

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2556

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
2. โครงการวิจัย : อนุกรมวิธาน ชีววิทยาและเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
กิจกรรม : อนุกรมวิธาน ชีววิทยาและเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
กิจกรรมย่อย : อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช
3. ชื่อการทดลอง : อนุกรมวิธานและชีววิทยาของรา *Alternaria* และ *Stemphylium* สาเหตุโรคพืช
: Taxonomy and Biology of Plant Pathogenic Fungi : Genus *Alternaria* and *Stemphylium*
4. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง : สุณีรัตน์ สิมะเต็อ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้ร่วมงาน : พรพิมล อธิปัญญาคม กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
: อภิรัชต์ สมฤทธิ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
: ชนินทร ดวงสอด กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. บทคัดย่อ

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคพืช ในช่วงตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2556 ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp. จำนวน 21 ตัวอย่าง บนพืช 21 ชนิด จำแนกชนิด โดยศึกษา ลักษณะทางสัณฐานของเชื้อ พบว่า ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. จำนวน 191 ตัวอย่าง บนพืช 21 ชนิด คือ โรคใบจุดคะน้า ผักกาดขาว ผักกาดเขียว ผักกาดหางหงส์ กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กะหล่ำเจดีย์ บรอกโคลี กวางตุ้ง และ ผักกาดแก้ว เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง หอมแบ่ง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม เกิดจากเชื้อ *A. porri* โรคใบจุดของมะเขือเทศ และมันฝรั่ง เกิดจากเชื้อ *A. solani* โรคใบจุดของบานไม่รู้โรย และสร้อยไก่ เกิดจากเชื้อ *A. gomphrenae* โรคใบไหม้ของทานตะวัน เกิดจากเชื้อ *A. hilianthi* โรคใบไหม้ของดาวเรือง และชวนชม เกิดจากเชื้อ *Alternaria* sp. และได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Stemphylium* sp. จำนวน 19 ตัวอย่าง บนพืช 3 ชนิด คือ โรคใบไหม้ของหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม เกิดจากเชื้อรา *Stemphylium vesicarium* และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ และตัวอย่างแห้งโรคพืช จำนวน 210 ไอโซเลท จากการศึกษานิตอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของรา *A. brassicicola* *A. gomphrenae* และ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดดาวเรือง พบว่า ทั้ง 3 ชนิด เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร V8 รองลงมาได้แก่ PDA ½ PDA เติม CaCo3 PCA ½ PDA WA และ CZA ตามลำดับ และสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด บนอาหาร ½ PDA เติม

CaCo3 รองลงมา ได้แก่ ½ PDA WA PCA V8 PDA และ CZA ตามลำดับ การศึกษาผลของแสงต่อการเจริญ และสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* และ *S. vesicarium* พบว่า เชื้อราเจริญ และสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เมื่อ อยู่ภายใต้แสง fluorescent 8 ชั่วโมง สลับกับมืด 16 ชั่วโมง รองลงมา ได้แก่ แสง near UV 8 ชั่วโมง สลับกับมืด 16 ชั่วโมงต่อวัน แสง fluorescent 24 ชั่วโมงต่อวัน แสง near UV 24 ชั่วโมงต่อวัน และในที่มืด ตามลำดับ และ จากการศึกษาค่าผลของอุณหภูมิต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* และ *S. vesicarium* พบว่า เชื้อราเจริญและสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เมื่ออบที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส รองลงมา ได้แก่ 25 20 และ 15 องศา เซลเซียส ตามลำดับ

6. คำนำ

ราสกุล *Alternaria* และ *Stemphylium* เป็นสาเหตุโรคทำความเสียหายต่อผลผลิตของพืชเศรษฐกิจ หลายชนิด ทั้งพืชผัก ไม้ผล ไม้ดอก ไม้ประดับ รวมทั้งวัชพืช รา *Alternaria* ที่เป็นสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *Alternaria dauci* สาเหตุโรคใบไหม้ของแครอท *A. radicina* สาเหตุโรคเน่าดำของแครอท *A. brassicae* และ *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของพืชตระกูลกะหล่ำ และโรคเน่า (head rot) ของบรอกโคลี *A. solani* สาเหตุโรคใบไหม้ และผลเน่าของมะเขือเทศ *A. tenuis* และ *A. alternata* สาเหตุโรคผลจุดของพริก โรคใบจุด ของ geranium หรือ จิบโซฟิลล่า *A. porri* สาเหตุโรคใบจุดสีม่วงหรือใบไหม้กับพืชตระกูลหอมกระเทียม *A. dianthi* และ *A. dianthicola* สาเหตุโรคใบไหม้ และกลีบดอกจุดของคาร์เนชั่น และทานตะวัน *A. zinniae* สาเหตุโรคใบจุด และกลีบดอกจุดของบานชื่น *A. tenuissima* สาเหตุโรคใบจุดของแพนซี *A. citri* สาเหตุโรค เน่าดำ ซึ่งเป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลส้ม (พัฒนา และคณะ, 2526, 2537 ; Katoh *et al.*, 2005 ; Chase, 1998 ; Laemmlen, 2009) รา *Stemphylium* ที่ป็นสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *Stemphylium botryosum* สาเหตุ โรค black leaf mold ของหอมหัวใหญ่ ใบจุดของอัลฟาฟ่า และใบจุดของหน่อไม้ฝรั่ง (Gonsalves and Ferreira., 2009 ; Takahito ,1973) *S. solani* สาเหตุโรคใบไหม้ หรือใบจุดสีเทาของมะเขือเทศ และโรคใบจุด ของพริกหวาน (พัฒนา และคณะ, 2537 กรรณิการ์, 2552 ; Pairoj and Nopporn,1978 ; Gonsalves and Ferreira, 2009) *S. vesicarium* สาเหตุโรคใบไหม้ของพืชสกุลหอม กระเทียม (นิตยา, 2545 ; Gonsalves and Ferreira, 2009) โรคจุดสีน้ำตาลของแพร์ (brown spot of pear)(de Jong, 2009) *S. lycopersici* สาเหตุโรค ใบจุดสีเทาของพริก (กรรณิการ์, 2552) ray speck disease ของเบญจมาศ (Nishi *et al.*, 2009) *S. polymorphum* สาเหตุโรคใบไหม้ของถั่วลันเตา (พัฒนา และคณะ, 2537) *Stemphylium* sp สาเหตุโรคใบไหม้ เบญจมาศ และ ผักเบ็ยหิน (พัฒนา และคณะ, 2537) เป็นต้น

เนื่องจากราทั้ง 2 สกุล เป็นสาเหตุโรคพืชทำความเสียหายต่อผลผลิตของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด และเชื้อ มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมาก รวมทั้งในประเทศไทยยังมีรายงานในด้านการศึกษาชีววิทยา และจัดจำแนกชนิด ของราทั้ง 2 สกุลนี้ไม่มาก ดังนั้นจึงควรที่จะทำการศึกษาชีววิทยาและจำแนกชนิดของเชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp. สาเหตุโรคพืช เพื่อให้ได้ทราบชนิด และลักษณะประจำพันธุ์ ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานใน การหาวิธีการป้องกันกำจัดโรค เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับนำมาใช้กำหนดแผนการ ป้องกันกำจัดได้รวดเร็วทันเหตุการณ์

และยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช เพื่อประโยชน์ในการนำเข้าและส่งออกสินค้า และได้เชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp สาเหตุโรคพืช เพื่อเก็บในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช และตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp. จากแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2556
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ กล่องเก็บความเย็น ปากกา กระดาษบันทึกข้อมูล
3. เครื่องวัดพิกัด
4. แผงไม้อัดตัวอย่างโรคพืช กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์
5. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้ว ฟาล์ค เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นปิดสไลด์ ตะเกียงแอลกอฮอล์ และ cork borer
6. สารเคมี ได้แก่ sodium hypochlorite shear's solution calcium carbonate (CaCO₃) และ oil immersion
7. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA) half strength Potato Dextrose Agar (½ PDA) Potato Carrot Agar (PCA) V8-Juice agar (V8) Water Agar (WA) และ Czapek Agar (CZA)
8. กล้องจุลทรรศน์ พร้อมกล้องถ่ายภาพ
9. หลอดไฟ near UV และ หลอดไฟ fluorescent
10. ตำราสำหรับใช้ในการจัดจำแนกรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp.
11. วัสดุ อุปกรณ์ในเรือนปลูกพืชทดลอง ได้แก่ เมล็ดพันธุ์พืช ดิน ปุ๋ย กระจก บัวรดน้ำ พลับมือ และแผ่นเลเบล

- วิธีการ

1. เก็บและรวบรวมตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการเป็นโรคซึ่งคาดว่าเกิดจากรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp. จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย โดยเลือกเก็บส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรค ได้แก่ ใบ ดอก ผล กิ่ง และลำต้น ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกรายละเอียด ชื่อพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค บรรจุห่อตัวอย่างโรคพืชลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

2. ศึกษา และจำแนกชนิดของรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp.

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและเชื้อสาเหตุโรคโดยตรงจากพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและเชื้อสาเหตุโรคโดยตรงจากพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใย หรือ conidium นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เข็มเย็บส่วนของเชื้อราวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีด ตัดขวางชิ้นส่วนพืช (cross section) ให้บาง ๆ และนำมาตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope ถ่ายรูปและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อรา และเก็บเชื้อบริสุทธิ์

แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant โดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมารีดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

- พิสูจน์โรคตามวิธีการ Koch's postulate

นำเชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp. บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดวงอาหารบริเวณส่วนปลายเส้นใยของเชื้อรา นำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิม สำหรับกรรมวิธี เปรียบเทียบปลูกเชื้อด้วยชิ้นวงอาหาร PDA ที่ปราศจากเชื้อสาเหตุโรค เมื่อพืชเป็นโรคนำส่วนที่แสดงอาการเป็นโรคมายกเชื้อบริสุทธิ์ตรวจดู เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุโรคอีกครั้ง

- ศึกษาลักษณะของเชื้อรา

นำเชื้อราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร PDA และบันทึกลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ การเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างจานอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment)

ศึกษา และบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราได้แก่ รูปร่าง ขนาด สี ของเส้นใย conidia conidiophore และโครงสร้างอื่นๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope และ compound microscope และถ่ายภาพ จากนั้นหาค่าเฉลี่ยของขนาดโครงสร้างต่างๆของราที่วัดขนาดไว้

- จำแนกชนิดเชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp. สาเหตุโรคพืช

โดยเปรียบเทียบลักษณะของรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp. ที่ศึกษากับเอกสารการจัดจำแนกรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp.

3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อราที่แยกได้เก็บรักษาไว้ใน Culture Collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

4. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ตัวอย่างโรคพืชที่เก็บมาได้ ส่วนหนึ่งนำมาจัดทำตัวอย่างแห้ง โดยตัดส่วนของพืชบริเวณที่แสดงอาการโรค วางบนกระดาษฟาง พร้อมแนบกระดาษบันทึกข้อมูลพืช แล้วปิดทับด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ อัดทับด้วยแผ่นไม้อัดตัวอย่างโรคพืช นำไปวางผึ่งลม ไม้ให้ถูกแดด เปลี่ยนกระดาษทุกวัน จนกระทั่งตัวอย่างพืชแห้ง จึงนำมาเก็บ

ในอุ้งกระดาษสำหรับเก็บตัวอย่างแห้ง พร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่างตามระบบสากล (Anonymous, 2005) ได้แก่ ชื่อพืช ลักษณะอาการโรค สถานที่เก็บ ชนิดของราสาเหตุโรคพืช วันที่เก็บ ชื่อผู้เก็บ และชื่อผู้จัดจำแนกชนิดรา เป็นต้น แล้วส่งเก็บในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

5. ศึกษาชีววิทยาของราสกุล *Alternaria* และ *Stemphylium*

- ศึกษาชนิดอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของเชื้อรา

นำเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า *A. gomphrenae* สาเหตุโรคใบจุดบานไม่รู้รุ่ย และ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดดาวเรือง บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหารทดสอบ 7 ชนิด คือ PDA ½ PDA ½ PDA เติม CaCo₃ PCA V8 WA และ CZA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกการเจริญ และการสร้างสปอร์ของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ชนิดต่างๆ นำมาเปรียบเทียบกัน

- ศึกษาผลของแสงต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของเชื้อรา

นำรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า และ *S. vesicarium* สาเหตุโรคใบไหม้ของกระเทียม บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาพแสง 5 แบบ คือ (1) แสง near UV 8 ชั่วโมง สลับกับมืด 16 ชั่วโมงต่อวัน (2) แสง near UV 24 ชั่วโมงต่อวัน (3) แสง fluorescent 8 ชั่วโมง สลับกับมืด 16 ชั่วโมงต่อวัน (4) แสง fluorescent 24 ชั่วโมงต่อวัน และ (5) ในที่มืด จนกระทั่งเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (7 วัน) บันทึกการเจริญ และการสร้างสปอร์ของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อได้รับแสงชนิดต่างๆ นำมาเปรียบเทียบกัน

- ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของเชื้อรา

นำรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า และ *S. vesicarium* สาเหตุโรคใบไหม้ของกระเทียม บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 15, 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (9 วัน) บันทึกการเจริญ และการสร้างสปอร์ของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆนำมาเปรียบเทียบกัน

- เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2556

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกพืชของเกษตรกร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. เก็บและรวบรวมตัวอย่างโรคพืช

เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคพืช ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* และ *Stemphylium* ในช่วงตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2556 จากแปลงปลูกพืชในพื้นที่ 21 จังหวัด ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp. จำนวน 210 ตัวอย่าง บนพืช 21 ชนิด (ตารางที่ 1)

2. ศึกษา และจำแนกชนิดของรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp.

นำรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp. บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาพิสูจน์โรคตามวิธีการ Koch's postulate โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน แล้วนำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิม พบว่าพืชแสดงอาการโรค และเมื่อนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมานำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุ พบว่าเชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp. ทั้ง 210 ไอโซเลท เป็นสาเหตุโรคพืช

นำเชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp. บริสุทธิ์ที่รวบรวมได้ จำนวน 210 ตัวอย่าง มาจำแนกชนิด โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อ พบว่า ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. จำนวน 191 ตัวอย่าง บนพืช 21 ชนิด คือ โรคใบจุดคะน้า ผักกาดขาว ผักกาดเขียว ผักกาดหางหงส์ กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กะหล่ำเจดีย์ บรอกโคลี กวางตุ้ง และ ผักกาดแก้ว เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง หอมแบ่ง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม เกิดจากเชื้อ *A. porri* โรคใบจุดของมะเขือเทศ และมันฝรั่ง เกิดจากเชื้อ *A. solani* โรคใบจุดของบานไม่รู้โรย และสร้อยไก่ เกิดจากเชื้อ *A. gomphrenae* โรคใบไหม้ของทานตะวัน เกิดจากเชื้อ *A. hilianthi* โรคใบไหม้ของดาวเรือง และชวนชม เกิดจากเชื้อ *Alternaria* sp. และได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Stemphylium* sp. จำนวน 19 ตัวอย่าง บนพืช 3 ชนิด คือ โรคใบไหม้ของหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม เกิดจากเชื้อรา *Stemphylium vesicarium* (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการสำรวจ เก็บตัวอย่าง และการจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* และ *Stemphylium* ในช่วงตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2556

ลำดับ ที่	พืช	โรค	จำนวน ตัวอย่าง	เชื้อสาเหตุ	จังหวัด
1	คะน้า	โรคใบจุด	41	<i>Alternaria</i> <i>brassicicola</i>	กาญจนบุรี เชียงราย เชียงใหม่ สุพรรณบุรี ลำพูน
2	ผักกาดขาว	โรคใบจุด	8	<i>A. brassicicola</i>	กาญจนบุรี แม่ฮ่องสอน เชียงราย เชียงใหม่
3	ผักกาดเขียว	โรคใบจุด	3	<i>A. brassicicola</i>	เชียงใหม่ ลำปาง แม่ฮ่องสอน
4	ผักกาดหางหงส์	โรคใบจุด	1	<i>A. brassicicola</i>	เชียงราย
5	กวาดตุ้ง	โรคใบจุด	6	<i>A. brassicicola</i>	แม่ฮ่องสอน ประจวบคีรีขันธ์ เชียงใหม่ ลำปาง
6	ผักกาดแก้ว	โรคใบจุด	1	<i>A. brassicicola</i>	แม่ฮ่องสอน
7	กะหล่ำดอก	โรคใบจุด	2	<i>A. brassicicola</i>	แม่ฮ่องสอน บุรีรัมย์
8	กะหล่ำปลี	โรคใบจุด	6	<i>A. brassicicola</i>	เพชรบูรณ์ ลำพูน
9	กะหล่ำเจดีย์	โรคใบจุด	1	<i>A. brassicicola</i>	เชียงราย
10	บรอกโคลี	โรคใบจุด	1	<i>A. brassicicola</i>	เชียงราย
11	หอมแดง	โรคใบจุดสีม่วง	33	<i>A. porri</i>	แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ลำพูน เชียงราย อุตรดิตถ์ ราชบุรี
		โรคใบไหม้	3	<i>Stemphylium</i> <i>vesicarium</i>	กาญจนบุรี ราชบุรี
12	หอมแบ่ง	โรคใบจุดสีม่วง	2	<i>A. porri</i>	อุตรดิตถ์ เชียงใหม่
13	หอมหัวใหญ่	โรคใบจุดสีม่วง	22	<i>A. porri</i>	เชียงใหม่ ลำพูน เชียงราย
		โรคใบไหม้	4	<i>S. vesicarium</i>	เชียงใหม่ เชียงราย
14	กระเทียม	โรคใบจุดสีม่วง	17	<i>A. porri</i>	เชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน
		โรคใบไหม้	12	<i>S. vesicarium</i>	เชียงราย ลำปาง แม่ฮ่องสอน
15	มะเขือเทศ	โรคใบจุด	2	<i>A. solani</i>	ประจวบคีรีขันธ์
16	มันฝรั่ง	โรคใบไหม้	1	<i>A. solani</i>	ตาก
17	ทานตะวัน	โรคใบไหม้	10	<i>A. helianthi</i>	ประจวบคีรีขันธ์ นครสวรรค์ นครราชสีมา เชียงใหม่
18	ดาวเรือง	โรคใบไหม้	24	<i>Alternaria</i> sp.	ประจวบคีรีขันธ์ ศรีสะเกษ บุรีรัมย์กาญจนบุรี ตรัง จันทบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่
19	บานไม่รู้โรย	โรคใบจุด	8	<i>A. gomphrenae</i>	สุราษฎร์ธานี บุรีรัมย์ ชุมพร นครราชสีมา เชียงใหม่
20	สร้อยไก่	โรคใบจุด	1	<i>A. gomphrenae</i>	นครราชสีมา
21	ชวนชม	โรคใบไหม้	1	<i>Alternaria</i> sp.	ปทุมธานี

3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อรา *Alternaria* spp. จำนวน 191 ไอโซเลท และ *S. vesicarium* จำนวน 19 ไอโซเลท เก็บเข้าศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของกลุ่มวิจัยโรคพืช โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยส่วนหนึ่งเก็บไว้เพื่อศึกษาต่อ

4. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ได้จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. จำนวน 191 ตัวอย่าง และ *S. vesicarium* จำนวน 19 ตัวอย่าง เพื่อส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช

5. ศึกษาชีววิทยาของราสกุล *Alternaria* และ *Stemphylium*

- ศึกษาชนิดอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของเชื้อรา

นำเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า *A. gomphrenae* สาเหตุโรคใบจุดบานไม่รู้โรย และ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดดาวเรืองมาเลี้ยงบนอาหารทดสอบ 7 ชนิด คือ PDA ½ PDA ½ PDA เต็ม CaCo3 PCA V8, WA และ CZA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เวลา 9 วัน พบว่า *Alternaria* spp. ทั้ง 3 ชนิด เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร V8 รองลงมาได้แก่ PDA ½ PDA เต็ม CaCo3 PCA ½ PDA WA และ CZA ตามลำดับ และสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด บนอาหาร ½ PDA เต็ม CaCo3 รองลงมา ได้แก่ ½ PDA WA PCA V8 PDA และ CZA ตามลำดับ

- ศึกษาผลของแสงต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของเชื้อรา

นำรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า และ *S. vesicarium* สาเหตุโรคใบไหม้ของกระเทียมมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ ภายใต้สภาพแสง 5 แบบ เป็นเวลา 7 วัน คือ (1) แสง near UV 8 ชั่วโมง สลับกับมืด 16 ชั่วโมงต่อวัน (2) แสง near UV 24 ชั่วโมงต่อวัน (3) แสง fluorescent 8 ชั่วโมง สลับกับมืด 16 ชั่วโมงต่อวัน (4) แสง fluorescent 24 ชั่วโมงต่อวัน และ (5) ในที่มืด พบว่า รา *A. brassicicola* และ *S. vesicarium* เจริญ และสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เมื่ออยู่ภายใต้แสง fluorescent 8 ชั่วโมง สลับกับมืด 16 ชั่วโมง รองลงมา ได้แก่ แสง near UV 8 ชั่วโมง สลับกับมืด 16 ชั่วโมงต่อวัน แสง fluorescent 24 ชั่วโมงต่อวัน แสง near UV 24 ชั่วโมงต่อวัน และในที่มืด ตามลำดับ

- ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของเชื้อรา

นำรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า และ *S. vesicarium* สาเหตุโรคใบไหม้ของกระเทียมมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 15, 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน พบว่า รา *A. brassicicola* และ *S. vesicarium* เจริญและสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส รองลงมา ได้แก่ 25, 20 และ 15 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคพืช ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* และ *Stemphylium* ในช่วงตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2556 จากแปลงปลูกพืชในพื้นที่ 21 จังหวัด ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp. จำนวน 210 ตัวอย่าง บนพืช 21 ชนิด จำแนกชนิด โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานของ

เชื้อ พบว่า ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. จำนวน 191 ตัวอย่าง บนพืช 21 ชนิด คือ โรคใบจุดค่น้ำ ผักกาดขาว ผักกาดเขียว ผักกาดหางหงส์ กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กะหล่ำเจดีย์ บรอกโคลี กวางตุ้ง และ ผักกาดแก้ว เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง หอมแบ่ง หอมหัวใหญ่ และ กระเทียม เกิดจากเชื้อ *A. porri* โรคใบจุดของมะเขือเทศ และมันฝรั่ง เกิดจากเชื้อ *A. solani* โรคใบจุดของ บานไม่รู้โรย และสร้อยไก่ เกิดจากเชื้อ *A. gomphrenae* โรคใบไหม้ของทานตะวัน เกิดจากเชื้อ *A. hilianthi* โรคใบไหม้ของดาวเรือง และชวนชม เกิดจากเชื้อ *Alternaria* sp. และได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Stemphylium* sp. จำนวน 19 ตัวอย่าง บนพืช 3 ชนิด คือ โรคใบไหม้ของหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม เกิดจากเชื้อรา *Stemphylium vesicarium* เก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 210 ไอโซเลท รวบรวมไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อ ราสาเหตุโรคพืช ของกลุ่มวิจัยโรคพืช รวมทั้งจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช พร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เก็บใน พิพิธภัณฑโรคพืช จำนวน 210 ตัวอย่าง และศึกษาชนิดอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดค่น้ำ *A. gomphrenae* สาเหตุโรคใบจุดบานไม่รู้โรย และ *Alternaria* sp. สาเหตุ โรคใบจุดดาวเรือง พบว่า *Alternaria* spp. ทั้ง 3 ชนิด เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร V8 รองลงมาได้แก่ PDA ½ PDA เติม CaCo3 PCA ½ PDA WA และ CZA ตามลำดับ และสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด บนอาหาร ½ PDA เติม CaCo3 รองลงมา ได้แก่ ½ PDA WA PCA V8 PDA และ CZA ตามลำดับ จากการศึกษาผลของแสงต่อการเจริญและ สร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดค่น้ำ และ *S. vesicarium* สาเหตุโรคใบไหม้ของ กระเทียม พบว่า รา *A. brassicicola* และ *S. vesicarium* เจริญ และสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เมื่ออยู่ภายใต้แสง fluorescent 8 ชั่วโมง สลับกับมืด 16 ชั่วโมง รองลงมา ได้แก่ แสง near UV 8 ชั่วโมง สลับกับมืด 16 ชั่วโมงต่อ วัน แสง fluorescent 24 ชั่วโมงต่อวัน แสง near UV 24 ชั่วโมงต่อวัน และในที่มืด ตามลำดับ และ จาก การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดค่น้ำ และ *S. vesicarium* สาเหตุโรคใบไหม้ของกระเทียม พบว่า รา *A. brassicicola* และ *S. vesicarium* เจริญและสร้าง สปอร์ได้ดีที่สุด เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส รองลงมา ได้แก่ 25, 20 และ 15 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ทราบชนิดของเชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp. สาเหตุโรคพืช และข้อมูล ชีววิทยาของเชื้อซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญที่เป็นประโยชน์ แก่นักวิชาการโรคพืช และนักวิชาการเกษตร ใน การวิจัยเพื่อหาวิธีการป้องกันกำจัดโรค
2. เป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช เพื่อการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ในขบวนการ นำเข้า ส่งออกพืชผลเกษตร
3. ได้คู่มือการจำแนกชนิดรา *Alternaria* และ *Stemphylium* เป็นประโยชน์แก่นักศึกษา นักวิชาการ โรคพืช และนักวิชาการเกษตร ของสถาบันการศึกษา สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1-8 และ กรม ส่งเสริมการเกษตร

4. ได้เชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp. สาเหตุโรคพืช เพื่อเก็บในศูนย์รวบรวมเชื้อรา สาเหตุโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช
5. ได้ตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

11. เอกสารอ้างอิง

- กรณีการ ราชโรจน์ 2552. โรคใบจุดสีเทาของพริก. Available at <http://www.oard1.org/technquestory/28052552/oksite1/Index4.htm> (Access date : August 24, 2009).
- นิตยา กันหลง. 2545. โรคสำคัญของพืชสกุลหอมและกระเทียมในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 96 หน้า
- พัฒนา สนธิรัตน์ วิรัช ชูบำรุง ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ และปิยะ เกียรติก้อง. 2526. เชื้อรา *Alternaria* ที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชผักบางชนิด. *วารสารโรคพืช* ปีที่ 3 เล่มที่ 4. ต.ค.-ธ.ค. 2526. น. 154-167.
- พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประ โคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 285 หน้า
- Anonymous. 2005. Management of Plant Pathogen Collections. Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, Commonwealth of Australia. 82 pp.
- Chase, A.R. 1998. *Alternaria* Diseases of Ornamentals *Western Connection turf & Ornamentals*, A Monthly publication 1(3). Available at
- de Jong , P.F. and B. Heijne 2009. Exclusion of of the inoculum Source of Brown spot (*Stemphylium vesicarium*). International Society for Horticultural Science. Available at http://www.pubhort.org/members/showdocument?booknrnrnr=800_113 (Access date : August 29, 2009).
- Gonsalves, A.K. and S.A. Ferreira. 2009. *Stemphylium* Primer. Available at http://www.extento.hawaii.edu/Kbase/crop/Type/stem_prim.htm (Access date : July 2, 2009).
- Katoh, H, A. Isshiki, A. Masunaka, H. Yamamoto and K. Akimitsu. 2005. Abstracts & Program. The Second Asian Conference on Plant Pathology 2005, 25-28 June 2005, National University of Singapore, Singapore. 113 p.
- Laemmlen, F. 2009. *Alternaria* Diseases. Publication 8040. Available at <http://ucanr.org/freepubs/docs/8040.pdf>. (Access date : August 24, 2009).

- Nish, N., T. Muta, Y. Ito, M. Nakamura and T. Tsukiboshi. 2009. Ray speck of chrysanthemum caused by *Stemphylium lycopersici* in Japan *Journal of General Plant Pathology*
Available at <http://www.citeulike.org/article/3617705>. (Access date : August 24, 2009).
- Takahito, S. 1973. Stemphylium leaf spot (*Stemphylium botryosum* Wallr.) on asparagus plants [in Japanese] *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 39(4) : 364-366.
Available at <http://ci.nii.ac.jp/naid/110002760797/en> (Access date : August 30, 2009).