

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

ชุดโครงการวิจัย	แผนงานวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
โครงการวิจัย	อนุกรมวิธาน ชีววิทยาและเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
กิจกรรมที่ 2	อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช
ชื่อการทดลอง	อนุกรมวิธานและชีววิทยาของรา <i>Cladosporium</i> สาเหตุโรคพืช Identification and Biology of <i>Cladosporium</i> plant pathogenic fungi
คณะผู้ดำเนินงาน	
หัวหน้าการทดลอง	นางสาวชนินทร ดวงสอาด นักวิชาการโรคพืชปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้ดำเนินงาน	นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม นักวิชาการโรคพืชชำนาญการพิเศษ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช นางสาวสุณิรัตน์ สีมะเตือ นักวิชาการโรคพืชชำนาญการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

บทคัดย่อ

รวบรวมเก็บตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคพืชที่เกิดจากรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ในจังหวัดกาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ราชบุรี นครราชสีมา ตาก พะเยา เพชรบุรี เพชรบูรณ์ ราชบุรี และเชียงใหม่ ได้ตัวอย่างของพืชทั้งหมด 19 ตัวอย่าง จากพืช 6 ชนิด แตงกวา พริก ผักกาดขาว ผักกาดหอม ผือกและมะม่วง โดยการศึกษาลักษณะอาการของโรคโดยตรงและแยกเชื้อสาเหตุโดยใช้วิธี Tissue transplanting บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope จำแนกได้ทั้งหมด 4 species 19 ไอโซเลท ได้แก่ *Cladosporium cladosporioides*, *C. colocasiae*, *C. cucumerinum* และ *C. oxysporum* ราเจริญได้ดีบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA) และ Oat Agar (OA)

Abstract

The survey species of *Cladosporium* on various plants in Thailand from plantations in Kanchanaburi, Chachoengsao, Ratchaburi, Nakhon Ratchasima, Tak, Phayao, Phetchaburi, Phetchabun, Ratchaburi and Chiangmai. There were 19 specimens collected from hosts such as *Cucumis sativus*, *Capsicum* sp., *Brassica chinensis* var. *pekinensis*, *Lactuca sativa*, *Colocasia*

esculenta var. *esculenta* and *Mangifera indica*. Species of *Cladosporium* were isolated from the host material by tissue transplantation on potato dextrose agar (PDA), and identified based on morphological characters. Growth rates of the 19 isolates were comparable on three different media, potato dextrose agar (PDA), malt extract agar (MEA) and oat agar (OA). There were four species of *Cladosporium* identified from this disease survey: *C. cladosporioides*, *C. colocasiae*, *C. cucumerinum* and *C. oxysporum*.

คำนำ

รา *Cladosporium* เป็นราที่พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไป พบในพืชทุกชนิด รา และเศษซากพืช มักแยกได้จากดิน อาหาร สัตว์ สิ่งทอ และเศษซากอินทรีย์วัตถุ หรือจากโคลนของราซึ่งราชนิดนี้มีลักษณะเป็นรา secondary invaders หรือเป็นสาเหตุโรคที่แยกได้จากใบพืช (Ellis, 1976) และแยกได้มากที่สุดในอากาศ (Mullins, 2001) เนื่องจากราชนิดนี้มีสปอร์ขนาดเล็ก เกิดอยู่บนก้านชูสปอร์ที่แตกกิ่งก้าน จึงทำให้มีปริมาณมากและสามารถแพร่กระจายไปได้ในระยะที่ไกลมาก มีบางชนิดที่เป็นสาเหตุโรคพืชทำให้เกิดโรคใบจุด ใบไหม้ (Schubert K and Braun U. 2005) หรือบางชนิดเป็นปรสิตเจริญอยู่บนราชนิดอื่น (Heuchert *et al.*, 2005) และมีอีกหลายชนิดที่เป็น endophyte เป็นราที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชและสามารถเจริญเติบโตได้ดีโดยไม่ทำให้เกิดโรคหรือการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่ผิดปกติแก่พืชชนิดนั้นๆ (El-Morsy, 2000) และบางชนิดทำให้เกิดโรคภูมิแพ้กับคน (Hoog *et al.*, 2000)

รา *Cladosporium* มีจำนวนชนิดมากกว่า 773 ชนิด (Dugan *et al.*, 2004) จัดอยู่ใน Class Dematiaceous Hyphomycetes ที่สร้างเส้นใย conidiophores หรือ conidium ที่มีสีเข้ม (dark-colored) conidiophores เป็นก้านยาว ตั้งตรงและแตกกิ่งก้าน รูปร่างของ conidium ไม่แน่นอน โคลนมีสีเขียวมะกอกเข้ม เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคได้ทั้งกับคนและพืช (Hawksworth, 1986) ซึ่งราชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคสำคัญกับพืชหลายชนิด เช่น *Cladosporium capsici* สาเหตุโรคดอกไหม้ (flower blight) เบนจมาศ *C. cucumerinum* สาเหตุโรคราดำ (leaf mold) แดงโมและสแคป (scab) ในแตงกวา *C. allii-cepae* สาเหตุโรคใบจุด (leaf blotch) หอม กระเทียม *C. fulvum* สาเหตุโรคก้ามหยาและใบจุดมะเขือเทศ *C. musae* สาเหตุโรคใบลาย ใบจุดต่าง (leaf speckle) กล้วย *C. cladosporioides* และ *C. herbarum* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาล (brown spot) ในองุ่น และยังมีพืชอื่นที่แสดงอาการของโรคพืชที่มีเชื้อสาเหตุจาก genus *Cladosporium* เช่นโรคราดำในกล้วยไม้ ทุเรียน ลำไย โรคฝักจุด ฝักลาย ในกระเจี๊ยบเขียว โรคใบจุดในมะละกอ และอื่นๆ ที่ยังไม่ระบุชนิดของรา *Cladosporium* และยังพบว่า รา *Cladosporium* เป็นราในระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) ของรา *Mycosphaerella* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชสำคัญหลายชนิด ดังนั้นหากทราบถึง ชนิดของรา *Cladosporium* บนพืชอาศัยต่างๆ จึงเป็นข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ในทางด้านโรคพืชและการเกษตรทั่วไป ตลอดจนการป้องกันกำจัดสาเหตุโรคพืชที่ถูกต้อง และการรวบรวมเก็บรักษาสายพันธุ์บริสุทธิ์ของเชื้อราดังกล่าวเข้าไปใน culture collection จะเป็นแหล่งเก็บ

รักษาพันธุ์กรรมเชื้อราเพื่อการนำไปใช้ศึกษาค้นคว้าเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะเป็นประโยชน์การเกษตร การแพทย์ และอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต และเป็นข้อมูลพื้นฐานในด้านการจำแนกชนิดของเชื้อราและยังเป็น ข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อ

วิธีดำเนินการ

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กรรไกร กรรไกรตัดแต่งกิ่ง กระดาษฟาง ไม้อัดทับตัวอย่าง
2. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เชื้อเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูเรน บีกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้วปิด สไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์
4. เข็มเย็บปลายแหลม ปากคืบ ใบมีดผ่าตัด มีด
5. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo
6. อาหารแยกและเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ water agar (WA) potato dextrose agar (PDA) Malt Extract Agar, Corn Meal Agar (CMA)
7. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ และ เอธิลแอลกอฮอล์ 75%

วิธีการ

1. รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ ใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และราก จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ห่อด้วย กระดาษ ใส่ถุงพลาสติก และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และแบ่งตัวอย่างโรคพืชมาอัด ทับตัวอย่างแห้ง จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอภิศรีศรีการ กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรง

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 32 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเย็บส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วน พืชให้บาง ๆ และตรวจสอบลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึก ลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมามาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5×0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและ ไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับ

บนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar หรือ water agar บ่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 3-7 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

3. การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

นำเชื้อราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar หรือ water agar โดยบันทึกลักษณะอาการต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- บันทึกอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารชนิดต่าง ๆ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกสีของโคโลนี ด้านบนและด้านล่างอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment)
- ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution
- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope)

4. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อราที่แยกได้นั้น เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ โรคพืช ดิโกอิงคสรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

เวลาและสถานที่

เวลา	เริ่มต้น – สิ้นสุด เดือนตุลาคม 2553 - เดือนกันยายน 2556
สถานที่	- ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช - โรงเรือนทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคพืช

รวบรวมเก็บตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคพืชที่เกิดจากรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ในจังหวัดกาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ราชบุรี นครราชสีมา ตาก พะเยา เพชรบุรี เพชรบูรณ์ ราชบุรี และ เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างของพืชทั้งหมด 19 ตัวอย่าง จากพืช 6 ชนิด แตงกวา พริก ผักกาดขาว ผักกาดหอม เผือก และ มะม่วง

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการศึกษาลักษณะอาการของโรค ศึกษาเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช และแยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant โดยแยกเชื้อได้ทั้งหมด 19 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

3. การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการจำแนกของรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ในจังหวัดกาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ราชบุรี นครราชสีมา พะเยา เพชรบูรณ์ ราชบุรี และ เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างของพืชทั้งหมด 19 ตัวอย่าง จากพืช 6 ชนิด แตง พริก ผักกาดขาว ผักกาดหอม ผือก และมะม่วง จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา ของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope จำแนกได้ทั้งหมด 4 species ได้แก่ *Cladosporium cladosporioides*, *C. colocasiae*, *C. cucurmerinum* และ *C. oxysporum* (ตารางที่ 1) โดยมีการจัดจำแนก ตามลักษณะอาการของโรคและลักษณะของเชื้อดังนี้

Cladosporium cladosporioides (Fresen) de Vries

ลักษณะอาการ เกิดแผลจุดที่ใบ เริ่มแรกจุดเหลือง ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและราสร้างเส้นในและสปอร์บน แผล มีสีน้ำตาลอมเขียวมะกอก

ลักษณะของเชื้อ

ราเจริญเติบโตขึ้นบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เมื่ออายุ 15 วัน วัดเส้นผ่านศูนย์กลาง โคลนได้ 4.5-6 เซนติเมตร โคลนนี้ค่อนข้างนูนสีดำอมเขียวมะกอก ด้านใต้โคลนสีดำบนเขียวมะกอกมีลักษณะเป็น แฉก conidiophores ตั้งตรง แตกกิ่งก้านที่ส่วนปลาย สีน้ำตาลอ่อน ผนังเรียบ ขนาด 3000-320 x 2-4 ไมครอน conidia เป็น blastospore เกิดจากการแตกหน่อ (budding) สีน้ำตาล มี 1-2 เซลล์ แต่มักพบเซลล์เดี่ยวมากกว่า ผนังเรียบ ขนาดต่างๆ กัน 4-8 x 2-4 รูปไข่ รี หรือคล้ายมะนาว จนถึงเป็นมีลักษณะเหลี่ยมไม่แน่นอน และมักเห็น รอยแผล (scar) ที่บริเวณหัวท้ายเซลล์ หรือเฉพาะส่วนฐานของเซลล์ ส่วนใหญ่มักพบ conidia รูปร่างคล้ายมะนาวต่อกันเป็นลูกโซ่ และแตกแขนงได้อีก แขนงที่แตกออกจากก้านชูสปอร์เป็นเซลล์ยาว conidia มักอยู่ที่ปลายสุดของ conidiophores

ราเจริญได้ดีบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA) และ Oat Agar (OA)

พืชที่เป็นโรค ผักกาดขาว ผือก พริก และมะม่วง

แหล่งที่พบ กาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา เพชรบูรณ์ ราชบุรี อุบลราชธานี

Zhang (1988) ศึกษาราใบจุดบนผักกาดขาว (*Brassica pakinensis*) พบรา *Cladosporium* สาเหตุของ โรค 3 ชนิด ได้แก่ *Cladosporium brassicicola*, *C. cladosporioides* และ *C. macrocarpum* จากการศึกษา ครั้งนี้พบรา *C. cladosporioides* เป็นสาเหตุโรคใบไหม้ของผักกาดขาวที่จังหวัดกาญจนบุรี และเพชรบูรณ์ ซึ่งมี ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเหมือนกับรา *C. cladosporioides* ที่ Zhang รายงานไว้

นอกจากนี้ยังพบว่ารา *C. cladosporioides* เป็นสาเหตุโรคพืชของพืชหลายชนิด ได้แก่ หอมหัวใหญ่ พริก มะละกอ ส้มเขียวหวาน ผือก เป็นต้น (Zhang, 1988) ในประเทศไทยมีรายงานพบราชนิดนี้นับเป็นมาก ที่ Mushroom Research Center จังหวัดเชียงใหม่ (Bensch *et al.*, 2012)

Cladosporium colocasiae Sawada

ลักษณะอาการ

เกิดแผลจุดสีน้ำตาลบนใบพืช เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแกมแดงเมื่อใบแก่ แผลค่อนข้างกลม หรือมีรูปร่างไม่แน่นอน บางครั้งพบเป็นสีดำอยู่ตรงกลางแผล มักพบว่ารอบแผลจะมีสีเหลืองล้อมรอบ ขนาดแผลมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15 มิลลิเมตร แต่จะมีขนาดเล็กลงถ้าแผลเป็นจุดเล็กกระจายอยู่ทั่วไป (รูปที่ 1ก และ ข)

ลักษณะของเชื้อ

ก้านชูสปอร์มียาวประมาณ 1,200 ไมครอน กว้าง 3-4(-5) ไมครอน ส่วนใหญ่ไม่แตกแขนง สีซีดถึงสีน้ำตาลอ่อน ตรงหรือโค้งเล็กน้อย มักพบที่ปลายหรือส่วนกลางของก้านชูสปอร์มีลักษณะโป่งกว้าง 5-10 ไมครอน (รูปที่ 1ค) ส่วนที่เกิดสปอร์มีรอยแผลชัดเจน หนา 1-1.8(-2) ไมครอน ก้านชูสปอร์ของราชนิดนี้เจริญบนอาหาร PDA พบว่าก้านชูสปอร์ของราที่เจริญบนอาหารจะมีความยาวมากกว่าก้านชูสปอร์ของราที่พบบนใบพืชที่เป็นโรค

สปอร์ ขนาด 12-30 × 6-8(-9) ไมครอน มีเส้นแบ่งกั้นเซลล์ 1-3-เส้น (มักไม่พบ 4 หรือ 5 เส้น) สีซีดถึงสีน้ำตาลอ่อน ผนังเรียบ รูปร่างทรงกระบอก หรือ รูปรีตรงกลางกว้าง สปอร์เรียงต่อกันเป็นลูกโซ่เดี่ยวหรือแตกแขนง และมีรอยแผลจำนวน 1 หรือมากกว่า 1 ที่ปลายแต่ละสปอร์ (รูปที่ 1ง)

ราเจริญได้ดีบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA) และ Oat Agar (OA)

พืชที่เป็นโรค ผือก

แหล่งที่พบ เชียงใหม่ เพชรบุรี เพชรบูรณ์ ราชบุรี

การศึกษาครั้งนี้พบว่า *C. colocasiae* เป็นสาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลที่จังหวัดราชบุรี ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเหมือนกับรา *C. colocasiae* ที่ Bensch และคณะ (2012) และ McKenzie (2013) รายงานไว้ ลักษณะของก้านชูสปอร์ของราชนิดนี้มีลักษณะก้านชูสปอร์โป่ง ซึ่งคล้ายกับ *C. herbatum*, *C. oxysporum* และ *C. variabile* แต่ลักษณะของสปอร์จะแตกต่างกันอย่างชัดเจน (Schubert and Braun, 2005 ; Schubert *et al.*, 2007) และจากการศึกษาการเจริญของราชนิดนี้นบนอาหาร PDA พบว่าก้านชูสปอร์ของราชนิดนี้เจริญบนอาหาร PDA มีความยาวมากกว่าก้านชูสปอร์ของราที่พบบนใบพืชที่เป็นโรค :ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ho และคณะ (1999)

Cladosporium cucumerinum Ellis & Arthur

ลักษณะอาการ

พบอาการที่ใบ เริ่มต้นเกิดจุดแผลเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วไป จุดสีเขียวอ่อน จุดฉ่ำน้ำ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีขาวถึงสีเทา และมีลักษณะเป็นจุดเหลี่ยม บางครั้งพบมีสีเหลืองล้อมรอบแผล จุดกลางแผลมักฉีกขาดเป็นรู

ลักษณะของเชื้อ

เส้นใยของราบางส่วนเจริญเข้าไปในเนื้อเยื่อพืช บางส่วนชูขึ้นมาเหนือเนื้อเยื่อพืช เส้นใยแตกแขนง กว้าง 1.5-6.0 ไมครอน มีผนังกันเซลล์ สีค่อนข้างใสถึงสีเขียวมะกอกอ่อน หรือน้ำตาลอ่อน เส้นใยรวมตัวกัน ทำให้เส้นใยโป่ง ก้านชูสปอร์เกิดเดี่ยวๆ หรือเกิดเป็นกลุ่มเล็ก ๆ ชูขึ้นมาจากเส้นใยที่เกิดขึ้นในและนอกเนื้อเยื่อพืช ด้านข้างหรือปลาย หรือจากเส้นใยที่โป่ง ตรง หรือโค้งเล็กน้อย ไม่แตกแขนง สั้น บางครั้งแตกแขนง ขนาดของก้านชูสปอร์ 8-370 x 3-7 ไมครอน

สปอร์ เกิดเรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ ตรงถึงโค้งเล็กน้อย สปอร์เกิดที่ปลายหรือส่วนกลางของก้านชูสปอร์ รูปร่างค่อนข้างกลม รูปรีตรงกลางกว้าง รูปไข่ ผนังคล้ายกระสวย หรือคล้ายมะนาว ขนาด 3-22 x 2-6.5 มีเส้นกันผนังเซลล์ สีน้ำตาลแกมเขียวมะกอก ผนังเรียบ หนา

ราเจริญได้ดีบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA) และ Oat Agar (OA)

พืชที่เป็นโรค แตงกวา

แหล่งที่พบ ตาก พะเยา

การศึกษาครั้งนี้พบว่า *C. cucumerinum* เป็นสาเหตุโรคสแคป พบอาการที่ใบเท่านั้น ที่จังหวัดตาก และพะเยา

ราชชนิดนี้เป็นสาเหตุโรคของพืชหลายชนิด พบอาการทั้งบนใบ ลำต้น และ ผล ของพืชตระกูลแตง โดยเฉพาะ แตงกวา แคนตาลูป และ ฟักทอง นอกจากนั้นยังในพืชชนิดอื่น ได้แก่ แตงโม น้ำเต้า บวบ (Bensch *et al.*, 2012) แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบในใบแตงกวาเท่านั้น ที่จังหวัดตากและพะเยา ลักษณะสปอร์ของราชชนิดนี้จะคล้ายกับรา *C. cladosporioides* แตกต่างกันที่ก้านชูสปอร์ของราชชนิดนี้จะโค้งงอเล็กน้อยและขนาดสปอร์จะกว้างกว่า (Bensch *et al.*, 2012)

Cladosporium oxysporum Berk. & M.A. Curtis

ลักษณะอาการ

เกิดแผลจุดสีน้ำตาลบนใบพืช เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแกมแดงเมื่อใบแก่ แผลค่อนข้างกลม หรือมีรูปร่างไม่แน่นอน บางครั้งพบเป็นสีดำอยู่ตรงกลางแผล

ลักษณะของเชื้อ

ราสร้างก้านชูสปอร์มีขนาด 55-650 x 2.5-5.5 ไมครอน สีน้ำตาลอ่อน ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย ก้านชูสปอร์โป่ง ผนังเรียบ และบริเวณที่เป็นที่เกิดของสปอร์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-7.5 ไมครอน

สปอร์มีรูปร่างค่อนข้างกลม รูปไข่ จนถึงรูปคล้ายทรงกระบอก เซลล์เดียว สีเกือบใสจนถึงสีน้ำตาล ผนังเรียบ ขนาด 4-20 x 3-6 ไมครอน

พืชที่เป็นโรค ผักกาดหอม

แหล่งที่พบ เชียงใหม่

ลักษณะของก้านชูสปอร์ของราชนิดนี้มีลักษณะก้านชูสปอร์โป่ง ซึ่งคล้ายกับ *C. herbatum*, *colocasiae* และ *C. variabile* แต่ลักษณะของสปอร์จะแตกต่างกันอย่างชัดเจน (Schubert and Braun, 2005 ; Schubert et al., 2007)

4. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อราที่แยกได้นั้น เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรดฟิชไว้ในพิพิธภัณฑ์ โรคพืช ตึกอภิศรีศรีการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

รวบรวมเก็บตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคพืชที่เกิดจากรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ในจังหวัดกาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ราชบุรี นครราชสีมา ตาก พะเยา เพชรบุรี เพชรบูรณ์ ราชบุรี และ เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างของพืชทั้งหมด 19 ตัวอย่าง จากพืช 6 ชนิด แตงกวา พริก ผักกาดขาว ผักกาดหอม ผักก และมะม่วง จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ จำแนกได้ทั้งหมด 4 species 19 ไอโซเลท ได้แก่ *Cladosporium cladosporioides*, *C. colocasiae*, *C. cucumerinum* และ *C. oxysporum* ราเจริญได้ดีบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA) และ Oat Agar (OA)

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การทราบชนิดและวิธีการจำแนกชนิดของรา *Cladosporium* บนพืชอาศัยต่าง ๆ เป็นข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ในทางด้านโรคพืชและการเกษตรทั่วไป และการรวบรวมเก็บรักษาสายพันธุ์บริสุทธิ์ของเชื้อราดังกล่าวเข้าไปใน culture collection จะเป็นแหล่งเก็บรักษาพันธุ์กรรมเชื้อราเพื่อการนำไปใช้ศึกษาค้นคว้าเรื่องราวออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะเป็นประโยชน์การเกษตร การแพทย์ อุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต และเป็นข้อมูลพื้นฐานในด้านการจำแนกชนิดของเชื้อรา และยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อเพื่อประโยชน์ในการนำเข้าและส่งออกสินค้า

เอกสารอ้างอิง

- พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ ธนวัฒน์ กำแพงฤทธิ์วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประ โคน. 2537. ธรรมชาติโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2551. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- Bensch, K., U. Braun, J.Z. Groenewald and P.W. Crous. 2012. The genus *Cladosporium*. *Studies in Mycology* 72: 1-401.

- Dugan FM, K. Schubert, U. Braun. 2004. Check-list of *Cladosporium* names. *Schlechtendalia* 11: 1–103.
- Ellis M. B. 1971. Demateaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 698 p.
- Ellis M. B. 1976. More Demateaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 507 p.
- El-Morsy E.M. 2000. Fungi isolated from the endorhizosphere of halophytic plants from the Red Sea Coast of Egypt. *Fungal Diversity* 5: 43–54.
- Heuchert B, U. Braun and K. Schubert. 2005. Morphotaxonomic revision of fungicolous *Cladosporium* species (hyphomycetes). *Schlechtendalia* 13: 1–78.
- Hawksworth, D.L. 1986. Fungal genera in urgent need of taxonomic work. *Microbiological Sciences* 3: 58.
- Hoog GS de, J. Guarro, J. Gené and M.J.Figueras. 2000. Atlas of clinical fungi, 2nd ed. CBS, Utrecht and Universitat Rovira i Virgili, Reus
- Mullins J. 2001. Microorganisms in outdoor air. *In: Microorganisms in Home and Indoor Work Environments: Diversity, Health Impacts, Investigation and Control* (Flannigan B, Samson RA, Miller JD, eds). Taylor & Francis, London: 3–16.
- Schubert K and U. Braun. 2005. Taxonomic revision of the genus *Cladosporium* s. lat. 4. Species reallocated to *Asperisporium*, *Dischloridium*, *Fusicladium*, *Passalora*, *Pseudoasperisporium* and *Stenella*. *Fungal Diversity* 20: 187–208.
- Schubert K, J.Z. Groenewald, U. Braun, J. Dijksterhuis, M.S. Starink, C.F. Hill, P. Zalar, P., G.S.Hoog and P.W. Crous. 2007. Biodiversity in the *Cladosporium herbarum* complex (*Davidiellaceae*, *Capnodiales*), with standardization of method for *Cladosporium* taxonomy and diagnostics. *Studies in Mycology* 58: 105–156.
- Zhang, ZY., YL. Liu, TF. Li, G. Wang, H. Zhang, YH. He and HH. Peng. 2000. *Flora Fungorum Sinicorum* Vol.14; *Cladosporium*, *Fusicladium*, *Pyricularia*. Science Press, Beijing. 298 pp

ภาคผนวก

ตารางที่ 1: เชื้อสาเหตุที่พบบนพืชในแหล่งปลูกต่าง ๆ

พืช	เชื้อสาเหตุ	ไอโซเลท	สถานที่
แตงกวา	<i>Cladosporium cucumerinum</i>	2	กาญจนบุรี พะเยา
ผักกาดขาว	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2	กาญจนบุรี เพชรบูรณ์
ผักกาดหอม	<i>Cladosporium oxysporum</i>	2	เชียงใหม่
เฟือก	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1	ราชบุรี
เฟือก	<i>Cladosporium colocasiae</i>	8	เชียงใหม่ ราชบุรี เพชรบูรณ์ เพชรบุรี
พริก	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2	กาญจนบุรี อุบลราชธานี
มะม่วง	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2	ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา



รูปที่ 1: โรคใบจุดสีน้ำตาลของเฟือกสาเหตุเกิดจากรา *Cladosporium colocasiae*

ก-ข ลักษณะอาการโรคใบจุดสีน้ำตาล

ค ก้านชูสปอร์มีลักษณะโป่ง

ง สปอร์ของรา

