รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองสิ้นสุด

1.ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

2.โครงการวิจัย อนุกรมวิธาน ชีววิทยา และเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรม อนุกรมวิธาน ชีววิทยา และเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมย่อย อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

3.ชื่อการทดลอง การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm.

Biology and Ecology of *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm.

4.คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	ทัศนาพร	ทัศคร	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้ร่วมงาน	วัชรี	วิทยวรรณกุล	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	ธารทิพย	ภาสบุตร	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	อภิรัชต์	สมฤทธิ์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5.บทคัดย่อ

โรคยางไหล (Gummy Stem Blight) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. (anamorph *Phoma cucurbitacearum*) พบมีการระบาดและทำความเสียหายกับพืชตระกูลแตงในประเทศไทย การศึกษาชีววิทยาของเชื้อราจึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในงานวิจัย จากการศึกษาสูตรอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยและการสร้าง pycnidia ของเชื้อราสาเหตุโรค จำนวน 3 ไอโซเลท บนอาหารสูตร PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar ที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่า เชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ดีในอาหาร PDA, PCA และ V8 agar ที่อุณหภูมิห้อง และเชื้อราสามารถเจริญได้ดีและเร็วในทุกสูตรอาหารโดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส สำหรับการสร้าง pycnidia ของเชื้อราพบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้าง pycnidia ได้ในทุกสูตรอาหาร แต่จะพบสร้างได้ในปริมาณมากบนอาหาร MEA และ PCA หลังการทดลอง 40 วัน และในการศึกษาการติดเชื้อบนเมล็ดของแตงเมล่อน โดยการเก็บเมล็ดจากผลที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค มาวางทดสอบบนอาหาร WA และตรวจนับเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อบนเมล็ดและเปอร์เซ็นต์การงอก ผลการทดลองพบว่า เมล็ดแตงมีทั้งการปนเปื้อนและการติดเชื้อที่เมล็ด

ทั้งในผลที่เป็นโรคและผลไม่เป็นโรค ซึ่งเมล็ดที่มีการติดเชื้อบนเปลือกหุ้มเมล็ดนั้น พบว่า เมล็ดสามารถงอกและเจริญได้ปกติ แต่เชื้อราเข้าทำลายต้นอ่อนทีหลัง ส่วนการติดเชื้อในเมล็ดนั้น ทำให้เมล็ดไม่งอกและเชื้อรามีการเจริญคลุมเมล็ด จากการศึกษาวิธีการปลูกเชื้อราสาเหตุบนต้นพืชพบว่า เชื้อราสามารถเข้าทำลายพืชได้โดยวิธีเข้าทางช่องเปิดธรรมชาติ และวิธี artificial inoculation ในการศึกษาพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุจึงได้นำวิธีการปลูกเชื้อ โดยวิธี toothpick's technique มาทดสอบการก่อให้เกิดโรคกับพืชตระกูลแตงจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ แตงร้าน แตงกวา แตงโม แตงไทย แฟง บวบหอม มะระจีน ฟักทอง บวบงู และเมล่อน ที่ 1, 3, และ 5 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ ผลการทดลอง พบว่า ในพืชแตงเมล่อน และ แตงร้าน เชื้อสาเหตุโรคทุกไอโซเลท สามารถเข้าทำลายพืชได้รุนแรง และทำให้เกิดโรค 90-100 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่า พืชทั้ง 2 ชนิดนี้ มีความอ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุโรคยางไหล และเกิดโรคได้ง่าย รองลงมาคือ พืชแตงโม พบว่า ไอโซเลทสุพรรณบุรี และ พะเยา สามารถเข้าทำลายพืชได้รุนแรง และทำให้เกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไอโซเลทสระแก้ว เข้าทำลายพืชได้ 33.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลจากการศึกษาข้อมูลพื้นฐานทางด้านชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเชื้อสาเหตุโรค สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดโรคให้มีประสิทธิภาพและการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานต่อโรคยางไหลต่อไป

Abstract

Didymella bryoniae (Auersw.) Rehm. (anamorph *Phoma cucurbitacearum*) is the causal agent of Gummy Stem Blight (GSB) of cucurbits in Thailand. Information on the basic biology of the fungus is available. In this study, experiments were conducted to determine the effects of culture media and temperatures on mycelial growth and pycnidia production. PDA, PCA and V8 agar were favoured for mycelial growth. Isolate Suphanburi had more rapid mycelial growth than isolate Phayao and Sa Keaw. The fungus was able to grow at temperatures from 10 to 25 °C. Optimal mycelial growth occurred between 20 - 25 °C. The average radial growth rate on PDA, PSA and V8 agar were 8.0- 9.0 cm at 20 °C. Pycnidia was highly produced in all culture media especially in MEA and PCA at 25 °C for 40 days period . Infested and non infested muskmelon seeds were screened for seedborne pathogenicity test on WA agar. The results revealed that both of seeds were infested on seed coat and embryo. For the artificial inoculation, toothpick's technique was performed for ten of cucurbitaceae. Disease incidence was then evaluated at 1, 3 and 5 days after inoculation. The results showed that all isolates of *D. bryoniae* exhibited the disease virulence with 90 to 100 percent disease in muskmelon and cucumber and suggesting that both of plants are susceptible to causal agent of gummy stem blight. In watermelon, it was highly susceptible to Suphanburi and Phayao isolates.

6.คำนำ

โรคยางไหล (Gummy Stem Blight) เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. (syn. *Mycosphaerella melonis* (Pass.)Chiu&J.C. Walker). (Chiu และ Walker, 1949) เชื้อสาเหตุโรคยางไหล (Gummy Stem Blight) ในประเทศไทยมีรายงานว่า เกิดจากเชื้อรา *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. ซึ่งเป็นราชั้นสูง มีการระยะการสืบพันธุ์ 2 แบบ คือ ในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (perfect stage,teleomormp) เชื้อราจะมีการสร้าง perithecia ที่มี ascospores อยู่ภายในถุง ascus แต่ถ้าเป็นในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (imperfect stage, anamorph) ซึ่งต่างประเทศได้รายงานว่า เป็นเชื้อรา *Phoma cucurbitacearum* ซึ่งถ้าเป็นเชื้อราในระยะนี้จะสังเกตพบ มีการสร้าง pycnidia สีดำ เล็กๆกระจายอยู่ทั่วบริเวณแผล และ pycnidia นี้สามารถสร้าง conidia ที่ไม่มี septate หรือมี septate เพียงอันเดียว (Keinath et al,1995) ในประเทศไทยพบมีการระบาดในพืชตระกูลแตงหลายชนิด ทั้งในแตงโม ที่ปลูกทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ส่วนแคนตาลูปพบมีการระบาดที่ อ. อรัญประเทศ จ. สระแก้ว และ อ.แม่ใจ จ.พะเยา และจากรายงานการสำรวจโรคพืชตระกูลแตงของ พรพิมล และคณะ (2552) ได้รายงานว่าโรคยางไหลในแตง เกิดจากสาเหตุรา *Ascochyta cucumis*

ลักษณะอาการของโรคเริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ และลุกลามขยายขนาดอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง ลักษณะสำคัญของโรคคือ ที่แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และเกาะแห้งอยู่ที่บริเวณแผล ซึ่งด้วยลักษณะอาการของโรคเช่นนี้จึงได้มีการตั้งชื่อโรคตามอาการโรคที่พบ คือ โรคยางไหล ถ้าโรคมีการระบาดในระยะที่ติดผล จะทำให้ต้นแตงมีการเจริญเติบโตช้า ผลโตไม่เต็มที่ และในต้นที่อาการรุนแรงมาก ต้นจะเหี่ยวแห้งและยืนต้นตาย ทำให้ผลผลิตที่ได้ลดลง บางครั้งเกษตรกรจึงรีบเก็บผลผลิตก่อน ทั้งที่แตงยังสุกไม่เต็มที่ทำให้ผลผลิตของแตงไม่ได้คุณภาพ

เนื่องจากเชื้อรา *D. bryoniae* เป็นเชื้อราที่สามารถอาศัยและติดไปได้ทั้งในเมล็ดพันธุ์และดิน (seed borne , soil borne) และอยู่ข้ามฤดูได้เป็นเวลานานในเศษซากพืช โดยการสร้าง perithecia เมื่อสภาพแวดล้อมมีความชื้นสูง perithecia ที่อยู่บนเศษซากพืชก็จะปล่อย conidia ออกมาเพื่อแพร่กระจายโรคได้ในฤดูปลูกถัดไป จากการที่เชื้อราสามารถอยู่ข้ามฤดูในดินและเศษซากพืช หรือติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ เมื่อมีการปลูกพืชซ้ำที่บ่อยๆ ก็จะเป็นการเพิ่มปริมาณเชื้อในแปลงเพิ่มขึ้นได้ ในกรณีที่เกษตรกรไม่สามารถย้ายพื้นที่ปลูกได้ต้องปลูกในพื้นที่เดิม แต่ถ้าเกษตรกรมีการย้ายพื้นที่ปลูกไปเรื่อย ๆ เพื่อหลีกเลี่ยงการปลูกซ้ำที่ ก็จะทำให้เชื้อรามีการแพร่กระจายไปตามแหล่งปลูกอื่นๆ การศึกษาหาแนวทางในการป้องกันกำจัดโรคยางไหลจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ แต่การศึกษาเกี่ยวกับเชื้อรา *D. bryoniae* ยังขาดข้อมูลเกี่ยวกับ ลักษณะทางชีววิทยา เช่น การเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ ลักษณะอาการของโรคที่เกิดขึ้นในพืชแต่ละชนิด และความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกการเข้าทำลายของเชื้อรา รวมทั้งการถ่ายทอดเชื้อผ่านเมล็ด ดังนั้น การศึกษาใน

เรื่องดังกล่าวจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดโรคยางไหลในพืชตระกูลแตงได้อย่างมีประสิทธิภาพ และยังสามารถนำข้อมูลไปใช้เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรคได้อีกทางหนึ่ง

7.วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ
2. กล้องจุลทรรศน์
3. อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ
4. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกา กรรไกร ฯลฯ
5. กล้องถ่ายภาพ
6. วัสดุการเกษตร ดิน กระถาง เมล็ดพันธุ์ กระบะเพาะกล้า

- วิธีการ

1.การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคยางไหลของพืชตระกูลแตง

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคยางไหลจากแหล่งปลูกพืชตระกูลแตงที่สำคัญ บันทึกข้อมูลต่างๆที่สำคัญในพื้นที่ปลูก ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคกลาง ที่เป็นแหล่งปลูกสำคัญ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างในลักษณะการเดินซิกแซก ตามแบบของ Barker (1985) จำนวน 10 เปอร์เซ็นต์ ต่อพื้นที่เพาะปลูก เมื่อพบต้นที่เป็นโรค ควรเก็บตัวอย่างโรคในระยะต่างๆ โดยห่อตัวอย่างด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์และใส่ในถุงพลาสติกบรรจุลงในกล่องเก็บความเย็นเพื่อนำกลับไปศึกษาแยกเชื้อสาเหตุและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุของโรคในห้องปฏิบัติการ บันทึกข้อมูลตามลักษณะอาการของโรคและถ่ายภาพส่วนที่เป็นโรค ประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค (disease incidence)

2. การศึกษาชนิดเชื้อสาเหตุโรคยางไหล

2.1 การศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ศึกษาลักษณะของเชื้อสาเหตุโรค โดยทำการตัดชิ้นส่วนพืชบริเวณที่แสดงอาการโรค (section) และทำสไลด์ เพื่อตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อราที่สำคัญเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อรา เช่น ลักษณะของเส้นใย

และสปอร์ ภายใต้กล้อง Compound microscope และเปรียบเทียบลักษณะของเชื้อราที่พบกับเอกสารที่ใช้ในการจำแนกชนิดเชื้อรา ILLUSTRATED GENERA of IMPERFECT FUNGI และหนังสือดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย

2.2 การแยกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธี Tissue transplanting

แยกเชื้อสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคยางไหลที่พบ โดยตัดชิ้นตัวอย่างที่บริเวณส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร จากนั้นฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 3-5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 30$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereomicroscope แยก hyphal tip ของเชื้อราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเก็บไว้เพื่อศึกษาลักษณะรายละเอียดของเชื้อประกอบกับเอกสารอ้างอิงเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรค

3. **การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยและการสร้าง pycnidia ของเชื้อรา *D. bryoniae*** ศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราและการสร้าง pycnidia โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีคือ สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Corn Meal Agar (CMA) Oat Meal Agar (OMA) Malt Extract Agar (MEA) Potato Sucrose Agar (PSA) Potato Carrot Dextrose (PCA) และ V-8 Agar เมื่อเตรียมอาหารตามสูตรต่างๆแล้ว จึงย้ายเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากข้อ 2.2 มาเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้ จำนวน 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อต่ออาหาร 1 ชนิด บันทึกข้อมูลโดยวัดขนาดโคโลนีเมื่อเชื้อราอายุ 9 วัน บันทึกลักษณะสีของเส้นใย การเจริญของเส้นใย การสร้าง pycnidia เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ

4. **การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยและการสร้าง pycnidia ของเชื้อรา *D. bryoniae***

ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราและการสร้าง pycnidia ของรา *D. bryoniae* 3 ไอโซเลท คือ สระแก้ว สุพรรณบุรี และพะเยา โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีคือ อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส และทดสอบกับสูตรอาหาร 7 ชนิด คือ Potato Dextrose Agar (PDA), Corn Meal Agar (CMA) Oat Meal Agar (OMA) Malt Extract Agar (MEA) Potato Sucrose Agar (PSA) Potato Carrot Dextrose (PCA) และ V-8 Agar เมื่อเตรียมอาหารตามสูตรต่างๆแล้ว จึงย้ายเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากข้อ 2.2 มาเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้ จำนวน 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อต่ออาหาร 1 ชนิด และนำจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียม

ไว้ไปบ่มเชื้อที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิโดยทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นบันทึกข้อมูลโดยวัดขนาดโคโลนีเมื่อเชื้อรา บันทึกลักษณะสีของเส้นใย การเจริญของเส้นใย การสร้าง pycnidia เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ

5. ศึกษาการอยู่อาศัยและเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุ *D. bryoniae* ในเมล็ดแตงเมล่อน และแคนตาลูป

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างผลแตงเมล่อนในระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต ที่แสดงอาการผลเน่า และเป็นแผล จากแปลงเกษตรกร อ.อู่ทอง และ อ.หนองหญ้าไซ จ. สุพรรณบุรี นำผลที่ได้มาผ่า ล้างแยกเมล็ด และ ผึ่งลมให้แห้ง ตรวจนับจำนวนเมล็ดและเก็บใส่ถุงพลาสติก เปรียบเทียบกับเมล็ดจากผลแตงปกติและเมล็ดพันธุ์แตงจากบริษัทที่นำเข้าเมล็ดพันธุ์ เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป
2. ในการทดลองครั้งที่ 1 นำเมล็ดแตงเมล่อนและแคนตาลูปที่เก็บมาได้มาศึกษาการติดเชื้อบนเมล็ด ตามวิธีการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ โดยวิธีเพาะเมล็ดพันธุ์บนอาหารวุ้น (Agar-Plate method) โดยแช่เมล็ดแตง ในคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ซับเมล็ด ให้แห้ง แล้วนำเมล็ดแตงไปวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ WA จำนวน 10 เมล็ดต่อจาน จำนวน 30 จาน นับจำนวนเมล็ดที่พบมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค และบันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การงอกและการปนเปื้อนของเชื้อราบนเมล็ดแตง
3. ในการทดลองครั้งที่ 2 ทำการทดสอบเช่นเดียวกันกับข้อ 2. แต่เมล็ดแตงที่ใช้ในการทดสอบเป็นเมล็ดแตงเมล่อนจากผลที่ปกติ และผลที่เป็นโรคจากแปลงเกษตรกร เปรียบเทียบกับเมล็ดแตงเมล่อนพันธุ์การค้า จำนวน 7 พันธุ์ มาศึกษาการติดเชื้อบนเมล็ด โดยเปลี่ยนแช่เมล็ดแตงในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ซับเมล็ดให้แห้ง แล้วนำเมล็ดแตงไปวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ WA จำนวน 10 เมล็ดต่อจาน จำนวน 10 จาน นับจำนวนเมล็ดที่มีการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค และบันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การงอกและการเจริญของเชื้อสาเหตุบนเมล็ดแตง และนำเชื้อราที่ตรวจพบในเมล็ดแตง มาทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ และจัดจำแนกชนิดของเชื้อราที่พบ

6. ศึกษาเทคนิคการปลูกเชื้อรา *D. bryoniae* ในสภาพโรงเรือนทดลอง

1. เลี้ยงขยายเชื้อราสาเหตุโรค จำนวน 3 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

2. เตรียมกระถางใส่ดินเพื่อปลูกแตงเมล่อน โดยนำต้นกล้าที่เตรียมไว้ปลูกลงในกระถาง เมื่อแตงมีอายุประมาณ 20 วัน จึงทำการทดสอบวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคแต่ละไอโซเลทลงบนพืชทดสอบ จำนวน 5 กระถางต่อซ้ำ ทั้งหมด 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธีคือ

กรรมวิธีที่ 1. การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีทำแผลและวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 2. การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีไม่ทำแผลและวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 3. การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีทำแผลและพ่น spore suspension เชื้อราสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 4. การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีไม่ทำแผลและพ่น spore suspension เชื้อราสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 5. ไม่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

3. นำกระถางพืชทดสอบที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคใส่ลงในถุงพลาสติกที่มีความชื้น 24 -48 ชม.

4.การบันทึกข้อมูล

1.เก็บข้อมูลการเกิดโรคและลักษณะการเกิดแผลทุกวัน

2.วัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นในแต่ละกรรมวิธี เปรียบเทียบกับวิธีไม่ปลูกเชื้อสาเหตุ นำข้อมูลที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

7. การศึกษาพืชอาศัยและการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *D. bryoniae* ในสภาพโรงเรือนทดลอง

1. เลี้ยงขยายเชื้อรา *D. bryoniae* จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท สุพรรณบุรี สระแก้ว พะเยา บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการปลูกเชื้อสาเหตุโรค

2. เตรียมเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตงชนิดต่างๆ เพื่อใช้ทดสอบ จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ แตงร้าน แตงกวา แตงโม แตงไทย แฟง บวบหอม มะระจีน ฟักทอง บวบงู และเมล่อน

3. เพาะกล้าพืช และทำการย้ายปลูกลงในกระถางที่เตรียมไว้ จำนวน 5 กระถางต่อซ้ำ ทั้งหมด 4 ซ้ำ เพื่อใช้ในการศึกษาการก่อให้เกิดโรคในพืชตระกูลแตงชนิดอื่น

4.เมื่อพืชทดสอบอายุประมาณ 30 วัน จึงทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรคที่เตรียมไว้ลงที่ใบ และโคนต้น โดยวิธีการทำแผลและวางชิ้นวุ้นของเชื้อราแต่ละไอโซเลท บันทึกการเกิดโรคและวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค

5.นำตัวอย่างโรคที่แสดงอาการโรคหลังการปลูกเชื้อสาเหตุมาแยกเลี้ยง ตามวิธี Koch’s postulation เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุโรคต่อไป

การบันทึกข้อมูล

1. เก็บข้อมูลการเกิดโรคและลักษณะการเกิดแผลทุกวัน
2. วัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นในแต่ละกรรมวิธี เปรียบเทียบกับวิธีไม่ปลูกเชื้อสาเหตุ นำข้อมูลที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

-เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553

สิ้นสุด กันยายน 2558

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงเกษตรกรปลูกแตงที่สำคัญ

8.ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคยางไหลของพืชตระกูลแตง

ในปี 2554 ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างแตงกวา แตงร้าน ในพื้นที่ อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี และ อ.หนองหญ้าไซ จ.สุพรรณบุรี และแตงแคนตาลูป ในพื้นที่ อ.เมือง จ. พะเยา และ อ.เมือง, อ. อรัญประเทศ จ.สระแก้ว ส่วนแตงเมล่อนที่แสดงอาการโรคในพื้นที่ อ.ไทรโยค จ. กาญจนบุรี และ อ.หนองหญ้าไซ จ. สุพรรณบุรี เพื่อแยกหาเชื้อสาเหตุโรคยางไหลในห้องปฏิบัติการ จากการเก็บตัวอย่างโรคพบว่า ในพืชแตงกวา แตงร้าน ไม่พบอาการของโรคในแปลง แต่ในพืช แตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนนั้น พบมีการเกิดโรคและการระบาดของโรค ซึ่งลักษณะอาการของโรคยางไหลที่พบคล้ายคลึงกันในทั้ง 2 พืช ในทุกพื้นที่ปลูก คือ เริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง และมีการลุกลาม ขยายขนาดแผลอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นส่วนที่เป็นแผลจะบุ๋มลึก หรือ มีการแตก ของลำต้นและกิ่ง และสุดท้ายแผลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล หรือน้ำตาลแดง และลักษณะสำคัญของโรคคือ ที่พบ คือที่แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และเกาะแห้งอยู่ที่บริเวณแผล และเมื่อแผลแห้ง จะพบเชื้อรามีการสร้างเม็ด pycnidia สีดำ ขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วแผล (ภาพที่ 1) ส่วนอาการที่ใบก็จะพบใบเป็นแผลฉ่ำน้ำก่อน จากนั้นแผลที่ใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลุกลามไปตามเส้นกลางใบทำให้ใบไหม้ เป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 2) ซึ่งถ้าพบลักษณะอาการของโรคในช่วงระยะที่เริ่มติดผล หรือระยะที่กำลังเก็บเกี่ยวจะทำให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตเป็นอย่างมาก

ภาพที่ 1 A : สภาพแปลงปลูกแตงเมล่อนในโรงเรือน จ. สุพรรณบุรี, B : ลักษณะอาการโรคยางไหลที่ลำต้น C: ลักษณะ pycnidia สีดำที่ขึ้นกระจายบนแผล

ภาพที่ 2 A : สภาพแปลงปลูกแตงแคนตาลูป อ. เมือง จ. สระแก้ว, B : ลักษณะอาการโรคยางไหลที่ลำต้น กิ่ง ก้าน C : ลักษณะอาการโรคยางไหลที่ใบ

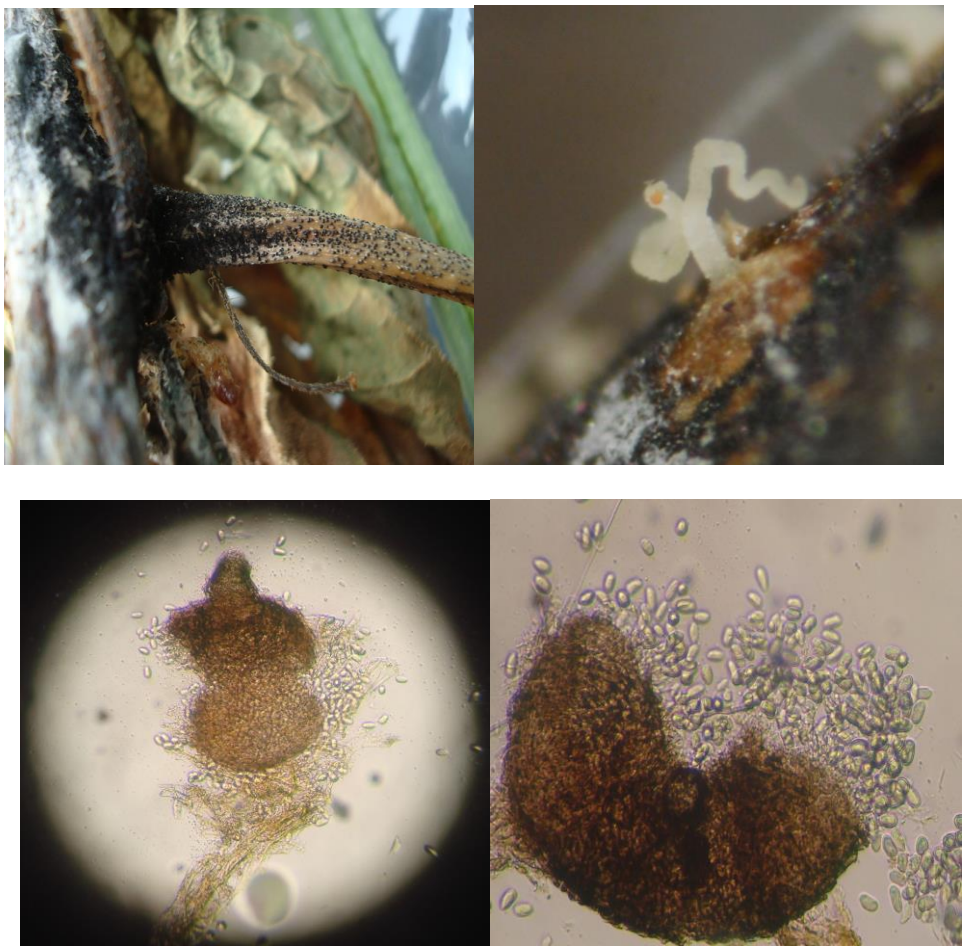
ภาพที่ 3 A : สภาพแปลงปลูกแตงแคนตาลูป อ. แม่ใจ จ. พะเยา, B : ลักษณะอาการโรคยางไหลที่ลำต้น กิ่งก้าน C : ลักษณะ pycnidia สีดำที่ขึ้นกระจายบนแผล

2. การศึกษาชนิดเชื้อสาเหตุโรคยางไหลในพืชตระกูลแตง

จากการแยกเชื้อสาเหตุจากลักษณะอาการดังกล่าวโดยวิธี Tissue transplanting ซึ่งเมื่อศึกษาเส้นใยเชื้อราที่แยกได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า สามารถแยกได้เชื้อราที่มีลักษณะเส้นใยเชื้อรามีสีขาว ฟู ละเอียดในช่วง 3 วันแรก จากนั้นเส้นใยเชื้อราจะเปลี่ยนเป็นสีเข้มขึ้นเมื่อเชื้อรามีอายุมากขึ้น และการเจริญของโคโลนีเชื้อราจะพบมีการเจริญของเส้นใยไม่เท่ากัน ทำให้ขอบโคโลนีเกิดเป็นขอบหยัก เมื่อนำเชื้อราสาเหตุทั้ง 3 ไอโซเลทไปทำการปลูกเชื้อลงบนพืชตามวิธี Koch's postulation เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุโรคบนพืชแตงเมล่อน หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค 24 ชั่วโมง พบว่า พืชแสดงลักษณะอาการของโรคที่ใบและต้น เหมือนกับลักษณะอาการโรคในแปลงเกษตรกร จึงได้ดำเนินการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์อีกครั้งเพื่อใช้ในการจำแนกต่อไป (ภาพที่ 4)

เมื่อศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อจากชิ้นส่วนพืชที่มีการสร้างส่วนขยายพันธุ์สีดำ (fruiting body) ที่เชื้อสร้างขึ้น ก็พบว่าเชื้อรามีการสร้าง pycnidia ขนาดเล็กสีดำ ฝังที่บริเวณแผล และภายใน pycnidia มีสปอร์ขนาดเล็กบรรจุอยู่ มีลักษณะรูปร่าง กลมรี เล็ก ใส มี 1-2 septate เมื่อเปรียบลักษณะเชื้อราดังกล่าวที่แยกได้กับเอกสารที่ใช้ในการจำแนกชนิดเชื้อรา ILLUSTRATED GENERA of IMPERFECT FUNGI และหนังสือดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย ก็พบว่า โรคยางไหลจากแตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่เก็บตัวอย่างได้จาก จ. พะเยา จ. สระแก้ว และ จ. สุพรรณบุรี จำนวน 3 ไอโซเลท นั้น คือเชื้อรา *D. bryoniae* ซึ่งตรงกับรายงานต่างประเทศ ที่พบว่าลักษณะที่พบในระยะนี้เป็นเชื้อรา *Phoma cucurbitacearum* เพราะเชื้อราในระยะนี้จะสังเกตพบเชื้อราจะมีการสร้าง pycnidia สีดำ เล็กๆกระจายอยู่ทั่วบริเวณแผล และ pycnidia นี้สามารถสร้าง conidia ที่ไม่มี septate หรือมี septate เพียงอันเดียว ซึ่งตรงกับรายงานของ Keinath และคณะ (1995) ที่พบว่าเชื้อสาเหตุโรคยางไหล (Gummy Stem Blight) เกิดจากเชื้อรา *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. เป็นราชั้นสูง มีระยะการสืบพันธุ์ 2 แบบ คือ ในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual stage,teleomorph) เชื้อราจะมีการสร้าง perithecia ที่มี ascospores อยู่ภายในถุง ascus ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อราที่แยกได้นั้น อยู่ในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual stage, anamorph) เพราะพบเชื้อรา มีการสร้าง pycnidia ขนาดเล็กสีดำ ฝังที่บริเวณแผล และภายใน pycnidia มีสปอร์ขนาดเล็กบรรจุอยู่ มีลักษณะรูปร่างกลมรี เล็ก ใส มี 1-2 septate และในการสำรวจและเก็บตัวอย่างครั้งนี้ ไม่พบเชื้อราสาเหตุโรคในระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual stage, teleomorph) (ภาพที่ 5)

ภาพที่ 4 ลักษณะการเกิดแผลหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีทำแผลและวางชิ้นวุ้นที่ใบและที่ต้นแตงเมล่อน A: ไอโซเลท พะเยา B : ไอโซเลท สุพรรณบุรี C : ไอโซเลท สระแก้ว D : control



ภาพที่ 5 A : ลักษณะ pycnidia สีดำที่ขึ้นกระจายบนแผล, B : การปล่อยโคนิเดียที่มีลักษณะเป็น spore horns, C : ลักษณะ pycnidia , D : ลักษณะโคนิเดีย ใส ทรงกระบอกปลายมน และไม่มีผนังกั้นเซล

3. การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *D. bryoniae*

จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลท ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ จำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar สูตรๆละ 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง และทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน เป็นเวลา 9 วัน ผลการทดลองพบว่า เชื้อราสามารถเจริญได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท บนอาหาร PDA PCA และ V8 agar ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการเจริญแต่ละไอโซเลทแล้ว พบว่าไอโซเลท สุพรรณบุรี มีการเจริญของเส้นใยได้ดีกว่าไอโซเลท สระแก้ว และ พะเยา (ตารางที่ 1)

ส่วนการทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเลี้ยงเชื้อรานั้น ได้ทำการแยกเลี้ยงเชื้อสาเหตุจำนวน 3 ไอโซเลท ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร จำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8

agar สูตรๆละ 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ และได้นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส และทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน หลังการทดลอง 9 วัน ได้เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคในอาหารแต่ละสูตร พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ดีในทุกสูตรอาหารที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และรองลงมาคือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ส่วนที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคทุกไอโซเลทเจริญได้ไม่ดี (ตารางที่ 2)

4. **การศึกษาสูตรอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการการสร้าง pycnidia ของเชื้อรา *D. bryoniae***

เมื่อทำการบันทึกข้อมูลสูตรอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแล้ว จึงได้นำจานเลี้ยงเชื้อทดสอบทั้งหมดไปบ่มเชื้อต่อ เพื่อศึกษาสูตรอาหารและที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้าง pycnidia เมื่อครบ 20 วัน เชื้อราเริ่มมีการสร้างกลุ่มเส้นใยสีดำอัดแน่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ จึงได้ทำการบันทึกการสร้าง pycnidia ในแต่ละสูตร จนถึง 40 วัน ซึ่งผลการทดลองพบว่า ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เชื้อสาเหตุโรคทั้ง 3 ไอโซเลท ไม่มีการสร้าง pycnidia ในทุกสูตรอาหาร ยกเว้นอาหาร MEA ที่ไอโซเลท สระแก้ว และพะเยา มีการสร้างเพียงเล็กน้อย และที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อสาเหตุโรคไอโซเลท สระแก้ว สร้าง pycnidia ได้ดีบนอาหาร PCA รองลงมาคือ V8 agar และในไอโซเลท พะเยา มีการสร้างเล็กน้อยบนอาหาร PDA, V8 agar และ OMA ส่วนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อสาเหตุโรคทั้ง 3 ไอโซเลท มีการสร้าง pycnidia ได้ในทุกสูตรอาหาร โดยเฉพาะบนอาหาร PCA และ MEA เชื้อราไอโซเลท สระแก้ว และ สุพรรณบุรี มีการสร้าง pycnidia ได้จำนวนมาก ส่วน ไอโซเลท พะเยา นั้นเชื้อราสร้างได้เล็กน้อยถึงปานกลาง บนอาหารทั้งสองชนิด (ตารางที่ 3)

5. **ศึกษาการอยู่อาศัยและเข้าทำลายของเชื้อรา *D. bryoniae* ในเมล็ดแตงเมล่อน และแตงแคนตาลูป**

ผลการทดสอบการตรวจเมล็ดครั้งที่ 1 พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อรา *Rhizopus* sp. และ *Aspergillus* sp. ที่บริเวณรากของแตงเป็นจำนวนมาก ทำให้การตรวจเช็คประเมินค่อนข้างลำบาก เนื่องจากมีเส้นใยเชื้อราอื่นเจริญคลุมทับ หลังการวางเมล็ด 3 วัน จากการตรวจนับเมล็ดทั้งหมด 300 เมล็ด และนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ พบว่า เมล็ดพันธุ์การค้ามีเปอร์เซ็นต์การงอก 85 เปอร์เซ็นต์ และพบเมล็ดที่งอกมีเชื้อราเจริญที่เปลือกหุ้มเมล็ด 6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดที่ไม่งอกและมีการเจริญของเชื้อราที่บริเวณเปลือกหุ้มเมล็ด พบ 9 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดแตงเมล่อนที่ปกติและเป็นโรค มีเปอร์เซ็นต์การงอก 34 และ 23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบเมล็ดที่งอกมีเชื้อราเจริญที่เปลือกหุ้มเมล็ด 2 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดที่ไม่งอกและมีการเจริญของเชื้อราที่บริเวณเปลือกหุ้มเมล็ด พบ 64 และ 71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในเมล็ดแตงแคนตาลูปที่ปกติและเป็นโรค มีเปอร์เซ็นต์การงอก 30 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบเมล็ดที่งอกมีเชื้อราเจริญที่เปลือกหุ้มเมล็ด 2 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน ส่วน

เมล็ดที่ไม่งอกและมีการเจริญของเชื้อราที่บริเวณเปลือกหุ้มเมล็ด พบ 55 และ 23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบมีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนเมล็ดแตงแคนตาลูปที่ปกติ 13 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในเมล็ดชนิดอื่นไม่พบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย (ตารางที่ 4)

ดังนั้นในการทดลองครั้งที่ 2 จึงได้มีการเปลี่ยนวิธีการฆ่าเชื้อที่ผิวเป็นการแช่แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เพื่อป้องกันเชื้อราชนิดอื่นที่ไม่ใช่เชื้อสาเหตุเจริญก่อนที่จะทำการตรวจผลการทดลอง โดยการนับจำนวนเมล็ดที่งอกและติดเชื้อไม่ติดเชื้อ จำนวนเมล็ดที่ไม่งอกและติดเชื้อไม่ติดเชื้อ ซึ่งหลังการทดลอง 3 วัน พบว่า เมล็ดเมล่อนจากผลที่ปกติ มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 19 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 79 เมล็ด และติดเชื้อแบคทีเรีย 2 เมล็ด ส่วนเมล็ดเมล่อนจากผลที่เป็นโรคมีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 1 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 99 เมล็ด และพบมีติดเชื้อแบคทีเรียขึ้นปะปน 2 เมล็ด ในเมล็ดพันธุ์การค้า 328น มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 53 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 1 เมล็ด และพบมีติดเชื้อแบคทีเรีย 46 เมล็ด ในเมล็ดพันธุ์การค้า 329น มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 68 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 2 เมล็ด และพบมีเชื้อแบคทีเรีย 30 เมล็ด ในเมล็ดพันธุ์การค้า 330น มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 64 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 2 เมล็ด และพบมีติดเชื้อแบคทีเรีย 34 เมล็ด ในเมล็ดพันธุ์การค้า 331น มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 75 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 14 เมล็ด และพบมีติดเชื้อแบคทีเรีย 11 เมล็ด ในเมล็ดพันธุ์การค้า 332 น มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 71 เมล็ด ไม่มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา แต่พบมีติดเชื้อแบคทีเรีย 29 เมล็ด ในเมล็ดพันธุ์การค้า 333น มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 72 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 21 เมล็ด และพบมีติดเชื้อแบคทีเรีย 7 เมล็ด และสุดท้าย ในเมล็ดพันธุ์การค้า 523บ มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 42 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 18 เมล็ด และพบมีเชื้อแบคทีเรีย 40 เมล็ด (ตารางที่ 5)

จากการทดสอบการติดเชื้อบนเมล็ดแตงทั้ง 2 การทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า เมล็ดแตงเมล่อน แตงแคนตาลูปจากแปลงเกษตรกร และเมล็ดแตงเมล่อน พันธุ์การค้า พบมีการติดเชื้อราสาเหตุโรคมากับเมล็ดได้ โดยเฉพาะเป็นเมล็ดที่เก็บจากผลที่เป็นโรคจะพบการติดเชื้อบนเมล็ดมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และ จากการศึกษาภายใต้จุลทรรศน์แบบสเตริโอ พบว่า การติดเชื้อบนเมล็ดมี 2 แบบ คือแบบแรกคือเชื้อราสาเหตุโรคมีการเจริญอยู่บนเปลือกหุ้มเมล็ดแตงเท่านั้น และเมื่อเมล็ดมีการงอกเจริญส่วนของรากและใบเลี้ยงออกมาจะมีลักษณะปกติ แต่หลังจากเส้นใยเชื้อราเจริญและมีการเข้าทำลายรากและใบเลี้ยง จึงทำให้ต้นอ่อนตาย ส่วนแบบที่สองคือ เชื้อราเจริญคลุมเมล็ด ทำให้เมล็ดตายและไม่มีการงอกของเมล็ด (ภาพที่ 6)

ภาพที่ 6 A : ผลแตงเมล่อนที่เป็นโรค B : การทดสอบการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคบนเมล็ดแตง C : ลักษณะการเจริญของเชื้อบนเมล็ดแตงทดสอบ

6. ศึกษาการปลูกเชื้อราสาเหตุ *D. bryoniae* ในสภาพโรงเรือนทดลอง

ทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท สุพรรณบุรี สระแก้ว และพะเยา ตามกรรมวิธีที่วางไว้ และประเมินการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อ 1, 3, 5 และ 7 วัน หลังการปลูกเชื้อ 1 วัน พบว่า ทุกไอโซเลทสามารถปลูกเชื้อติด คือทำให้ใบแตงมีลักษณะอาการ ใบเป็นแผลช้ำ ฉ่ำน้ำ โดยกรรมวิธีการทำแผลและวางชิ้นวุ้นและความรุนแรงหรือขนาดของแผลที่เกิด ขึ้นอยู่กับไอโซเลทของเชื้อรา และที่หลังการปลูกเชื้อ 3 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีในการปลูกเชื้อสาเหตุโรค สามารถทำให้ต้นพืชเกิดอาการของโรคได้ และเมื่อวัดขนาดแผลที่เกิดขึ้น พบว่าวิธีปลูกเชื้อโดยกรรมวิธีไม่ทำแผลและพ่นสปอร์ ทำให้เกิดโรครุนแรง ใบมีอาการไหม้ รองลงมาคือกรรมวิธีทำแผลและวางชิ้นวุ้น (ภาพที่ 7, 8 และ 9) แสดงว่าเชื้อราสาเหตุโรคนี้สามารถเข้าทำลายพืชได้เองโดยวิธีเข้าทางช่องเปิดธรรมชาติ และวิธี artificial inoculation ซึ่งสามารถนำวิธีการที่ได้ไปใช้ในการศึกษาต่อไป

ภาพที่ 7 การทดสอบวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ไอโซเลทสุพรรณบุรี ที่หลังการปลูกเชื้อ 1 ,3 และ 5 วัน

A : การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีทำแผลและวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

B : การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีไม่ทำแผลและวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

C : การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีทำแผลและพ่น spore suspension เชื้อราสาเหตุโรค

D : การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีไม่ทำแผลและพ่น spore suspension เชื้อราสาเหตุโรค

ภาพที่ 8 การทดสอบวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ไอโซเลทสระแก้ว ที่หลังการปลูกเชื้อ 1 ,3 และ 5 วัน

A : การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีทำแผลและวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

B : การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีไม่ทำแผลและวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

C : การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีทำแผลและพ่น spore suspension เชื้อราสาเหตุโรค

D : การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีไม่ทำแผลและพ่น spore suspension เชื้อราสาเหตุโรค

ภาพที่ 9 การทดสอบวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ไอโซเลทพะเยา ที่หลังการปลูกเชื้อ 1 ,3 และ 5 วัน

A : การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีทำแผลและวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

B : การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีไม่ทำแผลและวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

C : การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีทำแผลและพ่น spore suspension เชื้อราสาเหตุโรค

D : การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีไม่ทำแผลและพ่น spore suspension เชื้อราสาเหตุโรค

7. การศึกษาพืชอาศัยและการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราสาเหตุ *D. bryoniae* ในสภาพโรงเรือนทดลอง

จากการศึกษาวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคยางไหลบนต้นพืชแล้วพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคนี้สามารถเข้าทำลายพืชได้โดยวิธีเข้าทางช่องเปิดธรรมชาติ และวิธี artificial inoculation และเพื่อให้การทดลองมีความสม่ำเสมอในการเกิดโรค จึงได้ นำวิธีการปลูกเชื้อ โดยวิธี toothpick's technique มาทดสอบในพืชตระกูลแตงชุดที่ 1ที่เตรียมไว้ 5 ชนิด ได้แก่ แตงร้าน แตงกวา แตงโม แตงไทย และแฟง ทำการวัดขนาดแผลประเมินลักษณะอาการโรค และความรุนแรงของโรคที่เกิดในพืชแต่ละชนิด ที่ 1, 3, และ 5 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ ผลการทดลองในชุดพืชทดสอบที่ 1 พบว่า หลังการปลูกเชื้อสาเหตุ 1 วันพบว่าเชื้อสาเหตุโรคทุกไอโซเลท สามารถเข้าทำลายพืชทดสอบและทำให้เกิดอาการแผลฉ่ำน้ำได้ในทุกชนิดพืช ยกเว้นในพืชแตงโม ที่ยังไม่พบพืชแสดงอาการโรค และในพืชแฟงพบว่า ในไอโซเลทสระแก้ว ไม่พบพืชแสดงอาการโรค (ตารางที่ 7)

ที่ 3 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ พบว่า เชื้อสาเหตุโรคทุกไอโซเลท สามารถเข้าทำลายและทำให้พืชทดสอบทุกชนิดแสดงอาการโรคได้ โดยเฉพาะพืชแตงร้าน พบว่า มีความอ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุโรคทุกไอโซเลท มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 90, 95 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในพืชแตงกวา พบว่า เชื้อสาเหตุทุกไอโซเลทสามารถเข้าทำลายและทำให้เกิดโรคได้ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 85, 55 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในพืชแตงโม พบว่า ไอโซเลทสุพรรณบุรี พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ในไอโซเลทพะเยา และสระแก้วพบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 75 และ 16.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในพืชแตงไทย พบว่าไอโซเลทพะเยา สามารถเข้าทำลายและทำให้เกิดโรคได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไอโซเลทสุพรรณบุรี และ สระแก้ว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 16.66 และ 29.16เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับในพืชแฟง พบว่าไอโซเลทพะเยา สามารถเข้าทำลายและทำให้เกิดโรคได้ 64.28 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไอโซเลทสุพรรณบุรี และ สระแก้ว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 35.71 และ 21.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

และที่ 5 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ พบว่า เชื้อสาเหตุโรคไอโซเลท สระแก้ว สามารถเข้าทำลายพืชแตงร้านและทำให้เกิดอาการโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไอโซเลทสุพรรณบุรี และ พะเยาพะเยา พบว่า สามารถเข้าทำลายพืช มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 90 เปอร์เซ็นต์ ในพืชแตงกวา พบว่า ไอโซเลทสุพรรณบุรี สามารถเข้าทำลายพืช มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไอโซเลท พะเยาและสระแก้ว พบพืชเกิดอาการโรค 60 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในพืชแตงโม พบว่า ไอโซเลทสุพรรณบุรีและพะเยา สามารถเข้าทำลายพืช มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไอโซเลทสระแก้ว พบพืชเกิดอาการโรค 33.33 เปอร์เซ็นต์ ในพืชแตงไทย พบว่าเชื้อสาเหตุไอโซเลท สุพรรณบุรี พะเยา สระแก้ว สามารถเข้าทำลายพืช และทำให้เกิดอาการโรค 84, 56 และ 76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในพืชแฟง พบว่าไอโซเลทพะเยา สามารถเข้าทำลายพืช และทำให้เกิดอาการโรค 57.14

เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลทสุพรรณบุรีและสระแก้ว สามารถเข้าทำลายพืช และทำให้เกิดอาการโรค 28.57 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

การทดลองในพืชตระกูลแตง ชุดที่ 2 จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ บวบหอม มะระจีน ฟักทอง บวบงู และเมล่อน ทำการวัดขนาดแผลประเมินลักษณะอาการโรค และความรุนแรงของโรคที่เกิดในพืชแต่ละชนิด ที่ 1, 3, และ 5 วัน ผลการทดลองพบว่า ที่ 1 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ เชื้อสาเหตุโรคทุกไอโซเลท สามารถเข้าทำลายพืชทดสอบ และทำให้เกิดอาการแผลฉ่ำน้ำได้ในทุกชนิดพืช ยกเว้นในพืชมะระจีน พบว่า ไอโซเลทพะเยา ไม่พบพืชแสดงอาการโรค และในพืชบวบงู พบว่า ไอโซเลทสุพรรณบุรี และ สระแก้ว ไม่พบพืชแสดงอาการโรค

และที่ 3 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ พบว่า เชื้อสาเหตุโรคทุกไอโซเลท สามารถเข้าทำลายและทำให้พืชทดสอบทุกชนิดแสดงอาการโรคได้ ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับไอโซเลทของเชื้อสาเหตุโรค ในพืชบวบหอม พบว่า ไอโซเลทพะเยาสามารถเข้าทำลายพืช และทำให้เกิดอาการโรค 60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไอโซเลทสุพรรณบุรี และสระแก้ว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 50 เปอร์เซ็นต์ ในพืชมะระจีน พบว่า ไอโซเลทพะเยา ไม่พบการเข้าทำลายและพืชแสดงอาการโรค ส่วนไอโซเลทสุพรรณบุรี และสระแก้ว มีการเข้าทำลายพืช มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 60 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในพืชฟักทอง พบว่า ไอโซเลทพะเยา และสระแก้ว มีการเข้าทำลายพืช มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไอโซเลทสุพรรณบุรี มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 50 เปอร์เซ็นต์ ในพืชบวบงู พบว่า ไอโซเลทสุพรรณบุรี และพะเยา ไม่พบการเข้าทำลายและพืชแสดงอาการโรค แต่ในไอโซเลทสระแก้ว พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับในพืชแตงเมล่อน พบว่า มีความอ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุโรคทุกไอโซเลท โดยเฉพาะไอโซเลทสุพรรณบุรีและสระแก้ว พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ และที่ 5 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ พบว่า เชื้อสาเหตุโรคทุกไอโซเลท สามารถเข้าทำลายพืชแตงเมล่อนได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในพืชบวบหอม ฟักทอง และมะระจีน พบว่า เชื้อสาเหตุโรคทุกไอโซเลท มีการเข้าทำลายพืช และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคตั้งแต่ 50-70 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในพืชบวบงู พบว่าการเกิดโรคมีเปอร์เซ็นต์ต่ำ ในทุกไอโซเลท อยู่ระหว่าง 10 - 30 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

9.สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สำรวจและเก็บตัวอย่างแตงกวา แตงร้าน แตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่แสดงอาการโรคยางไหล ที่ จ. สุพรรณบุรี แพร่ สระแก้ว และพะเยา เพื่อแยกหาเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ สามารถแยกได้เชื้อรา *D. bryoniae* จำนวน 3 ไอโซเลท และได้นำมาศึกษาการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ จำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar ซึ่งจากการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรค *D. bryoniae* ทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ดีบนสูตรอาหาร PDA PCA และ V8 agar ส่วนในอาหารสูตรอื่น ๆ สามารถเจริญได้ดีปานกลาง และได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญและการสร้าง

pycnidia ของเชื้อราสาเหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร จำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar สูตรๆละ 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส ทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน เป็นเวลา 9 วัน ผลการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเจริญได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท ในทุกสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เมื่อทำการศึกษาสูตรอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้าง pycnidia ของเชื้อราสาเหตุโรค ผลการทดลองก็พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้าง pycnidia ได้ในทุกสูตรอาหาร และเชื้อราจะสร้างเป็นจำนวนมากในสูตรอาหาร MEA และ PCA

ในการศึกษาการติดเชื้อบนเมล็ดและการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุบนเมล็ด โดยทำการศึกษาในเมล็ดแตงเมล่อน และแตงแคนตาลูปผลที่เป็นโรค แสดงอาการผลเน่า และผลที่ปกติ จากแปลงเกษตรกร เปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์การค้า ผลการทดลองพบว่า เมล็ดแตงที่เก็บมามีทั้งการปนเปื้อนและการติดเชื้อที่เมล็ดทั้งในผลที่เป็นโรคและผลปกติไม่เป็นโรค ซึ่งการปนเปื้อนที่มีการติดเชื้อบนเปลือกหุ้มเมล็ดและเมล็ดสามารถงอกและเจริญได้ปกตินั้น พบว่าหลังจากต้นอ่อนเจริญออกมาแล้วเชื้อราที่อาศัยอยู่บนผิวเปลือกมาเข้าทำลายต้นอ่อนทีหลัง ซึ่งพบลักษณะนี้ 2 - 6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการติดเชื้อบนเมล็ด มีผลทำให้เมล็ดไม่งอก และพบว่ามีเชื้อราเจริญคลุมเมล็ด จากการทดลองนี้ ในเมล็ดแตงทั้งสองชนิดที่เก็บมามีการติดเชื้อและเมล็ดไม่งอก 23 - 71 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์การค้า ที่พบเพียง 9 เปอร์เซ็นต์

ได้ทำการศึกษาวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุ *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหลบนแตงเมล่อน โดยปลูกเชื้อสาเหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท สุพรรณบุรี สระแก้ว และพะเยา ตามกรรมวิธีที่วางไว้ และประเมินการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อ 1, 3, 5 และ 7 วัน หลังการปลูกเชื้อ 1 วัน พบว่า ทุกไอโซเลท สามารถปลูกเชื้อติด และก่อให้เกิดโรคได้ คือเชื้อสาเหตุโรคสามารถทำให้ใบแตง มีลักษณะอาการ เป็นแผลช้ำ ฉ่ำน้ำ โดยวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุ วิธีทำแผลและวางชิ้นวุ้น ส่วนความรุนแรงของโรคหรือขนาดของแผลที่เกิดขึ้น ก็ขึ้นอยู่กับชนิดไอโซเลทของเชื้อราสาเหตุโรค และที่หลังการปลูกเชื้อ 3 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีในการปลูกเชื้อสาเหตุโรค สามารถทำให้ต้นพืชเกิดอาการของโรคได้ และเมื่อวัดขนาดแผลที่เกิดขึ้น พบว่า วิธีการปลูกเชื้อโดยการไม่ทำแผลและพ่นสปอร์ของเชื้อรา ทำให้เกิดโรครุนแรง ใบมีอาการไหม้ รองลงมาคือ วิธีการทำแผลและวางชิ้นวุ้น แสดงว่าเชื้อราสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายพืชได้ทั้งวิธีเข้าทางช่องเปิดธรรมชาติ และวิธี artificial inoculation ซึ่งสามารถนำวิธีการที่ได้ไปใช้ในการศึกษาต่อไป

จากการศึกษาพืชอาศัยและการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราสาเหตุโรค โดยวิธีการทำแผลและวางชิ้นวุ้น (toothpick's technique) บริเวณโคนต้น ในพืชตระกูลแตง จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ แตงร้าน แตงกวา แตงโม

แตงไทย แฟง บวบหอม มะระจีน ฟักทอง บวบงู และเมล่อน ได้ทำการประเมินการเกิดโรค ที่พบในแต่ละพืช ที่ 1, 3, และ 5 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ ผลการทดลอง พบว่า พืชแตงเมล่อน และแตงร้าน เชื้อสาเหตุโรคทุกไอโซเลทสามารถเข้าทำลายพืชได้รุนแรง และทำให้เกิดโรค 90-100 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่า พืชทั้ง 2 ชนิดนี้ มีความอ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุโรคยางไหล และเกิดโรคได้ง่าย รองลงมาคือ พืชแตงโม พบว่า ไอโซเลทสุพรรณบุรี และพะเยา สามารถเข้าทำลายพืชได้รุนแรง และทำให้เกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไอโซเลทสระแก้ว เข้าทำลายพืชได้ 33.33 เปอร์เซ็นต์

ในพืชแตงกวา แตงไทย บวบหอม มะระจีน และฟักทอง พบว่า เชื้อสาเหตุโรคทุกไอโซเลท สามารถเข้าทำลายพืชได้ และทำให้เกิดโรคได้ตั้งแต่ 50 ถึง 85 เปอร์เซ็นต์ และในพืชแตงกวา พบว่า มีไอโซเลทสระแก้วเท่านั้นที่ทำให้เกิดโรคแค่ 30 เปอร์เซ็นต์ และในพืชแฟงและบวบงู พบว่า เชื้อสาเหตุโรคทุกไอโซเลท สามารถเข้าทำลายพืชได้ แต่เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคค่อนข้างต่ำ คือ 10 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นในพืชแฟง ที่ไอโซเลทพะเยา สามารถเข้าทำลายได้ และทำให้เกิดโรค 57.14เปอร์เซ็นต์

10.การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

1.ข้อมูลทางด้านชีววิทยาเชื้อราสาเหตุโรค สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดโรคยางไหลให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

2.ข้อมูลการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคบนเมล็ด สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ในการผลิตพันธุ์เพื่อการส่งออก

3.ข้อมูลพืชอาศัยและการก่อให้เกิดโรค สามารถนำไปใช้ในปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานโรคยางไหล

11.คำขอบคุณ -

12.เอกสารอ้างอิง

ทัศนาพร ทัศคร และ พีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2552. โรคยางไหลในแคนตาลูป. จดหมายข่าวผลิใบ ปีที่ 12 ฉบับที่ 3 ประจำเดือน เมษายน 2552. หน้า 2 - 3.

พรพิมล อธิปัญญาคม และ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2552. อนุกรมวิธานราสาเหตุโรคพืช Class Ascomycetes. เอกสารวิชาการ *ใน* รายงานการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช ณ โรงแรมเมธาวลัย อ. ชะอำ จ. เพชรบุรี วันที่ 1-3 มิถุนายน 2552. หน้า 73 – 77.

Keinath, A. P.,Farnham, M. W.., and Zitter, T. A. 1995. Morphological, pathological, and genetic differentiation of *Didymella bryoniae* and *Phoma* spp. Isolated from cucurbits. Phytopathology 85: 364-369.

การตรวจสุขภาพของเมล็ดพันธุ์ (Seed Health Testing), http://coursewares.mju.ac.th:81/e-learning47/PP300/0003html/chapter014.htm เข้าถึงข้อมูลเมื่อวันที่ 3 กุมภาพันธ์ 2557

ตารางที่ 1 การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล จำนวน 3 ไอโซเลท ที่อุณหภูมิห้อง หลังการทดลอง 9 วัน

สูตรอาหาร	ไอโซเลท		
	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี
PDA	6.75	6.65	8.52
V8	6.06	5.90	6.72
MEA	5.74	5.90	5.74
OMA	5.15	5.65	5.78
PCA	6.11	6.15	6.78
CMA	5.10	5.50	6.59
PSA	5.90	4.95	6.64

<u>หมายเหตุ</u> : ค่าเฉลี่ยที่ได้จากอาหารแต่ละสูตรๆละ 10 ซ้ำ

ตารางที่ 2 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล จำนวน 3 ไอโซเลท หลังการทดลอง 9 วัน

สูตรอาหาร	10 °C			20 °C			25 °C		
	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี
PDA	1.64	4.34	1.83	9.00	8.93	9.00	6.08	5.76	8.20
V8	1.85	2.30	2.08	8.28	8.60	9.00	5.41	6.66	6.38
MEA	2.71	1.89	1.04	7.73	8.10	8.28	6.16	6.19	7.01
OMA	2.11	2.30	2.30	8.27	8.07	8.83	7.70	6.95	7.85
PCA	1.64	1.60	0.98	8.48	6.36	8.75	5.73	6.04	7.02
CMA	1.85	1.57	1.14	6.35	7.45	8.92	4.42	3.59	5.71
PSA	1.59	1.41	0.96	9.00	9.00	8.73	6.65	6.70	7.86

<u>หมายเหตุ</u> : ค่าเฉลี่ยที่ได้จากอาหารแต่ละสูตรๆละ 10 ซ้ำ

ตารางที่ 3 การศึกษาสูตรอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญต่อการสร้าง pycnidia ของเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล จำนวน 3 ไอโซเลท

สูตรอาหาร	10 °C			20 °C			25 °C		
	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี
PDA	-	-	-	+	+	+	+	+	++
V8	-	-	-	++	+	-	+	+	+
MEA	+	+	-	-	-	+	+++	+	+++
OMA	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PCA	-	-	-	+++	-	++	+++	++	+++
CMA	-	-	-	-	-	+	++	+	+
PSA	-	-	-	+	-	-	+	+	+

<u>หมายเหตุ</u> : +++ เชื้อรามีการสร้าง pycnidia จำนวนมาก

++ เชื้อรามีการสร้าง pycnidia ปานกลาง

+ เชื้อรามีการสร้าง pycnidia เล็กน้อย

- เชื้อราไม่มีการสร้าง pycnidia

ตารางที่ 4 ศึกษาการติดเชื้อราสาเหตุโรคที่เมล็ดแตงเมล่อน แคนตาลูป และเมล็ดพันธุ์การค้าโดยวิธีเพาะเมล็ดพันธุ์บนอาหารวุ้น (Agar-Plate method) ครั้งที่ 1

เมล็ดพันธุ์	**เมล็ดงอก(%)**	**เมล็ดงอกและมีเชื้อราติดที่เมล็ด (%)**	**เมล็ดไม่งอกและมีเชื้อราติดที่เมล็ด (%)**	**เมล็ดไม่งอกและเชื้อแบคทีเรียติดที่เมล็ด (%)**
เมล็ดพันธุ์การค้า	85	6	9	0
เมล็ดเมล่อนผลปกติ	34	2	64	0
เมล็ดเมล่อนผลเป็นโรค	23	6	71	0
เมล็ดแคนตาลูปผลปกติ	30	2	55	13
เมล็ดแคนตาลูปผลเป็นโรค	75	2	23	0

<u>หมายเหตุ</u> : คิดค่าเปอร์เซ็นต์จากการตรวจนับเมล็ด จำนวน 300 เมล็ด /ชุดเมล็ดทดสอบ

ตารางที่ 5 การทดสอบการติดเชื้อราสาเหตุโรคที่เมล็ดแตงเมล่อนและเมล็ดพันธุ์การค้า 7 พันธุ์ๆละ 100 เมล็ด โดยวิธีเพาะเมล็ดพันธุ์บนอาหารวุ้น (Agar-Plate method) ครั้งที่ 2

เมล็ดพันธุ์	**จำนวนเมล็ดที่งอก**	**จำนวนเมล็ดไม่งอก/เชื้อราติดที่เมล็ด**	**จำนวนเมล็ดไม่งอก/เชื้อแบคทีเรียติดที่เมล็ด**
เมล็ดเมล่อนผลปกติ	19	79	2
เมล็ดเมล่อนผลเป็นโรค	1	99	46
พันธุ์ 328 น	53	1	46
พันธุ์ 329 น	68	2	30
พันธุ์ 330 น	64	2	34
พันธุ์ 331 น	75	14	11
พันธุ์ 332 น	71	0	29
พันธุ์ 333 น	72	21	7
พันธุ์ 523 บ	42	18	40

หมายเหตุ : ทำการตรวจนับเมล็ด จำนวน 100 เมล็ด /พันธุ์

ตารางที่ 6 ศึกษาการปลูกเชื้อสาเหตุโรค *D. bryoniae* จำนวน 3 ไอโซเลท โดยวิธีการต่างๆ ในสภาพโรงเรือนทดลอง

วิธีการปลูกเชื้อ	ค่าเฉลี่ยขนาดของแผลที่เกิดขึ้น (ซ.ม.) หลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน			ค่าเฉลี่ยขนาดของแผลที่เกิดขึ้น (ซ.ม.) หลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 3 วัน			ค่าเฉลี่ยขนาดของแผลที่เกิดขึ้น (ซ.ม.) หลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 5 วัน		
	สุพรรณบุรี	พะเยา	สุพรรณบุรี	สุพรรณบุรี	พะเยา	สระแก้ว	สุพรรณบุรี	พะเยา	สระแก้ว
Control (ทำแผล)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control (ไม่ทำแผล)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีทำแผลและวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค	1.08	1.17	0.81	1.28	1.81	0.94	2.55	2.30	1.55
การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีไม่ทำแผลและวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค	0.20	0.52	0.27	0.22	1.46	0.32	0.03	1.47	0.60
การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีทำแผลและพ่น spore suspension เชื้อราสาเหตุโรค	0.13	0.06	0.62	1.26	0.49	1.36	0.76	0.80	2.61
การปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธีไม่ทำแผลและพ่น spore suspension เชื้อราสาเหตุโรค	0.77	0.16	0.36	1.25	0.52	1.66	2.62	2.34	2.05

ตารางที่ 7 การศึกษาการก่อให้เกิดโรคในพืชอาศัยอาศัยของเชื้อราสาเหตุ *D. bryoniae* ในสภาพโรงเรือนทดลอง

พืชทดสอบ	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค หลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน			เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค หลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 3 วัน			เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค หลังการปลูกเชื้อสาเหตุ โรค 5 วัน		
	สุพรรณบุรี	พะเยา	สระแก้ว	สุพรรณบุรี	พะเยา	สระแก้ว	สุพรรณบุรี	พะเยา	สระแก้ว
แตงร้าน	65.00	60.00	45.00	90.00	95.00	100.00	90.00	90.00	100.00
แตงกวา	5.00	5.00	40.00	85.00	55.00	25.00	85.00	60.00	30.00
แตงโม	0.00	0.00	0.00	100.00	75.00	16.66	100.00	100.00	33.33
แตงไทย	79.16	66.66	59.37	16.66	50.00	29.16	84.00	56.00	76.00
แฟง	6.25	12.50	0.00	35.71	64.28	21.42	28.57	57.14	28.57
บวบหอม	10.00	20.00	40.00	50.00	60.00	50.00	70.00	70.00	70.00
มะระจีน	10.00	0.00	10.00	60.00	0.00	20.00	60.00	50.00	70.00
ฟักทอง	30.00	20.00	20.00	50.00	60.00	60.00	70.00	70.00	60.00
บวบงู	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	10.00	10.00	20.00	30.00
เมล่อน	70.00	40.00	70.00	100.00	50.00	100.00	100.00	100.00	100.00