

## ความผันแปรของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดของยางพารา

Variability of the causal agent of *Hevea* leaf spot

นริสา จันทรเรือง<sup>1</sup> อุไร จันทรประทีน<sup>1</sup> เพียว ร่มรื่นสุขารมย์<sup>2</sup>  
 บุตรี พุทธรักษ์<sup>2</sup> บัญญัติ สิทธิผล<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ศูนย์วิจัยยางสงขลา สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร

<sup>2</sup> ศูนย์วิจัยยางยะเชิงเทรา สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร

### บทคัดย่อ

เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ทำให้เกิดอาการใบจุดโดยทำให้เกิดแผลตั้งแต่ขนาดเล็กน้อยถึงขนาดใหญ่ การศึกษาความแตกต่างของสายพันธุ์เชื้อรา จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา การสร้างสปอร์ และความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา โดยเก็บตัวอย่างโรคใบจุดบนที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* จากสวนยาง 27 แหล่ง ในเขตภาคใต้ 3 จังหวัดได้เชื้อราจำนวน 27 สายพันธุ์ พบว่า การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสามารถจำแนกได้เป็น 8 กลุ่ม การทดสอบความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อราในการทำให้เกิดโรค พบว่า สายพันธุ์ที่มีความรุนแรงระดับ 0-1 มีจำนวน 7 สายพันธุ์ ความรุนแรงระดับ 1-2 มีจำนวน 7 สายพันธุ์ ความรุนแรงระดับ 2-3 มีจำนวน 8 สายพันธุ์ ความรุนแรงระดับ 3-4 มีจำนวน 5 สายพันธุ์ ส่วนในเขตปลูกยางใหม่ รวบรวมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ 30 สายพันธุ์ แยกได้จากยางพารา 23 สายพันธุ์ จากพืชอาศัย 7 สายพันธุ์ สามารถจัดแบ่งกลุ่มตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหารได้ 3 กลุ่ม แต่แบ่งตามอัตราการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ได้ 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เจริญช้า มี 10 สายพันธุ์ มีอัตราการเจริญอยู่ระหว่าง 1.64-2.84 มิลลิเมตรต่อวัน และกลุ่มที่เจริญเร็ว มี 20 สายพันธุ์ มีอัตราการเจริญอยู่ระหว่าง 4.27-5.60 มิลลิเมตรต่อวัน และความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อแต่ละสายพันธุ์มีความสัมพันธ์กับการสร้างสปอร์ จากผลงานวิจัยแสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *Colletotrichum* sp. จากแหล่งปลูกยางต่างๆ มีความผันแปรสูงทั้งการทำให้เกิดอาการโรค การเจริญเติบโต และการสร้างสปอร์ จึงควรทำการศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรเชื้อต่อไป เพื่อให้การควบคุมโรคเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

## คำนำ

โรคสำคัญที่ก่อให้เกิดผลเสียหายทางเศรษฐกิจของยางพารา มีเชื้อราเป็นสาเหตุแทบทั้งสิ้น เป้าหมายหลักของงานวิจัยด้านโรคพืช คือ การวิจัยหาวิธีการควบคุมโรคอย่างมีประสิทธิภาพ ได้แก่ การป้องกันกำจัดโรคโดยใช้สารเคมี การใช้ชีววิธี วิธีการทางเขตกรรม การใช้พันธุ์ต้านทานโรค และการควบคุมโรคแบบผสมผสาน ซึ่งแต่ละวิธีการยังมีข้อจำกัดบางอย่าง เช่น การใช้สารเคมี มักมีผลตกค้างและผลเสียต่อสภาพแวดล้อม วิธีการควบคุมโรคที่ดีที่สุด คือ การใช้พันธุ์ต้านทานโรค แต่ปัจจุบันพบปัญหาเนื่องจากเชื้อรา มีการพัฒนาสายพันธุ์รุนแรงใหม่ ๆ เกิดขึ้น ที่สามารถเอาชนะพันธุ์ต้านทานที่ใช้ อยู่ หรือแม้แต่ปัญหาที่พันธุ์ต้านทานโรคใช้ได้ดีในพื้นที่หนึ่ง แต่ไม่ได้ผลในพื้นที่หนึ่ง เป็นต้น ทั้งนี้ มิได้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของพันธุ์ต้านทาน แต่เกิดจากพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุที่เปลี่ยนแปลงไป

เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุของโรคใบจุด และโรคใบร่วงชนิดหนึ่งในยางพารา สามารถเข้าทำลายทั้งใบ กิ่งก้าน และฝักยาง โดยในระยะยางผลิใบใหม่ ทำให้ใบเหี่ยวและหลุดร่วงทันที ในระยะที่ใบเจริญแล้วจะเห็นเป็นจุดนูน แล ะบางส่วนของใบบิดงอ ถ้าเข้าทำลายส่วนยอดหรือกิ่งก้าน จะทำให้ยอดนั้นแห้งตาย Saha และคณะ (2002) รายงานว่าเชื้อ *Colletotrichum* สามารถทำให้เกิดอาการบนใบยางได้ 3 ลักษณะต่างกัน คือ อาการใบจุดนูน อาการแอนแทรคโนส (anthracnose) และแผลแห้ง เชื้อรา *Colletotrichum* ที่มีรายงานทำให้เกิดโรคกับยางพารามีหลาย species โดยแต่ละ species ทำให้เกิดอาการต่างกัน เช่น เชื้อ *C. acutatum* ทำให้เกิดโรคได้รุนแรงกว่า *C. gloeosporioides* (Jayasinghe และคณะ, 1997; Saha และคณะ, 2002) ปัจจุบันการระบาดของโรคนี้มีแนวโน้มเพิ่มความรุนแรงขึ้นเป็นลำดับ การศึกษาความผันแปรของเชื้อราสาเหตุโรคจากประชากรเชื้อที่รวบรวมได้จากแหล่งต่าง ๆ จะช่วยให้นักโรคพืชประเมินสถานการณ์การระบาดได้ และเลือกแนวทางกาจัดการโรคได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ

## ระเบียบวิธีการวิจัย

### วัสดุอุปกรณ์

1. ยางพันธุ์ RRIM 600
2. อาหารเลี้ยงเชื้อรา Potato dextrose agar (PDA)
3. เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
4. คลอโรกซ์ (clorox) 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์
5. กระจบอกพ่น (floggy sprayer)

6. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานเลี้ยงเชื้อ พลาสติก บีกเกอร์ กระบอกตวง หลอดเลี้ยงเชื้อ ปิเปต และเครื่องแก้วอื่น ๆ
7. อุปกรณ์ในการแยกเชื้อ ได้แก่ เข็มเย็บ ลูบ มีดผ่าตัด ตะเกียงแอลกอฮอล์
8. หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
9. ตู้อบฆ่าเชื้อ (hot air oven)
10. ตู้เป่าเชื้อ (laminar flow)
11. กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope)
12. กล้องถ่ายรูป (camera)

## วิธีการ

### 1. การเก็บตัวอย่างโรคและการแยกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

เก็บตัวอย่างใบยางพาราที่เป็นโรค ใบจุด นำมาแยกเชื้อราสาเหตุให้บริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี tissue transplanting method บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) โดยตัดชิ้นส่วนใบตรงรอยต่อของแผลกับเนื้อเยื่อปกติให้ เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 5 มิลลิเมตร นำไปฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยการแช่ในสารละลาย คลอโรกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2-4 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำชิ้นส่วนไปวางบนกระดาษกรองที่ฆ่าเชื้อแล้วเพื่อดูดซับน้ำให้แห้ง ก่อนนำไปเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารละลาย lactic acid 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V) จำนวน 0.5 มิลลิลิตร บ่มเลี้ยงในสภาพห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 3-5 วัน สังเกตการเกิดเส้นใยบนชิ้นส่วนทุกวัน จากนั้นทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยการตัดแยกส่วนปลายเส้นใยไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จานใหม่ หลังจากบ่มเชื้อต่อไปเป็นเวลา 7 วัน ตัดปลายเส้นใยของเชื้อราไปเลี้ยงบนอาหาร PDA slant นำไปเก็บไว้ใน incubator ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สำหรับนำไปใช้ในการศึกษา

### 2. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโรคที่เกิดจากสายพันธุ์เชื้อรา *C. gloeosporioides*

นำสายพันธุ์เชื้อรา *C. gloeosporioides* ของยางพาราแต่ละแหล่งที่เก็บจากการสำรวจโรคใบจุด มาศึกษาความแปรปรวนของสายพันธุ์ โดยการนำเชื้อบริสุทธิ์แต่ละสายพันธุ์มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แล้วบันทึกลักษณะการเจริญเติบโต สปอร์ โคลนีสีของเส้นใย สีของสารที่เชื้อราผลิตขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

### 3. ศึกษาความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อรา *C. gloeosporioides*

เตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของแต่ละสายพันธุ์ให้มีความเข้มข้นประมาณ 35,000-30,000 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สำหรับนำไปใช้ในการปลูกเชื้อ

สภาพห้องปฏิบัติการ ทำการปลูกเชื้อบนใบยางพาราพันธุ์ RRIM 600 อายุใบประมาณ 2 สัปดาห์ โดยวิธีการหยดน้ำเชื้อบนแผ่นใบที่วางไว้ในกล่องพลาสติกที่มีก้อนสำลีชุบน้ำกลั่นให้ความชื้นไว้ข้างใน หลังปลูกเชื้อ 5 วัน บันทึกความรุนแรงของโรค โดยให้คะแนน 0-5

สภาพเรือนทดลอง ทำการฉีดพ่นน้ำเชื้อบนพุ่มใบยางพันธ์ RRIM 600 อายุใบประมาณ 10-14 วัน คลุมพุ่มใบยางด้วยถุงพลาสติกใส เพื่อ รักษาความชื้น เป็นเวลา 1 วันจึงนำถุงพลาสติกออก หลังปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ บันทึกความรุนแรงของโรค โดยให้คะแนน 0-5

#### ระยะเวลาทำการทดลอง

ตุลาคม 2551 - กันยายน 2553

#### สถานที่ดำเนินการ

ศูนย์วิจัยยางสงขลา และ ศูนย์วิจัยยางยะเชิงเทรา

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 1. ความผันแปรของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดยางพาราในเขตปลูกยางเดิม

##### 1.1 การเก็บตัวอย่างโรคและการแยกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

จากการเก็บตัวอย่างใบที่เป็นโรคใบจุดบนที่ กิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* จากสวนยาง 27 แห่ง ในภาคใต้ 3 จังหวัด นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ได้จำนวน 27 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อราที่เจริญเติบโตบนอาหาร PDA มีลักษณะเส้นใยสีขาว ฟองฟู ค่อนข้างหยาบ และในแต่ละสายพันธุ์ มีลักษณะเหมือนกัน จากการวัดการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราในแต่ละสายพันธุ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่มีความแตกต่างอย่างเด่นชัด

##### 1.2 การทดสอบความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อรา *C. gloeosporioides* ในการทำให้เกิดโรค

ศึกษาความรุนแรงของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 27 สายพันธุ์ โดยการปลูกเชื้อบนใบยางพารา พบว่า เชื้อราแต่ละสายพันธุ์มีความรุนแรงในการเข้าทำลายใบยางพาราแตกต่างกัน โดยสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงระดับ 0-1 มีพื้นที่ใบถูกทำลาย 1-10% จำนวน 7 สายพันธุ์ ความรุนแรงระดับ 1-2 มีพื้นที่ใบถูกทำลาย 10-25% จำนวน 7 สายพันธุ์ ความรุนแรงระดับ 2-3 มีพื้นที่ใบถูกทำลาย 25-50% จำนวน 8 สายพันธุ์ ความรุนแรงระดับ 3-4 มีพื้นที่ใบถูกทำลาย 50-75% จำนวน 5 สายพันธุ์ (ตารางที่ 1) ดังรายละเอียดต่อไปนี้ คือ

ระดับความรุนแรง 0-1 คือ รัชฎา ทุ่งหว้า บางขัน ช้างกลาง คลองท่อม ถ้าพรรณราย หาดเจ้าสำราญ

ระดับความรุนแรง 1-2 คือ ขนอม ฉวาง ท่าแพ พระพรหม พระแสง วังวิเศษ นาบอน

ระดับความรุนแรง 2-3 คือ ทุ่งสง นาโยง จุฬาภรณ์ ห้วยยอด เหนือคลอง อ่าวลึก ลำทับ เกาะลิ้นตา

ระดับความรุนแรง 3-4 คือ เมืองสตูล ท่าศาลา ลานสกา ทุ่งใหญ่ ละงู

### 1.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

- จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหารวุ้นของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 27 สายพันธุ์ พบว่ามีความแตกต่างกัน สามารถจำแนกได้เป็น 8 กลุ่ม (ตารางที่ 2) ดังรายละเอียดต่อไปนี้คือ
- กลุ่มที่ 1 ลักษณะการเจริญของเชื้อเป็นโคโลนีเส้นใยฟูเล็กน้อย มีสีน้ำตาลใหญ่- ส้มอ่อน-ขาว  
แผ่เป็นวงปานกลาง ได้แก่ สายพันธุ์รัชฎา
- กลุ่มที่ 2 ลักษณะการเจริญของเชื้อเป็นโคโลนีเส้นใยฟูปานกลาง มีสีส้มอ่อน-น้ำตาลใหญ่-ขาว  
แผ่เป็นวงใหญ่ ได้แก่ สายพันธุ์ขนอม
- กลุ่มที่ 3 ลักษณะการเจริญของเชื้อเป็นโคโลนีเส้นใยฟูเล็กน้อย มีสีน้ำตาล- ส้มอ่อน-ขาว แผ่เป็นวง  
ปานกลาง ได้แก่ สายพันธุ์ฉวาง ทุ้งหว่า บางชัน ทุ้งสง
- กลุ่มที่ 4 ลักษณะการเจริญของเชื้อเป็นโคโลนีเส้นใยฟูเล็กน้อย มีจุดน้ำตาลเล็กน้อย- ส้มอ่อน แผ่  
เป็นวงปานกลาง ได้แก่ สายพันธุ์ข้างกลาง นาโยง
- กลุ่มที่ 5 ลักษณะการเจริญของเชื้อเป็นโคโลนีเส้นใยฟูเล็กน้อย มีสีส้มอ่อน-ขาว แผ่เป็นวง  
รัศมี 1 วง วงใหญ่ ได้แก่ สายพันธุ์คลองท่อม เมืองสตูล
- กลุ่มที่ 6 ลักษณะการเจริญของเชื้อเป็นโคโลนีเส้นใยฟูเล็กน้อย มีสีส้มขาว แผ่เป็นวงรัศมี 3-4 วง  
วงใหญ่ ได้แก่ สายพันธุ์ท่าแพ ท่าศาลา จุฬาภรณ์ พระพรหม พระแสง ถ้ำพรรณราย  
วังวิเศษ ห้วยยอด
- กลุ่มที่ 7 ลักษณะการเจริญของเชื้อเป็นโคโลนีเส้นใยฟูมาก มีสีส้มอมชมพู-จุดน้ำตาลเล็กน้อย-ขาว  
แผ่เป็นวงใหญ่เป็นซี่ ได้แก่ สายพันธุ์นาบอน หาดเจ้าสำราญ ลานสกา เหนือคลอง  
ทุ่งใหญ่ ละงู
- กลุ่มที่ 8 ลักษณะการเจริญของเชื้อเป็นโคโลนีเส้นใยฟูมาก มีสีส้มอมชมพูเข้ม-น้ำตาล-ขาว แผ่เป็น  
วงใหญ่ ได้แก่ สายพันธุ์อ่าวลึก ลำทับ เกาะลันตา

ตารางที่ 1 ระดับความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ทั้ง 27 แหล่ง  
หลังปลูกเชือบนใบยางพารา 7 วัน

สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรง	หมายเหตุ
1. รัชฎา	0.75	0 หมายถึง ไม่มีการแสดงอาการ
2. ขนอม	1.60	0-1 หมายถึง พื้นที่ใบถูกทำลาย 1-10%
3. ฉวาง	1.10	1-2 หมายถึง พื้นที่ใบถูกทำลาย 10-25%
4. ทุ้งหัว	0.86	2-3 หมายถึง พื้นที่ใบถูกทำลาย 25-50%
5. บางขัน	1.00	3-4 หมายถึง พื้นที่ใบถูกทำลาย 50-75%
6. ทุ้งสง	2.16	4-5 หมายถึง พื้นที่ใบถูกทำลาย 75-100%
7. ช้างกลาง	0.63	
8. นาโยง	2.40	
9. คลองท่อม	0.76	
10. เมืองสตูล	3.10	
11. ท่าแพ	1.06	
12. ท่าศาลา	3.53	
13. จุฬาภรณ์	2.43	
14. พระพรหม	1.96	
15. พระแสง	1.30	
16. ถ้ำพรรณราย	0.40	
17. วังวิเศษ	1.90	
18. ห้วยยอด	2.93	
19. นาบอน	1.36	
20. หาดเจ้าสำราญ	0.96	
21. ลานสกา	3.06	
22. เหนือคลอง	2.56	
23. ทุ้งใหญ่	3.06	
24. ละงู	3.13	
25. อ่าวลึก	2.03	
26. ลำทับ	2.56	
27. เกาะลิ้นตา	2.30	

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบลักษณะของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหารวุ้น PDA อายุ 7 วัน

สายพันธุ์เชื้อ	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ซ.ม.)	สีของโคโลนี สีเส้นใย และความฟูบนอาหาร	ลักษณะรูปร่างและการแผ่รัศมีของเชื้อ	ลักษณะสายพันธุ์
1. รัชฎา	4.5	ดำขนาดใหญ่-ส้มอ่อน-ขาว (1)	แผ่เป็นวงปานกลาง	1
2. ขนอม	5.5	ส้มอ่อน-ดำขนาดใหญ่-ขาว (2)	แผ่เป็นวงใหญ่	2
3. ฉวาง	4.2	ดำ-ส้มอ่อน-ขาว (1)	แผ่เป็นวงปานกลาง	3
4. ท่งหว้า	4.2	ดำ-ส้มอ่อน-ขาว (1)	แผ่เป็นวงปานกลาง	3
5. บางขัน	4.0	ดำ-ส้มอ่อน-ขาว (1)	แผ่เป็นวงปานกลาง	3
6. ท่งสง	5.0	ดำ-ส้มอ่อน-ขาว (1)	แผ่เป็นวงปานกลาง	3
7. ช้างกลาง	4.0	จุดดำเล็กน้อย-ส้มอ่อน (1)	แผ่เป็นวงปานกลาง	4
8. นาโยง	4.0	จุดดำเล็กน้อย-ส้มอ่อน (1)	แผ่เป็นวงปานกลาง	4
9. คลองท่อม	4.2	ส้มอ่อน-ขาว (1)	วงรัศมี 1 วงชัดเจน	5
10. เมืองสตูล	4.2	ส้มอ่อน-ขาว (1)	วงรัศมี 1 วงชัดเจน	5
11. ท่าแพ	4.5	ส้ม-จุดดำเล็กน้อย-ขาว (2)	วงรัศมี 3-4 วง วงใหญ่	6
12. ท่าศาลา	4.6	ส้ม-จุดดำเล็กน้อย-ขาว (2)	วงรัศมี 3-4 วง วงใหญ่	6
13. จุฬารักษ์	5.0	ส้ม-ขาว (2)	วงรัศมี 3-4 วง วงใหญ่	6
14. พระพรหม	4.1	ส้ม-ขาว (2)	วงรัศมี 3-4 วง วงใหญ่	6
15. พระแสง	5.0	ส้ม-ขาว (2)	วงรัศมี 3-4 วง วงใหญ่	6
16. ถ้ำพรรณราย	5.5	ส้ม-ขาว (2)	วงรัศมี 3-4 วง วงใหญ่	6
17. วังวิเศษ	4.7	ส้ม-ขาว (2)	วงรัศมี 3-4 วง วงใหญ่	6
18. ห้วยยอด	5.0	ส้ม-ขาว (2)	วงรัศมี 3-4 วง วงใหญ่	6
19. นาบอน	5.0	ส้มอมชมพู-จุดดำเล็กน้อย-ขาว (3)	แผ่เป็นวงใหญ่ เป็นซี่	7
20. หาดเจ้าสำราญ	4.5	ส้มอมชมพู-จุดดำเล็กน้อย-ขาว (3)	แผ่เป็นวงใหญ่ เป็นซี่	7
21. ลานสกา	4.4	ส้มอมชมพู-จุดดำเล็กน้อย-ขาว (3)	แผ่เป็นวงใหญ่ เป็นซี่	7
22. เหนือคลอง	3.2	ส้มอมชมพู-จุดดำเล็กน้อย-ขาว (3)	แผ่เป็นวงใหญ่ เป็นซี่	7
23. ท่งใหญ่	3.0	ส้มอมชมพู-จุดดำเล็กน้อย-ขาว (3)	แผ่เป็นวงใหญ่ เป็นซี่	7
24. ละงู	3.0	ส้มอมชมพู-จุดดำเล็กน้อย-ขาว (3)	แผ่เป็นวงใหญ่ เป็นซี่	7
25. อ่าวลึก	5.0	ส้มอมชมพูเข้ม-ดำ-ขาว (3)	แผ่เป็นวงใหญ่	8
26. ลำทับ	4.8	ส้มอมชมพูเข้ม-ดำ-ขาว (3)	แผ่เป็นวงใหญ่	8
27. เกาะลันตา	4.7	ส้มอมชมพูเข้ม-ดำ-ขาว (3)	แผ่เป็นวงใหญ่	8

หมายเหตุ : ระดับความฟูของเส้นใย (1) = เล็กน้อย, (2) ปานกลาง, (3) มาก

## 2. ความผันแปรของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดของยางพาราในเขตปลูกยางใหม่

### 2.1 ลักษณะอาการใบจุดที่สำรวจพบ

การสำรวจอาการใบจุดของยางพาราในแปลงยางของเกษตรกรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบอาการใบจุดแบ่งเป็น 3 ลักษณะ ได้แก่

1. จุดนูนขนาดเล็ก
2. จุดแผลลักษณะกลมสีน้ำตาล ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-3 มิลลิเมตร ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้ม และมีวงสีเหลืองล้อมรอบ
3. จุดแผลขนาดตั้งแต่ 3 มิลลิเมตรขึ้นไป กลางแผลมีสีน้ำตาลอ่อน ขอบแผลไม่สม่ำเสมอ มีสีน้ำตาลเข้ม และมีวงสีเหลืองล้อมรอบรอยแผล เนื้อเยื่อกลางรอยแผล ยุบ ต่ำลงเป็นชั้น ๆ บางครั้งพบรอยแผลสีน้ำตาลขยายไปตามเส้นใบลักษณะคล้ายกับอาการใบจุดก้างปลา

เมื่อเก็บตัวอย่างมาแยกเชื้อสาเหตุ พบว่า อาการใบจุดนูน แยกได้เฉพาะเชื้อรา *Colletotrichum* sp. แต่อาการจุดแผลกลม ขนาดตั้งแต่ 2 มิลลิเมตรขึ้นไป สามารถแยกได้ทั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และเชื้อ *Corynespora* sp. และบางตัวอย่างแยกได้ทั้งสองเชื้อ แสดงให้เห็นว่า ในสภาพธรรมชาติ หากพบอาการใบจุดของยางพาราที่แผลมีขนาดตั้งแต่ 2 มิลลิเมตรขึ้นไป อาจมีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เชื้อรา *Corynespora* sp. หรือมีเชื้อ 2 ชนิด ทำให้เกิดอาการร่วมกัน

โรคใบจุดระบาดรุนแรง ทำให้เกิดแผลที่กิ่งแขนงสีเขียวในต้นยางเล็ก และเกิดอาการตายจากยอด ในต้นยางที่ปลูกในพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ดินปลูกมีลักษณะเป็นดินทราย และดินที่มีสมบัติเป็นด่าง ซึ่งจะมีอาการขาดธาตุเหล็กและสังกะสีร่วมอยู่ด้วย การแยกเชื้อสาเหตุโรคจากแหล่งต่างๆ พบว่า เชื้อสาเหตุมีลักษณะแตกต่างกัน และทำให้เกิดอาการรุนแรงต่างกันด้วย เชื้อ *Colletotrichum* ซึ่งทำให้เกิดอาการใบจุดนูน และแอนแทรคโนส ก็ทำให้เกิดอาการคล้ายก้างปลาได้ ในทางกลับกันก็พบว่า เชื้อรา *Corynespora* สาเหตุโรคใบจุดก้างปลา ก็สามารถทำให้เกิดอาการใบจุดคล้ายแอนแทรคโนสได้

### 2.1 เปรียบเทียบลักษณะของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่แยกได้

การเก็บตัวอย่างมาแยกเชื้อโรคใบจุดสามารถรวบรวมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ 30 สายพันธุ์ แยกได้จากยางพารา 23 ตัวอย่าง จากพีชอัสัย 7 ตัวอย่าง และแยกเชื้อ *Corynespora* sp. ได้ 19 สายพันธุ์ จากยางพารา 17 ตัวอย่าง และจากพีชอัสัย 2 ตัวอย่าง เชื้อรา *Colletotrichum* sp. สามารถจัดแบ่งกลุ่มตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหารได้ 3 กลุ่ม ได้แก่ 1. โคลโลนีสีขาวปนเทา กลางโคลโลนีสีเทาเข้ม มีกลุ่มสปอร์สีส้ม จำนวน 13 สายพันธุ์ 2. โคลโลนีสีขาวเทา ลักษณะเส้นใยฟู จำนวน 9 สายพันธุ์ และ 3. โคลโลนีสีเทาดำ ลักษณะเส้นใยฟู จำนวน 8 สายพันธุ์ แต่แบ่งตามอัตราการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้องได้ 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เจริญช้า มีอัตราการเจริญอยู่ระหว่าง 1.64-2.84 มิลลิเมตรต่อวัน และกลุ่มที่เจริญเร็ว มี 20 สายพันธุ์ มีอัตราการเจริญอยู่ระหว่าง 4.27-5.60 มิลลิเมตร ต่อวัน ส่วนความสามารถในการทำให้เกิด โรคของเชื้อแต่ละ สายพันธุ์

พบว่า มีความสัมพันธ์กับการสร้างสปอร์ โดยสายพันธุ์ที่มีการสร้าง spore mass บนอาหาร (ตารางที่ 3) จะทำให้เกิดโรครุนแรงเมื่อนำมาปลูกเชื้อ แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *Colletotrichum* spp. มีความผันแปรสูง จึงเป็นเชื้อที่มีโอกาสในการพัฒนาสายพันธุ์ใหม่ที่มีความรุนแรงในการเกิดโรคหรือต้านต่อสารเคมีได้ง่าย

เชื้อรา *C. gloeosporoides* มีพืชอาศัยมาก ซึ่งจากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคพบว่า เชื้อที่แยกจากพืชอาศัยที่พบในบริเวณสวนยาง สามารถทำให้ต้นยางแสดงอาการโรคได้ โดยเฉพาะมันสำปะหลัง ซึ่งเกษตรกรนิยมปลูกเป็นพืชแซมยางในเขตปลูกยางใหม่

ตารางที่ 3 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. บนอาหาร PDA เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน

ลำดับ	พืช	สถานที่เก็บ	อัตราการเจริญบน PDA (มม./วัน)	ลักษณะโคโลนี
1	ยางพารา	กิ่ง อ.รัตนวาปี จ.หนองคาย	2.63	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
2	ยางพารา	อ.สนามชัยเขต จ.ฉะเชิงเทรา	2.47	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
3	มันสำปะหลัง	อ.เมือง จ.ระยอง	4.90	สีขาวเทา
4	ยางพารา	อ.ปลวกแดง จ.ระยอง	4.91	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
5	ยางพารา	อ.เมือง จ.จันทบุรี	2.80	สีเทาดำ
6	ยางพารา	อ.หนองใหญ่ จ.ชลบุรี	2.83	สีเทาดำ
7	ยางพารา	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	2.02	สีขาวเทา
8	ยางพารา	อ.พรเจริญ จ.หนองคาย	4.85	สีขาวเทา
9	ยางพารา	อ.นาจะหลวย จ.อุบลราชธานี	2.49	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
10	ยางพารา	อ.เดชอุดม จ.ศรีสะเกษ	2.35	สีเทาดำ
11	ยางพารา	อ.เดชอุดม จ.ศรีสะเกษ	2.84	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
12	ยางพารา	อ.แปลงยาว จ.ฉะเชิงเทรา	4.88	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
13	ยางพารา	อ.แปลงยาว จ.ฉะเชิงเทรา	4.46	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
14	ยางพารา	อ.เมือง จ.ระยอง	5.26	สีเทาดำ
15	ยางพารา	อ.มะขาม จ.จันทบุรี	2.33	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
16	ยางพารา	อ.ปลวกแดง จ.ระยอง	5.31	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
17	ส้มโอ	จ.สระแก้ว	4.88	สีขาวเทา
18	ยางพารา	อ.เมือง จ.สุรินทร์	1.64	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
19	ยางพารา	อ.สนามชัยเขต จ.ฉะเชิงเทรา	4.86	สีเทาดำ
20	ยางพารา	อ.บ้านบึง จ.ชลบุรี	4.31	สีขาวเทา
21	ยางพารา	อ.สนามชัยเขต จ.ฉะเชิงเทรา	4.27	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
22	ยางพารา	อ.น้ำขุ่น จ.อุบลราชธานี	5.46	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
23	ยางพารา	อ.น้ำยั้น จ.อุบลราชธานี	5.60	สีขาวเทา มี spore mass สีส้ม
24	ยางพารา	อ.เมือง จ.ระยอง	4.61	สีเทาดำ
25	ยางพารา	อ.เมือง จ.ระยอง	4.91	สีขาวเทา
26	มะละกอ	อ.สนามชัยเขต จ.ฉะเชิงเทรา	4.83	สีเทาดำ
27	พริก	อ.สนามชัยเขต จ.ฉะเชิงเทรา	5.45	สีเทาดำ
28	มะม่วง	อ.สนามชัยเขต จ.ฉะเชิงเทรา	4.74	สีขาวเทา
29	ขนุน	อ.สนามชัยเขต จ.ฉะเชิงเทรา	5.38	สีขาวเทา
30	ผักหวาน	อ.สนามชัยเขต จ.ฉะเชิงเทรา	4.90	สีขาวเทา

### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การตรวจพบว่าอาการใบจุดของยางพาราในธรรมชาติอาจมีเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และเชื้อรา *Corynespora* sp. ทำให้เกิดอาการร่วมกัน ซึ่งนอกจากจะมีรายงานว่าเชื้อรา *Corynespora cassiicola* มีความผันแปรสูงแล้ว ในงานวิจัยนี้ก็พบว่า เชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่รวบรวมได้ก็เป็นเชื้อที่มีความผันแปรสูงทั้งการทำให้เกิดอาการโรค การเจริญเติบโต และการสร้างสปอร์ จึงเป็นเชื้อที่ควรศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากร เนื่องจากมีผลกระทบโดยตรงต่อการควบคุมโรคให้มีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะการใช้พันธุ์ต้านทาน เช่น เชื้อมีความผันแปรของประชากรอยู่ในกลุ่มย่อย อาจต้องใช้ cultivar mixtures ที่มียีนต้านทานต่างๆ กัน เพื่อลดความเสียหายจากการระบาดของโรค ซึ่งการดำเนินการในส่วนนี้ยังไม่แล้วเสร็จ เนื่องจากต้องสรุปจบโครงการก่อนกำหนด 1 ปี จึงไม่สามารถรายงานสรุปผลการทดลองในส่วนนี้ได้

### คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางอุบล เล็กสุทธิ นางสาวประไพ ไตรภูมิ นายวิศาล เพ็ชรรัตน์ และนายวิรัตน์ชัย สุนแก้ว เจ้าพนักงานการเกษตร ที่ได้ช่วยในการสำรวจและรวบรวมข้อมูล ทั้งในแปลงทดลองและห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณนางพัชรา กัญจนิตานนท์ ในการจัดพิมพ์รายงานในครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

- Jayasinghe, C.K., T.H.P.S. Fernando and U.M.S. Priyanka. 1997. *Colletotrichum acutatum* is the main cause of *Colletotrichum* leaf disease of rubber in Sri Lanka. Mycopathologia 137:53-56.
- Saha, T., A. Kumar, M. Ravindran, C.K. Jacob, B. Roy and M.A. Nazeer. 2002. Identification of *Colletotrichum acutatum* from rubber using random amplified polymorphic DNAs and ribosomal DNA polymorphisms. Mycological Research 106(2):215-221.