

ความผันแปรใน *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. ทูเรียน
: ลักษณะรูปร่างและแบบคู่ผสม
Variation in *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. Isolates from Durian
: Morphology and Mating Type

อมรรัตน์ ภูไพบูลย์^{1/}

พจนา ตระกูลสุขรัตน์^{1/}

ทวี เก่าศิริ^{1/}

Amornrat Poopaibool

Photchana Trakunsukharat

Thawee Kaosiri

ABSTRACT

Twenty five isolates of durian *Phytophthora* from different durian orchards in Nakhon Nayok, Rayong, Chanthaburi, Trat, Chumphon, Surat Thani and Si Sa Ket province were collected and characterized. They were identified as *P. palmivora*, however, the variabilities in some morphological features, including colony morphology, size and shape of sporangia, gametangia and oospores among isolates were found. These isolates were separated into two groups on the basic of the sporangial length namely breadth ratios ($L : B > 1.7$ and $L : B < 1.7$). All isolates were heterothallic, mating type A1 and amphigynous antheridia. Oogonia, oospores and chlamydospores were averaged at 27, 23 and 37 μm , respectively, in diameter.

Key words: *Phytophthora palmivora*, durian

บทคัดย่อ

ดำเนินการเก็บตัวอย่างรากเน่า โคนเน่าและผลเน่าทูเรียน จากจังหวัดนครนายก ระยอง จันทบุรี ตราด ชุมพร สุราษฎร์ธานีและศรีสะเกษ สามารถแยกเชื้อรา *Phytophthora* ได้ 25 ไอโซเลท นำมาทำ single sporangium culture เพื่อศึกษาหาความผันแปรของลักษณะการเจริญของเส้นใยบนอาหาร PDA (potato dextrose agar) และ CA(carrot agar) ศึกษาลักษณะ รูปร่างและขนาด spore ของเชื้อหา L:B ratio วัดขนาดของ chlamydospores และศึกษา mating type ของเชื้อรา พบว่าเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. เป็นสาเหตุโรครากเน่า โคนเน่าและผลเน่าของทูเรียน แต่ละไอโซเลทมีความผันแปร ทั้งลักษณะการเจริญของเส้นใยบนอาหารทั้งสอง เจริญช้าบ้าง เร็วบ้าง เป็นแบบแฉกคล้ายรูปดาว มีผิวผนังเส้นใย เรียบและสร้าง sporangia จำนวนมากบนอาหารแข็ง CA เป็นรูปไข่หรือรูปค่อนข้างยาว ขนาดแตกต่างกัน เฉลี่ย $54.51 \times 33.54 \mu\text{m}$ อัตราส่วนความยาว : ความกว้าง (L : B ratio) เฉลี่ย = 1.64 มี papilla เด่นชัด ก้าน sporangia สั้น มีความยาว 2.5 μm

1/ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม. 10900

Plant Pathology and Microbiology Division, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900

สปอร์หลุดจากก้านสปอร์ได้ง่ายเมื่ออายุมาก chlamydospores รูปร่างค่อนข้างกลมและกลม เกิดบริเวณปลายเส้นใยและระหว่างเส้นใย ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 37 μm วงจรชีวิตของการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ เป็น heterothallic การเกิด oospores ได้จากการผสมกันของเชื้อราต่าง mating type ที่เข้ากันได้ พบว่าเป็น mating type A1 ทุกไอโซเลท ตำแหน่งของ antheridia บนผิวของ oogonium เป็นแบบ amphigynous antheridium antheridia มี ขนาดเฉลี่ย 14 μm oogonia ขนาดเล็กเส้นผ่า ศูนย์กลางเฉลี่ย 27 μm ผิวผนัง oogonium เรียบ รูปร่างกลม oospore มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 23 μm
 คำหลัก: *Phytophthora palmivora* ทูเรียน

คำนำ

โรครากเน่าและโคนเน่าทุเรียนเป็นปัญหา กับการปลูกทุเรียนมานานกว่า 30 ปี โดยพบ การระบาดของโรคตั้งแต่ปี พ.ศ. 2509 ในจังหวัด ธนบุรีและนนทบุรี ต่อมาในปี พ.ศ. 2510 มีการระบาดของโรคที่จังหวัดจันทบุรี ระยอง ตราดและปราจีนบุรี(ขจรศักดิ์และวินิต, 2509, 2510) ระหว่างปี พ.ศ. 2538-2542 โรคนี้ได้ทำ ความเสียหายทำลายสวนทุเรียนกว่า 90,000 ไร่ ผลผลิตลดลง 70,000 ตัน(พรธณี, 2544) สาเหตุของโรคคือ เชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค พืชมากกว่า 138 ชนิด (Chee, 1969) เช่น ส้ม โกโก้ มะม่วง มะละกอ สับปะรด พืชสมุนไพร ไทย วานิลลา กระจับปี่และไม้ดอกไม้ประดับ หลายชนิด เชื้อรา *P. palmivora* สามารถ มีชีวิตอยู่ในดินได้เป็นเวลานานในรูปแบบของ

chlamydospore อยู่ในดินที่มีความชื้นได้นาน ถึง 9 เดือน โดยอยู่ในเนื้อเยื่อของเปลือกผล โกโก้ อยู่ในสวนยางพารานาน 1 เดือน แต่ใน ซากเปลือกของผลหรือบนใบทุเรียน ยังไม่มีการ ศึกษาว่าเชื้อราอยู่ได้นานมากน้อยแค่ไหน มีสภาพ แวดล้อมอย่างไร อยู่ในลักษณะสปอร์ หรือเส้นใย (ทวี, 2543) ในวงจรชีวิต *P. palmivora* มีการ สร้างสปอร์ถึง 4 ชนิด คือ sporangium zoospore, chlamydospore และ oospore สปอร์แต่ละชนิดมีความสำคัญ และทำหน้าที่ แยกต่างกันไป ทำให้ *Phytophthora* เป็นเชื้อโรค ที่เปลี่ยนแปลงตัวได้ดีตามสภาพแวดล้อมต่าง ๆ

ปัจจุบัน genus *Phytophthora* เป็น fungus-like อยู่ใน class Oomycetes อาณาจักร Chromista เป็นพวกที่มีลักษณะรูปร่างและการ เจริญคล้ายรา(true fungi) สร้าง sporangia ซึ่งเป็นสปอร์ที่เกิดจากการผสมพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ เป็นจำนวนมากที่ปลายเส้นใยบนเนื้อเยื่อของพืช อาศัยและถูกกำหนดไว้เป็นพวก Stramenopile เพราะสร้าง zoospores คือสปอร์รูปร่างคล้ายไต (reniform) ที่มี 2 หาง(bi-flagella) มีความ ยาวไม่เท่ากัน(heterokont) และว่ายน้ำได้ zoospores นี้ เกิดจากการแบ่งตัวของ cytoplasm ภายใน sporangia เป็นสปอร์ที่ไม่มี cell wall แต่มี plasma membrane เมื่อ zoospores ว่ายน้ำไปเจอพืชอาศัย จะปลดหาง ทิ้งและเข้าสปอร์(encyst) แล้วสร้างผนังเซลล์ ที่มีส่วนประกอบของ cellulose ภายใน 5-10 นาที พร้อมทั้งจะงอกเส้นใยเข้าทำลายพืชโดยตรง (ทวี, 2545) ในวงจรชีวิตระยะที่มีการผสมทาง เพศเกิด oospore เป็นสปอร์ที่มีผนังหนาและ มีความคงทนต่อสภาพแวดล้อมดีเยี่ยม มีชีวิต อยู่ได้นานหลายเดือน หรือหลายปีในดินเป็น

ส่วนขยายพันธุ์ที่มีอายุยืนยาวกว่า สปอร์ชนิดอื่น ๆ ในสภาพที่อยู่ภายนอกพืชอาศัย (ทวี, 2545) เมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา จะมีการเปลี่ยนแปลงของเส้นใย ทำให้เกิด chlamydospore เป็นสปอร์ที่มีผนังหนาตรงปลายเส้นใย หรือตรงส่วนกลางหรือระหว่างเส้นใยที่เชื่อมถึงกัน (ทวี, 2543)

การแพร่ระบาด *P. palmivora* ในทุเรียนนั้น เชื้อราเข้าทำลายทางรากและลูกกลมสู่โคนต้น ในสภาพดินที่มีการระบายน้ำไม่ดีมีน้ำขัง ทำให้ดินมีความชื้นและแฉะอยู่ตลอดเวลา ในสภาพที่มีฝนตกชุกและอากาศมีความชุ่มชื้นสูง เป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค เชื้อราจะสร้างเส้นใยสีขาว พร้อมทั้งสร้างถุงบรรจุสปอร์คือ sporangium ภายในถุงนี้จะสร้าง zoospore ขึ้นจำนวนมาก เมื่อมีฝนตกมีความชื้น สปอร์ที่ว่ายน้ำได้นี้จะดันออกมาตรงปลายของสปอร์ซึ่งมีปุ่มเป็นส่วนที่เปิดปล่อยให้ zoospore ออกไปสู่ภายนอก แล้วว่ายน้ำไปในน้ำ ติดไปกับหยดน้ำฝนที่กระเซ็นหรือไหลตามน้ำฝน หรือแพร่ระบาดทางลม(ทวี, 2543) sporangia ของเชื้อรา *P. palmivora* เมื่อแก่หรือมีอายุ จะหลุดออกจากก้านได้ง่าย ทำให้สามารถแพร่กระจายไปตามกระแสลมได้ไกลๆ

เชื้ออาจติดไปกับดิน น้ำ และซากพืช ส่วนที่เป็นโรค เข้าทำลายใบ เข้าสู่กิ่งและผล เชื้อทำความเสียหายอย่างรุนแรงกับทุเรียนหลายพันธุ์ เช่น หมอนทอง กระจุกทอง ลวง ชะนี ก้านยาว และกบสุพรรณ(ขจรศักดิ์, 2543) ในการศึกษาและวิจัยเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าทุเรียนที่ได้ทำการวิจัยมาบ้างแล้วนั้น

งานวิจัยส่วนใหญ่จะเน้นไปในเรื่องการป้องกันกำจัด หรือการควบคุมโรค ซึ่งเป็นงานวิจัยเพื่อแก้ปัญหาปลายเหตุ (ทวี, 2532; สุชาติ, 2541) ฉะนั้นควรที่จะต้องมีการศึกษา และวิจัยด้านชีววิทยาเบื้องต้นของเชื้อรา โดยเฉพาะความผันแปรของลักษณะ รูปร่าง หรือสัณฐานวิทยา และความแตกต่างแบบคู่ผสมของเชื้อรา *P. palmivora* ที่แยกได้จากท้องถิ่นต่างๆ ที่เป็นแหล่งปลูกทุเรียนของประเทศ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้น สำหรับการศึกษานิเวศวิทยาของเชื้อรา และการจัดการเรื่องโรคกับพันธุ์ทุเรียนในอนาคตต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่าง รากเน่า โคนเน่าและผลเน่าทุเรียนและการแยกเชื้อรา *Phytophthora* ดำเนินการทดลองในระหว่างปี พ.ศ. 2542-2545 โดยเก็บตัวอย่างราก เปลือกของโคนลำต้น ผลทุเรียนที่เป็นโรคเน่าและดินที่อยู่บริเวณโคนต้นทุเรียนที่เป็นโรครากเน่าและโคนเน่า จากพื้นที่เพาะปลูกในจังหวัดนครนายก ระยอง จันทบุรี ตราด ชุมพร สุราษฎร์ธานีและศรีสะเกษ นำมาแยกเชื้อที่ห้องปฏิบัติการโดยวิธี tissue transplanting ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติ ขนาด 5 มม. วางบนอาหาร PDA (potato dextrose agar) + BRNAP(benomyl, rafarpicin, nystatin, ampicillin, PCNB) เพาะเชื้อใน อุณหภูมิห้อง (25 ± 20 °ซ) เป็นเวลา 24 - 36 ชั่วโมง กดตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นตัวอย่าง(Figure 1a) เลี้ยงบนอาหาร PDA แล้วแยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละพื้นที่ (ไอโซเลท) ในหลอดทดลอง

2. การทำ Single Sporangium Culture

นำเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทในหลอดทดลอง มาเลี้ยงบนอาหาร CA (carrot agar) เก็บไว้ในที่มืด 72 ชั่วโมง นำไปไว้ใต้แสงนีออน (white cool) 40 วัตต์ 2 หลอด ระยะห่าง 30 ซม. ที่ให้แสง 200 ftc ที่อุณหภูมิห้อง นาน 24-48 ชม. ใช้เข็มเขี่ย (loop) ลงไฟฆ่าเชื้อ แช่ในน้ำกลั่นหนึ่ง นำมาแตะบนปลายเส้นใย นำไปเขี่ยให้กระจาย (streak) บนอาหาร WA (water agar) แล้วส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อหา single sporangium

ดักสปอร์เดี่ยววางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 72 ชั่วโมง กดตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากสปอร์เดี่ยวนั้น นำไป เลี้ยงบนอาหาร PDA แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละพื้นที่ในหลอดทดลอง

3. ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราที่แยกได้

เลี้ยงเชื้อ *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA

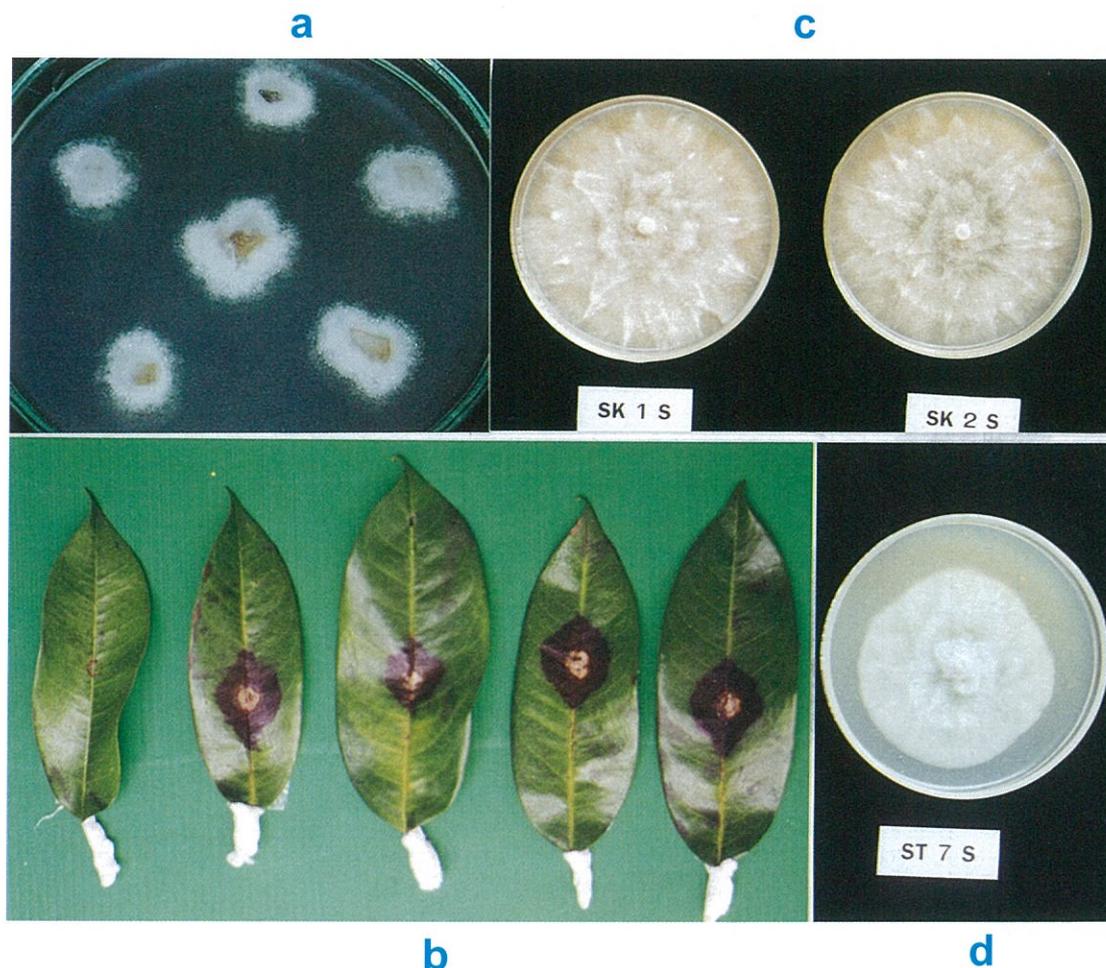


Figure 1. Isolation, colony type and pathogenicity of *Phytophthora* durian isolates. a, Colony of *Phytophthora* isolated from durian fruit rot by tissue transplanting. b, Detached Monthong leaves inoculated with durian isolates, showing symptom dark brown spot. c, Colony type of *P.palmivora* (SK 1 S, SK 2 S) showing typical stellate pattern and d, Culture of slow growth isolate ST 7 S on CA medium

ที่อุณหภูมิห้อง ดำเนินการวิธีเดียวกับ ข้อ 2 ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. กัดตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ นำไปปลูกเชื้อ โดยวิธี detached leaf ใช้ใบทุเรียนพันธุ์หอมทองระยะเพลลาด ที่ปลายของก้านใบพันด้วยสำลีชุบน้ำกลั่น ปลูกเชื้อโดยใช้ cork borer เจาะทำแผลบนเส้นกลางใบทุเรียนวางเส้นใยบนอาหารวันคว่ำลงบนใบที่ทำแผล จากนั้นใช้สำลีชุบน้ำวางบนชั้นอาหารวันดังกล่าว เพื่อให้ความชื้น วางใบทุเรียนในกล่องพลาสติกปิดฝา เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 3 วัน บันทึกลักษณะอาการของโรคและขนาดของแผลที่เกิดขึ้น นำใบทุเรียนที่แสดงอาการเป็นโรค (Figure 1b) ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคร่วมกับเนื้อเยื่อปกติ ไปแยกเชื้อบริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่ง แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละพื้นที่ในหลอดทดลอง

4. ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย(โคโลนี) ของเชื้อ *Phytophthora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เลี้ยงเชื้อ *Phytophthora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA หรือ CA เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. กัดตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อซึ่งเลี้ยงบนอาหาร PDA นาน 5 วัน วางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบนอาหารบริเวณกลางจานเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มในตู้บ่มมืดที่อุณหภูมิห้อง จนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ศึกษาบันทึกลักษณะการเจริญที่ผิวหน้าอาหาร และความหนาแน่นของเส้นใย

5. ศึกษาลักษณะ รูปร่างและขนาดสปอร์ของเชื้อ

นำเชื้อรา *Phytophthora* เลี้ยงบนอาหาร CA ปริมาณ 15 มล. บ่มในตู้บ่มมืดนาน 72 ชั่วโมง

แล้วนำไปไว้ใต้แสงน้ออน (white cool) ที่ให้แสง 200 ftc นาน 48 ชม. ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้เชื้อสร้าง sporangia ศึกษาและบันทึกลักษณะการแตกแขนงของก้านสปอร์ (sporangiophores) วัดความกว้าง (L, length) และความยาว (B, breadth) ของ sporangia เพื่อหา L : B ratio วัดความยาวของก้านสปอร์ (pedicel หรือ stalk) ความยาวของ papilla และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ chlamydospore ศึกษาสปอร์ทั้ง 2 ชนิด จำนวนไอโซเลทละ 50 สปอร์

6. ศึกษาแบบคู่ผสม (mating type) ของเชื้อ

เลี้ยงเชื้อรา *P. palmivora* แต่ละไอโซเลท บนอาหาร CA วิธีการเดียวกับข้อ 5 จากนั้นใช้ cork borer กัดตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อที่ต้องการศึกษา mating type (unknown) นำมาเลี้ยงบนอาหาร CA ในจานเลี้ยงเชื้อด้านตรงข้ามกับเชื้อรา *P. palmivora* มาตรฐานที่ทราบ mating type แล้ว คือ mating type A1 (*P. palmivora* สาเหตุโรคผลเน่าลำไย จากศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย) แล้วทำวิธีการเดียวกันกับ เชื้อรา *P. palmivora* มาตรฐาน mating type A2 (*P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าแก้วหน้าม้าจากกองโรคพืชและจุลชีววิทยา) เพื่อหา mating type ของเชื้อราทุกไอโซเลท นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ใน ที่มีตุนาน 7-10 วัน ศึกษาและบันทึกการสร้าง sexual structure ของเชื้อแต่ละไอโซเลท เปรียบเทียบกับ mating type มาตรฐาน A1 และ A2 โดยวัดความกว้างและความยาวของ oogonia, oospores และ antheridia จำนวนไอโซเลทละ 50 สปอร์ ศึกษาตำแหน่งของ antheridia บนผิวของ oogonium และลักษณะของ oospore ที่อยู่ในแต่ละ oogonium

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเก็บตัวอย่างรากเน่า โคนเน่า ผลเน่า ทุเรียนและการแยกเชื้อรา *Phytophthora*

การแยกเชื้อจากราก เปลือกของโคน
ลำต้น ผลทุเรียนที่เป็นโรคเน่า และดินที่อยู่
บริเวณโคนต้นทุเรียนที่เป็นโรครากเน่าและ
โคนเน่าที่ทำการเก็บตัวอย่างนั้น แยกได้เชื้อรา
P. palmivora จากส่วนของโคนเน่าและผลเน่า
จำนวน 25 ไอโซเลท 3 ไอโซเลทจากนครนายก
2 ไอโซเลทจากระยอง 3 ไอโซเลทจากจันทบุรี
2 ไอโซเลทจากตราด 6 ไอโซเลทจากชุมพร 7
ไอโซเลทจากสุราษฎร์ธานี และ 2 ไอโซเลท
จากศรีสะเกษ(Table 1)

2. การทำ Single Sporangium Culture

Single sporangium culture จากทุก
ไอโซเลท แสดงลักษณะการเจริญของเส้นใย
บนอาหาร PDA และ CA เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์
สำหรับใช้ในงานทดลอง ซึ่งลักษณะการเจริญของ
single sporangium culture เหมือนกับ culture
ที่แยกได้จากข้อที่ 1 ทุกประการ

3. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิด โรคของเชื้อราที่แยกได้

เชื้อรา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้
จากแต่ละพื้นที่ ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา
3 วัน ทำให้ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทองระยะ
ผลสดเป็นโรค แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ
ถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้งด้านหลังใบ และท้องใบ
แผลจะลุกลามไปตามเส้นใบ(Figure 1b)
ขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน แผลขยายใหญ่ขึ้น
ไปตามความกว้างและความยาวของใบทุเรียน
แล้วขยายลุกลามจนเน่าหมดทั้งใบ

4. ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย เชื้อ *Phytophthora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ CA

การสร้างเส้นใยบนอาหารแข็ง PDA
และ CA(culture pattern หรือ colony
pattern) มีลักษณะการเจริญเป็นเส้นตรง มี
กิ่งก้านแยกออกไปสม่ำเสมอค่อนข้างเป็นระเบียบ
เส้นใยไม่ฟูมาก ลักษณะใสไม่มีสี ไม่มีผนังกัน
เส้นใย ผิวผนังเส้นใยเรียบ(smooth) ไม่มีการ
โป่งพอง ทำให้เกิดลักษณะรูปแบบเป็นแฉก
คล้ายรูปดอกกรักเร่ หรือรูปดาว หรือ stellate
growth pattern (Figure 1c) เชื้อเจริญเต็มจาน
เลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 5 วัน แต่บนอาหาร PDA
เชื้อเจริญเติบโตได้ช้ากว่า เจริญเต็มจานเลี้ยง
เชื้อเมื่ออายุ 7 วัน เชื้อสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยง
เชื้อ CA หนาแน่นกว่า และสร้างsporangia
จำนวนมากกว่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แต่
ไอโซเลท ST 7 S มีการเจริญช้ากว่าไอโซเลทอื่นๆ
(Figure 1d)

5. ศึกษา ลักษณะ รูปร่าง และขนาดสปอร์ ของเชื้อรา

พบว่าเชื้อราสร้าง sporangia จำนวน
มากบนอาหารแข็ง CA มีรูปร่างรี หรือ
รูปไข่(ovoid) และรูปค่อนข้างยาว(elongated
ellipsoid) มี papilla เด่นชัด(papillate)
(Figure 2a) การแตก(branching) ของก้าน
สปอร์(sporangiophore) เป็นแบบ simple
sympodium(Figure 2b) ฐาน sporangia ส่วน
ที่ติดอยู่กับก้านแคบลงเล็กน้อย สปอร์หลุดจาก
ก้านสปอร์ได้ง่ายเมื่ออายุมาก การหลุดจากก้าน
ของ sporangia (caducity) มีก้านที่ติดมากับ
สปอร์(pedicele หรือ stalk) สั้น ความยาว 2.5

Table 1. Geographic origin of *Phytophthora palmivora* isolates from different durian orchards.

Province	Isolates number	Diseased plant part	Durian variety	Orchard location
Nakhon Nayok (NY)	1	Stem (S)	Saonoi Rean Ngan	La Aong Pha Orchard Tumbon Khao, Pra, Muang district
	2	Stem (S)	Kop Maethao	La Aong Pha Orchard Tumbon Khao, Pra, Muang district
	3	Stem (S)	Kop Bao	La Aong Pha Orchard Tumbon Khao, Pra, Muang district
Rayong (RY)	1	Fruit (F)	Monthong	Muang
	2	Stem (S)	Kop	Rayoug Field Crops Reseach Center, Muang Rayong
Chanthaburi (CB)	1	Fruit (F)	Monthong	Muang district
	2	Fruit (F)	Monthong	Muang district
	3	Stem (S)	Monthong	Tumbon Klong Khaung, Muang district
Trat (TR)	1	Stem (S)	Chani	Ko Chang district
	2	Stem (S)	Monthong	Khao Saming district
Chumphon (CP)	1	Fruit (F)	Monthong	Muang district
	2	Fruit (F)	Monthong	Muang district
	3	Fruit (F)	Kanyao	Muang district
	4	Fruit (F)	Monthong	Thung Tako district
	5	Stem (S)	Monthong	Pathiu district
	6	Stem (S)	Monthong	Muang district
Surat Thani (ST)	1	Stem (S)	Monthong	Phunphin district
	2	Stem (S)	Monthong	Tha Chana district
	3	Stem (S)	Monthong	Tha Chana district
	4	Stem (S)	Monthong	Ban Na San district
	5	Stem (S)	Monthong	Ban Na San district
	6	Stem (S)	Monthong	Ban Na San district
	7	Stem (S)	Monthong	Khiri Rattanikhom district

Table 1. (Continue)

Province	Isolates number	Diseased plant part	Durian variety	Orchard location
Si Sa Ket	1	Stem (S)	Monthong	Khun Han district
(SK)	2	Stem (S)	Monthong	Kantharalak district

μm sporangium ขนาดแตกต่างกัน(Figure 2c) มีขนาดเฉลี่ยทั้ง 25 ไอโซเลทเท่ากับ $54.51 \times 33.54 \mu\text{m}$ อัตราส่วนความยาว : ความกว้างของ sporangia เฉลี่ย 1.64 (Tables 2 และ 3) พบว่าเชื้อสร้าง chlamydo spores จำนวนมาก มีรูปร่างค่อนข้างกลม(Figure 2d) พบเกิดปลายเส้นใย(terminal) และระหว่างเส้นใย (intercalary) เกิดมากในที่มืด มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยทั้ง 25 ไอโซเลท เท่ากับ $36.16 \times 37.22 \mu\text{m}$ (Tables 2 และ 3)

เชื้อไอโซเลท ST 7 S มีการสร้าง sporangium ขนาดเล็กกว่าไอโซเลทอื่น มีขนาด $40.95 (\pm 5.97) \times 25.45 (\pm 3.11) \mu\text{m}$ และสร้าง chlamydo spores ขนาดเล็กเช่นเดียวกัน ขนาด $27.20 (\pm 4.12) \times 27.70 (\pm 4.10) \mu\text{m}$ สำหรับเชื้อไอโซเลทอื่นสร้างสปอร์ขนาดใกล้เคียงกัน ไอโซเลทที่สร้างสปอร์ค่อนข้างใหญ่คือ ไอโซเลท ST 2 S (จากลำต้นหมอนทอง อำเภอท่าชนะ จังหวัดสุราษฎร์ธานี) ไอโซเลท CB 3 S (จากลำต้นหมอนทอง อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี) และไอโซเลท TR 1 S (จากลำต้นชะนี อำเภอเกาะช้าง จังหวัดตราด) (Figure 2e) (Table 2)

เมื่อจัดกลุ่มค่า Length-breadth ratio หรือ L : B ratio ของ sporangium ของเชื้อ

เพื่อสะดวกในการศึกษาความผันแปรของเชื้อรา *Phytophthora* พบว่า ค่า L : B ratio ของเชื้อใน 3 จังหวัด ภาคตะวันออก คือ จังหวัดระยอง จันทบุรีและตราด มีค่าสูงกว่าจังหวัดอื่นๆ คือ เท่ากับ 1.75 ค่า L : B ratio ของเชื้อจาก นครนายกและศรีสะเกษ เท่ากับ 1.67 และ 1.63 ตามลำดับ ส่วนจังหวัดชุมพรและสุราษฎร์ธานี ค่า L : B ratio ของเชื้อเท่ากับ 1.58 (Table 3) ซึ่งทำให้สามารถจัดกลุ่มของเชื้อราโดยอาศัยค่าของ L : B ratio ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มี L : B > 1.7 และ กลุ่มที่มี L : B < 1.7

6. ศึกษา mating type ของเชื้อรา

พบว่าเชื้อรา *P. palmivora* ทุกไอโซเลท ในวงจรชีวิตของการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ เป็น heterothallic การเกิด oospores ได้จากการผสมกันของเชื้อราต่าง mating type ที่เข้ากันได้ เป็น mating type A1 ตำแหน่งของ antheridia บนผิวของ oogonium เป็นแบบ amphigynous antheridium(Figure 2f) คือติดที่ฐานของ oogonia, oogonia มีขนาดเล็ก เฉลี่ย $26.90 \times 26.21 \mu\text{m}$ ผิวผนัง oogonium เรียบ รูปร่างกลม oospore ผนังหนา มีขนาดเฉลี่ย $22.14 - 23.34 \mu\text{m}$ อยู่ใน oogonia พบทั้งแบบเต็ม และแบบหลวมภายใน oogonia antheridia

มีรูปร่างหลายแบบ แบบสี่เหลี่ยมจัตุรัส แบบยาวแบบรูปไข่โคนแหลมและแบบรูปไข่โคนมน มีขนาดเฉลี่ย 13.65 x 14.06 μm (Figure 2f) ซึ่งทุกไอโซเลทมีขนาดใกล้เคียงกันไม่แตกต่างกัน (Table 4) แต่ไอโซเลทจากชุมพร และสุราษฎร์ธานีมีขนาดใหญ่กว่าไอโซเลทอื่น

เชื้อทุกไอโซเลทสร้าง oogonia, antheridia และ oospores สี ไม่มีสี ยกเว้นไอโซเลท ST 7 S จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งสร้าง sporangium ขนาดเล็กกว่าไอโซเลทอื่น แต่สร้าง oogonium ขนาดใหญ่กว่าคือ oogonia มีขนาดเฉลี่ย 30.45 (\pm 2.27) x 28.80 (\pm 1.92) μm และ oospores ขนาดเฉลี่ย 25.78 (\pm 2.56) x 25.18 (\pm 2.11) μm (Table 4) แต่การผสมค่อนข้างไม่สมบูรณ์ เกิด oospore น้อย oogonia และ oospores มีสีเขียว(Figure 2g) และสีส้ม(Figure 2h)

ผลการศึกษาลักษณะการเจริญ ลักษณะรูปร่างและขนาดของสปอร์ต่างๆ(sporangium, chlamydozoospores, oogonia, antheridia และ oospores) ของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าทุเรียนและโรคผลเน่าทุเรียนไอโซเลทต่างๆ พบว่ามีลักษณะสอดคล้องกับคู่มือการจำแนกชนิด *Phytophthora* ของ Stamps และคณะ (1990) เชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าทุเรียนและผลเน่าทุเรียนทุกไอโซเลทที่ศึกษา คือเชื้อรา *P. palmivora* หรือ *P. p. var. palmivora* (Erwin and Ribeiro, 1996)

ตามที่น่าเอาชิ้นส่วนของราก เปลือก ลำต้น ผลทุเรียนที่เป็นโรคเน่าและดินที่อยู่บริเวณโคนต้นทุเรียนที่เป็นโรครากเน่าและโคนเน่ามาแยก *Phytophthora* บนอาหารสังเคราะห์ BNPRAH ผลการแยกครั้งนี้ได้ *Phytophthora*

จากเปลือกลำต้นและผลเท่านั้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะลักษณะของ *P. palmivora* ที่มีการวิวัฒนาการสูง sporangia มีการหลุดร่วงออกจากก้าน (Kaosiri, 1978) และปลิวไปกับลมหรือน้ำฝน เป็นการแพร่กระจายของเชื้อได้ ซึ่งต่างไปจากเชื้อ *P. cinnamomi* ที่มีวิวัฒนาการระดับต่ำ การสร้าง sporangia ค่อนข้างยาก ต้องมีสารหรือจุลินทรีย์บางชนิดในน้ำมากระตุ้นให้ราชนิดนี้สร้าง sporangia ซึ่งจะติดแน่นอยู่กับก้าน ฉะนั้นโอกาสที่ sporangia จะหลุดจากก้านไปในน้ำหรืออากาศจึงเป็นไปได้ยาก การแยกเชื้อรา *P. cinnamomi* จากรากผอยของพืชที่เป็นโรคทำได้ง่าย(Zentmyer, 1980) ดังนั้นการแยกรา *Phytophthora* จากโรคทุเรียนควรจะแยกจากตัวอย่างเปลือกของลำต้น หรือเปลือกของผลที่เป็นโรคทันที ซึ่งแยกได้ง่ายกว่าการแยกจากรากที่อยู่ในดิน หรือแยกจากดิน เนื่องจาก *Phytophthora* spp. โดยเฉพาะ *P. palmivora* เป็น weak saprophyte จะมีชีวิตอยู่ในดินได้ไม่นาน (Erwin and Ribeiro, 1996)

การทำ single sporangium culture เป็นวิธีการที่ทำได้ง่ายกว่า การทำ single zoospore หรือ oospore (Kaosiri et al., 1980) เนื่องจาก *Phytophthora* ที่แยกได้ทั้งหมด (25 ไอโซเลท) มีการผลิตหรือสร้าง sporangia บนผิวอาหารแข็ง โดยเฉพาะบนอาหาร CA และ sporangia ที่สร้างบนอาหาร CA หลุดจากก้านสปอร์ได้ง่าย และมีก้านสปอร์สั้นอยู่ด้วย ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญอย่างหนึ่งของ *P. palmivora* (Kaosiri et al., 1978; Stamps et al., 1990)

การทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคของ *Phytophthora* ทั้ง 25 ไอโซเลท บนใบ

Table 2. Sporangial characteristics and chlamydo spores sizes of *Phytophthora palmivora* isolates from durian

No.	Isolates	Sporangia (μm) ²			Maximum size chlamydo spores (μm) ¹	
		Length	Breadth	L : B ratio	Length ²	Breadth ²
1.	NY 1S	54.80 \pm 8.31 ²	35.85 \pm 3.80	1.54	35.58 \pm 4.03	37.00 \pm 4.31
2.	NY 2S	53.60 \pm 9.29	36.78 \pm 5.61	1.47	35.48 \pm 4.94	36.18 \pm 4.87
3.	NY 3S	59.20 \pm 11.39	29.90 \pm 3.61	1.99	37.45 \pm 4.66	39.30 \pm 4.82
4.	RY 1F	56.50 \pm 7.16	33.50 \pm 2.75	1.69	37.10 \pm 4.56	37.65 \pm 4.56
5.	RY 2S	59.15 \pm 10.00	33.25 \pm 3.51	1.79	38.75 \pm 5.03	40.25 \pm 5.68
6.	CB 1F	55.05 \pm 6.34	35.10 \pm 3.03	1.58	35.75 \pm 3.32	36.40 \pm 3.20
7.	CB 2F	54.55 \pm 6.97	33.80 \pm 3.72	1.62	35.90 \pm 5.19	36.45 \pm 5.10
8.	CB 3S	60.45 \pm 11.72	31.50 \pm 4.71	1.94	39.30 \pm 5.13	39.55 \pm 5.59
9.	TR 1S	61.45 \pm 13.00	33.60 \pm 3.92	1.83	39.45 \pm 3.47	40.00 \pm 3.15
10.	TR 2S	58.60 \pm 10.99	33.40 \pm 4.65	1.75	36.80 \pm 5.78	38.00 \pm 6.10
11.	CP 1F	55.15 \pm 8.52	34.63 \pm 4.32	1.60	34.00 \pm 3.42	35.60 \pm 3.41
12.	CP 2F	49.15 \pm 8.20	31.20 \pm 3.65	1.59	34.20 \pm 5.24	35.60 \pm 5.59
13.	CP 3F	56.78 \pm 10.05	35.08 \pm 3.75	1.62	36.05 \pm 5.98	37.23 \pm 5.80
14.	CP 4F	47.55 \pm 5.40	33.35 \pm 3.83	1.44	36.50 \pm 4.10	38.75 \pm 4.44
15.	CP 5S	56.05 \pm 5.74	36.53 \pm 3.34	1.55	36.38 \pm 3.31	37.35 \pm 3.79
16.	CP 6S	49.15 \pm 7.62	33.95 \pm 4.26	1.46	36.85 \pm 3.74	38.70 \pm 3.79
17.	ST 1S	58.90 \pm 12.00	35.20 \pm 4.19	1.69	37.30 \pm 5.25	38.40 \pm 5.55
18.	ST 2S	62.90 \pm 9.25	33.25 \pm 4.29	1.91	37.05 \pm 5.24	37.85 \pm 5.51
19.	ST 3S	50.50 \pm 5.03	32.60 \pm 2.62	1.56	35.65 \pm 5.29	37.25 \pm 6.45
20.	ST 4S	50.45 \pm 8.96	34.05 \pm 4.74	1.49	35.70 \pm 4.29	37.20 \pm 4.76
21.	ST 5S	50.55 \pm 6.73	32.65 \pm 3.96	1.56	36.55 \pm 3.84	37.95 \pm 4.03
22.	ST 6S	52.80 \pm 5.55	36.90 \pm 3.87	1.44	36.18 \pm 3.61	36.90 \pm 3.63
23.	ST 7S	40.95 \pm 5.97	25.45 \pm 3.11	1.62	27.20 \pm 4.12	27.70 \pm 4.10
24.	SK 1S	53.00 \pm 8.41	33.90 \pm 3.54	1.57	35.35 \pm 5.85	35.65 \pm 5.84
25.	SK 2S	55.45 \pm 13.19	33.20 \pm 6.19	1.69	37.40 \pm 8.39	37.50 \pm 8.48

1 = The average of all isolates (50 sporangia per isolate)

2 = mean \pm Standard deviation

Table 3. Summary of sporangial characteristics and chlamydo spores sizes of *Phytophthora palmivora* isolates from the different provinces

Province	Sporangium (μm)			Maximum size chlamydo spores (μm)	
	Length	Breadth	L/B ratio	Length	Breadth
Nakhon Nayok	55.87	34.18	1.67	36.17	37.49
Chanthaburi	56.68	33.47	1.71	36.98	37.47
Rayong	57.83	33.37	1.74	37.93	38.95
Trat	60.03	33.50	1.79	38.13	39.00
Chanthaburi, Rayong Trat	58.18	33.45	1.75	37.68	38.47
Chumphon	52.31	34.12	1.54	35.66	37.21
Surat Thani	52.44	32.87	1.61	35.09	36.18
Chumphon, Surat Thani	52.55	33.61	1.58	35.39	36.7
Si Sa Ket	54.23	33.55	1.63	36.38	36.58
Average	54.51	33.54	1.64	36.16	37.22

ทุเรียนพันธุ์หมอนทองที่อ่อนแอต่อโรค โดยวิธี detached leaf ทุกไอโซเลทมีความสามารถทำให้เกิดโรคนบนใบทุเรียน แต่ความรุนแรงของโรคมี่ความแตกต่างกันระหว่างไอโซเลท (อมรรัตน์และพจนานา, 2545) การทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคโดยใช้ใบทุเรียนครั้งนี้ ได้ผลเช่นเดียวกับการทดลองของ ทวีและคณะ (2529) ที่ได้ทดสอบความต้านทานของพันธุ์ฝ้ายต่อโรคสมอดำ สาเหตุจากเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ทดสอบโดยวิธี detached leaf ทำแผลบนใบแก่และใบอ่อน

ของฝ้าย การเป็นโรคไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบการเป็นโรคของใบและสมอดฝ้ายพันธุ์/สายพันธุ์เดียวกัน ยอมรับการเป็นโรคไปในทางเดียวกัน คือ ใบยอมรับการเป็นโรคง่าย สมอกก็ยอมรับการเป็นโรคง่ายเช่นเดียวกัน ดังนั้นการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค ควรทำการทดสอบโดยการใช้ detached leaf ซึ่งเป็นวิธีการที่เหมาะสม สะดวกและประหยัดเวลาในการศึกษาได้มาก

ผลการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้พบว่าลักษณะการเจริญของเส้นใยบนอาหาร CA มีความหนาแน่น

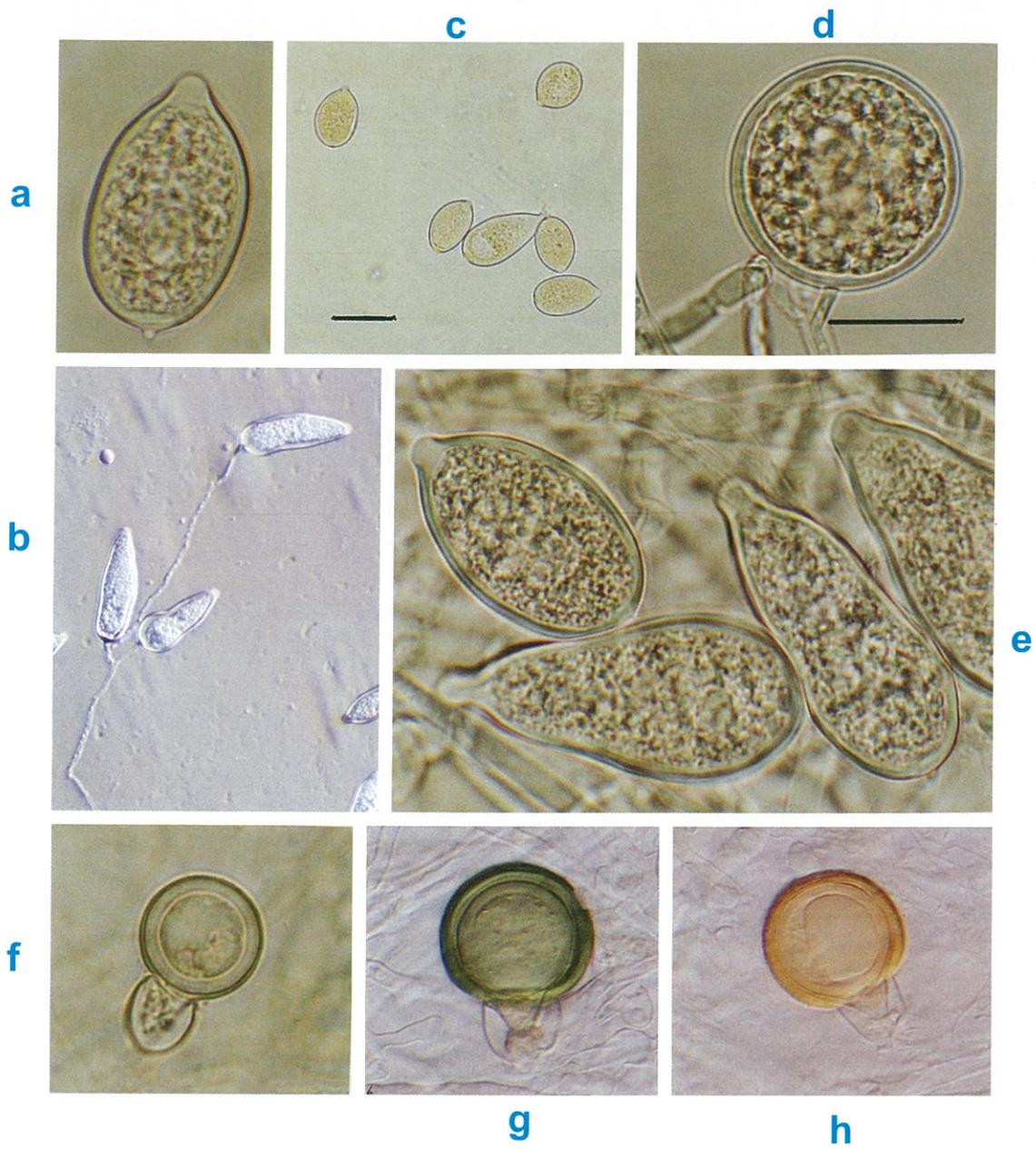


Figure 2. Morphology of sporangia, sporangiophore, chlamydospore, oogonia, antheridia and oospores of *Phytophthora palmivora* durian isolates ; a, Ellipsoid, papillate (the conspicuous apical plug), caduceus(short stalk) sporangium (RY 2 S) ; b, Simple sympodium sporangiophore with papillate sporangia (CB 3 S) ; c, Various shapes caducity and papillate nature of sporangiophore (SK 1 S) ; d, Globose chlamydospore with thick wall (RY 2 S) ; e, Obpyriform and ellipsoid papillate sporangia (the large sporangia isolate TR 1 S) ; f, Nature oospore with an amphigynous antheridium (SK 2 S) ; g, and h, the abnormal oospores with green and orange (rusty) colors (ST 7 S)

Figure 2a, 2e, 2f, 2g and 2h. share the same bar 2d bar = 30 mm

Figure 2b and 2c share the same bar bar = 60 mm

กว่า การเจริญบนอาหาร PDA เพราะ CA เป็นอาหารธรรมชาติที่มี sterols เป็นส่วนประกอบช่วยกระตุ้นการเจริญ และการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของ *Phytophthora* (ทวี, 2545) รูปแบบของโคโลนีบนอาหาร CA เป็นรูปดาว เห็นได้ชัดเจน แต่บางไอโซเลทเห็นไม่เด่นชัด เพราะมีการเจริญค่อนข้างช้ากว่าปกติ รูปแบบโคโลนีอาจเป็นลักษณะประจำของ *Phytophthora* บางชนิด เช่น *P. cinnamomi* เป็นรูปดอกกุหลาบ, *P. parasitica* เป็นรูปใยแมงมุม, *P. palmivora* เป็นรูปดาว (Erwin and Ribeiro, 1996) แต่ถึงอย่างไรรูปแบบโคโลนีอาจมีการเปลี่ยนแปลงหรือผันแปรไปตามสภาพแวดล้อมได้ ลักษณะโคโลนีดังกล่าวอาจเป็นประโยชน์ในการใช้จำแนกชนิด *Phytophthora* บางชนิดได้ รูปแบบโคโลนีของ *Phytophthora* ที่แยกได้ทั้ง 25 ไอโซเลท มีลักษณะคล้ายๆ กันเป็นรูปดาวมีแฉกเห็นเด่นชัด แต่การเจริญมีความแตกต่างกัน บางไอโซเลทมีการเจริญค่อนข้างช้า (เช่น ST 7 S) ซึ่งเป็นลักษณะผันแปรในด้านความเจริญของเชื้อที่ได้จากท้องที่ต่างกัน ทั้งนี้การเจริญของโคโลนีดังกล่าวอยู่ภายใต้การควบคุมของ cytoplasm (Erwin and Ribeiro, 1996)

ผลการศึกษาลักษณะ รูปร่างและขนาดของ sporangia และ chlamydospores ของเชื้อทั้ง 25 ไอโซเลท พบว่า sporangia มีลักษณะรูปร่าง และขนาด ผันแปร หรือแตกต่างกันไปตามท้องที่ บางไอโซเลท sporangia รูปร่างแบบรูปไข่ รูปแป้น รูปผลส้ม หรือรูปลูกข้างกลับหัว ส่วนขนาด sporangia ของบางไอโซเลท เช่น ST 7 S จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี มีขนาดเล็กกว่าไอโซเลทอื่นๆ เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบ L : B

ratio ของ sporangia ที่เป็นลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิด *Phytophthora* (Waterhouse, 1963) พบว่า L : B ratio ของ sporangia ทั้ง 25 ไอโซเลท มีความแตกต่างกันไปในแต่ละภาค ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสภาพแวดล้อม ความชื้น อุณหภูมิ ของแต่ละภาค ตลอดจนการบำรุงปฏิบัติ ดูแล รักษาทุเรียนของเกษตรกร เป็นปัจจัยที่ทำให้ sporangia ของ *Phytophthora* มีขนาด รูปร่างผันแปรเกิดขึ้น ความผันแปรของ sporangia ดังกล่าว อาจมีผลต่อความสามารถในการเข้าทำลายทุเรียน ทำให้เกิดโรครุนแรงแตกต่างกันได้ จากงานทดลองของ อมรรัตน์และพจนาน (2545) มีแนวโน้มว่า *Phytophthora* ไอโซเลทจากทุเรียนที่มี sporangia ขนาดใหญ่ หรือมี L : B ratio สูง (>1.7) จากไอโซเลทจังหวัดระยอง จันทบุรี และตราด มีความสามารถทำให้เกิดโรคบนใบทุเรียนรุนแรงกว่า sporangia ขนาดเล็ก หรือมี L : B ratio ต่ำ (<1.7) จากไอโซเลทจังหวัดชุมพรและสุราษฎร์ธานี นับว่าเป็นข้อมูลใหม่ น่าสนใจที่จะต้องมีการศึกษาค้นคว้าต่อไป

การหลุดของ sporangia พบว่าทุกไอโซเลท sporangia จะหลุดจากก้านชูสปอร์ได้ง่ายเมื่อเลี้ยงบนอาหาร CA แต่ละ sporangium มี papilla เด่นชัดและมีก้านสปอร์สั้น ซึ่งเป็นลักษณะประจำสำคัญของ *P. palmivora* (Kaosiri et al., 1978)

Chlamydospores อาจเป็นลักษณะประจำของ *Phytophthora* บางชนิด เช่น *P. palmivora* var. *heterocystica* ที่ chlamydospores หลุดออกจากก้านชูสปอร์ได้ (Erwin and Ribeiro, 1996) แต่ใน *Phytophthora* ที่ได้ศึกษารังนี้

Table 4. Sizes of gametangia and oospores from different crosses of *Phytophthora palmivora* isolates on carrot agar

No.	Isolate	Sizes of gametangia and oospores (μm) ²			
		Antheridia (μm) ¹		Oogonia (μm) ¹	Oospores (μm) ¹
		Length	Breath		
1.	NY 1S	13.67 \pm 1.13	13.92 \pm 2.31	25.92 \pm 1.572	23.38 \pm 1.51
2.	NY 2 S	12.92 \pm 1.44	12.42 \pm 2.73	27.17 \pm 2.25	24.17 \pm 2.33
3.	NY 3 S	13.71 \pm 1.29	15.58 \pm 2.60	26.21 \pm 1.09	22.46 \pm 1.96
4.	RY 1 F	12.65 \pm 1.46	13.48 \pm 1.84	24.22 \pm 2.55	20.72 \pm 2.27
5.	RY 2 S	13.48 \pm 1.39	12.08 \pm 2.15	27.10 \pm 1.50	24.20 \pm 1.65
6.	CB 1F	13.60 \pm 1.53	14.70 \pm 2.00	25.70 \pm 1.58	22.65 \pm 1.44
7.	CB 2F	13.98 \pm 1.23	15.12 \pm 2.65	26.70 \pm 2.05	23.08 \pm 1.64
8.	CB 3 S	13.58 \pm 1.38	14.00 \pm 3.03	25.67 \pm 1.82	22.08 \pm 1.90
9.	TR 1 S	13.98 \pm 1.80	14.32 \pm 2.23	27.20 \pm 1.72	24.07 \pm 1.47
10.	TR 2 S	14.15 \pm 1.57	14.62 \pm 2.88	26.42 \pm 1.73	23.15 \pm 1.83
11.	CP 1 F	14.03 \pm 1.36	14.64 \pm 2.80	29.15 \pm 2.402	25.40 \pm 2.65
12.	CP 2 F	14.33 \pm 1.42	15.96 \pm 2.86	26.88 \pm 2.10	23.46 \pm 2.34
13.	CP 3 F	14.38 \pm 1.73	16.58 \pm 2.14	29.00 \pm 1.32	25.29 \pm 2.09
14.	CP 4 F	14.32 \pm 1.22	15.60 \pm 2.12	26.45 \pm 2.01	22.98 \pm 1.75
15.	CP 5 S	13.58 \pm 1.42	13.58 \pm 2.07	28.25 \pm 1.90	24.08 \pm 1.83
16.	CP 6 S	13.96 \pm 1.40	13.33 \pm 2.19	26.58 \pm 1.64	24.17 \pm 1.84
17.	ST 1 S	12.60 \pm 1.75	10.28 \pm 1.99	27.28 \pm 1.90	22.58 \pm 2.49
18.	ST 2 S	13.68 \pm 1.32	13.05 \pm 2.20	29.78 \pm 2.18	25.95 \pm 2.31
19.	ST 3 S	13.25 \pm 1.34	14.58 \pm 2.48	25.85 \pm 2.36	22.52 \pm 2.09
20.	ST 4 S	14.22 \pm 1.51	15.90 \pm 1.91	26.70 \pm 1.61	23.05 \pm 2.10
21.	ST 5 S	13.38 \pm 1.48	15.32 \pm 2.69	26.45 \pm 2.47	21.82 \pm 2.05
22.	ST 6 S	12.72 \pm 1.69	11.28 \pm 2.06	25.90 \pm 2.07	21.50 \pm 2.27
23.	ST 7 S	14.55 \pm 1.65	13.30 \pm 2.45	30.45 \pm 2.27	25.78 \pm 2.56
24.	SK 1 S	13.59 \pm 1.51	13.71 \pm 2.36	25.98 \pm 1.49	22.54 \pm 1.69
25.	SK 2 S	13.02 \pm 0.96	14.27 \pm 1.64	25.44 \pm 1.14	22.34 \pm 1.36

1 Paired cultures were incubated at 25 \pm 2 °C in the dark for 1 mo.

2 Average of 50 gametangia and oospores \pm standard deviation

chlamydospores มีลักษณะกลม ผ่องใส เกิดปลายเส้นใย หรือระหว่างเส้นใย และไม่หลุดจากเส้นใย

การศึกษาลักษณะการเจริญ ตลอดจนรูปร่างของ *Phytophthora* ที่แยกได้ทั้ง 25 ไอโซเลท ไม่พบว่ามีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์จากการผสมพันธุ์ทางเพศ (oospore) ในอาหารเลี้ยงเชื้อเดี่ยวๆ แสดงว่า *Phytophthora* ทุกไอโซเลท เป็น heterothallic ผลการทดสอบหา mating type ของแต่ละไอโซเลท พบว่าเป็น mating type A1 ทั้งหมด ซึ่งยืนยันผลการศึกษาของ Takahito และคณะ(1978) ว่า *P. palmivora* ของทุเรียนเป็น mating type A1 ในการศึกษา mating type ของ *P. palmivora* สาเหตุของโรคพืชอื่นๆ เช่น โรคผลเน่าดำของโกโก้ จากการศึกษาทั้งหมด 48 ไอโซเลท พบว่าเป็น mating type A2 ถึง 46 ไอโซเลท เป็น mating type A1 เพียง 2 ไอโซเลท (Kaosiri et al., 1978) โรครากเน่าของชัยพฤกษ์และหูกวาง พบว่าเป็น A1 และ A2 ตามลำดับ (อุบลและคณะ, 2526) โรคผลเน่าของมะพร้าว พบว่าเป็น A2(อุบลและคณะ,2530) จากการตรวจเอกสารพบว่าการศึกษาโรคที่มี *Phytophthora* เป็นสาเหตุ มักไม่ศึกษา mating type ของเชื้อ เช่น โรคลำต้นเน่ามะละกอ (กรรณิการ์และคณะ, 2529) โรคใบไหม้ของใบเงิน ใบทอง ชวนชม และโรคโคนเน่าของโบทัน(นิยมและคณะ, 2544) โรครากเน่าของปอแก้วไทย (อัญชลี, 2522) เหตุผลที่ไม่ศึกษา mating type อาจเป็นเพราะไม่มี mating type มาตรฐานที่จะนำมาใช้ผสมกับเชื้อราทดสอบ

ในการศึกษา mating type ผลที่ได้คือเซลล์สืบพันธุ์ oogonia, antheridia, oospores

ซึ่งบางครั้งอาจใช้ประโยชน์จากลักษณะ รูปร่างของเซลล์สืบพันธุ์เป็นลักษณะอีกลักษณะหนึ่งที่ใช้จำแนกชนิดของ *Phytophthora* ได้ (Waterhouse,1963) ตำแหน่งของ antheridia อยู่ตรงส่วนไหนของ oogonia ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า ฝักของ oogonia เรียบ antheridia อยู่ด้านใต้ หรือฐานของ oogonia เป็นแบบ amphigynous antheridium ซึ่งเป็นลักษณะประจำของ *P. palmivora* และยังพบว่า *Phytophthora* ทุเรียน ไอโซเลททั้งหมดเป็น mating type A1 เหมือนกับที่ Takahito และคณะ (1978) ได้รายงานไว้ นับเป็นการต้ออย่างยิ่งที่ยังไม่พบ mating type A2 แต่ถ้าหากมี mating type A2 อยู่ในธรรมชาติสวนทุเรียนแห่งใดแห่งหนึ่ง อาจจะทำให้เกิดปัญหากับการผันแปรทางพันธุกรรมของ *P. palmivora* เช่นเดียวกับที่เกิดขึ้นใน *P. palmivora* สาเหตุโรคผลเน่าโกโก้ที่มี races หรือ pathotypes ทำลายพันธุ์โกโก้ (Gregory, 1974)

สรุปผลการทดลอง

ความผันแปรของลักษณะการเจริญ ลักษณะรูปร่างและขนาด sporangia ของ *P. palmivora* ทั้ง 25 ไอโซเลท สามารถนำมาแบ่งกลุ่มของความผันแปรดังกล่าวออกเป็น 2 กลุ่ม โดยอาศัยอัตราความยาวต่อความกว้างของ sporangia ทั้งกลุ่มอาจมีความแตกต่างในความสามารถที่ทำให้เกิดโรคกับพันธุ์ทุเรียน นอกจากนั้นยังพบความผันแปรจำนวนและขนาดของ gametangia และ oospores ในบางไอโซเลท พบว่าไอโซเลททั้งหมดเป็น mating type A1 ในอนาคตควรศึกษาและวิจัยในระดับโมเลกุล

(DNA, RFLPs) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ยืนยันความเหมือนหรือความใกล้ชิดของบาง races หรือ pathotypes หรือ biotypes และ species ของ *Phytophthora* ฉะนั้นเพื่อให้การศึกษาความผันแปรของ *P. palmivora* ทุเรียนไอโซเลทต่างๆ มีความถูกต้องสมบูรณ์และเป็นประโยชน์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนให้ต้านทานต่อโรคนั้น ควรจะต้องรวบรวมและเพิ่มจำนวนไอโซเลท *Phytophthora* ให้มากขึ้น

คำนิยาม

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี และศูนย์วิจัยหม่อนไหมศรีสะเกษ ที่อนุเคราะห์ยานพาหนะในการเดินทางไปสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคเน่าทุเรียนในสวนเกษตรกร ไว้ ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ เพ็ญภักตร์, วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2529. รวบรวมและจำแนกเชื้อราต่างๆ ที่เป็นสาเหตุโรคมะละกอ. รายงานผลการทดลอง ประจำปี พ.ศ. 2529 กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 26-37.

ขจรศักดิ์ ภาวกุล และวินิต แจ้งศรี. 2509. โครงการศึกษาโรครากเน่าของทุเรียน. รายงานประจำปี 2509. กองพืชพันธุ์กรรมกลุกรรม. หน้า 204.

ขจรศักดิ์ ภาวกุล และวินิต แจ้งศรี. 2510.

การศึกษาโรครากเน่าของทุเรียน. รายงานประจำปี พ.ศ. 2510. กองพืชพันธุ์กรรมกลุกรรม. หน้า 103-106.

ขจรศักดิ์ ภาวกุล. 2543. การบรรยายทางวิชาการ โรครากเน่า-โคนเน่าทุเรียน. *Phytophthora palmivora*. หน้า 26-40. ใน เอกสารประกอบการสัมมนาวิทยุหุดการระบาดของโรครากเน่าและโคนเน่าทุเรียน สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

นิยม ไช้มุข, อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และธารทิพย์ ภาสบุตร. 2544. โรคของไม้ประดับ. *ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา*. 11 (2): 34-38.

นิรนาม. 2537. ทุเรียน. รายงานประจำปี 2537. กลุ่มไม้ผล สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. หน้า 38-39.

ทวี เก่าศิริ. 2532. หลักการป้องกันกำจัดไฟทอปทอราโรครากและโคนเน่า. เทคนิคและกลยุทธ์ในการต่อสู้โรคทุเรียนและพริกไทย. หน้า 1-8. ใน เอกสารประกอบการบรรยายในการอบรมเกษตรกร สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย ณ โรงแรมอีสเทอร์น จังหวัดจันทบุรี วันที่ 1 กรกฎาคม 2532.

ทวี เก่าศิริ. 2543. ราเชื้อโรคทุเรียน: *Phytophthora palmivora*. หน้า 76-92. ใน เอกสารประกอบการสัมมนา วิทยุหุดการระบาดของโรครากเน่าและโคนเน่าทุเรียน สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

ทวี เก่าศิริ. 2545. อนุกรมวิธานรา *Phytophthora* (Taxonomy of *Phytophthora*). เอกสาร

- ประกอบการเรียนการสอนวิชาอนุกรมวิธานรา ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 30 หน้า.
- ทวี เก่าศิริ, ชุตินันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และสมภาค สิทธิพงศ์. 2529. ปฏิกริยาของฝ้ายบางพันธุ์ต่อโรคสมอเน่า. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2529. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชเส้นใย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 64-72.
- พรณี วิชชาชู. 2544. เตือน.....จับตาออสเตรเลียโคนแซมบ์ทุเรียนไทย. เกษตรไทยโพสต์, เอ็กซ์ไซท์, ไทยโพสต์. 4 พฤษภาคม 2544.
- สุชาติ วิจิตรานนท์. 2541. โรคไม้ผลและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 101 หน้า.
- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ และพจนา ตระกูลสุรรัตน์. 2545. ความผันแปรของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนจากแหล่งปลูกต่างๆ ของประเทศไทย. รายงานผลการทดลองประจำปี พ.ศ. 2545 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- อุบล คือประโคน, อัญชลี เชียงกุล, สมศักดิ์ เสี่ยงก้อน, สุชาติ วิจิตรานนท์, วิเชียร กำจายภัย และสัจชัย ดันตยาภรณ์. 2526. รวบรวมและจำแนกชนิดเชื้อรา *Phytophthora* จากพืชเป็นโรคชนิดต่างๆ ในประเทศไทย. รายงานผลการทดลองประจำปี พ.ศ. 2526. เล่มที่ 1 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 40-53.
- อุบล คือประโคน, พัชรา โพธิ์งาม, สมศักดิ์ เสี่ยงก้อนและวิรัช ชูบำรุง. 2530. โรคผลเน่าของมะพร้าวเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora*. รายงานผลการวิจัยประจำปี พ.ศ. 2530. กลุ่มงาน วิทยาไมคอกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 41-51.
- อัญชลี เชียงกุล. 2522. การศึกษาโรครากเน่าของปอแก้วไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 98 หน้า.
- Chee, K.H. 1969. Hosts of *Phytophthora palmivora*. *Rev. Appl. Mycol.* 48 : 337-344.
- Erwin, D. C., and O. K. Ribeiro. 1996. *Phytophthora Diseases Worldwide*. APS Press, St. Paul., MN., USA. 592 p.
- Gregory, P. H. 1974. Prospects. Pages 301-308. In : P.H. Gregory. (ed.); *Phytophthora Disease of Cacao*. Longman Groups Limited. London, Great Britain.
- Kaosiri, T. 1978. Morphological, Taxonomic, and Cytological Studies of *Phytophthora palmivora*. Ph.D. Thesis University of California. California. 148 p.
- Kaosiri, T; G. A. Zentmyer and D. C. Erwin. 1978. Stalk length as a taxonomic criterion for *Phytophthora palmivora* isolates from cacao. *Canada Journal of Botany* 56 : 1730-1738.

- Kaosiri, T; G. A. Zentmyer and D. C. Erwin. 1980. Oospore morphology and germination in the *Phytophthora palmivora* complex from cacao. *Mycologia* 72 : 888-907.
- Stamps, D.J., G. M. Waterhouse, F. J. Newhook and G. S. Hall. 1990. Revised Tabular Key to the Species of *Phytophthora*. Mycological Papers No. 162. CB. International Mycological Institute. 28 p.
- Takahito S., U. Kueprakone and T. Kamhangridthirong. 1978. Mating types of *Phytophthora palmivora*, *P. nicotianae* var. *parasitica* and *P. botryosa* in Thailand. *Trans. Mycol. Soc. Japan* 19 : 261-267.
- Waterhouse, G. M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Commonwealth Mycol. Inst. Mycol. Paper No. 92. 22 p.
- Zentmyer, G. A. 1980. *Phytophthora cinnamomi* and the disease it causes. Monograph No. 10 Am. Phytopathol. Soc. 96 p.