

คานา

โรคใบจุดสีน้ำตาล (brown หรือ early leafspot) โรคใบจุดสีดำ (black หรือ late leafspot) และโรคราสนิม (rust) จัดเป็นโรคทางใบของ ถั่วลิสงที่สำคัญมาก สามารถทำความเสียหายและทำให้ผลผลิตลดลงได้ถึง 27-85 เปอร์เซ็นต์ (Wongkaew et al., 1987) ถึงแม้ว่าจะมีสารเคมีที่สามารถควบคุมโรค เหล่านี้ได้ แต่สารเคมีก็มีราคาแพง และในปัจจุบันเชื้อโรคบางชนิดได้เปลี่ยนสภาพเป็น ต้านทานต่อสารเคมีที่เคยใช้ได้ผล เช่น *Cercospora arachidicola* Hori. ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคใบจุดสีน้ำตาล ในบางพื้นที่จะต้านทานต่อ Benomyl นอกจากนั้น การใช้สารเคมียังก่อให้เกิดมลพิษทั้งในน้ำและในอากาศ และเกษตรกรจะต้องมีความรู้ในการใช้เป็นอย่างดีจึงจะได้ผลและมีประสิทธิภาพ ดังนั้น แนวทางการป้องกันกำจัดโรคทาง ใบดังกล่าว จึงมักจะเน้นในเรื่องการให้พันธุ์ต้านทาน จะเห็นได้จากการปรับปรุงพันธุ์เพื่อ ให้ต้านทานต่อโรคใบจุดและโรคราสนิม มักจะเป็นวัตถุประสงค์หลักอย่างหนึ่งของโครงการ ปรับปรุงพันธุ์ถั่วลิสงโดยทั่วไป รวมทั้งโครงการปรับปรุงพันธุ์ถั่วลิสงในประเทศไทย

ในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วลิสงเพื่อให้ต้านทานต่อโรคใบจุดและราสนิม จำเป็นที่จะต้องมีการประเมินระดับความต้านทานต่อโรคของสายพันธุ์เป็นจำนวนมาก วิธีการประเมิน ความต้านทานต่อโรคที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ จึงเป็นเงื่อนไขที่สำคัญ ที่มีผลโดยตรง ต่อประสิทธิภาพของการปรับปรุงพันธุ์เพื่อวัตถุประสงค์นี้ ในระยะที่ผ่านมา การประเมิน ความต้านทานต่อโรคส่วนใหญ่ใช้วิธีของ ICRI SAT ซึ่งทำในแปลง โดยการให้คะแนนความ เป็นโรค ระดับ 1-9 โดยพิจารณาลักษณะองค์ประกอบของโรคหลาย ๆ ลักษณะร่วมกัน (Subrahmanyam and McDonald, 1987) การประเมินมีทั้งที่ทำในสภาพของการเกิด โรคตามธรรมชาติ และในสภาพที่มีการสร้างสภาพการเกิดโรคให้มีระดับที่สูงขึ้นและแน่นอน กว่าที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ โดยการปลูกพันธุ์อ่อนแอต่อโรคเพื่อให้เป็นแหล่งแพร่เชื้อ (infecter rows) เป็นระยะ ๆ สลับกับแถวสายพันธุ์ที่ต้องการทดสอบความต้านทาน (test rows) และมีการปลูกเชื้อในแถวของพันธุ์อ่อนแอ วิธีการดังกล่าวแม้จะสะดวกและ สามารถใช้ประเมินสายพันธุ์จำนวนมากได้ แต่ก็มีปัญหาหลายประการ กล่าวคือหากประเมิน ในสภาพของการเกิดโรคตามธรรมชาติ ในบางฤดูระดับของการเกิดโรคน้อยเกินไป หรือ

การกระจายของการเกิดโรคไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง ทำให้การประเมินระดับความต้านทานไม่ได้ผล การใช้เทคนิคการปลูก infector rows เพื่อสร้างสภาพการเกิดโรค แม้จะช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้ แต่ก็ยังมีปัญหาที่พัฒนาการของการเป็นโรคจะมากน้อยต่างกันตามอายุของพืช และอัตราการพัฒนาของโรคจะแตกต่างกันในพันธุ์ที่มีอายุเก็บเกี่ยวแตกต่างกัน การประเมินอัตราการเป็นโรคในช่วงเวลาที่ไม่เหมาะสม จะไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้ และการประเมินความต้านทานของสายพันธุ์ที่มีอายุเก็บเกี่ยวต่างกัน จะทำให้ผลการประเมินคลาดเคลื่อนจากคุณสมบัติของพันธุ์ที่แท้จริง การประเมินมากกว่า 1 ครั้งในช่วงเวลาต่างกันก็จะเป็นภาระมากขึ้น นอกจากนี้ วิธีการดังกล่าวยังมีปัญหาการแข่งขันกันระหว่างโรคแต่ละชนิด ทำให้ต้องมีการแยกแปลงทดสอบแต่ละโรค ซึ่งทำให้สิ้นเปลืองเวลาและทรัพยากรมากขึ้น อีกประการหนึ่ง ประสิทธิภาพของการประเมินโดยพิจารณาลักษณะองค์ประกอบของความต้านทานหลาย ๆ ลักษณะร่วมกัน ยังขึ้นอยู่กับความชำนาญของผู้ประเมินและไม่สามารถระบุได้ว่าสายพันธุ์ที่ต้านทานนั้น มีความต้านทานในลักษณะองค์ประกอบใด

จากปัญหาดังกล่าว ในระยะหลังได้มีการนำเอาวิธีการประเมินลักษณะองค์ประกอบของความต้านทานต่อโรคแต่ละลักษณะมาใช้ โดยทำการประเมินในเรือนทดลอง และใช้เทคนิคการปักชำใบ (detached leaf technique) ซึ่งพบว่าได้ผลดี ทำให้สามารถประเมินความต้านทานต่อโรคของพันธุ์ต่าง ๆ ได้ถูกต้องมากขึ้น (Hassan and Beute, 1977; Melouk and Banks, 1978; Foster *et al.*, 1980) ลักษณะองค์ประกอบของความต้านทานต่อโรคที่พบว่าใช้ได้ผล ได้แก่ ขนาดของแผล อัตราการสร้างสปอร์ การร่วงของใบ และ latent period แต่วิธีการนี้ก็ยังมีข้อจำกัดที่ต้องใช้เวลาและแรงงานมาก โดยเฉพาะในการวัดลักษณะบางอย่างเช่น latent period (ระยะเวลาการปลูกเชื้อถึง 50 เปอร์เซ็นต์ของแผลมีการสร้างสปอร์) จึงไม่สามารถนำมาใช้ในการประเมินสายพันธุ์จำนวนมาก ๆ ได้ อย่างไรก็ตาม ลักษณะบางอย่าง เช่น ขนาดของแผล และอัตราการสร้างสปอร์ สามารถประเมินได้ง่ายและมีความแปรปรวนต่อสภาพแวดล้อมน้อยกว่าลักษณะจำนวนแผล จึงน่าจะนำมาใช้ในการประเมินความต้านทานต่อโรคในสภาพแปลงและสภาพการเกิดโรคตามธรรมชาติได้ ซึ่งถ้าหากใช้ได้จริง ก็จะทำให้การประเมินทำได้สะดวก และมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

การทดลองนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพัฒนาการของการแสดงออกของลักษณะองค์ประกอบของความต้านทานต่อโรค คือขนาดของผล และการสร้างสปอร์ ในช่วงอายุของพืชต่าง ๆ กัน เพื่อกำหนดวิธีการปฏิบัติที่เหมาะสม ในการใช้ลักษณะข้างต้นในการประเมินระดับความต้านทานต่อโรคใบจุดและโรคราสนิมของสายพันธุ์ถั่วลิสง และเพื่อประเมินประสิทธิภาพของการใช้ลักษณะขนาดของผล และการสร้างสปอร์ ในการประเมินระดับความต้านทานต่อโรคใบจุดและโรคราสนิมของสายพันธุ์ถั่วลิสงในสภาพแปลง

การตรวจเอกสาร

1. ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับโรคใบจุดและโรคราสนิม

โรคใบจุดสีน้ำตาล ใบจุดสีดำ และราสนิม เป็นโรคทางใบซึ่งเกิดจากเชื้อราที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากทำความเสียหายให้กับถั่วลิสงในเกือบทุกแหล่งปลูกทั่วโลก และสามารถทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก (Walls and Wynne, 1985; McDonald *et al.*, 1985) โรคใบจุดสีน้ำตาลและโรคใบจุดสีดำมักเกิดร่วมกัน ทำให้ผลผลิตลดลงตั้งแต่ 10 จนถึงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับพันธุ์ สถานที่ปลูก และฤดูปลูก ถ้าหากมีโรคราสนิมระบาดร่วมด้วย อาจทำให้ผลผลิตลดลงได้มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ (McDonald *et al.*, 1985) ในประเทศไทย มักพบเฉพาะโรคใบจุดสีดำและราสนิมระบาดในทุกแหล่งปลูกของทุกภาค และทุกฤดูปลูก (โรสภว ว., 2528; ปรีชา, 2533) แต่จะมีความรุนแรงในฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง โรคใบจุดทำให้ผลผลิตลดลงได้ถึง 20-80 เปอร์เซ็นต์ (โรสภว ว., 2528; โรสภว ก. และ ปรีชา, อ้างถึงใน ปรีชา, 2533) และเมื่อเกิดร่วมกับโรคราสนิม อาจทำให้ผลผลิตลดลงได้ตั้งแต่ 27-85 เปอร์เซ็นต์ (Wongkaew *et al.*, 1987) โรคราสนิมอาจทำให้ผลผลิตลดลงได้เท่า ๆ กับโรคใบจุด การที่โรคทั้งสองมักเกิดร่วมกัน Schiller และ Sampoapoli (1981) พบว่า ถ้าควบคุมเพียงโรคใดโรคหนึ่ง ผลผลิตจะได้เพียง 65 เปอร์เซ็นต์ของการควบคุมทั้งสองโรค

1.1 โรคใบจุด (leafspot)

(1) เชื้อสาเหตุ

โรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อราประกอบด้วย โรคใบจุดสีน้ำตาล (brown leafspot หรือ early leafspot) ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Cercospora arachidicola* Hori perfect stage คือ *Mycosphaerella arachidis* Deighton และโรคใบจุดสีดำ (black leafspot หรือ late leafspot) ซึ่งเกิดจากเชื้อ

Phaeoisariopsis personata (Berk & Curt) V.Ar. perfect stage คือ *Mycosphaerella berkeleyi* Jenkins เชื้อโรคใบจุดสีน้ำตาลยังมีการเรียกชื่ออย่างอื่นอีก คือ *Cercosporidium personatum* (Burk & Curt) Deighton, *Cladosporium personata* (Berk & Curt), *Cercospora personata* (Berk & Curt) Ellis & Everhart, *Septogloeum arachidis* Racibolski, *Cercospora arachidis* P. Hennings, และ *Passalora personata* (Burk & Curt) Khan & Kamel (ปรีชา, 2533; McDonald et al., 1985)

(2) การเข้าทำลาย และลักษณะอาการ

ทั้งเชื้อโรคใบจุดสีน้ำตาล และโรคใบจุดสีดำ มีลักษณะการเข้าทำลายถั่วลิสงเหมือนกัน กล่าวคือ เมื่อสปอร์ของเชื้อตกลงบนพืช หากอุณหภูมิและความชื้นเหมาะสม germ tube จะงอกและยืดยาวแทงเข้าไปในเซลล์พืช ผ่านทาง stomata ในสภาพอากาศชื้น สปอร์ของเชื้อโรคใบจุดสีน้ำตาล (*C. arachidicola*) จะงอก germ tube หลังจากตกลงบนใบถั่วลิสง 2 ชั่วโมง และการงอกสูงสุด (82-85 เปอร์เซ็นต์) จะเกิดขึ้นภายใน 24-48 ชั่วโมง อุณหภูมิที่เหมาะสมในการงอกอยู่ในช่วง 16-25°C แต่ที่อุณหภูมิสูง germ tube จะยาวเร็วกว่าที่อุณหภูมิต่ำ ความชื้นก็มีผลอย่างมากต่อการงอกและการยืดยาวของ germ tube พบว่า บน coated slide ถ้าความชื้นสัมพัทธ์ลดลงจาก 100 เปอร์เซ็นต์ เป็น 90 เปอร์เซ็นต์ การงอกจะลดลงอย่างรวดเร็ว และเมื่อความชื้นสัมพัทธ์ลดลง การยืดยาวของ germ tube ก็ลดลงด้วย ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ภายใน 2-12 วัน germ tube ที่งอกประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ จะแทงเข้าไปในเซลล์พืชโดยผ่านทาง stomata หลังจากนั้นจะเกิดแผลขึ้นภายใน 2-8 วัน (Alderman and Beute, 1986)

สปอร์ของเชื้อโรคใบจุดสีดำ (*P. personata*) เมื่อตกลงบนใบถั่วจะงอกภายใน 3-12 ชั่วโมง ถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสม (Woodroof, 1933; Jenkin, 1938; Abdou et al., 1974; Cook, 1981) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการงอกของ germ tube อยู่ในช่วง 16-24°C (ธรรมศักดิ์ และบิวท์, 2529) และจะเข้าทำลายได้สูงสุด เมื่อมีอุณหภูมิ 20°C และความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 93 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลาอย่างน้อย 12

ชั่วโมงต่อวัน พบว่า การเข้าทำลายในพันธุ์ที่เป็น partial resistance จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น กล่าวคือ ไม่ว่าช่วงเวลาที่ความชื้นสูงจะเป็นเท่าไรก็ตาม การเข้าทำลายจะมีน้อยในช่วงอุณหภูมิ 28-32 °C ช่วงเวลาที่ความชื้นสัมพัทธ์สูงที่สั้นกว่า 12 ชั่วโมงก็จะลดปริมาณของ infection ด้วย ไม่ว่าอุณหภูมิจะเป็นเท่าไรก็ตาม นอกจากนี้ยังพบว่า การพัฒนาของเชื้อหลัง infection ที่อุณหภูมิ 28°C จะหยุดชะงักเฉพาะในพันธุ์ที่มีความต้านทานสูง แต่ถ้าที่อุณหภูมิ 32°C จะหยุดชงักในทุกพันธุ์ (Shew et al., 1988)

เมื่อมีความชื้นเหมาะสม สปอร์จะงอกและสร้าง germ tube ทางทะเลวีสหรือเข้าทางปากใบ เจริญอยู่ระหว่างเซลล์พืช ต่อมาจะสร้าง haustoria รูป botryose โดยทั่วไปเชื้อจะไม่ทำลายให้เซลล์พืชตาย วงจรชีวิตและการแพร่ระบาดของโรคใบจุดสีน้ำตาลก็มีลักษณะคล้ายคลึงกัน แต่เชื้อโรคใบจุดสีน้ำตาลไม่สร้าง haustoria ในเซลล์พืช ในระยะแรกที่เซลล์พืชยังไม่ตาย เส้นใยจะเจริญอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ แต่เมื่อทำลายจนเซลล์พืชตาย เส้นใยจะเข้าไปเจริญอยู่ภายในเซลล์ (ถาวร, 2531; Woodroof, 1933)

การเข้าทำลายของเชื้อโรคใบจุดทั้งสอง เกิดขึ้นได้กับทุกส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน แต่โดยมากจะเกิดกับใบ (Jenkin, 1938) และเกิดขึ้นได้กับทั้งสองด้านของใบ (Gibbons, 1980) อาการเริ่มแรกของโรคใบจุดทั้งสองจะคล้ายกันมากจนแยกกันไม่ออก คือปรากฏแผลขีด ๆ ด้านบนของใบแรกก่อน ต่อมาแผลด้านใต้ใบจะมีการยุบตัวของเซลล์ผิว (epidermis) ทำให้ขาดการเชื่อมต่อกับเซลล์ชั้นใน (mesophyll) (Jenkin, 1938; Kaur and Dhillon, 1988) ต่อมาเมื่อแผลพัฒนามีขนาดใหญ่ขึ้น อาการของโรคทั้งสองจะแตกต่างกันอย่างเด่นชัด ทั้งในแง่รูปร่าง ขนาด สี และลักษณะการเรียงตัวของก้อนรูสปอร์ (Jenkin, 1938) ลักษณะแผลของโรคใบจุดสีน้ำตาลเป็นแผลแห้งตาย สีดำหรือสีน้ำตาลเข้ม รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดประมาณ 1-8 มม. ในช่วงที่อากาศมีความชื้นสูง เช่นตอนเช้ามีดหรือหลังฝนตก ถ้าพลิกดูใต้ใบจะพบขุยสปอร์ขึ้นปกคลุมอยู่เต็มแผล ลักษณะเป็นวงซ้อนกัน ส่วนแผลของโรคใบจุดสีน้ำตาลจะมีสีน้ำตาล แตกต่างจากแผลของโรคใบจุดสีน้ำตาลอย่างเด่นชัด ถ้าพลิกดูใต้ใบจะเห็นแผลรูปร่างค่อนข้างเป็นเหลี่ยมมากกว่า และมักมีวงสีเหลือง (halo) ล้อมรอบ ขนาดของแผลเฉลี่ยประมาณ 1-10 มม. เชื้อมักจะสร้างสปอร์อยู่ด้านหลังใบ

การเกิดผลจะเริ่มจากใบล่างกระจายสู่ด้านบน ผลของโรคใบจุดสีน้ำตาล การเกิดผลมักจำกัดอยู่เฉพาะบนใบที่ยาว ก้าน ลำต้น หรือข้อพับ ส่วนโรคใบจุดสีน้ำตาล การเกิดผลมักจำกัดอยู่เฉพาะบนใบที่ยาวบางพันธุ์ที่เชื้ออาจเข้าทำลายก้านใบ หูใบ และก้านฝักได้ด้วย ใบที่ถูกทำลายอย่างหนัก มักจะแห้งและหลุดร่วงออกจากลำต้น (โรสภณ ว., 2528) ซึ่งอาการดังกล่าวเรียกว่า อาการใบร่วงก่อนแก่ (premature crop senescence) (Nevill, 1982)

(3) การแพร่ระบาด

เชื้อโรคใบจุดสีน้ำตาล จะอยู่ข้ามฤดูบนเศษซากพืชที่เป็นโรค เมื่อถึงฤดูปลูกใหม่ที่มีอุณหภูมิพอเหมาะ และความชื้นสูง เชื้อจะสร้างสปอร์ซึ่งปลิวไปตกบนใบพืช และจะงอกเข้าทำลายใบพืช การเข้าทำลายมักจะพบในช่วงหลังฤดูฝนเริ่มออกดอกเป็นต้นไป หลังจากนั้น 2-3 สัปดาห์ เชื้อจะสร้างสปอร์ขึ้นมาใหม่เป็นจำนวนมาก ซึ่งจะแพร่ระบาดไปโดยลมและฝน เข้าทำลายพืชเป็นครั้งที่ 2 (Jenkin, 1938; Abdou et al., 1974)

Alabi (1986) ศึกษาการแพร่กระจายและความมีชีวิตของสปอร์ของเชื้อ *C. arachidicola* พบว่า เชื้อนี้ไม่สามารถเข้าทำลายพืชปลูกชนิดอื่น 10 ชนิดที่ปลูกร่วมกันกับถั่วลิสง แสดงว่าแหล่งสำคัญในการเข้าทำลายของเชื้ออยู่ที่ซากพืชในฤดูที่ผ่านมาสปอร์จะมีมากมายในอากาศระหว่างต้นพืช และสูงจากต้นพืชประมาณ 5 เมตร ทั้งในช่วงฤดูปลูกและนอกฤดูปลูก พบว่าสปอร์ที่เกิดในไร่เกษตรกรรมที่มีการเผาต้นถั่ว จะมีจำนวนน้อยกว่าที่ทิ้งต้นถั่วให้แห้งอยู่ไร่ หลังจากเก็บเกี่ยวในช่วงฤดูแล้ง เชื้อราจะมีชีวิตอยู่รอดได้ในรูปของ stromata ที่หักตัวอยู่ในดินและใบถั่วที่เป็นโรค stromata นี้ เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20-30°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75-81 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 เดือน ก็ยังสามารถสร้างสปอร์ได้ สปอร์นี้เอง จะแพร่กระจายด้วยลมและฝน ทำให้เกิดการระบาดของโรค Nava และคณะ (1989) พบว่า สปอร์ของทั้งเชื้อ *P. personata* และ *C. arachidicola* สามารถรักษา pathogenicity ไว้ได้นานถึง 1 ปี

การระบาดของโรคใบจุดทั้งสอง อาจจะถูกจำกัดได้โดยศัตรูธรรมชาติของเชื้อ Krishna และคณะ (1979) พบว่า เชื้อ *Hansfordia pulvinata* (Berk & Curk) Hughes ซึ่งแยกได้จากจุดแผลของใบถั่วที่เป็นโรคใบจุดสีน้ำตาล สามารถจำกัดการ

เจริญของแผลของโรคใบจุดสีดำได้ นอกจากนี้ *Verticillium lecani* (Zimm.) Vie'gas ก็เป็น mycoparasite กับ *Cercosporidium personatum* ด้วย (McDonald et al., 1985) นงนุช และ ธรรมศักดิ์ (2532) รายงานว่า เชื้อ *Fusaria* และ *Penicillia* บาง genera สามารถลดปริมาณของใบจุดสีดำได้ในการทดลองในห้องปฏิบัติการ ในสภาพเรือนทดลองพบว่า เชื้อ *Dicyma pulvinata* และ *Verticillium lecani* สามารถควบคุมโรคใบจุดของถั่วลิสงได้

(4) การแสดงออกของลักษณะต้านทานต่อโรคใบจุด

พันธุ์ต้านทานต่อโรคใบจุดสีน้ำตาลและโรคใบจุดสีดำ จะมีขนาดเล็กกว่า มีจำนวนปากใบต่อหน่วยพื้นที่ใบน้อยกว่า และมี palisade layer หนากว่าพันธุ์ที่อ่อนแอ นอกจากนั้น ในแต่ละระยะการเจริญเติบโต พันธุ์ต้านทานจะมีจำนวน chlorophyll ทั้งหมดมากกว่า และมี phenol content สูงกว่าพันธุ์อ่อนแอ (Brahmachari and Kolte, 1986) Porter และคณะ (1987) พบว่า พันธุ์ที่มีทรงพุ่มหนา จะมีผลทำให้ความรุนแรงของโรคใบจุดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น เมื่อมีการให้น้ำแบบ sprinkler

เชื้อ *P. personata* ทำให้เกิดโรคโดยการสร้าง toxin หลายชนิด toxin ที่พบได้แก่ phytotoxic glycopeptide ชื่อ personatin พบใน culture filtrates ของเชื้อ (Ramanujam and Swamy, 1984; Rajagopal and Rai, 1986) นอกจากนี้ยังพบว่า ใน mycelial extract ของเชื้อ *P. personata* มี phytotoxic pigment คือ dothistromin และ averufin (Ramanujam and Swamy, 1984) ซึ่งเป็น metabolite ของเชื้อ *C. arachidicola* ด้วย

Sindhan และคณะ (1987) พบว่า พันธุ์ต้านทานต่อโรคใบจุด จะมีระดับของ phenols, orthodihydric phenols และ reducing sugar สูงกว่าในพันธุ์อ่อนแอ แต่จะมีระดับของ sugars ทั้งหมดต่ำกว่าในพันธุ์อ่อนแอ Kaur และ Dhillon (1988) พบว่า ในเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคใบจุด polysaccharides, protein, ascorbic acid และ nucleic acid จะมีปริมาณลดลงที่ละน้อย และพบการสะสมของสารต่าง ๆ เหล่านี้ใน pathogen เมื่อมีการพัฒนาการของโรค Kaur และ Dhillon (1987)

พบว่า free amino acid ในใบถั่ว มีความสัมพันธ์กับความต้านทานต่อโรคใบจุด โดยพันธุ์ต้านทานจะมี sulfur-containing amino acids (cysteic และ methionine) และ proline มากกว่าพันธุ์อ่อนแอ Bala และ Dhillon (1987) พบว่า ในพันธุ์อ่อนแอที่ถูกทำลายด้วย *P. personata* และ *C. arachidicola* จะมีปริมาณของ chlorophyll-a, chlorophyll-b และ chlorophyll content ทั้งหมดลดลง

Gupta และคณะ (1985) พบว่า ในพันธุ์อ่อนแอต่อเชื้อ *P. personata* จะมี reducing sugar และ soluble N บนผิวใบมากกว่าพันธุ์ต้านทานทำให้เชื้อโรคสามารถเข้าทำลายเซลล์พืชง่ายขึ้น แต่พันธุ์ต้านทานจะมี waxes และ phenols ที่ช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคมากกว่าพันธุ์อ่อนแอ

1.2 โรคราสนิม (rust)

(1) เชื้อสาเหตุ

โรคราสนิมมีสาเหตุจากเชื้อรา *Puccinia arachidis* Spagaziini มีชื่ออื่นๆ ได้แก่ *Uredo arachidis* Lagerheim, *Uromyces arachidis* P.Henn, *Bullania arachidis* (Speg) เชื้อราสนิมมักพบแต่ uredospore แต่มีรายงานว่าพบ teliospore ในอเมริกาใต้ พืชที่พบมีชนิดเดียวคือ ถั่วลิสง (Subrahmanyam and McDonald อ้างถึงใน ปริชา, 2533)

(2) การเข้าทำลายและลักษณะอาการ

การเข้าทำลายของ *P. arachidis* จะเริ่มขึ้นเมื่อสปอร์ตกลงบนผิวใบแล้วออก germ tube ผ่านปากใบ แล้วสร้าง appressoria และแทง infection peg ผ่านปากใบ จากนั้น infection peg จะพองตัวเป็น vesicle แล้วแบ่งตัวเป็น primary infection hypha แทะตัวผ่านเข้าไปในชั้น mesophyll cell เมื่อปลายหรือด้านข้างของ primary infection hypha สัมผัสผนังของ mesophyll cell จะมีการสร้างผนังเซลล์ขึ้นมาขึ้นตรงส่วนปลายของ primary infection hypha กลาย

เป็น haustoria mother cell ซึ่งจะสร้าง peg แทะเข้าไปใน mesophyll cell และเจริญเป็น haustoria ใน mesophyll cell (intracellular) จากนั้น cell content จาก mother cell จะไหลเข้าไปอยู่ใน haustoria ที่อยู่ในเซลล์พืช (Mims *et al.*, 1989)

โรคราสนิมมักเกิดกับถั่วลิสงในช่วงหลังออกดอกชุดแรก อาการเริ่มแรกจะปรากฏเป็นจุดสีซีดที่ผิวด้านใต้ใบ ต่อมาจุดจะมีสีเหลืองเขียวด้านบนใบ แล้วเกิดเป็นตุ่มนูนสีน้ำตาล โดยจะเริ่มเจริญขึ้นมาบนผิวด้านใต้ใบ บางครั้งอาจพบที่ผิวใบด้านบน แต่พบน้อยกว่าด้านใต้ใบ (สุภาพร, 2527) ตุ่มแผลมีสีน้ำตาลจนถึงสีน้ำตาลเข้ม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3-1 มม. อาจเกิดเดี่ยว ๆ หรือเป็นกลุ่ม สีเหลืองหรือสีส้มในระยะแรก ๆ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลขรุขระ เมื่อเจริญเต็มที่ แผลจะแตกปล่อย uredospore เป็นผงฝุ่นสีน้ำตาลแดงออกมา แผลดังกล่าวถ้าดูจากด้านบนใบจะปรากฏเป็นเพียงจุดเหลืองเมื่อพลิกดูใต้ใบจึงจะเห็นตุ่มแผลที่แตก (pustule) ปกคลุมด้วยผงสปอร์คล้ายผงสีจำนวนมากมาย อาการของโรคราสนิมจะเริ่มจากใบล่างแล้วลุกลามขึ้นสู่ด้านบน ใบอาจจะเหลืองและแห้งตาย แต่มักไม่หลุดร่วงเหมือนโรคใบจุด (โรจน ว., 2528)

(3) การแพร่ระบาด

ตามปกติจะไม่พบวงจรชีวิตของโรคราสนิมที่สมบูรณ์ โดยทั่วไปมีทั้งการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และมีการสร้างสปอร์หลายชนิด ในประเทศไทยพบเฉพาะ uredinal stage เท่านั้น (ถาวร, 2531) ดังนั้นเชื้อโรคราสนิมของถั่วลิสงจึงแพร่ระบาดไปโดย uredospore ซึ่งสปอร์ชนิดนี้มีชีวิตอยู่บนเศษซากพืชได้ไม่ยาวนานนัก พืชอาศัยพบแต่พืชสกุลถั่วลิสง (*Arachis* sp.) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 20-30°C ความชื้นที่เกาะติดบนใบและสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูง จะทำให้เชื้อราสนิมเข้าทำลายใบพืช และอาการของโรคพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว incubation period อยู่ระหว่าง 7-20 วัน (Porter *et al.*, 1984)

Uredospore ของ *P. arachidis* แพร่กระจายได้ดี ปริมาณการระบาดของโรค ขึ้นอยู่กับปริมาณของ uredospore ในอากาศ ซึ่งสามารถใช้ลักษณะนี้ประเมินความรุนแรงของโรคได้ ปริมาณของสปอร์ในอากาศจะมีสูงที่อุณหภูมิ 29-31°C ความชื้นสัมพัทธ์

เท่ากับ 75-85 เปอร์เซ็นต์ และมีความเร็วของลม 4-10 กิโลเมตรต่อชั่วโมง ถ้าถั่วลิสง ถูกกระทบกระทั่งด้วยเครื่องจักรจะทำให้เป็นโรครุนแรงขึ้น พบว่า ลมสามารถพัดพาสปอร์ ไปทำลายพืชตามทิศทางลมได้ไกลมากกว่า 200 เมตร (Mallaiah and Rao, 1987)

Uredospore ของ *P. arachidis* ชอบสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูงและอากาศ อบอุ่น เมื่อปลูกถั่วลิสงในช่วงต้นเดือนเมษายน การแพร่ระบาดของโรคจะมากที่สุด เมื่อพืช อายุ 150 วัน และเมื่อปลูกในช่วงกลางเดือนกันยายนการแพร่ระบาดจะต่ำที่สุด เมื่อพืช อายุ 120 วัน (Paria and Raj, 1987) ในสภาพธรรมชาติ uredospore จะมีชีวิต อยู่ได้โดยเฉลี่ยประมาณ 39-47 วันในฤดูฝน, 43-57 วันในฤดูหนาว, และ 34-40 วัน ในฤดูร้อน (พัชร และ ธรรมศักดิ์, 2533) uredospore ในซากพืชที่เป็นโรค จะสูญเสีย ความมีชีวิตที่ 25 วัน เมื่อกองไว้กลางแจ้ง, 35 วันเมื่อกองไว้ในร่ม, 45 วันในห้อง ปฏิบัติการ, และ 55 วันในตู้เย็นที่ 6°C (Patel and Vaishnav, 1986) Sokhi และ Jhooty (1986) พบว่า *P. arachidis* บนซากพืชที่เป็นโรค จะสูญเสียความ มีชีวิตหลังจาก 2 สัปดาห์ แสดงว่าการเข้าทำลายของโรคราสนิมที่เกิดขึ้นในแต่ละฤดูปลูก ในรัฐบ้านจาบประเทศอินเดีย มาจากสปอร์ในอากาศ และเป็นเชื้อที่แพร่กระจายเข้ามาใหม่ ทุกปีจากรัฐทางใต้

Reis (1982) พบว่า incubation periods ของเชื้อ *P. arachidis* ที่ อุณหภูมิ 22-24°C จะใช้เวลา 11 วัน และที่อุณหภูมิ 22°C, 25°C และ 30°C จะใช้ เวลา 10, 14 และ 21 วันตามลำดับ

การเข้าทำลายของโรคราสนิมที่รุนแรง มักจะเกิดในสภาพที่อากาศอบอุ่นและชื้น และโรคจะแพร่ระบาดรุนแรงมากเมื่อถั่วลิสงได้รับเชื้อในช่วงแรกของการเจริญเติบโต (Paria and Raj, 1987) ใน Burkina Faso ทางตอนใต้ของทวีปแอฟริกา โรคราสนิมจะแพร่ระบาดอย่างรุนแรงเมื่อฝนตกชุก การแสดงออกของโรคจะมีอิทธิพล มาจากสภาพแวดล้อมและ nutritional status ของพืชอาศัย (Sankara, 1987) ในประเทศออสเตรเลีย โรคราสนิมจะระบาดจะรุนแรงในท้องที่ที่อากาศอบอุ่นและชื้น และ จะทำลายรุนแรงทุกฤดูถ้าไม่มีการควบคุมโรค (Middleton and Shorter, 1984) การปลูกถั่วลิสงต่อเนื่องกัน (continuous cropping) จะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้โรค ระบาดซ้ำปี (Mayee, 1987)

ในประเทศไทย พบราสนิมรุนแรงในช่วงต้นฤดูฝน (Wongkaew et al., 1987) ในภาคกลางของประเทศไทย การแพร่ระบาดของโรคราสนิมจะรุนแรงในฤดูฝนที่มีฝนตกชุก ความชื้นสัมพัทธ์สูง และอุณหภูมิประมาณ 29-30°C (Sommartya, 1987) ในประเทศไนจีเรีย พบว่าในปี 1982 โรคราสนิมทำให้ผลผลิตลดลง 0.7-1.4 ตัน/เฮกตาร์ ในพันธุ์เดียวกันเมื่อปลูกในปีที่มียาอากาศแห้งแล้งกว่า การสูญเสียผลผลิตเนื่องจากโรคจะต่ำกว่า การแพร่ระบาดของโรคราสนิมจะรุนแรงมากน้อยเท่าใด ขึ้นอยู่กับปริมาณและการแพร่กระจายของฝน ในเขตชื้น จะมีฝนตกกระจายอยู่ 7-9 เดือนหรือมากกว่า จึงมีการแพร่ระบาดของโรคสูงมาก (Salako and Olorunju, 1987) ในประเทศจีน Wang และ Lin (1986) พบว่าโรคราสนิมจะเกิดเร็วในถั่วลิสงที่ปลูกในฤดูใบไม้ร่วง แต่การพัฒนาของโรคจะรวดเร็วกว่าในถั่วลิสงที่ปลูกในฤดูใบไม้ผลิ

Savary และ Janeau (1986) พบว่า ฝนตกปรอย ๆ จะทำให้การแพร่ระบาดของโรคเพิ่มขึ้น ขณะที่ฝนตกหนักจะทำให้การแพร่ระบาดของโรคลดลง

โรคราสนิมก็มีศัตรูธรรมชาติที่จะช่วยควบคุมการระบาดเช่นเดียวกับโรคใบจุด ใน Mozambique พบ hyperparasites ของโรคราสนิม ได้แก่ *Sphaerellopsis filum* [*Eudarluka caricis*] และ *Tuberculina commelinae* (Reis, 1982) ใน India พบว่ามี mycoparasite ชื่อว่า *Hyalodendron* sp. เจริญอยู่บน uredia ของเชื้อโรคราสนิม 20 เปอร์เซ็นต์ของ uredia และเมื่อถึงเวลาเก็บเกี่ยว colonization ของ mycoparasite จะเพิ่มขึ้นเป็นมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ (Reddy, 1989) ในประเทศไทย ก็มีการพบ mycoparasite ของโรคราสนิม คือ *Darluka* sp. (Wongkaew et al., 1987)

(4) การแสดงออกของลักษณะต้านทานต่อโรคราสนิม

Sokhi และคณะ (1985) พบว่าถั่วลิสงพันธุ์อ่อนแอต่อโรคราสนิมมีจำนวน stomata ต่อพื้นที่ใบมากกว่า stomata มีขนาดใหญ่กว่า และมี palisade tissue ที่อัดกันแน่นและมีความหนาแน่นมากกว่าพันธุ์ต้านทาน

Savary (1987) ศึกษาความแตกต่างของอายุของถั่วลิสงที่มีต่อการพัฒนาของเชื้อ *P. arachidis* พบว่า การเข้าทำลายจะเพิ่มขึ้นตามอายุพืช ความรุนแรงของการเข้า

ทำลาย ยังขึ้นอยู่กับความมากน้อยในการแพร่กระจายของสปอร์ และความง่ายของการเข้าทำลาย (foliage accessibility) อันเนื่องมาจากความแตกต่างของโครงสร้างของทรงพุ่ม (canopy structure) ในพืชที่มีอายุแตกต่างกัน เรายังได้ศึกษาระยะการเจริญเติบโตของพืชและอายุใบ ต่อการเจริญของโรคราสนิมในพันธุ์อ่อนแอ พบว่า เมื่ออายุใบเพิ่มขึ้น latent period ของโรคจะเพิ่มขึ้น ส่วนความสามารถในการเข้าทำลาย (infection efficiency) จะลดลงแต่จะไม่มีผลต่อ ความหนาแน่นของการสร้างสปอร์ (sporulation intensity) สำหรับระยะการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น จะทำให้ latent period เพิ่มขึ้น แต่จะไม่มีผลต่อ infection efficiency

ใบถั่วลิสงที่ถูกทำลายด้วยโรค จะมี carbohydrate มากกว่าใบที่สมบูรณ์ แต่จะมี organic acid น้อยกว่า (Reddy and Gopal, 1982) ส่วนปริมาณของ lipid composition ได้แก่ total lipid, total lipid sugar และสัดส่วนของ lipid sugar ต่อ lipid P (glycolipids และ phosphatidyl glycerol) ในใบที่ถูกทำลายด้วยโรค จะมีน้อยกว่าในใบที่สมบูรณ์ ทาให้ใบที่เป็นโรคมีการเคลื่อนของใบมากกว่า (Gopal and Sreenivasulu, 1983)

Ekbote และ Mayee (1984) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของ oxidative enzymes พบว่า peroxidase, ascorbic acid oxidase และ polyphenol oxidase จะมีกิจกรรมเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดในพันธุ์อ่อนแอ จนกระทั่งมีการสร้าง pustule อันแรกของ *P. arachidis* ส่วน catalase activities ของพันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอจะไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก แต่ Rao และคณะ (1988) พบว่า กิจกรรมของ peroxidase ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความต้านทานต่อโรคราสนิม อย่างไรก็ตาม ในพันธุ์ป่าที่ไม่เป็นโรค (immune) หรือมีระดับความต้านทานสูงมาก จะมีปริมาณ phenolic content มากกว่าพันธุ์ปลูกอย่างน้อย 4 เท่า

ในใบที่เป็นโรค จะมีปริมาณ phenolic acids มากกว่าใบที่สมบูรณ์ เมื่อมีการเข้าทำลายมากขึ้น ปริมาณ phenolic acids จะเพิ่มขึ้น และจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อแผลเริ่มแก่ (Reddy, 1983) โดยเฉพาะ chlorogenic และ trans- และ cis-caffeic acids (Reddy, 1984)