# การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของรา *Guignardia citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ

# Surveillance and Distribution of *Guignardia citricarpa* Caused Black Spot Disease of Pummelo

**พรพิมล อธิปัญญาคม** [1/] **สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ** [1/]

**ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช** [2/]

[1/]**กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

[2/]**สำนักผู้เชี่ยวชาญ**

**กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

---

## บทคัดย่อ

จากการติดตามสถานการณ์การเกิดและการแพร่กระจายของรา *Phyllosticta citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอนั้นพบการระบาดของโรคทั้ง 2 ปี การพบโรคที่ใบในช่วงเดือนตุลาคม ถึง มิถุนายน อาการที่ใบไม่รุนแรง และเมื่อนำมาแยกเชื้อพบรา *P. citricarpa* เท่ากับ 20 % , *P. mangiferae* เท่ากับ 65 % นอกนั้นเป็น การปนเปื้อนที่เกิดจากแบคทีเรีย

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ตรวจหารา *Guignardia citricarpa* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุในระยะ sexual state ของรา *Phyllosticata citricarpa* และรา *G. citricarpa* อาศัยอยู่บนเศษใบส้มโอที่ตกอยู่ที่พื้นดิน โดยทำการเก็บเศษซากใบส้มโอมาตรวจหาเชื้อในห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองตรวจหารานี้พบรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Phomopsis* sp. ในช่วงเดือนพฤษภาคม – กรกฎาคม จากการตรวจหาเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์และแยกเชื้อไม่พบระยะ sexual state : *Guignardia citricarpa* ของ *Phyllosticta citricarpa* ในเศษใบส้มโอที่ตกอยู่ที่พื้นดินเลย

จากการติดตามสถานการณ์ของโรคจุดดำของส้มโอในประเทศไทย

พบโรคจุดดำบนผลส้มโอที่ จังหวัดสมุทรสงคราม ราชบุรี ตราด เชียงราย เชียงใหม่ ชุมพร นครศรีธรรมราช และสงขลา ระหว่างเดือนสิงหาคม 2550 – พฤศจิกายน 2551 พบโรคจุดดำบนส้มโอพันธุ์ทองดี ที่อำเภอนครชัยศรี อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม อำเภอบางคณที จังหวัดสมุทรสงคราม อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี อำเภอเกาะช้าง จังหวัดตราด อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย อำเภอเมือง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดชุมพร อำเภอสิชล จังหวัดนครศรีธรรมราช อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา พบโรคจุดดำบนส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และ

---

รหัสการทดลอง 07-01-51-01-01-01-01-51

พวงชมภู ที่ อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย พันธุ์จ้าวเสวย พบโรคจุดดำที่อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร และพันธุ์ทับทิมสยาม พบโรคจุดดำที่ อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยพบโรคจุดดำทุกแหล่งที่ทำการสำรวจ ความรุนแรงของโรคพบตั้งแต่ 1-100 จุดแผลต่อผล จากการสำรวจพบโรคมากบนผลส้มโอที่เก็บเกี่ยวเมื่ออายุมากส่วนผลที่มีอายุน้อยพบจำนวนแผลที่น้อยกว่า

**คำนำ**

ในปัจจุบันการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตร ต้องมีความตกลงทั่วไปว่าด้วยภาษีศุลกากรและการค้า (General Agreement on Tariff and Trade: GATT) ซึ่งต่อมาได้เปลี่ยนเป็นองค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ได้กำหนดกฎเกณฑ์และระเบียบเพื่อให้เกิดการค้าเสรีและเป็นธรรม โดยทุกประเทศสมาชิกของ WTO จะต้องปรับลดอัตราอากรขาเข้าลงมาเป็นอันดับแรกสุดของการเปิดการค้าเสรี ทำให้มาตรการกีดกันด้านภาษีศุลกากรมีแนวโน้มที่จะลดลงเนื่องจากการเปิดเสรีทางการค้าภายใต้เขตการค้าเสรีต่างๆ มีเพิ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันมาตรการกีดกันทางการค้าที่มิใช่ภาษีศุลกากร (non tariff barrier, NTB) จะเริ่มมีบทบาทและมีรูปแบบใหม่ๆ เพิ่มขึ้น ซึ่งมาตรการที่สำคัญในด้านการเกษตรได้แก่ มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary Measures : SPS) มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อปกป้องชีวิต และสุขภาพมนุษย์ สัตว์ และพืช เพื่อสร้างความมั่นใจต่อความปลอดภัยด้านอาหาร แต่ต้องไม่ใช้สิทธินั้นในทางที่เป็นการสร้างข้อจำกัดทางการค้า หรือเลือกปฏิบัติระหว่างประเทศสมาชิกตามอำเภอใจ ซึ่งการนำมาตรการ SPS มาใช้ควรสอดคล้องกับมาตรฐานตามที่องค์กรมาตรฐานระหว่างประเทศกำหนดขึ้น และต้องมีเหตุผล และหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่เพียงพอมีการประเมินความเสี่ยง (Risk Assessment) ที่เชื่อถือได้ ซึ่งประเทศคู่ค้ามักนำมาตรการ SPS มาใช้เป็นเครื่องมือในการกีดกันทางการค้ากับสินค้าอาหารประเภทปศุสัตว์ ประมง และพืชผักผลไม้ โดยอ้างการตรวจพบเชื้อโรค โรคแมลง และอื่นๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อภาพลักษณ์ทางการค้าของประเทศ และเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต ดังนั้นการค้าขายสินค้าเกษตรระหว่างประเทศอาจมีผลให้ศัตรูพืชที่ติดไปกับสินค้าสามารถแพร่ระบาดไปสู่สถานที่แหล่งใหม่ในต่างประเทศได้ ดังนั้นเมื่อเจรจาติดต่อค้าขายสินค้าดังกล่าวจึงมีความจำเป็นที่ประเทศคู่ค้าจะต้องสามารถให้ข้อมูลทางด้านชีววิทยา การแพร่กระจายชนิดพืชอาศัย ตลอดจนสถานภาพทางด้านเศรษฐกิจของศัตรูพืชที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรเหล่านั้น

ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆเข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูของพืชที่นำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง

(Surveillance) ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

ในปัจจุบันมีการประกาศกำหนดศัตรูพืชกักกันของสินค้าเกษตรขึ้นในแต่ละประเทศที่มีการส่งออกและนำเข้า เช่นเดียวกันประเทศไทยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยกลุ่มวิจัยการกักกันพืชได้ยกร่าง “ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง การกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักกันพืช พ.ศ. 2507” พ.ศ. 2549 และได้แจ้งให้ประเทศสมาชิกภายใต้องค์กรการค้าทราบเพื่อให้ข้อคิดเห็น ซึ่งข้อคิดเห็นที่จะเกิดขึ้นคือมีศัตรูพืชบางชนิดจะต้องมีการตรวจสอบและยืนยันการปรากฏหรือไม่มี การตรวจสอบและยืนยันที่อย่างถูกต้องจะต้องมีข้อมูลที่มีหลักฐานที่จะสามารถยืนยันการปรากฏหรือไม่มีของศัตรูพืชนั้น ๆ การสำรวจการปรากฏหรือไม่มีของศัตรูพืชนั้น ๆ ในประเทศต้องดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงจะเป็นข้อมูลศัตรูพืชที่ NPPO สามารถนำไปใช้ในการเจรจาการค้าหรือปลดชื่อศัตรูพืชที่ไม่มีปรากฏในประเทศออกจากบัญชีรายชื่อได้ อนึ่งข้อมูลที่สำคัญที่จะนำมาพิจารณาร่วมในการเฝ้าระวังศัตรูคือรายละเอียดด้านชีววิทยาและนิเวศวิทยาของศัตรูพืช ได้แก่ วงจรชีวิตศัตรูพืช ประวัติและลักษณะการแพร่กระจายของศัตรูพืช พืชอาศัย และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการทำให้เกิดโรค เป็นต้น การสำรวจและข้อมูลต่าง ๆ เหล่านี้จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่องเพื่อได้มาซึ่งข้อมูลที่เป็นปัจจุบันที่ NPPO สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

ส้มโอจัดเป็นผลไม้เศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทยที่มีศักยภาพสูงในการส่งออกไปตลาดต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศจีน ฮ่องกง สิงคโปร์ มาเลเซีย แคนาดา และฝรั่งเศส เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีรสชาติเป็นที่ชื่นชอบของชาวต่างประเทศ และยังสามารถเก็บรักษาได้นาน พื้นที่การปลูกส้มโอในประเทศไทยจากข้อมูลของกรมส่งเสริมการเกษตร ในปี 2549 มีพื้นที่ประมาณ 228,538 ไร่ ให้ผลผลิตรวม 238,440 ตัน โดยพื้นที่ปลูกส้มโอที่มีศักยภาพแห่งหนึ่งของประเทศไทยอยู่ในเขตลุ่มแม่น้ำนครชัยศรี-แม่กลอง ครอบคลุมจังหวัดนครปฐม และสมุทรสงคราม นอกจากนี้ ยังมีแหล่งที่สำคัญอีกคือ จังหวัดชัยนาท ที่สร้างชื่อเสียงให้กับประเทศคือ ส่งไปในงานโอลิมปิค ที่ประเทศจีน และที่ จ.นครศรีธรรมราช ซึ่งถือว่าเป็นแหล่งผลิตส้มโอเพื่อส่งออกที่สำคัญของประเทศ

โรคที่สำคัญราสกุล *Guignardia* Viala & Ravaz อยู่ใน Class Ascomycetes, Order Sphaeropsidales, Family Mycosphaerellaceae มีรา *Phyllosticta* Pers เป็น Anamorphic

state อยู่ใน Class Coelomycetes ส่วนใหญ่ราสกุลนี้เจริญอยู่บนใบพืชทำให้เกิดโรคใบจุด โดยราสร้าง pycnidia บนใบพืช conidia มี 1 เซลล์ นอกจากอยู่บนใบพืชแล้วรายังเจริญอยู่บนกิ่ง ลำต้นของพืชด้วย รา *Guignardia* เป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ โรค Black spot ของพืชตระกูลส้มสาเหตุเกิดจาก *Guignardia citricarpa* (anamorphic state: *Phyllosticta citricarpa*) (Kiely, 1949; Sutton and Waterston, 1966) โรค Black rot ขององุ่น สาเหตุเกิดจาก *Guignardia bidwelli* (anamorphic state: *Phyllosticta ampelicida*) (Sivanesan and Holliday, 1981) โรคใบจุดของกล้วยสาเหตุเกิดจาก *Guignardia musae* (anamorphic state: *Phyllosticta musarumi*) (Punithalingam and Holliday, 1975)

นอกจากราสกุลนี้เป็นสาเหตุโรคพืชแล้วยังเป็นราเอ็นโดไฟท์เจริญอยู่บนใบพืชที่ปกติ โดยเฉพาะโรค Black spot ของพืชส้ม ซึ่งมีสาเหตุเกิดจาก *G. citricarpa* แต่มักพบรา *G. mangiferae* ด้วยแต่พบว่าราดังกล่าวไม่ได้เป็นสาเหตุของโรคพืช (Glienke-Blanco และคณะ, 2002; Baayen และคณะ, 2002) ดังนั้นการศึกษาลักษณะต่างของราเพื่อจำแนกชนิดนั้นเป็นสิ่งที่สำคัญและจะทำการพิสูจน์การเกิดโรคของราแต่ละชนิดด้วยเพื่อยืนยันว่ารานั้นเป็นสาเหตุของโรคหรือไม่ใช่สาเหตุของโรค การจำแนกราสกุลนี้ในระดับ species โดยศึกษาลักษณะ morphological characters นั้น จะเห็นได้ว่าลักษณะของราทาง morphological characters จะไม่แตกต่างกันอย่างเด่นชัด ซึ่งชนิดของราอาจจะมีความสัมพันธ์กับพืชอาศัย รา *Phyllosticta* ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชอาจมีความแตกต่างกับราที่อาศัยอยู่บนใบพืชที่ร่วงอยู่บนพื้นดิน การจำแนกราสกุลนี้นอกจากใช้ลักษณะทาง morphological characters แล้วก็ยังใช้ข้อมูลทางนิเวศวิทยาของเชื้อมาประกอบการจำแนก ดังนั้นจึงต้องทำการสำรวจการสถานการณ์โรค black spot ในประเทศไทย และศึกษาการจำแนกรา *Guignardia citricarpa* ที่เป็นสาเหตุโรค black spot และ *Guignardia mangiferae* โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ เพื่อให้ได้ข้อมูลของเชื้อได้แก่ ชนิดชองเชื้อ(species) ลักษณะประจำสายพันธุ์ และเขตแพร่ระบาด จะเป็นข้อมูลและเป็นประโยชน์ต่อการส่งออกส้มโอไปยังต่างประเทศ

ราสาเหตุของโรคจะชอบเข้าทำลายในสภาพอากาศร้อนชื้นโดยเฉพาะในช่วงฤดูร้อน ซึ่งสภาพอากาศดังกล่าวเป็นลักษณะภูมิอากาศของประเทศที่ปลูกพืชตระกูลส้มในแถบ Southeast Asia, Africa, South America, Australia ระยะที่ผลอ่อนแอต่อการเข้าทำลายคือช่วงที่ผลมีอายุ 4-5 เดือน แต่จะไม่แสดงอาการของโรคจนผลกระทั่งส้มอายุใกล้เก็บเกี่ยว มีการศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน ความชื้นที่ใบ และปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ ที่มีผลต่อการเกิด การปล่อยและการงอกของ ascospores มากมาย (Pinkerton และคณะ, 1998; Hartman และคณะ, 1999; MacHardy และคณะ, 2001; Mondal และ Timmer, 2002; Renato และคณะ, 2006) ปัจจัยต่าง ๆ นี้มีความสำคัญต่อการเกิดและระบาดของโรค ดังนั้นข้อมูลเหล่านี้สามารถนำใช้ในการควบคุมโรคที่เหมาะสมต่อไป เนื่องจากโรค black spot มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมาก มีรายงานพบโรคนี้ในทุกแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มใน เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แอฟริกา อเมริกาใต้ ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์

แต่ยังไม่มีรายงานพบในสหภาพยุโรป (European Union, 2000) และสหรัฐอเมริกา (Kotzé, 1981) โรคนี้จึงจัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศในสหภาพยุโรป และสหรัฐอเมริกา การนำเข้าส้มทั้งสองแหล่งนี้ต้องปลอดโรค black spot

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. อุปกรณ์การสำรวจ ได้แก่ คู่มือแสดงลักษณะอาการของโรคและลักษณะของเชื้อสาเหตุ กระดาษ ถุงพลาสติค ปากกาเคมี ดินสอ กรรไกรตัดกิ่ง และ GPS

2. อุปกรณ์จัดเก็บตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผ่นไม้อัดทับตัวอย่าง กระดาษ

3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ slide cover slip ปากคีบ เข็มเขี่ยปลายแหลม ใบมีดโกน ตะเกียง ยาทาเล็บ

4. สารเคมีสำหรับ mount slide ได้แก่ lactophenol , lactic acid, shear's sulution

5. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%

6 อาหารวุ้นสังเคราะห์ corn meal agar (CMA), potato dextrose agar (PDA)

7. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ เป็นต้น

8. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว เป็นต้น

9. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายรูปและ camera lucida สำหรับวาดภาพราจากกล้องจุลทรรศน์

**วิธีการ**

**1. ระบุชื่อโรคเป้าหมายและลักษณะสำคัญที่ใช้ในการวินิจฉัย**

**2. จัดทำคู่มือลักษณะอาการของโรคจุดดำและลักษณะของเชื้อสาเหตุ**

รวบรวมเอกสาร รูปภาพแสดงถึงโรคจุดดำ สาเหตุของโรค ลักษณะอาการ และการวินิจฉัย วิเคราะห์โรคจุดดำของส้มโอ รูปภาพแสดงการเข้าทำลายและทำความเสียหายต่อพืชจะมีประโยชน์กับการ สำรวจและประเมินการเกิดโรค เขียนรายงาน การมีเอกสารคู่มือประกอบสำหรับใช้สืบหาศัตรูพืชในแปลงโดยเฉพาะกับศัตรูพืชที่ไม่เคยพบ

**3. กำหนดแปลงทดลองที่จะทำการสำรวจการแพร่กระจายของโรคจุดดำ และวางแผนการสำรวจ**

สำรวจการแพร่กระจายของโรค black spot ของส้มโอ จากแปลงส้มโอ 4 แปลง ได้แก่ แปลงส้มโออำเภอนครชัยศรีและอำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม และแปลงส้มโอจำนวน 2 แปลง

ในอำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย โดยสุ่มตรวจต้นส้มโอที่เป็นโรคอย่างมีแบบแผนแต่ละแปลง กำหนดตรวจ 1 ต้น เว้น 3 ต้น ประเมินการเกิดโรค

**4. ศึกษาชนิดของเชื้อสาเหตุ**

**4.1 การแยกเชื้อโดยวิธี Tissue transplanting**

แยกเชื้อจากตัวอย่างโรคพืช โดยตัดชิ้นตัวอย่างโรคบริเวณส่วนต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาด (กว้างxยาว) 0.5 x 0.5 มิลลิเมตร จำนวน 40 ชิ้น ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายคลอร็อกซ์ 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที ล้างชิ้นส่วนของพืชในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strengh Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) หรือ Potato Dextrose Agar (PDA) โดยวางชิ้นส่วนพืช 4 ชิ้น ต่อ 1 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 25$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยเชื้อราภายใต้กล้องจุลทัศน์แบบ stereo microscope แล้วแยกเส้นใยของเชื้อบริเวณปลาย (hyphal tip) ของเชื้อราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ศึกษาลักษณะรายละเอียดของเชื้อประกอบกับเอกสารอ้างอิง เพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุต่อไป

**4.2 การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุ**

ศึกษารูปร่างลักษณะของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope) โดยตรวจดูลักษณะ fruiting body และสปอร์ และโครงสร้างอื่น ๆ ของรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราได้แก่ ลักษณะ ขนาด และสี ของเส้นใย ลักษณะขนาด และสี ของสปอร์ ชนิดของ fruiting body ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง บันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด นำลักษณะของราดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับคู่มือการจัดจำแนกเชื้อรา (Kiely, 1949; Sutton and Waterston, 1966; Punithalingam and Hooliday, 1975; Baayen *et al*., 2002)

**5. สถานการณ์ของโรคจุดดำของส้มโอในประเทศ**

สำรวจโรคจุดดำของส้มโอในแหล่งปลูกต่าง ๆ โดยสำรวจจากจุดขายผลส้มโอในจังหวัดที่มีการปลูกส้มโอเป็นการค้า ระหว่างเดือนสิงหาคม 2550 – พฤศจิกายน 2551 ศึกษาลักษณะอาการและแยกเชื้อสาเหตุ

**เวลาและสถานที่**

**เวลา** ตุลาคม 2550 – กันยายน 2553

**สถานที่** - แปลงส้มโอ อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย 2 แปลง

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. ระบุชื่อโรคเป้าหมายและลักษณะสำคัญที่ใช้ในการวินิจฉัย

โรคเป้าหมายคือโรคจุดดำของส้มโอ ราสาเหตุของโรคจุดดำคือ *Guignardia citricarpa* จัดอยู่ใน Class Ascomycetes, Order Sphaeropsidales, Family Mycosphaerellaceae เป็นระยะการขยายพันธุ์แบบใช้เพศ (telemorphic state หรือ perfect state) เชื้อราสร้างส่วนขยายพันธุ์ (perithecia) และสปอร์ที่เรียกว่า ascospore อยู่บนใบหรือเศษซากของของส้มที่ร่วงบนดิน ส่วนระยะที่ไม่ใช้เพศ (anamorph state หรือ imperfect state) เรียกชื่อว่า *Phyllosticta citricarpa* ซึ่งจะพบเชื้อราบนแผลบนใบและผลที่อยู่บนต้น เชื้อราสร้างส่วนขยายพันธุ์ (pycnidia) บนต้น ภายใน pycnidia สร้างสปอร์ที่เรียกว่า conidia (Timmer and Duncan, 1999) ราสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายทั้งส่วนของใบ กิ่ง และผล ทำให้เกิดจุดแผลเล็กๆ สีน้ำตาลและมีขอบแผลสีดำล้อมรอบ อาการแผลที่เกิดบนผลนี้ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการและยอมรับของตลาด เมื่ออาการของโรครุนแรงเชื้อราสาเหตุจะเข้าทำลายทั้งกิ่งและขั้วผลทำให้ผลส้มร่วงก่อนเก็บเกี่ยวได้ เมื่อเชื้อราสาเหตุเข้าทำลายบนพืชเชื้อราจะมีระยะฟักตัว (latent period) เป็นเวลานานประมาณ 4-5 เดือน

ลักษณะอาการของโรคพบทั้งบนใบ และผลส้มโอ ลักษณะอาการของแผลบนผลจะพบได้ตั้งแต่ในระยะที่ผลส้มโอยังมีสีเขียว และอาการจะรุนแรงมากขึ้นเมื่อผลส้มโอเจริญเติบโตเต็มที่ อาการเริ่มแรกมีลักษณะเป็นจุดเล็ก ๆ สีน้ำตาล พบในผลส้มโอที่มีสีเขียว ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้นเป็นจุดกลมแผลยุบตัวแต่ไม่ลึก ตรงกลางแผลมีสีเทาหรือสีแทน ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้ม แผลมีขนาด 2-10 มิลลิเมตร สีน้ำตาลและมีสีเหลืองล้อมรอบ และเมื่อผลส้มโอใกล้สุก แผลตรงกลางยุบตัวลงเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือสีเทา บางครั้งพบราสร้างส่วนขยายพันธุ์ (pycnidia) สีดำ ตรงกลางแผล แต่ไม่สร้างส่วนขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ (ascocarp) บนแผล

### 2. จัดทำคู่มือลักษณะอาการของโรคจุดดำและลักษณะของเชื้อสาเหตุ

รวบรวมเอกสาร รูปภาพแสดงถึงโรคจุดดำส้มวาเลนเซีย (ภาพที่ 1ก-ค. แสดงอาการโรคที่ผล ภาพจาก of T. Schubert, DPI; ภาพที่ 1ง แสดงอาการโรคที่ใบ ภาพจาก M. Zekri) สาเหตุของโรค เพื่อจะได้นำไปเปรียบเทียบกับลักษณะอาการ ภายใน )

**3. กำหนดแปลงทดลองที่จะทำการสำรวจการแพร่กระจายของโรคจุดดำ และวางแผนการสำรวจ**

กำหนดแปลงทดลองที่จะทำการสำรวจการแพร่กระจายของโรคจุดดำ โดยทำการสำรวจติดตามโรคจุดดำทั้งหมด 2 แปลง แปลงละ 50 ต้น ที่อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย โดยประเมินการเกิดโรค โดยสุ่มตรวจต้นส้มโอที่เป็นโรคอย่างมีแบบแผนแต่ละแปลง กำหนดตรวจ 1 ต้น เว้น 3 ต้น

จากการสำรวจติดตามการแพร่กระจายอย่างต่อเนื่องของโรคจุดดำส้มโอ ณ อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – เดือนกันยายน 2551 โดยทำการสำรวจสวนส้มโอจำนวน 2 แปลง แปลงละ 50 ต้น จำนวนส้มโอ 100 ต้น สุ่มเก็บตัวอย่างโรคจุดดำบนใบและบนผล ทำการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและศึกษาเชื้อสาเหตุของโรค จากการสำรวจในปีที่ 1 แปลงที่ 1 อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย พบโรคที่ใบในเดือนตุลาคม 2550 – มิถุนายน 2551 และพบโรคที่ผลในเดือนพฤษภาคม –กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 8, 12, 19, 25 และ 33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในปีที่ 2 แปลงที่ 1 พบโรคที่ผลในเดือนมิถุนายน –กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 7, 12, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์

แปลงที่ 1 เป็นแปลงที่เกษตรกรดูแลให้ปุ๋ยและพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช เมื่อพบศัตรูพืชระบาด จึงทำให้มีการระบาดของโรคน้อยกว่า สำหรับแปลงที่ 2 นั้น เกษตรกรไม่ให้น้ำและไม่มีการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ในปีที่ 1 พบโรคระบาดมากกว่าแปลงที่ 1 และเมื่อขึ้นปีที่ 2 เกษตรไม่ได้ทำการตัดแต่งกิ่ง ปล่อยให้ผลส้มโอที่เป็นโรคจุดดำค้างอยู่บนต้นและผลที่เป็นโรคจุดร่วงลงบนพื้นเป็นจำนวนมาก

ในแปลงที่ 2 พบโรคที่ใบในเดือนพฤศจิกายน 2550 – กุมภาพันธ์ 2551 และพบโรคที่ผลในเดือนพฤษภาคม –กันยายน 2551 มีความรุนแรงของโรค 5, 5, 65, 78 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทำการสำรวจติดตามการระบาดของโรคจุดดำของส้มโอครั้งที่สอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงกันยายน 2552 จากการสำรวจในแปลงที่ 1 พบโรคที่ใบในเดือนตุลาคม – มิถุนายน 2552 และพบโรคที่ผลในเดือนตุลาคม 2551 – กันยายน 2552 โดยมีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 50, 55, 80, 80, 0, 0, 0, 0, 7, 15, 30 และ 55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในแปลงที่ 2 พบโรคที่ใบในเดือนมีนาคม – มิถุนายน 2552 และพบโรคที่ผลในเดือนกรกฎาคม – กันยายน 2552 โดยมีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 5, 14 และ 18 ตามลำดับ

จากการติดตามสถานการณ์การเกิดและการแพร่กระจายของรา *Phyllosticta citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอนั้นพบการระบาดของโรคทั้ง 2 ปี การพบโรคที่ใบในช่วงเดือนตุลาคม ถึงมิถุนายน อาการที่ใบไม่รุนแรง และเมื่อนำมาแยกเชื้อพบรา *P. citricarpa* เท่ากับ 20 % , *P. mangiferae* เท่ากับ 65 % นอกนั้นเป็น การปนเปื้อนที่เกิดจากแบคทีเรีย

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ตรวจหารา *Guignardia citricarpa* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุในระยะ sexual state ของรา *Phyllosticata citricarpa* และรา *G. citricarpa* อาศัยอยู่บนเศษใบส้มโอที่

ตกอยู่ที่พื้นดิน โดยทำการเก็บเศษซากใบส้มโอมาตรวจหาเชื้อในห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองตรวจหารานี้พบรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Phomopsis* sp. ในช่วงเดือนพฤษภาคม – กรกฎาคม จากการตรวจหาเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์และแยกเชื้อไม่พบระยะ sexual state : *Guignardia citricarpa* ของ *Phyllosticta citricarpa* ในเศษใบส้มโอที่ตกอยู่ที่พื้นดินเลยในระยะเวลา 2 ปี

**4. ศึกษาชนิดของเชื้อสาเหตุ**

การศึกษาและเก็บตัวอย่างโรคจุดดำบนส้มโอพันธุ์ทองดีที่อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย เพื่อศึกษาลักษณะอาการ และการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุได้ผลดังนี้

**4.1 การแยกเชื้อโดยวิธี Tissue transplanting**

แยกเชื้อจากตัวอย่างโรคพืช โดยตัดชิ้นตัวอย่างโรคบริเวณส่วนต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาด (กว้างxยาว) 0.5 x 0.5 มิลลิเมตร จำนวน 40 ชิ้น ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายคลอร็อกซ์ 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที ล้างชิ้นส่วนของพืชในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strengh Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) หรือ Potato Dextrose Agar (PDA) โดยวางชิ้นส่วนพืช 4 ชิ้น ต่อ 1 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 25$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยเชื้อราภายใต้กล้องจุลทัศน์แบบ stereo microscope แล้วแยกเส้นใยของเชื้อบริเวณปลาย (hyphal tip) ของเชื้อราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ศึกษาลักษณะรายละเอียดของเชื้อประกอบกับเอกสารอ้างอิง เพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุต่อไป

**4.2 การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุ**

จากการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการแยกเชื้อและศึกษาลักษณะต่าง ๆ จากแผลที่มีจุดดำอยู่ตรงกลาง เมื่อตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound พบว่าจุดดำที่อยู่ตรงกลางแผล เป็น fruiting body ของราที่เรียกว่า pycnidia ซึ่งมี conidia เกิดอยู่ภายใน ผลการศึกษาการแยกเชื้อสาเหตุโรคจุดดำ โดยนำส่วนของผลส้มโอที่แสดงอาการโรคมาทำการแยกเชื้อบนอาหารสังเคราะห์ PDA จำนวนอย่างละ 40 ชิ้น พบว่าการแยกเชื้อสาเหตุโรคจากผลเบื้องต้นบนอาหาร PDA พบราที่มีโคโลนีสีเทาดำ เท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่เหลือพบการปนเปื้อนของแบคทีเรีย เนื่องจากอาจเป็นเพราะการซับชิ้นส่วนพืชไม่แห้ง หรือเกิดการปนเปื้อนจากเครื่องมือหรือเทคนิคการปฏิบัติงาน ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของราเพื่อการจำแนกชนิดมีดังนี้

ลักษณะโคโลนีของราบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 25 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1 ช) ที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส โคโลนีของราเจริญเติบโตช้ามาก โคโลนีสีเทาดำ ด้านใต้วุ้นมีสีเทาดำ ขอบโคโลนีมีลักษณะเป็น lobe (ภาพที่ 1 ซ) ราจะสร้าง pycnidia เมื่ออายุ 8-10 วัน

ลักษณะของ pycnidia ที่พบบริเวณกลางแผลบนผลส้มโอมีรูปร่างกลม สีดำ เกิดเดี่ยว ๆ หรือบางครั้งพบรวมกันเป็นกลุ่ม (ภาพที่ 1 ก) pycnidia เจริญฝังตัวอยู่ใต้เนื้อเยื่อพืช สีน้ำตาลดำ ขนาด 90-320 ไมโครมิเตอร์ มี papillate ขนาด 10-13 ไมโครมิเตอร์ (ภาพที่ 1 ข)

conidiogenous cells มีรูปทรงกระบอก (cylindrical) มีขนาด 3.5-8.0 x 2.0-3.0 ไมโครมิเตอร์ conidia เกิดอยู่ที่ปลาย conidiogenous cells

conidia มีลักษณะใส ไม่มีสี เซลล์เดียว ไม่มีผนังกั้น รูปร่าง obovate –elliptical ขนาด 8 x 12 – 6 x 8 ไมโครมิเตอร์ conidia มีเยื่อหุ้มเซลล์ล้อมรอบ มี oil drop ภายในสปอร์ ปลาย conidia มีลักษณะ truncate base (ภาพที่ 1 ค) มี apical appendage ยาวประมาณ 6-18 ไมโครมิเตอร์ (ภาพที่ 1 ง)

spermatia ใส ไม่มีสี เซลล์เดียว ไม่มีผนังกั้น รูปร่าง dumb-bell ขนาด 5 – 8 x 1-1.5 ไมโครมิเตอร์ มี oil drop อยู่ภายในเซลล์ (ภาพที่ 1 จ และ ฉ)

ผลการศึกษาการจำแนกเชื้อสาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ โดยการศึกษาลักษณะบนอาหารสังเคราะห์ PDA ได้แก่ ลักษณะของโคโลนี และลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ ได้แก่ ลักษณะของ pycnidium, conidia, microconidia หรือ spermatia ได้จำแนกราสาเหตุเป็น *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) [teleomorph: *Guignardia citricarpa* Kiely] และมีลักษณะใกล้เคียงกับรายงานของ Kiely (1949); Sutton and Waterston (1966); Punithalingam and Holliday (1975) และ Baayen *et al*. (2002) แต่ขนาดของ pycnidium, conidia และ spermatia อาจมีขนาดแตกต่างกันไปซึ่งขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอุณหภูมิ อาหารสังเคราะห์ แต่อย่างไรก็ตามลักษณะโดยทั่วไปเหมือนกัน

จากการศึกษานี้ไม่พบ perithecia และ ascospores บนใบหรือผลที่เป็นโรค และไม่พบบนอาหารสังเคราะห์เช่นกัน ได้สอดคล้องกับรายงานของ Baayen *et al*. (2002) ที่รายงานว่าเชื้อราชนิดนี้ไม่สร้าง perithecia และ ascospores บนอาหารสังเคราะห์ ซึ่งคุณสมบัตินี้สามารถนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อ เพราะราสกุลนี้บางชนิดสามารถชักนำให้ราสร้าง perithecia และ ascospores บนอาหารสังเคราะห์ได้ Baayen *et al*. (2002) ศึกษารา *Guignardia mangifera* (anamorphic state: *Phyllosticta capitalensis*) ที่แยกได้จากส้มและเป็น nonpathogenic isolate พบว่าสามารถชักนำให้ราสร้าง perithecia และ ascospores บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งราดังกล่าวนี้สามารถแยกได้จากส้มเช่นกัน แต่ความแตกต่างในการสร้าง perithecia และ ascospores บนอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นเป็นลักษณะหนึ่งที่ใช้สำหรับการแยกระหว่าง *G. mangifera* และ *G. citricarpa* แต่ไม่ได้เป็นลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนก อย่างไรก็ตามควรจะต้องมีการศึกษาจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุในระดับโมเลกุลเพื่อเป็นการยืนยันชนิดของเชื้อสาเหตุต่อไป

จากการตรวจเอกสารพบว่ารา *G. citricarpa* สร้าง perithecia และ ascospores บนใบของส้มที่ร่วงอยู่บนพื้นดิน และ ascospores นี้เป็น primary inoculum ในการเข้าทำลายใบและผลบนต้นเมื่อมีอุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม เมื่อเข้าทำลายอยู่บนใบและผลแล้วจะสร้าง conidia ภายใน pycnidia (Kiely, 1949; Baayen *et al*., 2002; McOnie, 1964) และจากการศึกษาครั้งนี้ได้เก็บใบของส้มโอที่อยู่ใต้ต้นบนพื้นในช่วงเดือนกรกฎาคม 2550 – มกราคม 2551 มาตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo พบรา *Colletotrichum* sp. เป็นจำนวนมาก ไม่พบ ascospores ของรา *G. citricarpa* ที่เป็นดังนี้เนื่องจากใบส้มที่เก็บมาส่วนใหญ่อยู่ในระยะที่เริ่มย่อยสลายแล้ว และแปลงส้มโอที่เก็บใบมานี้ใต้ต้นส้มโอมีความชื้นมากจึงพบ รา *Colletotrichum* sp. เจริญได้รวดเร็วกว่า และราสาเหตุโรคจุดดำเจริญช้า ดังนั้นจึงพบ *Colletotrichum* sp. เป็นจำนวนมากบนใบพืชที่ย่อยสลายแล้ว แต่จากการศึกษาครั้งนี้ที่ยังไม่พบ ascospores อาจจะเป็นเพราะการเก็บตัวอย่างของใบที่ย่อยสลายนั้นเป็นใบที่ถูกย่อยสลายมากแล้ว จึงพบการเข้าทำลายของรา *Colletotrichum* และไรเป็นจำนวนมาก เพราะฉะนั้นการศึกษา ascospores ของราชนิดนี้ที่พักตัวอยู่บนใบ
ที่ร่วงหล่นบนพื้นก็มีความสำคัญซึ่งต้องทำการศึกษาระยะต่าง ๆ ของใบที่ร่วงจากต้นมาตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ เนื่องจาก ascospores เป็น primary inoculum ที่เข้าทำลายใบและผลส้มโอ ทำให้ทราบช่วงระยะเวลาใดที่มีปริมาณของราสาเหตุอยู่บนพื้นดินมาก เพื่อเป็นข้อมูลและการพยากรณ์การระบาดของโรคนี้ได้ เพราะฉะนั้นการควบคุม โรคจุดดำของส้มโอที่ควรปฏิบัติในเบื้องต้นคือการเขตกรรมโดยการเก็บเศษใบไม้และผลที่ร่วงอยู่บนดินไปเผาทำลายเพื่อเป็นการลดปริมาณของ inoculum

**5. สถานการณ์ของโรคจุดดำของส้มโอในประเทศ**

จากการสำรวจโรคจุดดำบนผลส้มโอที่ จังหวัดสมุทรสงคราม ราชบุรี ตราด เชียงราย เชียงใหม่ ชุมพร นครศรีธรรมราช และสงขลา (ภาพที่ 2) ระหว่างเดือนสิงหาคม 2550 – พฤศจิกายน 2551 พบโรคจุดดำบนส้มโอพันธุ์ทองดี ที่อำเภอนครชัยศรี อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม อำเภอบางคณที จังหวัดสมุทรสงคราม อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี อำเภอเกาะช้าง จังหวัดตราด อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย อำเภอเมือง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดชุมพร อำเภอสิชล จังหวัดนครศรีธรรมราช อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา พบโรคจุดดำบนส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และพวงชมภู ที่ อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย พันธุ์จ้าวเสวย พบโรคจุดดำที่อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร และพันธุ์ทับทิมสยาม พบโรคจุดดำที่ อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช (ตารางที่ 1) โดยพบโรคจุดดำทุกแหล่งที่ทำการสำรวจ ความรุนแรงของโรคพบตั้งแต่ 1-100 จุดแผลต่อผล จากการสำรวจพบโรคมากบนผลส้มโอที่เก็บเกี่ยวเมื่ออายุมากส่วนผลที่มีอายุน้อยพบจำนวนแผลที่น้อยกว่า

**สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ**

พบการระบาดของโรคจุดดำของส้มโอที่อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2552 และสำรวจสถานการณ์โรคจุดดำพบการระบาดของโรคจุดดำที่

จังหวัดสมุทรสงคราม ราชบุรี ตราด เชียงราย เชียงใหม่ ชุมพร นครศรีธรรมราช และสงขลา ระหว่างเดือนสิงหาคม 2550 – พฤศจิกายน 2551 พบโรคจุดดำบนส้มโอพันธุ์ทองดี ที่อำเภอนครชัยศรี อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม อำเภอบางคณฑี จังหวัดสมุทรสงคราม อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี อำเภอเกาะช้าง จังหวัดตราด อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย อำเภอเมือง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดชุมพร อำเภอสิชล จังหวัดนครศรีธรรมราช อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา พบโรคจุดดำบนส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และพวงชมภู ที่ อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย พันธุ์จ้าวเสวย พบโรคจุดดำที่อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร และพันธุ์ทับทิมสยาม พบโรคจุดดำที่ อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช

**เอกสารอ้างอิง**

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 285 หน้า.

Baayen, R.P., P.J.M. Bonants, G. Verkley, G.C. Carroll, H.A. van dew Aa, M. de Weerdt, I.R. van Brouwershaven, G.C. Schutte, W. Maccheroni Jr., C. Glienke de Blancoand J.L. Azevedo. 2002. Nonpathogenic isolates of the Citrus Black Fungus, Guignardia *citricarpa*, identified as a cosmopolitan endophyte of woody plants, *G. mangiferae* (*Phyllosticta capitalensis*). Phytopathology 92 (5): 464-477.

European Union. 2000. Special requirement of import plants, plant products and other object originating in third countries. Office Journal of European Community 169: 44-45.

Hartman, J.R., L. Parisi and P. Bautrais. 1999. Effect of leaf wetness duration, temperature, and conidial inoculum dose on apple scab infections. Plant Disease 83: 531-534.

Kiely, T.B. 1949. Black spot of citrus in New South Wales coastal orchards. Agricultural Gazette of New South Wales 60: 17-20.

Korf J.M., G.C. Schuttle, J.M. Kotz. 2001. Effect of packhouse produces of the viability of *Phyllosticta citricarpa*, anamorph of the black spot pathogen. African Plant Protection, 7:103-109.

Kotzé, J.M. 1981. Epidemiology and control of citrus black spot in South Africa. Plant Disease 65 (12): 945-950.

Miles, A.K., S.L. Willingham and A.W. Cooke. 2004. Field evaluation of strobilurins and a plant activayor for the control of citrus black spot. Australasian Plant Pathology, Vol. 33(3): 371-378.

McOnie, K.C., 1964. Source of inoculum of *Guignardia citricrapa*, the citrus black spot pathogen. Phytopathology 54: 64-67.

Mondal, S.N. and L.W. Timmer. 2002. Environmental factors affecting pseudothecial development and ascospore production of *Mycosphaerella citri*, the causal of citrus greasy spot. Phytopathology 92: 1267-1275.

Pinkerton, J.N., K.B. Johnson, J.K. Stone and K.L. Ivors. 1998. Factors affecting the release of ascospore of *Anisogramma anomala*. Phytopathology 88: 122-128.

Punithalingam, E and P. Holliday. 1975. *Guignardia musae*. No. 467 *In:* CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institue. Ferry Lane, Kew, Surrey, UK.

Renato F.R., L.W. Timmer and A de Goes. 2006. Effect of Temperatures, leaf wetness, and rainfall on the production of *Guignardia citricarpa* ascospores and on black spot severity on sweet orange. Fitopathol. Bras. 31 (1): 29-34.

Schutte,G.C., R.I. Mansfield, H. Smith and K.V. Beeton. 2003. Application of azoxystrobin for control of benomyl-resistant Guignadia citricarpa on Valencia oranges in South Africa. Plant Dis. 87 : 784-788.

Sutton, B.C and J.M Waterson. 1966. *Guignardia citricarpa*. No. 85 *In*: CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institue. Ferry Lane, Kew, Surrey, UK.

Timmer, L.W. and L.W.Duncan. 1999. Citrus Health Mangement. APS Press The American Phythopathological Soc. St. Paul, Minnesota, USA. 197 pp.

Vincent, A.W. 1952. The black spot disease of citrus in South Africa Science Bulletin. No. 303. 52 pp.

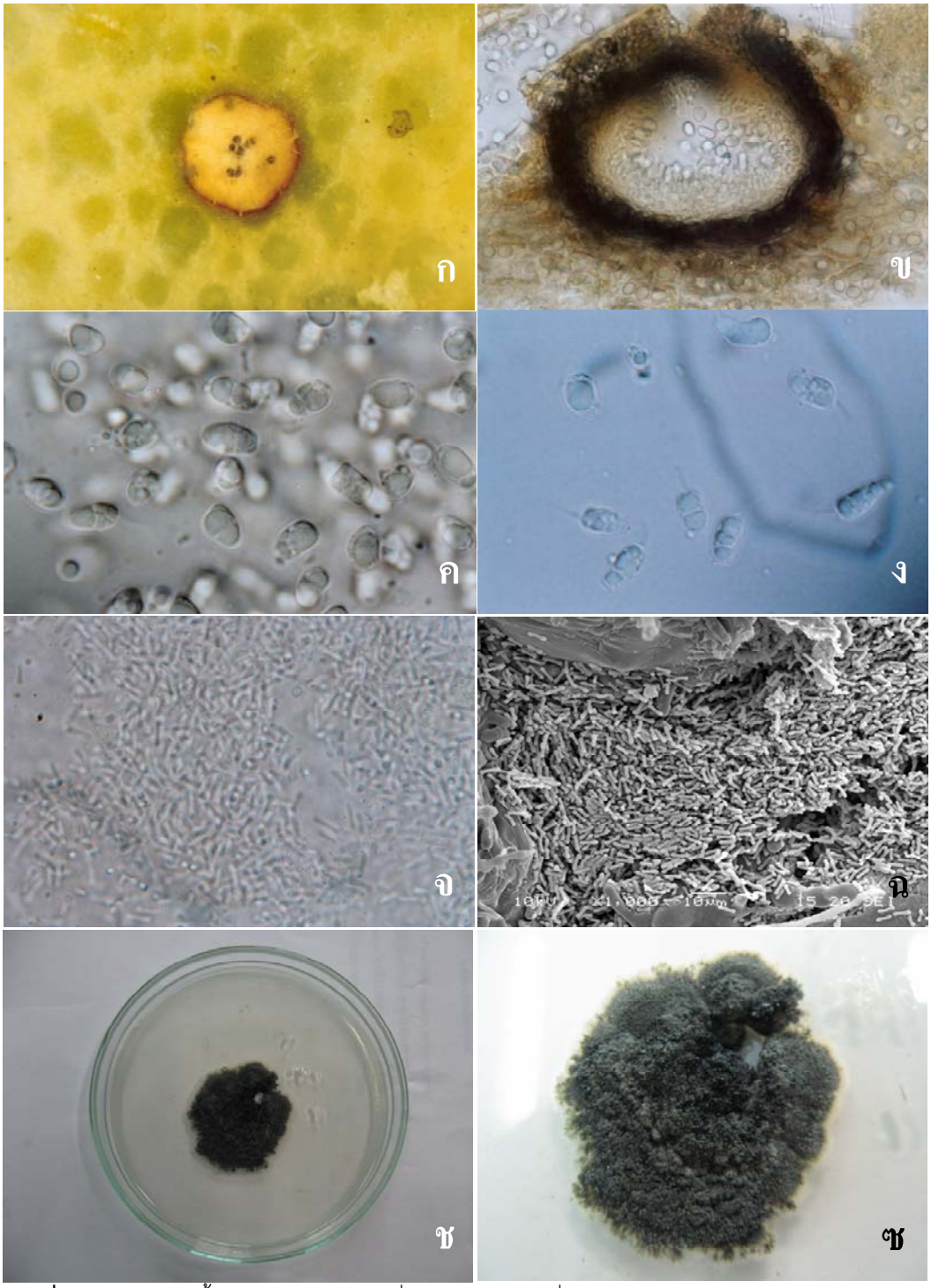
Wild, B.L. 1981. The effects of waxing citrus fruit. Rural Newsletter, 79:14-19.

Whiteside, J.O., S.M.Garnsey and L.W. Timmer. 1988. Compendium of Citrus Diseases. APS Press The American Phytopathological Soc. St. Paul. Minnesota, USA. 80 pp.

**ภาคผนวก**

**ตารางที่ 1** ส้มโอพันธุ์ต่างๆ ในแหล่งปลูกส้มโอที่พบโรคจุดดำ จากการสำรวจในระหว่างเดือนสิงหาคม 2550 – พฤศจิกายน 2551

| พันธุ์ส้มโอ | จังหวัด |
|---|---|
| ทองดี | อ. นครชัยศรี อ. สามพราน จ. นครปฐม |
| ทองดี | อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี |
| ทองดี | อ. บางคณฑี จ. สมุทรสงคราม |
| ทองดี | อ. เกาะช้าง จ. ตราด |
| ทองดี | อ. เวียงแก่น จ. เชียงราย |
| ทองดี | อ. แม่ริม อ. เมือง จ. เชียงใหม่ |
| ทองดี | อ.เมือง จ.ชุมพร |
| ทองดี | อ.สิชล จ.นครศรีธรรมราช |
| ทองดี | อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา |
| ขาวใหญ่ | อ. เวียงแก่น จ. เชียงราย |
| พวงชมภู | อ. เวียงแก่น จ. เชียงราย |
| จ้าวเสวย | อ.ท่าแซะ จ.ชุมพร |
| ทับทิมสยาม | อ.ปากพนัง จ.นครศรีธรรมราช |




**ภาพที่ 1** ลักษณะของเชื้อรา *P. citricarpa* ที่แยกจากผลส้มโอที่เป็นโรคจุดดำ

ก) ลักษณะแผล Hard spot ที่มี pycnidia สีดำอยู่กลางแผล ข) pycnidia 400X

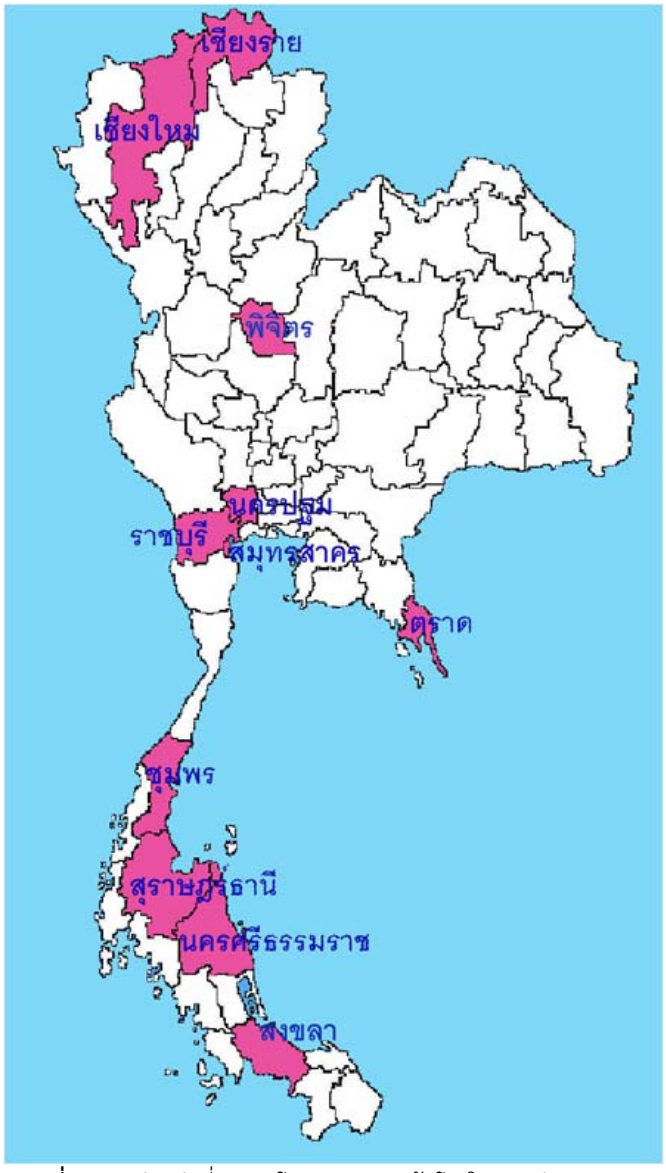
ค) Conidia 1000X ง) conidia มีเยื่อหุ้มและมีหาง (apical appendage) 1000X

จ) Spermatia รูปร่างแบบ dumb-bell shape 1000X

ฉ) spermatia จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน 1000X

ช) โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30$\pm$2 ℃

ซ) ขอบของโคโลนีมีลักษณะขรุขระ




**ภาพที่ 2** จังหวัดที่สำรวจโรคจุดดำของส้มโอ ในระหว่างเดือนสิงหาคม 2550 – พฤศจิกายน 2551 (พื้นที่สีชมพูเป็นจังหวัดที่พบโรคจุดดำ)