



ปัญหาพิเศษปริญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

เรื่อง

การสำรวจปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุโรคริโคน
เน่าและรากเน่าของพืชในแปลงปลูกพืชคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยี
พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Detection of *Pythium* spp. and *Phytophthora* spp, causing damping-off disease,
from the experimental plots of Faculty of Agricultural Technology,
King Mongkut 's Institute of Technology Ladkrabang



T098795

โดย

พ.พ.
ปี ๒๕๓๓
๒๕๔๓

นาย ประคอง เย็นจิตต์

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน.....๑๑๗๑๕

วัน,เดือน,ปี.....

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ. ศ. ๒๕๔๓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
ปริญญา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

เรื่อง

การสำรวจปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุโรคโคนเน่าและราก
เน่าของพืชในแปลงปลูกพืชคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Detection of *Pythium* spp. and *Phytophthora* spp, causing damping-off disease, from the
experimental plots of Faculty of Agricultural Technology,
King Mongkut 's Institute of Technology Ladkrabang

โดย

นาย ประคอง เย็นจิตต์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย



(ผศ. ดร. อนันันต์ เจนอักษร)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว



(รศ. ดร. วรเดช จันทรส)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

วันที่ 31 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การสำรวจปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุโรคโคนเน่าและรากเน่าของพืชในแปลงปลูกพืชคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

โดย : นายประคอง เย็นจิตต์

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

สาขาวิชา : เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

อาจารย์ที่ปรึกษา : 31 / ๗๓ / 2544

(ผศ. ดร. ถนมนันต์ เจนอักษร)

เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการหาแนวทางป้องกันกำจัดโรคโคนและรากเน่าของพืชในแปลงปลูกพืชคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จึงได้ทำการสำรวจหาปริมาณเชื้อสาเหตุของโรคดังกล่าว (*Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp.) จากแปลงปลูก โดยสุ่มตรวจหาจาก 9 แปลง ซึ่งกระจายกันอยู่โดยรอบคณะเทคโนโลยีการเกษตร ในตำแหน่งความลึกที่ 0, 20, และ 40 ซม. จากระดับผิวดิน ตามลำดับ เพื่อศึกษาถึงสภาพแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการอยู่รอดของเชื้อดังกล่าว การตรวจสอบครั้งนี้ใช้วิธี soil dilution plate ร่วมกับ selective media (BNPRA+ rose bengal) จากการสำรวจ พบเชื้อรา *Pythium* spp. จาก 5 แปลง โดยส่วนใหญ่พบที่ระดับความลึก 0 ซม. และจะมีบ้างเล็กน้อยที่ระดับความลึก 20 และ 40 ซม. สำหรับ *Phytophthora* spp. ไม่พบเลย เชื้อรา *Pythium* spp. ที่แยกได้มีดังนี้ *P. oligandrum*, *P. aphanidermatum*, *P. indigoferae*, *P. deliens*, *P. helicoides*, *P. splendens* และ *P. volutum* โดยสรุป จะเห็นว่า ระดับความลึกมีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อรา *Pythium* spp. และยังพบอีกว่า ความชื้นและการสะสมของเศษซากพืชในแปลงมีอิทธิพลต่อการอยู่รอดของเชื้อราดังกล่าว

Abstract

Title : Detection of *Pythium* spp. and *Phytophthora* spp, causing damping-off disease, from the experimental plots of Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut 's Institute of Technology Ladkrabang

By : Mr. Prakong Yenjit

Degree : Bachelor of Science in Agriculture

Major field : Plant Pest Management Technology

Advisor :

31 May 2001

(Asst. Prof. Dr. Tanimnun Jaenaksorn)

The research was carried out in order to obtain the prime data and information about the amount of soil-borne pathogens, from which can be applied very much to plant protection of damping-off and root rot diseases in the area of Faculty of Agriculture Technology, King Mongkut 's Institute of Technology Ladkrabang. The inocula of *Pythium* spp. and *Phytophthora* spp. were determined from the 9 experimental plots in the Faculty area at the level 0, 20 and 40 cm deep. Besides, the soil condition and environmental factors were also considered with the inoculum survival. Soil dilution plate method with selective media (BNPRA + rose bengal) was employed for this concern. The result showed that *Pythium* spp. was found from the 5 experimental plots while no *Phytophthora* spp. was detected in any surveyed plots. Furthermore, most *Pythium* spp. were detected at the surface level (0 cm.). That means soil depth as well as soil condition has an effect on the survival of pathogen. *Pythium* spp. found were identified as *P. oligandrum*, *P. aphanidermatum*, *P. indigoferae*, *P. deliens*, *P. helicoides*, *P. splendens* and *P. volutum*.

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดีโดยได้รับความกรุณาจาก ผศ. ดร. ถนิมนันต์ เจนอักษร อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้เสร็จเรียบร้อยและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ โรคพืชวิทยาที่ได้ให้ความสะดวกในการใช้อุปกรณ์เครื่องมือต่างๆ

ขอขอบคุณบิดา มารดา เป็นอย่างยิ่ง ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในด้านปัจจัยต่างๆ ตลอดจนขอบคุณเพื่อนๆ และน้องๆ ที่มีส่วนเกี่ยวข้องช่วยเป็นกำลังใจ และให้การช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

ประคอง เย็นจิตต์

พฤษภาคม 2544

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ii
คำนิยาม.....	iii
สารบัญ.....	iv
สารบัญตาราง.....	v
สารบัญภาพ.....	vi
คำนำ.....	1
การตรวจเอกสาร.....	3
อุปกรณ์และวิธีการ.....	8
ผลการทดลอง.....	19
วิจารณ์ผลการทดลอง.....	33
สรุปผลการทดลอง.....	37
เอกสารอ้างอิง.....	38
ภาคผนวก.....	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

1. จำนวน colony ของเชื้อ *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ที่ตรวจพบ.....20
ได้จากดิน ของแปลงปลูก 9 แปลงในคณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล. โดยวิธี
soil dilution plate

ตารางผนวกที่

1. จำนวน โคล โณนิจของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp.43
โดยใช้วิธี soil dilution plate กับการใช้ selective agar media
(BNPRA+ rose bengal) ในแปลงที่ 1
2. การวิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวน โคล โณนิจของเชื้อรา.....43
Pythium spp. และ *Phytophthora* spp. โดยใช้วิธี soil dilution plate
กับการใช้ selective agar media. (BNPRA+ rose bengal) ในแปลงที่ 1
3. จำนวน โคล โณนิจของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp.44
โดยใช้วิธี soil dilution plate กับการใช้ selective agar media
(BNPRA+ rose bengal) ในแปลงที่ 3
4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวน โคล โณนิจของเชื้อรา.....44
Pythium spp. และ *Phytophthora* spp. โดยใช้วิธี soil dilution plate กับการใช้
selective agar media. (BNPRA+ rose bengal) ในแปลงที่ 3
5. จำนวน โคล โณนิจของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp.45
โดยใช้วิธี soil dilution plate กับการใช้ selective agar media
(BNPRA+rose bengal) ในแปลงที่ 9
6. การวิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวน โคล โณนิจของเชื้อรา.....45
Pythium spp. และ *Phytophthora* spp. โดยใช้วิธี soil dilution plate
กับการใช้ selective agar media (BNPRA+ rose bengal) ในแปลงที่ 9

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. สภาพของแปลงที่ 1.....	13
2. สภาพของแปลงที่ 2	13
3. สภาพของแปลงที่ 3	14
4. สภาพของแปลงที่ 4	14
5. สภาพของแปลงที่ 5	15
6. สภาพของแปลงที่ 6	15
7. สภาพของแปลงที่ 7	16
8. สภาพของแปลงที่ 8	16
9. สภาพของแปลงที่ 9	17
10. จำนวน โคนิ ของเชื้อรา <i>Pythium</i> spp. ที่แยกจากดินแปลงที่ 1.....	21
11. ลักษณะ โคนิ ของเชื้อราบน selective media ที่แยกจากดินแปลงที่ 1.....	21
12. จำนวน โคนิ ของเชื้อรา <i>Pythium</i> spp. ที่แยกจากดินแปลงที่ 3	22
13. ลักษณะ โคนิ ของเชื้อราบน selective media ที่แยกจากดินแปลงที่ 3	22
14. จำนวน โคนิ ของเชื้อรา <i>Pythium</i> spp. ที่แยกจากดินแปลงที่ 9	23
15. ลักษณะ โคนิ ของเชื้อราบน selective media ที่แยกจากดินแปลงที่ 9	23
16. ลักษณะ โคนิ และ sporangium ของ <i>Pythium oligandrum</i>	27
17. ลักษณะ โคนิ sporangium, oogonium และ oospore	28
ของเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> .	
18. ลักษณะ โคนิ sporangium, oogonium และ oospore	29
ของเชื้อรา <i>Pythium indigoferae</i>	
19. ลักษณะ โคนิ และ เส้นใยของเชื้อรา <i>Pythium</i> sp.	30
20. ลักษณะ โคนิ, sporangium, oogonium และ oospore	31
ของเชื้อรา <i>Pythium deliense</i>	
21. ลักษณะ โคนิ และ sporangium ของเชื้อรา <i>Pythium helicoides</i>	32
22. ลักษณะ โคนิ, sporangium และ zoospore ของเชื้อรา <i>Pythium splendens</i>	33
23. ลักษณะ โคนิ, sporangium, oogonium และ oospore ของเชื้อรา <i>Pythium volutum</i>	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ทั้งเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. เป็นสาเหตุโรคพืชในดินที่สำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรงแก่พืชปลูกหลายชนิด โดยก่อให้เกิดโรครากเน่า (root rot) (Abney *et al.*, 1997) และ อาการเน่าระดับดิน (damping-off) (Agrios, 1978) ซึ่งในพื้นที่ภายในคณะเทคโนโลยีการเกษตร ของสถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังนั้น ก็ใช้พื้นที่ในการเพาะปลูกเป็นจำนวนมาก โดยไม่มีการสำรวจจำนวนเชื้อรา *Phytophthora* spp. และ *Pythium* spp. ที่อาจจะก่อโรคขึ้นมาเมื่อไรก็ได้ ฉะนั้นการได้ทราบชนิดเชื้อ ปริมาณเชื้อ และสภาพแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อปริมาณของเชื้อ ถือเป็นข้อมูลสำคัญในการที่จะหาแนวทางป้องกันกำจัด อาทิเช่น ฤดูกาลที่มีผลต่อปริมาณเชื้อ ยกตัวอย่าง *Pythium ultimum* จะพบตลอดฤดูกาลยกเว้นฤดูร้อน ส่วน *P. spinosum* จะพบโดยมากในฤดูฝน และ ฤดูใบไม้ร่วง ซึ่งความหลากหลายของ *Pythium* spp. จะมีมากในช่วงฤดูร้อน จะมีน้อยในช่วงฤดูหนาว แต่ความหนาแน่นของ *Pythium* spp. จะเพิ่มจากฤดูหนาวถึงฤดูฝน และจะลดลงจากฤดูร้อนถึงฤดูใบไม้ร่วง (Tojo *et al.*, 1992) ในประเทศไทย *P. aphanidermatum* จะระบาดมากในช่วงฤดูฝน ซึ่งมีความชื้นสูง (Giatgong, 1980 ; Chamswang and Gesnara, 1988 ; Chamswang *et al.*, 1987 ; Grisnapundha, 1987) และยังพบอีกว่า *Phytophthora citrophthora* จะพบสูงสุดระหว่างช่วงฤดูหนาวและลดลงระหว่างท้ายฤดูฝนและกลางฤดูร้อน ซึ่งจะแสดงให้เห็นว่าประชากร *Phytophthora* spp. จะสัมพันธ์กับอุณหภูมิและความชื้นของน้ำในดิน (Lio *et al.*, 1988) สำหรับลักษณะ โครงสร้างของดินที่มีอิทธิพลต่อปริมาณของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. อาทิเช่น *Phytophthora parasitica* มักพบในปริมาณที่มากในดินที่มีส่วนประกอบของดินเหนียวมาก และมักพบในปริมาณที่น้อยในดินที่มีส่วนประกอบของดินทรายมาก (Neher *et al.*, 1993)

ดังนั้น จึงได้ทำการสำรวจหาปริมาณเชื้อสาเหตุ (*Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp) ในพื้นที่ภายในคณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล. เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการหาแนวทางในการป้องกันกำจัด

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสมในการใช้ตำรวจปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp.
2. ตำรวจปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ในแปลงปลูกพืช ของกระบังกณะ เทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ความสำคัญของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp.

Pythium spp. เป็นเชื้อราที่เข้าทำลายพืชอย่างรุนแรงในระยะต้นอ่อน โดยจะผ่านเข้าทางปลายราก ทำให้เกิดโรครากเน่า (root rot) และถ้าเชื้อเข้าทำลายที่โคนต้นระดับผิวดินจะทำให้เกิดโรคน้ำระดับดิน (damping-off) ยกตัวอย่างเช่น โรครากและโคนเน่าในพริกไทยที่มีสาเหตุจาก *P. splendens* (อุบล และคณะ, 2525) โรคน้ำระดับดินในผักวงศ์กะหล่ำ ที่มีสาเหตุจาก *P. deliens* (Grisanapundha, 1987) และเมล็ดเน่า (seed rot) รากเน่า (root rot) และ โรคน้ำระดับดิน (damping-off) ที่เกิดกับพืชหลายชนิด ทั้งผัก พืชไร่ และ ไม้ผล อันมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* (Giatgong, 1980 ; Chamswarnng and Gesnara, 1988 ; Chamswarnng *et al.*, 1987 ; Grisanapundha, 1987) เป็นต้น ซึ่งเชื้อรา *Pythium* spp. นี้จะสามารถอยู่ในดินได้เป็นเวลานานในรูป oospore (Stanghellini and Burr, 1973)

Phytophthora spp. ทุก species เป็นสาเหตุของโรค อาการน้ำระดับดิน กล้าไหม้ รอยแห้งตายบนราก ต้นแคระแกรน ตลอดจนทำให้เกิดอาการเน่าและเปลี่ยนแปลงสีของ stele และ cortex ของพืช และทำให้ส่วนต่างๆ ของพืชเป็นโรคเกือบทุกส่วนตั้งแต่ราก ต้น ใบ และ ผล ยกตัวอย่างเช่น โรครากเน่าในถั่วเหลืองที่เกิดจาก *P. sojae* (Abney *et al.*, 1997) โรคโคนเน่าในส้มเขียวหวานที่เกิดจาก *P. parasitica* (อ่ำไพบรรณ และคณะ, 2530) และโรคผลเน่าของทุเรียนหมอนทองที่เกิดจาก *P. palmivora* (Butl.) Butl. (รติยา, 2535) เป็นต้น เชื้อรานี้สามารถอยู่รอดได้ในรูปของเส้นใยที่เจริญในดิน และในเศษซากพืช ในรูปของ chlamydospore หรือ oospore ซึ่งมีผนังหนากระจายอยู่ในดินหรือในเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค (Erwin *et al.*, 1993)

การสำรวจหาชนิดและปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ด้วยเทคนิคและวิธีการต่าง ๆ

Pythium spp.

การแยกเชื้อและตรวจนับปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. จากดินนิยมใช้อาหารจำเพาะ (selective media) ซึ่งประกอบด้วยปฏิชีวนสารที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และสารเคมีที่ควบคุมเชื้อราอื่นๆ นอกเหนือไปจากเชื้อ *Pythium* spp. อาทิเช่น Shimizu and Ichitani (1984) ใช้ Starch-peptone-asparagine media ร่วมกับการเติม benomyl และ antibiotics ซึ่งจะมีการปรับปรุงอาหารนี้โดยลด

rose bengal แต่จะเพิ่ม streptomycin และ vancomycin จำนวน 100 ppm. เพื่อใช้แยก *P. zingiberum* จากดิน

Valdebonito (1985) นำ PCNB (quintozene) 100 mg/litre + benomyl 200 mg/litre + penicillin G 60 mg/litre + streptomycin 40 mg/litre ผสมกันเป็นสารละลาย และนำไปผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อใช้แยก *Pythium* spp. ได้เป็นอย่างดี จากรากอ้อย ส่วน Ali *et al.* (1986) ปรับปรุงอาหารใหม่จาก Mircetich's MPVM มีชื่อเรียกว่า PV3 ซึ่งประกอบด้วย vancomycin, PCNB (quintozene), penicillin และ pimavicin ซึ่งจะมีราคาที่ถูกกว่าเนื่องจากการใช้ vancomycin ในปริมาณที่น้อยกว่า และสามารถแยกเชื้อ *Pythium* spp. ได้อย่างกว้างขวางขึ้น

สำหรับการแยกเชื้อ *P. aphanidermatum* โดยใช้วิธีเหยื่อล่อนั้น ได้มีการรายงานไว้กันอย่างกว้างขวาง เช่นในปี ค.ศ. 1984 Watanabe ใช้เมล็ดแตงเป็นเหยื่อล่อ ร่วมกับ Petri's salt solution สำหรับกระตุ้นการงอก sporangia, vesicle และ zoospores รวมทั้งใช้ในการเร่งการปล่อย zoospore วิธีนี้เป็นที่ยอมรับเพื่อใช้ในการศึกษาจำนวนประชากรของ *P. aphanidermatum* ในดินในประเทศญี่ปุ่น เช่นเดียวกับ Stanghellini and Kronland (1985) ใช้วิธี baiting ด้วยมันฝรั่งเพื่อประเมินปริมาณ ส่วนก่อโรคของประชากร *P. aphanidermatum* ในดิน ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และประหยัด ในทำนองเดียวกัน Priou and French (1997) ได้ใช้วิธี baiting ด้วยเมล็ดข้าวโอ๊ต ประเมินความหนาแน่นประชากรของ *P. aphanidermatum* ในดิน พบจำนวนโคโลนีที่สูงสุดเมื่ออัตราส่วนของน้ำค่อน้ำหนักแห้งของดินที่เพิ่มขึ้น สารละลายดินมี pH7 และบ่มที่อุณหภูมิ 25 หรือ 30 องศาเซลเซียส การใช้เทคนิคนี้สามารถให้หาค่าความหนาแน่นประชากรของ *P. aphanidermatum* ที่ซึ่งส่งผลต่อการหาวิธีการควบคุมและระบบการพยากรณ์การพัฒนาของโรค

ส่วน Tojo *et al.* (1992) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของเชื้อ *Pythium* spp. ตามสภาพอากาศในแปลง โดย indexing method ซึ่งจะใช้ต้นกล้า spinach วิธีการ baiting ด้วยเมล็ดแตง และวิธี soil dilution plate บน VP3 พบ *P. ultimum* ตลอดฤดูปลูก เว้นฤดูร้อน และ *P. spinosum* พบโดยมากในฤดูฝนและฤดูใบไม้ร่วง และยังพบอีกว่าวิธี soil dilution plate จะสามารถแยก *Pythium* spp. ได้ดีเหมือนกับวิธีการอื่นๆ แต่จำนวนของแต่ละ species จะแปรเปลี่ยนไปด้วยการใช้วิธีการ ซึ่งความหลากหลายของ *Pythium* spp. จะมีมากช่วงฤดูร้อน แต่มีเล็กน้อยในฤดูหนาว สำหรับความหนาแน่นของ *Pythium* spp. จะเพิ่มจากฤดูหนาวถึงฤดูฝน แต่จะลดลงจากฤดูร้อนถึงฤดูใบไม้ร่วง ส่วน oospores จะพบตลอดฤดูกาล สำหรับเปอร์เซ็นต์ของ sporangia จะเพิ่มในดินจากฤดูหนาวถึงฤดูร้อน แต่เปอร์เซ็นต์ของเส้นใยลดลงในฤดูหนาวและร้อน

สำหรับในประเทศไทย Grisanapundha (1987) ใช้วิธี warcup's soil plate, modified schmitther's soil particle, surface soil dilution plate และใช้วิธี baiting บนอาหาร Masago

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

selective medium (CMA+ BNRA) แยกเชื้อรา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืชตระกูลกระหล่ำใน พื้นที่ภาคกลาง และภาคเหนือของประเทศไทย โดยพบเชื้อรา *Pythium* spp. 8 species ด้วยกัน นั่นคือ *P. acanthophoron*, *P. aphanidermatum*, *P. deliense*, *P. oligandrum*, *P. spinosum*, *P. vexans* และ *P. sinense*

Chamswang *et al.* (1991) ใช้วิธี surface soil dilution plate (SSDP) และ baiting ด้วยเมล็ด แดงบนอาหาร BNRA+Rb. ตรวจสอบปริมาณโคโลนีของ *P. aphanidermatum* จากดิน 95 ตัวอย่าง โดยตรวจวัดความถี่ของ *P. aphanidermatum* จากการรวมกันทั้งหมดของดินตัวอย่างพบ ความถี่ 44 และ 86 เปอร์เซ็นต์ จากการใช้วิธี surface soil dilution plate และ baiting ตามลำดับ. และดินที่มีส่วนประกอบของพืชผักมากจะพบการอยู่รอดของ *P. aphanidermatum* เป็นจำนวนมาก

ประไพพร และคณะ (2536) ทำการแยก *Pythium* spp. จำนวน 124 islate จากดินใน 12 จังหวัด ภาคใต้ของประเทศไทย และจำแนกได้เป็น 35 species ดังนี้ *P. acanthophoron*, *P. adhaerens*, *P. aphanidermatum*, *P. aristosporum*, *P. catenulatum*, *P. cololatum*, *P. deliense*, *P. dissotocum*, *P. graminicola*, *P. hynosporum*, *P. indigoferae*, *P. infratum*, *P. irregulare*, *P. myriotylum*, *P. periilum*, *P. perplexum*, *P. pleroticum*, *P. salpingophorum*, *P. scleroteichum*, *P. splendens*, *P. tardicrescens*, *P. ultimum* var. *ultimum*, *P. vexans*, *P. volutum*, *P. species 'group G' 1*, *P. species 'group G' 2*, *P. species 'group G' 3*, *P. species 'group G' 4*, *P. species 'group HS'*, *P. species 'group P' 1*, *P. species 'group P' 2*, *P. species 'group T'*, *P. 'unidentify' 1*, *P. 'unidentify' 2* และ *P. 'unidentify' 3*

นิยม (2542) ทำการสำรวจเชื้อราในดินปลูกพืชไร่ จ. สกลนคร โดยวิธี soil dilution plate พบ *Pythium* spp. 5 ชนิด คือ *P. aphanidermatum*, *P. deliense*, *P. graminicola*, *P. helicoildes* และ *P. myriothylum* และโดยวิธี baiting 2 ชนิดคือ *P. oligandrum* และ *P. rostratum*

Phytophthora spp.

การแยกเชื้อและตรวจนับปริมาณเชื้อ *Phytophthora* spp. จากดินนิยมใช้อาหารจำเพาะที่ คล้ายคลึงกับอาหารซึ่งใช้แยกเชื้อ *Pythium* spp. Haas (1964) และ Tsao and Ocana (1969) ได้ รายงานเกี่ยวกับการใช้ pimaricin ซึ่งเป็น polyene antibiotic ในปริมาณที่ต่ำเพื่อให้ oospores และ chlamydospores งอกได้ในขณะที่สารดังกล่าวยับยั้งเชื้อพวก nonpythiaceous ได้ดี อย่างไรก็ตาม การแยกเชื้อ *Phytophthora* spp. จากดินในระยะก่อนปี 1977 ก็ประสบปัญหาเกี่ยวกับการปน เปื้อนของเชื้อ *Pythium* spp. เสมอจนกระทั่ง Masago *et al.* (1977) และ Tsao and Guy (1977) ได้รายงานการใช้ hymexazol (3-hydroxy-5-methylisoxazole) ใส่ลงใน selective media เพื่อยับยั้ง เชื้อ *Pythium* spp. และ *Mortierella* spp. ช่วยให้การแยกเชื้อ *Phytophthora* spp. ได้ผลยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hamm and Hansen (1984) ทำการแยก *Phytophthora lateralis* โดยการเพิ่ม hymexazol 25 mg/ml ลงไปในสารละลายดิน เพื่อยับยั้ง *Pythium* spp. แต่จะไม่ส่งผลต่อการเติบโตหรือการงอกของสปอร์ *Phytophthora lateralis* โดยทิ้งไว้ 6 วัน จากนั้นก็ย้ายไปวางบนอาหาร maizemeal agar ที่ประกอบด้วย pimarinic 20 mg/ml, vancomycin 200 mg/ml และ streptomycin 200 mg/ml (CMP)

ในทำนองเดียวกัน Serra *et al.* (1988) ได้ทำการศึกษาหาองค์ประกอบที่ดีที่สุดของ selective media เพื่อใช้ตรวจหาปริมาณของ *Phytophthora cryptogea* Peth. Et Laff. ในดินที่เต็มไปด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ใช่เป้าหมาย ด้วยวิธีการ soil dilution plate จากการทดลองพบว่า selective ที่ได้ดีที่สุดจะประกอบไปด้วย PDA + benomyl + nystatin + PCNB (quitozenel) + rifampicin + hymexazol ส่วน Solel and Pinkas (1984) ทำการแยก *P. cinnamomi* จากอโวคาโด โดยใช้ P10VPH และ PARPH ที่ได้พัฒนาตามมาทีหลังเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของ oomycetous ซึ่งถ้าหากเพิ่ม ipredione ลงไปในอาหารด้วยก็จะช่วยยับยั้งการเติบโตของ *Pythium proliferum*

สำหรับ Hassan *et al.* (1994) ศึกษาหาความแตกต่างในเทคนิคของ soil plate, dilution plate และ baiting method เพื่อใช้แยก *Phytophthora* spp. จากแปลงปลูก capsicum ใน Pakistan พบว่าทั้งวิธีแยกโดย soil plate และ dilution plate มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นๆ มาก ส่วนการใช้วิธี baiting ด้วย cucumber, muskmelon และ strawberry จะสามารถนำไปใช้แยก *Phytophthora* spp. สาเหตุโรครากเน่าของพริกได้ ถึงแม้ว่าจะมีการปนเปื้อนจาก *Fusarium* spp. บ้างก็ตาม

Lio *et al.* (1988) ใช้วิธี soil dilution plate ร่วมกับ BNPRAH ศึกษาประชากรของ *Phytophthora* spp. ในแปลงปลูกส้ม จากมกราคม 1984 - มกราคม 1987 พบเชื้อที่ได้จากดินตัวอย่างเพียงชนิดเดียวคือ *P. citrophthora* ซึ่งพบสูงสุดในช่วงฤดูหนาวเย็นและลดลงในช่วงที่อายุฤดูฝนและกลางฤดูร้อนเหตุเพราะประชากร *Phytophthora* spp. จะสัมพันธ์กับอุณหภูมิและความชื้นของน้ำในดิน.

Serra *et al.* (1988) ใช้วิธีการ soil dilution plate และ most probable number (MPN) เพื่อหาความหนาแน่นของส่วนก่อโรคของ *Phytophthora cryptogae* โดยพบว่าวิธีการ soil dilution plate ให้ผลแม่นยำกว่า และความเที่ยงตรงของวิธีการนั้น สามารถแก้ไขให้ดีขึ้นโดยเพิ่มจำนวนของตัวอย่าง

Lio and Perrotta (1983) ใช้วิธี baiting ด้วยใบส้มเปรี้ยว ร่วมกับ selective agar media เพื่อแยก *Phytophthora* spp. สำหรับการตรวจสอบประชากรในดินตัวอย่างจะปลูกเชื้อลงบนผลแอปเปิล หรือ มะนาว ส่วนการใช้วิธี most probable number (MPN) จะสังเกตจากจำนวนของการติดเชื้อที่ใบ ซึ่งก็ถือว่าเป็นวิธีสามารถให้ผลในการตรวจวัดประชากร *Phytophthora* spp. ในน้ำและ

ดินที่มีความหนาแน่นของส่วนก่อโรคต่ำ แต่ให้ผลเที่ยงตรงน้อยกว่า soil dilution plate ที่ร่วมด้วย selective media เมื่อส่วนก่อโรคมีความหนาแน่นสูง

Neher *et al.* (1993) ใช้ soil dilution plate method และ ใช้ baiting method ด้วยใบมันฝรั่ง เพื่อใช้ในการสำรวจประชากรของ *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าในมันฝรั่ง โดยพบว่าการใช้ dilution plate method พบ *P. parasitica* จำนวน 0 - 3.5 โคลินิตต่อ 1 กรัมของดิน ส่วนในการใช้ baiting method โดยใช้ใบมันฝรั่งเป็นเหยื่อล่อ พบ *P. parasitica* จำนวน 2 - 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมักจะพบ ขึ้นๆ ลงๆ ตามฤดูกาลและปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิของดิน และความชื้น รวมไปถึงลักษณะโครงสร้างของดิน โดยถ้ามีส่วนประกอบของดินเหนียวมากก็มักพบเชื้อรา *P. parasitica* ในปริมาณที่มากกว่าดินที่มีส่วนประกอบของดินทรายจำนวนมาก

Hamdan *et al.* (1994) ใช้วิธี dilution plate และ baiting โดยใบส้ม และส่วนของรากสำรวจหาเชื้อรา *Phytophthora* spp. ระหว่างมิถุนายนปี ค.ศ.1986 - กรกฎาคม ค.ศ. 1987 ในแปลงปลูกส้มสองแปลงใน The West Bank ซึ่งจะใช้ลักษณะทางกายภาพของเชื้อและลักษณะการเจริญเติบโตเพื่อแยก species โดยพบเพียง 2 species ที่พบในปริมาณที่มาก คือ *P. citrophthora* และ *P. nicotianae* ส่วนความแตกต่างในการกระจายตัวในทั้งสองแปลงนั้นขึ้นอยู่กับการจัดการเพาะปลูก การชลประทาน ลมฟ้าอากาศ อายุของพืชและชนิดของพืชปลูก

สำหรับในประเทศไทย อุบล และคณะ (2535) ใช้วิธี baiting โดยใช้ใบส้มเขียวหวานบน selective media (BNPRA และ BNPRAH) ศึกษาการอยู่รอดของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ในดินปลูกส้มเขียวหวาน จากสวนส้มในท้องที่ อ. หนองเสือ จ. ปทุมธานี จำนวน 5 สวน ตลอดระยะเวลา 32 เดือน โดยผลการแยกเชื้อ ตั้งแต่เมษายน 2533 ถึงธันวาคม 2535 ตรวจพบเชื้อรา *P. parasitica* ทุกเดือน แสดงว่าเชือรานี้มีวิธีอยู่รอดได้ในดินปลูกส้มตลอดทั้งปี จำนวนประชากรของเชื้อราโดยเฉลี่ย 3 ปี สูงสุดเท่ากับ 7.9 และ 5.8 เปอร์เซ็นต์ ในเดือนพฤษภาคม และเดือนตุลาคมซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน และพบว่าประชากรของเชือรานี้ในดินเพิ่มขึ้นทุกปี จากปี 2533-2535 ค่าเฉลี่ยของเชื้อรา เท่ากับ 1.9 เปอร์เซ็นต์ และ 5.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อุบลและคณะ (2536) ใช้วิธี baiting และ วิธีวางเนื้อเยื่อพืชลงบนอาหารโดยตรง (tissue transplanting) บนอาหารจำเพาะ BNPRA และ BNPRAH เพื่อศึกษาการเป็นโรครากเน่าของพืชตระกูลส้มชนิดต่างๆ ในประเทศไทย พบเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่เป็นสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าของพืชตระกูลส้ม 3 ชนิด คือ *Phytophthora parasitica*, *P. palmivora* และ *P. cinamomi*

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในภาคสนาม

- ดับเบิ้ลเมตร
- เหล็กเจาะดิน (soil tube)

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

- กล้องจุลทรรศน์
- กล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์สำหรับถ่ายภาพ
- เครื่องชั่งน้ำหนัก (2 และ 4 ตำแหน่ง)
- ตู้เขี่ยเชื้อ
- ตู้เย็น
- จานเลี้ยงเชื้อ (plate)
- บีกเกอร์ (beaker)
- ขวดแก้วรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)
- ขวดแก้วฝาเกลียว
- หลอดทดลอง (test tube)
- ปิเปต (pipette) และ จุกยาง
- เอริคแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ และ เข็มเขี่ยเชื้อ
- แผ่นสไลด์และกระจกปิดสไลด์
- ปากคีบ
- ช้อนตักสาร (spatula)

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

Potato Dextrose Agar (PDA)

potato	200	กรัม
dextrose	20	กรัม
agar	17	กรัม
distilled water	1000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Selective Media , BNFR (Fujisawa and Masago, 1975)

PDA (basal medium)	1	ลิตร
Mycostatin (100,000 unit)	1	มิลลิลิตร*
Ampicillin	1	กรัม*
Benlate (50%WP)	50	มิลลิกรัม*
PCNB (75%WP)	50	มิลลิกรัม*
Rifampicin	20	มิลลิกรัม*
Rose bengal ^{1/}	5	มิลลิกรัม*

* เติมหหลังจาก autoclave อาหารแล้ว

^{1/} คัดแปลงโดย จิระเดช และ คณะ (2533) ถ้าเติม hymexasol (100%) 50 มก. จะใช้แยกเชื้อ *Phytophthora* spp. ได้เพราะสารเคมีนี้ยับยั้งเชื้อ *Pythium* spp. แต่ต้องงดการเติม rose bengal

วิธีการ

แบ่งออกเป็น 2 ส่วน

ส่วนที่ 1 ขั้นตอนการหาวิธีการที่เหมาะสมในการใช้นับจำนวนเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. แบ่งออกเป็นวิธีการต่าง ๆ ดังนี้

Soil plate technique : นำดินที่เก็บจากบริเวณผิวดินโดยทั่วไปของแปลงเกษตร มาผึ่งลมให้แห้งจากนั้นก็บดให้ละเอียดนำมาหนึ่งปลายเข็มเข็ม หรือประมาณ 0.005-0.015 กรัมใส่ลงใน plate ที่ฆ่าเชื้อจากนั้นจึงเทอาหารทับ ในการทดลองนี้จะใช้อาหาร selective agar media ของเชื้อราที่ต้องการจะหาจำนวนจากดินตัวอย่าง ในที่นี้จะใช้ BNPR (แยก *Phytophthora* spp. และใช้ (BNPR + rose bengal) แยก *Pythium* spp. สำหรับการเติม rose bengal จะเติมไปพร้อมกับการทำอาหาร PDA ส่วนด้วยยาอื่นๆ เราจะเตรียมเป็น stock solution ไว้ใช้ภายหลังการ autoclave ทำการทดลอง 4 ซ้ำ บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และก็ทำการนับจำนวน โคลินี่ที่เกิด จากนั้นจึงใช้เข็มเข็มเข็ม โคลินี่ของเรื่อนั้นมาเข่น้ำเพื่อตรวจดูการสร้าง sporangium โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

Dilution plate technique : โดยกระทำการไม่แช่ แช่ดินโดยไม่ใส่เมล็ดแต่งและแช่ดินโดยไม่ใส่เมล็ดแต่งลงไปด้วย ซึ่งจะแช่ดินโดยไม่ใส่และไม่ใส่เมล็ดแต่งในระยะเวลาที่ต่างๆ กัน คือ 24 , 48 และ 72 ชั่วโมง สำหรับวิธีการไม่แช่ดินกระทำโดยนำดินตัวอย่างและน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อใส่ลงใน flask ในอัตราส่วน 1:9 ในการทดลองนี้ใช้ดิน 45 กรัมต่อน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 405 มล. ใส่ลงใน flask ขนาด 500 มล. เป็นสารตั้งต้น 10¹ จากนั้นก็ แบ่งน้ำใน flask มา 50 มล. ใส่ flask ที่ฆ่าเชื้อแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาด 125 มล. เพื่อนำมาใช้ในการ dilution ให้มีความเข้มข้น 10^{-1} โดยใช้ pipette ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 5 มล. คูดสารละลายดินจนได้ปริมาณ 5 มล. และ ใช้ cylinder ขนาด 50 มล. เทน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อจนมีปริมาณ 45 มล. นำทั้งสองใส่ลงใน flask ขนาด 125 มล. อีกอันหนึ่ง ก็จะได้สารละลายดินเข้มข้น 10^{-1} จากนั้นก็ dilute ต่อจากสารละลายดินที่มีความเข้มข้น 10^{-1} ไปเป็นสารละลายดินที่มีความเข้มข้นที่ 10^{-2} โดยการ ใช้ pipette ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 5 มล. คูดสารละลายดินจนได้ปริมาณ 5 มล. และ ใช้ cylinder ขนาด 50 มล. เทน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อจนมีปริมาณ 45 มล. นำทั้งสองใส่ลงใน flask ขนาด 125 มล. อีกอันหนึ่งก็จะ ได้สารละลายดินที่มีความเข้มข้น 10^{-2} จากนั้นก็นำสารละลายดินที่ได้ในแต่ละความเข้มข้น 10^1 , 10^{-1} และ 10^{-2} ตามลำดับในปริมาณ 2 มล. มาใส่ลง plate ฆ่าเชื้อแล้ว โดย ใช้ pipette ขนาด 10 มล. จากนั้นจึงเทอาหาร selective agar media ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. (BNPRA) หรือ *Pythium* spp. (BNPRA + rose bengal) ลงไปผสมกัน ทำการทดลอง 5 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้องจากนั้น 3 วันก็ทำการนับจำนวน โคลินี่ที่เกิด และใช้เข็มเย็บเชื้อ เย็บ โคลินี่เรื่อนั้น แชน้ำเพื่อตรวจดูการสร้าง sporangium โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

สำหรับวิธีการแช่ดินโดยไม่ใส่และใส่เมล็ดแดงที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงนั้น ก็กระทำเช่นเดียวกับการไม่แช่ดินต่างกันตรงที่หลังจากที่ใช้น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อเชื้อจากดินจนได้สารละลายตั้งต้น 10^1 แล้วนั้นเราก็จะแช่ดินนั้นไว้ก่อนโดยไม่ใส่ และใส่เมล็ดแดงเป็นระยะเวลา 24 , 48 และ 72 ชั่วโมงก่อนจึงจะนำสารละลายดินนั้นมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 10^{-1} และ 10^{-2} จากนั้นก็นำสารละลายดินที่ได้ในแต่ละความเข้มข้น 10^1 , 10^{-1} และ 10^{-2} ในปริมาณ 2 มล. มาใส่ลง plate ที่ฆ่าเชื้อแล้ว โดย ใช้ pipette ขนาด 10 มล. จากนั้นจึงเทอาหาร selective agar media ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. (BNPRA) หรือ *Pythium* spp. (BNPRA + rose bengal) ลงไปผสมกัน ทำการทดลอง 5 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้อง จากนั้น ประมาณ 3 วันก็ทำการนับจำนวน โคลินี่ที่เกิด และใช้เข็มเย็บเชื้อ เย็บ โคลินี่นั้น แชน้ำเพื่อตรวจดูการสร้าง sporangium โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

Surface soil dilution plate technique : โดยทำการไม่แช่ แช่ดินโดยไม่ใส่เมล็ดแดง และแช่ดินโดยทำการใส่เมล็ดแดงลงไปด้วย ซึ่งจะแช่ดินโดยไม่ใส่และไม่ใส่เมล็ดแดงในระยะเวลาที่ต่างๆ กัน คือ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง วิธีการต่างๆ ก็เหมือนกันกับในวิธี dilution plate ต่างกันตรงที่วิธีการ surface soil dilution plate นั้นจะเทอาหาร selective agar media ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. (BNPRA) หรือ *Pythium* spp. (BNPRA + rose bengal) ลงไปผสมกัน และปล่อยให้ อาหารแข็งสักระยะหนึ่งก่อนจึงใช้ pipette คูดสารละลายดินที่เตรียมไว้ประมาณ 1 มล. ใส่ลง ไปจากนั้นก็ใช้แท่งแก้วคนไฟเกลี่ยโดยทั่วทำการทดลอง 5 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้องจากนั้น ประมาณ 3 วันก็ทำการนับจำนวน โคลินี่ที่เกิดและใช้เข็มเย็บเชื้อเย็บ โคลินี่เรื่อนั้น แชน้ำเพื่อตรวจดูการสร้าง sporangium โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Baiting technique : นำดินตัวอย่างและน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อใส่ลงใน flask ในอัตราส่วน 1:9 ในการทดลองนี้ใช้ ดิน 45 กรัมต่อน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 405 มล. ใส่ลงใน flask ขนาด 500 มล. เป็นสารตั้งต้น 10^1 จากนั้นแบ่งน้ำใน flask มา 50 มล. ใส่ flask ที่ฆ่าเชื้อแล้วขนาด 125 มล. เพื่อนำมาใช้ในการ dilution ให้มีความเข้มข้น 10^{-1} โดยใช้ pipette ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 5 มล. คูดสารละลายดินจนได้ปริมาณ 5 มล. และใช้ cylinder ขนาด 50 มล. เทน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อจนมีปริมาณ 45 มล. นำทั้งสองใส่ลงใน flask ขนาด 125 มล. อีกอันหนึ่งก็จะได้สารละลายดินเข้มข้น 10^{-1} จากนั้นก็ dilute ต่อจากสารละลายดินที่มีความเข้มข้น 10^{-1} ไปเป็นสารละลายดินที่มีความเข้มข้น 10^{-2} โดยใช้ pipette ที่ฆ่าเชื้อแล้วขนาด 5 มล. คูดสารละลายดินจนได้ปริมาณ 5 มล. และใช้ cylinder ขนาด 50 มล. เทน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อจนมีปริมาณ 45 มล. นำทั้งสองใส่ลงใน flask ขนาด 125 มล. อีกอันหนึ่งก็จะได้สารละลายดินที่มีความเข้มข้น 10^{-2} จากนั้นก็นำเมล็ดแดงที่ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้วใส่ลงไปแช่ในสารละลายดินแต่ละความเข้มข้นในปริมาณ 60 เมล็ดต่อหนึ่ง flask ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงนำเมล็ดแดงนั้นมาวางลงบน plate ซึ่งได้เทอาหาร selective agar media ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. (BNPRA) หรือ *Pythium* spp. (BNPRA + rose bengal) ไว้แล้ว ปริมาณ 10 เมล็ดต่อหนึ่ง plate บ่มที่อุณหภูมิห้องจากนั้น 3 วันก็ทำการนับจำนวนโคโลนีที่เกิด และใช้เข็มเจ็ยเชื้อเจ็ยโคโลนีนั้นแช่น้ำเพื่อตรวจดูการสร้าง sporangium โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำที่ 3 ระดับความเข้มข้นคือ 10^1 , 10^{-1} และ 10^{-2} และ สอง selective agar media ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. (BNPRA) และ *Pythium* spp. (BNPRA + rose bengal) สำหรับการแช่เมล็ดแดงที่ 48 และ 72 ชั่วโมงก็กระทำเช่นเดียวกัน

ส่วนที่ 2 ขั้นตอนและวิธีการที่ใช้ในการสำรวจปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. และ

Phytophthora spp. ในดิน

1) การเก็บตัวอย่างดิน

1.1 สภาพของแปลงโดยทั่วไป :

แปลงที่ 1 เป็นที่ราบต่ำ มีหญ้าปกคลุมตลอดแปลง โดยเฉพาะหัวแปลงและท้ายแปลง โดยลักษณะของดินเป็นดินเหนียว และช่วงที่ทำการสำรวจเป็นช่วงปลายฤดูหนาว ซึ่งจะพบน้ำท่วมขังที่หัวแปลงและท้ายแปลง (25 มกราคม 2544) (ภาพที่ 1)

แปลงที่ 2 สภาพของแปลงโดยทั่วไปเป็นที่ราบสูง มีหญ้าปกคลุมตลอดทั้งแปลง โดยลักษณะดินเป็นดินเหนียว ช่วงที่ทำการสำรวจเป็นช่วงปลายฤดูหนาว และเป็นช่วงที่ปริมาณน้ำลดลงจนพบดินแตกกระแหง (26 มกราคม 2544) (ภาพที่ 2)

แปลงที่ 3 เป็นพื้นที่ซึ่งสูงกว่าระดับน้ำเพียงเล็กน้อย ลักษณะดินเป็นดินเหนียว ขณะทำการสำรวจไม่พบการทำการเกษตร และเป็นช่วงปลายฤดูหนาว (2 กุมภาพันธ์ 2544) (ภาพที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แปลงที่ 4 ลักษณะโดยทั่วไปจะคล้ายกับแปลงที่ 3 ต่างกันเพียงเป็นพื้นที่ ซึ่งสูงกว่าระดับน้ำมากกว่าแปลงที่ 3 และขณะทำการสำรวจพบการไหลพรวน และยกแปลงให้สูงขึ้นเพื่อปลูกพืชที่ปลูก และระยะเวลาในการสำรวจเป็นช่วงต้นของฤดูร้อน (1 มีนาคม 2544) (ภาพที่ 4)

แปลงที่ 5 สภาพของพื้นที่โดยทั่วไปเป็นที่ราบลุ่ม มีหญ้าปกคลุมตลอดทั้งแปลง โดยลักษณะของดินเป็นดินเหนียว ซึ่งจะพบว่าปลูกมะม่วงตลอดทั้งแปลง และขณะทำการสำรวจเป็นช่วงกลางฤดูร้อน (19 มีนาคม 2544) (ภาพที่ 5)

แปลงที่ 6 สภาพพื้นที่โดยทั่วไปเป็นที่ราบลุ่ม มีหญ้าปกคลุมตลอดทั้งแปลง โดยลักษณะของดินเป็นดินเหนียว และขณะทำการสำรวจเป็นช่วงกลางฤดูร้อน (21 มีนาคม 2544) (ภาพที่ 6)

แปลงที่ 7 และ 8 มีหญ้าปกคลุมตลอด และเป็นที่ยาสูบสูงทั้งสองแปลง ทำการสำรวจในช่วงกลางฤดูร้อน 23 และ 25 มีนาคม 2544 ตามลำดับ (ภาพที่ 7 และ 8)

แปลงที่ 9 สภาพของดินเป็นดินเหนียว เป็นพื้นที่ใช้สำหรับปลูกพืชไร่ตลอดทั้งปีโดยสลับกันไป เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด อ้อย ขณะทำการสำรวจมีการไถกลับดินพืชไร่ทั้งไว้ และเป็นช่วงหลังฝนตกในฤดูร้อนไม่นาน (4 เมษายน 2544) (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 1. สภาพของแปลงที่ 1



ภาพที่ 2. สภาพของแปลงที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3. สภาพของแปลงที่ 3



ภาพที่ 4. สภาพของแปลงที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5. สภาพของแปลงที่ 5



ภาพที่ 6. สภาพของแปลงที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7. สภาพของแปลงที่ 7



ภาพที่ 8. สภาพของแปลงที่ 8

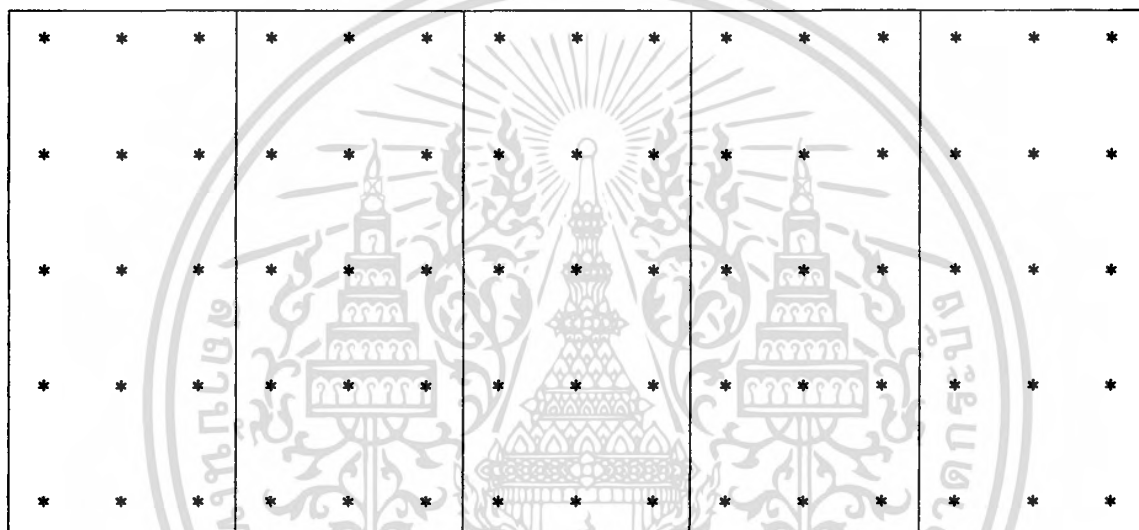
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9. สภาพของแปลงที่ 9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 แผนการสุ่ม : เก็บตัวอย่างดิน โดยการแบ่งแปลงที่ทำการสำรวจเป็น 5 ส่วน หรือ 5 block โดยแต่ละ block จะมีพื้นที่โดยประมาณ 8x22 เมตร ซึ่งในแต่ละ block จะใช้วิธีสุ่มเก็บทั้งหมดจำนวน 15 จุด โดยเว้นพื้นที่ตรงขอบของแต่ละ block ประมาณ 1 เมตร ซึ่งแต่ละจุดจะเก็บห่างกันตามความกว้างของแปลงประมาณ 3 เมตร และตามความยาวของแปลงประมาณ 5 เมตร ที่สามระดับความลึก 0, 20 และ 40 ซม. ตามลำดับ โดยใช้ soil tube จากนั้นก็นำดินทั้ง 15 จุดรวมกันโดยแยกตามระดับความลึกของแต่ละ block นำใส่ถุงพลาสติกที่เตรียมไว้จากนั้นนำดินไปทำการทดลองโดยทันที หรือ ไม่ก็ใส่ตู้เย็นไว้ก่อน



* = ตำแหน่งที่เก็บดิน โดยเก็บตำแหน่งละ 3 ระดับความลึก คือ 0, 20 และ 40 ซม.

2) การแยกเชื้อรา

2.1 วิธีการที่นำมาใช้จะเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุด ที่ได้จากการทดลองในส่วนที่ 1

2.2 การวางแผนการทดลอง : แบบ RCBD โดยแบ่งเป็น 5 block และ 3 ระดับความลึก (3 treatment) คือ 0, 20 และ 40 ซม. และในแต่ละระดับความลึกกระทำ 5 ซ้ำบน plate

ผลการทดลอง

ผลการทดลองส่วนที่ 1

Soil plate technique : แสดงให้เห็นว่า พบปนเปื้อนจากเชื้อราอื่นๆ มากจนเกินไปทำให้ไม่สามารถนับจำนวนได้

Dilution plate technique : แสดงผลให้เห็นว่า การแช่ดินโดยใส่เมล็ดแดงเพื่อกระตุ้น oospore กลับเป็นการเพิ่มการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียมากขึ้นจนเกิดปัญหาอย่างมากในการตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *Phytophthora* spp. และ *Pythium* spp. สำหรับการไม่แช่ดิน และการแช่ดินในระยะเวลาต่างๆ กันเพื่อให้เชื้อราออกมาจากอนุภาคดินนั้นให้ผลไม่แตกต่างกัน คือ สามารถตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ซึ่งปนเปื้อนกันอยู่ในทั้งสอง selective agar media เหลือแล้ว 4 โคโลนีที่ระดับความลึก 0 ซม.หรือผิวดินในระดับความเข้มข้นที่ 10^1 ส่วนที่ความเข้มข้น 10^{-1} และ 10^{-2} และที่ระดับความลึก 20 และ 40 ไม่นพบเชื้อ *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. เลย

Surface soil dilution plate technique : แสดงผลให้เห็นว่าเกิดการปนเปื้อนมาจากแบคทีเรียที่บริเวณผิวหน้าของอาหาร ทำให้เกิดปัญหาอย่างมากในการนับปริมาณโคโลนีของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp.

Baiting technique : แม้ว่าการใช้ baiting technique ร่วมกับ selective agar media ถึงแม้ว่าจะสามารถใช้แยก (isolate) เชื้อ *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ได้ดี แต่ก็มักจะเกิดปัญหาในการวิเคราะห์ผล และปัญหาในการปฏิบัติการที่ยุ่งยากและสิ้นเปลือง

จากการทดลองจึงสรุปได้ว่า dilution plate technique ถือเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุด แต่จะต้องมีการปรับความเข้มข้นของสารละลายดินต้องใช้ดิน 1 กรัมต่อน้ำกลั่นหนึ่งมาเชื้อ 29 มล. และใช้อาหาร selective media (BNPRA+ rose bengal) เพื่อแยกเชื้อ *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ซึ่งได้นำวิธีการดังกล่าวนี้มาใช้ในการทดลองที่ 2

ผลการทดลองส่วนที่ 2

จากการศึกษาปริมาณของเชื้อราภายในคณะเทคโนโลยีเกษตร สจล. โดยทำการสำรวจทั้งหมด 9 แปลง พบเพียงเชื้อรา *Pythium* spp. โดยไม่พบ *Phytophthora* spp. เลย ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะพบที่ระดับความลึก 0 ซม. แต่จะมีบ้างเล็กน้อยที่ระดับความลึก 20 และ 40 ซม. (ตารางที่ 1) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระดับความลึกมีผลต่อความอยู่รอดของเชื้อรา *Pythium* spp.

ตารางที่ 1 จำนวน colony ของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ที่ตรวจพบได้จากดิน
ของแปลงปลูก 9 แปลงในคณะเกษตร สจล. โดยวิธี soil dilution plate

แปลงที่ตรวจสอบ	จำนวน colony ของเชื้อที่ตรวจพบ (<i>Pythium</i> spp./ <i>Phytophthora</i> spp.) ที่ระดับความลึก (ซม.)			หมายเหตุ
	0	20	30	
แปลงที่ 1	1.2a ^{1/}	0b	0b	- <i>Pythium oligandrum</i> ^{2/} - <i>Pythium aphanidermatum</i>
แปลงที่ 2	-	-	-	-
แปลงที่ 3	0b	1.2a	0b	- <i>Pythium indigoferae</i> - <i>Pythium</i> sp.
แปลงที่ 4	-	-	-	-
แปลงที่ 5	+	+	+	- <i>Pythium deliens</i> - <i>Pythium helicoides</i>
แปลงที่ 6	+	+	+	- <i>Pythium splendens</i>
แปลงที่ 7	-	-	-	-
แปลงที่ 8	-	-	-	-
แปลงที่ 9	4.2a	0b	0.08b	- <i>Pythium volutum</i>

^{1/} ค่าเฉลี่ย (จาก 5 ซ้ำ) * ในแถวอนัน ที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันจะไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan Multiple's Range Test (DMRT)

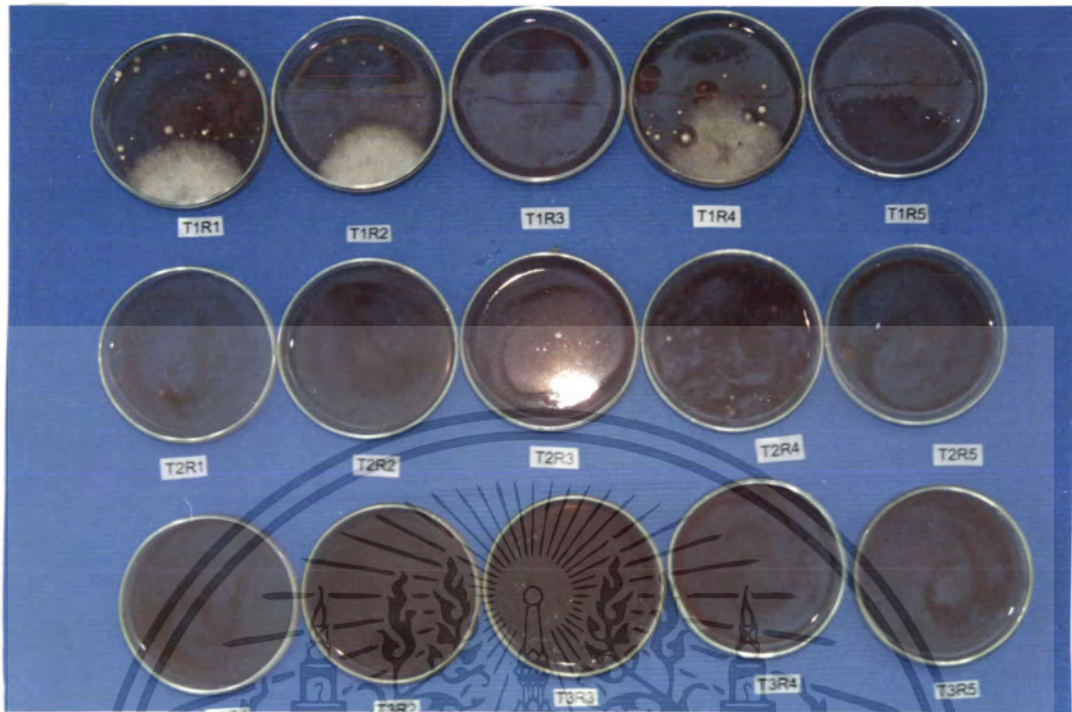
^{2/} จำนวนและลักษณะของโค โคโนที่ขึ้นบน selective media ของแปลงที่สามารถนับจำนวนได้ ก็คือ 1, 3 และ 9 แสดงดังภาพที่ 10-15

+พบเชื้อ (จาก 5 ซ้ำ) แต่มีปริมาณที่น้อยมากจนไม่สามารถนับจำนวนได้

-ไม่พบเชื้อ

* ข้อมูลดิบจาก 5 ซ้ำ และการวิเคราะห์ผลทางสถิติอยู่ในตารางผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10. จำนวนโคโลนีของเชื้อรา *Pythium* spp. ที่แยกจากดินแปลงที่ 1

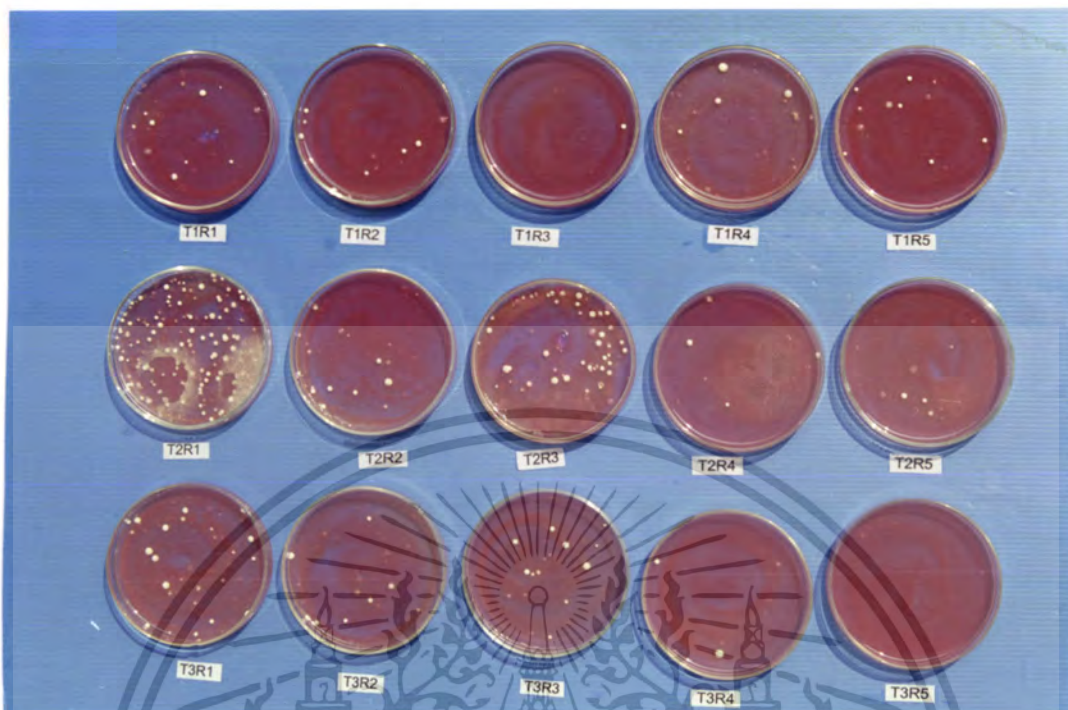


ภาพที่ 11. ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา บน selective media ที่แยกจากดินแปลงที่ 1

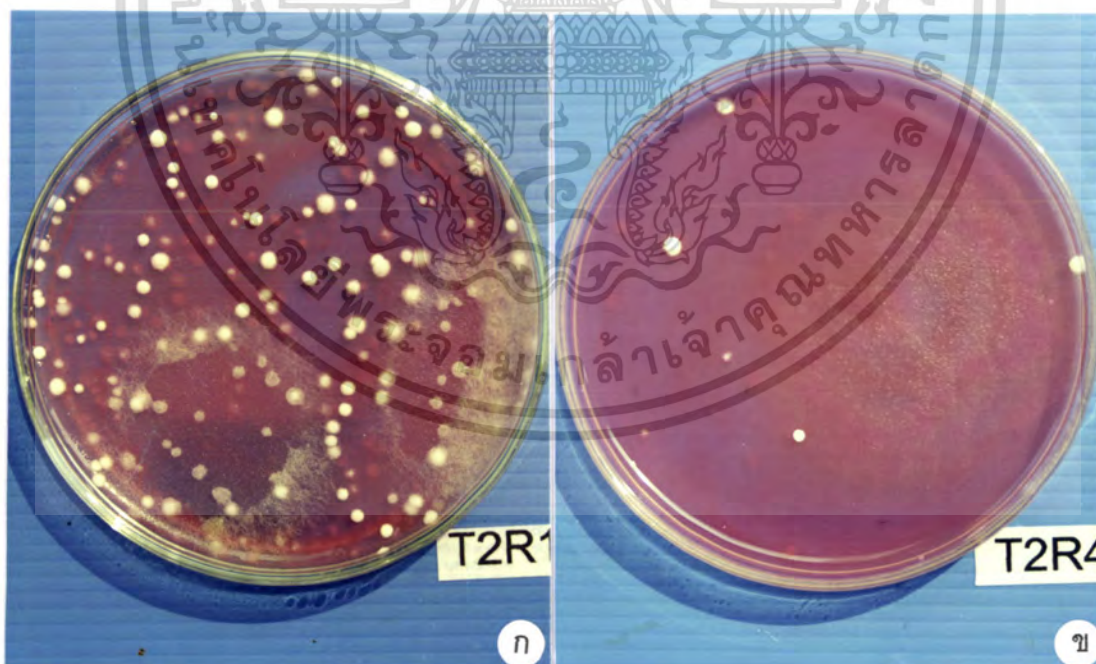
ก. *Pythium oligandrum*

ข. *Pythium aphanidermatum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12. จำนวน โคลนีย์ของเชื้อรา *Pythium* spp. ที่แยกจากดินแปลงที่ 3

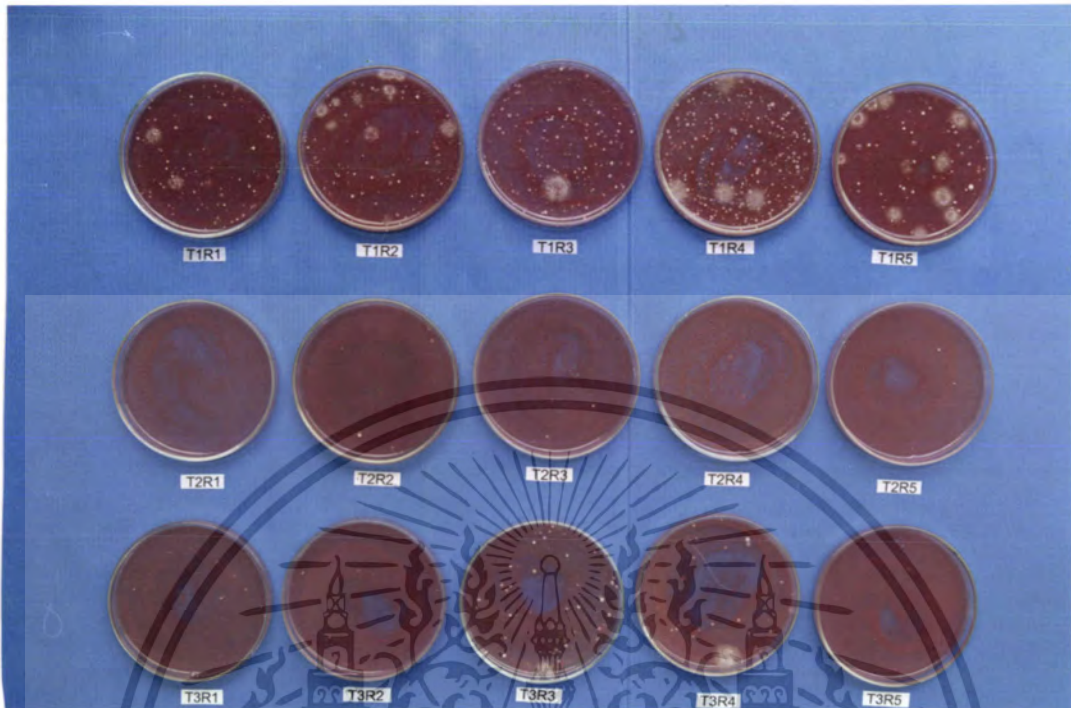


ภาพที่ 13. ลักษณะ โคลนีย์ของเชื้อรา บน selective media ที่แยกจากดินแปลงที่ 3

ก. *Pythium indigoferae*

ข. *Pythium* spp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 14. จำนวน โคลนินของเชื้อรา *Pythium* spp. ที่แยกจากดินแปลงที่ 9



ภาพที่ 15. ลักษณะ โคลนินของเชื้อรา *Pythium volutum* บน selective media ที่แยกจากดินแปลงที่ 9
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อ *Pythium* spp. ที่แยกได้จากการสำรวจทั้ง 9 แปลง ได้นำมาจัดจำแนก ได้เป็น 8 species คือ *P. oligandrum*, *P. aphanidermatum*, *P. indigoferae*, *P. deliens*, *P. helicoides*, *P. splendens*, *P. volutum* และ แยกไม่ได้อีก 1 species ดังรายละเอียดต่อไปนี้

***Pythium oligandrum* Drechsler (ภาพที่ 16)**

โคโลนีบนอาหาร PDA มีลักษณะคล้ายกลีบกุหลาบชัดเจน (ภาพที่ 16ก) sporangium รูปร่างค่อนข้างกลม (ภาพที่ 16ข) มักรวมกัน เป็นกลุ่ม หรือ เชื่อมต่อกัน แต่ละกลุ่มประกอบด้วย 1 หรือ หลายอัน สร้าง zoospore ที่อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส โดยสร้างท่อสำหรับปล่อยสปอร์ (vesicle tube) oogonium เกิดระหว่างเส้นใยหรือที่ปลายเส้นใย มีรูปร่างกลมผนังเป็นหนามมีรูปร่างคล้ายกรวย ปลายค่อนข้างแหลม ไม่ค่อยพบ antheridium ถ้าพบจะมี 1-2 อันต่อ oogonia 1 อัน ส่วนใหญ่เป็นแบบ declinous พบ monoclinal น้อย antheridium มักเกาะติดกับผนังของ oogonium ตลอดความยาวของ antheridium และมีการแบ่งตามขวางเป็น loop อาจมี 1-2 loop oospore รูปร่างกลมเจริญไม่เต็มพื้นที่ของ oogonia เรียกว่า (aplerotic)

ตรงกับลักษณะที่ นิยม (2542) ได้ทำการจำแนกไว้ในการสำรวจเชื้อราในดินปลูกพืชไร่ จ. สกลนคร

***Pythium aphanidermatum* (Edson) Fizz (ภาพที่ 17)**

บนอาหาร PDA เชื้อราเจริญเร็ว ที่อุณหภูมิห้อง เส้นใยสีขาวฟูคล้ายฟูฝ้าย (ภาพที่ 17ก) sporangium เกิดที่ปลายของเส้นใย หรือระหว่างเส้นใย มีลักษณะเป็นเส้นใยวมพองและหึงงอ (inflated filamentous) (ภาพที่ 17ข) สร้าง zoospore ที่อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส มีท่อสำหรับปล่อยสปอร์ (vesicle tube) เป็นท่อยาวเกิดที่ส่วนปลายของ sporangium ส่วนปลายสุดของท่อโป่งออก มีรูปร่างกลมภายในเป็นที่เกิดของ zoospore โครงสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียตรง หรือเกือบตรง และมักจะขนานกับก้านของโครงสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ ซึ่งเรียกว่า antheridium ซึ่งมีรูปร่างคล้ายถังเบียร์ ส่วนใหญ่เกิดอยู่ระหว่างเส้นใย ที่ปลายเส้นใยพบน้อย โดย oogonium 1 อัน จะมี antheridium เกาะ 1 อัน (ภาพที่ 17ค) หลังจาก oogonium ได้รับการผสมแล้วจะพัฒนาไปเป็นสปอร์ผนังหนาเรียกว่า oospore มีรูปร่างกลม oospore เจริญไม่เต็มพื้นที่ (aplerotic) (ภาพที่ 17ง)

ตรงกับลักษณะที่ ประไพพร และคณะ (2536) ได้ทำการจำแนกไว้ในการสำรวจ *Pythium* spp. ใน 12 จังหวัด ภาคใต้ของประเทศไทย

Pythium indigoferae Butler (ภาพที่ 18)

ลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA เจริญอย่างรวดเร็ว เส้นใยมีลักษณะบาง มักจะยุบตัวอย่างรวดเร็วเมื่อถูกอากาศ (ภาพที่ 18ก) sporangium สร้างที่ปลายหรือระหว่างเส้นใย มีรูปร่างแบบ inflated filamentous (ภาพที่ 18ข) ขนาดเล็กและยาวส่วนปลายมักจะเรียวย oogonium สร้างที่ปลายเส้นใยรูปร่างแบบ gobose มีผนังเรียบ โดยก้านของ oogonium จะโค้งเข้าหา antheridium (ภาพที่ 18ค) ซึ่งมีก้านตรง antheridium มี 1 อันต่อ 1 oogonium บางครั้งอาจพบ 2 อัน แต่น้อยมาก การเกิดของ antheridium เป็นแบบ monoclinal บางครั้งอาจพบแบบ diclinal ที่ปลายหรือระหว่างเส้นใย oospore เป็นแบบ aplerotic (ภาพที่ 18ง)

ตรงกับลักษณะที่ ประไพพร และคณะ (2536) ได้ทำการจำแนกไว้ในการสำรวจ *Pythium* spp. ใน 12 จังหวัด ภาคใต้ของประเทศไทย

Pythium deliens Meurs (ภาพที่ 20)

บนอาหาร PDA เส้นใยส่วนใหญ่เจริญในอาหาร มีเส้นใยเหนืออาหารฟูและค่อนข้างบาง (ภาพที่ 20ก) sporangium มีลักษณะเป็นเส้นใยบวมพอง และหึ่งงอ (inflated filamentous) ส่วนใหญ่เกิดที่ส่วนปลายของเส้นใย (ภาพที่ 20ข) และจะสร้างท่อยาวสำหรับปล่อยสปอร์ (vesicle tube) oogonium รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม ผนังเรียบ ก้านของ oogonium ยาวและจะโค้งเข้าหา antheridium (ภาพที่ 20ค) ซึ่งมีรูปร่างคล้ายถังเบียร์ เกิดอยู่ระหว่างเส้นใยหรือปลายเส้นใย โดยปกติแล้ว oogonium 1 อันจะมี antheridium เกาะอยู่เพียงอันเดียว oospore รูปร่างกลม ลักษณะแบบ aplerotic (ภาพที่ 20ง)

ตรงกับลักษณะที่ นิยม (2542) ได้ทำการจำแนกไว้ในการสำรวจเชื้อราในดินปลูกพืชไร่ จ. สกลนคร

Pythium helicoildes Drechsler (ภาพที่ 21)

เส้นใยบนอาหาร PDA สีขาว ค่อนข้างหยาบ (ภาพที่ 21ก) sporangium โดยส่วนใหญ่เกิดที่ปลายเส้นใยมีลักษณะกลม หรือค่อนข้างกลม โดยพบ papilla ตรงส่วนปลายของ sporangium (ภาพที่ 21ข) และ sporangium เกิด internal proliferation

ตรงกับลักษณะที่ นิยม (2542) ได้ทำการจำแนกไว้ในการสำรวจเชื้อราในดินปลูกพืชไร่ จ. สกลนคร

***Pythium splendens* Braun (ภาพที่ 22)**

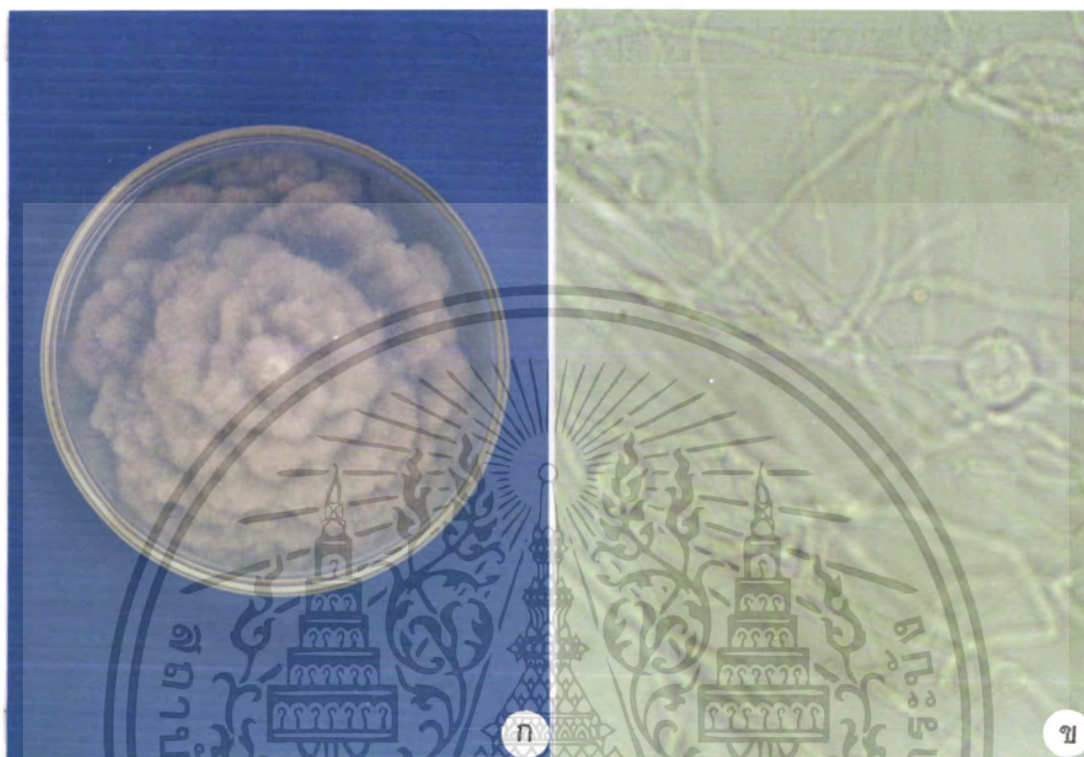
ลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA เส้นใยเจริญอย่างรวดเร็ว และฟูขาว โดยเฉพาะที่บริเวณขอบ plate (ภาพที่ 22ก) sporangium มีลักษณะกลม ส่วนใหญ่พบที่ปลายเส้นใย (ภาพที่ 22ข) oospore มีลักษณะกลมถึง ellipsoid ผนังเรียบ อัตราส่วนระหว่าง oospore ต่อ oogonium 1 : 1.2 oospore ผนังหนา โดยจะงอกเป็น germ tube

ตรงกับลักษณะที่ ประไพพร และคณะ (2536) ได้ทำการจำแนกไว้ในการสำรวจ *Pythium* spp. ใน 12 จังหวัด ภาคใต้ของประเทศไทย

***Pythium volutum* Vanterpool & Truscott (ภาพที่ 23)**

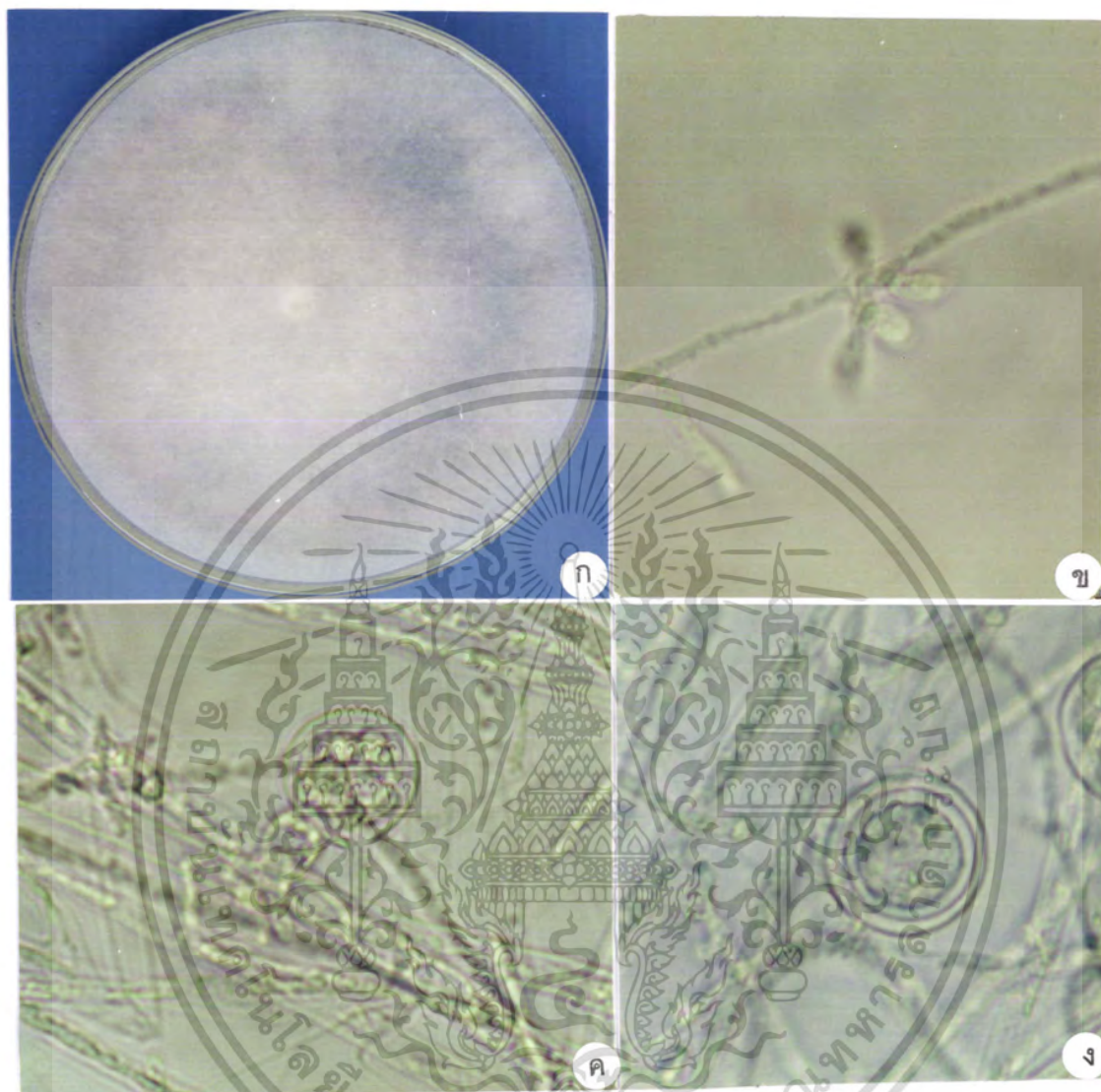
ลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA เป็นเส้นใยเจริญออกโดยรอบอย่างรวดเร็ว ลักษณะเส้นใย ฟูขาว (ภาพที่ 23ก) สร้าง sporangium ที่ปลาย หรือระหว่างเส้นใย มีรูปร่างแบบ inflated หรือ lobulate filamentous (ภาพที่ 23ข) zoospore ผลิตขึ้นที่อุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส oogonium สร้างยากมาก และมีน้อยมากที่ปลายเส้นใย ลักษณะรูปร่างเป็นแบบ globose มีผนังเรียบ antheridium มี 3 อันต่อ 1 oogonium (ภาพที่ 23ค) การเกิดของ antheridium เป็นแบบ diclinous ที่ปลายเส้นใย oospore เป็นแบบ aplerotic (ภาพที่ 23ง)

ตรงกับลักษณะที่ ประไพพร และคณะ (2536) ได้ทำการจำแนกไว้ในการสำรวจ *Pythium* spp. ใน 12 จังหวัด ภาคใต้ของประเทศไทย



ภาพที่ 16. ลักษณะ โคลโคนี และ sporangium ของ *Pythium oligandrum*
 ก. ลักษณะ โคลโคนีบน PDA อายุ 5 วัน
 ข. sporangium (400x)

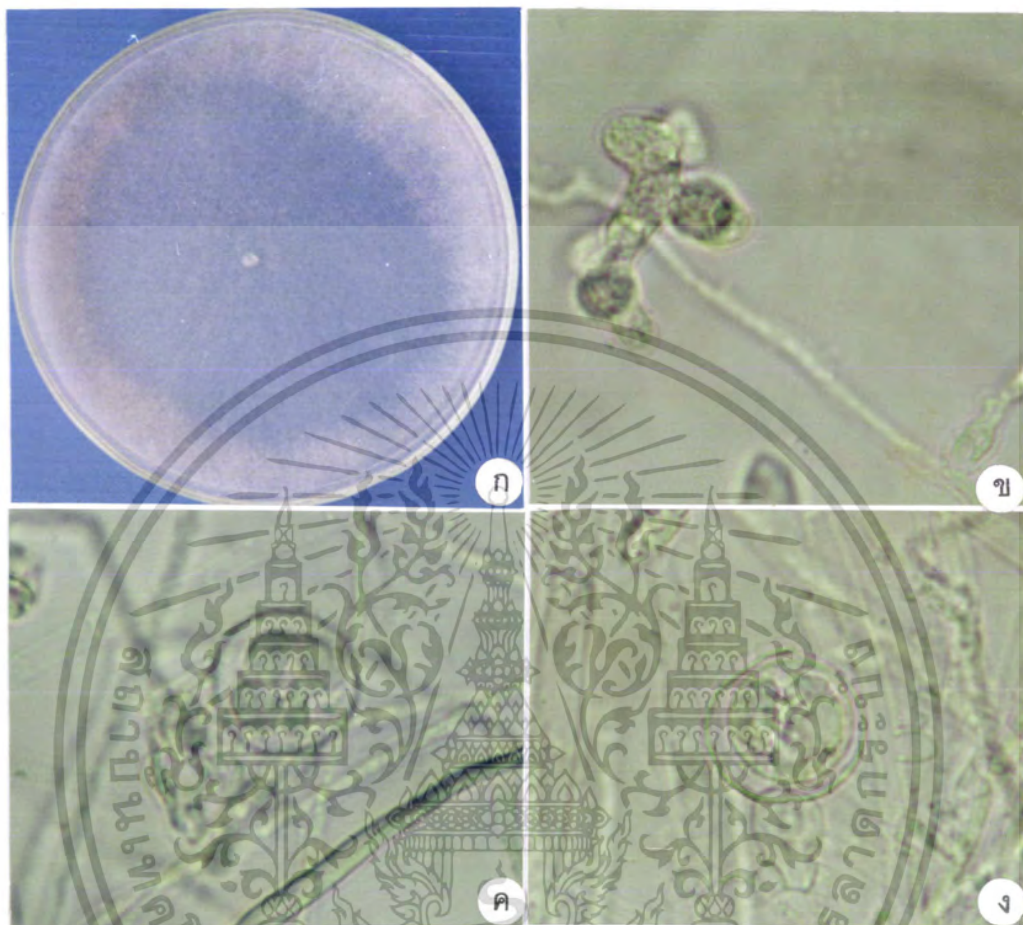
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 17. ลักษณะ โคลโคนี sporangium, oogonium และ oospore ของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

- ก. ลักษณะ โคลโคนีบน PDA อายุ 3 วัน
- ข. sporangium (400x)
- ค. oogonium (400x)
- ง. oospore (400x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 18. ลักษณะโคโคโคนี sporangium, oogonium และ oospore ของเชื้อรา *Pythium indigoferae*

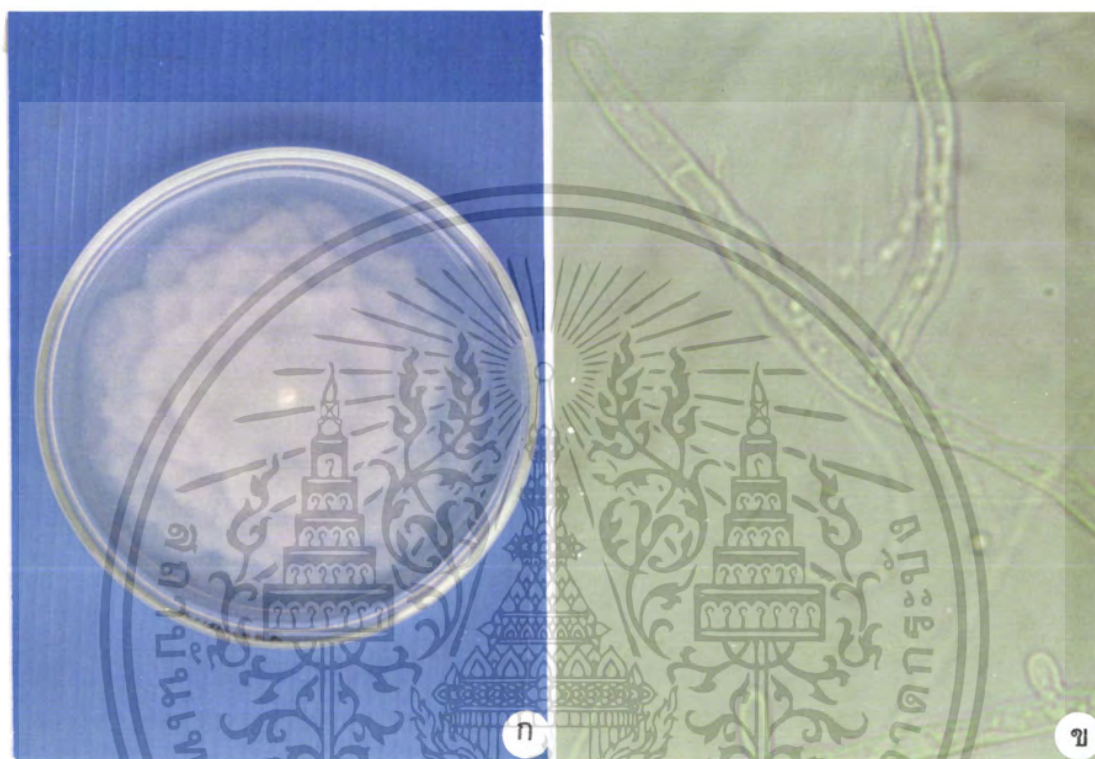
ก. ลักษณะโคโคโคนีบน PDA อายุ 3 วัน

ข. sporangium (400x)

ค. oogonium (400x)

ง. oospore (400x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

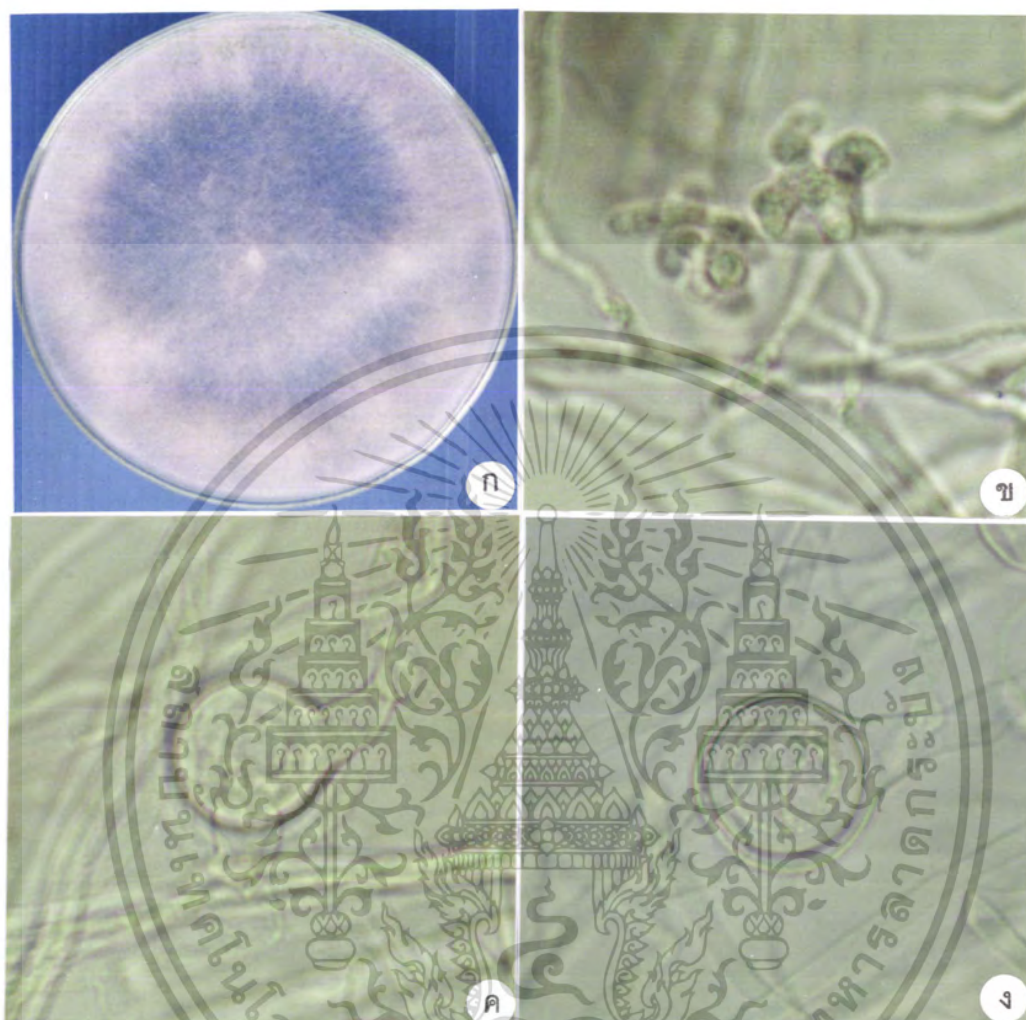


ภาพที่ 19. ลักษณะโคโลนี และ เส้นใยของเชื้อรา *Pythium* sp.

ก. ลักษณะโคโลนีบน PDA อายุ 3 วัน

ข. ลักษณะเส้นใย (400x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 20. ลักษณะ โคลโคนี sporangium, oogonium และ oospore ของเชื้อรา *Pythium deliense*

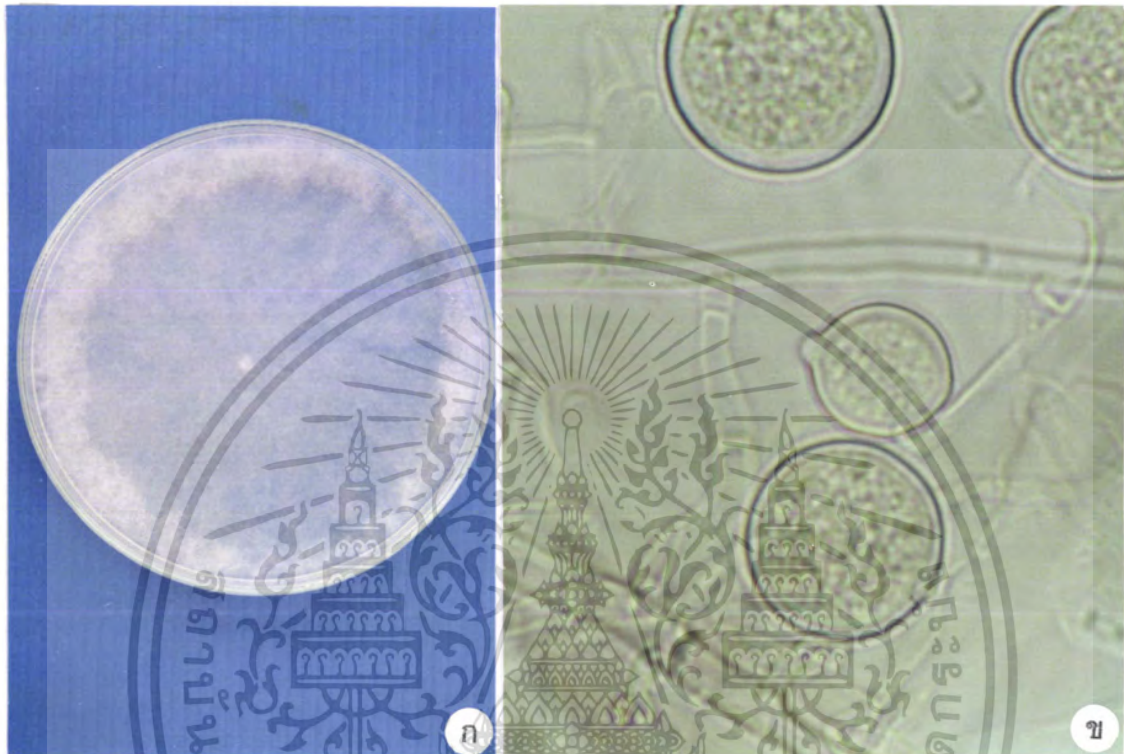
ก. ลักษณะ โคลโคนีบน PDA อายุ 3 วัน

ข. sporangium (400x)

ค. oogonium (400x)

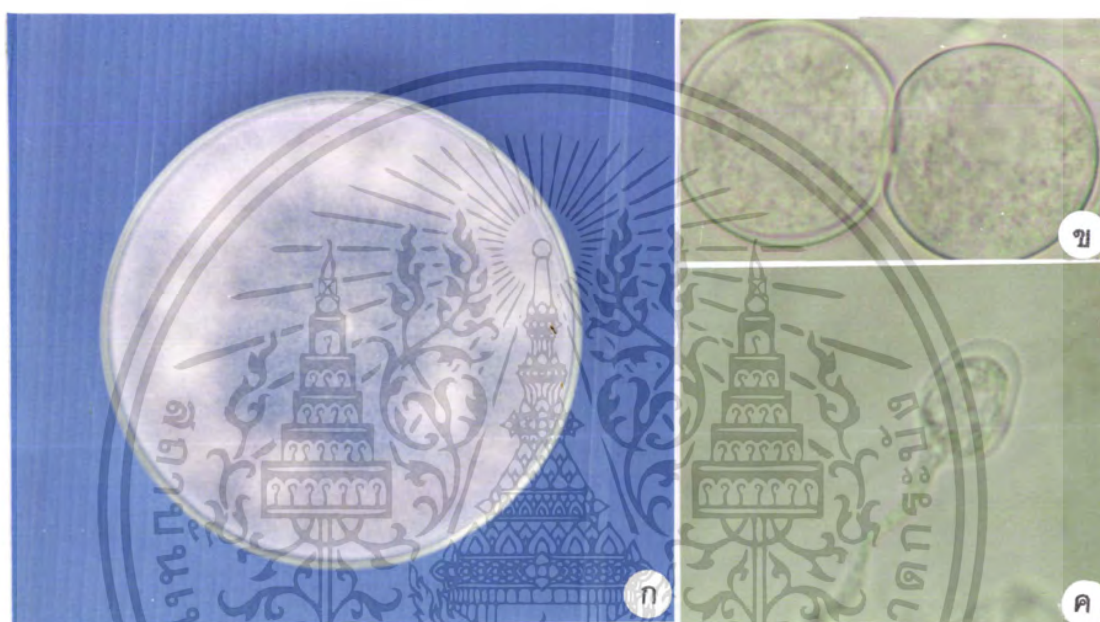
ง. oospore (400x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



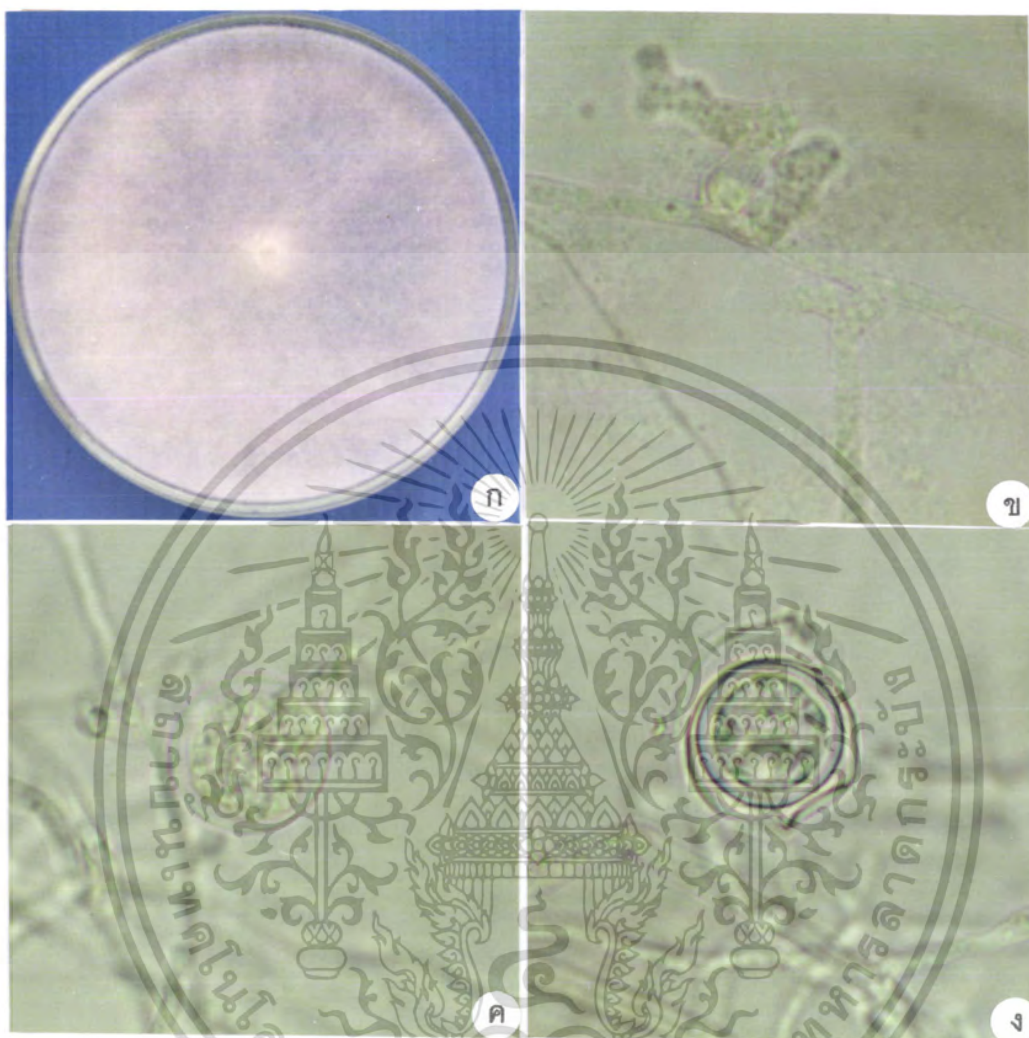
ภาพที่ 21. ลักษณะ โครโดนี และ sporangium ของเชื้อรา *Pythium helicoides*
 ก. ลักษณะ โครโดนีบน PDA อายุ 3 วัน
 ข. sporangium (400x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 22. ลักษณะโคโคโคนี sporangium และ zoospore ของเชื้อรา *Pythium splendens*
 ก. ลักษณะโคโคโคนีบน PDA อายุ 3 วัน
 ข. sporangium (400x)
 ค. zoospore (400x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 23. ลักษณะโคโลนี sporangium, oogonium และ oospore ของเชื้อรา *Pythium volutum*

- ก. ลักษณะ โคโลนีบน PDA อายุ 3 วัน
- ข. sporangium (400x)
- ค. oogonium (400x)
- ง. oospore (400x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการสำรวจจะเห็นได้ว่า สภาพภูมิประเทศ และสภาพภูมิอากาศล้วนเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อปริมาณของเชื้อรา *Pythium* spp. ยกตัวอย่างเช่น แปลงที่ 1 กับ แปลงที่ 2 เป็นแปลงที่อยู่ใกล้กันมีสภาพโดยทั่วไปคล้ายกัน ต่างกันเพียง แปลงที่ 1 มีพื้นที่สูงกว่าระดับน้ำเพียงเล็กน้อย และขณะทำการสำรวจนั้นมีน้ำท่วมขังจึงเป็นเหตุให้มีการสำรวจพบเชื้อรา *P. oligandrum* และ *P. aphanidermatum* ที่ระดับความลึก 0 ซม. จำนวนเฉลี่ย 1.2 โคลโลนี ส่วนแปลงที่ 2 กลับไม่พบเชื้อรา *Pythium* spp. เลยคงเป็นเพราะว่ามีพื้นที่สูงกว่าระดับน้ำมากกว่า และขณะทำการสำรวจนั้นดินแห้งจนแตกกระแหง สอดคล้องกับ Tojo *et al.* (1992) ได้ทำการศึกษาหาการเปลี่ยนแปลงของ *Pythium* spp. ตามสภาพอากาศ ซึ่งจะพบ *P. utimum* ตลอดฤดูกาล ยกเว้นฤดูร้อน และ *P. spinosum* พบโดยมากในฤดูฝน และฤดูใบไม้ร่วง และยังพบอีกว่า ในเรื่องความหลากหลายของ *Pythium* spp. จะมีมากในช่วงฤดูร้อน แต่จะมีเล็กน้อยในช่วงฤดูฝน ส่วนในเรื่องความหนาแน่น จะเพิ่มจากฤดูหนาวถึงฤดูฝน แต่จะลดลงจากฤดูร้อนถึงฤดูใบไม้ร่วง ในประเทศไทย *P. aphanidermatum* จะระบาดมากในช่วงฤดูฝน ซึ่งมีความชื้นสูง (Giatgong, 1980 ; Chamswarn and Gesnara, 1988 ; Chamswarn *et al.*, 1987 ; Grisanapundha, 1987) สำหรับลักษณะการทำการเกษตรที่ส่งผลต่อปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. ยกตัวอย่างเช่น แปลงที่ 3 กับ แปลงที่ 4 เป็นแปลงที่อยู่ใกล้กันสภาพโดยทั่วไปเหมือนกัน ต่างกันตรงที่ แปลงที่ 3 มีพื้นที่สูงกว่าระดับน้ำน้อยกว่าแปลงที่ 4 และขณะทำการสำรวจไม่พบการทำการเกษตรพบแต่ซากของพืชและวัชพืชหมักหมมกันอยู่จึงเป็นสาเหตุให้สำรวจพบเชื้อรา *P. indigoferae* และ *Pythium* sp. ที่ระดับความลึก 20 ซม. จำนวนเฉลี่ย 1.2 โคลโลนี ส่วนแปลงที่ 4 มีพื้นที่สูงกว่าระดับน้ำที่มากกว่า และขณะทำการสำรวจนั้นมีการทำการเกษตรโดยการไถพรวนดินและยกแปลงดินให้สูงขึ้น จึงเป็นสาเหตุให้ไม่พบเชื้อรา *Pythium* spp.เลยสอดคล้องกับ Ghamswang *et al.* (1991) ตรวจวัด และบอกปริมาณ โคลโลนีของ *P. aphanidermatum* จากดิน 95 ตัวอย่าง พบว่าดินที่มีส่วนประกอบของพืชผักมาก จะพบการอยู่รอดของ *P. aphanidermatum* เป็นจำนวนมาก ส่วนในแปลงที่ 9 ก็เช่นกัน เป็นแปลงที่ปลูกพืชไร่ เช่น ข้าว โปด ถั่ว และ อ้อย สลับกันไปตลอดทั้งปี และขณะทำการสำรวจมีการไถกลบเศษดินพืชไร่ดังกล่าวจึงเป็นสาเหตุของการสะสมเชื้อรา *Pythium* spp. ขึ้น จึงเป็นเหตุให้พบ *P. volutum* ที่ระดับความลึก 0 ซม. จำนวนเฉลี่ย 4.2 โคลโลนี

ส่วน *Phytophthora* spp. ไม่พบเชื้อเลยจากการสำรวจในครั้งนี้ เป็นเพราะมีปริมาณในดินที่น้อยจนไม่สามารถตรวจพบด้วยวิธี soil dilution plate ซึ่งวิธีนี้จะให้ผลแม่นยำในกรณีที่มีความหนาแน่นของส่วนก่อโรคสูง (Lio and Perrotta, 1983)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองในครั้งนี้ได้พยายามที่จะศึกษาถึงอิทธิพลของสภาพแวดล้อม และการปฏิบัติในการทำการเกษตร ที่มีผลต่อปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการป้องกันกำจัด โดยเน้นไปที่การวางแผนการถ่ม และวิธีที่ใช้ในการสำรวจ (soil dilution plate + selective media) ซึ่งหากเพิ่มจำนวนตัวอย่างก็จะทำให้เที่ยงตรงมากขึ้น (Serra *et al.*, 1988) และทำการสำรวจทุกๆ ฤดูกาลก็จะสามารถพยากรณ์การเกิดโรคได้ (Priou and French, 1997)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากที่ได้ทำการสำรวจปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. โดยรอบคณะเทคโนโลยีการเกษตรทั้งหมด 9 แปลง พบเพียงเชื้อรา *Pythium* spp. ทั้งหมด 5 แปลง โดยไม่พบเชื้อรา *Phytophthora* spp. เลย โดยจำนวน และ species แตกต่างกันไปในแต่ละแปลง คือ แปลงที่ 1 พบเชื้อรา *P. oligandrum* และ *P. aphanidermatum* ที่ระดับความลึก 0 ซม. จำนวนเฉลี่ย 1.2 โคโลนี แปลงที่ 3 พบเชื้อรา *P. indigoferae* และ *Pythium* sp. ที่ระดับความลึก 20 ซม. จำนวนเฉลี่ย 1.2 โคโลนี สำหรับ แปลงที่ 5 พบเชื้อรา *P. deliense* และ *P. helicoides* แปลงที่ 6 พบเชื้อรา *P. splendens* แต่มีปริมาณที่น้อยและไม่สม่ำเสมอ ส่วนแปลงที่ 9 พบเชื้อรา *P. volutum* ที่ระดับความลึก 0 ซม. จำนวนเฉลี่ย 4.2 โคโลนี และในแปลงที่ 2 แปลงที่ 4 แปลงที่ 7 และ แปลงที่ 8 ไม่พบปริมาณเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp.เลย จากการสำรวจแสดงให้เห็นว่าระดับความลึก ความชื้น และการสะสมของเศษซากพืชมีอิทธิพลต่อการอยู่รอดของ เชื้อรา *Pythium* spp.

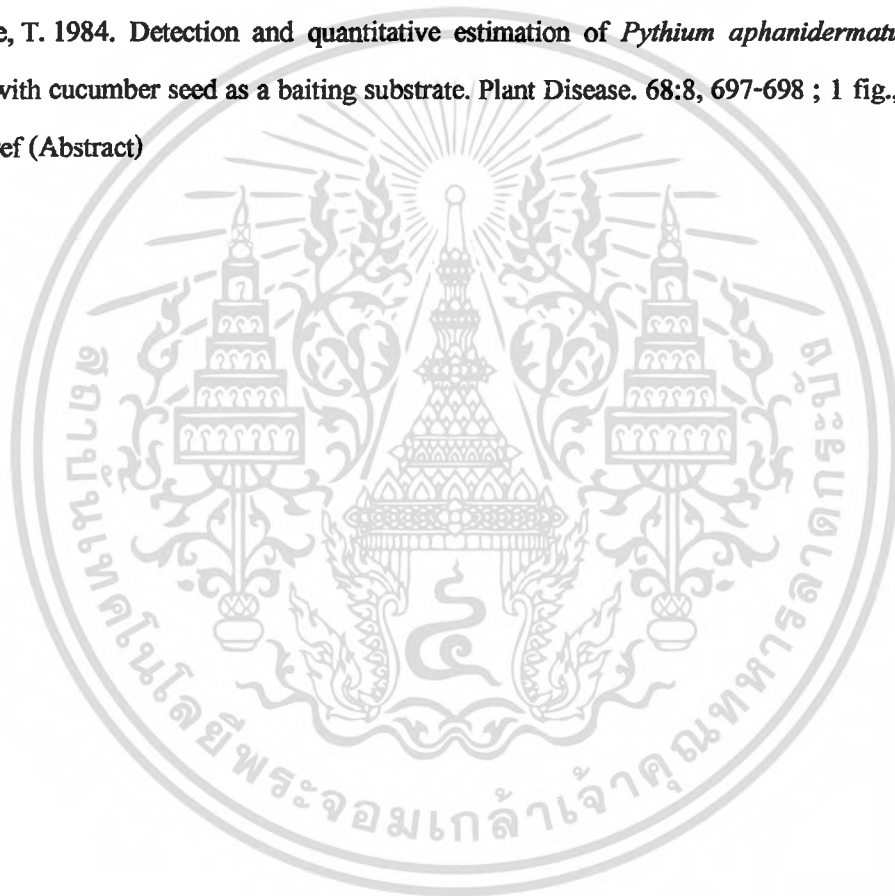
เอกสารอ้างอิง

- นิยม สุกเพราะ. 2542. ความหลากหลายของราดิน และราโรคพืชในดินปลูกพืชไร่ จ. สกนนคร
วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ 321 หน้า
- ประไพพร ศิริคติธรรม, สุทธิรักษ์ แซ่หลิม และ วสันต์ เพชรรัตน์. 2536. อนุกรมวิธาน เขตการ
แพร่ระบาด และความสามารถในการทำให้เกิดโรคพืชของรา *Pythium* spp. ที่แยกจากดิน
เกษตรกรรมในภาคใต้รายงานวิจัยภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติมหาวิทยาลัย
สงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา 142 หน้า
- รติยา พงศ์พิศุทธา. 2535. โรคผลเน่าดำของทุเรียนหมอนทองที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora pamivora*
(Bult.) Butl. และการควบคุม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ
- อุบล คือประโคน, ธนวัฒน์ กำแพงฤทธิ์รงค์, วิรัช ชูบำรุง, สมศักดิ์ เสียงก้อง, ชำรงค์ศักดิ์ อาจหาญ,
วัลลภ หนองคาย, อภิชัย อยู่เอี่ยม, สุภาวดี สมัครประโคน และ ศิริพร สรรณฉวี. 2536. ศึกษา
การเป็นโรครากเน่าโคนเน่า (*Phytophthora* spp.) ของพืชตระกูลส้มชนิดต่างๆของไทย.
หน้า 35 - 42. ในรายงานผลงานวิจัย, กลุ่มงานไม้โค, กองโรคพืช และ จุลชีววิทยา,
กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- อุบล คือประโคน, สมศักดิ์ เสียงก้อง, ชำรงค์ศักดิ์ อาจหาญ, นิยม สุกเพราะ, อภิรัชต์ สมฤทธิ์,
สุภาวดี สมัครประโคน, อภิชัย อยู่เอี่ยม, วัลลภ หนองคาย และ ศิริพร สรรณฉวี. 2535. ศึกษา
การอยู่รอดของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ในดินปลูกส้มเขียวหวาน ในท้องที่ จ.
ปทุมธานี, หน้า 13 - 18. ในรายงานผลงานวิจัย, กลุ่มงานวิทยาไม้โค, กองโรคพืช และ จุลชีว
วิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- อำไพวรรณ ภราดรนุวัฒน์, จงกล คำม่วง และอมรรรัตน์ พันธุ์ฝัก. 2530. การทดสอบประสิทธิภาพ
ของสารเคมีบางชนิดต่อโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มเขียวหวาน ในรายงานการประชุม
ทางวิชาการ โรคพืชประจำปี 2530. ห้างหุ้นส่วนจำกัด พันธุ์พิชิต. กรุงเทพฯ. 142 หน้า
- Abney, T.S., Melgar, J.C. Richards, T.L. Scott, D.H. Grogan, J., and Young, J. 1997. New race of
Phytophthora sojae with Rps 1-d virulence. *Plant Dis.* 81: 653-655.
- /Ali, M.S., L.H.C. Len and M.W. Dick. 1988. Evaluation of some selective substrates for the
quantitative estimates of populations of *Pythium* species from soil. *Transactions of the
British Mycological Society.* 86 : 1, 39-47 ; 2 fig., 3 tab.; 53 ref (Abstract)

- Burr, T. J., and Stanghellini, M.E. 1973. Propagule nature and density of *Pythium aphanidermatum* in field soil. *Phytopathology*. 63:1499.
- Chamswarnng, C. and W. Gesnara. 1988 *Pythium* in Thailand. pp. 12-15 *In Papers presented at The 5th International Congress of Plant Pathology and the 1th International Pythium Workshop, Kyoto, Japan*
- Chamswarnng, C., W. Pongsakchat and W. Gesnara. 1991. Detection and quantification of *Pythium aphanidermatum* from soil by soil dilution and baiting techniques. *Kasetsart. Journal Natural Sciences*. 25 : 1, 39-46 ; 11 ref. (Abstract)
- Chamswarnng, C., N. Thaveechai, P. Leeprasert, S. Sangchote, S. Chantara-O-tan and pathogenic activity of *Fusarium* and *Pythium* from Pathogen-free sugarcane roots and rhizosphere soil. Page 91-101. *In Cropping Programmes and Agricultural Topic Research Report 1986 -1987. Fac. Of Agric., Kasetsart Univ., Bangkok, Thailand*. 389 p.
- Erwin, D. C., Bartnicki - Garcia, S., and Tsao, P.H. (eds.) 1983. *Phytophthora : Its Biology, Taxonomy, Ecology, and Pathology*, The American Phytopathological Society, St, Paul, Minnesota. 392 p.
- Giatgong, P. 1980. Host Index of Plant Disease in Thailand. Dept. of Agric., Bangkok, Thailand. 115 p.
- Grisanapundra, N. 1987. *Pythium* species from crucifer planted soil and their pathogenicity. M.S. Theses, Kasart Univ., Bangkok.
- Haas, J.H. 1964. Isolation of *Phytophthora megasperma* var. *sojae* in soil dilution plates. *Phytopathology* 54:894.
- Hamdan, A.H.Y.A., M.S. Ali, G. Jones and A.M. Mortimer. 1995. *Phytophthora citrophthora* and *P. nicotianae* in two contrasting citrus plantations in the West Bank. Middle East. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. 102 : 2, 151-163 ; 46 ref (Abstract)
- Hamm, P.B. and E.M. Hansen. 1984. Improved method for isolating *Phytophthora lateralis* from soil. *Plant Disease*. 68:6, 517-519 ; 2 tap. ; 8 ref (Abstract)
- Hassan, F., M. Kha and M. Jan. 1994. Isolation techniques for chillies root rot pathgen. *Sarhad Journal of Agriculture*. 10 : 5, 581-587 ; 18 ref (Abstract)

- Lio, G.M. di. S. and G. Perrotta. 1983. Use of the MPN method for the quantitative determination of Populations of *Phytophthora* species pathogenic on citrus fruits. *Phytopathologia Mediterranea*. 22:3, 181-187 ; 2 graphs, 4 tab. ; 27 ref (Abstract)
- Lio, G.M. di. S., G. Perrotta, S.O. Cacciola, R. Tuttobene, R. Goren(ed) and K. Mendel(ed).1998. Factors affecting soil population of *Phytophthora* in citrus orchards. *Citriculture. Proceedings of the Sixth International Citrus Congress, Middle-East, Tel Aviv, Israel, 6-11 March. Volume 2. Cultural practices, diseases and nematodes. 767-774 ; 11 ref (Abstract)*
- Masago, H., M. Yoshikawa, M. Fukada and N. Nakanishi. 1977. Selective inhibition of *Pythium* spp. on a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soils and plants. *Phytopathology* 67:425-428.
- Neher, D.A., C.D. Mckeen and J.U. Duniway. 1993. Relationships among *Phytophthora* root rot development, *P. parasitica* populations in soil, and yield of tomatoes under commercial field conditions. *Plant Disease*. 77 : 11, 1106-1111 ; 26 ref (Abstract)
- Priou, S and E.R. French. 1997. A simple baiting technique to detect and quantify *Pythium aphanidermatum* in soil. *Fitopatologia*. 32: 3, 187-193; 16 ref (Abstract)
- Serra, S., A. Franceschini and A. Foddai. 1988. Evaluation of some selective substrates for the quantitative determination of *Phytophthora cryptogea* Peth. Et Laff. In the soil. *Phytopathologia Mediterranea*. 27 : 1, 23-27 ; 11 ref (Abstract)
- Serra, S., A. Franceschini and A. Foddai. 1988. Evaluation of the efficiency of the soil dilution plate (SDP) method for the quantitative determination of populations of *Phytophthora cryptogea* Peth. et. Laff. In the soil. *Phytopathologia Mediterranea*. 27:3, 173-177 ; 12 ref (Abstract)
- Shimizu, T. and T. Ichitani. 1984. Selective medium for quantitative detection and observation of propagules of *Pythium zingiberum* in soil. *Annals of the Phytopatological Society of Japan*. 50:2, 289-293 ; 11 fig., 1 tab. ; 11 ref (Abstract)
- Solel, Z. and Y. Pinkas. 1984. A modified selective medium for detecting *Phytophthora Cinnamomi* on avocado roots. *Phytopathology*. 74:4, 506-508 ; 2 tab. ; 9 ref (Abstract)
- Stanghellini, M.E. and W.C. Kronland. 1985. Bioassay for quantification of *Pythium aphanidermatum* in soil. *Phytopathology*. 75:11, 1242-1245 ; 4 fig. ; 12 ref

- Tojo, M., E. Nakazono, K. Hotta and T. Ichitani. 1992. Seasonal Variation of *Pythium* spp. In vegetable field soil. Proceeding of the Kansai Plant Protection Society. No. 34, 11-16 ; 8 ref (Abstract)
- Tsao, P.H. and G. Ocana. 1969. Selective isolation of *Phytophthora* from natural soil on an improved antibiotic medium. Nature, Lond. 233:636-638
- Valdebenito-S.R.M. 1985. Techniques for the isolation of *Pythium* from roots and soil. Summa Phytopathologica. 11: 1-2, 99-104 ; 2 tab. ; 11 ref (Abstract)
- Watanabe, T. 1984. Detection and quantitative estimation of *Pythium aphanidermatum* in soil with cucumber seed as a baiting substrate. Plant Disease. 68:8, 697-698 ; 1 fig., 2 tab., 7 ref (Abstract)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 จำนวนโคโลนีของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. โดยใช้วิธี soil dilution plate กับการใช้ selective agar media. (BNPRA+ rose bengal) ในแปลงที่ 1

ระดับความลึกของดิน (cm)	จำนวนโคโลนีของเชื้อรา <i>Pythium</i> spp. และ <i>Phytophthora</i> spp.					เฉลี่ย
	Block 1	Block2	Block3	Block4	Block5	
0	2 ^{1/}	2	-	1	-	1.2
20	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-

^{1/} ค่าเฉลี่ยจำนวน 5 ซ้ำบน plate

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนโคโลนีของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. โดยใช้วิธี soil dilution plate กับการใช้ selective agar media. (BNPRA+ rose bengal) ในแปลงที่ 1

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	1.333	0.333	1.00 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	3.333	1.667	5.00 [*]	4.46	8.64
Error	8	2.667	0.333			
Total	14	7.333	0.524			

^{ns} = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

^{*} = มีความแตกต่างกันทางสถิติ

GRAND MEAN = .33

CV = 173.21%

LSD .05 = .8420322

LSD .01 = 1.225073

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 จำนวน โคลินีของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. โดยใช้วิธี soil dilution plate กับการใช้ selective agar media. (BNPRA+ rose bengal) ในแปลงที่ 3

ระดับความลึกของดิน (cm)	จำนวน โคลินีของเชื้อรา <i>Pythium</i> spp. และ <i>Phytophthora</i> spp.					เฉลี่ย
	Block 1	Block2	Block3	Block4	Block5	
0	-	-	-	-	-	-
20	2 ^{1/}	-	1	2	1	1.2
30	-	-	-	-	-	-

^{1/} ค่าเฉลี่ยจำนวน 5 ซ้ำบน plate

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวน โคลินีของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. โดยใช้วิธี soil dilution plate กับการใช้ selective agar media. (BNPRA+ rose bengal) ในแปลงที่ 3

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	0.933	0.233	1.00 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	4.800	2.400	10.29 ^{**}	4.46	8.64
Error	8	1.867	0.233			
Total	14	7.600	0.543			

^{ns} = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

^{**} = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

GRAND MEAN = .4

CV = 120.76%

LSD .05 = .7044946

LSD .01 = 1.024969

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 5 จำนวนโคโลนีของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. โดยใช้วิธี soil dilution plate กับการใช้ selective agar media. (BNPRA+ rose bengal) ในแปลงที่ 9

ระดับความลึกของดิน (cm)	จำนวน โคโลนีของเชื้อรา <i>Pythium</i> spp. และ <i>Phytophthora</i> spp.					เฉลี่ย
	Block 1	Block2	Block3	Block4	Block5	
0	1 ^{1/}	6	0.4	3.8	9.8	4.2
20	-	-	-	-	-	-
30	0.2	-	0.2	-	-	0.08

^{1/} ค่าเฉลี่ยจำนวน 5 ซ้ำบน plate

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวน โคโลนีของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. โดยใช้วิธี soil dilution plate กับการใช้ selective agar media. (BNPRA+ rose bengal) ในแปลงที่ 9

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	18.896	4.724	0.931 ^{ns}	3.84	7.01
Treatment	2	27.701	28.851	5.686*	4.46	8.64
Error	8	40.592	5.074			
Total	14	117.189	8.371			

^{ns} = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = มีความแตกต่างกันทางสถิติ

GRAND MEAN = 1.427

CV = 157.89%

LSD .05 = 3.285221

LSD .01 = 4.779668

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้