ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของแบคทีเรีย *Acidovorax avanae avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตง : การมีชีวิตรอด การอาศัยอยู่ และการศึกษาจำนวนประชากรแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* บนเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตงในดิน และน้ำ จากแหล่งปลูก

Biology and Ecology of *Acidovorax avanae* subsp. *citrulli* Causal Agent of Bacterial Fruit Blotch of Cucurbit: Study on Survival and Population of *A. avenae* subsp. *citrulli* on Seed, Soil and Water

บุษราคัม อุดมศักดิ์[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] และปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์[2/]

[1/] **กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

[2/] **กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ**

บทคัดย่อ

ได้ทำการทดสอบการมีชีวิตรอด การอาศัยอยู่ และศึกษาจำนวนประชากรแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* (Aac) บนเมล็ดพันธุ์แตงโมและเมล่อน โดยการปลูกเชื้อ Aac ลงในผลแตงโมและเมล่อน จนได้เมล็ดที่ติดเชื้อ Aac 98 และ 84 % ของเมล็ดทั้งหมด ตามลำดับ จากนั้นเก็บเมล็ดติดเชื้อในตู้เย็น ส่วนหนึ่งนำมาตรวจการมีชีวิตรอดบนอาหาร Tween agar ทุก ๆ เดือน และอีกส่วนหนึ่งนำไปปลูกทดสอบการถ่ายทอดโรคบนพืชทุก ๆ 2 เดือน ผลการทดลอง พบว่า หลังการเก็บเมล็ดแตงโมและเมล่อนที่ติดเชื้อ Aac เป็นเวลา 22 เดือน พบเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยเมล็ดที่ตรวจพบ Aac ที่มีชีวิตรอดเท่ากับ 78.69 และ70.60 ของจำนวนเมล็ดทั้งหมดตามลำดับ การทดสอบการถ่ายทอดโรคบนพืชปลูกของเมล็ดติดเชื้อ หลังการเก็บเมล็ดติดเชื้อเป็นเวลา 22 เดือน พบว่า ในระยะกล้าของทั้งแตงโมและเมล่อนแสดงอาการของโรคโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดโรคเท่ากับ 21.914 และ72.46 ตามลำดับ การทดสอบการมีชีวิตรอดของ Aac ในดินและในน้ำ ผลการทดลองในดิน พบว่า ปริมาณ Aac ลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเริ่มต้น โดยในเดือนที่ 10 หลังการทดสอบปริมาณ Aac ไอโซเลทจากแตงโม ลดลงจาก 2.7×10^8 เหลือ1.3×10^4 เซลล์/มล. ไอโซเลทจากเมล่อน ลดลงจาก 4.3×10^8 เหลือ 3.8×10^5 เซลล์/มล. สำหรับการทดสอบการมีชีวิต รอดของ Aacในน้ำ พบว่าหลังการทดสอบ 9 เดือน ปริมาณ Aac ไอโซเลทจากแตงโมและเมล่อน เพิ่มขึ้นจากปริมาณเริ่มต้น 4.0×10^8 และ 4.1×10^8 เป็น 5.5×10^9 และ 6.7×10^9 เซลล์/มล. ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 07 01 51 01 01 01 06 51

คำนำ

โรคผลเน่า (Fruit blotch) เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* (Schaad *et al*.,1978) ต่อมามีการเปลี่ยนชื่อเป็น *A. avanae* subsp.*citrulli* (Aac) โรคผลเน่าเป็นโรคที่สำคัญในการผลิตพืชตระกูลแตง โดยเฉพาะ แตงโม แคนตาลูป เมลอน และสควอช พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1965 ที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ต่อมาพบระบาดในหลายประเทศทั่วโลก ได้แก่ จีน อิสราเอล ญี่ปุ่น ตุรกี บราซิล และออสเตรเลีย (CAB International, 2005)

Latin และ Rane (1990) รายงานพบการระบาดในรัฐอินเดียน่า ประเทศสหรัฐอเมริกา ทำให้ผลผลิตแตงโมที่เจริญเติบโตเต็มที่เน่าเสียหายมากถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกษตรกรสูญเสียรายได้เป็นจำนวนมาก ต่อมาพบระบาดในอีกหลายรัฐของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้แก่ ฟลอริดา (Somodi *et al*.,1991), โอคลาโฮมา (Jacob *et al*., 1992) เซาท์คาโรไรน่า , นอร์ธคาโรไรน่า, เมรี่แลนด์ (Hopkins *et al*., 1992) นอกจากนี้มหาวิทยาลัยไอโอวาสเตรท ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้มีการศึกษาระยะเวลาการมีชีวิตรอดและการถ่ายทอดโรคของเชื้อ Aac พบว่า เมล็ดแตงโมและเมล่อนที่ติดเชื้อแบคทีเรียนี้ที่เก็บไว้เป็นเวลา40 และ 34 ปีตามลำดับ ยังคงมีชีวิตรอดและสามารถถ่ายทอดโรคได้ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรีย Aac มีความทนทานสูง (Block and Shepherd, 2008)

ในประเทศไทย มีรายงานการพบโรคผลเน่าแตงโม ในเขต จ.สกลนคร และ จ.นครราชสีมา ในปี 2536 (ณัฏฐิมา, 2537) ต่อมาในปี พ.ศ. 2538-2540 ได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่า พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสารเรืองแสง (non-fluorescent) สร้างเอนไซม์ oxidase รูปร่างเป็นท่อนสั้น (rod-shape) ลักษณะโคโลนีกลมนูน ขอบเรียบ สีขาวครีม เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ไปปลูกเชื้อลงบนใบเลี้ยงของต้นกล้าแตงโมทำให้ต้นกล้าแสดงอาการ โดยทำให้ใบเลี้ยงหลุดร่วงภายใน 7 วัน และเมื่อปลูกเชื้อลงบนผลแตงโมสามารถทำให้ผลแตงโมเน่าเสียภายใน 14 วัน (ณัฏฐิมา, 2540)

ณัฏฐิมา และคณะ (2540) ได้ผลิตแอนติซีรัมโดยวิธี Glutaraldehyde Fixed Cells เพื่อใช้ในการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของแตงโม พบว่าแอนติซีรัมที่ได้สามารถเกิดปฏิกิริยากับเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ทั้งหมด 4 สายพันธุ์ แต่ไม่เกิดปฏิกิริยากับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv.*citri* ,*X. campestris* pv.*campestris, Erwinia carotovora* pv.*cartovora* และ *Pseudomonas solanacearum* แสดงว่าแอนติซีรัมที่ได้ค่อนข้างเฉพาะเจาะจงกับเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*

โรคผลเน่าพบเป็นปัญหาระบาดครั้งแรกในแตงโม ผลที่เจริญเติบโตเต็มที่ใกล้เก็บเกี่ยว พบอาการเริ่มแรกเป็นจุดแผลช้ำฉ่ำน้ำ แผลพัฒนาอย่างรวดเร็วเปลี่ยนเป็นสีเขียวคล้ำคล้ายรอยเปื้อนน้ำมันขยายลามไม่มีขอบเขต ในเวลา 2-3 วันจะขยายลามคลุมทั่วทั้งผลทำให้ผลแตงโมแตกเนื้อแตงโมภายในเน่าเสีย ไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ (Schaad *et al*.,1978; Hopkins et al.,1992 ; Latin and Rane,1990)

Latin และ Rane (1990) พบว่าการระบาดของโรครุนแรงบนผลแตงโมก่อนเก็บเกี่ยว 2 อาทิตย์ Hopkins และคณะ (1992) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของโรคผลเน่าของแตงโมสามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าโดยสามารถทำให้ต้นกล้าตายได้ แต่ในระยะต้นโตในสภาพแปลงปลูกเชื้อแบคทีเรียนี้เข้าทำลายได้แต่อาการไม่รุนแรงหรือไม่แสดงอาการเลยแต่แฝงอยู่บนต้นแตงโม เมื่อผลแตงโมเจริญเติบโตเต็มที่ใกล้เก็บเกี่ยวเชื้อจะเข้าทำลายผลแตงโม ทำให้ผลแตงโมแสดงอาการของโรคและเน่าเสียไม่สามารถเก็บเกี่ยวได้ Frankle และคณะ (1993) รายงานว่า เชื้อแบคทีเรียสาเหตุของโรคผลเน่าของแตงโมสามารถเข้าทำลายผลแตงโมโดยเข้าทางปากใบของผลแตงโม เชื้อแบคทีเรียสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ และแพร่กระจายไปยังแหล่งต่างๆทั่วโลกได้ (Sowell and schaad,1979 ; Rane and Latin,1992) ในปัจจุบันเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* จัดเป็นเชื้อต้องห้ามที่สำคัญทางด้านการกักกันพืช (Wall *et al*., 1990)

การป้องกันกำจัดโรคนี้ได้มีรายงานโดย Hopkins และคณะ (1992) ว่า วิธีการป้องกันกำจัดโรคนี้ควรใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปราศจากโรคและสามารถใช้สารเคมีพวกสารประกอบทองแดงลดการเกิดโรคได้ โดยฉีดพ่นขณะที่เริ่มติดผลควรใช้ 2-3 ครั้ง แต่ต้องระมัดระวังเนื่องจากสารประกอบทองแดงอาจมีผลทำให้ต้นแตงโมชะงักการเจริญเติบโตได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงแบคทีเรีย ได้แก่ PSA
(Potato sucrose agar) และ Tween agar
2. เชื้อแบคทีเรีย *A. avanae* subsp. *citrulli*
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ฯลฯ
4. ผลแตงโมและเมล่อน
4. ดินปลูก
5. กระถางปลูก

วิธีการ

1. ศึกษาการมีชีวิตรอดของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* บนเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตง

1.1 การเตรียมเมล็ดติดเชื้อ

<u>การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย Aac</u>

1. เลี้ยงแบคทีเรีย Aac บนอาหาร PSA ประมาณ 25 plates เป็นเวลา 48 ชม.

2. นำมาทำเป็น cell suspension ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นให้ได้ประมาณ 10^8 cfu/ml.

<u>การเตรียมผลแตงโมและเมล่อน</u>

นำผลแตงโมพันธุ์กินรี และเมล่อน มาล้างให้สะอาด จากนั้นฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยการเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 75% จากนั้นผึ่งให้แห้ง

<u>การปลูกเชื้อและการเก็บเมล็ดติดเชื้อ</u>

1. ใช้เข็มฉีดยาขนาด 5 มล. ดูด cell suspension ของแบคทีเรีย Aac ปริมาตร 5 มล. ฉีดเข้าที่ผิวเปลือกแตงโมและเมล่อน 2 จุด

2. บ่มเชื้อไว้จนปรากฏอาการของโรค 100% คือผลแตงโมและเมล่อนแสดงอาการผลเน่าทั้งผล ซึ่งใช้เวลาประมาณ 7 วัน

3. ใช้มีดที่สะอาดผ่าผลแตงโมและเมล่อน เลือกเก็บเฉพาะเมล็ด นำไปผึ่งในที่ร่ม จนแห้งสนิท เก็บใส่ถุงพลาสติก แช่ในตู้เย็นไว้ทดสอบต่อไป

1.2 การตรวจการมีชีวิตรอดของแบคทีเรีย Aac บนเมล็ดติดเชื้อ

นำเมล็ดติดเชื้อมาตรวจสอบการมีชีวิตรอดทุก ๆ 1 เดือน โดยวิธี dilution plate technique ปฏิบัติดังนี้

1. นำเมล็ดติดเชื้อที่เก็บไว้ มาแช่ในน้ำสะอาดนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 1 มล. โดยใช้ 1 เมล็ดต่อ 1 หลอด นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที นำน้ำที่ได้ไปทำให้เจือจางนำความเข้มข้น 10^6- 10^8 cfu/ml. มาเกลี่ยบนอาหารแข็ง tween agar

2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชม.

3. นับปริมาณเซลล์ Aac ที่ได้ นำมาคำนวณคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่พบเชื้อAac ที่มีชีวิตรอด

2. การทดสอบการถ่ายทอดโรคของเมล็ดติดเชื้อ Aac หลังจากเก็บไว้เป็นระยะเวลาหนึ่ง

นำเมล็ดแตงโมและเมล่อนติดเชื้อที่เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 18 องศาเซลเซียส มาปลูกในกระถางปลูก 5 ต้นต่อกระถาง จำนวน 25 กระถาง รวม 125 ต้น ต่อชนิดพืช โดยปลูกทุก ๆ 2 เดือน ในสภาพโรงเรือน ตรวจผลโดยนับจำนวนต้นที่ปรากฏอาการของโรคตั้งแต่เริ่มงอกจนกระทั่งออกดอกหรือเริ่มติดผล โดยมีกรรมวิธีเปรียบเทียบโดยการปลูกเมล็ดพันธุ์ปลอดเชื้อ (เมล็ดพันธุ์ที่ฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 5%) นำมาคำนวณโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรค เปรียบเทียบกับจำนวนต้นทั้งหมด

3. การทดสอบการมีชีวิตรอดในดินของแบคทีเรีย Aac

1. เตรียมดินในกระถางปลูก 50 กระถาง กระถางละ 1,000 กรัม แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 เตรียมปลูกแตงโม และส่วนที่ 2 เตรียมปลูกเมล่อน

2. เตรียมเชื้อ Aac โดยเลี้ยงในอาหาร PSA บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชม. นำมาทำเป็น cell suspension ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

3. นำไปคลุกดินกระถางละ 30 มล. เก็บตัวอย่างดินมาตรวจเช็คปริมาณแบคทีเรีย Aac เริ่มต้น

4. ปลูกแตงโมและเมล่อนลงไปกระถางละ 5 เมล็ด

5. สุ่มดินมาตรวจปริมาณเชื้อ Aac ที่มีชีวิตบนอาหาร Tween agar ทุก ๆ เดือน

4. การทดสอบการมีชีวิตรอดในน้ำของแบคทีเรีย Aac

1. เตรียมเชื้อ Aac ไอโซเลทที่แยกจากเมล่อน และแตงโม นำไปเลี้ยงในอาหาร PSA บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชม. นำมาทำเป็น cell suspension ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

2. ปรับความเข้มข้น จนมีปริมาณแบคทีเรีย Aac เริ่มต้นประมาณ 10^8 เซลล์/มล. เก็บไว้ในห้องปฏิบัติการอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

3. สุ่มน้ำมาตรวจปริมาณเชื้อ Aac ที่มีชีวิตบนอาหาร Tween agar ทุก ๆ เดือน

ระยะเวลา **เริ่มต้น** ตุลาคม 2551 **สิ้นสุด** กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาการมีชีวิตรอดของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* บนเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตง

ผลการทดลองพบว่า หลังการเก็บเมล็ดแตงโมและเมล่อนติดเชื้อ Aac ในตู้เย็นเป็นเวลา 22 เดือน ยังสามารถตรวจพบแบคทีเรีย Aac ที่ยังมีชีวิต ทั้งบนเมล็ดแตงโมและเมล่อน โดยมีเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยเท่ากับ 78.69 และ 70.60 ตามลำดับ โดยมีปริมาณลดลงเล็กน้อยจากปริมาณเริ่มต้น ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 98 และ84 % ของจำนวนเมล็ดทั้งหมด ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

2. การทดสอบการถ่ายทอดโรคของเมล็ดติดเชื้อ Aac หลังจากเก็บไว้เป็นระยะเวลาหนึ่ง

ผลการทดสอบการนำเมล็ดแตงโมและเมล่อนที่มีการติดเชื้อ Aac ซึ่งเก็บไว้เป็นระยะเวลาหนึ่งมาปลูกเพื่อทดสอบการถ่ายทอดโรค พบว่า ต้นแตงโมและเมล่อนที่เจริญเติบโต สามารถแสดงอาการของโรคทุกระยะการเจริญเติบโต แต่อาการของโรคจะปรากฏรุนแรงในระยะกล้าและระยะออกดอกจนถึงเริ่มติดผลอ่อน โดยในระยะกล้าอาการจะปรากฏชัดเจนบนใบ ทั้งใบเลี้ยงและใบจริง ลักษณะอาการเริ่มแรกจะเป็นจุดแผลช้ำสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะฉ่ำน้ำ เมื่อจุดแผลขยายใหญ่ ซึ่งบนใบจริงอาการมักจะขยายและถูกจำกัดด้วยเส้นเวน แผลที่ลุกลามจะเห็นเป็นแผลสีน้ำตาลเข้มชัดเจน โดยเมล่อนจะปรากฏอาการของโรครุนแรงกว่าแตงโมในทุก ๆระยะการเจริญเติบโต โดยพบว่าหลังการเก็บเมล็ดติดเชื้อเป็นเวลา 22 เดือน แตงโมและเมล่อนสามารถแสดงอาการของโรคในระยะกล้า โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดโรค เท่ากับ 21.90 และ 72.46 ของจำนวนต้นทั้งหมด ตามลำดับ และในระยะออกดอก แตงโมและเมล่อนปรากฏอาการของโรคเท่ากับ 52.63 และ 76.77 หลังการเก็บเมล็ดติดเชื้อ 10 เดือน (ตารางที่ 2, 3)

3. การทดสอบการมีชีวิตรอดในดินของแบคทีเรีย Aac

ผลการทดลองพบว่า หลังการทดสอบ 10 เดือน แบคทีเรีย Aac ที่มีชีวิตรอด ทั้งจากดินปลูกเมล่อนและแตงโม มีปริมาณลดลงจากปริมาณเริ่มต้นอย่างรวดเร็ว โดยในดินปลูกแตงโม ปริมาณ Aac ลดลงจากปริมาณเซลล์เริ่มต้น 2.7×10^8 เหลือ 1.3×10^4 เซลล์/มล. และในดินปลูกเมล่อนลดลงจาก 4.3×10^8 เหลือ 3.8×10^5 เซลล์/มล. (ตารางที่ 4)

4. การทดสอบการมีชีวิตรอดในน้ำของแบคทีเรีย Aac

ผลการทดลองพบว่า ปริมาณ Aac ที่มีชีวิตรอดทั้ง 2 ไอโซเลท คือไอโซเลทที่แยกได้จากเมล่อนและจากแตงโม เมื่อนำมาเลี้ยงไว้ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 9 เดือน ปริมาณเพิ่มขึ้นจากปริมาณเซลล์เริ่มต้นเป็น 5.5×10^9 และ 6.7×10^9 ทั้งนี้ปริมาณ Aac เริ่มต้นเท่ากับ 4.0×10^8 และ 4.1×10^8 เซลล์/มล. ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาการมีชีวิตรอด การอาศัยอยู่ และการศึกษาจำนวนประชากรแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* (Aac) บนเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตง พบว่า แบคทีเรีย Aac สามารถอาศัยอยู่บนเมล็ดแตงโมและเมล่อนได้ไม่ต่ำกว่า 22 เดือน โดยเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของแบคทีเรียลดลงประมาณ 20% และยังสามารถถ่ายทอดโรคได้เมื่อนำเมล็ดไปปลูก โดยในระยะกล้า เมล่อนจะปรากฏโรคได้ถึง 72.46% แต่ในแตงโมจะปรากฏอาการของโรคเพียง 21.91% ของจำนวนเมล็ดทั้งหมด และแบคทีเรีย Aac เมื่ออยู่ในสภาพดินปลูกยังมีชีวิตรอดอยู่ได้แต่ปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วหลังการทดสอบเป็นเวลา 10 เดือน แต่ Aac สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในน้ำโดยปริมาณไม่เปลี่ยนแปลงหลังการทดสอบเป็นเวลา 9 เดือน

คำขอบคุณ

-

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา บุญวัฒน์. 2537. โรคผลเน่า : ปัญหาใหม่ของแตงโม. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา.4:20

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และ วนิดา ฐิตะฐาน. 2540. การศึกษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าของแตงโม. รายงานความก้าวหน้าผลงานวิจัย ปี 2540 กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล วนิดา ฐิตะฐาน และรุ่งนภา คงสุวรรณ์. 2540. การผลิตแอนติซีรัมโดยวิธีGlutaraldehyde Fixed Cells เพื่อใช้ในการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของแตงโม. รายงานความก้าวหน้าผลงานวิจัย ปี 2540 กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

Block, C.C. and L.M.Shepherd . 2009. Long-term Survival and Seed Transmission of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in Melon and Watermelon Seed. Phytopathology. 99:119.

Frankle, W.G., D.L. Hopkins and R.E. Stall. 1993. Ingress of the watermelon fruit blotch bacterium into fruit. Plant Dis. 77: 1090-1092.

Hopkins, D.L, T. Kucharek, D. Gay, R. Gitaitis, W. Cook and A. Keirath. 1992. Bacterial fruit blotch of watermelon. Report of Asgrow Seed Company. USA. 3 p.

Hu, F.P., J.M. Young and C.M. Triggs. 1991. Numerical analysis and determinative test for nonfluorescent plant-pathologenic *Pseudomonas* spp. and genomic analysis and reclassification of species related to *Pseumonas avenae* Manns 1909. Int. J. Syst. Bacteriol. 41. 516-525.

Jacobs, J.L., J.P. Damicone and B.D. Mcgraw. 1992. First Report of bacterial fruit blotch of watermelon in Oklahoma. Plant Dis. 76: 1185.

Latin, R.X. and K.K. Rane. 1990. Bacterial fruit blotch of watermelon in Indiana. Plant Dis. 74: 331.

Rane, K.K. and R.X. Latin. 1992. Bacterial fruit blotch of watermelon : Association of the pathogen with seed . Plant Dis. 76: 509-512.

Hidebrand, D.C., M.N. Scroth and D.C. Sands. 1988. Part C. *Pseudomonas* . p. 60 - 80 *In*: Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 2nd ed. (N.W. Schaad, Eds.). The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.

Schaad, N.W., G.Jr. Sowell, R.W. Goth, R.R. Colwell and R.E. Webb. 1978. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* subsp. nov.. Int. J. Syst. Bacteriol.28:117-125.

Somodi, G.C., J.B. Jones, D.L. Hopkins, R.E. Stall, T.A. Kucharek, N.C. Hodge and J.C. Watterson. 1991. Occurrence of a bacterial watermelon fruit blotch in Florida. Plant Dis. 75: 1053-1056.

Sowell, G.Jr. and N.W. Schaad. 1979. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subp. *citrulli.* on watermelon : Seed transmission and resistance of plant introductions. Plt. Dis. Rept. 63 : 437-441.

Wall, G.C., V.M. Santos, F.J. Cruz and D.A. Nelson. 1990. Outbreak of watermelon fruit blotch in the Mariana Islands. Plant Dis. 74:80.

Willems, A., M. Goor, S. Thielemans, M. Gillis, K. Kersters and J. De Ley. 1992. Transfer of several phytopathogenic *Psuedomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovarax* a*venae* subsp. a*venae* subsp.nov. comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax* a*venae* subsp. *cattleyae*, and *Acidorovax konjaci*. Int. J. Syst. Bacteriol. 42 : 107-119.

ตารางที่ 1 ปริมาณเมล็ดแตงโมและเมล่อนที่ตรวจพบแบคทีเรีย *Acidovorax avanae* subsp. *citrulli* (Aac) ที่มีชีวิตหลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 22 เดือน ตรวจผลบนอาหาร Tween agar

เดือนที่[1/]	**เปอร์เซ็นต์เมล็ดที่ตรวจพบ Aac ที่มีชีวิต**	
	แตงโม	**เมล่อน**
0 (พ.ย. 51)	98[2/]	84[2/]
1 (ธ.ค. 51)	96	83
2 (ม.ค. 52)	96	84
3 (ก.พ. 52)	93	80
4 (มี.ค. 52)	94	82
5 (เม.ย. 52)	96	81
6 (พ.ค. 52)	92	83
7 (มิ.ย. 52)	95	81
8 (ก.ค. 52)	96	84
9 (ส.ค. 52)	80	84
10 (ก.ย. 52)	60	60
11 (ต.ค. 52)	70	60
12 (พ.ย. 52)	84	76
13 (ธ.ค. 52)	92	76
14 (ม.ค. 53)	84	40
15 (ก.พ. 53)	20	42
16 (มี.ค. 53)	36	48
17 (เม.ย. 53)	52	40
18 (พ.ค. 53)	80	88
19 (มิ.ย. 53)	80	72
20 (ก.ค. 53)	52	68
21 (ส.ค. 53)	72	68
22 (ก.ย. 53)	92	60
เฉลี่ย	**78.69**	**70.60**

1/ ระยะเวลาเก็บเมล็ดติดเชื้อ 2/ ปริมาณเริ่มต้น

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคผลเน่าที่เกิดจากแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* บนพืช (แตงโม) ในระยะกล้าและระยะออกดอก

เดือนที่	**เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค**	
	ระยะกล้า[1/]	**ระยะออกดอก**[2/]
0 (พ.ย. 51)	10.01	22.19
2 (ม.ค. 52)	10.69	35.01
4 (มี.ค. 52)	8.45	64.16
6 (พ.ค. 52)	21.05	50.94
8 (ก.ค. 52)	21.28	65.00
10 (ก.ย. 52)	62.79	78.48
12 (พ.ย. 52)	30.19	ND
14 (ม.ค. 53)	14.16	ND
16 (มี.ค. 53)	13.22	ND
18 (พ.ค. 53)	26.08	ND
20 (ก.ค. 53	15.74	ND
22 (ก.ย. 53)	29.24	ND
เฉลี่ย	**21.91**	**52.63**

1/ อายุ 10 วัน หลังปลูก 2/ อายุ 45 วัน หลังปลูก

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคผลเน่าที่เกิดจากแบคทีเรีย *Acidovorax avanae* subsp.*citrulli* บนพืช (เมล่อน)ในระยะกล้า และระยะออกดอก

เดือนที่	**เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค**	
	ระยะกล้า	**ระยะออกดอก**
0 (พ.ย. 51)	52.78	66.09
2 (ม.ค. 52)	59.40	71.17
4 (มี.ค. 52)	69.12	64.10
6 (พ.ค. 52)	85.94	90.63
8 (ก.ค. 52)	62.50	82.22
10 (ก.ย. 52)	76.92	86.44
12 (พ.ย. 52)	60.30	ND
14 (ม.ค. 53)	63.02	ND
16 (มี.ค. 53)	62.50	ND
18 (พ.ค. 53)	89.65	ND
20 (ก.ค. 53	98.38	ND
22 (ก.ย. 53)	89.06	ND
เฉลี่ย	**72.46**	**76.77**

1/ อายุ 10 วัน หลังปลูก 2/ อายุ 45 วัน หลังปลูก

ตารางที่ 4 ปริมาณแบคทีเรีย *Acidovorax avanae avenae* subsp. *citrulli* (Aac) ที่มีชีวิตรอดในดินหลังการ ทดสอบเป็นเวลา 10 เดือน

เดือนที่	**ปริมาณแบคทีเรีย Aac (เซลล์/มล.)**	
	ดินปลูกแตงโม	**ดินปลูกเมล่อน**
0 (พ.ย.52)	2.7×10^8	4.3×10^8
1 (ธ.ค.52	6.0×10^7	8.0×10^7
2 (ม.ค.53)	1.3×10^6	6.0×10^7
3 (ก.พ.53)	6.0×10^5	4.0×10^5
4 (มี.ค.53)	6.0×10^5	1.5×10^5
5 (เม.ย.53)	2.0×10^5	2.2×10^4
6 (พ.ค.53)	2.0×10^4	1.1×10^4
7 (มิ.ย.53)	4.6×10^4	1.8×10^3
8 (ก.ค.53)	1.3×10^3	3.3×10^4
9 (ส.ค.53)	5.0×10^4	1.0×10^3
10 (ก.ย.53)	1.3×10^4	3.8×10^5

ตารางที่ 5 ปริมาณแบคทีเรีย *Acidovorax avanae avenae* subsp. *citrulli* (Aac) ที่มีชีวิตรอดในน้ำหลังการทดสอบเป็นเวลา 9 เดือน

เดือนที่	**ปริมาณแบคทีเรีย Aac (เซลล์/มล.)**	
	สายพันธุ์ที่แยกจากแตงโม	**สายพันธุ์ที่แยกจากเมล่อน**
0 (ธ.ค.52	4.0×10^8	4.1×10^8
1 (ม.ค.53)	7.2×10^8	8.1×10^8
2 (ก.พ.53)	1.3×10^8	3.8×10^8
3 (มี.ค.53)	1.5×10^8	4.5×10^8
4 (เม.ย.53)	1.1×10^8	2.3×10^8
5 (พ.ค.53)	1.0×10^8	2.0×10^8
6 (มิ.ย.53)	1.2×10^8	2.5×10^8
7 (ก.ค.53)	3.3×10^9	4.2×10^9
8 (ส.ค.53)	2.5×10^9	7.6×10^9
9 (ก.ย.53)	5.5×10^9	6.7×10^9