

## บทคัดย่อ

โรคโคนเน่าและหัวเน่ามันสำปะหลังเป็นโรคที่มีความสำคัญต่อการเพาะปลูกมันสำปะหลังในประเทศไทย การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อระบุชนิดของเชื้อสาเหตุโรคโคนเน่าและหัวเน่าในมันสำปะหลังที่พบในพื้นที่ปลูกที่สำคัญ โดยทำการเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการโรคโคนเน่าและหัวเน่าจากแหล่งปลูกใน 6 อำเภอ ของ 3 จังหวัด ในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จำนวน 139 ตัวอย่าง จากนั้นนำเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ผลการศึกษาพบว่า โรคโคนเน่าและหัวเน่ามันสำปะหลังถูกเข้าทำลายจากเชื้อรา *Lasiodiplodia* spp. และ *Neoscytalidium* sp. ที่อยู่ในวงศ์ Botryosphaeriaceae ซึ่งเชื้อราทั้งสองสกุลเมื่อเข้าทำลายมันสำปะหลังจะมีอาการ เน่าเปื่อย เน่าละ เน่าแห้ง และมีสีดำ ในบริเวณโคนต้น จากนั้นแยกเชื้อจากสปอร์เดี่ยวนำมาทดสอบความสามารถในการก่อโรค พบว่า เชื้อราทั้ง 33 ไอโซเลต สามารถก่อให้เกิดโรคได้ทั้งกับท่อนพันธุ์ และหัวสำปะหลังพันธุ์ระยอง 89 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอในสภาพกลางแจ้ง โดยไอโซเลต L11HSR2 สามารถก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุด นอกจากนี้ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้ ผลการศึกษาพบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลตมีการเจริญเติบโตเร็ว และสามารถเจริญได้เต็มจานอาหาร potato dextrose agar (PDA) ภายในวันที่ 1-3 หลังจากเลี้ยงเชื้อ โดยเชื้อราจะมีเส้นใยสีขาวในวันที่ 1 และมีสีเทาในวันที่ 3 โดยในวันที่ 3-4 จะเปลี่ยนสีเป็นสีเขียวมะกอกดำ หรือน้ำตาลดำ ซึ่งในแต่ละไอโซเลตมีลักษณะสีของโคโลนีที่แตกต่างกัน และสีของโคโลนีจะเข้มขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น และจากผลการทดลองพบว่าไอโซเลตที่เจริญเติบโตเร็วที่สุดได้แก่ ไอโซเลต L8HDBB สามารถเจริญบนจานอาหาร PDA หลังวางเชื้อ 1 วัน มีขนาดเฉลี่ย 84.00x84.25 มิลลิเมตร ส่วนไอโซเลตที่เจริญช้าที่สุด ได้แก่ L10BBLB สามารถเจริญบนจานอาหารหลังวางเชื้อ 1 วัน ขนาดเฉลี่ย 43.00x43.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ทำการศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุลและการวิเคราะห์สายสัมพันธ์วิวัฒนาการ โดยนำตัวแทนของเชื้อจำนวน 8 ไอโซเลต ประกอบด้วย L6HRD, L11HSR2, L12SHRD, L13SRTF, L18KBSH, L20FHTB1, L27SRBT และ N3DTD2 มาเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ใช้ universal primers 3 บริเวณ คือ ไพร์เมอร์ ITS1/ ITS4, ไพร์เมอร์ Ef1-688F/Ef1-1251R และไพร์เมอร์ Bt2a/Bt2b แล้วเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อในฐานข้อมูล Genbank พบว่า บริเวณ EF1- $\alpha$  สามารถแยกความแตกต่างได้ชัดเจนที่สุด ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุลร่วมกัน พบว่าสามารถจำแนกเชื้อรา คือ *L. theobromae*, *L. euphorbicola* และ *N. hyalinum* เข้าทำลายมันสำปะหลังในประเทศไทย

## Abstract

Cassava root rot disease is an important disease of cassava in Thailand. The objective of this study was to identify the causal agent of cassava root rot pathogens in important planting areas. The study was carried out by collecting cassava samples with root rot symptoms from cassava planting areas covering those in 6 districts of 3 provinces in central and northeastern, Thailand. A total of 139 isolates of cassava stem and root rot causal fungi were isolated. The isolated pathogens were morphology studied. The results showed that cassava root rot is infected by *Lasiodiplodia* spp. and *Neoscytalidium* sp. in the family Botryosphaeriaceae. When both pathogens' infections showed the symptoms of wet rot, rotten, dry rot, and black color in the cassava root area. The pathogenicity test of all 33 fungal isolates could cause root rot symptoms on inoculated cassava CMR 89, susceptible cassava cultivar in a moist chamber, and greenhouse conditions but the disease severity was different depending on the fungal isolates. Among the isolate, L11HSR2 was the most virulent. Nevertheless, study to morphological of isolate fungal pathogen. The result found that isolate L8HDBB in PDA at 1 day has higher mycelium growth at 84.00x84.25 mm, and lower is isolate L10BBLB at 43.00x43.00 mm respectively, a significant difference. In addition, biomolecular characterization and phylogenetic analyses were performed. Eight representative isolates including L6HRD, L11HSR2, L12SHRD, L13SRTF, L18KBSH, L20FHTB1, L27SRBT, and N3DTD2 were used to quantify DNA fragments by PCR technique using 3 universal primers including ITS1/ITS4, Ef1-688F/Ef1-1251R, and Bt2a/Bt2b primers. The resulting nucleotide sequences were compared with the nucleotide sequences in the Genbank database showed that the EF1- $\alpha$  region was the most distinctly differentiated. The results of the study of morphology and biomolecules together. It was found that *L. theobromae*, *L. euphorbicola* and *N. hyalinum*, infested cassava in Thailand.