

ความหลากหลายของเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืชป่าไม้ในกลุ่มป่าดงพญาเย็น-เขาใหญ่ Diversity of Rust Fungi of Forest Plants in Dong Phrayayen - Khao Yai Forest Complex

จันจิรา อายะวงศ์^{1*} วินันต์ดา หิมะมาน¹ บารมี สกลรักษ์¹ กิตติมา ดั่งแค้น¹
ปานรดา แจ่มสันเทียะ¹ จินตนา อันอาดมั่งงาม² และชัยวัฒน์ โตอนันต์³

Chanjira Ayawong^{1*} Winanda Himaman¹ Baramee Sakolrak¹ Kittima Duengkae¹
Panrada Jangsantear¹ Jintana Unartngam² and Chaiwat To-anun³

Received: October 26, 2021

Revised: November 17, 2021

Accepted: November 17, 2021

Abstract: The study of rust fungi diversity on forest plants was conducted in Dong Phrayayen-Khao Yai Forest Complex during October 2019-August 2020. The samples of rust disease were collected from four protected areas: Khao Yai, Tablan and Pang Sida National Parks and Dong Yai Wildlife Sanctuary. A total of 84 collected samples were classified to 56 species of rust fungi based on morphological characteristics and some were identified by phylogenetic tree analysis. There are more than 30 host plant species infected by rust fungi. Some rust fungi were found on 12 unidentified plant families. This report will support the development of biodiversity database of obligate plant pathogens which may be related to rust diseases on agricultural host plants. The database information will be useful for rust disease control.

Keywords: rust fungi, forest plants, Dong Phrayayen - Khao Yai

บทคัดย่อ: การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราสนิมสาเหตุของโรคพืชป่าไม้ในพื้นที่กลุ่มป่าดงพญาเย็น-เขาใหญ่ โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างระหว่างเดือนตุลาคม 2561 – สิงหาคม 2563 พบตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราสนิมจาก 4 พื้นที่ ได้แก่ อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ อุทยานแห่งชาติทับลาน อุทยานแห่งชาติปางสีดา และเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าดงใหญ่ พบราสนิมทั้งหมด 84 ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดของเชื้อราสนิมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้จำนวน 56 ชนิด และบางชนิดจำแนกโดยการวิเคราะห์ทาง phylogenetic tree พบเชื้อราเข้าทำลายพืชอาศัยทั้งหมดมากกว่า 30 ชนิด โดยพบราสนิมบนพืชอาศัยที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ จำนวน 12 วงศ์ ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปสู่การพัฒนาฐานข้อมูลองค์ความรู้เกี่ยวกับความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราสาเหตุโรคชนิดที่เป็น obligate plant parasites ซึ่งอาจมีความเชื่อมโยงไปถึงราสนิมที่มีพืชอาศัยที่เป็นพืชเกษตรและใช้เป็นข้อมูลในการควบคุมโรคได้

คำสำคัญ : ราสนิม พืชป่าไม้ ดงพญาเย็น-เขาใหญ่

¹กลุ่มงานวิจัยกัญญาและจุลชีววิทยาป่าไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช 61 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

¹Forest and Plant Conservation Research Office, Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation 61 Phahonyothin Road, Ladyao Subdistrict, Chatuchak District, Bangkok 10900

²ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

²Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Sean, Kasetsart University, Kamphaeng Sean Campus Nakhon Pathom 73140

³ภาควิชาชีววิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

³Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

*Corresponding author: chanjira29@gmail.com

คำนำ

กลุ่มป่าดงพญาเย็น-เขาใหญ เป็นพื้นที่ชีวมณฑลขนาดใหญ่ที่อยู่ไม่ไกลจากเมืองหลวง มีความอุดมสมบูรณ์และมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง ควรค่าแก่การอนุรักษ์ไว้เพื่อเป็นแหล่งทรัพยากรธรรมชาติที่สำคัญต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิด แต่ผืนป่าแห่งนี้ก็เป็นพื้นที่ที่มีการคมนาคมสะดวก ประชาชนเข้าถึงได้ตลอดเวลา ดังนั้นจึงมีความเสี่ยงต่อการสูญเสียความสมบูรณ์ทางชีวภาพทั้งจากมนุษย์และจากสิ่งที่มีมนุษย์นำเข้าไปในพื้นที่อนุรักษ์แห่งนี้ ความเสี่ยงต่อการสูญเสียทรัพยากรชีวภาพที่ทำให้พืชเกิดความเสียหายได้รูปแบบหนึ่งก็คือ การเกิดโรคกับชนิดพันธุ์พืชที่มีอยู่ในพื้นที่นั้นๆ ทำให้สุขภาพพืชเสื่อมโทรม อาจเป็นพืชอาศัยรองที่เป็นแหล่งสะสมของเชื้อโรคก่อนที่จะแพร่กระจายไปสู่แหล่งอื่นๆ ต่อไป เชื้อราสนิม (Rust fungi) เป็นสาเหตุหนึ่งของโรคพืชที่ทำให้ใบพืชสูญเสียพื้นที่การสังเคราะห์แสง ยอดอ่อน ดอกและผลถูกทำลาย ถึงแม้ในสภาพป่าไม้ที่ต้นไม้มิได้ถูกเชื้อราเข้าทำลายอาจจะไม่ถึงกับตาย แต่ก็ทำให้ต้นไม้เสื่อมสภาพได้ และเป็นแหล่งอาศัยของเชื้อโรคที่พร้อมจะแพร่กระจายไปสู่แหล่งอื่นต่อไป โดยเฉพาะหากติดมากับเมล็ดและกล้าไม้จะเป็นปัญหาสำคัญในการผลิตกล้าไม้ในประเทศไทย (โสภา, 2542)

เชื้อราสนิมเป็นเชื้อราที่มีวงจรชีวิตที่ต้องอาศัยและเจริญอยู่ในพืชเท่านั้น ดูกินธาตุอาหารจากพืช สร้างความเสียหายให้แก่พืช และขยายสปอร์ได้ทุกฤดูกาล โดยเชื้อราสนิมสามารถสร้างสปอร์ได้มากถึง 5 ระยะเวลาพืชวงศ์เดียวกัน หรือบนพืชอาศัยที่อยู่ต่างวงศ์หรือต่างสกุลกันได้ มีระยะสปอร์แตกต่างกันไปในแต่ละฤดูกาล มีพืชอาศัยค่อนข้างแคบและจำเพาะเจาะจงกับชนิดพืช พบมากในเขตร้อนชื้น (tropics) อย่างประเทศไทย (Ayawong *et al.*, 2020c) ซึ่งมีชนิดของเชื้อราที่แปรผันตามชนิดของพืชที่มีอยู่มากมายในเขตร้อนชื้น เชื้อราในกลุ่มนี้ไม่สามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคราสนิมที่เข้าทำลายไม้ป่าในวงศ์ต่างๆ ในสภาพธรรมชาติ และในพื้นที่อนุรักษ์หาความเชื่อมโยงของราสนิมที่เข้า

ทำลายพืชป่าและพืชเกษตร ซึ่งอาจจะอาศัยพืชป่าเป็นพืชอาศัยรอง (alternate host) ทั้งยังสามารถช่วยให้เข้าใจในวงจรชีวิตของเชื้อราบนพืชอาศัยและกระบวนการเข้าทำลายพืชของเชื้อรานี้ๆ ข้อมูลที่ได้สามารถนำมาใช้ป้องกันกำจัดโรคในระยะกล้าไม้ เพื่อให้ได้กล้าไม้คุณภาพดี ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการศึกษาวิจัยสามารถนำไปพยากรณ์การแพร่กระจาย และการเข้าทำลายพืชอาศัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง โดยเฉพาะพืชเกษตรที่มีการเพาะปลูกในพื้นที่ใกล้เคียงกับแนวพื้นที่ป่าอนุรักษ์ นอกจากนี้ ยังสามารถนำข้อมูลไปใช้เพื่อการกักกันพืช การตรวจสอบสายพันธุ์เชื้อโรคที่มีอยู่ในพื้นที่ต่างๆ และเป็นองค์ความรู้ให้นักวิจัยได้ใช้ประกอบการศึกษาในด้านโรคพืชต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างไม้ป่าที่มีอาการของโรคราสนิม

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคราสนิมของพืชป่าไม้ โดยการเดินสำรวจตามเส้นทางศึกษาธรรมชาติและแหล่งท่องเที่ยวที่สำคัญและพื้นที่ป่าชนิดต่างๆ เช่น ป่าเต็งรัง ป่าเบญจพรรณ ป่าดิบแล้ง และป่าดิบเขา รวมถึงแนวป่าใกล้ที่พักในเขตอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ อุทยานแห่งชาติทับลาน อุทยานแห่งชาติปางสีดา และเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าดงใหญ่ (Figure 1) ซึ่งการเดินสำรวจเพื่อเก็บตัวอย่างนี้จะช่วยให้สามารถเก็บตัวอย่างโรคพืชได้ปริมาณมากกว่าการวางแผนเก็บข้อมูล ซึ่งการที่จะทำให้ทราบจำนวนชนิดพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถพบได้ในพื้นที่ป่าชนิดต่างๆ นั้น ต้องมีการสำรวจอย่างทั่วถึง ตัวอย่างส่วนของพืชที่แสดงอาการโรค เช่น ใบ ลำต้น กิ่ง ดอก ผล หรือเมล็ด เมื่อพบพืชเป็นโรคแล้ว ตรวจแผลโรคด้วยแว่นขยายและบันทึกภาพอาการของโรคในพื้นที่ หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างชิ้นส่วนพืชใส่ถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น บันทึกวันเดือนปีทีพบ บันทึกลักษณะการเข้าทำลายของราสนิม ซึ่งส่วนใหญ่พบเข้าทำลายในส่วนของใบ ยอดอ่อน และกิ่งก้านขนาดเล็ก นอกจากนี้ต้องบันทึกสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องในแต่ละฤดู เช่น ฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน รวมทั้งอุณหภูมิ ความชื้น สภาพดิน ชนิดป่า พิกัดของพื้นที่ ความสูงจาก

ชนิดของพืชที่เป็นโรค หรือข้อมูลที่สามารถบันทึกได้ โดยเก็บพืชที่เป็นโรคราสนิมทุกชนิด ตามวิธีการใน Ayawong (2020) จากนั้นจึงนำตัวอย่างมาอัดด้วยแผ่นไม้เพื่อทำตัวอย่างแห้ง (herbarium) สำหรับ

เก็บเป็น collection ใช้ในการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) และบางส่วนเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์ทางด้านโรคพืชป่าไม้

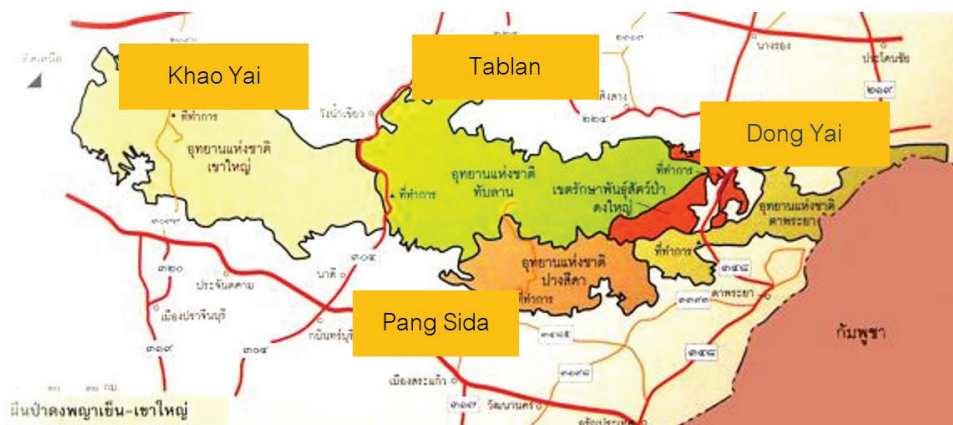


Figure 1 Map of Dong Phayayen - Khao Yai Forest complex and surveying areas

2. การจำแนกและวินิจฉัยตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

2.1 ทำการตรวจสอบและจำแนกชนิดของพืชอาศัย นำตัวอย่างพืชเป็นโรคราสนิมมาจำแนกชนิด โดยการเปรียบเทียบกับ herbarium และคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ รวมถึงการขอคำแนะนำที่ได้ปรึกษา นักพฤกษศาสตร์ที่มีความเชี่ยวชาญด้านการจำแนกพรรณไม้ เพื่อยืนยันลักษณะที่สำคัญของพืช พร้อมให้ชื่อและชนิดที่ถูกต้อง

2.2 การจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรค โดยการตรวจลักษณะอาการของโรคพืช ทำการตัดชิ้นส่วนตัวอย่างพืช (cross section) และแยกเชื้อจากแผลโรคนำมาทำสไลด์ตัวอย่าง ตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ของสปอร์เชื้อรา ลักษณะการสร้างสปอร์และส่วนประกอบอื่นๆ ของเชื้อที่พบบนแผลโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์บันทึกภาพและข้อมูลทางด้านรูปร่าง สีของสปอร์ขนาดของโครงสร้างต่างๆ ของเชื้อสาเหตุโรค บันทึกลักษณะของสปอร์เชื้อราและจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน โดยจำแนกชนิดเชื้อราสนิมในระยะกล้าไม้ตามรายงานของ โสภกา (2542) และ จันจิรา และคณะ (2552)

2.3 ในกรณีที่ไม่สามารถจำแนกชนิดของเชื้อราด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ จึงนำสปอร์ของเชื้อรามาตรวจสอบและจำแนกชนิดโดยวิธีการทางอณูชีวโมเลกุล (molecular technique) ด้วยการสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) โดยใช้เข็มเย็บกลุ่มของสปอร์ที่พบในระยะต่างๆ เช่น urediniospores, teliospores, aeciospores เป็นต้น จำนวนอย่างน้อย 200 สปอร์ วางลงบนแผ่นสไลด์แก้วที่ทอฆ่าเชื้อแล้วประกบด้วยสไลด์อีกหนึ่งแผ่น แล้วบดให้สปอร์ราสนิมแตก หยด extraction buffer ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ละลายชิ้นส่วนสปอร์ที่บดแล้ว ค่อยใส่หลอดขนาด 1.5 ml นำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C (30 นาที) 60 °C (30 นาที) และ 90 °C (10 นาที) ตามลำดับ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธี PCR โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (kit) และใช้ไพรเมอร์ คือ NL1/NL4 primers และ ITS 1/ITS4 primers เพื่อตรวจสอบชิ้นส่วนยีน D1/D2 และ ITS region จากนั้นจึงนำไปหาลำดับเบส (DNA sequencing) และทำการ blast ในฐานข้อมูล GenBank วิเคราะห์ผล phylogeny analysis ด้วยโปรแกรม MEGA7 เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อก่อโรคทั้งในระดับสกุล (genus) และในระดับชนิด (species)

3.การรวบรวมผลและวิเคราะห์ข้อมูล

รวบรวมข้อมูลที่ได้จากการสำรวจและศึกษาวิจัย นำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของการเกิดโรคกับสภาพแวดล้อมกับฤดูกาลที่พบโรค วิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อราในระดับ phylogeny เปรียบเทียบในแต่ละช่วงเวลาและฤดูกาลที่ทำการสำรวจ ทั้งนี้ ข้อมูลต่างๆ ทางด้านความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืชป่าไม้ จะสามารถนำไปใช้เพื่อเป็นฐานข้อมูลในการพยากรณ์โรคที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต รวมทั้งจัดทำรายการชนิดพันธุ์เชื้อราเพื่อบันทึกในระบบฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพด้านจุลินทรีย์ป่าไม้

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุของโรคพืชป่าไม้ในพื้นที่กลุ่มป่าดงพญาเย็น-เขาใหญ่ ได้ดำเนินการสำรวจและเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนตุลาคม 2561 – กันยายน 2563 พบตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุจาก 4 พื้นที่ ได้แก่ อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ อุทยานแห่งชาติทับลาน อุทยานแห่งชาติ ปางสีดา และเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าดงใหญ่ พบราสาเหตุทั้งหมด 84 ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุได้จำนวน 56 ชนิด พบเชื้อราเข้าทำลายพืชอาศัยทั้งหมดมากกว่า 30 ชนิด เช่น ก้ามกุ้ง (Albizia odoratissima) สะอิม (Acacia pennata) โปรงฟ้า (Murraya siamensis) เครือหนูเห่า (Toddalia asiatica) สาบแร้งสาบกา (Ageratum conyzoides) หนามไขปู (Rubus sp.) เถาว์ลิ้นแดง (Toxicarpus sp.) ถาดดหมุดดหมา (Paederia linearis) มะขามป้อม (Phyllanthus emblica) มะค่าโมง (Afzelia xylocarpa) พูกฤษ (Albizia lebbek) ไม้, ส้มป่อย (Acacia concinna) หนามเอื้อง (Acacia caesia) มะกล่ำต้น (Adenanthera pavonina) Acacia spp., Mucuna

sp., Sauropus sp., Susticia sp., Pterolobium spp., Dalbergia sp., Albizia spp., พืชในวงศ์ Annonaceae และพืชตระกูลถั่ว (Legume) และพืชอาศัยที่ไม่สามารถระบุสกุลหรือชนิดได้ จำนวน 12 วงศ์ ได้แก่ พืชในวงศ์ Acanthaceae, Annonaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae, Poaceae, Rubiaceae, และ Rutaceae ตัวอย่างเชื้อราสาเหตุที่สำรวจพบมีการสร้างสปอร์ระยะต่างๆ ได้แก่ urediniospores, teliospores และ aeciospores ตัวอย่างการพบเชื้อราสาเหตุ (Table 1)

ผลการสำรวจตัวอย่างที่เก็บได้จากพื้นที่ต่างๆ ได้แก่ อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ พบเชื้อราสาเหตุจำนวน 27 ตัวอย่าง จำแนกชนิดได้ 17 ชนิด อุทยานแห่งชาติทับลาน พบเชื้อราสาเหตุ 23 ตัวอย่าง จำแนกชนิดได้ 10 ชนิด อุทยานแห่งชาติปางสีดา พบเชื้อราสาเหตุ 35 ตัวอย่าง จำแนกชนิดได้ 22 ชนิด และเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า ดงใหญ่ พบเชื้อราสาเหตุ 22 ตัวอย่าง จำแนกชนิดได้ 7 ชนิด ลักษณะของสปอร์ราสาเหตุที่สามารถจำแนกชนิดได้ส่วนใหญ่เป็นสปอร์ในระยะ teliospore ในการสำรวจครั้งนี้ เชื้อราที่เข้าทำลายพืชตระกูลถั่วส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อราในสกุล *Ravenelia*, *Sphaerophragmium* และ *Cystomyces* โดยจำแนกชนิดตามรายงานของ Ayawong *et al.* (2020a, 2020b, 2020c) เชื้อราสาเหตุที่เข้าทำลายไม้ดอกบางชนิดได้แก่พืชสกุลชาโกดำ พบเข้าทำลายโดย *Puccinia bagyanarayanii* (Kumar *et al.*, 2017) กล้าไม้ป่าเช่น มะค่าโมง เข้าทำลายโดยเชื้อรา *Phakopsora pachyrhizi* (Seemadua *et al.*, 2012) หรือพืชป่าสกุลเดียวกับหมามูย (*Mucuna* sp.) พบเข้าทำลายโดยราสาเหตุชนิด *Uromyces mucunae* (Pavan *et al.*, 2014) ซึ่งลักษณะของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุบางชนิดที่สำรวจพบในการศึกษานี้ (Figure 2)

Table 1 Some host plants and rust fungi collected in Dong Phrayayen - Khao Yai Forest Complex

Rust fungi	Host Plant	Spore stage	Location
<i>Cystomyces</i> sp.	<i>Acacia caesia</i>	T,U	TL
<i>Hamaspora</i> sp.	<i>Rubus</i> sp.	T,U	KY
<i>Hemileia</i> sp.	<i>Toxocarpus</i> sp.	T,U	TL
<i>Kernkampella breyniae</i>	<i>Phyllanthus</i> sp.	T,U	KY
<i>Kernkampella emblicae</i>	<i>Phyllanthus emblica</i>	T,U	TL
<i>Kernkampella breyniae</i>	<i>Breynia</i> sp.	A	PSD
<i>Maravalia pterocarp</i>	<i>Dalbergia cochinchinensis</i>	T,U	PSD
<i>Phakopsora pachyrhizi</i>	<i>Azela xylocarpa</i>	T,U	PSD, TL
<i>Puccinia justiciae</i>	<i>Justicia</i> spp.	T,U	PSD
<i>Ravenelia parasnathii</i>	<i>Acacia pennata</i>	T,U	TL
<i>Ravenelia</i> sp.1	<i>Acacia</i> sp.	T,U	KY
<i>Ravenelia</i> sp. 2	<i>Adenanthera pavonina</i>	T,U	PSD
<i>Ravenelia</i> sp. 3	<i>Pterolobium</i> sp.	T,U	KY
<i>Ravenelia</i> sp.4	<i>Albizia</i> sp.	T,U	PSD, DY
<i>Sphaerophragmium acaciae</i>	<i>Acacia</i> sp.	T,U	KY
<i>Sphaerophragmium</i> sp. 1	<i>Dalbergia nigrescens</i>	T,U	PSD
<i>Sphaerophragmium</i> sp. 2	<i>Albizia odoratissima</i>	T,U	PSD
unidentified rust fungi	<i>Wrightia</i> sp.	A	PSD
unidentified rust fungi	<i>Sauropus</i> sp.	A	KY
<i>Uromyces mucunae</i>	<i>Mucuna</i> sp.	T,U	TL

Location: KY - Khao Yai National Park; PSD - Pang Sida National Park; TL-Tablan National Park ; DY - Dong Yai Wildlife Sanctuary

Spore stage: T- telial stage; U- uredinial stage; A- aecial stage

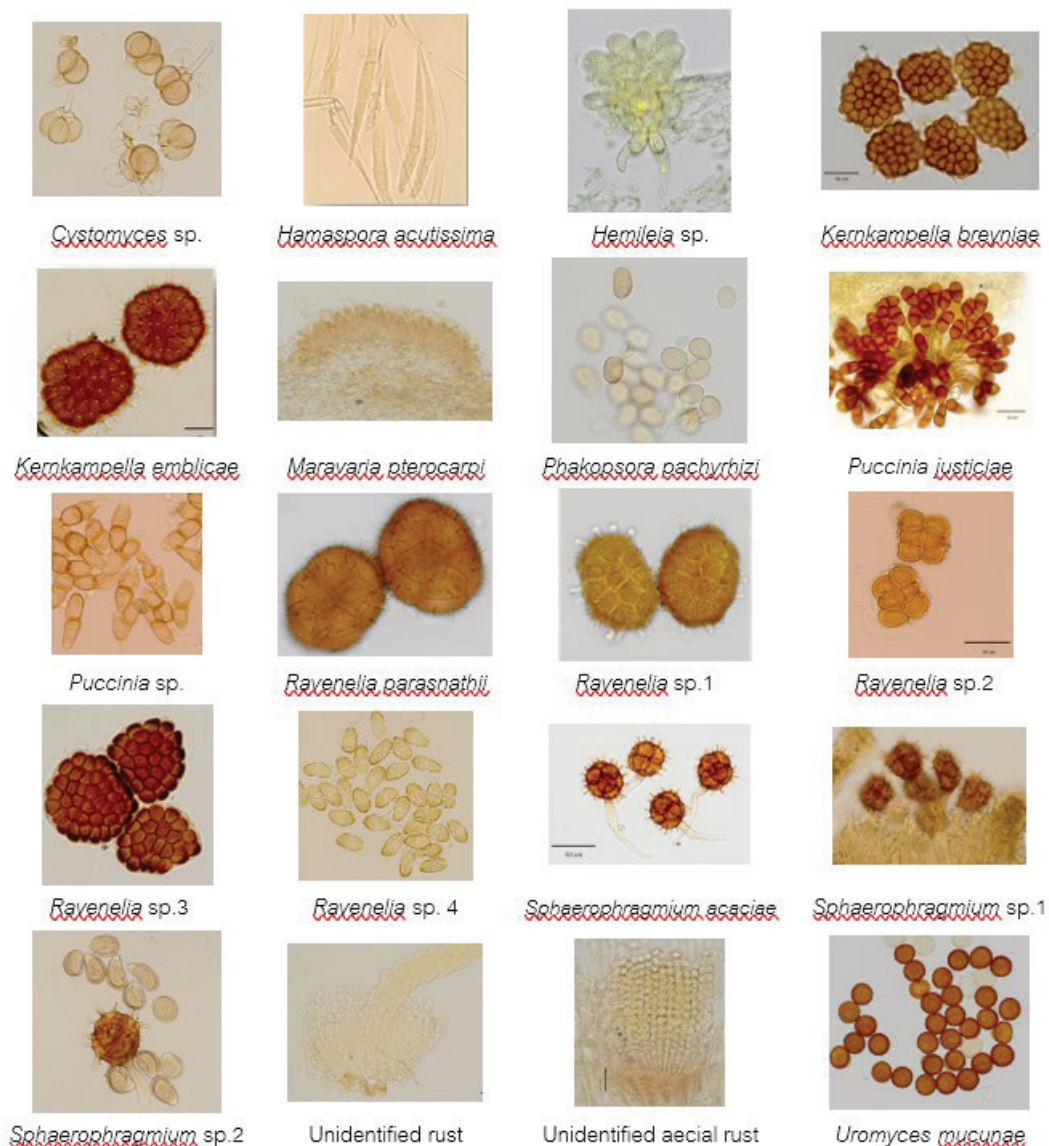


Figure 2 Morphological characteristics of some rust fungi on forest plants.

ในการศึกษาความหลากหลายชนิดของราสนิมครั้งนี้ ส่วนใหญ่จำแนกชนิดตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา แต่มีบางตัวอย่างที่ไม่สามารถจำแนกชนิดจากลักษณะดังกล่าวได้ เนื่องจากยังไม่มีรายงานการสำรวจพบบนพืชอาศัยชนิดนั้นมาก่อน เมื่อนำราสนิมไปสกัดดีเอ็นเอและวิเคราะห์ทาง phylogenetic tree พบว่าบางตัวอย่างสามารถสกัดดีเอ็นเอให้

บริสุทธิ์ได้ และบางตัวอย่างได้ดีเอ็นเอที่ไม่มีคุณภาพ จึงวิเคราะห์ราสนิมเพียงสกุลเดียวคือ ราสนิมสกุล *Sphaerophragmium* ที่เป็นตัวอย่างจากอุทยานแห่งชาติปางสีดาและทับลาน นำมาเปรียบเทียบกับราสนิมชนิดอื่นในวงศ์เดียวกัน สามารถจัดกลุ่มของเชื้อรา (Figure 3)

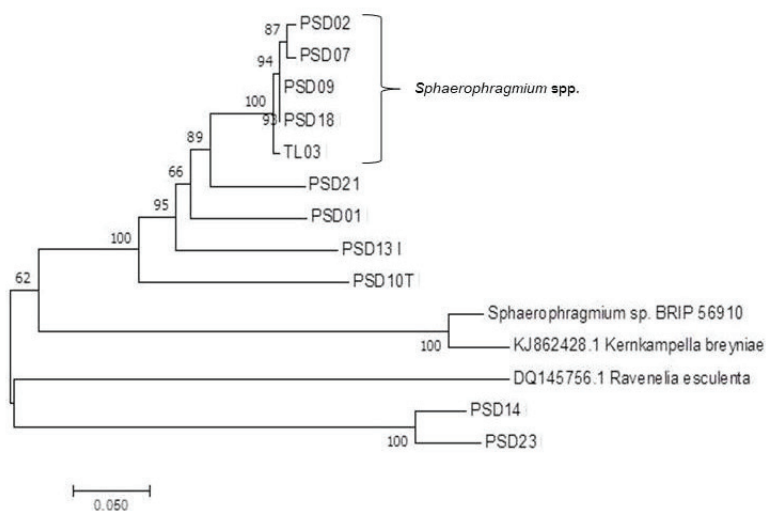


Figure 3 Phylogenetic tree of *Sphaerophragmium* spp. identification using the Neighbor-Joining method. Evolutionary analyses were conducted in MEGA7.

ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยนี้ทำให้เกิดข้อมูลของโรคพืชป่าไม้ที่จะเป็นประโยชน์ต่อฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพด้านเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช โดยเฉพาะข้อมูลเชื้อสาเหตุโรคราสนิมในพื้นที่อนุรักษ์สามารถนำข้อมูลไปใช้ตรวจสอบพืชเมื่อเกิดโรคระบาดกับกล้าไม้ หรือพืชเกษตร ไม้ยืนต้น หรือไม้ประดับได้ เป็นองค์ความรู้ไปเผยแพร่แก่นักเรียน นักศึกษา เกษตรกรหรือหน่วยงานราชการ ข้อมูลที่ได้สามารถไปจัดทำฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพในระดับพื้นที่และระดับชาตินอกจากนี้ยังได้วิธีการในการจำแนกชนิดราสนิมในพืชป่าไม้ และได้ตัวอย่างโรคพืชที่เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ ซึ่งสามารถใช้ศึกษา ต่อยอด วิจัยในอนาคตได้

สรุป

ในการศึกษาความหลากหลายชนิดของราสนิมสาเหตุโรคพืชป่าไม้ในพื้นที่กลุ่มป่าดงพญาเย็น-เขาใหญ่นี้ พบการเกิดโรคของพืชป่าไม้ที่เกิดจากราสนิมในจำนวนทั้งหมด 56 ชนิด ซึ่งถือว่ายังมีการสำรวจพบไม่มากนัก เนื่องจากมีข้อจำกัดในด้านการเก็บตัวอย่าง ต้นไม้บางชนิดมีขนาดใหญ่ซึ่งยากต่อการสังเกตและการเก็บตัวอย่างชิ้นส่วนพืช

ต้องสังเกตจากใบพืชที่ร่วงหล่นลงมา ในบางพื้นที่ที่เข้าไม่ถึงเนื่องจากลักษณะภูมิประเทศเป็นป่ารกทึบ อาจจะยังมีเชื้อราสนิมเข้าทำลายพืชที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ซึ่งเชื้อราเหล่านั้นสามารถเป็นเชื้อที่พักตัวตามสภาพธรรมชาติบนพืชอาศัยรอง (alternate host) เพื่อรอเข้าทำลายพืชอาศัยหลักซึ่งอาจจะเป็นพืชเกษตรได้ นอกจากนี้ในการเก็บตัวอย่างราสนิมสาเหตุโรคพืช ควรเลือกฤดูกาลที่เหมาะสมต่อการแสดงอาการของพืชหรือในช่วงที่เชื้อราสร้างสปอร์ในระยะurediniospore หรือ teliospores จึงจะสามารถจำแนกชนิดได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณส่วนความหลากหลายทางชีวภาพ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช สำหรับทุนการศึกษาวิจัย อุทยานแห่งชาติทั้งสามแห่งและเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าดงใหญ่ และภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจสอบชนิดของเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืช

เอกสารอ้างอิง

- จันจิรา อายะวงศ์ กฤษณา พงษ์พานิช วินันท์ดา หิมามาน และกิตติมา ดั่งวงศ์. 2552. โรคของกล้าไม้ป่าในโรงเรียนเพาะชำ. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช, กรุงเทพฯ. กรุงเทพฯ. 65 หน้า
- โสภา แก้วศรีทอง. 2542. โรคของกล้าไม้ที่เกิดจากเชื้อราในโรงเรียนเพาะชำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วนศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. กรุงเทพฯ 94 หน้า
- Ayawong, C. 2020. The Study on Rust Fungi in the Family Raveneliaceae Causing Diseases of Fabaceae Trees in Thailand. Ph.D. Thesis. Kasetsart University. 118 pp.
- Ayawong, C., J. Unartngam, W.H. Chung and Y. Ono. 2020a. *Ravenelia* species (Pucciniales) newly found in Thailand with their additional host and life cycle stage. *Mycoscience* 61(4): 197-203. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2020.03.005>.
- Ayawong, C., J. Unartngam, P. Thiawatwanikul, I. Okane and Y. Ono. 2020b. *Cystomyces antheropori*, a new rust fungus on *Antheroporum glaucum* from Thailand. *Mycoscience* 61(4): 179-183. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2020.04.002>.
- Ayawong, C., J. Unartngam and W.H. Chung. 2020c. Two new records of *Ravenelia* species on legumes in Thailand. *International Journal of Agricultural Technology* 16(3): 563-574.
- Kumar, S., R., Singh. and D.K. Gond. 2017. Diversity of rust fungus *Puccinia* on *Justicia*. *Plant Pathology & Quarantine* 7(1): 53-58. Doi 10.5943/ppq/7/1/6.
- Pavan, H., G. Swaroopsingh and P. Ravishankar. 2014. A new host record for *Uromyces mucunae* on *Mucuna sanjappae*. *Plant Pathology & Quarantine* 4(2): 90-9. Doi 10.5943/ppq/4/2/2.
- Seemadua, S., T. Bhasabuttra, D.R. Beasley, Y. P. Tan and R. G. Shivas. 2012. A new host genus and species (*Afzelia xylocarpa*) for *Phakopsora pachyrhizi* found in Thailand. *Australasian Plant Disease Notes* 7:125-126.