

ลักษณะเนื้อเยื่อใบข้าวฟ่างที่ถูกทำลายโดยเชื้อ *Phyllachora sorghi*

วิไลวรรณ เขาวนโยธิน และ เตือนใจ บุญ-หลง¹

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อใบข้าวฟ่างที่ถูกทำลายโดยเชื้อ *Phyllachora sorghi* โดยการนำใบข้าวฟ่างที่เป็นแผลจุดสีดำขนาดต่าง ๆ มาตัดตามขวาง ทำเป็นสไลด์ถาวร ย้อมด้วยสี safranin และ fast green ศึกษารายละเอียดจากสไลด์ถาวรเหล่านี้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้พบลักษณะการทำลายใบข้าวฟ่างของเชื้อนี้ อย่างละเอียด ตั้งแต่สปอร์เริ่มงอกแล้วเข้าไปทำลายข้าวฟ่างทางปากใบ (stomata) ทั้งด้านบนและด้านล่าง (abasal and adaxial) ทำลายเนื้อเยื่อส่วนที่เป็น mesophyll ของใบ แต่ไม่ทำลายกลุ่มเซลล์ท่อน้ำท่ออาหาร (vascular bundle) เชื้อนี้เจริญเติบโตมีระยะ perfect stage ใบใบข้าวฟ่าง สร้าง ascocarp, ascus และ ascospore ได้ชั้นของเซลล์ผิวใบ (epidermis) ascus ประกอบด้วย 8 ascospores เมื่อแก่จะออกจากแผลทางรูเปิดซึ่งตรงกับปากใบ

ข้าวฟ่างในธรรมชาติมักจะมีโรคทาร์สปอตซึ่งเกิดจากเชื้อ *Phyllachora sorghi* เข้าทำลายเป็นจำนวนมาก ทำให้ความเสียหายให้แก่ผลผลิตของข้าวฟ่าง โดยทำให้เกิดเป็นแผลจุดสีดำทั่วไป แผลนี้มีลักษณะแข็งนูน สีดำ เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคนี้ขึ้นได้ทั้งใต้ใบและบนใบ ถ้าเป็นมาก ๆ จะปกคลุมผิวใบ ทำลายส่วนที่สังเคราะห์แสงและปรุงอาหาร ทำให้ผลผลิตของข้าวฟ่างลดลง วิทยาการและข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อนี้ในประเทศเรามีน้อยมาก การปลูกเชื้อทำได้ยากมาก ดังนั้น การใช้วิธีทางไมโครเทคนิคในการวิจัยจะช่วยให้ทราบลักษณะการทำลายเป็นแนวทางในการหาทางป้องกันและกำจัดเชื้อนี้ได้ในอนาคตต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บตัวอย่างใบข้าวฟ่างปกติและที่เป็นโรคทาร์สปอต มาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อให้แน่ใจว่าเป็นใบปกติ และใบเป็นโรค จากนั้นนำมาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ตามขนาดของแผล โดยมีขนาดใหญ่ กลางและเล็ก ตามลำดับ นำมาทำสไลด์ถาวรโดยวิธีฝังในซีซี้ง (Peter, 1975) ตัดตามขวางให้เป็นแผ่นบางประมาณ 12 ไมครอน และย้อมด้วย safranin และ fast green ศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อใบข้าวฟ่างปกติและที่ถูกทำลายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกผลการทดลองพร้อมทั้งถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ประกอบผลการศึกษา เริ่มทำการทดลองเดือน

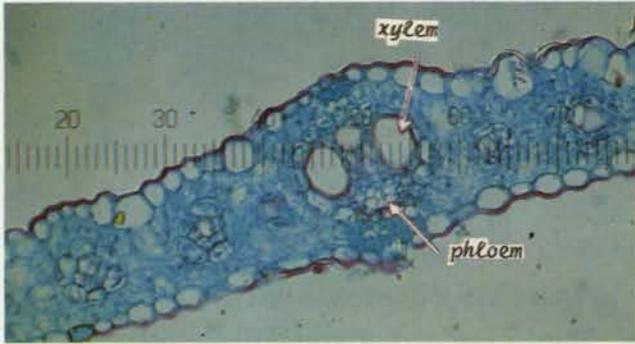
มีนาคม 2527 ถึงกันยายน 2528 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพฤกษศาสตร์

ผลการทดลองและวิจารณ์

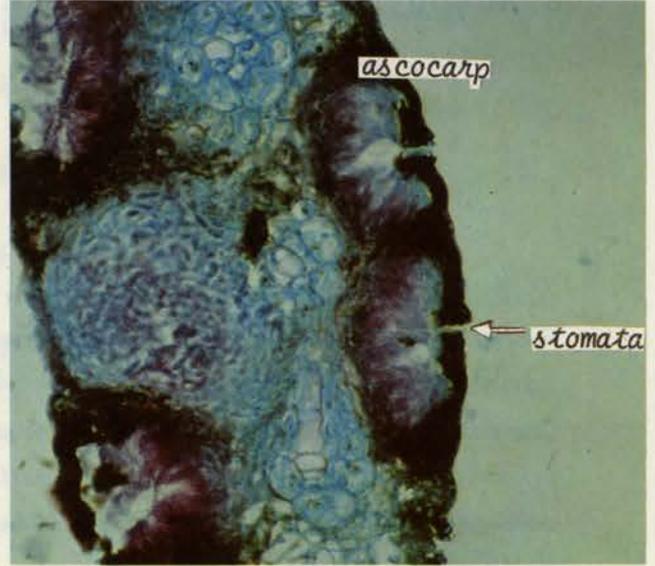
ใบข้าวฟ่างปกติทำการศึกษาลักษณะภายในจากสไลด์ถาวรมีลักษณะดังนี้ เซลล์ผิวด้านบนใบประกอบด้วยเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดไม่เท่ากัน ผนังเซลล์ด้านบนหนา มี guard cells และ bulliform cells คั่นอยู่เป็นระยะ ๆ ด้านล่างของใบจะแตกต่างจากด้านบนตรงที่ด้านล่างไม่มี bulliform cells ภายในใบประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมาเรียกว่า mesophyll มีกลุ่มเซลล์ท่อน้ำท่ออาหารแทรกอยู่ระหว่างกลางเป็นระยะ ๆ ไป กลุ่มเซลล์ท่อน้ำท่ออาหารกลุ่มใหญ่จะจัดเรียงสลับกับกลุ่มท่อน้ำท่ออาหารกลุ่มเล็ก ๆ หลายกลุ่มติดต่อกับกลุ่มเซลล์ท่อน้ำท่ออาหารแต่ละกลุ่มมี bundle sheath หุ้มอยู่ และกลุ่มเซลล์ท่อน้ำท่ออาหารกลุ่มใหญ่จะมี fiber cell อยู่ใต้ชั้นของเซลล์ผิวทั้งด้านบนและด้านล่าง (ภาพที่ 1)

จากการศึกษาใบข้าวฟ่างที่เป็นโรคทาร์สปอตในแผลขนาดต่าง ๆ พบลักษณะแผลและขั้นตอนการเข้าทำลายใบข้าวฟ่างของเชื้อ *Phyllachora sorghi* ดังนี้ สปอร์ของเชื้อนี้ปลิวมาตกลงบนใบข้าวฟ่าง เมื่อมีสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะงอก germ tube แทะเข้าทางปากใบ (ภาพที่ 2) จากนั้นเส้นใยจะเจริญแตกกิ่งก้านสาขามากขึ้นอยู่ตรงบริเวณเซลล์ผิวใบ (ภาพที่ 3) และเซลล์ที่ได้เซลล์ผิวคือส่วนที่เป็น mesophyll เส้นใยจะถูกสร้างเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ มีลักษณะคล้ายเกสรดอกชมพู (ภาพที่ 4) เนื้อเยื่อของใบจะถูกแทนที่ด้วยเส้นใยเต็มไปหมด

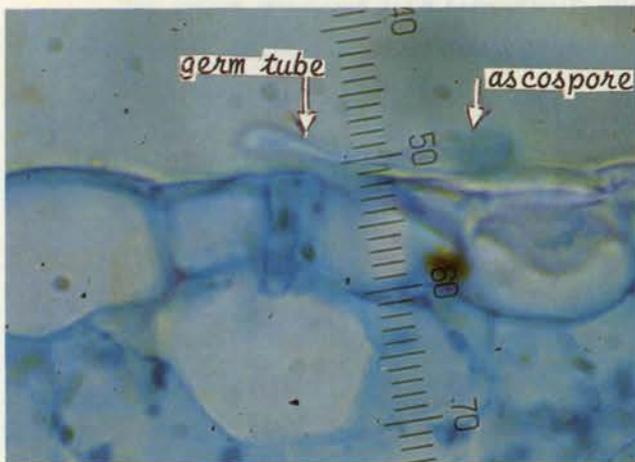
¹นักวิชาการเกษตร กลุ่มงานพฤกษศาสตร์ กองพฤกษศาสตร์และพืช และนักวิชาการโรคพืช กลุ่มงานวิจัยโรคพืชไร่ กองโรคพืชและจุลชีววิทยาตามลำดับ กรมวิชาการเกษตร บางเขน กรุงเทพฯ 10900



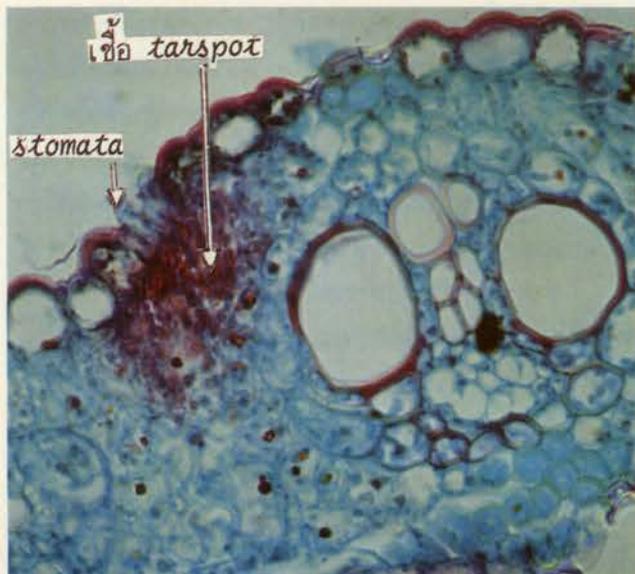
ภาพที่ 1 ลักษณะภายในของใบข้าวฟ่างซึ่งตัดตามขวาง แสดงให้เห็น เซลล์ปกติของใบ



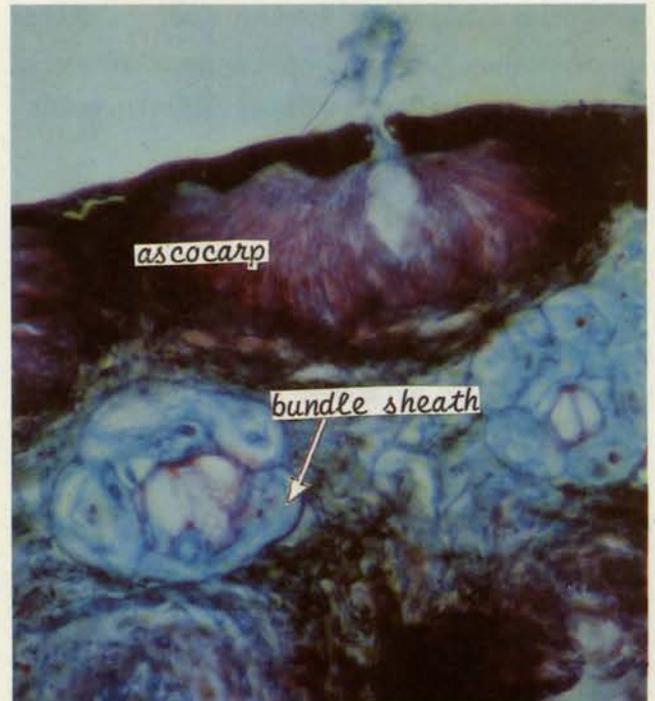
ภาพที่ 4 เชื้อโรคนจะดุกลามขยายตัวใหญ่ขึ้น สร้างเป็น ascocarp มี รูปร่างคล้ายเกสรดอกชมพูในเนื้อเยื่อของใบ



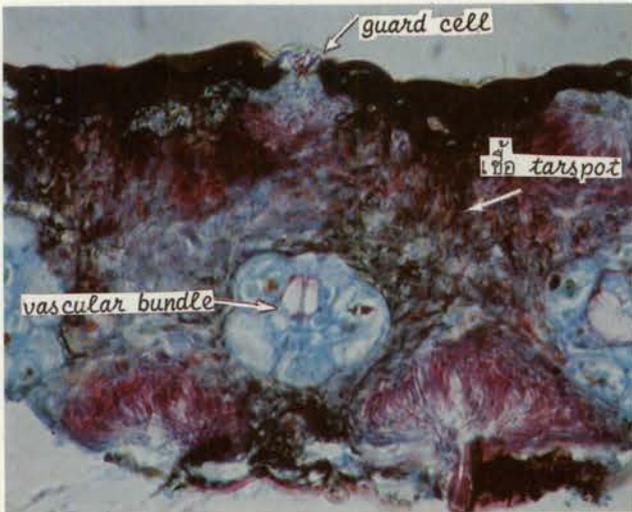
ภาพที่ 2 ascospore ของเชื้อโรคทาร์สปอตเมื่อตกลงบนผิวใบ จะออก germ tube แทนเข้าไปทางปากใบ



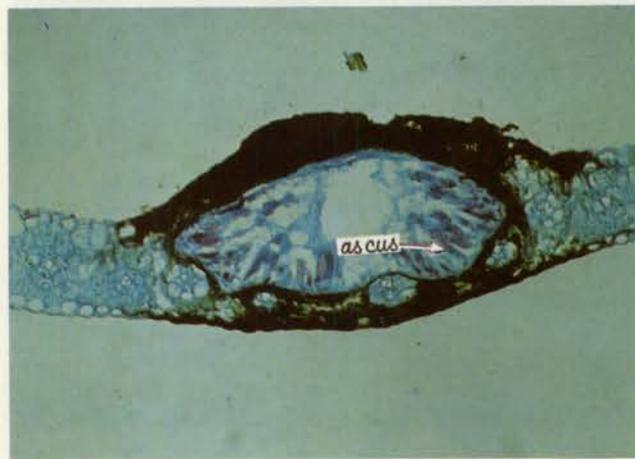
ภาพที่ 3 หลังจากเชื้อเข้าไปทางปากใบแล้ว จะเข้าไปเจริญอยู่ใน mesophyll (ส่วนที่ติดสีแดง)



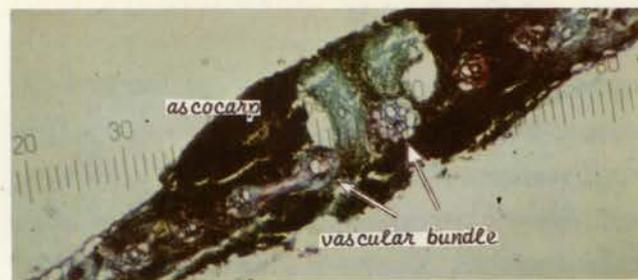
ภาพที่ 5 ลักษณะของ ascocarp ขยายใหญ่



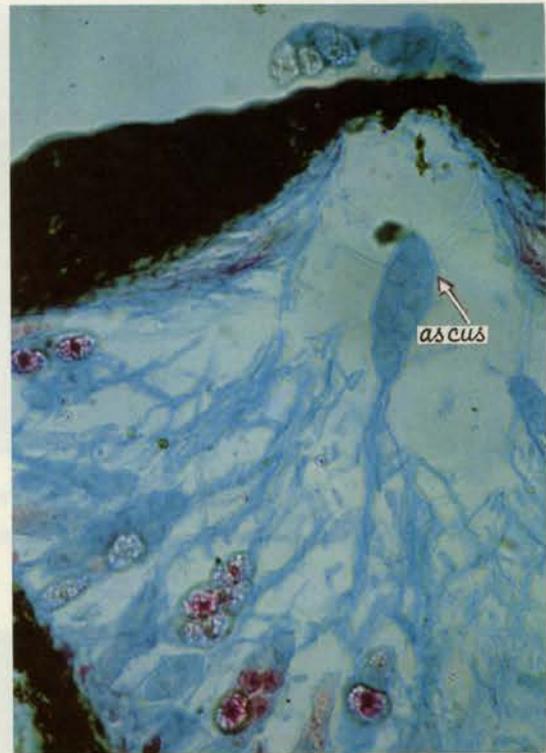
ภาพที่ 6 เชื้อโรคทาร์สปอตเข้าทำลายตลอดทั้งใบ แต่เชื้อนี้ไม่สามารถเข้าทำลายกลุ่มเซลล์ที่อ่อน้ำที่อาหาร (vascular bundle) ได้ เนื่องจากมี bundle sheath ที่มีผนังเซลล์หนา



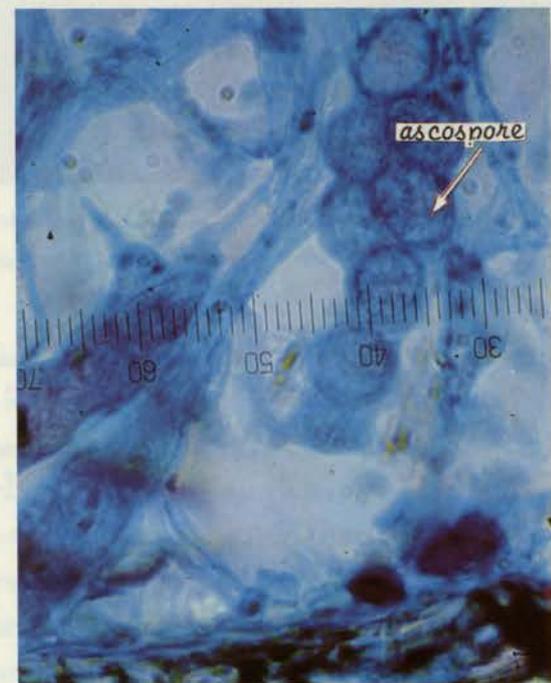
ภาพที่ 7 ระยะที่เชื้อเข้าทำลายในระยะรุนแรง ascocarp จะเจริญติดต่อกันจนทั่วเนื้อเยื่อของใบ แต่ยังคงเห็นกลุ่มเซลล์ที่อ่อน้ำที่อาหารได้ชัดเจนว่ายังไม่ถูกทำลาย



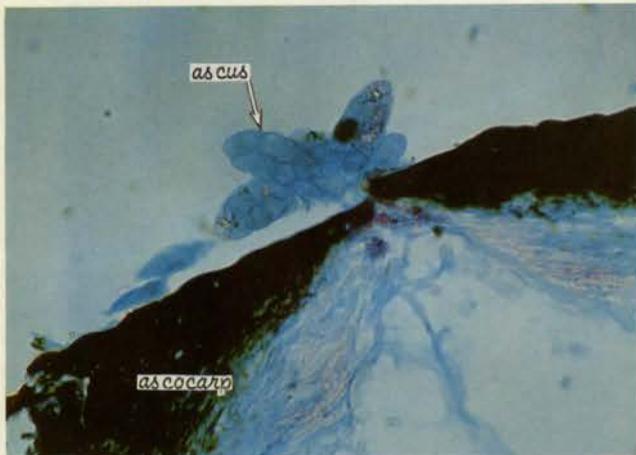
ภาพที่ 8 ลักษณะของ ascocarp ภายในมี ascus ซึ่งมี ascospore เรียงตัวเป็นสาย เมื่อ ascocarp ขยายใหญ่จะดันให้ผิวใบด้านบนและด้านล่างแยกจากกัน ทำให้เกิดเป็นแผลสีดำนูนขึ้นมาบนผิวใบทั้งสองด้าน



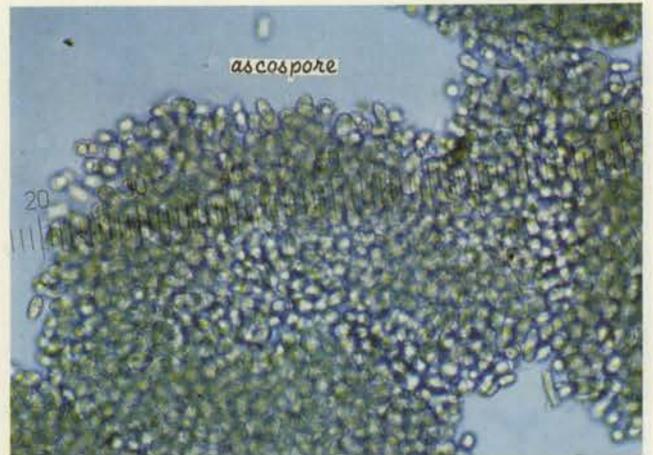
ภาพที่ 9 ลักษณะภายใน ascocarp จะเห็น ascus ซึ่งมีก้านยาว มี ascospore จำนวน 8 อัน



ภาพที่ 10 ภายใน ascus มีการเรียงตัวของ ascospore แถวบนสุดเป็นเซลล์เดี่ยว สองแถวถัดมาเป็นเซลล์คู่ และล่างสุดสามแถวเป็นเซลล์เดี่ยว



ภาพที่ 11 เมื่อ asci แก่ asci จะออกมาทางรูเปิดของปากใบ เมื่ออากาศแห้งจะแตกกระจายปล่อย ascospores จำนวนมากในหนึ่งผล



ภาพที่ 13 ลักษณะของสาย ascus เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 68 เท่า



ภาพที่ 12 ลักษณะของแผลบนต้นเมื่อดูภายนอกใบ มี asci ถูกดันออกมาเป็นสาย เมื่ออากาศแห้ง asci จะแตกปล่อย ascospores จำนวนมากออกมา



ภาพที่ 14 ลักษณะ ascospore ของเชื้อโรคทาร์สปอต เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง 132 เท่า ascospore เหล่านี้เมื่ออากาศแห้งจะปลิวไปตกลงบนใบข้างฟางอีก เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะงอก germ tube และแทงเข้าทางปากใบ ทำให้เกิดโรควนเวียนต่อไป

ยกเว้นบริเวณที่เป็นท่อน้ำท่ออาหารซึ่งมี bundle sheath หุ้มอยู่ เส้นใยจะไม่แทงเข้าไปในกลุ่มเซลล์ท่ออาหาร (ภาพที่ 5, 6 และ 7) เมื่อเส้นใยมีอายุมากขึ้นจะรวมกันอัดแน่นเป็น ascocarp ที่มีขนาดใหญ่ รูปร่างกลมและมีรูเปิด เรียก ascocarp นี้ว่า perithecium ภายในประกอบด้วย ascus จำนวนมาก (ภาพที่ 8) ascus มีรูปร่างกระบอกแบบมีก้าน (ภาพที่ 9) ผลจากการศึกษาทางไมโครเทคนิคสามารถพิสูจน์ได้ว่า ascus ของเชื้อราโรคทาร์สปอตของข้าวฟ่างต่างจากโรคทาร์สปอตของพืชตระกูลหญ้าชนิดอื่น ๆ จึงจำแนกอยู่คนละชนิด (species) (Taw, 1962) ภายใน ascus มี 8 ascospores (ภาพที่ 10) ascospore มีรูปร่างกลมยาวคล้ายรูปไข่ ไม่มีสี ไม่มีผนังกัน

(septate) (ภาพที่ 13 และ 14) มีขนาด 15×25 ไมครอน ภายใน ascocarp ยังประกอบด้วย paraphyses เชื้อมีการเจริญเติบโตจนครบวงจรแบบอาศัยเพศ (perfect stage) อยู่ในใบข้าวฟ่างโดยอาศัยอาหารจาก chloroplast ในใบ เป็นผลทำให้ใบที่ถูกเชื้อมีสีซีดขาว เนื่องจากเชื้อนี้ไม่ทำลายหรือเจริญเข้าไปในกลุ่มเซลล์ท่ออาหาร จึงทำให้ใบไม่เหี่ยวเฉา เป็นแต่เพียงซีดขาว ไม่สามารถปรุงอาหารได้ เป็นผลให้การเจริญเติบโตในการสร้างเมล็ดของข้าวฟ่างชะงักงัน ผลผลิตจะลดลง เมื่อ ascus แก่ ก้านของ ascus จะยาวมากขึ้น ทำให้

ascus ยื่นออกมาทางปากใบ (ภาพที่ 11) ascospore ที่อยู่ใน ascus มีแถวบนสุดเป็นเซลล์เดี่ยว สองแถวถัดมาเป็นเซลล์คู่ และสามแถวล่างเป็นเซลล์เดี่ยว ascus จะถูกบีบให้ออกมาทางปากใบจำนวนมาก เกาะติดกันเป็นสายสีเหลืองอยู่บนแผลนูนสีดำ (ภาพที่ 12) เมื่ออากาศแห้ง ascus จะปล่อย ascospore ปล่อยให้ตามลม ระบาดทำลายใบข้าวฟ่างต่อไป

การศึกษาเรื่องนี้ นอกจากจะทำให้ทราบลักษณะการทำลายใบข้าวฟ่างของเชื้อ *Phyllachora sorghi* อย่างละเอียดตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้แล้ว ยังทำให้ทราบวงจรชีวิตของเชื้ออีกด้วย นับว่าเป็นการพบสิ่งที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง เพราะวิทยาการและข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อนี้ยังมีไม่มากนัก การปลูกเชื้อทำได้ยาก การวิจัยโดยใช้วิธีการของไมโครเทคนิคจะช่วยแก้ปัญหาต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดีและรวดเร็วขึ้น

สรุปผลการทดลอง

เชื้อ *Phyllachora sorghi* เข้าทำลายข้าวฟ่างทางปากใบเจริญเติบโตสร้าง ascocarp, ascus และ ascospore อยู่ในส่วนที่เป็น mesophyll ไม่ทำลายกลุ่มเซลล์ที่หน้าท่ออาหาร

จะถูกทำลายบ้างในกรณีที่เป็นแผลรุนแรงมาก ใบข้าวฟ่างที่เป็นโรคทาร์สปอตจะไม่เหี่ยวแต่จะซีดขาว เนื่องจากคลอโรฟิลล์ที่บริเวณ mesophyll ถูกทำลายไปหมด การปรุงอาหารในใบจึงไม่เกิดขึ้น ทำให้ผลผลิตลดลง เชื้อนี้แพร่กระจายออกจากใบทางปากใบ

เอกสารอ้างอิง

- Cutler, E.G. 1978. Applied Plant Anatomy, Longmans, London, pp. 30-47.
- Fahn, A. 1974. Plant Anatomy. Pergamon Press, London. pp. 237-242.
- Peter, G. 1975. The Microtome's Formulary and Guide. Krieger Publishing Company, Huntington, New York. pp. 94-141.
- Salisbury, F.B. and Ross, C.W. 1978. Plant Physiology, Wadworth Publishing Company, Inc., Belmont, California. 422 p.
- Tarr, S.A.J. 1962. Disease of Sorghum, Sudan Grass and Broem Corn. The Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey. pp. 155-157.
- Histopathology of Sorghum Leaf Infected by *Phyllachora sorghi* Wilaiwun Chamanayotin¹ and Tuanchai Boon-long²
- ¹Botany and Weed Science Division, Department of Agriculture, Bangkok BKK. 10900.
- ²Plant Pathology and Microbiology Division Department of Agriculture, Bangkok, BKK. 10900.

Histopathology of Sorghum Leaf Infected by *Phyllachora sorghi*

by

Wilaiwun Chavanayotin¹ and Tuanchai Boon-Long¹

¹Division of Batony and Weed Science; Department of Agriculture, Bangkok, Bangkok 10900

²Division of Plant Pathology and Microbiology, Department of Agriculture, Bangkok, Bangkok 10900

ABSTRACT

A microscopic study was made of leaf tissue infected by *Phyllachora sorghi*, the causal organism of tar spot disease in sorghum. Cross sections of infected tissue were stained using safranin and fast green for study. Mature ascospores germinated on both the upper and lower leaf surfaces and gained penetration of the leaf through the stomata. The perfect stage of the organism develops below the epidermis of the leaf; the perithecium consists of a unique stalk ascus with eight ascospores. Dikaryoticism occurs in the leaf tissue. Under favourable environmental conditions the ascospores are released to initiate the cycle of infection again. The study demonstrated *Phyllachora sorghi* infects the mesophyll of the sorghum leaf but not the vascular bundle. The organism interferes with photosynthesis through its destruction of the chloroplasts in the mesophyll.
