

การตรวจและนับปริมาณเชื้อ *Pythium aphanidermatum* ในดินโดยวิธี เจือจางดินและการใช้เหยื่อล่อ

Detection and Quantification of *Pythium aphanidermatum* From Soil by Soil Dilution and Baiting Techniques

จิระเดช แจ่มสว่าง วณิดา พงษ์ศักดิ์ชาติ และวรรณวิไล เกษนรา¹

Chiradej Chamswarnng, Wanida Pongsakchat and Wanwilai Gesnara

ABSTRACT

Colonies of *Pythium aphanidermatum* were detected and quantified from 95 soil samples by surface soil dilution plate (SSDP) and baiting with cucumber seeds on BNPR+Rb medium. The detection frequencies of *P. aphanidermatum* from total soil samples were 44.21 and 86.32% when the SSDP and baiting techniques were respectively employed. Quantification of population of *P. aphanidermatum* in 1-g soil revealed that vegetable soil contained highest numbers of viable propagules whereas the highest detection frequency was obtained from ornamental plant soil. Baiting technique also provided the rapid and simple way for evaluating the pathogenicity of *Pythium spp.*, colonized on cucumber seeds.

บทคัดย่อ

บนเมล็ดแตงกวาได้ง่ายและรวดเร็ว

ตรวจและนับปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* จากดินที่ทำการเกษตรกรรม 95 ตัวอย่าง โดยวิธีการเจือจางดิน (SSDP) ด้วยน้ำวุ้น 0.15% และการใช้เมล็ดแตงกวาเป็นเหยื่อล่อบนอาหารจำเพาะ BNPR+Rb การใช้วิธีการเจือจางดินตรวจพบเชื้อ *P. aphanidermatum* 44.21% ขณะที่วิธีใช้เหยื่อล่อสามารถตรวจพบ 86.32% จากจำนวนตัวอย่างดินทั้งหมด การนับปริมาณเชื้อ *P. aphanidermatum* ในดิน 1 กรัม โดยวิธีเจือจางดิน ปรากฏว่าตัวอย่างดินพืชผักมีปริมาณสูงที่สุด ขณะที่ดินไม้ดอกไม้ประดับมีค่าความถี่ของการตรวจพบสูงที่สุด วิธีใช้เหยื่อล่อช่วยให้สามารถตรวจสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Pythium spp.* ที่เจริญ

คำนำ

เชื้อรา *Pythium aphanidermatum* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่พบกระจายอยู่ในดินทั่วไป ทำให้เกิดอาการเมล็ดเน่า (seed rot) รากเน่า (root rot) และโรคน้ำระดับดิน (damping-off) กับพืชหลายชนิด ทั้งผัก พืชไร่ และไม้ผล (Giatgong, 1980 ; Chamswarnng and Gesnara, 1988 ; Chamswarnng et al., 1987 ; Grisanapundha, 1987) โดยเฉพาะในฤดูฝนซึ่งมีความชื้นสูงจะพบโรคระบาดมาก วิธีการที่ปฏิบัติกันอยู่ในการตรวจนับปริมาณเชื้อ *Pythium* จากดินคือการเจือจางดินแล้วนำไปตรวจนับบนอาหารจำเพาะ (selective media) เช่น MPVM (Mircetich

¹ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dept. of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

and Kraft, 1973) BNPR (Fujisawa and Masago, 1975) ซึ่งเป็นอาหารที่ปรับปรุงจากการเติมปฏิชีวนะ สารบางชนิดลงใน basal medium คือ CMA หรือ PDA เป็นต้น Chamswarng *et al.* (1985) ได้ศึกษา ชนิดและการตรวจนับปริมาณเชื้อ *Pythium* ในดินที่ ปลูกระยะกึ่ง สัมไอ และมะม่วง โดยวิธี surface soil dilution plate (SSDP) บนอาหารจำเพาะ BNPR+Rb ซึ่งดัดแปลงจากอาหาร BNPR (Fujisawa and Masago, 1975) โดยการเพิ่ม rose bengal 5 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในส่วนผสมทำให้เห็น เส้นใยของเชื้อ *Pythium* ชัดเจนขึ้นและช่วยจำกัด ขนาดโคโลนีไว้ไม่ให้ใหญ่เกินไปจนเกิดการเจริญ ซ้อนกัน นอกจากนี้วิธีการนี้แล้วการใช้เหยื่อล่อเป็น อีกวิธีหนึ่งที่สามารถแยกเชื้อ *Pythium* จากดินได้ ผลดี ชนิดของเหยื่อที่ใช้ล่อจะแตกต่างกันไปแล้ว แต่ความสะดวก และ species ของ *Pythium* ที่ ต้องการศึกษาหรือมีอยู่ในดินนั้น เนื่องจากเหยื่อชนิด เดียวไม่สามารถจะแยก *Pythium* ทุกชนิดออกจาก ดินได้ (Hendrix and Cambell, 1973) และถ้า ต้องการแยกเชื้อสาเหตุโรคของพืชใดมักจะใช้ส่วนของพืชอาศัยนั้นเป็นเหยื่อล่อ เช่น ใบส้ม ขึ้นมันฝรั่ง เมล็ดแตงกวา ข้าวโพดและ lupin (Watanabe, 1981 a, b) Watanabe (1984) ได้ใช้เมล็ดแตงกวาเป็น เหยื่อล่อเพื่อแยกเชื้อ *P. aphanidermatum* และตรวจ นับปริมาณจากดินโดยการคลุกเคล้าเมล็ดแตงกวา ลงในดินที่ผสมน้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำเมล็ดแตงกวา มาผ่านน้ำไหลเป็นเวลา 30 นาที ซับให้แห้ง แล้ว วางบนอาหารวุ้นแข็ง เติม Petri's salt solution เพื่อให้เชื้อสร้างส่วนขยายพันธุ์ บ่มไว้ไม่ต่ำกว่า 12 ชั่วโมง แล้วตรวจนับชนิดและปริมาณของเชื้อ *Pythium* บนเมล็ดแตงกวาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ วิธี นี้ง่าย ประหยัด และใช้เวลาสั้น ๆ ในการตรวจสอบ เชื้อ *P. aphanidermatum* ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อจะเปรียบเทียบประสิทธิภาพ

ของวิธีการเชื้อจากดิน และการใช้เมล็ดแตงกวาเป็น เหยื่อล่อในการตรวจนับปริมาณ *P. aphanidermatum* จากตัวอย่างดิน และการพัฒนาวิธีการใช้เหยื่อล่อ เพื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ เชื้อสายพันธุ์ต่าง ๆ

อุปกรณ์และวิธีการ

การตรวจนับปริมาณเชื้อ

Pythium aphanidermatum

ตัวอย่างดินจำนวน 95 ตัวอย่างที่นำมาตรวจ นับปริมาณเชื้อ *P. aphanidermatum* นี้เป็นดินที่ เก็บจากแปลงเกษตรกรรมซึ่งปลูกพืชชนิดต่าง ๆ ใน พื้นที่ 31 จังหวัด ครอบคลุมทั่วทุกภาคของประเทส- ไทย ดาดินที่เก็บมาเหล่านี้ที่ร่ม (อุณหภูมิ 25-32 องศาเซลเซียส) บดดินให้เป็นผงละเอียดแล้วผึ่งไว้ จนความชื้นของดินลดลงเหลือประมาณ 3-5% จึง นำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาดช่องเปิด 0.595 มิลลิ- เมตร รวบรวมดินที่ผ่านตะแกรงใส่ถุงพลาสติกแล้ว เก็บไว้ในห้องเย็นจนกว่าจะนำไปใช้ทำการตรวจนับ เชื้อ *P. aphanidermatum* 2 วิธี คือ วิธีเชื้อจาก ดินบนผิวอาหาร (surface soil dilution plate : SSDP) และวิธีใช้เหยื่อล่อ (Baiting)

วิธีเชื้อจากดินบนผิวอาหาร (SSDP)

ชั่งดิน 1 กรัมผสมในขวดอาหารที่บรรจุน้ำวุ้น (0.15%) จำนวน 50 มิลลิลิตร เขย่าขวดให้ดินกระ- กระจายสม่ำเสมอในน้ำวุ้น แล้วจึงดูดด้วยปิเปตจำนวน 1 มิลลิลิตรหยดลงบนผิวหน้าอาหาร BNPR ซึ่ง เติมด้วย rose bengal 5 มิลลิกรัมต่อลิตรในส่วน ผสมของอาหาร (BNPR+Rb) (Chamswarng *et al.*, 1985) แล้วใช้แท่งแก้วเกลี่ยส่วนผสมดิน- วุ้นให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร บ่มไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จึงล้างส่วนผสมดิน-วุ้นออกจากผิวอาหาร ด้วยน้ำไหล แล้วนับจำนวนโคโลนีของเชื้อราทันที

และตรวจนับซ้ำอีกครั้งเมื่อบ่มเชื้อครบ 48 ชั่วโมง
วิธีใช้เหยื่อล่อ

วางเมล็ดแดงกว่า 10 เมล็ด ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของดิน 1 กรัมในน้ำ 10 มิลลิลิตร เขย่าจานเพื่อให้เมล็ดแดงกวาลูกกลมเล็กกับส่วนผสมของดินและน้ำ เกลี่ยเมล็ดแดงกว่าให้กระจายแยกจากกัน บ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 25 - 28 องศาเซลเซียส จึงนำเมล็ดแดงกว่านั้นมาล้างเศษดินออกด้วยน้ำไหลนาน 30 นาที ผึ่งเมล็ดให้แห้งก่อนนำไปวางบนอาหาร BNPR+Rb บ่มไว้ในที่มืด 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 25 - 28 องศาเซลเซียส ตรวจนับโคโลนีของเชื้อที่ขึ้นรอบเมล็ดแดงกว่า

การจำแนกชนิดของเชื้อ *Pythium* โดยวิธี water culture

ตัดชิ้นวุ้นที่เจริญอยู่รอบ ๆ เมล็ดขนาด 1×1 ตารางเซนติเมตร วางในจานเลี้ยงเชื้อจานละ 2 ชิ้น โดยวางให้ห่างกัน นำหญ้าแพรกที่ตัดเป็นชิ้นขนาด 1 เซนติเมตรซึ่งนั่งฆ่าเชื้อโรคแล้วมาวางบนชิ้นวุ้น 1-2 ชิ้นต่อวุ้น 1 ชิ้น แล้วใส่น้ำให้เสมอชิ้นวุ้น บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เปลี่ยนน้ำทุกวัน ตรวจสอบลักษณะของเชื้อที่เจริญรอบ ๆ หรือบนชิ้นหญ้าภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำโดยตรง หรือนำชิ้นหญ้ามาวางบนแผ่นสไลด์ย้อมด้วย lactophenol-acidfuchsin ปิดด้วย cover glass เก็บไว้ศึกษาต่อไป

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ *Pythium spp.*

นำเมล็ดแดงกว่าซึ่งวางบน PDA จากการทดลองเกี่ยวกับการใช้เหยื่อล่อดังกล่าวข้างต้น แล้วตรวจพบว่ามีเชื้อ *Pythium spp.* เจริญออกมาจากเมล็ด มาวางในจานเลี้ยงเชื้อ 10 เมล็ดต่อจานโรยดินผสมทราย (1:1) อบฆ่าเชื้อทับบนเมล็ดแดงกว่า 50 มิลลิลิตรต่อจาน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 7 วัน ตรวจนับจำนวนเมล็ดที่งอก และต้นรอดตาย

ผล

การตรวจนับปริมาณเชื้อ *Pythium* โดยวิธีเชื้อจากดิน (SSDP) พบว่าเชื้อที่เจริญบนผิวอาหารมีขนาดโคโลนีต่าง ๆ กัน โคโลนีที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 2 ถึง 5 เซนติเมตรหลังการบ่มเชื้อ 48 ชั่วโมง จำแนกได้ว่าเป็น *P. aphanidermatum* ส่วนโคโลนีที่มีขนาดเล็กกว่า 2 เซนติเมตร (0.1-1.8 เซนติเมตร) เป็น *Pythium* ชนิดอื่น (Fig. 1) จากจำนวนตัวอย่างดินทั้งหมดที่ตรวจรวม 95 ตัวอย่าง มีตัวอย่างดินที่ตรวจพบเชื้อ *Pythium* 78 ตัวอย่าง (82.11% ของตัวอย่างดินทั้งหมด) ในจำนวนนี้พบเชื้อ *P. aphanidermatum* 42 ตัวอย่าง (44.21%) โดยพบเชื้อ *P. aphanidermatum* เพียงชนิดเดียว 8 ตัวอย่าง (8.42%) และ *P. aphanidermatum* ปะปนอยู่กับ *Pythium spp.* 34 ตัวอย่าง (35.79%) ส่วนวิธีใช้เหยื่อล่อ พบโคโลนีที่เจริญรอบเมล็ดแดงกว่ามีขนาดใหญ่และเล็ก โคโลนีที่มีขนาดใหญ่สามารถจำแนกชนิดเป็น *P. aphanidermatum* ส่วนโคโลนีขนาดเล็กเป็น *Pythium* ชนิดอื่น (Fig. 2) จากดิน 95 ตัวอย่างตรวจพบเชื้อ *P. aphanidermatum* เพียงชนิดเดียว 59 ตัวอย่าง (62.11%) และเชื้อ *P. aphanidermatum* ปะปนอยู่กับเชื้อ *Pythium spp.* 23 ตัวอย่าง (24.21%) (Table 1)

ค่าความถี่ของการตรวจพบโดยวิธีใช้เหยื่อล่อ ตรวจพบเชื้อ *P. aphanidermatum* ในดินซึ่งปลูกพืชชนิดต่าง ๆ ระหว่าง 70-100% ซึ่งนับว่าสูงกว่าวิธีเชื้อจากดินในพืชทุกประเภท (47.6-50.0%) (Table 2) จากการตรวจนับปริมาณเชื้อ *P. aphanidermatum* โดยวิธีเชื้อจากดินพบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อสูงที่สุด (42.2 colony forming unit, cfu/g) มาจากตัวอย่างดินปลูกพืชผัก ขณะที่ปริมาณเชื้อต่ำสุดพบในตัวอย่างดินปลูกไม้ดอกไม้ประดับ (Table 2)

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้

เกิดโรคของเชื้อ *Pythium spp.* โดยการนำเมล็ดแตงกวาที่ใช้เป็นเหยื่อล่อฝังลงในดินอบฆ่าเชื้อ พบว่าเมล็ดแตงกวาซึ่งถูกเชื้อที่เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีมากกว่า 2.0 เซนติเมตร ซึ่งเป็นโคโลนีขนาดใหญ่เข้าทำลายและได้จำแนกแล้วว่าเป็น *P. aphanidermatum* ทำให้มีระดับการเกิดโรคนำก่อนและ

หลังเมล็ดงอกพื้นดิน (pre-and post-emergence damping-off) ระหว่าง 62.50-96.25% ซึ่งสูงกว่าระดับการเกิดโรคของเมล็ดที่ถูกเชื้อที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีต่ำกว่า 2.0 เซนติเมตร และได้ตรวจพบว่าเชื้อ *Pythium spp.* อันที่ไม่ใช่ *P. aphanidermatum* เข้าทำลาย (Table 3)

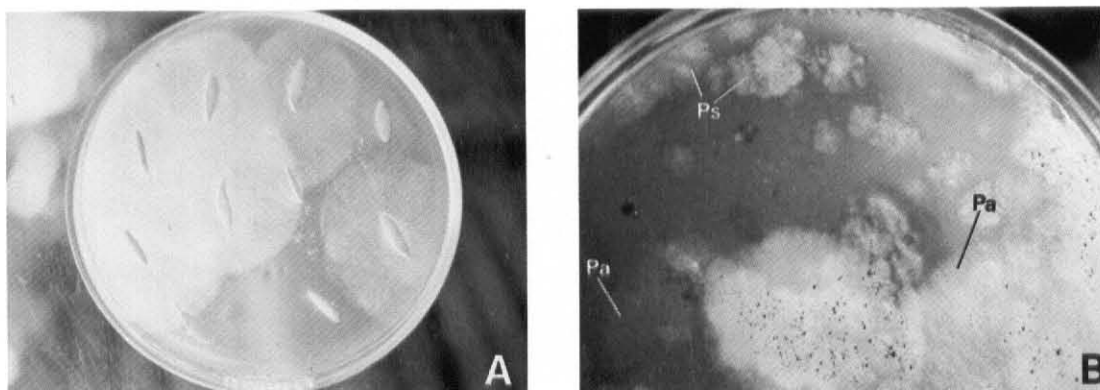


Figure 1 Colonies of *Pythium* species on BNPR + Rb medium A, Colonies of *P. aphanidermatum* developed from baiting cucumber seeds. B, Colonies of *P. aphanidermatum* (Pa) and *Pythium spp.* (Ps) as detected by surface soil dilution plate (SSDP) technique.

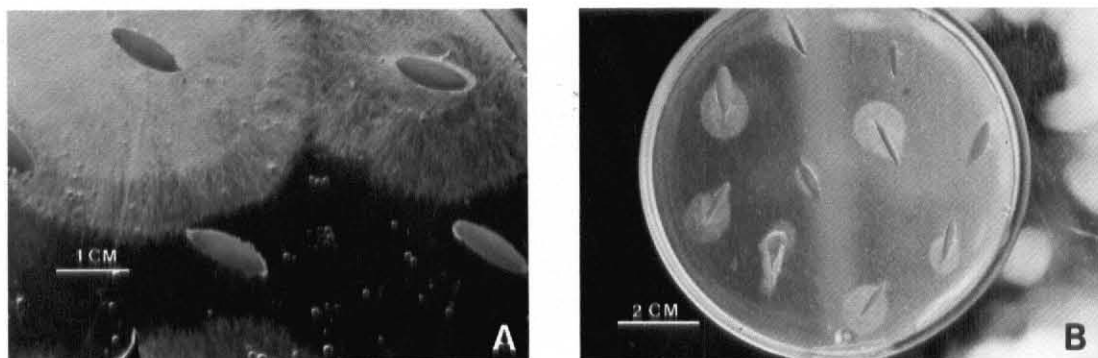


Figure 2 Colonies of *Pythium aphanidermatum* (A) and *Pythium* species (B) developed from baiting cucumber seeds, 36 hrs after placing the seeds on BNPR + Rb.

Table 1 Numbers of *Pythium* detected soil sample enumerated by surface soil dilution plate (SSDP) and baiting technique (Bt).

Fungus	Pythium detected soil ¹	
	Bt	SSDP
<i>P. aphanidermatum</i>	59 (62.11) ²	8 (8.42)
<i>P. aphanidermatum</i> and <i>Pythium</i> spp.	23 (24.21)	34 (35.79)
<i>Pythium</i> spp.	3. (3.16)	36 (37.90)
Total	85 (89.47)	78 (82.11)

¹ Ninety - five soil samples were used for *Pythium* enumerations.

² *Pythium* detected soil as the percentage of 95 soil samples.

Table 2 Detection frequency and population of *Pythium aphanidermatum* enumerated from various planting soils by surface soil dilution plate (SSDP) and baiting technique (Bt).

Plant	Number of ¹ sample	Avg Population SSDP (cfu/g)	Detection frequency (%) ²	
			SSDP	Bt
Vegetable	63	42.2	47.6	87.3
Field crop	18	37.0	50.0	94.4
Fruit tree	10	16.7	50.0	70.0
Ornamental plant	4	12.8	50.0	100.0

¹ Ninety - five soil samples were used for *Pythium* enumerations.

² Detection frequency (%) = $\frac{\text{Pythium detected soil samples} \times 100}{\text{Total soil samples}}$

Table 3 Incidence of pre-and post-emergence damping-off of baiting cucumber seeds colonized with *Pythium* spp.

Type of ¹ colony	Number of <i>Pythium</i> colonized seed	Surviving seedling	Disease (%) ²
A	400	7	98.25
B	13	2	84.62
C	10	3	70.00
D	8	3	62.50
E	53	26	50.94

¹ Colony diameters of Type A to D were greater than 2 cm. after 48 hr. of incubation of diluted soil plates (from surface soil dilution plate, SSDP) or of *Pythium* colonized blating cucumber seeds grown on BNPR+Rb. All types were identified as *P. aphanidermatum*. Colony diameter of Type E was less than 2 cm. after 48 hr of incubation and was found to be other *Pythium* spp.

² Percent disease = $\frac{\text{Total } Pythium \text{ colonized seeds} - \text{Surviving seedlings} \times 100}{\text{Total } Pythium \text{ colonized seeds}}$

วิจารณ์

จากการตรวจเชื้อ *P. aphanidermatum* ทั้ง 2 วิธี พบว่าวิธีใช้เหยื่อล่อ (Baiting) นั้นสามารถตรวจพบเชื้อ *P. aphanidermatum* ได้ดีกว่าวิธีเชื้อจากดิน (SSDP) และมีความจำเพาะเจาะจงสูงมาก เนื่องจากเชื้อนี้มีอัตราการเจริญเติบโตรวดเร็วมาก จึงสามารถเข้าทำลายเมล็ดแดงกว่าได้เร็วกว่าเชื้อ *Pythium* ชนิดอื่น และวิธีใช้เหยื่อล่อนี้ยังสามารถตรวจเชื้อ *P. aphanidermatum* จากตัวอย่างดินที่มีปริมาณน้อย ๆ ได้ในระยะเวลาอันสั้นอีกด้วย สำหรับวิธีเชื้อจากดินนั้นเหมาะสำหรับใช้ในการตรวจชนิดและนับปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ทั่ว ๆ ไปโดยไม่จำเพาะเจาะจง ซึ่งวิธีเชื้อจากดินนี้จะตรวจเชื้อในดินที่มีปริมาณน้อยได้ไม่ดีเท่าการใช้เหยื่อล่อ ดังจะเห็นได้จากการทดลองนี้จากดิน 95 ตัวอย่าง การใช้เหยื่อล่อจะตรวจพบเชื้อ *P. aphanidermatum* 82 ตัวอย่าง (86.32%) ส่วนการใช้วิธีเชื้อจากดินนั้นจะตรวจพบเชื้อ *P. aphanidermatum* เพียง 43

ตัวอย่าง (45.26%) ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าการใช้วิธีเชื้อจากดินนั้นเชื้อ *Pythium* ทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตได้พร้อม ๆ กัน จึงทำให้เกิดการแข่งขันกันขึ้น นอกจากนี้ขั้นตอนวิธีการเชื้อจากดินอาจทำให้ปริมาณเชื้อในดินที่เชื้อจากลดต่ำลงมากหรือไม่มีอยู่เลย

วิธีใช้เหยื่อล่อในการทดลองนี้ได้ดัดแปลงมาจากการทดลองของ Watanabe (1984) ซึ่งได้ศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของดินซึ่งทำให้เชื้อจากด้วยน้ำเพื่อให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน และพบว่าเมื่อใช้ดินมากกว่า 1.28 กรัม จะพบ *P. aphanidermatum* เสมอ ดังนั้นการใช้ดิน 1 กรัม ในการทดลองครั้งนี้จึงมีโอกาที่จะพบ *P. aphanidermatum* ได้มากซึ่งสนับสนุนรายงานของ Watanabe (1984) แสดงว่าการใช้เมล็ดแดงกว่าเป็นเหยื่อล่อนั้นเป็นวิธีที่ดีในการตรวจนับเชื้อ *P. aphanidermatum*

ขนาดของโคโลนีที่แตกต่างกันไม่ว่าโคโลนีเหล่านั้นจะเจริญพัฒนามาจากเมล็ดแดงกว่าที่เป็น

เหยื่อล่อซึ่งวางบน PDA หรือเป็นโคโลนีที่เจริญบนอาหาร BNPR+Rb จากวิธีเจือจางดินก็ตามสามารถนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของ *Pythium* ได้กล่าวคือโคโลนีที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 2 เซนติเมตรขึ้นไปหลังบ่มเชื้อนาน 48 ชั่วโมงเป็นเชื้อ *P. aphanidermatum* เสมอ โคโลนีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 2 เซนติเมตรส่วนใหญ่จะเป็น *Pythium* ชนิดอื่น

ดินที่ปลูกพืชต่างประเทศหรือชนิดกันจะมีความถี่ของการตรวจพบ (frequency) และปริมาณของเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่แตกต่างกัน เช่น ในดินจากแปลงไม้ดอกไม้ประดับมีความถี่ของการตรวจพบเชื้อ *P. aphanidermatum* สูงที่สุด แต่กลับมีค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อในดิน 1 กรัมเพียง 12.8 cfu/g ขณะที่ดินที่ปลูกพืชผักมีปริมาณเชื้อในดินสูงที่สุด (42.2 cfu/g) จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าชนิดของพืชอาศัยมีอิทธิพลต่อชนิดและปริมาณของเชื้อ *P. aphanidermatum* นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลที่แสดงว่าเชื้อนี้สามารถแพร่ระบาดเข้าทำลายพืชได้กว้างขวาง ซึ่งสมควรที่จะมีการศึกษาถึงความสำคัญของเชื้อสาเหตุโรคพืชชนิดนี้ต่อการลดผลผลิตของพืชต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชผักต่อไป

ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Pythium* แต่ละชนิดนั้นจะแตกต่างกัน *P. aphanidermatum* นั้นสามารถทำให้เกิดโรคได้รุนแรงกับพืชอาศัย เช่น แตงกวา โดยสามารถเข้าทำลายได้อย่างรวดเร็ว ในขณะที่ *Pythium* ชนิดอื่นนั้นไม่ทำให้เกิดโรคหรือเกิดโรคแต่ไม่รุนแรง แต่ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ *P. aphanidermatum* ก็มีความผันแปร (variation) ในแต่ละสายพันธุ์ คืออยู่ในช่วง 62.5-98.25% อย่างไรก็ตาม *Pythium* ชนิดอื่นบางสายพันธุ์ก็สามารถทำให้เกิดโรคสูงถึง 50.94%

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคโดยวิธีนำเมล็ดแตงกวาที่มีเชื้อ *Pythium spp.* เจริญ

เข้าทำลายอยู่วางในงาน กลบด้วยดินผสมทรายแล้วเก็บในสภาพชื้น จากการทดลองนี้เป็นวิธีที่สามารถทำได้สะดวกและรวดเร็ว โดยใช้เวลาประมาณ 7 วัน ซึ่งอาจนำไปดัดแปลงเพื่อใช้ในการตรวจสอบชนิดและความรุนแรงของเชื้อ *Pythium spp.* ในการทำให้เกิดโรคได้ การใช้เมล็ดแตงกวาที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจากวิธีใช้เหยื่อล่อทำให้สามารถจำแนกชนิดของเชื้อ *P. aphanidermatum* ได้อย่างรวดเร็วและถูกต้อง นอกจากนี้การใช้เหยื่อล่อยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพและสะดวกกว่าการทดสอบโดยทั่วไป เช่น การเลี้ยงเชื้อบนอาหารแล้ววางเมล็ดพืชที่ต้องการทดสอบลงบนโคโลนีของเชื้อแล้วปล่อยให้เชื้อเจริญเข้าทำลายเมล็ดระยะหนึ่งก่อนนำเมล็ดไปปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ วิธีการดังกล่าวนี้อาจใช้เป็นแนวทางในการทดสอบหาพันธุ์พืชต้านทานโรคได้

สรุป

วิธีใช้เมล็ดแตงกวาเป็นเหยื่อล่อมีความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อ *P. aphanidermatum* มากกว่าวิธีเจือจางดิน เนื่องจาก *P. aphanidermatum* มีอัตราการเจริญรวดเร็ว และเข้าทำลายเมล็ดแตงกวาได้เร็วกว่าเชื้ออื่น

ขนาดโคโลนีของเชื้อรอบเมล็ดแตงกวาใช้จำแนกชนิด *P. aphanidermatum* ได้ โดย *P. aphanidermatum* จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีประมาณ 2 เซนติเมตรขึ้นไป หลังการบ่มเชื้อ 48 ชั่วโมงขณะที่ *Pythium* ชนิดอื่นจะมีขนาดโคโลนีเล็กกว่านี้

ดินที่ปลูกพืชต่างประเทศกันจะมีความถี่ของการตรวจพบและปริมาณเชื้อ *P. aphanidermatum* แตกต่างกัน ความถี่ในการตรวจพบเชื้อนี้สูงมากในดินปลูกไม้ดอกไม้ประดับ แต่ปริมาณเชื้อในดิน 1 กรัมที่สูงที่สุดมาจากดินพืชผัก สรุปได้ว่าเชื้อ

P. aphanidermatum มีพืชอาศัยที่กว้างขวางหลายชนิด

สามารถตรวจสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ *Pythium spp.* ได้ทันทีโดยนำเมล็ดพืชที่ใช้เป็นเหยื่อล่อซึ่งมีเชื้อเจริญรอบเมล็ดเพาะในดินผสมทรายที่อบฆ่าเชื้อแล้วตรวจดูการเกิดโรค การทดลองนี้พบว่า เชื้อ *P. aphanidermatum* ทำให้เกิดโรครุนแรงกว่า *Pythium* ชนิดอื่น

เอกสารอ้างอิง

- 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 1st International Pythium Workshop, Kyoto, Japan.
- Chamswarnng, C., P. Leeprasert and S. Chantara-O-than. 1985. Population assesment of soil-borne plant pathogens, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium spp.* and *Phytophthora spp.* in soil and their correlation to disease incidence on intercropping system. page 77-104. In Cropping Programmes KU-ACNARP. Technical Report 1984-1985. Fac. of Agri. Kasetsart Univ., Bangkok, Thailand. 353 p.
- Chamswarnng, C., N. Thaveechai, P. Leeprasert, S. Sangchote, S. Chantara-O-tan and C. Supawongse. 1987. Population 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.
- Fujisawa, T. and H. Masago. 1975. Studies on selective medium for *Phytophthora*. Annu. Phytopathol. Soc. Jap. 41:267.
- Giatgong, P. 1980. Host Index of Plant Disease in Thailand. Dept. of Agric., Min. of Agric. and Coop., Bangkok, Thailand. 115 p.
- Grisanapundha, N. 1987. *Pythium* species from crucifer planted soils and their pathogenicity. M.S. Thesis. Kasetsart Univ., Bangkok, Thailand. 120 p.
- Hendrix, F.F., Jr. and W.A. Campbell. 1973. *Pythium* as plant pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 11:77-98.
- Mircetich, S.M. and J.M. Kraft. 1973. Efficiency of various selective media in determining *Pythium* population in soil. Mycopathologia et Mycologia Appli. 50:151-161.
- Watanabe, T. 1981. a. Distribution and populations of *Pythium* species in the northern parts of Japan. Annu. Phytopathol. Soc. Jap. 47:449-456.
- Watanabe, T. 1981. b. Detection of *Pythium deliense* in Ryukyu Island and its ecological implication. Annu. Phytopathol. Soc. Jap. 47:562-565.
- Watanabe, T. 1984. Detection and quantitative estimation of *Pythium aphanidermatum* in soil with cucumber seeds as a baiting substrate. Plant Dis. 68:697-698.