ดอกปทุมมาและกระเจียวมีรูปร่างและ สีสีนสวยงาม จึงได้มีการส่งเสริมให้เป็นไม้ตัดดอกไม้กระถางและไม้ประดับแปลง (วิภาดาและนิพนธ์, 2537) และเก็บหัวพันธุ์เพื่อส่งไปขายยังต่างประเทศ แหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ในภาคเหนือของประเทศไทย แต่เนื่องจากปทุมมาและกระเจียวกลายเป็นไม้ดอกไม้ที่ได้รับความนิยมและกลายเป็นพืชส่งออกที่มีความสำคัญ มีปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้นทุกปี จึงมีการขยายแหล่งปลูกไปยังภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลางเพิ่มขึ้น ปัญหาสำคัญของการผลิตปทุมมาเพื่อการค้าและส่งออกนอกจากโรคเหี่ยวจาก แบคทีเรียแล้วยังพบโรคที่มีความสำคัญเพิ่มมากขึ้นทุกปี ได้แก่ โรคใบไหม้และโรคใบจุดของปทุมมา เนื่องจากพบโรคทั้ง 2 ชนิดระบาดรุนแรงมากขึ้นในแหล่งปลูกภาคเหนือ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และจังหวัดลำพูน มีรายงานว่า โรคใบจุดของปทุมมามีสาเหตุเกิดจากรา 3 สกุลคือ *Acremonium* sp. *Phoma* sp. และ *Cercospora* sp. (นิยมรัฐ, 2544)

ปัจจุบันเนื่องจากการขยายพื้นที่ปลูกปทุมมาเพิ่มมากขึ้น สภาพแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลง พบปทุมมาแสดงอาการโรคใบไหม้โรคใบจุดมากขึ้น ดังนั้นการศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ใบจุดของ ปทุมมา เพื่อทราบชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคของปทุมมาที่ปลูกในที่ใหม่จึงมีความสำคัญ ทั้งนี้เพื่อเป็นการยืนยันข้อมูลเดิมและเพิ่มเติมข้อมูลที่ยังไม่สมบูรณ์ให้สมบูรณ์มากขึ้นและเพื่อหาวิธีการป้องกัน กำจัดและจัดการโรคที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

## 7. วิธีดำเนินการ

-อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรคใบไหม้และใบจุดของปทุมมา
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ กล่องเก็บความเย็น ปากกา กระดาษบันทึกข้อมูล
3. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่น ปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์
4. สารเคมี ได้แก่ lactophenol และ oil immersion
5. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA)
6. กล้องจุลทรรศน์ พร้อมกล้องถ่ายภาพ และฟิล์ม
7. ตำราสำหรับใช้ในการจัดจำแนกเชื้อรา

## -วิธีการ

### 1. เก็บตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรค โดยเลือกเก็บส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรค ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกรายละเอียด ชื่อพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค บรรจุห่อตัวอย่างโรคพืชลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

### 2. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานและจำแนกชนิดของรา

#### 2.1 แยกเชื้อราสาเหตุโรค

แยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อเชื้อราสร้าง fruiting body ใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมามาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้ได้รอยต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วนำไปวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

#### 2.2 พิสูจน์โรคตามวิธีการ Koch's postulate

นำเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดวงอาหารบริเวณส่วนปลายเส้นใยของเชื้อรา นำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิม สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกเชื้อด้วยชิ้นวงอาหาร PDA ที่ปราศจากเชื้อสาเหตุโรค เมื่อพืชเป็นโรคนำส่วนที่แสดงอาการเป็นโรคมายกเชื้อบริสุทธิ์ตรวจดู เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุโรคอีกครั้ง

#### 2.3. การจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรค

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อราโดยเลี้ยงเชื้อราที่แยกได้บนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 1 วัน ตรวจสอบลักษณะโคโลนีของเชื้อ จากนั้นเขี่ยเส้นใยหรือโครงสร้างต่างๆ ลงบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วหยด lactophenol ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ตรวจสอบดูลักษณะทางสัณฐานของเส้นใยและโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยกำลังขยาย 400 และ 1,000 เท่า วัดขนาดเส้นใย และโครงสร้างอื่นๆที่สำคัญโดยใช้ calibrated micrometer จัดจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคโดยเปรียบเทียบลักษณะของรากับคู่มือการจัดจำแนกรา

#### -เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2555
สถานที่ทำการทดลอง	กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงปลูกพืชของเกษตรกร

8. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างปทุมมาพันธุ์การค้าที่ปลูกที่ ตำบลสามควายเผือก อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม และ ตำบลหนองตากยา อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ได้ตัวอย่างใบปทุมมาที่แสดงอาการใบไหม้ใบจุด เมื่อนำมาแยกเชื้อโดยวิธี Tissue transplant ได้เชื้อรา 8 ไอโซเลท ผลการศึกษา ลักษณะทางสัณฐานของเชื้อราเพื่อจำแนกชนิด พบว่าเป็นรา *Sphaceloma* sp. 3 ไอโซเลท *Curvularia* sp. 1 ไอโซเลท *Acremonium* sp. 2 ไอโซเลท *Fusarium* sp. 1 ไอโซเลทและที่จำแนกชนิดไม่ได้ 2 ไอโซเลท จากนั้นทำการพิสูจน์โรค โดยเตรียมวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของแกลบดิบ ถ่านแกลบ ทรายและปุ๋ยคอก แล้วปลูกปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่ชมพูและไข่มุกสยาม ปลูกเชื้อราที่คาดว่าจะสาเหตุโรคที่แยกได้ลงบนใบพืช ผลการปลูกเชื้อ *Sphaceloma* sp. 3 ไอโซเลทโดยการพ่น spore suspension พบว่ามี *Sphaceloma* sp. เพียง 1 ไอโซเลท ที่สามารถทำให้ปทุมมาเป็นโรคได้ โดยแสดงอาการจุดสนิมเหมือนกับที่พบในแปลงปลูกแต่อาการปรากฏขึ้นเพียงเล็กน้อย ส่วนการปลูกเชื้อ *Curvularia* sp. *Acremonium* sp. และ *Fusarium* sp. โดยการวาง culture disc ผลการปลูกเชื้อ พบว่ารา *Curvularia* sp. และ *Fusarium* sp. ไม่ทำให้ใบปทุมมาเป็นโรค ส่วนรา *Acremonium* sp. ทั้ง 2 ไอโซเลท ทำให้ใบปทุมมาเป็นโรค เกิดอาการใบเป็นจุดสีน้ำตาล มีวงสีเหลืองล้อมรอบ จากนั้นแยกเชื้อจากจุดแผลที่เกิดขึ้น นำเชื้อที่แยกได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานพบว่า มีลักษณะเช่นเดียวกับเชื้อราที่ปลูกเชื้อให้กับพืช การทดลองนี้ยังไม่สิ้นสุดยังต้องดำเนินการพิสูจน์โรคซ้ำอีกครั้งและศึกษา ลักษณะทางสัณฐานของเชื้อราเพิ่มเติมในปี 2555

9. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

11. คำขอขอบคุณ (ถ้ามี)

12. เอกสารอ้างอิง

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. โรคของปทุมมา กระเจียว ดาหลา. หน้า 57-67 ใน คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับ

และการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

วิภาดาทองทักษิณ และนิพัฒน์ สุขวิบูลย์. 2537. ปทุมมา. กสิกร. 67(5):415-419.

13. ภาคผนวก (ถ้ามี)