

สำรวจ รวบรวม และจำแนกราก *Pythium* สาเหตุโรคพืช

Surveying, Collection and identification of *Pythium*

อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ พิระวรรณ วัฒนวิภาส
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจ รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคพืชที่มีสาเหตุจาก รา *Pythium* spp. จากแหล่งปลูกพืชทั่วประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2552 ได้ตัวอย่างโรคกล้าเนา ต้นเนาของพืชชนิดต่าง ๆ นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช ทั้งหมด 30 ไอโซเลท ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืช จำนวน 13 ชนิดพืช ตรวจไม่พบ รา *Pythium* ทุกชนิดพืช ส่วนการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูกได้ตัวอย่างดินค่น้ำ ดินปลูกกวางตั้งและดินปลูกสตรอเบอรี่ รวมได้ตัวอย่างดิน 11 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่าง รวม ได้ รา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ ทั้งหมดจำนวน 41 ไอโซเลท จำแนกเป็นรา *Pythium* 15 ชนิด คือ

P. monospermum สาเหตุโรคกล้าเนาแดงกว่า *P. vanterpoolii* สาเหตุโรคกล้าเนากะหล่ำปลีสีม่วง *Pythium* Group G สาเหตุโรคต้นเนาผักกะเจด โรครากเนาต้นเหี่ยวสนมังกกร *Pythium* Group HS สาเหตุโรคต้นเนาผักกะเจด *P. spinosum* และ *P. rostratum* สาเหตุโรคต้นเนาสตรอเบอรี่ *P. indigoferae* สาเหตุโรคต้นเนาผักชี *P. middletonii* สาเหตุโรคต้นเนาของต้นขวด *P. perplexium* สาเหตุโรคต้นเนารากเนาผักไร้ดิน *P. tracheiphilum* สาเหตุโรคต้นเนาต้นถาขี้สีแดง และโรครากเนาต้นเนาถาขี้ *P. irregulare* และ *P. periplocum* สาเหตุโรคต้นเนาต้นถาขี้ *P. intermedium* สาเหตุโรคใบเนาบัวประดับ และ *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคกล้าเนามะเขือเทศ และโรคกล้าเนาลำต้นเนามะละกอ และพบในดินค่น้ำทุกตัวอย่างจากสุพรรณบุรี ปทุมธานี เชียงใหม่และเชียงราย และดินกวางตั้งจากเชียงใหม่และเชียงราย พบรา *P. ultimum* ส่วนไอโซเลทอื่น ๆ อยู่ในขั้นตอนการจำแนกชนิดเชื้อ

คำหลัก : สำรวจ รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคพืช, รา *Pythium*, จำแนกชนิดเชื้อ

คำนำ

รา *Pythium* spp. อยู่ในชั้น (Class) Oomycetes ลำดับ (Order) Peronosporales วงศ์ (Family) Pythiaceae เป็นสาเหตุของโรคเน่าคอดิน หรือเน่าระดับดิน (damping-off) ของต้นกล้าพืชสำคัญหลายชนิด เข้าทำลายต้นกล้าพืช หรือเมล็ดพันธุ์ในดินก่อนงอก พบราพวกนี้เข้าทำลายต้นกล้าพืชในประเทศเขตร้อนต่างๆ เช่น ไทย อินเดีย อินโดนีเซีย มาเลเซีย ออสเตรเลีย ศรีลังกา ไนจีเรียและเขตกึ่งร้อน เช่น อิลราเอล ออฟริกาใต้ บางรัฐของสหรัฐอเมริกา ลิเบีย เป็นต้น ราทำลายต้นกล้าพืชในเรือนเพาะชำ แปลงตกกล้าพืชมากมายหลายชนิดทั้งใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ เช่น มะละกอ ถั่วลิสง ฝ้าย แตงโม มะม่วง กัลยไม้ หญ้าชนิดต่างๆ ข้าว ถั่ว ชิง ยาสูบ มะเขือเทศ พริก ราเข้าทำลายเมล็ดก่อนเมล็ดพืชงอก เมล็ดมีลักษณะอาการเน่าทั้งที่ยังไม่งอก หรืองอกอยู่ในดิน ซึ่งทำให้สังเกตได้ยาก แต่หากเมล็ดงอกโผล่จากดิน แล้วเจริญเป็นต้นกล้าพืช ราเข้าทำลายที่ระดับดิน โคนต้นกล้าเกิดอาการฉ่ำน้ำ ทำต้นกล้าล้มพับอยู่เหนือดิน ใบเลี้ยงยังคงเขียว ไม่มีอาการเหี่ยว หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมกับการเจริญของรา ความชื้นสูง ทำให้ต้นกล้าเน่าเป็นหย่อมๆ ในแปลงกล้า หรือในกระบะเพาะกล้า

รา *Pythium* เป็นพวกเกิดและอาศัยอยู่ในดิน (soil borne) มีความสามารถที่อยู่รอดด้วยการเป็นพอกซาโฟไฟท์ (saprophyte) พวกนี้เป็นปรสิต (parasite) กับพืชเกือบทุกชนิด ไม่เฉพาะเจาะจง มีความสำคัญต่อการเกษตร ทำให้เกิดโรคพืชหลายชนิดที่เป็นพืชเศรษฐกิจ เป็นสาเหตุของโรคเน่าคอดินของกล้าพืชและบางครั้งทำให้เกิดโรคโคนเน่ารากเน่าของพืชที่เจริญเติบโต โดยทำลายเนื้อเยื่อที่บอบบาง เข้าทำลายต้นกล้าพืชได้ทั้งก่อนและหลังการงอกของเมล็ดพืชในดิน การระบาดทำลายต้นกล้าได้รวดเร็ว ขึ้นอยู่กับชนิดและสภาพแวดล้อม แต่พืชบางชนิดอาจถูกราดวุ้นนี้เข้าทำลายเมื่อตอนอายุมากๆ ได้ เช่น พืชตระกูลแตงที่ปลูกในที่ระบายน้ำไม่ดี ความไม่สมดุลเหมาะสมกับการใส่ปุ๋ยให้กับพืช หรือพืชที่ปลูกไร้ดิน เช่นผักกระเฉด เป็นต้น (ทวิ, 2549)

ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้สำรวจ รวบรวมและศึกษารายละเอียดต่าง ๆ ของรา *Pythium* spp. แล้วจำแนกชนิด เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลการแพร่กระจายของโรคเน่าคอดิน หรือโรคกล้าเน่า หรือโรคพืชที่เกิดจากรา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืชในประเทศไทย และเพื่อให้ได้เชื้อรา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ ที่มีรายละเอียดข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา และ สรีรวิทยา นอกจากนี้ จากการตรวจเอกสารพบการรายงานโรคพืชสำคัญหลายชนิด ที่มีสาเหตุจากรา *Pythium* spp. โดยไม่ได้จำแนกชนิดเชื้อ ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงเพื่อเป็นการจัดจำแนกชนิดรา *Pythium* spp. เก็บไว้ใน culture collection และเพื่อความถูกต้องในการจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชในประเทศไทย อีกประการหนึ่งด้วย

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การสำรวจ รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคและการแยกเชื้อบริสุทธิ์

1.1 การสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp.

สำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp. จากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ทั่วประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2552

1.2 การศึกษาลักษณะอาการโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp.

ศึกษาและบันทึกรายละเอียดลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก สภาพแวดล้อมของการเกิดโรคและการปฏิบัติดูแลของเกษตรกร ถ่ายรูปตัวอย่างโรคพืช

1.3 การศึกษา รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช

นำตัวอย่างโรคพืชมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อวินิจฉัยสาเหตุโรค โดยวิธี tissue transplanting ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติ เป็นชิ้นส่วนขนาด 2x2 มิลลิเมตร ตัวอย่างละ 15-20 ชิ้น เลี้ยงบนอาหาร PDA + BRNAP เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$.) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นตัวอย่าง เลี้ยงบนอาหาร PDA + BRNAP อีกครั้ง เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นเชื้อ เลี้ยงบนอาหาร CA (Carrot agar) แล้วแยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทในหลอดทดลอง เพื่อศึกษารายละเอียดของเชื้อที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

1.4 การศึกษา รา *Pythium* spp. ที่อยู่ในดินแปลงปลูกพืช

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก นำตัวอย่างดินมาละลายน้ำ แล้วใช้เมล็ดแตงกวาแขวนลอยในสารละลายดินดังกล่าว นาน 36-48 ชั่วโมง นำเมล็ดแตงกวานั้น มาแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยวางบนอาหาร PDA + BRNAP เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$.) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ปฏิบัติเช่นเดียวกับ ข้อ 1.3

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของรา *Pythium*

นำเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทมาศึกษารายละเอียดลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา ดังนี้

2.1 การศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (โคโลนี) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เลี้ยงราสาเหตุโรค ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ CA จำนวน 15 มิลลิลิตร เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฟ้าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของราซึ่งเลี้ยงบน

อาหาร CA นาน 3 วัน วางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบนอาหารบริเวณกลางจานเลี้ยงเชื้อ นำไปไว้ในตู้ปั๊มมีดที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส จนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ศึกษาบันทึกลักษณะการเจริญที่ผิวหน้าอาหารและความหนาแน่นของเส้นใย

2.2 การศึกษา ลักษณะ รูปร่างและขนาดสปอร์

เลี้ยงราสาเหตุโรค ในจานขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ CA จำนวน 15 มิลลิเมตร ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของราซึ่งเลี้ยงบนอาหาร CA นาน 3 วัน นำไปลอยในน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว น้ำดิน (soil suspension) และน้ำหญ้าต้ม นำไปไว้ภายใต้แสง (ไฟฟ้า) ที่เหมาะสม (GE Cool White F 40 D 40-watt) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้สร้างสปอแรนเจีย (sporangia) ศึกษาและบันทึกลักษณะของสปอร์แรงเจีย การสร้าง sexual structure ของเชื้อ วัดขนาดของ โอโอโกเนีย (oogonia), โอโอสปอร์ (oospores) และ แอนทริเดีย (antheridia) ศึกษาตำแหน่งของ antheridia บนผิวของ oogonium และลักษณะของ oospore ที่อยู่ภายในแต่ละ oogonium

3. การจำแนกชนิดรา *Pythium* spp.

เปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะการเจริญเส้นใย ลักษณะรูปร่างและขนาดของสปอร์ ชนิดต่างๆ (sporangium, chlamydospores, oogonia, antheridia และ oospores) ของรา *Pythium* สาเหตุโรคกล้าเน่า และราในดิน กับคู่มือการจำแนกชนิด *Pythium* ของ PLAATS-NITERINK (1981) และ เอกสารวิชาการของ Robertson (1980)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคและการแยกเชื้อบริสุทธิ์

1.1 การสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp.

ผลการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp. ในพื้นที่ปลูกพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2552 พบว่า

ภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ พบโรคกล้าเน่ากะหล่ำปลีสีม่วง กกล้าเน่ามะเขือเทศและโรคกล้าเน่าเบญจมาศ ชนิดละ 1 ตัวอย่าง โรคต้นเน่ารากเน่าสตรอเบอรี่ 2 ตัวอย่าง โรคโคนเน่ารากเน่าผักสลัดแก้ว โรครากเน่าต้นเน่าต้นขวิด โรคต้นเน่าต้นถั่วฝักยาว ต้นถั่วฝักยาว ต้นถั่วฝักยาว (ดอกม่วง) ต้นไม้เท้าถั่วฝักยาว โรครากเน่าสนม้งกร และโรคใบเน่าบัวประดับ ชนิดละ 1 ตัวอย่าง จังหวัดลำปาง พบโรคใบเน่าบัวประดับ 1 ตัวอย่าง

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบโรคลำต้นหรือกล้าเน่าแดงกวาง จากจังหวัดเลย 1 ตัวอย่าง และโรคหัวเน่า (กล้าเน่า) ของหัวไชเท้า (ผักกาดหัว, ผักกาดหวาน) จากเพชรบูรณ์ 1 ตัวอย่าง และโรคต้นเน่าไม้กฤษณา 2 ตัวอย่าง จากจังหวัดสกลนคร

ภาคตะวันออก พบโรคใบเน่าบัวประดับ และโรคต้นเน่ารากเน่ากล้วยไม้ดิน (ซิมปีเดียม) ชนิดละ 2 ตัวอย่าง จากจังหวัดปราจีนบุรี

ภาคใต้ พบโรคใบเน่าบัวประดับ 1 ตัวอย่าง จากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ภาคกลาง พบโรคเน่าคอต้นหรือโรคกล้าเน่ามะเขือเทศ จากกรุงเทพฯ 1 ตัวอย่าง โรคต้นเน่าผักกาดหอม 1 ตัวอย่าง ผักไร้ดิน (ผักไฮโดรโปนิก) 2 ตัวอย่าง โรครากและลำต้นเน่าผักชี 1 ตัวอย่าง และ โรคต้นเน่าจากผักกระเฉดจากกรุงเทพฯ 2 ตัวอย่าง จังหวัดสมุทรปราการ 1 ตัวอย่าง และโรคกล้าเน่าลำต้นเน่ามะละกอ จากนครปฐม 1 ตัวอย่าง

รวมได้ตัวอย่างโรคกล้าเน่า ต้นเน่าของพืชชนิดต่าง ๆ ทั้งหมด 30 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

1.2 การศึกษาลักษณะอาการโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp.

ผลการศึกษาลักษณะอาการโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp. พบว่ารา *Pythium* spp. เข้าทำลายต้นกล้าพืชที่ระดับดิน โคนต้นกล้าเกิดอาการฉ่ำน้ำ ทำให้ต้นกล้าล้มพับอยู่เหนือดิน ใบเลี้ยงยังคงเขียว ไม่มีอาการเหี่ยว หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมกับการเจริญของรา ความชื้นสูง ทำให้ต้นกล้าเน่าเป็นหย่อมๆ ในแปลงกล้า หรือในกระเบเพาะกล้าในเรือนเพาะชำ การศึกษาครั้งนี้พบต้นกล้ามะเขือเทศในเรือนเพาะชำเน่า ซึ่งตรงกับกรรายงานของจุมพลและอรพรรณ (ไม่ระบุปีที่ตีพิมพ์) ใน คู่มือนักวิชาการภาคสนาม โรคพืชผัก และตรงกับรายงานของพัฒนาและคณะ (2542) ว่า โรคกล้าเน่าตาย หรือโรคเน่าคอต้น (damping off) ของมะเขือเทศ เกิดจาก รา *Pythium* sp. ส่วนนิยมรัฐ (2542) รายงานโรคผลเน่า (Fruit rot) ของมะเขือเทศ มีลักษณะซ้ำเหมือนน้ำร้อนลวกแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำ มีสาเหตุจาก รา *Pythium* sp. เช่นเดียวกัน

นอกจากนี้ได้พบกล้าเน่าของกะหล่ำปลีสีม่วงจากเชียงใหม่ ซึ่งพัฒนาและคณะ (2542) ได้รายงานการเกิดโรคโคนเน่าในกะหล่ำดอก และกะหล่ำปลี และโรคเน่าคอต้นในกะหล่ำดอกอิตาเลียน (บร็อคโคลี่) อีกด้วย สำหรับโรคกล้าเน่าแดงกวาง พบกรรายงานการเกิดบนแดงกวางและแดงร้าน คือ โรคโคนเน่า (Foot rot) จาก รา *P. aphanidermatum* โรครากเน่า (Root rot) จากรา *P. debaryanum* โรคผลเน่า (Fruit rot) จากรา *Pythium* sp. (พัฒนาและคณะ, 2542) แต่ไม่พบกรรายงานการเกิดโรคเน่าบนผักกาดหอม ผักสลัดแก้ว ผักกะเฉด และสตรอเบอรี่

ในการศึกษานี้ได้พบพืชที่มีลำต้นอวบ นิ่ม ในระยะต้นโต เป็นโรครากและลำต้นเน่า ที่มีสาเหตุจาก รา *Pythium* sp. ได้แก่ สตรอเบอรี่ ผักสลัดแก้วและผักกาดหอม โดยเฉพาะ ผักที่ปลูกในน้ำ ได้แก่ ผักกะเฉด และผักไร้ดิน เมื่อตรวจเอกสารพบกรรายงานการศึกษาศาเหตุโรคพืช ในระยะต้นโตที่มีสาเหตุจากรา *Pythium* spp. ในประเทศไทย คือ อมรรรัตน์ และคณะ (2522) รายงานโรคต้น

เน่าปานศรณารายณ์ ทำให้เกิดอาการเน่าและเป็นสีน้ำตาล อาการเริ่มที่โคนใบ แล้วเน่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แล้วใบหักพับลง ลูกกลมไปยังโคนใบอื่นๆ กลางลำต้นเน่าและ และต้นล้มไปในที่สุด มีสาเหตุจาก รา *P. aphanidermatum* และได้พบโรคเน่าคอดินหรือโรคกล้าเน่ามะละกอ เช่นเดียวกับ สุชาติ (2541) ที่รายงานโรครากเน่าและโคนเน่าของมะละกอ ว่าเกิดจากรา *P. aphanidermatum* ซึ่งเช่นเดียวกับ พิศาล (2542) รายงานโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ โรคโคนเน่า (stem rot) ของมะละกอ จากรา *P. aphanidermatum* ทำให้โคนต้นเน่าสีน้ำตาลดำและบางครั้งมีเส้นใยสีขาวเกิดขึ้น และรายงานโรคยอดเน่า (heart rot) ของสับปะรด มีสาเหตุจากรา *Pythium* sp. และพบการรายงานของ นิตยา (2545) รายงานโรคที่เกิดกับส่วนที่อยู่ใต้ดินของพืชสกุลหอมกระเทียม คือโรค *Pythium* seed rot and Damping – off มีสาเหตุจากรา *Pythium* sp. ทำให้ต้นกล้ามีปลายใบแห้งและยุบตายเป็นหย่อม ที่โคนต้นบริเวณคอดินมีรอยช้ำเป็นสีน้ำตาลมณฑา (2548) รายงานโรครากเน่าและโคนเน่า (root rot and basal stem rot) ของถั่วเหลือง ที่แสดงอาการเหี่ยวเฉา ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและฉ่ำน้ำ ขอบใบม้วนขึ้น ว่ามีสาเหตุจากรา *Pythium* sp. ซึ่งจะเห็นเส้นใยสีขาวหนาตรงส่วนต่อของรากกับโคนต้น

1.3 การศึกษา รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช

ผลการศึกษาตัวอย่างโรคพืช โดยวิธี tissue transplanting แล้วแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อวินิจฉัยสาเหตุโรค พบว่า ตัวอย่างโรคพืชที่นำมาศึกษาทั้ง 30 ตัวอย่าง มีสาเหตุจากรา *Pythium* spp. แยกมาได้จำนวน 30 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืชจากพื้นที่เพาะปลูกของประเทศไทย (ปีพ.ศ. 2549-2552)

ลำดับ	แหล่งปลูก	พืช	ส่วนของพืช	ไอโซเลทเชื้อ
ภาคเหนือ				
เชียงใหม่ CM = Chiang Mai				
1.	นายสมศักดิ์ – นางกาญจนา สิทธิหาญ 29-1 หมู่ 2 บ้านโป่งแยงนอก ต.โป่งแยง อ.แมริม จ.เชียงใหม่	กะหล่ำปลีสีม่วง	กล้าเน่า	50-Py-กะหล่ำม่วง-CM 1 S-
2.	นายสมศักดิ์ – นางกาญจนา สิทธิหาญ 29-1 หมู่ 2 บ้านโป่งแยงนอก ต.โป่งแยง อ.แมริม จ.เชียงใหม่	มะเขือเทศ	กล้าเน่า	50-Py-To-CM 1 S-
3.	ต.สะเมิงใต้ อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่	เบญจมาศ	กล้าเน่า	50-Py-เบญจมาศ-CM 1 S-
4.	ต.ม่อนปิ่น อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	สตรอแบรี	ต้นเน่า/รากเน่า	49-Py-St-CM 1 S
5.	สถานีทดลองเกษตรหลวงปางดะ อ.สะเมิง จ. เชียงใหม่	สตรอแบรี	ต้นเน่า/รากเน่า	49-Py-St-CM 2 S

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งปลูก	พืช	ส่วนของพืช	ไอโซเลทเชื้อ
ภาคเหนือ				
เชียงใหม่ CM = Chiang Mai				
6.	ต.โป่งแยง อ.แมริม จ.เชียงใหม่	ผักสลัดแก้ว	โคนเน่า/รากเน่า	50-Py- ผักสลัดแก้ว-CM 1 S
7.	สวนเฉลิมพระเกียรติ ฯ ราชพฤกษ์ 2549 อ.แม่เหียะ จ.เชียงใหม่	ต้นขวด	รากเน่า/ต้นเน่า	50-Py- Bt-CM 1 S
8.	สวนเฉลิมพระเกียรติ ฯ ราชพฤกษ์ 2549	ต้นฤๅษีสี่แดง	ต้นเน่า	51 Py ฤๅษี CM 1 S
9.	สวนเฉลิมพระเกียรติ ฯ ราชพฤกษ์ 2549	ต้นฤๅษีสองสี	ต้นเน่า	51 Py ฤๅษี CM 2 S
10.	สวนพฤกษศาสตร์สิริกิต เชียงใหม่	ต้นฤๅษีผสม (ดอก ม่วง)	ต้นเน่า	52 Py ฤๅษีผสม CM 3 S
11.	สวนเฉลิมพระเกียรติ ฯ ราชพฤกษ์ 2549	ต้นไม้เท้าฤๅษี	ต้นเน่า	51 Py ไม้เท้าฤๅษี CM 1 S
12.	สวนเฉลิมพระเกียรติ ฯ ราชพฤกษ์ 2549	สนมังกร	รากเน่า ต้นเหี่ยว	51 Py สนมังกร CM 1 R
13.	ใกล้โรงแรมเชียงใหม่ฮิลล์ อ.เมือง เชียงใหม่	บัวประดับ	ใบเน่า	51 - Py -บัวประดับ CM 1 L
ลำปาง Lpa = LamPang				
14.	ร้านกล้วยเดี่ยว อ.ห้างฉัตร ลำปาง	บัวประดับ	ใบเน่า	52 - Py บัวประดับ Lpa 1 L
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ				
เลย Lo = Loei				
15.	ไร่ TSA ผลิตเมล็ดพันธุ์ อ.ภูเรือ จ.เลย	แตงกวา	ลำต้น/ก้านเน่า	49-Py-Cu-Lo 1 S
เพชรบูรณ์				
Ph B = Phetchabun				
16.	บ้านมุกโค ต.หนองแม่นา อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์	หัวไชเท้า	ก้านเน่า/หัวเน่า	50-Py-หัวไชเท้า-PhB 1 R-
สกลนคร				
Sa N = Sakonakhon				
17.	อ.เมือง สกลนคร	กฤษณา	โคนต้นเน่า	51 Py กฤษณา Sa N 1 S

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งปลูก	พืช	ส่วนของพืช	ไอโซเลทเชื้อ
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ				
18.	นายผดุง พงษ์ไกรินทร์ เกษตรกรผู้ปลูก ไม้กฤษณา บ้านเลขที่ 293 หมู่ 1 บ้านวาริชภูมิ ต.วาริชภูมิ อ.วาริชภูมิ จ.สกลนคร	กฤษณา	รากเน่าโคนเน่า	51 Py กฤษณา Sa N 2 S
ภาคตะวันออก				
ปราจีนบุรี				
PB = Prachin Buri				
19.	รังกล้วยไม้บริษัท PSP อ.เมือง ปราจีนบุรี (นิยมรัฐ)	บัวประดับ	ใบเน่า	51 Py ใบบัวประดับ PB 1 L
20.	รังกล้วยไม้บริษัท PSP อ.เมือง ปราจีนบุรี (นิยมรัฐ)	กล้วยไม้ดิน (ซิมบิเดียม)	ต้นเน่า-รากเน่า	52 Py รากซิมบิเดียม PB 1 R
ภาคใต้				
ประจวบคีรีขันธ์				
Pr K = Prachuap khirikhan				
21.	คอนโดริมหาดหัวหิน พี่เล็ก	บัวประดับ	ใบเน่า	52 Py ใบบัวประดับ - Pr K 1 L
ภาคกลาง				
กรุงเทพฯ ๑ BK = Bangkok				
22.	เรือนทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช กรุงเทพฯ	สอพ. มะเขือเทศ	กล้าเน่า	49-Py-To-BK 1 S
23.	คลินิกพืช กรุงเทพฯ	ผักกาดหอม	ต้นเน่า	50-Py- ผักกาดหอม -BK 1 S
24.	คุณมณีรัตน์ เทพบันดาลผล ถนนเอกชัย-บางบอน เทียน กรุงเทพฯ	อ.บางขุน (ผักไฮโดรโปนิก)	ราก/ลำต้นเน่า	51 Py Hp BK 2 S
25.	คลินิกพืช กรุงเทพฯ	ผักชี	ราก/ลำต้นเน่า	51 Py ผักชี 1 S
26.	กรุงเทพฯ	ผักกะเจต	ต้นเน่า/ใบเน่า	49-Py- ผักกะเจต -BK 1 S
27.	คลินิกพืช กรุงเทพฯ	ผักกะเจต	ต้นเน่า/ใบเน่า	49-Py- ผักกะเจต -BK 3 S
28.	บริษัท GP Technology Co.Ltd. คุณธวัช สาธรณะ 50 สุวินทวงศ์ ต.แสนแสบ อ.มีนบุรี กรุงเทพฯ	ผักสลัดไร้ดิน (ผักไฮโดรโปนิก) (Hp = Hydroponic)	น้ำในโรงเพาะ กล้า	51-Py-Hp BK 1 W

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งปลูก	พืช	ส่วนของพืช	ไอโซเลทเชื้อ
<i>ภาคกลาง</i>				
สมุทรปราการ SP = Samut PraGan				
29.	นายสมศักดิ์ สะเสื่อ 16/2 ม.3 หนองปรือ อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ	ต. ผักกะเฉด	ต้นเน่า/ใบเน่า	49-Py- ผักกะเฉด -SP 2 S
นครปฐม				
Na P = Nakhonpathom				
30.	คุณยุวดี พันลัดบุตร พุทธมณฑล	มะละกอ	กล้าน้ำ ลำต้นเน่า	52 Py Na P กล้ามะละกอ 1 S(แขกดำ)

หมายเหตุ

- ¹ 49 = จำนวนเลขสองตัวแรก คือ ปี พ.ศ.ที่เก็บตัวอย่าง (49 = พ.ศ.2549)
- ² Py = ตัวอักษรสองตัวแรก คือ รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคต้นเน่า กล้าน้ำ
- ³ Cu = ตัวอักษรสองตัวที่สอง คือ พืชอาศัยที่แยกเชื้อสาเหตุได้
- ⁴ Lo = ตัวอักษรสองตัวที่สาม คือ จังหวัดที่เก็บตัวอย่างโรคกล้าน้ำ
- ⁵ 1 = จำนวนเลขหนึ่งตัว คือ ลำดับไอโซเลทของเชื้อสาเหตุที่แยกได้จากพืช
- ⁶ S = ตัวอักษรหนึ่งตัวหลัง คือ ส่วนของพืชที่แยกเชื้อสาเหตุได้

49-Py-Cu-Lo 1 S = รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคที่แยกได้จากตัวอย่างโรคโคนเน่าแตงกวา จังหวัดเลย
ไอโซเลทที่ 1 เก็บตัวอย่างในปี พ.ศ.2549

พืช	ส่วนของพืช	จังหวัด
Bt=Bottle tree = ต้นขวด	S = Stem ลำต้น	CM = Chiang Mai เชียงใหม่
Cu = Cucumber = แตงกวา	R = Root ราก	Lpa = LamPang ลำปาง
St = Strawberry = สตรอเบอรี่	W = Water น้ำ	Lo = Loei เลย
To = Tomato = มะเขือเทศ		Ph B = Phetchabun เพชรบูรณ์
		Sa N = Sakonnakhon สกลนคร
		PB = Prachin Buri ปราจีนบุรี
		Pr K = Prachuap khirikhan ประจวบคีรีขันธ์
		BK = Bangkok กรุงเทพฯ ฯ
		SP = Samut PraGan สมุทรปราการ
		Na P = Nakhonpathom นครปฐม

1.4 การศึกษา รา *Pythium* spp. ที่อยู่ในดินแปลงปลูกพืช

ผลการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่ จากแหล่งปลูก ปีพ.ศ. 2549-2552 ได้ตัวอย่างดินค่น้ำ จากจังหวัดปทุมธานี 2 ตัวอย่าง จังหวัดสุพรรณบุรี เชียงราย และเชียงใหม่ จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างดินปลูกวางตั้งจากจังหวัด เชียงราย และเชียงใหม่ จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง ดินปลูกสตรอแบรี่จากจังหวัดเชียงใหม่ 1 ตัวอย่าง ดินปลูกส้มจากจังหวัดเชียงใหม่ 1 ตัวอย่าง ดินปลูกกฤษณาจากสกลนคร ดินปลูกกะหล่ำปลี จากจังหวัดตาก 1 ตัวอย่าง รวมได้ตัวอย่างดิน 11 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่าง ได้รา *Pythium* spp. จำนวน 11 ไอโซเลท (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 รา *Pythium* spp. แยกจากดินปลูกพืชของประเทศไทย (ปีพ.ศ. 2549-2552)

ลำดับ	จังหวัด	ดินปลูก พืช	ไอโซเลท	แหล่งปลูก
1.	สุพรรณบุรี	ค่น้ำ	50-Py-สพ.-ดินค่น้ำ-1	ม.4 ต.คันคต อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี
2.	ปทุมธานี	ค่น้ำ	50-Py-ปธ.-ดินค่น้ำ-1	คุณสมพงษ์ 63/1 ม.2 ต.บางเดื่อ อ.เมือง
3.		ค่น้ำ	50-Py-ปธ.-ดินค่น้ำ-2	เสี้ยวแว่น 22 ม. 3 ต.บ้านใหม่ อ.เมือง
4.	เชียงราย	ค่น้ำ	50-Py-ชร.-ดินค่น้ำ-1	บ.บางซอน ต.แม่เจดีย์ อ.เวียงป่าเป้า
5.		วางตั้ง	50-Py-ชร.-ดินวางตั้ง-1	บ.บางซอน ต.แม่เจดีย์ อ.เวียงป่าเป้า
6.	เชียงใหม่	ค่น้ำ	50-Py-ชม.-ดินค่น้ำ-1	บ.ทุ่งแดง อ.พร้าว
7.		วางตั้ง	50-Py-ชม.-ดินวางตั้ง-1	ต.โหล่ขวิด อ.พร้าว
8.		สตรอแบรี่	50-Py-ชม.-ดินสตรอแบรี่-1	ต.สะเมิงใต้ อ.สะเมิง
9.		ส้ม	51-Py ชม.-ดินส้ม 1	ดินส้ม-ฝาง เชียงใหม่
10.	สกลนคร	กฤษณา	51 กฤษณา 1	นายผดุง พงษ์ภริณทร์ 293 หมู่ 1 บ้านวาริชภูมิ ต. วาริชภูมิ อ. วาริชภูมิ จ.สกลนคร 47150
11.	ตาก	กะหล่ำปลี	52-PY-ดินกะหล่ำปลี	อ. เมือง จ.ตาก

รา *Pythium* เป็นพวก water mold หรือ ราน้ำ อาศัยบนเศษซากพืช อินทรีย์วัตถุในดิน เกิดและอาศัยอยู่ในดิน (soil borne) ราเข้าทำลายเมล็ดก่อนเมล็ดพืชงอก เมล็ดมีลักษณะอาการเน่าทั้งที่ยังไม่งอก หรืองอกอยู่ในดิน (ทวี, 2549) จากตัวอย่างดินในแปลงปลูกคะน้า กวางตุ้ง และสตรอเบอรี่ในการศึกษาครั้งนี้ แยกได้รา *Pythium* spp.บริสุทธิ์ทุกตัวอย่าง ดังนั้นการปลูกพืชในดินจึงควรใช้เมล็ดพันธุ์พืชที่คลุมเมล็ดด้วยสารเคมีเมทาแลกซิล ควบคุมราที่อาจติดมากับเมล็ดและป้องกันการเข้าทำลายจากราที่อยู่ในดิน (ทวี, 2549)

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของรา *Pythium*

2.1 การศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (โคโลนี) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลการศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อนาน 3 วัน พบว่าราสร้างเส้นใยบนอาหาร CA มีลักษณะการเจริญเป็นเส้นตรง มีกิ่งก้านแยกออกไปสม่ำเสมอค่อนข้างเป็นระเบียบ ไม่ฟูมาก ลักษณะเส้นใยใสไม่มีสี ไม่มีผนังกัน ผิวผนังเรียบ ราเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 2 - 3 วันและพบการเจริญของเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้เกิดลักษณะรูปแบบของโคโลนี (culture pattern หรือ colony pattern) คล้ายปุยฝ้าย หรือปุยสำลี หรือ เส้นใยแมงมุม (arachnoid) มีบางไฮโซเลทมีรูปคล้ายดอกกรักร่

2.2 การศึกษา ลักษณะ รูปร่างและขนาดสปอร์

รา *Pythium* มีเส้นใยที่ไม่มีผนังกัน สร้างสปอร์ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ทางเพศ (sexual spores) มีผนังหนาและสปอร์ที่เกิดแบบไม่ผสมพันธุ์ทางเพศ (asexual spores) เป็นสปอร์รูปร่างต่างๆ กัน อาจมีรูปร่างกลม หรือเป็นเส้นยาว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิด (species) สปอร์งอกเส้นใย 1-2 วัน หรืออาจสร้างสปอร์มีหางว่ายน้ำได้ ภายในถุงที่แยกออกมาจากสปอร์ (vesicle) ราพวกนี้ส่วนมากผสมทางเพศด้วยตัวของมันเอง (homothallic fungi) เกิด oospores อยู่ภายในเนื้อเยื่อของพืชที่มันเข้าทำลาย หรือบนอาหารสังเคราะห์เลี้ยงเชื้อบางชนิด บางครั้งพบ สปอร์ผนังหนา รูปร่างกลม ทำการศึกษา พบความแตกต่างของรา *Pythium* spp. หลายชนิด

3. จำแนกชนิดรา *Pythium* spp.

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาลักษณะการเจริญเส้นใย ลักษณะรูปร่างและขนาดของสปอร์ชนิดต่างๆ (sporangium, chlamydospores, oogonia, antheridia และ oospores) ของรา *Pythium* spp. สาเหตุโรคกล้าเน่า โรครากเน่าต้นเน่าและราในดิน จำนวน 22 ไฮโซเลท กับคู่มือการจำแนกชนิด *Pythium* ของ PLAATS-NITERINK (1981) และ เอกสารวิชาการของ Robertson (1980) พบว่าเป็นรา *Pythium* spp. จำนวน 15 ชนิด ดังนี้

- P. monospermum* สาเหตุโรคกล้าเน่าแตงกวา
P. vanterpoolii สาเหตุโรคกล้าเน่ากะหล่ำปลีสีม่วง
Pythium Group G สาเหตุโรคต้นเน่าผักกะเจต โรครากเน่า ต้นเหี่ยวสนมังกกร
Pythium Group HS สาเหตุโรคต้นเน่าผักกะเจต
P. spinosum สาเหตุโรคต้นเน่าสตรอเบอรี่
P. rostratum สาเหตุโรคต้นเน่าสตรอเบอรี่
P. indigoferae สาเหตุโรคต้นเน่าผักชี
P. middletonii สาเหตุโรคต้นเน่าของต้นขวิด
P. perplexium สาเหตุโรคต้นเน่ารากเน่าผักไร้ดิน
P. tracheiphilum สาเหตุโรคต้นเน่าต้นถั่วสีแดง และโรครากเน่าต้นเน่ากฤษณา
P. irregulare สาเหตุโรคต้นเน่าต้นกฤษณา
P. periplocum สาเหตุโรคต้นเน่าต้นกฤษณา
P. intermedium สาเหตุโรคใบเน่าบัวประดับ
P. aphanidermatum สาเหตุโรคกล้าเน่ามะเขือเทศ และโรคกล้าเน่าลำต้นเน่ามะละกอ
 และพบในดินคະນ້າทุกตัวอย่างจากสุพรรณบุรี ปทุมธานี เชียงใหม่และเชียงราย
 ดินกวางตั้งจากเชียงใหม่และเชียงราย พบรา *P. ultimum*

สำหรับรายละเอียดของการจำแนกชนิดเชื้อจะรายงานในครั้งต่อไป

สรุปผลการทดลอง

ได้สำรวจ รวบรวม ตัวอย่างโรคพืช ในพื้นที่ปลูก เก็บตัวอย่างโรคกล้าเน่า ต้นเน่าของพืชชนิดต่าง ๆ นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช ทั้งหมด 30 ไอโซเลท ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืช จำนวน 13 ชนิดพืช ตรวจไม่พบ รา *Pythium* ทุกชนิดพืช ส่วนการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก ได้ตัวอย่างดินคະນ້า ดินปลูกกวางตั้งและดินปลูกสตรอเบอรี่ รวมได้ตัวอย่างดิน 11 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่าง รวม ได้ รา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ ทั้งหมดจำนวน 41 ไอโซเลท จำแนกเป็นรา *Pythium* 15 ชนิด

เอกสารอ้างอิง

- จุมพล สาระนาคและอรพวรรณ วิเศษสังข์. (ไม่ระบุปีที่ตีพิมพ์) คู่มือนักวิชาการภาคสนาม โรคพืชผัก. เอกสารวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 กรมวิชาการเกษตร พิมพ์ครั้งที่ 1 จำนวน 1,000 เล่ม. 113 หน้า.
- ทวี เกาศิริ. 2549. หน่วยที่ 10 ตอนที่ 10.1.1 วิชาเห็ดโรคพืชที่สำคัญ. เอกสารประกอบการเรียน การสอนชุดวิชา ศัตรูพืชเบื้องต้น (Introduction to Crop Pests) 93257 หน่วยที่ 8-15. หน้า 10-8 – 10-22.
- นิตยา กันหลง. 2545. โรคสำคัญของพืชสกุลหอม กระเทียมในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกอง โรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 96 หน้า.
- นิยมรัฐ ไตรศรี. 2542. การป้องกันกำจัดโรคพืชในการผลิตผัก. หน้า 65-92 ใน โรคพืชที่สำคัญใน พื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ ความรู้ พื้นฐานด้านโรคพืช จัดโดยสมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย พ.ศ.2542.
- พิศาล ศิริธร. 2542. โรคพืชสวน : โรคไม้ผล. หน้า 52-64 ใน โรคพืชที่สำคัญในพื้นที่ปลูกภาค ตะวันออกเฉียงเหนือ เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ ความรู้พื้นฐานด้านโรคพืช จัดโดยสมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย พ.ศ.2542.
- พัฒนา สนธิรัตน์, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประ โคน. 2542. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 284 หน้า.
- มณฑา นันทพันธ์. 2548. โรคถั่วเหลืองและการป้องกันกำจัด. ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ สำนักวิจัย และพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 จ.เชียงใหม่ ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัด เชียงใหม่. 57 หน้า.
- สุชาติ วิจิตรานนท์. 2541. โรคไม้ผลและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการ เกษตรกร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 101 หน้า.
- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ เสี่ยงแจ้ว พิริยพจนต์ นงลักษณ์ ศรีนุกและสมภาค สิทธิพงศ์. 2522. การศึกษา สาเหตุโรคต้นเน่าของป่านศรนารายณ์. หน้า 441-445. ใน รายงานประจำปี 2522. กองวิจัย โรคพืช. กรมวิชาการเกษตร.
- J. VAN DER PLAATS-NITERINK. 1981. Monograph of the genus *Pythium*. Studies in Mycology. No. 21. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, The Netherlands. 135 pp. http://www.cbs.knaw.nl/simonline/sim_021/content.htm
- G.I. Robertson. 1980. The genus *Pythium* in New Zealand. New Zealand Journal of Botany. 1980, Vol. 18:73-102.