

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของรา *Cladosporium* สาเหตุโรค
Identification and Biology of *Cladosporium*

ชรินทร์ ดวงสอาด พรพิมล อธิปัญญาคม สุนิรัตน์ สีมะเต็อ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

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 และมะม่วง โดยการศึกษาลักษณะอาการของโรค โดยตรงและแยกเชื้อสาเหตุโดยใช้วิธี 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)

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-01-54

คำนำ

รา *Cladosporium* เป็นราที่พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไป พบในพืชทุกชนิด รา และเศษซากพืช มักแยกได้จากดิน อาหาร สีส สิ่งทอ และเศษซากอินทรีย์วัตถุ หรือจากโคลนของราซึ่งราชนิดนี้มีลักษณะเป็นรา secondary invaders หรือเป็นสาเหตุโรคที่แยกได้จากใบพืช (Elliss, 1976) และแยกได้มากที่สุด ในอากาศ (Mullins, 2001) เนื่องจากราชนิดนี้มีสปอร์ขนาดเล็ก เกิดอยู่บนก้านชูสปอร์ที่แตกกิ่งก้าน จึงทำให้รามีปริมาณมากและสามารถแพร่กระจายไปได้ในระยะที่ไกลมาก มีบางชนิดที่เป็นสาเหตุโรคพืชทำให้เกิดโรคใบจุด ใบไหม้ (Schubert K and Braun U. 2005) หรือบางชนิดเป็นปรสิตเจริญอยู่บนราชนิดอื่น (Heuchert *et al.*, 2005) และมีอีกหลายชนิดที่เป็น endophyte เป็นราที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชและสามารถเจริญเติบโตได้ดีโดยไม่ทำให้เกิดโรคหรือการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่ผิดปกติแก่พืชชนิดนั้นๆ (El-Morsy, 2000) และบางชนิดทำให้เกิดโรคมุมิแพ้กกับคน (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 โคลนีสีเขียวมะกอกเข้ม เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคได้ทั้งกับคนและพืช (Hawksworth, 1986) ซึ่งราชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคสำคัญกับพืชหลายชนิด เช่น *Cladosporium capsici* สาเหตุโรคดอกไหม้ (flower blight) เณญจมาศ *C. cucumerinum* สาเหตุโรคราดำ (leaf mold) แดงโมและสแคป (scab) ในแตงกวา *C. allii-cepae* สาเหตุโรคใบจุด (leaf blotch) หอม กระเทียม *C. fulvum* สาเหตุโรคกำมะหยี่และใบจุดมะเขือเทศ *C. musae* สาเหตุโรคใบลาย ใบจุดดำ (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* บนพืชอาศัยต่าง ๆ จึงเป็นข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ในทางด้านโรคพืชและการเกษตรทั่วไป ตลอดจนการป้องกันกำจัดสาเหตุโรคพืชที่ถูกต้อง และการรวบรวมเก็บรักษาสายพันธุ์บริสุทธิ์ของเชื้อราดังกล่าวเข้าไปใน culture collection จะเป็นแหล่งเก็บรักษาพันธุกรรมเชื้อราเพื่อการนำไปใช้ศึกษาค้นคว้าเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะเป็นประโยชน์การเกษตร การแพทย์ และอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต และเป็นข้อมูลพื้นฐานในด้านการจำแนกชนิดของเชื้อราและยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กรรไกร กรรไกรตัดแต่งกิ่ง กระดาษฟาง ไม้อัดทับตัวอย่าง
2. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บีกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์

4. เข็มเขี่ยปลายแหลม 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 ห่อด้วยกระดาษ ใสถุงพลาสติก และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และแบ่งตัวอย่างโรคพืชมาอัดหีบตัวอย่างแห้ง จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอภิศรีการศึกษาร กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรง

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 32 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ และตรวจสอบลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมานำตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5×0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซึบบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร $\frac{1}{2}$ Potato 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 $\frac{1}{2}$ Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar หรือ water agar โดยบันทึกลักษณะอาการต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- บันทึกอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารชนิดต่าง ๆ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกสีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment)

- ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจสอบลักษณะเส้นใย 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 และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอภิศรีศรีการ 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 ผือก และมะม่วง

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 จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope จำแนกได้ทั้งหมด 4 species ได้แก่ *Cladosporium cladosporioides*, *C. colocasiae*, *C. cucurmerinum* และ *C. oxysporum* (ตารางที่ 1) โดยมีการจัดจำแนกตามลักษณะอาการของโรคและลักษณะของเชื้อดังนี้

Cladosporium cladosporioides (Fresen) de Vries

ลักษณะอาการ เกิดแผลจุดที่ใบ เริ่มแรกจุดเหลือง ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและราสร้างเส้นในและสปอร์บนแผล มีสีน้ำตาลอมเขียวมะกอก

ลักษณะของเชื้อ

ราเจริญเติบโตซ้ำบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เมื่ออายุ 15 วัน วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีได้ 4.5-6 เซนติเมตร โคโลนีค่อนข้างนูนสีด้าอมเขียวมะกอก ด้านใต้โคโลนีสีด้าปนเขียวมะกอกมีลักษณะเป็นแหก conidiophores ตั้งตรง แตกกิ่งก้านที่ส่วนปลาย สีน้ำตาลอ่อนผนังเรียบ 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 และมักเห็นรอยแผล (scar) ที่บริเวณหัวท้ายเซลล์ หรือเฉพาะส่วนฐานของเซลล์ ส่วนใหญ่มักพบ conidia รูปร่างคล้ายมะนาวต่อกันเป็นลูกโซ่ และแตกแขนงได้อีก แขนงที่แตกออกจากร้านชูสปอร์เป็นเซลล์ยาว 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* สาเหตุของโรค 3 ชนิด ได้แก่ *Cladosporium brassicicola*, *C. cladosporioides* และ *C. macrocarpum* จากการศึกษาครั้งนี้พบรา *C. cladosporioides* เป็นสาเหตุโรคใบไหม้ของผักกาดขาวที่จังหวัดกาญจนบุรี และเพชรบูรณ์ ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเหมือนกับรา *C. cladosporioides* ที่ Zhang รายงานไว้

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

Cladosporium colocasiae Sawada

ลักษณะอาการ

เกิดแผลจุดสีน้ำตาลบนใบพืช เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแกมแดงเมื่อใบแก่ แผลค่อนข้างกลม หรือมีรูปร่างไม่แน่นอน บางครั้งพบเป็นสีดำอยู่ตรงกลางแผล มักพบว่ารอบแผลจะมีสีเหลืองล้อมรอบ ขนาดแผลมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15 มิลลิเมตร แต่จะมีขนาดเล็กกลางถ้าแผลเป็นจุดเล็กกระจายอยู่ทั่วไป (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 มีเส้นแบ่งกันเซลล์ 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

การศึกษาครั้งนี้พบรา *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) และจากการศึกษาการเจริญของราชนิดนี้บนอาหาร PDA พบว่าก้านชูสปอร์ของราชนิดนี้เจริญบนอาหาร PDA มีความยาวมากกว่าก้านชูสปอร์ของราที่พบบนใบพืชที่เป็นโรค :ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ho และคณะ (1999)

Cladosporium cucumerinum Ellis & Arthur

ลักษณะอาการ

พบอาการที่ใบ เริ่มต้นเกิดจุดแผลเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วไป จุดสีเขียวอ่อน จุดฉ่ำน้ำ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีขาวถึงสีเทา และมีลักษณะป็นจุดเหลี่ยม บางครั้งพบมีสีเหลืองล้อมรอบแผล จุดกลางแผลมักฉีกขาดเป็นรู

ลักษณะของเชื้อ

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

สปอร์ เกิดเรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ ตรงถึงโค้งเล็กน้อย สปอร์เกิดที่ปลายหรือส่วนกลางของก้านชูสปอร์ รูปร่างค่อนข้างกลม รูปรีตรงกลางกว้าง รูปไข่ ผนังเซลล์หลายชั้น หรือคล้ายมะนาว ขนาด 3-22 x 2-6.5 มีเส้นกั้นผนังเซลล์ สีน้ำตาลแกมเขียวมะกอก ผนังเรียบหนา

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

พืชที่เป็นโรค แตงกวา

แหล่งที่พบ ตาก พะเยา

การศึกษาครั้งนี้พบรา *C. cucumerinum* เป็นสาเหตุโรคสแคป พบอาการที่ใบเท่านั้น ที่จังหวัดตาก และพะเยา

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

Cladosporium oxysporum Berk. & M.A. Curtis

ลักษณะอาการ

เกิดแผลจุดสีน้ำตาลบนใบพืช เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแกมแดงเมื่อใบแก่ แผลค่อนข้างกลม หรือมีรูปร่างไม่แน่นอน บางครั้งพบเป็นสีดำอยู่ตรงกลางแผล

ลักษณะของเชื้อ

ราสร้างก้านชูสปอร์มีขนาด 55-650 × 2.5-5.5 ไมครอน สีนํ้าตาลอ่อน ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย ก้านชูสปอร์โป่ง ผนังเรียบ และบริเวณที่เป็นที่เกิดของสปอร์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-7.5 ไมครอน

สปอร์มีรูปร่างค่อนข้างกลม รูปไข่ จนถึงรูปคล้ายทรงกระบอก เซลล์เดียว สีเกือบใสจนถึงสีนํ้าตาล ผนังเรียบ ขนาด 4-20 × 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 และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ โรคพืช ตีพิมพ์ตีพิมพ์วารสาร กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

รวบรวมเก็บตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคพืชที่เกิดจากรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ในจังหวัดกาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ราชบุรี นครราชสีมา ตาก พะเยา เพชรบุรี เพชรบูรณ์ ราชบุรี และ เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างของพืชทั้งหมด 19 ตัวอย่าง จากพืช 6 ชนิด แตกต่าง พริก ผักกาดขาว ผักกาดหอม เผือก 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 จะเป็นแหล่งเก็บรักษาพันธุ์กรรมเชื้อราเพื่อการนำไปใช้ศึกษาค้นคว้าเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะเป็นประโยชน์การเกษตร การแพทย์อุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต และเป็นข้อมูลพื้นฐานในด้านการจำแนกชนิดของเชื้อรา และยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อเพื่อประโยชน์ในการนำเข้าและส่งออกสินค้า

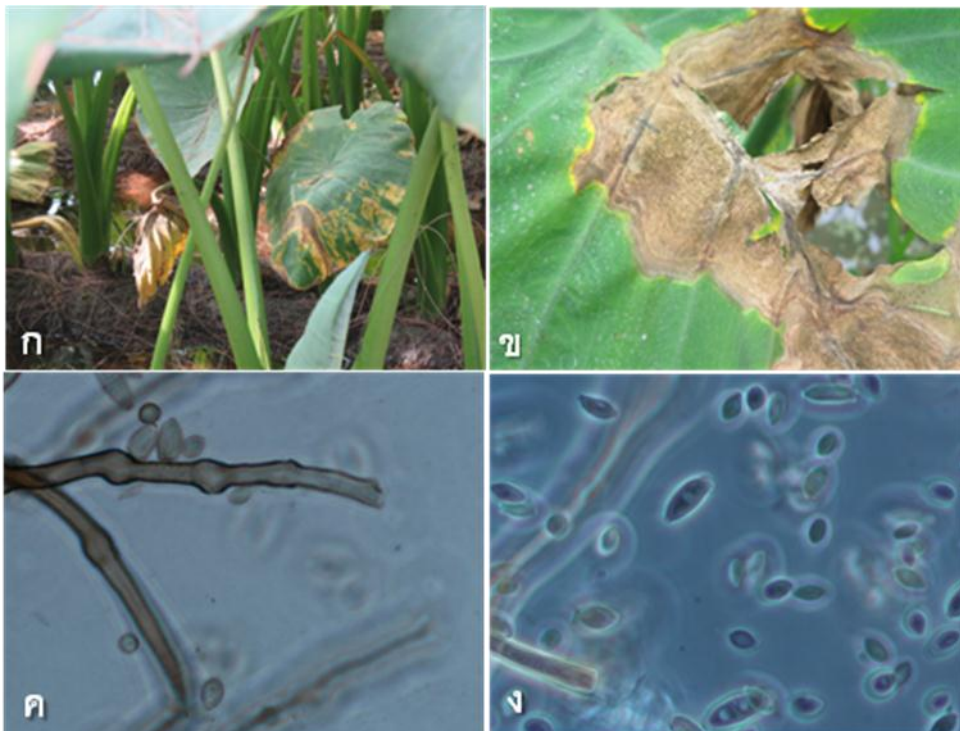
เอกสารอ้างอิง

- พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ ธนวัฒน์ กำแพงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืช และจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- วิจัย รักรักษาศาสตร์. 2551. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 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</i> <i>cladosporioides</i>	2	กาญจนบุรี เพชรบูรณ์
ผักกาดหอม	<i>Cladosporium oxysporum</i>	2	เชียงใหม่
เผือก	<i>Cladosporium</i> <i>cladosporioides</i>	1	ราชบุรี
เผือก	<i>Cladosporium colocasiae</i>	8	เชียงใหม่ ราชบุรี เพชรบูรณ์ เพชรบุรี
พริก	<i>Cladosporium</i> <i>cladosporioides</i>	2	กาญจนบุรี อุบลราชธานี
มะม่วง	<i>Cladosporium</i> <i>cladosporioides</i>	2	ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา



รูปที่ 1 โรคใบจุดสีน้ำตาลของเผือกสาเหตุเกิดจากรา *Cladosporium colocasiae*

- ก-ข ลักษณะอาการโรคใบจุดสีน้ำตาล
 ค ก้านชูสปอร์มีลักษณะโป่ง
 ง สปอร์ของรา