

บทที่ 1

บทนำ

ยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งที่มีการเพาะปลูกอย่างกว้างขวางทั่วภูมิภาคของโลก ในปีพ.ศ. 2555 ประเทศไทยมีรายงานพื้นที่การเพาะปลูกยางทั้งหมด 18.3 ล้านไร่ โดยมีพื้นที่ที่สามารถกรีดยางได้ทั้งหมด 13.81 ล้านไร่ มีผลผลิตทั้งหมดประมาณ 3.63 ล้านตัน คิดเป็นผลผลิตเฉลี่ย 263 กิโลกรัมต่อไร่ (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, 2555) แหล่งเพาะปลูกยางที่สำคัญของประเทศไทยจะพบในพื้นที่ภาคใต้ ภาคตะวันออก ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รวมทั้งหมดประมาณ 40 จังหวัด ซึ่งแนวโน้มการผลิตและการส่งออกยางพารา และผลิตภัณฑ์ยางเพิ่มขึ้นอย่างมากตามความต้องการใช้ยางพาราที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี อย่างไรก็ตาม การผลิตยางพาราก็ประสบปัญหาหลายประการที่ทำให้ได้ผลผลิตไม่ดีเท่าที่ควร โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาด้านโรคที่เกิดกับยางพารา ซึ่งแต่ละพื้นที่ที่เพาะปลูกยางจะมีโรคระบาดที่แตกต่างกันไป โรคที่สำคัญที่สุดโรคหนึ่งได้แก่โรคใบร่วง (leaf fall), ฝักเน่า (pod rot), และเส้นดำ (back rot) ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. โรคนี้มีการระบาดมากในช่วงฤดูฝนซึ่งมีฝนตกชุก และมีความชื้นสูง หรือพื้นที่ที่อยู่ภายใต้เขตลมมรสุม โดยพบการระบาดมากในแปลงปลูกยางยืนต้น รวมถึงแปลงกิ่งตาย และแปลงขยายพันธุ์ เชื้อรา *Phytophthora* spp. ทำความเสียหายต่อเศรษฐกิจการปลูกยางพาราหลายประการ กล่าวคือ ต้นยางที่อยู่ในช่วงที่ให้ผลผลิตเมื่อเกิดอาการใบร่วงอย่างรุนแรงจะทำให้ผลผลิตของน้ำยางลดลง นอกจากนี้ผลเสียหายจากการระบาดของโรคเส้นดำที่หน้ากรีดยาง จะทำให้อายุการผลิตน้ำยางของต้นยางลดลง เนื่องจากเปลือกงอกใหม่ที่หน้ากรีดยางซึ่งเคยเป็นโรคมาก่อนไม่เหมาะที่จะกรีดยาง หากเชื้อราเข้าทำลายฝักจะทำให้ฝักเน่า สูญเสียสำหรับขยายพันธุ์ ในยางอ่อนที่มีอายุต่ำกว่า 2 ปี อาจถูกโรคนี้ทำลายจนตายได้ (สุทัศน์, 2547; เอกชัย, 2547)

การควบคุมโรคสามารถทำได้โดยการกำจัดเชื้อโรคหรือแหล่งเพาะเชื้อให้หมดไป การใช้สารเคมีสำหรับต้นยางใหญ่มักไม่คุ้มค่าใช้จ่ายเพราะโรคนี้ไม่ทำให้ต้นยางใหญ่ถึงตาย เพียงแต่ทำให้ปริมาณน้ำยางลดลง อย่างไรก็ตาม หากการแพร่ระบาดของโรคเกิดในแปลงเพาะชำกล้ายางจะ

ก่อให้เกิดผลเสียหายอย่างมาก เนื่องจากเชื้อสามารถแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วและรุนแรง
 แนวทางในการป้องกันและควบคุมโรค โดยการจัดหาพันธุ์ยางที่ต้านทานโรคนับเป็นหนทางที่ดี
 ที่สุด นอกจากนี้ การศึกษาถึงความหลากหลายของประชากรเชื้อรา *Phytophthora* spp. จะสามารถ
 เป็นข้อมูลพื้นฐานควบคู่ไปกับการปรับปรุงพันธุ์ยางของประเทศไทย เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพให้
 ต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. ได้เป็นอย่างดี

วัตถุประสงค์

1. จำแนกชนิดของเชื้อและศึกษาประชากรของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่รวบรวมได้จาก
 แหล่งเพาะปลูกยางพาราในเขตจังหวัดสุราษฎร์ธานี
2. ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีในการควบคุมเชื้อรา
3. ศึกษาความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อราของยางพันธุ์ต่างๆ

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ยางพาราเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทยที่มีการส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกในหลายภูมิภาคของประเทศ โดยภาคใต้เป็นเขตที่มีการเพาะปลูกยางพารามากที่สุด ซึ่งปีพ.ศ. 2548 จังหวัดสุราษฎร์ธานีมีรายงานว่าพื้นที่เพาะปลูกยางพารามากที่สุดในประเทศไทย ประมาณ 3 ล้านไร่ อย่างไรก็ตาม ผลผลิตที่ได้เฉลี่ย 270 กิโลกรัมต่อไร่ยังถือว่ามียกยภาพการผลิตที่ต่ำอยู่ นอกจากนี้ยังพบปัญหาต้นทุนการผลิตที่สูงขึ้นเนื่องมาจากการใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชทั้งวัชพืช และโรคของยางพารา โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อราพบการใช้สารเคมีควบคุมและกำจัดก่อนข้างสูง นอกจากนี้พื้นที่ที่ปลูกยางส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ทำสวนยางเก่ามาก่อน ซึ่งเป็นแหล่งสะสมของโรค และเป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรคเป็นอย่างดี ทำให้การป้องกันกำจัดโรคทำได้ยาก การปรับปรุงพันธุ์ยางให้ต้านทานโรคทำได้ยาก เนื่องจากเชื้ออาจมีความหลากหลายทางพันธุกรรม ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาพันธุกรรมของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่รวบรวมได้จากแหล่งเพาะปลูกยางพาราในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานีเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับทิศทางการป้องกันกำจัดโรคควบคู่ไปกับการศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ยางให้มีผลผลิตที่ดี และมีความต้านทานโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เชื้อรา *Phytophthora* spp. เป็นเชื้อสาเหตุโรคที่ก่อให้เกิดโรคที่สำคัญของยางพาราที่ปลูกทั่วไปในหลายประเทศทั่วโลก โดยก่อให้เกิดโรคที่สำคัญได้แก่ โรคใบร่วง โรคผิวกเน่า โรคเส้นดำ และโรคยอดตาย เป็นต้น (Jayasuriya *et al.*, 1999) เชื้อรา *Phytophthora* spp. นอกจากจะก่อให้เกิดโรคกับยางพาราแล้ว ยังสามารถเกิดโรคต่างๆ กับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดอื่นอีกเช่น โรคผลเน่า (black pod) ในโกโก้ (Appiah *et al.*, 2003) โรคใบไหม้ (late blight) ในมันฝรั่ง และมะเขือเทศ (กมลสิริ, 2546; Day *et al.*, 2004; Fry and Goodwin, 1997a; Fry and Goodwin, 1997b) เป็นต้น เชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่เข้าทำลายยางพารามีหลายสปีชีส์ได้แก่ *P. meadii* MaRae, *P. palmivora* (Butl.) Butl., *P. botryosa* Chee, *P. citrophthora* (R.E. Sm. & E.H. Sm.) Leonian, *P. nicotianae* Van Breda de Haan var. *parasitica* (Dastur) Waterhouse and *P. phaseoli* Thaxter (Liyanage *et al.*, 1989; Jayasuriya *et al.*, 1999) สำหรับในประเทศไทยมีรายงานการพบเชื้อรา *Phytophthora* spp.

เข้าทำลายยางพาราอยู่ 2 สปีชีส์ได้แก่ *P. palmivora* และ *P. botryosa* (ประภา และคณะ, 2520; Tsao *et al.*, 1975) เชื้อรา *Phytophthora* spp. มีการพัฒนาของโรค และมีการแพร่กระจายอย่างรวดเร็วเมื่อมีอุณหภูมิ และความชื้นที่เหมาะสม โดยจะพบโรคระบาดทั่วไปในพื้นที่ปลูกยางพาราที่มีลมมรสุมพัดผ่าน และเขตที่ฝนตกชุก

เชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่พบเข้าทำลายพืชชนิดต่างๆ มีหลายสปีชีส์ แต่ละสปีชีส์มีความจำเพาะต่อการเข้าทำลายพืชแตกต่างกัน การศึกษาพันธุศาสตร์ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. จะเป็นการศึกษาเกี่ยวกับต้นกำเนิดและรูปแบบความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) ซึ่งจะทำให้เข้าใจเกี่ยวกับกระบวนการที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชากร (population structure) การศึกษาเบื้องต้นเพื่อใช้จำแนกเชื้อรา *Phytophthora* spp. จะอาศัยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้แก่ ลักษณะของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ (selective media) ลักษณะของส่วนขยายพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศ และแบบอาศัยเพศต่างๆ เป็นต้น (Erwin and Ribeiro, 1996)

Jayasuriya *et al.* (1999) ศึกษาเปรียบเทียบเชื้อรา *Phytophthora meadii* จำนวน 33 ไอโซเลท ที่ได้จากแหล่งปลูกยางพาราในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศศรีลังกา จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า เชื้อราแต่ละไอโซเลทส่วนใหญ่มีลักษณะการเจริญของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ และลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันมีเพียงบางไอโซเลทที่มีความแตกต่างออกไป การศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับยางพารา พบว่า เชื้อราไอโซเลทที่แยกได้จากยางพาราพันธุ์ที่อ่อนแอหรือค่อนข้างอ่อนแอจะมีความสามารถก่อให้เกิดโรคได้สูงเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราไอโซเลทที่แยกได้จากพันธุ์ที่ต้านทานโรค อย่างไรก็ตาม พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากยางพาราพันธุ์เดียวกันแต่ต่างพื้นที่กันมีลักษณะทางสัณฐานวิทยา และมีความสามารถในการก่อให้เกิดโรคที่แตกต่างกัน จึงมีความเป็นไปได้ว่า ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมอาจมีผลทำให้เกิดลักษณะความผันแปรขึ้น

Appiah *et al.* (2003) ศึกษาเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่าในโกโก้ จำนวน 161 ไอโซเลทที่แยกได้จากแหล่งที่ปลูกโกโก้ทั่วโลก จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า มีความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาระหว่างเชื้อแต่ละไอโซเลทที่เก็บได้ในพื้นที่

เดียวกัน และในพื้นที่ต่างกัน จากการศึกษาสามารถจำแนกเชื้อราที่เข้าทำลายโกโก้ได้ทั้งหมด 4 สปีชีส์ได้แก่ *P. capsici*, *P. citrophthora*, *P. palmivora* และ *P. megakarya* ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม การจัดจำแนกเชื้อรา *Phytophthora* spp. โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาแม้จะสามารถชี้ให้เห็นถึงความหลากหลาย และแนวโน้มของการปรับตัวของเชื้อได้ แต่บางครั้งพบว่าเชื้อราที่มีความใกล้เคียงกันมากก็ยากที่จะตัดสิน อาจทำให้เกิดความสับสนขึ้นได้ นอกจากนี้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาอาจเปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อมซึ่งเป็นผลให้การจัดจำแนกสปีชีส์ หรือสายพันธุ์ยุ่งยากมากขึ้น ปัจจุบันมีการใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาร่วมกับการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อจัดจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. เทคนิคทางด้านเครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) ที่นิยมนำมาใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุศาสตร์และความสัมพันธ์ระหว่างสปีชีส์ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. มีหลายเทคนิคได้แก่ amplified fragment length polymorphism (AFLP) (Chowdappa *et al.*, 2003; Bhat, 2006; Guo *et al.*, 2006), random amplified polymorphic DNA (RAPD) (ศรีสุข และคณะ, 2544; Islam *et al.*, 2005), restriction fragment length polymorphism (RFLP) (Camele *et al.*, 2005) เป็นต้น

การศึกษาโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. ในประเทศไทย พบว่าเชื้อรา *Phytophthora* spp. สามารถก่อให้เกิดโรคกับพืชเศรษฐกิจในประเทศไทยหลายชนิดเช่น โรคใบไหม้ (late blight) ในมะเขือเทศและมันฝรั่ง โรครากเน่าโคนเน่าในไม้ผล โรครากเน่าโคนเน่าในปาล์มน้ำมัน และในยางพารา เป็นต้น

เพชร (2538) รวบรวมเชื้อรา *Phytophthora* spp. สาเหตุโรคของยาพาราจากศูนย์วิจัยยางมะเขือเทศ สงขลา สุราษฎร์ธานี และสวนยางเอกชนจังหวัดตราด ได้จำนวน 8 ไอโซเลต เมื่อจัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา และรูปแบบไอโซไซม์ สามารถจัดจำแนกเชื้อรา *Phytophthora* spp. ออกเป็น 2 สปีชีส์ ได้แก่ *P. nicotianae* var *parasitica* และ *P. botryosa* เมื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ควบคุมเชื้อราในห้องปฏิบัติการ พบว่า สาร metalaxyl 25% WP สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้าง sporangium ของเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลตได้ดีที่สุด

ศรีสุข และคณะ (2544) รวบรวมเชื้อรา *Phytophthora* spp. จำนวน 6 ตัวอย่าง จากทุเรียน (3 ตัวอย่าง) ส้ม พริกไทย และกล้วยไม้ จากแหล่งปลูกต่างๆ ที่มีการแพร่ระบาดของโรค ทำการแยก

เชื้อให้บริสุทธิ์ จากนั้นสกัดดีเอ็นเอบริสุทธิ์จากเส้นใยเชื้อรา และใช้เทคนิค RAPD ในการเปรียบเทียบวิวัฒนาการของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลตต่างๆ แล้วทำการจัดกลุ่ม จากการใช้ไพรเมอร์ชนิดต่างๆ จำนวน 76 ชนิด มีเพียง 31 ชนิดแสดงความแตกต่างของดีเอ็นเอระหว่างเชื้อราทุกไอโซเลต อย่างไรก็ตาม มีไพรเมอร์เพียง 7 ชนิด ที่สามารถให้แถบดีเอ็นเอเหมือนเดิม ซึ่งแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นสามารถนำไปจัดกลุ่มได้ว่า เชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกได้จากทุเรียนทั้ง 3 ไอโซเลตจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน มีความเหมือนกันของดีเอ็นเอมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ เชื้อราที่แยกได้จากส้มและพริกไทยถูกจัดไว้ในกลุ่มเดียวกันมีความเหมือนกันของดีเอ็นเอมากกว่า 65 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเชื้อราที่แยกได้จากกล้วยไม้ ซึ่งถูกจัดไว้ในกลุ่มเดียวกับส้มและพริกไทย แต่มีความเหมือนกันของดีเอ็นเอเพียง 25 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างจากทุเรียนมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เชื้อราที่แยกได้จากทุเรียนเป็นชนิด *P. palmivora* และเชื้อราที่แยกได้จากส้มและพริกไทยเป็นชนิด *P. parasitica* ส่วนเชื้อราที่แยกได้จากกล้วยไม้จำแนกกว่าเป็น *P. parasitica* เช่นเดียวกัน แต่พืชอาศัยต่างกัน

กมลสิริ (2546) สำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อรา *P. infestans* สาเหตุโรคใบไหม้ของมะเขือเทศและมันฝรั่ง จากแหล่งปลูกมะเขือเทศและมันฝรั่ง 17 แหล่งในพื้นที่จังหวัดตาก และจังหวัดเชียงใหม่ เพื่อนำมาศึกษาโครงสร้างประชากรของเชื้อรา พบโรคใบไหม้ระบาดเกือบทุกแหล่งปลูก และสามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์จากมันฝรั่งและมะเขือเทศได้ 250 ไอโซเลตเมื่อนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหาร Rye-B agar พบว่า เชื้อรามีการสร้าง sporangium และมีความผันแปรของรูปแบบการเจริญของเส้นใยบนอาหารต่างกัน เมื่อนำเชื้อรา *P. infestans* มาศึกษาความสามารถในการต้านทานต่อสารเคมีกำจัดเชื้อรา metalaxyl พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากมันฝรั่งสามารถต้านทานสารเคมี metalaxyl ได้ดีกว่าเชื้อราที่แยกได้จากมะเขือเทศ และพบว่า เชื้อราแต่ละไอโซเลตมีความผันแปรต่อระดับความสามารถในการต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อรา metalaxyl ต่างกัน

Chowdappa และคณะ (2003) จัดจำแนกเชื้อรา *Phytophthora* spp. สาเหตุโรคเน่าในโกโก้ มะพร้าว black pepper และ bell pepper ที่ปลูกในประเทศอินเดีย โดยอาศัยความแตกต่างของ internal transcribed spacer (ITS) region ของ ribosomal gene repeat (rDNA) ซึ่งมีรายงานการศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ควบคู่ไปกับการใช้เทคนิค AFLP จากการทดลองพบว่า เทคนิค ITS-AFLP ให้ผลของความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ซึ่งสามารถแยกเชื้อรา *Phytophthora* spp. ออกเป็น 2 สปีชีส์ ได้แก่ *P. palmivora* ซึ่งเข้าทำลายโกโก้ และมะพร้าว ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอที่ไม่แตกต่างกัน และ *P. capsici* ซึ่งเข้าทำลายโกโก้ black pepper และ bell pepper ซึ่งพบว่า แถบดีเอ็นเอที่แยกได้จากโกโก้และพริกทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกัน จากการใช้เทคนิคนี้สามารถนำไปใช้ในการศึกษาความแปรปรวนของประชากรของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ได้

Bhat (2006) รวบรวมเชื้อรา *Phytophthora cactorum* จำนวน 132 ไอโซเลทจากแหล่งปลูกอัลมอนต์ สตรอเบอร์รี่ วอลนัท และพืชอาศัยอื่นๆ และเชื้อรา *Phytophthora* spp. จำนวน 22 ไอโซเลทที่เก็บจากพืชชนิดต่างๆ ในแคลิฟอร์เนีย นำมาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสามารถในการก่อให้เกิดโรค รวมถึงการศึกษาเปรียบเทียบความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่าง *P. cactorum* จากพืชต่างชนิดกัน และระหว่าง *P. cactorum* และ *Phytophthora* spp. สปีชีส์อื่น โดยใช้เทคนิค AFLP ควบคู่กับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการศึกษาความต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อรา mefenoxam (active isomeric form ของ metalaxyl) จากการใช้เทคนิค AFLP เพื่อตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ พบว่า เชื้อรา *Phytophthora* spp. จำนวน 161 ไอโซเลท จาก 22 ไอโซเลท ที่แยกได้ มีความแตกต่างของรูปแบบดีเอ็นเอเกิดขึ้น และเมื่อลองจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของ *P. cactorum* ในระหว่าง 132 ไอโซเลทที่แยกได้ พบว่า ความแตกต่างที่เกิดขึ้นเกี่ยวข้องกับพืชอาศัย และปัจจัยภายนอกอื่น ได้แก่ สภาพแวดล้อม และสภาพพื้นที่เพาะปลูก จากการศึกษาความสามารถในการต้านทานสารกำจัดเชื้อรา mefenoxam พบว่า *P. cactorum* ที่แยกได้จากพืชต่างๆ ในแคลิฟอร์เนียอ่อนแอต่อสารกำจัดเชื้อราชนิดนี้ จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *P. cactorum* ทำให้ทราบว่า ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นสัมพันธ์กับทั้งพืชอาศัย และสภาพพื้นที่เพาะปลูก ซึ่งจากการทดลอง สามารถนำไปใช้ในการหาวิธีการควบคุมและป้องกันโรคต่อไป

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

1. การสำรวจและการเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค

สำรวจการแพร่ระบาด และเก็บตัวอย่างยางพาราที่แสดงอาการลำต้นเน่า ใบร่วง หรือก้านใบดำจากแปลงปลูกยางพาราและแปลงเพาะชำกล้ายางของเกษตรกร ในพื้นที่ 5 อำเภอของจังหวัดสุราษฎร์ธานี ได้แก่ อำเภอเมือง ไชยา พุนพิน บ้านนาสาร และกาญจนดิษฐ์ บันทึกข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับสภาพภูมิอากาศ พื้นที่ปลูก ชนิดหรือพันธุ์ยางเพื่อเป็นข้อมูลประกอบ จากนั้นนำมาแยกเชื้อรา *Phytophthora* spp. ด้วยวิธี tissues transplanting โดยการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 2-3 ครั้ง ผึ่งให้แห้ง ตัดชิ้นเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคคาบเกี่ยวกับเนื้อเยื่อที่ปกติขนาดประมาณ 5x5 มิลลิเมตร วางชิ้นพืชบนอาหารคัดเลือก potato dextrose agar (PDA) ที่เติม Ampicillin (0.5% w/v), Benlate (0.02% w/v) และ Rifampicin (0.01% w/v) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในที่มืด ประมาณ 5-7 วัน แล้วนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

2.1 การศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

โดยการตัดส่วนปลายของสันใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ทุกไอโซเลทที่เลี้ยงบนอาหารคัดเลือก PDA มาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) ในที่มืด เป็นเวลา 7 วัน บันทึกลักษณะของโคโลนีของแต่ละไอโซเลทที่แยกได้

ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะบริเวณปลายสันใยของเชื้อรา นำไปวางบนอาหาร PDA โดยทำ 4 ซ้ำของแต่ละไอโซเลท บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน วัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* spp. แต่ละไอโซเลท

2.2 การศึกษาลักษณะของ sporangium

นำเชื้อราแต่ละไอโซเลทที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน มาเติมน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ ใช้แท่งแก้วรูปตัว L ขูดผิวหน้าเบาๆ แล้วใช้ micropipette คูด sporangium suspension หยดลงสไลด์ แล้วปิดทับด้วย cover slip และศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ วัดขนาด sporangium ของเชื้อราด้วย micrometer และตรวจดูลักษณะของ sporangium ของเชื้อราแต่ละไอโซเลท

3. การศึกษาความสามารถในการต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อรา metalaxyl

นำชิ้นวุ้นบริเวณเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. จากแต่ละไอโซเลท ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร วางลงบนกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เติมสารเคมี metalaxyl ที่ความเข้มข้น 0, 0.1, 1.0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) ในที่มืด เป็นเวลา 14-21 วัน โดยทำการทดลองความเข้มข้นละ 4 ซ้ำในแต่ละไอโซเลท สังเกตการเจริญเติบโต และบันทึกผล โดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี

4. การทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรค

4.1 ปลุกเชื้อราในทุกไอโซเลทบนใบยางพาราที่โตเต็มที่ โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา วางบนหลังใบของยางพาราที่พันก้านใบด้วยสำลিশุบน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ เก็บในกล่องรักษาความชื้น (humid box) วางในที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน นำมาตรวจดูการเกิดโรคและวัดพื้นที่แผลบนใบเปรียบเทียบกับควบคุม โดยใช้สำลিশุบน้ำนิ่งมาเชื้อแล้วในการทดลอง

4.2 การปลุกเชื้อราในทุกไอโซเลทลงบนลำต้นยางพารา โดยการทำแผลบริเวณกลางลำต้นยาง แล้วใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อราวางลงบนแผลที่ทำไว้ก่อนแล้ว จากนั้นปิดทับด้วยสำลีนึ่งมาเชื้อแล้ว พันด้วยพลาสติกใสอีกรอบ เพื่อรักษาความชื้น เก็บในกล่องรักษาความชื้น (humid box) วางในที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน สังเกตลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อ โดยวัดขนาดพื้นที่แผลบนลำต้น เปรียบเทียบกับควบคุม โดยการใช้สำลিশุบน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อแล้ววางลงบนแผลในการทดลอง

5. การตรวจสอบความต้านทานของต้นยางพาราชำถุงต่อเชื้อรา *Phytophthora* spp.

นำเชื้อรา *Phytophthora* spp. ทุกไอโซเลทที่แยกได้มาปลูกลงบนใบและลำต้น โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองในหัวข้อที่ 4 กับยางพารา 2 สายพันธุ์ คือ RRIT251 และ RRIM600 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกจากชิ้นส่วนของกล้ายางพาราชำถุงในจังหวัดสุราษฎร์ธานี

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การสำรวจและการเก็บตัวอย่างยางพาราที่เป็นโรค

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างยางพาราชำถุง จากร้านจำหน่ายกล้ายางชำถุงของเกษตรกรในพื้นที่ 5 อำเภอของจังหวัดสุราษฎร์ธานี ได้แก่ อำเภอเมือง กาญจนดิษฐ์ บ้านนาสาร พุนพิน และไชยา (ภาพที่ 1) รวมร้านที่เก็บตัวอย่างทั้งหมด 7 ร้าน ได้ตัวอย่างทั้งหมด 101 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างชิ้นส่วนของใบ ก้านใบ และลำต้น ยางพาราชำถุงที่แสดงอาการของโรคจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ซึ่งทำให้ก้านใบและลำต้นเกิดแผลมีสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม ส่วนบริเวณใบไม่แสดงอาการของโรคแต่ร่วงจากต้น เนื่องจาก เชื้อเข้าทำลายก้านใบและลำต้นเป็นสาเหตุให้ใบร่วงทั้งที่ยังสด (ภาพที่ 2)

จากการสังเกตสภาพแปลงและสภาพของร้านในแต่ละสถานที่พบว่า

ร้านไชยรัตน์พันธุ์ยาง อำเภอกาญจนดิษฐ์ (ภาพที่ 3ก) เป็นร้านที่มีขนาดใหญ่ มีต้นกล้ายางจำนวนมาก จำหน่ายกล้ายาง 3 พันธุ์ คือ พันธุ์ RRIM600, RRIT251 และ PB235 สภาพภายในร้าน มีการจัดวางต้นยางค่อนข้างแน่น พื้นแปลงเป็นดินลูกรังสีแดง มีน้ำขัง หลังคามุงด้วย สแลน 2 ชั้น สีขาวและสีดำซึ่งอยู่ติดกับต้นยาง แสงค่อนข้างทึบจึงคาดว่าอาจเหมาะกับการเกิดโรค นอกจากนี้บนใบยางทุกต้นมีรอยคราบสีขาวเป็นวงกลมเนื่องจากน้ำที่ใช้รดกล้ายางเป็นน้ำบาดาล รดน้ำจนท่วมพื้นดินที่วางกล้ายาง จากการสอบถามเกษตรกรที่ดูแลต้นยางพาราชำถุงกับเกษตรกร พบว่า ไม่รู้จักเชื้อรา *Phytophthora* spp. และไม่ทราบอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp.

ร้านอุธรพันธุ์ยาง อำเภอกาญจนดิษฐ์ (ภาพที่ 3ข) เป็นร้านขนาดปานกลาง จำหน่ายต้นกล้ายาง 2 สายพันธุ์ คือ RRIM600 และ RRIT251 ภายในร้านมีการจัดวางต้นยางเป็นแนว คูโปร่งโล่ง พื้นแปลงเป็นแบบกรวดหิน จากการสอบถาม พบว่า ต้นกล้ายางได้มาจากแหล่งเดียวกันกับร้านไชยรัตน์พันธุ์ยาง เกษตรกรรู้จักอาการของโรคและผลจากการเข้าทำลายของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp.

ร้านสาวพันธุ์ยาง อำเภอไชยา (ภาพที่ 3ค) เป็นแปลงยางพาราขนาดปานกลางอยู่ที่โล่ง ภายในร้านจำหน่ายยางพาราสายพันธุ์เดียว คือ RRIM600 ไม่มีบ้านเรือนและต้นไม้ในบริเวณนั้นเลย หลังคามุงด้วยสแลนสีดำชั้นเดียว มีบางช่วงที่ไม่มีการมุงหลังคาเพื่อให้ต้นยางมีความทนทานมากขึ้น

ร้านลุงเซยพันธุ์ยาง อำเภอไชยา (ภาพที่ 3ง) จากการสังเกตสภาพร้าน พบว่า เป็นแปลงยางพาราที่มีขนาดปานกลาง ภายในร้านจำหน่ายต้นกล้ายางพาราสายพันธุ์ RRIM600 และ RRIT251 หลังคามุงด้วยสาแลนดำชั้นเดียวระหว่างแปลงและบริเวณแปลงมีหญ้าขึ้น

ร้านปานพันธุ์ยาง อำเภอเมือง (ภาพที่ 3จ) เป็นแปลงยางพาราที่มีขนาดใหญ่ จำหน่ายต้นกล้ายางพาราสายพันธุ์เดียว คือ RRIM600 แต่มีการแบ่งแปลงเป็นแปลงย่อย 3 แปลงพื้นแปลงมีการโรยด้วยหินทำให้ไม่มีน้ำขังในแปลง การจัดวางต้นยางคูลงๆ มีการเปิดสแลนให้ยางได้รับแสงแดดเป็นช่วงๆด้วย นอกจากนี้ ดูแลต้นยางพาราโดยใช้สารสกัดชีวภาพร่วมกับสารเคมีในการกำจัดโรคและบำรุงต้นยาง อยู่เป็นประจำ

ร้านสะพาน 2 พันธุ์ยาง อำเภอบ้านนาสาร (ภาพที่ 3ฉ) เป็นร้านที่มีขนาดปานกลาง จำหน่ายกล้ายางสายพันธุ์เดียว คือ RRIM600 ภายในร้านมีการจัดวางต้นยางเป็นแนว พื้นร้านเป็นดินแดง มีหญ้าขึ้นระหว่างแถวยางและมีเศษใบไม้อยู่เต็ม หลังคามุงด้วยสาแลนชั้นเดียว จากการสอบถามผู้ดูแลร้านยางพาราชำถุง พบว่า ผู้ดูแลรู้จักเชื้อราสาเหตุของโรคใบร่วงของยางพารา แต่ในช่วงที่สำรวจและเก็บตัวอย่างไม่ค่อยได้ดูแล ต้องปล่อยให้ฝนทิ้งช่วงก่อนจึงจะค่อยฉีดยา และค่อยตัดแต่งกิ่งของยางที่เป็นโรคออกเพื่อให้กิ่งใหม่ที่ออกมาไม่เป็นโรค

ร้านสุพันธุ์ยาง อำเภอพุนพิน (ภาพที่ 3ช) เป็นแปลงยางพาราขนาดปานกลาง ภายในร้านจำหน่ายยางพาราสายพันธุ์เดียว คือ RRIM600 หลังคามุงด้วยสาแลนดำชั้นเดียว

ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างยางพาราแบ่งเป็น 2 ครั้งคือ ครั้งแรกเก็บตัวอย่างช่วงปลายเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2551 จากอำเภอกาญจนดิษฐ์และอำเภอบ้านนาสาร และครั้งที่ 2 ต้นเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 จากอำเภอไชยา อำเภอพุนพินและอำเภอเมือง ซึ่งทั้ง 2 ช่วงเวลาของการเก็บตัวอย่างมีลักษณะของภูมิอากาศที่แตกต่างกันมาก คือในช่วงเดือนพฤศจิกายน มีฝนตกหนักอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ในขณะที่ต้นเดือนมกราคมเป็นช่วงที่ปริมาณฝนทิ้งช่วงจึงทำให้ไม่พบเชื้อรา *Phytophthora* spp. เลย



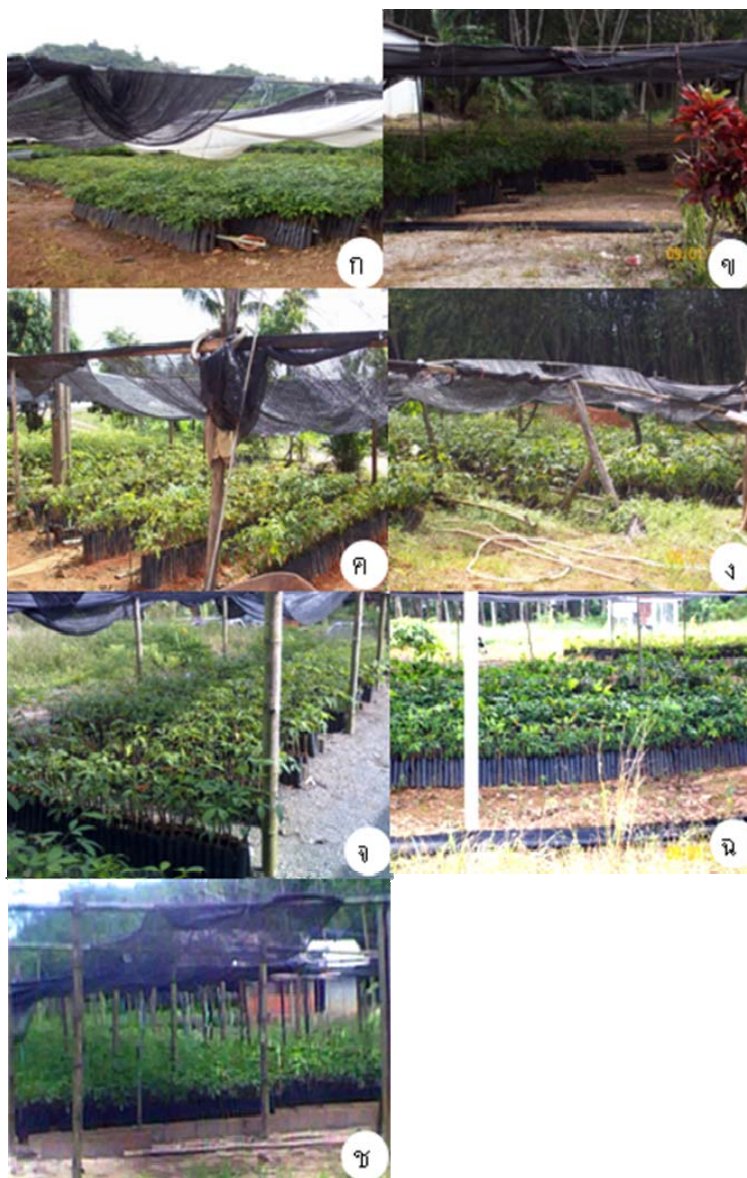
ภาพที่ 1 แผนที่แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดสุราษฎร์ธานี
ที่มา : นิรนาม2, (2552)



ภาพที่ 2 ลักษณะอาการของโรคที่เกิดบนกล้วยพารา

- ก. แสดงอาการของโรคที่ก้านใบ
- ข. แสดงอาการของโรคที่เกิดกับลำต้น

เมื่อได้ตัวอย่างมาแล้วนำมาแยกด้วยวิธี tissues transplanting จากนั้นนำตัวอย่างของ พาราวางลงบนอาหารคัดเลือก PDA ที่เติม Ampicillin (0.5% w/v), Benlate (0.02% w/v) และ Rifampicin (0.01% w/v) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5-7 วัน จากนั้นตัดชิ้นวัฏบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อไปวางบนอาหารคัดเลือกเดิมซ้ำอีกครั้ง จากนั้นสังเกตลักษณะของ โคลินี และสีของโคลินี และเส้นใย ที่เจริญบนอาหารคัดเลือก สามารถจัดจำแนกเชื้อรา *Phytophthora* spp. ได้ 9 ไอโซเลท ดังตารางที่ 1



ภาพที่ 3 สภาพร้านจำหน่ายข่าพาราชาดงในเขตอำเภอต่างๆของจังหวัดสุราษฎร์ธานี

- ก. ร้านไชยรัตน์พันธุ์ยาง อำเภอกาญจนดิษฐ์
- ข. ร้านอุธรพันธุ์ยาง อำเภอกาญจนดิษฐ์
- ค. ร้านสาวพันธุ์ยาง อำเภอไชยา
- ง. ร้านลุงเขยพันธุ์ยาง อำเภอไชยา
- จ. ร้านปานพันธุ์ยาง อำเภอเมือง
- ฉ. ร้านสะพาน 2 พันธุ์ยาง อำเภอบ้านนาสาร
- ช. ร้านสุพันธุ์ยาง อำเภอพุนพิน

ตารางที่ 1 เชื้อราสาเหตุโรคเน่าของยางพาราที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี

ไอโซเลท	สถานที่เก็บ	ส่วนที่เก็บ	ลักษณะอาการ
KD136	อำเภอกาญจนดิษฐ์	ลำต้น	แผลสีน้ำตาล มีจุดน้ำยาง
KD211	อำเภอกาญจนดิษฐ์	ก้านใบ	แผลสีน้ำตาลแห้ง
KD213	อำเภอกาญจนดิษฐ์	ก้านใบ	แผลสีน้ำตาลชุ่ม
KD215	อำเภอกาญจนดิษฐ์	ก้านใบ	แผลสีดำเข้ม ใหม้
NS131	อำเภอบ้านนาสาร	ลำต้น	แผลสีดำ
NS132	อำเภอบ้านนาสาร	ลำต้น	แผลสีดำแห้ง มีขอบชัด
NS133	อำเภอบ้านนาสาร	ลำต้น	แผลสีน้ำตาลอ่อน
NS135	อำเภอบ้านนาสาร	ลำต้น	แผลสีน้ำตาล
NS136	อำเภอบ้านนาสาร	ลำต้น	แผลสีดำเข้ม มีจุดน้ำยาง

หมายเหตุ * NS คือ อำเภอบ้านนาสาร, KD คือ อำเภอกาญจนดิษฐ์

หมายเลขตัวแรก ลำดับร้าน, หมายเลขตัวที่สองลำดับตัวอย่าง, หมายเลขตัวที่สาม ลำดับแผล

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

2.1 การศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกมาจากยางพาราชำถุงทั้งบริเวณใบ และก้านใบ ด้วยวิธี tissues transplanting โดยการเลี้ยงบนอาหารคัดเลือก PDA ที่เติม Ampicillin (0.5% w/v), Benlate (0.02% w/v) และ Rifampicin (0.01% w/v) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5-7 วัน (ภาพที่ 4) จากนั้นนำเชื้อรา *Phytophthora* spp. เลี้ยงบนอาหาร PDA เพื่อศึกษาลักษณะของโคโลนี (ภาพที่ 5) พบว่า ลักษณะโคโลนีของเชื้อรามีความแตกต่างกันสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 เส้นใยมีลักษณะละเอียด ฟูปานกลางและเจริญอย่างสม่ำเสมอ ได้แก่ ไอโซเลท KD211, KD213, KD215, NS131 และ NS133

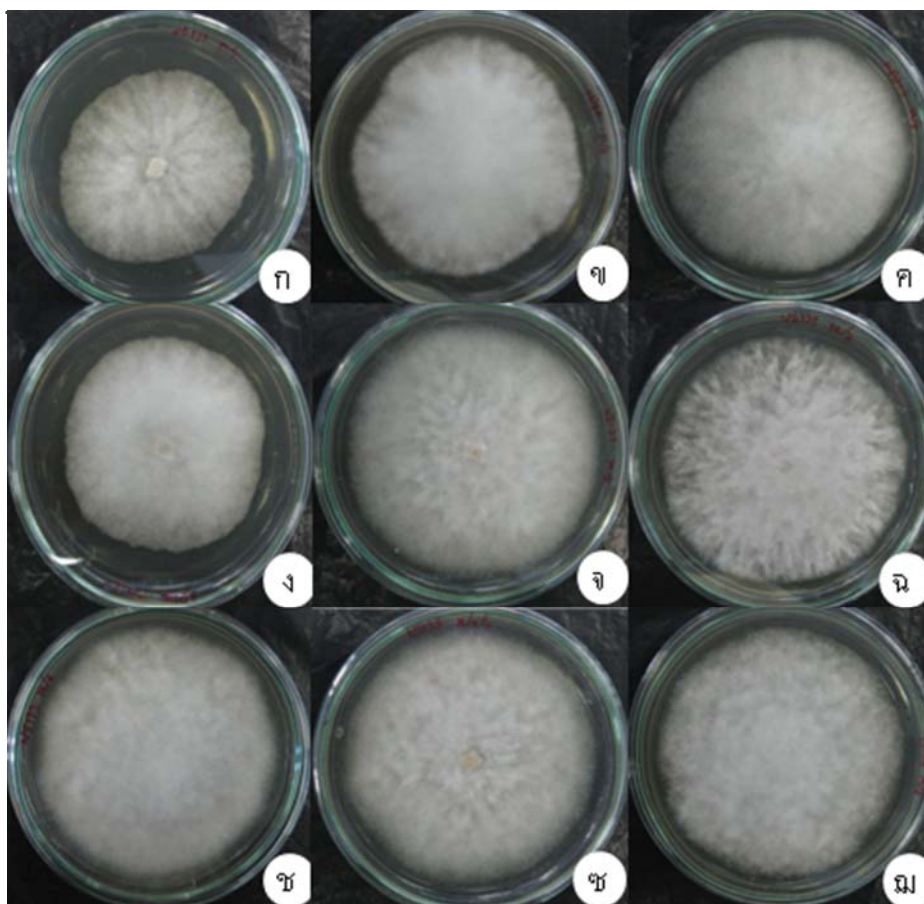
กลุ่มที่ 2 เส้นใยมีลักษณะละเอียด ฟูปานกลาง เจริญเป็นແຈກປ່າຍแหลมหรือมนคล้ายรูปดาว หรือกลีบดอกไม้ซ้อนกัน ได้แก่ KD136, NS132, NS135 และ NS136

เมื่อทำการวัดขนาดโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน พบว่าเชื้อราไอโซเลท NS136 มีการเจริญเติบโตของโคโลนีเฉลี่ยมากที่สุด คือ 9.00 เซนติเมตร รองลงมาคือไอโซเลท NS133, NS132, KD136, NS131, NS135, KD213, KD211 และ KD215 มีการเจริญเติบโตของโคโลนีเฉลี่ย 7.78, 7.15, 7.01, 6.95, 6.70, 6.60, 6.55 และ 6.13 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2, ภาพที่ 5)

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA

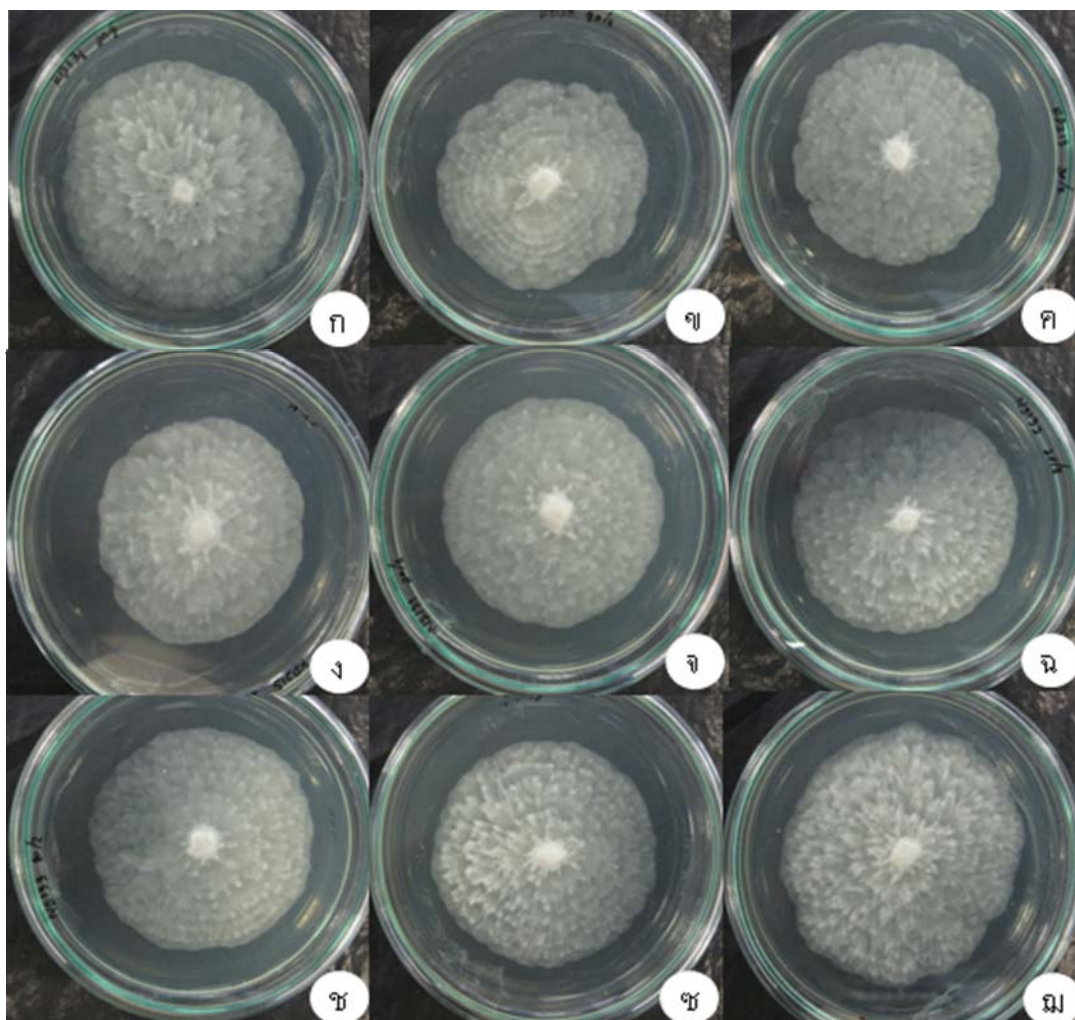
ไอโซเลท	ขนาดของโคโลนีของเชื้อรา (เซนติเมตร)*
KD136	7.01
KD211	6.55
KD213	6.60
KD215	6.13
NS131	6.95
NS132	7.15
NS133	7.78
NS135	6.70
NS136	9.00

*ค่าจากการทดลอง 4 ซ้ำ



ภาพที่ 4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกได้ 9 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหาร
 คัดเลือก PDA ที่เติม ที่เติม Ampicillin (0.5% w/v), Benlate (0.02% w/v) และ
 Rifampicin (0.01% w/v) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน

- | | |
|-----------|----------|
| ก. KD136 | ข. KD211 |
| ค. KD213 | ง. KD215 |
| จ. NS131 | ฉ. NS132 |
| ช. NS 133 | ซ. NS135 |
| ฅ. NS136 | |



ภาพที่ 5 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกได้ 9 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหาร
คัดเลือก PDA ป่มที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน

- | | |
|-----------|----------|
| ก. KD136 | ข. KD211 |
| ค. KD213 | ง. KD215 |
| จ. NS131 | ฉ. NS132 |
| ช. NS 133 | ซ. NS135 |
| ฅ. NS136 | |

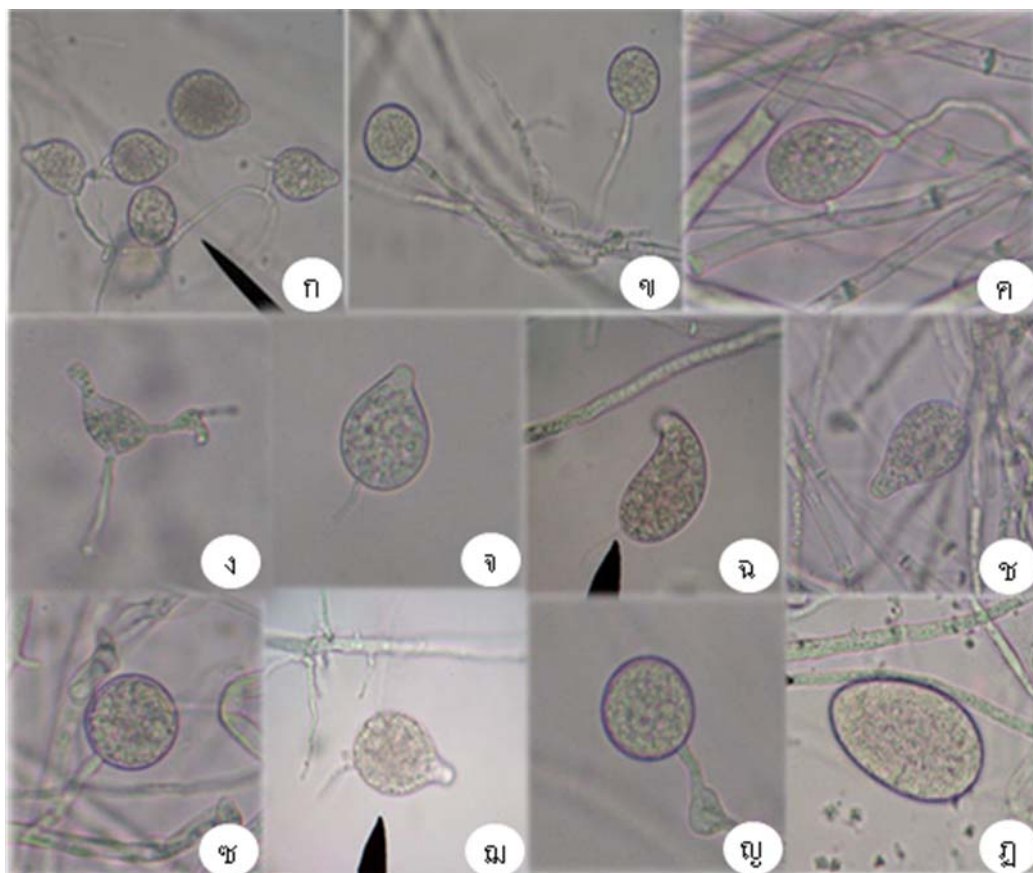
2.2 การศึกษาลักษณะของ Sporangium และเส้นใย (mycelium) ของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

จากการศึกษาลักษณะ Sporangium ของเชื้อราที่เจริญอยู่บนอาหาร PDA ทั้ง 9 ไอโซเลท ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า พบว่า เชื้อราสร้าง Sporangium รูปแบบผลมะนาว (ภาพที่ 6) ขนาดของสปอร์ที่วัดได้มีขนาดตั้งแต่ 2.85-5.81 ไมครอน เมื่อสปอร์ของเชื้อรามีอายุมากขึ้นและอยู่ในสภาวะที่พร้อมจะสืบพันธุ์ก็จะมีกรงอก germ tube ออกมา เชื้อราไอโซเลท KD215 สามารถสร้าง Sporangium ได้ขนาดใหญ่ที่สุด คือมีขนาด 5.81 ไมครอน รองลงมาคือ ไอโซเลท KD211, NS131, NS132, KD136, NS135, NS136, KD213 และ NS133 ซึ่งสามารถสร้าง Sporangium ขนาด 3.75, 3.67, 3.5, 3.33, 3.24, 3.15, 2.89 และ 2.85 ไมครอน ตามลำดับ (ตารางที่ 3) เชื้อรา *Phytophthora* spp. ทุกไอโซเลทจะสร้างเส้นใยสีขาว ที่ไม่มีผนังกันในระยะแรกของการเจริญเติบโต เมื่อมีอายุมากขึ้นจะสังเกตเห็นเส้นใยมีการสร้างผนังกันเกิดขึ้น (ภาพที่ 7)

ตารางที่ 3 ขนาด sporangium ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. โดยเฉลี่ย

ไอโซเลท	ขนาดของ sporangium โดยเฉลี่ย(ไมครอน)*
KD136	3.33
KD211	3.75
KD213	2.89
KD215	5.81
NS131	3.67
NS132	3.5
NS133	2.85
NS135	3.24
NS136	3.15

*ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 4 ซ้ำ



ภาพที่ 6 ลักษณะ sporangium ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ทั้ง 9 ไอโซเลต

ก. sporangium และ oospore ของเชื้อรา ไอโซเลต NS135

ข. sporangium รูปร่างกลมอยู่บนก้านชู ไอโซเลต NS133

ค. sporangium กำลังงอก germ-tube โดยตรงของเชื้อราไอโซเลต KD136

ง. sporangium กำลังงอกของเชื้อราไอโซเลต KD211

จ. sporangium ของเชื้อราไอโซเลต KD213

ฉ. sporangium ของเชื้อราไอโซเลต KD215

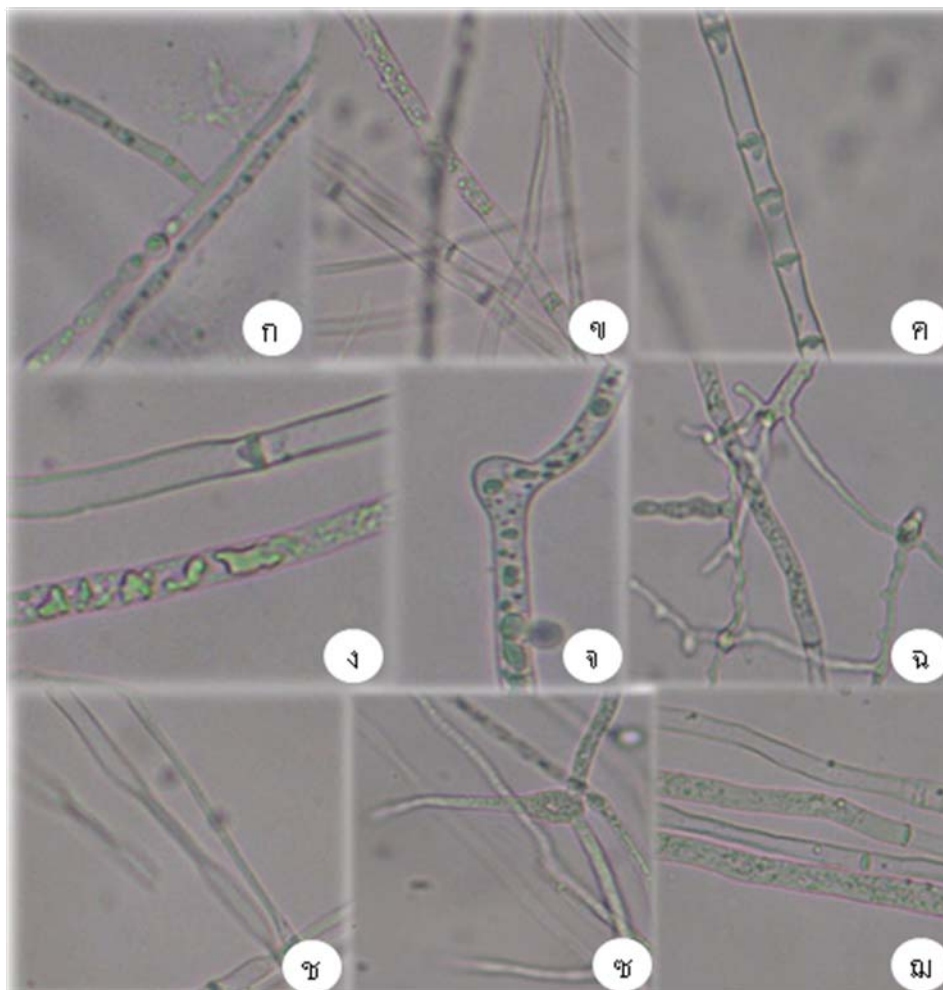
ช. sporangium ของเชื้อราไอโซเลต NS131

ฌ. sporangium ของเชื้อราไอโซเลต NS132

ณ. sporangium รูปร่างมะนาวของเชื้อราไอโซเลต NS133

ญ. sporangium เชื้อราไอโซเลต NS135

ฎ. sporangium รูปไข่ ของเชื้อราไอโซเลต NS136



ภาพที่ 7 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ทั้ง 9 ไอโซเลต

- ก. เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลต KD136
- ข. เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลต KD211
- ค. เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลต KD213
- ง. เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลต KD215
- จ. เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลต NS131
- ฉ. เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลต NS132
- ช. เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลต NS133
- ซ. เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลต NS135
- ฅ. เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลต NS136

3. การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp.

จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora* spp. ทั้ง 9 ไอโซเลท ของสารเคมี metalaxyl ที่มีความเข้มข้น 0, 0.1, 1, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะขึ้นรู้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. วางลงตรงกลางอาหาร PDA ที่เติมสารเคมี metalaxyl แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน พบว่า สารเคมี metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ทุกไอโซเลท (ภาพที่ 8-16) ซึ่งพบว่า สารเคมี metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราได้ดีที่สุด ซึ่งสารเคมี metalaxyl มีความสามารถในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราแตกต่างกันในแต่ละไอโซเลท (ตารางที่ 4 และภาพที่ 8-16)

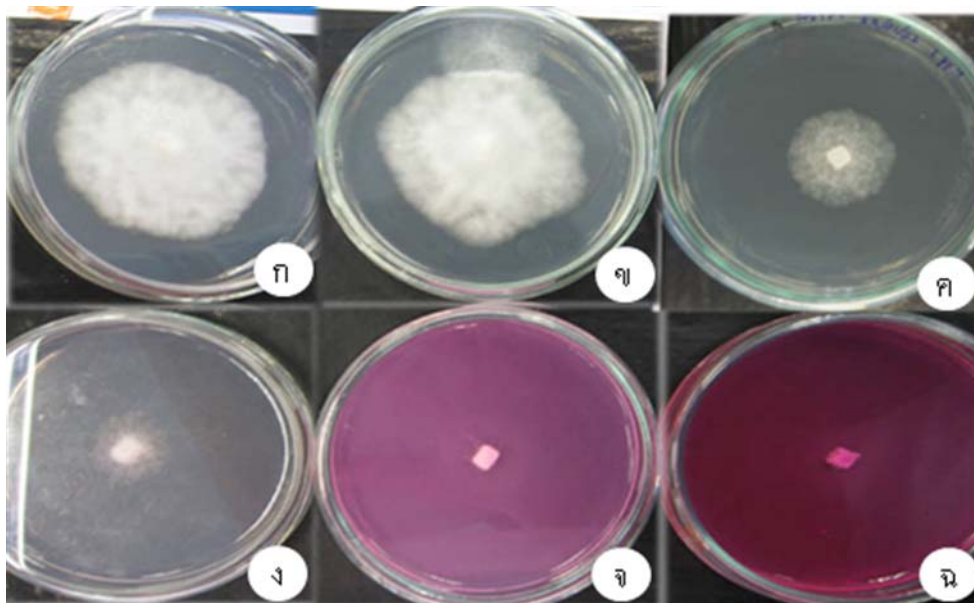
จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา ทั้ง 9 ไอโซเลท พบว่า มีเชื้อรา 8 ไอโซเลท ที่สารเคมี metalaxyl สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดี โดยไอโซเลทที่มีความอ่อนแอต่อสารเคมี metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มากที่สุด คือ KD215, NS131 และ KD213 ซึ่งวัดขนาดโคโลนีได้ 0.6 เซนติเมตร และ NS132 ซึ่งวัดขนาดของโคโลนีได้ 0.63 เซนติเมตร ตามลำดับ และเชื้อรามีความต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl มากที่สุด มีเพียงไอโซเลทเดียว คือ ไอโซเลท NS136 พบว่า สารเคมี metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร วัดขนาดโคโลนีของเชื้อราได้ 2.50 เซนติเมตร (ตารางที่ 4 และภาพที่ 16)

ตารางที่ 4 การทดสอบความสามารถในการต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl ของเชื้อรา

Phytophthora spp.

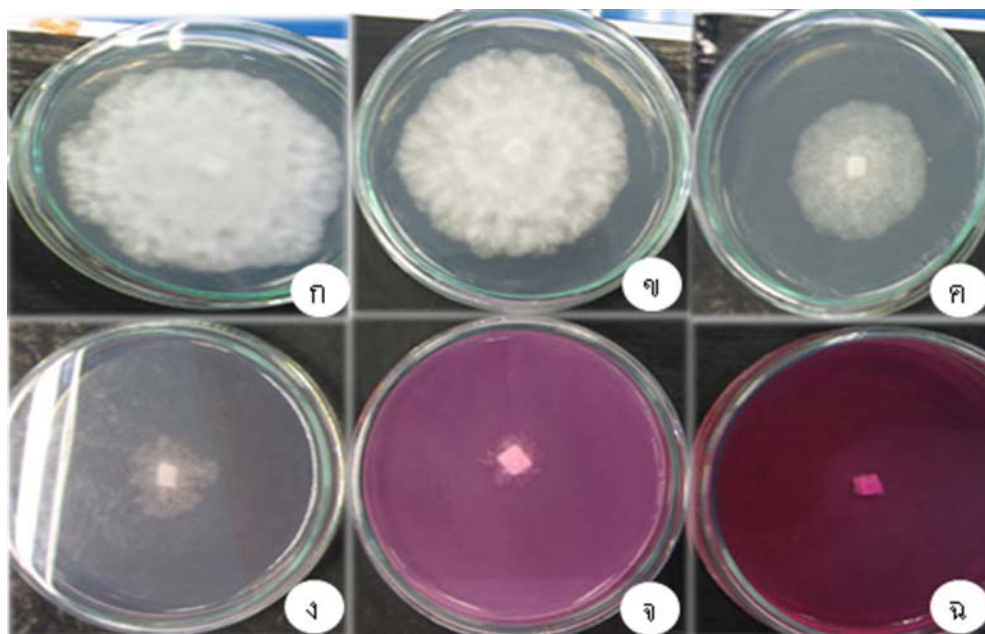
ไอโซเลท	ขนาดของโคโลนีเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. บนอาหารที่เติมสารเคมี metalaxyl ที่ความเข้มข้นต่างๆ (เซนติเมตร)*					
	0 มก./ล	0.1 มก./ล	1 มก./ล	10 มก./ล	100 มก./ล	1,000 มก./ล
KD136	7.73	6.95	5.45	2.83	1.98	1.00
KD211	6.48	5.58	4.15	2.33	1.18	0.80
KD213	7.28	6.43	4.40	2.25	1.58	0.60
KD215	5.93	5.90	3.53	2.30	1.08	0.60
NS131	6.88	6.43	4.58	3.03	1.10	0.60
NS132	7.13	6.73	4.30	2.53	1.55	0.63
NS133	6.75	6.63	3.80	2.63	1.35	0.90
NS135	7.83	6.70	4.50	2.65	1.63	0.78
NS136	9.00	6.73	6.98	7.45	6.60	2.50

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 4 ซ้ำ



ภาพที่ 8 ประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลต KD136

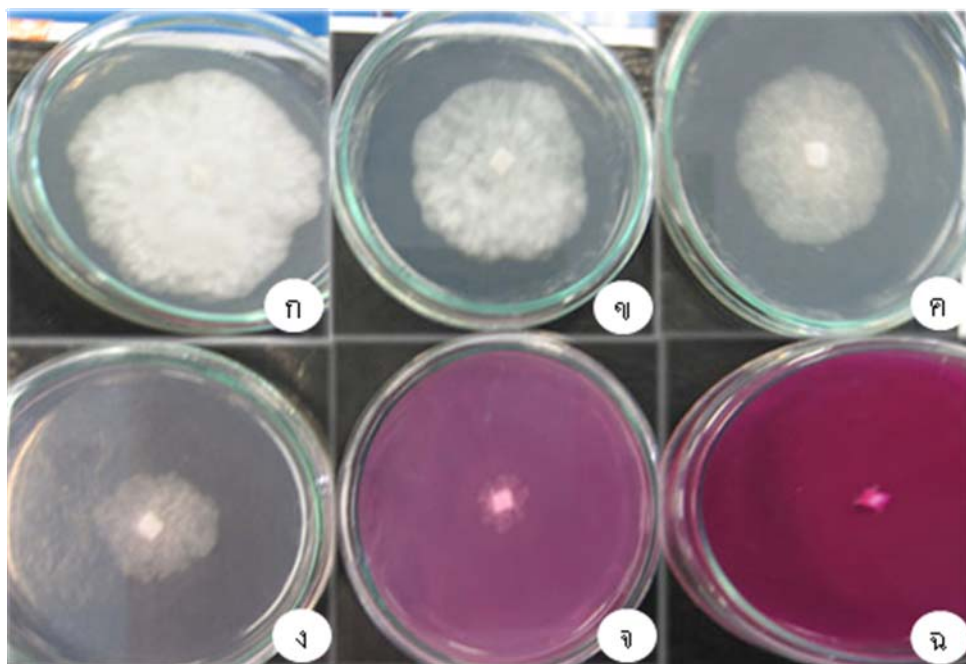
- ก. ชุดควบคุม (control) อาหาร PDA ที่ไม่เติม metalaxyl
- ข. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร
- จ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ฉ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 9 ประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

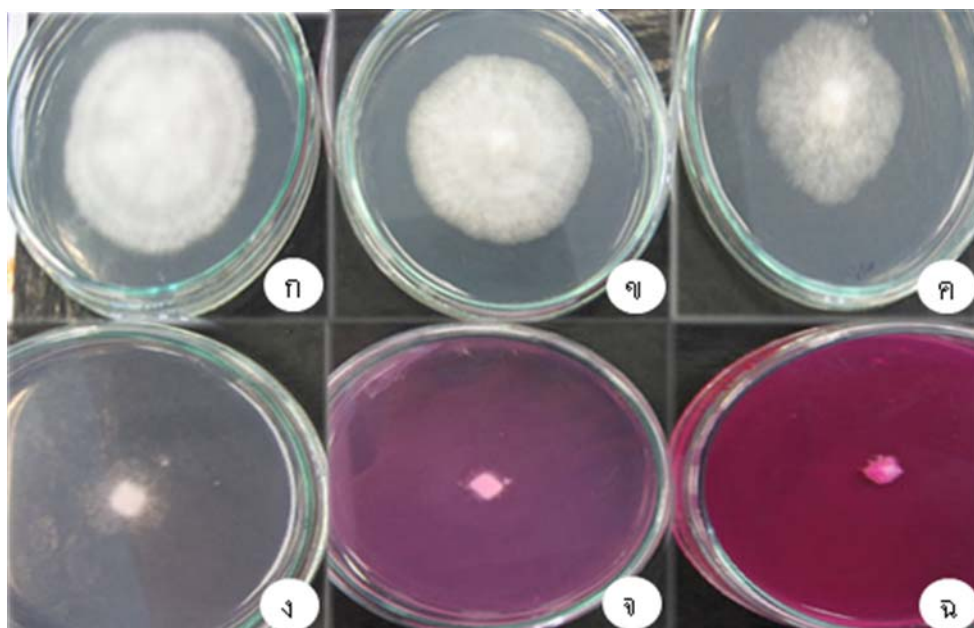
ไอโซเลต KD211

- ก. ชุดควบคุม (control) อาหาร PDA ที่ไม่เติม metalaxyl
- ข. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร
- จ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ฉ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร



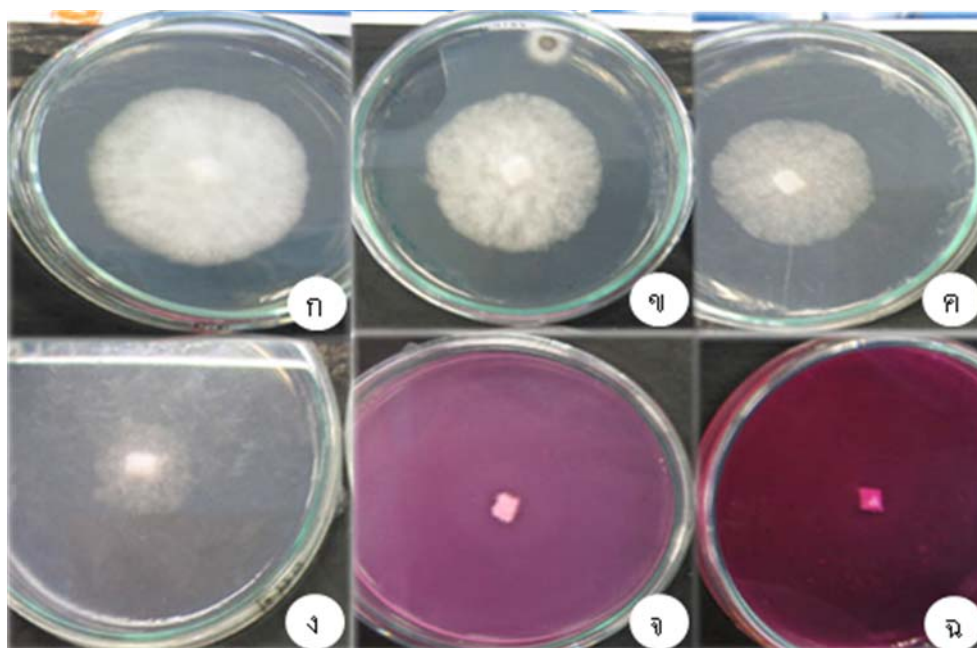
ภาพที่ 10 ประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp ไอโซเลต KD213

- ก. ชุดควบคุม (control) อาหาร PDA ที่ไม่เติม metalaxyl
- ข. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร
- จ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ฉ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 11 ประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลต KD215

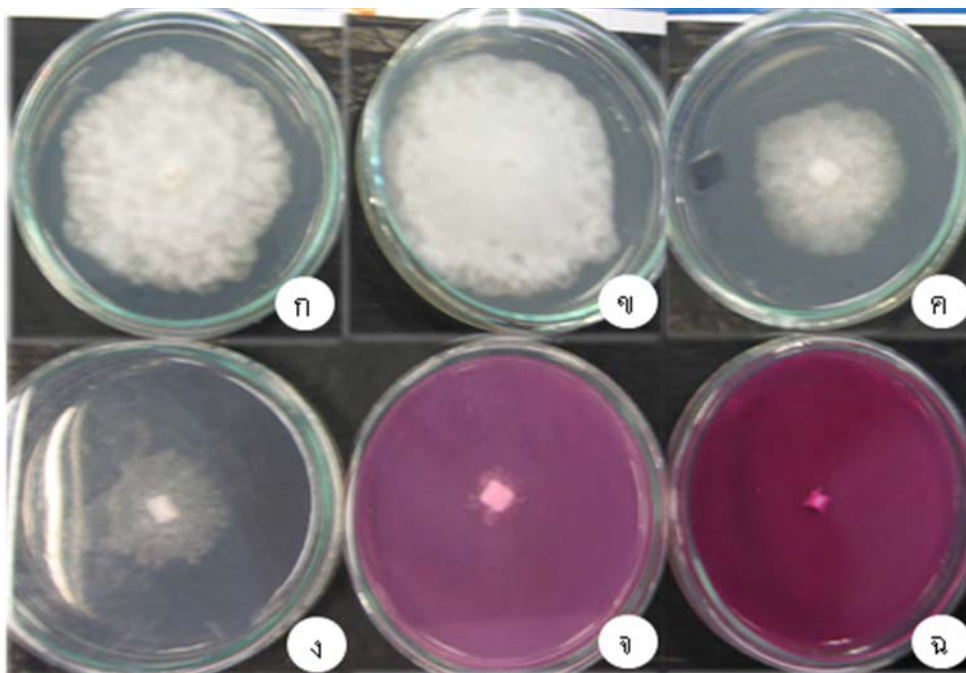
- ก. ชุดควบคุม (control) อาหาร PDA ที่ไม่เติม metalaxyl
- ข. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร
- จ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ฉ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 12 ประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

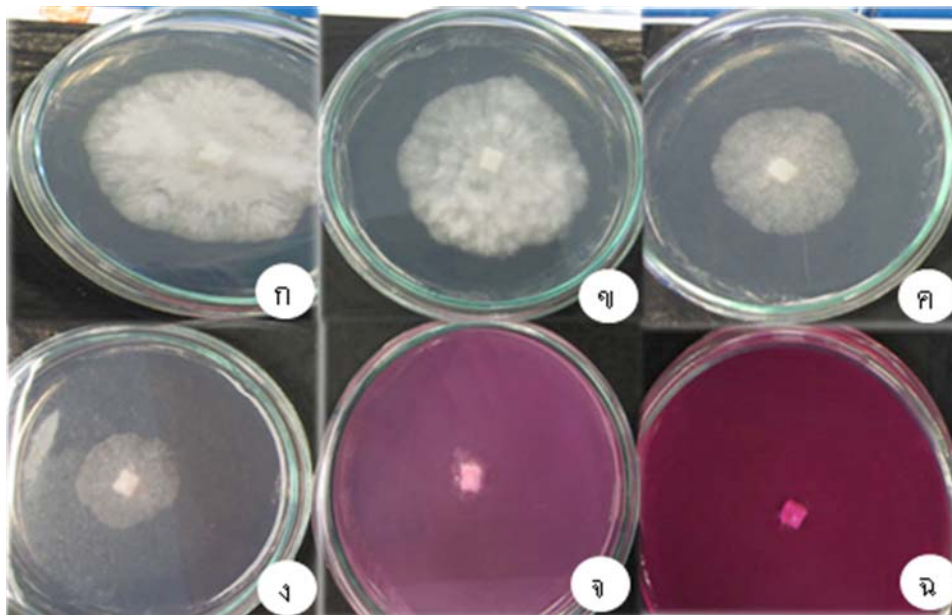
ไอโซเลต NS131

- ก. ชุดควบคุม (control) อาหาร PDA ที่ไม่เติม metalaxyl
- ข. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร
- จ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ฉ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 13 ประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลต NS132

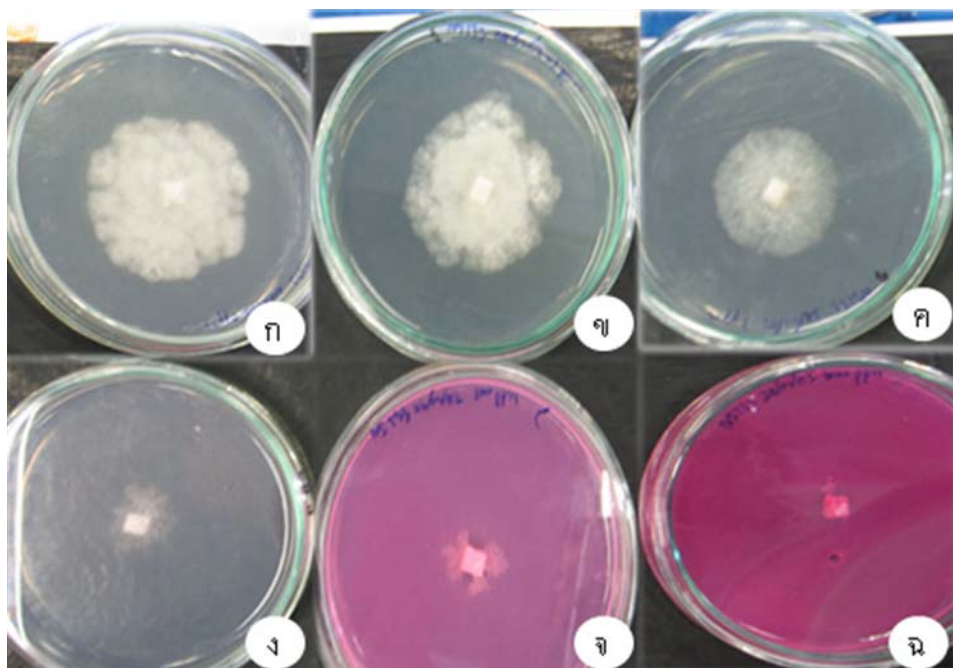
- ก. ชุดควบคุม (control) อาหาร PDA ที่ไม่เติม metalaxyl
- ข. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร
- จ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ฉ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 14 ประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

ไอโซเลต NS133

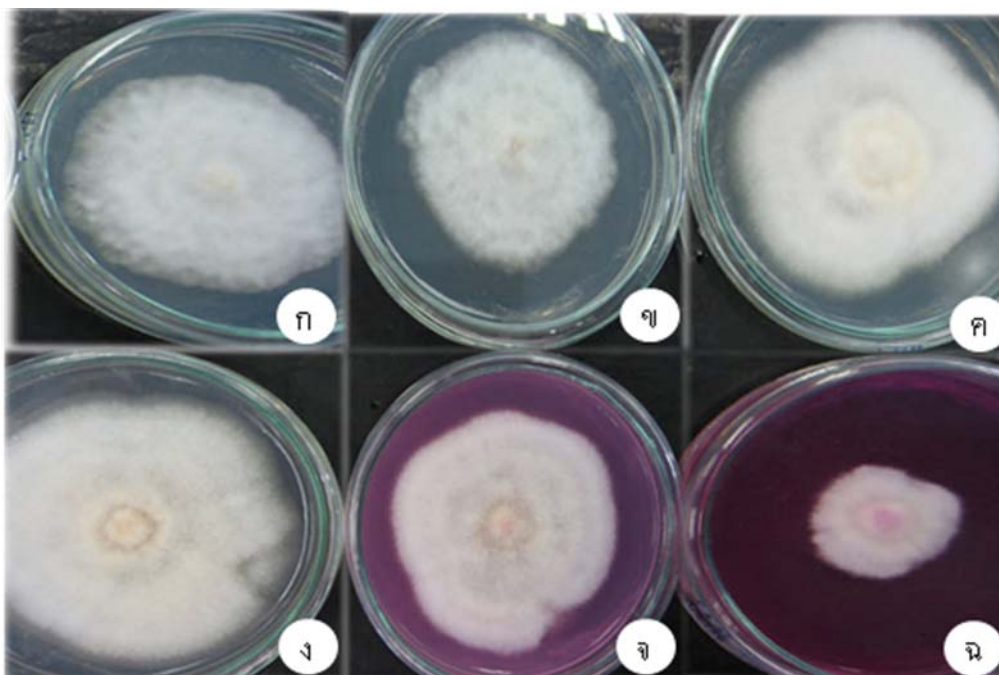
- ก. ชุดควบคุม (control) อาหาร PDA ที่ไม่เติม metalaxyl
- ข. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร
- จ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ฉ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 15 ประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

ไอโซเลต NS135

- ก. ชุดควบคุม (control) อาหาร PDA ที่ไม่เติม metalaxyl
- ข. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร
- จ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ฉ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 16 ประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

ไอโซเลต NS136

- ก. ชุดควบคุม (control) อาหาร PDA ที่ไม่เติม metalaxyl
- ข. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร
- จ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ฉ. อาหาร PDA ที่เติม metalaxyl เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

4. ทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรค

ทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกได้ทั้งหมด 9 ไอโซเลท โดยทดสอบในยางพาราพันธุ์ RRIM600 โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง คือ

4.1 การทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora* spp. บนใบยางพาราสายพันธุ์ RRIM600

พบว่า เชื้อรา *Phytophthora* spp. ทุกไอโซเลทสามารถทำให้เกิดโรคกับยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ได้ โดยที่เชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลท NS136 ก่อให้เกิดแผลบนใบยางพารามากที่สุดเท่ากับ 4.78 เซนติเมตร (ตารางที่ 5, ภาพที่ 17ฉ) รองลงมาคือ ไอโซเลท NS132, KD211, KD213, NS135, NS133, KD215, KD136 และ NS131 ตามลำดับ โดยมีขนาดของแผล 4.65, 4.50, 4.28, 4.20, 3.10, 2.75, 2.20 และ 1.73 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 5, ภาพที่ 17ก-ซ)

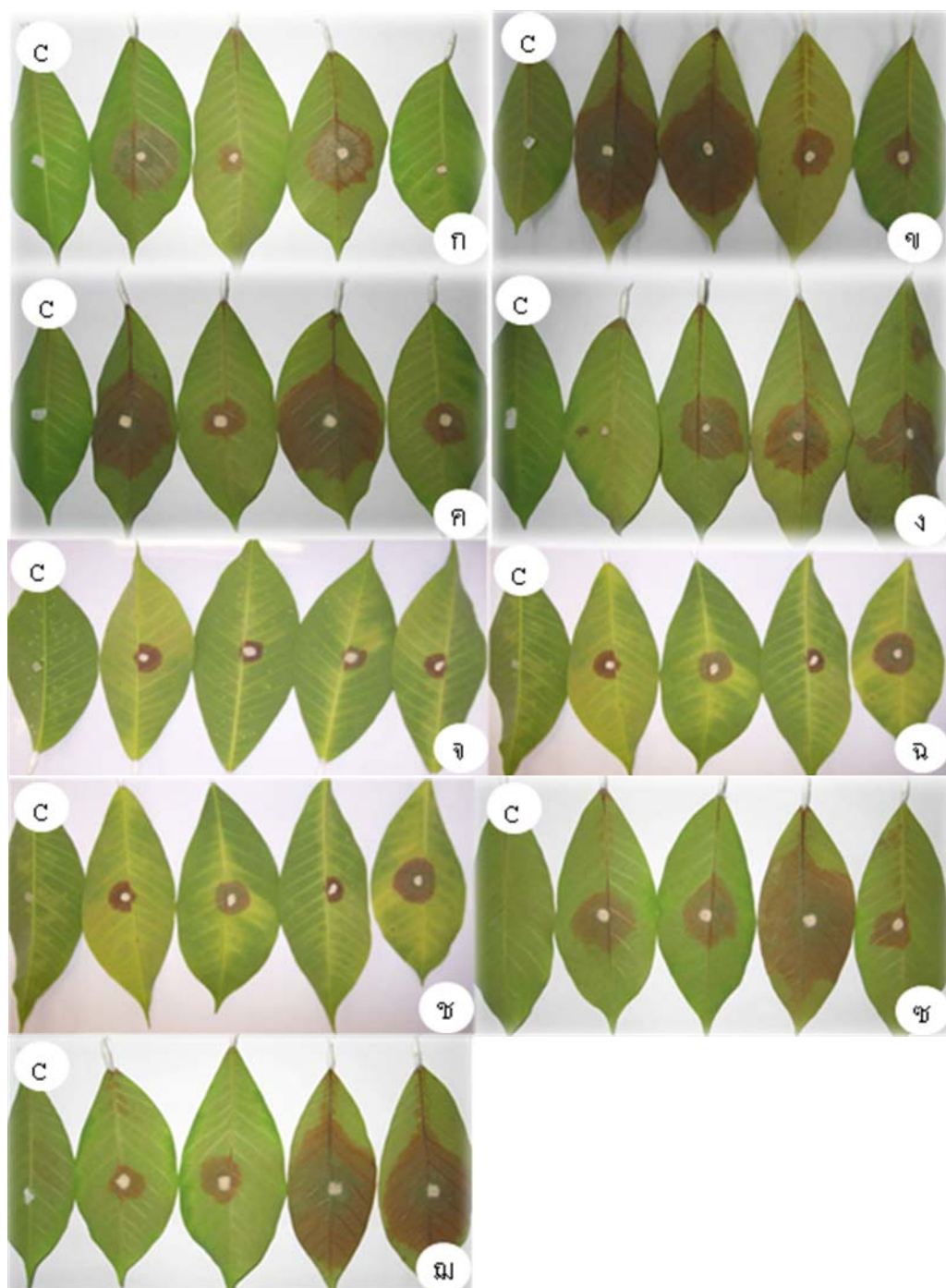
4.2 การทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora* spp. บนลำต้นกล้ายางพาราสายพันธุ์ RRIM600

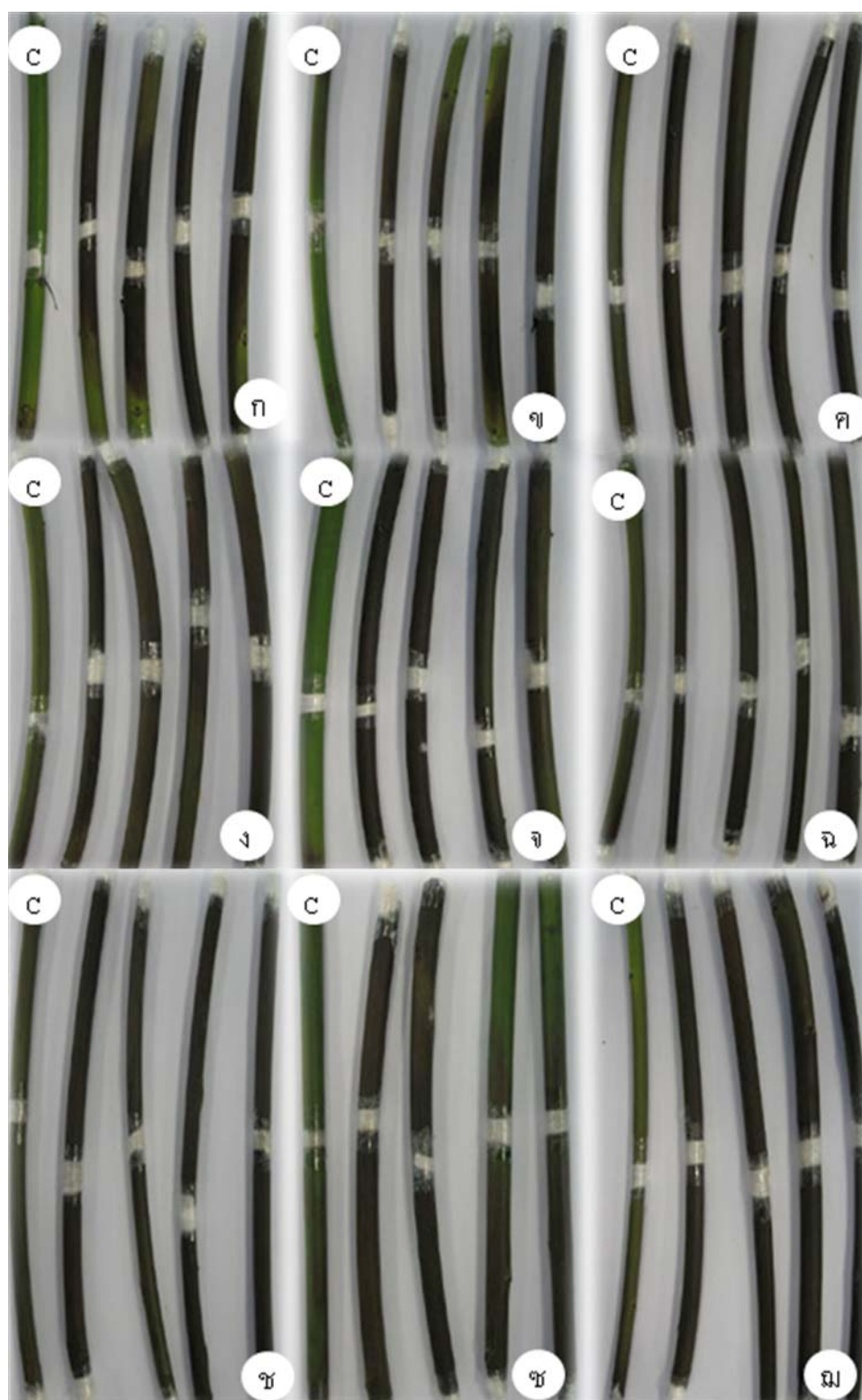
พบว่า เชื้อรา *Phytophthora* spp. ทุกไอโซเลทสามารถเข้าทำลายยางพาราพันธุ์ RRIM600 ได้ โดยที่เชื้อราไอโซเลท KD213 และ NS132 ก่อให้เกิดแผลบนลำต้นยางพารามากที่สุดเท่ากับ 17.00 เซนติเมตร (ตารางที่ 5, ภาพที่ 18ค และฉ) รองลงมาคือไอโซเลท NS131, KD215, NS133, KD211, NS135, KD136, และ NS136 โดยมีขนาดของแผล 16.88, 16.78, 16.75, 15.33, 14.73, 13.75 และ 12.75 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 5, ภาพที่ 18ก, ข, ง, จ, ช, ซ และฉ) ลักษณะของแผลมีความแตกต่างกันคือ เชื้อราไอโซเลท KD213 และ KD136 พบว่าแผลที่เกิดมีสีดำเข้ม แห้ง คล้ายเป็นรอยไฟลวก มีขอบเขตของแผลชัดเจน รองลงมาคือ KD215 และ NS133 พบแผลมีสีดำเข้ม มีขอบเขตแผลค่อนข้างชัด (ภาพที่ 18ง และ ช) และไอโซเลท KD211, NS131, NS132, NS135 และ NS136 พบแผลที่เกิดมีสีน้ำตาล ไม่แห้ง แผลมีขอบเขตการทำลายที่ไม่ชัดเจน (ภาพที่ 18ข, จ-ฉ)

ตารางที่ 5 ขนาดผลจากการเข้าทำลายของเชื้อราบริเวณใบและลำต้นยางพาราสายพันธุ์ RRIM600 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ RRIT251 หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 5 วัน

ไอโซเลท	ขนาดการเข้าทำลาย (เซนติเมตร)*			
	สายพันธุ์ RIM600		สายพันธุ์ RRIT251	
	ใบ	ลำต้น	ใบ	ลำต้น
KD136	2.20	13.75	0.00	9.80
KD211	4.50	15.33	0.13	14.13
KD213	4.28	17.00	0.40	11.88
KD215	2.75	16.78	0.90	13.50
NS131	1.73	16.88	2.03	16.50
NS132	4.65	17.00	0.38	14.13
NS133	3.10	16.75	1.60	11.43
NS135	4.20	14.73	0.40	8.65
NS136	4.78	12.75	0.55	11.63
ควบคุม	0	0	0	0

*ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 4 ซ้ำ





5. การตรวจสอบความต้านทานของยางพาราต่อเชื้อรา *Phytophthora* spp.

จากการทดสอบความต้านทานของยางพาราต่อเชื้อรา *Phytophthora* spp. โดยการปลูกเชื้อด้วยเส้นใยของเชื้อราทุกไอโซเลตลงบนใบและลำต้น ทำการทดลองกับยางพาราสายพันธุ์ RRIM600 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ RRIT251 แล้วนำไปบ่มในกล่องรักษาความชื้นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

5.1 ยางพาราสายพันธุ์ RRIM600

เมื่อปลูกเชื้อลงบนด้านหลังของแผ่นใบ พบว่า เชื้อสามารถเข้าทำลายเนื้อเยื่อของใบหลังจากปลูกเชื้อ 1-2 วัน ในระยะแรกเกิดรอยแผลมีสีน้ำตาลและค่อยๆ ขยายขึ้นพร้อมกับแผลขยายขนาดใหญ่ขึ้นตามระยะเวลาที่ปลูกเชื้อ เชื้อราทุกไอโซเลตสามารถเข้าทำลายยางพาราพันธุ์ RRIM600 ได้ และสามารถสังเกตแผลที่เชื้อราเข้าทำลายได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 17) โดยใบยางที่ปลูกเชื้อราไอโซเลต NS136 แผลมีขนาดใหญ่ที่สุด คือ 4.78 เซนติเมตร ลักษณะของแผลมีสีน้ำตาลคล้ายรอยเหี่ยวของใบยางที่โดนแดดเผา ส่วนไอโซเลตที่ก่อให้เกิดแผลขนาดเล็กที่สุด คือ ไอโซเลต NS131 แผลมีขนาด 1.73 เซนติเมตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายางพาราสายพันธุ์ RRIM600 มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ค่อนข้างสูง

เมื่อปลูกเชื้อลงบนลำต้น พบว่า เชื้อสามารถเข้าทำลายหลังจากปลูกเชื้อ 1-2 วัน โดยในระยะแรกลักษณะของแผลที่เกิดมีสีดำ และค่อยๆ ขยายขึ้นตามระยะเวลาของการปลูกเชื้อ และจะขยายไปตามความยาวของลำต้น จนทำให้แผลที่เชื้อเข้าทำลายมีลักษณะคอดเหี่ยวแห้ง เชื้อราทุกไอโซเลตสามารถก่อให้เกิดโรคบนลำต้นของยางพาราได้เช่นเดียวกับบนใบยางพารา (ภาพที่ 18) โดยเชื้อราไอโซเลต NS132 และ KD213 สามารถก่อให้เกิดแผลขนาดใหญ่ที่สุด คือ 17 เซนติเมตร ในขณะที่ไอโซเลตที่ก่อให้เกิดแผลขนาดเล็กที่สุด คือ NS136 มีแผลขนาด 12.75 เซนติเมตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายางพาราสายพันธุ์ RRIM600 มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ค่อนข้างสูง

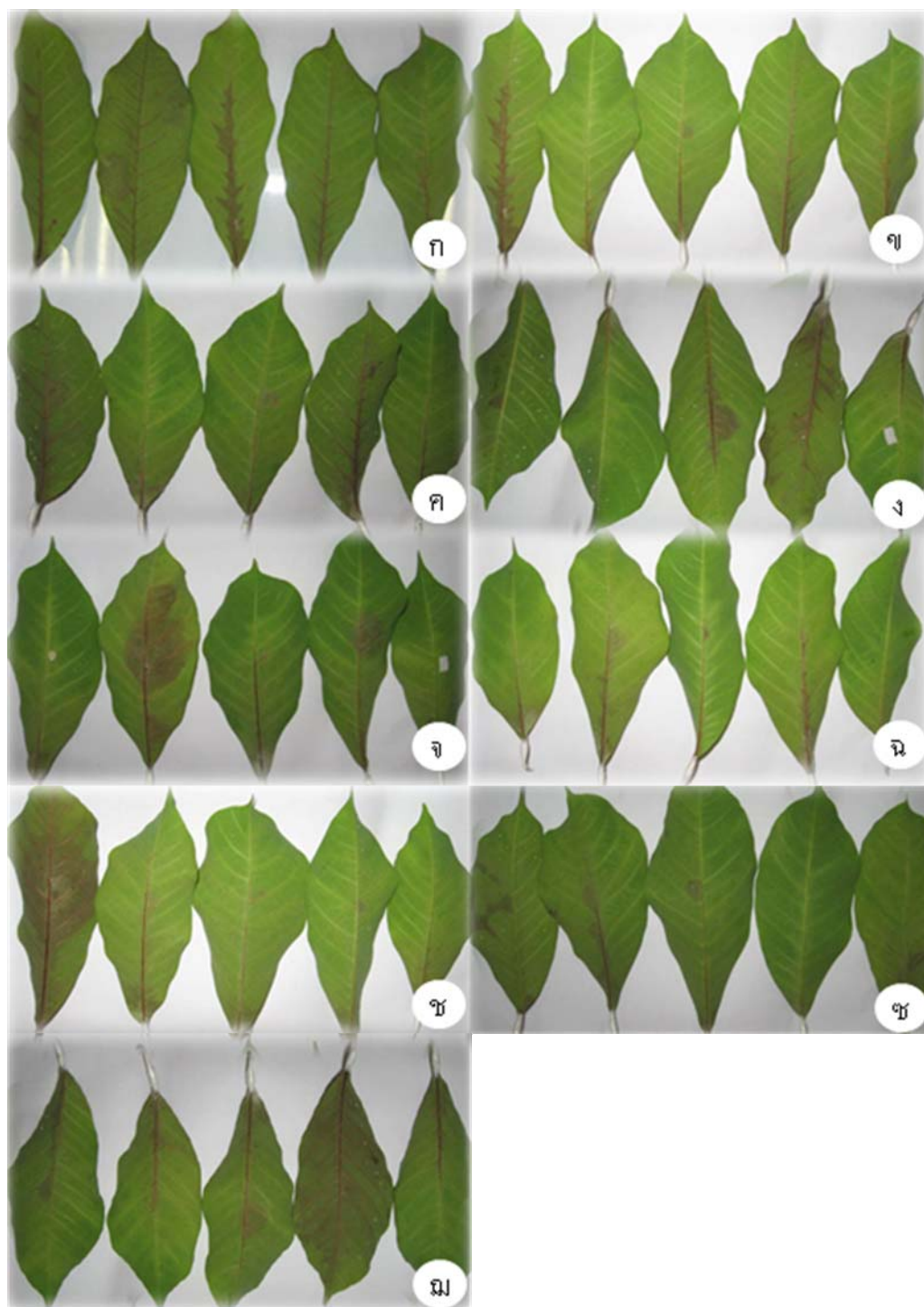
5.2 ยางพาราสายพันธุ์ RRIT251

เมื่อปลูกเชื้อราลงบนใบของยางพารา พบว่า เชื้อราที่สามารถเข้าทำลายยางพาราพันธุ์นี้ได้มากที่สุดคือ ไอโซเลต NS131 โดยมีขนาดของแผล 2.03 เซนติเมตร โดยลักษณะของแผลที่เกิด

บนใบยางมีสีน้ำตาลอ่อนมาก คล้ายกับเชื้อไม่สามารถเข้าทำลายลึกลงในระดับเนื้อเยื่อของพืชได้ (ภาพที่ 19) และเชื้อราไอโซเลทที่ไม่สามารถเข้าทำลายยางพาราพันธุ์นี้ได้เลย คือ KD136

เมื่อปลูกเชื้อราลงบนลำต้นของยางพาราพันธุ์ RRIT251 พบว่า เชื้อเริ่มเข้าทำลายปรากฏแผลให้เห็นหลังจากการปลูกเชื้อ 3 วัน และเชื้อราทุกไอโซเลทสามารถเข้าทำลายลำต้นยางพาราได้ (ภาพที่ 20) แผลมีลักษณะของสีน้ำตาลขึ้น คล้ายกันทุกไอโซเลท

จากผลการทดลองปลูกเชื้อรา *Phytophthora* spp. ทั้ง 9 ไอโซเลทลงบนยางพาราสายพันธุ์ RRIM600 เปรียบเทียบกับยางพาราสายพันธุ์ RRIT251 พบว่า ยางพาราสายพันธุ์ RRIT251 มีความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อรา *Phytophthora* spp. มากกว่ายางพาราสายพันธุ์ RRIM600 เมื่อสังเกตจากขนาดของแผลที่เกิดขึ้นบนยางพาราทั้ง 2 สายพันธุ์ (ตารางที่ 5)





บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างขึ้นส่วนยางพารา ในเขต 5 อำเภอของจังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยแบ่งการเก็บตัวอย่างออกเป็น 2 ครั้ง คือปลายเดือนพฤศจิกายน และต้นเดือนมกราคม ครั้งแรกเก็บที่อำเภอบ้านนาสารและอำเภอกาญจนดิษฐ์ ซึ่งเป็นช่วงที่มีฝนตกต่อเนื่องยาวนาน ครั้งที่สองเก็บตัวอย่างที่อำเภอเมือง อำเภอพุนพิน อำเภอไชยา เป็นช่วงที่ฝนทิ้งช่วงไปประมาณ 1 สัปดาห์และมีแดดออกจัด เป็นสาเหตุให้ไม่พบเชื้อรา *Phytophthora* spp. ในครั้งนี้ ซึ่งปัจจัยที่เหมาะสมกับการเจริญและฟักตัวของเชื้อชนิดนี้ คือ

เชื้อราแพร่ระบาดโดยลมและฝน พัดพาสปอร์ของเชื้อราไป เพราะปริมาณน้ำฝนและจำนวนวันฝนตกเป็นปัจจัยสำคัญ ที่ก่อให้เกิดการระบาดของโรคอย่างกว้างขวางและรุนแรง เชื้อรานี้ต้องการน้ำเพื่อการขยายพันธุ์ จึงระบาดได้ดีในสภาพอากาศเย็น ฝนตกชุก มีความชื้นสูงต่อเนื่องกันอย่างน้อย 4 วัน โดยที่มีแสงแดดน้อยกว่า 3 ชั่วโมงต่อวัน ซึ่งมักเกิดขึ้นในระหว่างเดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายนของทุกปี (นิรนาม (3), 2552)

ระบบการให้น้ำ ด้วยระบบสปริงเกอร์และมีการให้น้ำจนท่วมโคนต้นยาง ช่วยให้เชื้อรา *Phytophthora* spp. สามารถสร้าง oospore ได้บนใบและลำต้น และยังช่วยให้ sporangium แพร่กระจายไปได้ไกลมากขึ้น (Cohen *et al.*, 2000)

การระบาดของเชื้อรา *Phytophthora* spp. สัมพันธ์กับความชื้นในอากาศ ความเย็นและปริมาณน้ำฝน สถาบันวิจัยยางซีลอนใช้สูตรพยากรณ์ว่า ถ้าอุณหภูมิสูงไม่เกินกว่า 29 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์สูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ มีฝนตกอย่างน้อยที่สุด 0.1 นิ้วต่อวัน และมีแสงแดดวันหนึ่งๆ ไม่เกินกว่า 3 ชั่วโมงติดต่อกัน 4 วัน หากต้นยางมีผลที่เป็นโรคอยู่แล้ว ในอีก 14 วันข้างหน้า จะเกิดการระบาดของโรคใบร่วง สูตรพยากรณ์นี้ได้ผ่านการทดสอบแล้วในระหว่างปี 1964-1967 (Peries, 1969)

2. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

เชื้อรา *Phytophthora* spp. ทั้ง 9 ไอโซเลทเมื่อนำมาศึกษาถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา พบว่า เชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร BNPR และ PDA มีลักษณะของโคโลนีไม่เหมือนกัน โดยเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร BNPR มีเส้นใยฟูมากทุกไอโซเลท แต่ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เส้นใยฟูปานกลาง และสามารถสังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อราได้ชัดเจนกว่า คือ เป็นแฉกแหลม หรือแฉกมน รูปดอกไม้นูนกัน ทั้งนี้ลักษณะของโคโลนีที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับอาหารเลี้ยงเชื้อราแต่ละชนิด ทั้งนี้การแตกแขนงของเส้นใยมีความสัมพันธ์กับสภาพแวดล้อมด้วย (Ho, 1978)

การจำแนกเชื้อรา *Phytophthora* spp. โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นหลักมีความแปรปรวนสูง บางสปีชีส์แสดงลักษณะคาบเกี่ยวกับสปีชีส์อื่น และเชื้อราบางสายพันธุ์มีข้อจำกัดในการสร้างโครงสร้างบางชนิด จึงทำให้เกิดความสับสนในการจำแนกเชื้อ (Erwin, 1983) นอกจากนี้เชื้อราบางชนิดมีความผันแปรทั้งในสปีชีส์เดียวกันและต่างสปีชีส์กัน เชื้ออาจมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหมือนกันแต่มีลักษณะทางสรีระวิทยาต่างกัน ดังนั้นนอกจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้วควรใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลช่วยตรวจสอบความแปรปรวนดังกล่าวด้วย เช่น การใช้รูปแบบโปรตีนที่ละลายได้ จำนวนโครโมโซม ปริมาณดีเอ็นเอในนิวเคลียส ตลอดจนการศึกษาไอโซไซม์ และดีเอ็นเอของเชื้อ (Brasier, 1983)

3. ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ต่อ metalaxyl ทั้ง 9 ไอโซเลท ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีเชื้อรา 8 ไอโซเลทที่สารเคมีสามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราได้ และเชื้อรา 1 ไอโซเลท สามารถต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl มากที่สุด แสดงให้เห็นว่าเชื้อราทั้ง 9 ไอโซเลท มีทั้งที่อ่อนแอและต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl ซึ่งตรงกันกับรายงานของ กมลศิริ (2546) ที่ทดลองกับเชื้อรา *Phytophthora infestans* ที่แยกจากมันฝรั่งและมะเขือเทศ พบเชื้อราที่อ่อนแอและต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl แต่ว่าขัดแย้งกับรายงานของ Nishimura และคณะ (1999) ที่ทำการเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Phytophthora infestans* ในประเทศไทยจำนวน 52 ไอโซเลท พบว่าเชื้อรา *P. infestans* ทั้งหมดอ่อนแอต่อสารเคมี metalaxyl แสดงให้

เห็นว่า เชื้อราอาจมีการปรับตัวต่อต้านต่อสารเคมี เพราะว่าในปัจจุบันมีรายงานการใช้สารเคมีในการกำจัดเชื้อราชนิดนี้กันเป็นจำนวนมาก

4. ทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรค

ทดสอบโดยการปลูกเชื้อลงบนแผ่นหลังใบ และลำต้นของยางพาราสายพันธุ์ RRIM600 พบว่าอาการที่เกิดขึ้นมีลักษณะคล้ายกับที่เก็บตัวอย่างจากธรรมชาติ คือ แผลมีลักษณะชำ สีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม และสีดำ จากการทดสอบปลูกเชื้อให้กับยางพาราแล้วเก็บในกล่องรักษาความชื้นและทดสอบโดยการปลูกเชื้อลงบนลำต้นของยางพาราโดยตรง แล้ววางไว้ในสภาพธรรมชาติ พบว่า เชื้อราตัวเดียวกันแต่ต่างสภาวะกันจะสามารถก่อให้เกิดแผลแตกต่างกันด้วย (ภาพที่ 13) ทั้งนี้เนื่องจากความชื้นและอุณหภูมิมีผลต่อการก่อโรคให้ความรุนแรงขึ้น (Peries, 1969)

5. การตรวจสอบความต้านทานของยางพาราคือเชื้อรา *Phytophthora* spp.

การทดสอบความต้านทานของยางพาราคือเชื้อรา *Phytophthora* spp. ทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ RRIM600 และ RRIT251 โดยทั้ง 2 สายพันธุ์มีความแตกต่างกันคือ

ยางพาราสายพันธุ์ RRIM600 เป็นยางพาราสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. เมื่อปลูกเชื้อลงบนใบและลำต้น

ยางพาราสายพันธุ์ RRIT251 เป็นสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. ในระดับปานกลาง เมื่อทดสอบทั้งบนใบและลำต้นของยางพารา โดยการปลูกเชื้อลงบนใบและลำต้นแล้ววางลงในกล่องเพื่อรักษาความชื้น ทำให้สภาวะในกล่องมีความร้อนและชื้นเกิดขึ้นเป็นผลให้เชื้อราเข้าทำลายกับใบและลำต้นของยางพาราได้มากกว่าที่ปลูกเชื้อลงบนลำต้นยางพาราแล้วปล่อยให้ยู่ในสภาวะธรรมชาติ ที่ดูแลรดน้ำต้นยางตามปกติ แสดงให้เห็นจากภาพการเข้าทำลายลำต้นยางพาราจากเชื้อราตัวเดียวกัน

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างยางพาราที่แสดงอาการของโรค มาคัดแยกพบเป็นเชื้อรา *Phytophthora* spp. ทั้งหมด 9 ไอโซเลท จากนั้นนำมาทดสอบดังต่อไปนี้

1. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ไม่สามารถระบุชนิดของเชื้อราได้ ถึงแม้ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA จะมีความแตกต่างกัน แต่เมื่อศึกษาลักษณะของ sporangium และ เส้นใย (mycelium) ของเชื้อทุกไอโซเลทพบว่า มีลักษณะเหมือนกัน ดังนั้น การศึกษาเพียงเท่านี้ อาจไม่สามารถบอกถึงชนิดของเชื้อราได้ชัดเจน ต้องศึกษาระดับชีวโมเลกุล หรือระดับดีเอ็นเอ จึงจะสามารถจำแนกชนิดได้
2. ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมี metalaxyl ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราทั้ง 9 ไอโซเลท พบว่า สารเคมี metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราได้ 9 ไอโซเลท และมี 1 ไอโซเลทที่มีความต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มากที่สุด ได้แก่ ไอโซเลท NS136
3. ทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรค พบว่า เชื้อราไอโซเลท NS136 สามารถก่อให้เกิดโรคกับยางพาราสายพันธุ์ RRIM600 มากที่สุด ทั้งบริเวณใบและลำต้น
4. ทดสอบความต้านทานของสายพันธุ์ยางพาราต่อเชื้อรา *Phytophthora* spp. ทดสอบกับยางพารา 2 สายพันธุ์ คือ RRIM600 และ RRIT251 พบว่า ยางพาราสายพันธุ์ RRIM600 อ่อนแอต่อเชื้อ โดยเชื้อราสามารถเข้าทำลายทั้งบริเวณใบและลำต้นของยางพาราได้ ในขณะที่ยางพาราสายพันธุ์ RRIT251 เชื้อรายังสามารถเข้าทำลายได้เช่นกัน โดยสังเกตจากแผลมีความคล้ายกันกับยางพาราสายพันธุ์ RRIM600 แต่แผลมีสีน้ำตาลอ่อนกว่า และแผลมีขนาดเล็กกว่า เมื่อทดสอบบนใบพบว่า เชื้อสามารถเข้าทำลายได้น้อยถึงไม่สามารถเข้าทำลายได้

เอกสารอ้างอิง

- กมลศิริ เพชรบูรณ์. 2546. การศึกษาโครงสร้างประชากรของเชื้อรา *Phytophthora infestans* จากมะเขือเทศและมันฝรั่งในจังหวัดตาก และจังหวัดเชียงใหม่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- จิรเดช แจ่มสว่าง, วณิดา พงษ์ศักดิ์ชาติ และวรรณวิไล เกษนรา. 2533. การตรวจและนับปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* จากดิน โดยวิธีเจือจางดินและใช้เชื้อหล่อ. วิทยาสารเกษตรศาสตร์
- นิรนาม(1). 2552. ยางชำถูง. แหล่งที่มา :
- http://www.rubberthai.com/news/newsinfo/news_Apr50/news_2401.htm. 2 มกราคม 2552
- นิรนาม(2). 2552. แผนที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี. แหล่งที่มา : www.sabuy.com. 4 กุมภาพันธ์ 2552
- นิรนาม(3). 2552. โรคใบร่วงและฝักเน่า. แหล่งที่มา : <http://www.rubberthai.com>. 4 ตุลาคม 2551
- นิรนาม(4). 2552. เชื้อราสาเหตุโรคพืช. แหล่งที่มา : <http://guru.sanook.com/pedia/topic>. 21 พฤษภาคม 2552
- ประภา พัฒนกุล, พงษ์เทพ ขจรไชยกุล, เชาวน์ เชาวณะ และนิยม จิวจัน. 2520. การศึกษาชนิดของเชื้อไฟทอปทอราที่เป็นสาเหตุของโรคยางพาราในประเทศไทย, น. 86-87. ในรายงานผลการค้นคว้าวิจัย ปี 2520. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- เพียว ศรีสอาน. 2538. โรคยางพาราที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* spp. : การจำแนกเชื้อสาเหตุปฏิกิริยาของพันธุ์ยาง และประสิทธิภาพของสารเคมีบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ศรีสุข พูนพลกุล, ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ และกิตติศักดิ์ กิระอังกูล. 2545. การใช้เทคนิค Random amplified polymorphic DNA (RAPD) เปรียบเทียบวิวัฒนาการของเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลตต่างๆ และการจัดกลุ่มด้วยการใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ, น. 108-114. ในเทคโนโลยีชีวภาพกับงานวิจัยด้านการเกษตร, สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ และนิวเคลียร์เทคนิค, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

- ศุภลักษณ์ โตสุขเจริญกุล และ สมศิริ แสงโชติ, 2551. การตรวจสอบการเข้าทำลายแบบแฝงโดยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยวโดยใช้ paraquat. แหล่งที่มา :
<http://www.phtnet.org/download/FullPaper/pdf/2ndSeminarKKU/af007.pdf> .
 17 พฤศจิกายน 2551
- ศูนย์สารสนเทศการเกษตร. 2555. สรุปผลการพยากรณ์ผลผลิตการเกษตร ณ เดือนกันยายน 2555. วารสารการพยากรณ์ผลผลิตการเกษตร ปีเพาะปลูก 2555/56. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 66 หน้า
- ศูนย์วิจัยการเกษตร. 2548. สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศ ปี 2548. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.
- สุทัศน์ ภูมิวิจิตรชัย . 2547. ยางพารา . ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตร, กรุงเทพฯ . 256 หน้า
- เอกชัย พลภักย์อำไพ. 2547 . คู่มือยางพารา. เพ็ท-แพลัน พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 352 หน้า
- Appiah, A.A., J. Flood, P.D. Bridge and S.A. Archer. 2003. Inter- and intraspecific morphometric variation and characterization of *Phytophthora* isolates from cocoa. Plant Pathology 52: 168-180.
- Bhat, R.G. 2006. Genetic and pathogenic variation in *Phytophthora cactorum* affecting fruit and nut crops in California. Plant Disease 90: 161-169.
- Brasier, C.M. 1983 Problems and prospects in *Phytophthora* research, pp. 351-364. In D.C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia and P.H. Tsao (eds.). *Phytophthora : Its Biology , Taxonomy, Ecology and Pathology*. American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota.
- Camele, I., C. marcone and G. Cristinzio. 2005. Detection and identification of *Phytophthora* species in southern Italy by RFLP and sequence analysis of PCR-amplified nuclear ribosomal DNA. European Journal of Plant Pathology 113: 1-14.

- Chowdappa, P., D. Brayford, J. Smith and J. Food. 2003. Molecular discrimination of *Phytophthora* isolates on cocoa and their relationship with coconut, black pepper and bell pepper isolates based on rDNA repeat and AFLP fingerprints. *Current Science* 84: 1235-1238.
- Cohen, Y. and M.D. Coffey. 1986. Systemic fungicides and the control of Oomycetes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24 : 311-338
- Day, J.P., R.A.M. Wattier, D.S. Shaw and R.C. Shattock. 2004. Phenotypic and genotypic diversity in *Phytophthora infestans* on potato in Great Britain, 1995-98. *Plant Pathology* 53: 303-315.
- Erwin, D.C. and O.K. Ribeiro. 1996. *Phytophthora Diseases Worldwide*. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 551 pp.
- Fry, W.E. and S.B. Goodwin. 1997a. Re-emergence of potato and tomato late blight in the United State. *Plant Disease* 81: 1349-1357.
- Fry, W.E. and S.B. Goodwin. 1997b. Resurgence of the Irish potato famine fungus. *Bioscience* 47: 363-371.
- Guo, J., R.H.Y. Jiang, L.G. Kamphuis and F. Govers. 2006. A cDNA-AFLP based strategy to identify transcript associated with avirulence in *Phytophthora infestans*. *Fungal Genet Biol.* 43: 111-123.
- Ho, H. H. 1978. Hyphal branching systems in *Phytophthora* spp. and other Phycomycetes. *Mycopathologia* 64 : 83-86.
- Islam, S.Z., M. Babadoost, K.N. Lambert and A. Ndeme. 2005. Characterization of *Phytophthora capsici* isolates from processing pumpkin in Illinois. *Plant Disease* 89: 191-197.
- Jayasuriya, K.E., R.L.C. Wijesundera, C.K. Jayasinghe and B.I. Thennakoon. 1999. A comparative study of *Phytophthora meadii* isolate from rubber (*Hevea brasiliensis*) plantation in Srilanka. *Mycopathologia* 147: 125-132.

- Karakaya, A., F.A. Stato, W.H. Lee, U.P. Singh, C. tun-tschu, E. Suryaningsih, S.
 Suwanakenee, P. lumyong, C. Chamsawang, T. Wen-hua, S.K. Shrestha, M. kato, N.
 Fujii, S. Akino, N. Kondo, K. Kobayashi and A. ogoshi. 1999. Distribution of
Phytophthora infestans Population in Seven Asian Countries. Ann. Phytopathol. Soc.
 Jpn. 65 : 66-75.
- Liyanage, N.I.S. and 1989. *Phytophthora citricola* on rubber in Sri Lanka. Plant Pathology 38 :
 438-439.
- Nishimura, R., K. Sato, W.H. Lee, U.P. Singh, C. Tun-tschu, E. Suryaningsih, S.
 Suwonaknee, P. Lumyong, C. Chamsawang, T. Wen-hua, S.K. Shrestha, M. Kato, N.
 Fujii, S. Akino, N. Kondo, K. Kobayashi and A. Ogoshi. 1999. Distribution of
Phytophthora infestans Populations in Seven Asian Countries. Ann. Phytopathol. Soc.
 Jpn. 65 : 66-75.
- Peries, O.S. 1969. Studies on epidemiology of *Phytophthora* leaf disease of *Hevea brasiliensis* in
 Ceylon. Rubb. Res. Inst. Malaysia 21(1) : 73-78.
- Tsao, P.H., N. Chew Chin and R. Syamananda. 1975. Occurrence of *Phytophthora pamivora*
 on Hevea rubber in Thailand. Plant Dis. Repr. 59(12) : 955-958.

ภาคผนวก

การนำเสนอผลงานภาคโปสเตอร์ ในการประชุมวิชาการรักษาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9
วันที่ 24-26 พฤศจิกายน 2552 ณ โรงแรมสุนีย์ แกรนด์ อ. เมือง จ. อุบลราชธานี