

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย : วิจัยมาตรการสุขอนามัยพืช
2. โครงการวิจัย : การศึกษาสถานภาพศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย
กิจกรรมที่ 1 : การศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : ศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *Neoscytalidium dimidiatum*
Crous & Slippers and Gruyter
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Study on biology and ecology of *Neoscytalidium dimidiatum*
Crous & Slippers and Gruyter
4. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง : นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้ร่วมงาน : นางสาวชนินทร ดวงสอด สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
นางสาวมะโนรัตน์ สุตสงวน สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. บทคัดย่อ

โรคที่สำคัญของแก้วมังกรคือโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลหรือโรคแคงเคอร์ (Brown spot or stem canker) สาเหตุเกิดจากรา *Neoscytalidium dimidiatum* ราเข้าทำลายทั้งที่ดอก ลำต้นและผล ทำให้เกิดความเสียหายกับเกษตรกรเป็นจำนวนมาก สำหรับประเทศไทยนั้นยังมีข้อมูลยังไม่มีการศึกษารายละเอียดของชีววิทยาและนิเวศของรา *N. dimidiatum* เพราะฉะนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาลักษณะทางชีววิทยา นิเวศวิทยาของราชนิดนี้เพื่อเป็นข้อมูลของเชื้อเพื่อในการศึกษาหาวิธีการป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสม ผลการศึกษาโดยเก็บตัวอย่างอาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จำนวน 32 ตัวอย่าง จากจันทบุรี เชียงราย เชียงใหม่ นครปฐม นครราชสีมา ปทุมธานี ระยอง ราชบุรี สกลนคร สมุทรปราการ สมุทรสาคร และอุทัยธานี พบอาการโรค 2 ชนิด คือโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลเกิดร่วมกับโรคแอนแทรคโนสที่ลำต้น แยกเชื้อสาเหตุได้ราทั้งหมดจำนวน 44 ไอโซเลต จำแนกชนิดได้รา 2 ชนิด คือ *Neoscytalidium dimidiatum* จำนวน 32 ไอโซเลต ซึ่งแยกได้จากอาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และ *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 12 ไอโซเลต แยกได้จากอาการโรคแอนแทรคโนส และศึกษาวงจรชีวิตของรา *N. dimidiatum* ที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยเก็บกิ่งของแก้วมังกรปกติมาทำการแยกเชื้อ ไม่พบรา *N. dimidiatum* และเก็บส่วนที่เป็นโรครมา 6 ระยะ **ระยะที่ 1** ลักษณะอาการระยะเริ่มแรกแสดงอาการจุดเล็กๆ สีขาว มักจะพบแผลสะเก็ดสีแดงตรงกลางจุดแผล **ระยะที่ 2** ลักษณะจุดกลางแผลเปลี่ยนเป็นสีแดงหรือสีเทา จากการตรวจเชื้อระยะที่ 1 และ 2 ไม่พบเชื้อสาเหตุ **ระยะที่ 3** แผลขยายใหญ่ขึ้นตรงกลางเป็นสะเก็ดสีน้ำตาล แข็ง ตรงกลางแผลเชื้อสร้างส่วนขยายพันธุ์เรียกว่า pycnidia ฝังอยู่ภายในแผล **ระยะที่ 4** แผลสีเหลืองเป็นวงเกิดล้อมรอบจุดแผลสะเก็ดสีน้ำตาลหรือเกิดแผลด้านข้างด้านใดด้านหนึ่งของกิ่ง **ระยะที่ 5** แผลขยายตัวใหญ่ขึ้น มีลักษณะ

คล้ายสเก็ด สีเทา เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน **ระยะที่ 6** เมื่ออาการรุนแรงแผลหลุดออกกลายเป็นรูขนาดใหญ่บนกิ่ง พบเชื้อรา *N. dimidiatum* สร้างสปอร์แบบ pycnidiospore ในส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า pycnidia ในระยะที่ 3-6 และยังพบเชื้อสาเหตุสร้างสปอร์ที่เรียกว่า arthroconidia ในส่วนของเนื้อเยื่อที่ตายระยะที่ 6 เมื่อทำการแยกเชื้อสาเหตุบนอาหารสังเคราะห์ PDA ในระยะที่ 3-6 พบรา *N. dimidiatum* สร้างสปอร์ที่เรียกว่า arthroconidia เช่นกัน และไม่พบสปอร์แบบ pycnidiospore บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

การศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* จำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ M 0328 (จากจังหวัดสกลนคร) M 0331 (จากจังหวัดอุทัยธานี) M 0354 (จากจังหวัดจันทบุรี) และ M 0355 (จากจังหวัดนครราชสีมา) พบว่า ราทั้ง 4 ไอโซเลตนี้เจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 9 เซ็นติเมตร นาน 3 วัน การศึกษาชนิดของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* จำนวน 4 ไอโซเลตพบว่าเชื้อรา *N. dimidiatum* ทุกไอโซเลตเจริญได้ดีที่ อุณหภูมิ 25 30 35 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ และเจริญได้น้อยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

Abstract

Brown spot or stem canker is an important disease of dragon fruit. The causal fungus infected caused by mold. *Neoscytalidium dimidiatum*, the causal agent of the disease could infect flowers, stems and fruits, which causing the great damage to the production of dragon fruit. In Thailand, the informative data of brown spot disease was not available. This study was conducted to determine the biology and ecology of *N. dimidiatum*, which could apply for further study on the brown spot disease management. The dragon fruit plantation located in Chanthaburi, Chiang Rai, Chiang Mai, Nakhon Pathom, Nakhon Ratchasima, Pathum Thani, Rayong, Ratchaburi, Sakon Nakhon, Samut Prakan, Samut Sakhon and Uthai Thani province had been observed and 32 of brown spot disease samples were collected from these planting areas. The disease samples could be divided into 2 groups based on the presented symptoms. The first group showed brown spot symptom on stems, whereas the second group showed the brown spot symptom together with the anthracnose on stems. The total number of 44 isolates could be obtained from collected samples. The 32 out of 44 isolates, which obtained from the brown spot symptoms on stems, could be identified as *Neoscytalidium dimidiatum*. The 12 fungal isolates obtained from the anthracnose symptoms could be identified as *Colletotrichum gloeosporioides*. Based on the specimens collected from this study, the brown spot symptoms comprised of six stages. The first stage of brown spot symptom presented the white spot with the red minute dot in the middle. The second stage, the color spot symptom turned to red or grey color. It is most likely rare to isolate the fungal from the disease tissue of these both stages. The third stage, the spot extended and later turned into raised brown scabs

with pycnidia inside. The fourth stage, the yellow halo around the scab lesions on stems. The fifth stage, the lesions enlarged and formed a grey stacked circle. The final stage, presented the severe symptoms. The lesions came off then become the large hole on stems. The pycnidiospores of *Neoscytalidium dimidiatum* embedded in pycnidia and could be found in disease stage 3-6. The arthroconidia could be found only on the dead tissue in the last stage. The growth study on various media found that arthroconidia of *N. dimidiatum* could form on PDA, but pycnidiospores could found on any isolates on various media.

The growth rate of *N. dimidiatum* on various media had been evaluated based on four isolates namely, M0328 (collected from Sakon Nakhon province), M0331 (collected from Uthai Thani province), M0354 (collected from Chanthaburi province) and M0355 (collected from Nakhon Ratchasima province). It was found that the growth of all isolates presented the best results on PDA. The growth rate of *N. dimidiatum* was at three centimeter per day. The optimum temperature for all isolates in term of growing were 25, 30, 35 degrees Celsius and room temperature. In contrast with the growth of *N. dimidiatum* at 40 degrees Celsius, which presented the less growth.

6. คำนำ

แก้วมังกรเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมสูง เพราะมีสมญานามว่าเป็น ‘ผลไม้สุขภาพ’ ของผู้สูงอายุ ผู้ป่วยโรคเบาหวาน คนอ้วนที่ต้องการลดน้ำหนัก และสามารถป้องกันโรคมะเร็งได้ ออเนื่องจากในเมล็ดมีสารแอนติออกซิเดนต์สูง ดังนั้นผู้บริโภคจึงนิยมบริโภคแก้วมังกรกันมากขึ้นและยังเป็นที่นิยมของผู้บริโภคในต่างประเทศด้วย จึงมีการขยายไปสู่ตลาดต่างประเทศ และในปัจจุบันแก้วมังกรยังเป็นพืชที่นิยมปลูกเป็นการค้าในอีกหลายประเทศ ได้แก่ ประเทศออสเตรเลีย บราซิล เม็กซิโก คอสตาริกา อียิปต์ อิสราเอล ญี่ปุ่น มัลดีเวส เม็กซิโก นิการากัว ไต้หวัน อเมริกา และเวียดนาม อย่างไรก็ตามการส่งออกแก้วมังกรยังจำกัดอยู่กับเฉพาะบางประเทศเท่านั้น ในปี 2562 มีปริมาณการส่งออกแก้วมังกร จำนวน 580,731 กิโลกรัม มีมูลค่าเท่ากับ 55,018,068 บาท และในปี 2563 มีปริมาณการส่งออกแก้วมังกร จำนวน 771,658 กิโลกรัม มีมูลค่าเท่ากับ 38,487,113 บาท มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นแต่มูลค่าการส่งออกลดลง อย่างไรก็ตามประเทศไทยก็มีความพยายามต้องการขยายตลาดไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งจะทำให้การผลิตแก้วมังกรมีความสำคัญมากขึ้น ถ้าเกษตรกรสามารถผลิตแก้วมังกรที่มีคุณภาพดีก็สามารถเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร แต่ในปัจจุบันปัญหาที่สำคัญต่อการผลิตแก้วมังกรที่สำคัญอย่างหนึ่งคือปัญหาด้านศัตรูพืช โดยเฉพาะปัญหาโรคพืชเป็นปัญหาที่สำคัญมาก มีผลทำให้เกษตรกรเลิกปลูกกันมาก เช่นพื้นที่ปลูกในจังหวัดจันทบุรี พื้นที่ปลูกแก้วมังกรในจังหวัดจันทบุรีและสมุทรสาครลดลง ซึ่งแต่เดิมเมื่อเริ่มปลูกแก้วมังกรในปี 2540 เกษตรกรได้รับผลผลิตมากมาย ไม่พบปัญหาการระบาดของศัตรูพืช เนื่องจากเป็นพืชใหม่ การสะสมของศัตรูพืชยังไม่มาก แต่ในปัจจุบันนี้พบการระบาดของโรคมก เกษตรกรไม่สามารถควบคุมและป้องกันกำจัดโรคได้ โรคระบาดทั้งที่ลำต้นและผล ทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก มีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชกัน

มาก และใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชไม่ถูกต้อง ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง บางสวนต้องรื้อแปลงปลูกทิ้งเลย การป้องกันกำจัดโรคของแก้วมังกรที่สำคัญที่เกษตรกรจะต้องปฏิบัติคือการกำจัดส่วนที่เป็นโรคทิ้ง แต่เกษตรกรไม่สามารถปฏิบัติได้ ส่วนใหญ่จะทิ้งเศษซากส่วนที่เป็นโรคไว้ในแปลง จึงมีการสะสมของเชื้อโรคมก เมื่อมีการปลูกในฤดูต่อไปก็จะเกิดการระบาดของโรคง่ายและรวดเร็ว และประเทศไทยอยู่ในประเทศเขตร้อน การปลูกแก้วมังกรซึ่งเป็นพืชวงศ์กระบองเพชรนั้น ถ้าปลูกในพื้นที่ๆ มีอากาศร้อนและมีฝนตก ทำให้เชื้อสามารถแพร่กระจายและระบาดได้อย่างรวดเร็ว

สำหรับในประเทศไทยนั้นพบโรคระบาดเข้าทำลายทั้งที่ดอก ลำต้น และผล พรพิมล และคณะ (2550) รายงานการสำรวจโรคแก้วมังกรจากแหล่งปลูกแก้วมังกรในจังหวัด เชียงราย พะเยา ระยอง ราชบุรี และสมุทรสาคร พบโรคของแก้วมังกร 5 ชนิด ได้แก่ โรคเน่าเปื่อยที่ดอก เกิดจากเชื้อรา *Choanephora* โรคผลเน่าเกิดจากเชื้อรา *Drechslera cactivora* โรคแอนแทรคโนสที่ผล เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum* sp. โรค stem canker เกิดจากเชื้อรา *Dothiorella* sp. และโรคแอนแทรคโนสบนลำต้น เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum gloeosporioides* โดยโรคแก้วมังกรส่วนใหญ่พบในแหล่งปลูกแก้วมังกรในภาคกลางและภาคตะวันออก โรคที่สำคัญคือโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลหรือโรคแคงเคอร์ (Brown spot or stem cancer) สาเหตุเกิดจากรา *Neoscytalidium dimidiatum* ราเข้าทำลายทั้งที่ดอก ลำต้นและผล (Athipunyakom *et al.*, 2015) โรคแอนแทรคโนสเข้าทำลายทั้งลำต้นและผล มีสาเหตุเกิดจากรา *Collectotrichum gloeosporioides* และ *C. truncatum* (พรพิมล และคณะ, 2550; Athipunyakom and Likhitekaraj, 2010; Athipunyakom *et al.*, 2012; Athipunyakom *et al.*, 2015) โรคผลเน่าที่เกิดจากรา *Bipolaris cactivora* (พรพิมล และคณะ, 2550; Athipunyakom *et al.*, 2015) อย่างไรก็ตามโรคที่สำคัญของแก้วมังกรและทำความเสียหายแก่เกษตรกรมากคือโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลหรือโรคแคงเคอร์ (Brown spot or stem cancer) สาเหตุเกิดจากรา *Neoscytalidium dimidiatum* ราเข้าทำลายทั้งที่ดอก ลำต้นและผล (Athipunyakom *et al.*, 2015) ซึ่งในปัจจุบันพบการระบาดของโรคนี้นี้ในหลายประเทศในเขตประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ประเทศไต้หวัน (Chuang *et al.* 2012; Lin *et al.*, 2015) จีน (Lan *et al.*, 2012; Yi *et al.*, 2013; 2015; Xu *et al.*, 2018) มาเลเซีย (Masratul *et al.*, 2013; 2015) และ เวียดนาม (Hieu *et al.*, 2015) นอกจากนั้นมีการระบาดของโรคนี้นี้ในประเทศอิสราเอล (Ezra *et al.* 2013) รัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา (Sanahuja *et al.*, 2016) ในปี 2558 องค์กรทางการเกษตรระดับนานาชาติ Food and Fertilizer Technology Center หรือ FFTC ในประเทศไต้หวัน ได้จัดการประชุมเชิงปฏิบัติการเกี่ยวกับแก้วมังกร Workshop on Improving Pitaya Production and Marketing ระหว่างวันที่ 7-9 กันยายน 2558 โดยมีนักวิชาการร่วมประชุมและเสนอผลงานจากประเทศไต้หวัน ไทย ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย เมียนมาร์ เวียดนาม อิสราเอล และ อินโดนีเซีย จากการประชุมครั้งนี้พบว่าปัญหาโรคที่สำคัญที่สุดที่ระบาดในหลายประเทศในเขตเอเชีย คือโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลหรือโรคแคงเคอร์ มีการระบาดของโรคอย่างรวดเร็ว และการป้องกันกำจัดค่อนข้างยาก ซึ่งแต่ละประเทศกำลังเร่งดำเนินงานวิจัยศึกษาอยู่ สำหรับประเทศไทยนั้นยังมีข้อมูลยังไม่มี การศึกษารายละเอียดของชีววิทยาและนิเวศของรา *N. dimidiatum* เพราะฉะนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาลักษณะทางชีววิทยา นิเวศวิทยาของราชนิดนี้เพื่อเป็นข้อมูลของเชื้อเพื่อในการศึกษาหาวิธีการป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมตลอดจนสามารถนำข้อมูลนี้ไปวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชได้

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กระจาด กุ้งพลาสติก ปากกาเคมี ดินสอ กรรไกรตัดกิ่ง และ GPS
2. อุปกรณ์จัดเก็บตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผ่นไม้อัดทับตัวอย่าง กระจาด
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ slide cover slip ปากคืบ เข็มเขี่ยปลายแหลม ตะเกียง ยาทาเล็บ
4. สารเคมีสำหรับ mount slide ได้แก่ lactophenol , lactic acid, shear's solution
5. สารเคมี ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ: สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ แอซิแลลกอฮอล์ 75%
6. อาหารวุ้นสังเคราะห์ corn meal agar (CMA), potato dextrose agar (PDA)
7. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูเรน ปีกเกอร์ เป็นต้น
8. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว เป็นต้น
9. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายรูปและ camera lucida สำหรับวาดภาพจากกล้องจุลทรรศน์

- วิธีการ

1. ศึกษาวงจรชีวิตของรา *N. dimidiatum*

1.1 เก็บตัวอย่างอาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร

ส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง เก็บตัวอย่างอาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้ว ท่อตัวอย่างพืชด้วย กระจาดหนังสือพิมพ์ ใส่ใน

ถุงพลาสติก เพื่อนำมาทำศึกษาชนิดและแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ นำตัวอย่างที่เก็บมาตรวจหาสปอร์

1.2 การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplanting นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาคัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อนำไปซบบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

1.3 การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อรารายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ

1.4 เก็บรักษาตัวอย่างแห้งโรคพืช

เก็บตัวอย่างโรคพืชและมาจัดทำตัวอย่างแห้ง โดยนำส่วนของพืชที่แสดงอาการโรค วางบน

กระดาษฟาง พร้อมแนบกระดาษบันทึกข้อมูลพืช แล้วปิดทับด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ อัดทับด้วยแผงไม้อัด ตัวอย่างโรคพืช เปลี่ยนกระดาษทุกวัน จนกระทั่งตัวอย่างพืชแห้ง แล้วนำตัวอย่างแห้งโรคพืชมาเก็บในถุงกระดาษ พร้อมลงรายละเอียดข้อมูล ได้แก่ ชื่อพืช ลักษณะอาการโรค สถานที่เก็บ ชนิดของรสชาติโรคพืช วันที่เก็บ ชื่อผู้เก็บ และชื่อผู้จัดจำแนกชนิดรา เป็นต้น แล้วส่งเก็บในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

1.5 การศึกษาวงจรชีวิตของรา *N. dimidiatum*

เก็บแก้วมังกรแสดงอาการระยะต่าง ๆ มาทำการแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ท่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก เพื่อนำมาทำศึกษาชนิดและแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ

2. ศึกษาชนิดของอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* บนอาหารสังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

นำรา *N. dimidiatum* ที่แยกได้จากโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จากศูนย์เก็บเชื้อสาเหตุโรคพืช กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ M 0328 แยกจากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดสกลนคร M 0331 แยกจากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดอุทัยธานี M 0354 แยกจากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดจันทบุรี และ M 0355 แยกจากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดนครราชสีมา โดยนำรา *N. dimidiatum* ทั้ง 4 ไอโซเลต มาศึกษาชนิดของอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมของเชื้อ

2.1 การทดสอบอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* บนอาหารสังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 ซ้ำ 6 กรรมวิธี โดยให้อาหารแต่ละชนิดเป็นกรรมวิธี

- | | |
|---------------|----------------------------|
| กรรมวิธีที่ 1 | Potato dextrose agar (PDA) |
| กรรมวิธีที่ 2 | Malt extract agar (MEA) |
| กรรมวิธีที่ 3 | Czapek's agar (CzA) |
| กรรมวิธีที่ 4 | Oat meal agar (OMA) |
| กรรมวิธีที่ 5 | V-8 juice agar (V-8 A) |
| กรรมวิธีที่ 6 | Corn meal agar (CMA) |

วิธีการทดลอง

เทอาหารแต่ละชนิดในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ทิ้งไว้ให้อาหารเย็น ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร ตัดเส้นใยของเชื้อราที่เตรียมไว้ นำมาวางบนกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารแต่ละชนิด วางทิ้งไว้ในห้องปฏิบัติการ

การบันทึกผลการทดลอง

วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเส้นใยเชื้อราบนอาหารแต่ละชนิด เมื่อเส้นใยที่เจริญบนอาหารชนิดใดชนิดหนึ่งเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำผลมาวิเคราะห์สถิติ

2.2 การทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* บนอาหาร

สังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 ซ้ำ 9 กรรมวิธี โดยให้อาหารแต่ละชนิดเป็นกรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1	อุณหภูมิ	25	องศาเซลเซียส
กรรมวิธีที่ 2	อุณหภูมิ	30	องศาเซลเซียส
กรรมวิธีที่ 3	อุณหภูมิ	35	องศาเซลเซียส
กรรมวิธีที่ 4	อุณหภูมิ	40	องศาเซลเซียส
กรรมวิธีที่ 5	อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ		

วิธีการทดลอง

เทอาหาร PDA ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ทิ้งไว้ให้อาหารเย็น ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร ตัดเส้นใยของเชื้อราที่เตรียมไว้ นำมาวางบนกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิต่าง ๆ คือ 25 30 35 40 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ

การบันทึกผลการทดลอง

วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเส้นใยเชื้อราบนอาหารแต่ละชนิด เมื่อเส้นใยที่เจริญบนอาหารชนิดใดชนิดหนึ่งเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำผลมาวิเคราะห์สถิติ

- เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2560 – กันยายน 2563

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

แปลงแก้วมังกร อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา และจังหวัดอื่นๆ

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ศึกษาวงจรชีวิตของรา *N. dimidiatum*

1.1 เก็บตัวอย่างอาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร

เก็บตัวอย่างอาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จำนวน 32 ตัวอย่าง จากจันทบุรี (10 ตัวอย่าง) เชียงราย (1 ตัวอย่าง) เชียงใหม่ (1 ตัวอย่าง) นครปฐม (3 ตัวอย่าง) นครราชสีมา (4 ตัวอย่าง) ปทุมธานี (1 ตัวอย่าง) ระยอง (1 ตัวอย่าง) ราชบุรี (2 ตัวอย่าง) สกลนคร (5 ตัวอย่าง) สมุทรปราการ (1

ตัวอย่าง) สมุทรสาคร (1 ตัวอย่าง) และอุทัยธานี (2 ตัวอย่าง) (ตารางที่ 1) พบอาการโรค 2 ชนิด คือโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล (ภาพที่ 1ก) และโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลเกิดร่วมกับโรคแอนแทรคโนสที่ลำต้น มักจะพบอาการในกิ่งเดียวกัน (ภาพที่ 1ข) จากการศึกษาครั้งนี้พบอาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลมากกว่าโรคแอนแทรคโนส โดยเฉพาะแปลงที่ไม่มี การจัดการในการเก็บส่วนที่เป็นโรคที่จะพบการระบาดของโรคนี้น่ามากและเป็นปัญหาที่สำคัญในการผลิตแก้วมังกร ซึ่งพบการระบาดของโรคนี้นี้ในหลายประเทศในเขตประเทศเอเชียนั้น ได้แก่ ประเทศไต้หวัน (Chuang *et al.* 2012; Lin *et al.*, 2015) จีน (Lan *et al.*, 2012; Yi *et al.*, 2013; 2015; Xu *et al.*, 2018) มาเลเซีย (Masratul *et al.*, 2013; 2015) และ เวียดนาม (Hieu *et al.*, 2015) Masyahit *et al.* (2009) สำหรับโรค แอนแทรคโนสสาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioides* มีรายงานครั้งแรกที่ประเทศมาเลเซีย โดย ทำการสำรวจโรคของแก้วมังกร ระหว่างเดือนธันวาคม 2550 ถึง เดือนสิงหาคม 2551 เก็บตัวอย่างส่วนที่เป็นโรค ที่ลำต้นและผลมาศึกษาสาเหตุของโรคในห้องปฏิบัติการ และพบโรคนี้นี้ระบาดรุนแรงมากที่สุดที่มะละกา ในขณะที่ พบการระบาดของโรคนี้น้อยที่สุดที่รัฐกาลันตัง

ตารางที่ 1: โรคลำต้นจุดสีน้ำตาลและโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรจากตัวอย่างโรคที่เก็บมาจากแหล่งต่างๆ

ตัวอย่างที่	อาการโรคที่พบ	แหล่งเก็บตัวอย่าง
1	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และอาการโรคแอนแทรคโนส	อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี
2	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และอาการโรคแอนแทรคโนส	อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี
3	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี
4	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี
5	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอนายายอาม จังหวัดจันทบุรี
6	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอนายายอาม จังหวัดจันทบุรี
7	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และอาการโรคแอนแทรคโนส	อำเภอนายายอาม จังหวัดจันทบุรี
8	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอนายายอาม จังหวัดจันทบุรี
9	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และอาการโรคแอนแทรคโนส	อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี
10	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และอาการโรคแอนแทรคโนส	อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี
11	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอพาน จังหวัดเชียงราย
12	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่
13	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ
14	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอลานสัก จังหวัดอุทัยธานี
15	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอลานสัก จังหวัดอุทัยธานี
16	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอแก่ง จังหวัดระยอง
17	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และอาการโรคแอนแทรคโนส	อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม
18	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และอาการโรคแอนแทรคโนส	อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม
19	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม
20	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และอาการโรคแอนแทรคโนส	อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี
21	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอโพหัก จังหวัดราชบุรี
22	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และอาการโรคแอนแทรคโนส	อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร

23	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และอาการโรคแอนแทรคโนส	อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
24	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และอาการโรคแอนแทรคโนส	อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
25	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
26	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
27	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอัญบุรี จังหวัดปทุมธานี
28	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร
29	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และอาการโรคแอนแทรคโนส	อำเภอสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร
30	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร
31	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร
32	อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล	อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร

กรมวิชาการเกษตร

1.2 การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากเก็บตัวอย่างอาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จำนวน 32 ตัวอย่าง พบอาการโรค 2 ชนิด คือโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลเกิดร่วมกับโรคแอนแทรคโนสที่ลำต้น เมื่อทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ราทั้งหมดจำนวน 44 ไอโซเลต เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 และ -20 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษารายละเอียดของเชื้อเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อ

1.3 การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการแยกเชื้อสาเหตุได้ทั้งหมด 44 ไอโซเลต ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อจำแนกได้รา 2 ชนิด คือ *Neoscytalidium dimidiatum* จำนวน 32 ไอโซเลต (ภาพที่ 2 ก และตารางที่ 2) แยกได้จากอาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล และ *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 12 ไอโซเลต (ภาพที่ 2 ข และตารางที่ 2) แยกได้จากอาการโรคแอนแทรคโนส จากนั้นแยกเชื้อบริสุทธิ์เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 และ -20 องศาเซลเซียส และนำรา *N. dimidiatum* จำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ M 0328 M 0331 M 0354 และ M 0355 ศึกษาชนิดของอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมของเชื้อ ที่เลือก 4 ไอโซเลตนี้มาทำการศึกษาเพราะว่าทำให้เกิดโรครุนแรงในพื้นที่ปลูกแก้วมังกรที่เก็บตัวอย่างมา



ภาพที่ 1: อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลและอาการโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกรที่อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี

ก) อาการโรคลำต้นจุดแก้วมังกร

ข) โรคลำต้นจุดสีน้ำตาลเกิดร่วมกับโรคแอนแทรคโนสที่ลำต้น



ภาพที่ 2: เชื้อราที่แยกได้จากโรคของแก้วมังกร ที่เก็บจากแปลงแก้วมังกร อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

- ก) อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล ข) อาการโรคแอนแทรคโนส
 ค) รา *Neocystodinium dimidiatum* แยกจากอาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาล
 ง) รา *Colletotrichum gloeosporioides* แยกจากอาการโรคแอนแทรคโนส

ตารางที่ 2: ชนิดของราสาเหตุโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลและโรคแอนแทรคโนสของแก้วมังกร ไอโซเลตต่างๆที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ

ชนิดของรา	ไอโซเลต	เลขที่ตัวอย่าง	สถานที่
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0340	1	อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M 0200	1	อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0354	2	อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M 0201	2	อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0341	3	อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0342	4	อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0343	5	อำเภอนายายอาม จังหวัดจันทบุรี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0344	6	อำเภอนายายอาม จังหวัดจันทบุรี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0345	7	อำเภอนายายอาม จังหวัดจันทบุรี
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M 0202	7	อำเภอนายายอาม จังหวัดจันทบุรี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0346	8	อำเภอนายายอาม จังหวัดจันทบุรี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0347	9	อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M 0203	9	อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0348	10	อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M 0204	10	อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0349	11	อำเภอพาน จังหวัดเชียงราย
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0350	12	อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0351	13	อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0331	14	อำเภอลานสัก จังหวัดอุทัยธานี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0352	15	อำเภอลานสัก จังหวัดอุทัยธานี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0353	16	อำเภอแก่ง จังหวัดระยอง
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0356	17	อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M 0205	17	อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0357	18	อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M 0206	18	อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0358	19	อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0359	20	อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M 0207	20	อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0360	21	อำเภอโพหัก จังหวัดราชบุรี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0361	22	อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M 0208	22	อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0362	23	อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M 0209	23	อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0363	24	อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M 0210	24	อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0355	25	อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0364	26	อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0365	27	อำเภอัญบุรี จังหวัดปทุมธานี
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0366	28	อำเภอสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0367	29	อำเภอสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M 0211	29	อำเภอสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร

<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0368	30	อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0369	31	อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร
<i>Neocystaldium dimidiatum</i>	M 0328	32	อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร

หมายเหตุ: รา *Neocystaldium dimidiatum* จำนวน 4 ไอโซเลต ที่แสดงตัวหนา หมายถึงไอโซเลตที่นำมาศึกษาชนิดของอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมของเชื้อ

กรมวิชาการเกษตร

Neoscytalidium dimidiatum Crous & Slippers and Gruyter

ลักษณะอาการของเชื้อ

ลักษณะอาการระยะเริ่มแรกแสดงอาการจุดเล็กๆ สีขาว มักจะพบแผลสเก็ดสีแดงตรงกลางจุดแผล (ภาพที่ 3) ต่อมาลักษณะแผลจากจุดขาวเปลี่ยนเป็นแดงหรือน้ำตาลและต่อมาเปลี่ยนเป็นสเก็ดสีน้ำตาลนูนขึ้น (ภาพที่ 4) ถ้าอาการรุนแรงแผล ขยายใหญ่ขึ้น มีส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราสีดำอยู่ตรงกลาง (ภาพที่ 5ก-5ง) พบเชื้อรา *N. dimidiatum* สร้างสปอร์แบบ pycnidiospore ซึ่งจะพบสปอร์ชนิดนี้บนพืชที่แสดงอาการของโรคเท่านั้น ไม่พบบนอาหารสังเคราะห์ (ภาพที่ 5ฉ) อยู่ในส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา เรียกว่า pycnidia (ภาพที่ 5จ) และเก็บส่วนของดอกมาศึกษาเชื้อสาเหตุ จากการตรวจแยกเชื้อบนอาหาร PDA ไม่พบเชื้อสาเหตุ



ภาพที่ 3: อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร แสดงอาการจุดขาว



ภาพที่ 4: ลักษณะแผลจากจุดขาวเปลี่ยนเป็นแดงหรือน้ำตาลและต่อมาเปลี่ยนเป็นสะเก็ดสีน้ำตาลนูนขึ้น



ภาพที่ 5: อาการโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร เป็นผลจากระยะที่ 2 ขยายใหญ่ขึ้น
 มีส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราสีดำอยู่ตรงกลางพบเชื้อรา *Neoscytalidium dimidiatum*
 สร้างสปอร์แบบ pycnidiospore อยู่ในส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา เรียกว่า pycnidia
 ก-ง) ระยะที่ 3 ผลจากระยะที่ 2 ขยายใหญ่ขึ้น มีส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราสีดำ
 อยู่ตรงกลาง
 จ) ส่วนขยายพันธุ์ของรา เรียกว่า pycnidia
 ฉ) สร้างสปอร์ เรียกว่า pycnidiospore

1.4 เก็บรักษาตัวอย่างแห้งโรคพืช

เก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชจำนวน 32 ตัวอย่าง ในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และราจำนวน 44 ไอโซเลต ในกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

1.5 การศึกษาวงจรชีวิตของรา *N. dimidiatum*

ศึกษาวงจรชีวิตของรา *N. dimidiatum* ที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยเก็บกิ่งของแก้วมังกรปกติมาทำการแยกเชื้อ ไม่พบรา *N. dimidiatum* และเก็บส่วนที่เป็นโรคมมา 6 ระยะ **ระยะที่ 1** ลักษณะอาการระยะเริ่มแรกแสดงอาการจุดเล็กๆ สีขาว มักจะพบแผลสเก็ดสีแดงตรงกลางจุดแผล จากการตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในห้องปฏิบัติการไม่พบราสาเหตุโรคพืชบนลำต้นแก้วมังกรที่แสดงอาการจุดเล็กๆ สีขาว และเมื่อนำมาแยกเชื้อโดยวิธี tissue transplanting บนอาหารสังเคราะห์ PDA ก็ไม่พบเชื้อเช่นเดียวกัน (ภาพที่ 6 ก) **ระยะที่ 2** ลักษณะจุดกลางแผลเปลี่ยนเป็นสีแดงหรือสีเทา (ภาพที่ 6 ข) จากการตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในห้องปฏิบัติการไม่พบราสาเหตุโรคพืชบนลำต้นแก้วมังกรที่แสดงอาการในระยะที่ 2 และเมื่อนำมาแยกเชื้อโดยวิธี tissue transplanting บนอาหารสังเคราะห์ PDA ก็ไม่พบเชื้อเช่นเดียวกัน **ระยะที่ 3** แผลขยายใหญ่ขึ้นตรงกลางเป็นสเก็ดสีน้ำตาล แข็ง ตรงกลางแผลเชื้อสร้างส่วนขยายพันธุ์เรียกว่า pycnidia ฝังอยู่ภายในแผล (ภาพที่ 6 ค) จากการตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในห้องปฏิบัติการพบเชื้อรา *N. dimidiatum* สร้างสปอร์แบบ pycnidiospore ในส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า pycnidia ซึ่งจะพบสปอร์ชนิดนี้บนพืชที่แสดงอาการของโรคเท่านั้น ไม่พบบนอาหารสังเคราะห์ PDA **ระยะที่ 4** ต่อมาแผลสีเหลืองเป็นวงเกิดล้อมรอบจุดแผลสเก็ดสีน้ำตาลหรือเกิดแผลด้านข้างด้านใดด้านหนึ่งของกิ่ง (ภาพที่ 6 ง) **ระยะที่ 5** แผลขยายตัวใหญ่ขึ้น มีลักษณะคล้ายสเก็ดสีเทา เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน (ภาพที่ 6 จ) **ระยะที่ 6** เมื่ออาการรุนแรงแผลหลุดออกกลายเป็นรูขนาดใหญ่บนกิ่ง (ภาพที่ 6 ฉ) **ระยะที่ 4 - ระยะที่ 6** พบเชื้อรา *N. dimidiatum* สร้างสปอร์แบบ pycnidiospore ในส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า pycnidia เช่นกัน จากการศึกษาครั้งนี้ลักษณะอาการระยะที่ 1 มีลักษณะอาการจุดขาว มีจุดแดงตรงกลาง และในระยะที่ 6 ในส่วนของเนื้อเยื่อที่ตายแล้วอาจพบรา *N. dimidiatum* สร้างสปอร์ที่เรียกว่า arthroconidia (ภาพที่ 7 ค และ 7 ง)

จากการศึกษาในอาการระยะที่ 1 แสดงอาการจุดเล็กๆ สีขาว มักจะพบแผลสเก็ดสีแดงตรงกลางจุดแผล ไม่พบเชื้อสาเหตุบนลำต้น แต่ พรพิมลและคณะ (2563) ศึกษาพัฒนาวิธีการตรวจสอบรา *N. dimidiatum* โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเพื่อการวินิจฉัยโรคที่รวดเร็ว แม่นยำ พบว่าเมื่อนำเนื้อเยื่อลักษณะอาการระยะที่ 1 และ 2 มาศึกษาเทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อรา *N. dimidiatum* จำนวน 2 คู่ ได้แก่ NdDOA-8F/NdDOA-6R และ NdDOA-7F/ITS4 ผลการศึกษาพบรา *N. dimidiatum* ในเนื้อเยื่อพืชในขณะที่ไม่พบเชื้อสาเหตุจากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อบนชิ้นเนื้อเยื่อพืชและบนอาหารสังเคราะห์ การศึกษาพัฒนาวิธีการตรวจสอบรา *N. dimidiatum* โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล สามารถยืนยันได้ว่า รา *N. dimidiatum* เข้าทำลายพืชตั้งแต่ระยะที่ 1 เชื้อเจริญเข้าไปในลำต้นแล้ว เพราะฉะนั้นถ้าเกษตรกรพบอาการลักษณะในระยะ

ที่ 1 เกษตรกรจะต้องพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชทันทีเพื่อที่จะยับยั้งไม่ให้อาการเจริญไปถึงระยะที่ 2 ซึ่งระยะ 2 เป็นแผลจากจุดขาวเปลี่ยนเป็นแดงหรือน้ำตาลและต่อมาเปลี่ยนเป็นสะเก็ดสีน้ำตาลนูนขึ้น แต่ก็ยังไม่พบเชื้อสาเหตุ แต่ถ้าทิ้งไว้จนถึงระยะที่ 3 - ระยะที่ 6 นั้นราสร้างส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราสีดออยู่ตรงกลางและสร้างสปอร์แบบ pycnidiospore เชื้อจะแพร่กระจายอย่างรวดเร็วและการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราจะไม่สามารถกำจัดโรคได้ การศึกษาวงจรชีวิตของเชื้อนี้จะมีประโยชน์ในการป้องกันกำจัดโรคให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

กรมวิชาการเกษตร

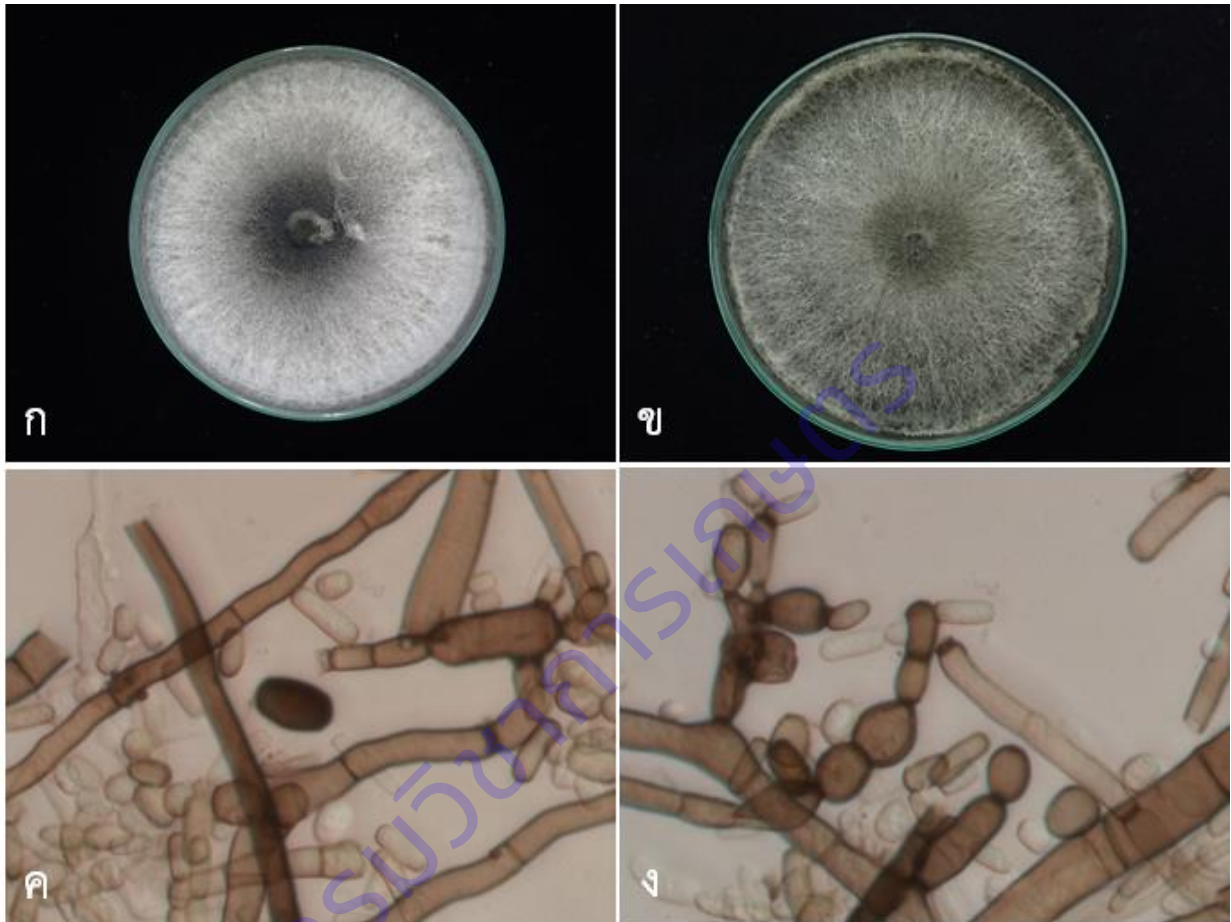
เมื่อทำการแยกเชื้อสาเหตุจากอาการระยะที่ 3 - ระยะที่ 6 บนอาหารสังเคราะห์ PDA พบรา *N. dimidiatum* สร้างโคโลนีบนอาหาร PDA เจริญเต็มอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 3 วัน โคโลนีเจริญเติบโตเร็ว เส้นใยฟูเจริญบนอาหาร โคโลนีสีเขียวมะกอกจนถึงสีเทาดำ สร้าง pigment สีเทาดำบนอาหารสังเคราะห์ PDA (ภาพที่ 7ก) ในขณะที่โคโลนีมีสีขาวจนถึงสีเขียวมะกอกบนอาหารสังเคราะห์ MEA (ภาพที่ 7ข) เส้นใยรวมกันเป็นก้อน เส้นใยเริ่มแรกมีสีอ่อนและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำและเปลี่ยนเป็นสีดำเมื่ออายุมากขึ้น ราสร้างสปอร์เรียกว่า arthroconidia บนอาหารสังเคราะห์ PDA สีน้ำตาลดำ ปลายตัด ผันงหนา ขนาด 9.1×5.5 ไมครอน เส้นใยสีน้ำตาลแตกกิ่ง (ภาพที่ 7ค และ 7ง) หรือสร้าง arthroconidia บนผลเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว มีลักษณะคล้ายสเก็ด สีเทา เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน (ภาพที่ 6จ) หรือพบบนผลหลุดออกกลายเป็นรูขนาดใหญ่บนกิ่ง (ภาพที่ 6ฉ)

การจำแนกชนิดราสาเหตุสอดคล้องกับ Chuang *et al.* (2012) และ Lin *et al.* (2015) ที่ศึกษารานี้ที่ศึกษารานี้ในประเทศไต้หวัน Lan *et al.* (2012) Yi *et al.* (2013; 2015) Xu *et al.* (2018) ที่ศึกษารานี้ในประเทศจีน Masratul *et al.* (2013; 2015) ที่ศึกษารานี้ในประเทศมาเลเซีย และ Hieu *et al.* (2015) ที่ศึกษารานี้ในประเทศเวียดนาม รวมทั้ง Ezra *et al.* (2013) ที่ศึกษารานี้ในประเทศอิสราเอล (Ezra *et al.* 2013) และ Sanahuja *et al.* (2016) ที่ศึกษารานี้ที่รัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา



ภาพที่ 6: ลักษณะอาการโรคจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร เกิดจากรา *Neoscytalidium dimidiatum*

- ก) ระยะที่ 1 อาการเริ่มแรก จุดเล็กๆ สีขาว
- ข) ระยะที่ 2 จุดกลางแผลเปลี่ยนเป็นสีแดงหรือสีเทา
- ค) ระยะที่ 3 แผลสเกิดสีน้ำตาล แข็ง เชื้อสร้างส่วนขยายพันธุ์เรียกว่า pycnidia ฝังอยู่ภายในแผล
- ง) ระยะที่ 4 แผลสีเหลืองเป็นวงเกิดล้อมรอบจุดแผลสเกิดสีน้ำตาล
- จ) ระยะที่ 5 แผลคล้ายสเก็ด สีเทา เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน
- ฉ) ระยะที่ 6 แผลหลุดออกกลายเป็นรูขนาดใหญ่บนกิ่ง



ภาพที่ 7: รา *Neoscytalidium dimidiatum* บนอาหารสังเคราะห์อายุ 3 วัน

ก) โคลนีนบนอาหาร PDA ข) โคลนีนบนอาหาร MEA

ค-ง) ราสร้างสปอร์เรียกว่า arthroconidia บนอาหารสังเคราะห์ PDA

2. ศึกษาชนิดของอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* บนอาหารสังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

นำรา *N. dimidiatum* ที่แยกได้จากโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ M 0328 แยกจากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดสกลนคร M 0331 แยกจากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดอุทัยธานี M 0354 แยกจากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดจันทบุรี และ M 0355 แยกจากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดนครราชสีมา โดยนำรา *N. dimidiatum* ทั้ง 4 ไอโซเลต มาศึกษาชนิดของอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมของเชื้อ

2.1 การทดสอบอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* บนอาหาร

สังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ผลการศึกษานิตของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* ไอโซเลต M 0328 (จากจังหวัดสกลนคร) ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ราไอโซเลตนี้เจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA โดยเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซ็นติเมตร นาน 3 วัน รองลงมาได้แก่อาหาร CZA และ V-8 A โคโลนีของเชื้อมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 8.93 และ 8.92 เซ็นติเมตร ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 8)

ผลการศึกษานิตของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* ไอโซเลต M 0331 (จากจังหวัดอุทัยธานี) ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ราไอโซเลตนี้เจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA MEA OMA และ CZA โดยเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 9 เซ็นติเมตร นาน 3 วัน รองลงมาได้แก่อาหาร V-8 A โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 8.97 ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 9)

ผลการศึกษานิตของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* ไอโซเลต M 0354 (จากจังหวัดจันทบุรี) ในห้องปฏิบัติการ พบว่าราไอโซเลตนี้เจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA OMA V-8 A และ CZA โดยเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 9 เซ็นติเมตร นาน 3 วัน (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 10)

ผลการศึกษานิตของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* ไอโซเลต M 0355 (จากจังหวัดนครราชสีมา) ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ราไอโซเลตนี้เจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA โดยเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซ็นติเมตร นาน 3 วัน รองลงมาได้แก่อาหาร V-8 A OMA และ CZA โคโลนีของเชื้อมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 8.97 8.85 และ 8.80 เซ็นติเมตร ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 11)

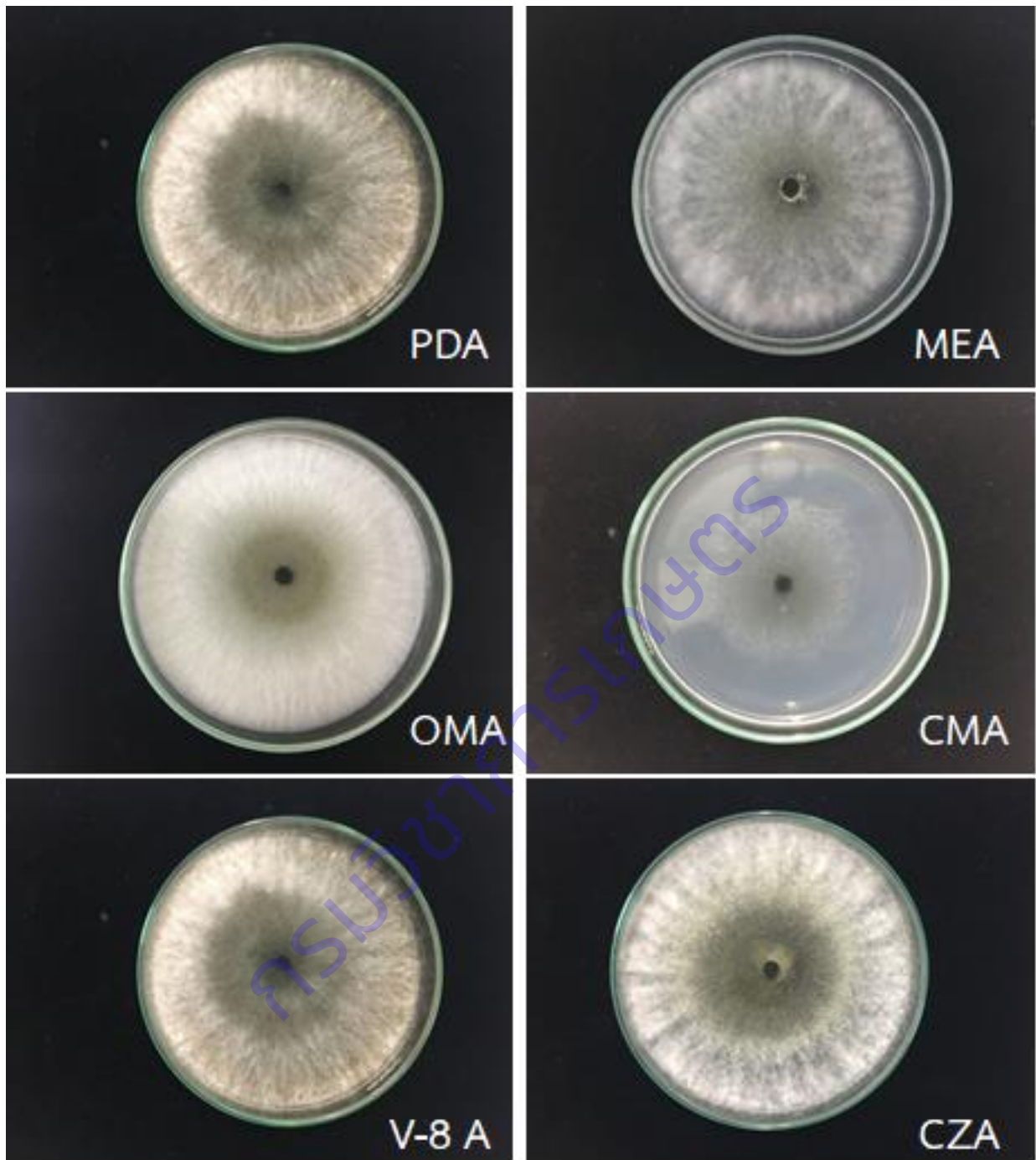
ตารางที่ 3: การเจริญเติบโตของโคโลนีของรา *Neoscytalidium dimidiatum* จำนวน 4 ไอโซเลต บนอาหาร 6 ชนิด นาน 3 วัน

อาหารเลี้ยงเชื้อรา	การเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อรา <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> บนอาหาร 6 ชนิด (เซ็นติเมตร)			
	M0328	M0331	M0354	M 0355
PDA	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
MEA	7.38 b	9.00 a	6.91 b	6.10 b
OMA	7.64 b	9.00 a	9.00 a	8.85 a
CMA	5.26 c	4.23 b	3.57 c	4.20 c
V-8 A	8.92 a	8.97 a	9.00 a	8.97 a
CZA	8.93 a	9.00 a	9.00 a	8.80 a
CV	17.99	21.88	26.49	25.24

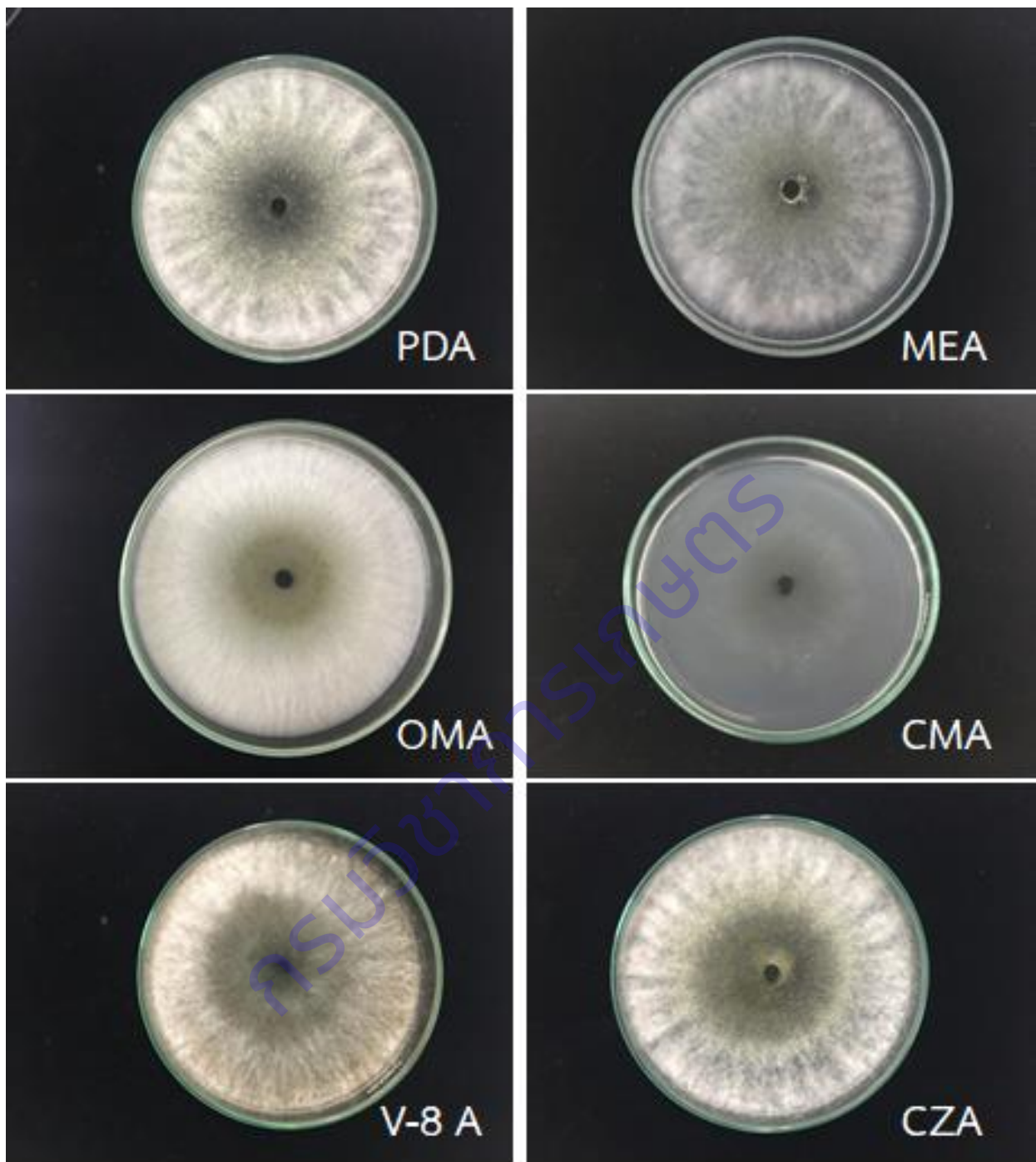
หมายเหตุ M 0328 แยกเชื้อรา *N. dimidiatum* จากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดสกลนคร

- M 0331 แยกเชื้อรา *N. dimidiatum* จากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดอุทัยธานี
- M 0354 แยกเชื้อรา *N. dimidiatum* จากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดจันทบุรี
- M 0355 แยกเชื้อรา *N. dimidiatum* จากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดนครราชสีมา

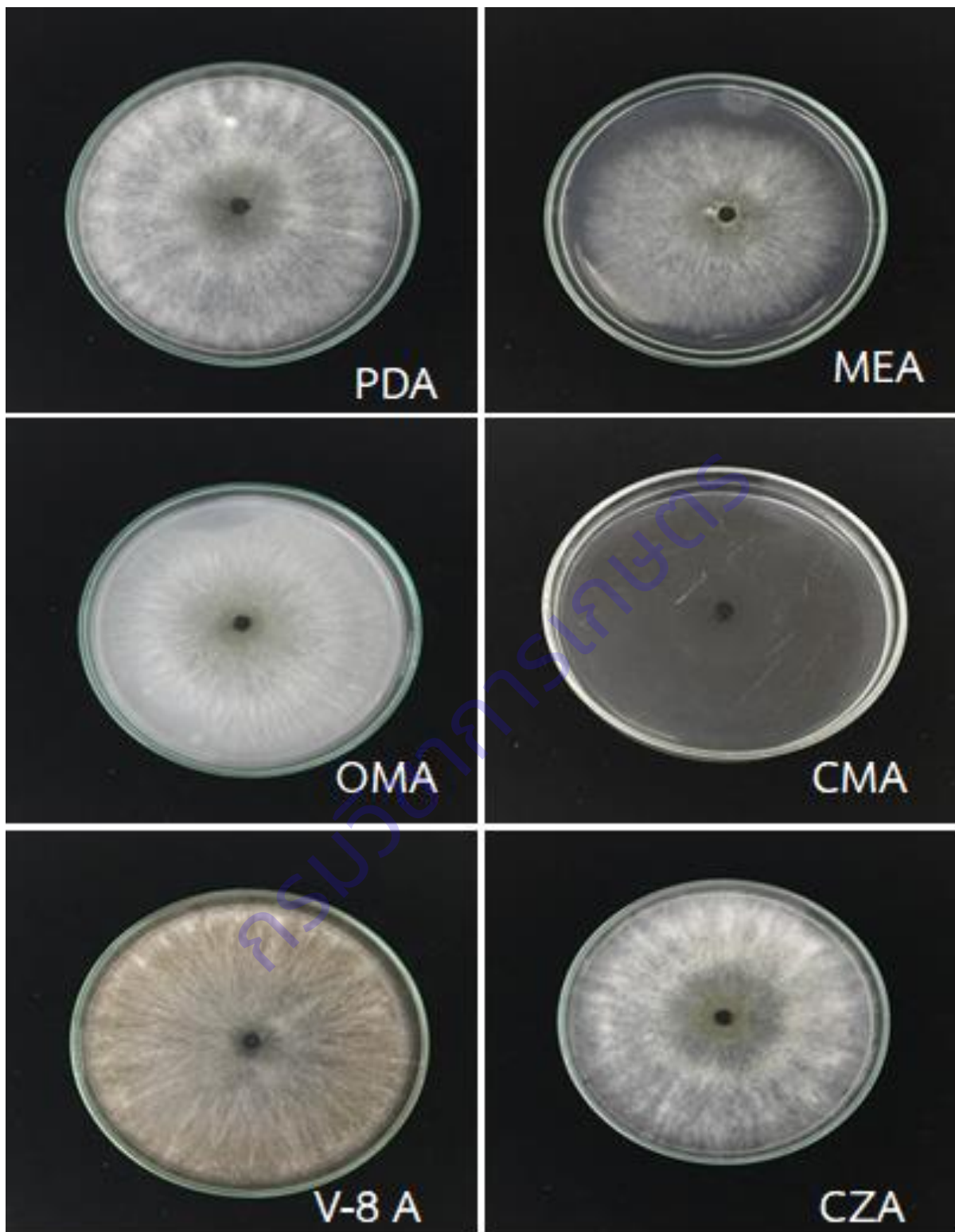
กรมวิชาการเกษตร



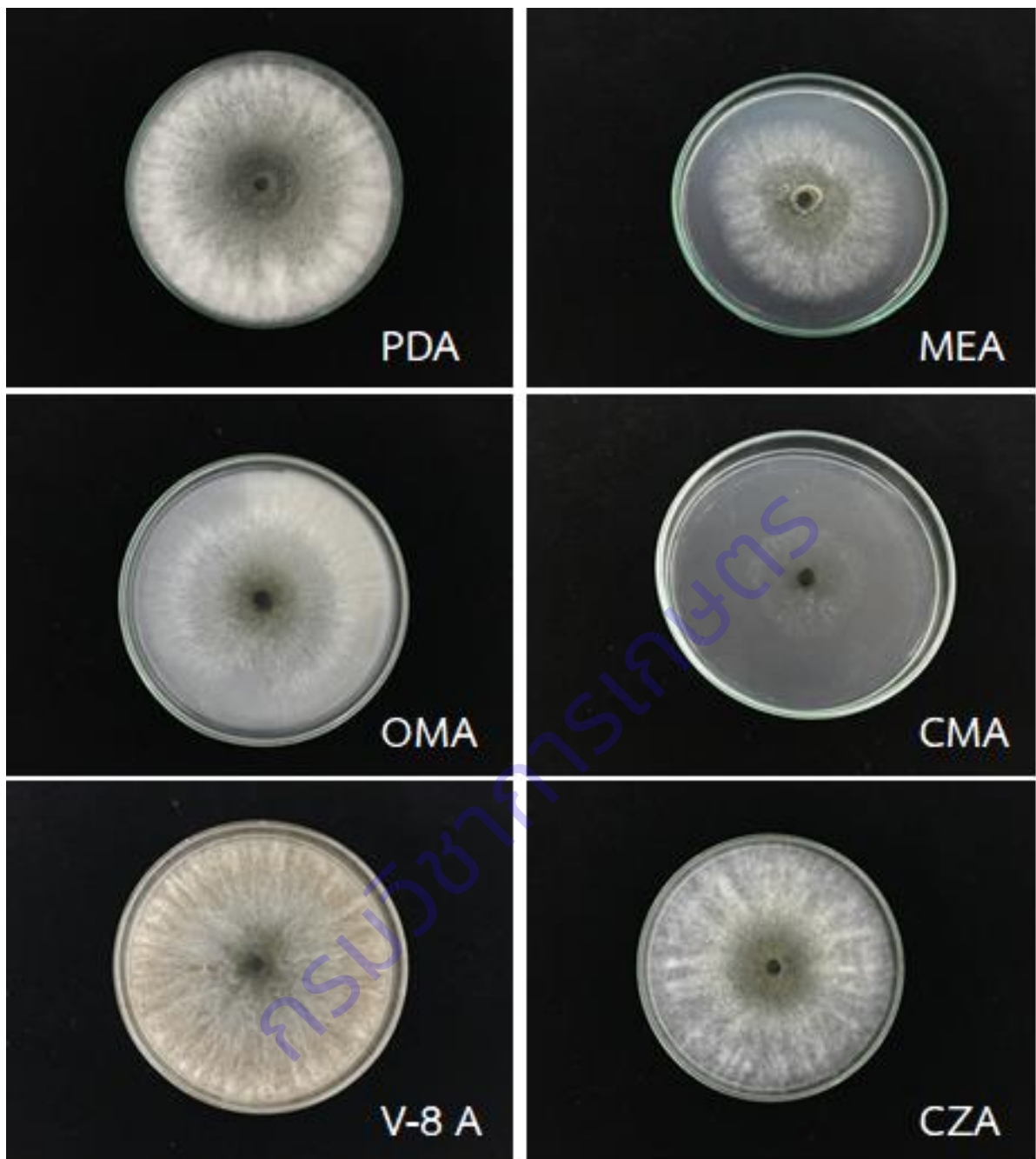
ภาพที่ 8: การเจริญของโคโลนีของรา *Neoscytalidium dimidiatum* ไอโซเลต M 0328 แยกจากโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จังหวัดสกลนคร บนอาหารชนิดต่างๆ นาน 3 วัน



ภาพที่ 9: การเจริญของโคโลนีของรา *Neoscytalidium dimidiatum* ไอโซเลต M 0331 แยกจาก โรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จากจังหวัดอุทัยธานี บนอาหารชนิดต่างๆ นาน 3 วัน



ภาพที่ 10: การเจริญของโคโลนีของรา *Neoscytalidium dimidiatum* ไอโซเลต M 0354 แยกจากโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จากจังหวัดจันทบุรี บนอาหารชนิดต่างๆ นาน 3 วัน



ภาพที่ 11: การเจริญของโคโลนีของรา *Neoscytalidium dimidiatum* ไอโซเลต M 0355 แยกจากโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จากจังหวัดจันทบุรี บนอาหารชนิดต่างๆ นาน 3 วัน

2.2 การทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* บนอาหาร

สังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ศึกษาชนิดอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* จำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ M 0328 (จังหวัดสกลนคร) M 0331 (จังหวัดอุทัยธานี) M0354 (จังหวัดจันทบุรี) และ M 0355 (จังหวัดนครราชสีมา) บนอาหารสังเคราะห์ พบว่าเชื้อรา *N. dimidiatum* ไอโซเลต M 0328 เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25 30 35 องศาเซลเซียส เมื่ออายุ 5 วัน โคโลนีบนอาหารสังเคราะห์ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.00 เซนติเมตร ทั้ง 3 อุณหภูมิ การเจริญของเชื้อราชนิดนี้เจริญในอุณหภูมิลงมาได้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ โคโลนีบนอาหารสังเคราะห์ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.26 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการเจริญของเชื้อรา *N. dimidiatum* อุณหภูมิ 25 30 35 องศาเซลเซียส และเชื้อราเจริญได้น้อยที่สุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โคโลนีบนอาหารสังเคราะห์ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.08 เซนติเมตร และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกอุณหภูมิที่ทำการทดลอง (ตารางที่ 4 และภาพที่ 12)

รา *N. dimidiatum* ไอโซเลต M 0331 เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส โคโลนีบนอาหารสังเคราะห์ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.00 เซนติเมตร ทั้ง 4 อุณหภูมิ เมื่ออายุ 3 วัน และเชื้อราเจริญได้น้อยที่สุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โคโลนีบนอาหารสังเคราะห์ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.03 เซนติเมตร และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกอุณหภูมิที่ทำการทดลอง (ตารางที่ 4 และภาพที่ 13)

รา *N. dimidiatum* ไอโซเลต M 0354 เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส โคโลนีบนอาหารสังเคราะห์ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.00 เซนติเมตร ทั้ง 4 อุณหภูมิ เมื่ออายุ 3 วัน และเชื้อราเจริญได้น้อยที่สุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โคโลนีบนอาหารสังเคราะห์ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.03 เซนติเมตร และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกอุณหภูมิที่ทำการทดลอง (ตารางที่ 4 และภาพที่ 14)

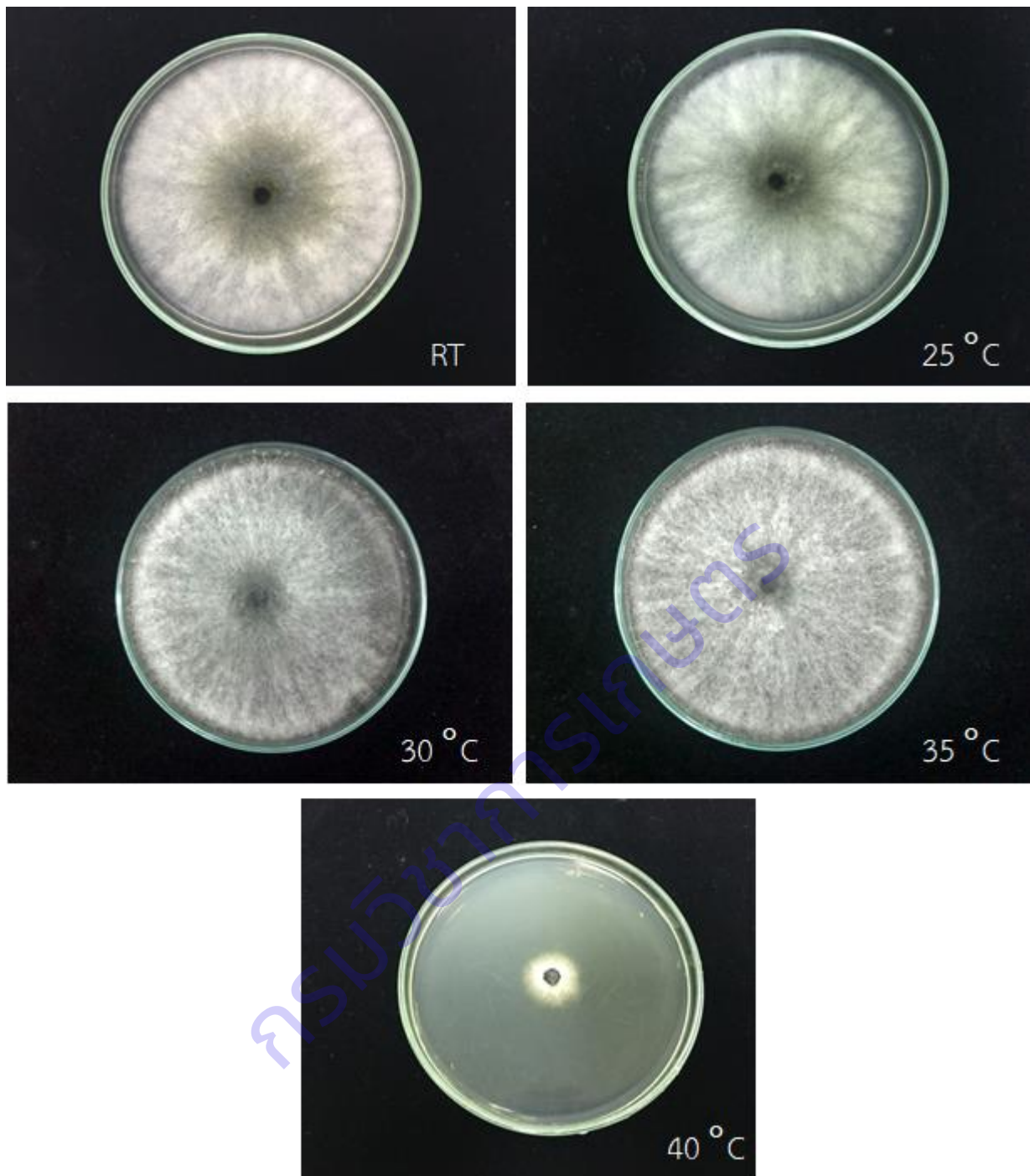
รา *N. dimidiatum* ไอโซเลต M 0355 เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส โคโลนีบนอาหารสังเคราะห์ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.00 เซนติเมตร ทั้ง 4 อุณหภูมิ เมื่ออายุ 3 วัน และเชื้อราเจริญได้น้อยที่สุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โคโลนีบนอาหารสังเคราะห์ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.22 เซนติเมตร และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกอุณหภูมิที่ทำการทดลอง (ตารางที่ 4 และภาพที่ 15)

จากการทดลองครั้งนี้สรุปว่ารา *N. dimidiatum* ทุกไอโซเลตเจริญได้ดีที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส และเจริญได้น้อยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

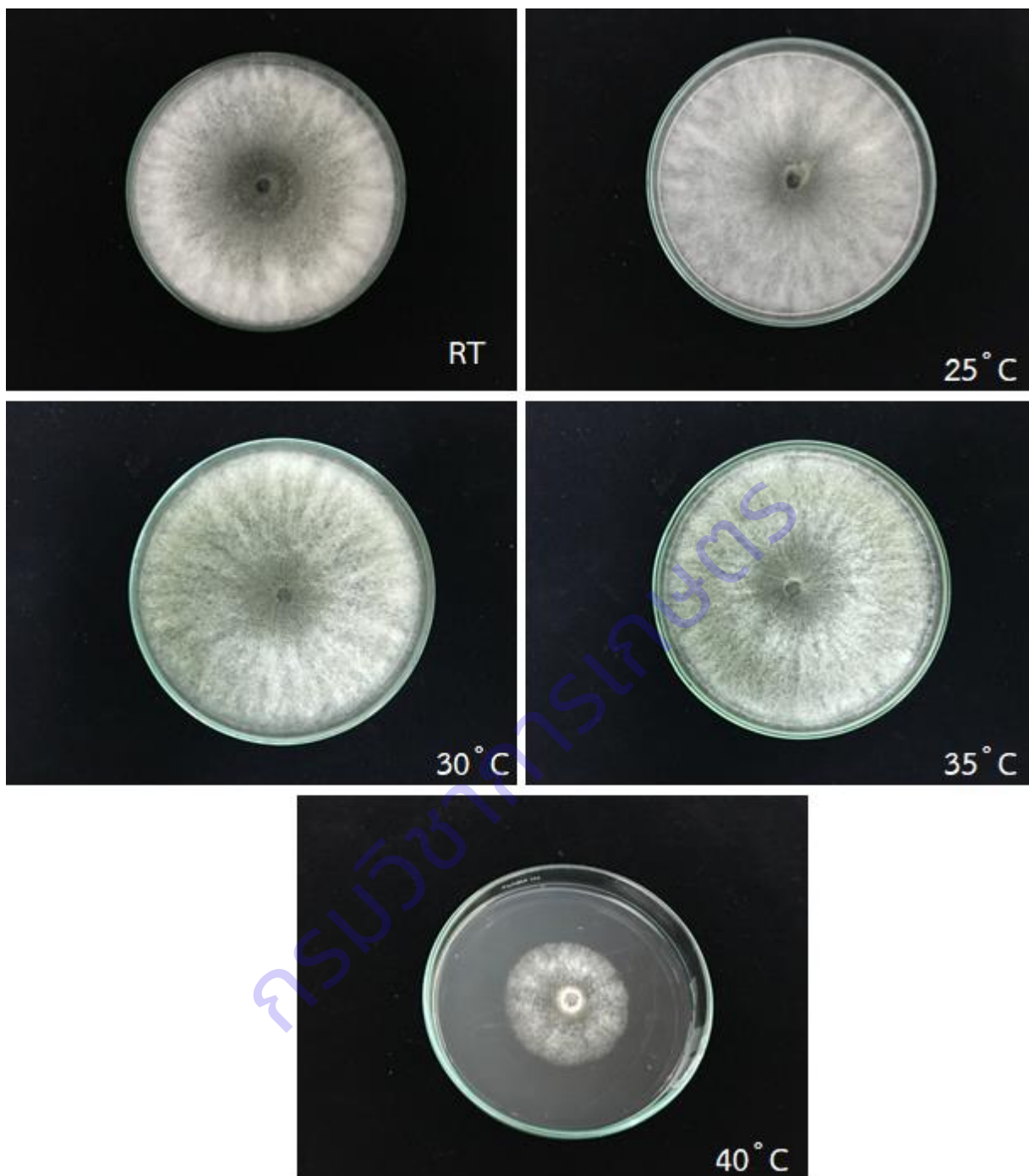
ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อรา *Neoscytalidium dimidiatum*. จำนวน 4 ไอโซเลต
ที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 3 วัน

อุณหภูมิ องศาเซลเซียส	การเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อรา <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> บนอาหาร PDA (เซ็นติเมตร)			
	M0328	M0331	M0354	M 0355
ห้องปฏิบัติการ	7.26 b	9.00 a	9.00 a	9.00 a
25	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
30	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
35	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
40	3.08 c	6.03 b	3.03 b	5.22 b
CV	32.85	14.60	30.84	19.58

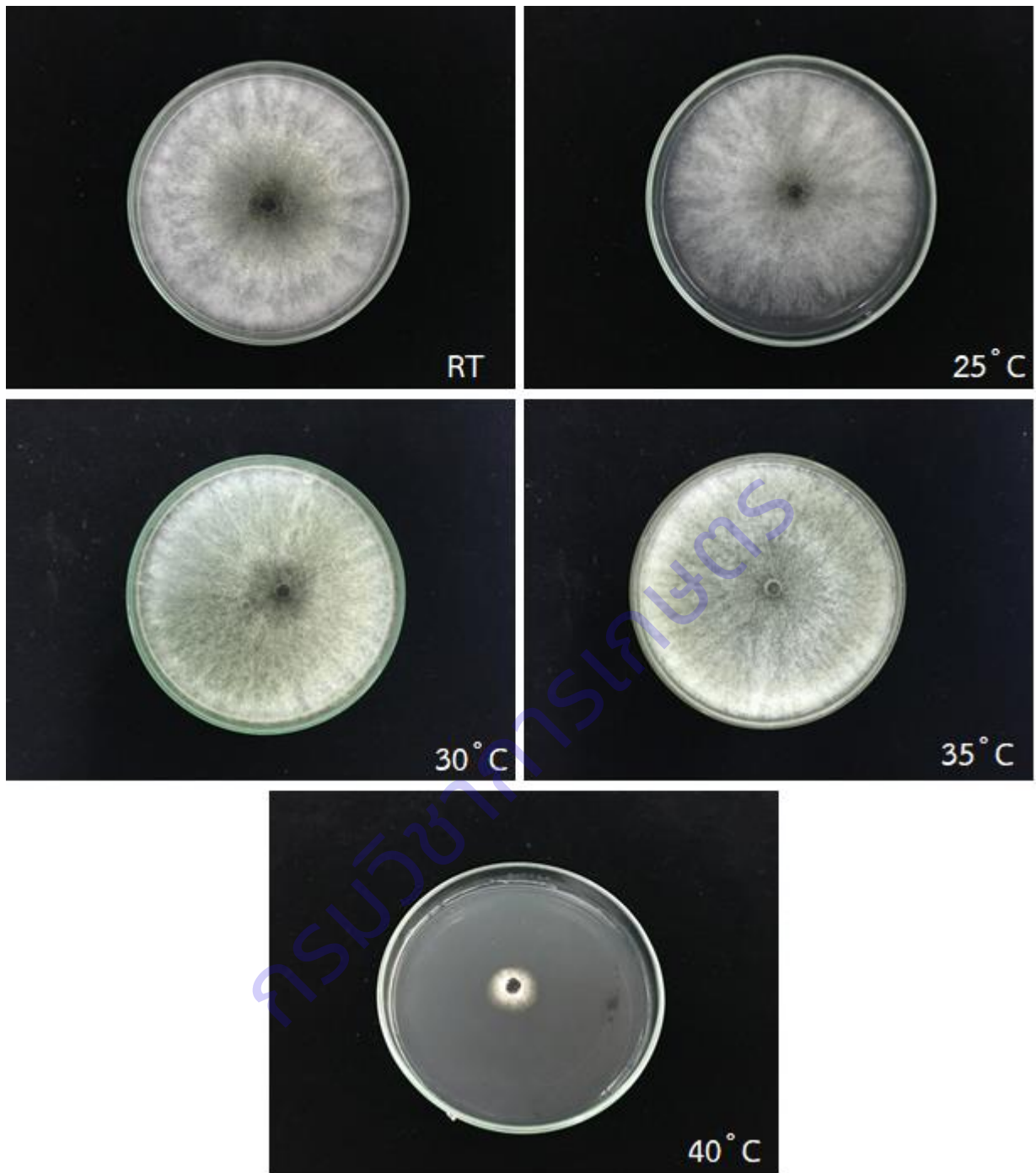
หมายเหตุ M 0328 แยกเชื้อรา *N. dimidiatum* จากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดสกลนคร
M 0331 แยกเชื้อรา *N. dimidiatum* จากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดอุทัยธานี
M 0354 แยกเชื้อรา *N. dimidiatum* จากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดจันทบุรี
M 0355 แยกเชื้อรา *N. dimidiatum* จากโรคลำต้นเน่าสีน้ำตาล จังหวัดนครราชสีมา



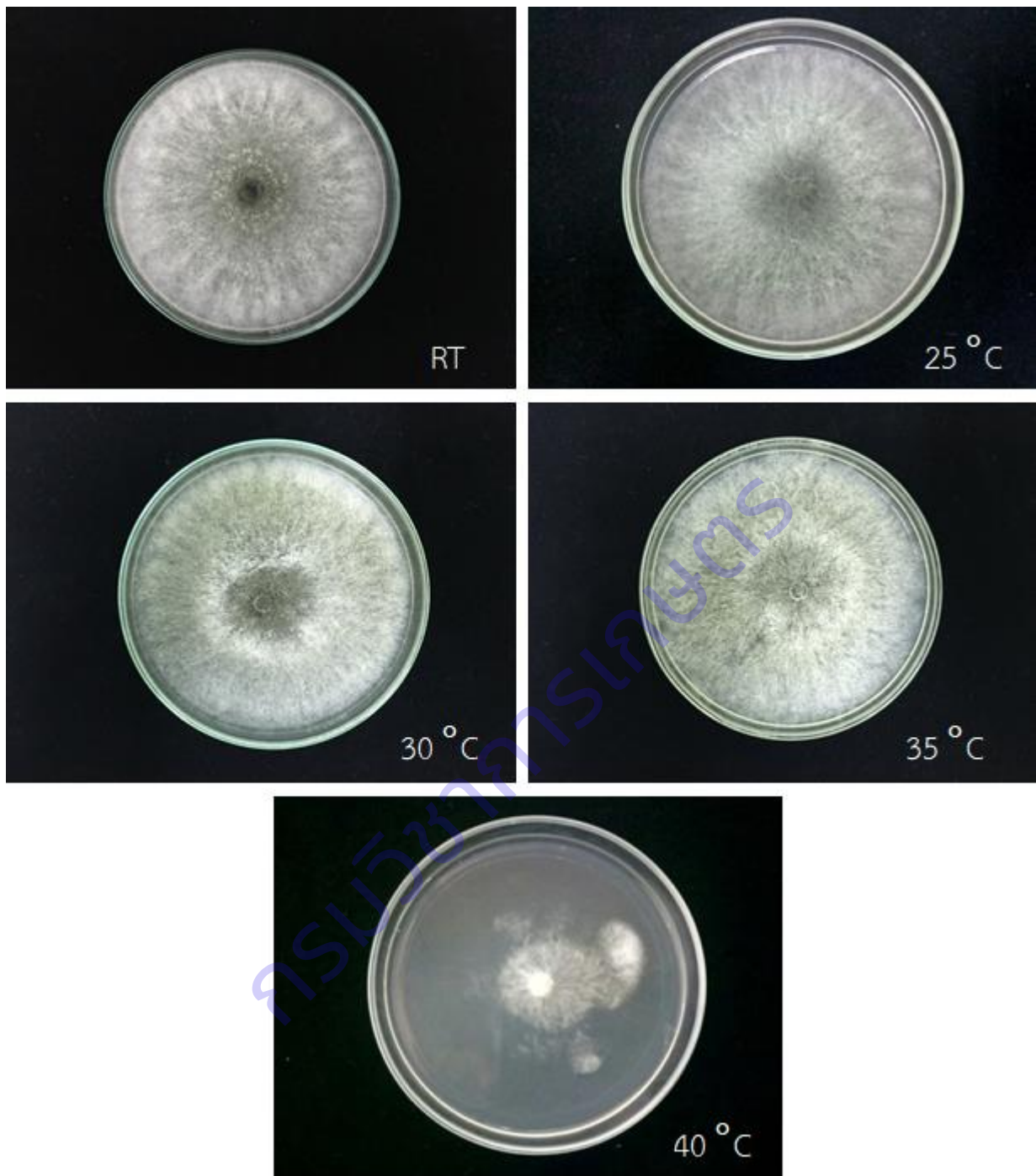
ภาพที่ 12: การเจริญของโคโลนีของรา *Neoscytalidium dimidiatum* ไอโซเลต M 0328 แยกจากโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จังหวัดสกลนคร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 3 วัน



ภาพที่ 13: การเจริญของโคโลนีของเชื้อรา *Neoscytalidium dimidiatum* ไอโซเลต M0331
แยกจากโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จังหวัดอุทัยธานี บ่มเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ
นาน 3 วัน



ภาพที่ 14: การเจริญของโคโลนีของเชื้อรา *Neoscytalidium dimidiatum* ไอโซเลต M0354 แยกจากโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จังหวัดจันทบุรี บ่มเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 3 วัน



ภาพที่ 15: การเจริญของโคโลนีของเชื้อรา *Neoscytalidium dimidiatum* ไอโซเลต M0355 แยกจากโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกร จังหวัดนครราชสีมา บ่มเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 3 วัน

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาชีวและนิเวศวิทยาของรา *N. dimidiatum* ทำให้ทราบวงจรชีวิตของรา *N. dimidiatum* โดยเก็บลักษณะอาการของโรคมะเร็ง 6 ระยะ พบว่า **ระยะที่ 1** ลักษณะอาการระยะเริ่มแรกแสดงอาการจุดเล็กๆ สีขาว มักจะพบแผลสเก็ดสีแดงตรงกลางจุดแผล **ระยะที่ 2** ลักษณะจุดกลางแผลเปลี่ยนเป็นสีแดงหรือสีเทา จากการตรวจเชื้อระยะที่ 1 และ 2 ไม่พบเชื้อสาเหตุ **ระยะที่ 3** แผลขยายใหญ่ขึ้นตรงกลางเป็นสเก็ดสีน้ำตาล แข็ง ตรงกลางแผลเชื้อสร้างส่วนขยายพันธุ์เรียกว่า pycnidia ฝังอยู่ภายในแผล **ระยะที่ 4** แผลสีเหลืองเป็นวงเกิดล้อมรอบจุดแผลสเก็ดสีน้ำตาลหรือเกิดแผลด้านข้างด้านใดด้านหนึ่งของกิ่ง **ระยะที่ 5** แผลขยายตัวใหญ่ขึ้น มีลักษณะคล้ายสเก็ด สีเทา เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน **ระยะที่ 6** เมื่ออาการรุนแรงแผลหลุดออกกลายเป็นรูขนาดใหญ่บนกิ่ง พบเชื้อรา *N. dimidiatum* สร้างสปอร์แบบ pycnidiospore ในส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า pycnidia ในระยะที่ 3-6 และยังพบเชื้อสาเหตุสร้างสปอร์ที่เรียกว่า arthroconidia ในส่วนของเนื้อเยื่อที่ตายระยะที่ 6 เมื่อทำการแยกเชื้อสาเหตุบนอาหารสังเคราะห์ PDA ในระยะที่ 3-6 พบรา *N. dimidiatum* สร้างสปอร์ที่เรียกว่า arthroconidia เช่นกัน การศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* จำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ M 0328 (จากจังหวัดสกลนคร) M 0331 (จากจังหวัดอุทัยธานี) M 0354 (จากจังหวัดจันทบุรี) และ M 0355 (จากจังหวัดนครราชสีมา) พบว่า ราทั้ง 4 ไอโซเลตนี้เจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 9 เซนติเมตร นาน 3 วัน การศึกษาชนิดของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *N. dimidiatum* จำนวน 4 ไอโซเลตพบว่าเชื้อรา *N. dimidiatum* ทุกไอโซเลตเจริญได้ดีที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส และเจริญได้น้อยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้ข้อมูลชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *Neoscytalidium dimidiatum* เพื่อเป็นข้อมูลในการหาแนวทางป้องกันกำจัดที่เหมาะสมของโรคลำต้นจุดสีน้ำตาลของแก้วมังกรและเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญเพื่อประกอบการพิจารณาในการแก้ไขปัญหาการค้าระหว่างประเทศทั้งในด้านการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตร

สามารถเผยแพร่ผลงานวิจัยในรายงานประจำปีของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร รวมถึงงานประชุมวิชาการระดับชาติ หรือนานาชาติ

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช (อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช) ดร. ชนินทร ดวงสอาด นางสาวมะโนรัตน์ สุตสงวน และน้อง ๆ กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความร่วมมือ และความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง การดำเนินการทดลอง และการเก็บข้อมูล รวมถึงกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา

12. เอกสารอ้างอิง

พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตมงคล พจนา ตระกูลสุพรรณ ดารุณี ปุญญพิทักษ์

- บุรณี พัววงศ์แพทย์ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด ณีภูริมา โฆษิตเจริญกุล และอมรรัตน์ ภูโพบูลย์. 2550. การศึกษาชนิดของโรคแก้วมังกรและกวนอิมเพื่อการส่งออก. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. จตุจักร กรุงเทพฯ หน้า 1024 – 1034.
- พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเต็อ และ ชนินทร ดวงสอาด. 2552. โรคผลเน่าของแก้วมังกรสาเหตุเกิดจาก *Bipolaris cactivora*. หน้า 216-223. ใน การประชุมอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9 “อารักขาพืชไทย เทิดไท้องค์ภูมิ ตามวิถีเศรษฐกิจพอเพียง” ณ โรงแรมสุนีย์แกรนด์ จังหวัดอุบลราชธานี . 24-26 พฤศจิกายน 2552.
- พรพิมล อธิปัญญาคม ชนินทร ดวงสอาด และ. มะโนรัตน์ สุดสงวน. 2563. การตรวจสอบรา *Neoscytalidium dimidiatum* ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction. (กำลังพิมพ์). ใน รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2563 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- Athipunyakom, P, S. Likhitekaraj. 2010. Fruit Rot Diseases of Dragon fruit (*Hylocereus* spp.) in Thailand, pp. 156. In 9th International Mycological Congress, Edinburgh, UK, 1-6 August.
- Athipunyakom P, S. Seemadua and C. Doungsa-ard. 2012. Anthracnose Diseases of Dragon Fruit in Thailand. pp. 90. In The International Conference on Tropical and Subtropical Plant Diseases 2012, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand, 7-10 February.
- Athipunyakom P, S. Seemadua and C. Doungsa-ard. 2015. Diseases of dragon fruit in Thailand: Incidence and Management Strategies pp. 95-106. In: International Workshop on Improving Pitaya Production and Marketing, Frengshan, Kaohsiung, Taiwan, 7 -9 September 2015.
- Chuang. M.F., H. F. Ni, H. R. Yang, S. L. Shu, S. Y. Lai, and Y. L. Jiang. 2012. First Report of Stem Canker Disease of Pitaya (*Hylocereus undatus* and *H. polyrhizus*) Caused by *Neoscytalidium dimidiatum* in Taiwan. *Plant Disease*. 96 (11): 906-907.
- Ezra D, O. Liarzi, T. Gat, M. Hershovich, M. Dudai. 2013. First Report of Internal Black Rot Caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on *Hylocereus undatus* (Pitahaya) Fruit in Israel. *Plant Disease* 97 (11):1513.
- Hieu, N.T., and N.V. Hoa. 2015. Management Strategies of Major Pitaya Diseases in Vietnam. pp. 129-142. In: International Workshop on Improving Pitaya Production and Marketing, Frengshan, Kaohsiung, Taiwan, 7-9 September 2015.
- Lan, G.B., Z.F. He, P-G. Xi and Z.-D. Jiang. 2012. First Report of Brown Spot Disease Caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on *Hylocereus undatus* in Guangdong, Chinese Mainland. *Plant Disease*. 96 (11): 1702.
- Lin, C.P., H.F. Ni, P.J. Ann, H.R. Yang, J.W. Huang, M.F. Chuang, S.L. Shu, S.Y. Lai, Y.L.

- Jiang and J.N. Tsai. 2015. Pathogen identification and management of pitaya canker and soft rot in Taiwan. pp. 107-118. In : Y.L. Jiang et al. (eds). Improving Pitaya Production and Marketing. FFTC, Taipei, Taiwan. 219 pp.
- Masratul Hawa M, Salleh B and Latiffah Z. 2013. Identification and Molecular Characterizations of *Neoscytalidium dimidiatum* Causing Stem Canker of Red-fleshed Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. J Phytopathol. 161 (11-12): 841-849
- Masratul Hawa M, Salleh B and Latiffah Z. 2015. An overview of fungal diseases of pitaya in Malaysia pp. 87-93. In: International Workshop on Improving Pitaya Production and Marketing, Frengshan, Kaohsiung, Taiwan, 7-9 September 2015.
- Masyahit M., K. Sijam, Y. Awang and M. Ghazali Mohd Satar. 2009. The First Report of the Occurrence of Anthracnose Disease Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. on Dragon Fruit (*Hylocereus* spp.) in Peninsular Malaysia. American Journal of Applied Sciences 6 (5): 902-912
- Mizrahi, Y. 2015. Thirty-one of research and development in the vine cacti pitaya in Israel. pp. 1-18. In International Workshop on Improving Pitaya Production and Marketing, Frengshan, Kaohsiung, Taiwan, 7-9 September 2015.
- Hui-Fang Ni, C-W. Huang, S-L. Hsu, S-Y. Lai and H-R. Yang. 2013. Pathogen characterization and fungicide screening of stem cancer of pitaya. J. Taiwan Agric. Res. 62 (3): 225-234.
- Fullerton R.A., P.A. Sutherland, R. S. Rebstock, Nguyen Thanh Hieu, Nguyen Ngoc Anh Thu, Dang Thuy Linh, Ngo Thi Kim Thanh, Nguyen Van Hoa. 2018. The Life Cycle of Dragon Fruit canker caused by *Neoscytalidium dimidiatum* and implication for control. pp. 71-80. In: Dragon Fruit Regional Network Initiation Workshop & Steering Committee Meeting. Taiwan 22-27, April 2018.
- Sanahuja G., P. Lopez, and A. J. Palmateer. 2016. First Report of *Neoscytalidium dimidiatum* Causing Stem and Fruit Canker of *Hylocereus undatus* in Florida. Plant Disease. 100 (7): 1499.
- Taba, S., N. miyahira and K. Nasu. 2007. Fruit rot of Strawberry pear (pitaya) caused by *Bipolaris cactivora*. J. Gen.Plant Pathol. 73: 374-376.
- Valencia-Botín A.J., J.S Sandoval-Islas and E. Cárdenas-Soriano. 2004. A new stem spot disease of Pithaya [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton and Rose] caused by Fusicoccum –like anamorph of *Botryosphaeria dothidea* (Moug.:Fr.) Ces.and De Not. in

- Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatologia* 22 (1): 140-142.
- Wang, C.L. and Lin, C.C. 2005. Fruit rot of pitaya and stem rot of cacti in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 14: 269-274.
- Xu M., Y. Peng, Z. Qi, Z. Yan, L. Yang, M-D He, Q-X Li, C-L Liu, Y-Z Ruan, S-S Wei, J. X, Y-Q Xia and H Tang. Identification of *Neoscytalidium dimidiatum* causing canker disease of pitaya in Hainan, China. *Australasian Plant Pathology.* 47 (5): 547-553.
- Yi R.H., L.J. Gan, D.H. Yan, Z.J. Wu, Y.T. Tong, F.F Wu. 2013. Identification and biological characteristics of *Neoscytalidium dimidiatum* causing pitaya canker disease. *Acta Phytopylacica Sinica (Journal of Plant Protection).* 40 (2) :102–108.
- Yi R.H., Q.L. Lin, J.J. Mo, F.F. Wu and J. Chen. 2015. Fruit internal brown rot caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on pitahaya in Guangdong province, China. *Australasian Plant Pathology Society. Australasian Plant Dis. Notes.* 10 (1): 13.

กรมวิชาการเกษตร