

การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *Phytophthora capsici*
 [(Leonian) emend. A. Alizadeh and P. H. Tsao] Tsao } Mchan and
 Coffey

Study on Biology and Ecology of *Phytophthora capsici*

อมรรัตน์ ภูไพบูลย์^{1/} ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี^{2/} พีระวรรณ พัฒนวิภาส^{2/}

^{1/}ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริก ระหว่าง เดือนตุลาคม 2553 - เดือนกันยายน 2555 จาก จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน เพชรบูรณ์ ตากและศรีสะเกษ เพื่อศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *Phytophthora capsici* พบโรครากเน่าโคนเน่าพริกหวานหรือพริกยักษ์ โรครากเน่าโคนเน่าพริกชี้หู โรครากเน่าโคนเน่ามะเขือยาว โรครากเน่าโคนเน่าพริกชี้หู และโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม เมื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้รา *Phytophthora* sp. จำนวน 14 ไอโซเลท ราทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยวทั้งต้น ตั้งแต่ยอด ใบ และผล รากและโคนต้นถูกทำลาย เกิดอาการรากเน่า โคนเน่า และทำให้เกิดอาการเน่าคอดิน ราสร้างเส้นใยที่เจริญได้ดีบนอาหารวุ้นแครอท และ สร้างสปอร์จำนวนมากบนอาหารแข็ง เมื่อสปอร์มีอายุมากขึ้นจะหลุดออกจากก้านชูสปอร์ได้ง่าย โดยมีก้านสปอร์ขนาดยาวติดอยู่ด้านบนของสปอร์มีส่วนเปิดสำหรับเป็นทางออกของสปอร์ที่มีหางและว่ายน้ำได้ เติบโต รา *P. capsici* ทำให้พืชทดสอบ ได้แก่ พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกชี้หู มะเขือเทศ ตำลึง และเสี้ง เป็นโรคแผลขยาย 10-20 มิลลิเมตร แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ

คำหลัก : ชีววิทยา, นิเวศวิทยา, รา *Phytophthora capsici*, พืชอาศัย

คำนำ

พริกเป็นพืชที่มีความสำคัญทั้งในทางเศรษฐกิจ และวิถีชีวิตของไทย สามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศ ในประเทศไทยนิยมปลูกพริก 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม *Capsicum annum* เช่น พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า และกลุ่ม *C. frutescens* ที่เป็นกลุ่มพริกชี้หู เช่น พริกชี้หูสวน และพริกชี้หูใหญ่

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-05-54

รา *Phytophthora capsici* ได้รับการรายงานครั้งแรกโดย Leonian ในปี ค.ศ. 1922 เป็นสาเหตุโรครไหม้ของพริก (*Capsicum annuum* L.- Chilli peppers, chili, chile หรือ chilli) ในรัฐนิวเม็กซิโก สหรัฐอเมริกา และเป็นสาเหตุโรครอื่น ๆ ซึ่งเรียกตามอาการของพืชที่ผิดปกติไป เช่น โรครค้ำเหี่ยว (*Phytophthora blight*) เน่าคอดิน (*damping-off*) รากเน่า โคนเน่า ผลเน่า (*Phytophthora root rot, crown rot* และ *stem and fruit rot*) มีรายงานว่าเป็นสาเหตุของโรครพืชอีกหลายชนิดคือ พริกหวาน หรือ พริกยักษ์ (*sweet pepper* หรือ *bell pepper*) มะเขือ ผ่าย พริกไทยดำ โกลโก้ มะเขือเทศ ผลมะเขือ สมอผ่าย พริกไทยดำ โกลโก้ มะเขือเทศ เป็นต้น (Erwin and Ribeiro, 1996)

โรครเหี่ยวในพริกที่เกิดจากรา *P. capsici* เป็นโรครที่สำคัญ เข้าทำลายและทำให้สูญเสียผลผลิตเป็นจำนวนมากในแต่ละปี การจัดการป้องกันและกำจัดโรครเป็นผลให้เกษตรกรต้องใช้สารเคมีและแรงงานในการผลิตเพิ่มขึ้น เกิดผลเสียต่อสุขภาพสิ่งแวดล้อม และเพิ่มต้นทุนในการผลิต ทำให้ได้ผลตอบแทนลดลง และยังส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคที่มีความเสี่ยงต่อการได้รับสารพิษตกค้างจากผลิตผล ตลอดระยะเวลากว่า 30 ปีที่มีการรายงานและศึกษาวิจัยเพื่อแก้ไขปัญหาโรครนี้ในประเทศไทยพบว่าข้อมูลทางชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรามีน้อย หรือแทบไม่มีเลย ข้อมูลส่วนใหญ่มักเป็นการศึกษาการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคร ซึ่งเป็นการแก้ไขที่ปลายเหตุทำให้การป้องกันกำจัดโรครไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร การศึกษาวิจัยทางด้านชีววิทยาและวงจรชีวิตของรามีนจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง เพื่อให้สามารถติดตามหาแหล่งที่อยู่อาศัยเริ่มแรก (อาศัยข้ามฤดู) ของรามิที่เป็นต้นกำเนิดการแพร่กระจายของรามิ จากจุดเล็กๆ ที่จะนำไปสู่การแพร่ระบาด ทำลายผลิตผลของพืชอย่างรุนแรงในเวลาต่อมาได้ และรามิอยู่ในสภาพอย่างไรบนเศษซากของ ใบ กิ่ง ผล ที่เป็นโรคร หรืออาจอยู่ในพืชอาศัย ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจ หรือ/และวัชพืชที่เกิดบริเวณสวนลำไย จึงควรมีการศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยา รา *P. capsici* สาเหตุของโรครเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาการป้องกันกำจัดโรครอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

1. การเก็บ รวบรวมตัวอย่างโรครเหี่ยวของพริกและการแยกเชื้อสาเหตุ

ได้เก็บและรวบรวม และเก็บตัวอย่างโรครเหี่ยวของพริกระหว่าง ตุลาคม 2553 - กันยายน 2555 นำตัวอย่างโรครพืชเหล่านั้นมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ในวันเดียวกัน โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (*Tissue transplanting*) ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรครกับเนื้อเยื่อปกติ เป็นชิ้นส่วนขนาด 2x2 มิลลิเมตร ตัวอย่างละ 15-20 ชิ้น เลี้ยงบนอาหารวุ้นมันฝรั่งผสม พี อาร์ เอ็น เอ พี (PDA + BRNAP) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ (*Selective media*) (Masago *et al.*, 1972) เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นตัวอย่างเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะอีกครั้ง เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นเชื้อ เลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท (*Carrot agar*) (Kaosiri *et al.*,

1978) แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลอง ศึกษารายละเอียดของเชื้อสาเหตุเหล่านั้น ที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

2. การศึกษาลักษณะอาการของโรคเหี่ยวของพริกและการเกิดโรค

ศึกษารายละเอียดลักษณะอาการของโรคเหี่ยวของพริก สภาพแวดล้อมของการเกิดโรค และการปฏิบัติดูแลของเกษตรกร

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของ รา *Phytophthora* sp. โรคเหี่ยวของพริก

3.1 ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (ลักษณะโคโลนี) ของเชื้อ

เลี้ยงรา *Phytophthora* ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ที่มีอาหารวุ้นมันฝรั่ง และอาหารวุ้นแครอท จำนวน 15 มิลลิเมตร เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย ใช้ เครื่องเจาะรู (Cork borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อซึ่งเลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท นาน 5 วัน วางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบนอาหารบริเวณกลางจานเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มในตู้บ่มมืดอุณหภูมิห้อง จนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ศึกษาบันทึกลักษณะการเจริญที่ผิวหน้าอาหารและความหนาแน่นของเส้นใย

3.2 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา

นำรา *Phytophthora* ในจานเลี้ยงเชื้อ ที่มีอาหารวุ้นแครอท จำนวน 15 มิลลิเมตร ที่บ่มในตู้บ่มมืดนาน 72 ชั่วโมง นำไปไว้ใต้แสงนีออน (White cool) 40 วัตต์ 2 หลอดระยะ 30 เซนติเมตรที่ให้แสง 200 แสงเทียน (Foot candle ftc) ที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยให้โตแสงนาน 48 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อสร้าง สปอร์แรงเจีย (Sporangia) ศึกษาและบันทึกลักษณะการแตกแขนงของก้านสปอร์ (Sporangiophores) วัดความยาว (Length) และความกว้าง (Breadth) ของ สปอร์แรงเจีย เพื่อหาอัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง วัดความยาวของก้านสปอร์ (Pedicel หรือ Stalk) ความยาวของปาปิลลา (Papilla) และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ คลาไมโดสปอร์ (Chlamydospore) ศึกษาสปอร์ทั้ง 2 ชนิด จำนวนตัวอย่างละ 50 สปอร์

3.3 ศึกษาแบบคู่ผสม (Mating type) ของรา

เลี้ยงรา *Phytophthora* แต่ละไอโซเลท บนอาหารวุ้นแครอท วิธีการเดียวกับ ข้อ 3.1 จากนั้นใช้ เครื่องเจาะรู ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของ เชื้อดังกล่าว (Unknown) เลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท ในจานเลี้ยงเชื้อด้านตรงข้ามกับรา *P. palmivora* มาตรฐานที่ทราบแบบคู่ผสมแล้ว คือ Mating type A1 (*P. palmivora* สาเหตุโรคผลเน่าลำไย) แล้วทำวิธีการเดียวกันกับรา *P. palmivora* มาตรฐาน Mating type A2 (*P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าแก้วหน้าม้า) เพื่อหา แบบคู่ผสม ของราทุกไอโซเลท นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด นาน 7-10 วัน ศึกษาและบันทึกการสร้าง Sexual structure ของเชื้อ Unknown กับ A1 หรือ A2

มาตรฐาน วัดขนาด (ความยาวและความกว้าง) ของ โอโอโกเนีย (Oogonia), โอโอสปอร์ (Oospores) และ แอนเธอริเดีย (Antheridia) จำนวนโอโอไซเลทละ 50 สปอร์ ศึกษาตำแหน่งของ แอนเธอริเดีย บน ผิวของ โอโอโกเนียม (Oogonium) และลักษณะของ โอโอสปอร์ (Oospore) ที่อยู่ภายในแต่ละ โอโอโกเนียม

4. การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ โดยวิธีการทำสปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium culture)

นำรา *Phytophthora* บริสุทธิ์จากตัวอย่างโรคที่เก็บจากแหล่งต่างๆ ในข้อ 1 แต่ละตัวอย่าง ในหลอดทดลอง มาเลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท ตัวอย่างละ 3 ซ้ำเก็บไว้ในที่มืด 72 ชั่วโมง นำไปไว้ใต้ แสงนีออน ที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยให้แห้ง 24-48 ชั่วโมง ใช้เข็มเย็บ (Loop) ลงในฟองน้ำ เชื้อใน น้ำกลั่นหนึ่ง นำมาแตะบนปลายเส้นใย ซึ่งได้ สปอร์แรงเจียม จำนวนมาก นำไปเปียให้กระจาย (Streak) บนอาหารวุ้น (WA) แล้วส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์ขนาดกำลังขยาย 10 x 10 เพื่อหา สปอร์แรงเจียม เดี่ยว (Single sporangium) ตักสปอร์เดี่ยวดังกล่าววางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 จุดต่อ 1 จาน เลี้ยงบน อาหารวุ้นแครอท ปริมาณ 15 มิลลิเมตรในจานเลี้ยงเชื้อ ป่มไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 72 ชั่วโมง ตัดขอบ โคลนินของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากสปอร์เดี่ยวนั้น นำไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท แยกเก็บเชื้อ บริสุทธิ์แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลอง

5. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรค เหี่ยว

ของพริกที่แยกได้

เลี้ยงราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ บนอาหารวุ้นแครอท ที่อุณหภูมิห้อง ใช้ เครื่องเจาะรู ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ลงฟองน้ำแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคลนินของเชื้อ นำไปปลูก เชื้อ โดยวิธีเด็ดใบ (Detached leaf) ใช้ใบพริกกระยะใบเฟสลาด ที่ปลายของก้านใบพันด้วยสำลีชุบน้ำ กลั่น เพื่อให้ใบสดอยู่เสมอ ปลูกเชื้อที่แยกได้ ใช้ เครื่องเจาะรู ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ ลงฟองน้ำแล้ว เจาะทำแผลบนบริเวณกลางใบพริก วางเส้นใยบนอาหารวุ้นคว่ำลงบนใบที่ทำแผล จากนั้นใช้สำลีชุบน้ำวางบนชิ้นอาหารวุ้นดังกล่าวเพื่อให้ความชื้น วางใบพริกในกล่องพลาสติกปิดฝา เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 3 วัน นำใบพริกที่แสดงอาการเป็นโรค ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรค กับเนื้อเยื่อปกติไปแยกเชื้อบริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่ง แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทในหลอดทดลอง

6. ศึกษาความรุนแรงของรา *P. capsici* บนพืชชนิดต่างๆ

เลี้ยงรา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ บนอาหารวุ้นแครอท ที่ อุณหภูมิห้อง ปลูกเชื้อบนพืชชนิดต่างๆ คือปลูกเชื้อแก่ ใบพืชทดสอบ 14 ชนิด ซึ่งเป็นพืชที่ปลูกใน บริเวณที่ปลูกพริก และพืชอื่นได้แก่ ทุเรียน (หมอนทอง) มะละกอ (แขกดำ) มะเขือเปราะ มะเขือพวง มะเขือยาว มะเขือม่วง พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกชี้หนู มะเขือเทศ กระเจี๊ยบ และวัชพืชที่

พบในบริเวณปลูกพริก ได้แก่ เสิ้ง และตำลึง ทดสอบกับใบพืชชนิดละ 10 ใบ หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลบนใบพืชที่แสดงอาการเป็นโรค แล้วตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคร่วมกับเนื้อเยื่อปกติไปแยกเชื้อบริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่ง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บ รวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริกและการแยกเชื้อสาเหตุ

ผลการเก็บและรวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริกระหว่าง ตุลาคม 2553 - กันยายน 2555 พบโรคพืชที่มีสาเหตุจากรา *Phytophthora* spp. แยกเชื้อบริสุทธิ์ ได้รา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหวานหรือพริกยักษ์ 4 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกชี้หู 1 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่ามะเขือยาว 1 ไอโซเลท จากเชียงใหม่ สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกชี้หู จากจังหวัดลำปาง และลำพูน จังหวัดละ 1 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม 2 ไอโซเลท จากเพชรบูรณ์ สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม 2 ไอโซเลท จากจังหวัดตาก สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม และพริกชี้หู อย่างละ 1 ไอโซเลท จากจังหวัดศรีสะเกษ รวมทั้งหมด 14 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 รา *Phytophthora capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกจากแหล่งปลูกต่าง ๆ

ที่	ไอโซเลท	พืช	แหล่งปลูกที่เก็บตัวอย่าง
1.	53 ¹ -Bp ² -CM ³ 1 ⁴ S ⁵	พริกหวาน	นางจันทร์เพ็ญ มูลป้านัน
2.	53-Bp-CM 2 R		หมู่ 3 บ้านม่วงคำ อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่
3.	53-Bp-CM 3 S	พริกหวาน	นายต่อม เหล่าเสื่อ บ้านเลขที่ 4 หมู่ 3 บ้านม่วงคำ
4.	53-Bp-CM 4 R		ตำบลโป่งแยง อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่
5.	54-Ch-CM 1 S	พริกชี้หู	ตำบลสบเมิง อำเภอมะแตง จังหวัดเชียงใหม่
6.	54-Ep-CM 1 F	มะเขือยาว	ตำบลช่างเคิ่ง อำเภอมะแจ่ม จังหวัดเชียงใหม่
7.	54-Ch-Lp 1 S	พริกชี้หู	อำเภอมือง จังหวัดลำพูน
8.	54-Ch-Lpa 1 S	พริกชี้หู	อำเภอมือง จังหวัดลำปาง
9.	54-Ch-PB 1 S	พริกหนุ่ม	อำเภอมือง จังหวัดเพชรบูรณ์
10.	54-Ch-PB 2 S	พริกหนุ่ม	อำเภอมือง จังหวัดเพชรบูรณ์
11.	55 Ch Tak 1 S	พริกหนุ่ม	อำเภอมะสอด จังหวัดตาก
12.	55 Ch Tak 2 S	พริกหนุ่ม	อำเภอบพพระ จังหวัดตาก
13.	55 Ch Sk 1 S	พริกชี้หู	อำเภอมือง จังหวัดศรีสะเกษ
14.	55 Ch Sk 2 S	พริกหนุ่ม	อำเภอบพพระ จังหวัดศรีสะเกษ

หมายเหตุ

- 1 ตัวเลข 2 ตัวแรก = ปี พ.ศ. ที่แยกรา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพืชได้
- 2 อักษร 2 ตัวแรก = รา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าที่แยกได้จากพืชชนิดต่างๆ
 - Bp = พริกหวาน พริกยักษ์ (Bell pepper)
 - Ch = พริกชี้หู พริกหนุ่ม (Chili)
 - Eg = มะเขือ (Egg-plant)
- 3 อักษร 2/3 ตัวถัดมา = อักษรย่อชื่อจังหวัดภาษาอังกฤษที่เก็บไอโซเลทเชื้อ
 - CM = เชียงใหม่ (Chiang Mai)
 - LP = ลำพูน (LamPung)
 - LPa = ลำปาง (Lam Pang)
 - PhB = เพชรบูรณ์ (PhetchaBun)
 - Tak = ตาก (Tak)
 - Sk = ศรีสะเกษ (Sisaket)
- 4 ตัวเลข = ไอโซเลทของเชื้อที่เก็บได้ในจังหวัดนั้น
- 5 อักษร 1 ตัวหลัง = ส่วนของพืชที่แยกเชื้อสาเหตุได้
 - S = ลำต้น (Stem)
 - R = ราก (Root)
 - F = Fruit

เช่น 53¹-Bp²-CM³ 1⁴ S⁵ คือ รา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหวานจากจากจังหวัดเชียงใหม่ ไอโซเลทที่ 1 แยกได้จากลำต้น

2. การศึกษาลักษณะอาการของโรคเหี่ยวของพริกและการเกิดโรค

2.1 พริกที่ปลูกในสภาพโรงเรือน

พบพริกที่ปลูกในสภาพโรงเรือน ได้แก่ พริกหวานหรือพริกยักษ์ ที่อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งปลูกบริเวณหุบเขา เกษตรกรส่วนใหญ่เป็นชาวเขา เข้าโรงเรือนกางมุ้งสำหรับปลูกพริกหวาน มีรายได้ดี เพราะพริกหวานมีราคาน่าพอใจ การปลูกทำโดยเพาะกล้าประมาณ 1 เดือน จึงแยกลงปลูกในถุงดำสำหรับเพาะชำ วางเรียงเป็นแถวในโรงเรือน การให้น้ำใช้ระบบน้ำหยด พริกหวานจะเริ่มติดผลหลังปลูก 45-60 วัน จึงเก็บเกี่ยวผลภายหลังติดผล มีอายุการเก็บเกี่ยวรวม 6 เดือน ในพื้นที่ 1 ไร่ ปลูกได้ประมาณ 4000 ต้น ช่วงเวลาที่ไปเก็บตัวอย่างประมาณเดือนสิงหาคม เกษตรกรกำลังทยอยเก็บเกี่ยวผลผลิต ได้พบพริกหวานผลโต สีสวย ติดอยู่บนต้น ส่วนด้านในโรงเรือน พบพริกหวานต้นโตแสดงลักษณะอาการเหี่ยวทั้งต้น ตั้งแต่ยอด ใบ และผลจำนวนมากหลายสิบต้น เมื่อถอนลำต้นพริกหวานที่เป็นโรคขึ้นดู พบว่าบริเวณรากและโคนต้นถูกทำลาย เกิดอาการรากเน่า โคนเน่า เมื่อผ่าดูลำต้นตามยาวบริเวณโคนที่เน่า พบว่าเนื้อเยื่อของลำต้นเป็นสีน้ำตาล เกิดการเน่าแบบไม่มีกลิ่น พริกหวานนี้ น่าจะเกิดโรครากเน่าโคนเน่าจากรา *Phytophthora* ซึ่งมักพบอาการของโรคเกิดขึ้นที่โคนลำต้นบริเวณติดกับดินก่อน เกิดเป็นแผลสีน้ำตาลดำขยายลุกลามขึ้นไปตามลำต้น การปฏิบัติดูแลของเกษตรกร นั้น ได้ทิ้งต้นพริกเป็นโรคไว้ในโรงเรือน โดยเฉพาะบริเวณด้านริมของโรงเรือน ที่มีการกระเซ็นของน้ำฝนจากหลังคาโรงเรือน และนำเศษซากพริกที่เป็นโรคไปกองสุมไว้ข้างโรงเรือน ทำให้เป็นแหล่งสะสมเชื้อและแหล่งแพร่ระบาดของโรค

2.2 พริกที่ปลูกในสภาพไร่

พบว่า รา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริก หรือ *Phytophthora blight* สามารถเข้าทำลายพืชที่ปลูกในสภาพไร่ ได้แก่ พริกขี้หนู ในระยะกล้า ที่จังหวัดลำพูน ลำปาง และศรีสะเกษ ทำให้เกิดโรคเน่าคอดิน และเข้าทำลายพริกหนุ่ม ที่จังหวัดเพชรบูรณ์ ตาก และศรีสะเกษ ในระยะต้นโตทั้งราก ลำต้น ใบ และผล มักทำให้เกิดอาการเหี่ยวของพริกในระยะกำลังออกผลแล้วตายทั้งต้น ใบที่เกิดโรคแสดงอาการจุดเล็กๆ สีเขียวเข้ม ลำต้นที่ถูกทำลายแสดงอาการใบเหี่ยว ผลมีลักษณะฉ่ำน้ำ เนื้อผลเป็นสีเข้มดำ หากเกิดรุนแรง เชื้อเข้าทำลายเมล็ดได้ด้วย

Erwin and Ribeiro (1996) รายงานว่า ในปี ค.ศ. 1922 Leonian เป็นคนแรกที่รายงาน รา *P. capsici* เป็นสาเหตุโรคใหม่ของพริก (*Capsicum annum*L.-Chili pepper) ในรัฐนิวเม็กซิโก สหรัฐอเมริกา และต่อมามีรายงานการเป็นสาเหตุของโรคพืชอีกหลายชนิด เช่น ผลมะเขือ สมอฝ้าย พริกไทยดำ โกโก้ มะเขือเทศ เป็นต้น (Erwin and Ribeiro, 1996) สำหรับในประเทศไทย ในปี ค.ศ. 1977 Tsao และ Tummakate รายงานการจำแนกชนิดรา *Phytophthora* บน พริกไทยดำ (Black pepper) ต่อมา Kobayashi และคณะ (1978) ได้ศึกษาราสเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ (Economic plants) ของประเทศไทย ที่อาศัยอยู่ในดิน (Soil borne diseases) โดยเฉพาะ รา *Phytophthora* รายงานการพบ การระบาดของ รา *P. capsici* บนพริกและพริกไทย ในปี พ.ศ. 2548 อมรรรัตน์ และ

คณะ พบการระบาดของโรคเหี่ยวของพริกหวาน หรือพริกยักษ์ มีสาเหตุจาก รา *P. capsici* และพบยัง การระบาดของโรคบน พริกขี้หนูและพริกหนุ่ม อีกด้วย (อมรรัตน์, 2552)

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของ รา *Phytophthora* sp. โรคเหี่ยวของ พริก

3.1 ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (ลักษณะโคโลนี) ของเชื้อ

ลักษณะการเจริญเติบโตของ รา *P. capsici* ในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ การเจริญของ เส้นใย (Culture pattern หรือ Colony pattern) บนอาหารแข็ง คืออาหารวุ้นมันฝรั่ง และอาหารวุ้น แครอท ซึ่งบ่มในตู้บ่มมีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าการสร้างเส้นใยบนอาหารแข็ง มีลักษณะ การเจริญเป็นเส้นตรง มีกิ่งก้านแยกออกไปสม่่าเสมอค่อนข้างเป็นระเบียบ เส้นใยค่อนข้างฟูลักษณะใส ไม่มีสี ไม่มีผนังกันเส้นใย ผิวผนังเส้นใยเรียบ (Smooth) ไม่มีการโป่งพอง ทำให้เกิดลักษณะรูปแบบเป็น แฉกคล้ายเส้นใยแมงมุม เชื้อเจริญบนอาหารวุ้นแครอท เต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 5 วัน แต่บนอาหาร วุ้นมันฝรั่ง เชื้อเจริญเติบโตได้ช้ากว่า เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 7 วัน นอกจากนี้ บนอาหารวุ้น แครอท ราสร้างเส้นใยหนาแน่นกว่าและสร้าง สปอร์แรนเจีย (Sporangia) จำนวนมากกว่าบนอาหาร วุ้นมันฝรั่งอีกด้วย

3.2 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา

รา *P. capsici* สร้างสปอร์แรนเจียจำนวนมาก มีรูปร่างแตกต่างหลายแบบ ทั้งเป็นรูปไข่ หรือ รูปค่อนข้างยาว หรือรูปร่างคล้ายไส้เดือนฝอยรากปม ขนาดแตกต่างกัน มีความยาวเฉลี่ย $46.58 \pm 10.58 \mu\text{m}$ ความกว้างเฉลี่ย $37.00 \pm 8.50 \mu\text{m}$ อัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง เท่ากับ 1.26 ต่อ 1 เมื่อสปอร์มีอายุมากขึ้นจะหลุดออกจากก้านชูสปอร์ได้ง่าย โดยมีก้านสปอร์ยาวติดอยู่ ความยาวของ ก้านสปอร์เฉลี่ย $53.33 \pm 58.12 \mu\text{m}$ ด้านบนของสปอร์มีส่วนเปิดสำหรับเป็นทางออกของสปอร์ที่มี ทางและว่ายน้ำได้ เต็มชัด ราสร้างคลามายโดสปอร์จำนวนน้อย บนอาหารวุ้นแครอท มีขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง เฉลี่ย $25.58 \pm 26.45 \mu\text{m}$

3.3 ศึกษา แบบคู่ผสม (Mating type) ของรา

ยังไม่ทำการทดลอง

4. การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ โดยวิธีการทำสปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium culture)

ผลการทำเชื้อบริสุทธิ์จากสปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium culture) ของรา *Phytophthora* ที่แยกได้ เพื่อหาลักษณะการเจริญของเส้นใยบนอาหารวุ้นมันฝรั่ง และอาหารวุ้น แครอท ทำให้ได้เชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในงานทดลอง พบว่าลักษณะการเจริญของเชื้อบริสุทธิ์จากสปอร์ เดี่ยว เหมือนกับที่แยกได้จากลำไยที่เป็นโรคโดยตรงทุกประการ

การทำเชื้อบริสุทธิ์จากสปอร์แรงเจียมเดี่ยว เป็นวิธีการที่ทำได้ง่ายกว่า การทำเชื้อบริสุทธิ์ จากชูสปอร์เดี่ยว (Single zoospore) เนื่องจาก *Phytophthora* ที่แยกได้ มีการผลิต หรือสร้าง

สปอร์แรนเจีย บนผิวอาหารแข็ง โดยเฉพาะบนอาหารวุ้นแครอท และ สปอร์แรนเจีย ที่สร้างบนอาหารวุ้นแครอท หลุดจากก้านชูสปอร์ได้ง่ายและมีก้านสปอร์ยาวอยู่ด้วย ซึ่งตรงกับการทดลองของ Kaosiri et al. (1980) ที่แยก สปอร์แรงเจียมเดี่ยว จากราก *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าของโกโก้

5. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกที่แยกได้

ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ รา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคพริกและมะเขือที่แยกได้ พบว่ารา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากโรคพริก ภายหลังจากปลูกเขื่อนาน 7 วัน ทำให้ใบพริกกระยะเพลลาดเป็นโรค แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้งด้านหลังใบและท้องใบ หลังจากนั้น แผลจะลุกลามไปตาม เส้นใบ มีขนาด และรูปร่างไม่แน่นอน แต่ขยายขึ้นไปตามความยาวของใบมากกว่าความกว้าง

การทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคโดยใช้ใบพริกครั้งนี้ ได้ผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองของ อมรรัตน์และคณะ (2546) ที่ได้ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ปลูก ทดสอบโดยวิธีเด็ดใบ ภายหลังจากปลูกเชื้อโดยการทำให้แผลเป็นเวลา 3 วัน ทำให้ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทองระยะเพลลาด เป็นโรค และการทดลองของ พจนาและอมรรัตน์ (2546) ที่ทดสอบการปลูกเชื้อ *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนในห้องปฏิบัติการ เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับจำแนกระดับความรุนแรงของโรค โดยวิธีเด็ดใบ และได้ผลดีเช่นเดียวกับ การทดลองของ อมรรัตน์และคณะ (2553) ที่ทดสอบปฏิบัติการของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ พบว่าเป็นวิธีการที่เหมาะสม สามารถทดสอบหาพันธุ์/สายพันธุ์หน้าวัวได้เป็นจำนวนมาก ดังนั้นการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคควรทำการทดสอบโดยใช้วิธีเด็ดใบ ซึ่งเป็นวิธีการที่สะดวกและประหยัดเวลาในการศึกษาได้มาก

6. ศึกษาความรุนแรงของรา *P. capsici* บนพืชชนิดต่างๆ

การศึกษาความรุนแรงของรา *P. capsici* บนพืชชนิดต่างๆ พบว่ารา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ทุกไอโซเลท หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน ทำให้ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทอง ใบมะละกอพันธุ์แขกดำ มะเขือเปราะ และมะเขือพวงเป็นโรคน้อย พืชแสดงอาการค่อนข้างต้านทาน แผลขยายน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร ทำให้ใบกระเจี๊ยบ มะเขือยาว และมะเขือม่วง เป็นโรคแผลขยาย 10-20 มิลลิเมตร แต่ทำให้พืชทดสอบ 7 ชนิด ได้แก่ พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกชี้หนู มะเขือเทศ ตำลึง และเสีง เกิดแผลขนาดใหญ่ แผลขยายมากกว่า 20 มิลลิเมตร แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บางแผลแผลขยายใหญ่จนเต็มใบ ด้านหลังใบและท้องใบ แผลขยายใหญ่ขึ้นไปตามความกว้างและความยาวของใบ ลุกลามไปตามเส้นใบ มีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน ดังนั้นพืชทั้ง 7 ชนิดจึงน่าจะเป็นพืชอาศัยของรานี้ได้ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ความรุนแรงของรา *Phytophthora capsici* สาเหตุโรครเหี่ยวพริกบนพืชต่างชนิด

วงศ์/พืช	ความรุนแรงของ รา <i>Phytophthora capsici</i>
BOMBACACEAE (สอาดและคณะ, 2543)	
ทุเรียน (หมอนทอง) <i>Durio zibethinus</i> Linn.	+
CARICACEAE	
มะละกอ (แขกดำ) <i>Carica papaya</i>	+
SOLANACEAE.	
มะเขือเปราะ <i>Solanum xanthocarpum</i> Schrad. & Wendl	+
มะเขือพวง <i>Solanum torvum</i> sw.	+
กระเจี๊ยบแดง <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	++
มะเขือยาว <i>Solanum melongena</i> L.	++
มะเขือม่วง <i>Solanum melongena</i>	++
พริกหวาน <i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>longum</i>	+++
พริกหยวก <i>Capsicum annuum</i> L.	+++
พริกชี้ฟ้า <i>Capsicum annuum</i> Linn. Var <i>acuminatum</i> Fingerh.	+++
พริกชี้หนู <i>Capsicum frutescens</i> Linn.	+++
มะเขือเทศ <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	+++
Cucurbitaceae	
ตำลึง <i>Coccinia grandis</i> Voigt.	+++
MALVACEAE	
เสี้ง, <i>Urena lobata</i> Linn L.	+++

หมายเหตุ

1	—	=	ไม่มีแผล
	±	=	แผลขยาย 1-5 มิลลิเมตร
	+	=	แผลขยาย 5-10 มิลลิเมตร
	++	=	แผลขยาย 10-20 มิลลิเมตร
	+++	=	แผลขยาย 20 มิลลิเมตรขึ้นไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริก พบโรครากเน่าโคนเน่าพริกหวานหรือพริกยักษ์ โรครากเน่าโคนเน่าพริกขี้หนู โรครากเน่าโคนเน่ามะเขือยาว โรครากเน่าโคนเน่าพริกขี้หนู และโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม จาก จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน เพชรบูรณ์ ตากและศรีสะเกษ แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้รา *Phytophthora* sp. จำนวน 14 ไอโซเลท ราทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยวทั้งต้น ตั้งแต่ยอด ใบ และผล รากและโคนต้นถูกทำลาย เกิดอาการรากเน่า โคนเน่า ทำให้เกิดโรคเน่าคอดิน มักทำให้เกิดอาการเหี่ยวของพริกในระยะกำลังออกผลแล้วตายทั้งต้น ใบที่เกิดโรคแสดงอาการจุดเล็กๆ สีเขียวเข้ม ลำต้นที่ถูกทำลายแสดงอาการใบเหี่ยว ผลมีลักษณะฉ่ำน้ำ เนื้อผลเป็นสีเข้มดำ หากเกิดรุนแรงเชื้อเข้าทำลายเมล็ดได้ด้วย ราสร้างเส้นใยที่เจริญได้ดีบนอาหารร่วนแฉะ ลักษณะคล้ายเส้นใยแมงมุม สร้างสปอร์จำนวนมากบนอาหารแข็ง เมื่อสปอร์มีอายุมากขึ้นจะหลุดออกจากก้านสปอร์ได้ง่าย โดยมีก้านสปอร์ยาวติดอยู่ ด้านบนของสปอร์มีส่วนเปิดสำหรับเป็นทางออกของสปอร์ที่มีหางและว่ายน้ำได้เด่นชัด สรุปว่าราสาเหตุโรคเหี่ยวพริกที่ศึกษา คือ รา *P. capsici* ราทำให้ใบพืชทดสอบ 7 ชนิด ได้แก่ พริกหวาน พริกหยวก พริกขี้ฟ้า พริกขี้หนู มะเขือเทศ ตำลึง และเสีง เกิดแผลขนาดใหญ่ แผลขยายมากกว่า 20 มิลลิเมตร พืชทั้ง 7 ชนิดนี้จึงอาจจะเป็นพืชอาศัยของรานี้ได้

การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *P. capsici* นี้ยังไม่จบ จึงควรมีการทดสอบพืชอาศัยอื่นๆ ให้มากขึ้น และต้องมีการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากแหล่งอาศัยของเชื้อ เช่น จากดินในแหล่งระบาดของโรค หรือจากแหล่งน้ำ เป็นต้น เพื่อหาแหล่งกำเนิด หรือแหล่งอาศัยของเชื้อ ในโอกาสต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- พจนาน ตระกูลสุขรัตน์และอมรรัตน์ ภูไพบูลย์. 2546. เทคนิคการปลูกเชื้อ *Phytophthora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนในห้องปฏิบัติการ. หน้า 135-145 ใน รายงานประจำปี 2546 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.
- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์. 2552. รา *Phytophthora* สาเหตุโรคพืชในประเทศไทย. เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตร การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากราสกุล PHYTOPHTHORA และ PYTHIUM ระหว่างวันที่ 19-21 พฤษภาคม 2552. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 74 หน้า.
- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ พจนาน ตระกูลสุขรัตน์และทวี เก้าศิริ. 2546. ความผันแปรใน *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. ทุเรียน : ลักษณะรูปร่างและแบบคู่ผสม. วารสารวิชาการเกษตร 21 (1) : 72-89.
- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ ทวี เก้าศิริ และพัชราภรณ์ ลีลาภิรมย์กุล. 2548. พริกหวานที่อำเภอแม่ริม.....เหี่ยว. กสิกร 78 (6) : 63-67.

- อมรรัตน์ ภูโพบูลย์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และพีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2553. ปฏิกริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (เอกสารกำลังจัดพิมพ์)
- Erwin, D. C. and O. K. Ribeiro. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS Press, St. Paul., MN., USA. 562 p.
- Kobayashi, N., T. Kamhangridthirong and U. Kueprakone. 1978. Studies on the soil borne diseases of economic plants in Thailand, with species reference to *Phytophthora* diseases. Plant Pathology and Microbiology Div., of Dept. of Agr., Thailand. 124 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.
- Masago, H., M. Yoshikawa, M. Fukada and N. Nakanishi. 1972. Selection inhibition of *Pythium* spp. on a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soils and plants. Phytophthology 67 : 425 – 428.
- Tsao, D. H. and A. Tummakate. 1977. The identify of a *Phytophthora* species from black pepper in Thailand. Mycologia 69:631-637.