

ความแปรปรวนของความรุนแรงและความก้าวร้าวของเชื้อรา *Phytophthora infestans*
ที่เก็บรวบรวมจากแปลงปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย

Variation in the Virulence and Aggressiveness of *Phytophthora infestans* Isolates
Collected from Different Potato Fields of Thailand

พิภัทร เจียมพิริยะกุล

Pipat Chiampiriyakul

สาขาวิชาอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

Corresponding author: pipat@mju.ac.th

Received: May 23, 2018

Revised: October 10, 2018

Accepted: October 12, 2018

Abstract

One hundred and forty isolates of *Phytophthora infestans* collected from naturally late blight infected potato plants of different regions in Chiang Mai and Tak provinces were separately assessed for their pathogenicity, virulence and aggressiveness as the objectives, on detached leaflets and tuber discs of potato (Atlantic and Spunta cultivars) and detached leaflets of tomato (Delta and Seeda cultivars). Pathogenicity, virulence and aggressiveness scored as infection frequency, disease severity assessed on 1-5 grade scale and sporulation intensity, respectively, were evaluated on leaflets of four cultivars of both hosts and on tuber discs of two cultivars of potato in a Completely Randomized Design (CRD) with 6 replications. All 140 of the collected isolates were pathogenic to both hosts, indicating that extreme host specification has not occurred. The potato isolates were more virulent on potato than tomato but less aggressive on potato than tomato. In the experiments of potato tuber disc, the results showed stronger virulence and aggressiveness on Atlantic cultivar than on Spunta cultivar. The variation in virulence of *P. infestans* observed in the study indicated that the population of *P. infestans* in Thailand comprises various isolates with low to high virulence potentials as measured by disease severity assessment on detached leaflets of potato Atlantic cultivar and tomato Seeda cultivar.

Keywords: *Phytophthora infestans*, late blight, virulence, aggressiveness, pathogenicity

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสามารถในการก่อโรค ความรุนแรง และความก้าวร้าวของเชื้อรา *Phytophthora infestans* จำนวน 140 ไอโซเลท ที่เก็บรวบรวมจากมันฝรั่งที่แสดงอาการโรคใบไหม้ในพื้นที่แปลงปลูกในจังหวัดเชียงใหม่และตาก โดยวิธีทดสอบบนชิ้นมันฝรั่งและใบย่อยที่ปลิดจากต้นของมันฝรั่งจำนวนสองพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แอตแลนติกและพันธุ์สปุนต้า และใบย่อยที่ปลิดจากต้นของมะเขือเทศจำนวนสองพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เดลต้าและพันธุ์ลีดา ในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งการวิจัยนี้ออกแบบและวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 6 ซ้ำ ซึ่งประเมินได้โดยการให้คะแนนความถี่ของการติดเชื้อ ความรุนแรงของอาการบนพืชทดสอบ (ระดับ 1-5) และความหนาแน่นของการสร้างสปอร์บนพื้นที่ที่แสดงอาการโรคตามลำดับ เชื้อรา *P. infestans* ทุกไอโซเลท สามารถก่อโรคได้ทั้งบนมันฝรั่งและมะเขือเทศ ซึ่งให้เห็นว่าเชื้อรา *P. infestans* ไม่ได้มีความจำเพาะต่อมันฝรั่งพืชอาศัยเท่านั้น เชื้อรา *P. infestans* ซึ่งเก็บรวบรวมจากมันฝรั่งให้ลักษณะรุนแรงของอาการบนมันฝรั่งสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาการบนมะเขือเทศ แต่แสดงลักษณะความก้าวร้าวบนมันฝรั่งในระดับที่ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่แสดงบนมะเขือเทศ การทดลองบนชิ้นมันฝรั่งประชากรเชื้อรา *P. infestans* แสดงลักษณะความรุนแรงและความก้าวร้าวเฉลี่ยบนพันธุ์แอตแลนติกสูงกว่าบนพันธุ์สปุนต้า ผลการประเมินความแปรปรวนในลักษณะความรุนแรงของประชากรเชื้อรา *P. infestans* จากการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าประชากรเชื้อรา *P. infestans* ที่เก็บรวบรวมจากมันฝรั่งที่แสดงอาการโรคใบไหม้ในพื้นที่แปลงปลูกในประเทศไทย ประกอบด้วยไอโซเลทที่แตกต่างกันในศักยภาพของลักษณะความรุนแรงที่มีระดับสูง-ต่ำ ดังผลการประเมินความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติก และมะเขือเทศพันธุ์ลีดา

คำสำคัญ: ไฟทอปทอรา โรคใบไหม้ ความรุนแรง ความก้าวร้าว ความสามารถในการก่อโรค

คำนำ

โรคใบไหม้ (Late blight) มีสาเหตุจากการติดเชื้อรา *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary เป็นโรคที่สำคัญซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.) และมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill) ทั่วโลก และเป็นเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญในมันฝรั่งและมะเขือเทศในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย โดยเฉพาะจังหวัดตากและเชียงใหม่มีพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง 13,100 และ 11,159 ไร่ ตามลำดับ (Office of Agricultural Economics, 2018) ซึ่งมีพื้นที่ปลูกมันฝรั่งคิดเป็นร้อยละ 64 ของพื้นที่ปลูกมันฝรั่งรวมทั้งประเทศ

กว่าทศวรรษที่ผ่านมา มีการรายงานข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มสูงขึ้นของความแปรปรวนทางพันธุกรรมและความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity) ของเชื้อรา *P. Infestans* เมื่อทำการศึกษาและสำรวจในหลายพื้นที่ที่มีลักษณะทางภูมิศาสตร์แตกต่างกัน ซึ่งมีการสันนิษฐานในเบื้องต้นว่าอาจมีมูลเหตุมาจากการอพยพย้ายถิ่นฐานของเชื้อราสาเหตุโรค (Fry, 2008) คุณลักษณะที่สำคัญที่มีความผันแปรของเชื้อรานี้ คือ ความแปรปรวนในความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity) ความรุนแรง (Virulence) และความก้าวร้าว (Aggressiveness) ซึ่งเป็นคุณลักษณะในความสามารถโดยรวมของเชื้อรา *P. Infestans* สาเหตุโรคในการติดเชื้อก่อโรคเข้าทำลายพืชอาศัย และเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการประเมินหรือตรวจหาการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างประชากรของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สนใจ ซึ่งการประเมินคุณลักษณะเชิงปริมาณของเชื้อรา *P. infestans* นิยมปฏิบัติการโดยวิธี Detached-Leaf หรือ Leaflet (Cohen 2002; Knapova and Gisi, 2002) จึงนับเป็นวิธีที่เป็นประโยชน์ เนื่องจาก

ไม่ยุ่งยากซับซ้อนในปฏิบัติการทดสอบประเมินความรุนแรงและความก้าวร้าวของไอโซเลทเชื้อราบนมันฝรั่งและมะเขือเทศในระยะสั้นอย่างรวดเร็ว (Klarfeld *et al.*, 2009; Blandon-Diaz *et al.*, 2012; Harbaoui *et al.*, 2013)

ข้อมูลทางวิชาการของความแปรปรวนของความสามารถในการก่อโรค ความรุนแรง และความก้าวร้าวของเชื้อรา *P. Infestans* มีความสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาการจัดการโรคใบไหม้ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย การวิจัยนี้จึงทำการประเมินความแปรปรวนของความสามารถในการก่อโรค ความรุนแรง และความก้าวร้าวของประชากรเชื้อรา *P. Infestans* ที่รวบรวมในจังหวัดเชียงใหม่และตาก ซึ่งเป็นพื้นที่ปลูกมันฝรั่งในภาคเหนือของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

การรวบรวม การเก็บรักษา และการเตรียมสปอแรงเจียแขวนลอย ของเชื้อรา *P. infestans*

แยกเชื้อรา *P. infestans* จากใบมันฝรั่งที่แสดงอาการโรคใบไหม้ซึ่งเก็บรวบรวมตัวอย่างใบมันฝรั่งจากพื้นที่ปลูกในเขตภาคเหนือระหว่างปี พ.ศ. 2558–2559 และ พ.ศ. 2559–2560 จำนวน 93 และ 47 ไอโซเลท ตามลำดับ โดยจำแนกเป็นเชื้อราจากพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ใน 3 อำเภอ ได้แก่ ฝาง (ตำบลสันทราย) พร้าวก (ตำบลโหล่งขอด) และสันทราย (ตำบลเจดีย์แม่ครัว แม่แฝกใหม่ และหนองหาร) และจากพื้นที่จังหวัดตาก อำเภอพบพระ ตำบลรวมไทยพัฒนา รวมทั้งสิ้น 6 ตำบล โดยมีจำนวน 4, 5, 38, 13, 50 และ 20 ไอโซเลทในแต่ละตำบล ตามลำดับ ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *P. infestans* บริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทจำนวน 140 ไอโซเลท บนอาหารวุ้นเพาะเลี้ยง Corn A บ่มที่อุณหภูมิ 18°C. เป็นเวลา 14 วัน ในตู้บ่มเชื้อที่ปราศจากแสง ก่อนการนำมาเตรียมสปอแรงเจียแขวนลอยในน้ำ (Sporangial suspensions) ความหนาแน่น 1.0×10^4 สปอร์/มล. ทำการเก็บบ่มสปอแรงเจียแขวนลอยที่อุณหภูมิ 4°C.

เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อชักนำให้เกิดการปลดปล่อยซุสปอร์ (Zoospore liberation) เพื่อใช้ในการศึกษาคุณลักษณะของเชื้อราในความสามารถในการก่อโรค ความรุนแรง และความก้าวร้าวของเชื้อราต่อไป

พืชที่ใช้ในการทดสอบ

มันฝรั่งจำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แอตแลนติก (Atlantic) และพันธุ์สปุนต้า (Spunta) โดยทำการเก็บรวบรวมใบมันฝรั่งที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ในตำแหน่งที่ 3-5 นับจากยอด จากต้นมันฝรั่งอายุ 6-8 สัปดาห์ ที่มีการเจริญเติบโตปกติและปราศจากโรค ขึ้นมันฝรั่งที่ได้จากการตัดตามขวางจากหัวมันฝรั่งทั้งสองพันธุ์ให้เป็นแผ่นขนาดความหนา 0.5-0.8 ซม. และมะเขือเทศจำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เดลต้า (Delta) และพันธุ์ซีดา (Seeda) โดยทำการเก็บรวบรวมใบมะเขือเทศที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ในตำแหน่งที่ 3-5 นับจากยอด จากต้นมะเขือเทศอายุ 6-8 สัปดาห์ ที่มีการเจริญเติบโตปกติและปราศจากโรค ล้างทำความสะอาดใบพืชทั้งสองชนิด (4 พันธุ์) ด้วยน้ำสะอาด และพ่นสเปรย์น้ำกลั่นหนึ่งขวดเชื้อที่ปลายก้านใบย่อยเพื่อลดการเหี่ยวจากการขาดน้ำของใบย่อยก่อนนำไปใช้ในปฏิบัติการต่อไป

การปลูกเชื้อรา *P. infestans* บนใบย่อยของมันฝรั่งและมะเขือเทศที่ปลิดใบจากต้นและขึ้นมันฝรั่ง

การปลูกเชื้อ (plant inoculation) บนใบย่อยพืชตัวอย่างซึ่งวางในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ด้วยสปอแรงเจียแขวนลอยที่มีความหนาแน่น 1×10^4 สปอร์/มล. ปริมาตร 10 ไมโครลิตร โดยหยดลงบนด้านท้องใบ บริเวณเส้นกลางใบ (Midrib) ภายหลังการปลูกเชื้อทำการบ่มใบพืชที่ทำการปลูกเชื้อภายในภาชนะที่รักษาความชื้นที่อุณหภูมิ 18°C. เป็นเวลา 7 วัน โดยทำการปลูกเชื้อแต่ละไอโซเลทลงบนใบ จำนวน 6 ซ้ำ (ใบ) ต่อพันธุ์พืช การทดสอบบนขึ้นมันฝรั่งทั้งสองพันธุ์ ปฏิบัติการในลักษณะเดียวกัน จำนวน 6 ซ้ำ (ขึ้นมันฝรั่ง) ต่อพันธุ์มันฝรั่ง

การประเมินความสามารถในการเป็นเชื้อสาเหตุโรคของ ไอโซเลทเชื้อรา *P. infestans*

การประเมินความสามารถในการก่อโรค ความรุนแรง และความก้าวร้าวของเชื้อรา *P. infestans* ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยปลูกเชื้อรา *P. infestans* บนใบย่อยของมันฝรั่งและมะเขือเทศ ที่ผลิตไปมาจากต้นและบนชิ้นมันฝรั่ง ซึ่งการวิจัยนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ มีจำนวน 6 ซ้ำ โดยมีเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 140 ไอโซเลท พืชที่ใช้ในการทดสอบจำนวน 2 ชนิด แต่ละชนิดพืชมีจำนวน 2 พันธุ์ กรรมวิธีควบคุมปฏิบัติการเช่นเดียวกับการปลูกเชื้อ แต่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว แทนสไปรแรงเจียแขวนลอย เพื่อแสดงให้เห็นว่าปราศจากการปนเปื้อนจากเชื้อโรคภายนอกการควบคุมให้ค่าเป็นศูนย์สำหรับการติดเชื้อ และไม่รวมอยู่ในการวิเคราะห์

ความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity) ของเชื้อรา *P. infestans* ประเมินจากความถี่ในการติดเชื้อ (Infection frequency) โดยการตรวจนับจำนวนใบพืชทดสอบหรือชิ้นมันฝรั่งที่แสดงอาการโรค และคำนวณร้อยละของสัดส่วนของจำนวนใบหรือชิ้นมันฝรั่งที่แสดงลักษณะอาการโรคต่อจำนวนซ้ำของตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา ภายหลังจากการปลูกเชื้อลงบนพืชตัวอย่าง 7 วัน ซึ่งมีวิธีการคำนวณแสดงเป็นสมการดังนี้

$$\text{ความถี่ในการติดเชื้อ (\%)} = (A/B) \times 100$$

โดยที่ A = จำนวนใบหรือจำนวนชิ้นมันฝรั่ง
ที่แสดงลักษณะอาการโรค
B = จำนวนใบหรือจำนวนชิ้นมันฝรั่ง
ที่ใช้ในการทดลอง

ความรุนแรง (Virulence) ของเชื้อรา *P. infestans* ประเมินโดยวัดขนาดพื้นที่ของอาการแผลที่ปรากฏบนผิวใบหรือชิ้นมันฝรั่งในตำแหน่งที่ทำการหยดสไปรแรงเจียแขวนลอยของเชื้อรา ภายหลังจากการปลูกเชื้อลงบนใบพืชทดสอบหรือชิ้นมันฝรั่งที่เกิดโรค 7 วัน และคำนวณเป็นร้อยละของสัดส่วนของพื้นที่ใบหรือชิ้นมันฝรั่งที่

แสดงลักษณะอาการโรคต่อพื้นที่ทั้งหมดของพืชที่ใช้ในการศึกษา (Lesion area coverage) ซึ่งมีวิธีการคำนวณแสดงเป็นสมการดังนี้

ร้อยละของสัดส่วนของพื้นที่ใบที่แสดงลักษณะ
อาการของโรค (%) = $(A/B) \times 100$

โดยที่ A = ขนาดพื้นที่ของอาการแผลที่ปรากฏบนผิวใบ
หรือชิ้นมันฝรั่งที่แสดงอาการโรค

B = ขนาดพื้นที่ของใบพืชหรือชิ้นมันฝรั่ง
ที่ใช้ในการทดลอง

ความรุนแรงของอาการบนใบพืชทดสอบ แบ่งได้เป็น 5 ระดับความรุนแรง ได้แก่ ระดับที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 โดยมีค่าสัดส่วนของพื้นที่ใบที่แสดงอาการของโรคต่อพื้นที่ทั้งหมดของใบคิดเป็นร้อยละ 0-20, 21-40, 41-60, 61-80 และ 81-100 ตามลำดับ

ความก้าวร้าว (Aggressiveness) ของเชื้อรา *P. infestans* ประเมินโดยการตรวจนับจำนวนสไปรแรงเจียที่เชื้อราสร้างบนใบพืชทดสอบหรือชิ้นมันฝรั่งที่เกิดโรค ภายหลังจากการปลูกเชื้อ 7 วัน และคำนวณความหนาแน่นของสไปรแรงเจียบนพื้นที่ของอาการแผล (Sporulation intensity) ที่ปรากฏบนผิวใบในตำแหน่งที่ทำการหยดสไปรแรงเจียของเชื้อรา (จำนวนสไปรแรงเจียต่อตร.ซม. ของพื้นที่แผล) ซึ่งมีวิธีการคำนวณแสดงเป็นสมการดังนี้

ความหนาแน่นของสไปรแรงเจียบนพื้นที่ของ
อาการแผล (สปอร์ต่อตร.ซม.) = A/B

โดยที่ A = ปริมาณสปอร์ที่ตรวจนับและคำนวณได้จาก
Haemocytometer
B = พื้นที่ของอาการแผล (Lesion area)
ที่ปรากฏบนผิวใบ (ตร.ซม.)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม R และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย

ผลการประเมินความสามารถในการเป็นเชื้อสาเหตุโรคของเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 140 ไอโซเลท ซึ่งเก็บรวบรวมจาก 6 ตำบลพื้นที่ปลูกมันฝรั่งในจังหวัดเชียงใหม่และตาก บนใบย่อยพืชทดสอบของมันฝรั่ง (พันธุ์แอตแลนติกและพันธุ์สปุนต้า) และมะเขือเทศ (พันธุ์เดลต้าและพันธุ์ซีดา) ที่ปลูกไปมาจากต้น แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *P. infestans* ทุกไอโซเลทสามารถติดเชื้อมาก่อนโรคบนพืชทดสอบทั้งสองชนิด (จำนวน 4 พันธุ์พืช) โดยมีความถี่เฉลี่ยสูงในการติดเชื้อมันฝรั่งทุกพันธุ์ระหว่างร้อยละ 82.38-98.02 ในขณะที่ความรุนแรงของอาการบนพืชทดสอบ ซึ่งคำนวณเป็นร้อยละของสัดส่วนของพื้นที่

ใบที่แสดงอาการของโรคต่อพื้นที่ทั้งหมดของใบ ให้ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชนิดและพันธุ์พืช (ร้อยละ 17.61-87.67) ส่วนผลการประเมินความหนาแน่นของสปอแรงเจียนบนพื้นที่ของอาการแผลซึ่งแสดงถึงความก้าวหน้าของเชื้อรา *P. infestans* ให้ค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชนิดและพันธุ์พืช โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 338.32, 267.55, 636.02 และ 514.96 สปอร์ต่อ ตร.ซม. ของพื้นที่แผลบนใบของมันฝรั่ง (พันธุ์แอตแลนติกและพันธุ์สปุนต้า) และมะเขือเทศ (พันธุ์เดลต้าและพันธุ์ซีดา) ตามลำดับ แต่สามารถประเมินได้จากบางไอโซเลทของเชื้อราซึ่งคิดเป็นจำนวนร้อยละ 30.36 ของเชื้อราทั้งหมดเท่านั้น เนื่องจากไอโซเลทส่วนใหญ่สร้างสปอร์ในปริมาณที่ต่ำเกินกว่าจะสามารถประเมินได้ด้วย Haemocytometer (Table 1)

Table 1 Comparison on pathogenicity, virulence and aggressiveness of 140 isolates of *Phytophthora infestans* on potato and tomato leaflets after 7 days inoculation

Plant tissue	Cultivar	Pathogenicity, virulence and aggressiveness parameter ^a		
		Infection frequency (%)	Lesion area coverage (%)	Sporulation intensity (spores/cm ²)
Potato leaflet	Atlantic	93.32b	87.67a	338.32c
	Spunta	82.38c	76.44b	267.55d
Tomato leaflet	Delta	98.02a	44.54c	636.02a
	Seeda	92.99b	17.61d	514.96b

^a Within a data column, values followed the same letter are not significantly different ($P \geq 0.05$) according to Duncan's multiple range test (DMRT). Values are means of six replications.

ผลการประเมินความสามารถในการเป็นเชื้อสาเหตุโรคของเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 140 ไอโซเลทบนชิ้นมันฝรั่ง แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการติดเชื้อมาก่อนโรคของเชื้อรา โดยมีความถี่เฉลี่ยร้อยละ 100 มีค่าเฉลี่ยร้อยละความรุนแรงของอาการซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์แอตแลนติก (ร้อยละ 41.30) และ

พันธุ์สปุนต้า (ร้อยละ 36.52) และมีความก้าวหน้าของเชื้อรา *P. infestans* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์แอตแลนติกและพันธุ์สปุนต้า ที่ความหนาแน่นของสปอแรงเจียนบนพื้นที่ของอาการแผลเท่ากับ 2,155.26 และ 1,870.79 สปอร์ต่อตร.ซม.) ดังแสดงใน Table 2

ผลการประเมินความรุนแรงของเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 140 ไอโซเลต แสดงให้เห็นว่าประชากรของเชื้อรา *P. infestans* มีการกระจายตัวอยู่ในสี่ระดับความรุนแรง เมื่อปลูกเชื้อราบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติก ได้แก่ ระดับที่ 2, 3, 4 และ 5 โดยมีเชื้อราในแต่ละระดับ จำนวน 3, 5 34 และ 98 ไอโซเลต ตามลำดับ และระดับความรุนแรงของอาการบนใบมะเขือเทศพันธุ์สิดา แสดงให้เห็นถึงการกระจายตัวของเชื้อรา *P. infestans* ในความรุนแรงระดับที่ 1, 2, 3 และ 4 โดยมีเชื้อราในแต่ละระดับ จำนวน 91

42, 5 และ 2 ไอโซเลต ตามลำดับ ดังแสดงใน Figure 1 นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 49 ไอโซเลต ซึ่งติดเชื้อมาก่อนโรคนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกและสปนต่ำในความรุนแรงของอาการระดับที่ 5 (ร้อยละ 81-100) มีการกระจายตัวในแต่ละระดับความรุนแรงในระดับที่ 1 2, 3 และ 4 จำนวน 29, 18, 1 และ 1 ไอโซเลต หรือคิดเป็นเท่ากับร้อยละ 59.18, 36.73, 2.04 และ 2.04 ของเชื้อราจำนวน 49 ไอโซเลต ตามลำดับ เมื่อปลูกเชื้อราบนใบมะเขือเทศพันธุ์สิดา (ไม่ได้แสดงข้อมูลผลการทดสอบ)

Table 2 Comparison on pathogenicity, virulence and aggressiveness of 140 isolates of *Phytophthora infestans* on potato tuber discs after 7 days inoculation

Plant tissue	Cultivar	Pathogenicity, virulence and aggressiveness parameter ^a		
		Infection frequency (%)	Lesion area coverage (%)	Sporulation intensity (spores/cm ²)
Potato disc	Atlantic	100a	41.30a	2,155.26a
	Spunta	100a	36.52b	1,870.79b

^a Within a data column, values followed the same letter are not significantly different ($P \geq 0.05$) according to Duncan's multiple range test (DMRT). Values are means of six replications.

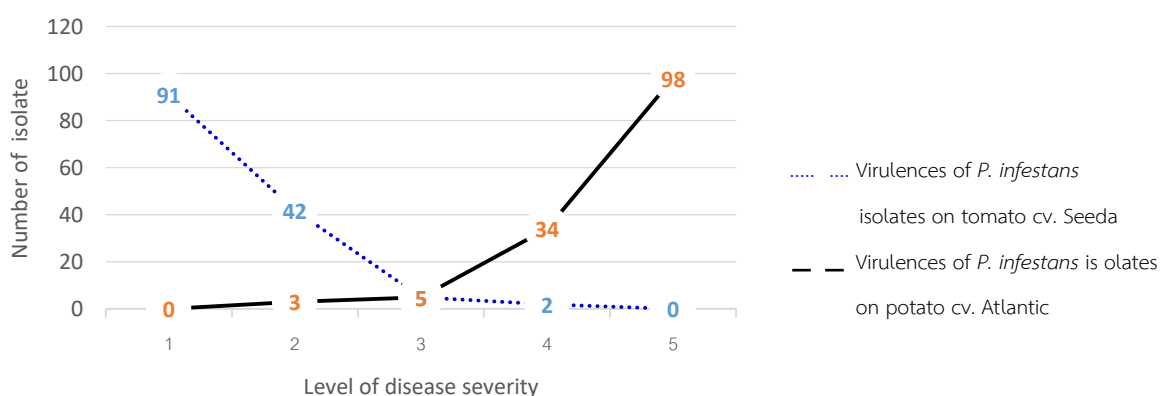


Figure 1 Comparison of disease severity of inoculated potato cv. Atlanta and inoculated tomato cv. Seeda leaflets under laboratory conditions by sporangia suspensions of 140 isolates of *Phytophthora infestans*

เมื่อพิจารณาความรุนแรงของอาการบนพืชทั้งสองชนิด จำนวน 4 พันธุ์ จำแนกตามตำบลพื้นที่ปลูกมันฝรั่งซึ่งทำการเก็บรวบรวมเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 140 ไอโซเลท พบว่าสัดส่วนของพื้นที่ใบที่แสดงอาการของโรคต่อพื้นที่ทั้งหมดของใบพืชทดสอบ พันธุ์แอตแลนติก พันธุ์สปุนต้า พันธุ์เดลต้า และพันธุ์ซีดา มีค่าเฉลี่ยร้อยละ

73.40-91.13, 71.04-88.75, 35.40-62.00 และ 9.00-27.40 ตามลำดับ (Table 3) โดยเชื้อรา *P. infestans* ที่เก็บจากตำบลโหล่งขอด มีค่าเฉลี่ยของความรุนแรงของอาการบนมะเขือเทศพันธุ์เดลต้าและซีดาสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอาการบนมะเขือเทศพันธุ์เดียวกัน

Table 3 Comparison on virulence (lesion area coverage) of *Phytophthora infestans* (140 isolates) collected from different regions in Chiang Mai and Tak provinces on potato and tomato leaflets and potato tuber discs after 7 days inoculation

Location ^a	Average of lesion area coverage ^b (%)					
	Potato leaflet		Tomato leaflet		Potato tuber disc	
	Atlantic	Spunta	Delta	Seeda	Atlantic	Spunta
CM-Fa-1	86.00c	88.75a	39.25c	9.00d	37.75d	42.25a
CM-Ph-2	73.40d	86.40b	62.00a	27.40a	56.40a	39.00b
CM-SS-3	88.53b	75.92d	50.34b	15.84c	42.50bc	35.16c
CM-SS-4	91.13a	71.04e	51.22b	18.83b	43.65b	35.96c
CM-SS-5	87.40bc	76.42d	39.40c	18.60b	41.14c	40.04b
TK-PP-6	86.65c	78.75c	35.40d	16.35c	33.65e	29.20d

^a Source of *P. infestans* isolates: Province CM = Chiang Mai and TK = Tak; District Fa = Fang, Ph = Phrao, SS = San Sai and PP = Phob Phra; Sub-district 1 = San Sai, 2 = Long Khot, 3 = Chedee Mae Krua, 4 = Mae Faek Mai, 5 = Nong Han and 6 = Ruam Thai Pattana

^b Within a data column, values followed the same letter are not significantly different ($P = 0.05$) according to Duncan's multiple range test (DMRT). Values are means of six replications.

การจัดกลุ่มเชื้อรา *P. infestans* โดยอาศัยระดับความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกและบนใบมะเขือเทศพันธุ์ซีดา จำแนกประชากรเชื้อราได้จำนวน 12 กลุ่ม (Cluster) ผลการประเมินไม่พบไอโซเลทของเชื้อราที่สามารถก่อให้เกิดความรุนแรงของอาการบนมะเขือเทศได้ในระดับที่สูงกว่าบนมันฝรั่งของเชื้อไอโซเลทนั้นๆ (Table 4) การกระจายตัวของประชากรเชื้อราในแต่ละกลุ่ม แสดงให้เห็นได้ว่าเชื้อรา *P. infestans* ที่ให้ความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกที่ระดับ 4 (กลุ่มที่ 5-8) และ

ระดับ 5 (กลุ่มที่ 9-12) มีจำนวน 34 ไอโซเลท (ร้อยละ 24.29) และ 98 ไอโซเลท (ร้อยละ 70.00) ตามลำดับ ซึ่งเชื้อรา *P. infestans* ที่ให้ความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกที่ระดับ 4 และ 5 คิดเป็นร้อยละ 94.29 ของประชากรเชื้อราทั้งหมด ให้ความรุนแรงของอาการบนใบมะเขือเทศพันธุ์ซีดา ระดับ 1, 2, 3, และ 4 จำนวน 85, 40, 5 และ 2 ไอโซเลท ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 60.71, 28.57, 3.57 และ 1.43 ของประชากรเชื้อราทั้งหมด ตามลำดับ

เชื้อรา *P. infestans* จำนวน 49 ไอโซเลท ให้ความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกและพันธุ์สปุนต้าที่ระดับ 5 มีการกระจายตัวให้ความรุนแรงของอาการบนใบมะเขือเทศพันธุ์สีดา ระดับ 1, 2, 3 และ 4 จำนวน 29, 18, 1 และ 1 ไอโซเลท ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อรา *P. infestans* จำนวน 3 ไอโซเลท ซึ่งเก็บได้ใน

อำเภอสนทราย จังหวัดเชียงใหม่ ได้แก่ ไอโซเลท 42 และ 43 (ตำบลเจดีย์แม่ครัว) และ 106 (ตำบลหนองหาร) ให้ความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกและพันธุ์สปุนต้าค่อนข้างต่ำ (ระดับ 2-3) ให้ความรุนแรงของอาการบนใบมะเขือเทศพันธุ์สีดาระดับ 1 (ไม่ได้แสดงข้อมูลผลการทดสอบ)

Table 4 Clusters of 140 collected isolates of *Phytophthora infestans* classified by virulence (lesion area coverage) parameter on potato leaflets cv. Atlantic and tomato leaflets cv. Seeda

Cluster	Lesion area coverage ^a		Number	Percentage	Isolate of <i>P. infestans</i> accession number
	Potato	Tomato			
	Atlantic	Seeda			
1	2	1	2	1.43	43, 108
2	2	2	1	0.71	73
3	3	1	4	2.86	4, 39, 42, 106
4	3	2	1	0.71	8
5	4	1	27	19.29	5, 28, 41, 45, 47, 50, 70, 72, 78, 101, 103, 104, 105, 107, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 116, 117, 130, 133, 134, 135, 136
6	4	2	4	2.86	7, 49, 58, 118
7	4	3	2	1.43	82, 138
8	4	4	1	0.71	9
9	5	1	58	41.43	1, 2, 3, 6, 10, 11, 12, 15, 17, 18, 19, 21, 22, 29, 30, 32, 35, 36, 37, 38, 40, 44, 46, 51, 52, 53, 54, 57, 59, 60, 66, 67, 68, 69, 76, 79, 80, 84, 86, 87, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 102, 115, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 131, 137, 139
10	5	2	36	25.71	13, 14, 16, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 31, 33, 34, 48, 55, 56, 61, 62, 63, 64, 65, 71, 74, 75, 77, 81, 85, 89, 92, 93, 94, 119, 120, 121, 129, 132, 140
11	5	3	3	2.14	88, 90, 91
12	5	4	1	0.71	83
Total			140	100.0	

^a group of lesion area coverage; 1 = 0-20%, 2 = 21-40%, 3 = 41-60%, 4 = 61-80% and 5 = 81-100%

วิจารณ์ผลการวิจัย

เชื้อรา *P. infestans* ซึ่งเก็บรวบรวมจาก 6 ตำบล พื้นที่ปลูกมันฝรั่งในจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดตาก ทุกไอโซเลทสามารถก่อโรคบนพืชทดสอบทั้งสองชนิด (4 พันธุ์) แสดงให้เห็นว่าเชื้อราทั้ง 140 ไอโซเลท ไม่จำเพาะเจาะจงต่อมันฝรั่งซึ่งเป็นพืชอาศัยเริ่มต้นของเชื้อราจากการเก็บรวบรวมและแยกเชื้อเท่านั้น แต่ยังสามารถก่อโรคบนมะเขือเทศทั้งสองพันธุ์ด้วย ซึ่งให้ผลการศึกษาในลักษณะเดียวกันกับรายงานก่อนหน้านี้ (Fontem *et al.*, 2005) และเชื้อรา *P. infestans* มีความก้าวร้าวบนมะเขือเทศสูงกว่าบนมันฝรั่ง โดยให้ผลประเมินที่มีความแตกต่างกันทางสถิติในจำนวนสปอร์ต่อพื้นที่อาการบนใบมันฝรั่งและมะเขือเทศ สอดคล้องกับรายงานความก้าวร้าวของเชื้อรา *P. infestans* ในประเทศนิการากัว (Blandon-Diaz *et al.*, 2012) ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่ามันฝรั่งและมะเขือเทศที่ติดเชื้อรา *P. infestans* สามารถเป็นแหล่งของเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ในการระบาดของโรคในมันฝรั่งและมะเขือเทศ ในลักษณะของการมีความสามารถในการติดเชื้อข้าม (Cross-infectivity) ในขณะที่ Michlska *et al.* (2016) รายงานผลการวิจัยในประเทศโปแลนด์ว่าเชื้อรา *P. infestans* ที่แยกจากมันฝรั่งให้จำนวนสปอร์ต่อพื้นที่อาการบนใบมันฝรั่งสูงกว่าบนใบมะเขือเทศ

การปลูกเชื้อรา *P. infestans* บนใบพืชทดสอบเปรียบเทียบกับระหว่างมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกกับมะเขือเทศพันธุ์สิดา ให้ค่าเฉลี่ยของสัดส่วนพื้นที่ใบที่แสดงอาการของโรคต่อพื้นที่ทั้งหมดของใบที่ร้อยละ 87.67 และ 17.61 โดยมีความรุนแรงของอาการโรคที่ระดับ 4.62 และ 1.41 ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานวิจัยในประเทศคาเมอรูน (Fontem *et al.*, 2005) แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *P. infestans* ที่แยกเชื้อจากมันฝรั่งให้ระดับความรุนแรงของอาการโรคที่ต่ำกว่าเมื่อปลูกเชื้อบนมะเขือเทศ และไม่พบเชื้อไอโซเลทใดที่มีระดับความ

รุนแรงของโรคบนมะเขือเทศพันธุ์สิดาสูงกว่าความรุนแรงบนมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติก ในขณะที่เชื้อรา *P. infestans* แสดงความก้าวร้าวบนใบมะเขือเทศสูงกว่าที่แสดงความก้าวร้าวบนมันฝรั่ง โดยประเมินจากความหนาแน่นของสปอร์แรงเจียที่เชื้อราสร้างบนใบพืชทดสอบ ทั้งนี้ เชื้อรา *P. infestans* มีความถี่เฉลี่ยในการติดเชื้อก่อโรคบนชิ้นมันฝรั่งทั้งสองพันธุ์คิดเป็นร้อยละ 100 โดยแสดงความรุนแรงและความก้าวร้าวบนพันธุ์แอตแลนติกสูงกว่าบนพันธุ์สปุนต้า ชี้ให้เห็นว่ามันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกมีความอ่อนแอต่อโรคใบไหม้สูงกว่าพันธุ์สปุนต้า นอกจากนี้ยังพบว่า ไอโซเลทที่เก็บจากตำบลโหล่งซอด มีความรุนแรงสูงในการก่อให้เกิดโรคบนมะเขือเทศพันธุ์เดลต้าและสิดา

การกระจายตัวของการจัดกลุ่มประชากรเชื้อรา *P. infestans* โดยอาศัยระดับความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกและบนใบมะเขือเทศพันธุ์สิดา แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *P. infestans* จำนวน 98 ไอโซเลท (ร้อยละ 70) ให้ความรุนแรงของอาการที่ระดับ 5 ซึ่งมีสัดส่วนของพื้นที่แสดงอาการโรคบนใบมากกว่าร้อยละ 80 มันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติก ในขณะที่ประชากรเชื้อราทำให้ใบมะเขือเทศพันธุ์สิดาแสดงความรุนแรงของอาการที่ระดับ 1, 2, 3 และ 4 จำนวน 91, 42, 5 และ 2 ไอโซเลท หรือคิดเป็นร้อยละ 65.04, 30.00, 3.57 และ 1.43 ของประชากรเชื้อราทั้งหมด แต่ไม่พบเชื้อราไอโซเลทใดสามารถทำให้ใบมะเขือเทศพันธุ์สิดาแสดงความรุนแรงของอาการที่ระดับ 5 โดยพบเพียงสองไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 9 และ 83 ซึ่งเป็นเชื้อราที่เก็บในจังหวัดเชียงใหม่จากตำบลโหล่งซอด อำเภอพัว และตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย ตามลำดับ ที่สามารถทำให้เกิดโรครุนแรงสูงสุดที่ระดับ 4 เท่านั้น การกระจายตัวของประชากรเชื้อรา *P. infestans* นี้ ชี้ให้เห็นถึงลักษณะความแปรปรวนของความรุนแรงในการเกิดโรคบนมะเขือเทศโดยเชื้อรา *P. infestans* ที่เก็บรวบรวมจากแปลงปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย

สรุปผลการวิจัย

ผลการประเมินคุณลักษณะของประชากรเชื้อรา *P. Infestans* จำนวน 140 ไอโซเลท ซึ่งเก็บรวบรวมจาก 6 ตำบล พื้นที่ปลูกมันฝรั่งในจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดตาก แสดงให้เห็นว่าทุกไอโซเลทมีความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity) บนมันฝรั่งและมะเขือเทศทุกพันธุ์ ในขณะที่เชื้อรา *P. Infestans* แสดงลักษณะความก้าวร้าว (Aggressiveness) บนใบมะเขือเทศสูงกว่าบนใบมันฝรั่ง เมื่อศึกษาเปรียบเทียบความหนาแน่นของสปอร์แรงเจียบน พื้นที่ของอาการแผลบนใบพืชทดสอบทั้งสองชนิด การศึกษาความรุนแรง (Virulence) ของประชากรเชื้อรา *P. Infestans* แสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนในลักษณะ ความรุนแรงของอาการบนใบพืชทดสอบ (Disease severity) ของประชากรเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 140 ไอโซเลท โดยการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคบนมันฝรั่ง และมะเขือเทศซึ่งแสดงความรุนแรงของอาการโรคเฉลี่ย ที่ระดับ 4.62 และ 1.41 ตามลำดับ โดยพบว่ามีการกระจายเชื้อราร้อยละ 89 ของเชื้อราทั้งหมด ให้ความรุนแรงสูงที่ระดับ 4-5 บนมันฝรั่ง และให้ความรุนแรงต่ำที่ระดับ 1-2 บนมะเขือเทศ ยิ่งไปกว่านั้นในการวิจัยนี้ยังพบอีกว่ามี เพียง 2 ไอโซเลทเท่านั้น ที่สามารถทำให้เกิดความรุนแรง สูงสุดที่ระดับ 4 บนมะเขือเทศ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนดำเนินการวิจัย ส่วนหนึ่งจากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคเหนือตอนบน ในโครงการวิจัยและพัฒนาจุลินทรีย์ ปกติเพื่อใช้ในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืช ที่สำคัญในภาคเหนือตอนบน ซึ่งได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย เพื่อพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมด้วยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี งบประมาณประจำปี พ.ศ. 2558-2560 จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

เอกสารอ้างอิง

- Blandon-Diaz, J.U., A.K. Widmark, A. Hannukkala, B. Andersson, N. Hogberg and J.E. Yuen. 2012. Phenotypic variation within a clonal lineage of *Phytophthora infestans* infecting both tomato and potato in Nicaragua. **Phytopathology** 102(3): 323-330.
- Cohen, Y. 2002. Populations of *Phytophthora infestans* in Israel underwent three major genetic changes during 1983 to 2000. **Phytopathology** 92(3): 300-307.
- Fontem, D.A., O.M. Olanya, G.R. Tsombeng and M.A.P. Owona. 2005. Pathogenicity and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* isolates obtained from garden huckleberry, potato and tomato in Cameroon. **Crop Protection** 24(5): 449-456.
- Fry, W. 2008. *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. **Molecular Plant Pathology** 9(3): 385-402.
- Harbaoui, K, T. van der Lee, V.G.A.A. Vleeshouwers, N. Khammassy, M. Harrabi and W. Hamada. 2013. Characterization of *Phytophthora infestans* isolates collected from potato and tomato crops in Tunisia during 2006-2008. **Potato Research** 56(1): 11-29.
- Klarfeld, S., A.E. Rubin and Y. Cohen. 2009. Pathogenic fitness of oosporic progeny isolates of *Phytophthora infestans* on late-blight-resistant tomato lines. **Plant Disease** 93(9): 947-953.

Knapova, G. and U. Gisi. 2002. Phenotypic and genotypic structure of *Phytophthora infestans* population on potato and tomato in France and Switzerland.

Plant Pathology 51(5): 641-653.

Michalska, A.M., S. Sobkowiak, B. Flis and E. Zimnoch-Guzowska. 2016. Virulence and aggressiveness of *Phytophthora infestans* isolates collected in Poland from potato and tomato plants identified no strong specificity.

Eur. J. Plant Pathol. 144(2): 325-336.

Office of Agricultural Economics (OAE). 2018.

Information of Agricultural

Production: Potato. 2017.

[Online]. Available <http://>

<http://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/production/มันฝรั่ง%2060.pdf>

(8 October 2018). [in Thai]