บทคัดย่อ

โรคโคนเน่าและหัวเน่ามันสำปะหลังเป็นโรคที่มีความสำคัญต่อการเพาะปลูกมันสำปะหลังในประเทศไทย การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อระบุชนิดของเชื้อสาเหตุโรคโคนเน่าและหัวเน่าในมันสำปะหลังที่พบในพื้นที่ปลูกสำคัญ และศึกษาพันธุกรรมของเชื้อก่อโรคโคนเน่าและหัวเน่ามันในสำปะหลังด้วยเทคนิค Next Generation Sequencing (NGS) โดยทำการเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการโรคโคนเน่าและหัวเน่าจากแหล่งปลูกใน 4 อำเภอ ได่แก่ อำเภอเมืองนครราชสีมา เสิงสาง ครบุรี จังหวัดนครราชสีมา และอำเภอศรีมหาโพธิ จังหวัดปราจีนบุรี จำนวน 150 ตัวอย่าง จากนั้นนำเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ผลการศึกษาพบว่า โรคโคนเน่าและหัวเน่ามันสำปะหลังถูกเข้าทำลายจากเชื้อรา *Lasiodiplodia* spp. ที่อยู่ในวงศ์ Botryosphaeriaceae ซึ่งเชื้อราสกุลนี้เมื่อเข้าทำลายมันสำปะหลังจะมีอาการ เน่าเละ มีสีน้ำตาลไปจนถึงสีดำ ในบริเวณหัวและโคนต้น จากนั้นแยกเชื้อจากสปอร์เดี่ยวนำมาทดสอบความสามารถในการก่อโรค พบว่า เชื้อราทั้ง 96 ไอโซเลต สามารถก่อให้เกิดโรคกับท่อนพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ CMR 89 (พันธุ์อ่อนแอ) โดยไอโซเลต SSBR301-2, SSNM05, SSBR1403-4, HT901-1, SSBR1403-1, HT401-2, HT701-1, HT401-1, SS-R4.1, SSBR701-4, SSBR301-3, HT703-3, SSBR1402-5, SS-S4.56, SP-S1.2, SS-R3.14, SS-S3.39, SS-S3.32.1, SP601-1, SSNM46 และ SS-R3.18 สามารถก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุด นอกจากนี้ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้ ผลการศึกษาพบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลตมีการเจริญเติบโตเร็ว และสามารถเจริญได้เต็มจานอาหาร PDA ภายใน 1-3 วันหลังจากเลี้ยงเชื้อ ซึ่งไอโซเลตที่เจริญเติบโตเร็วสุด ได้แก่ ไอโซเลต L12SHRD และ ไอโซเลต SP-R1.44 สามารถเจริญบนจานอาหาร PDA โดยมีขนาดเฉลี่ย 83.00×83.00 มิลลิเมตร หลังวางเชื้อ 1 วัน ส่วนไอโซเลตที่เจริญช้าสุด ได้แก่ ไอโซเลต SP-R1.38 ไอโซเลต HT902-2 และ ไอโซเลต SS-S4.54 สามารถเจริญบนจานอาหาร โดยมีขนาดเฉลี่ย 43.00x43.00 มิลลิเมตร หลังวางเชื้อ 1 วัน โดยเชื้อราแต่ละไอโซเลตจะเจริญเต็มจานอาหาร PDA ในวันที่ 3 หลังจากวางเชื้อ นอกจากนี้การระบุชนิดเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าและหัวเน่ามันสำปะหลังด้วยวิธีชีวโมเลกุล โดยการทำ map ลำดับเบสเข้ากับจีโนมอ้างอิงของเชื้อรา *L. theobromae* ที่ทำให้เกิดโรคโคนเน่าและหัวเน่าในมันสำปะหลัง จากการตรวจสอบทั้งหมด 96 ไอโซเลต พบว่าแต่ละไอโซเลทมี read ที่สามารถ map กับจีโนมอ้างอิงได้ 3.83-29.35 % จำนวน 18 ไอโซเลท มีไอโซเลทที่มี read ที่สามารถ map ได้ 39.74-64.04 % จำนวน 16 ไอโซเลต และมีไอโซเลทที่ read สามารถ map ได้ตั้งแต่ 72.25-86.39 % จำนวน 62 ไอโซเลต ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุลร่วมกัน พบว่าสามารถยืนยันว่าเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าและหัวเน่าที่เข้าทำลายมันสำปะหลังในประเทศไทย เกิดจากเชื้อรา *L. theobromae*

Abstract

Root rot disease is an important disease of cassava cultivation in Thailand. The objectives of this study were to identify the causal agent of root rot disease and to study the genetic of the causal agents of root rot diseases using Next Generation Sequencing (NGS) technique. The study was carried out by collecting a total of 150 diseased cassava isolates with various root rot symptoms from cassava growing areas covering those in 4 districts including Mueang Nakhon Ratchasima, Soeng Sang, khon Buri district of Nakhon Ratchasima province and Si Maha Phot district of Prachinburi province in Thailand. Then, the causal fungal pathogen was studied on morphological characteristics. The result found that root rot disease in cassava infected by *Lasiodiplodia* spp. in the family of Botryosphaeriaceae this of the fungal pathogen after infected cassava could cause soft rot symptoms, and brown to black necrosis to the cassava tubers and stem. The pathogenicity test of all 96 single-spore isolates showed that they could cause stem and root black rot symptoms on the inoculated susceptible cassava cv. CMR 89, and the disease severities were different depending on the fungal isolates. The result found the isolate SSBR301-2, SSNM05, SSBR1403-4, HT901-1, SSBR1403-1, HT401-2, HT701-1, HT401-1, SS-R4.1, SSBR701-4, SSBR301-3, HT703-3, SSBR1402-5, SS-S4.56, SP-S1.2, SS-R3.14, SS-S3.39, SS-S3.32.1, SP601-1, SSNM46 and SS-R3.18 were the most virulent. Moreover, the study on morphological characteristics of isolate fungal pathogen. The result found that isolate L12SHRD and SP-R1.44 have highest mycelium growth in PDA by 83.00x83.00 mm at 1 day after culture on plate, and lowest are isolate HT902-2 and SS-S4.54 at 43.00x43.00 mm. However, each isolated fungal pathogen is growing faster in PDA medium at 3 days after culture on plate. Nevertheless, identification of cassava root rot disease caused by *L. theobromae* found that 96 isolates can read map with genome referent at 3.83–29.35 %, 18 isolates at 39.74–64.04 %, 16 isolates and 72.25–86.39 %, 62 isolates. The results of the study of morphological characteristics and biomolecules confirm that the causal agent of the cassava root rot disease in Thailand is *L. theobromae*.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี