

สำรวจ รวบรวม และจำแนกราสกุล *Macrophomina* สาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ  
Survey, Collection and Identification of *Macrophomina* spp. in  
Economic Crops

พจนา ตระกูลสุขรัตน์<sup>1/</sup> เพลินพิศ สงสังข์<sup>2/</sup> อมรรัตน์ ภูไพบูลย์<sup>1/</sup>  
และพรพิมล อธิปัญญาคม<sup>1/</sup>

<sup>1/</sup> กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

<sup>2/</sup> กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชไร่

---

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชเป็นโรคที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Macrophomina* spp. ในแปลงปลูกพืชเศรษฐกิจในพื้นที่เขตจังหวัดภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน และภาคเหนือ ในระหว่างเดือนมกราคม 2551-สิงหาคม 2553 ได้ตัวอย่างพืชเป็นโรค 8 ชนิดจำนวน 25 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธี Tissue transplanting technique และเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เพื่อศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลการทดลองสามารถจำแนกเชื้อสาเหตุโรคได้เป็นเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* จำนวน 25 ไอโซเลท โดยเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ sclerotia และ pycnidia บนพืชมีขนาดใกล้เคียงกันคือ 111.13 ( $\pm 30.71$ ) และ 125.42 ( $\pm 38.95$ ) ไมครอนตามลำดับ เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย sclerotia บนอาหารเลี้ยงเชื้อคือ 98.52 ( $\pm 33.24$ ) ไมครอน conidia มีขนาดเฉลี่ย 5.28 ( $\pm 1.44$ ) x 14.14 ( $\pm 3.40$ ) ไมครอน ถูกสร้างอยู่ใน pycnidia เท่านั้นไม่ถูกสร้างบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

## คำนำ

โรคลำต้นเน่าดำหรือ Charcoal rot หรือ Ashy stem rot เป็นสาเหตุโรคลำต้นที่สำคัญโรคหนึ่ง เชื้อราสาเหตุอยู่ในสกุล *Macrophomina* spp. คือ *Macrophomina phaseolina* (Dhingra and Sinclair, 1972) มีพืชอาศัยมากกว่า 500 ชนิด (Mehan and McDonald, 1997) ทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชในกลุ่มพืชไร่เศรษฐกิจ เช่น ข้าวฟ่าง (Frederiksen, 1986) ทานตะวัน (Suriachandraseelan *et al.*, 2005) ข้าวโพด (Short *et al.*, 1980) ถั่วเขียว งา (Farr *et al.*, 1989) และเป็นสาเหตุสำคัญของโรคในถั่วเหลือง (Smith and Wylie, 1999) นอกจากนี้ยังพบการระบาดในพืชชนิดอื่นๆ อีกหลายชนิด อาทิเช่น สตรอเบอร์รี่ (Mertely *et al.*, 2005) มันฝรั่ง หอม และเบญจมาศ (Farr *et al.*, 1989) เป็นต้น ในประเทศไทยมีรายงานการระบาดของโรคกับข้าวโพด ถั่วเหลือง และข้าวฟ่าง (พัฒนา และคณะ, 2542) การเกิดโรคของพืชที่มีรายงานไว้แต่เดิมอาจเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากหลายสาเหตุ อาทิเช่น สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม การปฏิบัติของเกษตรกร หรือจากความต้านทานของพืชเอง ความเสียหายของพืชที่เกิดจากการทำลายของเชื้อราชนิดนี้อยู่ที่ระบบท่อลำเลียงโดยเนื้อเยื่อในกลุ่มท่อน้ำท่ออาหารจะถูกทำลายและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลไหม้ถึงดำอยู่ภายในลำต้นพืช โรคจะระบาดมากขึ้นเมื่อมีการปลูกพืชชนิดเดิมซ้ำในพื้นที่ที่มีประวัติการระบาดของโรค เนื่องจาก *M. phaseolina* สามารถอยู่ข้างฤดูได้ในรูป sclerotia ในเศษซากพืชในดิน (Short *et al.*, 1980) และลำต้นพืชจากปีที่ผ่านมา ทำให้ความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้น (Summer *et al.*, 1995) ปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคคือสภาพแวดล้อมที่ร้อนและแห้ง (Cook *et al.*, 1973)

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจ รวบรวมพืชอาศัยที่เป็นพืชเศรษฐกิจของเชื้อราสาเหตุ *M. phaseolina* สาเหตุโรคลำต้นเน่าดำและพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดของโรคในประเทศไทยสำหรับเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาการป้องกันกำจัดโรคอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชเป็นโรค Charcoal rot
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA)
3. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการและกล้องจุลทรรศน์ชนิด compound และชนิด stereo
4. อุปกรณ์บันทึกผลการทดลองได้แก่ กล้องถ่ายภาพ และสมุดบันทึก

### วิธีการ

#### 1. การแยกเชื้อสาเหตุ

เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคลำต้นเน่าดำจากพื้นที่ปลูกในเขตภาคต่างๆ ของประเทศในช่วงระหว่างเดือนมกราคม – สิงหาคม 2553 บันทึกลักษณะอาการที่พบในแปลง และนำตัวอย่างมาแยกหาเชื้อราสาเหตุโรคโดยใช้วิธี Tissue transplanting technique โดยตัดลำต้นพืชและตัดเนื้อเยื่อท่อน้ำท่ออาหารบริเวณที่พบเม็ด sclerotia สีดำ ให้มีความยาวประมาณ 1.0 เซนติเมตร นำมาฆ่าเชื้อด้วยการแช่ในคลอโรกซ์ (clorox) 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3-5 นาทีและ ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้งเพื่อล้างคลอโรกซ์ที่ยังตกค้างอยู่ที่ผิวพืชออก แยกเม็ด sclerotia เดียวเหล่านั้นวางบนอาหาร water agar (WA) บ่มเชื้อไว้ 3-4 วันที่อุณหภูมิห้อง ( $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) จนเชื้อราสร้างเส้นใย ใช้เข็มเขี่ยปลาย

แหลมตัดขึ้นงู้นที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญ และย้ายเส้นใยเชื้อราไปเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนเชื้อราสร้างโคโลนี บันทึกลักษณะและสี

## 2. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

การตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราจากเนื้อเยื่อพืชที่แสดงอาการโรคและเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยตัดชิ้นส่วนพืชเป็นโรคลำต้นเน่าดำบริเวณลำต้นที่พบเม็ดสีดำขนาดยาว 0.5-1 เซนติเมตรวางบนแผ่นสไลด์ หยดน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อที่ขึ้นส่วนพืช ปิดทับด้วยแผ่น cover slip นำแผ่นสไลด์ไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์บันทึกรูปร่างลักษณะและวัดขนาดเม็ดสีดำที่พบ ก่อนใช้เข็มเขี่ยปลายแหลมกดทับเม็ดสีดำที่อยู่ใต้แผ่น cover slip เบาๆ เพื่อให้เม็ดสีดำแตกและ conidia ที่อยู่ภายในหลุดออกมา ก่อนนำแผ่นสไลด์ไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่างลักษณะและวัดขนาดของ conidia การศึกษา sclerotia บนอาหารจะใช้เข็มเขี่ยปลายแหลมตัดชิ้นงู้นอาหาร PDA ที่มีเชื้อราสาเหตุโรคเจริญอยู่ วางบนแผ่นสไลด์ หยดน้ำยา Shear's mounting solution (ภาคผนวก 1) ที่ขึ้นงู้นนั้น ปิดทับด้วยแผ่น cover slip นำแผ่นสไลด์ไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่างลักษณะและขนาด sclerotia ของเชื้อราสาเหตุโรค ก่อนส่งตัวอย่างแห้งเข้าเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช และตัวอย่างเชื้อเข้าเก็บรักษาใน culture collection

## เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2553

พื้นที่ปลูกพืชในภาคต่างๆ ของประเทศ

ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. การแยกเชื้อสาเหตุ

ผลการสำรวจพื้นที่ปลูกพืชเศรษฐกิจในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบตัวอย่างพืชเป็นโรคลำต้นเน่าดำทั้งหมด 25 ตัวอย่างจากพืชอาศัย 8 ชนิด คือ กระจับแดง 1 ตัวอย่าง แกลดิโอลัส 1 ตัวอย่าง ข้าวโพดหวาน 3 ตัวอย่าง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 1 ตัวอย่าง งา 2 ตัวอย่าง ถั่วเขียว 8 ตัวอย่าง ถั่วเหลือง 4 ตัวอย่าง ทานตะวัน 4 ตัวอย่าง และหมากเหลืองหรือหมากประดับ 1 ตัวอย่าง พบการระบาดของโรคในช่วงเดือนกรกฎาคม-กันยายนที่มีฝนทิ้งช่วง สภาพพื้นที่แปลงที่พบการระบาดเป็นแปลงที่ดินค่อนข้างแห้ง มีการให้น้ำพืชแต่ไม่เพียงพอหรือลดการให้น้ำก่อนการเก็บเกี่ยว อุณหภูมิค่อนข้างสูง มีการปลูกพืชซึ่งเป็นพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรคก่อนหน้าหรือในบริเวณใกล้เคียงและเป็นแปลงที่มีรายงานว่าเคยมีการระบาดของโรคมามาก่อน ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้พบโรคระบาดเนื่องจากเชื้อราชนิดนี้สามารถอยู่ข้ามฤดูในดินได้ในรูป sclerotia ในเศษซากพืชในดิน (Short *et al.*, 1980)

อาการโรคลำต้นเน่าดำในตัวอย่างพืช จะปรากฏให้เห็นโดยในระยะแรกผลจะมีลักษณะเป็นรอยฉ่ำน้ำ สีน้ำตาล ต่อมาเมื่อผลลูกกลมขยายไปตามลำต้น ต้นพืชจะล้มเนื่องจากท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลาย เปลือกลำต้นและรากอ่อนหลุดลอกง่าย พบกลุ่มผงสีดำขนาดเล็กคล้ายผงถ่านบริเวณผิวเปลือกด้านในที่หลุดลอก ผิวด้านในของลำต้นที่อยู่เหนือดินและรากพืชใต้ดิน ต้นพืชที่มีอาการรุนแรงเมื่อตัดทางขวางจะพบส่วนกลางต้นกลวง และกลุ่มของท่อน้ำท่ออาหารแตกอยู่เป็นเส้น ผงสีดำคล้ายผงถ่านดังกล่าวคือ pycnidia ซึ่งมี conidia อยู่ภายในและ sclerotia

ที่เชื้อสาเหตุโรครสสร้างขึ้นเพื่อให้อยู่ข้ามฤดู โคลนินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เริ่มแรกเป็นสีขาวต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเทา ดำ และสีดำ เมื่อโคลนอายุมากจะเปลี่ยนเป็นสีดำทั้งหมด เส้นใยขึ้นฟู พบการสร้าง sclerotia เป็นเม็ดสีดำขนาดเล็กจำนวนมากในอาหาร ซึ่ง Sutton (1980) และ Watanabe (2002) รายงานว่าเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* เป็นสาเหตุโรค Charcoal rot และ Ashy stem rot โคลนินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีดำ และสร้าง sclerotia เป็นเม็ดสีดำขนาดเล็กทั้งบนอาหารและบนพีช conidia สร้างอยู่เฉพาะใน pycnidia ไม่สร้างบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และตรงกับงานวิจัยของ Ma *et al.* (2010) ที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 7 ชนิดเลี้ยงเชื้อรา *M. phaseolina* ผลการทดลองไม่พบการสร้าง pycnidia และ conidia บนอาหาร PDA

## 2. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *M. phaseolina* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าผงสีดำขนาดเล็กบนพีชคือ sclerotia และ pycnidia โดย sclerotia พบเป็นกลุ่มเส้นใยที่เกาะรวมตัวกันจนเห็นเป็นก้อน มีลักษณะค่อนข้างกลม ผ่องใส สีน้ำตาลเข้มถึงสีน้ำตาลดำ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ sclerotia จากเชื้อรา *M. phaseolina* จำนวน 25 ไอโซเลท ที่เก็บรวบรวมได้คือ 111.13 ( $\pm 30.71$ ) ไมครอนเป็นขนาดที่ใกล้เคียงกับ Sutton (1980) รายงานไว้คือ 50-300 ไมครอน sclerotia

pycnidia มีสีน้ำตาลเข้มถึงสีน้ำตาลดำ และมีลักษณะค่อนข้างกลมคล้าย sclerotia ต่างกันตรงที่ pycnidia มีช่องเปิดเรียกว่า ostioles ปรากฏออกมาจากผิวเล็กน้อย และมีขนาดใหญ่กว่า sclerotia ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ pycnidia จากเชื้อรา *M. phaseolina* 25 ไอโซเลทที่เก็บรวบรวมได้คือ 125.42 ( $\pm 38.95$ ) ไมครอนมีขนาดเล็กกว่าขนาดที่ Watanabe (2002) รายงานไว้คือ 130-230 ไมครอน

โคลนินบนอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีสีดำ เส้นใยใสไม่มีสี มีผนังกัน พบ sclerotia สีน้ำตาลดำจำนวนมากถูกสร้างอยู่ระหว่างเส้นใย ลักษณะค่อนข้างกลมถึงยาวรี (ellipsoid to obovoid) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ sclerotia บนอาหารจากเชื้อรา *M. phaseolina* 25 ไอโซเลทที่เก็บรวบรวมได้คือ 98.52 ( $\pm 33.24$ ) ไมครอนมีขนาดใกล้เคียงกับ sclerotia ที่เชื้อราสร้างบนพีชและเป็นขนาดที่ตรงกับช่วงขนาดที่ Watanabe (2002) รายงานไว้คือ 60-120 ไมครอน

conidia เป็นเซลล์เดี่ยว (1-celled conidia) ใสไม่มีสี ถูกสร้างอยู่เฉพาะใน pycnidia ไม่สร้างบนอาหาร PDA ขนาดเฉลี่ยรวมของ conidia จากเชื้อรา *M. phaseolina* 25 ไอโซเลทที่เก็บรวบรวมได้คือ 5.28 ( $\pm 1.44$ )  $\times$  14.14 ( $\pm 3.40$ ) ไมครอน เป็นขนาดที่ตรงกับช่วงขนาดที่ Watanabe (2002) รายงานไว้คือ 6-11.5  $\times$  14-35 ไมครอน

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างพืชเป็นโรคลำต้นเน่าดำหรือ Charcoal rot ที่มีเชื้อราในสกุล *Macrophomina* เป็นเชื้อสาเหตุ ในพื้นที่ปลูกพืชทั่วประเทศระหว่างเดือนเดือนมกราคม 2551 – สิงหาคม 2553 ได้ตัวอย่างพืชเป็นโรคทั้งสิ้น 25 ตัวอย่าง จำแนกตามชนิดพืชอาศัยได้ 8 ชนิด คือ กระจับแดง 1 ตัวอย่าง แกลดิโอลัส 1 ตัวอย่าง ข้าวพางหวาน 3 ตัวอย่าง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 1 ตัวอย่าง งา 2 ตัวอย่าง ถั่วเขียว 8 ตัวอย่าง ถั่วเหลือง 4 ตัวอย่าง ทานตะวัน 4 ตัวอย่าง และหมากเหลืองหรือหมากประดับ 1 ตัวอย่าง และจำแนกสาเหตุโรคได้เป็น *Macrophomina phaseolina* โคลนินเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเทาดำ เส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใส ไม่มีสี พบการสร้าง pycnidia และ sclerotia บนเนื้อเยื่อพืช และสร้าง conidia อยู่ภายใน pycnidia บนอาหาร PDA พบเฉพาะการสร้าง sclerotia ไม่พบการสร้าง conidia

## เอกสารอ้างอิง

- พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2542. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 3. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการ เกษตร. กรุงเทพฯ. 284 หน้า.
- Cook, G.E., M.G. Boosalis, L.D. Dunkle, and G.N. Odvody. 1973. Survival of *Macrophomina phaseolina* in corn and sorghum stalk residue. Plant Dis. Repr. 57:873-875.
- Dhingra, O.D., and J.B. Sinclair. 1972. Variation among isolates of *Macrophomina phaseolina* (*Rhizoctonia bataticola*) from the same soybean plant. Phytopathology 62:S1108. (Abstract)
- Farr, D.F., G.F. Bills, G.P. Chamuris and A.Y. Rossman. 1989. Fungi on Plants and Plant Products in the United State. APS Press, St. Paul, MN. USA. 1252 pp.
- Frederiksen, R.A. 1986. Compendium of Sorghum Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. USA. 82 pp.
- Ma, J., C.B. Hill and G.L. Hartman. 2010. Production of *Macrophomina phaseolina* conidia by multiple soybean isolates in culture. Plant Diseases 94:1088-1092.
- Mehan, V. K., and D. McDonald. 1997. Charcoal Rot. In Compendium of Peanut Diseases, 2nd ed. N. Kokalis-Burelle *et al.* eds. APS Press. St. Paul, MN. USA. 94 pp.
- Mertly, J., T. Seijo and N. Peres. 2005. First report of *Macrophomina phaseolina* causing a crown rot of strawberry in Florida. Plant Diseases 89: 434.
- Short, G.E., T.D. Wyllie and P.W. Bristow. 1980. Survival of *Macrophomina phaseolina* in soil and in residue of soybean. Phytopathology 70:13-17.
- Smith, G.S. and T.D. Whyllie. 1999. Charcoal rot. Pages 29-31 In Compendium of Soybean Disease. 4th ed. G.L. Hartman, J.B. Sinclair and J.C. Rupe. (eds.) American Phytopathological Society. St. Paul, MN. USA. 128 p.
- Summer, D.R., C.C. Dowler, A.W. Hohnson and S.H. Baker. 1995. Conservation tillage and seedling diseases in cotton and soybean double-cropped with triticale. Plant Dis. 79:372-375.
- Suriachandrasel Van, M., K.E.A. Aiyyanathan and R. Vimala. 2005. Host range and cross inoculation studies on *Macrophomina phaseolina* from sunflower. Madras Agric. J. 92(4-6) : 238-240.
- Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes : Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acevuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, London, UK. 696 pp.
- Watanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi : Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. 2nd ed. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. 486 pp.