

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
2. โครงการวิจัย : วิจัยการกักกันพืช
กิจกรรม : การเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การสำรวจสถานภาพของแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ในพืชตระกูลแตง ในประเทศไทย
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Pest status survey of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucurbit production in Thailand
4. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง : ญัฐธิดา โฆษิตเจริญกุล กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้ร่วมงาน : ชลธิชา รักใคร่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ทิพวรรณ กันหาญาติ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
รุ่งนภา ทองเครื่อง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. บทคัดย่อ

แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* สาเหตุโรคใบจุดเหลี่ยมแตง (Angular Leaf Spot) เป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางกักกันพืช จากการที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตงทำให้มีความเสี่ยงในการเป็นเส้นทาง(pathway) ของเชื้อนี้อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ เนื่องจากเป็นโรคที่ถ่ายทอดได้ทางเมล็ดพันธุ์(seed transmission) จึงจำเป็นต้องมีการสำรวจ ติดตามและเฝ้าระวังโรคใบจุดเหลี่ยมแตงอย่างเป็นระบบ เพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และการกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช จากการสำรวจแหล่งปลูกพืชตระกูลแตง 15 แหล่งปลูก ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2556-กันยายน 2558 จำนวน 110 แปลง ได้แก่ เชียงราย จำนวน 5 แปลง เชียงใหม่ จำนวน 10 แปลง สระแก้ว จำนวน 10 แปลง ปราจีนบุรี จำนวน 5 แปลง ขอนแก่น จำนวน 15 แปลง นครราชสีมาจำนวน 5 แปลง บุรีรัมย์ จำนวน 5 แปลง ชัยภูมิจำนวน 5 แปลง ร้อยเอ็ด จำนวน 5 แปลง อุบลราชธานีจำนวน 15 แปลง ลำปาง จำนวน 5 แปลง ราชบุรีจำนวน 10 แปลง เพชรบุรี จำนวน 5 แปลง นครศรีธรรมราช จำนวน 5 แปลง สุราษฎร์ธานี จำนวน 5 แปลง โดยเก็บตัวอย่างที่มีลักษณะอาการเป็นใบจุดเหลี่ยมของพืชตระกูลแตงจำนวน 323 ตัวอย่าง นำมาตรวจในห้องปฏิบัติการโดยการแยกเชื้อสาเหตุและจำแนกชนิดโดยทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ผลการตรวจทุกตัวอย่างแยกไม่ใช่แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* สาเหตุโรคใบจุดเหลี่ยมแตงจากการสำรวจไม่พบแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* สาเหตุโรคใบจุดเหลี่ยมแตงในประเทศไทย

Pseudomonas syringae pv. *lachrymans* causes Angular Leaf Spot of cucurbit, is an important quarantine pest. The disease could be spread by seed transmission. Thailand is the

important seed production in Southeast Asia. Every year Thailand import cucurbit seed for seed production industry, it makes a high risk of bacterial disease entering through the farming systems in the country. Therefore, it is necessary to survey, monitoring and surveillance for the scientific information in preparing the list of pests, pest risk analysis and the pest-free area. From October 2013 to September 2015, a cucurbit pest survey was conducted in Thailand to determine the establishment of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. Total 110 sites from 15 locations of cucurbit productions (Chiang Rai, Chiang Mai, Sa Kaeo, Prachinburi Khon Kaen, Nakhon Ratchasima, Buriram, Chaiyaphum, Roi et, Ubon Ratchathani, Lampang, Ratchabuni, Phetchaburi, Nakhon Si Thammarat, Surat Thani province) were surveyed throughout the province. 323 samples of leaf spot symptoms were collected and detected for *P. syringae* pv. *lachrymans*. by Isolation and Biochemical test. The result showed all samples were negative for *P. syringae* pv. *lachrymans*

6. คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยเป็นผู้ผลิตและส่งออกเมล็ดพันธุ์รายใหญ่ในภูมิภาคเอเชียเป็นอันดับ 3 รองจากจีน และญี่ปุ่น และมีแนวโน้มเติบโตเพิ่มขึ้น โดยข้าวโพดเป็นพืชที่ส่งออกมากที่สุด รองลงมาเป็นพืชตระกูลแตง พริก มะเขือ เป็นต้น ปริมาณ และจากมูลค่าการส่งออกเมล็ดพันธุ์ควบคุม ประจำปี 2554 พบว่าไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตง ประมาณ 90 ล้านบาท และมีการส่งออกเมล็ดพันธุ์แตงโม แตงกวา แคนตาลูป มะระ บวบ เหลี่ยม ฟักทอง มีมูลค่าประมาณ 330, 300, 135, 113, 35 และ 5 ล้านบาทตามลำดับ โดยมีการส่งออกไปทั่วโลก ทั้งในสหรัฐอเมริกา ฝรั่งเศส สเปน โดยผู้นำเข้ารายใหญ่มาจากประเทศในเอเชีย ได้แก่ ญี่ปุ่น จีน อินเดีย เวียดนาม อินโดนีเซีย สิงคโปร์ เป็นต้น โดยมีเกษตรกรอยู่ในธุรกิจนี้หลายหมื่นครัวเรือน มีพื้นที่ปลูกนับแสนไร่ ปัญหาและอุปสรรคสำคัญในการผลิตและส่งออกเมล็ดพันธุ์แตงคือการระบาดของศัตรูพืชทั้งโรคพืชและแมลงที่เข้าทำลายผลผลิต และเชื้อสาเหตุโรคบางชนิดยังติดไปกับเมล็ดพันธุ์ ทำให้ไม่สามารถส่งออกไปขายยังต่างประเทศได้ด้วยมาตรการด้านสุขอนามัยพืชของประเทศต่างๆ ที่ส่งกระทบต่อการส่งออกของสินค้าเกษตรของไทย

เชื้อ *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* เป็นสาเหตุโรคใบจุดเหลี่ยมแตง (Angular Leaf Spot) ซึ่งถือเป็นศัตรูพืชกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ โรคนี้พบครั้งแรกในสหรัฐอเมริกาและทำให้ผลผลิตแตงลดลง 40 เปอร์เซ็นต์เป็นเงินกว่า 5 แสนเหรียญสหรัฐ เชื้อนี้สามารถเข้าทำลายพืชตระกูลแตงหลายชนิดทั้งแตงโม แคนตาลูป ฟักทอง แตงกวา เป็นต้น ต่อมาพบรายงานการระบาดไปในหลายประเทศทั่วโลกรวมทั้งจีน ญี่ปุ่นและอินเดีย โดยเชื้อนี้สามารถติดไปกับเมล็ดได้ และยังสามารถอยู่ในดินและซากพืชที่เป็นโรคได้เป็นเวลานาน (Nazir et al 2010)

ประเทศไทยมีรายงานการพบเชื้อ *P. syringae* pv. *lachrymans* ครั้งแรกในปี 2545 ในแตงที่ปลูกในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (เพชรรัตน์ และพิศาล, 2545) ในงานทดลองนี้จึงมุ่งเน้นการสำรวจสถานภาพการพบ

เชื้อนี้ในพืชตระกูลแตง ในเขตพื้นที่ปลูกต่างๆ ของประเทศไทย เพื่อเป็นการศึกษาสถานภาพของแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* ในประเทศไทย เป็นการติดตามสถานการณ์ของโรคนี้อีกว่ามีในประเทศไทยจริงหรือไม่ เพื่อที่จะรายงานและตีพิมพ์ผลงานเพื่อเป็นการปลดโรคชนิดนี้ออกจากบัญชีรายชื่อโรคในประเทศไทย เพื่อเป็นข้อมูลในการเจรจาการค้าเพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกและนำเข้าเมล็ดพันธุ์แตงในอนาคต

7. วิธีดำเนินการ :

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอน้ำ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven) เครื่อง Thermocycler (Biometra ®)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการ

การสำรวจแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* ในพื้นที่ปลูกแตงกวา ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. ศึกษา รวบรวมข้อมูลลักษณะของแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* ได้แก่ รายละเอียดของเชื้อ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง และลักษณะอาการของโรคใบจุดเหลี่ยมแตง (Angular Leaf Spot) พร้อมรูปภาพและจัดทำคู่มือการสำรวจโรคใบจุดเหลี่ยมแตงของพืชตระกูลแตง
2. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วัน และเวลา สภาพดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) เป็นต้น
3. การสำรวจ กำหนดพื้นที่สำรวจโดยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตงและแหล่งปลูกแตงที่สำคัญของประเทศ จำนวนอย่างน้อย 8 แหล่งปลูก ใน 8 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง นครราชสีมา ขอนแก่น ชัยภูมิ ปราจีนบุรี และสระแก้ว ดำเนินการสำรวจตาม ISPM No. 6 (Guidelines for surveillance) วางแผนการสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

4. วิธีการตรวจแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

5. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ โดยนำตัวอย่างใบที่มีอาการใบจุดเหลี่ยมคล้ายกับรูปภาพในคู่มือนำมาแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช โดยตัดใบแต่งเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 4 ตร.มม. ระหว่างรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งแล้ว 3 ครั้ง หลังจาก surface sterilize แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น ใช้ loop จุ่มในพืชที่บด นำมา streak บนอาหาร King medium B หลังจากนั้นเก็บจานเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 28° ซ. นาน 72 ชั่วโมง คัดเฉพาะโคโลนีที่สร้างสารเรืองแสงสีเขียว (green fluorescent pigment) ทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี streak plate หลาย ๆ ครั้ง เก็บ single colony เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์

5.1 จำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามลักษณะทาง สรีรวิทยา และสัณฐานวิทยา ศึกษา ลักษณะบนอาหารสังเคราะห์ ลักษณะและสีของโคโลนี ของแบคทีเรีย ตามวิธีการของ Schaad *et al.*(2001)

5.2 จำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามคุณสมบัติทางชีวเคมี ตามวิธีการของ Schaad *et al.*(2001) ได้แก่ Gram staining, Potassium hydroxide solubility, Kovac's, Levan, Sugar fermentation, Catalase และ Arginine dihydrolase test

5.3 จำแนกเทคนิคพีซีอาร์ที่ใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อยีน syringomycin toxin (syrB) (Sorensen *et al.*, 1998)

6. บันทึกลักษณะโคโลนีบนอาหาร King medium B ผลการจัดจำแนกด้วยคุณสมบัติทางชีวเคมีและ PCR

เวลาและสถานที่

ต.ค.56 – ก.ย.58 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ศึกษา รวบรวมข้อมูลลักษณะของแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* รวบรวมข้อมูลรายละเอียดของเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* จาก CAB International, 2015 (<http://www.cabi.org/cpc/datasheet/44969>) ดังนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (Smith & Bryan) Young Dye & Wilkie 1978

Domain: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gammaproteobacteria

Order: Pseudomonadales

Family: Pseudomonadaceae

Genus: Pseudomonas

Species: *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*

แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) ต้องการออกซิเจน (aerobic) ในการดำรงชีวิต รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ไม่สร้างสปอร์ มีขนาด $0.8 \times 1-2 \mu\text{m}$ สามารถเคลื่อนไหวได้ โดยมีหางอยู่ตรงด้านบนและล่างของเซลล์ (polar flagella) จำนวน 1-5 เส้น แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* สร้างสารเรืองแสงสีเขียว (green fluorescent pigment) ได้บนอาหาร King's medium B และมีหลายลักษณะที่โดดเด่นแตกต่างไปจากกลุ่ม *P. syringae* โดยเฉพาะการเกิดโรคบนพืชตระกูลแตง

แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* มีอยู่ทั่วโลกและเป็นโรคที่ร้ายแรงที่สุดในแตงกวาที่ปลูกในเขตอบอุ่นชื้นและกึ่งร้อนชื้น

พืชอาศัย

พืชอาศัยที่สำคัญอยู่ในพืชตระกูลแตง (Cucurbitaceae) ได้แก่ แตงโม แตงกวา แคนตาลูป บวบ ฟักเขียว ฟักทอง

ลักษณะอาการของโรคใบจุดเหลี่ยมแตง

ลักษณะอาการของโรคเกิดได้ทั้งใบ ก้านใบ ลำต้นและ ผลของพืชตระกูลแตง (ภาพที่ 1) อาการเริ่มต้นเป็นจุดวงกลมฉ่ำน้ำขนาดเล็กต่อมาขยายขนาดขึ้นจนเส้นใบทำให้แผลเป็นจุดเหลี่ยม ในสภาพอากาศที่เปียกชื้นจะพบหยดของแบคทีเรียบนจุดแผลของใบด้านล่างและแห้งเป็นคราบขาว ต่อมาจุดแผลกลายเป็นสีเทาต่อมาจะแห้งเนื้อเยื่อบริเวณนั้นตายทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นฉีกขาดเป็นรูบนใบ ในสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคมักจะมีขอบสีเหลืองรอบจุดแผล ในพันธุ์ต้านทานจะพบจุดแผลขนาดเล็กไม่มีขอบสีเหลือง

อาการบนผลจะพบจุดกลมขนาดเล็ก แผลตื้น ต่อลูกกลมเข้าสู่เนื้อเยื่อแผลจะเปลี่ยนเป็นสีขาวแผลแตกเปิดและปล่อยให้เชื้อราหรือแบคทีเรียเข้าทำให้ผลเน่าทั้งผล ถ้าเป็นโรคในระยะผลอ่อนทำให้ผลอ่อนร่วง

ภายใต้สภาพการเจริญเติบโตที่ดี เถาของแตงกวา ฟักทอง และแตงโม สามารถเจริญเติบโตออกจากใบที่เป็นโรคได้และเจริญเติบโตตามปกติ, ในแปลงที่มีการระบาดรุนแรง ยอดของแตงกวาจะช้ำฉ่ำน้ำและเน่าหยุดการเจริญเติบโต

ชีววิทยาของแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans*

แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* สามารถอยู่ข้ามฤดูโดยปนเปื้อนอยู่ในเมล็ด โดยเข้าไปอยู่ในเยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) ดังนั้นเมื่อเมล็ดงอกเชื้อแบคทีเรียจะเข้าทำลายใบเลี้ยง มีรายงานในประเทศอาร์เจนตินาว่าแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* สามารถมีชีวิตในเมล็ดแตงโมได้นาน 20 เดือน และสามารถอยู่ในเศษซากพืชได้ถึง 12 เดือน โดยยังสามารถก่อโรคได้ (Atlas de Gotuzzo, 1976) มีรายงานในประเทศไซปรัสโรคนี้นี้เป็นโรคแพร่หลายมากที่สุดเป็นหนึ่งในโรคและทำความเสียหายกับต้นแตงกวา เมล็ดและ เศษซากพืชที่เหลืออยู่ในแปลงเป็นระบาดของโรค เชื้อแบคทีเรียสามารถอยู่ในเศษซากพืชในดินได้นาน 24 และ 32 เดือน การปลูกพืชสลับทำให้ลดการระบาดของโรคได้ การปลูกแตงกวาควรจะมีการสลับกับพืชอื่น ๆ ไม่ควรเกิน 2-3 ปี

(Litvinov and Pogorelov, 1978). แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* คงทนอยู่ในดินที่มีเศษซากของแตงที่เป็นโรคได้นาน 90 สัปดาห์และมีชีวิตอยู่บริเวณในดินรอบรากของพืชที่ไม่ใช่พืชอาศัยได้นาน 4 รอบฤดูปลูก โดยในช่วงเวลานี้มันจะยังคงที่จะก่อให้เกิดโรคต้นกล้าแตงกวาและเพิ่มประชากร (Kritzman และ Zutra, 1983a) การแพร่ระบาดของโรคเกิดจากลมที่พัดดินทรายที่มีเศษซากพืชที่เป็นโรคไปหรือการให้น้ำที่ปนเปื้อนเชื้อสาเหตุของโรค เมื่อเชื้อสาเหตุของโรคเข้าสู่พืชอาศัยโดยแพร่เข้าไปทางปากใบหรือบาดแผล จากนั้นจะไปเพิ่มปริมาณภายในช่องว่างระหว่างเซลล์ของใบ และแพร่กระจายไปยังใบอื่นๆหรือต้นอื่นได้โดยฝนและแมลงหรือเครื่องจักรกลการเกษตร (Kritzman and Zutra, 1983b).

2. การสำรวจแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* สาเหตุโรคใบจุดเหลี่ยมแตงจากแหล่งผลิตพืชตระกูลแตงในประเทศไทยปี 2557-2558

จากการสำรวจแหล่งปลูกพืชตระกูลแตง 15 แหล่งปลูก ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2556- กันยายน 2558 จำนวน 110 แปลง ได้แก่ เชียงราย จำนวน 5 แปลง เชียงใหม่ จำนวน 10 แปลง สระแก้ว จำนวน 10 แปลง ปราจีนบุรี จำนวน 5 แปลง ขอนแก่น จำนวน 15 แปลง นครราชสีมาจำนวน 5 แปลง บุรีรัมย์จำนวน 5 แปลง ชัยภูมิจำนวน 5 แปลง ร้อยเอ็ด จำนวน 5 แปลง อุบลราชธานีจำนวน 15 แปลง ลำปาง จำนวน 5 แปลง ราชบุรี จำนวน 10 แปลง เพชรบุรี จำนวน 5 แปลง นครศรีธรรมราช จำนวน 5 แปลง สุราษฎร์ธานี จำนวน 5 แปลง เก็บตัวอย่างใบของพืชตระกูลแตง ได้แก่ แตงโม แตงกวา แตงร้าน แคนตาลูป แตงญี่ปุ่น ที่มีแสดงอาการใบจุดเหลี่ยม(ภาพที่ 2) จำนวน 323 ตัวอย่าง มาแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ

3. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ นำตัวอย่างใบของพืชตระกูลแตง มาแยกเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* บนอาหาร King's medium B ทุกตัวอย่างพืชไม่พบโคโลนีสร้างสีเรืองแสงสีเขียว (green fluorescent pigment) พบส่วนใหญ่เป็นเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* สาเหตุโรคราน้ำค้างของแตง (Colucci and Holmes, 2010) ซึ่งลักษณะอาการใกล้เคียงกันมากและพบระบาดมากในทุกแปลงปลูก พืชตระกูลแตงโดยเฉพาะในช่วงปลายฤดูฝน กำลังเปลี่ยนเป็นฤดูหนาว ซึ่งเชื้อราสาเหตุโรคราน้ำค้างเจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิเย็นมีความชื้นสูง (Colucci and Holmes, 2010)

จากผลการสำรวจแหล่งปลูกพืชตระกูลแตงทั้ง 15 แหล่งปลูก จำนวน 110 แปลง ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2556- กันยายน 2558 ไม่พบโรคใบจุดเหลี่ยมแตงที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* ในประเทศไทย

9. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแหล่งปลูกพืชตระกูลแตง 15 แหล่งปลูก ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2556- กันยายน 2558 จำนวน 110 แปลง ได้แก่ เชียงราย จำนวน 5 แปลง เชียงใหม่ จำนวน 10 แปลง สระแก้ว จำนวน 10 แปลง ปราจีนบุรี จำนวน 5 แปลง ขอนแก่น จำนวน 15 แปลง นครราชสีมาจำนวน 5 แปลง บุรีรัมย์จำนวน 5 แปลง

ชัยภูมิจำนวน 5 แปลง ร้อยเอ็ด จำนวน 5 แปลง อุบลราชธานีจำนวน 15 แปลง ลำปาง จำนวน 5 แปลง ราชบุรี จำนวน 10 แปลง เพชรบุรี จำนวน 5 แปลง นครศรีธรรมราช จำนวน 5 แปลง สุราษฎร์ธานี จำนวน 5 แปลง ไม่พบโรคใบจุดเหลี่ยมแดงที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* ในประเทศไทย

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลของข้อมูลสถานภาพแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *lachrymans* ในแปลงปลูกพืชตระกูลแตงที่ปลูกในประเทศไทย เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดทำข้อมูลศัตรูพืช (pest list) ที่สามารถนำไปประกอบการเจรจาทางการค้าในการส่งออกเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตง และสนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช โดย NPPO สามารถนำข้อมูลที่ได้จากการวิจัยไปใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการขอเปิดตลาดสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ ซึ่งส่งผลทำให้สามารถขยายปริมาณและมูลค่าการส่งออกได้มากยิ่งขึ้น

11. คำขอบคุณ

-

12. เอกสารอ้างอิง

เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล และพิศาล ศิริธร . 2545. การตรวจวินิจฉัยโรคใบจุดเหลี่ยมของแตงด้วยเทคนิค ELISA.

หน้า 361-375. ใน การสัมมนาวิชาการเกษตร ประจำปี 2545 วันที่ 28-29 มกราคม 2545 ณ ห้องประชุมกวี จุติกุล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Atlas de Gotuzzo E, 1976. Angular spot of cucurbits in Argentina. Fitopatologia, 11(1):41-

46Colucci, S.J. and Holmes G.J. 2010. Downy Mildew of Cucurbits. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2010-0825-01

CAB International. 2014. CropProtection Compendium (2014 edition) Copyright ©2014 CABI. CAB International is a registered EU trademark. Available source: <http://www.cabi.org/cpc/datasheet/44969>. (Site date: April 25, 2015)

Kritzman G and Zutra D, 1983a. Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in soil, plant debris, and the rhizosphere of non-host plants. Phytoparasitica, 11(2):99-108

Kritzman G and Zutra D, 1983b. Systemic movement of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in the stem, leaves, fruits, and seeds of cucumber. Canadian Journal of Plant Pathology, 5(4):273-278

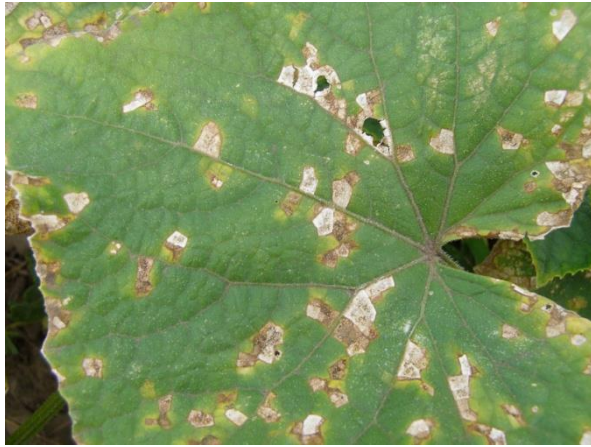
Litvinov SS, Pogorelov AI, 1978. Crop rotation and bacteriosis of cucumber. Zashchita Rastenii, No.4:35

Masny A, and Plucienniczak A, 2003. Ligation mediated PCR performed at low denaturation temperatures – PCR melting profiles. Nucleic Acids Research 31, 114–9.

Mohamed, Z. K., El-Hindawy, H. H. and Fayed, O. S. 2000. Physiological and biochemical studies on phytopathogenic bacteria isolated from cucumber in Egypt. Egyptian Journal of Microbiology 35: 1-20.

- Nazir A., Bhat, K. A., Bhat, M. Y., Zargar, M. A., Teli, Muslima Nazir, and Sajad M. Zargar. 2010. Current status of angular leaf spot (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) of cucumber: a review. *International Journal of Current Research* V.8, 1-11.
- Quigley, N. B., and Gross, D. C. 1994. Syringomycin production among strains of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*: conservation of the syrB and syrD genes and activation of phytotoxin production by plant signal molecules. *Molecular Plant-Microbe Interaction* 7:78–90.
- Schaad, N.W., Jones, J.B., Chun, W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. APS Press, Minnesota, USA
- Sorensen KN, Kim K-H, Takemoto JY, 1998. PCR detection of cyclic lipodepsinonapeptide-producing *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and similarity of strains. *Applied and environmental microbiology* 64, 226–30.

13. ภาคผนวก



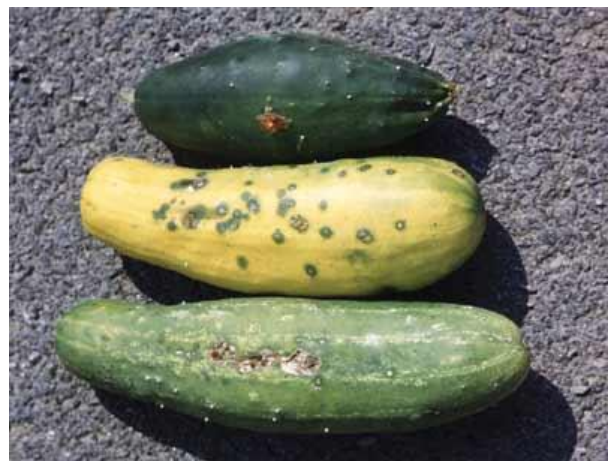
ที่มา: <http://www.extension.umn.edu/garden/yard-garden/vegetables/diseases-of-cucurbits/img/angular-leaf-spot-1.JPG>



ที่มา: <http://www.extension.umn.edu/garden/yard-garden/vegetables/diseases-of-cucurbits/img/angular-leaf-spot-2.JPG>

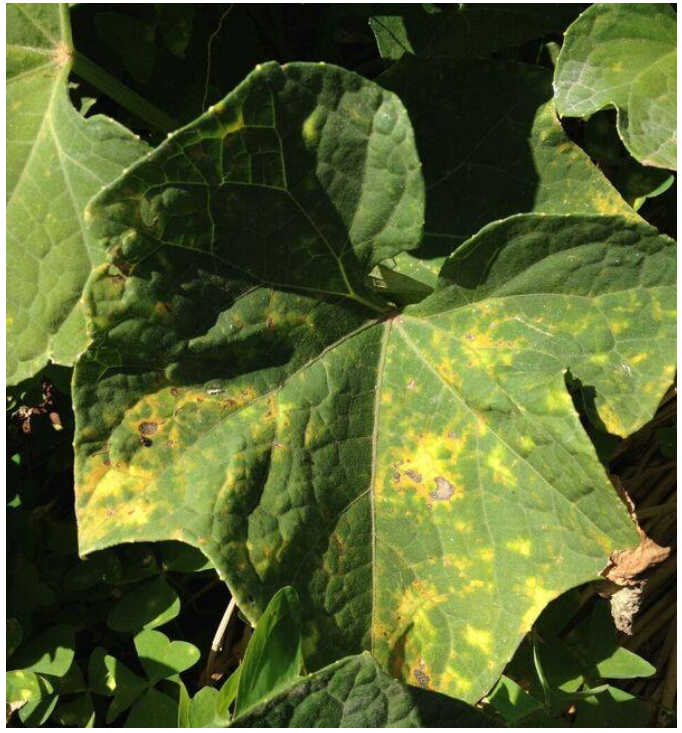


ที่มา: <http://aggie-horticulture.tamu.edu/vegetable/problem-solvers/cucurbit-problem-solver/leaf-disorders/angular-leaf-spot/>



ที่มา: http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/DiagnosticKeys/CucurFrt/Angular/Ang_cuc.htm

ภาพที่ 1 ลักษณะอาการของโรคจุดเหลี่ยมแดง (Angular Leaf Spot) ของพืชตระกูลแตง ที่สืบค้นจาก Website ต่างประเทศเพื่อจัดทำคู่มือการสำรวจ



รูปที่ 2 ลักษณะอาการของโรคใบจุดที่พบในแปลงปลูกที่เก็บมาตรวจในห้องปฏิบัติการพบว่าไม่ใช่โรคใบจุดเหี่ยว
แดง