

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของราสกุล *Choanephora* สาเหตุโรคเน่าเปียก (Wet rot)  
Taxonomic and Biological Study on *Choanephora*  
Causal Agent of Wet Rot Disease

ธารทิพย์ ภาสบุตร อภิรัชต์ สมฤทธิ ทศนาพร ทศคร  
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค จากแปลงปลูกของเกษตรกร ในพื้นที่ 10 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ตาก เพชรบูรณ์ ชลบุรีและจันทบุรี ระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึง สิงหาคม ซึ่งเป็นช่วงที่มีฝนตกชุก ความชื้นสูงและมักพบการระบาดของโรค ได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคเน่าเปียก (wet rot) ที่เกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp. จำนวน 33 ตัวอย่าง พืช 13 ชนิด ได้แก่ พริกชี้หนู 7 ตัวอย่าง พริกชี้ฟ้า 4 ตัวอย่าง กระจับปี่ 2 ตัวอย่าง มะเขือเปราะ 2 ตัวอย่าง ถั่วพู 1 ตัวอย่าง ถั่วฝักยาว 2 ตัวอย่าง โทงเทง (วชพืช) 2 ตัวอย่าง ผักโขม (วชพืช) 2 ตัวอย่าง ถั่วลิ้นเต่า 3 ตัวอย่าง คะน้า 2 ตัวอย่าง ขบ่า 1 ตัวอย่าง มะเขือยาว 1 ตัวอย่าง ฟักทอง 2 ตัวอย่าง ถั่วเขียว 1 ตัวอย่าง และดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 1 ตัวอย่าง ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานจำแนกชนิดได้เป็นรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt. ผลการศึกษาการเจริญของเส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, Half PDA, PCA, CA และ MEA ที่อุณหภูมิ 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* มีลักษณะฟูสูงขึ้นจากผิวอาหาร แต่มีบางส่วนที่เจริญแบนราบไปกับผิวอาหาร เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 1 วัน เส้นใยยังไม่มีโครงสร้างโคนิเดีย เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 2 วัน จะเห็นเป็นจุดๆของ sporangium และ conidium เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 4-5 วัน เส้นใยจะมีลักษณะเหนียวและยุบเมื่อถูกสัมผัส ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* เจริญอย่างรวดเร็วเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA และ Half PDA เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* สร้าง conidium ได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* โดยการสำรวจเก็บตัวอย่างพบพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* คือพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า กระจับปี่ มะเขือเปราะ ถั่วพู ถั่วฝักยาว โทงเทง(วชพืช) ผักโขม (วชพืช) ขบ่า ถั่วลิ้นเต่า คะน้า มะเขือยาว ฟักทอง ถั่วเขียวและดอกกล้วยไม้สกุลหวาย ผลการศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* โดยการปลูกเชื้อบนต้นพืช พบว่ารา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากพริกชี้หนู ทำให้ พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา คะน้า ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 3 รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากถั่วลิ้นเต่า ทำให้ ถั่วลิ้นเต่า แสดงอาการโรคในระดับ 3 พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา คะน้า ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 2 รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากกะน้า ทำให้ คะน้า พริกชี้หนู

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-03-54

พริกชี้ฟ้า แตงกวา ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 2 รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากผักโขมทำให้ ถั่วลันเตา ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 3 พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แสดงอาการโรคในระดับ 2 แตงกวา ค่ะน้า ไม่แสดงอาการโรค โดยการปลูกเชื่อมบนผลพืช พบว่ารา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากพริกชี้หนู ทำให้ ผลพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรคในระดับ 2 รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากถั่วลันเตา ทำให้ผักถั่วลันเตา ผลพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรคในระดับ 2 รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากคะน้า ทำให้ผลพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรคในระดับ 2

## คำนำ

โรคเน่าเปียก (wet rot) หรือโรคยอดและดอกเน่าของพืชที่เกิดจากราสกุล *Choanephora* เป็นโรคซึ่งระบาดทำความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น หน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พริก กระเจี๊ยบเขียว แตงกวา ฟักทอง มะเขือ เบญจมาศ แก้วมังกร และขนุน เป็นต้น ลักษณะการทำลายจะทำลายส่วนที่อ่อนหรือส่วนเจริญของพืชเช่น ตาดอก ดอก ยอดอ่อนใบอ่อนและผลอ่อน ทำให้พืชเกิดอาการเหี่ยว เนื้อเยื่อแห้งกลายเป็นสีน้ำตาลดำหรือเกิดอาการเน่า มักพบราสร้างก้านชูสปอร์ส่วนปลายเป็นตุ่มเล็กๆสีดำ ตั้งฉากชูขึ้นมาจากส่วนของพืชที่เป็นโรค มองเห็นชัดด้วยตาเปล่า การเข้าทำลายจะเกิดในช่วงที่ฝนตกชุกมีความชื้นในบรรยากาศสูง (ศศิธร 2545)

ราสกุล *Choanephora* อยู่ใน subdivision Zygomycotina class Zygomycetes order Mucorales family Choanephoraceae ราสกุลนี้มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่ใช้เพศและแบบใช้เพศ การสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ สร้างสปอร์ (sporangiospore) ที่เคลื่อนที่เองไม่ได้ บน sporangium แบบ columellate และ sporangiolum ซึ่งเกิดแยกกัน sporangiophore ที่มีปลายโค้งงอและไม่แตกกิ่งก้าน sporangiospore สีน้ำตาลปนดำ รูปกระสวย ที่ผนังมีเส้นขีด (striate wall) และที่หัวท้ายมี appendage คล้ายเส้นขน (hair-like) หลายเส้น ส่วน sporangiolum ที่สร้างนั้นภายในมีสปอร์เพียงสปอร์เดียว สร้างอยู่บน sporangiophore ที่มีปลายโป่งเป็นโครงสร้างรูปกลมเรียกว่า secondary vesicle บน secondary vesicle มีก้าน stalk สั้น ๆ แยกออกไปโดยรอบหลายก้าน ที่ปลายก้านเหล่านี้เป็นที่เกิดของ monosporous sporangiolum สีน้ำตาลปนดำ มี เส้นขีด แต่ไม่มี appendage ส่วนการสืบพันธุ์แบบใช้เพศเป็นแบบ heterothallic สร้าง zygosporangium เกิดอยู่ระหว่าง apposed suspensors พบ chlamydospore ผนังเรียบพบทั้งจากเส้นใยที่เจริญอยู่ด้านบนและด้านใต้ substrate และรานี้สามารถผลิต  $\beta$ -carotene ได้ (วิจัย, 2546)

ปัจจุบันระบบนิเวศน์เกษตรมีการเปลี่ยนแปลงไปทั้งสภาพอากาศและพันธุ์พืชที่ปลูก ทำให้พืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเช่น พริก และถั่วลันเตา รวมทั้งวัชพืชบางชนิด แสดงอาการเน่าเปียกหรืออาการยอดและดอกเน่ามากขึ้น ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอนุกรมวิธานราสกุล *Choanephora* สาเหตุโรคเพิ่มเติมจากที่เคยมีรายงานมาแล้วจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อให้ได้ชื่อชนิดของราสาเหตุโรคพร้อมข้อมูลพืชอาศัย การระบาดของโรค รวมทั้งแหล่งแพร่กระจายของราที่เป็นข้อมูลปัจจุบัน ซึ่งข้อมูลดังกล่าวเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับงานด้านอารักขาพืช และเพื่อการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในด้านอื่นๆ เช่น การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคเน่าเปียกของพืชชนิดต่างๆ การศึกษาทางด้านอนุชีววิทยาและการศึกษาการสร้างสารทุติยภูมิของราต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชเป็นโรคที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp. จากแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ ปากกา กระดาษบันทึกข้อมูล
3. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นปิดสไลด์และตะเกียงแอลกอฮอล์
4. สารเคมี ได้แก่ lactophenol และ oil immersion
5. อาหารเลี้ยงเชื้อรา
6. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง ตู้อ่างเชื้อ กล้องถ่ายภาพ
7. ตำราสำหรับใช้ในการจัดจำแนกชนิดรา *Choanephora* sp.

### วิธีการ

#### 1. สืบค้นข้อมูล

สืบค้นข้อมูลโรคเน่าเปียกหรือโรคยอดและดอกเน่าที่เกิดจากรา *Choanephora* sp. ของพืชในประเทศไทยจากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์

#### 2. สํารวจรวบรวมเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคและศึกษาลักษณะอาการ

เก็บตัวอย่างพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและวัชพืช ที่แสดงอาการของโรคที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp. จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย โดยเลือกเก็บส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรคห่อตัวอย่างพืชที่เก็บมาด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกรายละเอียด ชื่อพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ เพื่อนำตัวอย่างพืชที่ได้มาศึกษาลักษณะอาการและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

#### 3. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืชเป็นโรคโดยตรง

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo โดยใช้เข็มเขี่ยย้าย fruiting body ที่เชื้อราสร้างขึ้น วางลงบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วหยด lactophenol ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานของเส้นใยและโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยกำลังขยาย 400 และ 1,000 เท่า วัดขนาดเส้นใย และโครงสร้างอื่นๆ ที่สำคัญโดยใช้ calibrated micrometer แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา จัดจำแนกชนิดเชื้อรา *Choanephora* sp. สาเหตุโรคพืชโดยเปรียบเทียบลักษณะของรา *Choanephora* sp. ที่ศึกษากับคู่มือการจัดจำแนกรา *Choanephora* sp.

จากนั้นแยกเชื้อราโดยใช้เข็มเขี่ยย้าย fruiting body ของเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

#### 4. ศึกษาสาเหตุโรคโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค (Tissue transplant)

แยกเชื้อราโดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมานำตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ปล่อยให้รอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แขนในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 3 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางบน

อาหาร water agar ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน ตรวจสอบเส้นใยรา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ตัด hyphal tip ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช ย้ายไปวางบนอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่อไป

#### 5. ศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของรา *Choanephora* sp.

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้และจำแนกชนิดแล้วมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปวางในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ตรวจสอบผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีในแนวราบทุกวัน จนกว่าเชื้อราจะเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ

#### 6. ศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Choanephora* sp.

โดยการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคของพืชชนิดหนึ่งไปยังพืชทดสอบอีกชนิดหนึ่ง (cross inoculation)

การเตรียมรา *Choanephora* sp.

เตรียมสารแขวนลอยสปอร์โดย นำรา *Choanephora* spp. ที่แยกได้จากพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ มาเลี้ยงบนอาหารที่ทดสอบแล้วว่ามีการเจริญและสร้างสปอร์ดี ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นล้างสปอร์บนผิวหน้าอาหารด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำมารวมกัน แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 100 รอบต่อนาที นาน 20 นาที เพื่อให้สปอร์กระจายออกจากกันอย่างสม่ำเสมอ

การปลูกเชื้อลงบนต้นพืชทดสอบ

ปลูกพืชชนิดต่างๆ ที่จะใช้ทดสอบในกระถาง เมื่อพืชมีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ นำสารแขวนลอยสปอร์รา *Choanephora* sp. ที่เตรียมไว้ พ่นลงบนพืชทดสอบ คลุมด้วยถุงพลาสติกใส เพื่อให้พืชได้รับความชื้นสูง หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง เปิดถุงพลาสติก ตรวจสอบผลการเกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อ 5-7 วัน แล้วทำการแยกเชื้ออีกครั้งหนึ่งและตรวจสอบว่าเป็นเชื้อชนิดเดียวกันหรือไม่ โดยประเมินระดับความรุนแรงของโรค เป็น 5 ระดับ

ระดับ 1 พืชไม่แสดงอาการเป็นโรค

ระดับ 2 พืชแสดงอาการเป็นโรค 1-10 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 พืชแสดงอาการเป็นโรค 11-25 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราอยู่บ้าง

ระดับ 4 พืชแสดงอาการเป็นโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราทั้งสปอร์แก่และสปอร์อ่อน

ระดับ 5 พืชแสดงอาการเป็นโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์แก่สีน้ำตาลเข้ม

ลักษณะแผลชำจมนยุบหรือยอดหักพับ

การปลูกเชื้อลงบนผลของพืชทดสอบ

นำผลของพืชที่จะทดสอบมาพืชละ 10 ผล นำราที่เตรียมไว้ มาปลูกเชื้อลงบนผลของพืช โดยวิธีทำแผล นำผลพืชที่ทดสอบไปไว้ที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลการเกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อ ทุกวัน จนครบ 10 วัน ประเมินระดับความรุนแรงของโรค

ระดับ 1 พืชไม่แสดงอาการเป็นโรค

ระดับ 2 พืชแสดงอาการเป็นโรค 1-10 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 พืชแสดงอาการเป็นโรค 11-25 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราอยู่บ้าง

ระดับ 4 พืชแสดงอาการเป็นโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราทั้งสปอร์แก่และสปอร์อ่อน

ระดับ 5 พืชแสดงอาการเป็นโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์แก่สีน้ำตาลเข้ม ลักษณะแผลข้ำจนวนยุบและมีขนาดใหญ่

#### เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้น เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2553 สิ้นสุด เดือน กันยายน พ.ศ. 2556
สถานที่ทำการทดลอง	แปลงปลูกพืชของเกษตรกร กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

#### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

##### 1. การสืบค้นข้อมูลและสำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรค

จากการสำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค ในพื้นที่ 12 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี ลพบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ตาก เพชรบูรณ์ สุโขทัย อุบลราชธานี ชลบุรี และจันทบุรี ระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึง สิงหาคม ของปี พ.ศ.2554 และพ.ศ.2555 ซึ่งเป็นช่วงที่มีการระบาดของโรค ได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคเน่าเปียก (wet rot) ทั้งหมดจำนวน 33 ตัวอย่าง พืช 13 ชนิด ได้แก่ พริกชี้หนู 7 ตัวอย่าง พริกชี้ฟ้า 4 ตัวอย่าง กระเจี๊ยบ 2 ตัวอย่าง มะเขือเปราะ 2 ตัวอย่าง ถั่วพู 1 ตัวอย่าง ถั่วฝักยาว 2 ตัวอย่าง โทงเทง (วัชพืช) 2 ตัวอย่าง ผักโขม (วัชพืช) 2 ตัวอย่าง ถั่วลิ้นเต่า 3 ตัวอย่าง คะน้า 2 ตัวอย่าง ขบา 1 ตัวอย่าง มะเขือยาว 1 ตัวอย่าง พักทอง 2 ตัวอย่าง ถั่วเขียว 1 ตัวอย่าง ดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 1 ตัวอย่าง

##### 2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืชเป็นโรค

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo พบว่า ราที่สร้าง conidiophore มีลักษณะตั้งตรง ที่ปลายก้านขยายโป่งออกเรียกว่า primary vesicle รอบๆ primary vesicle จะมีก้านสั้นๆ ที่ปลายก้านเหล่านี้มีลักษณะโป่งกลมเรียกว่า secondary vesicle สร้าง conidium รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก (ellipsoid) สีน้ำตาล เซลล์เดียวบนผนัง มีเส้นขีดตามแนวยาว ที่ปลาย conidium ด้านที่ติดบน vesicle มีติ่งสั้นๆ (papilla) ไม่มีสี *Ch. cucurbitarum* สร้าง columellate sporangium บนก้าน sporangiophore ปลายโป่งเป็น colummella ลักษณะกลม sporangium มีสีน้ำตาล รูปร่างกลม ภายในมี sporangiospore จำนวนมาก รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก สีน้ำตาล เซลล์เดียวบนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ปลายทั้งสองข้างมี appendage หลายเส้น

### 3. การศึกษาราสาเหตุโรคโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค (Tissue transplant)

จากการแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรคและนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ เชื้อราสร้างโคโลนีที่มีลักษณะเป็นเส้นใยฟูสูงชันจากผิวอาหาร แต่มีบางส่วนเจริญแบนราบไปกับผิวอาหาร โคโลนีมีสีขาวอมเหลือง เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราและนำข้อมูลที่ได้มาทำการจำแนกชนิดพบว่า เป็นรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt.

รา *Ch. cucurbitarum* สร้าง columellate sporangium ภายในมี sporangiospore จำนวนมาก sporangium มีสีน้ำตาล รูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 79.7-140.9 ขนาดเฉลี่ย 110.3 ไมครอน ปลาย sporangiophore โป่งเป็น columella มีลักษณะกลม มีขนาดความกว้าง 23.9-79.7 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 46 ไมครอน มีขนาดความยาว 29.2-93 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 54 ไมครอน ภายใน sporangium มี sporangiospore สีน้ำตาล รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก (ellipsoide) เซลล์เดียวบนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ปลายทั้งสองข้างมี appendage หลายเส้น

รา *Ch. cucurbitarum* สร้าง conidiophore มีลักษณะตั้งตรง ที่ปลายก้านขยายโป่งออก เรียกว่า primary vesicle มีขนาดความกว้าง 29-58 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 39 ไมครอน ขนาดความยาว 37-66 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 49 ไมครอน รอบๆ primary vesicle มีก้านสั้นๆ ที่ปลายก้านเหล่านี้ มีลักษณะโป่งกลมเรียกว่า secondary vesicle สร้าง conidium รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก (ellipsoid) เซลล์เดียว สีน้ำตาล บนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ที่ปลาย conidium ด้านที่ติดบน vesicle มีติ่งสั้นๆ (papilla) ไม่มีสี มีขนาดความกว้าง 7.9-13.2 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 10.1 ไมครอน ขนาดความยาว 13.2-26.5 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 20.7 ไมครอน ซึ่งจะเกิดรอบๆ secondary vesicle *Ch. cucurbitarum* สร้าง columellate sporangium บนก้าน sporangiophore ปลายโป่งเป็น columella ลักษณะกลม sporangium มีสีน้ำตาล รูปร่างกลม ภายในมี sporangiospore จำนวนมาก รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก สีน้ำตาล เซลล์เดียวบนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ปลายทั้งสองข้างมี appendage หลายเส้น

### 4. การศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของรา *Choanephora sp.*

ผลการศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของรา *Ch. cucurbitarum* พบว่า บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, Half PDA, PCA, CA และ MEA ที่อุณหภูมิ 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* เจริญในลักษณะฟูสูงชันจากผิวอาหาร แต่มีบางส่วนที่เจริญแบนราบไปกับผิวอาหาร เมื่อมีอายุได้ 1 วัน เส้นใยยังไม่มีการสร้างโคโคนิเดีย เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 2 วัน และเห็นเป็นจุดๆของ sporangium และ conidium เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 4-5 วัน เส้นใยจะมีลักษณะเหนียวและยุบเมื่อถูกสัมผัส ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* เจริญอย่างรวดเร็วเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA และ Half PDA เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* สร้าง conidium ได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

## 5. การศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Choanephora* sp.

ศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* บนต้นพืช โดยวิธีปลูก พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แดงกวา ค่ะน้า ผักโขม ในกระถาง กระถางละ 5 ต้น อย่างละ 10 กระถาง เมื่อพืชมีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ นำต้นพืชมาปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *Ch. cucurbitarum* ที่เลี้ยงไว้ประมาณ 7 วัน ใช้วิธีการทำ spore suspension ตรวจสอบผลหลังปลูกเชื้อ 7 วัน ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของพริกชี้หนู พบว่าทำให้ พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แดงกวา ค่ะน้า ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 3 ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของถั่วลันเตา พบว่าทำให้ ถั่วลันเตา แสดงอาการโรคในระดับ 3 พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แดงกวา ค่ะน้า ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 2 ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของคะน้า พบว่าทำให้ คะน้า พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แดงกวา ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 2 ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของผักโขมพบว่ามี ถั่วลันเตา ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 3 พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แสดงอาการโรคในระดับ 2 แดงกวา ค่ะน้า ไม่แสดงอาการโรค

ศึกษาพืชอาศัยบนผลพืช โดยนำผลสดของ พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แดงกวา อย่างละ 10 ผล ปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *Ch. cucurbitarum* ที่เลี้ยงไว้ประมาณ 7 วัน ใช้วิธีการปลูกเชื้อด้วยเส้นใยนำผล ไปไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลหลังปลูกเชื้อทุกวันจนครบ 10 วัน ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของพริกชี้หนูพบว่า ผลพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แดงกวา แสดงอาการโรคในระดับ 2 ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของถั่วลันเตา พบว่าผักถั่วลันเตา ผลพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แดงกวา แสดงอาการโรคในระดับ 2 ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของคะน้า พบว่าผลพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แดงกวา แสดงอาการโรคในระดับ 2

ในการปลูกเชื้อรา *Ch. cucurbitarum* สามารถทำให้พืชเป็นโรคได้ไม่ว่าจะใช้เส้นใยหรือ spore suspension (Manocha & Campbell, 1983) การเกิดโรคเน่าหลังจากปลูกเชื้อราลงบนต้นพืชและผลพืชขึ้นอยู่กับเนื้อเยื่อพืช พืชที่มีผิวเนื้อเยื่อเป็น cellulose มากความชื้นภายในเนื้อเยื่อจะน้อย พืชจะไม่ค่อยแสดงอาการเป็นโรค ที่บริเวณยอดอ่อนและขั้วผลจะเกิดโรคได้ดีเพราะมีความอบน้ำมาก เชื้อเข้าทำลายได้ง่าย (Barnell & Lilly, 1950) พืชที่ได้รับการปลูกเชื้อจะแสดงอาการเป็นโรคได้ดีในที่มีความชื้นสูง มีอุณหภูมิประมาณ 18 องศาเซลเซียส ในที่มีแสงสว่างน้อยและมีออกซิเจนพอสมควร (Barnell, 1951) จากการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคดอกเน่าของแตงกวาโดยปลูกเชื้อไปบนพืชต่างๆได้แก่ ฟักทอง บวบเหลี่ยม น้ำเต้ากลม แตงโม แตงไทย แคนตาลูป บวบหอม บวบงู ถั่วลันเตา มะเขือเจ้าพระยา พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า และพริกหยวก พบว่า รา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคดอกเน่าของแตงกวา สามารถทำให้ พืชทดสอบส่วนใหญ่เป็นโรคได้โดยถั่วลันเตา แสดงอาการโรค มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ แตงไทย แตงโม แคนตาลูป มะเขือเจ้าพระยา พริกชี้ฟ้า พริกหยวก พริกชี้หนู แสดงอาการโรค น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ฟักทอง บวบงู บวบเหลี่ยม และน้ำเต้ากลม แสดงอาการโรคไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนบวบหอมไม่แสดงอาการโรค(ปราณีตและคณะ, 2530)

### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค จากแปลงปลูกของเกษตรกร ในพื้นที่ 10 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ตาก เพชรบูรณ์ ชลบุรีและจันทบุรี ระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึง สิงหาคม ซึ่งเป็นช่วงที่มีฝนตกชุก ความชื้นสูงและมักพบการระบาดของโรค ได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคน้ำเปือก (wet rot) ที่เกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp. จำนวน 33 ตัวอย่าง พืช 13 ชนิด ได้แก่ พริกชี้หนู 7 ตัวอย่าง พริกชี้ฟ้า 4 ตัวอย่าง กระเจี๊ยบ 2 ตัวอย่าง มะเขือเปราะ 2 ตัวอย่าง ถั่วพู 1 ตัวอย่าง ถั่วฝักยาว 2 ตัวอย่าง โทงเทง (วชิพพืช) 2 ตัวอย่าง ผักโขม (วชิพพืช) 2 ตัวอย่าง ถั่วลิ้นเต่า 3 ตัวอย่าง คะน้า 2 ตัวอย่าง ชบา 1 ตัวอย่าง มะเขือยาว 1 ตัวอย่าง ฟักทอง 2 ตัวอย่าง ถั่วเขียว 1 ตัวอย่าง และดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 1 ตัวอย่างจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานจำแนกชนิดได้เป็นรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, Half PDA, PCA, CA และ MEA ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* เจริญอย่างรวดเร็วเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA และ Half PDA เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* สร้าง conidium ได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* พบว่ารา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากพริกชี้หนู ถั่วลิ้นเต่า คะน้า เมื่อนำไปปลูกเชื้อบนต้น พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา คะน้า ผักโขมและถั่วลิ้นเต่า ทำให้พืชแสดงอาการโรคได้ทุกพืช รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากผักโขม เมื่อนำไปปลูกเชื้อบนต้นพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า ผักโขมและถั่วลิ้นเต่า ทำให้พืชแสดงอาการโรคได้ทุกพืช แต่เมื่อนำไปปลูกเชื้อบนแตงกวาและกะน้า พืชไม่แสดงอาการโรค ส่วนการปลูกเชื้อบนผลพืช พบว่ารา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากพริกชี้หนู ทำให้ ผลพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรค รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากถั่วลิ้นเต่า ทำให้ฝักถั่วลิ้นเต่า ผลพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรค รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากกะน้า ทำให้ผลพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรค

### เอกสารอ้างอิง

- ปราณีต ศิริวัลลภ, ทศพล วิสุทธารมณ, ลักษณะ วรรรณีร์, พัน อินทร์ อินทร์จันทร์. 2529. ศึกษาปฏิกริยาของพืชบางชนิดต่อเชื้อรา *Choanephora cucurbitarum* สาเหตุโรคดอกเน่าของแตงกวา. หน้า 54 - 60 ใน รายงานผลการทดลองปี 2530 กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักและไม้ประดับ กองโรคพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.
- วิจัย รักรักษาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม. 351 หน้า
- ศศิธร วุฒินิชย์. 2545. โรคของผักและการควบคุมโรค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 182 หน้า
- Barnell, H.L. 1951. Physiology of the fungi. Mc Grew-Hill Book Company, Inc. N.Y. Toronto. London 464 pp.



Barnell, H.L. and V.G. Lilly. 1950. Influence of nutritional and environmental factors upon asexual reproduction of *Choanephora cucurbitarum* in culture. Phytopath. 40:80-89.

Manocha, M.S. and C.D. Campbell, 1983. Host-parasite relation in a Mycoparasite. VIII Age-Related Host Resistance in *Choanephora cucurbitarum*. Mycologia 75(4) : 588-596.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของรา *Choanephora cucurbitarum* สาเหตุโรคเน่าเปียก บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, half PDA, PCA, CA และ MEA ที่อุณหภูมิ 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อายุเชื้อ (วัน)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)				
		PDA	Half PDA	PCA	CA	MEA
20	1	5.21	4.90	3.84	3.99	3.76
	2	8.56	7.47	7.17	7.65	7.33
25	1	7.52	5.27	5.40	5.71	4.60
	2	9.00	7.22	9.00	9.00	9.00
30	1	8.15	5.52	5.68	6.50	5.65
	2	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00



ภาพที่ 1 ลักษณะอาการโรคโรคน้ำเปียกหรือยอดและใบเน่าของพริกที่เกิดจากรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt.



ภาพที่ 2 ลักษณะอาการโรคโรคน้ำเปียกของกระเจี๊ยบเขียวที่เกิดจากรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt.