

การจำแนกชนิดและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Ganoderma* spp.  
สาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน

Identification and genetic diversity of *Ganoderma* spp.  
a causal agent of basal stem rot disease in oil palm

เทิดศักดิ์ สวัสดิ์สุข<sup>1</sup> วรกร สิทธิพงษ์<sup>1</sup> อีระ ชูแก้ว<sup>2</sup> ยິงนิยม จินดาเดช<sup>1</sup>

Therdsak Sawatsuk<sup>1</sup> Worakorn Sittipong<sup>1</sup> Teera Chookaew<sup>2</sup> Yingniyom Jindadach<sup>1</sup>

**บทคัดย่อ**

โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันจากเชื้อรา *Ganoderma* spp. พบการระบาดในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันของประเทศไทย การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเชื้อรา *Ganoderma* spp. และจำแนกชนิดของเชื้อรา *Ganoderma* spp. ด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS rDNA เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการจำแนกชนิดและความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยสำรวจเก็บตัวอย่างดอกเห็ดเพื่อแยกเชื้อรา *Ganoderma* spp. และตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยา การสำรวจในพื้นที่ระบาด 7 จังหวัดสามารถเชื้อรา *Ganoderma* spp. ได้ 55 ไอโซเลต ได้แก่ กระบี่ 22 ไอโซเลต ตรัง 4 ไอโซเลต นครศรีธรรมราช 7 ไอโซเลต สุราษฎร์ธานี 14 ไอโซเลต ชุมพร 6 ไอโซเลต จังหวัดพังงา 1 ไอโซเลต และปทุมธานี 1 ไอโซเลต ดอกเห็ดของเชื้อรา *Ganoderma* spp. สามารถแบ่งออกเป็น 4 ลักษณะ คือ รูปร่างใบพัดมีก้านดอก รูปร่างใบพัดไม่มีก้านดอก รูปร่างก้อนกลมมีก้านดอก และรูปร่างก้อนกลม ไม่มีก้านดอกสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม พบทั้งมีและไม่มีขอบสีขาวและก้านดอก เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จาก 9 ไอโซเลต ได้แก่ KBI07 KBI08 NRT03 SNI02 SNI06 SNI09 CPN03 CPN05 และPTE1 พบว่าเชื้อรา *Ganoderma* spp. สาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่ศึกษาในครั้งนี้จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *G. boninense* จากฐานข้อมูล GenBank โดยมีค่าความน่าเชื่อถือในการจัดกลุ่มที่ 99% และจัดกลุ่มแยกกับเชื้อรา *G. lucidum* *G. tsugae* และ *G. applanatum* จำแนกเป็น *G. boninense* โดยเชื้อรา *Ganoderma* spp. ที่สำรวจได้มีความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา ซึ่งอาจแตกต่างกันทางพันธุกรรมและความรุนแรงในการเข้าทำลายได้

**คำสำคัญ:** ปาล์มน้ำมัน โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน กาโนเดอร์มา

<sup>1</sup>ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร จังหวัดสุราษฎร์ธานี 84340

<sup>1</sup>Surat Thani Palm Oil Research Center, Field Crops and Alternative Energy Crops Research Institute, Department of Agriculture, Surat Thani 84340, Thailand

<sup>2</sup>ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสงขลา สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8 กรมวิชาการเกษตร จังหวัดสงขลา 90110

<sup>2</sup>Songkhla Agricultural Research and Development Center, Office of Agricultural Research and Development Region 8, Department of Agriculture, Songkhla 90110, Thailand

## ABSTRACT

Basal stem rot disease in oil palm caused by *Ganoderma* spp. is a disease in oil palm plantations in Thailand. The objective of this study was to evaluate the differentiation of *Ganoderma* spp. to provide information for species identification and genetic diversity. The fruiting bodies from the survey were collected to isolate *Ganoderma* spp. and identification of *Ganoderma* species using ITS rDNA sequence. and investigate the morphological characteristics. A total of 55 isolates of *Ganoderma* spp. were isolated from 7 oil palm planting areas where basal stem rot disease was epidemic, consisting of 22 from Krabi, 4 from Trang, 7 from Nakhon Si Thammarat, 14 from Surat Thani, 6 from Chumphon, 1 from Phangnga and 1 from Pathum Thani province. Basidiocarp morphologies for *Ganoderma* spp. could be classified into 4 groups, including fan shape with stipitate, fan shape with astipitate, nodule shape with stipitate and nodule shape with astipitate. The surface had a light brown color to dark brown, and was found with and without a white stripe on the surfaces and stipe. Based on nucleotide data analysis revealed that 9 isolates such as KBI07 KBI08 NRT03 SNI02 SNI06 SNI09 CPN03 CPN05 and PTE1. The fungi *Ganoderma* spp., the causative agent of Basal stem rot disease in this study, were found to be grouped together with *G. boninense* from the GenBank database with a reliability of 99% and were grouped separately with *G. lucidum*, *G. tsugae* and *G. applanatum* and classified as *G. boninense*. The isolated *Ganoderma* spp. from this survey obtained various morphological characteristics, which might indicate the differentiation of genetic diversity and severity of infestation.

**Keywords:** Oil palm, Basal stem rot disease in oil palm, *Ganoderma* spp.

## คำนำ

ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญและมีศักยภาพสูง มีอายุการเจริญและให้ผลผลิตได้นานหลายปี มีปริมาณน้ำมันต่อหน่วยพื้นที่สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับพืชน้ำมันชนิดอื่น และนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอย่างหลากหลายทั้งในและต่างประเทศ

ปัจจุบันนี้โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน (Basal stem rot disease) สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Ganoderma* spp. เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตและสร้างความเสียหายให้แก่ปาล์มน้ำมัน 30 - 70% หรือไม่ให้ผลผลิตเลย โดยพบเส้นใยสีขาวของเชื้อราเข้าทำลายเจริญอยู่ในลำต้นและราก หากมีอาการรุนแรงส่งผลให้ภายในลำต้นฝุ่เปียกและโคนล้มได้ง่าย พบดอกเห็ดขึ้นบริเวณโคนต้น และยืนต้นตายในที่สุด โดยเฉพาะในเขตภาคใต้ของไทยมีการปลูกปาล์มน้ำมันเป็นจำนวนมาก เมื่อเกิดการระบาดจึงทำให้พื้นที่การเกิดโรคลำต้นเน่ากระจายออกไปได้อย่างรวดเร็ว สร้างความเสียหายให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกปาล์มน้ำมันเป็นจำนวนมาก ในประเทศไทยมีรายงานถึงการพบและการศึกษาโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันในปี พ.ศ. 2536

(ศรีสุรางค์และคณะ, 2536) เชื้อรา *Ganoderma* spp. มักเข้าทำลายในปาล์มน้ำมันระยะให้ผลผลิต ลักษณะอาการของโรคจะเด่นชัดเมื่อปาล์มน้ำมันอายุมากกว่า 12 ปีขึ้นไป แต่ในที่ ๆ มีการปลูกปาล์มน้ำมันทดแทนดินเดิม จะทำให้ปาล์มน้ำมันที่ปลูกแทนนั้นเป็นโรคได้เร็วขึ้น จากการสำรวจยังพบโรคที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันในพืชตระกูลปาล์มอื่น ๆ ในประเทศไทย เช่น โรครากเน่าของมะพร้าวและหมาก ซึ่งมีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Ganoderma* sp. และพบว่าปาล์มน้ำมันที่ปลูกหลังมะพร้าวและปาล์มน้ำมันมีโอกาสเป็นโรคได้สูงกว่าปาล์มน้ำมันที่ปลูกตามหลังยางพาราหรือปลูกในพื้นที่ใหม่ (พรพิมล และคณะ, 2556)

เชื้อรา *Ganoderma* sp. เป็นเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศใน Phylum Basidiomycota ซึ่งมีการรวมตัวกันของเส้นใย (Plasmogamy) จากโครงสร้างที่เรียกว่า Gametangium ทำหน้าที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่เรียกว่า Gamete ซึ่งทำหน้าที่เป็นเพศผู้และเพศเมีย เพื่อสร้างดอกเห็ดทำหน้าที่เป็น Fruiting Body ในการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ต่อไป (Ian A. Hood, 2017) ดังนั้นมีโอกาสที่เชื้อรา *Ganoderma* spp. มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง การศึกษาลักษณะทางสัณฐานทางวิทยา จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่จำเป็นในการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุควบคู่กับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการจัดจำแนก งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกเห็ด *Ganoderma* spp. เพื่อเป็นข้อสังเกตให้แก่เกษตรกรในการเฝ้าระวังการระบาดและจำแนกชนิดของเชื้อราด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์สำหรับเป็นข้อมูลให้นักปรับปรุงพันธุ์ใช้ในการทดสอบพันธุ์ด้านทานต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. สํารวจและเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Ganoderma* spp. จากแหล่งระบาด

สํารวจและเก็บตัวอย่างดอกเห็ดของเชื้อรา *Ganoderma* spp. จากพื้นที่ระบาดของโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน 7 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกระบี่ ตรัง นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี ชุมพร ปทุมธานี และพังงา

### 2. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุ

บันทึกลักษณะดอกเห็ดของเชื้อรา *Ganoderma* spp. ที่ได้จากการสํารวจ ได้แก่ ขนาด สี ก้านดอก ความแข็ง และรูปร่าง และจัดกลุ่มลักษณะดอกเห็ด จากนั้นแยกเชื้อรา *Ganoderma* spp. จากดอกเห็ดด้วยวิธี tissue transplanting โดยเลือกดอกเห็ดที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม ล้างดอกเห็ดด้วยน้ำสะอาด นำไปแช่คลอโรกซ์ 10% เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นจุ่มดอกเห็ดลงในแอลกอฮอล์ 95% นำไปผ่านเปลวไฟและตัดผิวนอกของดอกเห็ดออกด้วยใบมีดผ่าตัด จากนั้นตัดชิ้นส่วนดอกเห็ดให้มีขนาด 5 x 5 มิลลิเมตร และวางบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องให้แสงสลบมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 วัน

### 3. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS (internal transcribed spacer) ribosomal DNA

สกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) นำเส้นใยแห้ง 0.5 กรัม มาบดด้วยไนโตรเจนเหลวโดยบดในโกร่งบดที่นิ่งฆ่าเชื้อและแช่ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นเติม extraction buffer 500 ไมโครลิตร (200 mM Tris HCL, pH8.0; 250 mM EDTA และ 0.5% SDS) ลงในเส้นใยที่บดแล้ว 0.5 ไมโครกรัม บ่มที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วสกัดแยกดีเอ็นเอโดยใช้ phenol และ chloroform: isoamyl alcohol (24:1) สกัดโปรตีนออกโดยการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

ดูดส่วนใสด้านบนย้ายใส่หลอดใหม่ แล้วเติม chloroform:IAA 1 vol. ผสมให้เข้ากันหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เติม Ethanol 2 vol. แล้วเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา ประมาณ 30-40 นาที แล้วนำมาหมุนเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% ethanol 50-100 ไมโครลิตร และหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ซ้ำ 2 ครั้ง และละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นหนึ่งขวดเชื้อ 30 ไมโครลิตร เก็บดีเอ็นเอไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอด้วย 0.8% agarose gel electrophoresis ใช้ 100 base pair plus เป็นแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (standard marker) เป็นแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (standard marker) และเติม gel star 0.1% ในดีเอ็นเอ ตรวจสอบใน 0.5% TBE buffer (89 mM Tris-borate, 2 mM EDTA) โดยใช้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที ดัดแปลงวิธีมาจาก Zimand et al. (1994)

การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วย PCR ของเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นเน่าปาล์มน้ำมันที่ได้จากการสำรวจบริเวณ ITS ของ rDNA ด้วยไพรเมอร์ 2 ชนิดคือ ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990) และ V9G (5'-TTACGTCCCTGCCCTTTGTA-3') (De Hoog *et al.*, 1998) นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราที่ได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล GenBank จัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (multiple alignment) ด้วยวิธี Clustal W (Larkin *et al.*, 2007) โดยโปรแกรมชุดคอมพิวเตอร์ MEGA11 สร้าง Phylogenetic tree เลือกวิธี unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) และทำการวิเคราะห์หาค่า bootstrap โดยโปรแกรมเดียวกัน จำนวน 1,000 ซ้ำ

ระยะเวลาดำเนินการ ตุลาคม 2565 - กันยายน 2567

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### 1. สำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Ganoderma* spp. จากแหล่งระบาด

จากการสำรวจโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน พบลักษณะอาการทางใบพับลู่ลงคล้ายอาการ ขาดน้ำ ยอดไม้คด และเกิดดอกเห็ดบริเวณรอบโคนต้นปาล์มน้ำมัน ส่งผลให้ผลผลิตลดลง (Figure 1) ต้นที่มีอาการรุนแรงมักเกิดการโค่นล้ม เนื่องจากลำต้นของปาล์มน้ำมันโดนทำลายจากเส้นใยของเชื้อรา ทำให้เกิดการผุ เปื่อย (Figure 2)



**Figure 1** Lower leaves collapsing and hanging downwards vertically from the point of attachment to the trunk, unopened spear leaves, and fruiting body on the basal stem of the oil palm tree are symptoms of BSR disease.



**Figure 2** The stem of an oil palm tree was attacked by mycelia of *Ganoderma* spp.

เมื่อเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Ganoderma* spp. ในพื้นที่ระบด 7 จังหวัด สามารถเก็บรวบรวมตัวอย่างได้ 55 ไอโซเลต ได้แก่ จังหวัดกระบี่ 22 ไอโซเลต คือ KBI01 KBI02 KBI03 KBI04 KBI05 KBI06 KBI07 KBI08 KBI09 KBI10 KBI11 KBI12 KBI13 KBI14 KBI15 KBI16 KBI17 KBI18 KBI19 KBI20 KBI21 และ KBI22 จังหวัดตรัง 4 ไอโซเลต คือ TRG01 TRG02 TRG03 และ TRG04 จังหวัดนครศรีธรรมราช 7 ไอโซเลต คือ NRT01 NRT02 NRT03 NRT04 NRT05 NRT06 และ NRT07 จังหวัด สุราษฎร์ธานี 14 ไอโซเลต คือ SNI01 SNI02 SNI03 SNI04 SNI05 SNI06 SNI07 SNI08 SNI09 SNI10 SNI11 SNI12 SNI13 และ SNI14 จังหวัดชุมพร 2 ไอโซเลต คือ CPN01 และ CPN02 จังหวัดพังงา 1 ไอโซเลต คือ PNA01 และจังหวัดปทุมธานี 1 ไอโซเลต คือ PTI01 (Table 1) โดยสามารถพบการเกิดเชื้อรา *Ganoderma* spp. ได้ทั้งในปาล์มน้ำมันรอบที่ 1 อายุในช่วง 10-30 ปี แปลงปาล์มน้ำมันที่เคยเป็นแปลงมะพร้าว เช่น NRT06 ตำบลเกาะทวด อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช และแปลงส้มแก้ว ได้แก่ PTI01 ตำบลบึงชำอ้อ อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี จากการสำรวจยังพบว่าแปลงปาล์มน้ำมันที่ปล่อยต้นรอบที่ 1 ยืนต้นตายภายในแปลงเป็นแหล่งสะสมเชื้อ (source inoculum) สอดคล้องกับ Turner (1981) ซึ่งพบว่าการระบาดของเชื้อรา *Ganoderma* spp. สาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์ม น้ำมันสามารถติดต่อได้จากการสัมผัสของราระหว่างต้นที่เป็นโรคและต้นปกติ อีกทั้งยังสามารถแพร่กระจายโดยเชื้อที่ติดไปกับเศษซากที่อยู่ภายในแปลง ส่งผลให้มีการระบาดเพิ่มขึ้น โดยส่วนใหญ่พบเชื้อรา *Ganoderma* spp. เข้าทำลายอยู่ ซึ่งอาจระบาดไปสู่ต้นปาล์มน้ำมันในรอบที่ 2 ได้ ซึ่งอัตราการเข้าทำลายปาล์มน้ำมันรอบที่ 2 มีอัตราเพิ่มมากขึ้นเมื่อปลูกในแปลงที่มีต่อเก่าเป็นแหล่งสะสมเชื้อ (Hasan & Turner, 1998; Flood *et al.*, 2000; Viridiana *et al.*, 2012) (Figure 3) และจากการสังเกตลักษณะการเกิดดอกเห็ดของเชื้อรา *Ganoderma* spp. พบว่าดอกเห็ดสามารถเจริญเติบโตและสร้างดอกใหม่ต่อดอกเดิมที่แห้งแล้วได้ (Figure 4) และเมื่อดอกเห็ดเจริญเต็มที่ที่มีการปล่อยสปอร์ผ่าน spore pore ซึ่งอยู่ด้านใต้ของดอกเห็ด สามารถสังเกตจากผงสปอร์สีน้ำตาลบริเวณโคนต้นและพื้นที่ใกล้เคียงได้ ซึ่งสปอร์เหล่านี้เป็นส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุสามารถกระจายไปกับลม น้ำ และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ได้ ทำให้เกิดการระบาดในวงกว้างได้เป็นอย่างดี (Figure 5)



Figure 3 Oil palm stumps as a source for accumulated *Ganoderma* spp.



Figure 4 Diversity of *Ganoderma* spp. Caused basal stem rot disease of oil palm.



Figure 5 Spore and spore pore of *Ganoderma* spp.

## 2. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุ

เมื่อจัดกลุ่มลักษณะดอกเห็ดของเชื้อรา *Ganoderma* spp. ด้วยรูปร่างพบว่าเชื้อรา *Ganoderma* spp. มีความหลากหลายทางลักษณะสัณฐานวิทยา โดยสามารถแบ่งออกเป็น 4 ลักษณะ คือ รูปร่างใบพัดมีก้านดอก 15 ไอโซเลต ได้แก่ KBI01 KBI03 KBI16 KBI18 KBI19 KBI20 NRT01 SNI01 SNI03 SNI10 SNI13 SNI14 CPN03 CPN04 และ PTE01 (Figure 6) รูปร่างใบพัดไม่มีก้านดอก 25 ไอโซเลต ได้แก่ KBI02 KBI04 KBI05 KBI06 KBI08 KBI09 KBI10 KBI11 KBI13 KBI22 TRG02 TRG03 TRG04 NRT02 NRT04 NRT06 NRT07 SNI05 SNI11 SNI12 CPN01 CPN02 CPN05 CPN06 และ PNA01 (Figure 7) ก้อนกลมมีก้านดอก 5 ไอโซเลต ได้แก่ NRT03 SNI02 SNI04 SNI08 และ SNI09 (Figure 8) และก้อนกลมไม่มีก้านดอก 10 ไอโซเลต ได้แก่ KBI07 KBI12 KBI14 KBI15 KBI17 KBI21 TRG01 NRT05 SNI06 และ SNI07 (Figure 9) โดยพบสีของดอกเห็ดตั้งแต่สีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม พบทั้งมีและไม่มีขอบสีขาวขึ้นอยู่กับความอ่อนแก่ของดอก (Table 2)



Figure 6 Group 1 fan shape with stipitate.

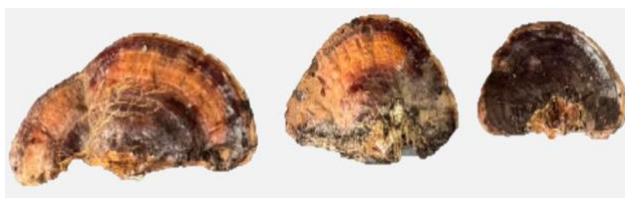


Figure 7 Group 2 fan shape with astipitate.



Figure 8 Group 3 nodule shape with stipitate.

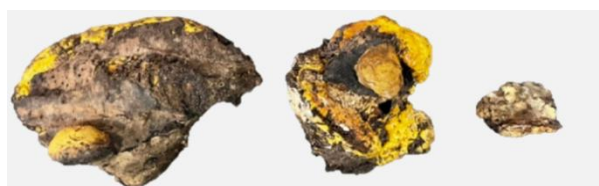


Figure 9 Group 4 nodule shape with astipitate.

Table 1 Isolate number of *Ganoderma* spp. and sampling locations.

Isolate	Location			
	District	Province	Latitude	Longitude
KBI01	Plai Phraya	Krabi	8.473112	98.802996
KBI02	Ao Luek	Krabi	8.484172	98.753613
KBI03	Ao Luek	Krabi	8.506167	98.710337
KBI04	Mueang	Krabi	8.202931	98.818807
KBI05	Khlong Thom	Krabi	8.025296	99.105411
KBI06	Ao Luek	Krabi	8.405835	98.740492
KBI07	Ao Luek	Krabi	8.405835	98.740492
KBI08	Ao Luek	Krabi	8.405835	98.740492

**Table 1** Isolate number of *Ganoderma* spp. and sampling locations. (Cont.)

Isolate	Location			
	District	Province	Latitude	Longitude
KBI09	Ao Luek	Krabi	8.405835	98.740492
KBI10	Ao Luek	Krabi	8.405835	98.740492
KBI11	Khao Phanom	Krabi	8.259917	99.036213
KBI12	Khao Phanom	Krabi	8.264208	99.066617
KBI13	Khao Phanom	Krabi	8.258294	99.073570
KBI14	Khao Phanom	Krabi	8.168755	99.024472
KBI15	Khlong Thom	Krabi	7.852481	99.139097
KBI16	Ko Lanta	Krabi	7.827602	99.095010
KBI17	Ko Lanta	Krabi	7.825644	99.093962
KBI18	Khlong Thom	Krabi	7.846162	99.134411
KBI19	Khlong Thom	Krabi	7.980521	99.137143
KBI20	Khlong Thom	Krabi	8.025519	99.105356
KBI21	Khlong Thom	Krabi	8.025529	99.105356
KBI22	Khlong Thom	Krabi	8.082371	99.142382
TRG01	Sikao	Trang	7.675463	99.316555
TRG02	Sikao	Trang	7.761930	99.323036
TRG03	Wang Wiset	Trang	7.781669	99.370017
TRG04	Wang Wiset	Trang	7.780596	99.371408
NRT01	Khanom	Nakhon Si Thammarat	9.167132	99.845362
NRT02	Hua Sai	Nakhon Si Thammarat	8.004494	100.211989
NRT03	Ron Phibun	Nakhon Si Thammarat	8.151689	99.827477
NRT04	Bang Khan	Nakhon Si Thammarat	8.109146	99.450038
NRT05	Thung Song	Nakhon Si Thammarat	8.208292	99.533297
NRT06	Pak Phanang	Nakhon Si Thammarat	8.265404	100.091350
NRT07	Pak Phanang	Nakhon Si Thammarat	8.342674	100.087300
SNI01	Mueang	Surat Thani	9.145296	99.265000
SNI02	Donsak	Surat Thani	9.242676	99.626739
SNI03	Phraseang	Surat Thani	8.550331	99.052898
SNI04	Phraseang	Surat Thani	8.550331	99.052898

**Table 1** Isolate number of *Ganoderma* spp. and sampling locations. (Cont.)

Isolate	Location			
	District	Province	Latitude	Longitude
SNI05	Phraseang	Surat Thani	8.550331	99.052898
SNI06	Phraseang	Surat Thani	8.547007	99.057453
SNI07	Phraseang	Surat Thani	8.556886	99.115458
SNI08	Phraseang	Surat Thani	8.561099	99.112866
SNI09	Chaiya	Surat Thani	9.412561	99.197636
SNI10	Chaiya	Surat Thani	9.386932	99.234489
SNI11	Donsak	Surat Thani	9.237413	99.655418
SNI12	Mueang	Surat Thani	9.141936	99.655418
SNI13	Mueang	Surat Thani	9.098502	99.331306
SNI14	Kanchanadit	Surat Thani	9.143243	99.661145
CPN01	Lamae	Chumphon	9.791500	99.068166
CPN02	Tha Sae	Chumphon	10.713970	99.135065
CPN03	Mueang	Chumphon	10.524452	99.026549
CPN04	Lang Suan	Chumphon	9.987611	99.092460
CPN05	Sawi	Chumphon	10.185051	99.96046
CPN06	Tha Sae	Chumphon	10.671593	99.181225
PTE01	Nong Suea	Pathum Thani	14.181694	100.797420
PNA01	Khuraburi	Phangnga	9.087185	98.442235

**Table 2** Morphological characteristics of each isolate of *Ganoderma* spp.

Isolate	Morphological characteristics				
	Pileus Shape	Marginal zone	Soft/Hard	Stipitate /Astipitate	Color
KBI01	Fan	Presence/Absence	Hard	Stipitate	Orange Brown
KBI02	Fan	Presence/Absence	Hard	Astipitate	Light Brown
KBI03	Fan	Presence/Absence	Hard	Astipitate	Orange Brown
KBI04	Fan	Presence/Absence	Hard	Astipitate	Dark Brown
KBI05	Fan	Presence/Absence	Hard	Astipitate	Dark Brown
KBI06	Fan	Presence/Absence	Hard	Astipitate	Light Brown

**Table 2** Morphological characteristics of each isolate of *Ganoderma* spp. (Cont.)

Isolate	Morphological characteristics				
	Pileus Shape	Marginal zone	Soft/Hard	Stipitate /Astipitate	Color
KBI07	Nodule	Absence	Hard	Astipitate	Dark Brown
KBI08	Fan	Absence	Soft	Astipitate	Dark Brown
KBI09	Fan	Absence	Hard	Astipitate	Dark Brown
KBI10	Fan	Presence/Absence	Soft	Astipitate	Dark Brown
KBI11	Fan	Absence	Soft	Astipitate	Dark Brown
KBI12	Nodule	Absence	Hard	Astipitate	Orange Brown
KBI13	Fan	Presence/Absence	Soft	Astipitate	Orange Brown
KBI14	Nodule	Absence	Hard	Astipitate	Dark Brown
KBI15	Nodule	Presence/Absence	Hard	Astipitate	Light Brown
KBI16	Fan	Presence/Absence	Soft	Stipitate	Dark Brown
KBI17	Nodule	Presence/Absence	Soft	Astipitate	Dark Brown
KBI18	Fan	Presence	Hard	Stipitate	Dark Brown
KBI19	Fan	Presence/Absence	Hard	Stipitate	น้ำตาลอ่อน
KBI20	Fan	Presence/Absence	Soft	Stipitate	Dark Brown
KBI21	Nodule	Absence	Soft	Astipitate	Dark Brown
KBI22	Fan	Presence	Hard	Astipitate	Dark Brown
TRG01	Nodule	Presence/Absence	Soft	Astipitate	Dark Brown
TRG02	Fan	Presence/Absence	Hard	Astipitate	Dark Brown
TRG03	Fan	Presence	Hard	Astipitate	Dark Brown
TRG04	Fan	Presence	Hard	Astipitate	Dark Brown
NRT01	Fan	Presence/Absence	Hard	Stipitate	Dark Brown
NRT02	Fan	Presence/Absence	Hard	Astipitate	Light Brown
NRT03	Nodule	Presence/Absence	Soft	Stipitate	Orange Brown
NRT04	Fan	Presence/Absence	Hard	Astipitate	Dark Brown
NRT05	Nodule	Presence	Soft	Astipitate	Light Brown
NRT06	Fan	Absence	Hard	Astipitate	Dark Brown
NRT07	Fan	Presence	Hard	Astipitate	Dark Brown
SNI01	Fan	Presence/Absence	Hard	Stipitate	Dark Brown

Table 2 Morphological characteristics of each isolate of *Ganoderma* spp. (Cont.)

Isolate	Morphological characteristics				
	Pileus Shape	Marginal zone	Soft/Hard	Stipitate /Astipitate	Color
SNI02	Nodule	Presence/Absence	Hard	Stipitate	Dark Brown
SNI03	Fan	Presence	Hard	Stipitate	Dark Brown
SNI04	Nodule	Presence	Hard	Stipitate	Dark Brown
SNI05	Fan	Absence	Hard	Astipitate	Dark Brown
SNI06	Nodule	Presence	Soft	Astipitate	Dark Brown
SNI07	Nodule	Presence/Absence	Hard	Astipitate	Orange Brown
SNI08	Nodule	Presence/Absence	Hard	Stipitate	Dark Brown
SNI09	Nodule	Absence	Hard	Stipitate	Dark Brown
SNI10	Fan	Presence	Hard	Stipitate	Orange Brown
SNI11	Fan	Presence	Hard	Astipitate	Dark Brown
SNI12	Fan	Presence	Hard	Astipitate	Dark Brown
SNI13	Fan	Presence	Hard	Stipitate	Dark Brown
SNI14	Fan	Presence	Hard	Stipitate	Dark Brown
CPN01	Fan	Presence/Absence	Hard	Astipitate	Dark Brown
CPN02	Fan	Presence	Hard	Astipitate	Dark Brown
CPN03	Fan	Presence	Hard	Stipitate	Dark Brown
CPN04	Fan	Presence	Hard	Stipitate	Dark Brown
CPN05	Fan	Presence	Hard	Astipitate	Dark Brown
CPN06	Fan	Presence	Hard	Astipitate	Dark Brown
PTE01	Fan	Presence/Absence	Soft	Stipitate	Dark Brown
PNA01	Fan	Presence	Hard	Astipitate	Orange Brown

เมื่อแยกเชื้อรา *Ganoderma* spp. บนอาหาร PDA พบลักษณะโคโลนีสีขาวขุ่น ด้านหลังโคโลนีพบการเจริญของเส้นใยฝังลงในอาหาร PDA จนทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเกิดรอยแตกได้อย่างชัดเจน โดยโคโลนีมีอัตราการเจริญเติบโตบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ขนาด 9 ซม. เฉลี่ย 10 วัน สอดคล้องกับ Bharudin et al. (2022) ศึกษาความหลากหลายโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Ganoderma boninense* สาเหตุโรค ลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน พบว่าจากการแยกเชื้อราและเลี้ยงบน

อาหาร PDA ที่ 7 วัน เชื้อรา *G. boninense* เกิดโคโลนีมีเส้นใยสีขาวจนถึงน้ำตาลลักษณะฝงลึกกลงในอาหาร PDA (Figure 10)

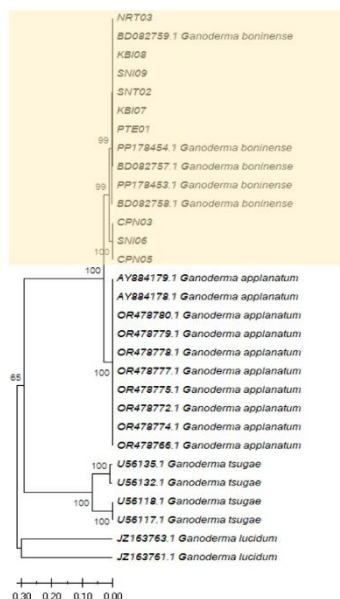


Figure 10 Mycelia of *Ganoderma* spp. grown on PDA.

### 3. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS (internal transcribed spacer) ribosomal DNA

การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS rDNA ของเชื้อรา *Ganoderma* spp. จำนวน 9 ไอโซเลต โดยเลือกจากข้อมูลฐานวิทยาศาสตร์ การเจริญเติบโตบนอาหาร PDA และเป็นตัวแทนจาก 4 ลักษณะ ได้แก่ KBI07 KBI08 NRT03 SNI02 SNI06 SNI09 CPN03 CPN05 และPTE1 และวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าเชื้อรา *Ganoderma* spp. สาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่ศึกษาในครั้งนี้จัดกลุ่ม อยู่ร่วมกับเชื้อรา *G. boninense* จากฐานข้อมูล GenBank โดยมีค่าความน่าเชื่อถือในการจัดกลุ่มที่ 99 % (Figure 11) และจัดกลุ่มแยกกับเชื้อรา *G. lucidum* *G. tsugae* และ *G. applanatum* โดย *G. lucidum* มีการใช้ในการแพทย์แผนโบราณในการบำรุงสุขภาพ เชื้อรา *G. tsugae* มีการเจริญเติบโตบนไม้ในสกุล *Tsuga* และเชื้อรา *G. applanatum* ที่มีเจริญบนต้นไม้ที่ตายแล้วส่วนใหญ่พบในเขตป่า

การศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Chong *et al.* (2011) ที่มีการแยกเชื้อสาเหตุโรคลำต้นเน่าปาล์มน้ำมันจากแปลงปลูกปาล์มน้ำมันในรัฐซาบาร์ ประเทศมาเลเซีย และทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS rDNA ของเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้ โดยจากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นเน่าปาล์มน้ำมันจัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *G. boninense* จากฐานข้อมูล และสอดคล้องกับการศึกษาของ Utomo *et al.* (2005) ซึ่งมีการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นเน่าปาล์มน้ำมันในสกุล *Ganoderma* spp. โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS rDNA พบว่า เชื้อรา *G. boninense* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นเน่าปาล์มน้ำมัน การจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นเน่า โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ทำให้สามารถจัดจำแนกชนิดของเชื้อราได้อย่างถูกต้องและมีความแม่นยำยิ่งขึ้น



**Figure 11** Phylogenetic tree of *Ganoderma* spp. with *G. boninense* from GenBank data base with a grouping similarity of 99%.

### สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Ganoderma* spp. จากพื้นที่ระบาด 7 จังหวัด ได้แก่ กระบี่ (22 ไอโซเลต) ตรัง (4 ไอโซเลต) นครศรีธรรมราช (7 ไอโซเลต) สุราษฎร์ธานี (14 ไอโซเลต) ชุมพร (6 ไอโซเลต) ปทุมธานี (1 ไอโซเลต) และพังงา (1 ไอโซเลต) รวมทั้งสิ้น 55 ไอโซเลต โดยสามารถพบการเกิดเชื้อรา *Ganoderma* spp. ได้ทั้งในปาล์มน้ำมันรอบที่ 1 อายุในช่วง 10-30 ปี แปลงปาล์มน้ำมันที่เคยเป็นแปลงมะพร้าวและแปลงส้ม จากการสำรวจยังพบว่าแปลงปาล์มน้ำมันที่ปล่อยต้นรอบที่ 1 ยืนต้นตายภายในแปลงเป็นแหล่งสะสมเชื้อ (source inoculum) โดยส่วนใหญ่พบเชื้อรา *Ganoderma* spp. เข้าทำลายอยู่ ซึ่งอาจระบาดไปสู่ต้นปาล์มน้ำมันในรอบที่ 2 ได้ เมื่อจำแนกลักษณะดอกเห็ดของเชื้อรา *Ganoderma* spp. สามารถแบ่งออกเป็น 4 ลักษณะ คือ รูปร่างใบพัดมีก้านดอก (15 ไอโซเลต) รูปร่างใบพัดไม่มีก้านดอก (25 ไอโซเลต) รูปร่างก้อนกลมมีก้านดอก (5 ไอโซเลต) และรูปร่างก้อนกลมไม่มีก้านดอก (10 ไอโซเลต) สีนํ้าตาลอ่อนถึงนํ้าตาลเข้ม พบทั้งมีและไม่มีขอบสีขาว เมื่อแยกเชื้อรา *Ganoderma* spp. บนอาหาร PDA พบลักษณะโคโลนีสีขาวขุ่น ด้านหลังโคโลนีพบการเจริญของเส้นใยฝังลงในอาหาร PDA จนทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเกิดรอยแตกได้อย่างชัดเจน โดยโคโลนีมีอัตราการเจริญเติบโตบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ขนาด 9 ซม. เฉลี่ย 10 วัน และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูล พบว่าเชื้อรา *Ganoderma* spp. สาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่ศึกษาในครั้งนี้จัดกลุ่ม อยู่ร่วมกับเชื้อรา *G. boninense* จากฐานข้อมูล GenBank โดยมีค่าความน่าเชื่อถือในการจัดกลุ่ม ที่ 99 %

### การนำไปใช้ประโยชน์

นักวิจัยทราบถึงข้อมูลการระบาด ปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรค และลักษณะความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Ganoderma* spp. สาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน สามารถแนะนำเกษตรกรเพื่อ

เป็นข้อสังเกตในการสำรวจการระบาดของโรค เนื่องจากในปัจจุบันนี้เกษตรกรไม่สามารถจำแนกลักษณะระหว่างดอกเห็ดทั่วไปและดอกเห็ดที่เป็นสาเหตุโรคได้ จึงทำให้การจัดการโรคเบื้องต้นเป็นไปอย่างล่าช้าและเกิดการระบาดได้มากยิ่งขึ้น การจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุเพื่อเป็นข้อมูลให้นักปรับปรุงพันธุ์ใช้ในการทดสอบพันธุ์ด้านทานนั้น ปัจจุบันประเทศไทยมีรายงานเชื้อสาเหตุโรคเพียงสปีชีส์เดียว แต่ในสปีชีส์เดียวกันนั้นในอนาคตสามารถศึกษาให้ละเอียดลงไปถึงระดับสายพันธุ์ ที่มีความรุนแรงต่างกันเพื่อนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ด้านทานได้ โดยทดสอบปลูกเชื้อที่สายพันธุ์ต่างกันและบันทึกระดับความต้านทานในการคัดเลือกคู่ผสมพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่มีลักษณะทนทานหรือด้านทานต่อไป ซึ่งข้อมูลเหล่านี้มีความสำคัญอย่างยิ่งเนื่องจากการจัดการโรคลำต้นเน่าปาล์มน้ำมันในปัจจุบันนี้ยังไม่มีวิธีการใดที่จัดการได้อย่างมีประสิทธิภาพ หากมีพันธุ์ด้านทานสามารถลดปัญหาโรคนี้อย่างยั่งยืน การทดลองนี้จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถวิจัยและพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์ด้านทานโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันได้ และเป็นข้อมูลให้เจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันกระบี่ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน หน่วยงานในสังกัดกรมวิชาการเกษตร และเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร ในเขตพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมัน สามารถให้คำแนะนำเบื้องต้นในการสังเกตลักษณะอาการ การควบคุมการระบาด และการจัดการโรคให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกปาล์มน้ำมันได้

### คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานีและศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันกระบี่ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงานทุกท่านที่ให้การสนับสนุนและช่วยเหลือตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการทดลองนี้จนสำเร็จด้วยดี

### เอกสารอ้างอิง

- พรพิมล อธิปัญญาคม ชนินทร ดวงสะอาด และ สุณิรัตน์ สีมะเต็อ. 2556. การควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันโดยชีววิธี หน้า 97-114. ใน : *รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556. เล่ม 1*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2536. โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันในประเทศไทย หน้า 205-209 ใน : *การอบรมสัมมนาเชิงปฏิบัติการการพัฒนาเพื่อเพิ่มเทคโนโลยีการวิจัยและการผลิตมะพร้าว โกโก้ปาล์มน้ำมัน ประจำปี 2536*. ณ โรงแรมแมนฮัตตันพาลาเลซ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา.
- Bharudin, I., Ab. AFF Wahab., Abd. MA. Samad., Yie. N. Xin. Zairun., MA., Abu. Bakar., FD. Abdul. and AM. Murad. Review Update on the Life Cycle, Plant-Microbe Interaction, Genomics, Detection and Control Strategies of the Oil Palm Pathogen *Ganoderma boninense*. *Biology (Basel)*. 2022 Feb 6;11(2):251. doi: 10.3390/biology11020251. PMID: 35205119; PMCID: PMC8869222.
- Chong, K. P., M. S. Lum., C. P. Foong., C. M. V. L. Wong., M. Atong and S. Rossall. 2011. First

- identification of *Ganoderma boninense* isolated from Sabah based on PCR and sequence homology. *African Journal of Biotechnology*, 10(66), 14718-14723.
- De Hoog, G., S. Bowman., B. Graser., Y. Haase., G. M. El Fari, B. Melzer-Krick & W. A. Untereiner. 1998. Molecular phylogeny and taxonomy of medically important fungi. *Medical Mycology*. 36: 52-56.
- Flood, J., Y. Hasan., PD. Turner And O. EB. Grady. 2000. The spread of *Ganoderma* from infective sources in the field and its implications for management of the disease in oil palm. In: Flood J, Bridge PD, Holderness M, eds. *Ganoderma Diseases of Perennial Crops*. Wallingford, UK: CABI Publishing, 101–12.
- Hasan, Y., and PD. Turner. 1998. The comparative importance of different basal tissue as infection sources for basal stem rot in replanting. *ThePlanter*74, 119–35
- Ian, A.H. 2017. The mycology of the Basidiomycetes. Heart rot and root rot in tropical Acacia plantations. Proceedings of a workshop held in Yogyakarta, Indonesia, 7–9 February 2006. Canberra, ACIAR Proceedings No. 124.
- Larkin, M.A., G. Blackshields., N.P. Brown., R. Chenna., P.A. Mc. Gettigan., H. McWilliam., F. Valentin, I.M. Wallace., A. Wilm., R. Lopez., J.D Thompson., T.J. Gibson and D.G. Higgins. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0 *Bioinformatics*. 23(21): 29447-2948.
- Tamura K., G. Stecher and S. Kumar. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular biology and evolution*. 38(7): 3022-3027.
- Turner PD. 1981. *Oil Palm Diseases and Disorders*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Utomo, C., S. Werner, F. Niepold and H. B. Deising. 2005. Identification of *Ganoderma*, the causal agent of basal stem rot disease in oil palm using a molecular method. *Mycopathologia*, 159-170.
- Virdiana, I., J. Flood., B. Sitepu., Y. Hasan, R. Aditya and S. Nelson. 2012. Integrated disease management to reduce future *Ganoderma* infection during oil palm replanting. *The Planter*88, 383–95. *Plant Pathology* (2018)67, 1841–1849
- Basidiospores as sources of inoculum 1849.
- Zimand, G., L. Valinsky., Y. Elad., I. Chet. and Manulis, S. 1994. Use of the RAPD procedure for the identification of *Trichoderma* strains. *Mycological Research* 98(5): 531-534.