

# อนุกรมวิธานของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ของมะเขือเทศ และความสามารถในการทำให้เกิดโรค

## Taxonomic Studies on the Causal Fungus of Tomato Leaf Blight and Pathogenicity Test

ไพโรจน์ จ้วงพานิช และ นพพร อุบลบาน

Pairoj Juangbhanich and Nopporn Ubolbarn

ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

### ABSTRACT

*Stemphylium solani* Weber is a causal agent of leaf blight disease of tomato in Thailand. The disease was noticed through gray spotted lesions appearing on the leaves which turned to larger necrotic reddish tissue. The conidia of this fungus are muriform, oblong or cylindrical with one constriction at the center. Some conidia are pointed at apical end and having smooth or somewhat rough outer wall. Their size is  $33.7-52.5 \times 15.0-22.5$  microns. The conidia are formed singly at the swollen apex of a simple conidiophore, the length of which is  $85.0-228.0$  microns. The fungus sporulated sparsely on some culture media. However, profuse growth and conspicuous production of conidia were obtained at 25 C. under fluorescent light on V-8 juice agar medium (20-24% V-8 juice), pH 6.0.

Pathogenicity test on tomato leaves showed that conidial suspension at a concentration of  $10^3$  conidial per ml. produce symptoms on cv. Roma within 2 weeks. In cross inoculations onto 20 species of plants *Solanum melongena* Linn. (egg plant) and *S.xanthocarpum* Sch. & Wendl. were infected.

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ปลูกกันมากในจังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง เพชรบูรณ์ นครราชสีมา นครปฐม และกรุงเทพมหานคร การเพาะปลูกในท้องถิ่นดังกล่าว มักจะประสบปัญหาโรคใบจุดใบไหม้ ทำความเสียหาย อันเป็นผลให้ผลผลิตลดลง จากรายงานการสำรวจโรคของมะเขือเทศ กล่าวว่าโรคที่มีอาการใบไหม้ ระบาดทำความเสียหายร้ายแรงกับมะเขือเทศพันธุ์ต่าง ๆ ในทุกระยะการเจริญเติบโตนั้นเกิดจากเชื้อ *Stemphylium solani* Weber และ *Macrosporium lycopersicon* Plow (1,3) ในประเทศสหรัฐอเมริกา มีรายงานความเสียหายที่เกิดกับโรคนี้อย่างกว้างขวางในรัฐฟลอริดา จากเชื้อรา *Stemphylium floridanum* sp. nov. และที่พบในรัฐจอร์เจีย แท็กซัส อินเดียนา โอไฮโอ และหมู่เกาะฮาวาย มีอาการใบจุดสีเทาและใบไหม้ว่าเกิดจากเชื้อ *S. solani* Weber ส่วนในประเทศอิสราเอล

ได้รายงานว่าเกิดจากเชื้อ *S. botryosum* (9) จากรายงานลักษณะอาการของโรคที่พบในประเทศต่าง ๆ นั้น มีเชื้อสาเหตุที่มีชื่อแตกต่างกัน และรายละเอียดของอาการก็ผิดเพี้ยนกันไปบ้าง สำหรับการศึกษาในประเทศไทยนั้น ก็ยังไม่มีรายละเอียดแน่ชัด จึงสมควรศึกษาเพิ่มเติมลักษณะอาการของโรคนี้ เพื่อทราบชื่อเชื้อสาเหตุของโรค และความสามารถของเชื้อในการทำให้เกิดโรคกับพืชอื่น ๆ

การจำแนกเชื้อราออกเป็นสกุล *Stemphylium* นั้น Simon (10) และ Ellis (5) ได้อธิบายรายละเอียดว่าโคโลนีของเชื้อ ฟู มีสีเทา น้ำตาล หรือเขียวมะกอกคล้ายกำมะหยี่ เส้นใยเจริญบนผิวและลึกลงไปในอาหาร ก้าน conidia โดกว่าเส้นใย ผ่นเรียบหรือขรุขระเล็กน้อย จนถึงหยาบขรุขระมาก อาจอเล็กน้อย ส่วนปลายจะ

พองออก ผนังปลายสุดบาง ให้เซลล์ภายในดันออกมาทางช่องเปิด เกิดเป็น conidia เดี่ยว ๆ ติดอยู่ที่ปลายก้าน หรืออาจเกิดเป็นก้าน conidia ซ้ำอีกได้ ที่ช่องเปิดนี้ conidia มีลักษณะแฉ่ง มีรูปร่างได้หลายแบบ เช่น รูปไข่ ทรงกระบอก ส่วนล่างกว้างกว่าส่วนบน ทรงกลม หรือค่อนข้างเหลี่ยม จนถึงรูปร่างไม่แน่นอน มีรอยคอดหนึ่งแห่งหรือมากกว่า ปลาย conidia มีลักษณะกลมมน หรือแหลมยื่นออกมาตามแต่ชนิด สีเข้มกว่าก้าน conidia เช่น น้ำตาลแกมเขียว หรือน้ำตาลดำ ผนังเรียบถึงขรุขระเล็กน้อย บางชนิดขรุขระมาก

Neergaard (8) ได้จำแนกชนิดของ *Stemphylium* โดยพิจารณาจากความยาวของก้าน conidia รูปร่าง ขนาด ผนังเรียบหรือขรุขระ และรอยคอดบน conidia หากเชื้อมีก้าน conidia ยาวมากกว่า  $100\ \mu$  conidia ผิวขรุขระ มีรอยคอด 2–3 แห่ง รูปทรงกระบอก บางอันมีปลายแหลม จะจัดอยู่ใน *S. floridanum* แต่ถ้า conidia มีผิวเรียบ มีรอยคอดเพียงแห่งเดียวจัดอยู่ใน *S. solani* ส่วนพวกที่มีก้าน conidia สั้น ๆ ยาวไม่เกิน  $100\ \mu$  conidia มีรูปร่างได้หลายแบบ ผิวหยาบขรุขระ มีรอยคอดเพียงอันเดียว จะจัดไว้ใน *S. botryosum*

ในสหรัฐอเมริกา Weber (12) ได้รายงานโรคใบจุดสีเทาที่เกิดกับมะเขือเทศพันธุ์ Marglobe ว่าเกิดจากเชื้อ *S. solani* โดยมีอาการแผลใบจุดเล็ก ๆ สีเทา หรือน้ำตาลดำ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผล  $0.1-2.0$  มม. อาการที่รุนแรงอาจถึง  $4$  มม. หรือมากกว่านั้น พบเป็นกับใบแก่ได้ดีกว่าใบอ่อน แผลมีรอยแตกตรงกลาง ก้าน conidia มีขนาด  $130-200 \times 4-7\ \mu$  มีสีน้ำตาล เข้มถึงดำ มีผนังกัน ที่ปลายก้านพองโตออก เป็นที่เกิดของ conidia ซึ่งเป็นแบบ muriform สีเข้ม รูปไข่ หรือค่อนข้างเหลี่ยม ปลายกลมมน บางครั้งมีปลายแหลม มีผนังกันทั้งตามยาวและตามขวาง แบ่งเป็นหลายเซลล์ มีรอยคอดประมาณกลาง conidia หนึ่งแห่ง conidia มีขนาด  $40-50 \times 20-30\ \mu$  เฉลี่ยประมาณ  $48.08 \times 22.43\ \mu$

เชื้อ *S. solani* สร้าง conidia ได้ดีในการเลี้ยงบนอาหาร V-8 juice agar ที่มี V-8 juice 12–20 เปอร์เซ็นต์ pH 4.1–9.1 อุณหภูมิ 20–30 °C. และเปิดให้รับแสง

312–546 (nm) เป็นเวลา 5 นาที (4) และ Rotem (9) ได้พบ perithecium ของเชื้อ *S. botryosum* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแผลใบจุดสีน้ำตาลของมะเขือเทศในประเทศอิสราเอล ด้วยการเลี้ยงบนอาหาร NA (nutrient agar) ที่อุณหภูมิ 25 °C. อายุหนึ่งสัปดาห์ และย้ายไปเก็บที่อุณหภูมิ 20 °C. อีกสองสัปดาห์

ในการทดสอบความสามารถของเชื้อ *S. solani* ที่ทำให้เกิดโรคใบจุดของมะเขือเทศกับพืชต่าง ๆ Weber (12) ได้พบว่าโรคจะแสดงอาการให้เห็นเป็นจุดเล็ก ๆ หลังจากฉีดพ่นเชื้อด้วย conidial suspension แล้วเป็นเวลา 4 วัน และเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วโดยใบพืชจะเริ่มมีสีเหลืองลู่ลงและเหี่ยวแห้งร่วงหล่นไปในที่สุด จากการทดสอบกับพืชอื่น ๆ ในวงศ์ Solanaceae ได้แก่ ฟริก มะเขือยาว มะเขือเปราะ และ *Physalis pubescens* ด้วยวิธีการอย่างเดียวกัน ปรากฏว่าพืชจะแสดงอาการโรคอย่างเดียวกัน ส่วน Graham (6) ได้รายงานว่าเชื้อ *S. solani* ที่แยกได้จากโรคใบจุดของมะเขือเทศนี้ จะเกิดโรคได้ดีเฉพาะกับมะเขือเทศเท่านั้น แต่ *S. solani* ที่แยกได้จาก blue lupine นั้น จะทำให้เกิดโรคได้ดีกับ blue lupine และเกิดโรคได้เล็กน้อยกับมะเขือเทศ

## อุปกรณ์และวิธีการ

พืชที่ใช้ทดลองเป็นพืชที่มีการเจริญงอกงามตามปกติ อายุประมาณ 6–7 สัปดาห์ ปลูกในกระถางดินเผาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว สูง 4 นิ้ว โดยใช้ดินที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อด้วย methyl bromide และปล่อยให้แห้งสองสัปดาห์ กระถางละหนึ่งต้น เก็บไว้ในเรือนกระจก ให้น้ำแก่พืชวันละ 2 ครั้ง เช้า–เย็น ด้วยน้ำประปา

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตลอดการทดลองปรับให้มี pH 7 ยกเว้นอาหารที่ได้บอกไว้เป็นอย่างอื่น การวัดความเป็นกรด–ด่างของอาหารใช้ pH meter (Beckman Zeromatic SS<sub>3</sub>) โดยปรับระดับ pH ด้วย NaOH และ HCl เข้มข้น 1 N. ภายหลังการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วด้วยความดันไอน้ำที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาทีก็บรรจุลงในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. จานละ 20 มล.

การเตรียม inoculum ของเชื้อที่ใช้ตลอดการทดลองครั้งนี้ ได้จากเลี้ยงบนอาหาร V-8 juice agar ที่อุณหภูมิห้องปกติ  $29 \pm 4$  ช. เป็นเวลา 9 วัน แล้วใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ตัดส่วนปลายของเส้นใยพร้อมทั้งวันที่ขอบของโคโลนีโดยรอบออกเป็นชิ้นกลม ๆ แต่ละชิ้นที่ได้นี้คือ inoculum

การเจริญเติบโตของเชื้อบนอาหาร ได้จากการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี ส่วนการตรวจจำนวน conidia ที่เชื้อสร้างขึ้น ได้จากการประมาณค่าเฉลี่ยด้วยการนับ conidia ใน conidial suspension บนสไลด์ที่ปิดด้วย cover glass ต่อหนึ่งพื้นที่ของกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 150 เท่า จำนวน 5 ครั้ง

การเตรียม conidial suspension ตลอดการทดลอง โดยใช้ฟุ้งกันสะอาดลูบผิวหน้าเบา ๆ ในน้ำกลั่น แล้วรินออกจากจานเลี้ยงเชื้อ ไปรวมกันในขวดแก้ว นำไปเข้าเครื่องเขย่าที่ 50-100 ครั้งต่อนาที ประมาณ 20 นาที ให้แยกกระจายออกจากกันโดยสม่ำเสมอ

**การแยกเชื้อบริสุทธิ์** นำใบมะเขือเทศที่เป็นโรคใบจุดใบไหม้ จากแปลงปลูกของภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มาแยกเชื้อโดยวิธี tissue transplant โดยตัดส่วนของใบพืชบริเวณที่เป็นโรคต่อกับเนื้อเยื่อปกติเป็นชิ้นเล็กขนาด  $2 \times 4$  มม. นำไปแช่น้ำยา clorox 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1-2 นาที แล้วย้ายไปวางบน PDA (potato dextrose agar) ในจานเลี้ยงเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3-4 วัน เพื่อรอให้เส้นใยของเชื้อราเจริญออกมารอบ ๆ ชิ้นส่วนของพืช แล้วย้ายชิ้นอาหารที่มีเส้นใยเจริญเติบโตไปเลี้ยงบนอาหาร PDA และ V-8 juice agar ในหลอดเลี้ยงเชื้อต่อไป เมื่อเชื้อเจริญแล้วก็นำมาแยก single conidium โดยการหยด conidial suspension บน WA (water agar) ใช้แท่งแก้วที่สนไฟฆ่าเชื้อแล้วเกลี่ยกระจายเต็มผิวหน้าวัน เลือกทำเครื่องหมาย conidia เดี่ยว ๆ ได้จากเลี้ยงเชื้อด้วย stereoscopic microscope ใช้เข็มเย็บตัดไปเลี้ยงบนจานเลี้ยงเชื้อใหม่ แล้วตัดปลายเส้นใยเลี้ยงใน V-8 juice agar ที่อุณหภูมิห้องปกติ ( $29 \pm 4$  ช.) เพื่อให้สร้าง conidia ตามที่ Diener (4) แนะนำไว้ และเก็บเชื้อไว้ศึกษา

**สัณฐานวิทยาของเชื้อ** เลี้ยงเชื้อบน V-8 juice agar

เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 ช. อายุ 7 วัน แล้วจึงนำมาตรวจลักษณะต่าง ๆ ของโคโลนีด้วยกล้อง stereo microscope ศึกษารายละเอียด ลักษณะรูปร่างและวัดขนาดของก้าน conidia และ conidia ด้วยการ mount เชื้อราในน้ำกลั่นบนสไลด์ปิดทับด้วย cover glass ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้ไมโครมิเตอร์วัดขนาดและหาค่าเฉลี่ยจากการวัด 100 ครั้ง

การงอกของ conidia ทดสอบให้งอกบนอาหารวันและในน้ำกลั่น โดยการหยด conidial suspension บนผิวหน้าอาหาร PDA และ V-8 juice agar เกลี่ยให้กระจายเต็มผิวหน้าวัน ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ 30 นาที อีกส่วนหนึ่งให้งอกในน้ำกลั่นโดยการหยด conidial suspension บนแผ่น cellophane กลม ๆ ที่วางบนใบมะเขือเทศ ในสภาพชื้นอยู่ตลอดเวลา เมื่อถึงเวลาตรวจสอบยกมาเฉพาะแผ่น cellophane วางบนสไลด์ หยด lactophenol ให้ท่วม ปิดทับด้วย cover glass ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ 30 นาที

**สรีรวิทยาของเชื้อ** เปรียบเทียบการเจริญเติบโตบนอาหารชนิดต่าง ๆ รวม 9 ชนิด เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Stemphylium* ทำ 5 ซ้ำ ตรวจผลหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 ช. เป็นเวลา 7 วัน

การเตรียมอาหารใช้วันผงอย่างดี 12 กรัม ผสมกับอาหารต่าง ๆ ตามสูตรของ Tuie (11) แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

PDA, V-8 juice agar, oat meal agar, tomato agar (เตรียมขึ้นเอง โดยใช้ น้ำคั้นจากใบมะเขือเทศสด ๆ 200 กรัม), corn meal agar, NA, malt agar, Czapek's solution agar, และ WA

การทดลองเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของราบนอาหารที่มีระดับ H-ion ต่าง ๆ กัน โดยใช้อาหาร V-8 juice agar ที่ปรับ pH หลังจากหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

การทดลองเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของราที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในอาหาร V-8 juice agar โดยปลูกเชื้อด้วย inoculum ที่เตรียมไว้ตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารบรรจุอยู่ เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างระดับกันตั้งแต่

5–40 ช. โดยให้ช่วงห่างกันช่วงละ 5 ช. ดังนี้ 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, และ 40 ช. รวม 8 ระดับ เป็นเวลา 7 วัน

การทดลองเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของราบน V-8 juice agar ที่มีเปอร์เซ็นต์ V-8 juice ในระดับต่าง ๆ กัน 8 ระดับ คือ 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 และ 64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปลูกเชื้อด้วย inoculum ที่เตรียมไว้ตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารบรรจุอยู่ เก็บไว้ที่ 25 ช. นาน 7 วัน

การทดลองเกี่ยวกับอิทธิพลของแสงต่อการเจริญเติบโตและการสร้าง conidia ของเชื้อ ทดลองโดยเลี้ยงเชื้อบน V-8 juice agar ปลูกเชื้อด้วย inoculum ที่เตรียมไว้ตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารบรรจุอยู่ แบ่งเก็บจานเลี้ยงเชื้อออกเป็น 2 ชุด คือ ชุดแรก ใส่ไว้ในกล่องพลาสติกใส วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $24 \pm 4$  ช.) โดยได้รับแสงปกติตามสภาพของห้องปฏิบัติการ โดยห่อด้วยกระดาษตะกั่ว ให้มืดชดก่อนใส่กล่อง และไม่ห่อกระดาษตะกั่วใส่กล่อง ชุดที่สอง ใส่ไว้ในกล่องพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 ช. ที่มีแสงจาก daylight fluorescent (430–560 nm) สว่าง 12 ชั่วโมง และมีมืด 12 ชั่วโมง โดยห่อด้วยกระดาษตะกั่วให้มืดชดก่อนใส่กล่อง และไม่ห่อกระดาษตะกั่วใส่กล่อง

การทดลองเลี้ยงเชื้อเพื่อให้สร้าง perithecium บนอาหารต่าง ๆ กัน คือ PDA, NA, corn meal agar, oat meal agar และ malt agar โดยปลูกเชื้อตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารบรรจุอยู่ด้วย inoculum เก็บไว้ที่ 25 ช. นาน 1 สัปดาห์ และต่อด้วย 20 ช. นาน 2 สัปดาห์ ตามวิธีการของ Rotem (9)

### การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคกับมะเขือเทศและพืชอื่น

นำมะเขือเทศพันธุ์ Roma ที่เตรียมไว้ทั้ง 25 ต้น มีขนาดและความสมบูรณ์เท่าเทียมกัน แบ่งมะเขือเทศออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 5 ต้น รวม 25 ต้น กลุ่มแรกใช้เป็น control ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นแทน conidial suspension ส่วนที่เหลืออีก 4 กลุ่ม ปลูกเชื้อโดยฉีดพ่นด้วย conidial suspension ปริมาณ  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $5 \times 10^4$  และ

$10^5$  โคนิเดียต่อหนึ่ง มล. ตามลำดับ การฉีดพ่นเชื้อต้องให้ชุ่มโชกทั้งด้านบนใบและด้านใต้ใบ คลุมด้วยถุงพลาสติกใสขนาดใหญ่ 48 ซม. เพื่อให้พืชได้รับความชื้นสูง รดน้ำวันละ 2 ครั้ง เข้า-เย็น การทดลองทำในเรือนกระจก ซึ่งมีอุณหภูมิ  $31 \pm 5$  ช. และความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 40–50 เปอร์เซ็นต์ ตรวจสอบผลการทดลองทุกวัน

Conidial suspension ของเชื้อ เตรียมได้จากการเลี้ยงบนอาหาร V-8 juice agar, pH 6.5 ที่ 25 ช. อายุ 12 ถึง 14 วันด้วยน้ำกลั่น ตามวิธีที่กล่าวแล้ว ประมาณการตรวจนับโคนิเดียด้วย haemocytometer เพื่อให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการ

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับพืชอื่น ๆ ซึ่งเป็นพืชที่มักพบปลูกอยู่ในบริเวณเดียวกันหรือใกล้เคียงกับการปลูกมะเขือเทศในไร่ จำนวน 20 ชนิด ได้แก่

พืชใน Family Solanaceae จำนวน 5 ชนิดคือ มะเขือเปราะ (*Solanum xanthocarpum* Schord & Wendl) มะเขือยาว (*Solanum melongena* Linn.) พริก (*Capsicum* sp.) พริกชี้ฟ้า (*Capsicum frutescens* Linn.) และยาสูบ (*Nicotiana tabacum* Linn.)

พืชใน Family Leguminosae จำนวน 3 ชนิดคือ ถั่วฝักยาว (*Vigna sinensis*) ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* Linn.) ถั่วเหลือง (*Glycine max* Merr.)

พืชใน Family Cucurbitaceae จำนวน 3 ชนิด คือ ฟักทอง (*Cucurbita moshata* Duchne) แตงกวา (*Cucumis sativus* Linn.) และแตงเทศ (*Cucumis melo* Linn. var. *cantalupensis* Naud.)

พืชใน Family Umbelliferae จำนวน 3 ชนิด คือ แครอท (*Daucus caroto* Linn.) คื่นฉ่าย (*Apium graveolens* Linn.) และผักกาดหัว (*Raphanus sativus* Linn.)

พืชใน Family Compositae จำนวน 1 ชนิดคือ บานชื่น (*Zinnia elegans* Jacq.)

พืชใน Family Cruciferae จำนวน 3 ชนิด คือ ผักกาดหอม (*Lactuca sativus* Linn.) คะน้า (*Brassica oleracea* Linn.) และผักกาดเขียวปลี (*Brassica juncea* (L.) Coss.)

พืชใน Family Liliaceae จำนวน 2 ชนิด คือ กระเทียม (*Allium ascalonicum* Linn.) และหอมเล็ก (*Allium ascalonicum* Linn.) ปลุกเชื้อภายหลังจากการตรวจสอบผลการทดลองชุดแรกกับมะเขือเทศพันธุ์ Roma โดยใช้ conidial suspension ในอัตราที่ให้ผลดีที่สุดในการทำมะเขือเทศเป็นโรค จากการทดลองข้างต้นบนพืชทุกชนิด ๆ ละ 5 ต้น ที่เหลือชนิดละ 1 ต้น ไว้เป็น control โดยฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นแทน conidial suspension การดูแลรักษาทำเช่นเดียวกันกับมะเขือเทศทุกประการ

### ผลการทดลอง

#### อนุกรมวิธานของเชื้อ

เชื้อราที่แยกได้จากแผลใบไหม้บนใบมะเขือเทศที่ผ่านการพิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch ว่าเป็นเชื้อสาเหตุโรคแล้วและมีลักษณะอาการเหมือนเดิม (รูปที่ 1) พบว่าเป็นเส้นใยที่มีผนังกัน ขยายพันธุ์โดยการสร้างโคนิเดียเดี่ยว ๆ สีนํ้าตาลบนส่วนปลายสุดของก้านโคนิเดียเดี่ยว ๆ และสีจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นเข้มขึ้นเมื่อแก่ ลักษณะโคนิเดียเป็นรูปทรงกระบอก มีผนังกันทั้งตามยาวและขวาง แบ่งออกเป็นหลายเซลล์ ตรงผนังกันประมาณกลางโคนิเดียจะมีรอยคอด 1 แห่ง ส่วนปลายกลมมน แต่ก็จะมีบางอันที่แหลมยื่นออกมา ขนาดโคนิเดียที่วัดได้  $43.97 \times 18.05$  ไมครอน และก้านโคนิเดียขนาด  $143.28 \times 5.73$  ไมครอน

การจำแนกชนิดของเชื้อรานี้อาศัยตามหลักของ Neergaard (8) ประกอบด้วยหลักการของ Ellis (5) และ Simmon (10) ปรากฏว่ารานี้มีลักษณะตรงกับรา *Stemphylium solani* Weber

#### ลักษณะวิทยาของเชื้อ

**เส้นใย** บนอาหาร V-8 juice agar ขณะยังอ่อนอยู่มีสีขาวฟูแต่เมื่อมีอายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มจนเกือบดำ เมื่อนำไปตรวจภายใต้ stereo microscope จะเห็นโคนิเดียมากมายและเมื่อนำไป mount บนสไลด์ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 X จะเห็นเส้นใยมีผนัง 2 ชั้น อย่างชัดเจน ผนังเรียบ มีผนังกัน เมื่อลดกำลังขยายลงมาเป็น 400 X จะเห็นเส้นใยสีน้ำตาลอ่อน ๆ แตกกิ่งก้านสาขามากมาย เส้นใยที่ยังอ่อนอยู่จะไม่มียีสหรือสีจางมาก (hyaline-subhyaline) และเมื่อแก่

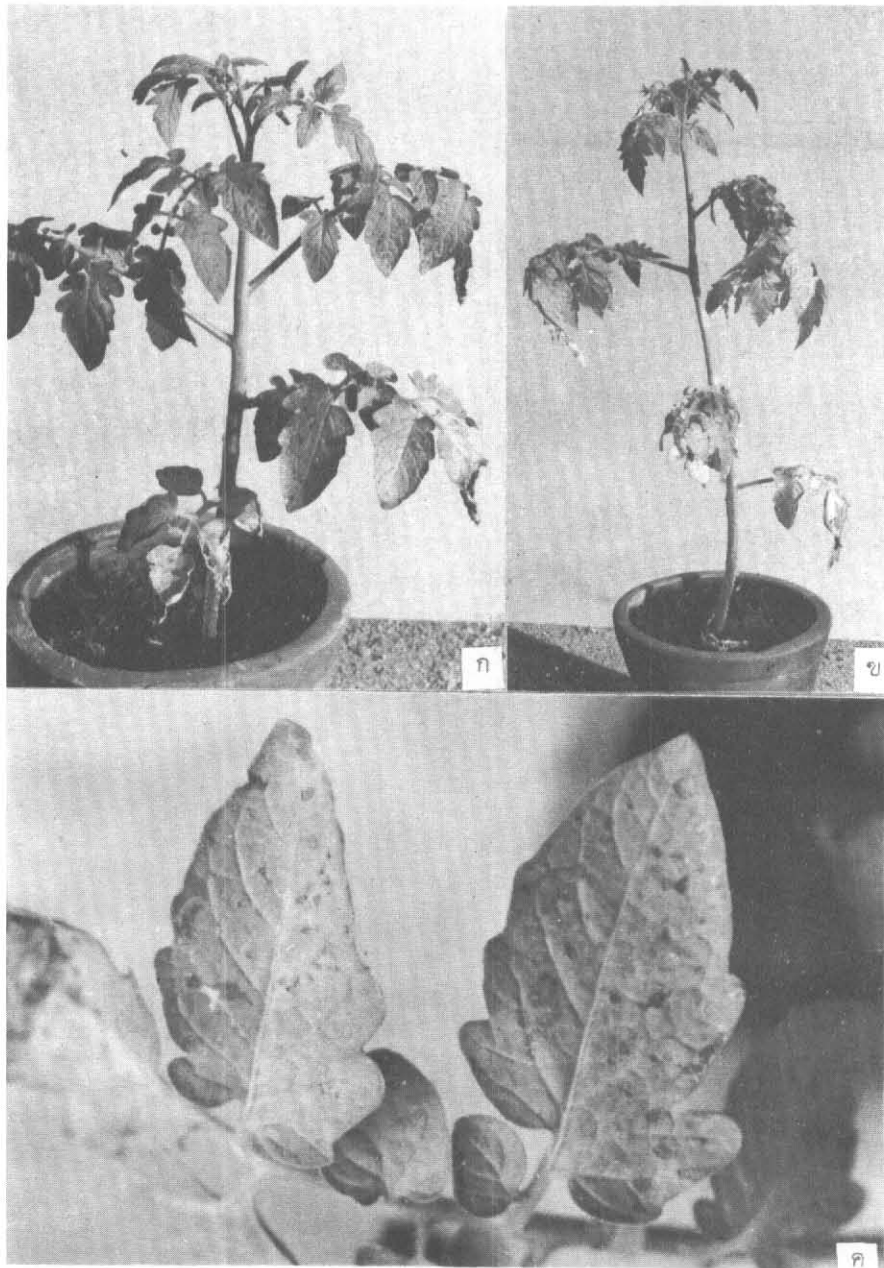
จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มขึ้น มีผนังกันเห็นได้ชัด เส้นใยอายุ 7 วัน มีเซลล์ขนาดประมาณ  $2.75-5.83 \times 18.50-65.00$  ไมครอน ขนาดโดยเฉลี่ย  $3.75 \times 28.42$  ไมครอน

**ก้านโคนิเดีย** มีผนังกัน 5-8 แห่ง โดยเฉลี่ย 6 แห่ง ผนังเรียบลักษณะตรงไม่แตกกิ่งก้านสาขา มีสีน้ำตาลอ่อน เมื่อแก่จะมีสีเข้มขึ้น ส่วนปลายก้านโคนิเดียจะโป่งออกเป็นที่เกิดของโคนิเดียเดี่ยว ๆ จากการวัดขนาดด้วยไมโครมิเตอร์ จำนวน 100 ก้าน มีขนาด  $85.0-228.0 \times 4.5-7.5$  ไมครอน โดยเฉลี่ยประมาณ  $143.28 \times 5.73$  ไมครอน และขนาดของความกว้างของเซลล์ส่วนปลายที่พองโต  $5.5-8.3$  ไมครอน โดยเฉลี่ย  $7.20$  ไมครอน (รูปที่ 2 ก.)

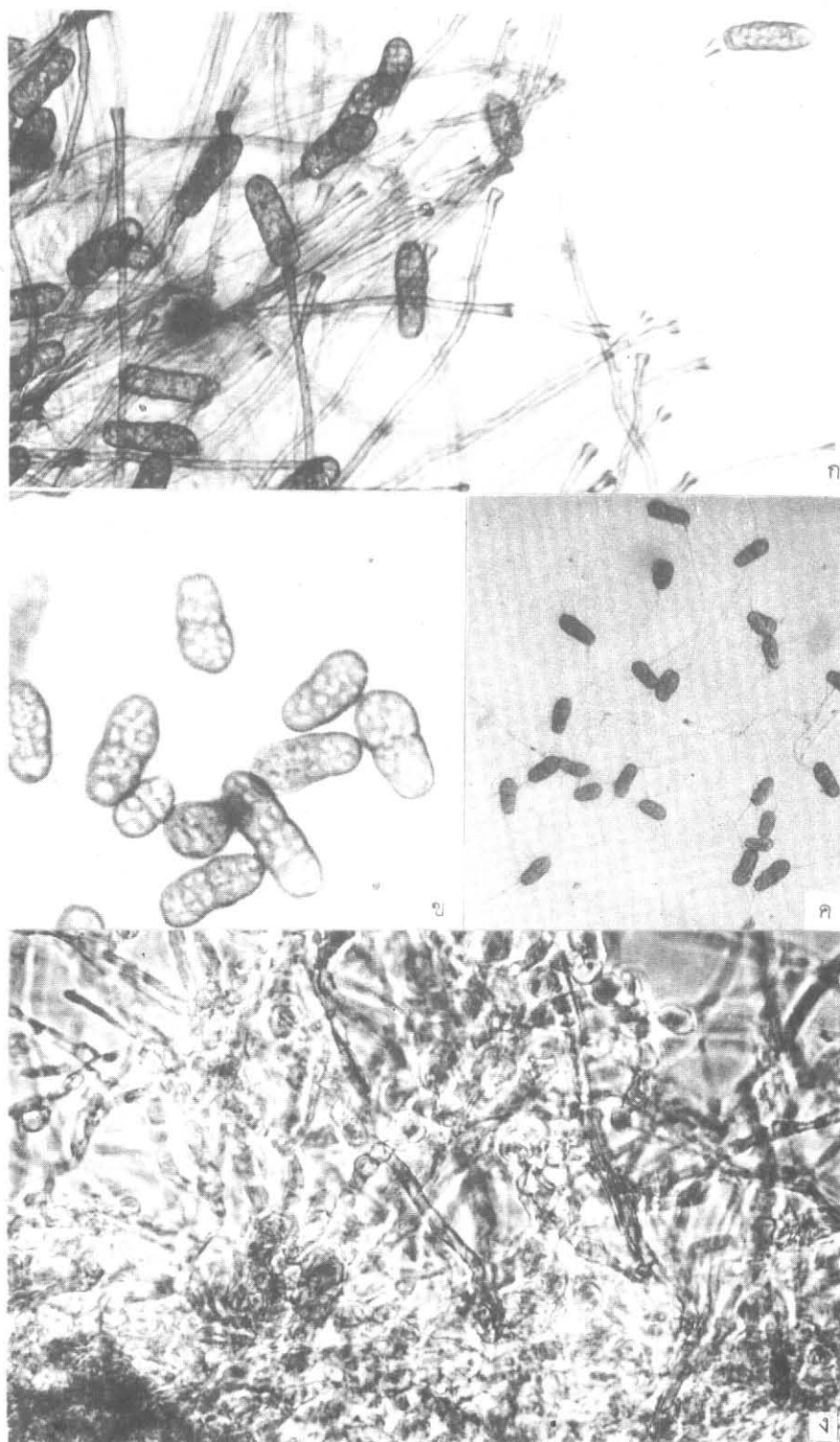
**โคนิเดีย** เกิดเดี่ยว ๆ ที่ปลายก้าน รูปทรงกระบอกปลายมน บางอันปลายแหลม มีทั้งผนังกันตามยาวและตามขวางหลายอัน สีนํ้าตาลอ่อนหรือไม่มีสีเมื่ออายุน้อย แต่เมื่ออายุมากขึ้นสีจะเข้มขึ้นตามลำดับ จนถึงสีน้ำตาลเข้ม ผนังกันตามขวางบนโคนิเดียมีรอยคอดสีเข้มกลาง ๆ โคนิเดียเพียงแห่งเดียว โคนิเดียมีขนาด  $33.75-52.50 \times 15.0-22.50$  ไมครอน โดยเฉลี่ย  $43.97 \times 18.05$  ไมครอน ผนังโคนิเดียเรียบถึงขรุขระเล็กน้อย (รูปที่ 2 ข.)

**การงอกของโคนิเดีย** บน V-8 juice agar และ PDA พบว่าจะงอก germ tube ได้ภายใน 1 ชั่วโมง และในน้ำกลั่นที่ถูกกลั่นด้วยใบมะเขือเทศ งอก germ tube ได้ภายใน 90 นาที เกือบทุกเซลล์บนโคนิเดียสามารถงอก germ tube ได้ โดยที่แต่ละโคนิเดียงอก germ tube ได้ 2-5 อัน ส่วนใหญ่พบ 3-4 อัน (รูปที่ 2 ค.)

**Bead mycelium** มีลักษณะเป็นเซลล์กลม ๆ เกิดขึ้นกลางกลุ่มเส้นใย มักพบเสมอบนอาหารที่อุดมสมบูรณ์และสร้างโคนิเดียได้น้อย เช่น PDA, oat meal agar ตรวจพบกลุ่มของเส้นใยลักษณะนี้เมื่อเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 4$  °C.) ลักษณะค่อนข้างกลมต่อกันเป็นลูกโซ่คล้ายลูกปัด มีสีเหมือนเส้นใยคือนํ้าตาลอ่อน ๆ หรือสีจาง จากการวัดขนาด 50 อัน ได้ค่า  $7.5-9.0 \times 6.0-11.0$  ไมครอน โดยเฉลี่ย  $8.05 \times 9.24$  ไมครอน (รูปที่ 2 ง.)



รูปที่ 1 ลักษณะอาการของมะเขือเทศที่เป็นโรคใบไหม้เกิดจากเชื้อรา *Stemphylium solani* Weber - ก) ต้นหลังจากปลูกเชื้อ 3 สัปดาห์  
 ข) ต้นหลังจากปลูกเชื้อ 5 สัปดาห์ ค) ลักษณะแผลจุดบนใบ



รูปที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Stemphylium solani* Weber ก) แสดงลักษณะของโคนิเดียและก้านโคนิเดีย (600 ×)  
 ข) กลุ่มโคนิเดียที่เชื้อราสร้างขึ้น สังเกตเห็นรอยคอดบนโคนิเดียอย่างชัดเจน (900 ×) ค) โคนิเดียที่กำลังงอก germ tube (200 ×) ง) ลักษณะ bead mycelium ของเชื้อรา *Stemphylium solani* Weber บนอาหาร PDA (500 ×)

## สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุ

การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตบนอาหารต่าง ๆ รวม 9 ชนิดของเชื้อ *S. solani* อายุ 7 วัน ในตารางที่ 1 ปรากฏว่าการเจริญของเชื้อมีลักษณะดังนี้

PDA เส้นใยฟูหนา มีสีเหลืองแกมเขียว ให้รังควาตฤ สีเหลืองในอาหาร เกิด conidia น้อย แต่มี bead mycelium มากมาย

V-8 juice agar เส้นใยค่อนข้างเรียบ สีน้ำตาลเข้ม ถึงดำพบ conidia หนาแน่นมากมากที่สุด

Oat meal agar เส้นใยฟูสีน้ำตาลหรือเหลืองส้ม มี bead mycelium เล็กน้อยเป็นหย่อม ๆ พบ conidia น้อย

Tomato agar เส้นใยค่อนข้างบางสีน้ำตาลแกมเขียว เกิด conidia มากปานกลาง

Corn meal agar เส้นใยฟูสีเขียวมเทา เกิด conidia น้อย

NA เส้นใยบาง สีน้ำตาล เกิด conidia น้อย

Malt agar เส้นใยบางฟู สีน้ำตาลปนเหลืองอ่อน เกิด conidia น้อย

Czapek's agar เส้นใยฟูหนา สีขาวหม่น conidia พบน้อย

WA เส้นใยบางใส เรียบ ไม่พบเกิด conidia เลย

การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของราบนอาหารที่มี pH ในระดับต่าง ๆ กัน ดังผลการทดลองในตารางที่ 2 ปรากฏว่าเชื้อราสามารถเจริญได้ดีบนอาหารวัน V-8 juice ที่มี pH ระหว่าง 4-9 เชื้อเจริญได้ดีที่สุดที่ pH

ตารางที่ 1. การเจริญเติบโตและการสร้าง conidia ของเชื้อรา *Stemphylium solani* บนอาหารชนิดต่าง ๆ ซึ่งมี pH 7 ที่อุณหภูมิ 25 ซ. อายุ 7 วัน

| ชนิดอาหาร            | เส้นผ่าศูนย์กลางของ<br>โคโลนีเชื้อรา*<br>(ซม.) | ความหนาแน่น<br>ของเส้นใย** | จำนวน conidia/จานเลี้ยงเชื้อ<br>(ในหนึ่งพื้นที่ 150 ×)*** |
|----------------------|------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Potato dextrose agar | 7.12                                           | ++++ ****                  | 0.40                                                      |
| V-8 juice agar       | 5.56                                           | ++                         | 16.20                                                     |
| Oat meal agar        | 5.63                                           | +++ +                      | 0.60                                                      |
| Tomato agar          | 5.15                                           | ++                         | 9.20                                                      |
| Corn meal agar       | 5.21                                           | +++                        | 1.60                                                      |
| Nutrient agar        | 3.61                                           | ++                         | 0.40                                                      |
| - Malt agar          | 5.22                                           | ++                         | 0.80                                                      |
| Czapek's agar        | 5.29                                           | +++                        | 0                                                         |
| Water agar           | 5.07                                           | +                          | 0                                                         |

\* ค่าเฉลี่ย 5 ซ้ำ

\*\* หลังจากปลูกเชื้อบนอาหาร 7 วัน

\*\*\* ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ เมื่อทำ conidial suspension ด้วยน้ำกลั่น 10 มล.

\*\*\*\* ระดับความหนาแน่นของเส้นใย

- + = บางมาก                      + + = บางปานกลาง  
+ + + = หนาปานกลาง      และ + + + + = หนาแน่นมาก

6 และไม่สามารถเจริญได้เลยที่ pH 3 และ 12

ปรากฏว่าเชื้อราเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10–35 °C. ที่เหมาะสม

**ตารางที่ 2.** การเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Stemphylium solani* บนอาหาร V-8 juice agar pH ต่างระดับกัน

| pH | ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี<br>(ซม.)* | จำนวน conidia/จานเลี้ยงเชื้อ<br>(ในหนึ่งพื้นที่ 150 ×)** |
|----|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 3  | 0                                       | 0                                                        |
| 4  | 3.91                                    | 1.60                                                     |
| 5  | 6.05                                    | 14.00                                                    |
| 6  | 6.57                                    | 20.10                                                    |
| 7  | 5.53                                    | 16.40                                                    |
| 8  | 4.83                                    | 8.00                                                     |
| 9  | 3.97                                    | 4.00                                                     |
| 10 | 3.50                                    | 0.60                                                     |
| 11 | 2.45                                    | 0                                                        |
| 12 | 0                                       | 0                                                        |

\* หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 7 วัน บนอาหารที่ 25 °C.

\*\* ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ

การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของราที่มีระดับอุณหภูมิต่าง ๆ กัน ดังผลการทดลองในตารางที่ 3 สมที่สด 25 °C. และสามารถสร้าง conidia ได้มากที่สุดด้วย ที่ 5 และ 40 °C. ไม่สามารถเจริญได้เลย

**ตารางที่ 3.** การเจริญเติบโตและการสร้าง conidia ของรา *Stemphylium solani* บนอาหาร V-8 juice agar ที่ pH 7 ในระดับอุณหภูมิต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 7 วัน

| อุณหภูมิ<br>(°C) | เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี<br>(ซม.)* | จำนวน conidia/จานเลี้ยงเชื้อ<br>(ในหนึ่งพื้นที่ 150 ×)** |
|------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 5                | 0                                   | 0                                                        |
| 10               | 1.79                                | 0                                                        |
| 15               | 3.70                                | 4.0                                                      |
| 20               | 4.66                                | 12.30                                                    |
| 25               | 5.48                                | 19.50                                                    |
| 30               | 1.64                                | 1.30                                                     |
| 35               | 0.70                                | 0                                                        |
| 40               | 0                                   | 0                                                        |

\* และ \*\* เป็นค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ

เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของราบนอาหารวัน V-8 juice agar ที่มีเปอร์เซ็นต์ V-8 juice ในระดับต่าง ๆ กัน ดังผลการทดลองในตารางที่ 4 ปรากฏว่าเชื้อราสามารถเจริญได้ดีทุกระดับ แต่จะมีการสร้าง conidia ได้มากน้อยต่างกัน เส้นใยจะยิ่งเจริญงอกงามดีเมื่อเปอร์เซ็นต์ V-8 สูงขึ้นและโดยทางกลับกัน การสร้าง conidia ก็จะลดลง ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการสร้าง conidia ของเชื้อคือ 20-24 เปอร์เซ็นต์

การทดลองเกี่ยวกับอิทธิพลของแสงและอุณหภูมิ

ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสร้าง conidia ของเชื้อรา *S. solani* ดังผลการทดลองในรูปที่ 3 และตารางที่ 5 ปรากฏว่าแสงมีส่วนช่วยให้เกิดการสร้าง conidia ได้มากขึ้น ส่วนรับแสงจะมีสีเข้มมาก เพราะเชื้อสร้าง conidia ได้มากกว่าส่วนที่ไม่ได้รับแสง และมีความเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิอีกด้วย ดังจะเห็นได้จากงานเลี้ยงเชื้อเก็บไว้ที่ 25 ช. เจริญได้ดีกว่าที่อุณหภูมิห้อง ( $29 \pm 4$  ช.) และยังพบว่าชุดที่ห่อด้วยกระดาษตะกั่วมีการสร้าง conidia ได้น้อยกว่าชุดที่วางให้ได้รับแสงตามปกติตามสภาพห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 4. การเจริญเติบโตและการสร้าง conidia ของเชื้อรา *Stemphylium solani* บนอาหาร V-8 juice agar ที่มีระดับของ V-8 juice ต่าง ๆ กัน pH 7 เก็บที่ 25 ช. เป็นเวลา 7 วัน

| เปอร์เซ็นต์<br>V-8 juice | เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี<br>(ซม.)* | จำนวน conidia/จานเลี้ยงเชื้อ<br>(ในหนึ่งพื้นที่ 150 ×)** |
|--------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 8                        | 5.40                                | 6.80                                                     |
| 12                       | 5.28                                | 10.60                                                    |
| 16                       | 5.32                                | 16.00                                                    |
| 20                       | 5.43                                | 20.25                                                    |
| 24                       | 5.62                                | 20.50                                                    |
| 28                       | 5.64                                | 18.25                                                    |
| 32                       | 5.52                                | 17.20                                                    |
| 64                       | 5.56                                | 15.50                                                    |

\* และ \*\* เป็นค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ

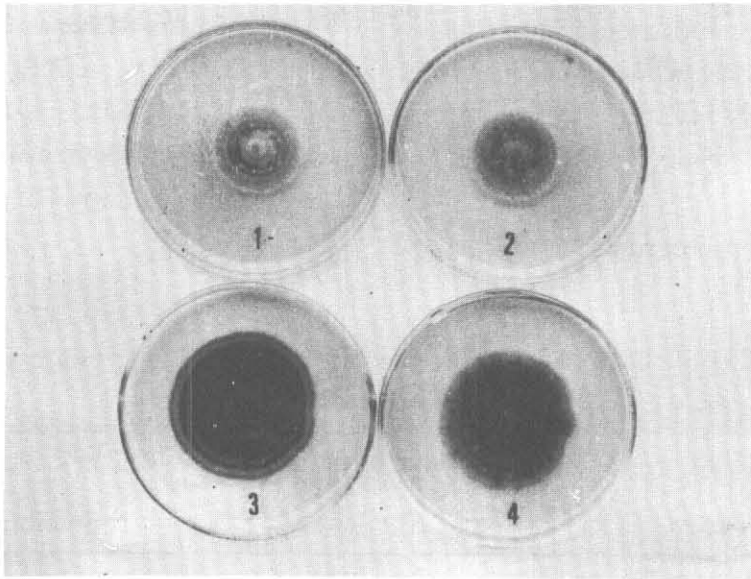
ตารางที่ 5. การเจริญเติบโตและการสร้าง conidia ของเชื้อรา *Stemphylium solani* บนอาหาร V-8 juice agar ที่ pH 7 เก็บในที่ที่ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง และต่างอุณหภูมิกัน เก็บไว้อย่าง 7 วัน

| การเก็บรักษา<br>(อุณหภูมิและการรับแสง) | เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี<br>(ซม.)* | จำนวน conidia/จานเลี้ยงเชื้อ<br>(ในหนึ่งพื้นที่ 150 ×)** |
|----------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 29 ± 4 ช รับแสงตามสภาพห้อง             | 3.75                             | 3.20                                                     |
| 29 ± 4 ช ไม่ได้รับแสง                  | 3.77                             | 0                                                        |
| 25 ช รับแสง daylight fluorescence      | 6.19                             | 28.20                                                    |
| 25 ช ไม่ได้รับแสง                      | 5.61                             | 21.50                                                    |

\* และ \*\* เป็นค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ

ผลการทดลองเกี่ยวกับการสร้าง perithecium ไม่ปรากฏบนอาหารชนิดใดเลย

สีเหลืองมากขึ้น ลู่งลงแห้งติดอยู่กับต้นหรืออาจร่วงหล่นไป บางครั้งพบแผลจุดเล็ก ๆ สีน้ำตาลฝังลึกอยู่ที่ก้าน



รูปที่ 3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Stemphylium solani* ที่เลี้ยงบน V-8 juice agar อายุ 9 วัน ในสภาพที่ได้รับแสงและไม่ได้รับแสงที่อุณหภูมิต่างกัน 1) รับแสงจากธรรมชาติ ที่อุณหภูมิห้องปกติ ( $29 \pm 4$  ช.) 2) ไม่ได้รับแสงที่อุณหภูมิห้องปกติ 3) รับแสง daylight fluorescence ที่ 25 ช. 4) ไม่ได้รับแสงที่ 25 ช.

#### การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

ลักษณะอาการโรค มะเขือเทศที่ได้รับการปลูกเชื้อแล้ว จะมีลักษณะอาการเด่นชัดที่ใบ แต่อาจจะพบเห็นที่ก้านใบหรือที่กิ่งได้บ้างเมื่อมีอาการรุนแรงมาก และพบเป็นกับใบแก่จากโคนต้นขึ้นไปยังส่วนปลายยอด อาการเริ่มแรกจะปรากฏหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 6-8 วัน โดยแผลเป็นจุดเล็ก ๆ สีน้ำตาล รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-2 มม. ลักษณะแผลแห้ง เซลล์ตาย ต่อมาแผลจะค่อย ๆ ขยายใหญ่ขึ้น หลังจากปลูกเชื้อแล้วประมาณ 12 วัน โดยเห็นจุดแผลรูปร่างค่อนข้างกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-4 มม. มีสีน้ำตาลแดง ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ บางแผลมีรอยแตกตรงกลาง และเมื่อเป็นมากถึงขั้นรุนแรง ขอบใบจะไหม้ในเวลาประมาณ 18-20 วันหลังจากปลูกเชื้อแล้ว ขอบใบจะม้วนเข้าหากกลางใบ และแผ่นใบก็จะกลายเป็น

ใบหรือลำต้น ขณะที่ส่วนของพืชยังคงมีสีเขียว ขนาดแผลกว้างยาวประมาณ 1-3 × 3-8 มม. ระยะแรกแผลจะไม่ขีด เมื่อแผลแก่ จะเห็นมีสีน้ำตาลเด่นชัดขึ้น และอาจมีรอยแตกกลางแผลด้วย

ผลการตรวจสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *S. solani* ที่มี conidial suspension ในความเข้มข้นที่แตกต่างกันกับมะเขือเทศพันธุ์ Roma ปรากฏว่าความเข้มข้นของ conidial suspension มีผลในการทำให้เกิดโรคได้มากน้อยต่างกันไป ดังตารางที่ 6 conidial suspension ที่มีความเข้มข้นสูงจะทำให้เกิดอาการแผลใบจุดเป็นจำนวนมากกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ แสดงให้เห็นว่า conidia จำนวนมากกว่าก็ย่อมเข้าทำลายพืชเป็นปริมาณมากกว่าด้วย

ตารางที่ 6. ความรุนแรงของโรคที่ได้จากการปลูกเชื้อในความเข้มข้นของ conidial suspension ในระดับต่าง ๆ กัน

| จำนวน conidia ใน<br>conidial suspension 1 ml. | จำนวนแผลบนใบมะเขือเทศแต่ละใบ |    |    |    |    |    |    |    |    |    | รวมจำนวน<br>แผลทั้ง 10 ใบ | เฉลี่ยจำนวน<br>แผลต่อใบ |
|-----------------------------------------------|------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---------------------------|-------------------------|
|                                               | 1                            | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 |                           |                         |
| 0                                             | —                            | —  | —  | —  | —  | —  | —  | —  | —  | —  | —                         | —                       |
| $10^3$                                        | 7                            | 11 | 15 | 12 | 10 | 14 | 14 | 12 | 4  | 15 | 114                       | 11.4                    |
| $10^4$                                        | 21                           | 20 | 24 | 28 | 19 | 27 | 25 | 20 | 25 | 27 | 236                       | 23.6                    |
| $5 \times 10^4$                               | 31                           | 24 | 20 | 29 | 25 | 28 | 32 | 27 | 36 | 28 | 280                       | 28.0                    |
| $10^5$                                        | 41                           | 35 | 32 | 37 | 28 | 34 | 32 | 30 | 39 | 42 | 350                       | 35.0                    |

การตรวจสอบความรุนแรงของโรคที่เกิดจากการฉีดพ่นเชื้อในขนาดความเข้มข้นของ conidial suspension ต่างกันนั้น ทำโดยการนับจำนวนแผลบนใบมะเขือเทศที่อยู่ในระดับเดียวกันของทุกต้น ต้นละ 2 ใบ คือ ประมาณใบที่ 3 และที่ 4 จากโคนต้น ดังนั้นแต่ละชุดจะได้จำนวนแผลจากใบ 10 ใบ หรือ 10 ซ้ำ แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยของจำนวนแผล เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่เหมาะสมที่สุด เพื่อนำไปใช้ปลูกเชื้อให้กับพืชอื่นต่อไป ผลปรากฏว่า conidial suspension  $10^3$  conidia ต่อ มล. ทำให้เกิดแผลบนใบได้น้อยเกินไป ส่วนที่  $5 \times 10^4$  และ  $10^5$  conidia ต่อ มล. นั้น เกิดแผลจำนวนมากเกินไป บางครั้งแผลจะเชื่อมติดกันจึงยากแก่การนับจำนวน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้น  $10^4$  conidia ต่อ มล. สามารถทำให้เกิดโรคได้ดีพอควร นับจำนวนแผลได้สะดวกคือประมาณ 25–26 แผลต่อใบโดยเฉลี่ย และคาดว่าความเข้มข้นระดับนี้ สูงพอที่จะทำให้เกิดโรคได้ดีกับพืชทดสอบชนิดอื่น ๆ ด้วย

จากการทดสอบความสามารถของเชื้อ *S. solani* ใน

การทำให้เกิดโรคกับพืช 20 ชนิด โดยใช้ conidial suspension ที่ความเข้มข้น  $10^4$  conidia ต่อ มล. หรือประมาณ 15 conidia ต่อหนึ่งพื้นที่กำลังขยายจากกล้องจุลทรรศน์ 150 เท่า เป็น inoculum ปรากฏว่าเชื้อราสามารถทำให้เกิดโรคกับมะเขือเปราะ และมะเขือยาวได้ โดยแสดงอาการแผลใบจุดกลมเล็ก ๆ สีน้ำตาลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.0–2.0 มม. หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 9 วัน ต่อมาแผลจะขยายใหญ่ขึ้น บางแผลถึง 5 มม. และถ้าแผลเหล่านั้นได้รับความชื้นสูง จะเห็นกลุ่มเส้นใยเจริญฟูขึ้นมามีสีเทาดำ ตามปกติแผลจะมีลักษณะแห้งเซลล์ตาย เมื่อระยะเวลาผ่านไป 2–3 สัปดาห์ อาการแผลบริเวณขอบใบจะไหม้แห้ง เป็นสีน้ำตาลลุกลามเข้าหากลางใบ พบมากกับใบแก่ และเมื่อตัดส่วนเป็นโรคมายกเลี้ยงซ้ำ (re-isolate) แล้วปลูกบนพืชใหม่ ปรากฏว่าได้เชื้อ *S. solani* อย่างเดิม และทำให้เกิดโรคอาการอย่างเดียวกัน

พืชอื่น ๆ ที่ใช้ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค นอกจากมะเขือทั้ง 2 ชนิดนี้แล้วไม่พบว่าแสดงอาการโรค

## วิจารณ์

เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคใบไหม้ของมะเขือเทศ เจริญได้ดีบนอาหาร V-8 juice agar มีโคโลนีสีเข้มหรือน้ำตาลดำ conidia เรียบหรือขรุขระเล็กน้อยเป็นแบบ muriform สีน้ำตาลเข้ม ขนาด  $33.75-52.50 \times 15.0-22.5 \mu$  บาง conidia ที่ปลายจะแหลมมน ก้าน conidia ขนาด  $85.0-228.0 \times 4.5-7.5 \mu$  ลักษณะของ conidia ตรงส่วนกลางจะมีรอยคอดหนึ่งแห่งตามแนวขวาง เมื่อเข้าทำลายพืชจะทำให้พืชเป็นโรค มีลักษณะเป็นจุดสีเทา ซึ่งลักษณะของเชื้อและอาการของโรคที่เกิดกับพืชนี้ตรงกันกับ Weber (12) ซึ่งรายงานไว้เกี่ยวกับโรคใบจุดสีเทาในสหรัฐอเมริกาว่า เกิดจากเชื้อ *Stemphylium solani* จะแตกต่างกันที่ขนาดของ conidia โดย Weber (12) พบว่ามีขนาด  $40-50 \times 20-30 \mu$  และมีก้าน conidia ขนาด  $130-200 \times 4-7 \mu$  อย่างไรก็ตามจากการจำแนกเชื้อโดยอาศัยหลักของ Neergaard (8) แล้วพบว่าเชื่อนี้ควรจะเป็นเชื้อชนิดเดียวกันกับ *S. solani* การที่มีขนาดของ conidia และก้าน conidia แตกต่างกันไปบ้างนั้น อาจจะเกิดจากสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นส่วนปลีกย่อย

ในการทดลองครั้งนี้ยังได้สังเกตพบว่า เชื้อระบาดดีในฤดูหนาวระหว่างเดือน ธันวาคม ถึงเดือน กุมภาพันธ์ ขณะที่สภาพแวดล้อม มีอุณหภูมิต่ำ แต่มีความชื้นที่ได้จากการรดน้ำพืชสูง เชื้อจะเข้าทำลายได้ดี

ลักษณะทางสรีรวิทยาของเชื้อรานี้ เจริญดีบน V-8 juice agar ที่มีเปอร์เซ็นต์ V-8 juice เพียง 20-24 เปอร์เซ็นต์ pH 6 ที่อุณหภูมิ 25 °C. ซึ่งใกล้เคียงกับของ Diener (4) ที่พบว่า *S. solani* จะเจริญดีบน V-8 juice 12-20 เปอร์เซ็นต์ pH 4.1-9.1 อุณหภูมิ 20-30 °C. และแสงยังมีส่วนชักนำให้เกิดการสร้าง conidia ได้มากขึ้นในอุณหภูมิ 25 °C. สอดคล้องกันอีกด้วย

ความสามารถทำให้เกิดโรคกับพืชทดสอบจำนวน 20 ชนิด พบว่ามีเพียง 2 ชนิด ที่แสดงอาการโรคได้เหมือนกับมะเขือเทศ คือมะเขือยาว (*solanum melongena* L.) และมะเขือเปราะ (*Solanum xanthocarpum* Sch. & W.) ซึ่งเป็นพืชในตระกูลเดียวกัน แต่ความรุนแรงของโรคลดน้อยกว่า จากการทดลองครั้งนี้พบว่าแตกต่าง

กับรายงานของ Weber (12) ที่เกิดโรคกับมะเขือยาว มะเขือเปราะ และกับพริกได้อีกด้วย อาจเป็นเพราะความรุนแรงของเชื้อ และพริกที่ใช้ในการทดลองแตกต่างกัน รวมทั้งสภาพแวดล้อมก็เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเกิดโรค ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Graham (6) ที่พบว่า *S. solani* ที่แยกได้จากใบมะเขือเทศจะเกิดโรคนี้ได้เฉพาะกับมะเขือเทศเท่านั้น

## เอกสารอ้างอิง

1. จันทศรีกุล, อนงค์. พ.ศ. 2501. โรคของมะเขือเทศ. กสิกร 31 : 21-123.
2. ANONYMOUS. 1967. C.M.I. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. *Pleospora herbarum*. The Eastern Press Ltd., London and Reading. No. 150. 10 p.
3. CHANDRASRIKUL, ANONG. 1962. A preliminary host list of plant diseases in Thailand. Dept. of Agr., Bangkok, Thailand. No. 6, 7. 46 p.
4. DIENER, U.L. 1955. Sporulation in pure cultured by *Stemphylium solani*. Phytopathology 45 : 141-145.
5. ELLIS, M.B. 1971. Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycol. Inst. Kew-Surrey, England. 608 p.
6. GRAHAM, J.H. and K.E. ZEIDERS. 1960. Pathogenicity and morphology of some leguminicolous and related species of *Stemphylium*. Phytopathology 50 : 757-761.
7. HANNON, C.I. and GEORGE F. WEBER. 1955. A leaf spot of tomato caused by *Stemphylium floridanum* sp. nov. Phytopathology 45 : 11-16.
8. NEERGAARD, P. 1945. Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium* taxonomy, parasitism, economic significance. Einar Munksgaard, Copenhagen, Denmark.
9. ROTEM, J., Y. COHEN and I. WAHL. 1966. A new tomato foliage disease in Israel caused by *Stemphylium botryosum*. Can. J.Pl. Sci. 46 : 265-270.
10. SIMMONS, E.G. 1967. Typification of *Alternaria*, *Stemphylium* and *Ulocladium*. Mycologia 59 : 67-92.
11. TUITE, J. 1969. Plant pathological methods for fungi and bacteria. Burgess Publ. Co., Minneapolis, Minn. 293 p.
12. WEBER, G.F. 1930. Gray leaf spot of tomato caused by *Stemphylium solani*, sp. nov. Phytopathology 20 : 513-518.