



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

เชื้อรา *Mycosphaerella* และจีสักใกล้เคียง
จากภาคเหนือของประเทศไทย

Mycosphaerella and Related Genera
from Northern Thailand

โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัชดาวรรณ ชีวังกูร

ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กรกฎาคม 2563

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ เชื้อรา *Mycosphaerella* และจีสไกล์เคียงจากภาคเหนือ
ของประเทศไทย

Mycosphaerella and related genera from Northern Thailand

ผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัชดาวรรณ ชีวังกูร

สังกัด

ภาควิชาภูมิวิทยาและโรคพืช

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
และ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5580163
ชื่อโครงการ: โครงการ เชื้อรา *Mycosphaerella* และจลินส์ใกล้เคียงจากภาคเหนือ
ของประเทศไทย
ชื่อนักวิจัย: รัชดาวรรณ ชีวังกู
คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Email address: ratchadawan.c@cmu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 กรกฎาคม พ.ศ.2555 – 30 กรกฎาคม 2563

บทคัดย่อ:

เชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* มีความสัมพันธ์กับโรคใบจุดและใบไหม้ของพืชหลายชนิด จากการสำรวจและเก็บตัวอย่าง เชื้อราในกลุ่มดังกล่าวระหว่างปี 2013 – 2014 ในภาคเหนือของ ประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และลำปาง จากนั้นทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ โดยใช้วิธี แยกสปอร์เดี่ยว พบเชื้อรากลุ่มนี้ 43 ไอโซเลตซึ่งอยู่ใน 4 สกุลคือ เชื้อรา *Mycosphaerella*, *Cercospora*, *Pseudocercospora* และ *Passalora* นอกจากนี้ยังพบเชื้อรากลุ่มใกล้เคียงคือเชื้อรา *Cladosporium* sp. โดยเชื้อราทั้งหมดพบบนพืชอาศัยรวม 43 ตัวอย่างใน พืช 32 สกุล ในการศึกษา ครั้งนี้ได้อธิบาย ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและภาพประกอบของเชื้อราทั้งหมดที่พบ ผลการศึกษานี้ได้ พบเชื้อราที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย 12 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Mycosphaerella erythrinae* (พบใน ทองหลางป่า) เชื้อรา *Cercospora apii* (ในกระเจี๊ยบเขียว ผักกาดขาว จิงจ้อเหลือง ขบาหนู และเครือ ตดหมา) เชื้อรา *Pseudocercospora liquidambaricola* (ในเมเปิ้ลหอม) เชื้อรา *Pseudocercospora fici* (ในตีนตุ๊กแก) เชื้อรา *Pseudocercospora mori* (ในหม่อน) เชื้อรา *Pseudocercospora rubi* (ใน บำฮั่นน้อย) เชื้อรา *Pseudocercospora egenula* และ เชื้อรา *Pseudocercospora daturina* (ใน ลำโพง) นอกจากนี้ยังพบว่าพืช ที่เป็นโรคใบจุดใบไหม้เกิดจากเชื้อราในวงศ์นี้ แต่ยังไม่เคยมีรายงานมา ก่อน 10 ชนิด ได้แก่ โกสน เข็มปัตตาเวีย แสงจันทร์ และ ชาทอง พบเชื้อราสาเหตุคือ *Cercospora* spp. ส่วนในข้าวฟ่าง ถั่วเหลือง ถั่วลาย ผักบุ้งฝรั่ง และสะแกเถา พบเชื้อราสาเหตุคือ *Pseudocercospora* spp. และในถั่วพู พบเชื้อรา *Passalora* sp. ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* โดยวิเคราะห์จากลำดับเบสของ rDNA ตรงตำแหน่ง LSU จากกลุ่มตัวอย่าง ของ

เชื้อรา *Cercospora* และ *Pseudocercospora* และการสร้าง phylogeny tree โดยวิธี Neighbor-Joining พบว่าเชื้อราทั้งหมดอยู่ใน วงศ์ Mycosphaerellaceae อย่างไรก็ตามเมื่อทำการวิเคราะห์ลำดับเบสตรงตำแหน่ง ITS เพื่อระบุถึงสายพันธุ์เชื้อรา พบว่า ไม่สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์เชื้อรา *Cercospora* ได้อย่างชัดเจน แต่สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อรา *Pseudocercospora* ได้

คำหลัก : Mycosphaerellaceae ความหลากหลาย ภาคเหนือ ประเทศไทย

Abstract

Project Code: MRG5580163
Project Title: Mycosphaerella and related genera from Northern Thailand
Investigator: Ratchadawan Chewangkoon
Faculty of Agriculture, Chiang Mai University
E-mail Address: ratchadawan.c@cmu.ac.th
Project Period: 2 July 2013 – 26 June 2020

Abstract:

Mycosphaerellaceae species are well-known associated with leaf diseases in many important plant species. Several surveys were conducted throughout northern Thailand and these were arranged to cover area of Chiang Mai, Chiang Rai and Lampang provinces during 2013-2014. Diseased leaves were examined and isolated for fungi using single spore isolation technique. A total of 43 isolates were obtained from 32 different plant genera. Isolates grouped by morphological characteristics resulted 41 isolates representing in 4 genera including *Mycosphaerella*, *Cercospora*, *Pseudocercospora* and *Passalora*, 2 isolates were included in *Cladosporium*. The morphological studies were described and illustrated. Of these, *Mycosphaerella erythrinae* (on *Erythrina stricta*), *Cercospora apii* (on *Abelmoschus esculentus*, *Brassica rapa*, *Merremia vitifolia*, *Malvaviscus arboreus* and *Peaderia fallida*), *Pseudocercospora liquidambaricola* (on *Liquidambar formosana*), *Ps. fici* (on *Ficus pumila*), *Ps. mori* (on *Morus alba*), *Ps. rubi* (on *Rubus blepharoneurus*), *Ps. egenula* and *Ps. daturina* (on *Solanum candidaare*) are newly recorded from Thailand. This is also the first report of genus *Cercospora* occurring on *Codiaeum variegatum*, *Jathopha integerrima*, *Pisonea sarmentosum* and *Duranta repens*. *Pseudocercospora* occurring on *Piper sarmentosum*, *Glycine max*, *Centrosema pubescens*, *Ipomoea* sp and *Combretum procursum* and the genus *Passalora* occurring on *Psophocarpus tetragonopbbus*. 18 isolates of *Cercospora* and *Pseudocercospora* morphologically-like were phylogenetically analysed using DNA sequence comparisons

for the LSU region of the rDNA operon. Distance tree obtained from the neighbor-joining analysis showing all of these isolates resided in the family Mycosphaerellaceae (Order Capnodiales). Based on ITS phylogenetic data proved sufficient to distinguish *Cercospora* species but neither in *Pseudocercospora*.

Keywords: Mycosphaerella, Cercospora, Pseudocercospora, Passalora, Thailand

บทสรุปผู้บริหาร

เชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ประกอบด้วยสมาชิกเชื้อราจำพวก *Mycosphaerella*, *Cercospora*, *Pseudocercospora* และ *Passalora* โดยสามารถพบได้ทั้งในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ใบเลี้ยงคู่ และพืชเมล็ดเปลือย ซึ่งเชื้อราชนิดนี้สามารถแพร่กระจายไปได้ทั่วโลก และเจริญได้ดีในภูมิประเทศร้อน นอกจากนี้ เชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* จำนวนมากที่พบเป็นสาเหตุโรคพืชและสร้างความเสียหายกับพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิดในหลายพื้นที่ทั่วโลก เช่น โรคใบจุดของกล้วย (Sigatoka Disease) โรคใบจุดของยูคาลิปตัส และยังพบว่าเป็นสาเหตุของโรคใบจุดของพืชอื่นๆ อีกมากมาย เชื้อราเหล่านี้ส่วนใหญ่มีความเฉพาะเจาะจงกับพืชอาศัย ในขณะที่บางสปีชีส์พบว่าสามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด และสามารถก่อให้เกิดโรคร่วมกับเชื้อราจำพวกอื่น ๆ ในบาดแผลเดียวกันได้

ในปัจจุบันมีการค้นพบเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* กว่า 10,000 ชนิด แต่การจำแนกชนิดสปีชีส์ของเชื้อราในวงศ์นี้ค่อนข้างยาก เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกัน และค่อนข้างซับซ้อน จนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระบบอนุกรมวิธานหลายครั้ง ซึ่งเชื้อราสาเหตุโรคพืชส่วนใหญ่มักพบว่าเป็นระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยเชื้อราดังกล่าวพบระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศไม่บ่อยนักหรือไม่พบเลย ซึ่งหลังมีการศึกษามากขึ้น จึงได้ถูกกำหนดให้ใช้มาตรฐานอนุกรมวิธานภายใต้ Article 59 ของ International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants (ICN) ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชื่อของเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญหลายชนิด ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ส่งผลต่อรายนามเชื้อราสาเหตุโรคพืชในหลายประเทศ

ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อสำรวจและรวบรวม เชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ในประเทศไทย และศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา โดยใช้เทคนิคทางอนุกรมวิธานร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการระบุชนิดของเชื้อราที่ถูกต้องตามหลักสากล และเพื่อวิเคราะห์ระดับความเฉพาะเจาะจงกับพืชอาศัย วิวัฒนาการของเชื้อราในการเข้าทำลายพืชอาศัยต่างชนิด และการกระจายตัวของเชื้อราในพื้นที่ต่างๆ ทั่วโลก โดยทำการเก็บตัวอย่างใบพืชชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการใบจุดและใบไหม้จากเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากพื้นที่ต่างๆ ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย พร้อมทั้งถ่ายรูปและบันทึกลักษณะอาการเบื้องต้น จากนั้นจึงนำมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology of fungal) เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการจำแนกเพื่อศึกษาว่าเชื้อราที่พบบนใบพืชที่แสดงอาการใบจุดและใบไหม้นั้นเป็นเชื้อราที่อยู่ในกลุ่มจำพวกและสปีชีส์ใดในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* และทำการศึกษาความสัมพันธ์ โดยใช้เทคนิคด้านโมเลกุลในการตรวจสอบความสัมพันธ์ของเชื้อราที่เก็บ

รวบรวมมาได้ ทำการหาลำดับของยีนในดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง LSU (large subunit) และ ITS (internal transcribed spacer) เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบและแบ่งกลุ่มเชื้อราจากส่วนลำดับของยีนที่คล้ายคลึงกัน เพื่อช่วยในการจำแนกกลุ่มสปีชีส์เชื้อรา

จากการสำรวจและรวบรวมเชื้อรากลุ่มดังกล่าวในช่วงปีพ.ศ. 2555-2557 เดี่ยว พบเชื้อรากลุ่มนี้ 43 ไอโซเลตซึ่งอยู่ใน 4 สกุลคือ เชื้อรา *Mycosphaerella*, *Cercospora*, *Pseudocercospora* และ *Passalora* นอกจากนี้ยังพบเชื้อราสกุลใกล้เคียงคือเชื้อรา *Cladosporium* sp. โดยเชื้อราทั้งหมดพบบนพืชอาศัยรวม 43 ตัวอย่างใน พืช 32 สกุล ในการศึกษาครั้งนี้ได้อธิบาย ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและภาพประกอบของเชื้อราทั้งหมดที่พบ ผลการศึกษานี้ได้พบเชื้อราที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย 12 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Mycosphaerella erythrinae* (พบในทองหลางป่า) เชื้อรา *Cercospora apii* (ในกระเจียบเขียว ผักกาดขาว จิงจ้อเหลือง ขบาหนู และเครือตดหมา) เชื้อรา *Pseudocercospora liquidambaricola* (ในเมเปิ้ลหอม) เชื้อรา *Pseudocercospora fici* (ในดินตุ๊กแก) เชื้อรา *Pseudocercospora mori* (ในหม่อน) เชื้อรา *Pseudocercospora rubi* (ในบ้ำฮู้น้อย) เชื้อรา *Pseudocercospora egenula* และ เชื้อรา *Pseudocercospora daturina* (ในลำโพง) นอกจากนี้ยังพบว่าพืช ที่เป็นโรคใบจุดใบไหม้เกิดจากเชื้อราในวงศ์นี้ แต่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน 10 ชนิด ได้แก่ โกสน เข็มปัตตาเวีย แสงจันทร์ และ ชาทอง พบเชื้อราสาเหตุคือ *Cercospora* spp. ส่วนในข้าวพลุ ถั่วเหลือง ถั่วลาย ผักบุ้งฝรั่ง และสะแกเถา พบเชื้อราสาเหตุคือ *Pseudocercospora* spp. และในถั่วพู พบเชื้อรา *Passalora* sp. ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้เป็นการเพิ่มเติมรายชื่อของเชื้อราสกุล *Mycosphaerella* และสกุลใกล้เคียงของประเทศไทย

คำสำคัญ : *Mycosphaerella*, *Cercospora*, *Pseudocercospora*, *Passalora* ประเทศไทย

EXACUTIVE SUMMARY

Members of Mycosphaerellaceae are able to colonise diverse niches and vary in lifestyle from pathogens to endophytes, saprobes, epiphytes and fungicolous species. Numerous important and destructive plant pathogens known in this family, causing considerable economic losses on a wide variety of host plants worldwide, include the species associated with Sigatoka disease on banana, angular leaf spot of bean, tomato leaf mould and many others.

Species of Mycosphaerellaceae are now known to be para- and polyphyletic. The identification of Mycosphaerellaceae species is extremely difficult because of the overlapping morphological characteristics. Many Mycosphaerella species complex have been many changes in their systematic taxonomy and many synonyms proposed. The majority of the plant pathogenic of Mycosphaerellaceae including its asexual morph species were previously defined as host-specific, while some species have been reported to occur on multiple hosts, and the co-occurrence of many different taxa in the same leaf lesion. Some species have the ability to colonise non-host tissue, in an attempt to locate their ideal host to which they are pathogenic.

The widespread use of DNA sequences as an identification tool fueled an idea that was simmering for a long time among mycologists and plant pathologists alike, namely that dual nomenclature in fungi is superfluous. In its wake came the one fungus = one name initiative, which culminated in the termination of the dual nomenclature. Based on the newly revised International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (ICN), the asexual morph *Ramularia* was chosen over that of *Mycosphaerella*, and the remaining taxa assigned to existing genera or newly described genera.

The main objective of the present study is to survey and collect Mycosphaerellaceae fungi from Thailand in order to study their diversity using a combination of morphology and phylogenetic data, and to provide information concerning an updated database of Mycosphaerellaceae in Thailand. These data will be

analysed to evaluate their host specificity and host shifting to promote our understanding of the evolution of new pathogens and the movement of fungi between continents, as many of these taxa can co-occur on the same lesion and have the ability to colonise non-host tissue, in an attempt to locate their ideal host to which they are pathogenic. The mating types and sexual behavior will be established, as for some species either one or both mating types have been introduced to different continents. As more cultures become available, new patterns of coevolution with different fungal genera and their associated host families will emerge, and eventually lead to a better understanding of these pathosystems. Resolving and stabilizing the taxonomy of Mycosphaerellaceae fungi, most of which are important plant pathogens, is urgent. They have a major impact on our agriculture, horticulture, forestry, and the import and export of agricultural products, and quarantine regulations.

A total of 43 isolates were obtained from 32 different plant genera. Isolates grouped by morphological characteristics resulted 41 isolates representing in 4 genera including *Mycosphaerella*, *Cercospora*, *Pseudocercospora* and *Passalora*, 2 isolates were included in *Cladosporium*. The morphological studies were described and illustrated. Of these, *Mycosphaerella erythrinae* (on *Erythrina stricta*), *Cercospora apii* (on *Abelmoschus esculentus*, *Brassica rapa*, *Merremia vitifolia*, *Malvaviscus arboreus* and *Peaderia fallida*), *Pseudocercospora liquidambaricola* (on *Liquidambar formosana*), *Ps. fici* (on *Ficus pumila*), *Ps. mori* (on *Morus alba*), *Ps. rubi* (on *Rubus blepharoneurus*), *Ps. egenula* and *Ps. daturina* (on *Solanum candidaare*) are newly recorded from Thailand. This is also the first report of genus *Cercospora* occurring on *Codiaeum variegatum*, *Jathopha integerrima*, *Pisonea sarmentosum* and *Duranta repens*. *Pseudocercospora* occurring on *Piper sarmentosum*, *Glycine max*, *Centrosema pubescens*, *Ipomoea* sp and *Combretum procursum* and the genus *Passalora* occurring on *Psophocarpus tetragonopbbus*.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
Abstract	iii
บทสรุปผู้บริหาร	v
EXACUTIVE SUMMARY	vii
สารบัญตาราง	x
สารบัญรูปภาพ	xiii
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	12
บทที่ 4 ผลการทดลอง	17
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	156
เอกสารอ้างอิง	162
ภาคผนวก	170

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 4.1	18
ตารางที่ 4.2	28
ตารางที่ 4.3	31
ตารางที่ 4.4	42
ตารางที่ 4.5	43
ตารางที่ 4.6	45
ตารางที่ 4.7	50
ตารางที่ 4.8	51
ตารางที่ 4.9	54
ตารางที่ 4.10	61
ตารางที่ 4.11	63
ตารางที่ 4.12	64
ตารางที่ 4.13	75
ตารางที่ 4.14	76

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 4.15	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Cercospora</i> spp. บนพืช จันทน์ <i>Jatropha</i> spp.	77
ตารางที่ 4.16	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Passalora</i> spp. บนพืช จันทน์ <i>Manihot</i> spp.	78
ตารางที่ 4.17	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Cercospora</i> spp. บนพืช จันทน์ <i>Vigna</i> spp.	89
ตารางที่ 4.18	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> <i>glycines</i> บนพืชจันทน์ <i>Glycine</i> spp	92
ตารางที่ 4.19	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> spp. บนพืชจันทน์ <i>Centrosema</i> spp.	93
ตารางที่ 4.20	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> <i>liquidambaricola</i> บนเมเปิ้ลหอม (<i>Liquidambar formos</i>)	95
ตารางที่ 4.21	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Cercospora</i> spp. บนพืช จันทน์ <i>Hydrangea</i> spp.	98
ตารางที่ 4.22	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Mycosphaerella</i> spp. บนพืชจันทน์ <i>Erythrinae</i> spp.	102
ตารางที่ 4.23	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Cercospora</i> spp. บนพืช จันทน์ <i>Abelmoschus</i> spp. และ <i>Hibiscus</i> spp.	109
ตารางที่ 4.24	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> spp. บนพืชจันทน์ <i>Ficus</i> spp	115
ตารางที่ 4.25	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> spp. บนพืชจันทน์ <i>Morus</i> spp.	117
ตารางที่ 4.26	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> spp. บนพืชจันทน์ <i>Piper</i> spp.	123
ตารางที่ 4.27	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> spp. บนพืชจันทน์ <i>Rubus</i> spp.	127
ตารางที่ 4.28	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Cercospora coffeicola</i> บนพืชจันทน์ <i>Coffea</i> spp	135

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 4.29 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Cercospora paederii</i> บนพืชจีนัส <i>Paederia scandens</i>	136
ตารางที่ 4.30 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนผักคาวตอง (<i>Houttuynia cordata</i>)	139
ตารางที่ 4.31 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Cercospora</i> spp. บนพืชจีนัส <i>Solanum</i> spp.	146
ตารางที่ 4.32 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> spp. บนพืชในวงศ์ Solanaceae ที่พบในประเทศไทย	147
ตารางที่ 4.33 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Cercospora duranticola</i> บนชาทอง (<i>Duranta repens</i>)	151

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 3.1 ส่วน LSU และตำแหน่งจับของ primers (<i>conserved region</i>) ที่อยู่ในยีน ribosomal RNA ของเชื้อรา	14
ภาพที่ 3.2 ส่วน ITS และตำแหน่งจับของ primers (<i>conserved region</i>) ที่ อยู่ในยีน ribosomal RNA ของเชื้อรา	14
ภาพที่ 4.1 เชื้อรา <i>Cladosporium</i> sp. บนจันท์ผา (<i>Dracaena loureiri</i>)	25
ภาพที่ 4.2 เชื้อรา <i>Cercospora beticola</i> บน Swisschard (<i>Beta</i> <i>vulgaris</i>)	27
ภาพที่ 4.3 เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp. บนขึ้นฉ่าย (<i>Apium graveolens</i>)	30
ภาพที่ 4.4 เชื้อรา <i>Cercospora lactucae-sativae</i> บนผักกาดหอม (<i>Lactuca sativa</i>)	33
ภาพที่ 4.5 เชื้อรา <i>Cercospora lactucae-sativae</i> บนผักสลัด (Butterhead) (<i>Lactuca sativa</i>)	35
ภาพที่ 4.6 เชื้อรา <i>Cercospora lactucae-sativae</i> บนผักสลัด (<i>Frillice</i> <i>Iceberg</i>) <i>Lactuca sativa</i>	37
ภาพที่ 4.7 เชื้อรา <i>Pseudocercospora eupatorii-formosanae</i> บน สาบเสือ (<i>Eupatorium odoratum</i>)	39
ภาพที่ 4.8 เชื้อรา <i>Passalora assamensis</i> บนสาบหมา (<i>Eupatorium</i> <i>adenophorum</i>)	41
ภาพที่ 4.9 เชื้อรา <i>Cercospora brassicicola</i> บนคะน้า (<i>Brassica</i> <i>albograbra</i>)	47
ภาพที่ 4.10 เชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนผักกาดขาว (<i>Brassica rapa</i>)	49
ภาพที่ 4.11 เชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> sp. บนสะแกเถา (<i>Combretum</i> <i>procurum</i>)	53
ภาพที่ 4.12 เชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนผักบุ้งฝรั่ง (<i>Ipomoea</i> sp.)	56
ภาพที่ 4.13 เชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> sp. บนผักบุ้งฝรั่ง (<i>Ipomoea</i> sp.)	58
ภาพที่ 4.14 เชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนจิงจ้อเหลือง (<i>Merremia</i> sp.)	60
ภาพที่ 4.15 เชื้อรา <i>Cercospora pulcherimae</i> บนคริสต์มาส (<i>Euphorbia</i> sp.)	66
ภาพที่ 4.16 เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp. บนโกสน (<i>Codiaeum variegatum</i>)	68
ภาพที่ 4.17 เชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนโกสน (<i>Codiaeum variegatum</i>)	70

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 4.18 เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp. บนเข็มปัตตาเวีย (<i>Jatropha integerrima</i>)	72
ภาพที่ 4.19 เชื้อรา <i>Passalora manihotis</i> บนมันสำปะหลัง (<i>Manihot esculenta</i>)	74
ภาพที่ 4.20 เชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนถั่วฝักยาว (<i>Vigna unguiculate</i>)	80
ภาพที่ 4.21 เชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> sp. บนถั่วเหลือง (<i>Glycine max</i>)	82
ภาพที่ 4.22 เชื้อรา <i>Passalora</i> sp. บนถั่วพู (<i>Psophocarpus tetragonopbbus</i>)	84
ภาพที่ 4.23 เชื้อรา <i>Pseudocercospora bradburyae</i> บนถั่วลาย (<i>Centrosema pubescens</i>)	86
ภาพที่ 4.24 เชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> sp. บนถั่วลาย (<i>Centrosema pubescens</i>)	88
ภาพที่ 4.25 เชื้อรา <i>Pseudocercospora liquidambaricola</i> บนเมเปิ้ลหอม (<i>Liquidambar formos</i>)	95
ภาพที่ 4.26 เชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนไฮเดรนเยีย (<i>Hydrangea</i> sp.)	97
ภาพที่ 4.27 เชื้อรา <i>Mycosphaerella erythrinicola</i> บนทองหลางป่า (<i>Erythrina stricta</i>)	101
ภาพที่ 4.28 เชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนกระเจี๊ยบเขียว (<i>Abelmoschus esculentus</i>)	104
ภาพที่ 4.29 เชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนกระเจี๊ยบเขียว (<i>Abelmoschus esculentus</i>)	106
ภาพที่ 4.30 เชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนชบาหนู (<i>Malvaviscus arboreus</i>)	108
ภาพที่ 4.31 เชื้อรา <i>Pseudocercospora fici</i> บนตีนตุ๊กแก (<i>Ficus pumila</i>)	112
ภาพที่ 4.32 เชื้อรา <i>Pseudocercospora mori</i> บนหม่อน (<i>Morus alba</i>)	114
ภาพที่ 4.33 เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp. บนแสงจันทร์ (<i>Pisonea grandis</i>)	120
ภาพที่ 4.34 เชื้อรา <i>Pseudocercospora</i> sp. บนข้าพลุ (<i>Piper sarmentosum</i>)	122

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 4.35	เชื้อรา <i>Pseudocercospora rubi</i> บนป่าฮัน้อย (<i>Rubus blepharoneurus</i>)	126
ภาพที่ 4.36	เชื้อรา <i>Cercospora coffeicola</i> บนกาแฟ (<i>Coffea arabica</i>)	130
ภาพที่ 4.37	เชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนเครือตดหมา (<i>Paederia fallida</i>)	132
ภาพที่ 4.38	เชื้อรา <i>Cladosporium</i> sp. บนเครือตดหมา (<i>Paederia fallida</i>)	134
ภาพที่ 4.39	เชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนผักคาวตอง (<i>Houttuynia cordata</i>)	138
ภาพที่ 4.40	เชื้อรา <i>Cercospora apii</i> บนมะเขียวยาว (<i>Solanum melongena</i>)	141
ภาพที่ 4.41	เชื้อรา <i>Pseudocercospora egenula</i> . บนลำโพง (<i>Brugmansia candida</i>)	143
ภาพที่ 4.42	เชื้อรา <i>Pseudocercospora duturina</i> บนลำโพง (<i>Brugmansia candida</i>)	145
ภาพที่ 4.43	เชื้อรา <i>Cercospora</i> sp. บนชาทอง (<i>Duranta repens</i>)	150
ภาพที่ 4.44	Phylogeny ของเชื้อราในกลุ่ม cercosporoid จากตัวอย่างบางไอโซเลทจาก ภาคเหนือของประเทศไทย และกลุ่มตัวอย่างเชื้อราจาก Genbank ที่ตำแหน่ง LSU รวม 63 ไอโซเลท ซึ่งวิเคราะห์ด้วยชุดโปรแกรม Mege 6 โดยวิธี Neighbour-joining	153
ภาพที่ 4.45	Phylogeny ของเชื้อราในกลุ่ม cercosporoid จากตัวอย่าง 18 ไอโซเลท (เชื้อรา จินัส <i>Cercospora</i> spp. และ <i>Pseudocercospora</i> spp.) จากภาคเหนือของประเทศไทย และกลุ่มตัวอย่างจาก GenBank ในจินัสเดียวกันที่ตำแหน่ง ITS รวม 38 ไอโซเลท ซึ่งวิเคราะห์ด้วยชุด โปรแกรม Mege 6 โดยวิธี Neighbour-joining;	155

บทที่ 1

บทนำ

เชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ประกอบด้วยสมาชิกเชื้อราจำพวก *Mycosphaerella* ที่รู้จักกันโดยทั่วไปว่าอยู่ในกลุ่มใหญ่ของ class *Ascomycetes* และเชื้อราจำพวกอื่นๆ อีกมากมายที่จัดอยู่ใน class *Hyphomycetes* และ *Coelomycetes* พบว่าเชื้อราในกลุ่มนี้มีความสามารถในการปรับตัวให้อยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีความแตกต่างกันไป เช่น อาศัยกินเศษซากพืชซากสัตว์ (saprobe) เป็นพวกปรสิตก่อโรคในพืชและสัตว์ (parasite) และพวกที่เป็นปรสิตหากินกับเชื้อราชนิดอื่น (hyperparasite) เป็นต้น (de Hoog *et al.*, 1991; Goodwin *et al.*, 2001; Jackson *et al.*, 2004; Arzanlou *et al.*, 2007)

เชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* พบว่าเป็นเชื้อราในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorphs) และไม่อาศัยเพศ (anamorphs) จำนวนมากที่พบเป็นสาเหตุโรคพืชและสร้างความเสียหายกับพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิดในหลายพื้นที่ทั่วโลก เช่น โรคใบจุดของกล้วย (Sigatoka Disease) (Jacome *et al.*, 2002; Kaewjan, 2011) โรคใบจุดของยูคาลิปตัส (Crous, 1998; Kenneth *et al.*, 2003; Hunter *et al.*, 2006) และยังพบว่าเป็นสาเหตุของโรคใบจุดของพืชอื่นๆ อีกมากมาย เชื้อราเหล่านี้ส่วนใหญ่มีความเฉพาะเจาะจงกับพืชอาศัย (Chupp, 1954; Goodwin *et al.*, 2001) ในขณะที่บางสปีชีส์พบว่าสามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด (Verkley *et al.*, 2004) และสามารถก่อให้เกิดโรคร่วมกับเชื้อราจำพวกอื่นๆ ในบาดแผลเดียวกันได้ (Cheewangkoon *et al.*, 2008; Crous *et al.*, 2005, 2009a,b)

เชื้อราในกลุ่มดังกล่าวสามารถเข้าทำลายพืชได้หลายส่วน เช่น ใบ ผล ลำต้น แต่ส่วนใหญ่ที่พบคือทำให้เกิดความผิดปกติกับใบพืชอาศัย พบว่าสามารถทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น ใบจุด ใบไหม้ ใบขีด และเนื่อเยื่อตายบริเวณใบ โดยมีรูปร่าง ขนาด และสีของแผลที่ถูกเข้าทำลายแตกต่างกันไป (Crous, 2009) ซึ่งพบว่าเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันออกไปทำให้เกิดโรสดังกล่าว โดยจากการศึกษาเพื่อจัดจำแนกกลุ่มเชื้อราสาเหตุของโรคพืชโดยใช้เทคนิคทางด้านโมเลกุล เพื่อหาความสัมพันธ์ของเชื้อราสาเหตุต่างๆ ที่ทำให้เกิดความผิดปกติกับใบพืช พบว่าเชื้อราสาเหตุอีกหลายจำพวก มีความสัมพันธ์กับเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* (Crous *et al.*, 2006, 2007; Breeyen *et al.*, 2006)

ในปัจจุบันมีการค้นพบเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* กว่า 10,000 ชนิด (Crous *et al.*, 2009) แต่การจำแนกชนิดสปีชีส์ของเชื้อราในวงศ์นี้ค่อนข้างยาก เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกัน และค่อนข้างซับซ้อน (Groenewald *et al.*, 2005, 2006) จนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระบบอนุกรมวิธานหลายครั้ง (Crous *et al.*, 2007a, b) ซึ่งเชื้อราสาเหตุโรคพืชส่วนใหญ่มักพบว่าเป็นระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยเชื้อราดังกล่าวพบระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศไม่บ่อยนักหรือไม่พบเลย จึงทำให้มีการจัดจำแนกแบ่งกลุ่มออกเป็น class *Hyphomycetes* และ *Coelomycetes* ตามลักษณะการเกิดของ conidia และลักษณะของ fruiting body ทำให้ไม่มีความชัดเจนในด้านความสัมพันธ์ระหว่างระยะ anamorph และ teleomorph ของราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดในวงศ์นี้ รวมถึงความเข้าใจในวิวัฒนาการของราอื่นๆ ด้วย อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับพฤติกรรม การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และยีนควบคุมการสืบพันธุ์ (mating type) ของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ซึ่งชี้ให้เห็นว่าในบางสปีชีส์มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเกิดขึ้น (cryptic sex) และพบ teleomorph เพิ่มถึง 20 สปีชีส์ที่ไม่เคยค้นพบมาก่อน การค้นพบนี้มีความสำคัญต่อระบบการกักกันพืชในการนำเข้าและส่งออกสินค้าทางการเกษตรและป่าไม้ ในบางสปีชีส์พบการกระจายของ mating type ในทวีปอื่น ซึ่งมีผลต่อการพัฒนาสายพันธุ์ของเชื้อราในแหล่งที่ไม่ใช่ต้นกำเนิด จึงจะเห็นได้ว่าในกระบวนการกักกันพืชจำเป็นต้องมีความเฉพาะเจาะจงในชนิดของเชื้อรามากกว่าระดับสปีชีส์ของเชื้อรา ดังนั้นการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* จึงใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความสัมพันธ์ทางด้านพันธุกรรม เพื่อช่วยในการจัดจำแนกความสัมพันธ์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในกลุ่มดังกล่าว ซึ่งเข้าทำลายและสร้างความเสียหายกับกลุ่มพืชอาศัยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหรือพืชที่มีการเพาะปลูกมากในท้องถิ่นนั้นๆ ที่เชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ทั้งระยะ teleomorph และ anamorph สามารถเข้าทำลายได้ เพื่อหาวิธีการหลีกเลี่ยงการเกิดโรคในพืช เพื่อช่วยในการป้องกันและแก้ไขปัญหาการระบาดได้ในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ที่พบในเขตภาคเหนือของประเทศไทย
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* บางชนิด

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ความสำคัญของเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae

เชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ประกอบด้วยเชื้อราจำพวก *Mycosphaerella* ซึ่งจัดเป็นกลุ่มใหญ่ใน class Ascomycetes และเชื้อราอีกหลายจำพวกที่อยู่ใน class Hyphomycetes และ Coelomycetes โดยเชื้อราเหล่านี้สามารถปรับตัวให้อยู่ในสภาพแวดล้อม ที่มีความแตกต่างทางด้านภูมิศาสตร์และดำรงชีพได้หลายรูปแบบ ตั้งแต่การอยู่อย่างอิสระ การเป็นปรสิตของพืชและเชื้อราชนิดอื่นๆ (de Hoog *et al.*, 1991; Goodwin *et al.*, 2001; Jackson *et al.*, 2004; Arzanlou *et al.*, 2007)

เชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae มีสมาชิกทั้งที่เป็นเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorphs) และไม่อาศัยเพศ (anamorphs) มีความสัมพันธ์กับพืชหลายชนิด เชื้อราในวงศ์เหล่านี้พบทั้งที่มีความจำเพาะเจาะจงกับพืชอาศัย (highly host species) (Chupp, 1954; Goodwin *et al.*, 2001) และที่มีพืชอาศัยได้หลายชนิด (wider host species) (Verkley *et al.*, 2004) นอกจากนี้สามารถก่อให้เกิดโรคร่วมกับเชื้อราจำพวกอื่นๆ ในบาดแผลเดียวกันได้ (Cheewangkoon *et al.*, 2008) โดยจำนวนมากพบว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืช จนอาจถึงขั้นสร้างความเสียหายในระดับเศรษฐกิจกับพืชหลายชนิดที่มีความสำคัญทั่วโลก

เชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ปัจจุบันพบราว 10,000 ชนิด (Crous, 2009) ที่มีสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันไป โดยบางจำพวกมีความคล้ายคลึงจนถึงค่อนข้างซับซ้อน (Groenwald *et al.*, 2005, 2006) โดยเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ที่พบว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชส่วนใหญ่มักพบในระยะ anamorph มากกว่า teleomorph ซึ่งพบไม่บ่อยนักหรืออาจไม่พบเลย จึงมีการจำแนกแบ่งตามลักษณะ fruiting bodies ทั้งที่จัดอยู่ใน class Hyphomycetes, Coelomycetes และ Ascomycetes ตามลักษณะการเกิดของ conidia และ ascospores ทำให้ไม่มีความชัดเจนด้านความสัมพันธ์ระหว่างระยะ anamorph และ teleomorph ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด รวมถึงความเข้าใจถึงวิวัฒนาการของเชื้อรานี้ด้วย

การศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้เทคนิคทางด้านโมเลกุลเพื่อหาความสัมพันธ์ของเชื้อราสาเหตุต่างๆ ที่ทำให้เกิดความผิดปกติกับพืช พบว่าเชื้อราสาเหตุอีกหลายจำพวกมีความสัมพันธ์กันกับเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae (Crous *et al.*, 2006, 2007; Breyyen *et al.*, 2006) และจากการเปรียบเทียบ

ความสัมพันธ์ของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* จาก GenBank และจีโนมของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (plant pathogenic anamorphic genera) ชนิดอื่นๆ ทำให้ทราบว่าเชื้อราในระยะ anamorphs อีกหลายจีโนมที่มีความสัมพันธ์กับเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* (ในบางจีโนมอาจมีความสัมพันธ์ในช่วงที่เป็น anamorphs ของเชื้อราจีโนม *Mycosphaerella*) เช่น เชื้อราจีโนม *Cercospora* และ *Pseudocercospora* เป็นต้น (Hunter *et al.*, 2006; Crous *et al.*, 2006, 2007a, b; Cheewangkoon *et al.*, 2008)

จากความสัมพันธ์ดังกล่าวได้นำไปสู่ความสำคัญต่อการกักกันพืช เพื่อการป้องกันและหลีกเลี่ยงการพัฒนาสายพันธุ์ของเชื้อราในบางสปีชีส์ในพื้นที่อื่นๆ ที่ไม่ใช่พื้นที่แหล่งกำเนิดดั้งเดิมจะช่วยให้สามารถวางแผนการแก้ไขปัญหาการระบาดในอนาคตได้

การแพร่ระบาดของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae*

เชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* พบว่ามีการระบาดมากมายแทบทุกพื้นที่ และถึงแม้ว่าพื้นที่นั้นๆ จะมีลักษณะภูมิประเทศที่แตกต่างกันก็ตามเช่น อัฟริกาใต้ สเปน นิวซีแลนด์ ออสเตรเลีย ไทย จีน เวียดนาม และแถบตอนเหนือ-ใต้ของอเมริกา นอกจากนี้แล้วพืชอาศัยของเชื้อราโรคพืชในกลุ่มจีโนมเหล่านี้ยังมีจำนวนมากอีกด้วย และจากรายงานต่างๆ ทำให้ทราบว่าเชื้อราในกลุ่มนี้สามารถทำให้เกิดโรคได้ทั้งพืชเศรษฐกิจ ไม้ยืนต้น ไม้ดอก ไม้ผล รวมไปถึงวัชพืชด้วย เช่น ยูคาลิปตัส กล้าย ส้ม ธัญพืช ชนิดต่างๆ ดอกแก้ว โพธิ์เถย พืชตระกูลหญ้า และพืชอื่นๆ อีกมากมาย (Crous *et al.*, 2007c, Arzanbu *et al.*, 2008; Crous *et al.*, 2004a, b; Burgess *et al.*, 2007)

การแพร่ระบาดในประเทศไทย

Meeboon (2006) รายงานผลการศึกษาเชื้อรา *Cercospora* ว่าเป็นเชื้อราจีโนมในช่วงการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเกี่ยวข้องกับเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ที่พบในภาคเหนือของประเทศไทย โดยค้นพบเชื้อราในกลุ่มนี้กว่า 6 จีโนมที่ก่อให้เกิดโรคกับพืชอาศัยที่หลากหลาย ได้แก่ *Cercospora*, *Pseudocercospora*, *Phaeoramularia*, *Cercosporella*, *Passalora* และ *Pheoisariopsis* และต่อมาในปี 2009 ยังได้ทำการเก็บรวบรวมเชื้อราจากพืชอาศัยชนิดต่างๆ และทำการจำแนกกลุ่มเชื้อรา cercosporoid ได้เป็น 3 กลุ่มจีโนมหลักคือ *Cercospora*, *Pseudocercospora* และ *passalora* ที่เข้าทำลายพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจกว่า 34 ชนิด และเป็นสาเหตุโรคของพืชชนิดที่พบใหม่อีกมากมาย นอกจากนี้ Cheewangkoon (2010) ได้รายงานถึงการค้นพบเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคพืชในประเทศไทย โดยพบว่าเป็นเชื้อราชนิดใหม่ถึง 4 ชนิด และอีก 1 ชนิดเป็นเชื้อราที่ค้นพบครั้งแรกของประเทศไทย นอกจากนี้ยังมีการรายงานอื่นๆ ที่

กล่าวถึงเชื้อรากลุ่ม cercosporoid ที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับโรคใบจุดและใบไหม้ของพืชอีกมากมาย จากภาคเหนือของประเทศไทยและลาว (To-Anun *et al.*, 2011; Phengsintham *et al.*, 2013)

ความสัมพันธ์ทางนิเวศวิทยาของเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae กับพืชอาศัย

เชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่มีความจำเพาะเจาะจงกับพืชอาศัย (Chupp, 1954; Corlett, 1991; Braun, 1995) แต่ถึงกระนั้นบางสายพันธุ์ เช่น เชื้อรา *Mycosphaerella punctiformis* ก็ยังพบว่าทำให้เกิดโรคได้กับพืชอาศัยชนิดอื่นๆ ที่ไม่มีความจำเพาะเจาะจงได้เช่นกัน (Verkley *et al.*, 2004) และจากการที่บางสายพันธุ์ของจีนัส *Mycosphaerella* สามารถทำให้เกิดโรคกับพืชอาศัยชนิดอื่นๆ (non-specific host) อาจเกิดจากปัจจัยภายในของตัวเชื้อราเอง (Crous, 1998; Verkley *et al.*, 2004) หรืออาจเกิดจากปัจจัยที่เชื้อราสาเหตุอื่นๆ ต้องเผชิญกับพืชอาศัยชนิดใหม่ๆ ที่ถูกนำเข้ามาในพื้นที่ทำให้เชื้อราต้องมีการปรับตัวให้สามารถเข้าทำลายจนทำให้เกิดโรคกับพืชเหล่านั้นได้ (Crous *et al.*, 2004b; Crous & Groenewold, 2005)

Crous และคณะ (2008a) รายงานว่าเชื้อราที่มีความจำเพาะเจาะจงกับพืชอาศัยส่วนใหญ่ทำให้เกิดโรคโดยสร้างความเสียหายกับเนื้อเยื่อของพืชที่ยังมีชีวิต (host-specific necrotrophic pathogenic) ในทางกลับกันยังคงพบพฤติกรรมการเป็นผู้ทำลายเนื้อเยื่อพืชให้ตายก่อนการใช้เป็นอาหาร (saprobic behavior) โดยลักษณะดังกล่าวนี้สรุปได้ว่าเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae อาจเป็นได้ทั้ง necrotroph หรือ saprobe ซึ่งยังไม่มีคำตอบชัดเจน ดังจะเห็นได้จากรายงานที่กล่าวว่าบางสายพันธุ์ในกลุ่มเชื้อรานี้มีความสามารถในการเจริญและมีชีวิตอยู่บนเนื้อเยื่อพืชที่ตายแล้วได้ นอกจากนั้นแล้วในเชื้อราหลายๆ สายพันธุ์ในวงศ์นี้ยังสามารถเจริญและมีการสร้างโคโลนีร่วมกันในบาดแผลของพืชอาศัยได้ด้วย (Crous *et al.*, 2009e) การปรากฏเป็นโคโลนีร่วมกันจึงมีความสำคัญในการคัดแยกเชื้อรา (isolation) เพราะอาจเกิดความสับสนคราดเคลื่อนที่อาจเกิดกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แท้จริงสู่การระบุถึงสายพันธุ์ของเชื้อรา การเก็บรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องทั้งหมดอย่างสมบูรณ์ที่สุดจึงถือว่ามีค่าสำคัญ เพื่อที่จะสามารถนำกลับมาศึกษาความสัมพันธ์กับตัวอย่างพืชที่เกิดโรคข้างต้นได้ต่อไป (Crous, 2009)

สำหรับเชื้อราที่อยู่ในวงศ์ Mycosphaerellaceae หลายสายพันธุ์ที่มีพืชอาศัยกว้าง (wide host ranges) ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าไม่สามารถจัดจำแนกได้อย่างชัดเจน เช่นในกรณีของเชื้อรา *Cercospora apii* (Groenewald *et al.*, 2005) แต่ถึงกระนั้นโดยทั่วไปเชื้อราในจีนัส *Cercospora* ส่วนใหญ่ก็ยังถือว่ามีค่าจำเพาะเจาะจงกับพืชอาศัยอยู่ (highly host-specific) ซึ่งไม่

สามารถพบได้ว่าทำให้เกิดโรคกับพืชที่หลากหลายเนื่องจากต้องการสภาพทางนิเวศวิทยาของพืชอาศัยที่มีความเฉพาะเจาะจง (Groenewald *et al.*, 2006a)

สำหรับความสัมพันธ์ของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ค่อนข้างมีความหลากหลายทั้งที่มีความสัมพันธ์กับพืชแบบมีความจำเพาะเจาะจง (host-specific) (Goodwin *et al.*, 2001; Crous and Groenewald, 2005; Groenewald *et al.*, 2001; Stukenbrock *et al.*, 2007) โดยตัวอย่างเช่น *Mycosphaerella fijiensis*, *M. musicola* และ *M. eumusae* ที่พบเป็นสาเหตุของโรคในกล้วยกับ *M. graminicola* ที่พบเป็นสาเหตุโรคในข้าวสาลี เป็นต้น นอกจากนั้นแล้วยังพบว่าจีนัสนี้อีกหลายสปีชีส์ยังสามารถทำให้เกิดโรคได้กับพืชมากกว่าหนึ่งชนิด เช่น *M. communis* ที่มีความสามารถทำให้เกิดโรคได้ในยูคาลิปตัส กล้วย และกลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ส่วน *M. citri* พบว่าสามารถเข้าทำลายกล้วย ยูคาลิปตัส และส้ม เป็นต้น ดังนั้นการจัดการเพื่อให้ประสบผลสำเร็จในการควบคุมการแพร่ระบาดของโรคพืชนั้นควรมีความเข้าใจในลักษณะของยีนของเชื้อราที่มีความหลากหลาย รวมถึงการระบาดของเชื้อราสาเหตุที่แท้จริงด้วย เนื่องจากเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันซึ่งไม่สำคัญว่าจะจะเป็นเชื้อราสาเหตุที่มีพืชอาศัยชนิดเดียวหรือมากกว่าหนึ่งชนิด หรือจะมีความสามารถทำให้เกิดโรคร่วมกันกับเชื้อราอื่นๆ ในผลเดียวกันบนใบพืชได้หรือไม่ก็ตาม ความพยายามจัดจำแนกและเลือกวิธีการที่นำไปสู่ความสำเร็จในการจัดการปัญหาที่พบจึงเกิดขึ้น นั่นคือการใช้เทคนิคทางด้านชีวโมเลกุลเพื่อการวิเคราะห์ ระบุ และตรวจสอบ เพื่อการป้องกันเชื้อราสาเหตุโรคพืชในกลุ่มจีนัสดังกล่าวก่อนการระบาดจนสร้างความเสียหายเป็นต้น (Crous, 2009)

ลักษณะอาการของโรคพืชจากเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* (Symptomatology) (Crous, 2009)

ลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุดังกล่าว ส่วนใหญ่จะพบบริเวณใบของพืชอาศัยและอาการที่เกิดขึ้นจะมีความแตกต่างกันไป โดยพบว่าผลจากการเข้าทำลายจะมีลักษณะที่แตก ต่างกัน เช่น กลม เหลี่ยม และรูปร่างไม่แน่นอน ขนาดของแผลมีตั้งแต่ขนาดเล็กๆ จนถึงใหญ่ ซึ่งอาจเกิดจากการเชื่อมต่อกันของแผลจนถึงอาการแห้งตายที่ใบอีกด้วย (Sivanesan *et al.*, 2001) นอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณขอบรอยแผลอาจจะมีลักษณะนูนและมีสีที่เข้มขึ้น สีของใบพืชที่ถูกทำลายเปลี่ยนไปจากเดิมโดยเปลี่ยนจากสีเขียวไปจนถึงสีแดงหรือสีม่วง และยังพบว่าเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* หลายชนิดสามารถเข้าทำลายพืชในช่วงการเจริญของใบพืชที่ต่างช่วงอายุกัน รวมถึงการเข้าทำลายส่วนต่างๆ ของพืชอาศัยด้วย เช่น ผล และลำต้น (Taylor *et al.*, 1999) และจากลักษณะอาการที่มีความแตกต่าง

กันมากนี้เองทำให้เชื่อว่าจีนัสของเชื้อราโรคพืชในกลุ่มนี้ จะต้องมีความหลากหลายอย่างแน่นอนจึงสามารถทำให้เกิดอาการผิดปกติที่แตกต่างกันได้มากเช่นนี้

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae

เชื้อรา *Mycosphaerella* (teleomorphs)

Ascomata เป็นส่วนของ fruiting bodies ที่เป็นแบบ perithecium มีขนาดแตกต่างกันไปในแต่ละสปีชีส์ภายในบรรจุ ascospores ที่มีขนาดเล็กไปจนถึงใหญ่แล้วแต่สปีชีส์ โครงสร้างของ ascomata พบว่าสามารถเกิดได้ทั้งด้านบนและด้านล่างของใบพืช (upper and lower leaf surface) ทั้งที่อยู่รวมกันอย่างหนาแน่นหรือกระจายอยู่อย่างเบาบางก็ได้ ขนาดของ ascomata มีตั้งแต่เล็กไปจนถึงใหญ่และยังพบว่าบางสปีชีส์มีผนังของ ascomata ที่หนากว่าสปีชีส์อื่นๆ ถือเป็นลักษณะเฉพาะสปีชีส์ที่ประกอบ ด้วยชั้นของเนื้อเยื่อ 3-4 ชั้น

Periphyses เป็นอวัยวะส่วนของคอ (ostiole neck) ของ ascomata แบบ perithecium ที่ใช้ในการปลดปล่อย ascospores ซึ่งมีลักษณะเป็นขนอ่อนเรียงอยู่ภายในช่องคอ (lining ostiole canals) ซึ่งจะมีลักษณะของความหลากหลายขึ้นอยู่กับสปีชีส์

Asci มีลักษณะเป็นแบบ paraphysate bitunicate และ sessile อาจมีการฟอร์มตัวรวมกันเป็นกระจุก (fascicle) มีรูปร่างตั้งแต่เป็นรูปไข่หัวกลับที่แผ่ออกเป็นรูปทรงรี (obovoid to narrowly- broadly ellipsoidal) หรือทรงรีแคบถึงทรงกระบอก (narrowly ellipsoidal-cylindrical)

Ascospores ลักษณะเป็นรูปทรงวงรีแคบเข้าตรงบริเวณส่วนปลายของ ascospores ทั้งสองด้าน หรือรูปทรงไข่หัวกลับ ลักษณะใสไม่มีสี (hyaline) หรือสีเขียวมะกอกอ่อนในบางสปีชีส์ พบทั้งตรงโคนงอ หรือทั้งสองอย่าง อาจพบลักษณะที่เรียกว่าหยดน้ำมัน (guttulate) หรือไม่มี (non-guttulate) ผนังของ ascospores พบทั้งที่บางถึงหนา และส่วนใหญ่พบว่าผนังกัน 1-septate ตรงกลางโดยผนังกัน อาจเว้าเข้าเล็กน้อยหรือไม่เลยก็ได้ (ในบางสปีชีส์เซลล์ด้านล่างมีลักษณะยาวกว่าด้านปลาย ส่วนของ septate อยู่ค่อนไปใกล้กับทางด้านปลายเซลล์) และ ascospores มีลักษณะเรียวยาวเข้าจากส่วนกลางไปหาส่วนด้านปลายทั้งสองด้าน หรือนูนกว้างจากส่วนปลายหรือกึ่งกลางของเซลล์ส่วนปลาย

ลักษณะการงอกของ ascospores (ascospore germination) รูปแบบการงอกของ ascospore มีความสำคัญเพราะสามารถช่วยในการระบุเพื่อการจำแนกสปีชีส์ของเชื้อราในกลุ่มนี้ได้ โดยการใช้เทคนิค shooting spores isolation และหลังจากนั้น 24 ชั่วโมง จึงทำการตรวจสอบลักษณะการงอกของ ascospores โดยควรมีการสังเกตอย่างละเอียดเนื่องจากในบางสปีชีส์มีการงอกของ

ascospores ที่รวดเร็ว หากปล่อยไว้นานเกินไปลักษณะการงอกอาจมีการบิดเบี้ยวผิดปกติได้ การงอกส่วนมากจะพบว่าการงอกเป็นแบบแตกแขนงออกทางด้านข้างของ ascospores การเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อราก็มีความสำคัญเช่นกัน เพราะอาหารเลี้ยงเชื้อราแต่ละชนิดย่อมทำให้ลักษณะการเจริญของเชื้อรามีความแตกต่างกันไป (Crous, 2009)

การเจริญของ colony โดยเชื้อราในกลุ่มนี้จะมี colony ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา โดยทั่วไปพบว่าสร้าง colony ที่มีตั้งแต่สี่เหลี่ยมถึงสี่เหลี่ยมผืนผ้า อาจพบในบางสปีชีส์ที่สร้าง colony สีขาวถึงน้ำตาลหรือแดง และอาจมีการสร้าง pigments กระจายไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ อีกมากมายที่มีผลต่อการเจริญ เช่น อุณหภูมิที่เชื้อราต้องการและอัตราการเจริญของเชื้อราแต่ละสปีชีส์ Groenewald และคณะ (2005) ได้อธิบายว่าลักษณะการเจริญของเส้นใย และสัณฐานวิทยาของ colony ประกอบด้วยลักษณะของขอบ (margins) สี ลักษณะเส้นใยที่แผ่ออกมาหรือสูงขึ้นด้านปลายแล้วปริออก รวมทั้งลักษณะการเกิดของ chlamydospores ที่เกิดขึ้น และผิวหน้าของ colony ซึ่งลักษณะต่างๆ อาจเปลี่ยนแปลงตามชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อราได้เช่นกัน (Crous, 1998)

เชื้อราจีนัสที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorphs genera)

เชื้อราจีนัสที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorphs genera) ที่อยู่ในวงศ์ Mycosphaerellaceae นั้นพบว่ามีกว่า 30 จีนัส (Crous, 2009) ทั้งที่จัดอยู่ใน class Hyphomycetes และ Coelomycetes นอกจากนั้นจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางโมเลกุลของเชื้อราในกลุ่มเหล่านี้ทำให้เกิดการลดลงของคำพ้องความหมายที่ใช้เรียกเชื้อราดังกล่าวที่พบว่ามีลักษณะใกล้เคียงกัน และมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน เช่น *Paracercospora* กับ *Pseudocercospora* (Stewart et al., 1999) *Cercostigmina*, *Stigmina*, *Phaeoisariopsis* และ *Pseudocercospora* (Crous et al., 2004b, 2006b; Braun and Crous, 2006) และยังมีเชื้อราจีนัสอื่นๆ อีกมากมายดังนี้ *Batcheloromyces*, *Cercospora*, *Cercospora*, *Dothistroma*, *Lecanosticta*, *Miuraea*, *Passalora*, *Periconiella*, *Phaeophleospora*, *Phloeospora*, *Pseudocercospora*, *Pseudocercospora*, *Ramichloridium*, *Ramularia*, *Septoria*, *Sonderhenia*, *Trochophora*, *Verrucisporota* และ *Zasmidium* (Crous, 2009)

พบว่าเชื้อราจีนัสที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศที่เป็นสมาชิกของเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ส่วนมากเป็นพวกที่อยู่ใน class hyphomycetes ที่จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อรา cercosporoid (รูปที่ 2.3) (Braun, 1995, 1998; Crous and Braun, 2003) โดยได้มีการแบ่งลักษณะ

ของเชื้อราในกลุ่มจีสเหล่านี้ เช่น ลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ ที่พบค่อนข้างหลากหลายรวมถึงระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศที่ของเชื้อราในกลุ่มนี้นั่นเอง โดยมีรายงานจาก Deighton (1973, 1976, 1979, 1990) และ Braun (1995, 1998) ที่ได้แบ่งกลุ่มเชื้อรา cercosporoid ให้แคบลงโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นหลัก เพื่อจำแนกเชื้อราในกลุ่มนี้ได้แก่

- conidiomatal (fasciculate, sporodochia, synnemata)
- mycelium (presence หรือ absence) ที่เกิดบนผิวพืชที่เชื้อราเข้าทำลาย
- conidiophores (arrangement, branching, pigmentation และ ornamentation)
- conidiogenous cells (placement, proliferation และ scar type)
- conidia (formation, shape, septation, ornamentation, pigmentation และ catenulation หรือแม้แต่โครงสร้างที่มีลักษณะแบบ hyphomycetes และ coelomycetes

ลักษณะทางสัณฐานวิทยามากมายที่กล่าวมา แม้ว่าจะมีความแตกต่างกัน แต่พบว่าจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้านพันธุกรรมเพื่อหาความเกี่ยวข้องของกลุ่มเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศในจีสต่างๆ กลับพบว่าเป็นเชื้อราที่อยู่ในวงศ์ Mycosphaerellaceae นั่นเอง (Crous *et al.*, 2000; Crous *et al.*, 2007a; Arzanlou *et al.*, 2007b) และยังมีรายงานถึงจีสเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศบางชนิดอีกว่าในจีสหนึ่งๆ นั้นสามารถปรากฏอยู่ในกลุ่มเชื้อราวงศ์อื่นได้ เช่น Schizothyriaceae (Batzer *et al.*, 2008) และ Davidiellaceae เป็นต้น (Crous *et al.*, 2007b; Schubert *et al.*, 2007 a, b)

จากการศึกษาถึงสัณฐานวิทยาของจีสเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยดังกล่าวจึงจะเห็นว่าแม้เชื้อราเหล่านี้มีความหลากหลายทางโครงสร้างและมีความแตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์หรือจีสก็ยังคงพบความสัมพันธ์กับเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae โดยในประเทศไทยมีการศึกษาและรายงานผลการศึกษาเชื้อราในกลุ่ม cercosporoid มากมาย โดยเชื้อราส่วนใหญ่ที่พบในประเทศไทยได้แก่เชื้อราจีส *Cercospora*, *Pseudocercospora* และ *Passalora* ตามลำดับ (Meeboon, 2006, 2009; Nakashima *et al.*, 2007; To-Anun *et al.*, 2011; Phengsintham *et al.*, 2013) โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราทั้ง 3 จีสมีดังนี้

เชื้อราจีส *Cercospora* spp.

Stromata พบทั้งแบบไม่สมบูรณ์และสมบูรณ์ขนาดเล็กไปจนถึงใหญ่ **Conidiophores** เกิดขึ้นแบบเดี่ยว (solitary) หรือรวมกันเป็นกระจุก (fasciculate) โดยเกิดผ่านทางปากใบ (stomata) และเซลล์ผิวใบ (cuticle) มีลักษณะตรงถึงโค้ง (straight-curved) หักงอถึงคดงอ (geniculate) ไม่พบ

การแตกแขนง (unbranched) สร้าง pigment และมีผนังกันเซลล์ (septate) *Conidiogenous cells* เป็นแบบ terminal sympodial และ holoblastic *Conidiogenous loci/conidial scars*หนา (thickened) และดำ (darkened) ชัดเจน *Conidia* เกิดแบบเดี่ยว (solitary) ลักษณะตรงถึงโค้งงอ (straight-curved) รูปร่างแบบปลายแหลม (acicular) ทรงกระบอกถึงแคบลงตรงปลายทั้งสองด้าน (cylindrical-fusiform) และทรงรูปไข่หัวกลับค่อนข้างแคบ (narrowly-obclavate) เกือบใสไม่มีสีถึงใสไม่มีสี (subhyaline-hyaline) มีผนังกันเซลล์ (septate) *Hila* หนา (thickened) และดำ (darkened) ชัดเจน

เชื้อราจีนัส *Pseudocercospora* spp.

Stromata พบทั้งแบบไม่สมบูรณ์และสมบูรณ์ขนาดเล็กไปจนถึงใหญ่ *Conidiophores* เกิดขึ้นแบบเดี่ยว (solitary) หรือรวมกันเป็นกระจุกที่หลวมถึงแน่น (loose-densely fascicles) โดยเกิดผ่านทางปากใบ (stomata) และเซลล์ผิวใบ (cuticle) หรือบางครั้งเกิดจาก superficial hyphae มีลักษณะตรงถึงโค้ง (straight-curved) หักงอถึงคดเงี้ยว (geniculate-sinuous) มีทั้งแตกแขนงและไม่แตกแขนง (branched-unbranched) สร้าง pigment และมีผนังกันเซลล์ (septate) *Conidiogenous cells* เป็นแบบ terminal sympodial และ holoblastic *Conidiogenous loci/conidial scars* ไม่ชัดเจน *Conidia* เกิดแบบเดี่ยว (solitary) ลักษณะตรงถึงโค้งงอ (straight-curved) รูปร่างแบบทรงกระบอกถึงทรงรูปไข่หัวกลับ (cylindrical-obclavate) ทรงกระบอกที่แคบลงตรงปลายทั้งสองด้าน (fusiform) ทรงปลายแหลมถึงเรียวยาว (acicular-filiform) เกือบใสไม่มีสี (subhyaline) ถึงสร้างสี pigment มีผนังกัน (septate) ผิวเรียบถึงขรุขระ (smooth-verruculose) *Hila* ไม่ชัดเจน (inconspicuous)

เชื้อราจีนัส *Passalora* spp.

Stromata พบทั้งแบบไม่สมบูรณ์และสมบูรณ์ขนาดเล็กไปจนถึงใหญ่ *Conidiophores* เป็นแบบ fasciculate รวมกันเป็นกระจุกที่หลวมถึงแน่น (loose-densely fascicles) โดยเกิดผ่านทางปากใบ (stomata) และเซลล์ผิวใบ (cuticle) มีลักษณะตรงถึงโค้ง (straight-curved) หักงอถึงคดเงี้ยว (geniculate-sinuous) ไม่พบการแตกแขนง (unbranched) เกือบใสไม่มีสี (subhyaline) ถึงสร้างสี pigment และมีผนังกันเซลล์ (septate) *Conidiogenous cells* เป็นแบบ terminal sympodial และ holoblastic *Conidiogenous loci/conidial scars* หนา (thickened) และดำ (darkened) ชัดเจน *Conidia* เกิดแบบเดี่ยว (solitary) หรืออาจต่อกันเป็นเส้นสาย (chains) ลักษณะตรงถึงโค้งงอ

(straight-curved) รูปร่างแบบ (ellipsoid-ovoid) ทรงรูปไข่หัวกลับ (obclavate) ทรงกระบอก (cylindrical) ทรงกระบอกที่แคบลงตรงปลายทั้งสองด้าน (fusiform) เกือบใสไม่มีสี (subhyaline) ถึงสร้างสี pigment มีผนังกัน (septate) *Hila*หนา (thickened) และดำ (darkened)

การศึกษาทางด้านชีวโมเลกุลของเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae

การศึกษาและเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศชนิดต่างๆ จาก GenBank โดยใช้เทคนิคทางด้านโมเลกุลในการวิเคราะห์ การทำ rDNA sequence เช่นในตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS), large subunit (LSU), elongation factor 1-alpha gene (EF-1 α) และ actin gene (ACT) เป็นต้น (Hunter *et al.*, 2006) พบว่าเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ หลายจีโนมมีลำดับของเบสอยู่ในกลุ่มเดียวกัน กับเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae เมื่อมีการจัดจำแนกทาง Phylogeny ได้แก่ เชื้อราจีโนม *Pseudocercospora* (Hunter *et al.*, 2006), *Ramularia*, *Septoria*, *Phaeotheca*, *Phleospora*, *Phaeophleospora*, *Ramulispora*, *Cercospora*, *Passalora*, *Mycocentrospora* และ *Stennella* (Stewart *et al.*, 1999; Verkley *et al.*, 2004; Crous *et al.*, 2006; Breeyer *et al.*, 2006; Crous *et al.*, 2007a, b; Cheewangkoon *et al.*, 2008) จากข้อมูลดังกล่าวช่วยยืนยันว่าจีโนมเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorphic genera) อีกมากมาย มีความสัมพันธ์กับเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae นั้นเอง แต่การใช้การวิเคราะห์ทางด้านโมเลกุลเพียงอย่างเดียวก็ไม่สามารถบ่งบอกลำดับทางวิวัฒนาการและการพัฒนาของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราได้ การศึกษาเทคนิคทั้งสองอย่างรวมกันจึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ เช่นการศึกษาของ Cheewangkoon และคณะ (2008) ได้รายงานการศึกษาเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ที่พบบนใบยูคาลิปตัสในประเทศไทย พบว่าการใช้การจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอต่อการระบุชนิดของเชื้อราจีโนมนี้ การใช้เทคนิคทางด้านโมเลกุลรวมด้วยย่อมมีส่วนสำคัญในการจำแนกทางด้านอนุกรมวิธานของกลุ่มเชื้อรา โดยจากการใช้เทคนิคดังกล่าวร่วมด้วยการศึกษาลักษณะทางนิเวศวิทยาของเชื้อรากับพืชอาศัย ทำให้ค้นพบเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานว่าค้นพบมาก่อน ที่มีความสัมพันธ์กับเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ได้ในที่สุด

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างพืช

ทำการเก็บตัวอย่างใบพืชชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการใบจุดและใบไหม้จากเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากพื้นที่ต่างๆ ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย

สำหรับการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ในจีนัส *Mycosphaerella* (teleomorph genera) นั้น ใช้เทคนิค Shooting Spores Isolation โดยทำการคัดเลือกแผลที่แสดงอาการผิดปกติข้างต้น แล้วนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และทำสไลด์เพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อราในจีนัส *Mycosphaerella* จากนั้นทำการตัดชิ้นส่วนของแผลขนาดประมาณ 1×1 cm แล้ววางลงในจานเลี้ยงเชื้อที่ภายในบรรจุน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยกดให้ชิ้นส่วนใบจมอยู่ในน้ำ และทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นใช้เข็มคีบชิ้นส่วนของใบพืชมาวางติดที่ส่วนของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA (potato-dextrose agar) ทำการคว่ำให้ผาของจานอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ด้านล่าง (Verkley *et al.*, 2004) ทิ้งไว้ประมาณ 12–24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการตรวจสอบ โดย ascoapores ของเชื้อราจะถูกพ่นออกมาจาก perithecium ติดกับผิวหน้าอาหาร PDA ที่อยู่ด้านบน จากนั้นทำการแยกสปอร์เดี่ยวและนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA (Crous, 2009) เมื่อโคลนเจริญทำการเก็บเชื้อราสาเหตุดังกล่าวใส่หลอดเก็บเชื้อเพื่อใช้ในการทำ rDNA Sequence เปรียบเทียบกับเชื้อราจาก GenBank เพื่อหาความสัมพันธ์กับเชื้อราชนิดอื่นๆ ในฐานข้อมูล

สำหรับการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ในจีนัสที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorphic genera) ใช้เทคนิค Single Spore Isolation โดยทำการหยดน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA 1–2 หยด จากนั้นใช้เข็มเขี่ยยาสเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (conidia) ของเชื้อราที่อยู่บริเวณผิวพืชมาวางลงบนหยดน้ำกลั่นทำการ spread plate โดยใช้แท่งแก้วรูปตัวแอล และตรวจสอบการงอกของ conidia หลังจากนั้นประมาณ 12–24 ชั่วโมง ทำการแยกสปอร์เดี่ยวและเก็บ cultures เพื่อใช้ในการทำ rDNA Sequence เปรียบเทียบกับ GenBank เพื่อหาความสัมพันธ์เช่นเดียวกัน (Hunter *et al.*, 2006)

3.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology of fungal)

การเก็บตัวอย่างใบพืชที่แสดงอาการใบจุดและใบไหม้จากเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* โดยถ่ายรูปลักษณะอาการที่ปรากฏบนใบพืชไว้อย่างชัดเจน และทำการเก็บไว้เป็นตัวอย่างแห้ง (herbarium) เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเพื่อศึกษาต่อไป จากนั้นทำการเก็บสไลด์โครงสร้างของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* โดย mount เก็บไว้ในกรดแลคติก ทำการศึกษาและวัดขนาดโครงสร้างต่างๆ โดยการส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า รวมทั้งศึกษาลักษณะการเจริญของโคโลนีของเชื้อราบนอาหาร PDA (potato-dextrose agar) โดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ได้แก่ ascomata, periphyses, asci และ ascospores ส่วนเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ได้แก่ conidiomatal, conidia, conidiogenous cells และ conidiophores เป็นต้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการจำแนกเพื่อศึกษาว่าเชื้อราที่พบบนใบพืชที่แสดงอาการใบจุดและใบไหม้นั้นเป็นเชื้อราที่อยู่ในกลุ่มจีสและสปีชีส์ใดในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* (Crous *et al.*, 2006, 2007, 2011)

3.3 การศึกษาระดับโมเลกุล

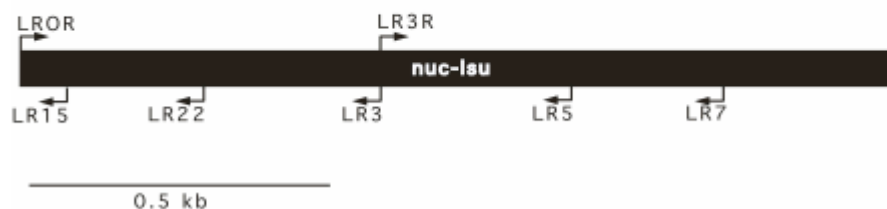
ศึกษาความสัมพันธ์ โดยใช้เทคนิคด้านโมเลกุลในการตรวจสอบความสัมพันธ์ของเชื้อราที่เก็บรวบรวมมาได้ ทำการหาลำดับของยีนในดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง LSU (large subunit) และ ITS (internal transcribed spacer) เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบและแบ่งกลุ่มเชื้อราจากส่วนลำดับของยีนที่คล้ายคลึงกัน (Crous *et al.*, 2006) เพื่อช่วยในการจำแนกกลุ่มสปีชีส์เชื้อรา

ทำการสกัด DNA ด้วยวิธี CTAB method โดยนำเส้นใยของเชื้อราที่บดจนได้เป็นผงละเอียด น้ำหนักประมาณ 50–100 mg ใส่ในหลอด microtube ขนาด 1.5 ml แล้วเติม CTAB lysis buffer ปริมาตร 500 μ l จากนั้นนำไปปั่นด้วย vortex mixer ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปสารผสมที่ได้ไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นถ่ายส่วนที่ใส (supernatant) ใส่หลอดใหม่ แล้วเติมสารผสม phenol: chloroform: isoamyl alcohol (25:24:1) ในปริมาตรเท่ากัน เหยียงหลอดไปมาเพื่อให้สารผสมเข้ากัน นำไปหมุนเหวี่ยงแบบเดิม หลังจากนั้นทำซ้ำขั้นตอนนี้อีกครั้ง หรือจนกว่าสารจะใส นำส่วนใสใส่หลอดใหม่แล้วเติม 7.5 M ammonium acetate ครึ่งปริมาตรของส่วนใสและเติม absolute ethanol ที่แช่เย็นปริมาตร 650 μ l นำไปแช่ที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 30 นาที หรือจนกว่าจะพบว่ามีการตกตะกอนของ DNA หลังจากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที

ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที แล้วเทส่วนที่ใสทิ้งไป ล้าง DNA ที่ได้ 2 ครั้งด้วย 75% ethanol ที่แช่เย็น ปริมาตร 500 ml ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลาย DNA ที่ได้ด้วย 50 µl TE buffer หรือน้ำ nanopure ไร้เชื้อ เก็บ DNA ที่สกัดได้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อรอใช้ในการศึกษาต่อไป

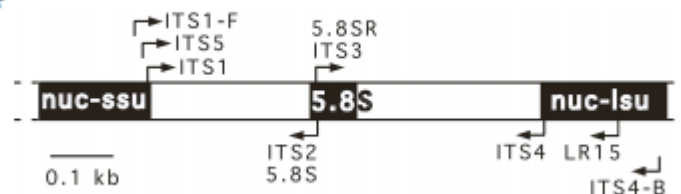
สำหรับการเพิ่มปริมาณส่วนของ LSU และ ITS ของยีน rRNA โดยปฏิกิริยา PCR ทำการเพิ่มปริมาณส่วน LSU โดยใช้ primer คือ LROR (5' ACC CGC TGA ACT TAA GC 3') และ LR5 (5' TCC TGA GGG AAA CTT CG 3') (Vilgalys & Hester, 1990) (รูปที่ 3.1) และส่วน ITS1–5.8S–ITS2 (ITS) โดยใช้ universal fungal primer คือ ITS5 (5' GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G 3') และ ITS4 (5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3') (White *et al.*, 1990) (รูปที่ 3.2)

nuc-lsu primer map



ภาพที่ 3.1 ส่วน LSU และตำแหน่งจับของ primers (conserved region) ที่อยู่ในยีน ribosomal RNA ของเชื้อรา

ITS primer map



ภาพที่ 3.2 ส่วน ITS และตำแหน่งจับของ primers (conserved region) ที่อยู่ในยีน ribosomal RNA ของเชื้อรา

การเตรียมส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR (PCR mixture) ชุดปฏิกิริยาของ PCR (ปริมาตรรวม 12.5 μ l) มีรายละเอียดของส่วนผสมดังต่อไปนี้

DNA template	ความเข้มข้น	10–20 ng
PCR buffer	ความเข้มข้น	1x
MgCl ₂	ความเข้มข้น	2 mM
Forward primer	ความเข้มข้น	0.4 μ M
Reverse primer	ความเข้มข้น	0.4 μ M
dNTPs mix	ความเข้มข้น	25 μ M ของเบสแต่ละตัว
Taq DNA Polymerase	ความเข้มข้น	1.0 U

เมื่อทำการผสมส่วนผสมต่าง ๆ แล้ว นำไปทำปฏิกิริยาภายในเครื่อง PCR โดยทำการกำหนดอุณหภูมิและเวลาของแต่ละขั้นตอนการทำ PCR (Polymerase Chain Reaction) ดังนี้

Initial denaturation	96 °C	2 นาที	} ทำซ้ำ 40 รอบ
Denaturation	96 °C	45 วินาที	
Primer annealing	49 °C	30 วินาที	
Primer extension	72 °C	90 วินาที	
Final extension	72 °C	2 นาที	

เมื่อทำปฏิกิริยา PCR เสร็จ ผลที่ได้จะถูกนำไปวิเคราะห์หาลำดับเบสโดยใช้ Primer ชุดเดิม ร่วมกับชุด Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit v. 3.1 จากนั้นจะได้รูปแบบไฟล์ข้อมูล สำหรับใช้วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ต่อไป

ในการจัดเรียงลำดับเบสเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์นั้น ทำการตรวจสอบลักษณะ และคุณภาพของลำดับเบสในส่วน LSU และ ITS ของตัวอย่างเชื้อราบางไอโซเลทโดยใช้โปรแกรม Mega 6 โดยเลือกคำสั่ง Align > Edit/ Build Alignment จากนั้นจึงทำการเปรียบเทียบลำดับเบสจาก Forward และ reverse primer ให้ตรงกันเพื่อให้ได้ชุดข้อมูลลำดับเบสที่สมบูรณ์ นำลำดับเบส DNA ที่ได้ใส่คำสั่ง BLAST selected sequences จากฐานข้อมูลของ GeneBank ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) เพื่อหาเชื้อราที่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกันมากที่สุด แล้วจึงนำลำดับเบส DNA ของเชื้อราตัวอย่างมาจัดเรียงเปรียบเทียบกับเชื้อราอื่นๆ ที่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกัน โดยเลือกคำสั่ง Phylogeny > Test Neighbor-joining tree เพื่อดูความสัมพันธ์ของเชื้อรา

3.4 สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

ห้องปฏิบัติการเชื้อราของสาขาวิชาโรคพืช ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.5 ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

2 กรกฎาคม พ.ศ.2555 – 30 กรกฎาคม 2563

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างพืช

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการใบจุดและใบไหม้ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และลำปาง พบว่ามีพืชหลายชนิดที่แสดงอาการดังกล่าวที่มีความสัมพันธ์กับเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ทั้งที่เป็นเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ พบว่ามีพืชอาศัยกว่า 43 ตัวอย่าง (32 จินัสใน 21 วงศ์พืช) โดยเชื้อราที่พบภายในแผลที่แสดงอาการของโรคพืชอาจมีความสัมพันธ์และเกี่ยวข้องในด้านการเป็นปรสิตที่ทำให้เกิดโรคในพืชได้ โดยข้อมูลของเชื้อราวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ที่แยกได้จากอาการใบจุดและใบไหม้ของพืชต่างๆ ที่เก็บได้จากในแต่ละพื้นที่ แสดงไว้ดังตารางที่ 4.1 ต่อไปนี้

ตารางที่ 4.1 ไอโซเลทของเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ที่แยกได้จากอาการใบจุดและใบไหม้จากพืชชนิดต่างๆ ที่เก็บได้จากแต่ละพื้นที่

ไอโซเลท	เชื้อรา	ชื่อสามัญ (พืช)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (พืช)	วงศ์พืช	สถานที่เก็บตัวอย่าง	Notes
Y-11	<i>Cladosporium</i> sp.	จันทน์ผา	<i>Dracaena loureiri</i>	Agavaceae	ดอยแม่สลอง อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย	
Y-30	<i>Cercospora beticola</i>	Swisschard	<i>Beta vulgaris</i>	Amaranthaceae	ศูนย์ฯ หนองหอย มูลนิธิโครงการหลวง อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่	
Y-23	<i>Cercospora apii</i>	ขึ้นฉ่าย	<i>Apium graveolens</i>	Apiaceae	อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่	
Y-26	<i>Cercospora lactucae-sativae</i>	สลัด ผักกาดหอม	<i>Lactuca sativa</i>	Asteraceae	ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร มช.	
Y-29	<i>Cercospora lactucae-sativae</i>	สลัด (Butterhead)	<i>Lactuca sativa</i>	Asteraceae	ศูนย์ฯ หนองหอย มูลนิธิโครงการหลวง อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่	
Y-31	<i>Cercospora lactucae-sativae</i>	สลัด (Fricelle Iceberg)	<i>Lactuca sativa</i>	Asteraceae	ศูนย์ฯ หนองหอย มูลนิธิโครงการหลวง อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่	
Y-37	<i>Pseudocercospora eupatorii-formosanae</i>	สาบเสือ	<i>Eupatorium odoratum</i>	Asteraceae	สถานีวิจัยฯ แม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มช.	
Y-39	<i>Passalora assamensis</i>	สาบหมา	<i>Eupatorium adenophorum</i>	Asteraceae	ภูชี้ฟ้า อ. เทิง จ. เชียงราย	

ตารางที่ 4.1 ไอโซเลทของเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ที่แยกได้จากอาการใบจุดและใบไหม้จากพืชชนิดต่างๆ ที่เก็บได้จากแต่ละพื้นที่ (ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อรา	ชื่อสามัญ (พืช)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (พืช)	วงศ์พืช	สถานที่เก็บตัวอย่าง	Notes
Y-27	<i>Cercospora brassicicola</i>	คะน้า	<i>Brassica albroglabra</i>	Brassicaceae	ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร มช.	
Y-33	<i>Cercospora apii</i>	ผักกาดขาว	<i>Brassica pekinensis</i>	Brassicaceae	ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร มช.	new finding host
Y-41	<i>Pseudocercospora</i> sp.	สะแกเถา	<i>Combretum procusum</i>	Combretaceae	อุทยานแห่งชาติแจ้ซ้อน อ. เมืองปาน จ. ลำปาง	new finding species
Y-07	<i>Cercospora ipomoea</i> = <i>Cercospora apii</i>	ผักบุ้งฝรั่ง	<i>Ipomoea</i> sp.	Convolvulaceae	พระตำหนักดอยตุง อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย	
Y-08	<i>Pseudocercospora</i> sp.	ผักบุ้งฝรั่ง	<i>Ipomoea</i> sp.	Convolvulaceae	พระตำหนักดอยตุง อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย	new finding species
Y-20	<i>Cercospora ipomoea</i> = <i>Cercospora apii</i>	จิงจ้อเหลือง	<i>Merremia vitifolia</i>	Convolvulaceae	สถานีวิจัยฯ แม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มช.	new finding host
Y-06	<i>Cercospora pulcherrimae</i>	คริสต์มาส	<i>Euphorbia pulcherrima</i>	Eupobiaceae	สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ อ. จอมทอง จ. เชียงใหม่	
Y-13	<i>Cercospora</i> sp.	โกสน	<i>Codiaeum variegatum</i>	Eupobiaceae	พระตำหนักดอยตุง อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย	new finding species
Y-14	<i>Cercospora codiaei</i> = <i>Cercospora apii</i>	โกสน	<i>Codiaeum variegatum</i>	Eupobiaceae	พระตำหนักดอยตุง อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย	

ตารางที่ 4.1 ไอโซเลทของเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ที่แยกได้จากอาการใบจุดและใบไหม้จากพืชชนิดต่างๆ ที่เก็บได้จากแต่ละพื้นที่ (ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อรา	ชื่อสามัญ (พืช)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (พืช)	วงศ์พืช	สถานที่เก็บตัวอย่าง	Notes
Y-17	<i>Cercospora</i> sp.	เข็มปัตตาเวีย	<i>Jathopha integririma</i>	Euphobiaceae	อุทยานหลวงราชพฤกษ์ ต. แม่เหียะ อ. เมือง จ. เชียงใหม่	new finding species
Y-43	<i>Passalora manihotis</i>	มันสำปะหลัง	<i>Manihot esculenta</i>	Euphobiaceae	คณะเกษตรศาสตร์ มช.	
Y-24	<i>Cercospora canascens</i> = <i>Cercospora apii</i>	ถั่วฝักยาว	<i>Vigna unguiculate</i>	Fabaceae	อ. แม่ว่าง จ. เชียงใหม่	
Y-25	<i>Pseudocercospora</i> sp.	ถั่วเหลือง	<i>Glycine max</i>	Fabaceae	อ. แม่ว่าง จ. เชียงใหม่	new finding species
Y-35	<i>Passalora</i> sp.	ถั่วพู	<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>	Fabaceae	ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร มช.	new finding species
Y-36	<i>Pseudocercospora bradbruyae</i>	ถั่วลาย	<i>Centrosena pubescens</i>	Fabaceae	สถานีวิจัยฯ แม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มช.	
Y-42	<i>Pseudocercospora</i> sp.	ถั่วลาย	<i>Centrosena pubescens</i>	Fabaceae	อุทยานแห่งชาติแจ้ซ้อน อ. เมืองปาน จ. ลำปาง	new finding species
Y-01	<i>Pseudocercospora liquidambaricola</i>	เมเปิ้ลหอม	<i>Liquidambar formosana</i>	Hamamelidaceae	อ. จอมทอง จ. เชียงใหม่	new record

ตารางที่ 4.1 ไอโซเลทของเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ที่แยกได้จากอาการใบจุดและใบไหม้จากพืชชนิดต่างๆ ที่เก็บได้จากแต่ละพื้นที่ (ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อรา	ชื่อสามัญ (พืช)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (พืช)	วงศ์พืช	สถานที่เก็บตัวอย่าง	Notes
Y-05	<i>Cercospora apii</i>	ไฮเดรนเยีย	<i>Hydrangea</i> sp.	Hydrangeaceae	สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ อ. จอมทอง จ. เชียงใหม่	
Y-40	<i>Mycosphaerella erythrinae</i>	ทองหลางป่า	<i>Erythrina stricta</i>	Leguminosae	ภูชี้ฟ้า อ. เทิง จ. เชียงราย	new record
Y-21	<i>Cercospora apii</i>	กระเจี๊ยบเขียว	<i>Abelmoschus esculentus</i>	Malvaceae	ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร มช.	new record
Y-22	<i>Cercospora apii</i>	กระเจี๊ยบเขียว	<i>Abelmoschus esculentus</i>	Malvaceae	อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่	new record
Y-15	<i>Cercospora apii</i>	ขบาหนู	<i>Malvaviscus arboreus</i>	Malvaceae	อุทยานหลวงราชพฤกษ์ ต. แม่เหียะ อ. เมือง จ. เชียงใหม่	new record
Y-09	<i>Pseudocercospora fici</i>	ตีนตุ๊กแก	<i>Ficus pumila</i>	Moraceae	พระตำหนักดอยตุง อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย	new finding host
Y-34	<i>Pseudocercospora mori</i>	หม่อน	<i>Morus alba</i>	Moraceae	คณะเกษตรศาสตร์ มช.	new finding host
Y-32	<i>Cercospora</i> sp.	แสงจันทร์	<i>Pisonea grandis</i>	Nyctaginaceae	ศูนย์ฯ หนองหอย มุลินีโครنگการ หลวง อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่	new finding species
Y-12	<i>Pseudocercospora</i> sp.	ข้าวปลู	<i>piper sarmentosum</i>	Piperaceae	พระตำหนักดอยตุง อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย	new finding species

ตารางที่ 4.1 ไอโซเลทของเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ที่แยกได้จากอาการใบจุดและใบไหม้จากพืชชนิดต่างๆ ที่เก็บได้จากแต่ละพื้นที่ (ต่อ)

ไอโซเลท	เชื้อรา	ชื่อสามัญ (พืช)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (พืช)	วงศ์พืช	สถานที่เก็บตัวอย่าง	Notes
Y-38	<i>Pseudocercospora blepharoneurus</i>	ป่าฮุ่ยน้อย	<i>Rubus blepharoneurus</i>	Rosaceae	ภูชี้ฟ้า อ. เทิง จ. เชียงราย	new finding host
Y-03	<i>Cercospora coffeicola</i>	กาแฟ	<i>Coffea arabica</i>	Rubiaceae	สถานีวิจัยเกษตรที่สูงขุนช่างเคี่ยน อ. เมือง จ. เชียงใหม่	
Y-18	<i>Cercospora apii</i>	เครือตดหมา	<i>Peaderia fallida</i>	Rubiaceae	สถานีวิจัยแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มช.	new finding host
Y-19	<i>Cladosporium</i> sp.	เครือตดหมา	<i>Peaderia fallida</i>	Rubiaceae	สถานีวิจัยแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มช.	
Y-28	<i>Cercospora apii</i>	ผักคาวตอง	<i>Houttuynia cordata</i>	Saururaceae	ศูนย์ฯ หนองหอย มูลนิธิโครงการ หลวง อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่	
Y-02	<i>Cercospora physalidis</i> = <i>Cercospora apii</i>	มะเขือยาว	<i>Solanum melongena</i>	Solanaceae	ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร มช.	
Y-04	<i>Pseudocercospora egenula</i>	ลำโพง	<i>Solanum candida</i>	Solanaceae	สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ อ. จอมทอง จ. เชียงใหม่	new finding host
Y-10	<i>Pseudocercospora daturina</i>	ลำโพง	<i>Solanum candida</i>	Solanaceae	พระตำหนักดอยตุง อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย	new finding host
Y-16	<i>Cercospora</i> sp.	ชาทอง	<i>Duranta repens</i>	Verbenaceae	อุทยานหลวงราชพฤกษ์ ต. แม่เหียะ อ. เมือง จ. เชียงใหม่	new finding species

4.2 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ที่มีความสัมพันธ์กับโรคใบจุดและใบไหม้ ทำการแบ่งกลุ่มเชื้อราทั้งหมดจากกลุ่มชนิดพืชอาศัยรวมทั้งการศึกษาถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่พบทั้งหมดและทำการจดบันทึกลักษณะที่สำคัญของเชื้อราแต่ละตัวอย่างที่มีความเหมือนหรือแตกต่างกัน จากการเก็บตัวอย่างจำนวน 43 ไอโซเลท ทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์จากตัวอย่างทั้งหมดโดยวิธีแยกสปอร์เดี่ยว (Single Spore Isolation) แยกเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA และเมื่อโคลนของเชื้อราเจริญเป็นเวลา 2 สัปดาห์แล้วจึงทำการเก็บ cultures ของเชื้อราทั้งหมดใส่หลอดทดลองเพื่อเก็บไว้เป็น stock cultures ในการศึกษาต่อไป

จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญในกลุ่มเชื้อราข้างต้น โดยสามารถแบ่งออกเป็นได้เป็น 2 กลุ่มเชื้อรา โดยทำการแบ่งจากลักษณะของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ดังนี้

เชื้อรากลุ่มแรกคือจิ้นัส *Mycosphaerella* (ระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่พบคือ pseudothecia perithecia asci และ ascospores

เชื้อรากลุ่มที่สองเป็นพวกที่อยู่ใน class Hyphomycetes ที่จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อรา cercosporoid (ระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่พบคือ ceaspituli, stromata, conidiophores, conidia, conidiogenous cells, conidiogenous loci และ hila

เมื่อทำการวัดและบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังกล่าวจำนวน 30 ข้ำ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Light microscope ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าตัวอย่างพืชอาศัยที่นำมาศึกษามีเชื้อราที่แตกต่างกันไป โดยพบเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ได้แก่ เชื้อราจิ้นัส *Mycosphaerella* sp., *Cercospora* spp., *Pseudocercospora* spp. และ *Passalora* spp. ตามลำดับ โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่พบบนพืชตัวอย่างแต่ละชนิดมีรายละเอียดดังนี้ (ภาพที่ 4.3–4.45)

Family Agavaceae

เชื้อรา *Cladosporium* sp. (Y-11)

แผลใบไหม้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10–30 mm มีสีขาวเทา ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้มถึงสีม่วงเข้มซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจน แผลปรากฏทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous แต่มีมากในส่วน epiphyllous อยู่กระจายทั่วแผล *Stomata* เป็นแบบ substomatal รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาด 20–35 μm สีน้ำตาล *Conidiophores* แบบ loose-fascicles เกิดผ่านทาง epidermal cells และ stroma cells ลักษณะเป็นทรงกระบอก ตรงถึงโค้งเล็กน้อย ขนาด 3–4 (–5) $\times$ 20–50 μm 1–3 (–4) -septate ผิวเรียบ สีน้ำตาล มีทั้งแตกแขนงและไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* แบบ sympodial เกิดที่ terminal มี 1–2 conidiogenous loci ต่อ 1 conidiogenous cells ขนาด 1 (–2) μm *Conidiogenous loci* 1–2 loci และหนาดำชัดเจน *Conidia* เกิดทั้งแบบ single และ chains ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย สั้นและเรียวยาว รูปร่างแบบ narrowly obclavate–subcylindrical ขนาด 2–3 $\times$ (6–) 13–60 (–110) μm (0–) 7–8-septate ส่วนปลายทั้งสองด้านแคบลงจากด้านกลาง conidia มีลักษณะแบบ subacicular–subobtuse *Hila* ขนาด 1 μm พบที่ปลายทั้งสองด้าน มี 1 (–3) หนาดำชัดเจน *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.1)

Cultures: โคลนีสมีลักษณะคล้ายก้ามหอยสีน้ำตาลเทา ขอบมีสีน้ำตาลเข้มและค่อนข้างเรียบเสมอกัน โคลนีสมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 mm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงราย อ. แม่ฟ้าหลวง ดอยแม่สลอง พบบนใบจันทน์ผา (*Dracaena loureiri*), 11 ก.พ. 2556, herbarium: HY-11, cultures: Y-11=Y-11.2, Y-11.3

Notes: จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราไอโซเลทที่ Y-11 พบว่ามีลักษณะใกล้เคียงกับเชื้อรา *Cladosporium* spp. อย่างไรก็ตามในเชื้อรากลุ่มนี้ยังไม่เคยมีรายงานพบพืชจำพวก *Dracaena* spp. มาก่อน



ภาพที่ 4.1 เชื้อรา *Cladosporium* sp. บนจันทน์ผา (*Dracaena loureiri*): A. อาการใบไหม้ ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) C–D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (C–F: scale bar = 10 μ m) G. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 2.5 mm)

Family Amaranthaceae

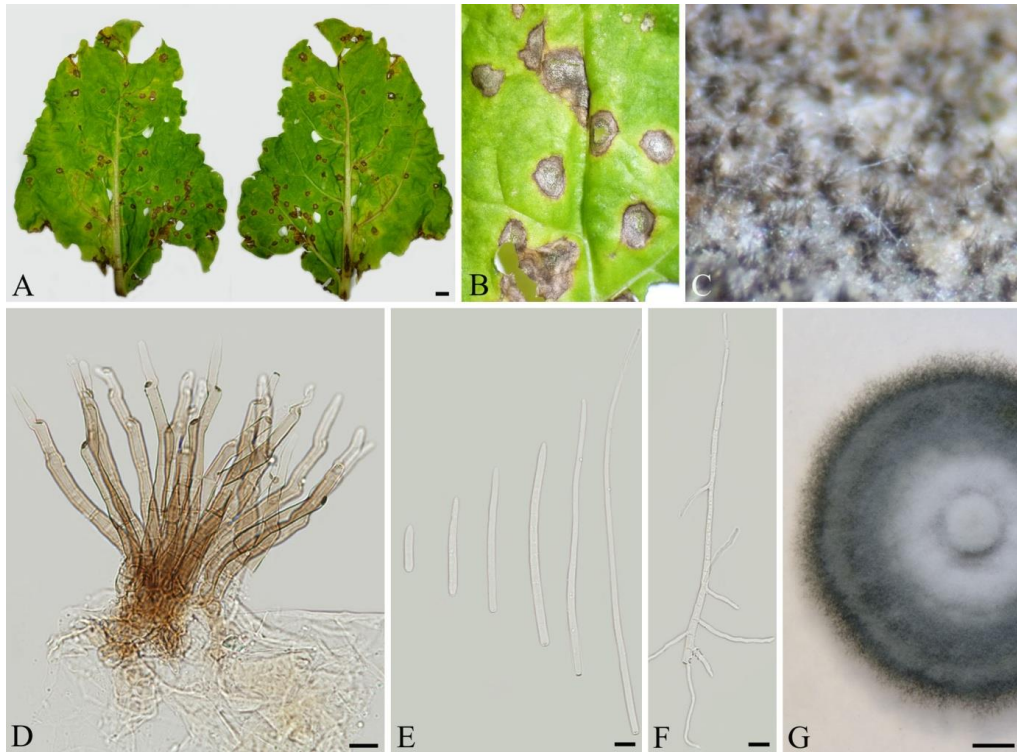
เชื้อรา *Cercospora beticola* (Y-30)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–5 mm มีสีเทาถึงสีน้ำตาลอ่อนและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มบริเวณขอบแผลซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจน พบทั้งหน้าและหลังใบ *Caespituli* แบบ amphigenous กระจายอยู่ทั่วทั้งแผล *Stromata* แบบ substomatal ขนาด 20–60 μm มีสีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells พบว่าสามารถเกิดผ่านทางปากใบได้ มีรูปร่างค่อนข้างตรงถึงเอียงเป็นแนวนอนเล็กน้อย ลักษณะเป็นทรงกระบอกที่หักงอ และคดเคี้ยวเล็กน้อยขนาด $5-7 \times (40-60-100) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (3-) 4-5-septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีน้ำตาลและจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1–2 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 2–3 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงและอาจมีโค้งบ้างเล็กน้อย รูปร่างเป็นแบบ narrowly obclavate–subcylindrical ขนาด $3-4 \times (30-60-200 (-210)) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (3-) 6–24 (-30) -septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานแบบ subtruncate–truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ subobtuse–obtuse *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 2–3 μm *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.2)

Cultures: โคโลนีมีสีขาวตรงกลางและมีสีเทาถึงเกือบดำบริเวณรอบ ขอบเรียบถึงขรุขระเล็กน้อย เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3–4 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. แม่ริม ศูนย์ฯหนองหอย มูลนิธิโครงการหลวง พบบน ใบ Swisschard (*Beta vulgaris*), 11 ส.ค. 2556, herbarium: HY-30, cultures: Y-30= Y-30.2, Y-30.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บน Swisschard (*Beta vulgaris*) (ตารางที่ 4.2) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-31 เป็นเชื้อรา *Cercospora beticola*



ภาพที่ 4.2 เชื้อรา *Cercospora beticola* บน Swisschard (*Beta vulgaris*): **A.** อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) **B.** ภาพขยายอาการใบจุด **C.** ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) **D.** Conidiophores และ conidiogenous cells **E.** Conidia **F.** ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (D–F: scale bar = 10 µm) **G.** โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บน Swisschard (*Beta vulgaris*)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora apii</i>	<i>Beta vulgaris</i>	Leaf spots	Amphigenous	4–6.5 × 20–300 µm, short-long, geniculate to non-geniculate, pale brown.	3–6 × 25–315 µm, acicular, straight-strongly curved, hyaline.	Chupp (1954), Hsieh & Goh (1990).
<i>Cercospora beticola</i>	<i>Beta vulgaris</i>	Leaf spots	Amphigenous	4–6 × 30–105 µm, geniculate, pale brown.	3.5–4.5 × 40–160 µm , narrowly obclavate– fusiform, straight or slightly curved, hyaline.	Kirk (1982), Meeboon <i>et al.</i> (2007).

Family Apiaceae (Umbelliferae)

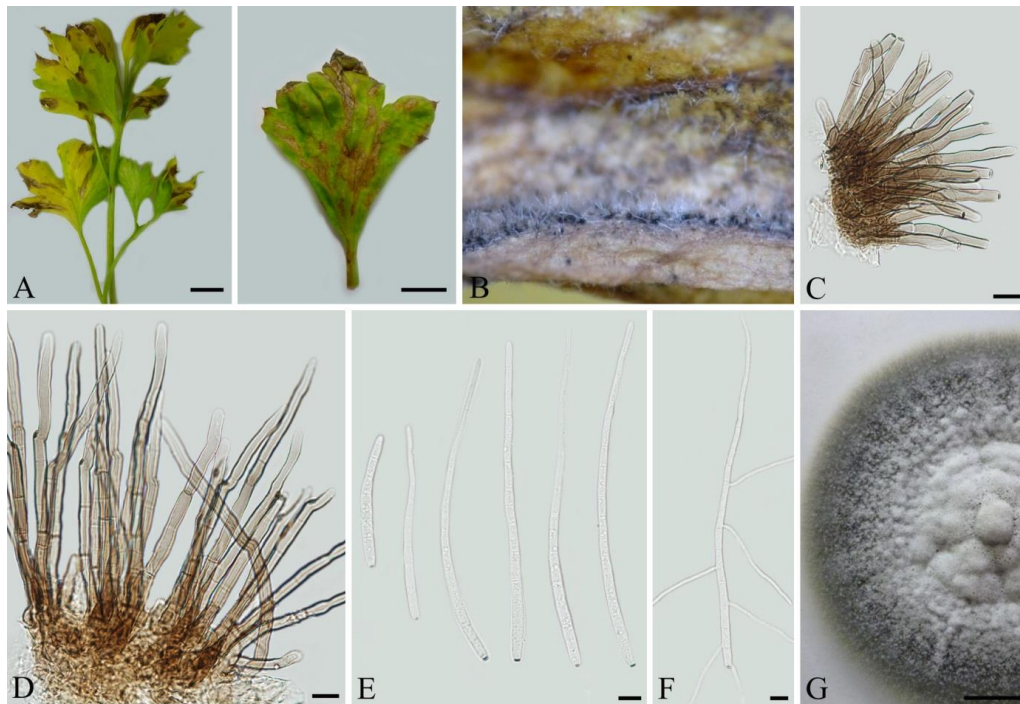
เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-23)

แผลใบจุดรูปร่างไม่แน่นอนและเชื่อมต่อกันคล้ายแผลใบไหม้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5–10 mm มีสีน้ำตาลอ่อนและเข้มขึ้นกลายเป็นสีน้ำตาลบริเวณขอบแผล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ **Caespituli** พบแบบ amphigenous กระจายทั่วแผล **Stromata** แบบ substomatal ขนาด 30–90 μm มีสีน้ำตาลเข้มถึงเกือบดำ **Conidiophores** เป็นแบบ fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells มีรูปร่างค่อนข้างตรง ลักษณะเป็นทรงกระบอกที่หักงอ และคดเคี้ยวเล็กน้อยขนาด $5-6 \times (50-75-125 (-135) \mu\text{m}$ มีผนังกัน 3–4-septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีเข้มและจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง **Conidiogenous cells** เกิดแบบ sympodial 1 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) **conidiogenous loci** หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 3–4 μm **Conidia** เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย ปรากฏหยดน้ำมัน รูปร่างเป็นแบบ narrowly obclavate–subcylindrical ขนาด $4-5 \times (40-75-170 (-190) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (4–) 9–16 (–18) -septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานแบบ subtruncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ subobtuse–obtuse **Hila** หนาดำชัดเจน ขนาด 2–3 μm **Conidial germination** germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.3)

Cultures: โคลนนี้ขรุขระไม่สม่ำเสมอ มีสีขาวเทาตรงกลาง ขอบมีสีเทาถึงสีเขียวซีมัวค่อนข้างเรียบ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3–3.5 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. แม่วาง พบบนใบขึ้นฉ่าย (*Apium graveolens*), 26 ก.ค. 2556, herbarium: HY-23, cultures: Y-23=Y-23.2, Y-23.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนขึ้นฉ่าย (*Apium graveolens*) (ตารางที่ 4.3) พบว่าเชื้อราไอโซเลทที่ Y-23 มีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *Cercospora apii* และ *Cercospora beticola* จากการศึกษาและรายงานการพบเชื้อรา *Cercospora apii* บน *Apium graveolens* ในประเทศไทย (Meeboon, 2008) ทำให้ตัวอย่างเชื้อราดังกล่าวถูกตัดสินให้เป็น *Cercospora apii*



ภาพที่ 4.3 เชื้อรา *Cercospora* sp. บนขึ้นฉ่าย (*Apium graveolens*): A. อาการใบจุดบนใบ (ซ้าย) และภาพขยายด้านหน้าใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) C-D. conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C-F: scale bar = 10 μ m) G. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนขึ้นฉ่าย (*Apium graveolens*)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora apii</i>	<i>Apium australe</i> , <i>Apium graveolens</i>	Leaf spots	Amphigenous	4–6.5 × 20–300 µm, short–long, geniculate –non geniculate, pale brown.	3–6 × 25–3.5 µm, acicular, straight–strongly curved, hyaline.	Chupp (1954), Hsieh and Goh (1990), Meeboon (2006).
<i>Cercospora apiicola</i>	<i>Apium graveolens</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata 30–60 µm diam.	4–6 × 25–70 µm (4–10 per fascicles) 1–3-septate, geniculate–sinuous, unbranched, medium brown.	(3–) 4–5 × (50–) 80–120 (–150) µm, 1–6-septate, obclavate– cylindrical.	Groenwald <i>et al.</i> (2006)
<i>Cercospora beticola</i>	<i>Apium graveolens</i>	Leaf spots	Amphigenous	4–6 × 30–105 µm, geniculate, pale brown	3.5–4.5 × 40–160 µm , narrowly obclavate–fusiform, straight or slightly curved, hyaline.	Kirk (1982)
<i>Cercospora canescens</i> = <i>Cercospora apii</i>	<i>Apium</i> sp.	Leaf spots	Amphigenous	3–6.5 × 20–200 µm, multiseptate, dark brown, geniculate, pale–medium.	25–300 × 2.5–5.5 µm, multiseptate, acicular, straight– curved, hyaline.	Hsieh and Goh (1990)

Family Asteraceae

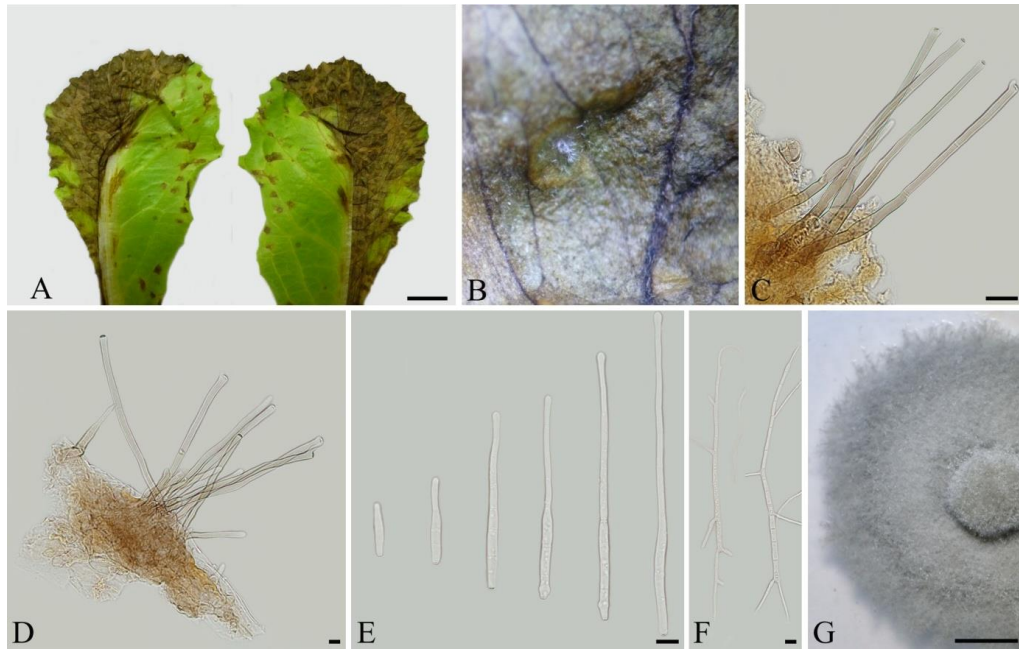
เชื้อรา *Cercospora lactuca-sativae* (Y-26)

แผลใบจุดกลมถึงเหลี่ยมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–5 mm และเชื่อมต่อกันคล้ายแผลใบไหม้ขนาด 60 mm มีสีน้ำตาลและเข้มขึ้นกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มบริเวณขอบแผล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* แบบ amphigenous กระจุกอยู่เป็นกลุ่มในแผล *Stromata* แบบ substomatal–intraepidermal เจริญไม่สมบูรณ์ ขนาด 25–55 μm มีสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ solitary–fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells มีรูปร่างค่อนข้างตรง ลักษณะเป็นทรงกระบอกขนาด 4–6 $\times$ (60–) 70–140 (–160) μm มีผนังกัน 3–4-septate ผิวเรียบ มีสีเทา ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 3(–4) μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะค่อนข้างตรง รูปร่างเป็นแบบ narrowly obclavate ขนาด 4–5 (–6) $\times$ (40–) 60–140 (–170) μm มีผนังกัน (3–) 5–9 (–10) -septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานแบบ subtruncate–truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ obtuse *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 2–3 μm *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.4)

Cultures: โคลนีสีเทา ตรงกลางนูนสูงขึ้น ขอบเรียบถึงขรุขระเล็กน้อย มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1–2 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบผักกาดหอม (Lectuce) (*Lactuca sativa*), 3 ส.ค. 2556, herbarium: HY–26, cultures: Y–26=Y–26.2, Y–26.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนผักสลัด (*Lactuca sativa*) และการรายงานของ Meeboon (2009) และ To–Anun (2011) (ตารางที่ 4.4) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y–26 คือ *Cercospora lactucae-sativae*



ภาพที่ 4.4 เชื้อรา *Cercospora lactucae-sativae* บนผักกาดหอม (*Lactuca sativa*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) C-D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (scale bar = 10 μ m) G. โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

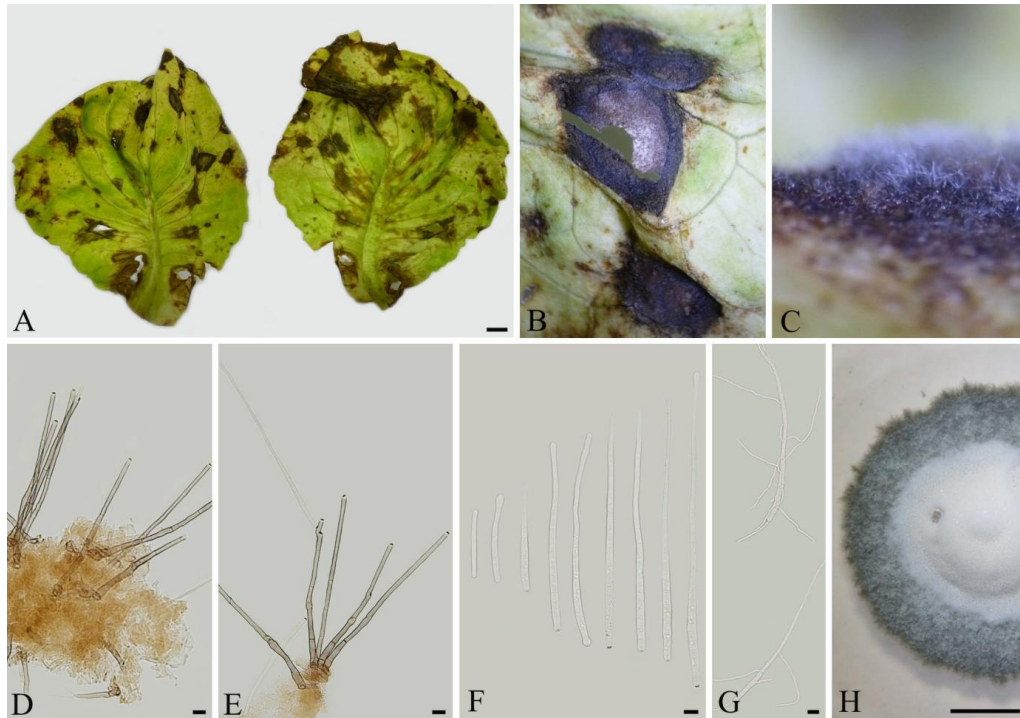
เชื้อรา *Cercospora lactucae-sativae* (Y-29)

แผลใบจุดกลมถึงเหลี่ยมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10–20 mm มีสีเทาถึงสีน้ำตาลอ่อน และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำบริเวณขอบแผลซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจน พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* แบบ amphigenous กระจายอยู่เป็นจำนวนมากทั่วแผล *Stromata* แบบ substomatal–intraepidermal เจริญไม่สมบูรณ์ ขนาด 10–25 μm มีสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ solitary–fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells มีรูปร่างค่อนข้างตรง ลักษณะเป็นทรงกระบอกขนาด 5–7 $\times$ (100–) 120–200 μm มีผนังกัน (3–) 4–6 (–7) -septate ผิวเรียบ มีสีเทา ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 3 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะค่อนข้างตรง รูปร่างเป็นแบบ narrowly obclavate ขนาด 4–6 $\times$ (40–) 110–180 (–220) μm มีผนังกัน (6–) 8–18 (–23) -septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานแบบ subtruncate–truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ obtuse *Hila* หนาดำ ชัดเจน ขนาด 2–3 μm *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.5)

Cultures: ผีเสื้อโคนีค่อนข้างเรียบ มีสีขาวตรงกลางและมีลักษณะนูนสูงขึ้นเล็กน้อย ส่วนขอบมีสีเทาถึงเขียวเข้ม ขรุขระเล็กน้อย มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5–2.5 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. จอมทอง สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ พบบนใบผักสลัด (Butterhead) (*Lactuca sativa*), 11 ส.ค. 2556, herbarium: HY-29, cultures: Y-29=Y-29.2, Y-29.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนผักสลัด (*Lactuca sativa*) และรายงานของ Meeboon (2009) และ To-Anun et al. (2011) (ตารางที่ 4.4) พบว่าเชื้อราไอโซเลทที่ Y-29 คือเชื้อรา *Cercospora lactucae-sativae*



ภาพที่ 4.5 เชื้อรา *Cercospora lactucae-sativae* บนผักสลัด (Butterhead) (*Lactuca sativa*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D-E. Conidiophores และ conidiogenous cells F. Conidia G. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-G: scale bar = 10 μ m) H. โคลนีสของเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

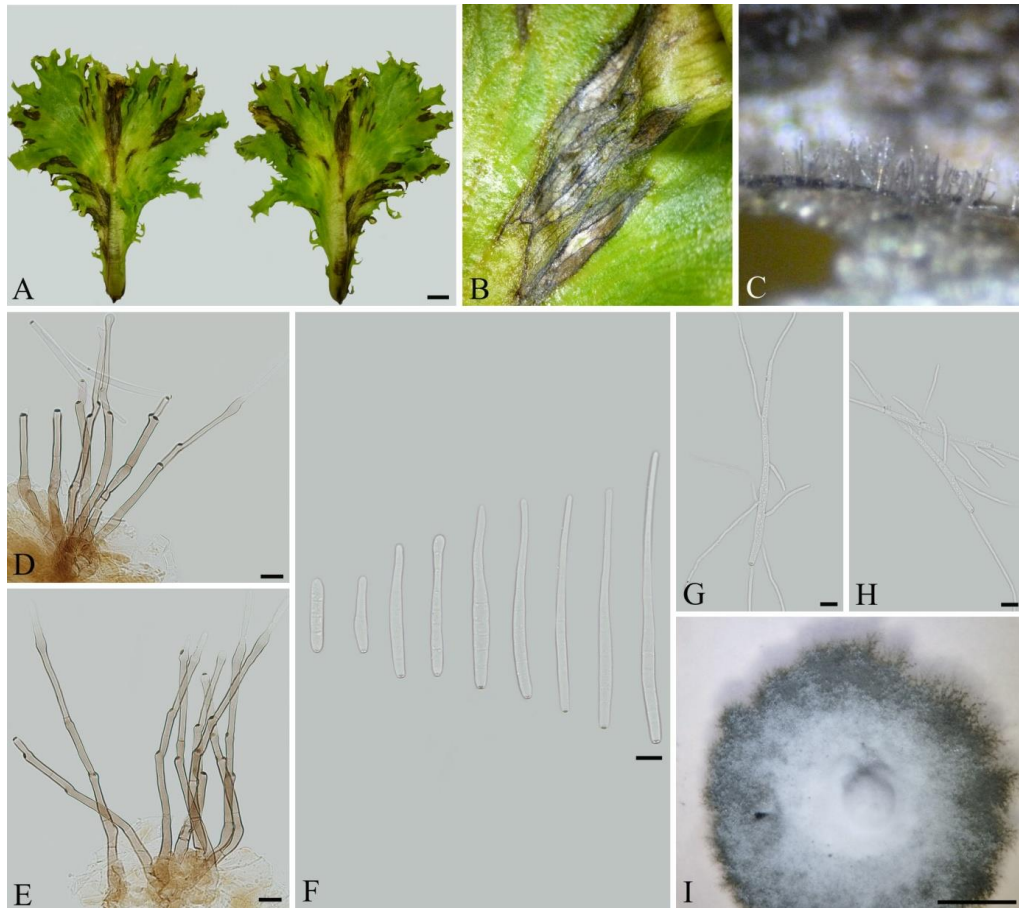
เชื้อรา *Cercospora lactucae-sativae* (Y-31)

แผลใบจุดรีถึงเหลี่ยมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–10 mm (อาจยาวถึง 30 mm) มีสีเทาถึงสีน้ำตาลอ่อนและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มบริเวณขอบแผลซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจน พบทั้งด้านบนและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous กระจายอยู่เป็นจำนวนมากทั่วแผล *Stromata* แบบ substomatal–intraepidermal เจริญไม่สมบูรณ์ ขนาด 15–40 μm มีสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ solitary–fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells มีรูปร่างค่อนข้างตรง ลักษณะเป็นทรงกระบอกขนาด 4–7 (–8) $\times$ (80–) 85–150 (–180) μm มีผนังกัน 3–5 (–6) -septate ผิวเรียบ มีสีเทา ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1–2 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 2–3 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะค่อนข้างตรง รูปร่างเป็นแบบ narrowly obclavate ขนาด 4–6 $\times$ (35–) 40–105 (–130) μm มีผนังกัน (3–) 4–12 (–18) -septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานแบบ subtruncate–truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ obtuse *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 2–3 μm *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.6)

Cultures: โคลนนี้ค่อนข้างเรียบ มีสีขาวตรงกลางและมีลักษณะนูนสูงขึ้นเล็กน้อย ส่วนขอบมีสีเทาถึงเขียวซีมำขรุขระเล็กน้อย มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5–2.5 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. แม่ริม ศูนย์ฯหนองหอย มูลนิธิโครงการหลวง พบบนใบผักสลัด (Frisette Iceberg) (*Lactuca sativa*), 3 ส.ค. 2556, herbarium: HY-31, cultures: Y-31= Y-31.2, Y-31.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนผักสลัด (*Lactuca sativa*) และรายงานของ Meeboon (2009) และ To-Anun et al. (2011) (ตารางที่ 4.4) พบว่าเชื้อราไอโซเลทที่ Y-31 คือเชื้อรา *Cercospora lactucae-sativae*



ภาพที่ 4.6 เชื้อรา *Cercospora lactucae-sativae* บนผักสลัด (Frillice Iceberg) *Lactuca sativa*: A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D-E. Conidiophores และ conidiogenous cells F. Conidia G-H. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-H: scale bar = 10 μ m) I. โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

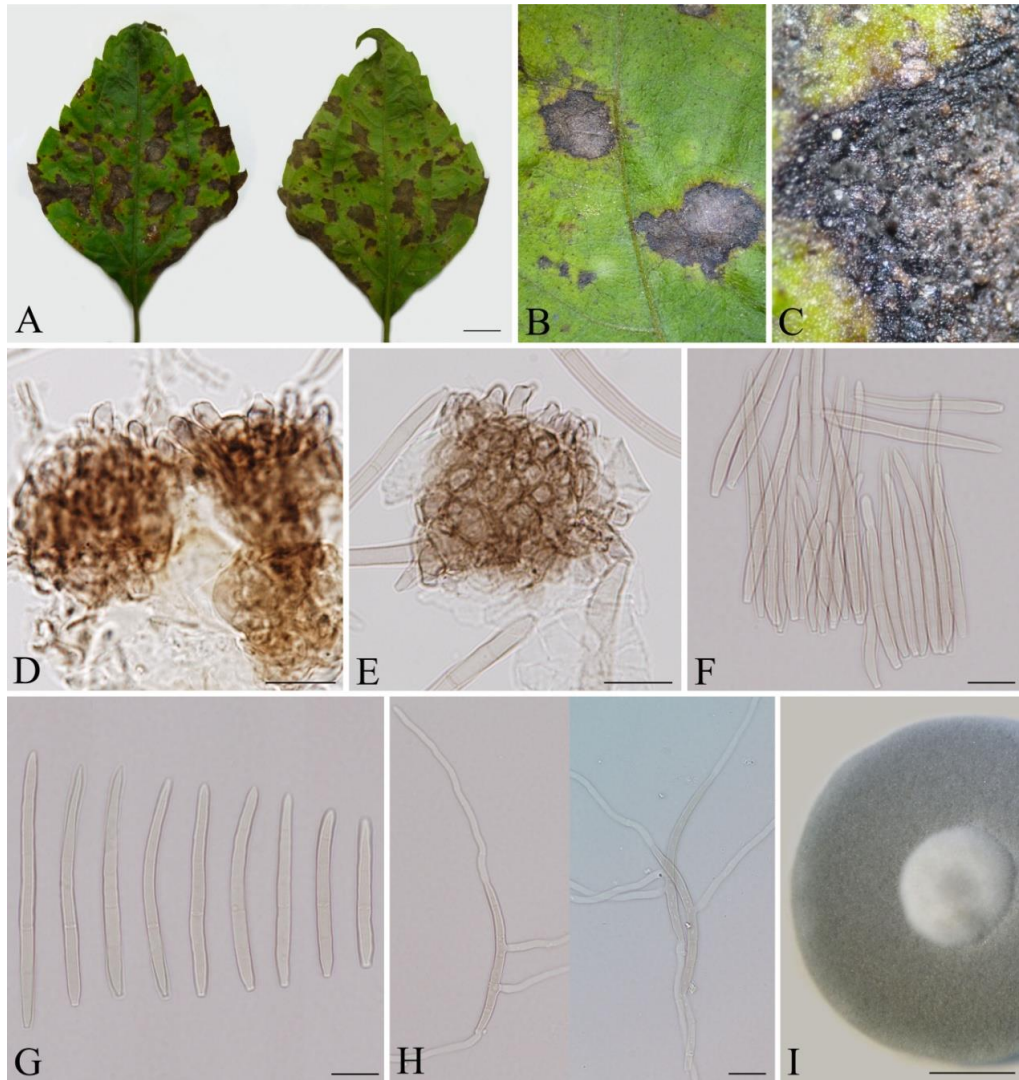
เชื้อรา *Pseudocercospora eupatorii-formosanae* (Y-37)

แผลใบจุดกลมถึงเหลี่ยมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5–15 mm มีสีน้ำตาลเทาและเข้มขึ้นกลายเป็นสีน้ำตาลดำบริเวณขอบแผล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบที่ amphigenous แต่ส่วนใหญ่พบมากที่ epiphyllous อยู่กระจายทั่วทั้งภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal–intraepidermal รูปร่างค่อนข้างกลมถึงกลม ขนาดประมาณ 25–50 μm สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* พบทั้งแบบ loose dense fascicles เกิดผ่านทั้งทาง epidermal cells และ stomata cells มีรูปร่างค่อนข้างตรง ส่วนตรงปลายของ Conidiophores อาจมีลักษณะเป็นแบบ geniculate–sinuous มีขนาด $3\text{--}4 \times 5\text{--}7\text{--}(11) \mu\text{m}$ ไม่มีผนังกันเซลล์ ผิวเรียบ มีสีน้ำตาลเทาถึงเกือบใสไม่มีสี ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่มี terminal และ lateral *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน *Conidia* แบบ solitary ลักษณะส่วนใหญ่ตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างแบบ subcylindrical–cylindrical โดยส่วนปลายทั้งสองข้างจะแคบลงเล็กน้อย ขนาด $2\text{--}3 \times (35\text{--}) 45\text{--}67\text{--}(90) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (1–) 2–6-septate มีหยดน้ำมัน ผิวเรียบ สีเทาถึงเกือบใสไม่มีสี ส่วนฐานมีลักษณะแบบ truncate ส่วนปลายมีลักษณะแบบ subobtuse–obtuse *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.7)

Cultures: โคลนีสมีลักษณะคล้ายก้ามหอยสีเทา ตรงกลางของโคลนีสสีขาวนูนสูงขึ้นเล็กน้อย ผิวเรียบ ขอบเรียบ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง สถานีวิจัยแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบสาบเสือ (*Eupatorium odoratum*), 15 ต.ค. 2556, herbarium: HY-37, cultures: Y-37=Y-37.2

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Eupatorium* spp. (ตารางที่ 4.5) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-37 คือเชื้อรา *Pseudocercospora eupatorii-formosanae* และนอกจากนี้ยังเคยมีรายงานการพบเชื้อราสปีชีส์นี้ในพืชเดียวกันจากประเทศลาว (Phengsintham et al., 2013)



ภาพที่ 4.7 เชื้อรา *Pseudocercospora eupatorii-formosanae* บนสาบเสือ (*Eupatorium odoratum*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D-E. Conidiophores และ conidiogenous cells F-G. Conidia H. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-H: scale bar = 10 μ m) I. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

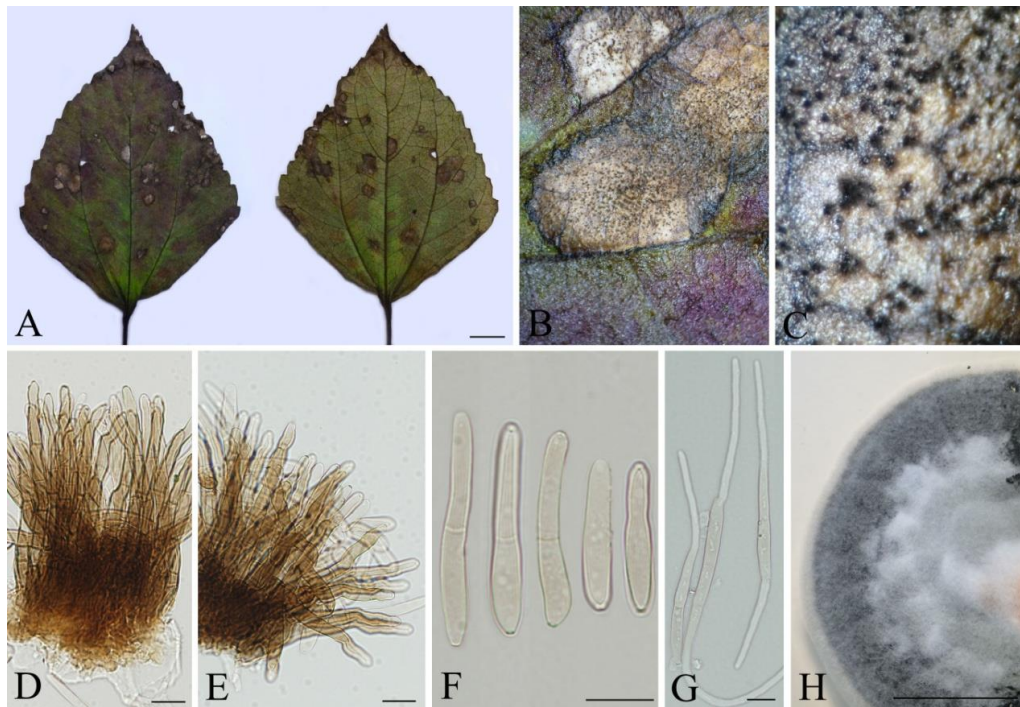
เชื้อรา *Passalora assamensis* (Y-39)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–10 mm มีสีน้ำตาลและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำบริเวณขอบ ขอบแผลนูนสูงชันชัดเจน พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous แต่มีมากที่ epiphyllous อยู่กระจายทั่วทั้งภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดประมาณ 40–60 μm สีน้ำตาลเข้มถึงเกือบดำ *Conidiophores* พบแบบ fascicles เกิดผ่านทาง epidermal cells มีรูปร่างค่อนข้างตรง ส่วนตรงปลายของ conidiophores อาจมีลักษณะเป็นแบบ geniculate-sinuous บ้างเล็กน้อย มีขนาด 4–5 (–6) $\times$ (30–) 50–70 (–80) μm มีผนังกันเซลล์ 2–3 (–4) -septate ผิวเรียบ มีสีน้ำตาล ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่มี terminal และ lateral *Conidiogenous loci* หนาดำชัดเจน *Conidia* แบบ solitary และ chain มีลักษณะตรงและอาจโค้งบ้างเล็กน้อย รูปร่างแบบ obclavate, subcylindrical-cylindrical โดยส่วนปลายทั้งสองข้างจะแคบลงเล็กน้อย ขนาด (3–) 5–6 $\times$ (10–) 18–40 (–44) μm มีผนังกัน (0–) 1–3 (–4) -septate มีหยดน้ำมัน ผิวเรียบ สีน้ำตาลอ่อน เทา ถึงเกือบใสไม่มีสี ส่วนฐานมีลักษณะแบบ subtruncate *Hila* หนาดำ ส่วนปลายมีลักษณะแบบ obtuse *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia (ภาพที่ 4.8)

Cultures: โคลนีสีลักษณะเส้นใยคล้ายกำมะหยี่สีขาวเทา ตรงกลางของโคลนีสีขาวนูนสูงชัน และขรุขระเล็กน้อย ผิวและขอบค่อนข้างเรียบ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5–2 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงราย อ. เทิง ภูชี้ฟ้า พบบนใบสาบหมา (*Eupatorium adenophorum*), 10 ธ.ค. 2556, herbarium: HY-39, cultures: Y-39

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Passalora* spp. บนพืชจีนัส *Eupatorium* spp. (ตารางที่ 4.6) พบว่าเชื้อราไอโซเลทที่ Y-39 คือเชื้อรา *Passalora assamensis* และนอกจากนี้ยังเคยมีรายงานการพบเชื้อราสปีชีส์บนพืชอาศัยชนิดเดียวกันอีกด้วย (Meeboon *et al.*, 2007)



ภาพที่ 4.8 เชื้อรา *Passalora assamensis* บนสาบหมา (*Eupatorium adenophorum*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D-E. Conidiophores และ conidiogenous cells F. Conidia G. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-G: scale bar = 10 μ m) H. โคลนี เชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนผักสลัด (*Lactuca sativa*)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora beticola</i>	<i>Lactuca sativae</i>	Leaf spots	Amphigenous	4–6 × 30–105 µm, geniculate, unbranched, pale brown.	3.5–4.5 × 40–160 µm, narrowly obclavate–fusiform, straight or slightly curved, hyaline.	Kirk (1982)
<i>Cercospora lactucae-sativae</i>	<i>Lactuca sativae</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata 17–36 µm diam, moderately small–well developed.	3–6.5 × 47–128 µm (3–8 per fascicle), 1–4-septate, loose fascicles, unbranched, cylindrical–strongly geniculate near the apex, brown.	3–6.5 × 36–182 µm, 7–3-septate, acicular–narrowly obclavate, straight or slightly curved, hyaline.	Meeboon (2009), To-Anun <i>et al.</i> (2011).
<i>Cercospora longissima</i>	<i>Lactuca sativae</i>	Leaf spots	Amphigenous	4–6 × 25–100 µm (2–10 in a fascicle), multiseptate, unbranched, sparingly geniculate, pale olivaceous brown.	3–5 × 20–200 µm, multiseptate, acicular–obclavate, straight–curved, hyaline.	Hsieh and Goh (1990)

ตารางที่ 4.5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Eupatorium* spp.

species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora ageratoides</i>	<i>Eupatorium japonicum</i>	Leaf spots	Hypogenous	4–6.5 × 30–140 µm (2–10 in a fascicle), multiseptate, straight–curved, geniculate, denticulate, olivaceous brown.	4–5.5 (–7.5) × 15–85 µm, 1–5 (mostly 1–2) septate, obclavate–cylindrical, pale olivaceous–olivaceous, straight–slightly curved	Gou and Hsieh (1995)
<i>Pseudocercospora eupatorii–formosanae</i>	<i>Eupatorium chinense</i> , <i>Eupatorium odoratum</i> and <i>Eupatorium</i> sp.	Leaf spots	Amphigenous, stromata 20–55 µm in diam.	3–4 × 10–25 µm, 0–1-septate, densely fasciculate, cylindric–slightly curved, unbranched, pale olivaceous brown	2.5–4 × 15–80 µm, 2–10-septate, cylindrical or longer, straight–slightly curved, pale olivaceous.	Hsieh and Goh (1990)
	<i>Eupatorium odoratum</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata well–developed, 15–40 µm in diam.	2–4 × 4–22 µm (1–16 per fascicle), nearly straight or cylindrical–geniculate–sinuous, unbranched.	2–4 × 15–71 µm, 1–5-septate, narrowly obclavate, straight–slightly curved, brown.	Phengsintham <i>et al.</i> (2013)

ตารางที่ 4.5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Eupatorium* spp. (ต่อ)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora vicosae</i>	<i>Eupatorium</i> sp.	Leaf spots	Mainly epiphyllous, stromata well- developed, 47.5– 70 × 55–97.5 µm diam, brown.	18.5–56 × 3–4 µm, 1–2-septate, loosely fasciculate, unbranched, flexuous–curved, cylindrical, light brown	20–91 × 2.5–4 µm, 1–8-septate, straight– slightly curved, obclavate–fusiforme, light brown.	Firmino <i>et al.</i> (2013)

ตารางที่ 4.6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Passalora* spp. บนพืชจีนัส *Eupatorium* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Passalora</i> <i>assamensis</i>	<i>Eupatorium</i> <i>adenophorum</i>	Leaf spots	Amphiginous, stromata 24–44 µm in diam.	3–5 × 28–53 µm (loose–moderately dense fascicles), 1–4-septate, erect, straight, smooth, pale brown– brown.	2.5–5 × 13–54 µm, 3–7-septate, solitary, obclavete–subcylindrical, straight, subhyaline–light brown.	Meeboon <i>et al.</i> (2007)
<i>Passalora</i> <i>foveolicola</i>	<i>Eupatorium</i> <i>bupleurifolium</i>	Leaf spots	Amphiginous, stromata 20–90 µm in diam.	4–8 × 50–110 µm (loose –dense large fascicles), septate, erumpent through the cuticle, erect, straight– somewhat flexuous, cylindrical–oblong, non geniculate, unbranched, smooth, walls thickened, pale–medium dark brown.	5–8 × (15–) 25–85 µm, 1–4-septate, solitary, straight–slightly curved, smooth, subcylindrical– obclavate, pale brown.	Schub and braun (2007)

Family Brassicaceae (Crucifereae)

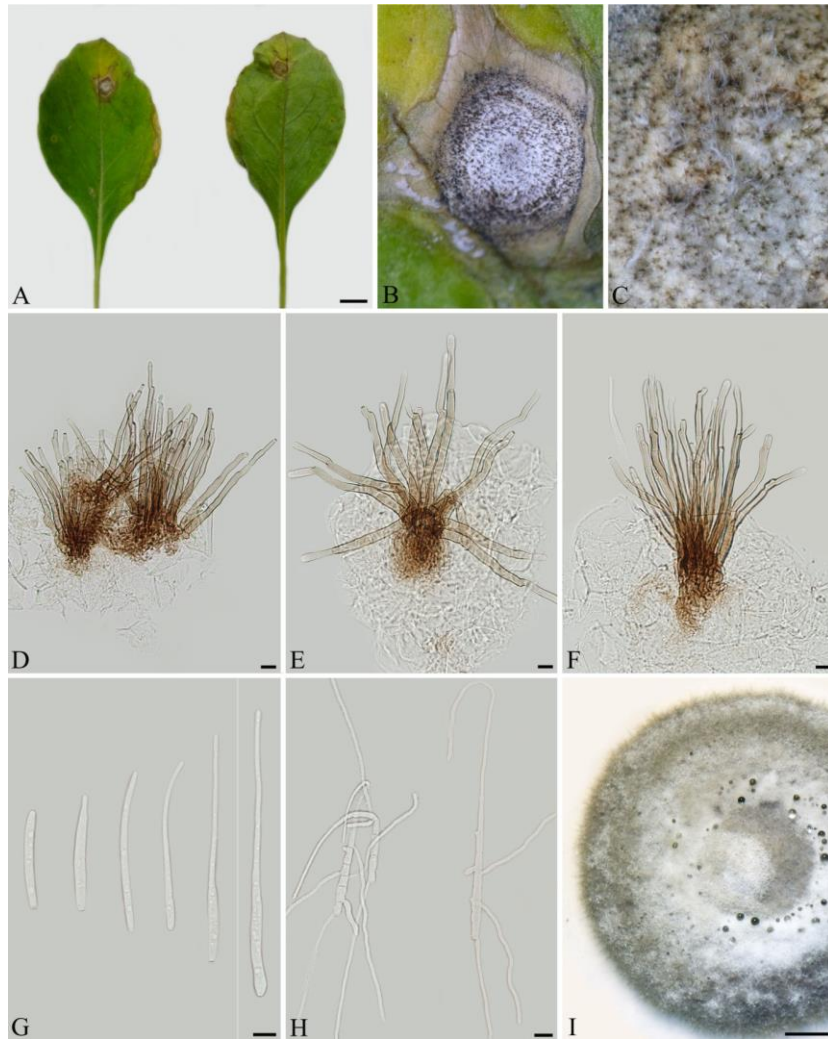
เชื้อรา *Cercospora brassicicola* (Y-27)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 mm มีสีเทาและเข้มขึ้นกลายเป็นสีน้ำตาลอ่อนบริเวณขอบแผล แผลเกิดขึ้นเดี่ยวๆ ปรากฏทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous กระจายอยู่ทั่วทั้งในแผล *Stromata* แบบ substomatal-intraepidermal ขนาด 20–50 μm มีสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells และ stroma cells มีรูปร่างค่อนข้างตรงถึงเอียงเป็นแนวนอน ลักษณะเป็นทรงกระบอกที่หักงอ และคดเคี้ยวเล็กน้อยขนาด $5-7 \times (60-70-100-110) \mu\text{m}$ มีผนังกัน 3–5-septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีน้ำตาลและจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1–2 (–3) loci โดยสามารถเกิดที่ terminal และ lateral (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 1–3 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างเป็นแบบ narrowly obclavate-subcylindrical ขนาด $3-5 \times (20-40-100-110) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (1–) 3–8-septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานแบบ subtruncate-truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ subobtuse-obtuse *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 1–3 μm *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.9)

Cultures: โคโลนีมีผิวค่อนข้างเรียบสีเทาถึงสีน้ำตาลอ่อน ขอบค่อนข้างเรียบ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3–4 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบคะน้า (*Brassica alboglabra*), 3 ส.ค. 2556, herbarium: HY-27, cultures: Y-27= Y-27.2, Y-27.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora brassicicola* ที่พบบน *Brassica alboglabra* (ตารางที่ 4.7) โดยเป็นเชื้อราเพียงสปีชีส์เดียวที่พบบนพืชอาศัยนี้ พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-27 มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหมือนกันกับตารางดังกล่าว และนอกจากนี้ยังเคยมีรายงานการพบเชื้อราสปีชีส์นี้บนพืชอาศัยชนิดเดียวกันในประเทศไทยมาก่อน (Meeboon, 2007; To-Anun et al., 2011)



ภาพที่ 4.9 เชื้อรา *Cercospora brassicicola* บนคะน้า (*Brassica albogabra*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D-F. Conidiophores และ conidiogenous cells G. Conidia H. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-H: scale bar = 10 μ m) I. โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-33)

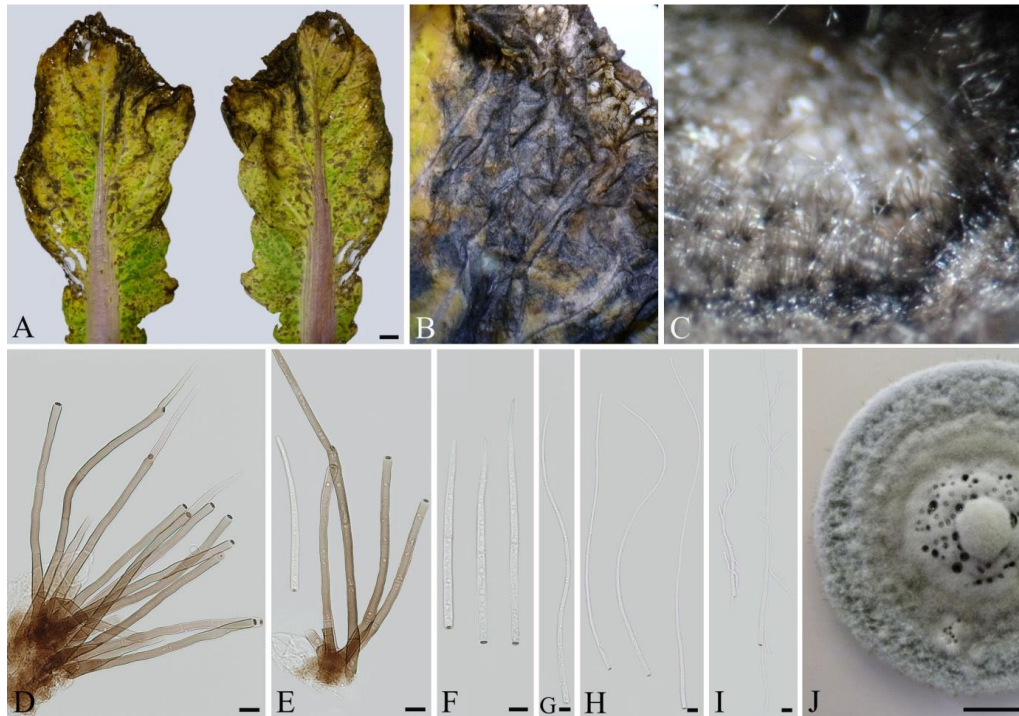
แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-10 mm และเชื่อมต่อกันเป็นแผลใบไหม้ขนาด 30-40 mm มีสีน้ำตาลอ่อนและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มบริเวณขอบแผล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous กระจายอยู่เป็นกลุ่มในแผล *Stromata* แบบ substomatal-intraepidermal ขนาด 25-40 μ m มีสีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells และ stromata cells มีรูปร่างค่อนข้างตรง ลักษณะเป็นทรงกระบอกขนาด 5-

6 × 125–240 (–250) µm มีผนังกัน (2–) 3–8 (–9) -septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีน้ำตาลเข้มและจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวบ้างเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 3–4 µm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้ง รูปร่างเป็นแบบ filiform–narrowly obclavate ขนาด (3–) 4–5 × (35–) 70–300 (–380) µm มีผนังกัน (2–) 6–22 (–29) -septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานแบบ truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ subacicular–subobtuse *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 2–3 µm *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.10)

Cultures: โคลนนี้มีผิวขรุขระเล็กน้อยสีขาวเทา ขอบเรียบสีขาว มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบผักกาดขาว (*Brassica rapa*), 16 ส.ค. 2556, herbarium: HY–33, cultures: Y–33= Y–33.2, Y–33.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* sp. บน *Brassica rapa* (ตารางที่ 4.8) โดยจากตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y–33 พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ เชื้อรา *Cercospora brassicicola* ซึ่งพบบนพืชอาศัยชนิดนี้เพียงสปีชีส์เดียว อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y–33 กับเชื้อราไอโซเลทที่ Y–27 ซึ่งเป็นเชื้อรา *Cercospora brassicicola* ที่พบบน *Brassica albroglabra* พบว่ามีความแตกต่างกันเกินกว่าที่จะเป็นเชื้อราสปีชีส์เดียวกันได้ โดยตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y–33 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อรา *Cercospora apii* ที่ซึ่งพบว่าปรากฏบนพืชอาศัยที่หลากหลายมากกว่าเชื้อรา *Cercospora brassicicola* ที่พบบนพืชในวงศ์ *Brassicaceae*



ภาพที่ 4.10 เชื้อรา *Cercospora apii* บนผักกาดขาว (*Brassica rapa*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D-E. Conidiophores และ conidiogenous cells E-H. Conidia I. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-I: scale bar = 10 μ m) J. โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora brassicicola* บนพืชจื๋นัส *Brassica* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora brassicicola</i>	<i>Brassica alboglabra</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata small or up to 50 µm wide.	3.5–6 × 25–500 µm (2–18 in a fascicle), multiseptate, geniculate, pale olivaceous–medium brown	2–5 × 25–200 µm, indistinctly straight–curved, hyaline.	Hsieh and Goh (1990)
	<i>Brassica alboglabra</i> , <i>Brassica campestris</i> , <i>Brassica pekinensis</i> , <i>Brassica juncea</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata 12.5–19.5 µm diam.	3.5–5 × 24.5–64 µm (6–11 in loose–dense fascicles), 1–3-septate, straight–decumbent, unbranched, geniculate near the apex, cylindrical.	2.5–5 × 54–135 µm, 7–4-septate, obclavate–subacicular, slightly curved, hyaline.	Meeboon (2009), To–Anun <i>et al</i> (2011)

*พบเชื้อราจื๋นัส *Cercospora brassicicola* เพียงสปีชีส์เดียวบนคะน้า (*Brassica alboglabra*)

ตารางที่ 4.8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora brassicicola* บนผักกาดขาว (*Brassica rapa*)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora brassicicola</i>	<i>Brassica rapa</i>	Leaf spots	Amphigenous, Stromata small or up to 50 μ m wide.	3.5–6 $\times$ 25–500 μ m (2–18 in a fascicle), multiseptate, 0–2 geniculate, pale olivaceous–medium brown.	2–5 $\times$ 25–200 μ m, indistinctly multiseptate, acicular, straight–curved, hyaline.	Hsieh and Goh (1990).
	<i>Brassica rapa</i>	Leaf spots	Amphigenous, Stromata 12.5–19.5 μ m diam.	3.5–5 $\times$ 24.5–64 μ m (6–11 in loose–dense fascicles), 1–3-septate, straight–decumbent, unbranched, geniculate near the apex, cylindrical,	2.5–5 $\times$ 54–135 μ m, 7–4-septate, obclavate–subacicular, straight, slightly curved, hyaline.	Meeboon (2009), To–Anun <i>et al</i> (2011).

*พบเชื้อราจีนัส *Cercospora brassicicola* เพียงสปีชีส์เดียวบนผักกาดขาว *Brassica rapa*

Family Combretaceae

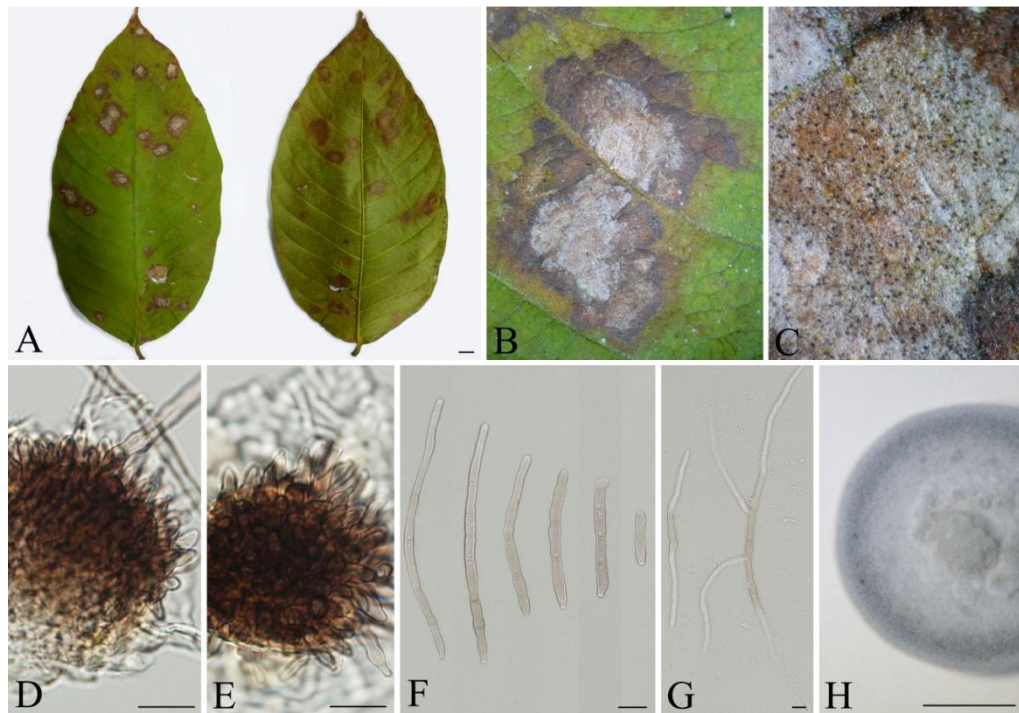
เชื้อรา *Pseudocercospora* sp. (Y-41)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10–15 mm มีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีเทาและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มบริเวณขอบซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจน พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบที่ epiphyllous อยู่กระจายทั่วทั้งภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal–intraepidermal รูปร่างกลม ขนาดประมาณ 40–50 μm สีน้ำตาลเข้มถึงเกือบดำ *Conidiophores* แบบ dense fascicles เกิดผ่านทาง epidermal cells มีรูปร่างค่อนข้างตรง ขนาด $2.5\text{--}4 \times (6\text{--}) 10\text{--}20 \mu\text{m}$ ไม่ปรากฏผนังกันเซลล์ ผิวเรียบ ตรงถึงคดไปมาเล็กน้อย มีสีน้ำตาลอ่อน ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่มี terminal และ lateral *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน *Conidia* แบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างแบบ subcylindrical–cylindrical โดยส่วนปลายทั้งสองข้างจะแคบลงเล็กน้อย ขนาด $3\text{--}4 \times (12\text{--}) 20\text{--}82\text{--}(88) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (0–) 1–5-septate มีหยดน้ำมัน สีน้ำตาลเทา ส่วนฐานมีลักษณะแบบ subtruncate ส่วนปลายมีลักษณะแบบ obtuse *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.11)

Cultures: โคลนนี้มีลักษณะคล้ายก้ำมะหยีตรงกลางของโคลนนี้สูงชันขรุขระไม่เสมอกัน เล็กน้อย มีสีขาวเทาผิวเรียบ ขอบเรียบสีเทา ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. ลำปาง อ. เมืองปาน อุทยานแห่งชาติแจ้ซ้อน พบบนใบสะแกเถา (*Combretum procurum*), 8 ม.ค. 2556, herbarium: HY-41, cultures: Y-41=Y-41.2, Y-41.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Combretum* spp. (ตารางที่ 4.19) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-41 ที่พบบน *Combretum procurum* มีความแตกต่างจากเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. ที่เคยมีรายงานมาก่อน โดยตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-41 มีลักษณะดังนี้ *Stromata* มีสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ *Conidiophores* ขนาดสั้น $2.5\text{--}4 \times (6\text{--}) 10\text{--}20 \mu\text{m}$ และ *Conidia* มีสีน้ำตาล–น้ำตาลเข้ม สามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน



ภาพที่ 4.11 เชื้อรา *Pseudocercospora* sp. บนสะแกเถา (*Combretum procurum*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ(ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D-E. Conidiophores และ conidiogenous cells F. Conidia G. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-G: scale bar = 10 μ m) H. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Combretum* spp.

species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora combreticola</i>	<i>Combretum</i> sp.	Leaf spots	Hypophyllous, stromata 10–30 µm in diam.	3–8 × 5–60 µm, 0–6-setate, small–moderately large fascicles, loose–moderately dense dense, subcylindrical–moderately geniculate sinuous, unbranched–rarely branched, smooth, pale olivaceous.	2–4 × 25–90 µm, 1–9 (–10)-setate, short chains, narrowly cylindrical or obclavate–cylindrical, smooth, subhyaline–pale olivaceous.	Braun and Freire (2003)
<i>Pseudocercospora combretigena</i>	<i>Combretum</i> sp.	Leaf spots	Epiphyllous, stromata 30–50 µm in diam.	3–5 × 50–100 µm, 0–2 (–3)-setate, erect, filiform, sometimes sinuous, but hardly geniculate, unbranched, olivaceous–brown.	3–4 × 40–70 µm, 3–7-setate, obclavate–subcylindrical, smooth, subhyaline–pale olivaceous.	Braun (2001)

Family Convolvulaceae

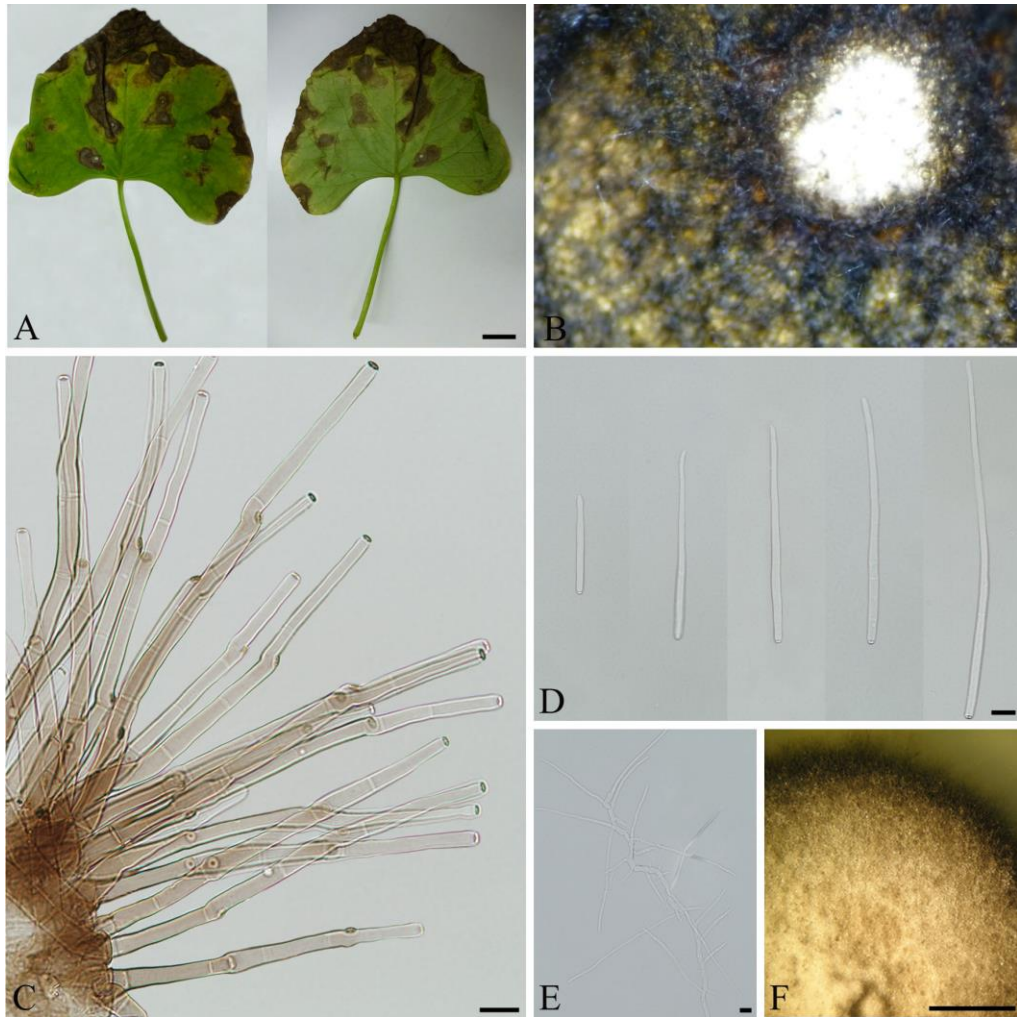
เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-07)

แผลใบจุดกลมถึงรูปร่างไม่แน่นอนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5–10 mm และเชื่อมต่อกันคล้ายแผลใบไหม้ขนาดประมาณ 20 mm กลางแผลมีสีขาวยาวเท่าถึงสีน้ำตาลอ่อนและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำบริเวณขอบแผล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบที่ amphigenous กระจายอยู่ทั่วทั้งแผล *Stromata* เป็นแบบ subepidermal ขนาด 30–40 μm สีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* แบบ fascicles เกิดผ่านทางปากใบ และ epidermal cells มีรูปร่างตรง ลักษณะเป็นทรงกระบอก ขนาด $5-6 \times (40-60-150-175) \mu\text{m}$ มีผนังกัน 3–5 (–6) -septate ผิวเรียบ มีสีน้ำตาลอ่อน ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial มี 1–3 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal และ lateral (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal *Conidiogenous loci* หนาดำ ขนาด 2–3 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างแบบ subcylindrical–cylindrical ขนาด $3-4 \times (50-70-155) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (5–) 8–13 (–15) -septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานโค้งตัดตรงถึงตัดตรง ส่วนปลาย conidia ค่อนข้างทุ้งถึงทุ้ง *Hila* หนาดำและหักเหของแสงอย่างชัดเจน ขนาด (1–) 2–3 μm *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.12)

Cultures: โคโลนีค่อนข้างเรียบสีขาวยาว ขอบมีสีเขียวซีม้ำเข้มค่อนข้างเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงราย อ. แม่ฟ้าหลวง พระตำหนักดอยตุง พบบนใบผักบุ้งฝรั่ง (*Ipomoea* sp.), 3 ก.พ. 2556, herbarium: HY-07, cultures: Y-07=Y-07.2, Y-07.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Ipomoea* spp. (ตารางที่ 4.10) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-7 ที่พบบน *Ipomoea* sp. คือเชื้อรา *Cercospora apii*



ภาพที่ 4.12 เชื้อรา *Cercospora apii* บนผักบุ้งฝรั่ง (*Ipomoea* sp.): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (ceaspituli) C. Conidiophores และ conidiogenous cells D. Conidia E. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C-E: scale bar = 10 μ m) F. โคลนเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

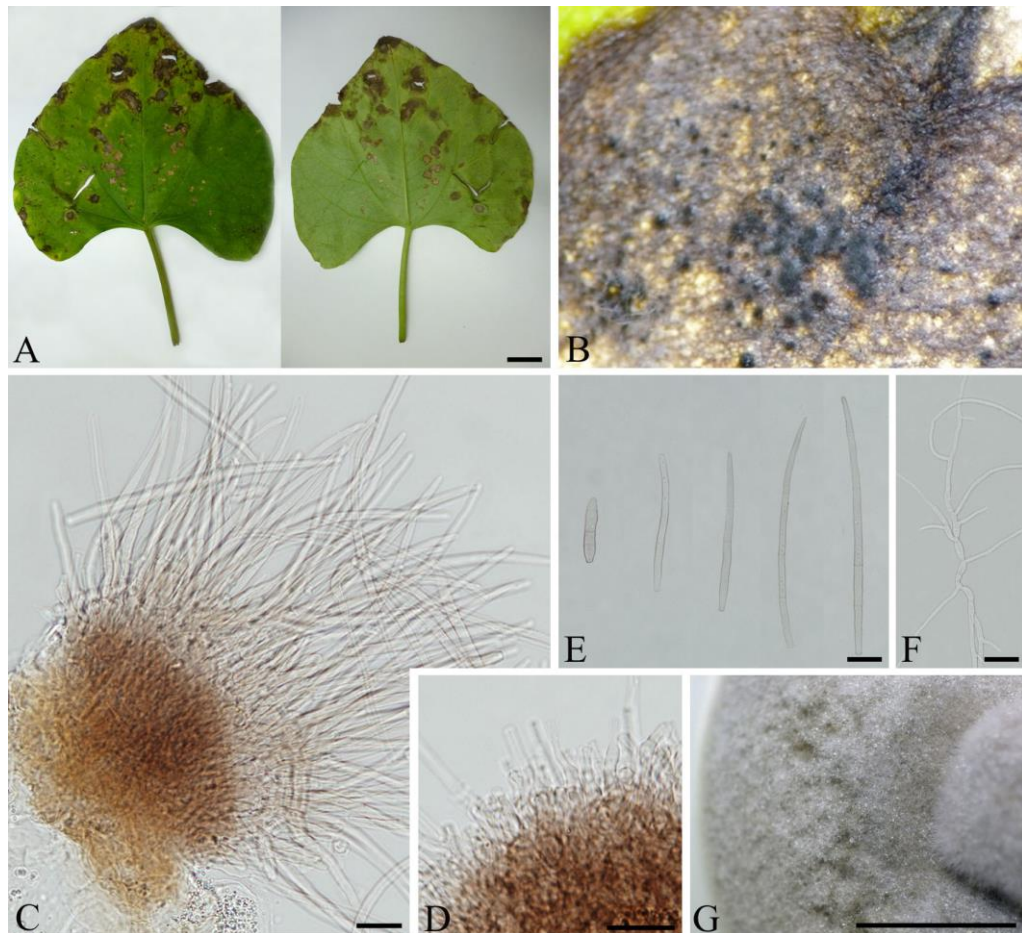
เชื้อรา *Pseudocercospora* sp. (Y-08)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–10 mm มีสีน้ำตาลเทาและเข้มขึ้นเล็กน้อย กลายเป็นสีน้ำตาลบริเวณขอบแผล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบที่ amphigenous แต่พบมากที่ epiphyllous อยู่เป็นกระจุกปรากฏกลางแผล *Stromata* แบบ substomatal รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาด 75–100 μm สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* แบบ dense fascicles เกิดผ่านทาง epidermal cells และทางปากใบ รูปร่างตรงถึงหักงอที่ส่วนปลาย ขนาด $2\text{--}2.5 \times (12\text{--}) 14\text{--}20 \mu\text{m}$ มีผนังกัน 0–1-septate ผิวเรียบ สีน้ำตาลอ่อนถึงเกือบใสไม่มีสีที่ปลาย ส่วนใหญ่ไม่แตกแขนง (บางก้าน conidiophores พบว่ามีการแตกแขนง) *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial โดยพบว่าเกิดที่ terminal *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน *Conidia* เกิดแบบ solitary ลักษณะโค้งเล็กน้อย สั้นถึงเรียวยาว รูปร่างแบบ subcylindrical–cylindrical ขนาด $2\text{--}3 \times (20\text{--}) 27\text{--}70\text{--}(75) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (3–) 4–6 (–8) -septate มีหยดน้ำมัน เกือบใสไม่มีสีถึงสีเทา ส่วนฐานลักษณะแบบ truncate และอาจแคบเรียวลงเล็กน้อยถึงส่วนปลายของ conidia ส่วนปลายลักษณะแบบ acicular–obtuse *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.13)

Cultures: โคลนีสมีลักษณะคล้ายก้ามหอยตรงกลางนูนสูงขึ้นชัดเจน สีเทาผิวเรียบ ขอบเรียบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงราย อ. แม่ฟ้าหลวง พระตำหนักดอยตุง พบบนใบผักบุ้งฝรั่ง (*Ipomoea* sp.), 3 ก.พ. 2556, herbarium: HY-08, cultures: Y-08=Y-08.2, Y-08.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. (ตารางที่ 4.11) ทั้งสองสปีชีส์ที่เคยมีรายงานว่าพบบนพืชจีนัส *Ipomoea* spp. พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลต์ที่ Y-8 มีความแตกต่างจากตารางเปรียบเทียบคือ *Caespituli* พบมากที่ epiphyllous *Stromata* กลม ขนาดค่อนข้างใหญ่ 75–100 μm *Conidiophores* มีขนาดค่อนข้างสั้น $2\text{--}2.5 \times (12\text{--}) 14\text{--}20 \mu\text{m}$ บางครั้งพบว่าการแตกแขนงที่ส่วนปลายก้าน



ภาพที่ 4.13 เชื้อรา *Pseudocercospora* sp. บนผักบุ้งฝรั่ง (*Ipomoea* sp.): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) C-D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C-F: scale bar = 10 μ m) G. โคลนเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

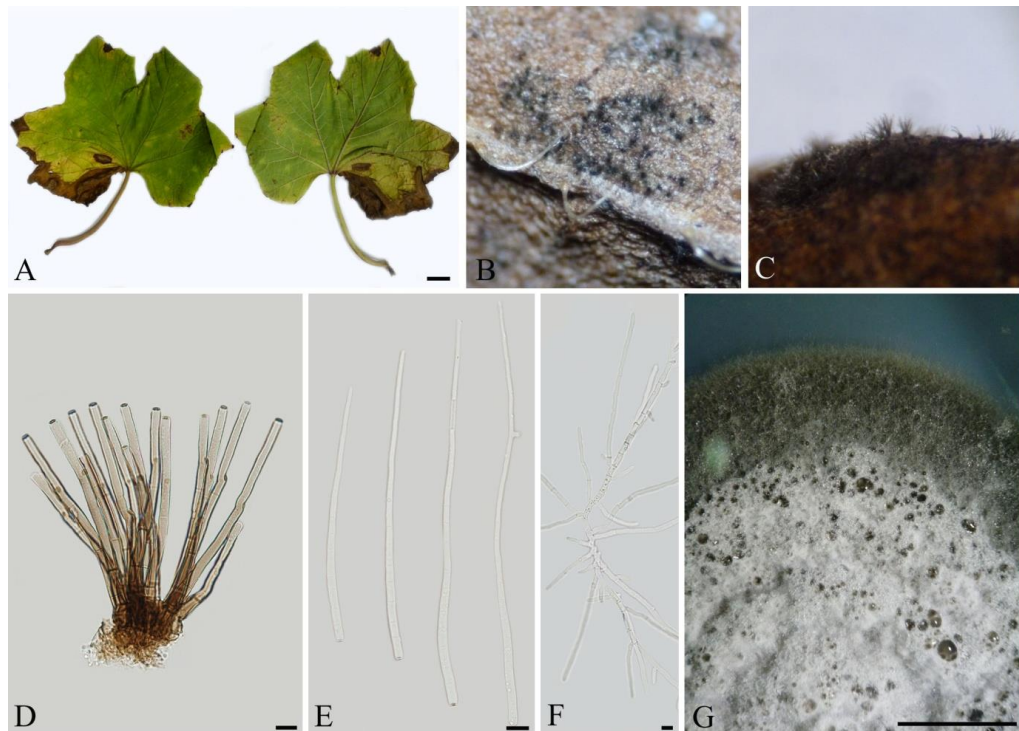
เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-20)

แผลใบไหม้ขนาดความยาวประมาณ 20–30 mm เกิดบริเวณขอบใบ มีสีน้ำตาลเข้ม พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous กระจายอยู่ภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal ขนาด 20–60 μm มีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells และ stromata cella มีรูปร่างค่อนข้างตรง ลักษณะเป็นทรงกระบอก ขนาด $5-6 \times (45-50-120) \mu\text{m}$ มีผนังกัน 2–3-septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีเข้มและจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1–2 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 2–3 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างเป็นแบบ narrowly obclavate ขนาด $4-5 \times (75-100-210-310) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (7–) 10–15 (–17) -septate ใสไม่มีสี ปรากฏหยดน้ำมัน ส่วนฐานแบบ subtruncate–truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ subacicular–slightly obtuse *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 2–3 μm *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.14)

Cultures: โคลนเชื้อราไม่สม่ำเสมอ มีสีขาวเทาตรงกลาง ขอบมีสีเขียวซีมำค่อนข้างเรียบ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–4 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง สถานีวิจัยแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบจิงจ้อเหลือง (*Merremia vitifolia*), 10 มิ.ย. 2556, herbarium: HY-20, cultures: Y-20=Y-20.2, Y-20.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจิงจ้อ *Merremia* spp. (ตารางที่ 4.12) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-20 คือเชื้อรา *Cercospora apii* ซึ่งเคยมีรายงานว่าพบบน *Merremia umbellate* (Meeboon, 2009; To-Anun, 2011)



ภาพที่ 4.14 เชื้อรา *Cercospora apii* บนจิงจ้อเหลียง (*Merremia* sp.): A. อาการใบไหม้ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B–C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (D–F: scale bar = 10 μ m) G. โคลนเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Ipomoea* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora alabamensis</i>	<i>Ipomoeae acuminata</i> , <i>Ipomoeae hederacea</i> , <i>Ipomoeae pescaprae</i> , <i>Ipomoeae purpurea</i> .	Leaf spots	–	4–5 × 50–100 µm (fascicles numerous), mutiseptate, nearly straight, denticulate, or abruptly shouldered, straight–curved, hyaline.	3–4 × 70–250 µm, mutisuptate, straight–curved, hyaline.	Atkinson (1892)
<i>Cercospora apii</i>	<i>Ipomoeae illustris</i>	Leaf spots	Amphigenous	4–6.5 × 20–300 µm, short–long, geniculate to non–geniculate, pale brown.	3–6 × 25–315 µm, acicular, straight–strongly curved, hyaline.	Chupp (1954), Crous and Braun (2003).
<i>Cercospora citrullina</i> = <i>Cercospora apii</i>	<i>Ipomoeae nil</i> (Thailand).	Leaf spots	Epiphyllous, stomata none to small.	4–5.5 × 50–300 µm, rarely 6.5 × 500 µm, multiseptate, single or in spreading fascicles of 2–30, straight– slightly bent or curved, geniculations, unbranched, pale brown–brown.	2–4 × 50–220 µm, or even as large as 5.5 × 450 µm, multiseptate, acicular, almost never obclavate, straight–strongly curved, hyaline.	Cooke (1883), Meeboon (2009), To–Anun <i>et al.</i> (2011).

ตารางที่ 4.10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Ipomoea* spp. (ต่อ)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora ipomoea</i> = <i>Cercospora apii</i>	<i>Ipomoeae</i> <i>acuminata</i> , <i>Ipomoeae alba</i> . <i>Ipomoeae aquatica</i> (Thailand), <i>Ipomoeae</i> <i>batatas</i> and other species., <i>Meremia</i> <i>vitifolia</i> .	Leaf spots	Amphigenous, stromata well- developed, 24- 40 µm in diam.	3-5 × 13.5-134 µm, 2-3- septate, loose -dense fascicle, straight-decumbent, subcylindrical, geniculate- sinuous, pale yellow-pale brown.	3-3.5 × 44.5-143 µm, 6-15-septate, solitary, narrowly obclavate- subacicular, straight, hyaline.	Meeboon (2009), To-Anun <i>et al.</i> (2011).
<i>Cercospora</i> <i>varanasiana</i>	<i>Ipomoeae</i> sp.	Leaf spots	Epiphyllous, stromate poorly developed	3-6 × 35-89 µm, 2-3-septate, oliveous brown.	1.4-4.5 × 30-78 µm, 2-7-septate, clavate, hyaline-subhyaline.	Pavgi and Singh (1964)
<i>Cercospora viridula</i>	<i>Ipomoeae Purpurea</i> , <i>Ipomoeae</i> sp.	Leaf spots	-	-	4 × 70-80 um, 6-8- septate, subcylindrical but narrowed above, subhyaline.	Ellis and Everhart (1889)

ตารางที่ 4.11 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Ipomoeae* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora haldibariensis</i>	<i>Ipomoeae grandiflora</i> , <i>Ipomoeae longiflora</i> .	Leaf spots	Hypophyllous, stromata substromata, subglobose, 20–40 µm in diam.	3–3.5 × 30–340 µm (very densely fasciculate–symnematos), mutiseptate, filiform, flexuous, unbranched, pale–dark olivaceous–brown.	(3–) 4–7 × 40–100 µm, 2–10-septate, obclavate–cylindrical, smooth, subhyaline–olivaceous.	Braun (2001)
<i>Pseudocercospora timorensis</i>	<i>Ipomoeae aculeata</i> , <i>Ipomoeae asarifolia</i> , <i>Ipomoeae batatas</i> , <i>Ipomoeae cymosa</i> , <i>Ipomoeae indica</i> and other species.	Leaf spots	Mainly hypophyllous.	3–5 × 5–50 µm, 1–3-septate, with 0–2 slight geniculations, pale golden brown.	2–5 × 50–100 µm, 3–8-septate, cylindric–obclavate, straight–slightly curved, hyaline –pale straw coloured.	Deighton (1976)

ตารางที่ 4.12 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Merremia* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora ipomoea</i> = <i>Cercospora apii</i>	<i>Merremia umbellata</i> .	Leaf spots	Amphigenous, stromata well-developed 24–40.	3–5 × 13.5–134 µm, 2–3-septate, loose–dense fascicle, straight–decumbent, subcylindrical, geniculate–sinuous, pale yellow–pale brown.	3–3.5 × 44.5–143 µm, 6–15-septate, solitary, narrowly obclavate–subacicular, straight, hyaline.	Meeboon (2009), To–Anun <i>et al.</i> (2011)
<i>Cercospora merremiae</i> Pseudocercospora–form	<i>Merremia emerginata</i> , = <i>Merremia gemella</i> .	Leaf spots		3–3.6 × 15–35 µm, 0–1-septate, pale olivaceous.	3–4.5 × 30–80 µm, obclavate, concolorous.	Chupp (1954)

Family Euphorbiaceae

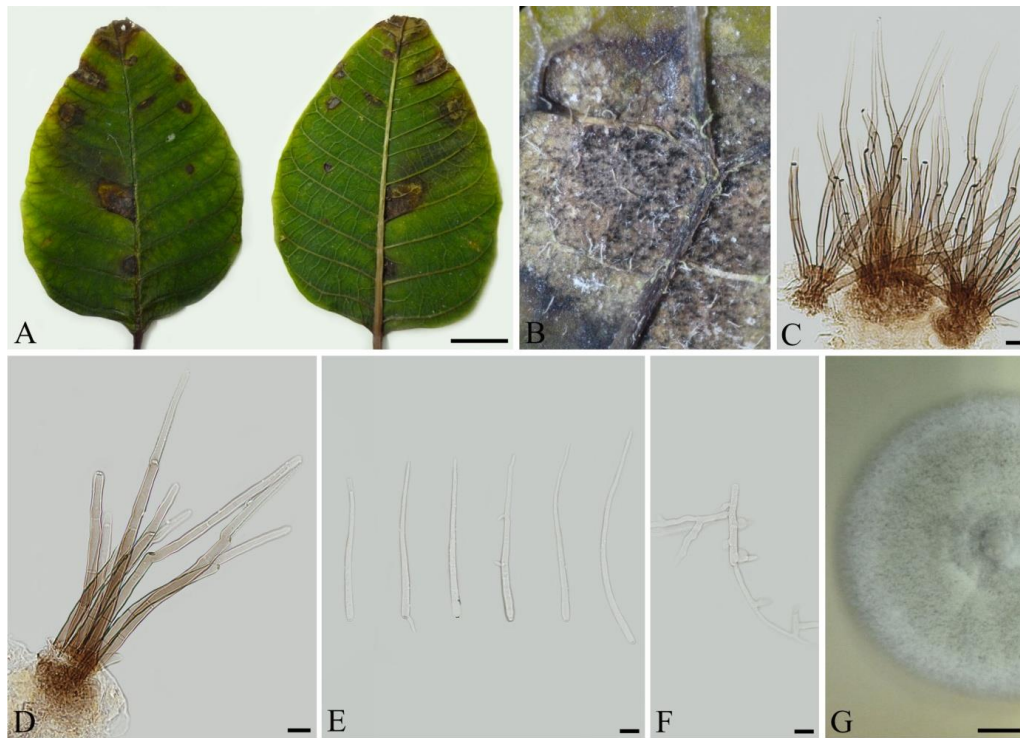
เชื้อรา *Cercospora pulcherrimae* (Y-6)

แผลใบจุดค่อนข้างกลมถึงเหลี่ยมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–10 mm มีสีน้ำตาลและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำบริเวณขอบ พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบที่ amphigenous แต่ส่วนใหญ่พบที่ hypophyllous อยู่กระจายภายในแผล *Stromata* เป็นแบบ substomatal รูปร่างกลมถึงค่อนข้างกลม ขนาด 25–60 μm สีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles พบว่าสามารถเกิดผ่านทางปากใบได้ มีรูปร่างตรงถึงโค้งเล็กน้อย ลักษณะเป็นทรงกระบอก ขนาด $5\text{--}6 \times (50\text{--}) 80\text{--}100\text{--}(110) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (1–) 3–4 (–5) -septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีน้ำตาลและจางลงสู่ส่วนปลายของ conidiophores ส่วนปลายไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial มี 1 (–2) โดยสามารถเกิดที่ terminal และ lateral ที่ทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal *Conidiogenous loci* หนาดำ ขนาด 2–3 μm *Conidia* แบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้ง มีรูปร่างแบบ narrowly obclavate–subcylindrical ขนาด $4\text{--}5 \times (65\text{--}) 80\text{--}130\text{--}(150) \mu\text{m}$ มีผนังกัน 3–8 (–10) -septate มีหยดน้ำมันใสไม่มีสี ส่วนฐานโค้งตัดตรง และเรียบแคบลงถึงส่วนปลายของ conidia ส่วนด้านปลายทุ่เล็กน้อยถึงเกือบแหลม *Hila* หนาดำและหักเหแสงชัดเจน ขนาด 2–3 μm *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.15)

Cultures: โคลนีเรียบมีสีขาวเทา ขอบเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3.5–4 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. จอมทอง สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ พบบนใบคริสต์มาส (*Euphorbia* sp.), 27 ม.ค. 2556, herbarium: HY-06, cultures: Y-06=Y-06.2, Y-06.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บน *Euphorbia* spp. (ตารางที่ 4.13) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-6 คือเชื้อรา *Cercospora pulcherrimae* อย่างไรก็ตามเคยมีรายงานการพบเชื้อราชนิดนี้บนคริสต์มาส (*Euphorbia pulcherrimae*) จากประเทศไทยมาก่อน (Meeboon, 2006)



ภาพที่ 4.15 เชื้อรา *Cercospora pulcherrimae* บนคริสต์มาส (*Euphorbia* sp.): A. อาการใบจุด ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุดและกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) C–D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C–F: scale bar = 10 μ m) G. โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

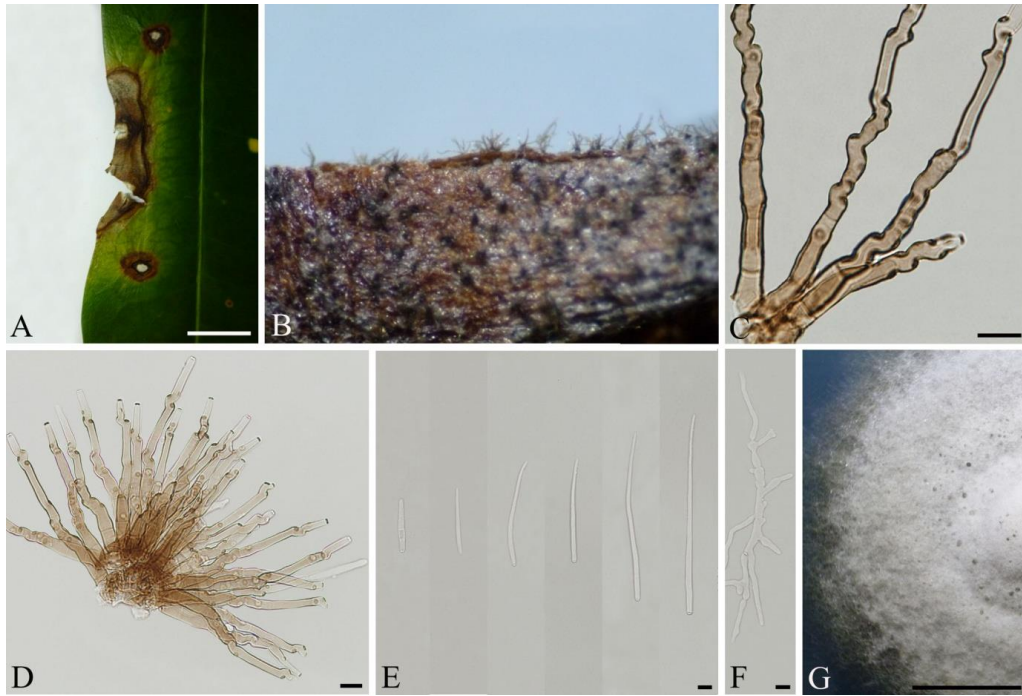
เชื้อรา *Cercospora* sp. (Y-13)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10–20 mm กลางแผลมีสีเทาและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำบริเวณขอบแผล ขอบแผลนูนสูงขึ้นชัดเจน พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบที่ amphigenous อยู่กระจายทั่วทั้งแผล *Stromata* พบแบบ substomatal ขนาด 25–45 μm มีสีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles เกิดโดยผ่านทาง epidermal cells และ stromata cells มีทั้งรูปร่างตรงถึงเอียงเป็นแบบแนวนอน ลักษณะเป็นทรงกระบอกตรงถึงหักงอหรือคดเคี้ยวเนื่องจากเป็นตำแหน่งของ conidiogenous loci ขนาด (5–) 6–7 $\times$ (55–) 70–90 (–110) μm มีผนังกัน 3–5 (–6) -septate ผิวเรียบ ส่วนของฐานมีสีเข้มและจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial มี 3–4 (–6) loci เกิดที่ terminal และ lateral จนทำให้ conidiogenous cell มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal *Conidiogenous loci* หนาดำ ขนาด 1–3 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อยรูปร่างแบบ narrowly obclavate–subcylindrical ขนาด 3–5 $\times$ (25–) 55–120 (–135) μm มีผนังกัน (3–) 8–14 (–21) -septate ส่วนฐานโค้งตัดตรงถึงตัดตรง ส่วนกลาง conidia มีทั้งแบบกว้างกว้างปลายทั้งสองด้าน และแบบเรียวแคบลงเล็กน้อยจนถึงส่วนปลาย conidia ส่วนปลายพู่จนถึงเกือบแหลม *Hila* หนาดำและหักเหแสงชัดเจน ขนาด 1–3 μm *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.16)

Cultures: ผิวของโคโลนีค่อนข้างเรียบมีสีเทา ตรงกลางนูนสูงขึ้นเล็กน้อย ขอบค่อนข้างเรียบสีเทา เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงราย อ. แม่ฟ้าหลวง พระตำหนักดอยตุง พบบนใบโกสน (*Codiaeum variegatum*), 12 ก.พ. 2556, herbarium: HY-13, cultures: Y-13=Y-13.2, Y-13.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Codiaeum* spp. (ตารางที่ 4.14) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-13 มีความแตกต่าง โดยลักษณะที่พบว่าตัวอย่างเชื้อราต่างไปจากในสปีชีส์ที่เคยพบคือ *Conidiophores* มีลักษณะคดงอ (geniculate) จำนวนมาก *Conidiogenous cells* มีส่วนของ conidiogenous loci มากถึง 3–4(–6)



ภาพที่ 4.16 เชื้อรา *Cercospora* sp. บนโกสน (*Codiaeum variegatum*): A. อาการใบไหม้ ด้านหน้าใบ (scale bar = 1 cm) B. ลักษณะกลุ่มโครงสร้างของเชื้อรา (caespituli) C. Conidiophores และ conidiogenous cells D. Conidia E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (scale bar = 10 μ m) G. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-14)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 mm กลางแผลมีสีขาวเทาและเข้มขึ้น กลายเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงม่วงบริเวณขอบแผล ขอบแผลนูนสูงขึ้นชัดเจน พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous แต่มีมากที่ hypophyllous อยู่กระจายทั่วภายในแผล *Stromata* เป็นแบบ substomatal ขนาด 30–80 μm มีสีน้ำตาล *Conidiophores* แบบ fascicles เกิดผ่านทาง epidermal cells และ stroma cells มีรูปร่างตรงถึงโค้งเล็กน้อย เอียงเป็นแนวนอน ลักษณะเป็นทรงกระบอก ขนาด $4-6 \times (40-60-135-150) \mu\text{m}$ มีผนังกัน 2-5 (-6) -septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีน้ำตาลเข้มและสีจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial มี 1-2 (-3) loci โดยพบว่าเกิดที่ terminal และ lateral ซึ่งอาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal *Conidiogenous loci* หนาดำ ขนาด 2-3 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างแบบ narrowly obclavate-subcylindrical ขนาด $4-5 \times (40-60-130-160) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (4-) 7-14 (-16) -septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานโค้งตัดตรง และเรียวแคบลงถึงปลาย conidia ส่วนปลายค่อนข้างพู่ถึงเกือบแหลม *Hila* หนาดำและหักเหแสงชัดเจน ขนาด 2 (-3) μm *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.17)

Cultures: ผิวของโคโลนีค่อนข้างเรียบ มีสีขาวตรงกลาง ขอบค่อนข้างเรียบมีสีเทาถึงเขียวเข้ม มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.5–3 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงราย อ. แม่ฟ้าหลวง พระตำหนักดอยตุง พบบนใบโกสน (*Codiaeum variegatum*), 12 ก.พ. 2556, herbarium: HY-14, cultures: Y-14=Y-14.2, Y-14.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืช จินัส *Codiaeum* spp. (ตารางที่ 4.14) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-14 คือเชื้อรา *Cercospora apii* และนอกจากนี้ยังเคยมีรายงานว่าพบเชื้อรา *Cercospora apii* บนโกสน (*Codiaeum* sp.) จากประเทศไทยมาก่อน (Meeboon, 2009; To-Anun et al., 2011)



ภาพที่ 4.17 เชื้อรา *Cercospora apii* บนโกสน (*Codiaeum variegatum*) : A. อาการใบจุด ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) C-D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C-F: scale bar = 10 μ m) G. โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

เชื้อรา *Cercospora* sp. (Y-17)

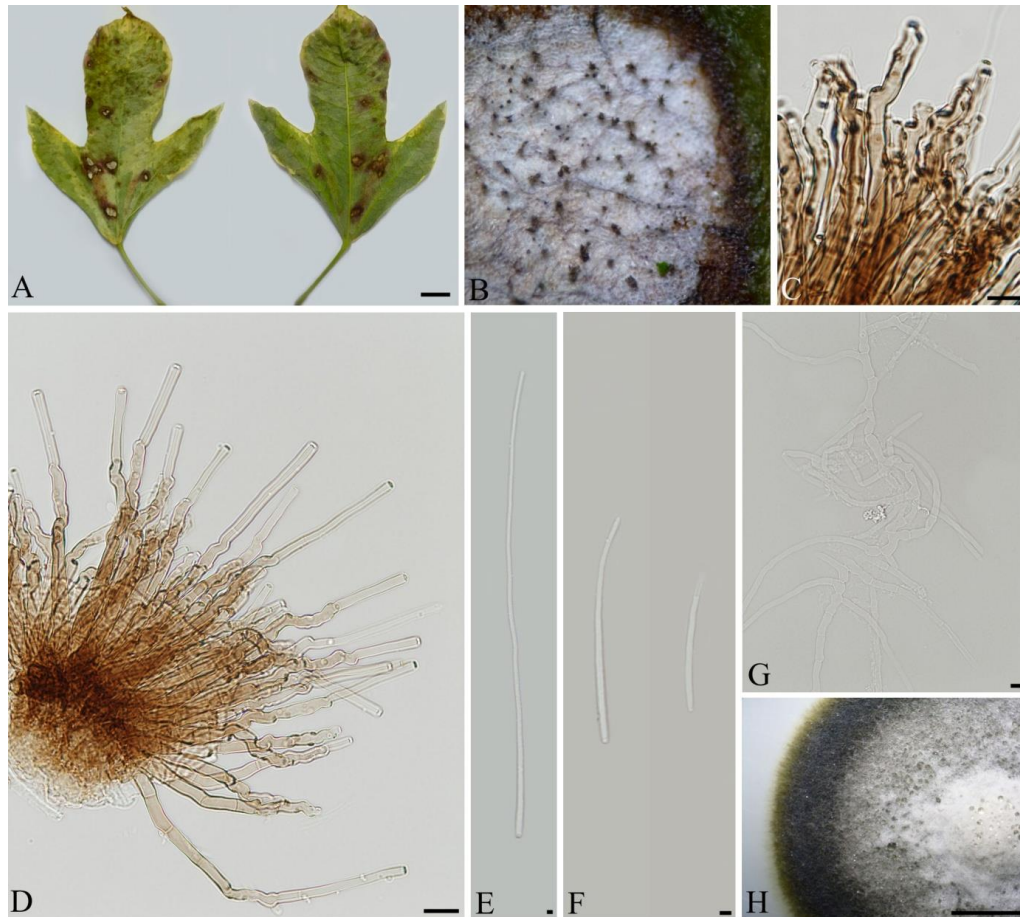
แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 mm มีสีเทาและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงม่วงเข้มบริเวณขอบแผลซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจน พบทั้งด้านหน้าใบและหลังใบ *Caespituli* พบที่ epiphyllous อยู่กระจายทั่วแผล *Stromata* แบบ substomal–intraepidermal รูปร่างค่อนข้างกลมขนาด 20–60 μm สีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* แบบ fascicles เกิดผ่านทาง epidermal cells และ stroma มีรูปร่างตรงถึงเอียงเป็นแนวนอน ลักษณะเป็นทรงกระบอก ถึงหักงอหรือคดเคี้ยว ขนาด $5\text{--}6 \times (65\text{--}) 70\text{--}230\text{--}(240) \mu\text{m}$ มีผนังกัน 4–7 (–9) -septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีน้ำตาลและสีจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial มี (1–) 2–5 (–7) loci โดยเกิดที่ terminal และ lateral จนทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal *Conidiogenous loci* หนาดำ ขนาด 3 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างแบบ subcylindrical–cylindrical ขนาด $4\text{--}5\text{--}(6) \times (40\text{--}) 200\text{--}360 \mu\text{m}$ มีผนังกัน (4–) 9–30 (–32) -septate มีหยดน้ำมัน ใสไม่มีสี ส่วนฐานโค้งตัดตรง อาจเรียวแคบลงเล็กน้อยถึงส่วนปลาย conidia ส่วนปลายหุ้ม *Hila* หนาดำและหักเหแสงชัดเจน ขนาด 2–3 μm *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.18)

Cultures: โคโลนีค่อนข้างเรียบมีสีเทาตรงกลางและนูนสูงขึ้น ขอบมีสีเขียวซีดมาเข้มค่อนข้างเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง ต. แม่เหิยะ อุทยานหลวงราชพฤกษ์ พบบนใบเข็มปัดตาเวีย (*Jatropha integerrima*), 14 ก.พ. 2556, herbarium: HY-17, cultures: Y-17=Y-17.2, Y-17.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Jatropha* spp. (ตารางที่ 4.15) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-17 ที่พบบนเข็มปัดตาเวีย (*Jatropha* sp.) มีความแตกต่างไปจากเชื้อราที่เคยมีรายงานการค้นพบมาก่อน ตัวอย่างไอโซเลทที่ Y-17 มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาค่อนข้างใกล้เคียงกับตัวอย่างไอโซเลทที่ Y-13 ที่พบบนโกสน (*Codiaeum* sp.) โดยลักษณะที่มีความเหมือนกันคือ *Conidiophores* มีลักษณะคดงอ (geniculate) จำนวนมาก *Conidiogenous loci* มี (1–) 2–5 (–7) loci ต่อ conidiogenous cells เมื่อเทียบกับเชื้อราไอโซเลทที่ Y-13 ที่มี 3–4 (–6) loci อย่างไรก็ตาม ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เหมือนหรือใกล้เคียง

กันอาจเป็นไปได้ว่าเชื้อรา *Cercospora* sp. ไอโซเลทที่ Y-13 และ Y-17 อาจมีความจำเพาะกับพืชในวงศ์ *Euphobiaceae* ซึ่งลักษณะดังกล่าวถือเป็นลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อน แม้ว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-17 จะมี conidiophores และ conidia ที่ค่อนข้างยาวกว่าบ้างก็ตาม



ภาพที่ 4.18 เชื้อรา *Cercospora* sp. บนเข็มปัดตาเวีย (*Jatropha integerrima*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุดและกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) C-D. Conidiophores และ conidiogenous cells E-F. Conidia G. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C-G: scale bar = 10 μ m) H. โคลนเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

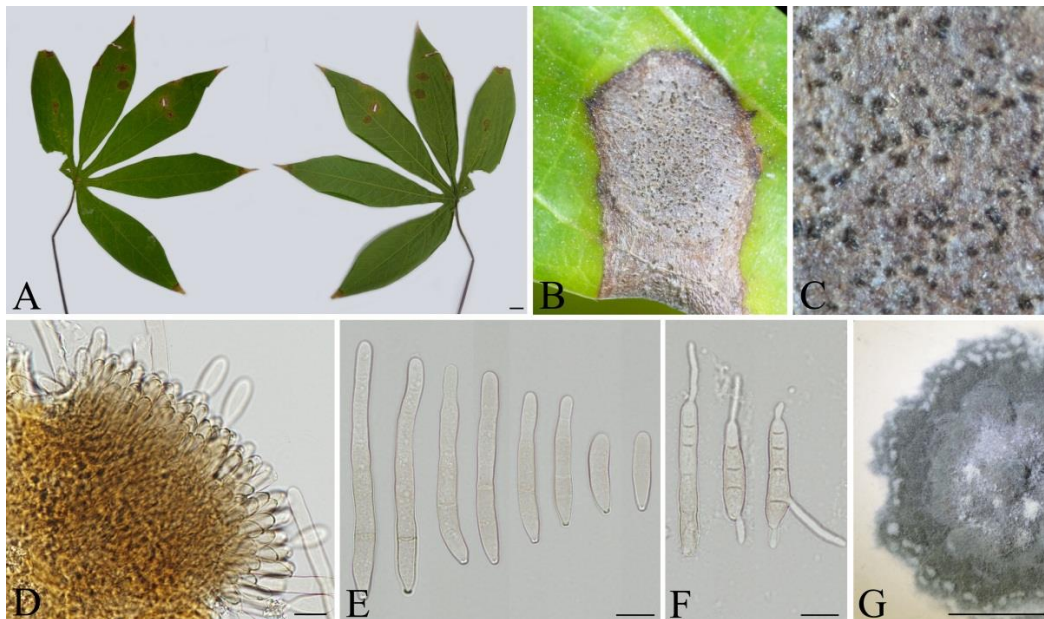
เชื้อรา *Passalora manihotis* (Y-43)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5–10 mm มีสีเทาถึงน้ำตาลและเข้มขึ้น กลายเป็นสีน้ำตาลเข้มบริเวณขอบแผล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบทั้ง amphigenous แต่ที่มีมากที่สุดที่ epiphyllous อยู่กระจายทั่วทั้งภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดประมาณ 55–90 μm สีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* พบแบบ fascicles เกิดผ่านทาง epidermal cells มีลักษณะแบบ cylindrical–subcylindrical รูปร่างค่อนข้างตรง มีขนาด $4\text{--}6 \times (17\text{--}18\text{--}30\text{--}33) \mu\text{m}$ มีผนังกันเซลล์ 0–2-septate ผิวเรียบ มีสีน้ำตาลอ่อน ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ส่วนมากพบที่ terminal *Conidiogenous loci* มี 1 loci พบที่ส่วนปลายของ conidiophores ขนาดประมาณ 2 μm หนาดำชัดเจน *Conidia* แบบ solitary มีลักษณะตรงและอาจโค้งบ้างเล็กน้อย รูปร่างแบบ obclavate, subcylindrical–cylindrical โดยส่วนปลายทั้งสองข้างจะแคบลงเล็กน้อย ขนาด $5\text{--}6 \times (24\text{--}30\text{--}70\text{--}82) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (0–) 2–10-septate มีหยดน้ำมัน ผิวเรียบ สีน้ำตาลอ่อน เทา ส่วนฐานมีลักษณะแบบ subtruncate ส่วนปลายมีลักษณะแบบ obtuse *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาดประมาณ 2 μm *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia (ภาพที่ 4.19)

Cultures: โคลนนี้มีลักษณะเส้นใยคล้ายกำมะหยี่สีขาว–เทา วงเป็นชั้นๆ และขรุขระจากกลางถึงขอบของโคโลนี ตรงกลางนูนสูงขึ้นและขรุขระเล็กน้อย ขอบโคโลนีขรุขระ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1–1.5 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: เชียงใหม่ อ.เมือง คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta*) 15 ม.ค. 2557, herbarium: HY-43, cultures: Y-43 = Y-43.2, Y-43.3

Notes: จากการเปรียบเทียบเชื้อรา *Passalora* spp. บนพืชจีนัส *Manihot* spp. (ตารางที่ 4.16) พบว่าเชื้อราไอโซเลทที่ Y-43 คือเชื้อรา *Passalora manihotis* และนอกจากนี้ยังเคยมีรายงานการพบเชื้อราดังกล่าวบนพืชอาศัยชนิดเดียวกันจากประเทศไทยมาก่อน (Meeboon et al. 2009)



ภาพที่ 4.19 เชื้อรา *Passalora manihotis* บนมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia. F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-F: scale bar = 10 μ m) G. โคลนเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.13 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Euphobia* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora apii</i>	<i>Euphobia heterophylla</i>	Leaf spots	Amphigenous	4–6.5 × 20–300 µm, short–long, geniculate –non–geniculate, pale brown.	3–6 × 25–315 µm , acicular, hyaline, straight–strongly curved	Chupp (1954), Crous and Braun, (2003)
<i>Cercospora petila</i>	<i>Euphobia pulcherrima</i>	Leaf spots	Chiefly epiphyllous, stromata, 20–40 µm in diam.	2–3.5 × 5–25 µm, rarely septate, straight–curved or undulate, not geniculate, unbranched, pale–very pale olivaceous brown.	2–3.5 × 30–75 µm, indistinctly 1–7–septate, straight–curved, narrowly cylindric, subhyaline– faintly olivaceous.	Chupp (1954)
<i>Cercospora pulcherrimae</i>	<i>Euphobia</i> spp.	Leaf spots	Amphigenous, mostly epiphyllous, stromata lacking–small, 15–40 µm in ndiam.	4–6 × 20–150 um, multiseptate, dense fascicle, unbranched, straight, 0–3 geniculate, pale–medium olivaceous brown.	2.5–4 (–5) × 60–125 (–270) µm, multiseptate, acicular, straight–curved, hyaline.	Chupp (1954)
	<i>Euphobia pulcherrima</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata lacking or small, 36–121 µm in diam.	4–7 × 48–121 µm, 2–8–septate, unbranched, 0–3 geniculate, pale– mediam olivaceous brown.	4–7 × (51–) 65–97 (–236) µm, 4–11–septate, obclavate, straight–curved, hyaline.	Meeboon (2006)

ตารางที่ 4.14 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Codiaeum* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora codiae</i> = <i>Cercospora apii</i>	<i>Codiaeum</i> sp.	Leaf spots	Amphigenous, stromata 38–44 µm in diam.	4–5.5 × 56–213 µm (5–6 per loose fascicle), 4–7-septate, straight, cylindrical, slightly geniculate, unbranched, brown.	3–4.5 × 30–160 µm, 3–10-septate, solitary, acicular, rarely obclavate, straight, hyaline.	Meeboon (2009), To-Anun <i>et al.</i> (2011).
<i>Cercospora</i> <i>stevensonii</i>	<i>Codiaeum</i> <i>Codiaeum</i> <i>variagatum</i>	sp., Leaf spots	Amphigenous, stromata medium 20–60 µm in diam.	3–5.5 × 15–60 µm (2–27 per fascicle), rarely septate, unbranched, mostly 1–2 abrupt geniculations, pale livaceous brown.	2–4 × 20–75 µm, indistinctly septate, bluntly acicular, straight–slightly curved, hyaline.	Chupp (1954)

ตารางที่ 4.15 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจันทน์ *Jatropha* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora jatrohicola</i>	<i>Jatropha</i> spp.	Leaf spots	Amphigenous, stroma small	4–6 × 30–80 µm, mutiseptate, dense fascicles, unbranched, slightly curved, mildly geniculate, olivaceous–olivaceous brown.	3–4.5 × 30–80 µm, 3–7 septate, obclavate–almost acicular, straight–mildly curved, hyaline.	Chupp (1954)
	<i>Jatropha</i> spp.			3–6 × 20–150 µm, olivaceous–medium brown.	2–4.5 × 20–120 µm, acicular–obclavate–cylindrical, hyaline.	Braun (2001)
<i>Cercospora jatrohigena</i>	<i>Jatropha curcas</i> , <i>Jatropha</i> sp.	Leaf spots	Hypophyllous, stroma lacking–small, 10–40 µm in diam.	3–6 × 150–400 µm, small–moderately large fascicles, 2–12 per fascicle, erect, straight, stiff – flexuous, not sinuous or geniculate, unbranched, olivaceous–medium brown.	2.5–5 × 100–300 µm, mutiseptate, acicular–filiform, hyaline.	Braun (2001)
	<i>Jatropha curcas</i>	Leaf spots	amphigenous, Stromata slightly–moderately developed 12–36 µm in diam.	3.5–5 × 41–124 µm (2–9 per fascicle), 1–6-septate, slightly geniculate at conidial scar, pale olivaceous brown.	1.2–3.6 × 26–178 µm, 3–12-septate, obclavate–cylindric, straight–slightly curved, subhyaline–pale olivaceous.	Meeboom (2006)

ตารางที่ 4.16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Passalora* spp. บนพืชจีนัส *Manihot* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Passalora manihotis</i>	<i>Manihot esculenta</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata 20–50 μm in diam.	3.5–5.5 $\times$ 23–63 μm (in small–moderately large fascicles, loose–moderately dense fasciculates), 2–4-septate, erect, straight, unbranched, subcylindrical–moderately geniculate-sinuous, pale brown.	3–6 $\times$ 32–77 μm , 3–8-septate obclavate–subcylindrical, straight, smooth–often verruculose, subhyaline.	Meeboon <i>et al.</i> (2009)
<i>Passalora henningsii</i>	<i>Manihot utilissima</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata 17–40 μm in diam.	4–6 $\times$ 10–48 μm (8–30 per fascicle), densely fasciculate, 0–2-septate, mostly short, cylindrical, not geniculate, unbranched, pale–medium olivaceous–brown.	4–6 $\times$ 14–53 μm , 0–7-septate, obclavate or cylindrical, straight–curved, pale olivaceous brown.	Phengsintham <i>et al.</i> (2013)

Family Fabaceae

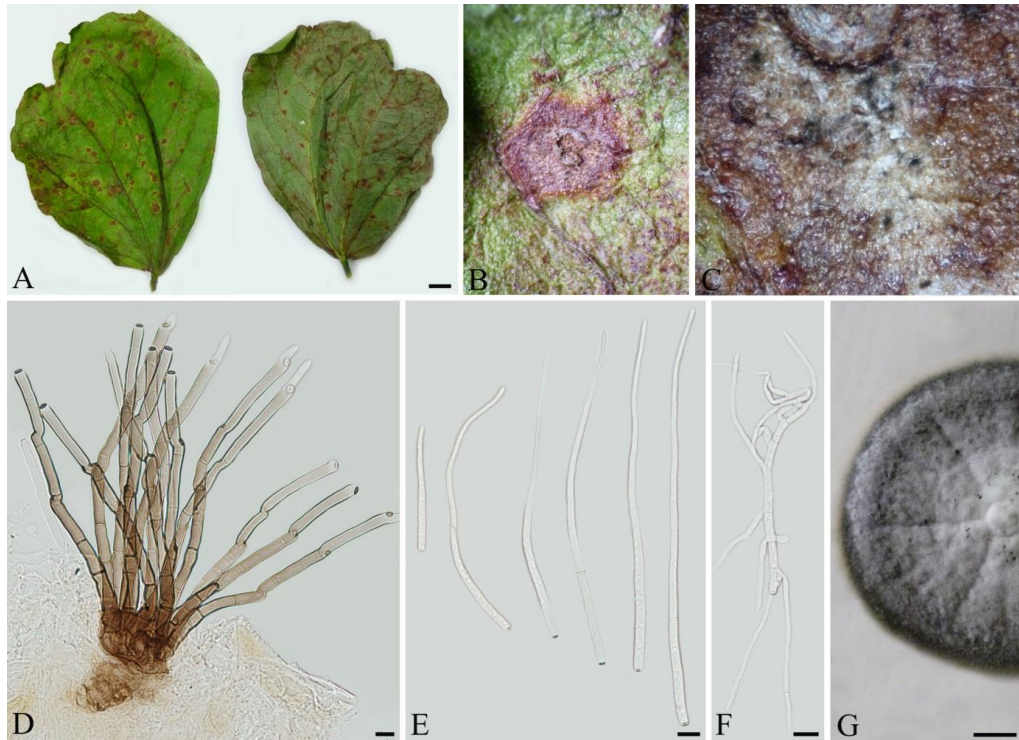
เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-24)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 mm มีสีน้ำตาลและเข้มขึ้นกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงม่วงเข้มบริเวณขอบแผล ขอบแผลนูนสูงขึ้นชัดเจน พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous กระจายอยู่ห่างกันในแผล *Stromata* แบบ substomatal ขนาด 30–90 μm มีสีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells พบว่าสามารถเกิดผ่านทางปากใบได้ มีรูปร่างค่อนข้างตรงถึงเอียงเล็กน้อย ลักษณะเป็นทรงกระบอกที่หักงอ และคดเคี้ยวเล็กน้อยขนาด 5–7 $\times$ (100–) 110–155 (–170) μm มีผนังกัน 4–5-septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีน้ำตาลและจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1–2 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 3–4 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้ง รูปร่างเป็นแบบ narrowly obclavate–subcylindrical ขนาด (2–) 3–5 $\times$ (30–) 100–180 (–200) μm มีผนังกัน (6–) 8–20 (–23)-septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานแบบ subtruncate–truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ subacicular–slightly obtuse *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด (2–) 3–4 μm *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.20)

Cultures: โคโลนีผิวขรุขระเล็กน้อย สีขาวเทา ขอบเรียบมีสีเทาถึงสีเขียวขี้ม้า เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3.5–4 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. แม่ว่าง พบบนใบถั่วฝักยาว (*Vigna unguiculate*), 26 ก.ค. 2556, herbarium: HY-24, cultures: Y-24=Y-24.2, Y-24.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Vigna* spp. (ตารางที่ 4.17) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-24 บนถั่วฝักยาว (*Vigna unguiculate*) คือเชื้อรา *Cercospora apii* และนอกจากนี้ยังเคยมีรายงานการพบเชื้อราสปีชีส์นี้ในประเทศไทยมาก่อน (To-Anun et al., 2011)



ภาพที่ 4.20 เชื้อรา *Cercospora apii* บนถั่วฝักยาว (*Vigna unguiculata*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบไหม้ C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D–F: scale bar = 10 μ m) G. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

เชื้อรา *Pseudocercospora* sp. (Y-25)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1–5 mm มีสีน้ำตาลเทา พบว่าปรากฏร่วมกับเชื้อราอื่น ๆ *Cercospora* แผลพบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous อยู่กระจายภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal ขนาด 50–60 μm สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* แบบ fascicles โดยเกิดผ่านทาง epidermal cells มีทั้งรูปร่างตรงและเอียงเป็นแวนนอนเล็กน้อย ขนาด 5–6 (–7) $\times$ (30–) 40–70 (–75) μm มีผนังกัน 4–6-septate ผิวเรียบ สีน้ำตาลอ่อนถึงเทา มีทั้งที่แตกแขนงและไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่มี terminal และ lateral *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน *Conidia* แบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างแบบ subcylindrical ขนาด 3–4 $\times$ (40–) 65–95 (–100) μm มีผนังกัน (3–) 4–7-septate เกือบใสไม่มีสีถึงเทา ส่วนฐานมีลักษณะแบบ subtruncate ส่วนปลายมีลักษณะแบบ subobtusate-obtusate *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.21)

Cultures: โคโลนีมีลักษณะคล้ายก้ามเหี้ยบนสูงชันชัดเจน มีสีเทาผิวเรียบถึงขรุขระ ขอบค่อนข้างเรียบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ 1–1.5 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. แม่วาง พบบนใบถั่วเหลือง (*Glycine max*), 26 ก.ค. 2556, herbarium: HY-25, cultures: Y-25=Y-25.2, Y-25.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora glycines* บน *Glycines* spp. (ตารางที่ 4.18) ซึ่งเป็นเชื้อราเพียงสปีชีส์เดียวที่เคยมีรายงานบนพืชในจีนนี้ พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-26 ที่พบบนถั่วเหลือง (*Glycine max*) มีความแตกต่าง โดยมี *Conidiophores* ขนาด 5–6 (–7) $\times$ (30–) 40–70 (–75) μm ซึ่งกว้างและยาวกว่า เชื้อรา *Pseudocercospora glycines* ที่มีขนาด 1.5–3 $\times$ 10–25 μm จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มีความแตกต่างกันนี้อาจเป็นไปได้ว่าเชื้อราไอโซเลทที่ Y-25 คือเชื้อราที่ไม่เคยมีรายงานว่าพบบนพืชจีน *Glycine* spp. มาก่อนและอาจเป็นเชื้อราสปีชีส์ใหม่



ภาพที่ 4.21 เชื้อรา *Pseudocercospora* sp. บนถั่วเหลือง (*Glycine max*): A. อาการใบจุด ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุดและกลุ่มโครงสร้าง เชื้อรา (caespituli) C-D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการ งอกของ germ-tube จาก conidia (C-F: scale bar = 10 μ m) G. โคลนเชื้อราบน PDA (scale bar = 2.5 mm)

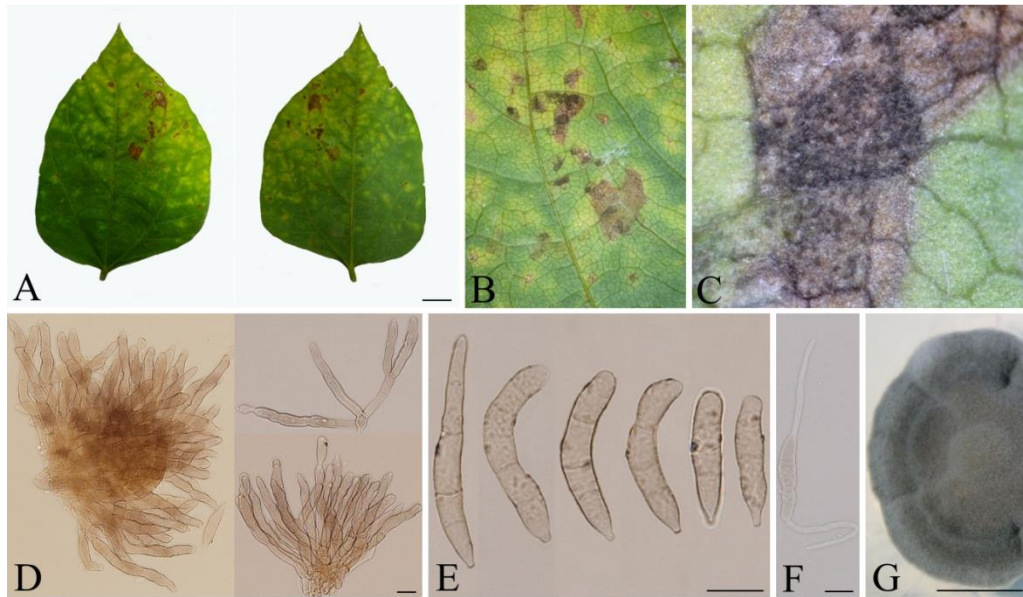
เชื้อรา *Passalora* sp. (Y-35)

แผลใบจุดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 mm แผลมีลักษณะซ้ำสีน้ำตาลอ่อน พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบที่ hypophyllous อยู่กระจายเป็นจำนวนมากทั่วทั้งภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดประมาณ 30–50 μm สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles เกิดผ่านทาง epidermal cells มีรูปร่างค่อนข้างตรงถึงคดโค้งบ้างเล็กน้อย นอกจากนั้นยังพบว่าการแตกแขนงด้วยเช่นกัน มีขนาด $5-6 \times (30-) 40-60 (-80) \mu\text{m}$ มีผนังกันเซลล์ 4–6-septate ผิวเรียบถึงขรุขระเล็กน้อย มีสีน้ำตาลเทาถึงสีน้ำตาล *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่มี terminal และ lateral *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน *Conidia* แบบ solitary และ chain เนื่องจากปรากฏส่วนของ hilum ตรงด้านปลายและด้านข้างของ conidia ชัดเจน conidia มีลักษณะตรงถึงโค้งเล็ก รูปร่างแบบ obclavate-obovoid และแบบ subcylindrical ที่มีลักษณะค่อนข้างกว้างกว่าตรงกลางและเรียวแคบลงสู่ด้านปลายทั้งสองข้าง มีขนาด $6-7 \times (13-) 25-40 (-50) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (0–) 2–4 (–5) -septate ผิวเรียบถึงขรุขระ สีน้ำตาลเทา ส่วนฐานมีลักษณะแบบ subtruncate ส่วนปลายมีลักษณะแบบ subobtuse-obtuse *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia (ภาพที่ 4.22)

Cultures: โคลนีสมีลักษณะคล้ายกัมมะหยี่ตรงกลางของโคลนินูนสูงขึ้นเล็กน้อย มีสีเทาถึงเทาเข้มผิวเรียบถึงขรุขระเป็นชั้นๆ ขอบค่อนข้างเรียบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1–1.5 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบถั่วพู (*Psophocarpus tetragonopbbus*), 11 ต.ค. 2556, herbarium: HY-35, cultures: Y-35=Y-35.2, Y-35.3

Notes: มีรายงานมากมายในการพบเชื้อราจันัส *Passalora* spp. บนพืชในวงศ์ *Fabaceae* แต่จากการศึกษาข้อมูล พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-35 เป็นเชื้อราจันัส *Passalora* สปีชีส์ใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนบนพืชจันัส *Psophocarpus* spp. โดยลักษณะที่ค่อนข้างแตกต่างจากเชื้อรา *Passalora* ที่เคยพบบนพืชจันัสอื่นๆ ในวงศ์ *Fabaceae* ลักษณะที่แตกต่างคือ *Caespituli* เกิดแบบ hypophyllous *Conidiophores* เป็นแบบ branched *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน *Hila* ที่ส่วนฐานของ conidia ไม่ชัดเจน แต่ส่วนปลาย หรือส่วนด้านข้าง (รอยต่อของ chain) ของ conidia พบว่าหนาดำชัดเจน



ภาพที่ 4.22 เชื้อรา *Passalora* sp. บนถั่วพู (*Psophocarpus tetragonopbbus*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-F: scale bar = 10 μ m) G. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

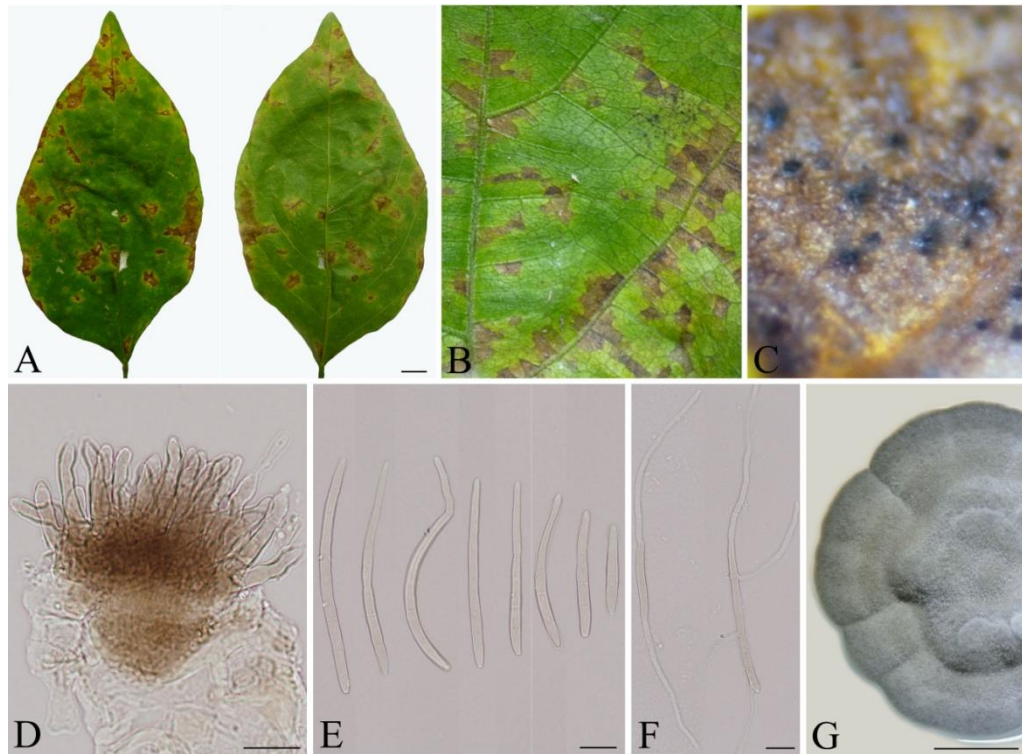
เชื้อรา *Pseudocercospora bradburyae* (Y-36)

แผลใบจุดเหลี่ยมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5–10 mm มีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous แต่ส่วนใหญ่พบมากที่ epiphyllous อยู่กระจายภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal–intraepidermal รูปร่างค่อนข้างกลมถึงกลม ขนาดประมาณ 25–50 μm สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* พบแบบ fascicles เกิดผ่านทั้งทาง epidermal cells และ stomata cells มีรูปร่างค่อนข้างตรงและคดงอ ขนาด $3\text{--}4 \times (12\text{--}) 14\text{--}20\text{--}(25) \mu\text{m}$ มีผนังกันเซลล์ 0–1-septate ผิวเรียบ ตรงถึงขรุขระเล็กน้อย มีสีน้ำตาลเทาถึงเกือบใสไม่มีสี ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่มี terminal และ lateral *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน *Conidia* แบบ solitary ลักษณะส่วนใหญ่ค่อนข้างตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างแบบ obclavate–subcylindrical โดยส่วนปลายทั้งสองข้างจะแคบลงเล็กน้อย ขนาด $2.5\text{--}3 \times (30\text{--}) 40\text{--}65\text{--}(75) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (1–) 3–6 (–7) -septate มีหยดน้ำมัน ผิวเรียบ สีเทาถึงเกือบใสไม่มีสี ส่วนฐานมีลักษณะแบบ subtruncate–truncate ส่วนปลายมีลักษณะแบบ obtuse *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกันกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.23)

Cultures: โคลนนี้มีลักษณะคล้ายก้ามหอยตรงกลางของโคลนนูนสูงขึ้นเล็กน้อย มีสีเทาถึงเทาเข้มผิวเรียบลักษณะเป็นชั้นๆ ขอบค่อนข้างเรียบ ขนาดเส้นผ่า ศูนย์กลางประมาณ 1.5–2 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ.เมือง สถานีวิจัยแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบถั่วลาย (*Centrosema pubescens*), 11 ต.ค. 2556, herbarium: HY-36, cultures: Y-36=Y-36.2

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บน *Centrosema pubescens* (ตารางที่ 4.19) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-36 คือเชื้อรา *Pseudocercospora bradburyae*



ภาพที่ 4.23 เชื้อรา *Pseudocercospora bradburyae* บนถั่วลาย (*Centrosema pubescens*):
 A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด
 C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D. Conidiophores และ conidiogenous cells E.
 Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-F: scale bar = 10 μ m) G. โคโลนีเชื้อ
 ราบน PDA (scale bar = 5 mm)

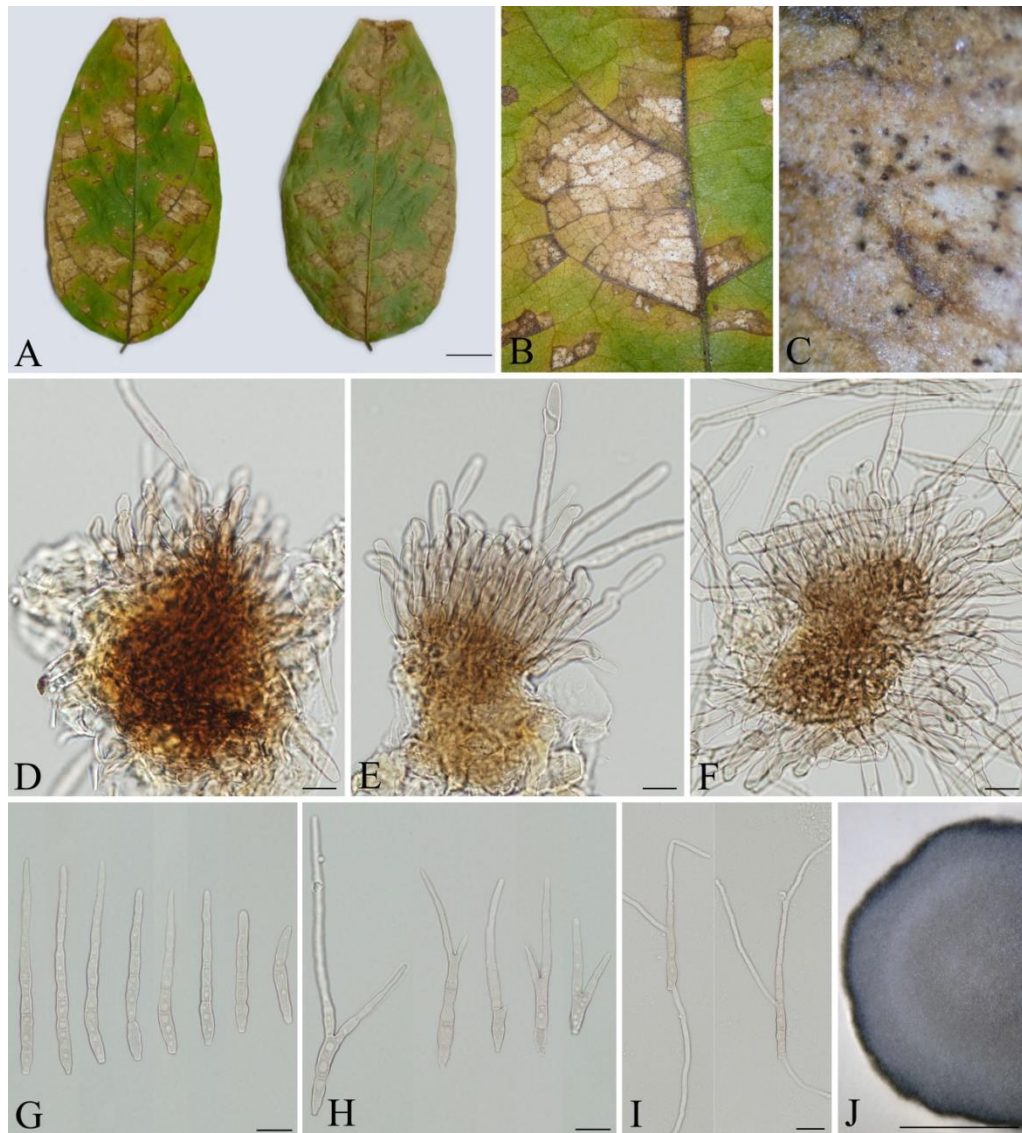
เชื้อรา *Pseudocercospora* sp. (Y-42)

แผลใบจุดเหลี่ยมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–15 mm มีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีเทาและเข้มขึ้นกลายเป็นสีน้ำตาลบริเวณขอบแผล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous แต่ส่วนใหญ่พบมากที่ epiphyllous อยู่กระจายทั่วทั้งภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal–intraepidermal รูปร่างค่อนข้างกลมถึงกลม ขนาดประมาณ 40–60 μm สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* พบทั้งแบบ dense fascicles–fascicles เกิดผ่านทั้งทาง epidermal cells และ stomata cells มีรูปร่างค่อนข้างตรง ส่วนตรงปลายของ Conidiophores อาจมีลักษณะเป็นแบบ geniculate–sinuous มีขนาด 3–4 (–5) $\times$ (15–) 20–30 (–35) μm มีผนังกันเซลล์ 1–2-septate ผิวเรียบ ตรงถึงคดไปมาเล็กน้อย มีสีน้ำตาลเทาถึงเกือบใสไม่มีสี ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่มี terminal และ lateral *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน *Conidia* แบบ solitary โดยพบว่าการแตกแขนงของส่วนปลายของ Conidia ด้วย ลักษณะค่อนข้างตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างแบบ subcylindrical–cylindrical โดยส่วนปลายทั้งสองข้างจะแคบลงเล็กน้อย ขนาด 3–4 $\times$ (18–) 36–77 (–90) μm มีผนังกัน (0–) 2–6-septate มีหยดน้ำมัน ผิวเรียบถึงขรุขระ สีเทาถึงเกือบใส ไม่มีสี ส่วนฐานมีลักษณะแบบ subtruncate ส่วนปลายมีลักษณะแบบ subobtuse–obtuse *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.24)

Cultures: โคลนนี้มีลักษณะคล้ายก้ามหยาตรงกลางของโคลนนี้สูงชันเล็กน้อย มีสีเทาถึงเทาเข้มผิวเรียบ ขอบค่อนข้างเรียบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.2–1.4 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. ลำปาง อ. แม่ปาน อุทยานแห่งชาติแจ้ซ้อน พบบนใบกล้วย (Centrosema pubescens), 8 ม.ค. 2557, herbarium: HY-42, cultures: Y-42=Y-42.2, Y-42.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บน *Centrosema pubescens* (ตารางที่ 4.19) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-42 มีความแตกต่างคือ *Conidiophores* มี 14–34 ต่อ fascicle *Conidia* มีทั้งที่ไม่แตกแขนงและที่แตกแขนงเป็น 2 แฉก ปรากฏหยดน้ำมันอย่างชัดเจน โดยลักษณะดังกล่าว ไม่เคยปรากฏมาก่อนในเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. ที่เคยมีรายงานว่าพบบน *Centrosema pubescens*



ภาพที่ 4.24 เชื้อรา *Pseudocercospora* sp. บนถั่วลาย (*Centrosema pubescens*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุดเหลี่ยม C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D-F. Conidiophores และ conidiogenous cells G-H. Conidia I. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-I. scale bar = 10 μ m) J. โคลนเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Vigna* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora canescens</i> = <i>Cercospora apii</i>	<i>Vigna</i> sp., <i>Vigna radiata</i> and <i>Vigna unguiculata</i> .	Leaf spots	Amphigenous, but more abundant on lower surface, stroma small.	3–6.5 × 20–200 µm, densely fasciculate, multiseptate, geniculate, rarely branched, pale–medium dark brown.	2.5–5.5 × 25–300 µm, multiseptate, acicular, straight–curved, hyaline.	Hsieh and Goh (1990)
	<i>Vigna unguiculata</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata well developed, 26.5–67 µm in diam.	3–5 × 60.5–118 µm (12–20 per loose–dense fascicle), 1–3-septate, straight–decumbent, cylindrical, unbranched, geniculate–sinuous, brown.	3–4.5 × 56–113.5 µm, 3–9-setate narrowly obclavate–subacicular, straight, hyaline.	To-Anun et al. (2011)
<i>Cercospora canscorina</i>	<i>Vigna catjang</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata moderately developed 17–42 µm in diam.	3–4 × 29–85 µm (5–20 per fascicle), 1–3-septate, straight–curved, 2–4 bluntly geniculate, pale brown.	3–3.5 × 31–90 µm, 3–9-septate, subobclavate, straight–cured, smooth, subhyaline.	Chiddarwar (1959)

ตารางที่ 4.17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* sp. บนพืชจีนัส *Vigna* spp.(ต่อ)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora caracallae</i>	<i>Vigna caracalla</i> , <i>Vigna sinensis</i> .	Leaf spots	Amphigenous, stromata medium size.	4–6 × 15–110 µm, fascicles usually dense, 0–4-septate, 0– 4 geniculate or otherwise bent–tortuous, unbranched, medium dark olivaceous brown.	3–5.5 × 30–125 µm, usually 3–5-septate, cylindric, straight or nearly so, hyaline.	Chupp (1954)
<i>Cercospora kiluchii</i> = <i>Cercospora apii</i>	<i>Vigna prainiana</i> , <i>Vigna</i> <i>unquiculata</i> .	Leaf spots	Hypophyllous, stromata well developed 26–39 µm in diam.	3.5–5 × 76–129 µm (9 to numerous indense and divergent fascicles), 2–4- septate, straight, erect– decumbent, sometimes branched, subcylindrical, geniculate–sinuos.	3–3.5 × 80–132 µm, 6–11- septate, marrowly obclavate–subacicular, straight, hyaline.	To–Anun <i>et al.</i> (2011) reported from thailand.
<i>Cercospora longispora</i>	<i>Vigna sinensis</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata none or only a few brown cells.	4–6 × 25–100 µm (2–10 per fascicle), multiseptate, unbranched, sparingly geniculate, pale olivaceous brown.	3–5 × 20–200 µm, indistinctly multiseptate, acicular–obclavate, straight–curved, hyaline	Hsieh and Goh (1990)

ตารางที่ 4.17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* sp. บนพืชจีนัส *Vigna* spp.(ต่อ)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora Physalidis</i>	<i>Vigna sinensis</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata lacking or small.	4-6.5 × 20-250 µm, singly- dense fascicles, divergent, meagerly septate, unbranched, occasionally 1-2- geniculate, straight or only slightly curved, very pale olivaceous-pale olivaceous brown, uniform in color and width.	3-5 × 25-220 µm, indistinctly multiseptate, acicular, shortest ones may be cylindric, straight- variously curved, hyaline.	Chupp (1954)
<i>Cercospora vignigena</i>	<i>Vigna unguiculata</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata small- well developed, 35-60 µm in diam.	5-7(-10) × 40-130 µm (2-12 per loose-dense fascicle), straight-slightly sinuous- geniculate, pale brown.	(2.5-)4-6(-10) × (35-)45- 70(-150) µm, (3-)4-7(-14)- septate, straight-slightly curved, cylindrical- obclabate, hyaline.	Nakashima et al. (2012)

ตารางที่ 4.18 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora glycines* บนพืชจีนัส *Glycine* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora glycines</i>	<i>Glycine clandestina</i> , <i>Glycine tabacina</i> , <i>Glycine tomentella</i> .	Leaf spots	amphigenous, but more abundant on the upper surface, stromata brown, 20–60 µm diam.	1.5–3 × 10–25 µm, dense or very dense in a fascicle, very rarely septate geniculate, branching absent, pale –very pale olivaceous brown.	1.5–2.5 × 30–100 µm, 3–12-septate, acicular–narrowly obclavate, straight– mildly curved–undulate, pale olivaceous.	Hsieh and Goh (1990)

ตารางที่ 4.19 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Centrosema* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora bradburyae</i>	<i>Centrosema</i> spp., <i>Centrosema pubescens</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata 20–50 µm in diam.	3–4.5 × 5–50 µm, densely fasciculate, 0–3-septate, wavy–slightly irregular in width, sometimes geniculate, unbranched, pale olivaceous brown or yellowish olivaceous.	2–4 × 25–90 µm, 2–8-septate, narrowly obclavate, straight–mildly curved, subhyaline–pale olivaceous.	Hsieh and Goh (1990)
<i>Pseudocercospora centrosematicola</i>	<i>Centrosema centrosematicola</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata well–developed 10–38 µm in diam.	2–5 × 26–45 µm (6–10 per dense fascicle), 1–3-septate, straight–decumbent, unbranched, sometimes geniculate near apex, brown.	2.5–4 × 48–95 µm, 4–7-septate, obclavate, straight–mildly curved, hyaline–subhyaline.	Meeboon (2009), Phengsintham <i>et al.</i> (2013).

Family Hamamelidaceae

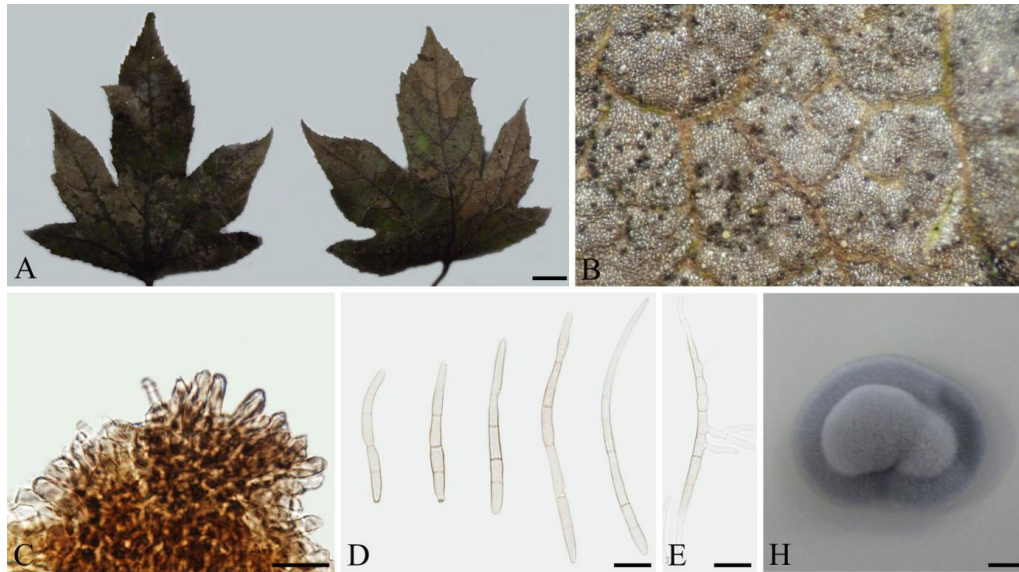
เชื้อรา *Pseudocercospora liquidambaricola* (Y-1)

แผลใบไหม้สีน้ำตาลเทาปรากฏทั้งด้านหน้าและหลังใบพืช *Caespituli* พบแบบ amphigenous อยู่กระจายภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาด 65 μm สีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* แบบ densely fascicles เกิดผ่านทาง epidermal cells มีรูปร่างตรงและเอียงเป็นแนวนอน ขนาด $3-4 \times 9-10$ (-20) μm มีผนังกัน 0-1-septate ผิวเรียบ สีน้ำตาลอ่อน ไม่แตกแขนง ด้านปลายตรงถึงหักเล็กน้อย มีลักษณะเป็นแบบ subacicular-acute *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่มี terminal และ lateral *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน *Conidia* แบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้ง รูปร่างแบบ acicular-narrowly obclavate, subcylindrical ขนาด $(2.5-3) \times (30-35-52$ (-65) μm มีผนังกัน (2-) 3-5 (-7) -septate มีหยดนํ้ามัน สีน้ำตาลเทา ส่วนฐานมีลักษณะแบบ subtruncate ส่วนปลายมีลักษณะแบบ subacicular-subobtuse *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.25)

Cultures: โคโลนีมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่สีเทานูนสูงชันชัดเจน ขอบโคโลนีเรียบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. จอมทอง พบบนใบเมเปิ้ลหอม (*Liquidambar formos*), 13 พ.ย. 2555, herbarium: HY-01, cultures: Y-01=Y-01.2, Y-01.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora liquidambaricola* (ตารางที่ 4.20) พบว่ามีลักษณะเหมือนกันกับตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-1 ที่พบบนพืชอาศัยชนิดเดียวกันและยังเป็นรายงานแรกในการพบเชื้อราชนิดนี้ในประเทศไทย



ภาพที่ 4.25 เชื้อรา *Pseudocercospora liquidambaricola* บนเมเปิ้ลหอม (*Liquidambar formos*): A. อาการใบไหม้ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบไหม้และกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) C: Conidiophores และ conidiogenous cells D. Conidia E. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C–E: scale bar = 10 μ m) H. โคลนเชื้อราบน PDA (scale bar = 2.5 mm)

ตารางที่ 4.20 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora liquidambaricola* บนเมเปิ้ลหอม (*Liquidambar formos*)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora liquidambaricola</i>	<i>Liquidambar formos</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata 15–20 $\times$ 30–35 μ m.	2–3 $\times$ 4–18 μ m, not septate, densely fasciculate on the stromata, unbranched, erect or slightly curved, olivaceous brown.	2–3 $\times$ 25–90 μ m, 2–8-septate, cylindric to obclavato-cylindric, straight – slightly curved, pale olivaceous brown.	Hsieh and Goh (1990)

*พบเชื้อราจีนัส *Pseudocercospora liquidambaricola* เพียงสปีชีส์เดียวบนเมเปิ้ลหอม (*Liquidambar formos*)

Family Hydrangeaceae

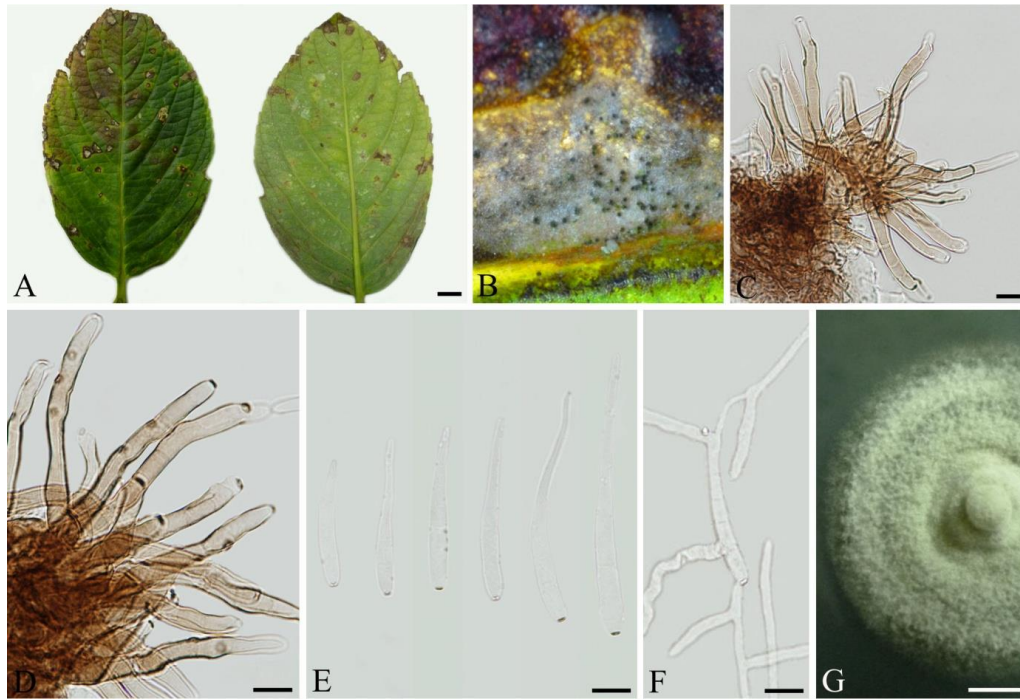
เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-5)

แผลใบจุดกลมถึงเหลี่ยมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 mm มีสีเทาถึงน้ำตาลอ่อนและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงสีม่วงบริเวณขอบแผล ขอบแผลนูนสูงชันชัดเจน พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ **Caespituli** พบที่ epiphyllous อยู่กระจายภายในแผล **Stromata** พบที่ substomatal ขนาด 45–80 µm มีสีน้ำตาลเข้ม **Conidiophores** เป็นแบบ loose fascicles พบว่าเกิดผ่านทาง epidermal cells มีรูปร่างตรงถึงเอียงโค้งเป็นแนวนอน ลักษณะเป็นทรงกระบอกถึงคดเคี้ยวเล็กน้อย ขนาด 4–6 (–7) × 30–70 (–90) µm มีผนังกัน (0–) 2–4 (–5) -septate ผิวค่อนข้างเรียบ มีสีน้ำตาลอ่อน ไม่แตกแขนง Conidiogenous cells เป็นแบบ sympodial มี 1–3 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal และ lateral (อาจทำให้ conidiogenous cells เกิดการโค้งงอเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) **Conidiogenous cells** หนาดำและมีการหักเหแสงชัดเจน ขนาด 2 (–3) µm **Conidia** เกิดขึ้นแบบ solitary มีลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างแบบ subacicular-obclavate ขนาด 4–5 (–6) × (20–) 30–65 (–70) µm มีผนังกัน (2–) 3–6 (–7) -septate มีหยดน้ำมัน ใสไม่มีสี ส่วนฐานโค้งตัดตรง ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลาย conidia ค่อนข้างแหลมถึงทู่ **Hila** หนาดำชัดเจน ขนาด 2 (–3) µm **Conidial germination** germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.26)

Cultures: โคโลนีค่อนข้างเรียบถึงขรุขระเล็กน้อยมีสีขาวอมเทา ตรงกลางนูนสูงชัน ขอบเรียบสีเทา เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.8–3.2 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. จอมทอง สถานีเกษตรศาสตร์หลวงอินทนนท์ พบบนใบไฮเดรนเยีย (*Hydrangea* sp.), 27 ม.ค. 2556, herbarium: HY-05, cultures: Y-05=Y-05.2, Y-05.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บน *Hydrangea* spp. (ตารางที่ 4.21) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-5 คือเชื้อรา *Cercospora apii*



ภาพที่ 4.26 เชื้อรา *Cercospora apii* บนไฮเดรนเยีย (*Hydrangea* sp.): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุดและกลุ่มโครงสร้าง เชื้อรา (caespituli) C–D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C–F: scale bar = 10 μ m) G. โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.21 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Hydrangea* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora</i> <i>canescens</i> <i>Cercospora apii</i>	<i>Hydrangea</i> = <i>opuloides</i>	Leaf spots	Amphigenous, but more abundant on lower surface, stromata small.	3–6.5 × 20–200 µm, multiseptate, densely fasciculate, geniculate, rarely branched, pale–medium dark brown.	2.5–5.5 × 25–300 µm, indistinctly multiseptate, acicular, straight–curved, hyaline.	Hsieh and Goh (1990)
<i>Cercospora</i> <i>flagellaris</i>	<i>Hydrangea serrata</i>	Leaf spots	Chiefly epiphyllous, stromata slight.	3–6 × 30–300 µm, multiseptate, rarely branched, 0–3 mildly or abruptly geniculate, pale olivaceous brown, fairly uniform in color and width.	2–4 × 30–120 µm, rarely as long as 280 µm, indistinct septate, acicular, straight–bent, hyaline.	Groenewald <i>et al.</i> (2013) cited from Chupp (1954).
<i>Cercospora</i> <i>hydrangea</i> = <i>Cercospora apii</i>	<i>Hydrangea</i> <i>macrophylla</i> , <i>Hydrangea</i> sp.	Leaf spots	Chiefly epiphyllous, small dark brown stromata.	4–6 × 10–80 µm, most fascicles not dense (2–12 per fascicle or rarely 20–30), septate, unbranched, longer ones may be 1–2 abruptly or 1–5 mildly geniculate, slightly attenuated, pale–medium brown.	2–3.5 × 40–100 µm, rarely as large as 4 × 165 µm, indistinctly multiseptate, acicular, straight–mildly curved, hyaline.	Chupp (1954)

ตารางที่ 4.21 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Hydrangea* spp. (ต่อ)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora hydrangeae</i> <i>Cercospora apii</i>	<i>Hydrangea</i> = <i>macrophylla</i> , <i>Hydrangea</i> sp.	Leaf spots	Amphigenous, stromata lacking.	3.5–5 × 111–227 µm (3–11 per loose fascicle), 1–3-septate, straight – cecumbent, unbranched, brown, cylindrical, strongly geniculate.	2.5–3.5 × 113–278 µm, 13–27-septate, slightly, some conidia curved at the apex, hyaline.	Meeboon <i>et al.</i> (2007), To-Anun <i>et al.</i> (2011)
<i>Cercospora kyotensis</i>	<i>Hydrangea serrata</i> , <i>Hydrangea macrophylla</i>	Leaf spots	Mostly hypophyllous, stromata none.	3–6 × 22–59 (–178) µm (1–5 per fascicle), septate, straight or slightly geniculate, branched, pale brown.	1–4 × (42–) 60–90 (–178) µm, septate, acicular, straight or flexuous, hyaline.	Yoshik and Yokoy (1986)

Family Leguminosae

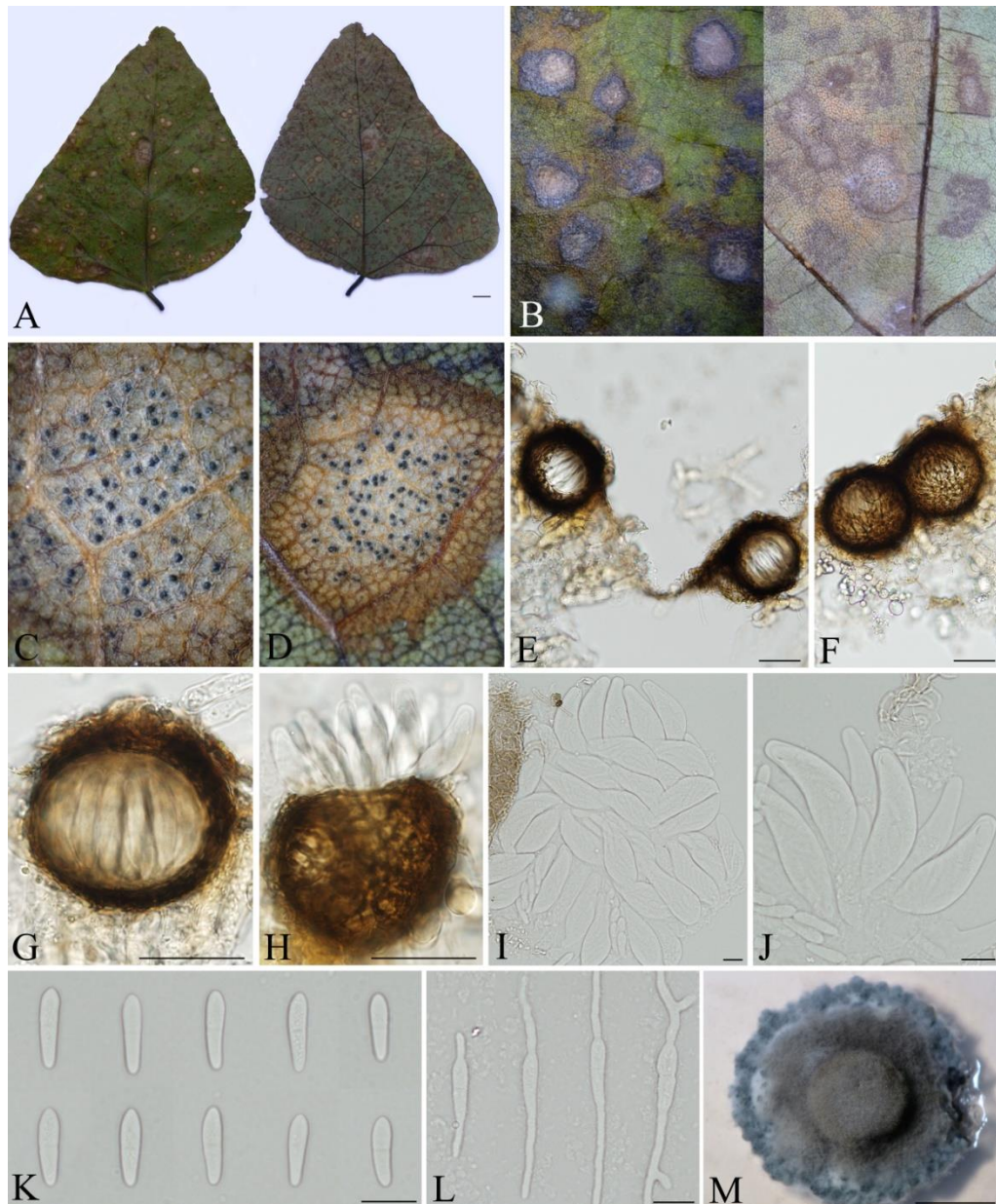
เชื้อรา *Mycosphaerella erythrinicola* (Y-40)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–5 mm มีสีน้ำตาลอ่อนถึงเทาและเปลี่ยนเป็นสีม่วงเข้มถึงดำบริเวณขอบแผลซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจน ขอบแผลนูนสูงขึ้น พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Pseudothecia* พบที่ hypophyllous โดยอยู่กระจายอยู่เป็นจำนวนมากทั่วทุกแผล มีสีดำ subepidermal–erumpent กลม มีผนัง 2–3 ชั้น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ (55–) 80–90 μm *Asci* เป็นแบบ fasciculate bitunicate ovoid–broadly ellipsoidal โดยพบทั้งแบบตรงถึงโค้งเล็กน้อย แต่ละ *asci* มี 8 spores มีขนาด (–9) 10–15 $\times$ 40–50 (–53) μm *Ascospores* มี 1-septate อยู่ตรงกลางเพื่อแบ่ง ascospores เป็น 2 cells ใสไม่มีสี พบหยดน้ำมันที่ผิว ผนังบาง ตรงถึงโค้งบ้างเล็กน้อย มีรูปร่างแบบ obovoid ส่วนปลายฐานมีลักษณะแบบ obtuse ส่วนปลายด้านบนจะมีขนาดกว้างกว่าส่วนฐาน มีขนาด 4 (–5) $\times$ (13–) 15–17 (–19) μm *Ascospore germination* germ-tube งอกออกมาจากส่วนปลายทั้งสองด้าน โดยงอกยาวขนานไปกับ ascospores (ภาพที่ 4.27)

Cultures: โคลนีสลายกัมมะหยีสีน้ำตาลเทาเกาะตัวรวมกันอย่างหยาบๆ กลางโคลนีนูนสูงขึ้น และมีลักษณะเป็นชั้นๆ ขอบของโคลนีก่อนข้างขรุขระ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1–1.5 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงราย อ. เทิง ภูชี้ฟ้า พบบนใบทองหลางป่า (*Erythrina stricta*), 10 ธ.ค. 2556, herbarium: HY-40, cultures: Y-40=Y-40.2, Y-40.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Mycosphaerella* spp. บนพืชจีนัส *Erythrinae* spp. (ตารางที่ 4.22) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-40 คือเชื้อรา *Mycosphaerella erythrinicola* สำหรับในประเทศไทยถือเป็นครั้งแรกในการพบเชื้อราสปีชีส์นี้บนทองหลางป่า (*Erythrina stricta*) ซึ่งไม่เคยมีรายงานมาก่อน



ภาพที่ 4.27 เชื้อรา *Mycosphaerella erythrinicola* บนทองหลางป่า (*Erythrina stricta*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ขยายอาการใบไหม้ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) C-D. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) E-H. Perithecium (E-H. scale bar = 50 μ m) I-J. Asci และ ascospores (scale bar = 10 μ m) K. Ascospores (scale bar = 10 μ m) L. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก ascospores (I-L: scale bar = 10 μ m) M. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.22 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Mycosphaerella* spp. บนพืชจันทน์ *Erythrina* spp.

Species	Host	Symptom	Perthecia	Ostiole	Asci	Ascospores	Reference
<i>Mycosphaerella erythrinae</i>	<i>Erythrina</i> spp.	Leaf spots	Hypophyllous, immersed, 60–75 µm in diam.	15–20 µm in diam.	8–10 × 20–28 µm, clavate, having 8 ascospores.	3–4 × 10–14 µm, 1-septate, paraphyses absent, hyaline.	Stevens (1930)
<i>Mycosphaerella erythrinicola</i>	<i>Erythrina micropterycis</i>	Leaf spots	Hypophyllous, subepiphyllous, 70–130 µm in diam.	20 µm in diam.	8–12 × 40–55 µm, clavate, having 8 ascospores.	3–4 × 14–18 µm, 1-septate, paraphyses, hyaline.	Sydow (1930)

Family Malvaceae

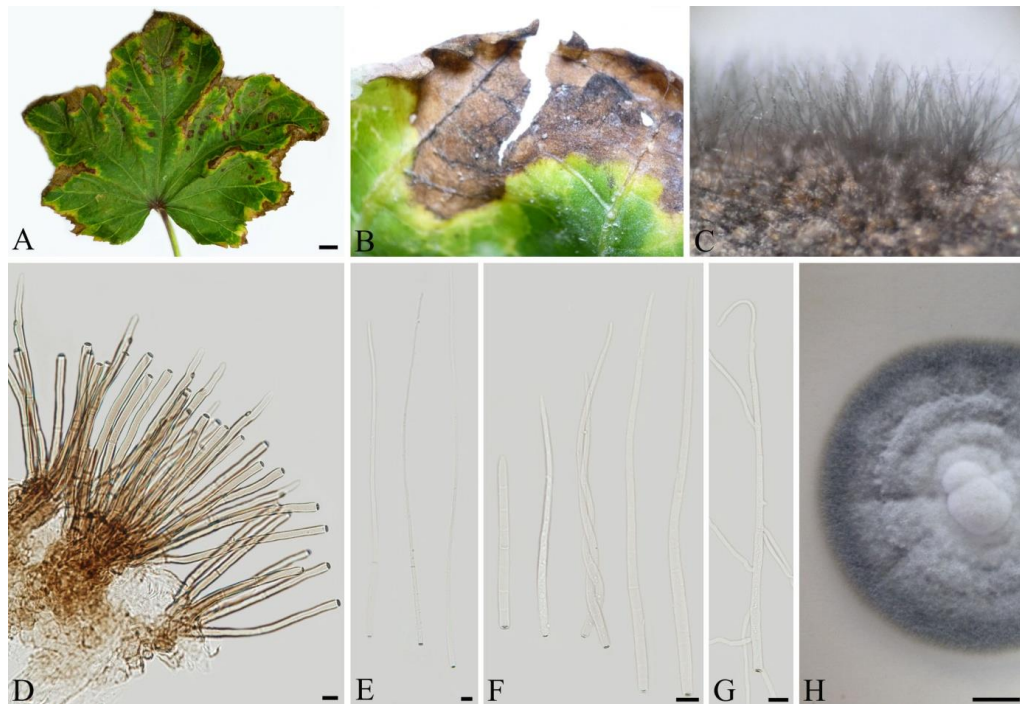
เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-21)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 mm และเชื่อมต่อกันคล้ายแผลใบไหม้ขนาดประมาณ 2–20 mm มีสีน้ำตาลอ่อนและเข้มขึ้นกลายเป็นสีน้ำตาลถึงม่วงเข้มบริเวณขอบแผล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous กระจายทั่วแผล *Stromata* แบบ substomatal ขนาด 25–80 μm มีสีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells และยังพบว่าสามารถเกิดผ่านทางปากใบได้ มีรูปร่างค่อนข้างตรง ลักษณะเป็นทรงกระบอกขนาด (4–) 5–6 (–7) $\times$ (80–) 85–180 (–190) μm มีผนังกัน (2–) 3–4 (–5) -septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีเข้มและจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 3–4 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะค่อนข้างตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างเป็นแบบ narrowly obclavate–subcylindrical ขนาด 4–5 $\times$ (70–) 90–275 (–300) μm มีผนังกัน (8–) 13–21 (–24) -septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานแบบ subtruncate–truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ subacicular–slightly obtuse *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 3–4 μm *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.28)

Cultures: โคโลนีเรียบถึงขรุขระไม่สม่ำเสมอ มีสีขาวเทาตรงกลางและนูนสูงขึ้น ขอบมีสีเทา ค่อนข้างเรียบ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.5–3 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบกระเจียวเขียว (*Abelmoschus esculentus*), 28 มิ.ย. 2556, herbarium: HY-21, cultures: Y-21=Y-21.2, Y-21.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Abelmoschus* spp. และ *Hibiscus* spp. (ตารางที่ 4.23) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-21 คือเชื้อรา *Cercospora apii* และเป็นรายงานการพบครั้งแรกในประเทศไทย



ภาพที่ 4.28 เชื้อรา *Cercospora apii* บนกระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentus*): A. อาการใบจุดและใบไหม้ด้านหน้าใบ (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบไหม้ C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D. Conidiophores และ conidiogenous cells E-F. Conidia G. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (scale bar = 10 μ m) H. โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

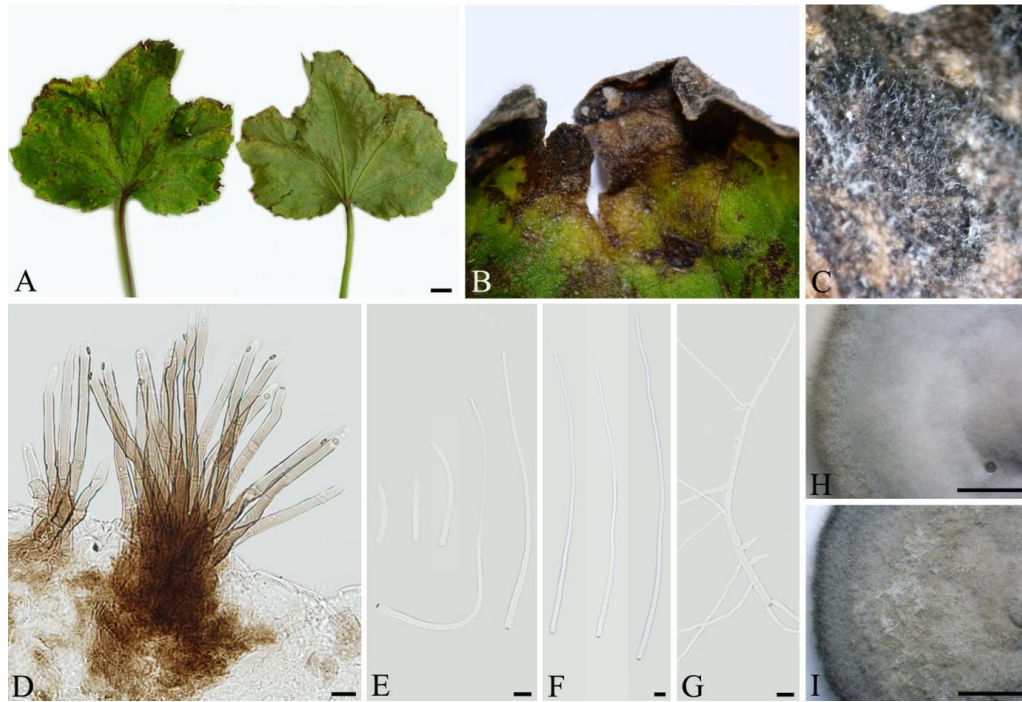
เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-22)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 mm และเชื่อมต่อกันคล้ายแผลใบไหม้ขนาดประมาณ 10–20 mm มีสีน้ำตาลอ่อนและเข้มขึ้นกลายเป็นสีน้ำตาลถึงม่วงเข้มบริเวณขอบแผล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous กระจายทั่วแผล *Stromata* แบบ substomatal–intraepidermal cells ขนาด 25–80 μm มีสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำ *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells พบว่าสามารถเกิดผ่านทางปากใบได้ มีรูปร่างค่อนข้างตรง ลักษณะเป็นทรงกระบอก อาจพบคดงอเล็กน้อย ขนาด $5-7 \times (70-80-130-160) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (1-) 2-5 (-6) -septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีน้ำตาลและจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1–2 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal และ lateral (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 3 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะค่อนข้างตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างเป็นแบบ narrowly obclavate–subcylindrical ขนาด $4-5 \times 180-275 (-280) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (14-) 16–24 (-28) -septate ใส่ไม่มีสี ส่วนฐานแบบ subtruncate–truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ subacicular–obtus *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 3 μm *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.29)

Cultures: โคโลนีมีความหลากหลาย ผิวของโคโลนีเรียบมีสีขาวถึงเทา ขอบมีสีเทาถึงเขียวซีม้ำ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. แม่วาง พบบนใบกระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentus*), 26 ก.ค. 2556, herbarium: HY-22, cultures: Y-22=Y-22.2, Y-22.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Abelmoschus* spp. และ *Hibiscus* spp. (ตารางที่ 4.23) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-22 คือเชื้อรา *Cercospora apii* และเป็นรายงานการพบครั้งแรกในประเทศไทย



ภาพที่ 4.29 เชื้อรา *Cercospora apii* บนกระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentus*): A. อาการใบไหม้ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบไหม้ C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D. Conidiophores และ conidiogenous cells E-F. Conidia G. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (scale bar = 10 µm) H-I. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

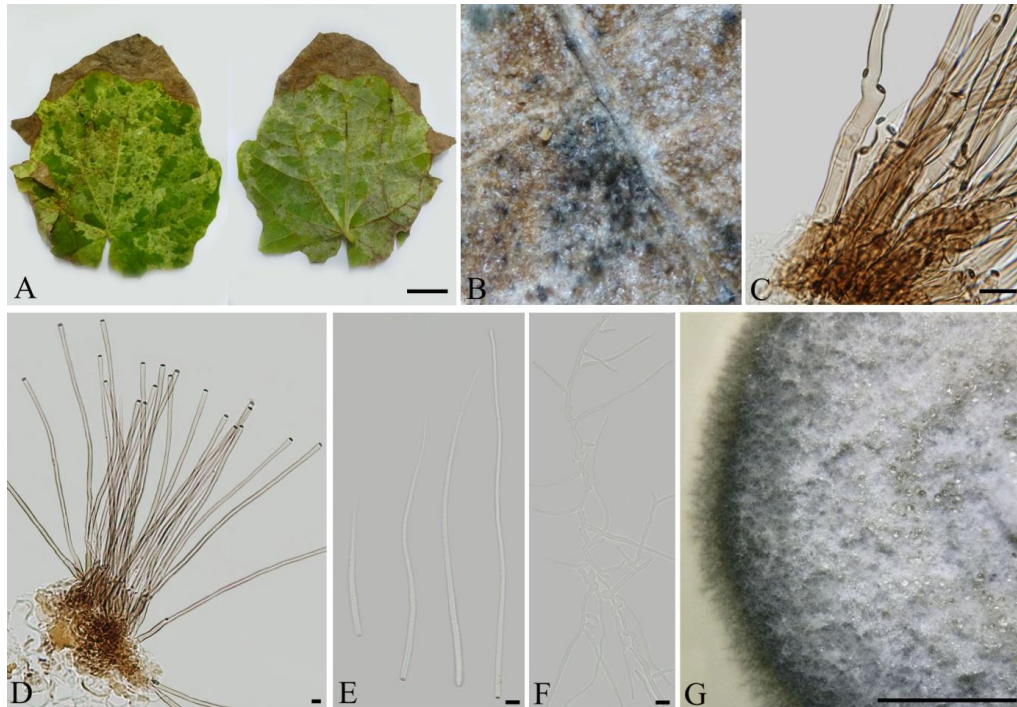
เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-15)

แผลใบไหม้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 20–30 mm มีสีน้ำตาลพบบริเวณขอบใบ พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous อยู่กระจายเป็นกระจุกๆ อยู่ทั่วทั้งแผล *Stromata* พบที่ substomatal ขนาด 50–65 μm สีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles ที่เกิดผ่านทางเซลล์ผิว (epidermal cells) และทางปากใบ มีรูปร่างตรง ลักษณะเป็นทรงกระบอก ขนาด $5-6 \times (130-140-190-210) \mu\text{m}$ มีผนังกัน 4–6 (–8) -septate ผิวเรียบ สีน้ำตาลอ่อนจนถึงเกือบใสไม่มีสี ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial มี 1 (–2) loci พบที่ terminal และ lateral จนอาจทำให้ conidiogenous cells หักงอหรือคดเคี้ยวตรงส่วนฐานเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal *Conidiogenous loci* หนาดำ ขนาด 3(–4) μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะแบบ ตรงถึงคดเคี้ยวเล็กน้อย รูปร่างเป็นแบบ subcylindrical–cylindrical ขนาด $4 \times 70-280 \mu\text{m}$ มีผนังกัน 10–28-septate มีหยดน้ำมัน ใสไม่มีสี ส่วนฐานโค้งตัดตรง และอาจเรียวแคบลงจนถึงส่วนปลาย conidia ส่วนปลายค่อนข้างพุ่งถึงที่ *Hila* หนาดำและหักเหแสงชัดเจน ขนาด 3 μm *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.30)

Cultures: โคลนเชื้อราไม่สม่ำเสมอสีขาวเทา ขอบมีสีเขียวซีมำค่อนข้างเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.5 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง ต. แม่เหียะ อุทยานหลวงราชพฤกษ์ พบบนใบชาหนู (*Malvaviscus arboreus*), 14 ก.พ. 2556, herbarium: HY-15, cultures: Y-15=Y-15.2, Y-15.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Abelmoschus* spp. และ *Hibiscus* spp. (ตารางที่ 4.23) ซึ่งเป็นจีนัสใกล้เคียงกับตัวอย่างพืชจีนัส *Malvaviscus* spp. ที่พบเชื้อราไอโซเลทที่ Y-15 ปรากฏบนแผลใบไหม้ และจากการพบครั้งนี้ยังเป็นรายงานแรกของเชื้อรา *Cercospora apii* ที่พบบนชาหนู (*Malvaviscus arboreus*) ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศไทย



ภาพที่ 4.30 เชื้อรา *Cercospora apii* บนชบาหนู (*Malvaviscus arboreus*): A. อาการใบไหม้ ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบไหม้และกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) C-D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C-F: scale bar = 10 μ m) G. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 2.5 mm)

ตารางที่ 4.23 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Abelmoschus* spp. และ *Hibiscus* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora althaeina</i>	<i>Abutilon</i> spp., <i>Alcea</i> spp., <i>Althaea</i> spp., <i>Callifhoe</i> sp., <i>Gossypium</i> sp., <i>Hibiscus</i> spp., <i>Kydia</i> sp., <i>Malva</i> spp., <i>Modiola</i> sp., <i>Napaea</i> sp.	Leaf spots	Chiefly epiphyllous, stromata lacking up to 30 µm.	4–6 × 20–70 µm (5–20 per divergent fascicle), multiseptate, rarely branched, geniculate, subhyaline–pale olivaceous brown, rarely medium brown.	3–5 × 20–100 µm, 3–9- indistinctly septate, hyaline.	Hsieh and Goh (1990)
<i>Cercospora annulata</i>	<i>Hibiscus owariensis</i>	Leaf spots	Hypophyllous, stromata lacking.	3.5–5 × 100–500 µm, multiseptate, unbranched, rarely geniculate, pale– medium brown.	2–3.5 × 25–60 µm, indistinctly multiseptate, cylindric, subhyaline–very pale olivaceous.	Chupp (1954)
<i>Cercospora apii</i>	<i>Abelmoschus esculenti</i> , <i>abutilon</i> sp., <i>Atkinsia</i> sp., <i>Gossypium</i> sp., <i>Malvaceae</i> <i>panama</i> , <i>Modiola</i> sp., <i>sida</i> sp., <i>Sphaeralcea</i> sp.	Leaf spots	Amphigenous	4–6.5 × 20–300 µm, short–long, geniculate–non geniculate, pale brown.	3–6 × 25–315 µm , acicular, straight– strongly curved, hyaline.	Chupp (1954), Crous and Braun (2003)

ตารางที่ 4.23 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Abelmoschus* spp. และ *Hibiscus* spp. (ต่อ)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora citrullina</i>	<i>Abelmoschus</i> <i>esculentus</i>	Leaf spots	Chiefly epiphyllous, stromata none or small.	4–7 × 20–300 µm (2–30 per divergent fascicle), multiseptate, simple or occasionally branched, straight–slightly bent or curved, geniculate, pale–very pale brown.	4–6 × 30–200 µm, 1–17 septate, acicular cylindric or slightly cylindrical–obclavate, straight–curved, hyaline.	Hsieh and Goh (1990)
<i>Cercospora fagopyri</i>	<i>Hibiscus syriacus</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata lacking.	4–6 × 25–70 µm (borne singly or 2–12 per fascicle), 0–1-septate, cylindric, straight–slightly curved, 0–2 geniculate, unbranched, pale–medium olivaceous brown.	3–5 × 45–100 µm, indistinctly multiseptate, hyaline, acicular, straight– slightly curved.	Hsieh and Goh (1990)
<i>Cercospora</i> <i>malayensis</i> = <i>Cercospora apii</i>	<i>Abelmoschus</i> spp., <i>Hibiscus</i> spp., <i>Lavatera</i> sp.	Leaf spots	Amphigenous, stromata none or up to 50 µm.	3–5.5 × 25–200 µm (5–20 in a compact or divergent fascicle), multiseptate, straight, tortuous or 1–7 geniculate, not branched, pale–dark olivaceous brown.	2–5 × 25–200 µm, indistinctly multiseptate, acicular, straight–curved, hyaline.	Hsieh and Goh (1990)

Family Moraceae

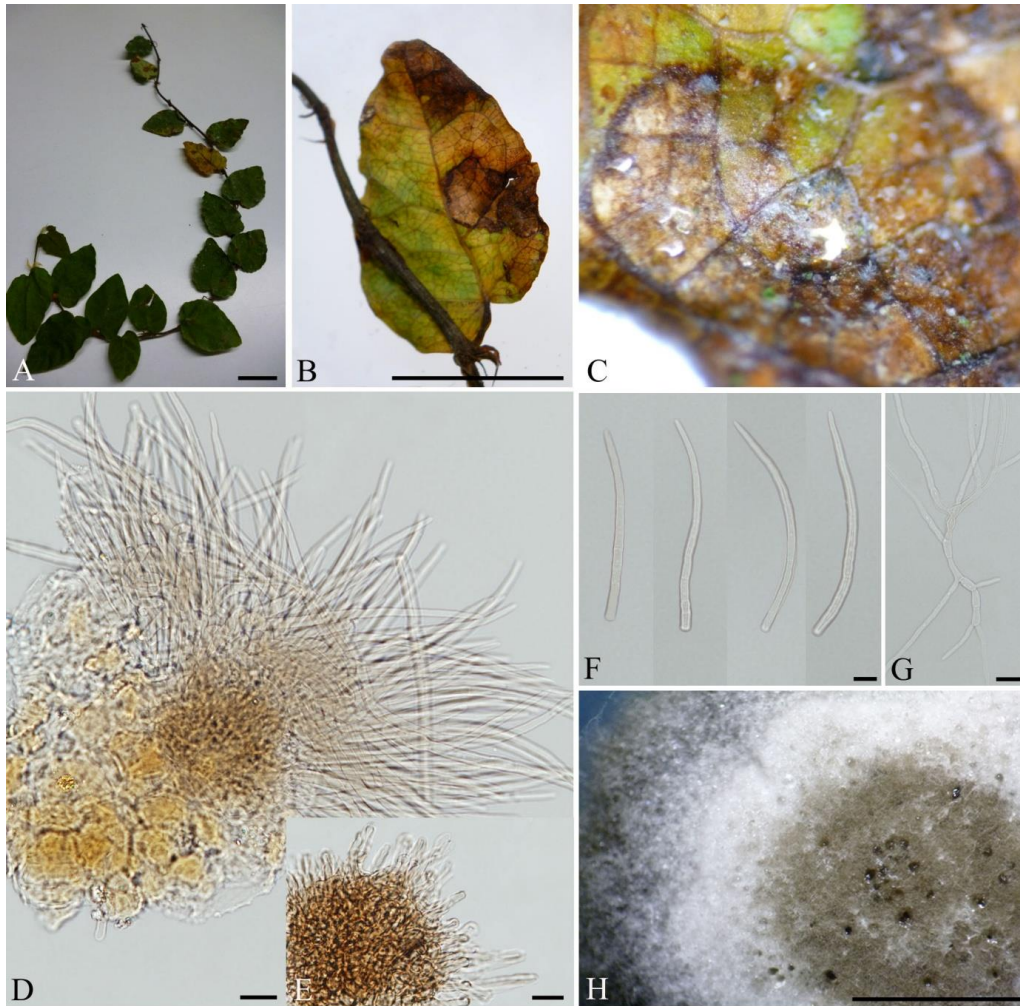
เชื้อรา *Pseudocercospora fici* (Y-09)

แผลใบไหม้ค่อนข้างเหลี่ยมเนื่องจากถูกจำกัดโดยเส้นใบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–5 mm มีสีน้ำตาลและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงดำบริเวณขอบแผลซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจน พบทั้งด้านบนและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous ทั้งที่อยู่เดี่ยวๆ และกระจายห่างๆ กันภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal รูปร่างค่อนข้างกลมถึงกลม ขนาด 25–35 μm สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* แบบ dense fascicles เกิดผ่านทาง stroma มีรูปร่างตรงถึงโค้งเล็กน้อย ขนาด (2.5–) 3–3.5 (–4) $\times$ (9–) 10–20 (–25) μm มีผนังกัน 0–1-septate ผิวเรียบ สีน้ำตาลอ่อนถึงเกือบใสไม่มีสี ส่วนด้านปลาย conidiophores ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่ส่วน terminal *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน *Conidia* เกิดแบบ solitary ลักษณะโค้งบางเล็กน้อยถึงโค้ง รูปร่างแบบ subcylindrical ขนาด (2.5–) 3 (–4) $\times$ (60–) 65–80 μm มีผนังกัน (4–) 5–8 (–10) -septate มีหยดน้ำมัน สีเทาถึงเกือบใสไม่มีสี ส่วนฐานมีลักษณะแบบ truncate และพบว่าอาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย conidia ส่วนปลายมีลักษณะแบบ slightly obtuse–subobtuse *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.31)

Cultures: โคลนีสมีลักษณะผิวเรียบสีขาวเทา กลางโคลนีสมีสีเทา ขอบเรียบสีเทา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.8–2 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงราย อ. แม่ฟ้าหลวง พระตำหนักดอยตุง พบบนใบตีนตุ๊กแก (*Ficus pumila*), 3 ก.พ. 2556, herbarium: HY-09, cultures: Y-09=Y-09.2, Y-09.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจันทน์ *Ficus* spp. (ตารางที่ 4.24) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-9 คือเชื้อรา *Pseudocercospora fici* ที่มีรายงานว่าพบในพืชจันทน์หลายชนิด เช่น *Ficus carica*, *Ficus erecta*, *Ficus fistulosa*, *Ficus hirta*, *Ficus orthoneura* และ *Ficus rumphii* เป็นต้น จากการรายงานครั้งนี้ถือเป็นครั้งแรกที่พบเชื้อรา *Pseudocercospora fici* บนตีนตุ๊กแก (*Ficus pumila*) ซึ่งไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศไทย



ภาพที่ 4.31 เชื้อรา *Pseudocercospora fici* บนตีนตุ๊กแก (*Ficus pumila*): A. อาการใบไหม้ด้านหน้าใบ (scale bar = 1 cm) B-C. ขยายอาการใบไหม้และภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D-E. Conidiophores และ conidiogenous cells F. Conidia G. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (D-G: scale bar = 10 μ m) H. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

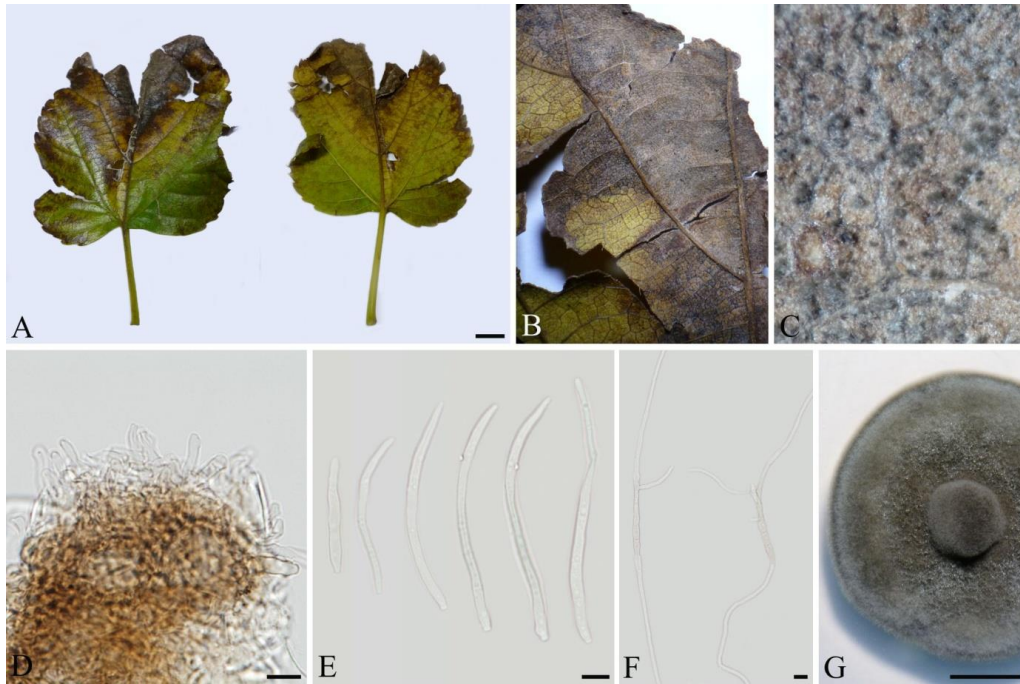
เชื้อรา *Pseudocercospora mori* (Y-34)

แผลใบไหม้สีน้ำตาลเทาปรากฏทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบที่ hypogenous อยู่กระจายภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาด 35–55 μm สีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* แบบ dense fascicles เกิดผ่านทาง epidermal cells มีรูปร่างตรงและเอียงเป็นแนวนอน ขนาด 2–5 $\times$ (5–) 6–9 (–10) μm ไม่ปรากฏผนังกันเซลล์ ผิวเรียบ สีน้ำตาลอ่อน ไม่แตกแขนง ด้านปลายตรงถึงหักเล็กน้อย มีลักษณะเป็นแบบ subacicular–acute *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่มี terminal และ lateral *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน *Conidia* แบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้ง รูปร่างแบบ narrowly obclavate–subcylindrical ขนาด 2–3 $\times$ (20–) 25–55 (–65) μm มีผนังกัน (1–) 2–6 (–7) -septate มีหยดน้ำมัน สีน้ำตาลเทา ส่วนฐานมีลักษณะแบบ subtruncate–truncate ส่วนปลายมีลักษณะแบบ subacicular–subobtuse *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.32)

Cultures: โคลินีมีลักษณะคล้ายก้ามหอยตรงกลางนูนสูงขึ้นชัดเจน มีสีน้ำตาลเทาผิวเรียบ ขอบเรียบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบหม่อน (*Morus alba*), 16 ส.ค. 2556, herbarium: HY-34, cultures: Y-34=Y-34.2, Y-34.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Morus* spp. (ตารางที่ 4.25) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-34 คือเชื้อรา *Pseudocercospora mori* การรายงานครั้งนี้ถือเป็นรายงานแรกในประเทศไทยที่พบเชื้อราชนิดนี้



ภาพที่ 4.32 เชื้อรา *Pseudocercospora mori* บนหม่อน (*Morus alba*): A. อาการใบไหม้ ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ขยายอาการใบไหม้ C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (scale bar = 10 μ m) G. โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 2.5 mm)

ตารางที่ 4.24 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจันทน์ *Ficus* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora angulo-maculae</i>	<i>Ficus benghalensis</i> , <i>Ficus esquiroliana</i> , <i>Ficus wightiana</i>	Leaf spots	Amphigenous but more abundant on the lower surface 10-40 µm in diam.	(2-14 per fascicle or arise singly from secondary mycelium), 1-4-septate, straight-wavy, rather uniform in width or curved, pale somewhat clavate in shape, unbranched, geniculate, pale olivaceous-pale brown.	3-5 × 25-100 µm, indistinctly multiseptate, cylindro-obclavate, straight-mildly curved, pale olivaceous.	Hsieh and Goh, (1990)
<i>Pseudocercospora cladophora</i>	<i>Ficus fistulosa</i> , <i>Ficus heteromorpha</i> , <i>Ficus septica</i> , <i>Ficus</i> sp.	Leaf spots brown	Hypophyllous, stromata absent.	4-5 × 60-90 µm (2-6 per divergent fascicle), 3-7-septate (sometimes constricted at the septa), cylindric, straight or curved, or occasionally branched at the apex, yellowish brown.	2-3 × 15-40 µm, 1-4-septate, obclavate-fusiform, straight-mildly curved, subhyaline – very pale olivaceous.	Hsieh and Goh, (1990)

ตารางที่ 4.24 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* sp. บนพืชจีนัส *Ficus* spp. (ต่อ)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora fici</i>	<i>Ficus carica</i> , <i>Ficus erecta</i> , <i>Ficus fistulosa</i> , <i>Ficus hirta</i> , <i>Ficus orthoneura</i> , <i>Ficus rumphii</i> ,	Leaf spots	Chiefly epiphyllous; stromata black, globular, 30–70 μ m diam.	2.5–4 $\times$ 10–30 μ m, fascicles dense–very dense, mutiseptate, not attenuated, geniculation, branching pale olivaceous brown.	2–4 $\times$ 30–180 μ m, septa indistinct, narrowly obclavate to cylindro– obclavate, straight– mildly curved, hyaline– olivaceous.	Chupp (1954)
<i>Pseudocercospora ficigena</i>	<i>Ficus religiosa</i>	Leaf spots	Large stromata	Close to <i>Ps. angulomaculae</i> but differs in having Conidiophores are dense fascicles, 0-2-septate.	Close to <i>Ps. angulomaculae</i> but differs in having 0–4-septate, subcylindrical.	Braun (2000)
<i>Pseudocercospora kallarensis</i>	<i>Ficus hirta</i>	Leaf spots	Hypophyllous, small stromata.	4–6 $\times$ 100–150 μ m, 3–6 septate, densely fascicles, unbranched.	3–6 $\times$ 20–60 μ m, 1–3 septate, conidia narrowly obclavate, light olive brown.	Chupp (1954)

ตารางที่ 4.25 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจันทน์ *Morus* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora mori</i>	<i>Morus alba</i> , <i>Morus australis</i> , <i>Morus</i> sp.	Leaf spots	Hypophyllous, stromata lacking.	20–90 × 3–5 µm (not fasciculate or 2–12 per divergent fascicle), 7– 4-septate constricted at some septa, , branched, geniculate and curved or sinuous in appearance, pale olivaceous brown– yellowish brown.	3–5 × 20–80 µm, 2–8- septate, obclavate, straight–mildly curved, conidia very pale olivaceous brown.	Hsieh and Goh (1990)
<i>Pseudocercospora pulvinulata</i>	<i>Morus acidosa</i> , <i>Morus alba</i> , <i>Morus bombycis</i> , <i>Morus nigra</i> , <i>Morus</i> sp.	Leaf spots	Hypophyllous. stromata absent.	3–5 × 16–36 µm, 1–2- septate, conidiophores fasciculate, simple or branched, grayish.	3–3.5 × 25–54 µm, 3–5- septate, obclavate– cylindrical obclavate, straight–mildly curved, conidia grayish.	Hsieh and Goh (1990)

ตารางที่ 4.25 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Morus* spp. (ต่อ)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora</i>	<i>Morus alba</i> ,	Leaf spots	Hypophyllous,	3–6 × 15–100 µm,	(3–) 4–6(–7) × (15–) 30–70 (–80)	Braun et al.
<i>snelliana</i>	<i>Morus bombycis</i>		stromata	1–12-septate,	µm, 1–10-septate, smooth or	(2013)
			absent.	fasciculate	of almost so to verruculose,	
				conidiophores,	guttulate, smaller conidia	
				stomata,	ellipsoid–ovoid, subcylindrical,	
				subcylindrical–	larger conidia usually distinctly	
				subclavate, straight–	obclavate, straight–gently	
				variously curved or	curved, sunhyaline –pale	
				geniculate–sinuous,	olivaceous and medium–dark	
				unbranched or	olivaceous–brown or brown.	
				branched above,		
				brown.		

Family Nyctaginaceae

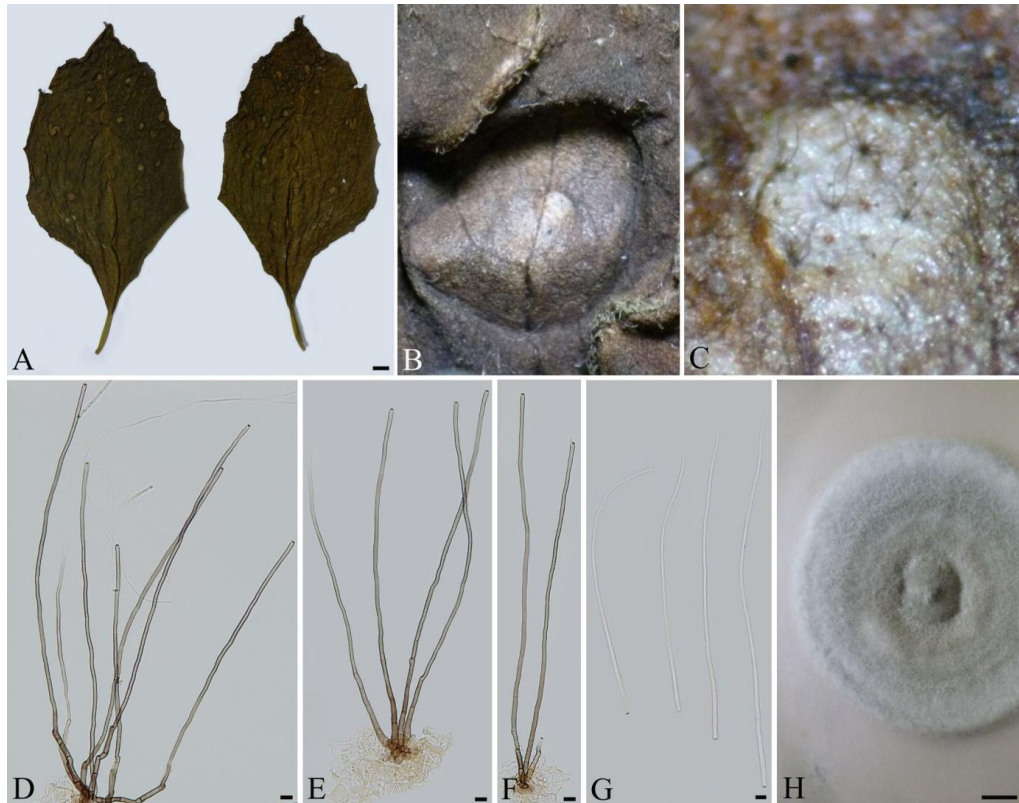
เชื้อรา *Cercospora* sp. (Y-32)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 mm มีสีเทาถึงสีน้ำตาลอ่อนและเข้มขึ้น กลายเป็นสีน้ำตาลบริเวณขอบแผล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous กระจายอยู่ห่างๆ กันในแผล *Stromata* แบบ substomatal ขนาด 10–30 μm มีสีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells พบว่าสามารถเกิดผ่านทางปากใบได้ มีรูปร่างค่อนข้างตรงและยาว ลักษณะเป็นทรงกระบอกที่อาจโค้งบางเล็กน้อยขนาด $4-7 \times (45-) 275-370 (-400) \mu\text{m}$ มีผนังกัน 8–10 (–13) -septate ผิวเรียบ สีเข้มน้ำตาล ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1 loci โดยสามารถเกิดที่ terminal (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจนขนาด 3 (–4) μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้ง รูปร่างเป็นแบบ filiform–narrowly obclavate ขนาด $(3-) 4 (-5) \times (200-) 215-340 (-380) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (16–) 17–28 (–32) -septate ใสไม่มีสี ปรากฏหยดน้ำมัน ส่วนฐานแบบ truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวยาวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ subacicular–slightly obtuse *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 3 μm *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.33)

Cultures: โคโลนีมีผิวและขอบเรียบ สีขาวเทา เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 4 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. แม่ริม ศูนย์ฯหนองหอย มูลนิธิโครงการหลวง พบบน ใบแสงจันทร์ (*Pisonea grandis*), 11 ส.ค. 2556, herbarium: HY-32, cultures: Y-32

Notes: มีรายงานการพบเชื้อรา *Cercospora* sp. บนพืชในวงศ์ Nyctaginaceae มากมายแต่สำหรับพืชในจีนัส *Pisonea* spp. ถือเป็นรายงานครั้งแรกที่พบเชื้อรา *Cercospora* sp. บน *Pisonea grandis*



ภาพที่ 4.33 เชื้อรา *Cercospora* sp. บนแสงจันทร์ (*Pisonea grandis*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D-F. Conidiophores และ conidiogenous cells G. Conidia (D-G. scale bar = 10 μ m) H. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

Family Piperaceae

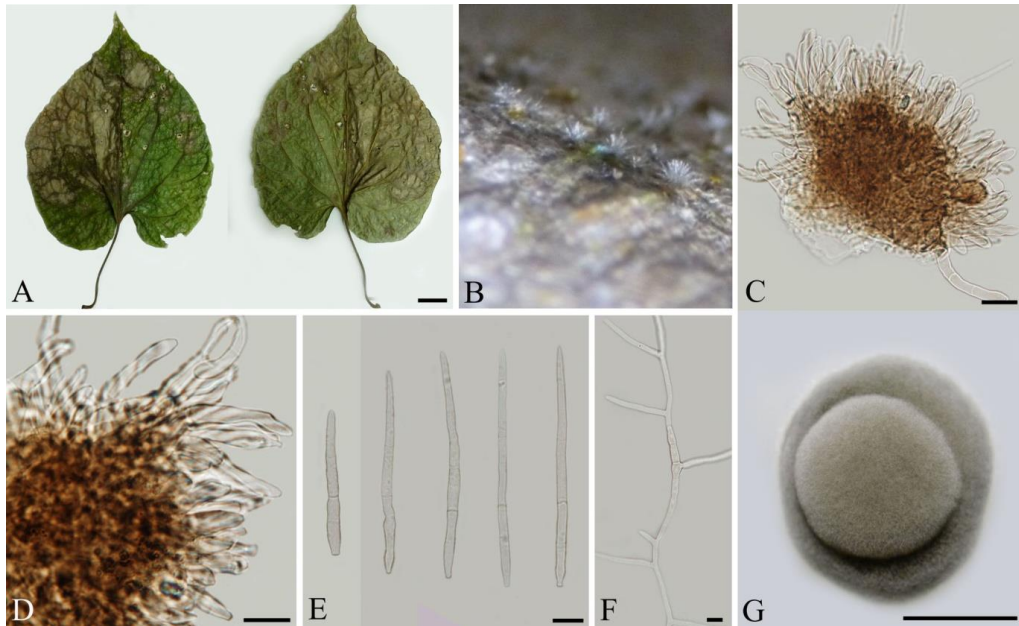
เชื้อรา *Pseudocercospora* sp. (Y-12)

แผลใบไหม้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 30–40 mm มีสีน้ำตาลเทาและปรากฏทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous โดยเกิดกระจายเป็นกลุ่มๆ ภายในแผลทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Stromata* แบบ substomatal รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาด 30–60 μm สีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* แบบ dense fascicles เกิดผ่านทาง epidermal cell และ stroma cells มีรูปร่างตรงถึงเอียงเป็นแนวนอน ขนาด 3–4 (–5) $\times$ (15–) 20–25 (–30) μm มีผนังกัน 0–1-septate ผิวเรียบ มีสีเทาถึงเกือบใสไม่มีสี ไม่แตกแขนงและอาจมีแตกแขนงแบบ dichotomous บางเล็กน้อย *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial โดยเกิดที่ terminal *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน *Conidia* เกิดแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างแบบ narrowly obclavate–subcylindrical ขนาด 3–4 $\times$ 40–65 (–70) μm มีผนังกัน (1–) 4–6 (–11) -septate มีหยดน้ำมัน สีน้ำตาลอ่อนถึงเทา ส่วนฐานมีลักษณะเป็นแบบ subtruncate–truncate และอาจเรียงแคบลงบ้างเล็กน้อยจนถึงส่วนปลาย ส่วนปลายมีลักษณะแบบ subacicular–subobtuse *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.34)

Cultures: โคลนีสมีลักษณะคล้ายก้ำมะหยีขึ้นชัดเจน มีสีน้ำตาลเทาขอบเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงราย อ. แม่ฟ้าหลวง พระตำหนักดอยตุง พบบนใบชำพลู (*Piper sarmentosum*), 11 ก.พ. 2556, herbarium: HY-12, cultures: Y-12=Y-12.2, Y-12.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Piper* spp. (ตารางที่ 4.26) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-12 บน *Piper sarmentosum* มีลักษณะแตกต่างไปจากที่เคยมีรายงานการพบ *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Piper* spp. มาก่อน โดยลักษณะที่มีความแตกต่างคือ ลักษณะอาการใบไหม้ *Caespituli* เป็นแบบ amphigenous *Conidiophores* มีขนาดสั้นกว่า 3–4 (–5) $\times$ (15–) 20 $\times$ 25 (–30) μm (18–33 per fascicles)



ภาพที่ 4.34 เชื้อรา *Pseudocercospora* sp. บนข้าพลุ (*Piper sarmentosum*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) C-D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C-F: scale bar = 10 μ m) G. โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.26 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจันทน์ *Piper* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference	
<i>Pseudocercospora artanthes</i>	<i>Piper crassinervium</i> , <i>Piper longum</i>	Leaf spots	Hypophyllous, stromata small, dark brown.	4–5 × 20–60 μm, fascicles sometimes dense, sparingly septate, irregular in width, unbranched, not geniculate, curved–sinuous, pale olivaceous brown, uniform in color.	2–3.5 × 40–120 μm, indistinctly multiseptate, narrowly obclavate, mildly curved, pale olivaceous.	Chupp (1954)	
<i>Pseudocercospora Piperigena</i>	<i>Piper arboreum</i> , <i>Piper</i> sp.	Differt a	<i>Pseudocercospora piperis–muricati</i> hyphis superficialibus cum conidiophoris solitariis evolutis, conidiis obclavatis–cylindraceis, 50–120 (–200) μm longis, pluriseptatis.				Braun and Freire (2006)
<i>Pseudocercospora piperis</i>	<i>Piper sarmentosum</i> , <i>Piper</i> sp.	Leaf spots	Stromata lacking or only a few cells	3–6 × 20–80 μm (nonfasciculate or 3–12 in fascicle), plainly multiseptate, irregular in width, often constricted at septa, branched, plainly sinuous, rarely geniculate, pale or rarely medium dark olivaceous brown, uniform in color.	3–5 × 25–130 μm, plainly multiseptate, straight or nearly so, obclavate–cylindric, pale olivaceous.	Chupp (1954)	

ตารางที่ 4.26 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจันทน์ *Piper* spp. (ต่อ)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora piperis</i>	<i>Piper lolot</i>	Leaf spots	Hypophyllous, stromata more developed 15–52 µm.	3–5 × 10–75 µm (solitary or 4–8 per fascicle), 0–3-septate, erect, straight or curved, unbranched, pale–moderately olivaceous–brown.	3–5 × 5–14 µm, slightly constricted 2–5 septate, obclacate, straight–moderately curved, pale olivaceous.	Phangsintham <i>et al.</i> (2013)

Family Rosaceae

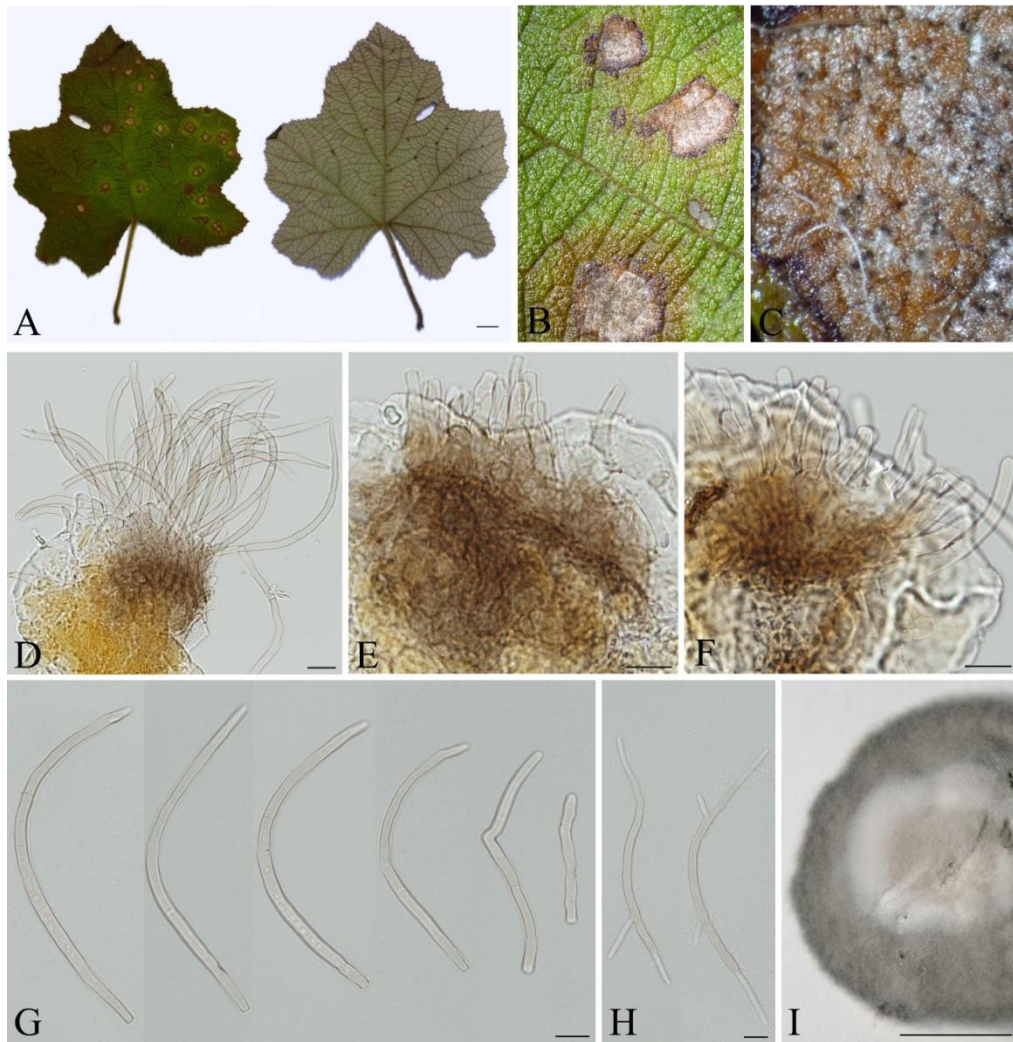
เชื้อรา *Pseudocercospora rubi* (Y-38)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 mm มีสีเทาถึงสีน้ำตาลและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงม่วงเข้มบริเวณขอบแผล ขอบแผลนูนสูงขึ้นชัดเจน แผลปรากฏทางด้านหน้าใบเท่านั้น **Caespituli** พบที่ epiphyllous อยู่กระจายทั่วทั้งภายในแผล **Stromata** แบบ substomatal-intraepidermal รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดประมาณ 40–80 μm สีน้ำตาลเข้ม **Conidiophores** พบทั้งแบบ fascicles เกิดผ่านทั้งทาง epidermal cells และ stomata cells มีรูปร่างค่อนข้างตรง ส่วนตรงปลายของ conidiophores อาจมีลักษณะเป็นแบบ geniculate-sinuous มีขนาด $3-4 \times (10-15-20 (-25)) \mu\text{m}$ มีผนังกันเซลล์ 0–1-septate ผิวเรียบ มีสีน้ำตาลเทาถึงเกือบใสไม่มีสี ไม่แตกแขนง **Conidiogenous cells** เกิดแบบ sympodial ที่มี terminal และ lateral **Conidiogenous loci** ไม่ชัดเจน **Conidia** แบบ solitary ส่วนใหญ่มีลักษณะโค้งงอคล้ายเคียว รูปร่างแบบ subcylindrical-cylindrical โดยส่วนปลายทั้งสองข้างจะแคบลงเล็กน้อย ขนาด $3-4 \times (40-50-80 (-105)) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (1-) 3–8 (-9) -septate มีหยดน้ำมัน ผิวเรียบ สีเทาถึงเกือบใสไม่มีสี ส่วนฐานมีลักษณะแบบ truncate ส่วนปลายมีลักษณะแบบ subobtusate-obtusate **Conidial germination** germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.35)

Cultures: โคลนีสมีลักษณะคล้ายก้ามหอยสีเทา ตรงกลางของโคลนีสมีสีขาวนูนสูงขึ้นเล็กน้อย ผิวและขอบค่อนข้างเรียบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5–2 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงราย อ. เทิง ภูชี้ฟ้า พบบนใบป่าฮุ่ยน้อย (*Rubus blepharoneurus*), 10 ธ.ค. 2556, herbarium: HY-38, cultures: Y-38=Y-38.2

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Rubus* spp. (ตารางที่ 4.27) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-38 คือเชื้อรา *Pseudocercospora rubi* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนบนป่าฮุ่ยน้อย (*Rubus blepharoneurus*)



ภาพที่ 4.35 เชื้อรา *Pseudocercospora rubi* บนป่าฮัน้อย (*Rubus blepharoneurus*): A. อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D-F. Conidiophores และ conidiogenous cells G. Conidia H. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-H: scale bar = 10 μ m) I. โคลนี เชื้อราบน PDA (scale bar = 2.5 mm)

ตารางที่ 4.27 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจันทน์ *Rubus* spp.

<i>Species</i>	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora heteromalla</i>	<i>Rubus ellipticus</i> , <i>Rubus rosaefolius</i>	Leaf spots	Hypophyllous, stromata lacking.	4–6 × 50–300 µm (non-fasciculate), constricted and plainly multiseptate, not geniculate, copiously branched, tortuous, bright ferruginous' –medium brown, uniform in color.	5–8 × 30–85 µm, 3–7 septate, cylindric, straight–strongly curvedsubhyaline–pale olivaceous or ferruginous.	Chupp (1954)
<i>Pseudocercospora rubi</i>	<i>Rubus</i> sp.	Leaf spots	Chiefly epiphyllous, stromata 20–40 (–60) µm	2.5–4 × 10–40 µm, fascicles dense, curved, bent or sinuous, rarely septate or geniculate, sometimes branched, pale olivaceous or fuliginous, uniform in color.	2–4 × 25–75 µm, or even 125 µm long, septa indistinct, obclavate to obclavato–cylindric, straight–curved, rarely guttulate, subhyaline–pale olivaceous.	Chupp (1954)

ตารางที่ 4.27 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชจีนัส *Rubus* spp. (ต่อ)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora rubicola</i>	<i>Rubus cochinchinesis</i> , <i>Rubus</i> sp.	Leaf spots	Chiefly epiphyllous, stromata 15–40 µm in diam.	2.5–4 × 10–35 (–75) µm (some fascicles dense), longest ones undulate, sparingly septate, not geniculate, unbranched, pale olivaceous brown, uniform in color and width.	3–6 × 35–65 (–110) µm, rather closely and plainly septate, cylindric –obclavate, straight–much curved, medium dark olivaceous.	Chupp (1954)

Family Rubiaceae

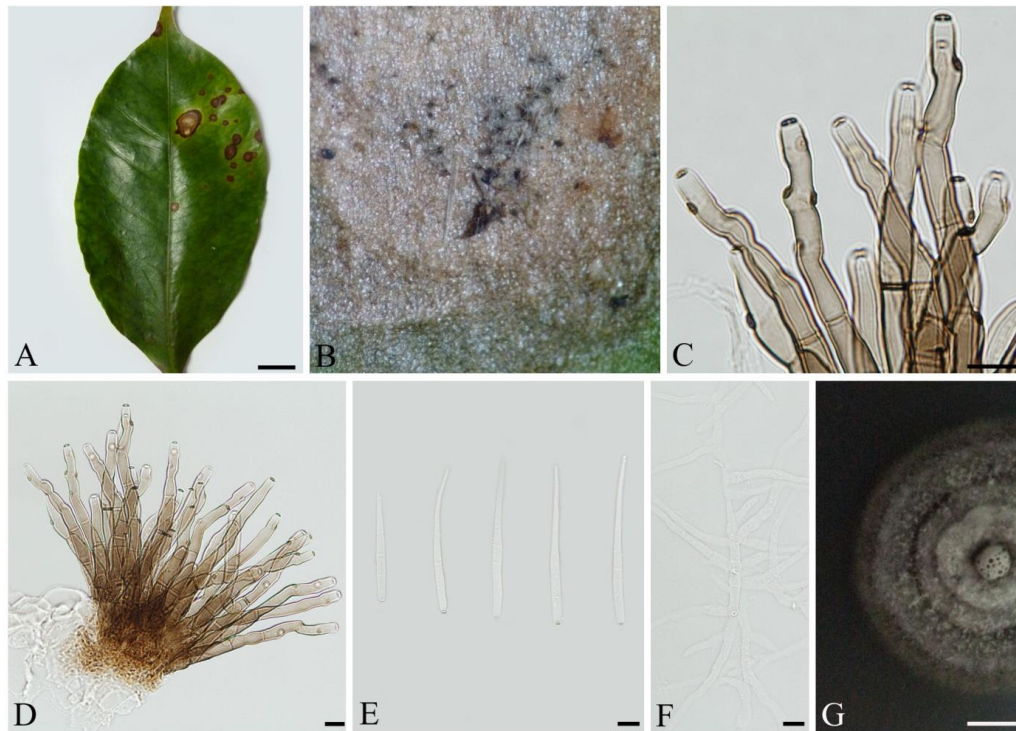
เชื้อรา *Cercospora coffeicola* (Y-03)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–10 mm มีสีเทาถึงสีน้ำตาลอ่อนและเข้มขึ้นกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มบริเวณขอบแผลซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจน แผลปรากฏด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous แต่มีมากที่ epiphyllous กระจุกอยู่เป็นกลุ่มในแผล *Stromata* แบบ substomatal ขนาด 45–60 µm มีสีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles พบว่าสามารถเกิดผ่านทางปากใบ และ epidermal cells ได้ มีรูปร่างค่อนข้างตรงถึงเอียงเป็นแนวนอนเล็กน้อย ลักษณะเป็นทรงกระบอกที่หักงอ และคดเคี้ยวเล็กน้อยขนาด (4–) 5–6 (–7) × (40–) 45–65 (–70) µm มีผนังกัน 1–3 (–4) -septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีเข้มและจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1–3 (–4) loci โดยสามารถเกิดที่ terminal และ lateral (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *Conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 2–3 µm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างเป็นแบบ acicular–narrowly obclavate ขนาด (3–) 4–5 × (25–) 45–90 (–95) µm มีผนังกัน (1–) 3–7 (–8) -septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานโค้งตัดตรง ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายค่อนข้างแหลมถึงทู่เล็กน้อย *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 2–3 µm *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.36)

Cultures: โคลนีขรุขระเล็กน้อย และมีลักษณะเป็นวงเป็นชั้นๆ มีสีเทา กลางนูนสูงขึ้น ขอบเรียบมีสีเทา มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–3 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง สถานีวิจัยเกษตรที่สูงขุนช่างเคี่ยน พบบนใบกาแฟ (*Coffea arabica*), 17 ม.ค. 2556, herbarium: HY-03, cultures: Y-03=Y-03.2, Y-03.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora coffeicola* บนพืชจีนัส *Coffea* spp. (ตารางที่ 4.28) พบว่ามีลักษณะเหมือนกันกับตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-3 ที่พบบน *Coffea Arabica*



ภาพที่ 4.36 เชื้อรา *Cercospora coffeicola* บนกาแฟ (*Coffea arabica*): A. อาการใบจุดด้านหน้าใบ (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุดและกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) C–D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C–F: scale bar = 10 μ m) G. โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

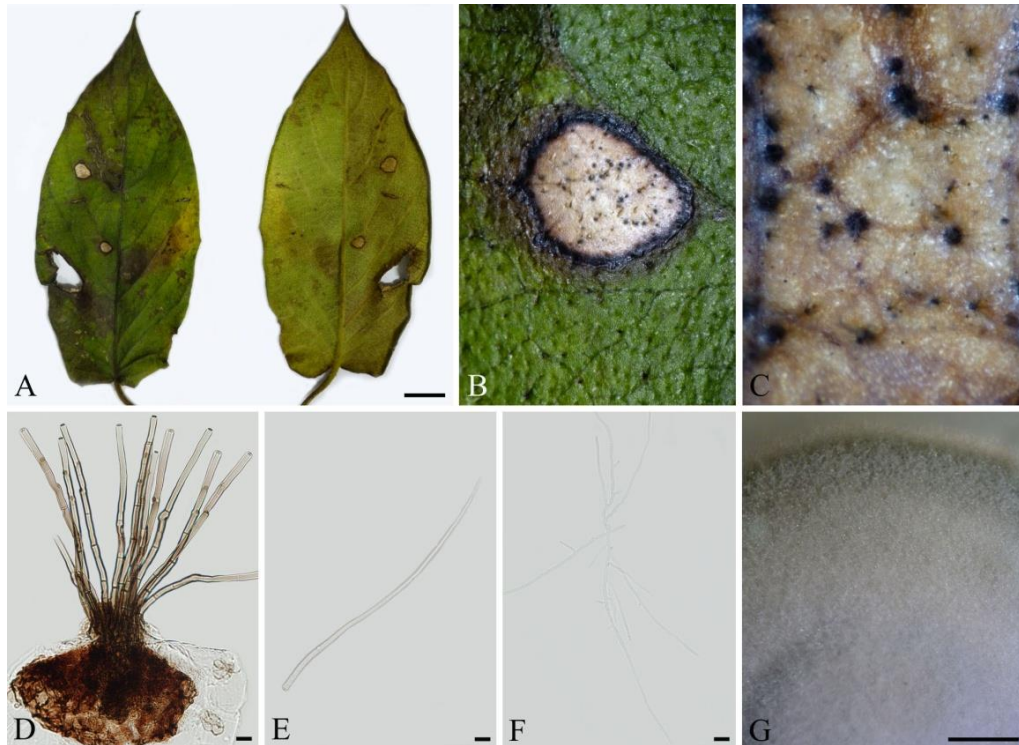
เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-18)

แผลใบจุดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–4 mm มีสีน้ำตาลอ่อนและเปลี่ยนเป็นสีดำบริเวณขอบแผล โดยเกิดขึ้นแบบเดี่ยวๆ พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบว่าเกิดขึ้นที่ epiphyllous โดยพบไม่มากเกิดห่างกันอยู่ภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal ขนาด 100–120 μm มีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells และ stomata cells มีรูปร่างค่อนข้างตรง ลักษณะเป็นทรงกระบอก ขนาด $4-6 \times (110-115-130-150) \mu\text{m}$ มีผนังกัน 5–6-septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีเข้มและจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1–2 (–3) loci โดยสามารถเกิดที่ terminal (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวบ้างเล็กน้อยเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 2–3 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างเป็นแบบ narrowly obclavate ขนาด $4-5 \times (75-100-210-310) \mu\text{m}$ มีผนังกัน (11–) 13–25 (–38) -septate ใสไม่มีสี ปรากฏหยดน้ำมัน ส่วนฐานแบบ subtruncate–truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ subacicular–slightly obtuse *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 2–3 μm *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.37)

Cultures: โคลนีผิวเรียบมีสีขาวเทา ขอบเรียบ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง สถานีวิจัยแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบเครือตดหมา (*Paederia fallida*), 10 มิ.ย. 2556, herbarium: HY-18, cultures: Y-18=Y-18.2, Y-18.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora apii* ที่พบบนพืชจีนัส *Paederia scandens* (ตารางที่ 4.29) พบว่ามีลักษณะเหมือนกันกับเชื้อราไอโซเลทที่ Y-18 ที่พบบนเครือตดหมา (*Paederia fallida*) ซึ่งเป็นเชื้อราที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนในพืชชนิดนี้



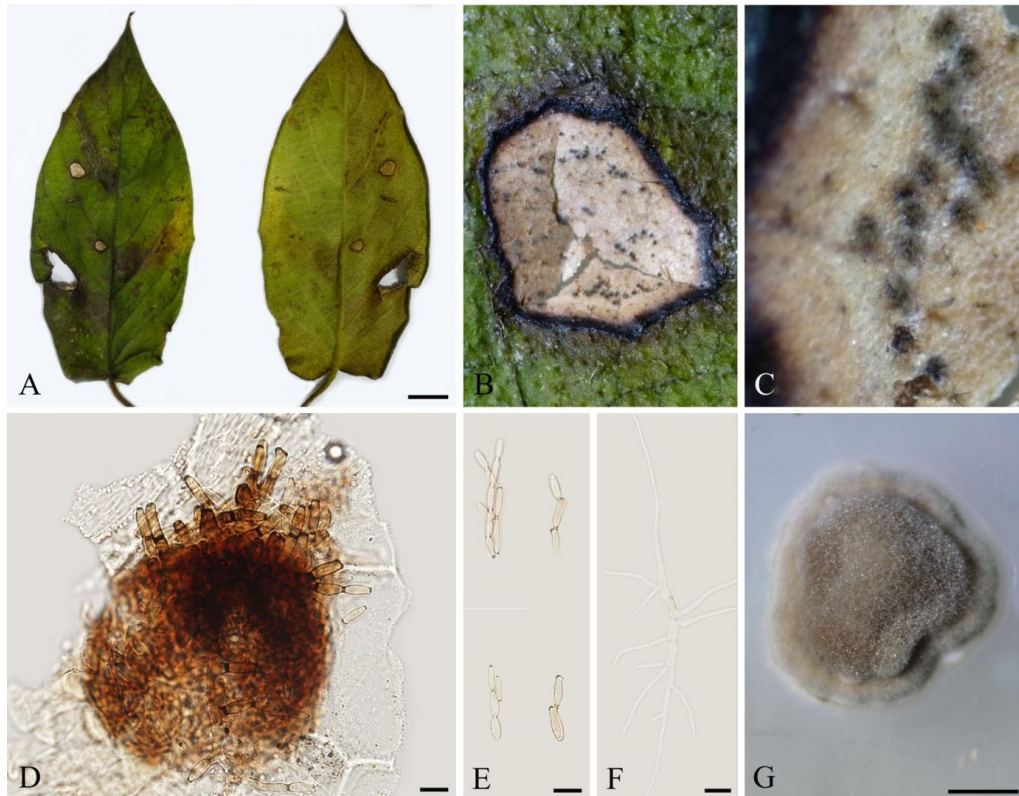
ภาพที่ 4.37 เชื้อรา *Cercospora apii* บนเครือตดหมา (*Paederia fallida*): A. อาการใบจุด ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยาย กลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidium (D–F: scale bar = 10 μ m) F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (scale bar = 10 μ m) G. โคลนเชื้อราบน PDA (scale bar = 2.5 mm)

เชื้อรา *Cladosporium* sp. (Y-19)

แผลใบจุดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 mm มีสีน้ำตาลอ่อนและเปลี่ยนเป็นสีดำบริเวณขอบแผล โดยเกิดขึ้นแบบเดี่ยวๆ พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบว่าเกิดขึ้นที่ epiphyllous โดยเกิดกระจายอยู่ทั่วภายในแผล *Stomata* เป็นแบบ substomatal ลักษณะค่อนข้างกลมและสมบูรณ์ ขนาด 100–140 μm *Conidiophores* พบว่ามีการลดรูปเหลือเพียง conidiogenous cells ที่มีลักษณะเป็นทรงกระบอก ขนาด 4–5 (–6) $\times$ 10–12 μm **Primary ramoconidia** และ **secondary ramoconidia** มีความใกล้เคียงกัน รูปร่างแบบ ellipsoid-cylindrical ขนาด 3–4 $\times$ 8–16 μm มี conidiogenous cells 2–3 ตำแหน่ง ไม่มีผนังกัน สีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม ผิวเรียบ ไม่มีผนังกัน *Conidia* มีลักษณะแบบ ellipsoid-limoniform ขนาด 2 $\times$ (6–) 7–9 μm ผิวเรียบ ไม่มีผนังกัน *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.38)

Cultures: โคลนีสมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่สีน้ำตาลถึงเทา ผิวโคลนีสค่อนข้างเรียบถึงขรุขระบ้างเล็กน้อย ขอบค่อนข้างเรียบ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง สถานีวิจัยแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบเครือตดหมา (*Paederia fallida*), 10 มิ.ย. 2556, herbarium: HY-18, cultures: Y-19=Y-19.2, Y-19.3



ภาพที่ 4.38 เชื้อรา *Cladosporium* sp. บนเครือตดหมา (*Paederia fallida*): A. อาการใบจุด ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C. ภาพขยาย กลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (D-F: scale bar = 10 μ m) G. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 2.5 mm)

ตารางที่ 4.28 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora coffeicola* บนพืชจิ้งนัส *Coffea* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora coffeicola</i>	<i>Coffea arabica</i> ,	Leaf spots	Amphigenous,	4–6 × 20–275 µm (3–30	(2–) 4–5 (–7) × 40–150	Mulder and Holliday (1974)
	<i>Coffea robusta</i> and <i>Coffea</i> sp.		mostly epiphyllous, stromata 0–50 µm in diam.	per fascicle), septate, occasionally branched, attenuated, slightly or strongly geniculate, pale–medium brown.	µm, indistinctly multiseptate, acicular– obclavate, straight or rarely curved, hyaline.	
			Amphigenous, stromata, 16.5– 31 µm in diam.	2.5–5 × 20–140 µm (9– 23 per loose–dense fascicle), divergent, 2– 4-septate, stright, cylindrical, geniculate, unbranched, brown.	3–4 × 35–178 µm, 4–21 septate, obclevate, stright, slightly curved, hyaline.	To–Anun <i>et al.</i> (2011)

* พบเชื้อราจิ้งนัส *Cercospora coffeicola* เพียงสปีชีส์เดียวบนพืชจิ้งนัส *Coffea* spp.

ตารางที่ 4.29 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora paederiicola* บนพืชจันทน์ *Paederia scandens*

<i>Species</i>	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora paederiicola</i> = <i>Cercospora apii</i>	<i>Paederia scandens</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata 15–60 μm .	4–6 $\times$ 20–126 μm (2–7 per fascicle), 1–4-septate, cylindrical, straight–curved, 0–2 geniculates, unbranched, medium brown.	1.5–3 $\times$ 25–157 μm , 6–19-setate, cylindrical or obclavate–cylindrical, acicular, stright–curved, hyaline.	Phengsintha m <i>et al.</i> (2013)

* พบเชื้อราจันทน์ *Cercospora paederiicola* (= *Cercospora apii*) เพียงสปีชีส์เดียวบนพืชจันทน์ *Paederia* spp.

Family Saururaceae

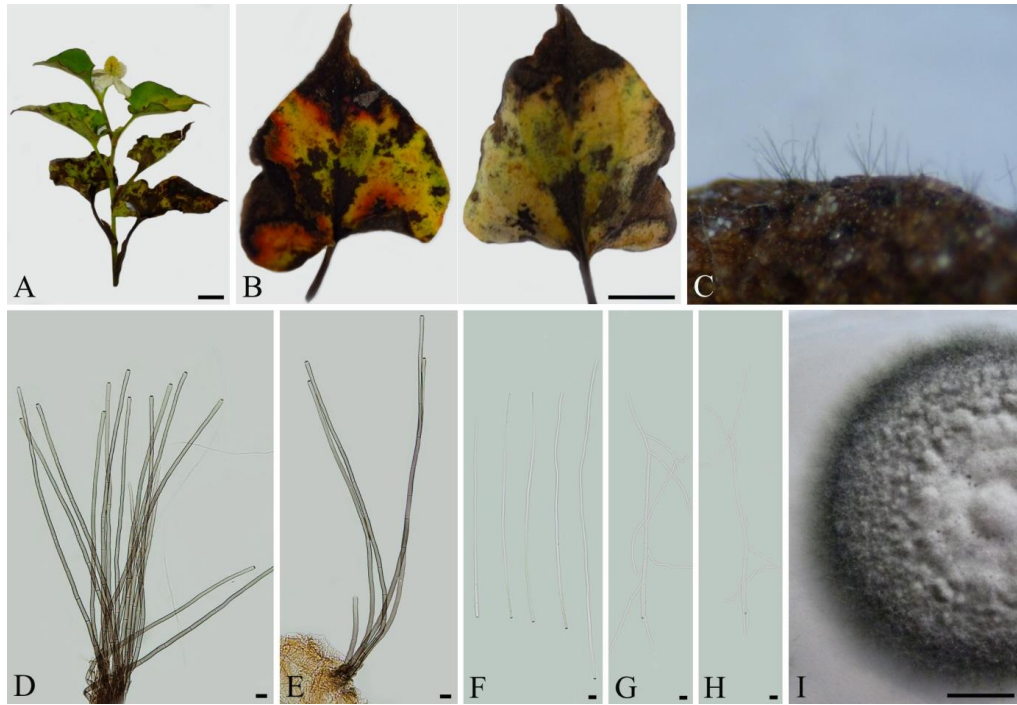
เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-28)

แผลใบไหม้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5–10 mm มีสีน้ำตาลเข้มถึงเกือบดำและเปลี่ยนเป็นสีดำถึงสีแดงบริเวณขอบแผล พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous กระจายอยู่ทั่วทั้งแผล **Stromata** แบบ substomatal ขนาด 25–30 μm มีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ *Conidiophores* เป็นแบบ fascicles เกิดขึ้นผ่านทาง epidermal cells และยังพบว่าสามารถเกิดผ่านทางปากใบได้ มีรูปร่างค่อนข้างตรง ลักษณะยาวเป็นทรงกระบอกขนาด 4–5 (–6) $\times$ (130–) 250–310 (–320) μm มีผนังกัน (4–) 7–10 (–11) -septate ผิวเรียบ มีสีเทาและจางลงสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial 1 loci ส่วนใหญ่เกิดที่ terminal *Conidiogenous loci* หนาดำและมีการหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 3 μm *Conidia* เกิดขึ้นแบบ solitary ลักษณะตรงและอาจโค้งเล็กน้อย รูปร่างเป็นแบบ filiform–narrowly obclavate ขนาด 4–5 $\times$ (160–) 200–360 (–400) μm มีผนังกัน (15–) 16–28 (–35) -septate ใสไม่มีสี ส่วนฐานแบบ truncate ส่วนกลาง conidia กว้างกว่าเล็กน้อยหรืออาจเรียวแคบลงถึงส่วนปลาย ส่วนปลายแบบ subacicular–slightly obtuse *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 3 μm *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.39)

Cultures: โคโลนีขรุขระไม่สม่ำเสมอและมีสีขาวเทาตรงกลาง ขอบมีสีเทาถึงเขียวขี้ม้าค่อนข้างเรียบ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–3 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. แม่ริม ศูนย์ฯหนองหอย มูลนิธิโครงการหลวง พบบนใบผักคาวตอง (*Houttuynia cordata*), 11 ส.ค. 2556, herbarium: HY-28, cultures: Y-28=Y-28.2

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora apii* บนผักคาวตอง *Houttuynia cordata* (ตารางที่ 4.30) พบว่ามีลักษณะเหมือนกันกับตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-28 ที่เคยมีรายงานในประเทศไทยว่าพบบนพืชชนิดเดียวกันทุกประการ (Meeboon, 2007; To-Anun et al., 2011)



ภาพที่ 4.39 เชื้อรา *Cercospora apii* บนผักคาวตอง (*Houttuynia cordata*): A. อาการใบไหม้บนใบ B. อาการใบไหม้ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (A-B: scale bar = 1 cm) D-E. ภาพขยายกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) F. Conidiophores และ conidiogenous cells F. Conidia G-H. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (D-H: scale bar = 10 μ m) I. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.30 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora apii* บนผักคาวตอง (*Houttuynia cordata*)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora apii</i>	<i>Houttuynia cordata</i>	Leaf spots	Amphigenous	4–6.5 × 20–300 µm, short–long, geniculate–non geniculate, pale brown.	3–6 × 25–315 µm, acicular, straight–strongly curved, hyaline.	Chupp (1954), Crous and Braun (2003)
<i>Cercospora houttuyniicola</i> = <i>Cercospora apii</i>	<i>Houttuynia cordata</i>	Leaf spots	Amphigenous, stroma small–well developed, 13–43 µm in diam.	3–4.5 × 47–176 µm (5–11 per loose fascicle), 1–3–septate, straight, cylindrical, unbranched, mostly non geniculate, brown.	2–5 × 27–99 µm, 7–12-septate, acicular, straight–curved, hyaline	To-Anun <i>et al.</i> , (2011)

Family Solanaceae

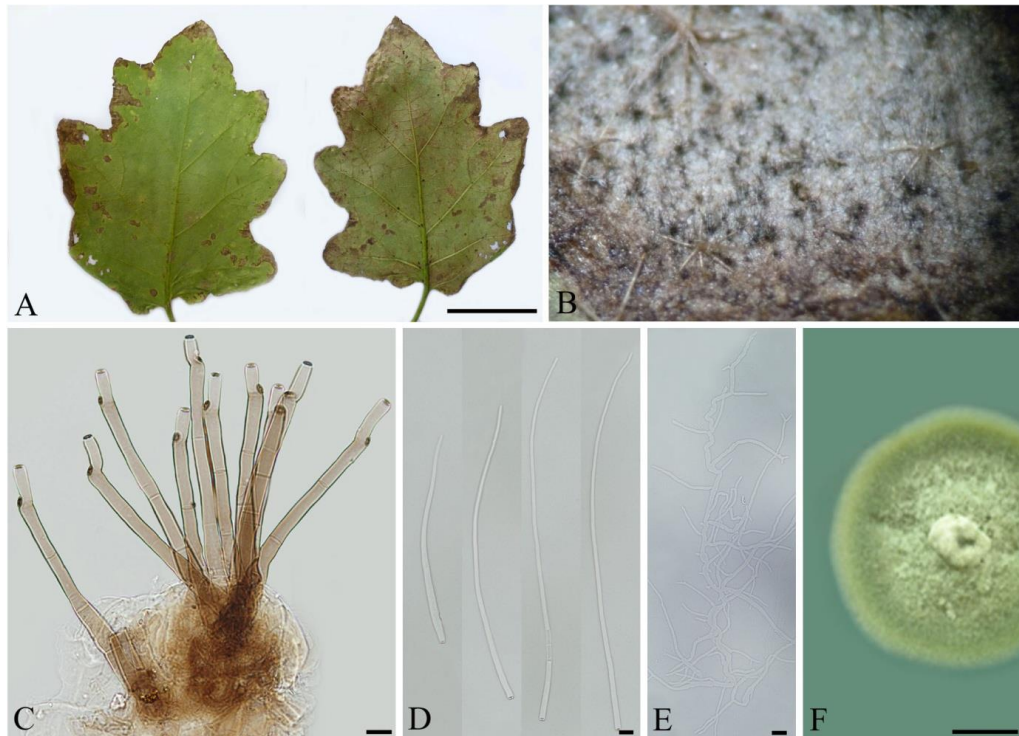
เชื้อรา *Cercospora apii* (Y-02)

แผลใบไหม้สีเทาถึงสีน้ำตาลอ่อน ขอบแผลไม่ชัดเจนแต่มีสีเข้มกว่ากลางแผลเล็กน้อย แผลปรากฏบริเวณขอบใบพืช *Caespituli* เป็นแบบ amphigenous พบมากที่ hypophyllous โดยมีกระจายอยู่ทั่วทั้งแผล *Stromata* แบบ intraepidermal รูปร่างค่อนข้างกลมถึงกลม ขนาด 40–60 μm สีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* แบบ fascicles พบว่าสามารถเกิดผ่านทางปากใบและ epidermal cells ได้ มีรูปร่างเป็นทรงกระบอกตรง ขนาด (4–) 5–7 $\times$ (55–) 60–90 (–110) μm มีผนังกัน 2–3-septate ผิวเรียบสีน้ำตาลอ่อน ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่มี 2 (–3) conidiogenous loci ตรงส่วน terminal และ lateral (อาจทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอเนื่องจากเกิดใกล้กับส่วนปลายของ terminal) *Conidiogenous loci* หนาดำและหักเหแสงอย่างชัดเจน ขนาด 3–4 μm *Conidia* เกิดแบบ solitary ลักษณะค่อนข้างโค้ง รูปร่างแบบ narrowly obclavate–subcylindrical ขนาด 3–4 $\times$ (85–) 100–240 μm มีผนังกัน 6–24-septate ใสไม่มีสี ส่วนของฐานโค้งตัดตรงถึงตัดตรง และเรียวแคบลงสู่ส่วนปลาย ส่วนของด้านปลายค่อนข้างทู่ *Hila* หนาดำชัดเจน ขนาด 3–4 μm *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.40)

Cultures: โคลนที่ค่อนข้างเรียบมีสีขาวเทาถึงสีเขียวขี้ม้า กลางนูนสูงขึ้น ขอบเรียบมีสีเขียวขี้ม้า และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มช. พบบนใบมะเขือยาว (*Solanum melongena*), 21 พ.ย. 2555, herbarium: HY-02, cultures: Y-02=Y-02.2, Y-02.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Solanum* spp. (ตารางที่ 4.31) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-2 บนมะเขือยาว (*Solanum melongena*) คือเชื้อรา *Cercospora apii* และนอกจากนี้ยังเคยมีรายงานการพบเชื้อราชนิดนี้บนพืชอาศัย *Solanum* sp. จากภาคเหนือของประเทศไทยมาก่อน (Meeboon, 2006)



ภาพที่ 4.40 เชื้อรา *Cercospora apii* บนมะเขือยาว (*Solanum melongena*): A. อาการใบไหม้ ด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 5 cm) B. ภาพขยายอาการใบไหม้และกลุ่มโครงสร้างเชื้อรา (caespituli) C. Conidiophores และ conidiogenous cells D. Conidia E. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C-E: scale bar = 10 μ m) F. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

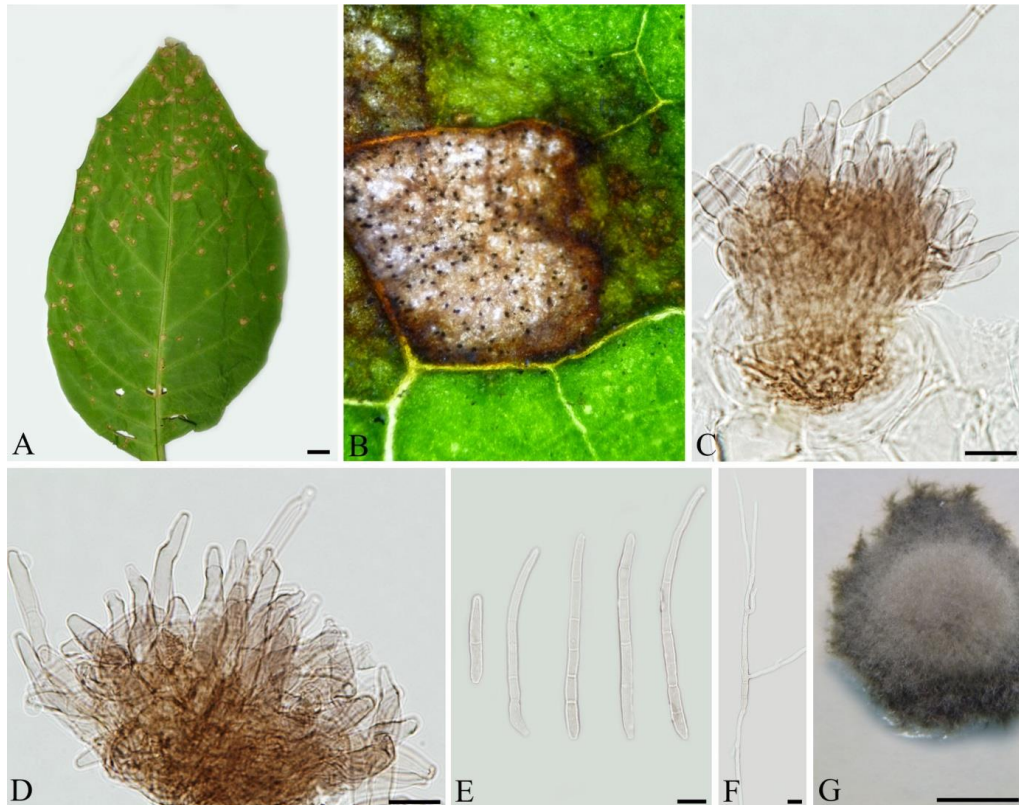
เชื้อรา *Pseudocercospora egenula* (Y-04)

แผลใบจุดกลมถึงเหลี่ยมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–5 mm มีสีน้ำตาลเทาและเข้มขึ้น กลายเป็นสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้มบริเวณขอบแผลซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจน แผลปรากฏทั้งด้านหน้าและหลัง ใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous อยู่กระจายภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาด 25–45 μm สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* แบบ dense fascicles พบว่าเกิดผ่านทางปากใบ มีรูปร่างตรงและเอียงเป็นแนวนอน ขนาด (3.5–) 4–5 (–6) $\times$ (17–) 20–35 (–45) μm มีผนังกั้น (0–) 1–2 (–4) -septate ผิวเรียบ สีน้ำตาลอ่อน ไม่แตกแขนง ด้านปลายตรงถึงหักเล็กน้อย มีลักษณะเป็นแบบ subacicular–acute *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่มี terminal และ lateral *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน (ในบาง conidiophores อาจพบหนาและดำบ้าง) *Conidia* แบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างแบบ narrowly obclavate–subcylindrical ขนาด 3–4 (–5) $\times$ (16–) 35–75 (–95) μm มีผนังกั้น 1–7 (–9) -septate เกือบใส่ไม่มีสีถึงเทา ส่วนฐานมีลักษณะแบบ subtruncate ส่วนปลายมีลักษณะแบบ subobtuse–obtuse *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.41)

Cultures: โคลนมีลักษณะคล้ายก้ามเหี้ยสูงชันชัดเจน มีสีเทาผิวเรียบ ขอบขรุขระไม่เสมอกัน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางที่ 7–8 mm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. จอมทอง สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ พบบนใบ ลำโพง (*Brugmansia candida*), 27 ม.ค. 2556, herbarium: HY-04, cultures: Y-04=Y-04.2, Y-04.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* sp. ที่พบบนพืชในวงศ์ Solanaceae (ตารางที่ 4.32) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-4 มีลักษณะเหมือนกับเชื้อรา *Pseudocercospora egenula* รายงานครั้งนี้ถือเป็นครั้งแรกในการพบเชื้อราดังกล่าวที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนบนลำโพง (*Brugmansia candida*)



ภาพที่ 4.41 เชื้อรา *Pseudocercospora egenula*. บนลำโพง (*Brugmansia candida*): A. อาการใบจุดด้านหน้าใบ (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C-D. Conidiophores และ conidiogenous cells E. Conidia F. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium (C-F: scale bar = 10 μ m) G. โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 2.5 mm)

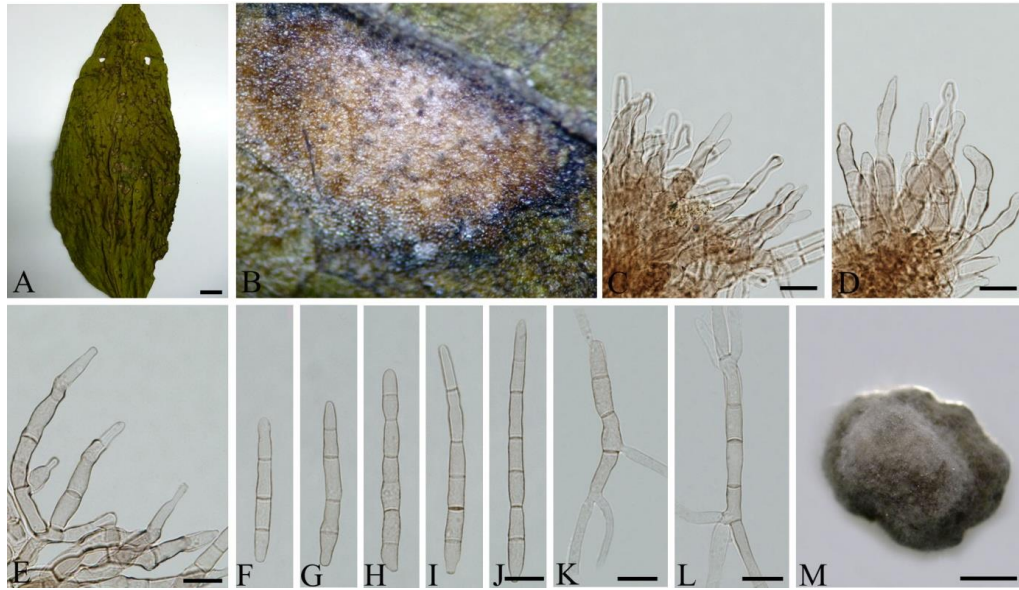
เชื้อรา *Pseudocercospora daturina* (Y-10)

แผลใบจุดกลมถึงเหลี่ยมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 mm มีสีน้ำตาลเทาและเข้มขึ้น กลายเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงดำบริเวณขอบแผลซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจน พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituli* พบแบบ amphigenous อยู่กระจายภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาด 35–65 μm สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* แบบ dense fascicles พบว่าเกิดผ่านทางปากใบ และสามารถเป็นผ่านทาง secondary mycelium มีรูปร่างตรงและเอียงเป็นแนวนอน ขนาด 4–5 (–6) $\times$ (10–) 15–40 (–45) μm มีผนังกัน 0–2 (–3) -septate ผิวเรียบ สีเทาถึงน้ำตาลอ่อน พบว่ามีการแตกแขนงและไม่แตกแขนง ด้านปลายตรงถึงหักโค้งเล็กน้อย มีลักษณะเป็นแบบ subacicular-acute *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial ที่มี terminal และ lateral *Conidiogenous loci* ไม่ชัดเจน (ในบาง conidiophores อาจพบหนาและดำบ้างเล็กน้อย) *Conidia* แบบ solitary ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างแบบ narrowly obclavate-subcylindrical ขนาด (3–) 4–5 $\times$ (22–) 42–87 (–110) μm มีผนังกัน (1–) 4–8 (–11) -septate มีหยดน้ำมัน สีน้ำตาลอ่อนถึงเทา ส่วนฐานมีลักษณะแบบ subtruncate-truncate ส่วนปลายมีลักษณะแบบ subobtuse-obtuse *Conidial germination* germ-tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.42)

Cultures: บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA โคโลนีมีลักษณะคล้ายก้ำมะหยีสูงชันชัดเจน มีสีน้ำตาลเทาผิวเรียบ ขอบเรียบถึงขรุขระไม่เสมอกัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7–8 mm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงราย อ. แม่ฟ้าหลวง พระตำหนักดอยตุง พบบนใบลำโพง (*Brugmansia candida*), 3 ก.พ. 2556, herbarium: HY-10, cultures: Y-10=Y-10.2

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชในวงศ์ Solonaceae (ตารางที่ 4.32) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-10 มีลักษณะเหมือนกับเชื้อรา *Pseudocercospora daturina* รายงานครั้งนี้ถือเป็นครั้งแรกในการพบเชื้อราชนิดนี้ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนบนลำโพง (*Brugmansia candida*)



ภาพที่ 4.42 เชื้อรา *Pseudocercospora duturina* บนลำโพง (*Brugmansia candida*): A. อาการใบจุดด้านหน้าใบ (scale bar = 1 cm) B. ภาพขยายอาการใบจุด C-E. Conidiophores และ conidiogenous cells F-J. Conidia K-L. ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidia (C-L: scale bar = 10 μ m) M. โคโลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 2.5 mm)

ตารางที่ 4.31 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora* spp. บนพืชจีนัส *Solanum* spp.

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora physalidis</i> = <i>Cercospora apii</i>	<i>Solanum melongena</i> , <i>Solanum nigrum</i> , <i>Solanum verbascifolium</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata lacking or small.	4–6.5 × 20–250 µm (singly–dense fascicles), many collections showing 20–60 µm in length, mutiseptate, divergent, 1–2 geniculate, straight or only slightly curved, unbranched, very pale olivaceous–pale olivaceous brown.	3–5 × 25–220 µm, indistinctly multiseptate, acicular, shortest ones may be cylindric, straight–variously curved, hyaline.	Chupp (1954), Meeboon (2006).
<i>Cercospora solani</i>	<i>Solanum melongena</i> , <i>Solanum nigrum</i>	Leaf spots	Hypophyllous, stromata lacking or small, brown.	4–6 × 20–85 µm (fascicles mostly dense), mutiseptate, mostly 1–3 geniculate, rarely branched, subhyaline–pale olivaceous brown.	3.5–6 × 40–125 µm, indistinctly multiseptate, acicular, straight–mildly curved, hyaline.	Chupp (1954)

ตารางที่ 4.32 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชในวงศ์ Solanaceae ที่พบในประเทศไทย

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora atromarginalis</i>	<i>Lycianthes biflora</i>	Leaf spots	Amphigenous, chiefly hypophyllous, 12–15 µm.	3.5–5 × 115 µm (1–5 per fascicle), 1–11-septate, erect, straight or curved, simple or branch, pale–medium brown.	3.5–6 × 32–55 µm, 3–5-septate, slightly obclavate–cylindrical, almost straight or slightly–strongly curved, pale olivaceous.	Phengsintham <i>et al.</i> , (2013) reported from Thailand.
<i>Pseudocercospora daturina</i>	<i>Datura alba</i>	Leaf spots	Amphigenous, stomata 18–30 µm.	2–4 × 21–78 µm (7–12 per fascicle), 1–4-septate, straight–decumbent, apex, branched, slightly geniculate, brown.	2.5–4 × 33–135 µm, 6–14-septate, obclavate–filiform, straight–mildly curved, hyaline–subhyaline.	Meeboon (2009) reported from Thailand.

ตารางที่ 4.32 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pseudocercospora* spp. บนพืชในวงศ์ Solanaceae ที่พบในประเทศไทย (ต่อ)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Pseudocercospora rubicola</i>	<i>Rubus cochinchinesis</i> , <i>Rubus</i> sp.	Leaf spots	Chiefly epiphyllous, stromata 15–40 μm in diam.	2.5–4 $\times$ 10–35 (–75) μm (some fascicles dense), longest ones undulate, sparingly septate, not geniculate, unbranched, pale olivaceous brown, uniform in color and width.	3–6 $\times$ 35–65 (–110) μm , rather closely and plainly septate, cylindric – obclavate, straight–much curved, medium dark olivaceous.	Chupp (1954)
<i>Pseudocercospora egenula</i>	<i>Solanum xanthocarpum</i>	Leaf spots	Amphigenous, stomata 22–147 μm .	2–4 $\times$ 13–56 μm (15–23 per fascicle), 0–2-septate, straight–decumbent, cylindrical, non-geniculate, unbranched, palebrown.	2.5–3.5 $\times$ 52–68 μm , 4–10-septate, obclavate–straight, cylindrical, straight, hyaline–subhyaline.	Meeboon (2009)
<i>Pseudocercospora fuligena</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Leaf spots	Amphigenous, stomata up to 37.5 μm in diam.	(2.5–) 3–4 $\times$ (34–) 40–70.5 (–174) μm , dense and divergent fascicles, 1–4-septate, straight, unbranch, slightly geniculate at apex, brown.	3–4 (–5) $\times$ (26–) 35.5–83 (–99.5) μm , 3–10-septate, cylindric, straight–curved, hyaline–subhyaline.	Meeboon (2009)

Family Verbenaceae

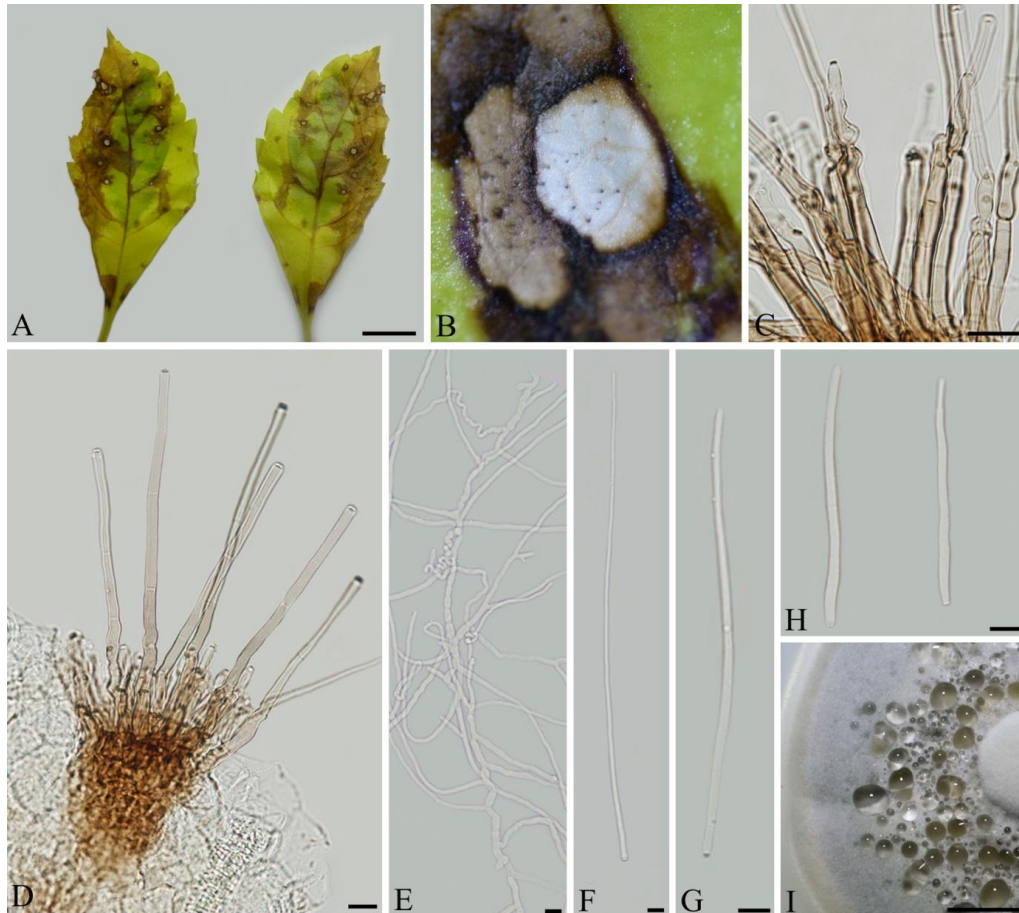
เชื้อรา *Cercospora* sp. (Y-16)

แผลใบจุดกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1–2 mm และเชื่อมต่อกันเป็นแผลที่มีขนาดใหญ่ขึ้น มีสีขาวเทาและเปลี่ยนเป็นสีดำบริเวณขอบแผลซึ่งสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน พบทั้งด้านหน้าและหลังใบ *Caespituil* ที่พบ amphiphylous อยู่แบบเดี่ยวๆ ถึงกระจายห่างกันบริเวณภายในแผล *Stromata* แบบ substomatal–intraepidermal รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาด 40–60 μm สีน้ำตาลเข้ม *Conidiophores* เป็นแบบ loose fascicles ที่เกิดผ่านทาง epidermal cells มีลักษณะรูปร่างทรงกระบอกและส่วนของฐานอาจหักงอหรือคดเคี้ยวเล็กน้อยเนื่องจากเป็นส่วนหนึ่งของ conidiogenous cells ขนาด 4–6 $\times$ (45–) 70–120 (–135) μm มีผนังกัน 3–4 (–5) -septate ผิวเรียบ ส่วนฐานมีสีน้ำตาลอ่อนและจางลงเล็กน้อยสู่ส่วนปลาย ไม่แตกแขนง *Conidiogenous cells* เกิดแบบ sympodial มี 1–3 (–4) loci โดยเกิดที่ terminal และ lateral ที่ใกล้กับฐานจนทำให้ conidiogenous cells มีการหักงอถึงคดเคี้ยวได้ *Conidiogenous loci* หนาดำ ขนาด 1–3 μm *Conidia* เกิดแบบ Solitary มีลักษณะตรงถึงคดเคี้ยวเล็กน้อย รูปร่างแบบ subcylindrical–cylindrical ขนาด 3–4 $\times$ 80–175 μm มีผนังกัน 9–23-septate ใสไม่มีสีส่วนฐานตัดตรง และยาวเป็นทรงกระบอกไปสู่ส่วนปลาย conidia ส่วนปลายทู่ *Hila* หนาดำและหักเหแสงชัดเจน ขนาด 2 μm *Conidial germination* germ–tube งอกยาวออกมาจากบริเวณด้านปลายทั้งสองข้างของ conidia โดยงอกยาวขนานตามแนวเดียวกับ conidia นอกจากนั้นยังสามารถงอกออกมาจากด้านข้างของ conidia แบบตั้งฉาก (ภาพที่ 4.43)

Cultures: ผิวของโคโลนีเรียบสีขาวเทา ตรงกลางโคโลนีนูนสูงขึ้น ขอบเรียบมีสีเทา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.5 cm ใน 2 สัปดาห์

Specimen examined: จ. เชียงใหม่ อ. เมือง อุทยานหลวงราชพฤกษ์ พบบนใบชาทอง (*Duranta repens*), 14 ก.พ. 2556, herbarium: HY-16, cultures: Y-16=Y-16.2, Y-16.3

Notes: จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora duranticola* (ตารางที่ 4.33) ซึ่งเป็นเชื้อราเพียงสปีชีส์เดียวบนชาทอง (*Duranta repens*) พบว่าตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-16 มีความแตกต่าง โดยลักษณะของ *Conidiophores* และ *Conidia* มีขนาดยาวกว่าคือ 4–6 $\times$ (45–) 70–120 (–135) μm และ 3–4 $\times$ 80–175 μm ตามลำดับ



ภาพที่ 4.43 เชื้อรา *Cercospora* sp. บนชาทอง (*Duranta repens*): **A.** อาการใบจุดด้านหน้า (ซ้าย) และด้านหลังใบ (ขวา) (scale bar = 1 cm) **B.** ภาพขยายอาการใบจุด **C-D.** Conidiophores และ conidiogenous cells **E.** ลักษณะการงอกของ germ-tube จาก conidium **F-H.** Conidia (C-H: scale bar = 10 μ m) **I.** โคลนีเชื้อราบน PDA (scale bar = 5 mm)

ตารางที่ 4.33 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Cercospora duranticola* บนชาทอง (*Duranta repens*)

Species	Host	Symptom	Caespituli	Conidiophores	Conidia	Reference
<i>Cercospora duranticola</i>	<i>Duranta repens</i>	Leaf spots	Amphigenous, stromata wall developed 17–52 µm in diam.	4–5 × 17–35 µm (1–11 per fascicle), 0–2-septate, unbranched, straight–curved, cylindrical–distinctly geniculate (0–2-times geniculate), uniformly short, medium brown.	2–4 × 24–144 µm, 3–13-septate, acicular–narrowly obclavate, straight–curved, hyaline.	Phengsintham <i>et al.</i> (2013)

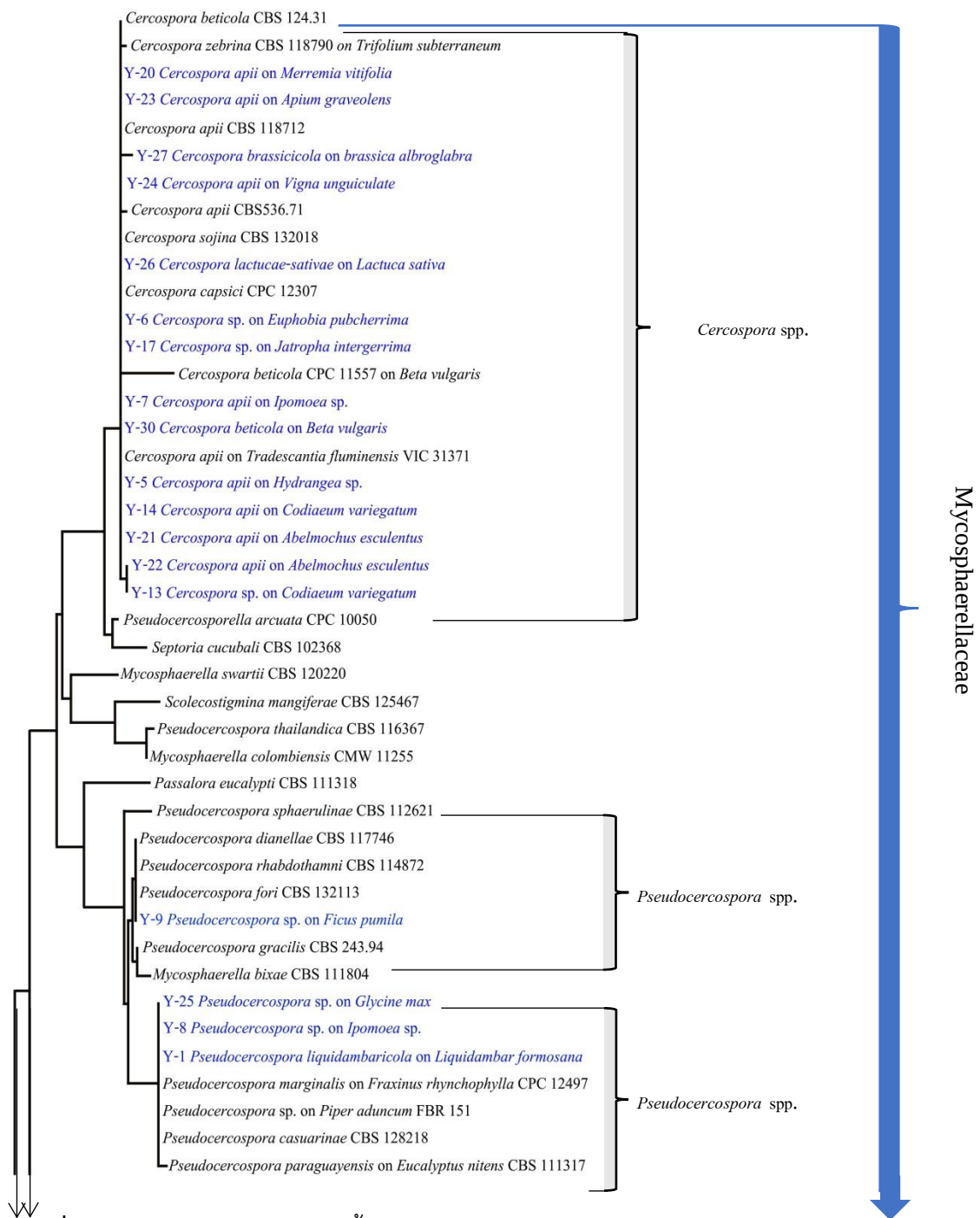
4.3 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ทางด้านพันธุกรรมของเชื้อราตัวอย่าง และการจัดจำแนกกลุ่ม

ลำดับเบสที่ใช้ในการวิเคราะห์ และเปรียบเทียบเพื่อหาความสัมพันธ์ในตำแหน่ง Large Subunit (LSU) และตำแหน่ง Internal Transcribed Spacer (ITS) ของตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-1, Y-5, Y-6, Y-7, Y-8, Y-9, Y-13, Y-14, Y-17, Y-20, Y-21, Y-22, Y-23, Y-24, Y-25, Y-26, Y-27 และ Y-30 ซึ่งเป็นตัวอย่างเชื้อราที่พบจากการศึกษาครั้งนี้ รวมด้วยกลุ่มตัวอย่างเชื้อรา cercosporoid จาก Genbank โดยใช้โปรแกรม Mega 6 ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของเชื้อรา

จากนั้นจึงได้ทำการวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ของเชื้อราโดยใช้ตำแหน่ง LSU ของกลุ่มตัวอย่างเชื้อราข้างต้น รวมด้วยกลุ่มตัวอย่างเชื้อราอื่นๆ ที่มีความใกล้เคียงกันจาก Genbank และจากการวิเคราะห์พบว่ากลุ่มยีส *Cercospora* และ *Pseudocercospora* เป็นสมาชิกของเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ซึ่งจาก Phylogeny (ภาพที่ 4.44) พบว่าแยกกลุ่มออกมาจากเชื้อราวงศ์ Dissoconiaceae, Teratosphaeriaceae และวงศ์ Davidiellaceae ซึ่งเป็นเชื้อราในวงศ์ใกล้เคียงที่อยู่ในลำดับ Capnodiales (order Capnodiales) อย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราในยีส *Mycosphaerella* (teleomorph genera) และกลุ่มเชื้อรา cercosporoid บางยีสเป็นสมาชิกในวงศ์ Mycosphaerellaceae อีกด้วย ได้แก่ เชื้อรา *Pseudocercospora*, *Septoria*, *Passalora*, *Ramularia* และ *Paracercospora* เป็นต้น โดยเชื้อราเหล่านี้เป็นเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorphic genera) สร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่เรียกว่า conidia และยังพบอีกว่ากลุ่มเชื้อรายีส *Cercospora* spp. มีการรวมกลุ่มกันที่ค่อนข้างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มเชื้อรายีส *Pseudocercospora* spp. ที่มีลักษณะการกระจายตัวของแต่ละไอโซเลทที่มากกว่า โดยรวมอยู่กับเชื้อรายีสอื่นๆ ในวงศ์ Mycosphaerellaceae

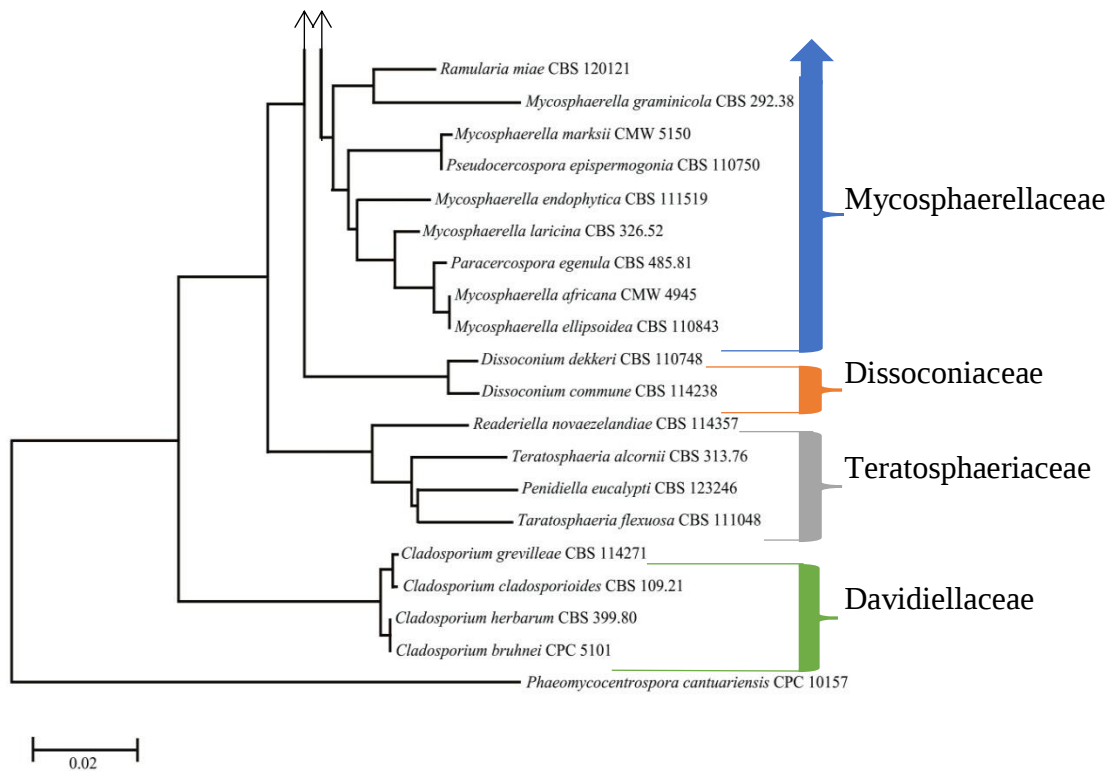
สำหรับการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของกลุ่มตัวอย่างเชื้อราทั้ง 18 ไอโซเลทที่อยู่ในยีส *Cercospora* spp. และ *Pseudocercospora* spp. ร่วมกับตัวอย่างเชื้อราในกลุ่มยีสเดียวกันจาก Genbank โดยใช้ในตำแหน่ง ITS นั้น พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อรา *Cercospora* และ *Pseudocercospora* ได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 4.45)

จากข้อมูลข้างต้นทำให้ทราบว่าเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae นั้นประกอบไปด้วยสมาชิกของยีสเชื้อราที่มีความหลากหลาย ทั้งที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ ซึ่งรวมทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาในแต่ละยีสที่มีความแตกต่างกันด้วย อย่างไรก็ตามเมื่อการวิเคราะห์ทาง Phylogeny ยืนยันว่าเชื้อรายีสเหล่านี้อยู่ในกลุ่มเดียวกันแล้ว ดังนั้นเชื้อราดังกล่าวจึงย่อมมีความสัมพันธ์กันไม่ว่าทางใดก็ทางหนึ่งด้วย



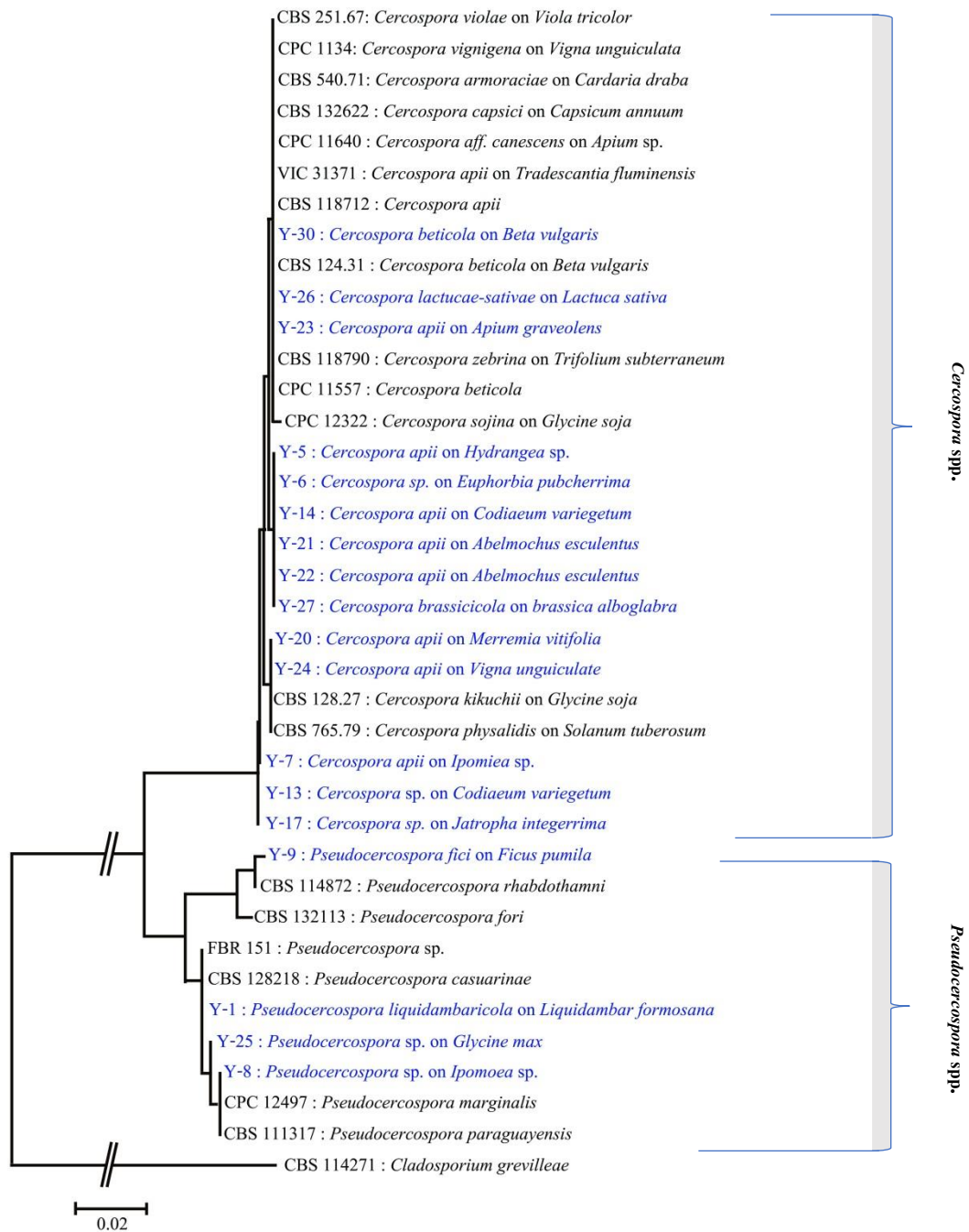
ภาพที่ 4.44 Phylogeny ของเชื้อรากลุ่ม cercosporoid จากตัวอย่างบางไอโซเลทจากภาคเหนือของประเทศไทย และกลุ่มตัวอย่างเชื้อราจาก Genbank ที่ตำแหน่ง LSU รวม 63 ไอโซเลท ซึ่งวิเคราะห์ด้วยชุดโปรแกรม Mege 6 โดยวิธี Neighbour-joining;

* ตัวอักษรสีน้ำเงินเป็นเชื้อราที่พบในการศึกษาครั้งนี้



ภาพที่ 4.44 (ต่อ) Phylogeny ของเชื้อรากลุ่ม cercosporoid จากตัวอย่างบางไอโซเลทจากภาคเหนือของประเทศไทย และกลุ่มตัวอย่างเชื้อราจาก GenBank ที่ตำแหน่ง LSU รวม 63 ไอโซเลท ซึ่งวิเคราะห์ด้วยชุดโปรแกรม Mege 6 โดยวิธี Neighbour-joining;

* ตัวอักษรสีน้ำเงินเป็นเชื้อราที่พบในการศึกษาครั้งนี้



ภาพที่ 4.45 Phylogeny ของเชื้อรากลุ่ม cercosporoid จากตัวอย่าง 18 ไอโซเลท (เชื้อราจีนัส *Cercospora* spp. และ *Pseudocercospora* spp.) จากภาคเหนือของประเทศไทย และกลุ่มตัวอย่างจาก GenBank ในจีนัสเดียวกันที่ตำแหน่ง ITS รวม 38 ไอโซเลท ซึ่งวิเคราะห์ด้วยชุดโปรแกรม Mege 6 โดยวิธี Neighbour-joining;

* ตัวอักษรสีน้ำเงินเป็นเชื้อราที่พบในการศึกษารั้งนี้

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการผิดปกติจากโรคพืชที่พบในเขตภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย และลำปาง โดยอาการผิดปกติของพืชที่พบส่วนใหญ่แสดงอาการของโรคใบจุดและใบไหม้ จากการตรวจสอบเชื้อราที่ปรากฏบนบาดแผลที่แสดงอาการผิดปกติสามารถทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ได้ 43 ไอโซเลท (ใน 34 จินัสของ 21 วงศ์พืช) และพบว่าอยู่ในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* ได้แก่เชื้อราจันัส *Mycosphaerella* (จำนวน 1 ไอโซเลท) *Cercospora* (จำนวน 24 ไอโซเลท) *Pseudocercospora* (จำนวน 13 ไอโซเลท) และ *Passalora* (จำนวน 3 ไอโซเลท) นอกจากนี้ยังพบเชื้อราจันัสอื่นๆ ที่อยู่ในวงศ์ใกล้เคียง (วงศ์ *Davidiellaceae*) เช่น เชื้อรา *Cladosporium* (2 ไอโซเลท)

จากข้อมูลข้างต้นนั้นจึงทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราในวงศ์ดังกล่าว โดยทำศึกษาจากลักษณะโครงสร้างที่มีความเฉพาะในแต่ละกลุ่มเชื้อรา เพื่อการจำแนกในระดับจันัสและ สปีชีส์ของเชื้อรานั้นๆ และพบว่าสามารถจำแนกเชื้อราตัวอย่างได้เป็น 4 กลุ่มจันัสดังนี้

กลุ่มที่ 1 เชื้อราจันัส *Mycosphaerella* (teleomorphic genera) ได้แก่ไอโซเลทที่ Y-40 พบเชื้อราจันัสนี้บนใบพืชที่แสดงอาการใบจุด ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา จันัสนี้คือ *Pseudothecia* พบที่ hypophyllous ปรากฏทั่วทั้งแผลใบจุด ลักษณะแบบ subepidermal-erumpent ค่อนข้างกลม ผนัง 2-3 ชั้น เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ (55-) 80-90 μm *Asci* เป็นแบบ fasciculate bitunicate และ ovoid-broadly ellipsoidal แต่ละ ascus มี 8 ascospores ขนาด (9-) 10-15 $\times$ 40-50 (-53) μm *Ascospores* มี 1-septate อยู่ตรงกึ่งกลางเซลล์ ไส้ไม่มีสี มีหยดน้ำมันที่ผิว ผนังบาง รูปร่างแบบ obovoid ขนาด 4(-5) $\times$ (-13) 15-17 (-19) μm ส่วนการงอกของ germ-tube งอกออกมาจากส่วยปลายของทั้งข้างและขนานไปกับ ascospores ลักษณะเส้นใยคล้ายกำมะหยี่สีน้ำตาล เกาะกันอย่างหยาบๆ ส่วนกลางของโคโลนีสูงชันและมีลักษณะเป็นวงชั้นๆ ขอบค่อนข้างขรุขระ

กลุ่มที่ 2 เชื้อราจันัส *Cercospora* (anamorphic genera) ได้แก่ไอโซเลทที่ Y-02, Y-03, Y-05 Y-06, Y-07, Y-13, Y-14, Y-15, Y-16, Y-17, Y-18, Y-20, Y-21, Y-22, Y-23, Y-24, Y-26, Y-27, Y-28, Y-29, Y-30, Y-31, Y-32 และ Y-33 พบเชื้อราจันัสนี้บนใบพืชที่แสดงอาการใบจุดและใบไหม้ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราจันัสนี้คือ *Caespituli* พบทั้งแบบ amphigenous,

epiphyllous และ hypophyllous **Stromata** พบทั้งแบบไม่สมบูรณ์และสมบูรณ์ ขนาดเล็กถึงใหญ่ ประมาณ 10–100 μm สีสน้ำตาลเข้มถึงดำ **Conidiophores** แบบ solitary–fasciculate มีรูปร่างที่หลากหลายเช่น cylindrical, erect–decumbent, straight–curved, geniculate–sinuous และ unbranched ขนาด $4\text{--}7 \times 30\text{--}400 \mu\text{m}$ (ในบางไอโซเลทมีขนาดถึง $14 \times 600 \mu\text{m}$) **Conidiogenous cells** แบบ terminal, holoblastic (monoblastic และ polyblastic) โดยมี 1–4 conidiogenous loci (ในบางไอโซเลทมีมากถึง 7 conidiogenous loci) มีผนังกัน 1–13-septate มีสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาล **Conidiogenous loci/conidial scars** หนา (thickened) ดำ (darkened) และหักเหแสง (refractive) อย่างชัดเจน **Conidia** แบบ solitary มีรูปร่างแบบ acicular, narrowly obclavate–obclavate และ subcylindrical ขนาด $3\text{--}6 \times 25\text{--}400 \mu\text{m}$ มีผนังกัน 1–38-septate อาจปรากฏหยดน้ำมัน (gutulate) ภายใน conidia สีสน้ำตาลอ่อนถึงใสไม่มีสี (subhyaline–hyaline) germ–tube งอกออกมาจากด้านข้างและส่วนปลายทั้งสองด้านของ conidia **Hila** หนา (thickened) และดำ (darkened) **Cultures** ที่เจริญบนอาหาร PDA ผิวโคโลนีเรียบถึงขรุขระเล็กน้อย สร้าง pigment ตั้งแต่สีขาวเทา เขียวซีมัว และสีน้ำตาลอ่อน

กลุ่มที่ 3 เชื้อราจีนัส *Pseudocercospora* (anamorphic genera) ได้แก่ไอโซเลทที่ Y-01, Y-04, Y-08, Y-09, Y-10, Y-12, Y-25, Y-34, Y-36, Y-37, Y-41 และ Y-42 พบเชื้อราจีนัสนี้บนใบพืชที่แสดงอาการใบจุดและใบไหม้ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราจีนัสนี้คือ **Caespituli** พบทั้งแบบ amphigenous, epiphyllous และ hypophyllous **Stromata** พบทั้งแบบไม่สมบูรณ์และสมบูรณ์ ขนาดเล็กถึงใหญ่ประมาณ 25–100 μm **Conidiophores** แบบ solitary และ fasciculate ที่หลวมถึงหนาแน่น (loose–dense fascicles) มีรูปร่างแบบ cylindrical, erect–decumbent, straight–curved, geniculate–sinuous พบทั้งที่แตกแขนงและไม่แตกแขนง (branched–unbranched) ขนาด $2\text{--}6 \times 5\text{--}75 \mu\text{m}$ มีผนังกัน 0–4-septate เกือบใสไม่มีสีถึงสีน้ำตาลอ่อน **Conidiogenous cells** แบบ sympodial, terminal, holoblastic (monoblastic และ polyblastic) **Conidiogenous loci/conidial scars** ไม่ชัดเจน **Conidia** แบบ solitary มีรูปร่างแบบ cylindrical, subcylindrical–narrowly obclavate ขนาด $2\text{--}5 \times 16\text{--}110 \mu\text{m}$ มีผนังกัน 0–11-septate อาจปรากฏหยดน้ำมัน (gutulate) เกือบใสไม่มีสี (subhyaline) ถึงสีเทา และสีน้ำตาลอ่อน germ–tube งอกออกมาจากด้านข้างและส่วนปลายทั้งสองด้าน **Hila** ไม่ชัดเจน **Cultures** ที่เจริญบนอาหาร PDA ผิวโคโลนีเรียบและนูนสูงขึ้นลักษณะคล้ายกำมะหยี่ สร้าง pigment ตั้งแต่สีขาวเทา สีเทา และสีน้ำตาล

กลุ่มที่ 4 เชื้อราจีนัส *Passalora* (anamorphic genera) ได้แก่ไอโซเลทที่ Y-35, Y-39 และ Y-43 พบเชื้อราจีนัสนี้บนใบพืชที่แสดงอาการใบจุด ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราจีนัสนี้คือ *Caespituli* พบทั้งแบบ amphigenous, epiphyllous และ hypophyllous *Stromata* พบทั้งแบบ ไม่สมบูรณ์และสมบูรณ์ ขนาดเล็กถึงใหญ่ประมาณ 30–90 μm *Conidiophores* แบบ fasciculate ส่วนใหญ่ที่พบค่อนข้างหนาแน่น ลักษณะ straight-curved, geniculate-sinuous พบทั้งที่แตกแขนงและไม่แตกแขนง (branched-unbranched) ขนาด $4-6 \times 17-80 \mu\text{m}$ มีผนังกัน 0–6-septate เกือบใสไม่มีสีจนถึงสร้าง pigment สีน้ำตาล *Conidiogenous cells* แบบ sympodial, terminal, holoblastic (monoblastic และ polyblastic) *Conidiogenous loci/conidial scars* หนา (thickened) ดำ (darkened) และหักเหแสง (refractive) *Conidia* แบบ solitary และ chains มีรูปร่างแบบ ellipsoid-ovoid, cylindrical, obclavate ขนาด $3-7 \times 10-82 \mu\text{m}$ มีผนังกัน 0–10-septate อาจปรากฏหยดน้ำมัน (gutulate) เกือบใสไม่มีสี (subhyaline) ถึงสร้าง pigment สีน้ำตาลอ่อน germ-tube งอกออกมาจากปลายทั้งสองด้านของ conidia *Hila* หนา (thickened) และดำ (darkened) *Cultures* ที่เจริญบนอาหาร PDA เส้นใยมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่ โคลนเรียบถึงขรุขระเป็นชั้นๆ และนูนสูงขึ้น สร้าง pigment ตั้งแต่สีขาวถึงสีเทาเข้ม

จากการศึกษาเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae พบว่าเป็นเชื้อราที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศไทยรวม 12 ตัว ได้แก่

เชื้อรา *Mycospharella*– *M. erythrinae* พบบนทองหลวงป่า (*Erythrina stricta*)

เชื้อรา *Cercospora*– *C. apii* พบบนกระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentus*) ผักกาดขาว (*Brassica rapa*) จิงจ้อเหลือง (*Merremia vitifolia*) ขบาหนู (*Malvaviscus arboreus*) และเครือตดหมา (*Peaderia fallida*)

เชื้อรา *Pseudocercospora*– *Ps. liquidambaricola* พบบนเมเปิ้ลหอม (*Liquidambar formosana*) *Ps. fici* พบบนตีนตุ๊กแก (*Ficus pumila*) *Ps. mori* พบบนหม่อน (*Morus alba*) *Ps. rubi* พบบนบ้ำฮู้อย (*Rubus blepharoneurus*) *Ps. egenula* และ *Ps. daturina* พบบนลำโพง (*Solanum candida*)

นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นเชื้อราที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนพบบนพืช 10 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Cercospora* spp. พบบนโกสน (*Codiaeum variegatum*) เข็มปัตตาเวีย (*Jathropa integrissima*) แสงจันทร์ (*Pisonea sarmentosum*) และชาทอง (*Duranta repens*) เชื้อรา *Pseudocercospora*

spp. พบบนข้าวพุด (*Piper sarmentosum*) ถั่วเหลือง (*Glycine max*) ถั่วลาย (*Centrosema pubescens*) ผักบุ้งฝรั่ง (*Ipomoea* sp.) และสะแกเถา (*Combretum procusum*) และเชื้อรา *Passalora* sp พบบนถั่วพุด (*Psophocarpus tetragonopbbus*) โดยเชื้อราที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนนี้ พบว่ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างไปจากเชื้อราที่เคยมีรายงานบนพืชอาศัยชนิดนั้นๆ

อย่างไรก็ตามลักษณะของเชื้อราที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อน บนพืชอาศัยและที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ต่างไปนั้นเคยถูกระบุให้เป็นเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ ดังเช่นการรายงานของ Meeboon (2006), Nakashima *et al.* (2007) และ Phengsintham *et al.* (2013) เป็นต้น จนเมื่อไม่นานมานี้มีการใช้เทคนิคทางด้านชีวโมเลกุลเข้ามาช่วยในการระบุจีโนมและสปีชีส์ของเชื้อรา ทำให้พบว่าเชื้อราบางตัวในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่หลากหลายและพบบนพืชที่แตกต่างกันไป เช่นเชื้อรา *Mycosphaerella communis*, *Mycosphaerella citri*, *Cercospora beticola* และ *Cercospora apii* complex เป็นต้น (Crous, 2009 และ Groenewald *et al.* 2006) จึงเห็นได้ว่าเทคนิคด้านชีวโมเลกุลมีส่วนช่วยในการระบุสายพันธุ์ของเชื้อราอย่างแท้จริง นอกจากนี้ยังช่วยให้เข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรากับพืชอาศัยได้ดียิ่งขึ้น

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อราทางด้านโมเลกุล โดยทำการคัดเลือกตัวอย่างของเชื้อราที่เมื่อทำการศึกษาด้านสัณฐานวิทยาแล้วพบว่าอยู่ในกลุ่มจีโนม *Cercospora* (Y-5, Y-6, Y-7, Y-13, Y-14, Y-17, Y-21, Y-22, Y-23, Y-24, Y-26, Y-27, Y-28 และ Y-30) และกลุ่มจีโนม *Pseudocercospora* (Y-1, Y-8, Y-9 และ Y-25) โดยเปรียบเทียบเพื่อหาความสัมพันธ์ที่ตำแหน่ง LSU และตำแหน่ง ITS โดยใช้โปรแกรม Mega 6 เพื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ พบว่ากลุ่มตัวอย่างเชื้อราตรงกันกับการจำแนกทางสัณฐานวิทยาข้างต้น ความสัมพันธ์ทางด้าน Phylogeny ของเชื้อราจีโนม *Cercospora* และจีโนม *Pseudocercospora* แยกกันอย่างชัดเจน โดยรายละเอียดมีดังนี้

การศึกษาและเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ในระดับกลุ่ม จีโนมของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* โดยการใช้ยีนตำแหน่ง LSU (ใช้ primer LR0R และ LR5) ซึ่งเป็นยีนตำแหน่งอนุรักษ์ที่นิยมใช้เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มจีโนมของเชื้อราในปัจจุบันและจากการเปรียบเทียบตัวอย่างเชื้อราข้างต้นรวมด้วยเชื้อราในจีโนมอื่นๆ (จาก GenBank) ซึ่งเคยมีรายงานว่า เป็นสมาชิกของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* (Crous *et al.*, 2013; Groenewald *et al.*, 2013) พบว่าตัวอย่างเชื้อราทั้งหมดที่ทำการจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้วอยู่ในจีโนม *Cercospora* และ *Pseudocercospora* เป็นสมาชิกของเชื้อราในวงศ์ *Mycosphaerellaceae* และเมื่อทำการศึกษา

เปรียบเทียบความสัมพันธ์เพิ่มเติมพบว่าเชื้อราจิ้นส *Cercospora* มีลักษณะเป็น monophyletic ส่วนเชื้อราจิ้นส *Pseudocercospora* มีลักษณะเป็น polyphyletic โดยเปรียบเทียบความสัมพันธ์จากภาพที่ 4.46

การเปรียบเทียบยีนในตำแหน่ง ITS (ใช้ primers ITS5 และ ITS4) ของเชื้อราตัวอย่างทั้ง 18 ไอโซเลทได้แก่ เชื้อราจิ้นส *Cercospora* และ *Pseudocercospora* ร่วมกับไอโซเลทเชื้อราในกลุ่มจิ้นสเดียวกันจาก CBS เพื่อใช้ในการ ระบุถึงสายพันธุ์ของเชื้อรา พบว่าเชื้อราจิ้นส *Cercospora* ทั้งหมดที่ทำการแบ่งกลุ่มเพื่อจำแนกถึงระดับสายพันธุ์มีความซับซ้อน ดังนั้นการระบุถึงระดับสายพันธุ์จึงค่อนข้างยาก เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างเชื้อราทั้งหมดรวมอยู่ในกลุ่มเดียวกัน นอกจากนี้ยังมีตัวอย่างเชื้อรา 3 ไอโซเลทที่แยกกลุ่มออกมาอย่างชัดเจนได้แก่ Y-13 และ Y-17 ที่พบบนโกสน (*Codiaeum variegatum*) และเข็มปัตตาเวีย (*Jathropa integrifolia*) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Euphorbiaceae โดยพบว่ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อน ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะเป็นเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ แต่สำหรับตัวอย่างไอโซเลทที่ Y-7 ที่พบบนผักบุ้งฝรั่ง (*Ipomoea* sp.) ซึ่งมีสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกับกลุ่มเชื้อรา *Cercospora apii* complex แต่กลับแยกกลุ่มออกมาจากเชื้อราสายพันธุ์ดังกล่าวอย่างชัดเจน ลักษณะดังกล่าวทำให้เกิดข้อสงสัยว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกลุ่มเชื้อรา *Cercospora apii* complex อาจเป็นลักษณะที่พบได้ทั่วไปของเชื้อราจิ้นส *Cercospora* ก็เป็นไปได้ถึงแม้ว่าเชื้อรา *Cercospora* sp. บางตัวจะไม่ได้อยู่ในกลุ่มเดียวกับ *Cercospora apii* complex เมื่อเปรียบเทียบทางด้าน Phylogeny แล้วก็ตาม แต่ลักษณะทางสัณฐานวิทยาก็อาจเหมือนกันได้ และหากเป็นเช่นนั้นจริงย่อมหมายถึงว่าการระบุถึงสายพันธุ์เชื้อราย่อมต้องอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมด้วยเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุลเพื่อช่วยในการยืนยันนั่นเอง

เชื้อราจิ้นส *Pseudocercospora* โดยลักษณะความสัมพันธ์ทาง Phylogeny ของเชื้อราในแต่ละตัวอย่างที่นำมาศึกษามีการแยกกลุ่มอย่างชัดเจน โดยตัวอย่างที่ Y-1 (*Pseudocercospora liquidambarcola*) ซึ่งมีรายงานเพียงสปีชีส์เดียวที่พบบนพืช *Liquidambar formosana*) และ Y-9 (*Ps. fici* ที่พบบน *Ficus pumila* ที่มีรายงานว่าพบบนพืชอาศัยหลายชนิดในจิ้นส *Ficus* spp.) โดยตัวอย่างทั้งสองได้รับการจำแนกข้างต้นโดยใช้ลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา ส่วนตัวอย่างเชื้อราไอโซเลทที่ Y-8 (*Ps. sp.* ที่พบบนพืช *Ipomoea* sp.) และไอโซเลทที่ Y-25 (*Ps. sp.* ที่พบบนพืช *Glycine max*) เชื้อราทั้งสองไอโซเลทนี้อยู่ในกลุ่มเดียวกันกับ *Ps. marginnalis* (CPC 12497) และ *Ps. paraguayensis* (CBS 111317) จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่ามีความแตกต่างไปจากที่

เคยมีรายงานมาก่อน ร่วมด้วยเทคนิคทางด้านโมเลกุลที่กล่าวมาจึงมีความเป็นไปได้ว่าตัวอย่างเชื้อราทั้งสองไอโซเลทอาจเป็นเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ได้

ดังนั้นการศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อราทั้งสองจึงได้เปรียบเทียบกับยีนตำแหน่ง ITS ในการศึกษาเพื่อหาความแตกต่างในระดับสายพันธุ์ของเชื้อรา พบว่าสามารถหาความแตกต่างได้ (ภาพที่ 4.47) ค่อนข้างชัดเจนในกลุ่มเชื้อราจีส *Pseudocercospora* เท่านั้น สำหรับกลุ่มเชื้อราจีส *Cercospora* พบว่าตัวอย่างที่นำมาศึกษายังมีความซับซ้อนและยากต่อการใช้ระบุถึงสายพันธุ์ของเชื้อราในจีสนี้อย่างแท้จริง การใช้ยีน ITS เพียงตำแหน่งเดียวในการเปรียบเทียบสำหรับการศึกษารังนี้อาจไม่เพียงพอต่อการระบุปีชีส์ของเชื้อราจีส *Cercospora* ก็เป็นไปได้ เนื่องจากในปัจจุบันมีการใช้ยีนหลายตำแหน่งในการเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ของสายพันธุ์เชื้อรา เช่น ยีนในตำแหน่ง ITS, LSU, SSU, ACT, EF-1 alpha และ CAL เป็นต้น (Groenewald *et al.*, 2006; Crous *et al.*, 2013; Groenewald *et al.*, 2013) แต่ถึงกระนั้นในการระบุถึงสายพันธุ์เชื้อราบางชนิดก็ยังคงไม่สามารถทำได้ จึงอาจจำเป็นต้องใช้ตำแหน่งยีนใหม่ๆ ซึ่งรอการค้นคว้าและวิจัยเพิ่มเติมในอนาคต

การค้นคว้าวิจัยอย่างต่อเนื่อง เพื่อศึกษา จัดจำแนก และเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ของเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยความสัมพันธ์ทาง phylogeny โดยการใช้เทคนิคทางด้านชีวโมเลกุลของยีนตำแหน่งต่างๆ และการใช้กลุ่มตัวอย่างของประชากรเชื้อราที่มีความหลากหลาย ย่อมทำให้เข้าใจถึงความสัมพันธ์ที่ซับซ้อนของกลุ่มเชื้อราในวงศ์ Mycosphaerellaceae ได้ดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- Arzanlou M., Groenewald J.Z., Gams W., Braun U., Shin H.D. and Crous P.W. 2007. Phylogenetic and morphotaxonomic revision of *Ramichloridium* and allied genera. *Studies in Mycology* 58: 57–93. Arzanlou M., Groenewald J.Z., Fullerton R.A., Abeln E.C.A., Carlier J., Zapater M.F.,
- Buddenhagen I.W., Viljoen A. and Crous P.W. 2008. Multiple gene genealogies and phenotypic characters differentiate several novel species of *Mycosphaerella* and related anamorphs on banana. *Persoonia* 20: 19–37.
- Atkinson G.F. 1892. Some *Cercospora* from Alabama. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society* 8(2): 33–67.
- Batzler J.C., Mercedes Diaz Arias M., Harrington T.C., Gleason M.L., Groenewald J.Z. and Crous P.W. 2008. Four species of *Zygophiala* (*Schizothyriaceae*, *Capnodiales*) are associated with the sooty blotch and flyspeck complex on apple. *Mycologia* 100: 232–244.
- Braun U. 1995. A Monograph of *Cercospora*, *Ramularia* and Allied genera (Phytopathogenic Hyphomycetes). Vol. 1. IHW-Verlag. Eching. Germany. Braun U. 1998. A Monograph of *Cercospora*, *Ramularia* and Allied genera (Phytopathogenic Hyphomycetes). Vol. 2. IHW-Verlag. Eching. Germany.
- Braun U. 2000. Miscellaneous notes on some micromycetes. *Schlechtendelia* 5: 31–56. Braun U. 2001. Taxonomic notes on some species of the *Cercospora* complex (VII). *Fungal Diversity* 8: 41–71. Braun U. and Crous P.W. 2006. 1732. Proposal to conserve the name *Pseudocercospora* against *Stigmina* and *Phaeoisariopsis* (Hyphomycetes). *Taxon* 55: 803.

- Braun U. and Freire F.C.O. 2002. Some cercosporoid hyphomycetes from Brazil. II. *Cryptogamie Mycologie* 23: 295–328.
- Breeÿen A. den, Groenewald J.Z., Verkley G.J.M. and Crous P.W. 2006. Morphological and molecular characterisation of *Mycosphaerellaceae* associated with the invasive weed, *Chromolaena odorata*. *Fungal Diversity* 23: 89–110.
- Burgess T.I., Barber P.A., Sufaati S., Xu D., Hardy G.E. StJ. and Dell B. 2007. *Mycosphaerella* spp. on *Eucalyptus* in Asia; new species, new hosts and new records. *Fungal Diversity* 24: 135–15.
- Carnegie A.J. and Keane P.J. 1994. Further *Mycosphaerella* species associated with leaf diseases of *Eucalyptus*. *Mycological Research* 98: 413–418.
- Cheewangkoon R. 2010. Taxonomy and phylogeny of fungi on *eucalyptus*. Ph.D. Thesis, Chiang Mai University, Thailand. 250.
- Cheewangkoon R., Crous P.W., Hyde K.D., Groenewald J.Z. and To-Anan C. 2008. Species of *Mycosphaerella* and related anamorphs on *Eucalyptus* leaves from Thailand. *Persoonia* 21: 77–91
- Chiddarvar P.P. 1959. Contributions to our knowledge of the *Cercospora* of Bombay State–I. *Sydowia* 13(1–6): 152–163.
- Chupp C. 1954. A monograph of the fungus genus *Cercospora*. Ithaca, New York, USA. 1–667.
- Corlett M. 1991. An annotated list of published names in *Mycosphaerella* and *Sphaerella*. *Mycologia Memoir* 18: 1–328.
- Crous P.W. 1998. *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs associated with leaf spot diseases of *Eucalyptus*. *Mycologia Memoir* 21: 1–170.

- Crous P.W. 2009. Taxonomy and phylogeny of the genus *Mycosphaerella* and its anamorphs. *Fungal Diversity* 38: 1–24.
- Crous P.W. and Alfenas A.C. 1995. *Mycosphaerella gracilis* sp. nov. and other species of *Mycosphaerella* associated with leaf spots of *Eucalyptus* in Indonesia. *Mycologia* 87: 121–126
- Crous P.W. and Braun U. 2003. *Mycosphaerella* and its anamorphs. 1. Names published in *Cercospora* and *Passalora*. CBS Biodiversity Series 1: 1–571.
- Crous P.W. and Groenewald J.Z. 2005. Hosts, species and genotypes: opinions versus data. *Australasian Plant Pathology* 34: 463–470.
- Crous P.W., Braun U. and Groenewald J.Z. 2007a. *Mycosphaerella* is polyphyletic. *Studies in Mycology* 58 (1): 1–32.
- Crous P.W., Wingfield M.J. and Groenewald J.Z. 2009. Niche sharing reflects a poorly understood biodiversity phenomenon. *Persoonia* 22: 83–94.
- Crous P.W., Braun U., Wingfield M.J., Wood A.R., Shin H.D., Summerell B.A., Alfenas A.C., Cumagun C.J.R. and Groenewald J.Z. 2009a. Phylogeny and taxonomy of obscure genera of microfungi. *Persoonia* 22: 139–161.
- Crous P.W., Ferreira F.A., Alfenas A. and Wingfield M.J. 1993. *Mycosphaerella suberosa* associated with corky leaf spots on *Eucalyptus* in Brazil. *Mycologia* 85: 705–710.
- Crous P.W., Aptroot A., Kang J.-C., Braun U. and Wingfield M.J. 2000. The genus *Mycosphaerella* and its anamorphs. *Studies in Mycology* 45: 107–121.
- Crous P.W., Groenewald J.Z., Mansilla J.P., Hunter G.C. and Wingfield M.J. 2004a. Phylogenetic reassessment of *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs occurring on *Eucalyptus*. *Studies in Mycology* 50: 195–214.

- Crous P.W., Groenewald J.Z., Pongpanich K., Himaman W., Arzanlou M. and Wingfield M.J. 2004b. Cryptic speciation and host specificity among *Mycosphaerella* spp. occurring on Australian *Acacia* species grown as exotics in the tropics. *Studies in Mycology* 50: 457–469.
- Crous P.W., Summerell B.A., Carnegie A.J., Mohammed C., Himaman W. and Groenewald J.Z. 2007b. Foliicolous *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs on *Corymbia* and *Eucalyptus*. *Fungal Diversity* 26: 143–185.
- Crous P.W., Summerell B.A., Carnegie A.J., Wingfield M.J. and Groenewald J.Z. 2009b. Novel species of *Mycosphaerellaceae* and *Teratosphaeriaceae*. *Persoonia* 23: 119–146.
- Crous P.W., Summerell B.A., Mostert L. and Groenewald J.Z. 2008. Host specificity and speciation of *Mycosphaerella* and *Teratosphaeria* species associated with leaf spots of *Proteaceae*. *Persoonia* 20: 59–86.
- Crous P.W., Wingfield M.J., Mansilla J.P., Alfenas A.C. and Groenewald J.Z. 2006. Phylogenetic reassessment of *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs occurring on *Eucalyptus*. II. *Studies in Mycology* 55: 99–131.
- Crous P.W., Bruan U., Hunter G.C., Wingfield M.J., Verkley G.J., Shin H.D., Nakashima C. and Groenewald J.Z. 2013. Phylogenetic lineages in *Pseudocercospora*. *Studies in Mycology* 75(1): 37–114
- Deighton F.C. 1973. Studies on *Cercospora* and allied genera. IV. *Cercosporella* Sacc., *Pseudocercosporella* gen. nov. and *Pseudocercosporidium* gen. nov. *Mycological Papers* 133: 1–62.
- Deighton F.C. 1976. Studies on *Cercospora* and allied genera. VI. *Pseudocercospora* Speg., *Pantospora* Cif. and *Cercoseptoria* Pter. *Mycological Papers* 140: 1–168.

- Deighton F.C. 1979. Studies on *Cercospora* and allied genera. VII. New species and redispositions. Mycological Papers 144: 1–56.
- Deighton F.C. 1987. New species of *Pseudocercospora* and *Mycovellosiella*, and new combinations into *Pseudocercospora* and *Phaeoramularia*. Transactions of the British Mycological Society 88: 365–391.
- Deighton F.C. 1990. Observations on *Phaeoisariopsis*. Mycological Research 94: 1096–1102.
- Ellis J.B. and Everhart B.M. 1889. New species of hyphomycetes fungi. Journal of Mycology. 5(2): 68–72.
- Firmino and Pereira, O.L. 2013. *Pseudocercospora vicosae*. Mycotaxon 123: 346.
- Goodwin S.B., Dunkle L.D., and Zismann V.L. 2001. Phylogenetic analysis of *Cercospora* and *Mycosphaerella* based on the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA. Phytopathology 91: 648–658.
- Groenewald J.Z., Nakashima C., Nishikawa J., Shin H.D., Park J.H., Jama A.N., Groenewald M., Braun U. and Crous P.W. 2013. Species concepts in *Cercospora*: spotting the weeds among the roses. Studies in Mycology 75 (1): 70–115
- Groenewald M., Groenewald J.Z. and Crous P.W. 2005. Distinct species exist within the *Cercospora apii* morphotype. Phytopathology 95: 951–959.
- Groenewald M., Groenewald J.Z., Braun U. and Crous P.W. 2006. Host range of *Cercospora apii* and *C. beticola* and description of *C. apiicola*, a novel species from celery. Mycologia 98 (2): 275–285.
- Groenewald M., Groenewald J.Z., Harrington T.C., Abeln E.C.A. and Crous P.W. 2006. Mating type gene analysis in apparently asexual *Cercospora* species is suggestive of cryptic sex. Fungal Genetic Biology 43: 813–825.

- Guo Y.L. and Hsieh W.H. 1995. The genus *Pseudocercospora* in China. *Mycosystema*. 2: 1–388.
- Hoog G.S. de, Hijwegen T. and Batenburg–Van der Vegte W.H. 1991. A new species of *Dissiconium*. *Mycological Research* 95: 679–682.
- Hsieh W.H. and Goh T.K. 1990. *Cercospora* and similar fungi from Taiwan. 164. Hunter G.C., Wingfield B.D., Crous P.W. and Wingfield M.J. 2006. A multi-gene phylogeny for species of *Mycosphaerella* occurring on *Eucalyptus* leaves. *Studies in Mycology* 55:147–161.
- Jackson S.L., Maxwell A., Neumeister–Kemp H.G., Dell B. and Hardy G.E. StJ. 2004. Infection, hyperparasitism and conidiogenesis of *Mycosphaerella lateralis* on *Eucalyptus globulus* in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 33: 49–53.
- Kirk P.M. 1982. *Cercospora beticola*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. 721.
- Marin D.H., Romero R.A., Guzman M. and Sutton T.B. 2003. Black Sigatoka: an increasing threat to banana cultivation. *Plant Disease* 87: 208–222.
- Nakachima C., Crous P.W., Braun U. and Shin H.D. 2012. *Cercospora vignigena*. *Studies in Mycology* 75: 165.
- Meeboon J., 2006. Taxonomy of *Cercospora* fungi and allied genera found in Northern Thailand. Thesis, Chiang Mai University, Thailand. 395.
- Meeboon J. 2009. Diversity and Phylogeny of true cercosporoid fungi from northern Thailand. Ph.D. Thesis, Chiang Mai University, Thailand: 522.
- Meeboon J., Hidayat I. and To–Anan C. 2007. An annotated list of cercosporoid fungi in Northern Thailand. *Journal of Agricultural Technology* 3(1): 51–63.
- Pavgi M.S. and Singh U.P. 1964. Parasitic fungi from North India. *Mycopathologia et Mycologia Applicata* 23(3): 188–196.

- Phengsintham P., Chukeatirote E., McKenzie E.H.C., Hyde K.D. and Braun U. 2013. Monograph of Cercosporoid fungi from Laos. Current Research in Environmental & Applied Mycology 3(1). 34–158. Doi 10.5943/cream/3/1/2.
- Rossman A.Y., McKemy J.M., Pardo-Schultheiss R.A. and Schroers H. 2001. Molecular studies of the Bionectriaceae using large subunit rDNA sequences. Mycologia 93: 100–110.
- Schubert K., Braun U., Groenewald J.Z. and Crous P.W. 2007a. Cladosporium leaf-blotch and stem rot of *Paeonia* spp. caused by *Dichocladosporium chlorocephalum* gen. nov. Studies in Mycology 58: 95–104.
- Schubert K., Groenewald J.Z., Braun U., Dijksterhuis J., Starink M., Hill C.F., Zalar P., de Hoog G.S. and Crous P.W. 2007b. Biodiversity in the Cladosporium herbarum complex (*Davidiellaceae*, *Capnodiales*), with standardisation of methods for *Cladosporium* taxonomy and diagnostics. Studies in Mycology 58: 105–156.
- Schoch C.L., Shoemaker R.A., Seifert K.A., Hambleton S., Spatafora J.W. and Crous P.W. 2006. A multigene phylogeny of the Dothideomycetes using four nuclear loci. Mycologia 98:1043–1054.
- Sivanesan A. and Shivas R.G. 2001. Studies on *Mycosphaerella* species in Queensland, Australia. Mycological Research. 106(3): 355–364.
- Stukenbrock E.H., Banke S., Javan-Nikkhah M. and McDonald B.A. 2007. Origin and domestication of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* via sympatric speciation. Molecular Biology and Evolution 24: 398–411.
- Stevens F. 1930. *Mycosphaerella erythrinae*. Annales Mycologici 285. Stewart E.L., Liu Z., Crous P.W. and Szabo L. 1999. Phylogenetic relationships among some

- cercosporoid anamorphs of *Mycosphaerella* based on rDNA sequence analysis. Mycological Research 103: 1491–1499.
- Sydow H. 1930. *Mycosphaerella erythrinicola*. Annales Mycologici 28(1–2): 80. Taylor J.E. and Crous P.W. 2000. Fungi occurring on Proteaceae: new anamorphs for *Teratosphaeria*, *Mycosphaerella* and *Lembosia*, and other fungi associated with leaf spots and cankers of proteaceous hosts. Mycological Research 104 (5): 618–636.
- To-Anun C., Hidayat I. and Meeboon J. 2011. Genus *Cercospora* in Thailand: Taxonomy and Phylogeny (with a dichotomous key to species). Plant Pathology & Quarantine 1(1): 11–87.
- Verkley G.J.M., Crous P.W., Groenewald J.Z., Braun U. and Aptroot A. 2004. *Mycosphaerella punctiformis* revisited: morphology, phylogeny, and epitypification of the type species of the genus *Mycosphaerella* (Dothideales, Ascomycota). Mycological Research 108: 1271–1282.
- Vilgalys R. and Hester M. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several Cryptococcus species. J Bacteriol 172: 4238–4246
- White T.J., Bruns T.D., Lee S. and Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. San Diego, California: Academic Press. 315–322.
- Yoshik M. and Yokoy T. 1992. Transactions of the Mycological Society of Japan 33: 179.

ภาคผนวก