ปฏิกิริยาของถั่วเขียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ต่อไอโซเลท (isolate) ของเชื้อ *Cercospora canescens*

The Reactions of Mungbean Lines to Isolates of *Cercospora canescens*

มัทนา ศรีหัตถกรรม[1] สมยศ พิชิตพร[2] จรัส กิจบำรุง[3]

Matana Srihuttagum[1] Somyot Pichitporn[2] Charas Kitbumroong[3]

ABSTRACT

A factorial experiment in RCB with 5 replications was conducted to observe reaction of 7 mungbean lines against 10 isolates of *C. canescens* collected from various mungbean planting areas to designate physiological races of the pathogen. The results showed that difference in disease severity between lines varied according to the isolate. Seven physiological races were finally designated on the basis of their pathogenicity on a set of differential lines. Race 2 which was composed of the isolates of Nakhon Sawan, Roi Et and Chiang Mai was the most pathogenic of all, causing severe symptoms in all lines. The prominent infection ability and cercosporin toxin of the isolates were responsible for such severity.

Keywords: reaction, mungbean lines, *Cercospora canescens*

[1] ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท อ. เมือง จ. ชัยนาท 17000

Chai Nat Field Crops Research Center, Chai Nat 17000, Thailand

[2] สถานีทดลองพืชไร่บ้านใหม่สำโรง อ. สีคิ้ว จ. นครราชสีมา 30340

Ban Mai Samrong Field Crops Experiment Station, Sikhiu, Nakhon Ratchasima 30340, Thailand

[3] สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2 จ. พิษณุโลก

Office of Agricultural Research and Development Region 2, Phitsanulok, Thailand.

บทคัดย่อ

ศึกษาปฏิกิริยาของถั่วเขียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีต่อ ไอโซเลท (isolate) ของเชื้อ *Cercospora canescens* เพื่อกำหนด physiological race ของเชื้อนี้ โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCB 5 ซ้ำ ปัจจัยแรกคือ ไอโซเลท ของเชื้อ *C.canescens* 10ไอโซเลท และปัจจัยที่สองเป็นสายพันธุ์ถั่วเขียว 7 สายพันธุ์

จากผลการทดลอง พบว่า ความรุนแรงของโรคใบจุดในถั่วเขียวสายพันธุ์ต่าง ๆ แปรเปลี่ยนไปตามไอโซเลท และจากปฏิกิริยาของถั่วเขียวที่ตอบสนองต่อการเข้าทำลายของเชื้อไอโซเลท ต่าง ๆสามารถกำหนด race ได้ 7 race โดย race 2 ซึ่งประกอบด้วย ไอโซเลท จากนครสวรรค์ ร้อยเอ็ด และเชียงใหม่ สามารถทำให้เกิดโรคได้อย่างรุนแรงในถั่วเขียวทุกสายพันธุ์ ซึ่งสาเหตุอาจจะเกิดจาก ความสามารถในการเข้าทำลายใบและสารพิษ cercosporin ของเชื้อใน race 2 ที่ทำให้ถั่วเขียวไม่สามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อได้ ทำให้เกิดแผลทั่วใบจำนวนมาก และแผลขยายกว้างออกไปอย่างรวดเร็ว

คำหลัก : ปฏิกิริยา สายพันธุ์ถั่วเขียว *Cercospora canescens*

คำนำ

โรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *Cercospora canescens* เป็นโรคที่สำคัญของถั่วเขียว มักพบโรคนี้ระบาดทำความเสียหายแก่ถั่วเขียวในทุกแหล่งปลูก ฤดูปลูก และทุกระยะการเจริญเติบโต โดยมากจะพบระบาดในช่วงออกดอกและติดฝัก ถั่วเขียวเป็นโรคใบจุดอย่างรุนแรง จะทำให้ผลผลิตลดลงถึง 47% (Quebral, 1978; Duangploy, 1978) ลักษณะอาการของโรค (Fig. 1) ในระยะแรก จะเห็นเป็นจุดเล็ก ๆ สีม่วงแดง และมีลักษณะกลม เมื่อแผลขยายใหญ่ขึ้น เนื้อแผลจะเป็นสีน้ำตาล เนื้อเยื่อรอบ ๆ แผลเป็นสีเหลือง ถ้าตรวจดูบริเวณแผล จะพบกลุ่มก้านชูสปอร์ของเชื้อราเป็นสีดำ มีสปอร์สีขาวปนเทาคลุมอยู่ ถ้าถั่วเขียวอ่อนแอต่อโรคมาก แผลจะขยายมาชนกัน ทำให้ใบไหม้แห้งเป็นสีน้ำตาลร่วงหล่นไป ปัจจัยที่มีผลต่อความรุนแรงของโรคนอกจากจะเกิดจากสภาพแวดล้อม และระยะการเจริญเติบโตของพืชแล้ว มัทนา และคณะ (2534) ยังพบว่า ความแปรปรวนในสรีรวิทยาและความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *C. canescens* ที่เก็บมาจากแหล่งปลูกต่าง ๆ มีอิทธิพลอย่างมากต่อความรุนแรงของโรคในถั่วเขียวพันธุ์หนึ่ง ๆ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า น่าจะมี physiological race เกิดขึ้นในประชากรของเชื้อ จึงได้ทำการศึกษาปฏิกิริยาของถั่วเขียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีต่อไอโซเลทของเชื้อ *C. canescens* เพื่อกำหนด physiological race ของเชื้อนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ factorial in RCB 5 ซ้ำ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย โดยปัจจัยแรกคือ ถั่วเขียว 7 สายพันธุ์ ดังนี้

1. พันธุ์กำแพงแสน 1 (VC 1973 A) คัดเลือกจากคู่ผสม CES 1D-21/EG-MG-16 ใช้ชื่อย่อว่า KPS1

2. พันธุ์ชัยนาท 60 (VC 1178) คัดเลือกจากคู่ผสม MG-50-10A (Y)/ML-6 ใช้ชื่อย่อว่า CN 60

3. พันธุ์กำแพงแสน 2 (VC 2778A) คัดเลือกจากคู่ผสม BPI Glab No 3//CES44/ML-3///CES1 D-21/PHLV18 ใช้ชื่อย่อว่า KPS 2

4. สายพันธุ์ CN 60/TC 1966-1-3

5. พันธุ์ชัยนาท 36 (VC 1628A-7) คัดเลือกจากคู่ผสม CES 1 D-21/PHLV 18 ใช้ชื่อย่อว่า CN 36

6. สายพันธุ์ CNM-I-8709-5 คัดเลือกจาก KPS2 (ที่ผ่านการฉายรังสี)

7. สายพันธุ์ CNM 8509-B-6-5-8 คัดเลือกจากคู่ผสม VC 1178/VC 1560 D//VC 2778 A/VC 1560 D

ปัจจัยที่สองคือ ไอโซเลท ของเชื้อ *C. canescens* ที่เก็บมาจากแหล่งปลูกถั่วเขียวต่าง ๆ จำนวน 10 ไอโซเลท ดังนี้

1. ขอนแก่น (KK)
2. นครสวรรค์ (NS)
3. ร้อยเอ็ด (RE)
4. เชียงใหม่ (CM)
5. พระพุทธบาท (PB)
6. เพชรบูรณ์ (PCB)
7. บ้านใหม่สำโรง (BMS)
8. ชัยนาท (CN)
9. เลย (LO)
10. มหาสารคาม (MS)

เนื่องจากมีข้อจำกัดในการเตรียมเชื้อเพื่อใช้เป็น inoculum ซึ่งสามารถเตรียมได้ครั้งละ 1 ซ้ำ เท่านั้น จึงให้แต่ละซ้ำปลูกห่างกัน 20 วัน ตรวจสอบความรุนแรงของโรค และนำข้อมูลที่ได้มา transform โดยใช้ square root transformation [SQRT (X + 0.5)] ก่อนนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยใช้โปรแกรม IRRISTAT

ในการดำเนินงาน มีลำดับดังนี้

1. การเตรียมดิน

ผสมดินนากับทราย อัตราส่วน 1:1 แล้วนำเข้าอบที่อุณหภูมิ 200°ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผึ่งดินให้เย็น ก่อนนำมาใช้ในการทดลอง

2. การเตรียมเมล็ดพันธุ์

นำเมล็ดถั่วเขียวทั้ง 7 สายพันธุ์ ที่มีลักษณะสมบูรณ์ดี มีขนาดเท่า ๆ กันมาแช่ในเบา ๆ ใน sodium hypochlorite (Clorox) 5.25% นาน 5 นาที เพื่อฆ่าเชื้อที่ติดมากับเมล็ด หลังจากนั้นจึงล้างด้วยน้ำประปา 5 ครั้งก่อนนำไปปลูก

3. การเตรียม Inoculum

การเตรียม inoculum มีขั้นตอนดังนี้

1. ทำให้เชื้อมีความแข็งแรงดังเดิม โดยการนำหัวเชื้อของไอโซเลท ต่าง ๆ ที่เก็บไว้ในตู้เย็น มาปลูกลงบนใบถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 60 แล้วคลุมกระถางด้วยถุงพลาสติกทันที เพื่อป้อง

กันการปนเปื้อนระหว่าง ไอโซเลท และเพื่อควบคุมความชื้นภายในกระถาง เมื่อเกิดแผล จึงทำการแยกเชื้อกลับบนอาหาร PDA และเก็บหัวเชื้อของ ไอโซเลท ที่แยกได้ใหม่บนอาหาร PDA ผิวหน้าเอียง (slant) ที่อุณหภูมิ 4°ซ.

2. ปลูกหัวเชื้อของ ไอโซเลท ที่แยกได้ใหม่บนอาหาร PCA (มีส่วนผสมดังนี้คือ มันฝรั่ง 200 กก. แครอท 300 ก. วุ้นผง 18 ก. และน้ำ 1,000 มล.) 3 จุด/จานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 24-25°ซ. ภายใต้สภาพที่มีแสง black light ร่วมกับ fluorescent light นาน 12 ชั่วโมง และให้อยู่ในความมืดนาน 12 ชั่วโมง สลับกัน เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นนำเชื้อที่เจริญบนอาหารมาเตรียมเป็น inoculum โดยเติมน้ำลงบนเชื้อ แล้วใช้เข็มเขี่ยกวาดให้สปอร์หลุดออกมา แล้วกรองผ่านผ้ากรองชนิดละเอียด 1 ครั้ง เติมน้ำเพื่อปรับระดับความเข้มข้นของสปอร์ให้เป็น 10,000 สปอร์/มล. และก่อนนำ inoculum ไปปลูกลงบนใบถั่วเขียว เติม Tween 20 อัตรา 0.1 มล. ต่อ inoculum 100 มล. ผสมให้เข้ากันดี เพื่อช่วยให้ inoculum เกาะติดใบดีขึ้น น้ำที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว

4. การตรวจสอบปริมาณสารพิษ cercosporin ที่ไอโซเลท ต่าง ๆ ผลิตออกมา

เนื่องจากเชื้อ *C. canescens* สามารถสร้างพิษ cercosporin ซึ่งมีสีแดง ขณะเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ (เกษม, 2532) จึงทำการตรวจสอบปริมาณสารพิษ cercosporin ที่เชื้อผลิตออกมาโดยการปลูกเชื้อไอโซเลทลงตรงกลางจานอาหาร PCA ไอโซเลทละ 10 จาน ตามแผนการทดลองแบบ RCB 10 ซ้ำ แล้วนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 24-25° ซ. ภายใต้สภาพที่มีแสง black light ร่วมกับ fluorescent light นาน 12 ชั่วโมง และให้อยู่ในความมืดนาน 12 ชั่วโมง สลับกันเป็นเวลา 10 วัน เมื่อครบ 10 วัน จึงนำเอาจานอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรวจดูความเข้มและวัดความกว้างของวงสีแดงรอบ ๆ โคโลนีของเชื้อ ถ้ามีสีแดงเข้มและเป็นวงกว้างมาก แสดงว่าเชื้อผลิตสารพิษ cercosporin มาก

5. การปลูกพืชและการปลูกเชื้อ

หยอดเมล็ดถั่วเขียว 20 เมล็ด/กระถาง ปลูกสายพันธุ์ละ 5 กระถาง (5 ซ้ำ) พร้อมใส่ปุ๋ยสูตร 12-24-12 1 ก./ดินแห้ง 3 กก. ถอนแยกให้เหลือ 8 ต้น/กระถาง เมื่อถั่วเขียวมีอายุ 10 วัน และเหลือต้นที่มีขนาดลำต้น ใบ และความแข็งแรงสมบูรณ์ดีเท่า ๆ กัน 5 ต้น/กระถาง เมื่อถั่วเขียวอายุ 21 วัน ปลูกเชื้อบนใบเมื่อถั่วเขียวมีอายุ 28 วัน โดยหยด inoculum ปริมาตร 0.3-1 มล. (ตามขนาดของพื้นที่ใบในแต่ละสายพันธุ์) แล้วใช้เข็มเขี่ยเกลี่ย inoculum เบา ๆ ให้ทั่วใบ ปลูกเชื้อทุกใบที่มีความแก่ของเนื้อเยื่อใบใกล้เคียงกัน (ประมาณ 4-6 ใบ/ต้น) ใบล่างที่แก่แล้วจะถูกตัดทิ้งไปก่อนการปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อบนใบบนที่อ่อนมาก ๆ เสร็จแล้วจึงคลุมกระถางด้วยถุงพลาสติกขนาดใหญ่ทันที เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อระหว่างกระถาง ทำการพ่นละอองน้ำพร้อมทั้งระบายอากาศ เช้า กลางวัน และเย็นเป็นเวลา 7 วัน ซึ่งจะช่วยให้มีการติดเชื้อ

ปล่อยให้เป็นโรคตามธรรมชาติเป็นเวลา 10 วัน ดีขึ้น จากนั้นจึงเปิดปากถุงแต่ไม่ดึงถุงออก โดยยังคงระบายอากาศ เช้า กลางวัน และเย็น ตลอดช่วงระยะเวลา 10 วันนี้ หลังจากนั้นทำการประเมินความรุนแรงของโรคใบจุด โดยให้คะแนน 0-5 เมื่อ 0= ใบสะอาด ไม่พบโรคใบจุด 1 = ใบเป็นโรคใบจุด 0-20% ของพื้นที่ใบ 2 = 20-40% 3 = 40-60% 4 = 60-80% และ 5= 80-100% ตามลำดับ

6. **กำหนดปฏิกิริยาของสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีต่อ ไอโซเลท**

กำหนดปฏิกิริยาของสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีต่อ ไอโซเลท เป็น 3 ระดับ ดังนี้

1. ต้านทาน (R) มีความรุนแรงของโรคไม่เกินระดับ 2
2. ต้านทานปานกลาง (M) มีความรุนแรงของโรคไม่เกินระดับ 3
3. ไม่ต้านทานต่อโรค (S) มีความรุนแรงของโรคมากกว่าระดับ 3

7. **การกำหนด** physiological race

กำหนด physiological race โดยการเปรียบเทียบปฏิกิริยาของสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีต่อไอโซเลท หนึ่งกับที่มีต่อ ไอโซเลท อื่น ๆ ตามแนวทางของ Kiraly *et al.* (1974)

โดยดำเนินการทดลองในเรือนทดลองของศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท ระหว่างเดือนสิงหาคม 2538 ถึง มกราคม 2539 ซึ่งมีอุณหภูมิอากาศระหว่าง 20-30°ซ.

ผลการทดลองและวิจารณ์

ลักษณะอาการของโรคใบจุดแสดงใน Fig. 1

จากการตรวจสอบปริมาณสารพิษ cercosporin ที่ ไอโซเลทต่าง ๆ ผลิตออกมาบนอาหาร PCA พบว่า ทุก ไอโซเลท ยกเว้น ไอโซเลท ของขอนแก่น ผลิตสารพิษ cercosporin บนอาหารปริมาณมาก ไอโซเลท ของขอนแก่น ผลิตสารพิษ cercosporin ปริมาณน้อยมาก ถึงไม่ผลิตเลย (Table 1, Fig. 2)

จากการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดโรคบนใบถั่วเขียวสายพันธุ์ต่าง ๆ พบว่า มีปฏิกิริยาสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างสายพันธุ์ และไอโซเลท ที่มีต่อความรุนแรงของโรคใบจุด ($F=2.2^{**}$) และพบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ ($F=13.3^{**}$) และระหว่างไอโซเลท ($F=49.8^{**}$) ในความรุนแรงของโรคใบจุด (Table 2, 3) ซึ่งแบ่งออกได้ดังนี้ (1) เชื้อราทุกไอโซเลทสามารถเข้าทำลายถั่วเขียวได้ทุกสายพันธุ์ จึงพบแผลบนใบจำนวนมาก ภายหลังการปลูก ไอโซเลทต่าง ๆ ลงบนใบถั่วเขียว แต่ความต้านทานของถั่วเขียวต่อการเข้าทำลายของเชื้อราจะแตกต่างกัน (2) ไม่มีสายพันธุ์ใด ต้านทานต่อสารพิษ cercosporin ของไอโซเลท นครสวรรค์ ร้อยเอ็ด และเชียงใหม่ เนื่องจากพบว่า เนื้อเยื่อรอบ ๆ แผลเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นเหลืองและน้ำตาล แผลขยายตัวเร็วมาก ทำให้ใบเหลืองแห้งตายไปในที่สุด (3) สายพันธุ์กำแพงแสน 1 CNM-1-8709-5 และ CN 60/TC1966-1-3

แสดงความต้านทานปานกลางต่อสารพิษ cercospo-rin ของไอโซเลท พระพุทธบาท เพชรบูรณ์ บ้านใหม่สำโรง ชัยนาท เลย และมหาสารคาม แผลบนใบของสายพันธุ์เหล่านี้ขยายตัวช้า เนื้อเยื่อรอบ ๆ แผลเป็นสีม่วงแดงจ้า ๆ สลับสีเขียวต่อมาจึงเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและน้ำตาลตายไปอย่าง ช้า ๆ (Figure 3) ความรุนแรงของโรคในสามสายพันธุ์นี้จะสูงหรือต่ำ พบว่าขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้าทำลายใบของไอโซเลท ถ้าสามารถเข้าทำลายได้มาก ทำให้เกิดแผลบนใบเป็นจำนวนมาก ความรุนแรงของโรคจะอยู่ในระดับสูงตามไปด้วย (4) สายพันธุ์ถั่วเขียวที่แสดงความอ่อนแอต่อสารพิษ cercosporin ของ ไอโซเลท พระพุทธบาท เพชรบูรณ์ บ้านใหม่สำโรง ชัยนาท เลย และมหาสารคาม คือชัยนาท 36 กำแพงแสน 2 และ CNM 8509 B-6-5-8 โดยสายพันธุ์ชัยนาท 60 จะแสดงความอ่อนแอมากที่สุดต่อสารพิษ cercosporin ของ ไอโซเลท กลุ่มนี้ ความรุนแรงของโรคในสายพันธุ์กลุ่มนี้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับระดับความอ่อนแอต่อสารพิษเป็นสำคัญ ถ้าอ่อนแอมาก เพียงมีแผลบนใบ 5-6 แผล จะทำให้ใบเหลืองแห้งตายทั้งใบได้อย่างรวดเร็ว เมื่อแผลขยายมาชิดกัน ความรุนแรงของโรคจะสูงมากในทุกกรณี (5) ไอโซเลท ของขอนแก่น ทำให้เกิดแผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.1-0.2 ซม. จำนวนมากบนใบถั่วเขียวทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบ แต่ขนาดของแผลไม่ขยายใหญ่ ความรุนแรงของโรคจึงต่ำมาก แต่ถ้าแผลเล็ก ๆ จำนวนมากเกิดใกล้กัน แล้วแสดงอาการแห้งตายกลายเป็นแผลขนาดใหญ่สีน้ำตาลจะทำให้ความรุนแรงของโรคสูงขึ้นได้ (6) สายพันธุ์ CN 60 และ CN 60/TC 1966-1-3 มีความรุนแรงของโรคที่เกิดจาก ไอโซเลท ของพระพุทธบาท เพชรบูรณ์ บ้านใหม่สำโรง ชัยนาท เลย และมหาสารคาม ใกล้เคียงกัน แต่มีปฏิกิริยาการเกิดโรคบนใบแตกต่างกัน ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น จะพบปรากฏการณ์อย่างเดียวกันนี้ในสายพันธุ์คู่อื่น ๆ ด้วย

ผลของปฏิกิริยา ทำให้สามารถกำหนด race ได้ (Table 3) ดังนี้ ขอนแก่นเป็น race 1 นครสวรรค์ ร้อยเอ็ด และเชียงใหม่เป็น race 2 พระพุทธบาทเป็น race 3 เพชรบูรณ์และบ้านใหม่สำโรงเป็น race 4 ชัยนาทเป็น race 5 เลยเป็น race 6 และมหาสารคามเป็น race 7 โดย race 2 สามารถทำให้เกิดโรคได้อย่างรุนแรงในทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบ physiological race ของ *C. canescens* น่าจะเกิดจาก hyphal anastomosis (มัทนา และคณะ, 2534) และอาจจะเกิดจาก cytoplasmic inheritance หรือ chromosome aberration ซึ่งตรวจสอบได้จากการเกิด sectoring (บางส่วนของโคโลนีมีรูปร่างลักษณะแตกต่างจากส่วนอื่น ๆ) บนโคโลนีของไอโซเลท (Agrios, 1988; Jinks and Croft, 1971) เนื่องจากการเกิด hyphal anastomosis ของเชื้อเป็นไปอย่างง่าย ๆ และเกิดในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ จึงคาดว่าในแต่ละแหล่งปลูกน่าจะมี race มากกว่าหนึ่ง race ในประชากรของเชื้อในแหล่งปลูกนั้น ๆ

ผลการทดลองแสดงให้เห็นปัจจัยที่สำคัญ 2 ประการ ที่มีผลโดยตรงต่อความรุนแรงของโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *C. canescens* ปัจจัย แรกคือ ความสามารถในการเข้าทำลายใบถั่วเขียวของเชื้อ พบว่า ทุก ไอโซเลท มีความสามารถในการเข้าทำลายใบถั่วเขียวสูงทุกสายพันธุ์ ทำให้เกิดแผลทั่วไปจำนวนมาก ความรุนแรงของโรคจึงสูงมาก แม้ว่าสายพันธุ์นั้นจะมีความต้านทานต่อสารพิษ cercosporin ปานกลางก็ตาม ปัจจัยที่สองคือ สารพิษ cercosporin ที่เชื้อราผลิตออกมา เพื่อช่วยในการเข้าทำลายเนื้อเยื่อพืช สารพิษนี้มีคุณสมบัติเป็น nonspecific toxin และเป็น photosensitizing agent (ฆ่าเซลล์พืชขณะมีแสงเท่านั้น) (Agrios, 1988) ดังนั้น จึงมีความเกี่ยวข้องอย่างมากกับการขยายใหญ่ของแผล โดยสารพิษจะไปทำให้มีการสร้าง atomic oxygen ภายในเซลล์พืช ซึ่งก่อให้เกิดการแตกของ cell membrane ทำให้เซลล์สูญเสีย electrolyte และตายไปในที่สุด แผลจึงขยายกว้างออกไป ยิ่งมีความเป็นพิษสูง แผลยิ่งขยายตัวเร็วมาก จากลักษณะอาการของแผลบนใบถั่วเขียวสายพันธุ์ต่าง ๆ คาดว่า ไอโซเลท ของนครสวรรค์ ร้อยเอ็ด และเชียงใหม่ สร้างสารพิษ cercosporin ชนิดที่เป็นพิษสูง จึงทำให้เนื้อเยื่อตาย แผลขยายใหญ่อย่างรวดเร็ว ส่วนสารพิษของไอโซเลท อื่น ๆ น่าจะมีพิษปานกลาง แผลจึงขยายตัวช้า ด้วยเหตุที่ทั้งสองปัจจัยสัมพันธ์โดยตรงต่อความรุนแรงของโรค และทำงานเกี่ยวข้องพร้อมเพียงกัน ดังนั้น ถั่วเขียวควรมียีนที่มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ และต้านทานต่อสารพิษ cercosporin จึงจะสามารถต้านทานต่อโรคนี้ได้

สรุปผลการทดลอง

ความรุนแรงของโรคใบจุดในถั่วเขียวสายพันธุ์ต่าง ๆ แปรเปลี่ยนไปตาม ไอโซเลท ที่เก็บมาจากแหล่งปลูกถั่วเขียวต่าง ๆ ถั่วเขียวที่ใช้ทดสอบทุกสายพันธุ์ไม่มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อและต้านทานอย่างสูงต่อสารพิษ cercosporin ที่เชื้อผลิตออกมา ผลของปฏิกิริยาสามารถกำหนด race ได้ 7 race โดย race 2 ซึ่งประกอบด้วย ไอโซเลท ของนครสวรรค์ ร้อยเอ็ด และเชียงใหม่ สามารถทำให้เกิดโรคได้อย่างรุนแรงในทุกสายพันธุ์ ดังนั้น การคัดพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อให้ต้านทานต่อโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ C. canescens นั้น ควรใช้ race 2 เป็นตัวทดสอบ จึงจะบ่งถึงความต้านทานที่ครอบคลุมไอโซเลท อื่น ๆ ที่ใช้ในการทดลองด้วย

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร. พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ ดร. จินดา จันทร์อ่อน และคุณชณิกา เอี่ยมสุภาษิต ที่ได้ช่วยตรวจแก้ไขต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

เกษม สร้อยทอง. 2532. ผลของสารพิษที่ผลิตโดยเชื้อรา *Cercospora canescens* จากถั่วเขียว. *ว. วิชาการเกษตร* 7: 44-47.

มัทนา ศรีหัตถกรรม พจนีย์ นาคีรักษ์ สมยศ พิชิตพร พรพุฒิ ประเสริฐกุล เฉลิมพล ไหลรุ่งเรือง และจรัสพร ถาวรสุข. 2534. การประเมินความแปรปรวนในสรีรวิทยาและความสามารถในการทำให้เกิดโรคใบจุดของเชื้อ *Cercospora canescens* ที่เก็บมาจากแหล่งปลูกถั่วเขียวต่างๆ. หน้า 141-151. *ใน* : รายงานผลงานวิจัยถั่วเขียวและพืชไร่ในเขตชลประทาน 2534. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท

Agrios, G.N. 1988. Plant Pathology. Academic Press, Inc., San Diego.

Duangploy, S. 1978. Breeding mungbean for Thailand conditions. Pages 228-229. *In* : Proceedings 1st International Mungbean Symposium. Asian Vegetable Research and development Center, Shanhua, Taiwan.

Jinks, J.L. and J. Croft. 1971. Methods used for genetical studies in mycology. Pages 479-500. In : Methods in microbiology. Booth, C. (ed.). Academic Press, London.

Kiraly, Z. ; Z. Klement; F. Solymosy and J. Voros. 1974. Methods in plant pathology with special reference to breeding for disease resistance. Elsevier Scientific Publishing Company, New York.

Quebral, F.C. 1978. Powdery mildew and *Cercospora* leaf spot of mungbean in Phillippines. Pages 147-148. *In*: Proceedings 1st International Mungbean Symposium. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan.

Table 1 Band widths of cercosporin toxin around colonies of each isolate on PCA.

Isolate Collected From	Band width (cm.)
	$\bar{X}$
KK	0.28 a
NS	0.77 bcd
RE	0.73 bcd
CM	0.82 cd
PB	0.83 d
PCB	0.68 b
BMS	0.71 bcd
CN	0.71 bcd
LO	0.71 bcd
MS	0.70 bc

CV. (%) = 17.8

s.e. ($p \leq 0.05$) = 0.12

Table 2 Disease severity of mungbean lines caused by isolates of *C. canescens*.

Isolate (I) Collected from	Mungbean line (L)							I-mean
	KPS 1	CN 60	KPS 2	CN 60/TC 1966-1-3	CN 36	CNM-I-8709-5	CNM 8509-B-6-5-8	
KK	1.4 ab	2.4 a	1.6 ab	2.4 a	2.6 bc	2.8 bcd	2.2 b	2.2
NS	3.2 c	3.2 b	3.2 de	3.2 b	3.4 cd	3.4 c-f	3.4 de	3.3
RE	3.4 cd	4.4 c	3.8 ef	3.8 bc	3.4 cd	3.8 ef	3.4 de	3.7
CM	4.2 d	4.4 c	4.6 f	4.4 c	4.0 d	4.0 f	4.0 e	4.2
PB	2.6 c	3.2 b	2.5 cd	3.2 b	3.4 cd	2.6 bc	2.8 bcd	2.9
PCB	2.6 c	3.4 b	3.4 e	3.8 bc	3.0 c	3.0 b-e	3.0 bcd	3.2
BMS	2.8 c	3.8 bc	3.2 de	4.2 bc	3.0 c	3.0 b-e	2.4 bc	3.2
CN	2.8 c	3.8 bc	4.4 f	3.6 bc	3.4 cd	3.6 def	3.2 cde	3.5
Lo	1.8 c	2.2 a	2.2 bc	2.2 a	2.2 ab	1.8 a	1.4 a	2.0
MS	1.2 c	3.2 b	1.4 a	3.6 bc	1.8 a	2.4 ab	1.4 a	2.1
L-mean	2.6	3.4	3.0	3.4	3.0	3.0	2.7	3.0

Means in the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5 % level by DMRT.

CV. (%) = 19.8

Table 3 Reaction* of mungbean lines to isolates of *Cercospora canescens* and the designated races of this pathogen.

Isolate Collected from	Mungbean line (L)							Designated races of isolates
	KPS 1	CN 60	KPS 2	CN 60/TC 1966-1-3	CN 36	CNM-I-8709-5	CNM 8509-B-6-5-8	
KK	R	M	R	M	M	M	M	race 1
NS	S	S	S	S	S	S	S	race 2
RE	S	S	S	S	S	S	S	race 2
CM	S	S	S	S	S	S	S	race 2
PB	M	S	M	S	S	M	M	race 3
PCB	M	S	S	S	M	M	M	race 4
BMS	M	S	S	S	M	M	M	race 4
CN	M	S	S	S	S	S	S	race 5
LO	R	M	M	M	M	R	R	race 6
MS	R	S	R	S	R	M	R	race 7

*R = Disease severity not more than 40% of leaf area

M = Disease severity not more than 60% of leaf area

S = Disease severity more than 60% of leaf area

Figure 1. Disease symptoms of the leaf spot caused by *C. canescens.*

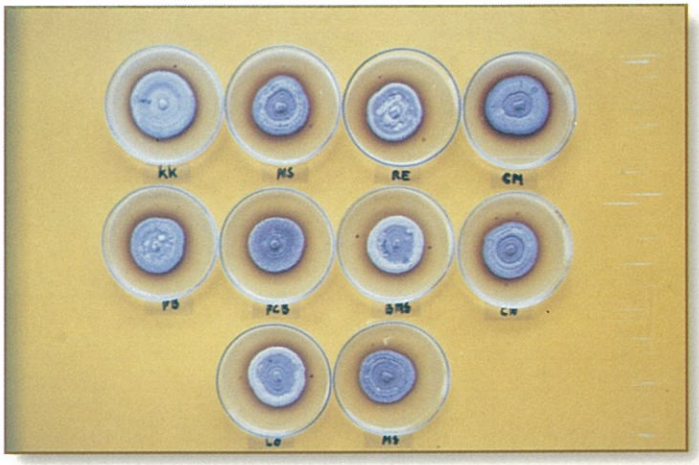

Figure 2. Red colour and band widths of cercosporin toxin around colonies of each isolate on PCA.

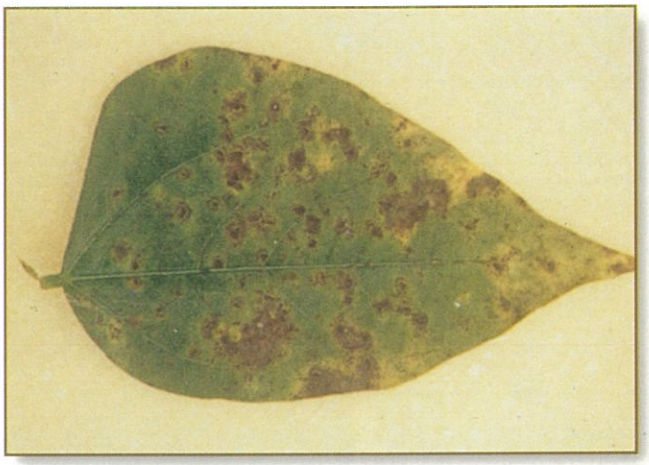

Figure 3. Slowly advanced disease symptoms caused by isolate of Ban Mai Somrong.