ผลงานฉบับเต็ม

ของ

นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี

ตำแหน่งนักวิชาการโรคพืช 7 ว.

ตำแหน่งเลขที่ 934

กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กรมวิชาการเกษตร

ขอประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิชาการโรคพืช 8 ว.

ตำแหน่งเลขที่ 934

กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กรมวิชาการเกษตร

ผลงานฉบับเต็ม

ของ

นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี

ตำแหน่งนักวิชาการโรคพืช 7 ว.

ตำแหน่งเลขที่ 934

กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กรมวิชาการเกษตร

ขอประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิชาการโรคพืช 8 ว.

ตำแหน่งเลขที่ 934

กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กรมวิชาการเกษตร

สารบาญ

เรื่องที่		หน้า
1	อนุกรมวิธานและเก็บรักษาเชื้อราสาเหตุโรคพืชชั้น Hyphomycetes สกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora*	1
2	สำรวจ รวบรวม และจำแนกชนิดเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก	28
3	วิธีการเก็บรักษาเชื้อรา *Sphaceloma ampelinum* สาเหตุโรคสแคปขององุ่น	50

กรมวิชาการเกษตร

อนุกรมวิธานและเก็บรักษาเชื้อราสาเหตุโรคพืชชั้น Hyphomycetes สกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora*

Taxonomy and preservation Plant diseases fungi Class Hyphomycetes Genus *Cercospora* and *Pseudocercospora*

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี
อภิรัชต์ สมฤทธิ์ **ธารทิพย ภาสบุตร**

กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มงานวิทยาไมโค **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

จากการสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่างพืชต่างๆ ที่แสดงอาการใบจุด ใบไหม้ ระหว่าง ตุลาคม 2546 – กันยายน 2548 จำนวน 92 ตัวอย่าง จากจังหวัด กรุงเทพมหานคร นนทบุรี ปทุมธานี อุทัยธานี นครสวรรค์ นครราชสีมา สมุทรสาคร นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี สามารถจำแนกเชื้อรา ชั้น Hyphomycetes สกุล *Cercospora* ได้ 5 ชนิด 17 ไอโซเลท ได้แก่ โรคใบเทียมร่วงหน่อไม้ฝรั่ง เกิดจากเชื้อรา *Cercospora asparagi* Sacc. โรคใบจุดคื่นฉ่าย เกิดจากเชื้อรา *C. apii* Fre. โรคใบจุดบานชื่น เกิดจากเชื้อรา *C. zinniae* Ell. & Mart. โรคใบขีดสีน้ำตาลของข้าว เกิดจากเชื้อรา *C. oryzae* Miyake และโรคใบจุดมะระ เกิดจากเชื้อรา *C. citrullina* Cooke จำแนกเชื้อราสกุล *Pseudocercospora* ได้ 5 ชนิด 9 ไอโซเลท ได้แก่ โรคใบปื้นเหลืองกล้วยไม้ เกิดจากเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* (Burnette) Deighton โรคใบจุดกระเจี๊ยบเขียว เกิดจากเชื้อรา *P. abelmoschi* (Ell. & Everh.) Deighton โรคใบจุดถั่วฝักยาว เกิดจากเชื้อรา *P. cruenta* (Sacc.) Deighton โรคใบจุดมะเขือเทศ เกิดจากเชื้อรา *P. fuligena* (Roldan) Deighton และโรคใบจุดบัว เกิดจากเชื้อรา *P. nymphaeacea* Cooke & Ellis

---

รหัส 05-02-47-0802-0502

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้น จึงทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ปัจจัยที่ทำให้สิ่งมีชีวิตเปลี่ยนแปลงได้แก่ปัจจัยภายในคือตัวสิ่งมีชีวิตเอง และปัจจัยภายนอกเช่น สิ่งแวดล้อม มนุษย์และสัตว์ จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชก็มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป ดังนั้นความเสียหายของผลผลิตเนื่องจากจุลินทรีย์โรคพืชจึงเกิดเป็นประจำทุกปี ได้มีรายงานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ว่าการสูญเสียเฉพาะเมล็ดธัญพืชหลังการเก็บเกี่ยวในประเทศกำลังพัฒนาอยู่ระหว่าง 5-30 เปอร์เซ็นต์ โดยจัดเป็นการสูญเสีย เนื่องจากจุลินทรีย์ถึง 4 เปอร์เซ็นต์

การอนุกรมวิธานเชื้อจุลินทรีย์โรคพืชได้มีรายงานบ้างแล้ว แต่มิได้ทำการศึกษาครอบคลุมในทุกกลุ่มพืชและทุกสถานที่ที่มีการปลูกพืชที่สำคัญของประเทศ การที่พันธุกรรมจุลินทรีย์โรคพืชเปลี่ยนแปลงไป อาจทำให้เกิดชนิด (species) หรือ สายพันธุ์ (biovars) ใหม่ ในอดีตที่ผ่านมามิได้มีการศึกษารายละเอียดข้อมูลประจำสายพันธุ์อย่างสมบูรณ์ และเก็บรักษาสายพันธุ์อย่างถาวรและเป็นระบบ หากมีการเก็บรักษาได้มาตรฐานสากล จะสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในงานวิจัยทางด้านอื่นอีกหลายด้าน บางสายพันธุ์อาจให้สารที่มีประโยชน์ และสร้างมูลค่าเพิ่มได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่อให้ได้แหล่งของสายพันธุ์ และข้อมูลจุลินทรีย์โรคพืช เพื่อเข้าเก็บรวบรวมในหน่วยเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์โรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช เพื่อใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์อย่างยั่งยืนต่อไป

เชื้อราสาเหตุโรคพืชชั้น Hyphomycetes สกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora* จัดเป็นเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดในพืชหลายชนิด เช่น โรคใบขีดสีน้ำตาลของข้าว เกิดจากเชื้อรา *Cercospora oryzae* I. Miyake แผลสีน้ำตาลเป็นขีดๆขนานไปกับเส้นใบข้าว ในปี 2537 พัฒนา และคณะ ได้รายงานเชื้อราทั้ง 2 สกุลดังกล่าว เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกับพืชหลายชนิด เช่น โรคใบจุดของถั่วเขียว เกิดจากเชื้อรา *Cercospora canescens* โรคใบจุดของคื่นฉ่าย เกิดจากเชื้อรา *Cercospora apii* เป็นต้น โรคใบเทียมร่วงของหน่อไม้ฝรั่ง เกิดจากเชื้อรา *Cercospora asparagi* Sacc. (http://www.doa.go.th/data-agri/02_LOCAL/oard5/asparagus/body.html#cercos) นอกจากนี้ยังมีทั้งไม้ดอกไม้ประดับ ผัก ไม้ผล พืชไร่ต่างๆ ที่ถูกเชื้อราทั้ง 2 สกุล ดังกล่าวเข้าทำลาย จึงควรที่จะได้ทำการศึกษาเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานต่อการนำไปศึกษาด้านอื่นต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโรคพืช
    1.1 ถุงพลาสติก ยางรัด กระดาษหนังสือพิมพ์ ปากกาเขียนถุง
    1.2 กระดาษฟาง แผงอัดตัวอย่าง
    1.3 กระดาษบันทึกข้อมูล
    1.4 กรรไกรตัดกิ่ง มีด
    1.5 ถังเก็บความเย็น เพื่อเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรค
2. อุปกรณ์ห้องปฏิบัติการ
    2.1 กล้องจุลทรรศน์ Stereoscopic Microscope
    2.2 กล้องจุลทรรศน์ Compound Microscope
    2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA, WA
    2.4 จานเลี้ยงเชื้อ เข็มเขี่ยเชื้อ
    2.5 ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิต่ำ
    2.6 เครื่อง Freeze – Dryer และตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ

วิธีการ

1. การสำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคพืชจากแหล่งปลูกต่างๆ

    ทำการสำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคของพืชชนิดต่างๆ ในแต่ละแหล่งปลูกพืชที่มีแนวโน้มการเกิดโรคจากเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 2 สกุล โดยการสำรวจแปลงปลูกพืชแต่ละชนิดจะทำการสำรวจลักษณะอาการเป็นโรคใบจุด ใบไหม้ โดยการสุ่มเดินแบบซิกแซกทั่วแปลงปลูก ในแปลงปลูกพืชชนิดเดียวกันจะเว้นระยะการสำรวจห่างกันอย่างน้อย 5 กิโลเมตร เมื่อได้ตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรค ทำการเก็บตัวอย่างห่อกระดาษฟาง นำมาศึกษาจำแนกเชื้อ เก็บเชื้อ และเก็บรักษาตัวอย่างตามขั้นตอนการเก็บรักษา ในห้องปฏิบัติการ

2. การอัดตัวอย่างโรคพืชเพื่อทำตัวอย่างแห้ง

    เก็บตัวอย่างใบพืชชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการใบจุด ใบไหม้ และอาการที่คาดว่าจะเกิดจากเชื้อราสกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora* spp. โดยนำตัวอย่างที่ตัดมาได้แบ่งส่วนหนึ่งมาทำการอัดตัวอย่างแห้งด้วยการจัดเรียงชิ้นส่วนใบพืชที่แสดงอาการของโรคบนกระดาษฟางและปิดทับด้วยกระดาษฟางอีกชั้นหนึ่ง นำไปอัดเก็บไว้ด้วยแผงอัดตัวอย่าง

3. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

นำตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งที่เก็บมาทำการแยกเชื้อศึกษาในห้องปฏิบัติการ ตามขั้นตอน คือ

3.1 นำใบพืชที่แสดงอาการดังกล่าวมาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereoscopic microscope ทำการเขี่ยเชื้อจากแผลบนใบพืชดังกล่าวนั้นมาทำสไลด์

3.2 นำสไลด์ที่ได้มาทำการส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ Compound microscope ศึกษาลักษณะของเชื้อราดังกล่าว เพื่อการจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา เปรียบเทียบกับเอกสารวิชาการในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora*

3.3 เมื่อทำการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุได้แล้ว นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคและอัดเก็บเป็นตัวอย่างแห้ง เก็บเข้าสู่พิพิธภัณฑ์โรคพืช เพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิงทางวิชาการ

4. การเก็บเชื้อสาเหตุใน Culture Collection

นำเชื้อราสาเหตุ มาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการแยกสปอร์เดี่ยว (single spore isolation) โดยเขี่ยสปอร์เพียงสปอร์เดียวจากแผลมาใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ WA เมื่อเชื้อเริ่มเจริญ ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อว่าเป็นเชื้อที่เจริญจากสปอร์เดี่ยวแล้วนำมาย้ายเชื้อลงอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ทำการเก็บเชื้อเข้าสู่ Culture Collection โดยวิธีเก็บแห้งสุญญากาศ (Lyophilization) เพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิงทางวิชาการและเพื่อการนำไปศึกษาด้านอื่นๆ ต่อไป

5. การบันทึกข้อมูล

5.1 บันทึกข้อมูลตัวอย่างพืชที่เป็นโรคที่ได้เก็บตัวอย่างมา เช่น สถานที่เก็บตัวอย่าง วันที่ ชื่อพืช อาการ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง เป็นต้น

5.2 บันทึกข้อมูลชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืชของพืชชนิดต่างๆ ตามหลักการจัดเก็บด้านโรคพืชหลังจากทำการจัดจำแนกแล้ว

เวลาและสถานที่

เริ่มดำเนินการทดลอง ตุลาคม 2546 สิ้นสุด กันยายน 2548 ณ แปลงปลูกพืชของเกษตรกร และกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคพืชจากแหล่งปลูกต่างๆ

จากการสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่าง และบันทึกข้อมูลโรคพืช ระหว่าง ตุลาคม 2546 – กันยายน 2548 ทำการเก็บตัวอย่างพืชต่างๆ ที่แสดงอาการใบจุด ใบไหม้ จำนวน 92 ตัวอย่าง จาก 11 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร นนทบุรี ปทุมธานี อุทัยธานี นครสวรรค์ นครราชสีมา สมุทรสาคร นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี

2. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

การจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคพืช สามารถจัดจำแนกโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราสกุล Cercospora และสกุล Pseudocercospora ได้ *Cercospora* 5 ชนิด 17 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) และ *Pseudocercospora* 5 ชนิด 9 ไอโซเลท (ตารางที่ 2) โดยศึกษาลักษณะอาการที่ปรากฏบนพืชชนิดนั้นๆ และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้ในห้องปฏิบัติการ ดังตารางที่ 3 และ 4 เปรียบเทียบกับเอกสารการจัดจำแนกของ Chupp (1953) และ Ellis (1971) ซึ่งมีลักษณะอาการและรายละเอียดของเชื้อต่างๆ ดังต่อไปนี้

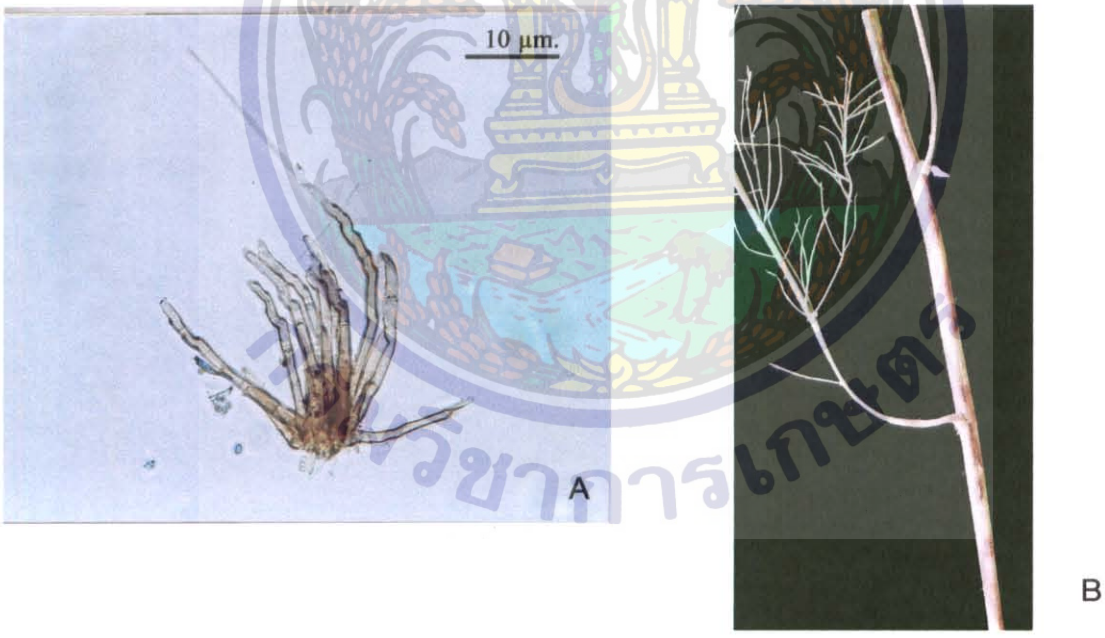
กรมวิชาการเกษตร

โรคใบเทียมร่วง หรือ โรคลำต้นและกิ่งไหม้ (Cercospora blight) **หน่อไม้ฝรั่ง**

จากการสำรวจโรคใบเทียมร่วง หรือ โรคลำต้นและกิ่งไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง จาก อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี อ.ท่าม่วง อ. บ่อพลอย อ. ด่านมะขามเตี้ย จ. กาญจนบุรี อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี ได้ตัวอย่างจำนวน 7 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ลักษณะอาการที่พบแผลที่ก้านจะเป็นสีม่วงอมน้ำตาลเข้มหรือสีม่วงแดง จุดแผลค่อนข้างกลมตรงกลางมีสีเทาขอบแผลไม่สม่ำเสมอ ขนาดของแผลเป็นจุดไม่แน่นอน บางครั้งแผลขยายรวมกับแผลใกล้เคียงเป็นสีน้ำตาล พบตามปลายกิ่งหรือยอดทำให้ใบแห้งร่วงกิ่งแห้งตาย การเกิดโรคสามารถเกิดได้ตั้งแต่ระยะกล้า

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 3) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ ก้านสปอร์สีน้ำตาลปลายมนเกิดเป็นกลุ่มไม่แตกกิ่งก้าน สปอร์สีใสขนาด 2.5-5 x 35-130 ไมครอน เหยียดตรงหรือโค้งเล็กน้อย ส่วนโคน truncate แล้วเรียวไปทางปลาย สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Cercospora asparagi* Sacc. โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Chupp (1953)



ภาพที่ 1 โรคใบเทียมร่วงหน่อไม้ฝรั่ง เกิดจากเชื้อรา *Cercospora asparagi* Sacc.

A = Conidiophores และ conidia กำลังขยาย 400 X

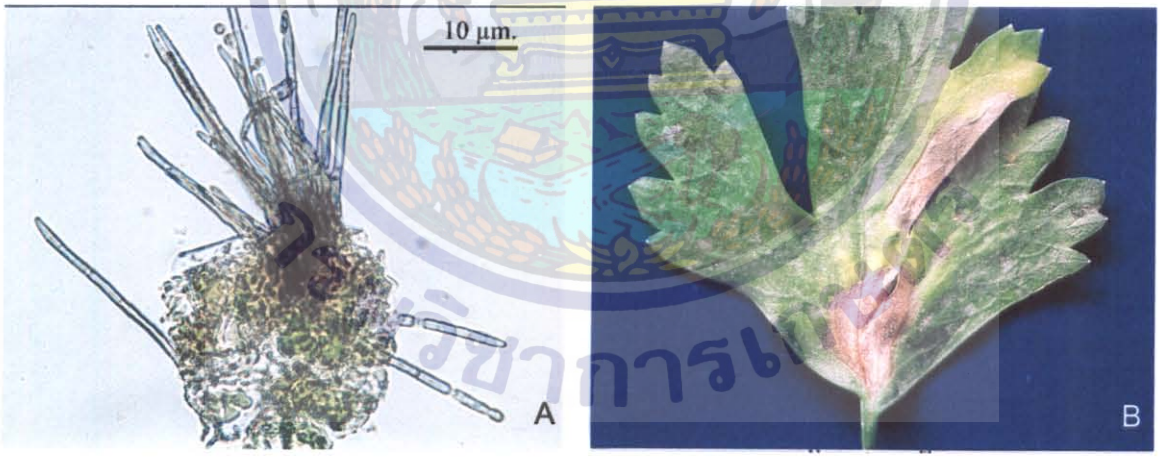
B = ภาพแสดงลักษณะอาการบนกิ่งหน่อไม้ฝรั่ง

โรคใบจุดคื่นฉ่าย (Leaf spot)

จากการสำรวจโรคใบจุดคื่นฉ่าย จาก อ. สามพราน จ. นครปฐม อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี ได้ตัวอย่างจำนวน 3 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ลักษณะอาการที่พบ จุดแผลจะมีสีน้ำตาลกลางแผลสีอ่อนกว่าขอบแผล รูปร่างไม่แน่นอน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลประมาณ 0.5 – 5 มิลลิเมตร บางแผลถูกจำกัดขนาดโดยเส้นใบ แต่อาจใหญ่กว่าก็ได้เนื่องจากการเชื่อมติดกันของแผลที่อยู่ใกล้เคียง ทำให้เกิดเป็นแผลขนาดใหญ่ทั่วทั้งใบ

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 3) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ โคโลนี เกิดทั้ง 2 ด้านของใบ โดยจะพบด้านหลังใบมากกว่าด้านหน้าใบ ไม่พบ stroma Conidiophores เกิดเป็นกลุ่ม (fasicles) สีน้ำตาลอมเขียวปลายก้านสีอ่อนลง ก้านเหยียดตรงไม่แตกกิ่งก้าน (geniculate) ส่วนปลายตัดตรง (truncate) มี scar ขนาดกลางและลักษณะแบนราบ จำนวนผนังกั้น 5-12 ขนาด 144-294 x 4-6 ไมครอน Conidia มีตั้งแต่สั้นถึงยาวมากตรงหรือโค้งเล็กน้อย ส่วนโคน truncate ปลายโค้งมนจนถึงเรียวแหลมสีใส scar ขนาดปานกลางถึงเล็ก แบนราบ จำนวนผนังกั้นมีมาก ขนาด 3-4 x 44-230 ไมครอน สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Cercospora apii* Fre. โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Chupp (1953)



ภาพที่ 2 โรคใบจุดคื่นฉ่าย เกิดจากเชื้อรา *Cercospora apii* Fre.

A = Conidiophores conidia และ fascicle กำลังขยาย 400 X

B = ภาพแสดงลักษณะอาการบนใบคื่นฉ่าย

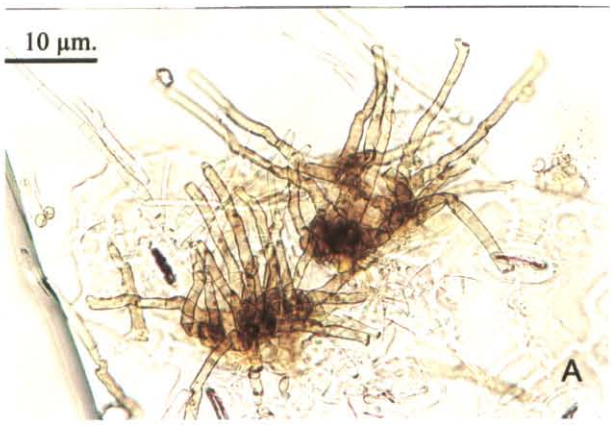
โรคใบจุดบานชื่น (Leaf spot)

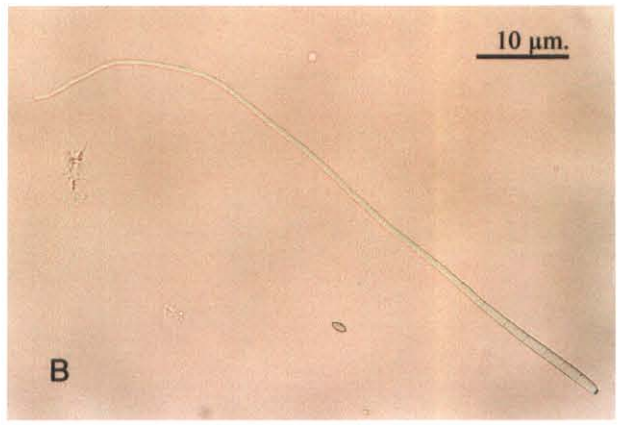
จากการสำรวจโรคใบจุดบานชื่น จาก อ. รังสิต จ. ปทุมธานี ได้ตัวอย่างจำนวน 1 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ลักษณะอาการที่พบ แผลบนใบมีลักษณะกลม แผลสีน้ำตาล กลางแผลสีซีดขาวหรือเทา เมื่อแผลขยายใหญ่ขึ้น แผลมีรูปร่างไม่แน่นอน เนื่องจากมีการรวมกันของแผลใกล้เคียงขยายติดต่อกันเป็นแผลขนาดใหญ่

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 3) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ โคโลนีเกิดด้านหน้าของใบมากกว่าหลังใบ conidiophore เกิดเป็นกลุ่มบน stromata มีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลอมเขียวมะกอก รูปร่างทรงกระบอกเรียวไปทางปลาย บางครั้งพบ conidiophore ค่อนข้างสั้น conidiophore มีลักษณะเป็นข้อหัก ปลายสุดมี scar เห็นได้ชัด ขนาด 50 – 120 X 4 – 5 ไมครอน conidium รูปร่างแบบ acicular ปลายเรียวแหลม ไม่มีสี มี scar ที่ฐาน มีผนังกั้น 5 – 18 ผนัง ขนาด 2-4 x 20-140 ไมครอน สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา Cercospora zinniae *Ell. & Mart.* โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Chupp (1953)

กรมวิชาการเกษตร





ภาพที่ 3 โรคใบจุดบานชื่นเกิดจากเชื้อรา *Cercospora zinniae* Ell. & Mart.

A = Conidiophores และ stromata กำลังขยาย (400 x)

B = Conidia กำลังขยาย (400 x)

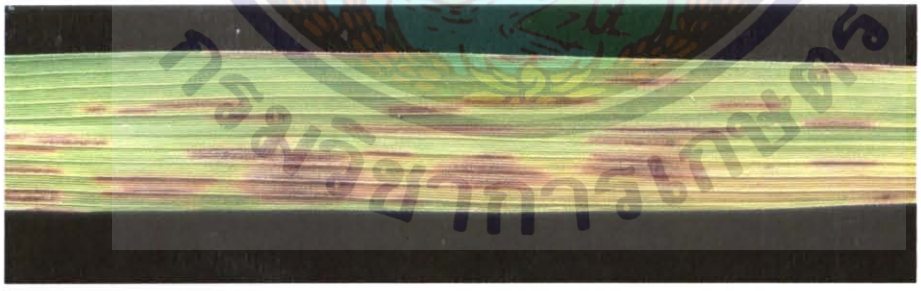
C = ลักษณะอาการบนใบคล้ายตากบ

โรคใบขีดสีน้ำตาลข้าว (Brown Leaf spot)

จากการสำรวจโรคใบจุดบานชื่น จาก อ. ศรีประจันต์ อ. สามชุก อ. เดิมบางนางบวช จ. สุพรรณบุรี อ. หนองฉาง อ. ลานสัก จ. อุทัยธานี และ อ. บางเลน จ. นครปฐม ได้ตัวอย่างจำนวน 5 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ลักษณะอาการที่พบ ใบข้าวจะเกิดจุดแผลเป็นลักษณะขีดยาวไปตามความยาวของใบ ความกว้างของแผลถูกจำกัดโดยเส้นใบ แผลสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม กลางแผลมีสีอ่อนกว่า บริเวณรอบแผลมีสีเหลือง ขนาดแผล 1 x 2-10 มิลลิเมตร แผลอาจลามติดต่อกันทำให้ใบไหม้ โดยเฉพาะที่ส่วนปลายใบ

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 3) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ โคโลนีเกิดทั้งสองด้านของใบ ไม่มี stroma หรือมีขนาดเล็กประกอบด้วย 2-3 เซล conidiophores เกิดเป็นกระจุกหนามี 7-9 ก้านต่อกลุ่ม ก้านสปอร์สีน้ำตาลอ่อนเมื่อแก่จะมีสีเข้มขึ้นตามอายุ ขนาดค่อยๆ เรียวไปทางปลาย มีผนังกั้นตามขวาง 2-5 ส่วนปลายโค้งมน หรือเป็นรูปโคนหัวคว่ำ scar ขนาดเล็กถึงปานกลาง ขนาดก้านสปอร์ 3-4 x 29-125 ไมครอน conidia รูปร่างแบบทรงกระบอกถึงรูปกระบอง ตรงถึงโค้งเล็กน้อย เกิดต่อเนื่องเป็นลูกโซ่สั้น ส่วนโคนเป็นรูปโคนค่อนข้างยาว อาจโค้งมนหรือเป็นแบบ truncate ส่วนปลายโค้งมน สีใส มีผนังกั้นตามขวาง 1-6 scar มีขนาดเล็กมาก ขนาดสปอร์ 3-4 x 21-69 ไมครอน สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Cercospora oryzae* Miyake โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Chupp (1953)



ภาพที่ 4 โรคใบขีดสีน้ำตาล เกิดจากเชื้อรา *Cercospora oryzae* Miyake
A=ภาพแสดงลักษณะอาการจุดสีน้ำตาลบนใบข้าว

ห้องสมุด กรมวิชาการเกษตร

โรคใบจุดมะระ (Leaf spot)

จากการสำรวจโรคใบจุดมะระ จาก อ. บางเลน จ. นครปฐม ได้ตัวอย่างจำนวน 1 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ลักษณะอาการที่พบ แผลบนใบมีลักษณะกลม แผลสีน้ำตาล กลางแผลสีซีดขาวหรือเทา ขอบแผลสีออกม่วงถึงน้ำตาลเข้ม

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 3) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ โคโลนีเกิดด้านหลังใบ (epiphyllous) conidiophores เกิดเดี่ยวๆ หรือเป็นกลุ่ม (fascicle) 2-30 ก้าน ปกติพบ 2-5 ก้าน ไม่พบ stromata ส่วนปลายสีอ่อนกว่า conidiophore มีลักษณะตรงถึงเป็นข้อหัก มีผนังกั้นหลายผนัง ไม่แตกกิ่งก้านปลายสุดมี scar เห็นได้ชัด มีขนาดใหญ่ ขนาด 4.5-5 x 50-300 ไมครอน conidium สีค่อนข้างใส รูปร่างแบบ acicular ปลายเรียวแหลม ไม่มีสี มี scar ที่ฐาน conidia ขนาด 2-4 x 50-220 ไมครอน สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Cercospora citrullina* Cooke โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Chupp (1953)

ภาพที่ 5 โรคใบจุดมะระ เกิดจากเชื้อรา *Cercospora citrullina* Cooke

A = ภาพแสดงลักษณะอาการขอบแผลกลมบนใบ

B = ภาพแสดงลักษณะอาการขอบแผลไม่แน่นอนบนใบ

ป
632.A
ง๑๑๗
2550

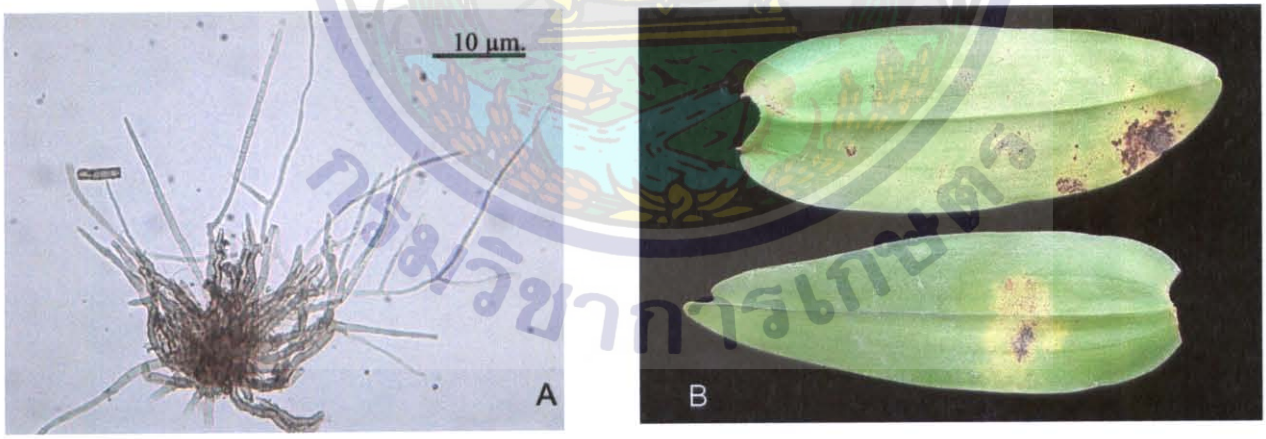
2489

โรคใบปื้นเหลืองกล้วยไม้ (Yellow leaf spot)

จากการสำรวจโรคใบปื้นเหลืองกล้วยไม้ จาก อ. กระทุ่มแบน จ. สมุทรสาคร และคลองทวีวัฒนา กรุงเทพมหานคร ได้ตัวอย่างจำนวน 2 ไอโซเลท (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการที่พบ แผลบนใบกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* มีสีเหลือง ลักษณะเป็นปื้น หรือดวง (patch or blotch) ไม่มีขอบแผลชัดเจน เมื่อแผลขยาย แผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือเทาดำ อาการรุนแรงทำให้ใบร่วง บนใบสกุล *Rhynchostylis* เป็นรอยขีดสีน้ำตาลและดำ ขนาดเล็ก 0.5 – 1.0 มม. ต่อมาแผลขยายไปตามความยาวของใบ ขนาดกว้าง 3.0 – 5.0 มม. ยาว 2 – 3 ซม.

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 4) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ โคโลนีเกิดทั้งสองด้านของใบ (amphigenous) conidiophore เกิดเป็นกลุ่มเรียกว่า fasicle บน stromata สีน้ำตาลเข้ม บางกลุ่มไม่มี stromata แต่ละ fasicle มี conidiophore จำนวนมาก ตั้งแต่ 10 – 20 ก้าน conidiophore แตกกิ่งก้าน รูปร่าง filiform ตรงหรือโค้งเล็กน้อย สีน้ำตาล มีผนังกั้นภายใน ส่วนปลายรูปร่าง cone-shaped หัวคว่ำ conidium รูปร่าง subcylindrical จนถึง obclavate สีน้ำตาลอมเขียว มะกอกอ่อน เซลล์ที่โคนรูปร่าง obconic มองไม่เห็น scar เนื่องจากมีขนาดเท่ากับผนัง conidium ขนาด 55 – 230 X 4.5 – 5.5 ไมครอน สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* Deighton โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Chupp (1953) และ Ellis (1971)



ภาพที่ 6 โรคใบปื้นเหลืองกล้วยไม้ เกิดจากเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* Deighton

A = Conidiophores conidia และ fascicle กำลังขยาย 400 X

B = อาการปื้นเหลือง บนใบกล้วยไม้

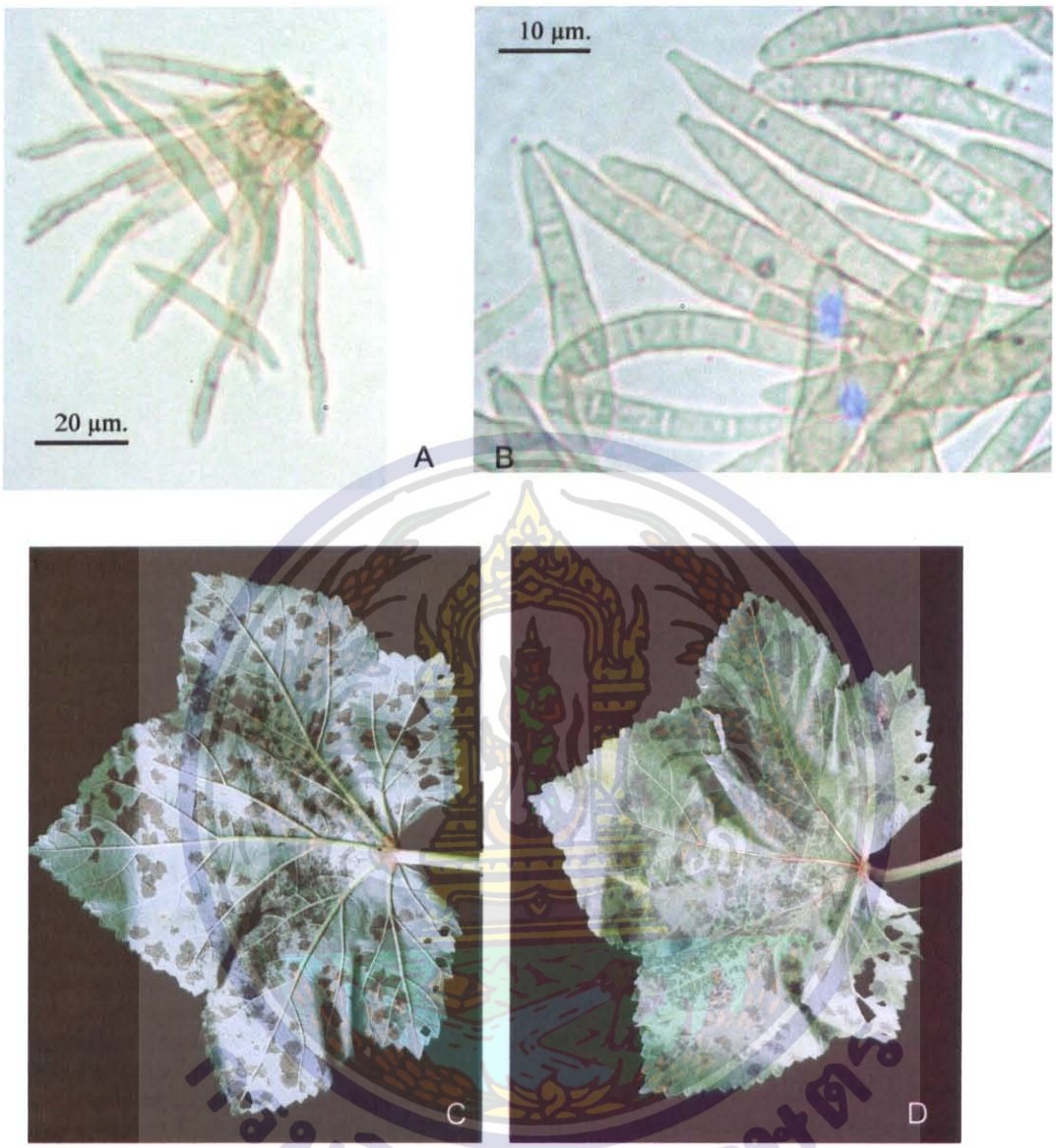
โรคใบจุดกระเจี๊ยบเขียว (Leaf spot)

จากการสำรวจโรคใบจุดกระเจี๊ยบเขียว จาก จ. นครสวรรค์ ได้ตัวอย่างจำนวน 1 ไอโซเลท (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการที่พบ แผลเริ่มแรกมีขนาดเล็กสีน้ำตาล ต่อมาขยายเป็นรูปเหลี่ยมเพราะถูกจำกัดโดยเส้นใบ ถ้ากลุ่มเส้นใยและสปอร์ขึ้นฟูเต็มแผลจะเห็นเป็นสีเทาดำ ด้านหน้าใบอาการไม่ชัดเท่าด้านท้องใบ แผลบางครั้งเชื่อมติดต่อกันทำให้เกิดเป็นแผลใหญ่ เมื่อเป็นรุนแรงใบจะร่วง

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 4) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ โคโลนีสีน้ำตาลเกิดมากทางด้านท้องใบ Conidiophores เกิดเป็นกลุ่มเรียกว่า fasicle มีก้านสปอร์จำนวนมาก เกิดหนาแน่น ก้านสปอร์ตรงหรือโค้งไปมา บางครั้งแตกกิ่งก้านสีน้ำตาลอ่อนถึงปานกลาง ตรงรอยให้กำเนิดสปอร์จะไม่มี scar ก้านสปอร์มีขนาด 4-7 x 17-85 ไมครอน Conidia รูปร่างแบบ obclavate ส่วนโคนเป็นรูปโคน รอยต่อกับก้านสปอร์เป็นแบบ truncate ไม่มี scar ปรากฏให้เห็น Conidia เรียวจากโคนสู่ปลาย ปลายสุดโค้งมน สีน้ำตานอ่อนซีด มีผนังกั้น 3-8 ขนาดConidia 4-8 x 24-92 ไมครอน สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Pseudocercospora abelmoschi* (Ellis & Everh.) Deighton โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Ellis (1971)

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 7 โรคใบจุดกระเจี๊ยบเขียว เกิดจากเชื้อรา *Pseudocercospora abelmoschi* (Ellis & Everh.) Deighton

A = Conidiophores และ conidia กำลังขยาย 100 X

B = conidia กำลังขยาย 400 X

C = ภาพแสดงลักษณะอาการบนใบกระเจี๊ยบเขียวด้านใต้ใบ

D = ภาพแสดงลักษณะอาการบนใบกระเจี๊ยบเขียวด้านบนใบ

โรคใบจุดถั่วฝักยาว (Leaf spot)

จากการสำรวจโรคใบจุดถั่วฝักยาว จาก อ. บางเลน จ. นครปฐม ได้ตัวอย่างจำนวน 1 ไอโซเลท (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการที่พบ แผลบนใบลักษณะเป็นจุดแผลรูปร่างไม่แน่นอน แผลถูกจำกัดโดยเส้นใบ ขนาด 5-10 มิลลิเมตร สีน้ำตาลอ่อนปนกับสีน้ำตาลคล้ายสีสนิม หรือสีน้ำตาลแดงบริเวณขอบ ถ้าความชื้นสูงขอบแผลไม่เด่นชัดมีลักษณะเป็นปื้น บางครั้งตรงกลางแผลมีสีเทาดำ

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 4) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ โคโลนีเกิดทั้งสองด้านของใบ (amphigenous) ด้านท้องใบหนาแน่นกว่าด้านหลังใบconidiophore เกิดเป็นกลุ่มเรียกว่า fasicle หนาแน่นมากบน stroma ขนาดเล็กถึงปานกลาง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20-25 ไมครอน ก้านสปอร์ตรงหรือคดไปมา (sinuous) ไม่แตกกิ่งก้าน (geniculate)ขนาดความกว้างไม่เท่ากันตลอดก้าน ส่วนมากค่อยๆ เรียวไปทางปลาย รูปร่างแบบโคนคว่ำ (obconic) ปลายสุดโค้งมน สีน้ำตาลอมเขียวมะกอกอ่อน ผนังกั้น 1-2 ผนัง ไม่มี scar ก้านสปอร์ขนาด 2.5-5 x 18-85 ไมครอน Conidia รูปร่างแบบ obclavato-cylindric ถึง obclavate ตรงหรือโค้งเล็กน้อย ส่วนโคนโดยมากมีรูปร่างแบบโคนยาว ส่วนปลายโค้งมน สีใสถึงน้ำตาลอมเขียวมะกอกซีด มีผนังกั้น 1-12 ผนัง ไม่มี scar ขนาด 2-6 x 18.5-102.5 ไมครอน สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Pseudocercospora cruenta* Deighton โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Chupp (1953) และ Ellis (1971)

ภาพที่ 8 โรคใบจุดถั่วฝักยาว เกิดจากเชื้อรา *Pseudocercospora cruenta* Deighton

A = Conidiophores กำลังขยาย 100 X

B = Conidia กำลังขยาย 100 X

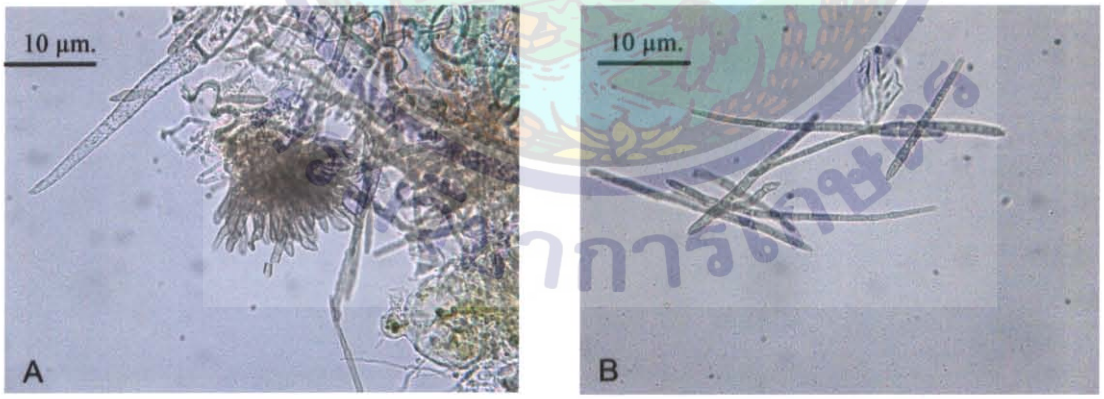
C = ภาพแสดงลักษณะอาการบนใบพืชด้านใต้ใบ

โรคใบจุดมะเขือเทศ (Leaf spot)

จากการสำรวจโรคใบจุดมะเขือเทศ จาก อ. วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา และเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร ได้ตัวอย่างจำนวน 2 ไอโซเลท (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการที่พบ แผลบนใบลักษณะเป็นจุดแผลรูปร่างไม่แน่นอน แผลถูกจำกัดโดยเส้นใบ ไม่มีขอบแผลเด่นชัด โดยมากที่ด้านท้องใบเห็นเป็นกลุ่มของเส้นใยและสปอร์กระจายทั่วไป บางกลุ่มหนาแน่นมาก

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 4) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ โคโลนีเกิดด้านท้องใบ ลักษณะฟู สีน้ำตาลเข้ม ไม่มี stroma ถ้ามีจะมีขนาดเล็กมากconidiophores เกิดเป็นกลุ่มเรียกว่า fascicle บน stroma มีก้านสปอร์จำนวน 9-12 ก้านต่อกลุ่ม บางกลุ่มหนาแน่นมาก ก้านสปอร์ตรงหรือคดไปมา (sinuous) ไม่แตกกิ่ง (geniculate) ส่วนปลายมีลักษณะแบบโคนยาวหัวคว่ำ (long obconic) ที่ปลายสุดไม่มี scar ปรากฏให้เห็น สีน้ำตาลอ่อนซีด มีผนังกั้น 1-4 ผนัง ขนาด 4-6 x 30-85 ไมครอน Conidia รูปร่างแบบกระบอง (cylindric) ถึงทรงกระบอกกิ่งกระบอง (cylindro – obclavate) ตรงหรือโค้งเล็กน้อย ส่วนโคนรูปร่างแบบโคนยาวและ truncate สีฟางข้าวค่อนข้างซีด (subhyaline) มีผนังกั้น 3-10 ผนัง ไม่มี scar ขนาด 3.5-5 x 25-160 ไมครอน สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Pseudocercospora fuligena* (Roldan) Deighton โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Chupp (1953) และ Ellis (1971)



ภาพที่ 9 โรคใบจุดมะเขือเทศ เกิดจากเชื้อรา *Pseudocercospora fuligena* (Roldan) Deighton

A = Conidiophores กำลังขยาย 400 X

B = Conidia กำลังขยาย 400 X

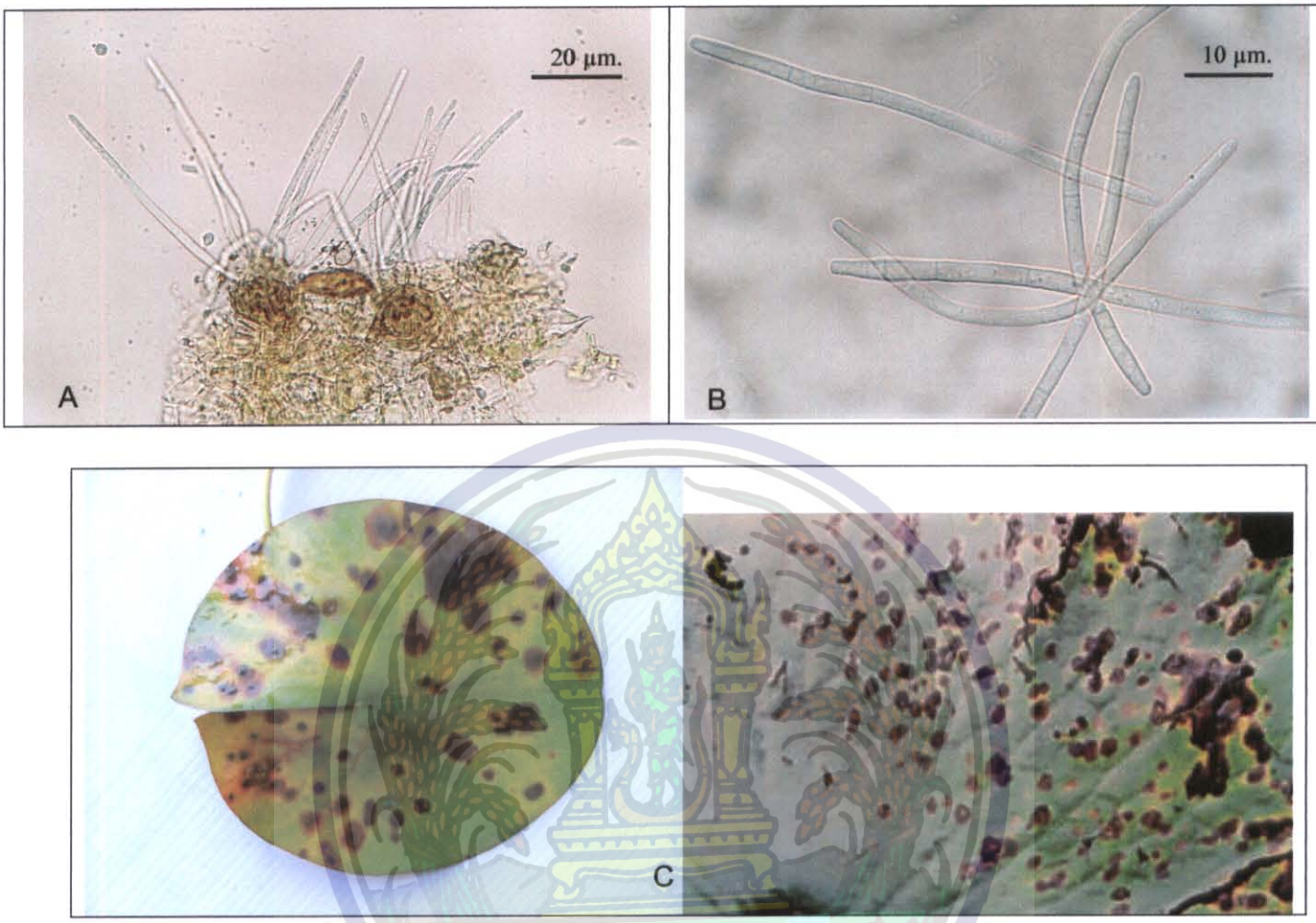
โรคใบจุดบัว (Leaf spot)

จากการสำรวจโรคใบจุดบัว จาก เขตธนบุรี กรุงเทพมหานคร อ. เมือง จ. นนทบุรี และ อ. ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี ได้ตัวอย่างจำนวน 3 ไอโซเลท (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการที่พบ ด้านหน้าของใบ แผลมีลักษณะกลม สีน้ำตาล มี halo สีเหลืองส้ม เมื่อแผลขยายกว้างออก มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 – 2 ซม. สีน้ำตาลเข้ม เนื้อเยื่อตรงกลางแผลมักขาดหลุด (shot hole) แผลที่ยังสมบูรณ์ พบกลุ่มราสีเทาถึงเทาแก่เป็นกระจุก เจริญปกคลุมอยู่ สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 4) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ โคโลนีเกิดทั้งสองด้านของใบ บัวพันธุ์ที่ใบลอยอยู่บนผิวน้ำ เชื้อราสร้างกลุ่มสปอร์ ด้านหน้าใบมากกว่าด้านหลังใบ โคโลนีสีเทาอ่อนจนถึงสีเทาเข้ม conidiophore เกิดเป็นกลุ่ม (fasicle) จำนวนก้าน 7 – 8 ก้านต่อกลุ่ม บน stromata ที่มีขนาดเล็ก ประมาณ 24 ไมครอน สีน้ำตาลอ่อน ก้าน conidiophore สีน้ำตาลอ่อนซีด รูปร่างทรงกระบอก ตรงหรือโค้งเล็กน้อย เรียวไปทางส่วนปลาย ปลายโค้งมน ไม่มี scar ขนาด 2.5 – 3.5 X 12 – 50 ไมครอน conidium รูปร่าง obclavato-cylindrical ตรงหรือโค้ง ขนาดแคบลงทางส่วนโคน (obconic) ฐานตัดเกือบเป็นเส้นตรง (subtruncate) ปลายโค้งมน (obtuse) ไม่มี scar ไม่มีสี ขนาด 2 – 3 X 39 – 104 ไมครอน สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Pseudocercospora nymphaeacea* Cooke & Ellis โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Chupp (1953) และ Ellis (1971)

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 10 โรคใบจุดของบัว เกิดจากเชื้อรา *Pseudocercospora nymphaeacea* Cooke & Ellis

A = Conidiophores stroma และ fascicle กำลังขยาย 200 X

B = Conidia กำลังขยาย 400 X

C = อาการใบจุดบัว

วิทยาการเกษตร

จากตัวอย่างพืชที่แสดงอาการใบจุด ใบไหม้ และได้ทำการจำแนกชนิดเชื้อราดังกล่าวข้างต้นแล้วนั้น พบว่าเชื้อราชนิดเดียวกันที่แตกต่างไอโซเลทกันนั้น ลักษณะของเชื้อราแต่ละชนิดที่ได้จากการจัดจำแนกส่วนใหญ่มีลักษณะไม่แตกต่างกัน ทั้งเชื้อราสกุล *Cercospora* (ตารางที่ 1) และ *Pseudocercospora* (ตารางที่ 2) แต่พบว่าตัวอย่างพืชชนิดเดียวกันที่เป็นโรค ที่ได้จากต่างพื้นที่กันมีความรุนแรงของโรคแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและพันธุ์พืช โดยพบว่าโรคใบขีดสีน้ำตาลของข้าวตัวอย่างโรคไอโซเลทจาก อ.เดิมบางนางบวช จังหวัดสุพรรณบุรี เป็นแปลงที่ขาดการใส่ปุ๋ย จะพบอาการที่รุนแรงมาก น่าจะเป็นผลจากข้าวไม่ค่อยแข็งแรงทำให้เชื้อสามารถเข้าทำลายได้มาก ในขณะที่ไอโซเลทอื่นๆ ได้จากแปลงปลูกที่มีการให้ปุ๋ยตามกำหนด ความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างกัน สำหรับโรคใบปื้นเหลืองกล้วยไม้ พบว่ากล้วยไม้ต่างสายพันธุ์ลักษณะอาการจะแตกต่างกันเล็กน้อย โดยพบว่าแผลบนใบกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ไอโซเลทจากสมุทรสาคร มีสีเหลือง ลักษณะเป็นปื้นไม่มีขอบแผลชัดเจน แผลที่เป็นมากสีน้ำตาล ในขณะที่บนใบสกุล *Rhynchostylis* ไอโซเลทจาก คลองทวีวัฒนา กรุงเทพมหานคร เป็นรอยขีดสีน้ำตาลดำ แสดงให้เห็นว่าเชื้อราสาเหตุโรคชนิดเดียวกันทั้ง 2 สกุลนี้ เมื่อเข้าทำลายพืชชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์กัน อาจแสดงอาการแตกต่างกันได้

จากการสำรวจพบว่าเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 2 สกุลนี้ ทุกชนิด ขนาดของ conidia และ conidiophore จะมีขนาดไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม โดยถ้ามีความชื้นสูง ขนาดของ conidiophore จะมีขนาดยาวขึ้นบ้างแต่ไม่มากนัก ส่วน conidia จะยาวขึ้นมาก ซึ่งตรงกับรายงานของ Chupp (1953)

ปัจจุบันการค้าขายสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ มีการใช้มาตรการด้านสุขอนามัยพืชเข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาถึงเชื้อสาเหตุโรคพืชสกุลและชนิดต่างๆ ว่าสามารถทำให้เกิดโรคกับพืชใดได้บ้าง ไม่เพียงแต่เฉพาะสกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora* เท่านั้น แต่ยังควรที่จะมีการศึกษาในทุกสกุลของเชื้อราสาเหตุโรคพืช เพื่อให้ได้แหล่งของสายพันธุ์ และข้อมูลของจุลินทรีย์โรคพืช เพื่อเข้าเก็บรวบรวมในหน่วยเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์โรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช และเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรคนั้น เพื่อเป็นหลักฐานในการยืนยันและอ้างอิง หากมีการร้องขอข้อมูล หากไม่มีการศึกษาวิจัยดังกล่าวนี้ อาจมีผลต่อการเจรจาการค้าสินค้าเกษตรในอนาคตได้ อีกทั้งการเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์โรคพืชนั้น ยังสามารถนำไปศึกษาวิจัยด้านอื่นๆ เช่น การสกัดสารที่เป็นประโยชน์ การป้องกันกำจัดโรคพืช เป็นต้น ซึ่งจะเป็นการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์อย่างยั่งยืนต่อไป

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่างพืชต่างๆ ที่แสดงอาการใบจุด ใบไหม้ จำนวน 92 ตัวอย่าง จากจังหวัด กรุงเทพมหานคร นนทบุรี ปทุมธานี อุทัยธานี นครสวรรค์ นครราชสีมา สมุทรสาคร นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี สามารถจำแนกเชื้อราชั้น Hyphomycetes สกุล *Cercospora* ได้ 5 ชนิด 17 ไอโซเลท ได้แก่ โรคใบเทียมร่วงหน่อไม้ฝรั่ง เกิดจากเชื้อรา *Cercospora asparagi* Sacc. โรคใบจุดคื่นฉ่าย เกิดจากเชื้อรา *C. apii* Fre. โรคใบจุดบานชื่น เกิดจากเชื้อรา *C. zinniae* Ell. & Mart. โรคใบขีดสีน้ำตาลของข้าว เกิดจากเชื้อรา *C. oryzae* Miyake และโรคใบจุดมะระ เกิดจากเชื้อรา *C. citrullina* Cooke เชื้อราสกุล *Pseudocercospora* จำแนกได้ 5 ชนิด 9 ไอโซเลท ได้แก่ โรคใบปื้นเหลืองกล้วยไม้ เกิดจากเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii* (Burnette) Deighton โรคใบจุดกระเจี๊ยบเขียว เกิดจากเชื้อรา *P. abelmoschi* (Ell. & Everh.) Deighton โรคใบจุดถั่วฝักยาว เกิดจากเชื้อรา *P. cruenta* (Sacc.) Deighton โรคใบจุดมะเขือเทศ เกิดจากเชื้อรา *P. fuligena* (Roldan) Deighton และโรคใบจุดบัว เกิดจากเชื้อรา *P. nymphaeacea* Cooke & Ellis

ลักษณะเชื้อราสาเหตุโรคสกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora* ทุกชนิดที่จำแนกได้ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสัณฐานวิทยาในแต่ละไอโซเลท แต่ความรุนแรงของโรคอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และลักษณะอาการที่แสดงบนพืชอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์พืช

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1 แสดงไอโซเลทต่างๆ ของเชื้อราสกุล *Cercospora* ที่จำแนกได้

ไอโซเลท	ชื่อพืช	ชื่อโรค	ส่วนที่เกิดโรค	ชื่อเชื้อสาเหตุ	สถานที่เก็บ
1.	หน่อไม้ฝรั่ง *Asparagus officinalis* L.	ใบเทียม ร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc.	ต. แพงพวย อ. ดำเนิน-สะดวก จ. ราชบุรี
2.	หน่อไม้ฝรั่ง *Asparagus officinalis* L.	ใบเทียม ร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc.	ต. ท่านัด อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี
3.	หน่อไม้ฝรั่ง *Asparagus officinalis* L.	ใบเทียม ร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc.	ต.ทุ่งทอง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี
4.	หน่อไม้ฝรั่ง *Asparagus officinalis* L.	ใบเทียม ร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc.	ต. หนองกร่าง อ. บ่อพลอย จ. กาญจนบุรี
5.	หน่อไม้ฝรั่ง *Asparagus officinalis* L.	ใบเทียม ร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc.	ต. สระพังลาง อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี
6.	หน่อไม้ฝรั่ง *Asparagus officinalis* L.	ใบเทียม ร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc.	ต. สระยายโสม อ.อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี
7.	หน่อไม้ฝรั่ง *Asparagus officinalis* L.	ใบเทียม ร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc.	อ. ด่านมะขามเตี้ย จ. กาญจนบุรี
8.	คื่นฉ่าย *Apium graveolens* L.	ใบจุด	ใบ	*Cercospora apii* Fre.	ต. บางช้าง อ.สามพราน จ. นครปฐม
9.	คื่นฉ่าย *Apium graveolens* L.	ใบจุด	ใบ	*Cercospora apii* Fre.	ต. วังขนาย อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี

ไอโซเลท	ชื่อพืช	ชื่อโรค	ส่วนที่เกิดโรค	ชื่อเชื้อสาเหตุ	สถานที่เก็บ
10.	คื่นฉ่าย *Apium graveolens* L.	ใบจุด	ใบ	*Cercospora apii* Fre.	ต. ทุ่งทอง อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี
11.	บานชื่น *Zinnia elegans* Jacq.	ใบจุด	ใบ	*Cercospora zinniae* Ell. & Mart.	รังสิต คลอง 3 จ. ปทุมธานี
12.	ข้าว *Oryza sativa* L.	ใบขีดสี - น้ำตาล	ใบ	*Cercospora oryzae* I. Miyake	อ. ศรีประจันต์ จ. สุพรรณบุรี
13.	ข้าว *Oryza sativa* L.	ใบขีดสี - น้ำตาล	ใบ	*Cercospora oryzae* I. Miyake	อ. สามชุก จ. สุพรรณบุรี
14.	ข้าว *Oryza sativa* L.	ใบขีดสี - น้ำตาล	ใบ	*Cercospora oryzae* I. Miyake	อ. เดิมบางนางบวช จ. สุพรรณบุรี
15.	ข้าว *Oryza sativa* L.	ใบขีดสี - น้ำตาล	ใบ	*Cercospora oryzae* I. Miyake	อ. หนองฉาง จ. อุทัยธานี
16.	ข้าว *Oryza sativa* L.	ใบขีดสี - น้ำตาล	ใบ	*Cercospora oryzae* I. Miyake	อ. ลานสัก จ. อุทัยธานี
17.	มะระ *Momordica charantia* L.	ใบจุด	ใบ	*Cercospora citrullina* Cooke	อ. บางเลน จ. นครปฐม

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2 แสดงไอโซเลทต่างๆ ของเชื้อราสกุล *Pseudocercospora* ที่จำแนกได้

ไอโซเลท	ชื่อพืช	ชื่อโรค	ส่วนที่เกิดโรค	ชื่อเชื้อสาเหตุ	สถานที่เก็บ
1.	กล้วยไม้ Orchids	ใบปื้นเหลือง	ใบ	*Pseudocercospora dendrobii* (Burnette) Deighton	ต. สวนหลวง อ. กระทุ่มแบน จ. สมุทรสาคร
2.	กล้วยไม้ Orchids	ใบปื้นเหลือง	ใบ	*Pseudocercospora dendrobii* (Burnette) Deighton	คลองทวีวัฒนา กรุงเทพมหานคร
3.	กระเจี๊ยบเขียว *Abelmoschus esculentus* Moench	ใบจุด	ใบ	*Pseudocercospora abelmoschi* (Ell. & Ev.) Deighton	จ. นครสวรรค์
4.	ถั่วฝักยาว *Vigna unguiculata* var. *sesquipedalis*	ใบจุด	ใบ	*Pseudocercospora cruenta* (Sacc.) Deighton	อ. บางเลน จ. นครปฐม
5.	มะเขือเทศ *Lycopersicon esculentum* Mill.	ใบจุด	ใบ	*Pseudocercospora fuligena* (Roldan) Deighton	อ. วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา
6.	มะเขือเทศ *Lycopersicon esculentum* Mill.	ใบจุด	ใบ	*Pseudocercospora fuligena* (Roldan) Deighton	เขตหนองจอก จ.กรุงเทพมหานคร
7.	บัว *Nymphaea lotus* L.	ใบจุด	ใบ	*Cercospora nymphaeacea* Cooke & Ellis	อ. ธนบุรี จ. กรุงเทพมหานคร
8.	บัว *Nymphaea lotus* L.	ใบจุด	ใบ	*Cercospora nymphaeacea* Cooke & Ellis	อ. เมือง จ. นนทบุรี
9.	บัว *Nymphaea lotus* L.	ใบจุด	ใบ	*Cercospora nymphaeacea* Cooke & Ellis	อ. ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี

ตารางที่ 3 แสดงลักษณะของเชื้อราสกุล *Cercospora* แต่ละชนิด

ลำดับที่	ชื่อพืช	stroma	scar	spore		conidiophore		ชื่อเชื้อสาเหตุ
				สีของ spore	ลักษณะ spore	สี conidiopore	ลักษณะ conidiopore	
1	หน่อไม้ฝรั่ง *Asparagus officinalis* L.	สร้าง stroma	มี scar	ใสไม่มีสี	ส่วนโคนแบบ truncate ส่วนปลายแบบ subobtuse	น้ำตาล	ส่วนปลายแบบ subtruncate ไม่มี geniculate	*Cercospora asparagi* Sacc.
2	คื่นฉ่าย *Apium graveolens* L.	ไม่สร้าง stroma	มี scar	ใสไม่มีสี	ส่วนโคนแบบ truncate ส่วนปลายแบบ acicular	น้ำตาล	ส่วนปลายแบบ truncate มี geniculate	*Cercospora apii* Fre.
3	บานชื่น *Zinnia elegans* Jacq.	สร้าง stroma	มี scar	ใสไม่มีสี	acicular ส่วนโคนแบบ truncate ส่วนปลายแบบ acute	น้ำตาล	cylindrical ส่วนปลายเรียว มี geniculate	Cercospora zinniae *Ell. & Mart.*
4	ข้าว *Oryza sativa* L.	ไม่สร้าง stroma	มี scar	ใสไม่มีสี	Cylindrical ส่วนโคนแบบ obconic ส่วนปลายมน	น้ำตาล	ส่วนปลายมน มี geniculate	*Cercospora oryzae* Miyake
5	มะระ *Momordica charantia* L.	ไม่สร้าง stroma	มี scar	ใสไม่มีสี	ส่วนโคนแบบ acicular ส่วนปลายแบบ acute	น้ำตาล	ส่วนปลายแบบ truncate มี geniculate	Cercospora citrullina *Cooke*

ตารางที่ 4 แสดงลักษณะของเชื้อราสกุล *Pseudocercospora* แต่ละชนิด

ลำดับที่	ชื่อพืช	stroma	scar	spore		conidiophore		ชื่อเชื้อสาเหตุ
				สีของ spore	ลักษณะ spore	สี conidiopore	ลักษณะ conidiopore	
1	กล้วยไม้ Orchids	สร้าง stroma	ไม่มี scar	น้ำตาล	subcylindrical ส่วนโคนแบบ obconic	สีน้ำตาลเข้ม	filiform มี geniculate	*Pseudocercospora dendrobii* Deighton
2	กระเจี๊ยบเขียว *Abelmoschus esculentus* Moench	ไม่สร้าง stroma	ไม่มี scar	น้ำตาลอ่อน	obclavate ส่วนโคนรูปโคน	สีน้ำตาลอ่อน	clavate แตกกิ่งก้านปลายมน	*Pseudocercospora abelmoschi* (Ellis & Everh.) Deighton
3	ถั่วฝักยาว *Vigna unguiculata* var. *sesquipedalis*	สร้าง stroma	ไม่มี scar	สีน้ำตาลอมเขียวมะกอกซีด	obclavate ส่วนโคนรูปโคนยาว ส่วนปลายโค้งมน	น้ำตาลอมเขียวมะกอก	obconic ปลายสุดโค้งมน ไม่มี geniculate	*Pseudocercospora cruenta* Deighton

ลำดับที่	ชื่อพืช	stroma	scar	spore		conidiophore		ชื่อเชื้อสาเหตุ
				สีของ spore	ลักษณะ spore	สี conidiopore	ลักษณะ conidiopore	
4	มะเขือเทศ *Lycopersicon esculentum* Mill.	สร้าง stroma	ไม่มี scar	สีซีด	cylindric ถึง cylindro – obclavate ส่วนโคนรูปโคนยาว ส่วนปลายโค้งมน	สีน้ำตาลอ่อน	แตกกิ่งก้าน ส่วนปลายแบบโคนยาวหัวคว่ำ	*Pseudocercospora fuligena* (Roldan) Deighton
5	บัว *Nymphaea lotus* L.	สร้าง stroma	ไม่มี scar	สีซีด	รูปร่างกระบองแคบลงทางส่วนโคน ฐานตัดเกือบเป็นเส้นตรง ปลายโค้งมน	สีน้ำตาลอ่อน	รูปร่างทรงกระบอกเรียวไปทางส่วนปลายปลายโค้งมน	*Pseudocercospora nymphaeacea* Cooke & Ellis

เอกสารอ้างอิง

Chupp, C. 1953. A Monograph of the Fungus Genus Cercospora. Cornell University. Published by the author: Ithaca, N.Y. 667 pp.

Ellis, M.B. 1971. Dermatiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 608 pp.

พัฒนา สนธิรัตน และคณะ. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืช และจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 285 น.

http://www.doa.go.th/data-agri/02_LOCAL/oard5/asparagus/body.html#cercos

กรมวิชาการเกษตร

สำรวจ รวบรวม และจำแนกชนิดเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก

Surveying collection and identification Rust fungal diseases on Vegetables ornamental and weed in plantation

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี
สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก ที่แสดงอาการโรคราสนิม ระหว่างเดือนตุลาคม 2547 ถึง กันยายน 2549 จำนวน 46 ตัวอย่าง จากจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ตาก เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ กาญจนบุรี กรุงเทพมหานคร นนทบุรี และลพบุรี สามารถจำแนกชนิดเชื้อราสนิมได้ 8 ชนิด 25 ไอโซเลท ได้แก่ ราสนิมถั่วลันเตา เกิดจากเชื้อรา *Uromyces fabae* Pers ราสนิมกุยช่าย เกิดจากเชื้อรา *Puccinia allii* Rud. ราสนิมแห้วหมู เกิดจากเชื้อรา *P. philippinensis* P. et H. Syd. ราสนิมขาไก่ดำ และขาไก่ด่าง เกิดจากเชื้อรา *P. thwaitesii* M.J. Berkeley ราสนิมพุทธรักษา เกิดจากเชื้อรา *P. thaliae* Diet. ราสนิมตะไคร้ เกิดจากเชื้อรา *P. nakanishikii* Dietel ราสนิมลั่นทม เกิดจากเชื้อรา *Coleosporium plumeriae* Pat. และราสนิมเบญจมาศ เกิดจากเชื้อรา *P. horiana* P. Henn.

รหัสการทดลอง 20 1(54) 2 13 2 1 49

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีการปลูกพืชหลายชนิดทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมซึ่งมีผลถึงจุลินทรีย์ต่างๆ ด้วย เมื่อมีความเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากปัจจัยต่างๆ จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชก็มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนไป

ปัจจุบันงานด้านอนุกรมวิธานเชื้อจุลินทรีย์โรคพืชได้มีผู้ให้ความสำคัญเพิ่มมากขึ้น อันเป็นผลจากการที่ประเทศต่างๆ ในโลกมีการประสานความสัมพันธ์กันในด้านต่างๆ ทั้งทางการศึกษาและการค้าที่มีต่อกัน การที่พันธุกรรมจุลินทรีย์โรคพืชเปลี่ยนแปลงไป อาจทำให้เกิดชนิด หรือ สายพันธุ์ใหม่ๆ ในอดีตที่ผ่านมาได้มีการศึกษารายละเอียดข้อมูลประจำสายพันธุ์ และเก็บรักษาสายพันธุ์ แต่หากมีการศึกษาและเก็บรักษาได้มาตรฐานสากล จะสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในงานวิจัยทางด้านอื่นอีกหลายด้าน บางสายพันธุ์อาจให้สารที่มีประโยชน์ และสร้างมูลค่าเพิ่มได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่อให้ได้แหล่งของสายพันธุ์ และข้อมูลจุลินทรีย์โรคพืช เพื่อเข้าเก็บรวบรวมในหน่วยเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์โรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช เพื่อใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์อย่างยั่งยืนต่อไป

โรคราสนิมเป็นโรคที่เกิดกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด สมภาค และคณะ (2527) รายงานการระบาดโรคราสนิมหม่อนที่จังหวัดเชียงใหม่ จะเริ่มระบาดตั้งแต่กลางเดือนตุลาคม เป็นต้นไป ทวี (2527) รายงานโรคราสนิมของฝ้าย (*Phakopsora gossypi* (Arthur) Hirat.) ว่าการระบาดยังอยู่ในวงจำกัด พบในเรือนทดลองในกรุงเทพมหานคร และบางท้องที่ในจังหวัดลพบุรี สระบุรี ราชบุรี นครสวรรค์ นครราชสีมา และกาญจนบุรี ความเสียหายไม่มากนัก แต่ในต่างประเทศทำความเสียหายมากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่จะมีความสำคัญในอนาคต เนื่องจากเชื้อราสามารถเข้าทำลายได้รุนแรงทุกโอกาส ถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสม และใช้พันธุ์ฝ้ายที่อ่อนแอต่อโรคนี้ปลูก อุดม (2529) รายงานโรคราสนิมของข้าวโพด เกิดจากเชื้อ *Puccinia polysora* Undrew. ราสนิมชนิดนี้จะพบในประเทศเขตร้อนทั่วไป และจะพบเฉพาะบางท้องที่ของประเทศไทย เช่น อำเภอปากช่อง ข้าวโพดหวานจะเป็นโรครุนแรง ส่วนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ก็อาจแสดงอาการโรคได้เช่นกัน ตั้งแต่ พ.ศ. 2527 โรคนี้ระบาดรุนแรงมากกับข้าวโพดพันธุ์ลูกผสม และสายพันธุ์พ่อแม่ของพันธุ์ลูกผสมบางพันธุ์ คาดว่าในอนาคตอันใกล้นี้โรคนี้จะมีบทบาทสำคัญถ้าการผสมพันธุ์ข้าวโพดไม่ให้ความสนใจเกี่ยวกับการคัดสายพันธุ์ นุชนารถ (2546) ได้รายงานการพบโรคราสนิม เกิดกับพืชผักหลายชนิด ได้แก่ ข้าวโพดหวาน ถั่วแขก ถั่วลันเตา หอมญี่ปุ่น หน่อไม้ฝรั่ง ดอกไม้จีน

อย่างไรก็ตาม การศึกษาโรคราสนิมในพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก ที่ผ่านมายังมีน้อย และโรคราสนิมในบางพืชยังมิได้มีการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุ อีกทั้งในปัจจุบันการปลูกพืชมีการเปลี่ยนแปลงสถานที่และชนิดพืช มีการนำพืชจากต่างประเทศเข้ามาปลูก อาจทำให้พบโรคราสนิมในพืชที่ยังไม่เคยมีรายงานในประเทศไทยมาก่อน จึงควรที่จะได้ศึกษาต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโรคพืช

1.1 ถุงพลาสติก ยางรัด กระดาษหนังสือพิมพ์

1.2 ปากกาเขียนถุง

1.3 กระดาษฟาง

1.4 แผงอัดตัวอย่าง

1.5 กระดาษบันทึกข้อมูล

1.6 กรรไกรตัดกิ่ง มีด

1.7 ถังเก็บความเย็น เพื่อเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรค

2 อุปกรณ์ห้องปฏิบัติการ

2.1 กล้องจุลทรรศน์ Stereoscopic Microscope

2.2 กล้องจุลทรรศน์ Compound Microscope

2.3 เข็มเขี่ยเชื้อ

2.4 ตะเกียงแอลกอฮอล์

2.5 Slide และ cover slip

วิธีการ

1. การสำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคพืชจากแหล่งปลูกต่างๆ

ทำการสำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคราสนิมของพืชชนิดต่างๆ ในแต่ละแหล่งปลูกพืชที่มีอาการราสนิม โดยการสำรวจแปลงปลูกพืชแต่ละชนิดจะทำการสำรวจลักษณะอาการเป็นโรคโดยการสุ่มเดินแบบซิกแซกทั่วแปลงปลูก ในแปลงปลูกพืชชนิดเดียวกันจะเว้นระยะการสำรวจห่างกันอย่างน้อย 5 กิโลเมตร เมื่อได้ตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรค ทำการเก็บตัวอย่างห่อ

กระดาษฟาง นำมาศึกษาจำแนกเชื้อ และเก็บรักษาตัวอย่างตามขั้นตอนการเก็บรักษา ในห้องปฏิบัติการ

2. การอัดตัวอย่างโรคพืชเพื่อทำตัวอย่างแห้ง

เก็บตัวอย่างใบพืช และชิ้นส่วนพืชชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการราสนิม โดยนำตัวอย่างที่ตัดมาได้แบ่งส่วนหนึ่งมาทำการอัดตัวอย่างแห้งด้วยการจัดเรียงชิ้นส่วนใบพืชที่แสดงอาการของโรคบนกระดาษฟางและปิดทับด้วยกระดาษฟางอีกชั้นหนึ่ง นำไปอัดเก็บไว้ด้วยแผงอัดตัวอย่าง

3. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

นำตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งที่เก็บมาทำการแยกเชื้อศึกษาในห้องปฏิบัติการ ตามขั้นตอนคือ

3.1 นำใบพืชที่แสดงอาการดังกล่าวมาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereoscopic microscope ทำการเขี่ยเชื้อจากแผลบนใบพืชดังกล่าวนั้นมาทำสไลด์

3.2 นำสไลด์ที่ได้มาทำการส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ Compound microscope ศึกษาลักษณะของเชื้อราดังกล่าว เพื่อการจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา เปรียบเทียบกับเอกสารวิชาการในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสนิม

3.3 เมื่อทำการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุได้แล้ว นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคและอัดเก็บเป็นตัวอย่างแห้ง เก็บเข้าสู่พิพิธภัณฑ์โรคพืช เพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิงทางวิชาการ

4. การบันทึกข้อมูล

4.1 บันทึกข้อมูลตัวอย่างพืชที่เป็นโรคที่ได้เก็บตัวอย่างมา เช่น สถานที่เก็บตัวอย่าง วันที่ ชื่อพืช อาการ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง เป็นต้น

4.2 บันทึกข้อมูลชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืชของพืชชนิดต่างๆ ตามหลักการจัดเก็บด้านโรคพืชหลังจากทำการจัดจำแนกแล้ว

เวลาและสถานที่

เริ่มดำเนินการทดลอง ตุลาคม 2547 สิ้นสุด กันยายน 2549 ณ แปลงปลูกพืชของเกษตรกร และกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคพืชจากแหล่งปลูกต่างๆ

จากการสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่าง และบันทึกข้อมูลโรคพืช ระหว่าง ตุลาคม 2547 – กันยายน 2549 ทำการเก็บตัวอย่างพืชต่างๆ ที่แสดงอาการราสนิม จำนวน 46 ตัวอย่าง จาก 10 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ตาก เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ กาญจนบุรี ลพบุรี นนทบุรี และ กรุงเทพมหานคร

2. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

การจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคพืช สามารถจัดจำแนกโรคราสนิมได้ 8 ชนิด 25 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) โดยศึกษาลักษณะอาการที่ปรากฏบนพืชชนิดนั้นๆ และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้ในห้องปฏิบัติการ ดังตารางที่ 2 เปรียบเทียบกับเอกสารการจัดจำแนกของ Cummins G.B. and Hiratsuka Y. (1983), (2003) และ พงษ์วิภา (2529) ซึ่งมีลักษณะอาการและรายละเอียดของเชื้อราสนิมชนิดต่างๆ ดังต่อไปนี้

กรมวิชาการเกษตร

1. โรคราสนิมถั่วลันเตา

จากการสำรวจโรคราสนิมถั่วลันเตา จาก อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างจำนวน 1 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ลักษณะอาการที่พบ ด้านหลังใบด้านตรงข้ามกลุ่มเชื้อเป็นสีเหลืองซีด เมื่อพลิกดูใต้ใบจะพบตุ่มนูนสีเหลืองอ่อนถึงเข้มแตกฟูเป็นฝุ่นผงคล้ายสนิม ใบที่เป็นรุนแรงจะเกิดอาการแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาล

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 2) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ พบระยะ uredinium เกิดด้านใต้ใบเป็นส่วนใหญ่ uredinium เกิดใต้ชั้น epidermis ของพืช เมื่อแก่จะดัน epidermis ให้ปริแตกออก เกิดเป็นฝุ่นผงสปอร์ urediniospores เกิดเดี่ยวๆบนก้านสปอร์ลักษณะกลมรี ผนังสปอร์เป็นหนามแบบ echinulate สีเหลืองอ่อนจนถึงเหลืองสด ขนาดสปอร์ 12.00-17.75 x 15.00-20.75 µm. สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Uromyces fabae* Pers โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Cummins G.B. and Hiratsuka Y. (1983), (2003) และ พงษ์วิภา (2529)

ภาพที่ 1 ราสนิมถั่วลันเตา เกิดจากเชื้อรา *Uromyces fabae* Pers.

A = ภาพแสดงลักษณะอาการใต้ใบถั่วลันเตา

B = Urediniospores ของเชื้อราสนิม ที่กำลังขยาย 400x

2. **โรคราสนิมกุยช่าย**

จากการสำรวจโรคราสนิมกุยช่าย จาก บ้านแม่หลอด และ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างจำนวน 2 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ลักษณะอาการที่พบ ใบเกิดเป็นจุดสีเหลือง พบได้ทั้งสองด้านของใบ เมื่อพลิกดูด้านตรงข้ามจะเป็นฝุ่นผงสีเหลืองเข้ม ใบที่เป็นมากจะแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาล ฝุ่นผงของเชื้อจะพบด้านใต้ใบมากกว่าด้านบนใบ

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 2) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ พบเชื้อในระยะ uredinium เกิดทั้งสองด้านของใบ มีลักษณะเป็นตุ่มนูนรีสีเหลืองสด โดยเกิดเดี่ยวๆ กระจายทั่วใบ บางครั้งเกิดติดๆ กันเป็นทางยาว ใต้ชั้น epidermis ของพืช และดัน epidermis โป่งออกมา หรือดัน epidermis จนแตกออก urediniospore 1 เซล เกิดบนก้านผนังบาง ไม่มีสี รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลมเป็นส่วนใหญ่ บางสปอร์มีรูปร่างแบบ broadly ellipsoid ขนาด 21.25 – 25 x 20.00 – 23.75 µm. ขนาดเฉลี่ย 23.31 x 21.88 µm. พบเม็ด oil content อยู่ภายในสปอร์ สีอำพันจนถึงเหลืองอ่อน ผนังสปอร์หนาเท่ากันทั้งสปอร์ และใสไม่มีสี ผิวหนังเป็นหนามแบบ echinulate ไม่เห็นจุดงอก สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Puccinia allii* Rud. โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ พงษ์วิภา (2529)

<u>ภาพที่ 2</u> ราสนิมกุยช่าย เกิดจากเชื้อรา *Puccinia allii* Rud.

A = ภาพแสดงลักษณะอาการบนใบกุยช่าย

B = ภาพแสดงลักษณะอาการบนก้านช่อดอกกุยช่าย

C = Urediniospores ของเชื้อราสนิม ที่กำลังขยาย 400x

3. โรคราสนิมแห้วหมู

จากการสำรวจโรคราสนิมแห้วหมู จาก อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างจำนวน 1 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ลักษณะอาการที่พบ อาการเช่นเดียวกับกุยช่าย คือทำให้เนื้อใบด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อเปลี่ยนเป็นจุดสีเหลือง แต่จะพบกลุ่มเชื้อเฉพาะด้านใต้ใบเท่านั้น ต่อมาจะแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาล ในที่สุดใบจะแห้งไหม้ไปทั้งใบ

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 2) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ พบระยะ uredinium เกิดด้านใต้ใบเท่านั้น ไม่พบทางด้านหน้าใบ บางทีเกิดในเส้นใบด้วย uredinium เจริญใต้ epidermis ของพืช และดัน epidermis แตกออกมาเมื่อแก่ มีลักษณะเป็นขีดนูนยาวสีเหลืองน้ำตาล จนถึงสีน้ำตาล cinnamon กระจายทั่วใบ urediniospore 1 เซล เกิดบนก้านผลังบาง ใสไม่มีสีและค่อนข้างยาว รูปร่างส่วนมากเป็นแบบ ellipsoid จนถึง obovoid ขนาด 20.00-30.00 x 16.25-21.25 µm. ขนาดเฉลี่ย 25.06-19.44 µm. ผนังบางสม่ำเสมอ 0.65-1.25 µm. สีเหลืองทอง ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate มีจุดงอก 2-4 จุดต่อสปอร์เรียงเป็นวงตามแนวขวาง สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Puccinia philippinensis* P. et H. Syd. โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Cummins G.B. and Hiratsuka Y. (1983), (2003) และ พงษ์วิภา (2529)

A

B

ภาพที่ 3 ราสนิมแห้วหมู เกิดจากเชื้อรา *Puccinia philippinensis* P. et H. Syd.

A = ภาพแสดงลักษณะอาการบนหญ้าแห้วหมู

B = Urediniospore เชื้อราสนิม ที่กำลังขยาย 400x

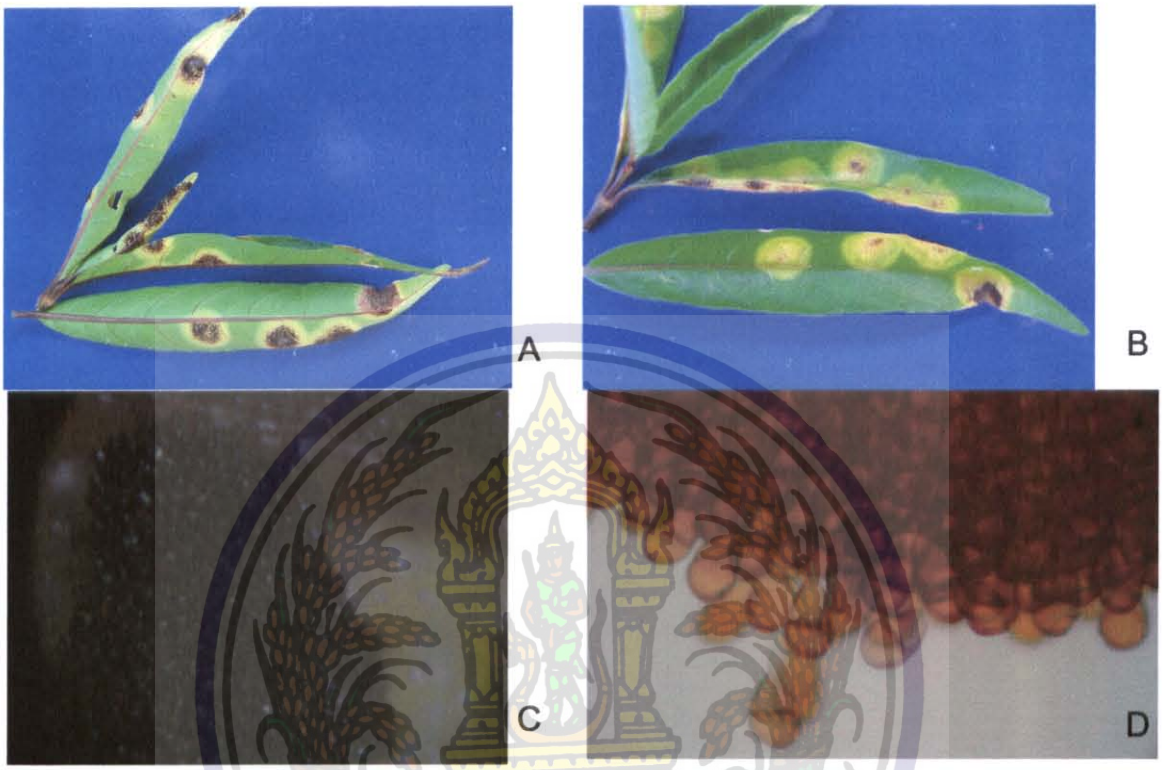
4. โรคราสนิมขาไก่ดำ ขาไก่ด่าง

จากการสำรวจโรคราสนิมขาไก่ดำ จาก อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่ ศวส. เชียงราย จ. เชียงราย ได้ตัวอย่างจำนวน 2 ไอโซเลท และราสนิมขาไก่ด่าง จาก อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างจำนวน 1 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ลักษณะอาการที่พบ ด้านใต้ใบพบกลุ่มเชื้อเป็นจุดเล็กๆ สีน้ำตาลดำ เรียงซ้อนๆ กันเป็นวงกลม เนื้อใบบริเวณรอบๆ กลุ่มเชื้อและด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและแห้งไหม้ตาย ใบอ่อนจะไหม้และบิดเบี้ยวหงิกงอเสียรูปทรงไป

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 2) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ ราสนิมนี้เป็นพวก microcyclic species สร้าง telium เกิดด้านใต้ใบใต้ epidermis ของพืชและดัน epidermis แตกออกตั้งแต่ยังอ่อน มีลักษณะเป็นกลุ่มนูนสีน้ำตาลดำ เกิดเรียงซ้อนกันเป็นวงกลม กว้างถึง 1.50 ซม. รอบๆ ของกลุ่ม telium เนื้อใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองล้อมรอบ teliospore 2 เซล รูปร่างแบบ ellipsoid ผนังบริเวณ septum คอดเข้าเล็กน้อย ขนาด 28.75 – 40.00 x 17.50 – 21.25 µm. ขนาดเฉลี่ย 30.00 x 19.50 µm. ผนังด้านบนมนกลมและหนากว่าด้านข้างเล็กน้อย โดยหนา 3.75-5.00 µm. ผนังด้านข้างหนา 2.50-3.75 µm. สีน้ำตาล chestnut ผิวผนังเรียบ มีจุดงอก 1 จุดต่อเซล สปอร์เกิดบนก้านผนังบาง สีน้ำตาลอ่อนไม่ยุบง่ายและยาวมากถึง 122.5 µm. สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Puccinia thwaitesii* M.J. Berkeley โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Cummins G.B. and Hiratsuka Y. (1983), (2003) และ พงษ์วิภา (2529)

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 4 โรคราสนิมขาไก่ดำ เกิดจากเชื้อรา *Puccinia thwaitesii* M.J. Berkeley

A = ภาพแสดงลักษณะอาการบนใบขาไก่ดำด้านใต้ใบ

B = ภาพแสดงลักษณะอาการบนใบขาไก่ดำด้านบนใบ

C = teliospore ใต้กล้อง Streoscopic microscope

D = Teliospore ที่กำลังขยาย 400x

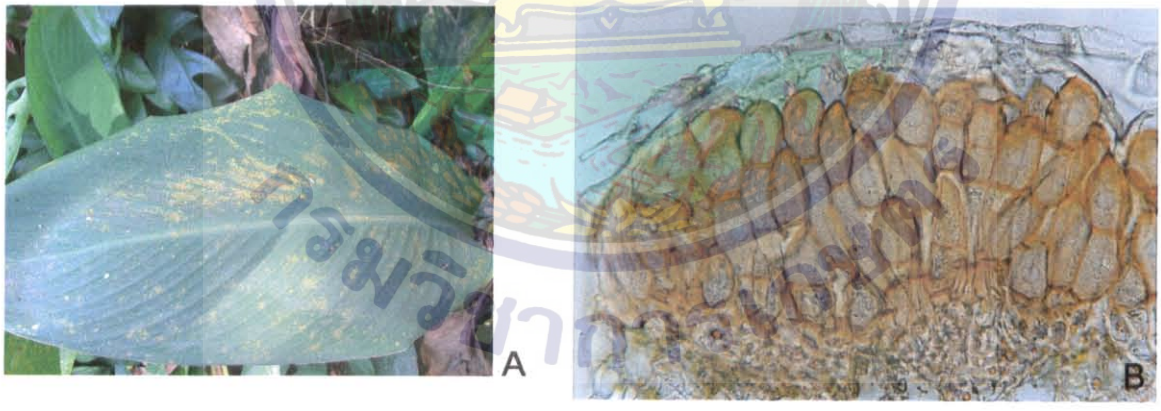
วิทยาการเกษตร

5. โรคราสนิมพุทธรักษา

จากการสำรวจโรคราสนิมพุทธรักษา จาก อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่ อ. พาน จ. เชียงราย อ.แม่สอด จ.ตาก และเขตบางเขน จ.กรุงเทพมหานคร ได้ตัวอย่างจำนวน 4 ไอโซเลท

ลักษณะอาการที่พบ พบจุดสนิมสีเหลืองเข้มหรือส้ม บนใบและก้าน ทำให้เนื้อใบบริเวณรอบๆ กลุ่มเชื้อมีสีเขียวจางลงจากปกติ ในที่สุดก็แห้งไหม้เป็นจุดสีน้ำตาลเข้ม

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 2) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ พบระยะ uredinium เกิดด้านใต้ใบมากกว่า นอกจากนี้ยังเกิดตามก้านใบอีกด้วย มีลักษณะเป็นจุดกลมนูน หรือรียาว สีเหลืองสดจนถึงสีส้มขนาด 0.20-1.00 มม. อาจเกิดเดี่ยวๆ หรือเกาะกลุ่มกันหลวมๆ กระจายทั่วใบเริ่มแรกเกิดใต้ epidermis ของพืชและอาจดัน epidermis แตกออก หรือยังคงมี epidermis พืชคลุมอยู่ตลอด urediniospore 1 เซล เกิดบนก้านใสไม่มีสี ผนังบาง รูปร่างแบบ obovoid, ellipsoid, pyriform จนถึงรูปร่างไม่แน่นอนค่อนข้างเป็นเหลี่ยมขนาด 28.75-42.50 x 21.25-30.00 µm. ขนาดเฉลี่ย 34.44 x 23.75 µm. ผนังหนาสม่ำเสมอ 2.00-2.50 µm. สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Puccinia thaliae* Diet. โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Cummins G.B. and Hiratsuka Y. (1983), (2003) และ พงษ์วิภา (2529)



ภาพที่ 5 ราสนิมพุทธรักษา เกิดจากเชื้อ *Puccinia thaliae* Diet.

A = ภาพแสดงลักษณะอาการบนใบพุทธรักษา

B = Urediniospore เชื้อราสนิม ที่กำลังขยาย 400x

6. โรคราสนิมตะไคร้

จากการสำรวจโรคราสนิมตะไคร้ จาก อ. แม่แจ่ม จ. เชียงใหม่ อ. พาน จ. เชียงราย ได้ตัวอย่างจำนวน 2 ไอโซเลท

ลักษณะอาการที่พบ ทำให้เกิดเป็นแผลขีดๆ สีน้ำตาลดำ บริเวณแผลจะเป็นฝุ่นผงสีดำ เนื้อใบด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อแห้งไหม้เป็นขีดสีน้ำตาลทั่วทั้งใบ

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 2) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ พบระยะ uredinium ราสนิมนี้สร้าง uredinium เกิดด้านใต้ใบมากกว่าด้านบนใบ เกิดใต้ epidermis ของพืช เมื่อแก่จะดัน epidermis แตกออกตามทางยาวขนานกับเส้นใบ มีลักษณะเป็นขีดสีน้ำตาลดำ ภายใน uredinium เป็นที่เกิดของ urediniospore และ paraphyses paraphyses มีรูปร่างแบบ capitate หรือ clavate ผนังด้านบนหนา 5.00-12.50 µm. และค่อยๆ บางลงทางด้านข้าง สีเหลืองทอง urediniospore 1 เซล เกิดบนก้านใสไม่มีสี รูปร่างแบบ obovoid เป็นส่วนมาก ขนาด 25.00-37.50 x 20.00-26.25 µm. ขนาดเฉลี่ย 29.94 x 21.88 µm. ผนังสปอร์หนา 1.25-2.50 µm. สีน้ำตาล cinnamon และมีสีเทาเข้มขึ้นทางด้านบนของ ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate มีจุดงอก 4-5 จุดต่อสปอร์ เรียงเป็นวงตามแนวเส้นศูนย์สูตร และโป่งนูนเห็นชัดเจน สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Puccinia nakanishikii* Dietel โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Cummins G.B. and Hiratsuka Y. (1983), (2003) และ พงษ์วิภา (2529)

ภาพที่ 6 ราสนิมตะไคร้ เกิดจากเชื้อรา *Puccinia nakanishikii* Dietel

A = ภาพแสดงลักษณะอาการบนใบตะไคร้

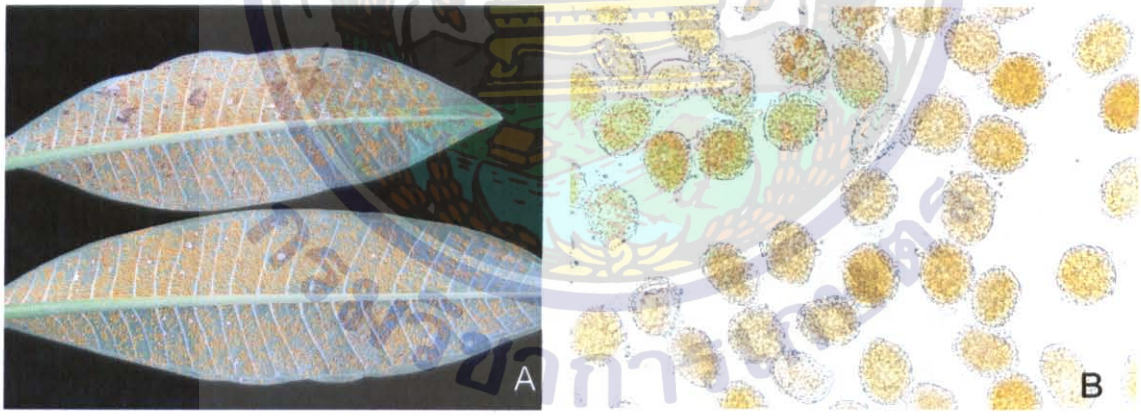
B = Urediniospore ของเชื้อราสนิม ที่กำลังขยาย 400x

7. โรคราสนิมลั่นทม (ลีลาวดี)

จากการสำรวจโรคราสนิมลั่นทม จาก จ. เพชรบุรี อ. เมือง จ. ลำปาง อ. แม่สอด จ. ตาก อ. เมือง จ. ลพบุรี อ. บ้านกรูด จ. ประจวบคีรีขันธ์ อ. เมือง อ. บางบัวทอง จ. นนทบุรี เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร อ. ลาดหญ้า จ. กาญจนบุรี ได้ตัวอย่างจำนวน 11 ไอโซเลท

ลักษณะอาการที่พบ ด้านบนใบจะเป็นจุดสีเหลืองซีด พลิกดูใต้ใบพบกลุ่มเชื้อเป็นจุดนูนกลมสีเหลืองสดถึงเหลืองส้ม บางแผลเป็นผงฟูสีเหลืองส้ม กระจายทั่วใบ ใบที่เป็นมากจะเกิดอาการแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาลและใบจะร่วงก่อนกำหนด เมื่อเป็นรุนแรงต้นพืชแสดงอาการโทรมเนื่องจากใบร่วงมาก

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 2) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ พบในระยะ uredinium เกิดด้านใต้บมากกว่าด้านบนใบ ลักษณะเป็นจุดนูนกลมสีเหลืองสดถึงเหลืองส้ม เกิดเป็นกลุ่มหรือเกิดเดี่ยวๆ กระจายทั่วใบ uredinium เกิดใต้ชั้น epidermis ของพืช เมื่อแก่จะดัน epidermis ให้ปริแตกออกเกิดเป็นผงฝุ่นสปอร์สีเหลือง urediniospore 1 เซล รูปร่างกลมจนถึงเกือบกลม บางครั้งกลมรีหรือรูปไข่ สีขาวหรือเหลืองอ่อนจนถึงเหลืองอมส้ม ขนาดสปอร์ 16.25-26.25 x 12.50-18.75 µm. ผิวสปอร์ขรุขระ ลักษณะเป็นหนามขนาดเล็ก จุดงอกมองไม่เห็น สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Coleosporium plumeriae* Pat. โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ พงษ์วิภา (2529)



ภาพที่ 7 ราสนิมลั่นทม เกิดจากเชื้อรา *Coleosporium plumeriae* Pat.

A = ภาพแสดงลักษณะอาการใต้ใบลั่นทม

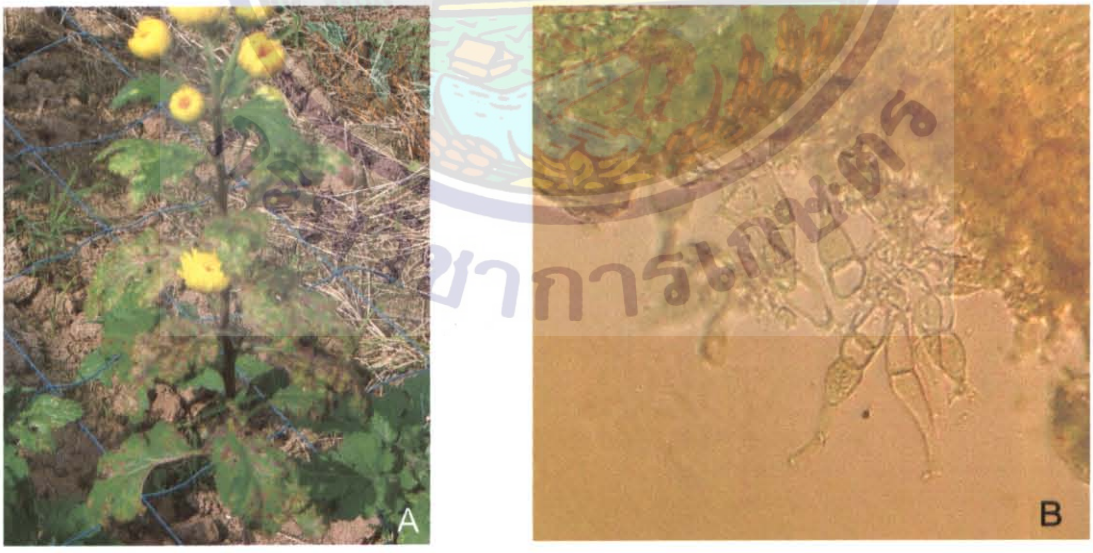
B = Urediniospore ของเชื้อราสนิม ที่กำลังขยาย 400x

8. โรคราสนิมเบญจมาศ

จากการสำรวจโรคราสนิมเบญจมาศ จาก อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างจำนวน 1 ไอโซเลท

ลักษณะอาการที่พบ พบกลุ่มของเชื้อด้านใต้ใบมากกว่าด้านบนใบ ทำให้เนื้อใบตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อเหลืองและไหม้เป็นวงๆ แปลงที่ราสนิมระบาดมากจะทำให้ใบเบญจมาศเหลืองและลามแห้งทั้งใบ บางครั้งอาจมีผู้เรียกเป็นราสนิมขาว เนื่องจากกลุ่มของเชื้อมีสีเหลืองอ่อนออกเป็นสีครีมขาว

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 2) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุ ราสนิมชนิดนี้มีชีพจักรแบบ Microcyclic สร้าง telium ด้านใต้ใบมากกว่าด้านบนใบ เริ่มแรกเกิดใต้ epidermis ของพืช และดัน epidermis แตกออกเป็นกระจุกแน่นแข็งนูนขึ้นมาบนผิวใบค่อนข้างหนา ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.50-3.00 มม. สีเหลืองอ่อนจนถึงสีน้ำตาล เข้ม telium เมื่อเกิดติดๆ กันมากจะรวมเป็นกลุ่มนูนขนาดใหญ่ teliospore ส่วนมากมี 2 เซล แต่บางสปอร์ก็มี 3-4 เซล รูปร่างแบบ fusiform ขนาด 37.50-55.00 x 11.25-15.00 µm. ขนาดเฉลี่ย 44.75 x 12.75 µm. ผนังสปอร์ด้านบนหนากว่าผนังด้านข้าง สีใสออกแกมเหลืองอ่อน ผิวผนังเรียบ มีจุดงอก 1 จุดต่อเซล เซลบนมีจุดงอกอยู่กึ่งกลางของปลายสปอร์ เซลล่างมีจุดงอกอยู่ติดกับ septum ทางด้านข้างสปอร์ สปอร์เกิดบนก้านใสไม่มีสี ผนังบางยาวได้ถึง 80 µm. สามารถจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Puccinia horiana* P. Henn. โดยใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ พงษ์วิภา (2529)



ภาพที่ 8 ราสนิมเบญจมาศ เกิดจากเชื้อรา *Puccinia horiana* P. Henn.

A = ภาพแสดงลักษณะอาการบนใบเบญจมาศ ทำให้ใบเสียรูปหงิกงอ

B = Teliospores ของเชื้อราสนิม ที่กำลังขยาย 400x

จากตัวอย่างพืชที่แสดงอาการโรคราสนิม และได้ทำการจำแนกชนิดเชื้อราดังกล่าวข้างต้นแล้วนั้น พบว่าเชื้อราชนิดเดียวกันที่แตกต่างไอโซเลทกันนั้น มีรายละเอียดลักษณะสัณฐานวิทยาไม่แตกต่างกัน แต่พบว่าสภาพแวดล้อมมีส่วนสำคัญต่อการเกิดโรคราสนิม ตัวอย่างพืชชนิดเดียวกันที่เป็นโรคราสนิมที่ได้จากต่างพื้นที่ซึ่งสภาพแวดล้อมแตกต่างกันจะมีความรุนแรงของโรคแตกต่างกัน โดยกุยช่ายไอโซเลทแม่หลอดซึ่งแปลงปลูกอยู่ในสวนกาแฟ มีความชื้นสูงมาก จะเกิดโรคทั้งที่ใบและก้านช่อดอก ในขณะที่ตัวอย่างกุยช่ายไอโซเลทปางดะ ซึ่งแปลงปลูกอยู่ในที่โล่งความชื้นสูงเฉพาะกลางคืน จะพบอาการของโรคเฉพาะที่ใบเท่านั้น นอกจากนี้ในหลายๆ พืชที่พบอาการโรคราสนิม เช่น ลั่นทม พุทธรักษา เมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนไปการเกิดโรคราสนิมจะแปรเปลี่ยนไปด้วย โดยพบว่าในฤดูร้อนพืชทั้งสองชนิดในแหล่งที่เคยพบการเกิดโรคราสนิม จะไม่พบอาการของโรคเลย ปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของโรคที่พบนั้นพบว่าขึ้นอยู่กับพันธุ์พืชด้วย โดยพบว่าราสนิมที่เกิดกับลั่นทมสายพันธุ์ดอกสีขาวจะเป็นโรคน้อยกว่าสายพันธุ์อื่น

จากผลการวิจัยนี้ ทำให้ทราบชนิดของเชื้อราสนิมชนิดต่างๆ ที่เกิดกับพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก ซึ่งก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการค้าขายสินค้าเกษตรระหว่างประเทศในปัจจุบัน เนื่องจากมีการใช้มาตรการด้านสุขอนามัยพืช ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาถึงเชื้อสาเหตุโรคพืชสกุลและชนิดต่างๆ ว่าสามารถทำให้เกิดโรคกับพืชใดได้บ้าง เพื่อเป็นหลักฐานในการยืนยันและอ้างอิง หากมีการร้องขอข้อมูล หากไม่มีการศึกษาวิจัยดังกล่าวนี้ อาจมีผลต่อการเจรจาการค้าสินค้าเกษตรในอนาคตได้ อีกทั้งการวิจัยดังกล่าว ยังสามารถนำไปศึกษาวิจัยด้านอื่นๆ เช่น การป้องกันกำจัดโรคพืช เป็นต้น

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก ที่แสดงอาการโรคราสนิม จำนวน 46 ตัวอย่าง จากจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ตาก เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ กาญจนบุรี กรุงเทพมหานคร นนทบุรี และ ลพบุรี สามารถจำแนกชนิดเชื้อราสนิมได้ 8 ชนิด 25 ไอโซเลท ได้แก่ ราสนิมถั่วลันเตา เกิดจากเชื้อรา*Uromyces fabae* Pers ราสนิมกุยช่าย เกิดจากเชื้อรา *Puccinia allii* Rud. ราสนิมแห้วหมู เกิดจากเชื้อรา *P. philippinensis* P. et H. Syd. ราสนิมขาไก่ดำ และขาไก่ด่าง เกิดจากเชื้อรา *P. thwaitesii* M.J. Berkeley ราสนิมพุทธรักษา เกิดจากเชื้อรา *P. thaliae* Diet. ราสนิมตะไคร้ เกิดจากเชื้อรา *P. nakanishikii* Dietel ราสนิมลั่นทม เกิดจากเชื้อรา *Coleosporium plumeriae* Pat. และราสนิมเบญจมาศ เกิดจากเชื้อรา *P. horiana* P. Henn.

พบว่าเชื้อราชนิดเดียวกันที่แตกต่างไอโซเลทกันนั้น มีรายละเอียดลักษณะสัณฐานวิทยาไม่แตกต่างกัน แต่พบว่าสภาพแวดล้อมและพันธุ์พืชมีส่วนสำคัญต่อการเกิดโรคราสนิมรุนแรงมากน้อยต่างกัน

ตารางที่ 1 แสดงไอโซเลทต่างๆ ของเชื้อราสนิม บนพืชแต่ละชนิดที่จำแนกได้

ไอโซเลท	ชื่อพืช	ส่วนที่เกิดโรค	ชื่อเชื้อสาเหตุ	สถานที่เก็บ
1.	ถั่วลันเตา *Pisum sativum* L.	ใบ	*Uromyces fabae* Per	เกษตรหลวงปางดะ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่
2.	กุยช่าย *Allium schoenosprasum* L.	ใบ	*Puccinia allii*	เกษตรหลวงปางดะ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่
3.	กุยช่าย *Allium schoenosprasum* L.	ใบ ก้านดอก	*Puccinia allii*	สถานีเกษตรที่สูง แม่หลอด จ. เชียงใหม่
4.	แห้วหมู *Cyperus rotundus* L.	ใบ	*Puccinia philippinensis*	เกษตรหลวงปางดะ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่
5.	ขาไก่ดำ *Justicia* sp.	ใบ	*Puccinia thwaitesii*	เกษตรหลวงปางดะ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่
6.	ขาไก่ดำ *Justicia* sp.	ใบ	*Puccinia thwaitesii*	ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย จ. เชียงราย
7.	ขาไก่ด่าง *Justica fraqilis* Wall.	ใบ	*Puccinia thwaitesii*	เกษตรหลวงปางดะ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่
8.	พุทธรักษา *Canna indica* L.	ใบ	*Puccinia thaliae*	อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่
9.	พุทธรักษา *Canna indica* L.	ใบ	*Puccinia thaliae*	ต. ม่วงคำ อ. พาน จ. เชียงราย
10.	พุทธรักษา *Canna indica* L.	ใบ	*Puccinia thaliae*	ต. มหาวัน อ. แม่สอด จ. ตาก
11.	พุทธรักษา *Canna indica* L.	ใบ	*Puccinia thaliae*	เขตบางเขน จ. กรุงเทพมหานคร

ไอโซเลท	ชื่อพืช	ส่วนที่เกิดโรค	ชื่อเชื้อสาเหตุ	สถานที่เก็บ
12.	ตะไคร้ *Cymbopogon citratus* Stapf	ใบ	*Puccinia nakanishikii*	ต. ม่วงคำ อ. พาน จ. เชียงราย
13.	ตะไคร้ *Cymbopogon citratus* Stapf	ใบ	*Puccinia nakanishikii*	อ. แม่แจ่ม จ. เชียงใหม่
14.	ลั่นทม *Plumeria acuminata* Art.	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	โครงการค้นคว้าเกษตร จ. เพชรบุรี
15.	ลั่นทม *Plumeria acuminata* Art.	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	ต.สวนดอก อ. เมือง จ.ลำปาง
16.	ลั่นทม *Plumeria acuminata* Art.	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	ต.บ้านแลง อ. เมือง จ.ลำปาง
17.	ลั่นทม *Plumeria acuminata* Art.	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	ต.พระธาตุผาแดง อ.แม่สอด จ.ตาก
18.	ลั่นทม *Plumeria acuminata* Art.	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	ต.แม่สอด อ.แม่สอด จ. ตาก
19.	ลั่นทม *Plumeria acuminata* Art.	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	ต.ดอนตูม อ.เมือง จ.ลพบุรี
20.	ลั่นทม *Plumeria acuminata* Art.	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	บ้านกรูด จ. ประจวบคีรีขันธ์

ไอโซเลท	ชื่อพืช	ส่วนที่เกิดโรค	ชื่อเชื้อสาเหตุ	สถานที่เก็บ
21.	ลั่นทม *Plumeria acuminata* Art.	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	อ. เมือง จ. นนทบุรี
22.	ลั่นทม *Plumeria acuminata* Art.	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	อ. บางบัวทอง จ. นนทบุรี
23.	ลั่นทม *Plumeria acuminata* Art.	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	เขตบางเขน จ. กรุงเทพมหานคร
24.	ลั่นทม *Plumeria acuminata* Art.	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	อ. ลาดหญ้า จ. กาญจนบุรี
25.	เบญจมาศ *Chrysanthemum morifolium* Ramat	ใบ	*Puccinia horiana*	โป่งแยง อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2 แสดงลักษณะของเชื้อราสนิมแต่ละชนิด

ลำดับที่	ชื่อพืช	spore			stage	ชื่อเชื้อสาเหตุ
		ชนิดสปอร์	ลักษณะ spore	ลักษณะผนัง spore		
1	ถั่วลันเตา *Pisum sativum* L.	urediniospore	1 เซลแบบ ellipsoid จนถึง obovoid สีเหลืองอ่อน	ผนังสปอร์เป็นหนามแบบ echinulate	uredinium	*Uromyces fabae* Pers
2	กุยช่าย *Allium schoenosprasum* L.	urediniospore	1 เซล แบบ ellipsoid จนถึง obovoid สีเหลืองเข้ม	ผนังสปอร์เป็นหนามแบบ echinulate	uredinium	*Puccinia allii* Rud.
3	แห้วหมู *Cyperus rotundus* L.	urediniospore	1 เซล แบบ ellipsoid จนถึง obovoid สีน้ำตาล	ผนังสปอร์เป็นหนามแบบ echinulate	uredinium	*Puccinia philippinensis* P. et H. Syd.
4	ขาไก่ดำ *Justicia* sp. ขาไก่ด่าง *Justica fraqilis* Wall.	Teliospore	2 เซล แบบ ellipsoid สีน้ำตาลเข้ม ผนังบริเวณ septum คอดเข้าเล็กน้อย	ผนังสปอร์เรียบ	telium	*Puccinia thwaitesii* M.J. Berkeley
5	พุทธรักษา *Canna indica* L.	urediniospore	1 เซล แบบ obovoid, ellipsoid, pyriform สีน้ำตาล	ผนังสปอร์เป็นหนามแบบ echinulate	uredinium	*Puccinia thaliae* Diet.

ลำดับที่	ชื่อพืช	spore			stage	ชื่อเชื้อสาเหตุ
		ชนิดสปอร์	ลักษณะ spore	ลักษณะผนัง spore		
6	ตะไคร้ *Cymbopogon citratus* Stapf	urediniospore	1 เซล แบบ obovoid ผนังสปอร์หนาสีน้ำตาล	ผนังสปอร์เป็นหนามแบบ echinulate	uredinium	*Puccinia nakanishikii* Dietel
7	ลั่นทม *Plumeria acuminata* Art.	urediniospore	1 เซล แบบ ellipsoid สีเหลืองส้ม	ผนังสปอร์เป็นหนามแบบ echinulate	uredinium	*Coleosporium plumeriae* Pat.
8	เบญจมาศ *Chrysanthemum morifolium* Ramat	Teliospore	2 เซล แบบ fusiform สีเหลืองอ่อน	ผนังสปอร์เรียบแบบ verrucose	telium	*Puccinia horiana* P. Henn.

เอกสารอ้างอิง

ทวี เก่าศิริ. 2527. โรคฝ้าย. ข่าวสารศัตรูพืช 1 (ฉบับฝ้าย) : 1-17.

นุชนารถ จงเลขา. 2546. คู่มือการควบคุมโรคและศัตรูต่างๆของพืชผักแบบผสมผสาน. สำหรับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมผักบนที่สูง. ศูนย์อารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวง 163 หน้า.

สมภาค สิทธิพงศ์, ประเสริฐ ปิ่นประยงค์ และ ศรี หวังสว่างสกุล. 2527. โรคหม่อน. ข่าวสารศัตรูพืช ฉบับโรคและแมลงศัตรูฝ้าย. 1 (ฉบับฝ้าย) : 72-85.

อุดม ภู่พิพัฒน์. 2529. โรคข้าวโพด. ข่าวสารศัตรูพืช 2 (1) : 22-33.

พงษ์วิภา หล่อสมบูรณ์. 2529. ราสนิมในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัย-เกษตรศาสตร์. 193 หน้า

Cummins, G.B. and Y. Hiratsuka. 1983. Illustrated Genera of Rust Fungi. Revised Edition. , The American Phytopathological Society,. Minnesota. 152 p.

Cummins, G.B. and Y. Hiratsuka. 2003. Illustrated Genera of Rust Fungi. Third Edition. , The American Phytopathological Society,. Minnesota. 225 p.

กรมวิชาการเกษตร

วิธีการเก็บรักษาเชื้อรา *Sphaceloma ampelinum* สาเหตุโรคสแคปขององุ่น

Preservation of *Sphaceloma ampelinum* the Causal Agent of Grape Scab Disease

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี **พัฒนา สนธิรัตน**

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ **ธารทิพย ภาสบุตร**

กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

วิธีการเก็บรักษาเชื้อรา *Sphaceloma ampelinum* โดยวิธีเก็บรักษา 4 กรรมวิธี ได้แก่ เก็บรักษาบนอาหาร PDA เก็บรักษาใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เก็บรักษาโดยวิธีเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) และเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ดำเนินการทดลองเมื่อ ตุลาคม 2543 ถึง กันยายน 2546 ที่กลุ่มงานวิทยาไมโค สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร พบว่าทั้ง 4 กรรมวิธี สามารถเก็บรักษาเชื้อรา *S. ampelinum* ให้มีชีวิตอยู่รอดได้ 24 เดือน แต่การเก็บรักษาบนอาหาร PDA มีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียอื่น หลังจากเก็บรักษา 1 ปีขึ้นไป ส่วนการเก็บรักษาโดยวิธีเก็บใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) และเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เชื้อราสามารถมีชีวิตอยู่ได้และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย การเจริญของเชื้อรา *S. ampelinum* พบว่าวิธีการเก็บรักษาโดยวิธีเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) เป็นวิธีที่ดีที่สุด รองลงมาได้แก่การเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และเก็บรักษาใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

รหัส 44 11 010 009

คำนำ

องุ่น เป็นไม้ผลเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่สำคัญของประเทศไทย ทำรายได้ให้เกษตรกรผู้ปลูกอย่างมาก แต่เกษตรกรมักประสบปัญหาการแพร่ระบาดของโรคต่างๆ ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น เนื่องจากต้องเสียค่าใช้จ่ายในการป้องกันกำจัดโรคเป็นจำนวนมาก โรคที่สำคัญขององุ่นส่วนใหญ่มีสาเหตุจากเชื้อรา โรคสแคป หรือ อีบุบ เป็นโรคสำคัญชนิดหนึ่งที่เกิดจากเชื้อรา *Sphaceloma ampelinum* สามารถทำลายองุ่นได้ทุกส่วนทั้ง ใบ ผล เถาองุ่น โดยจะรุนแรงในส่วนของพืชที่ยังอ่อนอยู่ เช่น ผลอ่อน เถาอ่อน เป็นต้น ส่วนของใบที่เป็นโรคจะแสดงอาการเป็นจุดขนาดเล็กสีน้ำตาลเข้ม ต่อมาแผลขยายขนาดขึ้นตรงกลางแผลสีน้ำตาลอ่อนหรือเทา บางครั้งเนื้อเยื่อใบหลุดออกไป หากเป็นเส้นกลางใบจะเป็นแผลสีน้ำตาลเข้มนูนลึก ใบม้วนลงด้านล่าง ถ้ารุนแรงใบอาจร่วงได้ ส่วนของผลที่เป็นโรคจะมีจุดสีน้ำตาลอ่อน น้ำตาลเข้มถึงดำ แผลนูนและแห้งแข็ง เถาองุ่นที่เป็นโรค เชื้อจะเข้าทำลายยอดอ่อนก่อนทำให้บิดงอและแผลนูนปม เป็นรุนแรงทำให้แห้งตายได้

การศึกษาวิธีการเก็บรักษาเพื่อให้ทราบวิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสม ทั้งนี้เพราะการเก็บรักษาเชื้อรา มีจุดมุ่งหมายเพื่อเก็บเชื้อราให้มีชีวิตอยู่และสามารถนำกลับมาใช้ได้ โดยเชื้อยังคงบริสุทธิ์ปราศจากการปนเปื้อนจากเชื้ออื่น เช่น เชื้อราหรือแบคทีเรีย เพื่อที่จะทำการศึกษาเชื้อรา *S. ampelinum* เพิ่มเติมได้ วิธีการเก็บรักษาที่ใช้กันอยู่มีหลายวิธี บางวิธีเหมาะสำหรับการเก็บรักษาในระยะเวลาสั้น เช่น การเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่ออาหารแห้งก็ต้องมีการถ่ายเชื้อจากอาหารเดิมไปยังอาหารใหม่ วิธีการเช่นนี้ไม่ยุ่งยาก แต่เสียเวลาและมักพบการปนเปื้อนของเชื้อได้ง่าย อีกทั้งยังทำให้คุณภาพของเชื้อเสื่อมลง บางวิธีสามารถเก็บรักษาได้นาน เช่น การเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัจฉราและประไพศรี (2543) ศึกษาการมีชีวิตรอดของเชื้อเห็ดฟางในน้ำกลั่นและพบว่าสามารถเก็บรักษาเชื้อเห็ดฟางให้มีชีวิตอยู่รอดและคงลักษณะเดิม ยังมีการศึกษาการเก็บรักษาเชื้อเห็ดและพบว่าสามารถเก็บเชื้อได้ดีที่อุณหภูมิ -80 -85 และ -196 องศาเซลเซียส (Ito and Yokoyama, 1983) สุวลักษณ์และประไพศรี (2545) ศึกษาการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์เห็ดสกุลนางรมและเห็ดหูหนู พบว่าการเก็บรักษาโดยใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ในน้ำมันแร่นึ่งฆ่าเชื้อ และการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -75 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาเชื้อเห็ดได้ 24 เดือน Claudia และคณะ (2545) รายงานว่าเชื้อรา *Paecilomyces fumosoroseus* สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้โดยการเก็บรักษาด้วยวิธีเก็บในน้ำกลั่น ในน้ำมันแร่ และเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ดังนั้นการศึกษาวิธีการเก็บรักษาเชื้อรา *S. ampelinum* เพื่อที่จะได้วิธีการเก็บรักษาที่มีประสิทธิภาพ สามารถเก็บได้นานและคงคุณภาพของเชื้อราดังกล่าว เพื่อการนำเชื้อไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาด้านอื่นๆ ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. **อุปกรณ์**
   1. เชื้อรา *S. ampelinum* ซึ่งแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จากองุ่นที่เป็นโรค เพื่อใช้เป็นตัวแทนในการทดสอบ
   2. กล้องจุลทรรศน์
   3. ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิต่ำ
   4. เครื่อง Freeze – Dryer และตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ
   5. อาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA

2. **วิธีการ**
   1. วางแผนการทดลอง

      วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี โดยใช้การเก็บรักษาแต่ละวิธีเป็นกรรมวิธี ดังนี้

      กรรมวิธีที่ 1 = เก็บรักษาบนอาหาร PDA ในตู้เย็น

      กรรมวิธีที่ 2 = เก็บรักษาใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

      กรรมวิธีที่ 3 = เก็บรักษาโดยวิธีเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization)

      กรรมวิธีที่ 4 = เก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

   2. การตรียมเชื้อรา *S. ampelinum*

      2.1 เก็บตัวอย่างองุ่นที่เป็นโรคสแคป นำมาแยกสปอร์เดี่ยวของเชื้อรา *S. ampelinum* โดยการเขี่ยสปอร์เดี่ยวจากแผลบนผลองุ่น ลงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ในจานแก้วเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

      2.2 เมื่อเชื้อรา *S. ampelinum* เจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ นำเชื้อที่แยกได้เลี้ยงบนอาหาร PDA

      2.3 ทำการเจาะอาหารที่มีเชื้อรา *S. ampelinum* เจริญเต็มด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ย้ายชิ้นวุ้นเก็บโดยวิธีต่างๆ

3. การเก็บรักษาเชื้อรา *S. ampelinum* วิธีต่างๆ

กรรมวิธีที่ 1 เก็บรักษาบนอาหาร PDA ในตู้เย็น

ย้ายชิ้นวุ้นจากข้อ 2.3 วางบนอาหาร PDA slant หลังการย้ายเชื้อลงหลอดอาหาร PDA slant ทำการหุ้มสำลีที่ปิดปากหลอดด้วยแผ่นพาราฟิล์ม เมื่อเชื้อเจริญดีเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ

กรรมวิธีที่ 2 เก็บรักษาใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

ทำการผสมกลีเซอริน 10 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร คนให้ละลายเข้ากันดีแล้วแบ่งบรรจุในขวด vial ขนาดเล็กขวดละ 4 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ห่างกัน 1 วัน จากนั้นจึงย้ายชิ้นวุ้นจากข้อ 2.3 ลงในขวดดังกล่าว

กรรมวิธีที่ 3 เก็บรักษาโดยวิธีเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization)

ทำตามขั้นตอนของ วิธีเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization)

กรรมวิธีที่ 4 เก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

นำน้ำกลั่นบรรจุในขวด vial ขนาดเล็กขวดละ 4 มิลลิลิตร ทำการนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นย้ายชิ้นวุ้นจากข้อ 2.3 ลงในขวดดังกล่าว ทำการเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อทุก 2 เดือน

4. การบันทึกข้อมูล

4.1 บันทึกความมีชีวิตของเชื้อ ทุก 6 เดือน นำเชื้อราที่เก็บไว้ด้วยวิธีการต่างๆ เลี้ยงบนอาหาร PDA บันทึกความมีชีวิตของเชื้อว่ามีการเจริญเติบโตหรือไม่

4.2 การเจริญเติบโตของเชื้อ นำเชื้อราที่เก็บไว้ด้วยวิธีการต่างๆ ที่อายุการเก็บรักษา 6, 12, 18 และ 24 เดือน เลี้ยงบนอาหาร PDA เปรียบเทียบลักษณะการเจริญของเชื้อรา โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA ในแนวระดับ 2 แนวตั้งฉากกัน เมื่อเลี้ยงบน PDA 30 วัน

เวลาและสถานที่

เริ่มดำเนินการทดลองตั้งแต่ ตุลาคม 2543 สิ้นสุด กันยายน 2546 ดำเนินการทดลองที่กลุ่มงานวิทยาไมโค สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการตรวจสอบผลการเก็บรักษาเชื้อรา *S. ampelinum* ที่เก็บไว้ในสภาพต่างๆ ได้แก่ บนอาหาร PDA เก็บใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เก็บแห้งสูญญากาศ และเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ระยะเวลาเก็บ 6, 12, 18 และ 24 เดือน ได้ผลดังนี้

1. **ความมีชีวิตของเชื้อ** พบว่า ระยะเวลาเก็บที่ 6 เดือน เชื้อรา *S. ampelinum* ที่เก็บ บนอาหาร PDA เก็บใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) และเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เชื้อราสามารถมีชีวิตอยู่ได้ หลังจากเลี้ยงเชื้อไว้ในระยะเวลา 12 เดือน เชื้อราที่เก็บบนอาหาร PDA สามารถมีชีวิตอยู่ได้แต่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย ส่วนเชื้อราที่เก็บใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอรินที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เก็บด้วยวิธีเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) และเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ สามารถมีชีวิตอยู่ได้โดยไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย ที่ระยะเวลา 18 เดือน และ 24 เดือน พบว่าได้ผลเช่นเดียวกันกับที่เก็บระยะเวลา 12 เดือน
2. **การเจริญเติบโตของเชื้อรา**
   2.1. **ที่ระยะเวลา 6 เดือน** เชื้อรา *S. ampelinum* ที่เก็บรักษาโดยวิธีเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) เจริญเติบโตดีที่สุด มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 3.22 ซม. ซึ่งแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับวิธีการเก็บรักษาอื่นๆ รองลงมาได้แก่ วิธีเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ บนอาหาร PDA และใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอรินที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 2.88, 2.82 และ 2.78 ซ.ม. ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 วิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)
   2.2. **ที่ระยะเวลา 12 เดือน** เชื้อรา *S. ampelinum* ที่เก็บรักษาโดยวิธีเลี้ยงในอาหาร PDA พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย ไม่สามารถนำมาวิเคราะห์สถิติเพื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นได้ ส่วนการเก็บรักษาโดยวิธีเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) เจริญเติบโตดีที่สุด มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 3.16 ซ.ม. มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับวิธีเก็บรักษาใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอรินที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 2.78 และ 2.82 ซ.ม. ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 2 วิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)

2.3. **ที่ระยะเวลา 18 เดือน** วิธีการเก็บบนอาหาร PDA มีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย ตั้งแต่ที่ระยะเวลา 12 เดือน ไม่สามารถเปรียบเทียบผลทางสถิติได้ จึงทำการเปรียบเทียบเฉพาะวิธีเก็บรักษาเชื้อรา *S. ampelinum* โดยวิธีเก็บใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) และเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ พบว่าผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *S. ampelinum* ที่เก็บรักษาโดยวิธีต่างๆ เป็นไปในทำนองเดียวกันกับที่อายุการเก็บรักษา 12 เดือน โดยพบว่าวิธีเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) เจริญเติบโตดีที่สุด มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 3.42 ซ.ม. ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับอีก 2 วิธี รองลงมาได้แก่ วิธีเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 3.02 ซ.ม. และใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 2.87 ซ.ม. ซึ่ง 2 วิธีการหลังนี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)

2.4. **ที่ระยะเวลา 24 เดือน** ทำการเปรียบเทียบผลการเก็บรักษาเชื้อรา *S. ampelinum* พบว่าผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *S. ampelinum* ที่เก็บรักษาโดยวิธีต่างๆ เป็นไปในทำนองเดียวกันกับที่อายุการเก็บรักษา 12 และ 18 เดือน โดยพบว่าวิธีเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) เจริญเติบโตดีที่สุด มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 3.04 ซ.ม. ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ วิธีเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 2.62 ซ.ม. แต่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการเก็บรักษาใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 2.14 ซ.ม. (ตารางที่ 1)

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้เก็บรักษาเชื้อรา *S. ampelinum* เชื้อสามารถมีชีวิตอยู่ได้ แต่เมื่อวัดผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา พบว่าวิธีการเก็บรักษาโดยวิธีการเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) เป็นวิธีที่ดีที่สุด เชื้อราดังกล่าวสามารถมีชีวิตอยู่ได้และมีการเจริญเติบโตดีสม่ำเสมอตลอด 2 ปี โดยจะเห็นได้ว่าในการตรวจวัดผลการทดลองที่ 6, 12, 18 และ 24 เดือน เชื้อรา *S. ampelinum* ที่เก็บด้วยวิธีนี้มีการเจริญเติบโตหลังจากนำออกมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 30 วัน การเจริญเติบโตมีความสม่ำเสมอ ส่วนวิธีการเก็บรักษาที่ให้ผลรองลงมาได้แก่การเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และเก็บรักษาใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอรินที่

อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเก็บนานถึง 2 ปี การเจริญเติบโตของเชื้อเมื่อนำออกมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จะมีการเจริญเติบโตลดลงบ้างเล็กน้อย ทั้ง 2 กรรมวิธี

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเก็บรักษาเชื้อรา *Sphaceloma ampelinum* โดยวิธีเก็บรักษา 4 กรรมวิธี ได้แก่ เก็บรักษาบนอาหาร PDA เก็บรักษาใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เก็บรักษาโดยวิธีเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) และเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วตรวจสอบความมีชีวิตและการเจริญของเชื้อรา พบว่า

เชื้อรา *S. ampelinum* ที่เก็บรักษาทั้ง 4 กรรมวิธี เป็นเวลา 24 เดือน สามารถมีชีวิตอยู่ได้ แต่การเก็บรักษาบนอาหาร PDA พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียอื่น หลังจากเก็บรักษา 1 ปีขึ้นไป ส่วนการเก็บรักษาโดยวิธีเก็บใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) และเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เชื้อราสามารถมีชีวิตอยู่ได้และไม่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียเลยจนถึงอายุการเก็บรักษา 24 เดือน

การเจริญเติบโตของเชื้อรา *S. ampelinum* พบว่าวิธีการเก็บรักษาโดยวิธีการเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization) เป็นวิธีที่ดีที่สุด วิธีการเก็บรักษาที่ให้ผล รองลงมาได้แก่การเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และเก็บรักษาใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอรินที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1 ความมีชีวิตและการเจริญของเชื้อรา *Sphaceloma ampelinum* เก็บรักษาโดยวิธีต่างๆ ที่ระยะเวลา 6, 12, 18 และ 24 เดือน

ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)								
	6		12		18		24	
กรรมวิธีที่เก็บรักษา	% ความมีชีวิต	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย (ซ.ม.)	% ความมีชีวิต	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย (ซ.ม.)	% ความมีชีวิต	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย (ซ.ม.)	% ความมีชีวิต	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย (ซ.ม.)
1	100	2.82 b	100	-	100	-	100	-
2	100	2.78 b	100	2.78 b	100	2.87 b	100	2.14 b
3	100	3.22 a	100	3.16 a	100	3.42 a	100	3.04 a
4	100	2.88 b	100	2.82 b	100	3.02 b	100	2.62 a
CV (%)		4.29		4.05		6.27		11.73

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

กรรมวิธีที่ 1 = เก็บรักษาบนอาหาร PDA ในตู้เย็น

กรรมวิธีที่ 2 = เก็บรักษาใน 10 เปอร์เซ็นต์กลีเซอริน ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 3 = เก็บรักษาโดยวิธีเก็บแห้งสูญญากาศ (Lyophilization)

กรรมวิธีที่ 4 = เก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเชื้อรา} = \frac{\text{จำนวนซ้ำของเชื้อราที่เจริญ}}{\text{จำนวนซ้ำของเชื้อราทั้งหมด}} \times 100$$

เอกสารอ้างอิง

สุวลักษณ์ ชัยฐโชติ และประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2545. การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์เห็ดสกุลนางรมและเห็ดหูหนู. หน้า 8-9. ใน : เอกสารสรุปผลการดำเนินงาน ประชุมวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ปี 2545. วันที่ 16-18 กันยายน 2545. ณ โรงแรมภูพิมาน รีสอร์ท จ. นครราชสีมา.

อัจฉรา พยัพพานนท์ และ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2543. การมีชีวิตรอดของเชื้อเห็ดฟางในน้ำกลั่น. หน้า 37. ใน : บทคัดย่อและสรุปผลการดำเนินงาน ประชุมวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ปี 2543. วันที่ 8-10 มีนาคม 2543. ณ โรงแรมลองบีช จ. เพชรบุรี.

Ito, T. and T. Yokoyama. 1983. Preservation of basidiomycete cultures by freezing. *IFO Res. Comm.* 11: 60-70.

Claudia C. López Lastra, Ann E. Hajek and Richard A. Humber. 2002. Comparing methods of preservation for cultures of entomopathogenic fungi. Can. J. Bot./Rev. Can. Bot. 80(10): 1126-1130. In : http://pubs.nrc-cnrc.gc.ca/cgi- bin/rp/rp2_abst_e?cjb_b02-090_80_ns_nf_cjb

กรมวิชาการเกษตร