

ยังมีการนำเข้ามะละกอพันธุ์ใหม่จากต่างประเทศมาปลูกเพื่อหาพันธุ์ที่ดีและเหมาะสมกับประเทศไทย การปลูกมะละกอขณะนี้จึงกลายเป็นพืชสวนสำคัญ ใช้พื้นที่ปลูกมากขึ้น จากการออกสำรวจในที่ต่าง ๆ พบเชื้อ *C. cassiicola* ได้ตลอดปี เนื่องจากเชื่อนี้มีรายงานว่าสามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจอย่างอื่นอีกหลายชนิดรวมทั้งพืชที่ไม่ใช่พืชเศรษฐกิจอีกหลายชนิดด้วย (Ellis, 1957) ดังนั้นการศึกษาเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลและรายละเอียดต่าง ๆ ของเชื้อดังกล่าวในแต่ละท้องถิ่น จึงเป็นสิ่งที่จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่เกี่ยวข้องและผู้สนใจในอนาคตต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

รวบรวมตัวอย่างใบมะละกอที่แสดงอาการของโรค จากแหล่งใหญ่ ๆ ที่มีการปลูกมะละกอ (Table 1) มายังกลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ตรวจกลุ่มของเชื้อราบนอาการเหล่านั้นผ่านกล้องสองตา (binocular microscope) เมื่อแน่ใจว่าเชื้อราดังกล่าวปรากฏอยู่ทำการบันทึกรายละเอียดของอาการนั้น และทำการศึกษาตามขั้นตอนต่อไปนี้คือ

1. **ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา** โดยการรวบรวม spore และ conidiophore จากบนอาการที่ปรากฏจริงในธรรมชาติลงแผ่นสไลด์ วัดขนาดจากรายละเอียดต่าง ๆ โดยใช้ compound microscope และ camera lucida เปรียบเทียบ isolate ต่าง ๆ ถ้าบนอาการเหล่านั้นยังไม่ปรากฏกลุ่มของ spore ก็นำไปเพาะเชื้อที่มีความชื้นสูงปิดฝาทิ้งไว้ 24-48 ชม. แล้วจึงมาตรวจดูใหม่

2. **ศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน** คือ 25, 28, 30, 35 และ 40°C โดยการแยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี single spore isolation ลงบนอาหาร PDA ใน plate ที่ได้ทำเครื่องหมายไว้ได้ plate หลังจากเชื้อเริ่มเจริญประมาณ 2-3 วัน ที่อุณหภูมิห้องเมื่อเชื้อราเจริญดีไม่มีเชื้อราหรือแบคทีเรียปนเปื้อน ตัวยบริเวณส่วนขอบที่กำลังเจริญพร้อมอาหารด้วยคอร์กบอเรีย แล้วเขียนชิ้นส่วนนั้นลงบนอาหาร PDA กลาง plate โดยให้ด้านเชื้อราว่าติดกับอาหาร เลียงเชื้อทุก isolate ไว้ที่อุณหภูมิห้องทั้งหมดนาน 2 วัน เมื่อเชื้อเริ่มเจริญแยกนำเข้าสู่เลี้ยงเชื้อในอุณหภูมิดังกล่าวข้างต้น โดยให้ทุก isolate ได้รับอุณหภูมิต่าง ๆ กัน หลังจากนั้นสังเกตการเจริญของเชื้อ ทำการ

วัดการเจริญเติบโตทุกวันโดยใช้ดินสอเขียนแกว่งวงขอบการเจริญของแต่ละวัน แล้วนำมาเฉลี่ยหาอัตราการเจริญต่อวัน ในอุณหภูมิต่าง ๆ

3. **ทำการพิสูจน์โรค** โดยทำ spore suspension ด้วยน้ำกลั่นกับเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้ และได้ชักนำให้สร้าง spore เรียบร้อยแล้ว ผสม Tween 20 และสารจับใบเล็กน้อยเพื่อให้ spore กระจายและติดไปดีขึ้น นำไปปลูกเชื้อบนมะละกออายุ 10 สัปดาห์ ด้วยวิธีพ่นเป็นฝอยลงบนส่วนต่าง ๆ เก็บกล่อมมะละกอที่ปลูกเชื้อแล้วไว้ที่มีความชื้นสูง พ่นน้ำกลั่นบนต้น control สังเกตอาการ บันทึกการทดลอง และตัดชิ้นส่วนบริเวณที่พ่นเป็นระยะ ๆ แช่น้ำยา FAA

4. **Paraffin section** นำชิ้นส่วนที่แช่ใน FAA จากข้อ 3 มาผ่านขบวนการใส่น้ำในเซลล์พืชออก แล้วแทนที่ด้วย paraffin หรือ paraplast แล้วนำไปตัดด้วย rotary microtome นำชิ้นส่วนติดบนแผ่นสไลด์ นำไปย้อมสี saffranin และ fast green แล้วตรวจดูเชื้อราเป็นระยะ ๆ

5. **Cross inoculation** นำเชื้อรา *C. cassiicola* จากพืชอื่นที่หาได้คือ มะเขือเทศและงา ทำ spore suspension เช่นเดียวกับข้อ 3 ปลูกเชื้อกับมะละกอ 10 สัปดาห์ สังเกตอาการ บันทึกการทดลอง

ผลการทดลอง

จากการสำรวจและรวบรวมโรคมะละกอ จำนวนหลาย isolates จากแหล่งใหญ่ ๆ ที่มีการปลูกมะละกอ ซึ่งเชื่อดังกล่าวสามารถกระจายอยู่ทั่วไปในแหล่งที่มีดินมะละกอ ถึงแม้จะมีจำนวนน้อยต้นก็ตาม พบว่านอกจากสายพันธุ์แขกดำแขกขาว โกโก้ และสายน้ำผึ้งแล้วเชื้อ *C. cassiicola* สามารถเข้าทำลายมะละกอพื้นบ้านของไทยได้ถึงแม้การจะไม่รุนแรง อาการที่ปรากฏบนใบจะมีลักษณะเป็นจุดสีเทาขอบสีน้ำตาลเข้มเป็นมันโดยรอบ ถัดออกมาจะมีลักษณะเหลืองใส (halo lesion) ขนาดของแผลไม่แน่นอน อาการเริ่มแรกเป็นจุดเล็กขนาด 1 มม. หรือใหญ่กว่านั้น (Fig. 1 A) และอาการเหล่านี้อาจทำให้ใบทะลุ (shotholing) (Fig. 1 B) และเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมแผลอาจลุกลามถึงกัน ต่อมาจะแสดงอาการใบแห้งหรือร่วง ผลการนำเชื้อดังกล่าวมาศึกษา ได้รายละเอียดที่สำคัญคือ

1. **ลักษณะทางสัณฐานวิทยา** ไม่มี stroma conidiophore

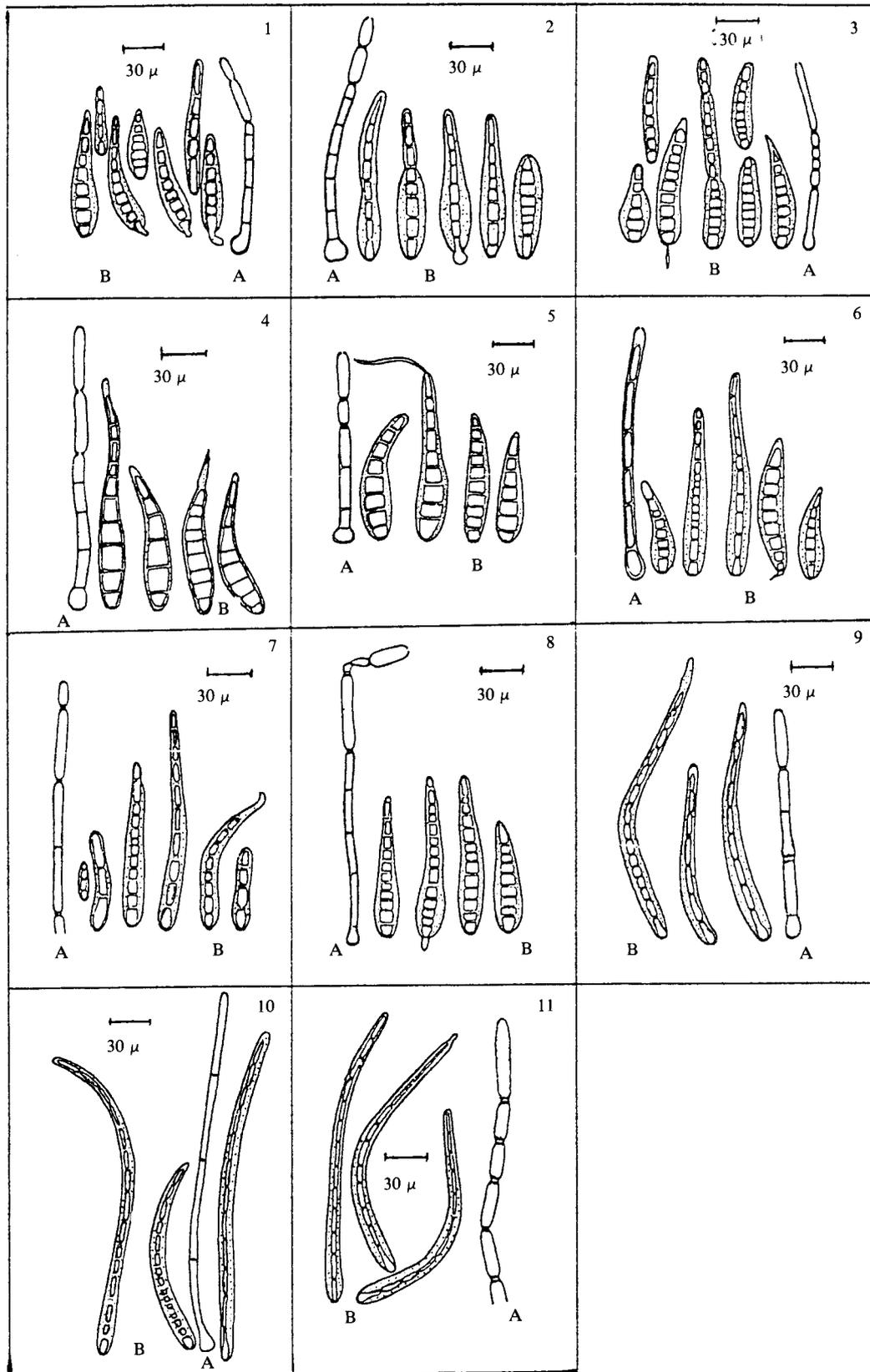


Fig. 2. Morphology of *Corynespora cassiicola* as the cause of target spot on papaya from different locations in Thailand.
 A. Conidiophore B. Conidia

Table 1. Measurements of conidia of *Corynespora cassiicola* from eleven locations in Thailand

Location	Date of collection	Papaya Variety	Figure	Conidium (μ)	
				length	diameter
1. Tambon Donyang Pathiu District Chumphon Province	January 29, 1987	Khaek Dum	2 - 1	50.6 - 96.6 Av. 72.9	9.2 - 23 Av. 17.7
2. Tambon Salui Tha - sae District Chumphon Province	January 29, 1987	Khaek Dum	2 - 2	101.2 - 124.2 Av. 109.5	18.4 - 23 Av. 21.2
3. Tambon Suanmoak Chaiya District Surat Thani Province	January 30, 1987	Local Varieties	2 - 3	36.8 - 142.6 Av. 80.2	9.2 - 23 Av. 17.1
4. Tambon Mabkha Ban Khai District Rayong Province	September 16, 1987 August 8, 1988	Cocoa	2 - 4	110 - 174.8 Av. 132.5	18.4 - 23 Av. 19.9
5. Tambon Buengyeethoe Thanyaburi District Pathum - Thani Province	October 29, 1987	Khaek Dum	2 - 5	82.8 - 128.8 Av. 104.7	18.4 - 23 Av. 21.9
6. Tambon Banrai Muang Ratchaburi District Ratchaburi Province	January 11, 1988	Khaek Nuan	2 - 6	69 - 151.8 Av. 104.8	16.1 - 18.4 Av. 18.0
7. Tambon Kohsanphra Wat Phleng District Ratchaburi Province	January 11, 1988	Khaek Dum	2 - 7	50.6 - 165 Av. 97.1	13.8 - 16.1 Av. 14.3
8. Tambon Sala - thammaset Taling - Chan District Bangkok Metropolis	January 13, 1988	Khaek Dum	2 - 8	82.8 - 130 Av. 109.6	18.4 - 23 Av. 20.7
9. Sisaket Horticulture Research Center Muang Sisaket District Sisaket Province	February 20, 1988	Introduced Varieties	2 - 9	151.8 - 225 Av. 188.6	13.8 - 18.4 Av. 15.3
10. Tambon Phue - ngoen Kantharalak District Sisaket Province	February 20, 1988	Local varieties	2 - 10	133.4 - 271.4 Av. 223	13.8 - 16.1 Av. 14.4
11. Tambon Tha - nut Damnoen Saduak Ratchaburi Province	July 6, 1988	Khaek Dum	2 - 11	193.2 - 225 Av. 212.8	13.8 - 16.1 Av. 14.4

ตรงหรือโค้งเล็กน้อย สีน้ำตาลอมเขียว การเจริญของ conidiophore จะเจริญที่ปลายผ่านแผลเก่าที่เคยเกิด conidia มาก่อน (terminal conidial scar) conidia ที่เกิด บางครั้งเกิดเดี่ยวหรือติดต่อกันไม่เกิน 6 conidia conidiophore เจริญโดยวิธีการที่เรียกว่า proliferation ผนังของ conidiophore ค่อนข้างบางที่ปลายการเจริญจะเริ่มเกิดขึ้น และบริเวณนี้ต่อมาจะมีลักษณะคอด (constrict) colonies สีเทาในระยะแรกเมื่อเจริญเต็มที่ จะเปลี่ยนเป็นสีเทาอมน้ำตาล เส้นใยละเอียดฟู conidia ในธรรมชาติพบบนใบ ใต้ใบ และก้านของมะละกอ 90% มีลักษณะทรงกระบอก (obclavate) subhyaline ผนังเรียบ (Table 1) Fig. 2 (2-11) และ Fig. 1D)

2. การเจริญของเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่า เชื้อ *C. cassicola* เจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 25-30°C และเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 28°C โดยเฉลี่ย 4.4 มม.ต่อวัน เชื้อจะเจริญเต็ม plate โดยเฉลี่ย 7-8 วัน (Fig. 1 C) และเริ่มชะงักการเจริญที่ 35°C และไม่เจริญที่ 40°C

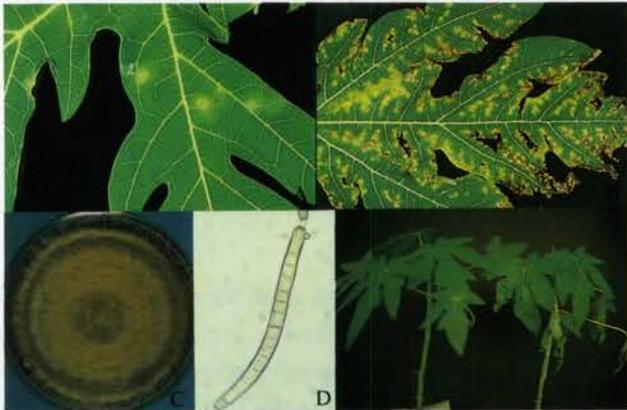


Fig. 1. (A to E). Symptoms of papaya target spot and morphology of *C. cassicola*, the cause of target spot : A, B) chlorotic (A) and necrotic (B) area of naturally infected leaves of papaya; C) characteristic of culture of *C. cassicola* on PDA; D) conidium of *C. cassicola*; and E) uninoculated (left) and inoculated (right) papaya seedlings with *C. cassicola* conidia.

3. การพิสูจน์โรคกับมะละกออายุ 10 สัปดาห์ หลังปลูกเชื้อแล้ว 2 วัน ใบและก้านแสดงอาการฉ่ำน้ำ ที่ใบจะเป็นจุดสีน้ำตาลล้อมรอบด้วยบริเวณเหลืองใสภายใน 5 วัน การขยายบริเวณที่แสดงอาการของโรคเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ใบล่างแสดงอาการใบไหม้ (Fig. 1 E) ในขณะที่บางส่วนของต้นแสดงอาการใบจุด อาการบนก้านมีลักษณะฉ่ำน้ำบวมรูปตา โดยเฉลี่ย

ภายใน 10 วัน กล้ามมะละกอจะเหลืองแต่ส่วนยอดที่เป็นใบอ่อนสีเหลือง หรือไม่ก็ยืนต้นตาย

4. ผลการทำ paraffin section และย้อมสี พบว่า mycelium กระจายอยู่ระหว่างเซลล์ของพืช หลังจากนั้น conidiophore จะแทงผ่าน epidermal cell ทั้งด้านบนและด้านล่างของใบเหมือนที่เห็นในธรรมชาติ (Fig. 3 A, 3 B และ 3 C) เนื่องจากเชื้อสามารถเจริญได้ดี ทั้งด้านบนและด้านล่างของใบ

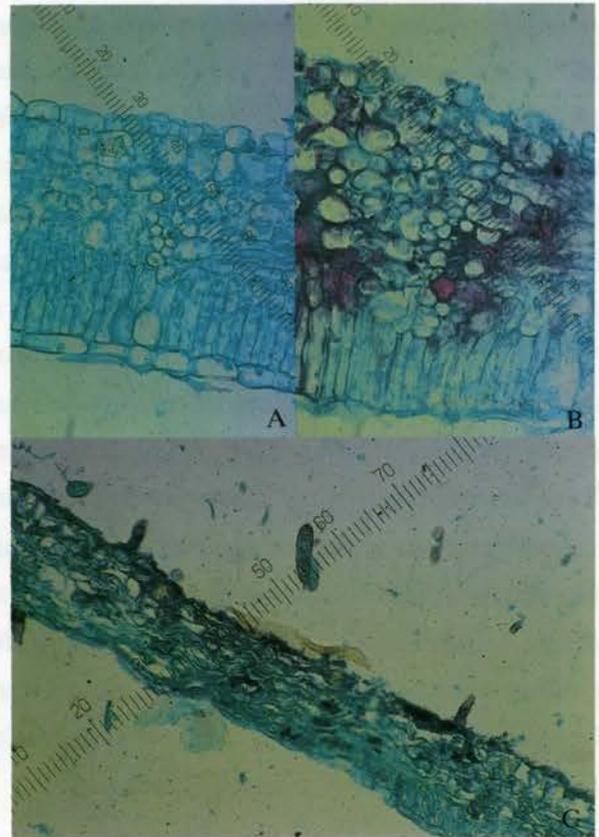


Fig. 3 - (A to C). Cross section through healthy leaf and *C. cassicola* infected leaves of papaya : A) healthy leaf showing normal vascular bundle (x132); B) infected leaf showing replacement of some vascular bundle tissues by fungus mycelia (red color) (x132); and C) fungal conidiophores and conidium on infected leaf (x66).

5. Cross inoculation จากการปลูกเชื้อ *C. cassicola* ของมะเขือเทศและงา ฟันบนต้นมะละกอและเก็บในที่ชื้นสูงพบว่าภายใน 6 วัน ต้นมะละกอแสดงอาการฉ่ำน้ำทั้งใบและก้านในวันที่ 7 ใบจะเริ่มร่วง และเห็นกลุ่มของเชื้อราบนอาการดังกล่าวชัดเจน ถ้าหากอยู่ในที่โล่งแจ้ง อาการเหล่านั้นจะแห้ง แสดงอาการเหมือนใบไหม้และร่วงไปอย่างรวดเร็ว

วิจารณ์ผลการทดลอง

C. cassiicola เป็นเชื้อราที่เจริญได้ดีในเขตที่มีอากาศร้อนชื้นและแพร่กระจายได้ตลอดปี แม้เชื้อรานี้ไม่ทำให้มะละกอที่โตแล้วตายในทันที แต่จะทำให้ทรุดโทรมในระยะต่อมา อาการของโรคมีลักษณะตั้งแต่ใบจุดเล็ก จุดโต ใบทะลุ หรือเชื้อลุกลามถึงขนาดทำให้ใบแสดงอาการแห้งหรือร่วง ในต่างประเทศได้รายงานไว้ว่า โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *C. cassiicola* โดยทั่ว ๆ ไปแล้วจะให้ชื่อว่า target spot (Holiday, 1980) จากการศึกษาด้านพิษวิทยาที่สร้างขึ้นโดยเชื้อ *C. cassiicola* (Sarma and Nayudu, 1975 ; Onesirosan et al., 1975) พบว่าเป็น non-specifically phytotoxic ด้วยเหตุนี้จึงทำให้เชื้อราสามารถมีพืชอาศัยได้ค่อนข้างกว้าง ได้มีรายงานไว้ว่าจากพืชตระกูลแตงและถั่วเหลืองในประเทศสหรัฐอเมริกาตอนใต้ จะแสดงอาการรุนแรง (highly virulent) บนมะเขือเทศและมะเขือยาว แต่จะไม่รุนแรง (moderately virulent) บนงาและฝ้าย (Onesirosan et al., 1974) จากการศึกษาค้นคว้าพบว่าเชื้อ *C. cassiicola* จากงาและมะเขือเทศสามารถทำให้มะละกอเป็นโรคได้เช่นเดียวกันและค่อนข้างรุนแรงกว่าของมะละกอเอง ดังนั้นการปลูกมะละกอในเขตที่มีการปลูกงาและปลูกมะเขือเทศมาก ๆ และมีประวัติการระบาดของเชื้อ ควรจะหลีกเลี่ยง ลักษณะของเชื้อต่าง isolate มีความแตกต่างกันบ้าง เนื่องจากสภาพแวดล้อมในบรรยากาศต่างกัน มะละกอที่ปลูกก็ต่างสายพันธุ์ นอกจากนั้นยังมีปัจจัยภายในของเชื้อราเองด้วย ถึงอย่างไรก็ตามในขณะที่ทำการศึกษามีเชื้อ *C. cassiicola* ต่างพืชเพียง 2 isolates ดังนั้นถ้าเป็นไปได้ควรจะได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบต่อไป

สรุปผลการทดลอง

โรค target spot ของมะละกอที่ได้ศึกษามีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *C. cassiicola* ซึ่งมีลักษณะอาการจุดสีน้ำตาลอมเทาขนาดไม่แน่นอน เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มม. จนถึงแผลลุกลามติดต่อกันจนวัดขนาดไม่ได้ ขอบสีน้ำตาลเข้มเป็นมัน ล้อมรอบด้วยบริเวณเหลืองใส ลักษณะของเชื้อราที่พบ conidiophore เจริญแบบ proliferation สำหรับมะละกอพบว่าสามารถ proliferate ได้ถึง 9 ครั้ง ขนาดโดยเฉลี่ยยาว 78-757 μ ผันหนา 13.2 μ conidia เกิดเดี่ยว ๆ ที่ปลาย conidiophore หรือเกิดติดต่อกันแต่ไม่เกิน 6 conidia ขนาดโดยเฉลี่ย (9.14-

20.88) \times (39.15-261) μ 90% ของ conidia ที่ได้ศึกษา มีลักษณะทรงกระบอก (obclavate) มีบางส่วนโค้งสีน้ำตาลอมเขียวอ่อน ผันเรียบ มีผันกัน (pseudoseptate) จำนวน 4-18 บางส่วน ผันหนา 1.3-2.6 μ เชื้อเจริญได้ดีที่ 28°C

การพิสูจน์โรคกับมะละกออายุ 10 สัปดาห์ อาการจะแสดงหลังปลูกเชื้อ 2 วัน ผลการทำ paraffin section และย้อมสีพบการกระจายของ mycelium อยู่ระหว่างเซลล์ หลังจากนั้น conidiophore จะเจริญผ่านเซลล์เนื้อเยื่อใบทางผ่านชั้น epidermis ทั้งด้านบนและล่างใบ การปลูกเชื้อ *C. cassiicola* จากมะเขือเทศและงามายังมะละกอ มะละกอแสดงอาการของโรคภายใน 6 วันหลังปลูกเชื้อ และการเข้าทำลายของเชื้อเจริญได้รวดเร็วกว่าเชื้อจากมะละกอโดยตรง

คำนิยาม

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณสุรพล ยินอัศวพรหม กลุ่มงานวิจัยโรคพืชนำมันที่ได้มอบเชื้อ *C. cassiicola* ของงามาร่วมทำการศึกษาในครั้งนี้ ทำให้ผลการศึกษาสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- ดารา พวงสุวรรณ, ขจรศักดิ์ ภากุล, สุชาติ วิจิตรานนท์, วัลลภ ชีรภาวะ, สุภา สุขเกษม, วารุณี ปรีชญมาโนช. 2529. การปรับปรุงคุณภาพผลไม้และผักสดเพื่อการส่งออก. กรมวิชาการเกษตร 54 หน้า.
- Chandrasikul, A. 1962. A Preliminary Host List of Plant diseases in Thailand. Tech. Bull. No.6 Department of Agriculture, Bangkok, Thailand.
- Ellis, M.B. 1957. Some species of *Corynespora*. Mycological papers. No.65 15 pp.
- Holliday, P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Cambridge. University Press. 607 pp.
- Onesirosan, P.T., D.C. Arny, and R.D. Durbin. 1974. Host specificity of Nigerian and North American isolates of *Corynespora cassiicola*. Phytopathology 64 (10) : 1364-1367.
- Onesirosan, P., C.T. Mabuni, R.D. Durbin, R.B., Morin, D.H. Rich, and D.C. Arny. 1975. Toxin production by *Corynespora cassiicola*. Physiological Plant Pathology 5 (3) : 289-295.
- Sarma, Y.R., M.V. Nayudu. 1975 Toxin production by *Corynespora cassiicola* (Berk. and Curt) Wei. Current Science 44 (5) : 172.

***Corynespora cassiicola* the Causal Fungus of Target Spot of Papaya**

By

**Kanika Pienpuck¹, Kanchana Po-ngern², Ubon Kueprakone¹,
Wirat Choobamroong¹ and Sanchai Tontya porn¹**

¹ Division of Plant Pathology and Microbiology, Department of Agriculture, Bangkok, Thailand 10900.

² Division of Botany and Weed Science, Department of Agriculture, Bangkok, Thailand 10900.

ABSTRACT

Corynespora cassiicola (Berk&Curt) Wei as the cause of leaf 'spot' on papaya was first reported in Thailand in 1962. With increased plantings of papaya reflecting its increasing importance as a horticultural crop, the disease has been increasingly observed. All papaya plantation areas on the provinces of Ratchaburi, Nakhon - Pathom, Rayong, Si Sa Ket, Chumphon and Nakhon Ratchasima have been noted to have the disease.

Symptoms of the disease commonly found on the leaves are also found on the stems of affected plants. Eleven isolates of *C. cassiicola* obtained from naturally infected papaya leaves from different locations were morphologically tested. Koch's postulates carried out using 10 week old seedlings inoculated with *C. cassiicola* conidia isolated from papaya, tomato and sesame produced typical disease symptoms after 2-6 days for all inoculation attempts.