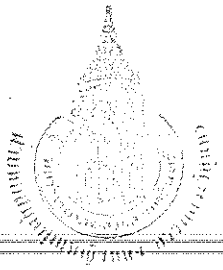


ความหลากหลายของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex และความสามารถในการใช้ควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี

Biodiversity of the *Helminthosporium* - complex and Their Potential Use for Biological Control of Weeds

นพวรรณ นิลสุวรรณ

Noppawan Ninsuwan

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาโรคพืชวิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Plant Pathology
Prince of Songkla University
2550

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เลขหมู่ SB611.6 .N35 2550 ฉ. 2
Bib Key 300694
5 ส.ค. 2551

ชื่อวิทยานิพนธ์ ความหลากหลายของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex และความสามารถในการใช้ควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี

ผู้เขียน นางสาวนพวรรณ นิลสุวรรณ

สาขาวิชา โรคพืชวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.วสันณ์ เพชรรัตน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมอใจ ชื่นจิตต์)

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เยาวลักษณ์ ดิสระ)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วสันณ์ เพชรรัตน์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมอใจ ชื่นจิตต์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)

.....กรรมการ

(ดร.ภวิกา บุณยพิพัฒน์)

.....กรรมการ

(ดร.พิณทิพย์ จันทรเทพ)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	ความหลากหลายของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex และความสามารถในการใช้ควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี
ผู้เขียน	นางสาวนพวรรณ นิลสุวรรณ
สาขาวิชา	โรคพืชวิทยา
ปีการศึกษา	2550

บทคัดย่อ

จากการเก็บตัวอย่างวัชพืช ที่แสดงอาการใบจุด และใบไหม้จำนวน 149 ตัวอย่าง จากวัชพืช 24 ชนิด ในภาคใต้ของประเทศไทย นำตัวอย่างโรคบ่มไว้ในกล่องชื้น ตรวจหาเชื้อรา *Helminthosporium* - complex บนเนื้อเยื่อวัชพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทำการแยกเชื้อราที่พบ โดยวิธีแยกสปอร์เดี่ยวบนอาหารวุ้น เมื่อจำแนกเชื้อราที่พบ สามารถจำแนกได้ 3 สกุล (genus) คือ *Bipolaris* (11 ชนิด) *Drechslera* (3 ชนิด) *Exserohilum* (10 ชนิด)ได้แก่ *B. australiensis* (Ellis) Tsuda & Ueyama, *B. australis* Alcorn, *B. colocasiae* (Tandan & Bhargava) Alcorn, *B. cynodontis* (Marignoni) Shoem., *B. ellisii* (Danquah) Alcorn, *B. hawaiiensis* (Ellis) Uchida & Aragaki, *B. leersiae* (Atk.) Shoem., *B. sacchari* (Butler) Shoem., *B. setariae* (Saw.) Shoem., *B. sorokiniana* (Sacc.) Shoem., *B. sorghicola* (Lefebvre & Sherwin) Alcorn, *D. erythrospila* (Drechs.) Shoem., *D. euphorbiae* (Hansford) Ellis, *D. teres* (Sacc.) Shoem., *E. holmii* (Luttr.) Leonard & Suggs., *E. khartoumensis* El Shafie & Webster, *E. longirostratum* (Subram.) Sivan., *E. minor* Alcorn, *E. monoceras* (Drechs.) Leonard & Suggs., *E. paspali* Muchovej & Nesio, *E. prolatum* Leonard & Suggs., *E. rostratum* (Drechs.) Leonard & Suggs., *E. sorghicola* Sivan. และ *E. turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs.

ทำการสุ่มเชื้อรา *Helminthosporium* – complex จำนวน 9 ไอโซเลท (8 ชนิด) คือ *B.australiensis*, *B. hawaiiensis*, *B. setariae*, *D. teres*, *E. longirostratum*, *E. holmii*, *E. khartoumensis*, *E. monoceras* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช และ (9) *E. monoceras* จากจังหวัดสงขลา เพื่อจำแนกความแตกต่างของเชื้อราโดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) ทดสอบกับไพรเมอร์จำนวน 7 ไพรเมอร์ พบว่าแต่ละชนิดมีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันอย่างชัดเจน ไพรเมอร์ OPA – 08 OPB – 06 และ OPC – 13 สามารถใช้ในการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของเชื้อรา *E. monoceras* ได้ และพบว่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของเชื้อราทั้ง 9 ไอโซเลท มีค่าระหว่าง 0.525 – 0.872

หลังจากนั้นจึงทำการทดสอบการเกิดโรคบนวัชพืชบางชนิด และพืชเศรษฐกิจ คือ ข้าว ข้าวโพด และ ข้าวฟ่าง ทำการคัดเลือกมา 1 ชนิด คือเชื้อรา *E. monoceras* เพื่อศึกษาความสามารถในการควบคุมหญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum* (Linn.) Link.) เชื้อรา *E. monoceras* สามารถสร้างโคนิเดียได้มากที่สุด บนอาหาร V8-juice agar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในที่มืดตลอดการทดลอง เมื่อนำโคนิเดีย เชื้อรามาทดสอบการควบคุมหญ้านกสีชมพู ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าเชื้อรา *E. monoceras* ทำให้เกิดอาการใบจุด โดยเชื้อราสามารถทำให้เกิดโรครุนแรงในวัชพืชอายุน้อย มากกว่าวัชพืชที่มีอายุมาก และการใช้สารแขวนลอยโคนิเดียความเข้มข้นสูง จะทำให้วัชพืชเกิดโรคได้มากกว่า การใช้สารแขวนลอยโคนิเดีย ที่ความเข้มข้นต่ำในการทดลองครั้งนี้ไม่พบว่าเชื้อราสามารถฆ่าต้นกล้าของหญ้านกสีชมพูได้

Theise Title Biodiversity of the *Helminthosporium* - complex and Their Potential Use for Biological Control of Weeds

Author Miss Noppawan Ninsuwan

Major Project Plant Pathology

Academic Year 2007

ABSTRACT

One hundred and forty-nine samples of leaf spots and leaf blights of twenty-four weed plants were collected in southern Thailand. Each sample was incubated in moisture chamber and examined for fungi of The *Helminthosporium* - complex associated with the diseased tissue. Each found fungi was isolated into pure culture by single spore isolation. The identification revealed that the associated *Helminthosporium* - complex fungi on weeds belonged to the genera of *Bipolaris* (11 species), *Drechslera* (3 species) and *Exserohilum* (10 species), specifically *B. australiensis* (Ellis) Tsuda & Ueyama, *B. australis* Alcorn, *B. colocasiae* (Tandan & Bhargava) Alcorn, *B. cynodontis* (Marignoni) Shoem., *B. ellisii* (Danquah) Alcorn, *B. hawaiiensis* (Ellis) Uchida & Aragaki, *B. leersiae* (Atk.) Shoem., *B. sacchari* (Butler) Shoem., *B. setariae* (Saw.) Shoem., *B. sorokiniana* (Sacc.) Shoem., *B. sorghicola* (Lefebvre & Sherwin) Alcorn, *D. erythrospila* (Drechs.) Shoem., *D. euphorbiae* (Hansford) Ellis, *D. teres* (Sacc.) Shoem., *E. holmii* (Luttr.) Leonard & Suggs,, *E. khartoumensis* El Shafie & Webster, *E. longirostratum* (Subram.) Sivan., *E. minor* Alcorn, *E. monoceras* (Drechs.) Leonard & Suggs., *E. paspali* Muchovej & Nesio, *E. prolatum* Leonard & Suggs., *E. rostratum* (Drechs.) Leonard & Suggs., *E. sorghicola* Sivan. and *E. turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs.

Nine *Helminthosporium* – complex isolates (8 species) were randomly chosen for identification by RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) analysis with seven primers. DNA patterns of each species were clearly identified. The primers OPA – 08 ,OPB – 06 and OPC – 13 could be used to distinguish between *Exserohilum monoceras* species. The genetic similarity between the 9 isolates ranged from 0.525 to 0.872.

After pathogenicity testing was done on some weeds, rice, corn and sorghum, *E. monoceras* was chosen for further study. The maximum conidial production of *E. monoceras* occurred on V8- juice agar at 30 ^{o}c in continuous dark conditions. The efficacy of *E. monoceras* for biocontrol of jungle rice (*Echinochloa colonum* (Linn.) Link.) was tested in greenhouse. It was found that *E. monoceras* caused yellow leaf spot on *E. colonum* . Greater leaf injury occurred on seedlings than in the late plant growth stages, and inoculum density increased also. Seedling kill was not observed in this experiment.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วสันณ์ เพชรรัตน์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมอใจ ชื่นจิตต์ และรองศาสตราจารย์ ดร. จรัสศรี นวลศรี กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและชี้แนะแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์ จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เยาวลักษณ์ ดิสระ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ดร. ภวิกา บุณยพิพัฒน์ และ ดร. พิณทิพย์ จันทรเทพ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาชี้แนะแนวทางในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ ในครั้งนี้

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก ศูนย์วิจัยและควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (ภาคใต้) และบัณฑิตวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2547 ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. จิราพร เพชรรัตน์ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (ภาคใต้) ที่กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ในการดำเนินงานวิจัย รวมทั้งบุคลากรของศูนย์ ฯ ทุกท่าน ที่เป็นกำลังใจ และให้คำชี้แนะ

ขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช และภาควิชาพืชศาสตร์ เอื้ออำนวยความสะดวกและสนับสนุนการทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ผู้ที่เป็นแรงผลักดัน ให้ผู้เขียนมีกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจน พี่ ๆ น้อง ๆ และเพื่อน ๆ ทุกท่าน ผู้ซึ่งให้ความช่วยเหลือ ส่งผลให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

นพวรรณ นิลสุวรรณ

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อ		(3)
Abstract		(5)
กิตติกรรมประกาศ		(7)
สารบัญ		(8)
รายการตาราง		(9)
รายการภาพ		
(10)		
บทที่		
1.	บทนำ	1
	บทนำต้นเรื่อง	1
	การตรวจเอกสาร	3
	วัตถุประสงค์	17
2.	วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	18
	วัสดุ	18
	อุปกรณ์	19
	วิธีการ	20
3.	ผล และวิจารณ์	28
4.	สรุป	113
	เอกสารอ้างอิง	116
	ภาคผนวก	122
	ประวัติผู้เขียน	128

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. โรคของวัชพืชบางชนิดที่เกิดจากเชื้อ *Helminthosporium* - complex	6
2. โรคของพืชเศรษฐกิจบางชนิดที่เกิดจากเชื้อ *Helminthosporium* - complex	11
3. ลำดับเบสของไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาการจำแนกเชื้อ *Helminthosporium* – complex	23
4. วัชพืชและเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ที่พบบนวัชพืชชนิดนั้น ๆ	29
5. เชื้อรา *Helminthosporium* - complex ที่แยกได้จากวัชพืชชนิดต่าง ๆ	35
6. จำนวนชนิดและไอโซเลท ของราในสกุลต่าง ๆ บนวัชพืช	41
7. ชนิดของไพรเมอร์ จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน เปอร์เซ็นต์จำนวนดีเอ็นเอที่แตกต่าง	88
8. ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ในแต่ละชนิด	94
9. ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex บนวัชพืชแต่ละชนิด	98
10. ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex บนข้าว ข้าวโพดและข้าวฟ่าง	102
11. ปริมาณการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *Exserohilum monoceras* บนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด	105
12. แสงต่อปริมาณการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *Exserohilum monoceras* บนอาหาร VA	107
13. อุณหภูมิต่อปริมาณการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *Exserohilum monoceras* บนอาหาร VA	109
14. ดัชนีการเข้าทำลายของเชื้อรา *Exserohilum monoceras* บนหญ้านกสีชมพู ที่อายุและความเข้มข้นของโคนิเดียแขวนลอยต่าง ๆ	112

รายการภาพ

ภาพที่	หน้า
1. *Bipolaris australiensis* (Ellis) Tsuda & Ueyama	43
2. *Bipolaris australis* Alcorn	45
3. *Bipolaris colocasiae* (Tandan & Bhargava) Alcorn	47
4. *Bipolaris cynodontis* (Marignoni) Shoem.	49
5. *Bipolaris ellisii* (Danquah) Alcorn	51
6. *Bipolaris hawaiiensis* (Ellis) Uchida & Aragaki	53
7. *Bipolaris leersiae* (Atk.) Shoem.	55
8. *Bipolaris sacchari* (Butler) Shoem.	57
9. *Bipolaris setariae* (Saw.) Shoem.	59
10. *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem.	61
11. *Bipolaris sorghicola* (Lefebvre & Sherwin) Alcorn	63
12. *Drechslera erythrospila* (Drechs.) Shoem.	65
13. *Drechslera euphorbiae* (Hansford) Ellis	67
14. *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem.	69
15. *Exserohilum holmii* (Luttr.) Leonard & Suggs.	71
16. *Exserohilum khartoumensis* El Shafie & Webster	73
17. *Exserohilum longirostratum* (Subram.) Sivan.	75
18. *Exserohilum minor* Alcorn	76
19. *Exserohilum monoceras* (Drechs.) Leonard & Suggs.	78
20. *Exserohilum paspali* Muchovej & Nesio	80
21. *Exserohilum prolatum* Leonard & Suggs.	82
22. *Exserohilum rostratum* (Drechs.) Leonard & Suggs.	84
23. *Exserohilum sorghicola* Sivan.	85
24. *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs.	87
25. รูปแบบแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex (1) *B. australiensis*, (2) *B. hawaiiensis*, (3) *B. setariae*, (4) *D. teres*, (5)*E. longirostratum*, (6) *E. holmii*, (7) *E. khartoumensis*, (8) *E. monoceras* จังหวัดนครศรีธรรมราช และ (9) *E. monoceras*	(10)

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
25. (ต่อ) จังหวัดสงขลา จากเทคนิค RAPD เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-01 (A) และ OPA-02 (B) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	89
26. รูปแบบแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex (1) *B. australiensis*, (2) *B. hawaiiensis*, (3) *B. setariae*, (4) *D. teres*, (5)*E. longirostratum*, (6) *E. holmii*, (7) *E. khartoumensis*, (8) *E. monoceras* จังหวัดนครศรีธรรมราช และ (9) *E. monoceras* จังหวัดสงขลา จากเทคนิค RAPD เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-06 (A) และ OPA-08 (B) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	90
27. รูปแบบแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex (1) *B. australiensis*, (2) *B. hawaiiensis*, (3) *B. setariae*, (4) *D. teres*, (5)*E. longirostratum*, (6) *E. holmii*, (7) *E. khartoumensis*, (8) *E. monoceras* จังหวัดนครศรีธรรมราช และ (9) *E. monoceras* จังหวัดสงขลา จากเทคนิค RAPD เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-06 (A) และ OPB-07 (B) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	91
28. รูปแบบแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Helminthosporium* – complex (1) *B. australiensis*, (2) *B. hawaiiensis*, (3) *B. setariae*, (4) *D. teres*, (5)*E. longirostratum*, (6) *E. holmii*, (7) *E. khartoumensis*, (8) *E. monoceras* จังหวัดนครศรีธรรมราช และ (9) *E. monoceras* จังหวัดสงขลา จากเทคนิค RAPD เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPC – 13 (A) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	92
29. เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ในแต่ละชนิดด้วยเทคนิค RAPD	94
30. อาการโรคใบจุดและใบไหม้ของวัชพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อราชนิดต่าง ๆ	99
31. ระดับการเกิดโรคใบไหม้ของข้าวโพดจากเชื้อราชนิดต่าง ๆ หลังการปลูกเชื้อ 5 วัน	103
32. ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *E. monoceras* บนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน	106
33. ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *E. monoceras* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ VA ที่ระดับแสงต่าง ๆ เป็นเวลา 15 วัน	108
34. ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *E. monoceras* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ VA ที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 15 วัน	110

บทที่ 1
บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

เชื้อรา *Helminthosporium* - complex จัดเป็นเชื้อรากลุ่ม mitosporic Ascomycetes เป็นเชื้อราชั้นสูง ในสภาพทั่วไปพบเฉพาะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเท่านั้น ประกอบด้วยเชื้อรา 4 สกุล คือ *Helminthosporium* spp. *Bipolaris* spp. *Drechslera* spp. และ *Exserohilum* spp. เป็นเชื้อราซึ่งมีบทบาทและความสำคัญในการก่อให้เกิดโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น โรคใบไหม้ของข้าวโพด สาเหตุจากเชื้อรา *B. maydis* (Nisikado & Miyake) Shoem. ระบาดอย่างกว้างขวางในทุกแหล่งที่ปลูกข้าวโพด อาการเริ่มแรกเป็นจุดเขียวฉ่ำน้ำ ต่อมาเนื้อใบบริเวณแผลแห้งเป็นสีน้ำตาล ขอบแผลเป็นสีน้ำตาลอมแดง เชื้อเข้าทำลายทุกระยะการเจริญเติบโตของข้าวโพด ส่งผลให้ปริมาณและคุณภาพผลผลิตของข้าวโพดตกต่ำ (Shurtleff, 1980)โรคใบจุดตานกของยางพารา สาเหตุจากเชื้อรา *B. heveae* (Petch.) Ellis พบทั่วไปโดยเฉพาะอย่างยิ่งในแปลงกล้ายาง และแปลงกิ่งตายาง ส่งผลให้ยางชะงักการเจริญเติบโต และการติดตาไม่ได้ผลเนื่องจากต้นกล้าไม่แข็งแรง (พงษ์เทพ ขจรไชยกุล, 2522) โรคใบจุดของปาล์มน้ำมัน สาเหตุจากเชื้อรา *B. halodes* (Drechs.) Subram. & Jain เป็นโรคที่สำคัญในเรือนเพาะชำ ใบอ่อนเกิดจุดเล็ก ๆ สีเหลืองโปร่งแสง ต่อมาจุดขยายใหญ่ หากรุนแรงทำให้ใบแห้ง ต้นกล้าชะงักการเจริญเติบโต หรือโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าว พบระบาดอยู่ทั่วไป สาเหตุจากเชื้อรา *B. oryzae* (Breda de Haan) Shoem. เชื้อเข้าทำลายได้ทุกส่วนของต้นข้าว ตั้งแต่ระยะต้นกล้า จนถึงออกรวง (Ou, 1972)

เชื้อรา *Helminthosporium* - complex ยังทำให้เกิดโรค Phaeohyphomycosis กับสัตว์เลี้ยง และพบเชื้อรา *Exserohilum rostratum* (Drechs.) Shoem. เป็นปรสิตของเชื้อรา *Syncephalastrum racemosum* (Cohn.) Schrot. นอกจากนี้ยังพบเชื้อ *Helminthosporium* - complex สามารถเข้าทำลายวัชพืชหลายชนิด ได้แก่ หญ้าคา (*Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv.) หญ้าตีนนก (*Digitaria adscendens* (HBK.) Henr.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) หญ้าพง (*Sorghum halepense* (Linn.) Pers.) หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) (Charudattan, 1996) และหญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Penisetum polystachyon* (L.) Schult.) เป็นต้น (Waterhouse, 1994)

โดยทั่วไปวัชพืชจัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของการเพาะปลูก และในทุกสภาพการเพาะปลูกไม่ว่าปลูกพืชชนิดใด หรือในช่วงฤดูกาลปลูกใด วัชพืชสามารถเจริญได้เป็นอย่างดี และแก่งแย่งธาตุอาหารของพืชปลูก ทั้งยังเป็นแหล่งสะสมของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และแมลงศัตรูพืช การใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชย่อมส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และเกิดการสะสมสารพิษในดินเป็นระยะเวลานาน การใช้แมลง และเชื้อราสาเหตุโรคพืช เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการควบคุมวัชพืช ซึ่งไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและผู้ใช้

การตรวจเอกสาร

1. เชื้อรา *Helminthosporium* - complex

เชื้อรา *Helminthosporium* spp. จัดเป็นเชื้อราในกลุ่ม mitosporic Ascomycetes ถูกตั้งขึ้นในปี ค.ศ. 1809 โดยมี *H. velutinum* Link. เป็น type species ในช่วงเริ่มต้น เชื้อราหลายชนิด เช่น *Alternaria*, *Cercosporidium*, *Corynespora*, *Deightoniella*, *Embellisia*, *Pseudocercospora* และ *Spiropes* ถูกรวบรวมภายใต้สกุล *Helminthosporium* ในระยะต่อมาจึงจำแนกเป็นสกุลที่ถูกต้อง (Alcorn, 1988)

เชื้อรา *Helminthosporium* ประกอบด้วยเชื้อราหลายชนิด เช่น ราแซพโพรไฟท์ (saprophyte) และเป็นปรสิตกับพืชหลายชนิด ทั้ง 2 กลุ่ม มีลักษณะแตกต่างกันมาก (heterogenous) ในปี ค.ศ. 1928 Nisikado ศึกษาเชื้อรา *Helminthosporium* บนพืชวงศ์ Gramineae ซึ่งมีความแตกต่างจากเชื้อรา *H. velutinum* จึงจำแนกเชื้อรา *Helminthosporium* ออกเป็น 2 subgenus คือ

1.) Cylindro - Helminthosporium

2.) Eu - Helminthosporium

Ito (1930 อ้างโดย Alcorn, 1988) เสนอให้ตั้ง subgenus Cylindro - Helminthosporium เป็นสกุล *Drechslera* โดยให้ *D. tritici - vulgaris* Nisikado เป็น type species ส่วน subgenus Eu - Helminthosporium นั้น Shoemaker (1959 อ้างโดย Alcorn, 1988) เสนอให้ตั้งเป็นสกุลใหม่คือ *Bipolaris* และให้ *B. maydis* (Nisikado & Miyake) Shoem. เป็น type species สำหรับการจำแนกเชื้อรา *Helminthosporium* ออกเป็นสกุลต่าง ๆ นั้นในช่วงเริ่มต้นไม่เป็นที่ยอมรับ แต่เนื่องจากเชื้อราในสกุลนี้มีความแตกต่างเป็นอย่างมาก Luttrell (1957 อ้างโดย Alcorn, 1988) จึงเสนอให้แบ่งเชื้อรา *Helminthosporium* ออกเป็น 3 subgenus คือ

1.) subgenus Helminthosporium

2.) subgenus Cylindro - Helminthosporium

3.) subgenus Eu - Helminthosporium

Ellis (1971, 1976) จัดทำหนังสือจำแนกเชื้อรา Dematiaceous Hyphomycetes แบ่ง *Helminthosporium* - complex ออกเป็น 2 สกุลคือ 1.) *Helminthosporium* spp. มีประมาณ 10 ชนิด ลักษณะเชื้อรากลุ่มนี้มีวิธีการสร้างโคนิเดีย และรูปร่างเหมือน *H. velutinum* 2.) *Drechslera* spp. เป็นการรวม 2 subgenus คือ subgenus Cylindro - Helminthosporium และ subgenus Eu – Helminthosporium ส่วนเชื้อรา *Bipolaris* เป็นชื่อพ้อง (synonym) ของรา *Drechslera*

การจำแนกเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ในช่วงเริ่มต้น จึงค่อนข้างสับสน เนื่องจาก เชื้อราชนิดเดียวกันแต่มีชื่อเรียกต่างกัน เช่น เชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ของข้าวโพด นักรา วิทยาบางท่านเรียก *Bipolaris maydis* บางท่านเรียก *Drechslera maydis* ส่วนนักโรคพืชวิทยา เรียกว่า *Helminthosporium maydis* เป็นต้น

Leonard และ Suggs (1974 อ้างโดย Alcorn, 1988) ตั้งชื่อสกุล *Exserohilum* สำหรับเชื้อรา *Helminthosporium* ซึ่งมี hilum บริเวณฐานโคนิเดีย โดยกำหนดให้ *E. turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs เป็น type species

Sivanesan (1987) จัดทำหนังสือ Graminicolus species of *Bipolaris Curvularia Drechslera Exserohilum* and their teleomorphs จำแนกเชื้อรา *Helminthosporium* - complex เป็น 4 สกุล คือ

1.1 เชื้อรา *Bipolaris*

ลักษณะสำคัญของเชื้อรา *Bipolaris* คือ สร้างโคนิเดียรูปร่างคล้ายกระสวย (fusoid) หรือโค้ง การงอกเกิดได้บริเวณส่วนหัว และส่วนปลายของโคนิเดีย โคนิเดียเกิดปลายโคนิดิโอฟอร์ และสามารถเจริญยาวต่อไปได้อีก ส่วนปลายโคนิดิโอฟอร์มีลักษณะโค้งงอ เรียกว่า bent - like a knee เชื้อรา *Bipolaris* มีประมาณ 52 ชนิด ระยะ teleomorph จัดในสกุล *Cochliobolus*

1.2 เชื้อรา *Drechslera*

ลักษณะสำคัญของเชื้อรา *Drechslera* คือ สร้างโคนิเดียรูปทรงกระบอก ไม่มีการสร้าง protruding hilum ผนังบาง การงอกเกิดได้จากทุกเซลล์ของโคนิเดีย เชื้อรา *Drechslera* มีประมาณ 23 ชนิด ระยะ teleomorph จัดในสกุล *Pyrenophora*

1.3 เชื้อรา *Exserohilum*

ลักษณะที่สำคัญของเชื้อรา *Exserohilum* คือ สร้างโคนิเดียรูปร่างคล้ายกระสวย หรือโค้ง บริเวณฐานของโคนิเดียมี hilum ยื่นออกมาเรียกว่า protruding hilum การงอกเกิดได้บริเวณส่วนหัว และส่วนปลายโคนิเดีย เชื้อรา *Exserohilum* มีประมาณ 20 ชนิด ระยะ teleomorph จัดอยู่ในสกุล *Setosphaeria*

1.4 เชื้อรา *Helminthosporium*

ลักษณะสำคัญของเชื้อรา *Helminthosporium* sp. สร้างโคนิเดียรูปทรงกระบอก หรือโค้ง โดยเกิดด้านข้างโคนิดิโอฟอร์ และมีการสร้าง septum แบ่งเป็นช่อง ๆ แต่ละช่องมีรูเพื่อสร้างโคนิเดีย เรียกลักษณะโคนิเดีย ดังกล่าวว่า porospores ซึ่งกระบวนการสร้างโคนิเดีย เรียกว่า Acropleurogenous

2. ระยะ Teleomorph ของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex

Sivanesan (1987) ศึกษาเชื้อราในระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorph) บนพืชตระกูลหญ้า พบระยะ teleomorph ของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex เป็น 3 สกุล คือ

2.1 เชื้อรา *Cochliobolus*

ลักษณะสำคัญของเชื้อรา *Cochliobolus* spp. สร้างแอสโคมา (ascoma) แบบ perithecium เจริญบนเนื้อเยื่อพืช รูปทรงค่อนข้างกลม สีน้ำตาลเข้ม หรือสีดำ แอสคัส (ascus) รูปทรงกระบอก หรือคล้ายกระบอง ผนัง 2 ชั้น (bitunicate) แทรกระหว่างชั้น pseudoparaphyses โดย 1 แอสคัส มีแอสโคสปอร์จำนวน 8 แอสโคสปอร์ (ascospore) รูปร่างคล้ายเส้นด้าย (fuliform) ขดเป็นเกลียวภายในแอสคัส เชื้อรา *Cochliobolus* มีประมาณ 33 ชนิด

2.2 เชื้อรา *Pyrenophora*

ลักษณะสำคัญของเชื้อรา *Pyrenophora* sp. สร้างแอสโคมาลักษณะเป็นเนื้อเยื่อนูน และแอสคัสมีผนัง 2 ชั้น (bitunicate) แทรกระหว่างชั้น pseudoparaphyses ผนังเรียบ มีผนังกั้นทั้งตามแนวตั้งและแนวนอน เชื้อรา *Pyrenophora* มีประมาณ 13 ชนิด

2.3 เชื้อรา *Setosphaeria*

ลักษณะสำคัญของเชื้อรา *Setosphaeria* sp. สร้างแอสโคมามีรูปร่างคล้าย flask shape สีดำ นูน มี ostiole บริเวณกึ่งกลาง มี setae รอบแอสโคมา แอสโคสปอร์รูปร่างคล้ายกระสวย (fusiform) มีเมือกห่อหุ้มรอบแอสโคสปอร์ (mucilaginous sheath) เชื้อรา *Setosphaeria* มีประมาณ 8 ชนิด

3. วัชพืชและโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Helminthosporium* – complex

วัชพืชเป็นปัญหาสำคัญ และสร้างความเสียหายให้กับพื้นที่เพาะปลูกของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด วัชพืชทั่วโลกพบประมาณ 30,000 ชนิด โดย 9,800 ชนิด จัดเป็นวัชพืชทำความเสียหายรุนแรง ต่อผลผลิตทางด้านการเกษตร (อาทิตย์ กุคำอู และคณะ, 2544) การลดความสูญเสีย อันเนื่องจากวัชพืชให้เหลือน้อยที่สุด โดยใช้แมลง และเชื้อราสาเหตุโรคพืช เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการควบคุมวัชพืช ซึ่งไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และผู้ใช้ ปัจจุบันได้มีการค้นพบ สารสกัดจากเชื้อราเป็นจำนวนมาก มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งการงอก และการเจริญของวัชพืช ตัวอย่างสารสกัดจากเชื้อรา มีความจำเพาะต่อชนิดของพืช ได้แก่สารไบโพลารอกซิน (bipolaroxin) สกัดได้จากเชื้อรา *Bipolaris cynodontis* (Marignoni.) Shoem. เชื้อราก่อให้เกิดโรคในหญ้าแพรก (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) (ปนัดดา ใยภักดี, 2545) ตัวอย่างโรคบางชนิดเกิดจากเชื้อรา *Helminthosporium* - complex แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 โรคของวัชพืชบางชนิดที่เกิดจากเชื้อ *Helminthosporium* – complex

ชื่อวัชพืช	ชื่อสามัญ	เชื้อสาเหตุ (ประเทศที่พบ)	เอกสารอ้างอิง
1. *Amaranthus spinosus* L.	ผักโขมหนาม (spiny amaranth)	*B. indica* (Rai.) Wadhwani & Tewari (อินเดีย)	Waterhouse (1994)
2. *Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf.	หญ้าขน (para grass)	*Drechslera* sp. (ไทย)	พะยอม พินยพงศ์ และคณะ(2541)
3. *Brachiaria platyphylla* (Griseb.) Nash.	(broadleaf signal grass)	*B. setariae* (Saw.) Shoem. (อเมริกา)	TeBeest (1991)
4. *Commelina benghalensis* L.	ผักปราบ (wandering jew)	*B. hawaiiensis* (Ellis) Uchida & Aragaki (อินเดีย)	Waterhouse (1994)
5. *Cynodon dactylon* (L.) Pers.	หญ้าแพรก (bermuda grass)	*B. hawaiiensis* (Ellis) Uchida & Aragaki (อเมริกา)	Charudattan (1996)
6. *Dactyloctenium aegyptium* (L.) Beauv.	หญ้าปากควาย (crowfoot grass)	*Drechsle* sp. (อเมริกา)	Charudattan (1996)
		Exserohilum sp. (อเมริกา)	Charudattan (1996)
		D. gigantea (Heald & Wolf) Ito (อเมริกา)	Chandramohan (2001)
		E. longirostratum (Subram.) Sivan. (อเมริกา)	Chandramohan (2001)
7. *Digitaria adscendens* (HBK.) Henr.	หญ้าตีนนก (crab grass)	*Drechslera* sp. (อเมริกา)	Charudattan (1996)
		Exserohilum sp. (อเมริกา)	Charudattan (1996)
		D. gigantea (Heald & Wolf) Ito (อเมริกา)	Charudattan (1996)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชื่อวัชพืช	ชื่อสามัญ	เชื้อสาเหตุ (ประเทศที่พบ)	เอกสารอ้างอิง
8. *Echinochloa colonum* (L.) Link.	หญ้านกสีชมพู (jungle rice)	*B. sacchari* (Butler) Shoem. (จีน)	Zhang and Watson (1997a)
		E. monoceras (Drechs.) Leonard & Suggs (จีน)	Zhang and Watson (1997a)
		B. oryzae (Breda de Haan) Shoem. (จีน)	Zhang and Watson (1997a)
9. *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.	หญ้าข้าวนก (barnyard grass)	*D. dictyoides* (Drechs.) Shoem. (แคนนาดา)	Waterhouse (1994)
		E. turcicum (Pass.) Leonard & Suggs (โรมาเนีย)	Waterhouse (1994)
		B. sacchari (Butler) Shoem. (จีน)	Zhang and Watson (1997a)
		E. monoceras (Drechs.) Leonard & Suggs (จีน)	Zhang and Watson (1997a)
		B. oryzae (Breda de Haan) Shoem. (จีน)	Zhang and Watson (1997a)
10. *Eleusine indica* (L.) Gaertn.	หญ้าตีนกา (goose grass)	*B. setariae* (Saw.) Shoem. (อเมริกา)	Figliola *et al.* (1988)
		B. maydis (Nisikado & Miyake) Shoem. (จีน)	Waterhouse (1994)
		D. gigantea (Heald & Wolf) Ito (อเมริกา)	Waterhouse (1994)
		E. holmii (Luttr.) Leonard & Suggs (อินเดีย)	Waterhouse (1994)
		Bipolaris sp. (ไทย)	Waterhouse (1994)
		B. nodulosa (Berk. & Curtis) Shoem. (มาเลเซีย)	พะยอม พินยพงศ์ และคณะ (2541)
11. *Euphorbia heterophylla* L.	ผักยาง (Mexican fire plant)	*Bipolaris* sp.(บราซิล)	Waterhouse (1994)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชื่อวัชพืช	ชื่อสามัญ	เชื้อสาเหตุ (ประเทศที่พบ)	เอกสารอ้างอิง
12. *Imperata cylindrica* (L.) Beauv.	หญ้าคา (cogon grass)	*Drechslera* sp. (อเมริกา)	Charudattan (1996)
		Exserohilum sp. (อเมริกา)	Charudattan (1996)
13. *Urochloa maxima* (Jacq.) Webster	หญ้ากินี (guinea grass)	*B. sacchari* (Butler) Shoem. (อเมริกา)	Sonoda and Turner (1993)
14. *Paspalum conjugatum* Berg.	หญ้าลูกเห็บ (hilo grass)	*E. paspali* Muchovej & Nesio. (บราซิล)	Waterhouse (1994)
15.*Pennisetum polystachyon* Schult.	หญ้าขจรจบดอกเล็ก (feather pennisetum)	*B. papendorfii* (van der Aa) Alcorn (มาเลเซีย)	Waterhouse (1994)
		E. rostratum (Drechs.) Leonard & Suggs (มาเลเซีย)	Waterhouse (1994)
16. *Pennisetum purpureum* Schumach.	หญ้าเนเปียร์ (napier grass)	*Drechslera* sp. (อเมริกา)	Charudattan (1996)
		Exserohilum sp. (อเมริกา)	Charudattan (1996)
17. *Portulaca oleracea* Linn.	ผักเบี้ยใหญ่ (common purselane)	*B. indica* (Rai.) Wadhwani & Tewari (อเมริกา)	Waterhouse (1994)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชื่อวัชพืช	ชื่อสามัญ	เชื้อสาเหตุ (ประเทศที่พบ)	เอกสารอ้างอิง
18. *Rottboellia cochinchinensis* Lour.	หญ้าโขย่ง (corn grass)	*B. perotidis* Alcorn (ออสเตรเลีย)	Waterhouse (1994)
		B. bicolor (Mitra) Shoem. (โซมาเนีย)	Waterhouse (1994)
		B. maydis (Nisikado & Miyake) Shoem. (เคนยา)	Waterhouse (1994)
19. *Rhycholytrum repens* (Willd.) Hubb.	หญ้าดอกแดง (natal grass)	*Drechslera* sp. (อเมริกา)	Charudattan (1996)
		Exserohilum sp. (อเมริกา)	Charudattan (1996)
20. *Sorghum halepense* (Linn.) Pers.	หญ้าพง (Johnson grass)	*B. halepense* (L.) Pers. (จีน)	Chiang *et al.* (1989)
		E. turcicum (Pass.) Leonard & Suggs (จีน)	Chiang *et al.* (1989)
		B. zeicola (Stout) Shoem. (แคนนาดา)	Winder and Van Dyke (1990)
		B. sorokiniana (Sacc.) Shoem. (แคนนาดา)	Winder and Van Dyke (1990)
		B. sorghicola (Lefebvre & Sherwin) Alcorn (แคนนาดา)	Winder and Van Dyke (1990)

4. พืชสำคัญทางเศรษฐกิจและโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Helminthosporium* - complex

เชื้อรา *Helminthosporium* - complex จัดเป็นเชื้อราซึ่งสร้างความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจทั้งด้านปริมาณและคุณภาพ แต่ละฤดูกาลปลูก มีผลผลิตได้รับความเสียหาย จากเชื้อรา *Helminthosporium* - complex อย่างน้อย 10 - 20 เปอร์เซ็นต์ หรือไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ และเมื่อสภาพแวดล้อมเอื้ออำนวยต่อการเกิดโรค เช่น ฝนตกหนัก ฝนทิ้งช่วงหรือแล้งเกินไป ความเสียหายจะรุนแรงตามไปด้วย ตัวอย่างเช่น โรคใบไหม้ของข้าวโพด พบการระบาดของโรคได้ทั่วไปตามท้องถิ่นซึ่งมีการปลูกข้าวโพด เช่น อเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น และไทย เป็นต้น โรคใบไหม้จากเชื้อรา *Bipolaris* หลายชนิด มีลักษณะอาการ และชื่อเรียกแตกต่างกัน คือ

โรค Southern leaf blight หรือ โรคใบไหม้ของข้าวโพด สาเหตุจากเชื้อรา *Bipolaris maydis* ลักษณะอาการแผลใบไหม้ สีน้ำตาล ขอบมีสีเข้ม โดยมากขอบแผลถูกจำกัดโดยเส้นใบ ทำให้เห็นขอบแผลขนานกันตามความยาวของใบ ในส่วนโรค Northern leaf blight หรือโรคใบไหม้ของข้าวโพด สาเหตุจากเชื้อรา *Exserohilum turcicum* แผลมีขนาดใหญ่กว่าโรค Southern leaf blight ขอบแผลเรียวยาว แผลอาจขยายใหญ่ทำให้ใบแห้งตายทั้งใบ (Shurtleff, 1980)

โรคใบจุดตานกของยางพารา (bird eye leaf spot) สาเหตุจากเชื้อรา *B. heveae* เป็นโรคซึ่งพบได้ตามแปลงปลูกยางทั่วไปในประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแปลงต้นกล้ายางพาราและแปลงกิ่งตายาง เป็นสาเหตุให้ยางชะงักการเจริญเติบโต ลักษณะอาการเชื้อรา *B. heveae* เข้าทำลายใบยางขณะที่ใบยังอ่อน เกิดแผลตายสีน้ำตาลจุดค่อนข้างกลมขอบแผลสีน้ำตาลล้อมรอบรอยแผล หากเกิดการระบาดของโรคอย่างรุนแรง ทำให้ใบหงิกงอและเน่าดำ แต่หากเชื้อราเข้าทำลายใบยางอายุมาก เกิดเพียงรอยสีน้ำตาลเข้มเท่านั้น (พงษ์เทพ ขจรไชยกุล, 2522)

โรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าว (brown spot) เป็นโรคข้าวที่สำคัญโรคหนึ่ง พบการระบาดอยู่ทั่วไป สาเหตุจากเชื้อรา *B. oryzae* เชื้อเข้าทำลายได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้า จนถึงออกรวง แต่ก่อให้เกิดความเสียหายมากที่สุด เมื่อเชื้อเข้าทำลายในระยะต้นกล้า ทำให้ต้นกล้าแห้งตาย อาการบนใบมีลักษณะแผลจุดสีน้ำตาลเข้มล้อมรอบด้วยขอบสีเหลือง หรือสีน้ำตาลเข้ม แผลส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นรูปไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 - 3 มิลลิเมตร ถึง 10 มิลลิเมตร (Ou, 1972) ขึ้นอยู่กับความอ่อนแอของพืช เมื่อแผลขยายเต็มที่ กลางแผลเปลี่ยนเป็นสีเทา นำมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบกลุ่มเส้นใยของเชื้อในบริเวณนี้ และพบตัวอย่างโรคบนพืชเศรษฐกิจบางชนิดเกิดจากเชื้อรา *Helminthosporium* - complex แสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 โรคของพืชเศรษฐกิจบางชนิดที่เกิดจากเชื้อ *Helminthosporium* – complex

ชื่อพืชเศรษฐกิจ	ชื่อสามัญ	เชื้อสาเหตุ (ประเทศที่พบ)	เอกสารอ้างอิง
1. *Arachis hypogaea* L.	ถั่วลิสง (peanut)	*B. spicifera* (Bainier) Subram. (อเมริกา)	Porter (1993)
2. *Avena sativa* L.	ข้าวโอ๊ต (oat)	*B. sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (อเมริกา)	Epstein and Simon (1993)
		D. avenacea (Curtis) Shoem. (อเมริกา)	Langaro *et al.* (2001)
		B. victoriae (Meehan & Murphy) Shoem. (อเมริกา)	Epstein and Simon (1993)
3. *Carica papaya* L.	มะละกอ (papaya)	*H. cassiicola* Berk. & Curtis (อเมริกา)	Nishijima (1999)
4. *Cocos nucifera*	มะพร้าว (coconut)	*B. incurvata* (Bernard) Alcorn (อินเดีย)	Kamalakannan *et al.* (2005)
		D. gigantea (Heald & Wolf) Ito (อเมริกา)	Ploetz *et al.* (1999)
		D. halodes (Drechs.) Subram. & Jain (อเมริกา)	Ploetz *et al.* (1999)
5. *Elaeis guineensis* Jacq.	ปาล์มน้ำมัน (africa oilpalm)	*B. incurvata* (Bernard) Alcorn (อเมริกา)	Forsberg (1985)
		B. cynodontis (Marignoni) Shoem. (อเมริกา)	Forsberg (1985)
		E. rostratum (Drechs.) Leonard & Suggs (อเมริกา)	Forsberg (1985)
6. *Glycine max* (L.) Merrill	ถั่วเหลือง (soybeans)	*D. glycines* Narayanasamy & Durairj. (อเมริกา)	Lim and Chamberlain (2001)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชื่อพืชเศรษฐกิจ	ชื่อสามัญ	เชื้อสาเหตุ (ประเทศที่พบ)	เอกสารอ้างอิง
7. *Gossypium* spp.	ฝ้าย (cotton)	*B. spicifera* (Bainier) Subram. (อเมริกา)	Lyda and Watkin (2001)
8. *Helianthus annuus L.*	ทานตะวัน (sunflower)	*H. helianthi* Hansf. (อเมริกา)	Gulya and Masirevic (1993)
9. *Hevea brazilensis* (Muell.) Agr.	ยางพารา (para rubber)	*B. heveae* (Petch) Ellis (ไทย)	พงษ์เทพ ขจรไชยกุล (2522)
10. *Hordeum vulgare* L.	ข้าวบาร์เลย์ (barley)	*B. sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (อเมริกา)	Mathre (2000)
		D. graminea (Rabenh.) Shoem. (อเมริกา)	Mathre (2000)
		D. teres (Sacc.) Shoem. (อเมริกา)	Reiss and Horstmann (2001)
		D. wirreganensis (ออสเตรเลีย)	Mathre (2000)
11. *Mangifera indica* L.	มะม่วง (mango)	*B. hawaiiensis* (Ellis) Uchida & Aragaki (อเมริกา)	Pernezny and Simone (2000)
		B. ravenelii (Curtis) Shoem. (อเมริกา)	Pernezny and Simone (2000)
12. *Musa* spp.	กล้วย (banana)	*D. gigantean* (Heald & Wolf) Ito (อเมริกา)	David (1997)
		D. musae - sapientum (Hansf.) Ellis (อเมริกา)	Ellis (1971)
		B. spicifera (Bainier) Subram. (อเมริกา)	Roy *et al.* (1989)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชื่อพืชเศรษฐกิจ	ชื่อสามัญ	เชื้อสาเหตุ (ประเทศที่พบ)	เอกสารอ้างอิง
13. *Oryza sativa* L.	ข้าว (rice)	*B. oryzae* (Breda de Haan) Shoem. (อเมริกา อินเดีย ไทย)	Ou (1972)
		D. gigantea (Heald & Wolf) Ito (อเมริกา)	Hollier *et al.* 1993
14. *Persea americana* Miller	อะโวคาโด (avocado)	*B. sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (อเมริกา)	Ohr *et al.* (2003)
15. *Saccharum* spp.	อ้อย (sugarcane)	*B. sacchari* (Butler) Shoem. (อเมริกา)	Ferreira and Comstock (1993)
		B. hawaiiensis (Ellis) Uchida & Aragaki (อเมริกา)	Ferreira and Comstock (1993)
		E. rostratum (Drechs.) Leonard & Suggs (อเมริกา)	Ferreira and Comstock (1993)
		D. halodes (Drechs.) Subra. & Jain (อเมริกา)	Ferreira and Comstock (1993)
16. *Secale cereale* L.	ข้าวไรย์ (rye)	*B. sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (อเมริกา)	Curfer (1993)
		B. sativum Pammel (อเมริกา)	Curfer (1993)
		E. turcicum (Pass.) Leonard & Suggs (อเมริกา)	Curfer (1993)
17. *Sorghum bicolor*	ข้าวฟ่าง (sorghum)	*B. sorghicola* (Lefebvre & Sherwin) Alcorn (อเมริกา)	Horne and Frederiksen (1993)
		B. cookei (Sacc.) Shoem. (อเมริกา)	Horne and Frederiksen (1993)
		E. turcicum (Pass.) Leonard & Suggs (อเมริกา)	Horne and Frederiksen (1993)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชื่อพืชเศรษฐกิจ	ชื่อสามัญ	เชื้อสาเหตุ (ประเทศที่พบ)	เอกสารอ้างอิง
18. *Triticum* spp.	ข้าวสาลี (wheat)	*B. sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (อเมริกา)	Wiese *et al.* (2000)
		D. campanulata (Lev.) Sutton (อเมริกา)	Wiese *et al.* (2000)
		D. wirreganesis Wallbork (อเมริกา)	Wiese *et al.* (2000)
		D. tritici - repentis Shoem. (อเมริกา)	Riaz *et al.* (1991)
19. *Zea mays* L.	ข้าวโพด (corn)	*B. maydis* (Nisikado & Miyake) Shoem. (อเมริกา ญี่ปุ่น จีน)	Shurtlefff (1980)
		B. sativum Pammel (อเมริกา)	Kucharek and Raid (2000)
		B. sorokiniana (Sacc.) Shoem. (อเมริกา)	Kucharek and Raid (2000)
		B. victoriae (Meehan & Murphy) Shoem. (อเมริกา)	Kucharek and Raid (2000)
		B. zeicola (Stout) Shoem. (อเมริกา)	Kucharek and Raid (2000)
		E. pedicellatum (Henry) Leonard & Suggs (อเมริกา)	Kucharek and Raid (2000)
		E. prolatum Leonard & Suggs (อเมริกา อินเดีย)	Shurtlefff (1980)
		E. rostratum (Drechs.) Leonard &Suggs (อเมริกา)	Shurtlefff (1980)
		E. turcicum (Pass.) Leonard & Suggs (อเมริกา)	Shurtleff (1980)

5. การใช้เชื้อรา *Helminthosporium* - complex สำหรับควบคุมวัชพืช

การควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ วิธีการนี้เป็นการใช้สิ่งมีชีวิต หรือศัตรูธรรมชาติของวัชพืช เป็นปัจจัยในการควบคุมการเจริญเติบโตของวัชพืชชนิดนั้น เพื่อลดความหนาแน่น และความเสียหายที่เกิดจากวัชพืชให้น้อยลง เช่น การใช้ด้วงงวงควบคุมผักตบชวา (บรรพต ณ ป้อมเพชร และคณะ, 2522) นอกจากนี้ยังมีการนำเชื้อโรค มาใช้ควบคุมวัชพืช ซึ่งมีการศึกษากันมากในต่างประเทศ เช่น

การใช้เชื้อ *E. monoceras* ควบคุมวัชพืชในสกุล *Echinochloa* spp. ได้แก่ หญ้าข้าวนก (*E. crus - galli*) และหญ้านกสีชมพู (*E. colonum*) เป็นวัชพืชซึ่งสร้างความเสียหายอย่างมากในนาข้าว การควบคุมวัชพืชใช้ผงโคนิเดีย อัตราความเข้มข้น $5x10^7$ โคนิเดีย/ตารางเมตร โรยบนหญ้าทั้ง 2 ชนิด จากการทดลอง สามารถควบคุมวัชพืชได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยพืชแสดงอาการใบไหม้ และใบเหี่ยว (Zhang *et al.*, 1996)

Figliola และคณะ (1988) ศึกษาการใช้เชื้อ *B. setariae* ควบคุมการระบาดของหญ้าตีนกา (*Eleusine indica*) พบว่าไม่ส่งผลกระทบต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม การควบคุมวัชพืชใช้โคนิเดียแขวนลอย อัตราความเข้มข้น 2-6 $x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ฉีดบนหญ้าตีนกาอายุ 2 สัปดาห์ หลังปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ วัชพืชแสดงอาการใบจุดสีน้ำตาล ลำต้นไหม้ และแห้งตายทั้งหมด เชื้อ *B. setariae* ควบคุมหญ้าตีนกา ได้ 100 เปอร์เซ็นต์

Chiang และคณะ (1989) ศึกษาการใช้เชื้อรา *B. halepense* และ *E. turcicum* ควบคุมการระบาดของหญ้าพง (*Sorghum halepense*) โดยนำโคนิเดียของเชื้อราทั้ง 2 ชนิด ซึ่งอยู่ในรูป โคนิเดียแขวนลอยอัตรา ความเข้มข้น $4x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ฉีดบนหญ้าพงอายุ 1 สัปดาห์ หลังจากปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ สามารถยับยั้งการงอก และการเจริญเติบโตของวัชพืชในระดับ 82-92 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

Chandramohan และ Charudattan (2001) ศึกษาการใช้เชื้อรา 3 ชนิด คือ *D. gigantea* *E. longirostratum* และ*E. rostratum* ควบคุมการระบาดของหญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis*) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium*) และหญ้ากินี (*Panicum maximum*) โดยนำโคนิเดียเชื้อราแต่ละชนิด ในรูปโคนิเดียแขวนลอย อัตราความเข้มข้น $2x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ผสม 0.05% Tween 20 ก่อนฉีดบนต้นกล้าวัชพืชอายุ 4 สัปดาห์ เชื้อราทั้ง 3 ชนิด สามารถควบคุมการระบาดของหญ้าตีนนก หญ้าปากควาย และหญ้ากินี ในระดับ 83-100 เปอร์เซ็นต์

สำหรับในประเทศไทยได้มีการสำรวจ และจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรควัชพืช โดย อาทิตย์ กุคำอู และคณะ (2544) ศึกษาวัชพืชในนาข้าว พบหญ้านกสีชมพู เป็นโรคใบจุด หรือใบไหม้ สาเหตุจากเชื้อรา *E. rostratum* และ *E. monoceras* หญ้าดอกแดง เป็นโรคใบจุด หรือ

ใบไหม้ สาเหตุจากเชื้อรา *E. rostratum* และ *B. sorokiniana* จากการทดสอบเบื้องต้น โดยใช้โคนิเดียแขวนลอย ความเข้มข้น $1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร พบว่าเชื้อราแต่ละชนิดทำให้พืช แสดงอาการแผลขนาดเล็กบนใบ แต่แผลไม่ลุกลามรุนแรง ซึ่งอาจมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง จึงควรทำการศึกษาต่อไป

6. ปัจจัยของสภาพแวดล้อมต่อการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา

6.1 แสง และอุณหภูมิ

เชื้อราแต่ละชนิดมีความต้องการ และการตอบสนองต่อแสง และอุณหภูมิ แตกต่างกันไป ซึ่งลักษณะการตอบสนองของเชื้อรา พบได้บ่อยครั้ง มีด้วยกัน 2 ลักษณะ คือ

6.1.1 การชักนำให้เกิดการสร้างโคนิเดีย

แสง และอุณหภูมิ มีอิทธิพลในการส่งเสริมให้เชื้อรามีการเจริญ และเพิ่มปริมาณโคนิเดียได้โดยตรง ตัวอย่างเช่น การสร้างก้านชูสปอร์ (sporophores) ของเชื้อราวงศ์ Agaricales และในส่วนของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ แสงมีบทบาทในการชักนำให้มีการสร้าง pycnidia และ sporangia ของเชื้อราวงศ์ Mucorales

6.1.2 การยับยั้งการสร้างโคนิเดีย

เชื้อราบางชนิด สามารถเจริญได้ดีในที่มืด เมื่อนำมาเลี้ยงในที่มีแสงสว่าง จึงทำให้กระบวนการสร้างโคนิเดีย เกิดขึ้นได้น้อย ตัวอย่างเช่น เชื้อรา *Diaporthe phaseolorum* นำไปวางในที่มืด จะมีการเพิ่มจำนวน หรือผลิต โคนิเดียเป็นจำนวนมาก หรือเชื้อรา *Alternaria brassicae* มีการสร้างโคนิเดีย และโคนิดิโอฟอร์ จำนวนมาก เมื่อบ่มเชื้อไว้ในที่มืด

7. การจัดจำแนกเชื้อรา โดยใช้ข้อมูลทางพันธุกรรม

โดยทั่วไป การจัดจำแนกเชื้อราจะใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นหลัก แต่ปัญหาสำคัญ ของการจัดจำแนกเชื้อรา พบว่า ไม่สามารถบอกความแตกต่างของเชื้อราชนิดเดียวกัน ซึ่งเก็บจากพื้นที่แตกต่าง ๆ กันได้ ในปัจจุบันด้วยความก้าวหน้าของวิธีการทางชีวโมเลกุล จึงมีการประยุกต์วิธีต่าง ๆ เพื่อใช้ศึกษาถึงสารพันธุกรรม และนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้ ในการจัดจำแนกเชื้อรา เพื่อส่งเสริมการจัดจำแนกทางด้านสัณฐานวิทยา

Rachel และคณะ (1999) ศึกษาการนำเทคนิค Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) เพื่อวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อรา สาเหตุโรคในกลุ่มของเชื้อรา Dematiaceous ซึ่งเทคนิค RAPD เป็นวิธีการประเมินความแตกต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA sequence) โดยการทำ PCR โดยไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของดีเอ็นเอ

เป้าหมาย ซึ่งไพรเมอร์ที่ใช้ จะไม่มีความจำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอเป้าหมาย วิธีการดังกล่าวจะแสดงผลในรูปของแถบดีเอ็นเอ ที่มีขนาดแตกต่างกัน โดยสามารถแสดงถึงความแตกต่างของลำดับเบส DNA ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวสามารถนำมา แยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต ในระดับ genus species subspecies ได้ (Guarro *et al.*, 1999)

Oliveria และคณะ (2002) ศึกษาเทคนิค RAPD มาใช้เพื่อตรวจสอบความแตกต่างของเชื้อรา *B. sorokiniana* ในแต่ละไอโซเลท ซึ่งแยกจากพืชชนิดต่าง ๆ เช่น ข้าวฟ่าง ข้าวบาร์เลย์ และหญ้า ในประเทศบราซิล

Santo และคณะ (2002) ศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา *D. tritici – repentis* เป็นเชื้อสาเหตุโรคใบจุดที่สำคัญของข้าวฟ่าง ทางตอนใต้ของประเทศบราซิล โดยทำการเก็บตัวอย่างโรคบนเมล็ดข้าวฟ่าง จากแต่ละรัฐ เพื่อศึกษาความหลากหลายของเชื้อ โดยใช้เทคนิค RAPD

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อทราบชนิดของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ซึ่งทำลายวัชพืชในบริเวณจังหวัดสงขลาและใกล้เคียง
2. ศึกษาความแตกต่างของเชื้อราแต่ละชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิค RAPD (random amplified polymorphic DNA)
3. เพื่อศึกษาหาเชื้อรา *Helminthosporium* - complex บางชนิดที่ทำให้เกิดโรครุนแรงและสามารถนำมาควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี

บทที่ 2
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อรา

- Czapek – Dox agar (CDA)
- Malt extract agar (MEA)
- V-8 juice Agar (VA)
- Corn meal agar (CMA)
- Potato dextrose agar (PDA)
- Potato dextrose broth (PDB)

2. สารเคมี

- agarose gel
- chloroform
- ethidium bromide
- ethylene diaminetetraacetic acid disodium salt dehydrate (EDTA)
- isopropanol
- nucleic acid sample loading buffer
- sodium chloride
- sodiumdodecyl sulfate
- 2-mercapto-ethanol
- Tris (hydroxymethyl-aminomethane)
- phenol
- lactophenol
- dNTP
- DAN template 30 nanogram
- *Taq.* polymerase 1 unit
- 10 x PCR buffer

- Ethyl alcohol 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
- Proteinase K
- sodium acetate
- lysis buffer
- liquid nitrogen
- กระดาษกรองเบอร์ 4
- ไพรเมอร์ (primer)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานเลี้ยงเชื้อ ฟลาสก์ บีกเกอร์ กระบอกตวง หลอดทดสอบ
2. ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 20 100 และ 1,000 ไมโครลิตร
3. อุปกรณ์ในการแยกเชื้อ ได้แก่ เข็มเขี่ย ลูป มีดผ่าตัด ตะเกียงแอลกอฮอล์
4. เครื่อง PCR
5. เครื่องเขย่า (shaker)
6. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด (analytical balance)
7. เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter)
8. หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
9. ตู้อบฆ่าเชื้อ (hot air oven)
10. ตู้บ่มเชื้อ (incubator)
11. ตู้เขี่ยเชื้อ (Lamina flow cabinet)
12. กล้องจุลทรรศน์แบบคอมพาวน์ (compound microscope)
13. กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereo microscope)
14. กล้องถ่ายรูป (camera)
15. ฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer)
16. gel documentation
17. ชุด อิเล็กโตรโฟริซิส
18. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
19. หลอดเซ็นตริฟิวส์ (microcentrifuge) ขนาด 1.5 ไมโครลิตร
20. เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น EBA 12 R

ฝ่ายหอสมุด
คณะวิทยาศาสตร์

วิธีการ

1. การเก็บรวบรวมเชื้อสาเหตุโรคใบจุดและใบไหม้ (*Helminthosporium* - complex)

เก็บตัวอย่างโรคใบจุดและใบไหม้บนวัชพืชที่คาดว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *Helminthosporium* - complex จากบริเวณจังหวัดสงขลา พัทลุง ตรัง นครศรีธรรมราช กระบี่ พังงา ภูเก็ต และสุราษฎร์ธานี เก็บตัวอย่างละ 3 จุดต่อ 1 จังหวัด จากวัชพืช 24 ชนิด คือ

- หญ้าใบไผ่ (*Acroceras munroanum*)
- ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus*)
- หญ้าขน (*Brachiaria mutica*)
- หญ้ารังนก (*Chloris barbata*)
- สาบเสือ (*Chromolaena odoratum*)
- แห้วหมู (*Cyperus rotundus*)
- หญ้าตีนนก (*Digitaria adscendens*)
- หญ้าตีนกา (*Eleusine indica*)
- หนวดปลาดุก (*Fimbristylis miliacea*)
- หญ้าขจรจบ (*Pennisetum polystachyon*)
- ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea*)
- หญ้าดอกแดง (*Rhycholytrum repens*)
- สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides*)
- หญ้ามาเลย์ (*Axonopus compressus*)
- หญ้าสอนกระจับ (*Cenchrus echinatus*)
- ผักปราบ (*Commelina benghalensis*)
- หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*)
- หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium*)
- หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum*)
- ผักยาง (*Euphorbia heterophylla*)
- หญ้าคา (*Imperata cylindrica*)
- หญ้าเนเปียร์ (*Pennisetum purpureum*)
- หญ้าโขย่ง (*Rottboellia cochinchinensis*)
- หญ้าหวาย (*Sporobolus diantum*)

นำตัวอย่างโรคใบจุดและใบไหม้ บนวัชพืชใส่ในกล่องชื้น (moist chamber) ซึ่งเตรียมจากการนำกระดาษทิชชูพับให้ได้ขนาดรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า วางในจานเลี้ยงเชื้อ หยดน้ำกลั่น 4 -5 หยด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 - 7 วัน ตรวจดูลักษณะการสร้างโคนิเดียบนเนื้อเยื่อพืชภายใต้กล้อง stereo microscope ย้ายโคนิเดียด้วยวิธีแยกโคนิเดียเดี่ยว (single spore)ใช้เข็มเขี่ยขนาดเล็ก (micropin) เขี่ยโคนิเดียเชื้อราวางในอาหาร CMA ในจานเลี้ยงเชื้อ จานละ 5 จุดจำนวน 5 จาน บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เมื่อโคนิเดียเชื้อรางอกจึงตัดปลายเส้นใยย้ายเลี้ยงใน PDA slant เพื่อเป็นตัวแทนสำหรับศึกษาต่อไป

2. การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex

2.1 ศึกษาสัณฐานวิทยาของโคนิเดียจากเนื้อเยื่อวัชพืชที่เป็นโรค

นำตัวอย่างวัชพืชแสดงอาการโรคใบจุดและใบไหม้ บ่มเชื้อในกล่องชื้นเป็นเวลา 2 – 7 วัน จึงตรวจหาเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ภายใต้กล้อง stereo microscope ใช้เข็มเขี่ยขนาดเล็ก เขี่ยส่วนโคนิเดียและโคนิดิโอฟอร์ บนเนื้อเยื่อพืชลงในแผ่นสไลด์ เพื่อทำ semi - permanent slide และเขี่ยให้ได้โคนิเดียเดี่ยว วางบริเวณกึ่งกลางจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงตรวจดูลักษณะการงอกของโคนิเดีย (spore germination) บันทึกผล บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 - 15 วัน ในอาหาร CMA วัดขนาดโคนิเดีย โคนิดิโอฟอร์ และลักษณะการเจริญเติบโตของโคโลนี เปรียบเทียบกับหนังสืออ้างอิงของ Ellis (1971 ,1976) และ Sivanesan (1987)

2.2 การจำแนกทางชีวโมเลกุลโดยใช้เทคนิค RAPD

(Random Amplified Polymorphic DNA)

เป็นเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออย่างสุ่ม โดยอาศัยกระบวนการ PCR (Polymerase Chain Reaction) ของเชื้อ *Helminthosporium* - complex จำนวน 9 ไอโซเลท โดยแต่ละไอโซเลทเป็นตัวแทนเชื้อราแต่ละชนิด รายละเอียดมีดังนี้

2.2.1 ย้ายเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA ลงอาหารเหลว PDB ในฟลาสก์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที วางบนเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็ว 150 รอบ/นาที นาน 7 วัน กรองเส้นใยด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4

2.2.2 นำเส้นใยจากข้อ 2.2.1สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการของ Oliveira และคณะ (2002)

2.2.2.1 บดตัวอย่างเส้นใยเชื้อรา 1 กรัม ในโกร่งแช่เย็น เติมไนโตรเจนเหลวให้ท่วมเส้นใยเชื้อรา และบดให้ละเอียด ปล่อยให้ไนโตรเจนเหลวระเหยจนหมด จึงเติม lysis buffer 1 มิลลิลิตร [200 mM Tris - HCl pH 8.0, 250 mM NaCl, 25 mM EDTA pH 8.0, 1% Sodium dodecyl sulfate] เติม ใส่ในหลอดเซ็นตริฟิวส์ขนาด 1.5 มิลลิลิตรβ - mercaptoethanol 10 μL /ml และ proteinase K 50 μg / ml ผสมให้เข้ากันก่อนนำมาสกัด

2.2.2.2 ผสมส่วนของเชื้อและบัฟเฟอร์ให้เข้ากัน จึงบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 64 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที พลิกหลอดไปมา 10 - 20 ครั้ง

2.2.2.3 นำหลอดไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที เพื่อให้อุณหภูมิลดลง แล้วเติม chloroform ปริมาตร 700 ไมโครลิตร เขย่าเบา ๆให้ตัวอย่างผสมกับ chloroform พลิกหลอดไปมา 10 - 20 ครั้ง นำหลอดตัวอย่างไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 12,000 g ที่ 24 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

2.2.2.4 หลังการหมุนเหวี่ยงดูดเฉพาะส่วนใส (supernatant) ใส่ในหลอดใหม่ เติม chloroform ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยพลิกหลอดไปมา และนำไปหมุนเหวี่ยงความเร็วรอบ 12,000 g ที่ 24 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

2.2.2.5 ตกตะกอนดีเอ็นเอ ด้วย 3 M Sodium acetate (0.1 เท่าของปริมาตร) และ isopropanal (2.5 เท่าของปริมาตร) เก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีนำหลอดไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 12,000 g ที่ 24 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

2.2.2.6 เทส่วนน้ำทิ้งล้างตะกอนด้วยเอทธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 5,000 g ที่ 24 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

2.2.2.7 เทส่วนน้ำทิ้ง คว่ำหลอดบนกระดาษซับให้แห้ง หรือปล่อยให้แห้งในสภาพอุณหภูมิห้อง ละลายตะกอนด้วย TE buffer ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2.2.3 เพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอแบบสุ่มโดยเทคนิค PCR

ทดสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อ *Helminthosporium* – complex ใช้ไพรเมอร์ 7 ชนิด (ตารางที่3) ซึ่งผ่านการทดสอบแล้วว่า เป็นตัวแทนไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อราในกลุ่มนี้ได้ (Oliveira *et al.*, 2002) สภาพที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา PCR จากปริมาตร 25 ไมโครลิตร ใช้ความเข้มข้นของสารละลายต่าง ๆ ดังนี้ ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 30 นาโนกรัม ไพรเมอร์เข้มข้น 0.8 ไมโครโมลาร์ บัฟเฟอร์เข้มข้น 10 เท่า ดีออกซีนิวคลีโอไทด์เข้มข้นชนิดละ 60 มิลลิโมลาร์ เอ็นไซม์ *Taq* DNA polymerase 1 ยูนิต สภาวะที่ใช้ในการทำ PCR ตั้งอุณหภูมิเป็น 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 เป็นขั้นตอนการทำลายพันธะระหว่าง nucleotides ทำให้สายดีเอ็นเอ ที่ม้วนเกลียวอยู่เป็นคู่แยกออกจากกันเป็นเส้นตรง 2 เส้น อุณหภูมิเริ่มต้นใช้อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ระดับที่ 2 ซึ่งเป็นขั้นตอนในการจับคู่ระหว่างไพรเมอร์ กับดีเอ็นเอเป้าหมาย ใช้อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ระดับที่ 3 ขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ทำให้เกิดการสร้าง ดีเอ็นเอ ต่อเนื่องได้มากเพราะเป็นการสร้างแบบเพิ่มจำนวนทวีคูณ ซึ่งใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที จำนวน 45 รอบ ตามด้วย 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที, 35 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที, 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที จำนวน 1 รอบ การทำ PCR แต่ละตัวอย่างทดลองทำซ้ำอย่างน้อยจำนวน 2 ครั้ง เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลองที่ตรงกัน

ตารางที่ 3 ลำดับเบสของไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาการจำแนกเชื้อ *Helminthosporium* – complex

ชนิดของไพรเมอร์	ลำดับเบส
OPA- 01	CCCAAGGTCC
OPA- 02	GGTGCGGGAA
OPA- 06	GAGTCTCAGG
OPA- 08	ACGCACAACC
OPA- O6	GTGACATGCC
OPA- 07	AGATGCAGCC
OPC- 13	AAGCCTCGTC

ที่มา: Oliveira และคณะ (2002)

2.2.4 การเตรียมอะกาโรสเจลเพื่อดูผลผลิต PCR

นำผลผลิต PCR ที่ได้แยกขนาดดีเอ็นเอโดยทำอิเล็กโทรโฟรีซีส บนตัวกลาง คือ อะกาโรสเจลความเข้มข้น 1.50 เปอร์เซ็นต์ ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE (Tris - Base Acetic acid, 0.5M Na_2 EDTA pH8.0) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที จึงย้อมแผ่นเจลด้วยสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ล้างสีส่วนเกินออกด้วยการแช่น้ำกลั่นเป็นเวลา 20 นาที ดูภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต และเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอของเชื้อราแต่ละชนิด

2.2.5 ตรวจสอบความแตกต่างของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ

ตรวจสอบความแตกต่างของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ภายใต้เครื่องเรืองแสงอัลตร้าไวโอเลต บันทึกภาพด้วย Gel documentation นำภาพที่บันทึกแถบดีเอ็นเอ เปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละชนิด

2.2.6 วิเคราะห์ความสัมพันธ์และ ความใกล้ชิดทางพันธุกรรม

แปลงข้อมูลแถบดีเอ็นเอ เป็นข้อมูลแบบ binary โดยให้ตำแหน่งที่มีแถบดีเอ็นเอ มีค่าเท่ากับ 1 และ ตำแหน่งที่ไม่ปรากฏดีเอ็นเอให้ค่าเท่ากับ 0 คำนวณความสัมพันธ์ของแถบดีเอ็นเอออกมาในรูปค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (Similarity Index) และสร้างเดนโดรแกรมจากการวิเคราะห์แบบ Cluster Analysis วิธี UPGMA (Sneath and Sokal , 1973) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ สำเร็จรูป NTSY เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่ม และภายในกลุ่มเชื้อราแต่ละชนิด

3. การพิสูจน์โรค

3.1. การเตรียมเชื้อรา

นำเชื้อ *Helminthosporium* – complex ที่คัดเลือกได้จำนวน 15 ไอโซเลท ซึ่งเป็นเชื้อราที่สามารถเจริญ และสร้างโคนิเดียได้ดีบนอาหาร CMA จึงนำเชื้อมาบ่มที่ 28 องศาเซลเซียส นาน 15 วัน เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเทในจานเลี้ยงเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วฆ่าเชื้อขูดโคนิเดีย บนผิววุ้นให้หลุดออก เก็บโคนิเดียแขวนลอย นับจำนวนโคนิเดียโดยใช้ ฮีมาไซโตมิเตอร์ และปรับโคนิเดียแขวนลอยให้ได้ความเข้มข้นปริมาณ $1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

3.2 การเตรียมกล้าวัชพืช

เตรียมต้นกล้าวัชพืชอายุ 20 วัน นำชิ้นส่วนพืชในตำแหน่งของไหล และเมล็ดเพาะให้รากงอกความยาว 3-4 เซนติเมตร ปลูกในถุงขนาด 6x14 นิ้ว ถุงละ 5 ต้น จำนวน 3 ถุง เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.3 การปลูกเชื้อ

โ โคนิเดียแขวนลอยของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ความเข้มข้น$1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต่อ 1 ถุง ปลูกเชื้อ โดยการพ่นเชื้อ ลงบนวัชพืชซึ่งเป็นพืชอาศัยของเชื้อ ที่สำรวจพบในธรรมชาติ นำถุงพลาสติกคลุมต้นกล้าวัชพืช เพื่อรักษาความชื้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลองทุก ๆ 7 วัน จนพืชมีอายุครบ 30 วัน

4. การทดสอบ host range

คัดเลือกเชื้อ *Helminthosporium* – complex จำนวน 15 ไอโซเลท จากข้อ 3 นำมาทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคบนพืชเศรษฐกิจหรือไม่ ชนิดของพืชทดสอบ ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง อายุ 20 วัน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 2 กรรมวิธี คือ ปลูกเชื้อ และไม่ปลูกเชื้อ จำนวน 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีถุงเพาะกล้าจำนวน 3 ถุง ๆ ละ5 ต้น ปลูกเชื้อรา *Helminthosporium* - complex (H) ตามวิธีการในข้อ 3.3 ส่วนกรรมวิธีไม่ปลูกเชื้อ ฉีดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ประเมินความรุนแรงของโรคด้วยสายตา เกณฑ์วัดระดับการเกิดโรคมีดังนี้

0 = ไม่มีอาการใบจุดและใบไหม้

1 = มีอาการใบจุดและใบไหม้ 1 – 25 เปอร์เซ็นต์

2 = มีอาการใบจุดและใบไหม้ 26 – 50 เปอร์เซ็นต์

3 = มีอาการใบจุดและใบไหม้ 51 – 75 เปอร์เซ็นต์

4 = มีอาการใบจุดและใบไหม้ มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์

5. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างโคนิเดียของเชื้อ *Exserohilum monoceras* จากผลการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Helminthosporium* complex บนวัชพืช (ข้อ 3) และไม่ก่อโรคในพืชเศรษฐกิจ (ข้อ 4) คัดเลือกเชื้อได้ 1 ชนิดคือ *E. monoceras* เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* ดังต่อไปนี้

5.1 ปริมาณโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* ในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด

ทดลองโดยเลี้ยงเชื้อรา *E. monoceras* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 6 ชนิด เพื่อเปรียบเทียบ การเจริญของเส้นใยและปริมาณโคนิเดีย โดยนำโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* มา 1 โคนิเดีย วางบริเวณศูนย์กลางจานเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 15 วัน วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 6 กรรมวิธีคือ Corn meal agar (CMA), Czapek - Dox agar (CDA), Malt extract agar (MEA), Potato dextrose agar (PDA), ½ Potato dextrose agar (½PDA),
V - 8 agar (VA) แต่ละกรรมวิธีมี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 จานเลี้ยงเชื้อ ตรวจผลโดยวัดขนาดโคโลนี และนับจำนวนโคนิเดีย เทน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อลงในจานเลี้ยงปริมาณ 10 มิลลิลิตร/จาน ใช้แท่งแก้วฆ่าเชื้อขูดผิวหน้าอาหารเบา ๆ เทน้ำโคนิเดียแขวนลอยลงในบีกเกอร์ นับจำนวนโคนิเดีย โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ และคำนวณจำนวน โคนิเดีย/มิลลิลิตร

5.2 แสงต่อปริมาณโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* ในอาหาร VA

ทดลองเลี้ยงเชื้อ เช่นเดียวกับข้อ 5.1 แต่เลือกใช้อาหารชนิดเดียวคือ VA วางเลี้ยงโดยให้ได้รับแสงแตกต่างกัน วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 3 กรรมวิธี คือกรรมวิธีที่ 1 วางเลี้ยงเส้นใยในที่มืด 24 ชั่วโมง/วัน กรรมวิธีที่ 2 วางเลี้ยงเส้นใยให้ได้รับแสงสว่างปกติในห้องปฏิบัติการ 12 ชั่วโมง/วัน กรรมวิธีที่ 3วางเลี้ยงเส้นใยภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 12 ชั่วโมง/วัน ตลอดการทดลอง แต่ละกรรมวิธีมี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 จานเลี้ยงเชื้อ ตรวจผลโดยวัดขนาดโคโลนี และนับจำนวนโคนิเดียตามวิธีการในข้อ 5.1

5.3 อุณหภูมิต่อปริมาณโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* บนอาหาร VA

ทดลองเลี้ยงเชื้อ เช่นเดียวกับข้อ 5.2 วางเลี้ยงในตู้ปรับอุณหภูมิซึ่งปรับอุณหภูมิไว้ที่ระดับต่าง ๆ คือ 20, 25, 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 จานเลี้ยงเชื้อ ตรวจผลโดยวัดขนาดโคโลนี และ นับจำนวนโคนิเดียตามวิธีการในข้อ 5.1

6. ศึกษาความสามารถของเชื้อรา *E. monoceras* ในการควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี

นำเชื้อรา *E. monoceras* ซึ่งทำให้เกิดโรครุนแรงบนหญ้านกสีชมพูแต่ไม่ทำลายพืชเศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิด คือ ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง มาควบคุมวัชพืชโดยชีววิธีในสภาพโรงเรือน โดยศึกษาอายุของหญ้านกสีชมพู และ ปริมาณความเข้มข้นของโคนิเดียแขวนลอย ต่อการเกิดโรคของหญ้านกสีชมพู วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล ใน CRD จัดกรรมวิธีแบบ 2 ปัจจัยการทดลอง ปัจจัยแรก คือ อายุวัชพืช ปัจจัยที่สองคือ ความเข้มข้นของโคนิเดียแขวนลอย รวมทั้งสิ้น 20 กรรมวิธี ๆ ละ 4 ซ้ำ โดยมีชุดทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 วัชพืชอายุ 7 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{3}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 2 วัชพืชอายุ 7 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{4}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 3 วัชพืชอายุ 7 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{5}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 4 วัชพืชอายุ 7 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{6}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 5 วัชพืชอายุ 7 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{7}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 6 วัชพืชอายุ 14 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{3}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 7 วัชพืชอายุ 14 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{4}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 8 วัชพืชอายุ 14 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{5}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 9 วัชพืชอายุ 14 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{6}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 10 วัชพืชอายุ 14 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{7}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 11 วัชพืชอายุ 21 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{3}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 12 วัชพืชอายุ 21 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{4}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 13 วัชพืชอายุ 21 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{5}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 14 วัชพืชอายุ 21 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{6}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 15 วัชพืชอายุ 21 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{7}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 16 วัชพืชอายุ 28 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{3}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 17 วัชพืชอายุ 28 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{4}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 18 วัชพืชอายุ 28 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{5}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 19 วัชพืชอายุ 28 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{6}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 20 วัชพืชอายุ 28 วัน + อัตราความเข้มข้น $1x10^{7}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

การปลูกเชื้อตามวิธีการในข้อ 3 และ บันทึกผลการทดลอง ตามวิธีการในข้อ 4 ตรวจสอบผลการเกิดโรคใบจุด และใบไหม้แต่ละถุงเพาะกล้า บันทึกภาพ และวิเคราะห์ผลทางสถิติ ซึ่งมีเกณฑ์การวัดระดับโรคดังนี้

0 = ไม่มีอาการใบจุดและใบไหม้

1 = มีอาการใบจุดและใบไหม้ 1 - 25 เปอร์เซ็นต์

2 = มีอาการใบจุดและใบไหม้ 26 - 50 เปอร์เซ็นต์

3 = มีอาการใบจุดและใบไหม้ 51 - 75 เปอร์เซ็นต์

4 = มีอาการใบจุดและใบไหม้ มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์

คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย (สืบศักดิ์ สนธิรัตน, 2540) ตามสูตรดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย} = \frac{\text{จำนวนต้นที่เป็นโรคแต่ละระดับ}}{\text{จำนวนต้นพืชที่สุ่ม}} \times \frac{100}{\text{ระดับสูงสุดของการเป็นโรค}}$$

บทที่ 3
ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. การเก็บรวบรวมเชื้อรา *Helminthosporium* - complex

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างวัชพืชแสดงอาการใบจุด และ ใบไหม้ จากบริเวณจังหวัดสงขลา และใกล้เคียง พบเชื้อรา *Helminthosporium* - complex บนวัชพืชจำนวน 14 ชนิด คือ หญ้าใบไผ่ หญ้าขน หญ้าสอนกระจับ หญ้ารังนก หญ้าแพรก หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนกา หญ้าคา หญ้าขจรจบ หญ้าเนเปียร์ หญ้าดอกแดง และหญ้าหวาย ส่วนวัชพืชซึ่งไม่พบเชื้อราจำนวน 10 ชนิด คือ สาบแร้งสาบกา ผักโขมหนาม หญ้ามาเลย์ ผักปราบ สาบเสือ แห้วหมู ผักยาง หนวดปลาดุก ผักเบี้ยใหญ่ และหญ้าโขย่ง (ตารางที่4) ทำการแยกเชื้อราซึ่งพบบนเนื่อเยื่อวัชพืชโดยวิธีแยกสปอร์เดี่ยว ในอาหาร CMA พบเชื้อราทั้งหมด 237 ไอโซเลท สามารถจำแนกเชื้อทั้งหมด 24 ชนิด เชื้อที่พบสามารถจำแนกได้ 3 สกุล (genus) คือ เชื้อรา *Bipolaris* จำนวน 11 ชนิด เชื้อรา *Drechslera* จำนวน 3 ชนิด เชื้อรา *Exserohilum* จำนวน 10 ชนิด วัชพืชซึ่งพบเชื้อรามากที่สุดคือ หญ้าปากควาย พบเชื้อราจำนวน 13 ชนิด รองลงมาคือ หญ้านกสีชมพู พบเชื้อราจำนวน 8 ชนิด ในส่วนของเชื้อราซึ่งพบมากที่สุดบนวัชพืชคือ *B. setariae* รองลงมาคือ *B. australiensis* และ *B. hawaiiensis* (ตารางที่5) เนื่องจากพื้นที่ ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างวัชพืช มีความหลากหลายของวัชพืชค่อนข้างมาก จึงทำให้จำนวนตัวอย่างเชื้อราที่นำมาศึกษาบนวัชพืชแต่ละชนิดมีจำนวนไม่เท่ากัน

จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถเก็บรวบรวมเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ได้เฉพาะบนวัชพืชใบแคบเท่านั้น ส่วนในวัชพืชใบกว้าง เช่น สาบแร้งสาบกา ผักโขมหนาม ผักปราบ สาบเสือ ผักยาง และผักเบี้ยใหญ่ ไม่พบเชื้อรา *Helminthosporium* - complex เข้าทำลายวัชพืชเหล่านี้ ซึ่งขัดแย้งกับรายงานของ Waterhouse (1994) พบเชื้อ *B. indica* บนผักโขมหนาม , *B. hawaiiensis* บนผักปราบ และ *Bipolaris* sp. บนผักยาง เป็นต้น (ตารางที่1) ซึ่งไม่พบว่า มีรายงานการพบเชื้อในประเทศไทย

ตารางที่ 4 วัชพืชและเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ที่พบบนวัชพืชชนิดนั้น ๆ

ชื่อวัชพืช	ชื่อ สามัญ	เชื้อรา	แหล่ง (วัน/เดือน/ปี)
1.*Acroceras munroanum* (Bala.) Henr.	หญ้าใบไผ่	*E. sorghicola* Sivan.	นครศรีธรรมราช (2/12/47)
2. *Ageratum conyzoides* L.	สาบแร้งสาบกา (goat weed)	ไม่พบ	
3. *Amaranthus spinosus* L.	ผักโขมหนาม (spiny amaranth)	ไม่พบ	
4. *Axonopus compressus* (Sw.) Beauv.	หญ้ามาเลย์ (carpet grass)	ไม่พบ	
5. *Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf.	หญ้าขน (para grass)	*B. leerisae* (Atk.) Shoem.	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
6. *Cenchrus echinatus* Linn.	หญ้าสอนกระจับ (sandbur)	*B. australis* Alcorn	สงขลา (10/4/48)
7. *Chloris barbata* Sw.	หญ้ารังนก (finger grass)	*B. australiensis* (Ellis) Tsuda & Ueyama	สงขลา (15/1/48)
		B. colocasiae (Tandan & Bhargava) Alcorn	สงขลา (15/1/48)
		B. cynodontis (Marignoni) Shoem.	พัทลุง (7/2/47)

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ชื่อวัชพืช	ชื่อ สามัญ	เชื้อรา	แหล่ง (วัน/เดือน/ปี)
8. *Commelina benghalensis* L.	ผักปราบ (wandering jew)	ไม่พบ	
9. *Chromolaena odoratum* (L.) King&Robinson	สาบเสือ (siam weed)	ไม่พบ	
10. *Cynodon dactylon* (L.) Pers.	หญ้าแพรก (bermuda grass)	*B. australis* Alcorn	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
		B. cynodontis (Marignoni) Shoem.	นครศรีธรรมราช (7/2/47)
		B. hawaiiensis (Ellis) Uchida & Aragaki	นครศรีธรรมราช (7/2/47)
			สงขลา (13/1/48)
			ตรัง (5/4/48)
			นครศรีธรรมราช (5/4/48)
		E. prolatum Leonard & Suggs	พังงา (9/10/48)
		B. setariae (Saw.) Shoem.	
11. *Cyperus rotundus* Linn.	แห้วหมู (nut sedge)	ไม่พบ	
12. *Dactyloctenium aegyptium* (L.) Beauv.	หญ้าปากควาย (crowfoot grass)	*B. australiensis* (Ellis) Tsuda & Ueyama	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
		B. cynodontis (Marignoni) Shoem.	สงขลา (10/4/47)
		B. ellisii (Danquah) Alcorn	สงขลา (5/4/48)

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ชื่อวัชพืช	ชื่อ สามัญ	เชื้อรา	แหล่ง (วัน/เดือน/ปี)
12. *Dactyloctenium aegyptium* (L.) Beauv.	หญ้าปากควาย (crowfoot grass)	*B. hawaiiensis* (Ellis) Uchida & Aragaki	ตรัง (5/4/48)
		B. setariae (Saw.) Shoem.	สงขลา (16/3/48)
		B. sorokiniana (Sacc.) Shoem.	สงขลา (17/12/47)
		D. euphorbiae (Hansford) Ellis	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
		E. holmii (Luttr.) Leonard & Suggs	พัทลุง (7/10/48)
		E. khartoumensis El Shafie & Webster	นครศรีธรรมราช (7/10/48)
		E. longirostratum (Subram.) Sivan.	ภูเก็ต (8/10/48)
		E. minor Alcorn	สงขลา (16/12/47)
		E. paspali Muchovej & Nesio	สงขลา (16/12/47)
		E. prolatum Leonard & Suggs	ภูเก็ต (8/10/48)
13. *Digitaria adscendens* (HBK.) Henr.	หญ้าตีนนก (crab grass)	*B. australiensis* (Ellis) Tsuda & Ueyama	นครศรีธรรมราช (15/1/48)
		B. hawaiiensis (Ellis) Uchida & Aragaki	ตรัง (5/4/48)
		E. khartoumensis El Shafie & Webster	สงขลา (10/4/48)
			นครศรีธรรมราช (7/10/48)
		E. rostratum(Drechs.) Leonard & Suggs	พังงา (8/10/48)

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ชื่อวัชพืช	ชื่อ สามัญ	เชื้อรา	แหล่ง (วัน/เดือน/ปี)
14. *Echinochloa colonum* (L.) Link.	หญ้านกสีชมพู (jungle rice)	*B. hawaiiensis* (Ellis) Uchida & Aragaki	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
		B. leersiae (Atk.) Shoem.	ตรัง (5/4/48)
		B. setariae (Saw.) Shoem.	สงขลา (15/1/48)
		D. teres (Sacc.) Shoem.	สงขลา (15/1/48)
		E. monoceras (Drechs.) Leonard & Suggs	นครศรีธรรมราช (2/12/47)
			สงขลา (18/12/47)
		E. rostratum(Drechs.) Leonard & Suggs	สงขลา (18/4/48)
		E. turcicum (Pass.) Leonard & Suggs	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
15. *Eleusine indica* (L.) Gaertn.	หญ้าตีนกา (goose grass)	*B. australiensis* (Ellis) Tsuda & Ueyama	สงขลา (15/1/48)
		B. cynodontis (Marignoni) Shoem.	ภูเก็ต (7/10/48)
			กระบี่ (9/10/48)
		B. setariae (Saw.) Shoem.	สงขลา (16/12/47)
		B. sorghicola (Lefebvre & Sherwin) Alcorn	ภูเก็ต (9/10/48)
		E. rostratum (Drechs.) Leonard & Suggs	พังงา (8/10/48)
16. *Euphorbia heterophylla* L.	ผักยาง (milk weed)	ไม่พบ	

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ชื่อวัชพืช	ชื่อ สามัญ	เชื้อรา	แหล่ง (วัน/เดือน/ปี)
17. *Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl.	หนวดปลาดุก	ไม่พบ	
18. *Imperata cylindrica* (L.) Beauv.	หญ้าคา (cogon grass)	*B. setariae* (Saw.) Shoem.	กระบี่ (9/10/48)
		B. sorghicola (Lefebvre & Sherwin) Alcorn	พังงา (9/10/48)
		D. erythrospila (Drechs.) Shoem.	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
19. *Pennisetum polystachyon* Schult.	หญ้าขจรจบดอกเล็ก	*B. australis* Alcorn	สงขลา (9/4/47)
	(feather pennisetum)	*B. setariae* (Saw.) Shoem.	สงขลา (20/3/48)
			สุราษฎร์ธานี (8/10/48)
			นครศรีธรรมราช (9/10/48)
		D. euphorbiae (Hansford.) Ellis	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
20. *Pennisetum purpureum*	หญ้าเนเปียร์ (napier grass)	*B. setariae* (Saw.) Shoem.	สุราษฎร์ธานี (8/10/48)
21. *Portulaca oleraceae* L.	ผักเบี้ยใหญ่	ไม่พบ	
	(common purselane)		

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ชื่อวัชพืช	ชื่อ สามัญ	เชื้อรา	แหล่ง (วัน/เดือน/ปี)
22. *Rottboellia cochinchinenis* Lour.	หญ้าโขย่ง (corn grass)	ไม่พบ	
23. *Rhycholytrum repens* Willd.	หญ้าดอกแดง (nata grass)	*B. australiensis* (Ellis) Tsuda & Ueyama	สงขลา (15/1/48)
		E. sorghicola Sivan.	สงขลา (9/4/47)
24. *Sporobolus diantum*	หญ้าหวาย	*E. prolatum* Leonard & Suggs	ภูเก็ต (8/10/48)

ตารางที่ 5 เชื้อรา *Helminthosporium* - complex ที่แยกได้จากวัชพืชชนิดต่าง ๆ

เชื้อรา	พืชอาศัย	แหล่ง (วัน/เดือน/ปี)
1. *B. australiensis* (Ellis) Tsuda & Ueyama	*Chloris barbata* Sw. หญ้ารังนก	สงขลา (15/1/48)
	Dactyloctenium aegyptium (L.) Beauv. หญ้าปากควาย	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
	Digitaria adscendens (HBK.) Henr. หญ้าตีนนก	นครศรีธรรมราช (15/1/48)
	Eleusine indica (L.) Gaertn. หญ้าตีนกา	สงขลา (15/1/48)
	Rhycholytrum repens Willd. หญ้าดอกแดง	สงขลา (15/1/48)
2. *B. australis* Alcorn	*Cenchrus echinatus* Linn. หญ้าสอนกระจับ	สงขลา (10/4/48)
	Cynodon dactylon (L.) Pers. หญ้าแพรก	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
	Pennisetum polystachyon Schult. หญ้าขจรจบดอกเล็ก	สงขลา (9/4/47)
3. *B. colocasiae* (Tandon & Bhargava) Alcorn	*Chloris barbata* Sw. หญ้ารังนก	สงขลา (15/1/48)
4. *B. cynodontis* (Marignoni) Shoem.	*Chloris barbata* Sw. หญ้ารังนก	พัทลุง (7/2/47)
	Cynodon dactylon (L.) Pers. หญ้าแพรก	นครศรีธรรมราช (7/2/47)
	Dactyloctenium aegyptium (L.) Beauv. หญ้าปากควาย	สงขลา (10/4/47)
	Eleusine indica (L.) Gaertn. หญ้าตีนกา	ภูเก็ต (7/10/48)
		กระบี่ (9/10/48)

ตารางที่ 5 (ต่อ)

เชื้อรา	พืชอาศัย	แหล่ง (วัน/เดือน/ปี)
5. *B. ellisii* (Danquah) Alcorn	*Dactyloctenium aegyptium* (L.) Beauv. หญ้าปากควาย	สงขลา (5/4/48)
6. *B. hawaiiensis* (Ellis) Uchida & Aragaki	*Chloris barbata* Sw. หญ้ารังนก	สงขลา (14/1/48)
		นครศรีธรรมราช (5/4/48)
		พังงา (8/10/48)
	Cynodon dactylon (L.) Pers. หญ้าแพรก	นครศรีธรรมราช (7/2/47)
		สงขลา (13/1/48)
		ตรัง (5/4/48)
	Dactyloctenium aegyptium (L.) Beauv.หญ้าปากควาย	ตรัง (5/4/48)
	Digitaria adscendens (HBK.) Henr. หญ้าตีนนก	ตรัง (5/4/48)
	Echinochloa colonum (L.) Link. หญ้านกสีชมพู	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
7. *B. leersiae* (Atk.) Shoem.	*Echinochloa colonum* (L.) Link. หญ้านกสีชมพู	ตรัง (5/4/48)
		สุราษฎร์ธานี (8/10/48)
	Brachiaria mutica (Forsk.) Stapf. หญ้าขน	นครศรีธรรมราช (5/4/48)

ตารางที่ 5 (ต่อ)

เชื้อรา	พืชอาศัย	แหล่ง (วัน/เดือน/ปี)
8. *B. sacchari* (Butler) Shoem.	*Chloris barbata* Sw. หญ้ารังนก	สุราษฎร์ธานี (8/10/48)
9. *B. setariae* (Saw.) Shoem	*Dactyloctenium aegyptium* (L.) Beauv. หญ้าปากควาย	สงขลา (16/3/48)
	Echinochloa colonum (L.) Link. หญ้านกสีชมพู	สงขลา (15/1/48)
	Pennisetum polystachyon Schult. หญ้าขจรจบดอกเล็ก	สงขลา (20/3/48)
	Eleusine indica (L.) Gaertn. หญ้าตีนกา	สุราษฎร์ธานี (8/10/48)
		นครศรีธรรมราช (9/10/48)
		สงขลา (16/12/47)
	Cynodon dactylon (L.) Pers. หญ้าแพรก	พังงา (9/10/48)
	Pennisetum purpureum หญ้าเนเปียร์	สุราษฎร์ธานี (8/10/48)
	Imperata cylindrica (L.) Beauv. หญ้าคา	กระบี่ (9/10/48)
10. *B. sorokiniana* (Sacc.) Shoem.	*Dactyloctenium aegyptium* (L.) Beauv. หญ้าปากควาย	สงขลา (17/12/47)
11. *B. sorghicola* (Lefebvre & Sherwin) Alcorn	*Imperata cylindrica* (L.) Beauv. หญ้าคา	พังงา (9/10/48)
	Eleusine indica (L.) Gaertn. หญ้าตีนกา	ภูเก็ต (9/10/48)

ตารางที่ 5 (ต่อ)

เชื้อรา	พืชอาศัย	แหล่ง (วัน/เดือน/ปี)
12. *D. erythrospila* (Drechs.) Shoem.	*Imperata cylindrica* (L.) Beauv. หญ้าคา	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
13. *D. euphorbiae* (Hansford) Ellis	*Pennisetum polystachyon* Schult. หญ้าขจรจบดอกเล็ก	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
	Dactyloctenium aegyptium (L.) Beauv. หญ้าปากควาย	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
14. *D. teres* (Sacc.) Shoem.	*Echinochloa colonum* (L.) Link. หญ้านกสีชมพู	สงขลา (15/1/48)
15. *E. holmii* (Luttr.) Leonard & Suggs	*Dactyloctenium aegyptium* (L.) Beauv. หญ้าปากควาย	พัทลุง (7/10/48)
16. *E. khartoumensis* El Shafie & Webster	*Digitaria adscendens* (HBK.) Henr. หญ้าตีนนก *Dactyloctenium*	สงขลา (10/4/48)
	aegyptium (L.) Beauv. หญ้าปากควาย	นครศรีธรรมราช (7/10/48)
		นครศรีธรรมราช (7/10/48)
17. *E. longirostratum* (Subram.) Sivan.	*Dactyloctenium aegyptium* (L.) Beauv. หญ้าปากควาย	ภูเก็ต (8/10/48)
18. *E. minor* Alcorn	*Dactyloctenium aegyptium* (L.) Beauv. หญ้าปากควาย	สงขลา (16/12/47)

ตารางที่ 5 (ต่อ)

เชื้อรา	พืชอาศัย	แหล่ง (วัน/เดือน/ปี)
19. *E. monoceras* (Drechs.) Leonard & Suggs	*Echinochloa colonum* (L.) Link. หญ้านกสีชมพู	นครศรีธรรมราช (2/12/47)
		สงขลา (18/12/47)
20. *E. paspali* Muchovej & Nesio	*Dactyloctenium aegyptium* (L.) Beauv. หญ้าปากควาย	สงขลา (16/12/47)
21. *E. prolatum* Leonard & Suggs	*Cynodon dactylon* (L.) Pers. หญ้าแพรก	นครศรีธรรมราช (5/4/48)
	Sporobolus diantum หญ้าหวาย	ภูเก็ต (8/10/48)
	Dactyloctenium aegyptium (L.) Beauv. หญ้าปากควาย	ภูเก็ต (8/10/48)
22. *E. rostratum* (Drechs.) Leonard & Suggs	*Eleusine indica* (L.) Gaertn. หญ้าตีนกา	พังงา (8/10/48)
	Digitaria adscendens (HBK.) Henr. หญ้าตีนนก	พังงา (8/10/48)
	Echinochloa colonum (L.) Link. หญ้านกสีชมพู	สงขลา (18/4/48)
23. *E. sorghicola* Sivan	*Acroceras munroanum* (Bala.) Henr. หญ้าใบไผ่	นครศรีธรรมราช (2/12/47)
	Rhycholytrum repens Willd. หญ้าดอกแดง	สงขลา (9/4/47)
24. *E. turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs	*Echinochloa colonum* (L.) Link. หญ้านกสีชมพู	นครศรีธรรมราช (5/4/48)

2. การจำแนกชนิด (species) ของเชื้อ *Helminthosporium* - complex

2.1 โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Helminthosporium* - complex จำนวน 237 ไอโซเลท บนเนื้อเยื่อวัชพืชแสดงอาการโรคใบจุด และใบไหม้ เปรียบเทียบกับในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA พบขนาดโคนิเดียและโคนิดิโอฟอร์ของเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA มีขนาดใหญ่กว่า บนเนื้อเยื่อพืช จากนั้นนำเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA จำแนกชนิดโดยเปรียบเทียบกับคู่มือของ Sivanesan (1987) และ จำแนกเป็น 3 สกุลคือ *Bipolaris* spp. จำนวน 153 ไอโซเลท (64.55 เปอร์เซ็นต์) *Drechslera* spp.จำนวน 15 ไอโซเลท (6.32 เปอร์เซ็นต์) *Exserohilum* spp. จำนวน 69 ไอโซเลท (29.11 เปอร์เซ็นต์) ดังสรุปในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 จำนวนชนิดและไอโซเลท ของเชื้อราในสกุลต่าง ๆ บนวัชพืช

กลุ่ม	จำนวน	
	ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์
1. genus *Bipolaris*	**153**	**64.55**
- *B. australiensis*	25	10.55
- *B. australis*	15	6.33
- *B. colocasiae*	5	2.11
- *B. cynodontis*	21	8.86
- *B. ellisii*	5	2.11
- *B. hawaiiensis*	25	10.55
- *B. leerisae*	9	3.79
- *B. sacchari*	5	2.11
- *B. setariae*	29	12.24
- *B. sorokiniana*	5	2.11
- *B. sorghicola*	9	3.79
2. genus *Drechslera*	**15**	**6.32**
- *D. erythrospila*	4	1.69
- *D. euphorbiae*	8	3.37
- *D. teres*	3	1.26
3. genus *Exserohilum*	**69**	**29.11**
- *E. holmii*	5	2.11
- *E. khartoumensis*	7	2.95
- *E. longirostratum*	4	1.70
- *E. minor*	3	1.26
- *E. monoceras*	5	2.11
- *E. paspali*	3	1.26
- *E. prolatum*	15	6.33
- *E. rostratum*	15	6.33
- *E. turcicum*	5	2.11
- *E. sorghicola*	7	2.95
รวม	237	100

2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราแต่ละชนิดมีดังนี้คือ

1. *Bipolaris australiensis* (Ellis) Tsuda & Ueyama (ภาพที่ 1)

Teleomorph - *Cochliobolus australiensis* (Tsuda & Ueyama) Alcorn

- *Pseudocochliobolus australiensis* Tsuda & Ueyama

ชื่ออื่น ๆ - *Drechslera australiensis* Ellis

- *Helminthosporium australiensis* Bugnicourt

ลักษณะของเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืชอาศัย ส่วนปลายมีลักษณะหักไปมา (flexuous) หรือโค้งงอ (geniculate) สีน้ำตาลอมแดงรูปร่างทรงกระบอก (cylindrical) มีผนังกั้น (septate) และเรียบ ความกว้าง 3.0-7.0 ไมครอน ความยาวมากกว่า 150 ไมครอน

โคนิเดีย มีรูปร่างตรง (straight) หรือรูปกลมไข่ (ellipsoid) สีน้ำตาลอมแดง ขนาด 6.0-11.0x14.0-40.0 ไมครอน มี 3-5 pseudoseptate โคนิเดียงอก(germtube) บริเวณส่วนปลายของโคนิเดียทั้ง 2 ด้าน

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส ลักษณะเส้นใยสีน้ำตาลอมเทา เจริญติดกับอาหารวุ้น สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีมีอายุ 7 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้ารังนก หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้าดอกแดง

หมายเหตุ

เชื้อรา *B. australiensis* เป็นราผสมข้ามสายพันธุ์ (heterothallic) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorph) เกิดจากการผสมสายพันธุ์ที่ต่างกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sach's agar (Sivanesan, 1987) ซึ่งมีส่วนประกอบของ sterilized rice straw พบบนหญ้ารังนก หญ้าตีนกา หญ้าตีนนก หญ้าดอกแดง หญ้าแพรก หญ้าขจรจบ หญ้าพง ข้าวโพด และข้าว พบในหลายประเทศ เช่น ออสเตรเลีย อินเดีย อิรัก ญี่ปุ่น นิวซีแลนด์ และซูดาร์

ภาพที่ 1. *Bipolaris australiensis* (Ellis) Tsuda & Ueyama ; โคนิดิโอฟอร์ และ โคนิเดีย

2. *Bipolaris australis* Alcorn (ภาพที่ 2)

Teleomorph - ไม่มีรายงาน

ชื่ออื่น ๆ - ไม่มีรายงาน

ลักษณะของเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ สีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลค่อนข้างแดง ลักษณะของโคนิดิโอฟอร์ตรง ทรงกระบอก ส่วนปลายมีลักษณะโค้งงอ และสามารถแตกแขนงได้ มองเห็นรอยแผล (scar) ชัดเจน มีผนังกั้น และเรียบ ขนาด 5.0-7.5x100-275 ไมครอน ส่วนปลายมีโคนิเดีย 3-4 โคนิเดีย

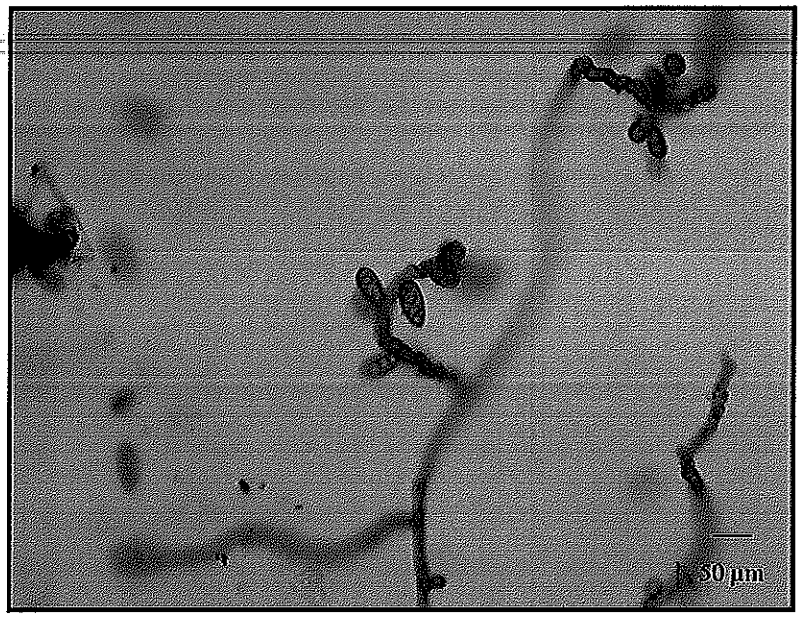
โคนิเดีย มีรูปร่างคล้ายทรงกระบอก (subcylindrical) หรือกระสวย (fusoid) บางครั้งมีรูปร่างคล้ายลูกศร (arrowly) สีน้ำตาลอ่อน จนถึงน้ำตาลค่อนข้างแดง บริเวณส่วนฐานของโคนิเดียอาจพบ hilum แต่ไม่ชัดเจน ขนาด 9.0-12.5x25–48 ไมครอน มี 3-4 pseudoseptate บางครั้งอาจพบผนังกั้น

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส ลักษณะเส้นใยสีน้ำตาลอมเทา เจริญติดกับอาหารวุ้น สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีอายุ 10 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าสอนกระจับ หญ้าแพรก หญ้าขจรจบ

หมายเหตุ

เชื้อรา *B. australis* ทำลายบริเวณช่อดอกของพืชหลายชนิด เช่น *Sporobolus caroli,*



ภาพที่ 2 *Bipolaris australis* Alcorn ; โคนิดิโอฟอร์ และ โคนิเดีย

3. *Bipolaris colocasiae* (Tandan & Bhargava) Alcorn (ภาพที่ 3)

Teleomorph - ไม่มีรายงาน

ชื่ออื่น ๆ
- *Drechslera colocasiae* Tandon & Bhargava
- *Drechslera cymmartinii* Misra & Singh
- *Helminthosporium cymmartinii* Misra

ลักษณะของเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ หรือพบเป็นกลุ่มบ้างเล็กน้อยบนเนื้อเยื่อพืช ลักษณะส่วนปลายของโคนิดิโอฟอร์โค้งงอ มีผนังกั้น โคนิเดียเกิดด้านข้างของโคนิดิโอฟอร์ใต้ผนังกั้น ขนาด 5.0-7.5x12.5-17.5 ไมครอน

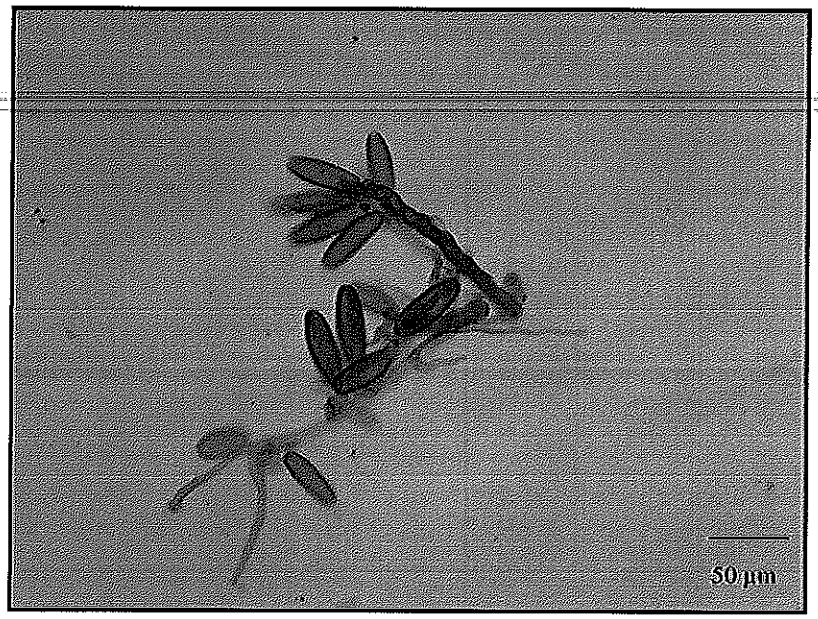
โคนิเดีย มีลักษณะตรง หรือคล้ายกระสวย สีน้ำตาลเข้ม ขนาด 5.0-10.0x20-47.5 ไมครอน มี 4-9 pseudoseptate โคนิเดียงอกบริเวณเซลล์ส่วนปลาย เพียงด้านใดด้านหนึ่ง

โคโลนี บนอาหาร CMA โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-7.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส ลักษณะเส้นใยสีน้ำตาลอมเทา สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีอายุ 10 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้ารังนก

หมายเหตุ

เชื้อรา *B. colocasiae* ก่อให้เกิดโรคใบจุดสีน้ำตาลของ *Cymbopogon martinii* ลักษณะแผลใบจุดความกว้าง 1-2 เซนติเมตร ความยาวมากกว่า 6 เซนติเมตร แผลเชื่อมต่อกันจนเป็นแผลขนาดใหญ่ แยกได้จาก *Cymbopogon flexuosus Colocasia esculenta Pennisetum americanum* และ *Brassica juncea* พบแพร่หลายในประเทศอินเดีย



ภาพที่ 3 *Bipolaris colocasiae* (Tandan & Bhargava) Alcorn ; โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

4. *Bipolaris cynodontis* (Marignoni) Shoem. (ภาพที่ 4)

Teleomorph - *Cochliobolus cynodontis* Nelson.

ชื่ออื่น ๆ - *Drechslera cynodontis* (Marignoni) Subram. & Jain

- *Helminthosporium cynodontis* Marignoni

ลักษณะของเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืช รูปร่างทรงกระบอกหักไปมา (flexuous) สีน้ำตาลเข้ม ผนังเรียบ มีผนังกั้น ความกว้าง 5.0-7.5 ไมครอน ความยาวมากกว่า 165 ไมครอน

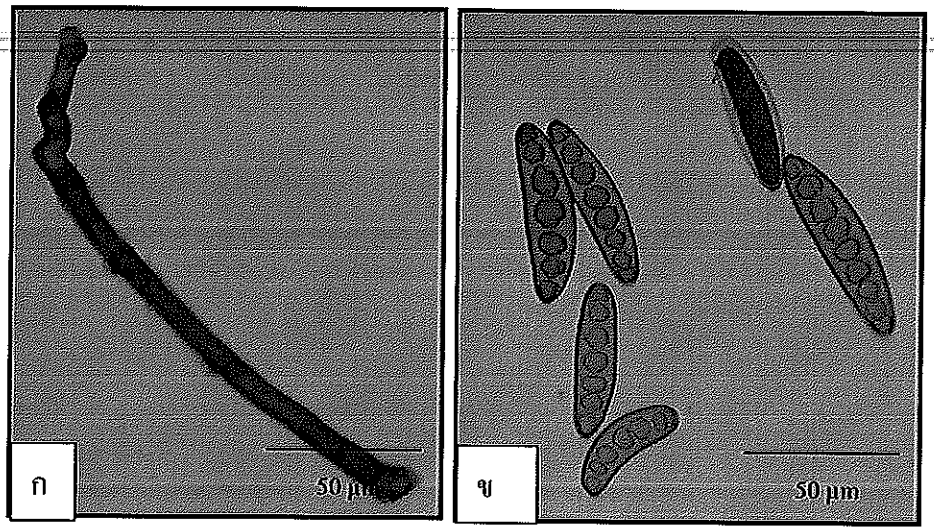
โคนิเดีย มีลักษณะตรง บางครั้งมีลักษณะทรงกระบอก สีน้ำตาลทอง ผนังเรียบ ขนาด 15.0-17.5x30.0-65.5 ไมครอน มี 6-11 pseudoseptate บางครั้งพบส่วนปลายของโคนิเดียมีการโป่งพอง

โคโลนี บนอาหาร CMA โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-7.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส ลักษณะเส้นใยสีน้ำตาลอมดำ สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนี อายุ 10 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้ารังนก หญ้าแพรก หญ้าปากควาย หญ้าตีนกา หญ้าขจรจบ

หมายเหตุ

เชื้อรา *B. cynodontis* เป็นราผสมข้ามสายพันธุ์ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เกิดจากการผสมสายพันธุ์ที่ต่างกันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Sach's agar มีส่วนประกอบของ sterilized rice straw แยกเชื้อได้จาก หญ้าปากควาย หญ้าขจรจบ และหญ้ากินี พบในหลายประเทศ เช่น ออสเตรเลีย อินเดีย อียิปต์ อิตาลี ปากีสถาน และมาเลเซีย



ภาพที่ 4 *Bipolaris cynodontis* (Marignoni) Shoem.

ก. โคนิดิโอฟอร์

ข. โคนิเดีย

5. *Bipolaris ellisii* (Danquah) Alcorn (ภาพที่ 5)

Teleomorph - *Cochliobolus ellisii* Alcorn

ชื่ออื่น ๆ - *Drechslera ellisii* Danquah

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืช มีลักษณะตรง ส่วนปลายจะหักไปมา เมื่อโคนิเดียหลุดพบรอยแผลชัดเจน ผนังเรียบ สีน้ำตาลเข้ม ความกว้าง 4-8 ไมครอน ความยาวมากกว่า 300 ไมครอน ฐานโคนิดิโอฟอร์มีการโป่งพอง

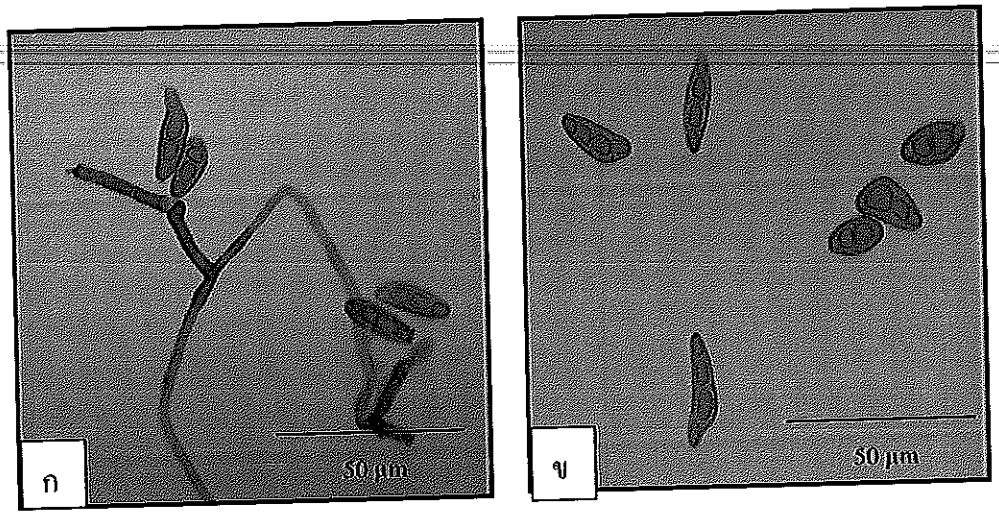
โคนิเดีย มีลักษณะตรง ค่อนข้างสั้นคล้ายกระบอง สีน้ำตาลเข้ม ผนังเรียบ ขนาด 7.5-10x22.5-30.0ไมครอน แบบเกาะกลุ่ม 3-4โคนิเดีย มี 3-5 pseudoseptate โคนิเดียงอก (germ tube) บริเวณส่วนปลายทั้ง 2 ด้าน

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA โคโลนีมี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-6.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส ลักษณะเส้นใยสีน้ำตาลเข้ม สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีมีอายุ 7 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าปากควาย

หมายเหตุ

เชื้อรา *B. ellisii* สามารถสังเคราะห์กรด curvulinic ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sach's agar



ภาพที่ 5 *Bipolaris ellisii* (Danquah) Alcorn

ก. โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

ข. โคนิเดีย

6. *Bipolaris hawaiiensis* (Ellis) Uchida & Aragaki (ภาพที่ 6)

Teleomoroh - *Cochliobolus hawaiiensis* Alcorn

- *Pseudocochliobolus hawaiiensis* (Alcorn) Tsuda & Ueyama

ชื่ออื่น ๆ - *Drechslera hawaiiensis* Ellis

- *Helminthosporium hawaiiensis* Bugnicourt

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืช ลักษณะตรง หรือปลายหักไปมา ผนังเรียบและมีผนังกั้น สีน้ำตาล ขนาด 2.0-7.0x27.5-150 ไมครอน สร้างโคนิเดียบริเวณส่วนปลายของโคนิดิโอฟอร์ 4-5 โคนิเดีย พบรอยแผลชัดเจนเมื่อ โคนิเดียหลุด

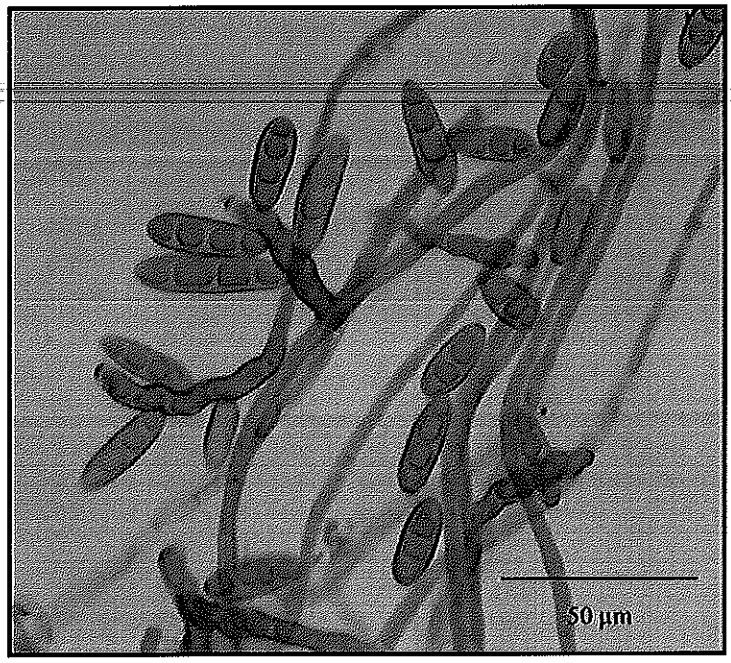
โคนิเดีย มีลักษณะตรง หรือทรงกระบอก สีน้ำตาลอ่อน มี 4-6 pseudoseptate ขนาด 7.5-10x10.0-37.5 ไมครอน

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร มีอายุ 10 วัน ลักษณะเส้นใยสีน้ำตาลเข้มจนถึงสีดำสร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีมีอายุ 5 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้ารังนก หญ้าแพรก หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู

หมายเหตุ

เชื้อรา *B. hawaiiensis* จัดเป็นเชื้อราผสมข้ามสายพันธุ์ และสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ แยกเชื้อได้จากหญ้ารังนก หญ้าแพรก หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก และหญ้านกสีชมพู ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sach's agar มีส่วนประกอบของ sterilized leaf of *Chloris gayana* รายงานพบในหลายประเทศอาทิเช่น ออสเตรเลีย เอทิโอเปีย อียิปต์ อินเดีย ปากีสถาน ศรีลังกา เชื้อรา *B. hawaiiensis* ก่อให้เกิดโรคบนพืชเศรษฐกิจ อาทิเช่น ข้าว ข้าวโพด อ้อย และข้าวฟ่าง แต่ยังไม่จัดเป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่มีบทบาทสำคัญมากนัก



ภาพที่ 6 *Bipolaris hawaiiensis* (Ellis) Uchida & Aragaki ; โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

7. *Bipolaris leersiae* (Atk.) Shoem. (ภาพที่ 7)

Teleomorph - ไม่มีรายงาน

ชื่ออื่น ๆ - *Drechslera leersiae* (Atk.) Subram. & Jain

- *Helminthosporium leersiae* (Atk.)

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืช ลักษณะทรงกระบอกสีน้ำตาลเข้ม มีผนังกั้น ส่วนฐานโคนิดิโอฟอร์มีการโป่งพอง และปลายโคนิดิโอฟอร์โค้งงอ ขนาด 5.0-10.0x30.0-42.5 ไมครอน

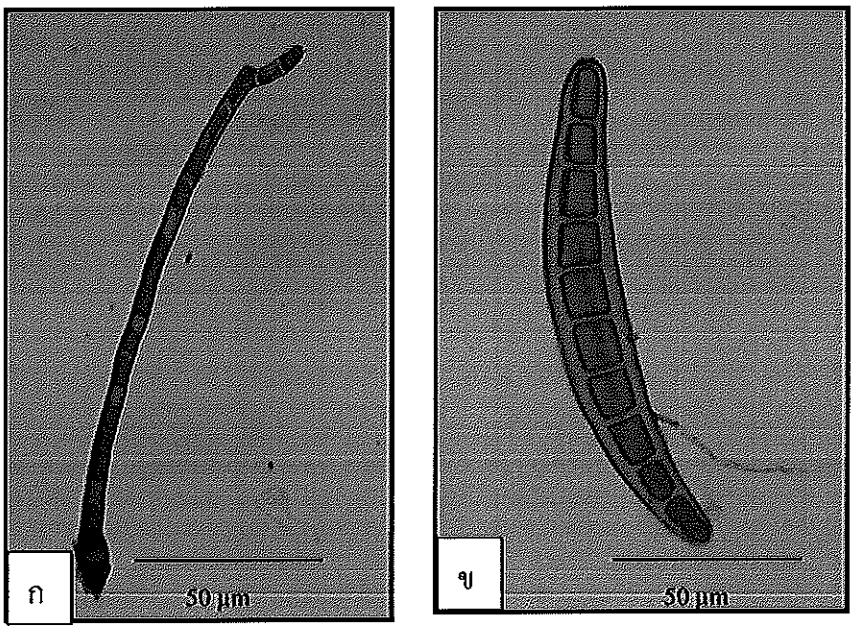
โคนิเดีย มีลักษณะโค้งคล้ายลูกศร ผนังเรียบ ขนาด12.5-17.5x80.0-135 ไมครอน มี 6-11 pseudoseptate มีรอยแผลชัดเจน สีเหลืองอ่อน โคนิเดียมีการโป่งพอง ก่อนมีการงอก

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.0-5.0 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส เส้นใยมีสีน้ำตาลอมเทาเส้นใยแอะ มีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า

แหล่งอาหารที่พบ หญ้านกสีชมพู หญ้าขน

หมายเหตุ

เชื้อรา *B. leersiae* ก่อให้เกิดโรคใบจุดสีน้ำตาลบนหญ้า *Leersia hexandra*, *L. virginica* และ *Setaria* sp. แผลมีขนาด 0.1 - 0.5 x 0.8 - 1.0 เซนติเมตร พบในประเทศออสเตรเลีย ญี่ปุ่น และ สหรัฐอเมริกา



ภาพที่ 7 *Bipolaris leersiae* (Atk.) Shoem.

ก. โคนิดิโอฟอร์

ข. โคนิเดีย

8. *Bipolaris sacchari* (Butler) Shoem. (ภาพที่ 8)

Teleomorph - ไม่มีรายงาน

ชื่ออื่น ๆ - *Drechslera sacchari* (Butler) Subram. & Jain

- *Helminthosporium sacchari* Butler

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บางครั้ง เกิดเป็นกลุ่ม มีลักษณะตรง ส่วนปลายหักไปมา สีน้ำตาลเข้ม ผนังเรียบ มีผนังกั้น ความกว้าง 5.0-8.0 ไมครอน ความยาวมากกว่า 200 ไมครอน

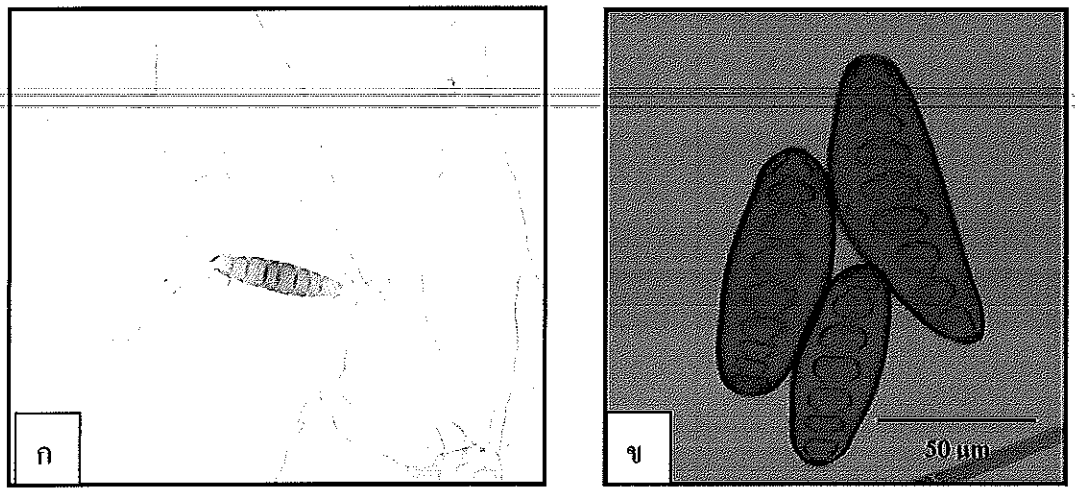
โคนิเดีย มีลักษณะตรง ทรงกระบอก หรือลูกศร สีน้ำตาลอมเหลืองทอง ผนังเรียบ มี 5-9 pseudoseptate ขนาด 9.0-17.0x35.0-96.0ไมครอน ในบางครั้งอาจพบ hilum มีขนาด 2-3 ไมครอน

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-7.0 เซนติเมตร เมื่อมีอายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีเป็นเส้นใยสีเทาเจริญติดกับอาหารวุ้น สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีมีอายุ 7 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้ารังนก

หมายเหตุ

เชื้อรา *B. sacchari* ก่อให้เกิดโรคใบจุดบนอ้อย ลักษณะแผลจุดสีน้ำตาล ปรากฏในช่วงใบอ่อน ขนาดแผล 3-6x5-12 มิลลิเมตร ตามความยาวของเส้นกลางใบ แผลมีการขยายใหญ่ขึ้นตามขนาดความยาวของใบพืช เชื้อสามารถสังเคราะห์สารพิษ ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงกับพืชอาศัยจะเป็นสารกลุ่ม helminthosporoside



ภาพที่ 8 *Bipolaris sacchari* (Butler) Shoem.

ก.การงอกของโคนิเดีย

ข. โคนิเดีย

9. *Bipolaris setariae* (Saw.) Shoem. (ภาพที่ 9)

Teleomorph - *Cochliobolus setariae* (Ito & Kurib) Drechsler ex Dastur

ชื่ออื่น ๆ
- *Drechslera setariae* (Saw.) Subram. & Jain
- *Helminthosporium setariae* Saw.
- *Ophiobolus setariae* Ito & Kurib

ลักษณะของเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืชมีลักษณะตรง ส่วนปลายหักไปมา สีน้ำตาลเข้ม ผนังเรียบ ขนาด 5.0-8.0x55-300 ไมครอน สร้างโคนิเดียอยู่ใต้ผนังกั้น มีรูให้กำเนิดโคนิเดีย1-2 โคนิเดีย

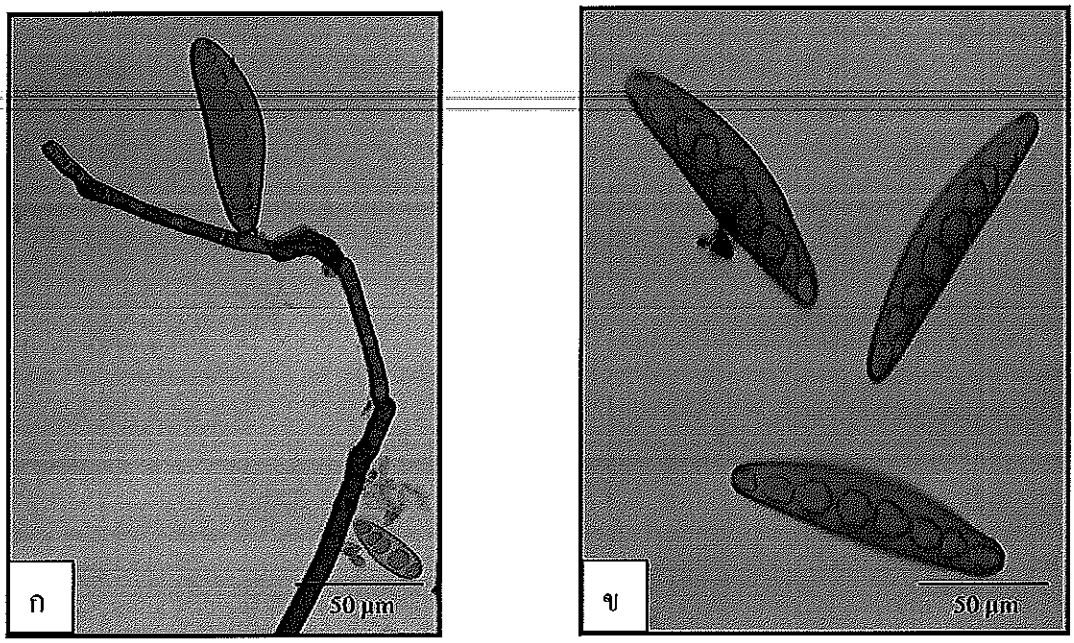
โคนิเดีย มีลักษณะตรง ทรงกระบอก หรือคล้ายลูกศร สีน้ำตาลอมทอง มี 8-14 pseudoseptate ขนาด 12.5-17.5x57.5-117.5ไมครอน ในบางครั้งอาจพบ hilum ขนาด 2-3 ไมครอน

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-6.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีเป็นเส้นใยสีน้ำตาล เส้นใยเจริญติดกับอาหารวุ้น สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีมีอายุ 7 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าปากควาย หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนกา หญ้าขจรจบ

หมายเหตุ

เชื้อรา *B. setariae* จัดเป็นรากลุ่มปรสิตบนใบพืช และก่อให้เกิดโรคใบไหม้ของข้าวฟ่าง รายงานพบเชื้อรา *B. setariae* บนหญ้าปากควาย หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนกา หญ้ากินี หญ้าขจรจบดอกเล็ก และหญ้าแพเปียร์ รายงานพบในประเทศออสเตรเลีย อเมริกา และอินเดีย



ภาพที่ 9 *Bipolaris setariae* (Saw.) Shoem.

ก. โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

ข. โคนิเดีย

10. *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (ภาพที่ 10)

Teleomorph - *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib) Drechsler ex Dastur

ชื่ออื่น ๆ

- *Drechslera sorokiniana* (Sacc.) Subram. & Jain
- *Helminthosporium acrothecioides* Lindfors.
- *Helminthosporium californicum* Mackie & Paxton
- *Helminthosporium sativum* (Pammel) King & Bakke
- *Helminthosporium sorokiniana* Sacc.

ลักษณะของเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ หรือแบบเกาะกลุ่มมีลักษณะตรงจนถึงหักไปมา หรือโค้งงอ รูปร่างทรงกระบอกสีน้ำตาลเข้ม ผนังเรียบ มีผนังกั้น ความกว้าง 5.0-10.0ไมครอน ยาวมากกว่า 150 ไมครอน

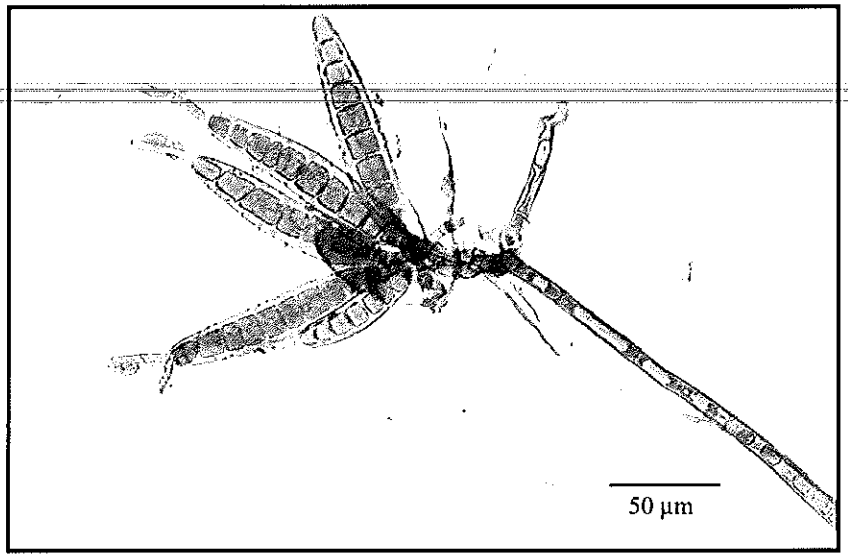
โคนิเดีย มีลักษณะคล้ายรูปไข่ ทรงกระบอก ลูกศร ไม่มีผนังกั้น ไม่มี protuberant hilum ขนาด 17.0-28.0x40-120 ไมครอน มี 3-12 pseudoseptae

โคโลนี เส้นใยเจริญเติบโตค่อนข้างช้า สีน้ำตาลปนเทา เจริญติดบนอาหาร สร้างโคนิเดีย เมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าปากควาย

หมายเหตุ

เชื้อรา *B. sorokiniana* เป็นราผสมข้ามสายพันธุ์ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เกิดจากการผสมสายพันธุ์ที่ต่างกันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Sach's agar มีส่วนประกอบของ sterilized barley grains. แยกเชื้อได้จากหญ้า *Avena* sp., *Hardeum* sp., *Triticum* sp. ก่อให้เกิดโรคใบจุด หรือโรครากเน่า บนข้าวบาร์เลย์ ขนาดของแผลใหญ่ขึ้นตามขนาดของใบพืช เชื้อราสามารถสังเคราะห์สาร helminthosporol จัดอยู่ในกลุ่มของสาร victotoxin



ภาพที่ 10 *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. ; โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

11. *Bipolaris sorghicola* (Lefebvre & Sherwin) Alcorn (ภาพที่ 11)

Teleomorph - ไม่มีรายงาน

ชื่ออื่น ๆ - *Drechslera sorghicola* (Lefebvre & Sherwin) Richardson & Fraser

- *Helminthosporium sorghicola* Lefebvre & Sherwin

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืช มีลักษณะตรง สีน้ำตาลเข้ม ผนังเรียบ ฐานมีการโป่งพองกว้าง 6.0-9.0 ไมครอน ความยาวมากกว่า 700 ไมครอน

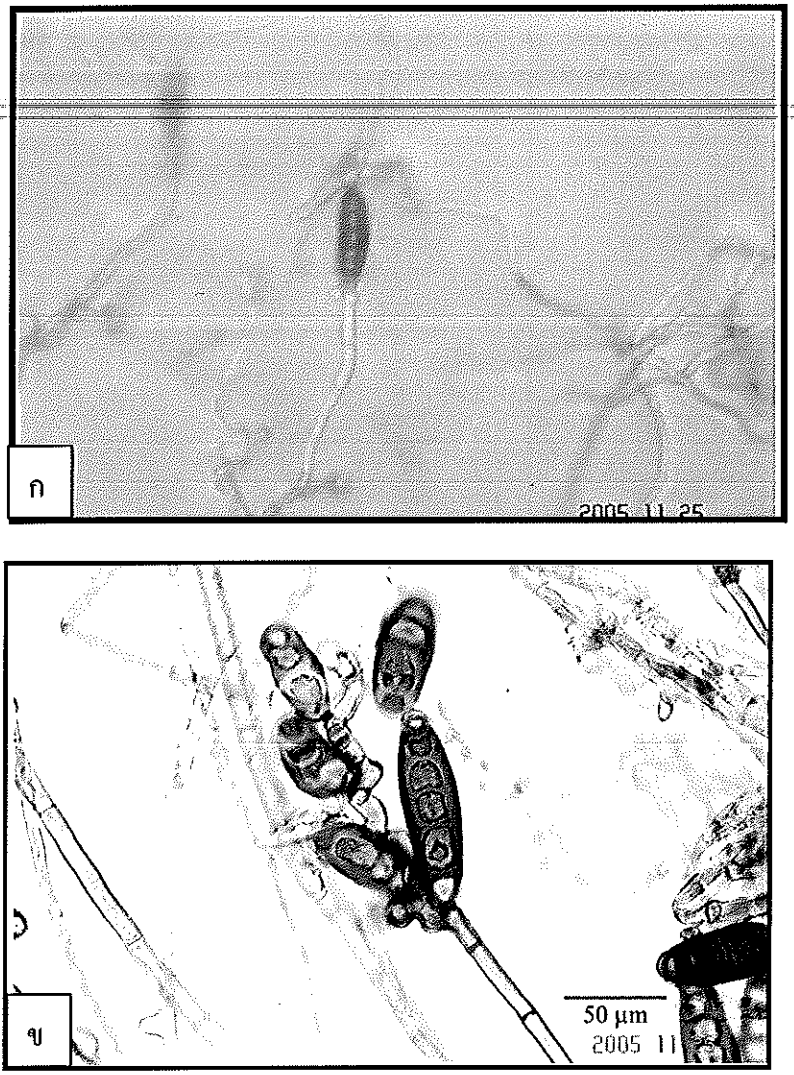
โคนิเดีย มีลักษณะตรง หรือกระสวย สีน้ำตาลทอง ผนังเรียบมี3-8 pseudoseptate ขนาด 12.0-19.0x30.0-100.0 ไมครอน

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-6.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีเป็นเส้นใยสีเทา

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าคา หญ้าตีนกา

หมายเหตุ

เชื้อรา *B. sorghicola* ก่อให้เกิดโรคใบจุดของข้าวฟ่าง แผลรูปร่างไม่แน่นอนมีขนาด 2-4x3-6 มิลลิเมตร กระจายทั่วใบพืชอาศัย ขอบแผลสีน้ำตาลจนถึงดำ พบบนหญ้าคา หญ้าตีนกา หญ้าพง ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ฯลฯ รายงานพบในหลายประเทศ อาทิเช่น ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา เอทิโอเปีย อินเดีย มาเลเซีย และปากีสถาน



ภาพที่ 11 *Bipolaris sorghicola* (Lefebvre & Sherwin) Alcorn

ก. การงอกของโคนิเดีย

ข. โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

12. *Drechslera erythrospila* (Drechs.) Shoem. (ภาพที่ 12)

Teleomorph - *Pyrenophora erythrospila* Paul

ชื่ออื่น ๆ - *Helminthosporium erythrospilum* Drechs.

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ มีรูปร่างทรงกระบอกลักษณะโค้งงอ ผนังเรียบ มีผนังกั้น สีน้ำตาลเข้ม บริเวณฐานมีการโป่งพอง ความกว้าง 6.0-8.0 ไมครอน ความยาวมากกว่า 100 ไมครอน (100-340 ไมครอน)

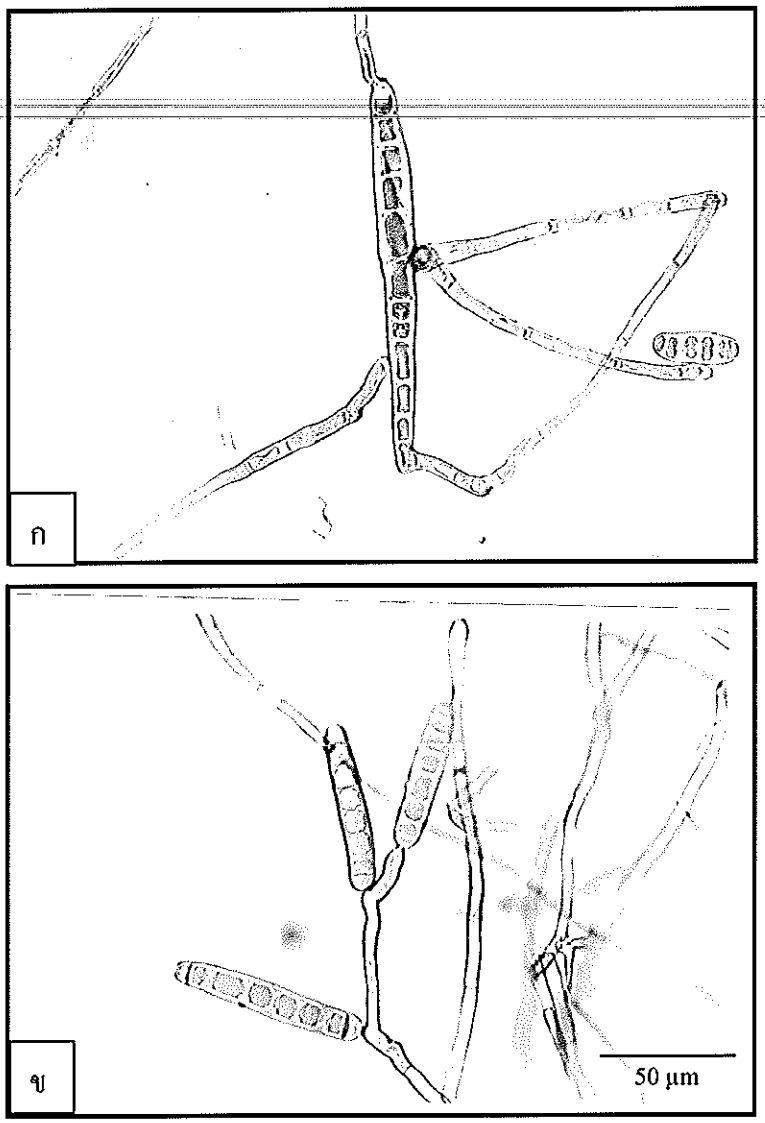
โคนิเดีย ลักษณะทรงกระบอก สีน้ำตาลอมเหลืองไม่มี hilum บริเวณปลาย โคนิเดีย มีผนังกั้นตัดแบ่งเซลล์ชัดเจน ขนาด 11.0-16.0x40-70 ไมครอน มี 2-10 pseudoseptate โคนิเดียสามารถงอกได้ทุกเซลล์

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-7.0 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีเป็นเส้นใยสีน้ำตาลอมเทา ค่อนข้างฟูเหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าคา

หมายเหตุ

เชื้อรา *D. erythrospila* เชื้อราสาเหตุของโรคใบจุดสีน้ำตาลบน *Agrostis* sp. *Hordeum* sp. และ *Triticum* sp. มีรายงานพบในประเทศ ออสเตรเลีย และสหรัฐอเมริกา



ภาพที่ 12 *Drechslera erythrospila* (Drechs.) Shoem.

ก. การงอกของโคนิเดีย

ข. โคนิดิโอฟอร์ และ โคนิเดีย

13. *Drechslera euphorbiae* (Hansford) Ellis (ภาพที่ 13)

Teleomorph - ไม่มีรายงาน

ชื่ออื่น ๆ - *Helminthosporium euphorbiae* Hansford

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยวๆ หรือเกาะกลุ่มเล็กน้อย ลักษณะตรงหรือหักไปมาสีน้ำตาลมีผนังกั้น ส่วนปลายโคนิดิโอฟอร์ จะมีรู เพื่อสร้างโคนิเดียและมีรอยแผล ชัดเจน กว้าง 5-8 ไมครอน ความยาวมากกว่า 200 ไมครอน

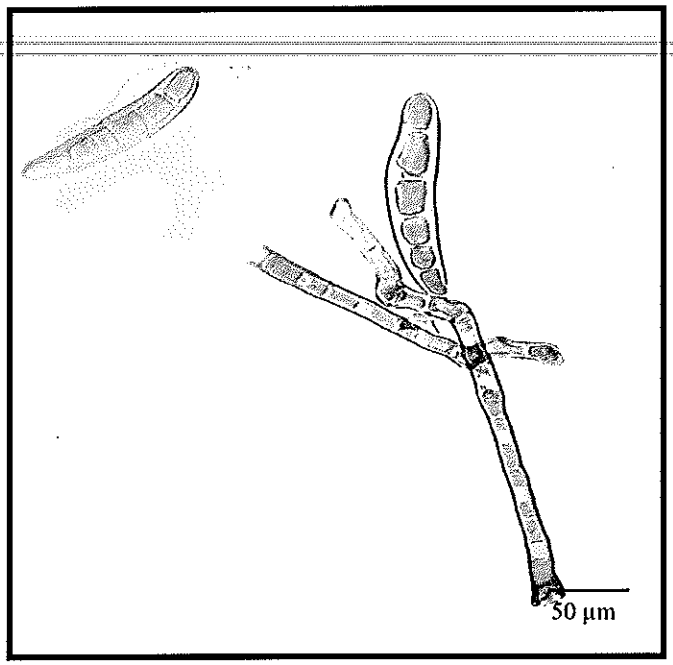
โคนิเดีย มีลักษณะโค้ง ทรงกระบอกมี hilum ขนาด 2-4 ไมครอนสีน้ำตาลอมทอง ผนังเรียบ ขนาด 11-17x50-130 ไมครอน มี 5-11 pseudoseptate

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-7.0 เซนติเมตรเมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีเป็นเส้นใยสีน้ำตาลอมเทา เจริญติดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าขจรจบ หญ้าปากควาย

หมายเหตุ

เชื้อรา *D. euphorbiae* เชื้อสาเหตุของโรคใบจุดสีน้ำตาลบนหญ้า *Euphorbia sp.* ขอบแผลมีสีน้ำตาลจนถึงดำ



ภาพที่ 13 *Drechslera euphorbiae* (Hansford) Ellis ; โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

14. *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. (ภาพที่ 14)

Teleomorph - *Pyrenophora teres* Drechs.

ชื่ออื่น ๆ - *Helminthosporium teres* Sacc.

- *Helminthosporium hordei* Eidam

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ หรือ เป็นกลุ่มบนเนื้อเยื่อพืช มีลักษณะตรง ส่วนฐานมีการโป่งพอง สีน้ำตาล ส่วนปลายโคนิดิโอฟอร์โค้งงอ มีรอยแผลชัดเจน ความกว้าง 7-11 ไมครอน ความยาวมากกว่า 220 ไมครอนโคนิเดียเกิดบริเวณส่วนปลายโคนิดิโอฟอร์มี 4-5 โคนิเดีย ใต้ผนังกั้น พบรูให้กำเนิดโคนิเดีย

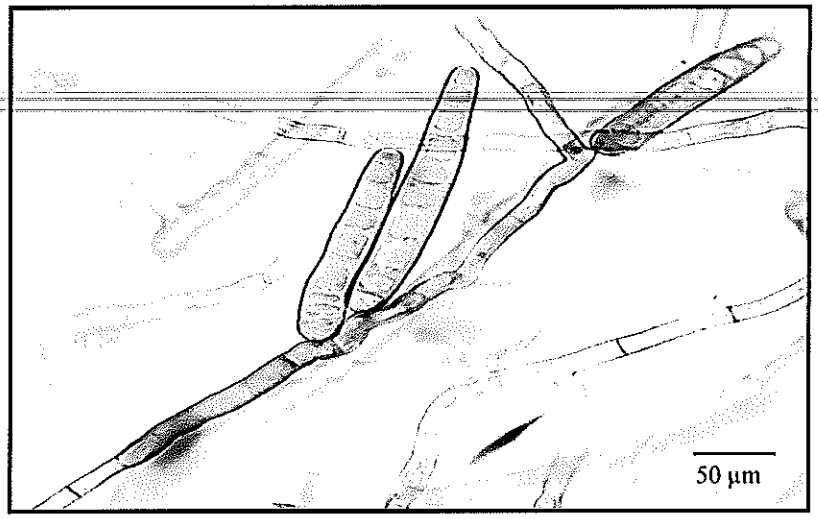
โคนิเดีย มีลักษณะทรงกระบอกบริเวณปลายด้านหนึ่งพบรอยแผล สีน้ำตาลเข้มมี ขนาด 16.0-23.0x70.0-160.0 ไมครอน มี 3-9 pseudoseptate

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA ลักษณะของเส้นใยมีการเจริญเร็วสีเทา เจริญติดบนอาหารวุ้น ขนาด 7.0-8.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 10 วัน สร้างโคนิเดีย เมื่อโคโลนีมีอายุ 5 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้านกสีชมพู

หมายเหตุ

เชื้อรา *D. teres* จัดเป็นเชื้อราผสมข้ามสายพันธุ์ที่ต่างกัน และก่อให้เกิดโรค net blotch ของ ข้าวบาร์เลย์ พบการระบาดของเชื้อราดังกล่าวในประเทศแคนนาดา อาร์เจนติน่า ออสเตรเลีย และ เดนมาร์ค สร้างความเสียหายได้มากกว่า 80 % ของปริมาณผลผลิตภายในประเทศ



ภาพที่ 14 *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. ; โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

15. *Exserohilum holmii* (Luttr.) Leonard & Suggs. (ภาพที่ 15)

Teleomorph - *Setosphaeria holmii* (Luttr.) Leonard & Suggs.

ชื่ออื่น ๆ
- *Drechslera holmii* (Luttr.) Subram. & Jain
- *Helminthosporium holmii* Luttr.
- *Keissleriella holmii* Luttr.
- *Trichometasphaeria holmii* Luttr.

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืช มีลักษณะตรง หรือพบปลายหักไปมา ผนังเรียบและมีผนังกั้น สีน้ำตาลเข้ม ความกว้าง 6-10 ไมครอน ความยาวมากกว่า 280 ไมครอน บางครั้งพบบริเวณฐานของโคนิดิโอฟอร์ มีการโป่งพอง มีขนาดความกว้างมากกว่า 18 ไมครอน

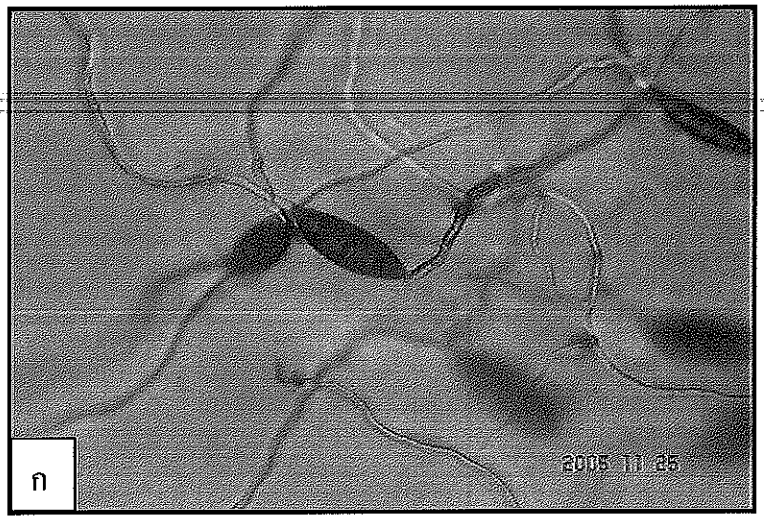
โคนิเดีย มีลักษณะโค้งหรือคล้ายกระบอง สีน้ำตาลเข้ม และมีผนังกั้นหนา ผนังเรียบ ขนาด 14-31x55-135ไมครอน มี 5-11 pseudoseptate และมี protuberant hilum

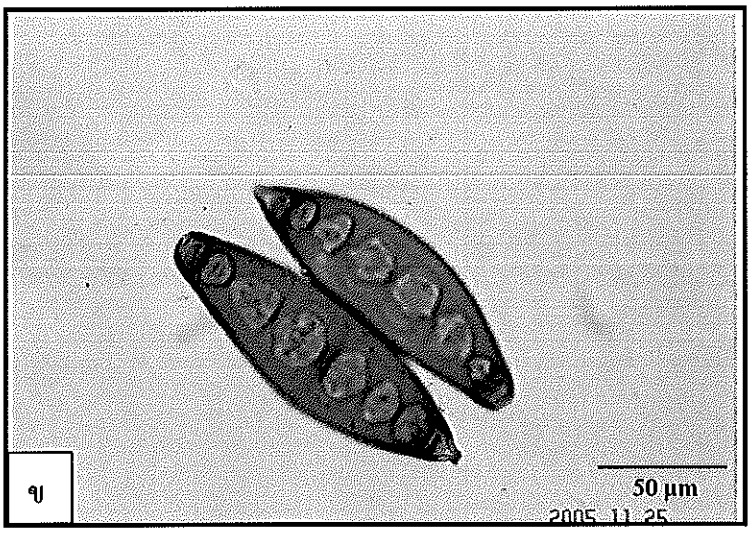
โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA เส้นใยสีเทามีการแตกแขนง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.0 -8.0 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีอายุ 7 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าปากควาย

หมายเหตุ

เชื้อรา *Exserohilum holmii* จัดเป็นราผสมข้ามสายพันธุ์ที่ต่างกัน ระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เกิดจากการผสมสายพันธุ์ที่ต่างกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sach's agar มีส่วนประกอบ sterilized barley grain เชื้อสร้าง ascospore อายุ 10-14 วัน บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส รายงานสามารถแยกเชื้อได้จากหญ้าแพรก พบในหลายประเทศ อาทิเช่น อียิปต์ อินเดีย และสหรัฐอเมริกา





ภาพที่ 15 *Exserohilum holmii* (Luttr.) Leonard & Suggs.

ก. การงอกของโคนิเดีย

ข. โคนิเดีย

16. *Exserohilum khartoumensis* El Shafie & Webster (ภาพที่ 16)

Teleomorph - *Setosphaeria khartoumensis* El Shafie & Webster

ชื่ออื่น ๆ - ไม่มีรายงาน

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืช มีลักษณะโค้ง หรือหักไปมา สีน้ำตาลอมแดง หรือสีแดงอิฐ ผนังเรียบ มีขนาดความกว้าง 5.0-7.5 ไมครอน ความยาวมากกว่า 200 ไมครอน มีผนังกั้น ฐานของโคนิดิโอฟอร์มีการโป่งพอง

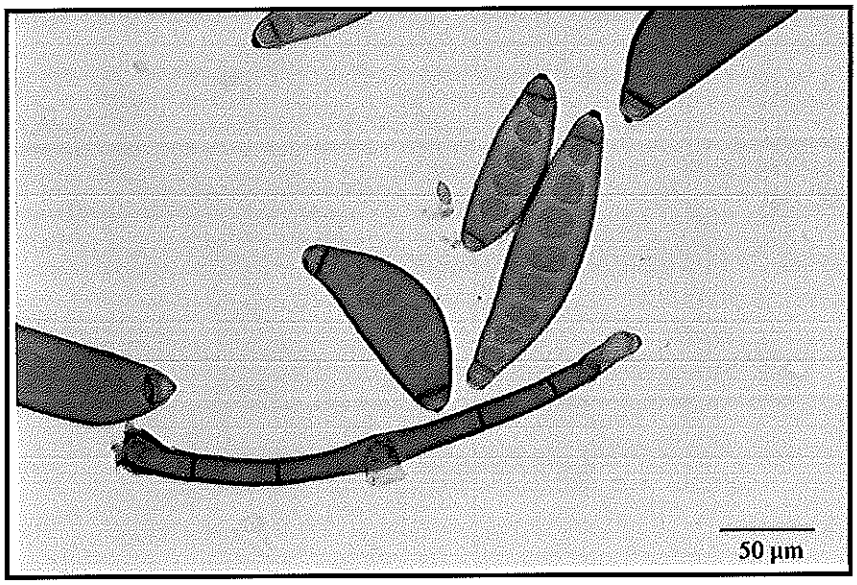
โคนิเดีย มีลักษณะคล้ายรูปไข่ หรือ ทรงกระบอก ปลายโคนิเดีย มีผนังกั้น ตัดแบ่งเซลล์อย่างชัดเจน สีน้ำตาลอมทอง ขนาด 15.0-27.5x55-160 ไมครอน มี protuberant hilum การงอกของโคนิเดียสามารถงอกได้ทั้ง 2 ด้าน

โคโลนี บนอาหาร CMA เส้นใยมีการแตกแขนง สีน้ำตาลเทา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.5-8.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าตีนนก หญ้าปากควาย

หมายเหตุ

เชื้อรา *E. khartoumensis* เป็นเชื้อราผสมในสายพันธุ์เดียวกันได้ ในช่วงการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ สร้างแอสโคมาในอาหาร corn meal agar มีส่วนประกอบของ sterilized sorghum grain บ่มเชื้อที่ 22-24 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 16 *Exserohilum khartoumensis* El Shafie & Webster ; โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

17. *Exserohilum longirostratum* (Subram.) Sivan. (ภาพที่ 17)

Teleomorph - ไม่มีรายงาน

ชื่ออื่น ๆ
- *Bipolaris longirostratum* Subram.
- *Drechslera longirostratum* Subram.
- *Helminthosporium longirostratum* Subram.

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืช ทรงกระบอก ความกว้าง 5.0-7.5 ไมครอน ความยาวมากกว่า 200 ไมครอน มีผนังกั้น สีน้ำตาลเข้ม จนถึงสีดำ

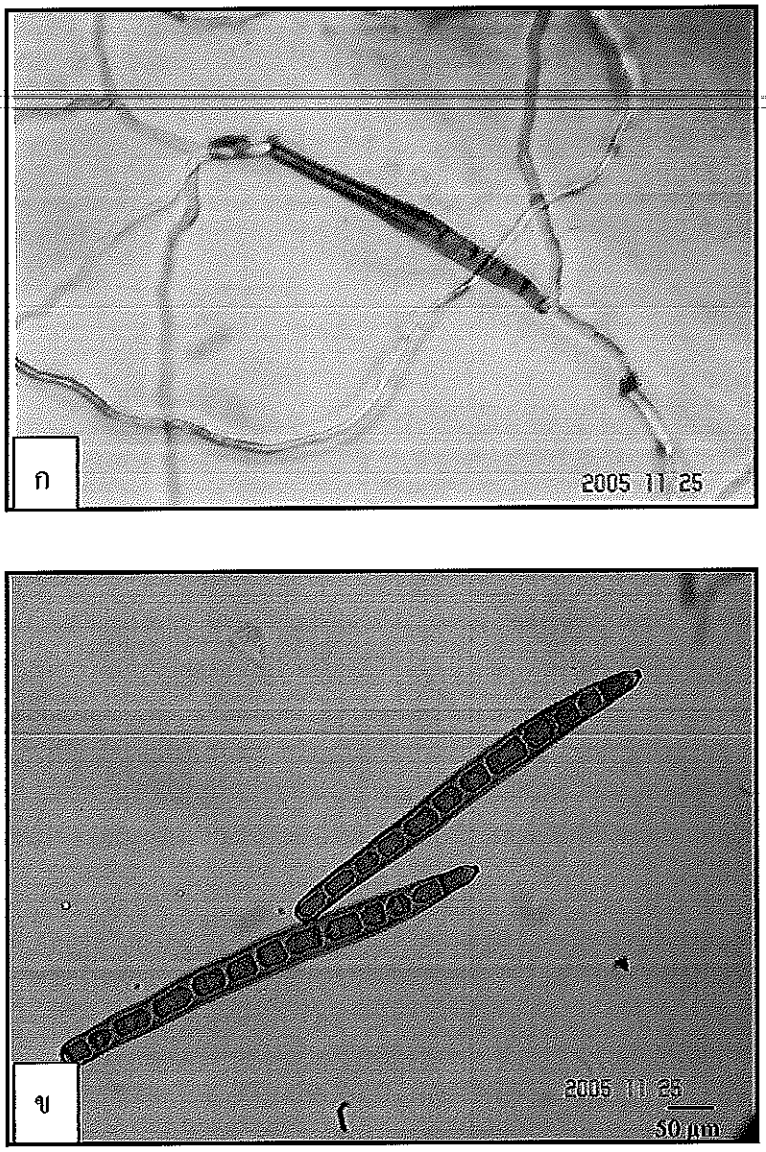
โคนิเดีย ลักษณะคล้ายลูกศร จนถึงทรงกระบอก ค่อนข้างยาว ขนาด 12-26x60-475 ไมครอน ปลายโคนิเดียมี protuberant hilum และมีผนังกั้น สีน้ำตาลเข้มแบ่งเซลล์มองเห็นได้ชัดเจน มี 8-13 pseudoseptate

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-7 เซนติเมตรอายุ 10 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีเป็นเส้นใยสีน้ำตาลเข้ม เจริญติดบนวุ้น สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีอายุ 15 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าปากควาย

หมายเหตุ

เชื้อรา *E. longirostratum* รูปร่างของโคนิเดียคล้ายกับเชื้อรา *E. rostrata* แต่มีความยาวของโคนิเดียที่ต่างกันแยกเชื้อได้จากข้าว ข้าวฟ่าง และหญ้าขจรจบ พบได้ในหลายประเทศ อาทิ เช่น ฝรั่งเศส อินเดีย และไนจีเรีย



ภาพที่ 17 *Exserohilum longirostratum* (Subram.) Sivan.

ก.การงอกของโคนิเดีย

ข.โคนิเดีย

18. *Exserohilum minor* Alcorn (ภาพที่ 18)

Teleomorph - *Setosphaeria minor* Alcorn

ชื่ออื่น ๆ - ไม่มีรายงาน

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืช มีลักษณะทรงกระบอก ขนาด 6.0-12.5 ไมครอน ความยาวมากกว่า 100 ไมครอน ฐานมีการโป่งพองกว้าง 5.0-7.5 ไมครอน มีผนังกั้น สีน้ำตาลเข้ม จนถึงสีดำ

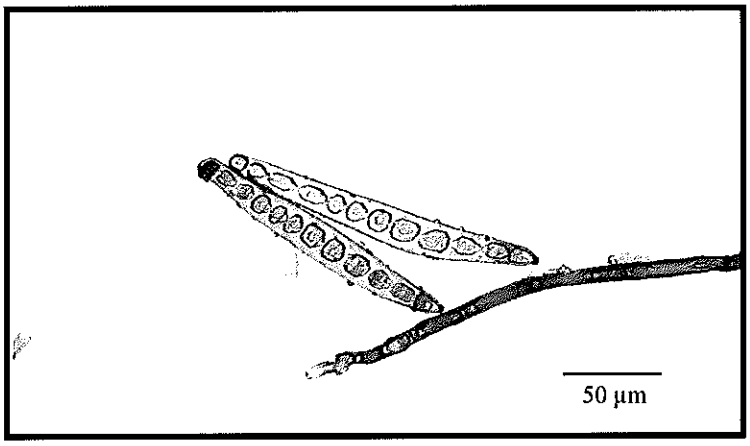
โคนิเดีย มีลักษณะคล้ายกระสวย ขนาด 12.5-20.0x55.5-135.5 ไมครอน มี 9-15 pseudoseptate ปลายโคนิเดียมี protuberant hilum ขนาด 2.5-3.0 ไมครอน และมีผนังกั้นตัดแบ่งเซลล์

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA ลักษณะของเส้นใยมีการเจริญเร็วสีเทา เจริญติดบนอาหารวุ้น ขนาด 7.0-8.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 12 วัน สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีอายุ 5 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าปากควาย

หมายเหตุ

เชื้อรา *E. minor* เป็นเชื้อราผสมในสายพันธุ์เดียวกันได้ ช่วงการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศสร้างแอสโคมา มีรายงานพบประเทศ ออสเตรเลีย



ภาพที่ 18 *Exserohilum minor* Alcorn ; โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

19. *Exserohilum monoceras* (Drechs.) Leonard & Suggs. (ภาพที่ 19)

Teleomoph - *Setosphaeria monoceras* Alcorn.

ชื่ออื่นๆ

- *Bipolaris monoceras* (Drechs.) Shoem.
- *Drechslera monoceras* (Drechs.) Subram. & Jain
- *Helminthosporium monoceras* Drechs.
- *Luttrellia monoceras* (Drechs.) Chochryakov.

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ หรือเกาะกลุ่มบนเนื้อเยื่อพืช รูปร่างตรง หรือบางครั้งพบว่าปลายหักไปมา ผนังเรียบและมีผนังกั้นสีน้ำตาลเข้ม ขนาดความกว้าง 3-9 ไมครอน ความยาวมากกว่า 150 ไมครอน

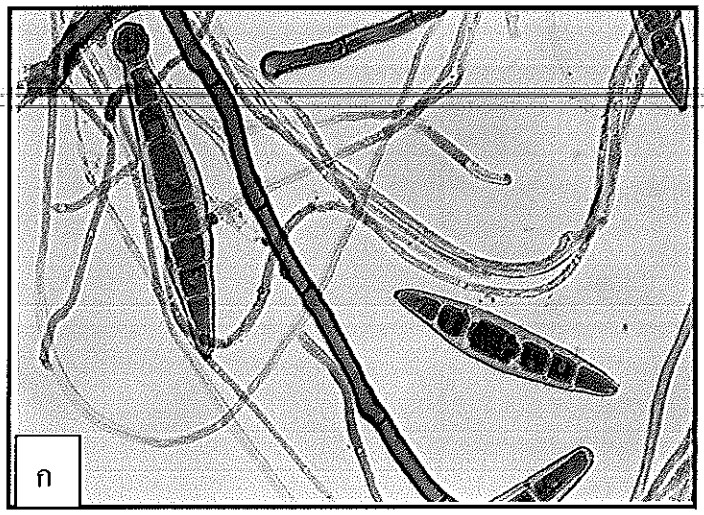
โคนิเดีย มีลักษณะคล้ายกระสวย หรือคล้ายรูปไข่ มี 5-9 pseudoseptate ขนาด 15-30x80-140 ไมครอน ผนังเรียบและมีผนังกั้นหนา มี protuberant hilum สีน้ำตาลเข้ม โคนิเดียสามารถงอกได้ทั้ง 2 ด้าน

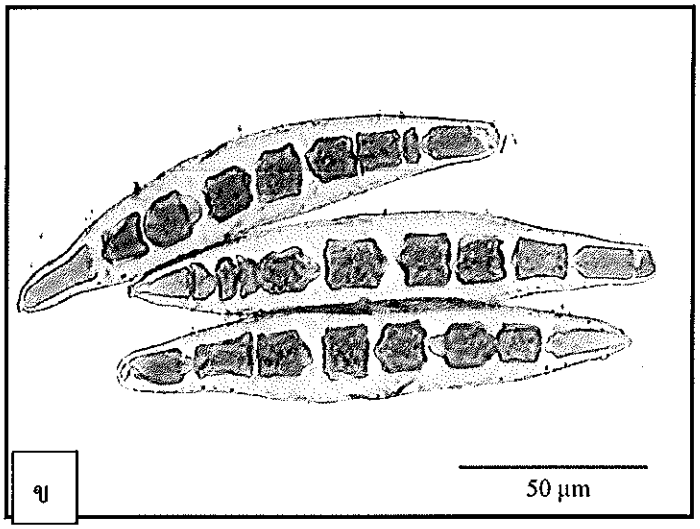
โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA เส้นใยมีการแตกแขนง สีเทา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.0-8.0 เซนติเมตร อายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส สร้างโคนิเดีย เมื่อโคโลนี อายุ 7 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้านกสีชมพู

หมายเหตุ

เชื้อรา *E. monoceras* เป็นราผสมข้ามสายพันธุ์ที่ต่างกัน ระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเกิดจากการผสมสายพันธุ์ที่ต่างกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ modified Sach's agar มีส่วนประกอบของ sterilized wheat leaf ภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 12 ชั่วโมง/วัน และเชื้อรา *E. monoceras* มีบทบาทสำคัญที่จะนำมาใช้ในการควบคุมการระบาดของหญ้าข้าวนก และหญ้านกสีชมพู ซึ่งระบาดอย่างรุนแรงในนาข้าว





ภาพที่ 19 *Exserohilum monoceras* (Drechs.) Leonard & Suggs.

ก. โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

ข. โคนิเดีย

20. *Exserohilum paspali* Muchovej & Nesio (ภาพที่ 20)

Teleomorph - ไม่มีรายงาน

ชื่ออื่น ๆ - ไม่มีรายงาน

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืช มีลักษณะตรง จนถึง ทรงกระบอก ขนาดความกว้าง 7.5-10.0 ไมครอน ความยาว 162.5-275 ไมครอน ส่วนใหญ่ยาวมากกว่า 150 ไมครอน มีผนังเรียบ และมีผนังกั้น โคนิเดียเกิดบริเวณส่วนปลายของโคนิดิโอฟอร์ 3-5 โคนิเดีย

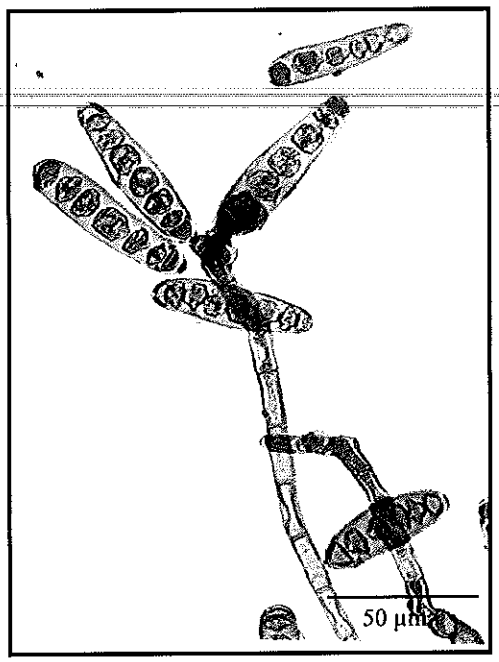
โคนิเดีย มีลักษณะตรงขนาด 12.5-17.5x45.5-62.5 ไมครอน มี 6-8 pseudoseptate ส่วนปลายโคนิเดียมี protuberant hilum กว้าง 2.5-3.0 ไมครอน การงอกของโคนิเดียสามารถงอกได้ทั้ง 2 ด้าน

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA เส้นใย สีเทา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.0 เซนติเมตร สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีมีอายุ10 วัน บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าปากควาย

หมายเหตุ

เชื้อรา *E. paspali* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคใบจุด ลักษณะแผลสีม่วง การเข้าทำลายของเชื้อจะเข้าทำลายเส้นใบ และหากอาการรุนแรง เปลี่ยนเป็นสีที่เข้มขึ้น ทำให้ใบและยอดแห้งตาย เป็นสาเหตุของโรคใบจุดบน *Paspalum conjugatum* ในประเทศบราซิล



ภาพที่ 20 *Exserohilum paspali* Muchovej & Nesio ; โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

21. *Exserohilum prolatum* Leonard & Suggs. (ภาพที่ 21)

Teleomorph - *Setosphaeria prolatum* Leonard & Suggs.

ชื่ออื่น ๆ - *Drechslera prolata* (Leonard & Suggs.) Sivan.

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยวๆ หรือเกาะกลุ่มบนเนื้อเยื่อพืชมีลักษณะตรงจนถึงทรงกระบอก ขนาดความกว้าง 4-6 ไมครอน ความยาวมากกว่า 400 ไมครอน ผนังเรียบและมีผนังกั้น

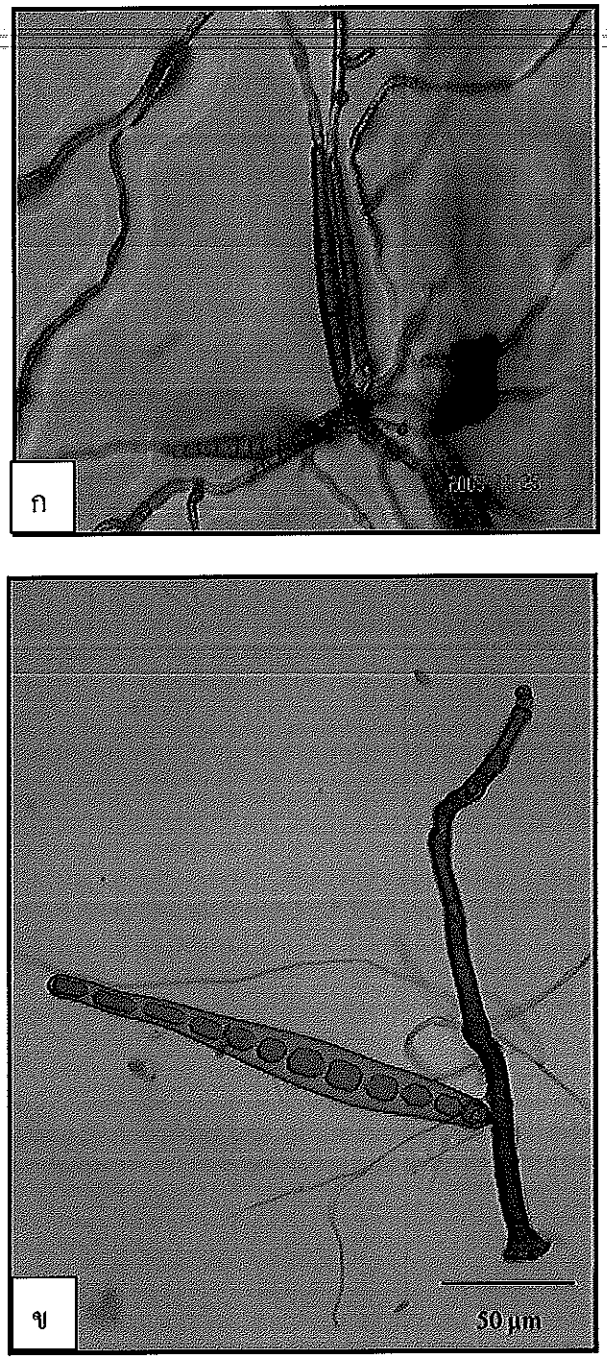
โคนิเดีย มีลักษณะตรง หรือทรงกระบอก ขนาด 9-13x50-180 ไมครอน มี 5-12 pseudoseptate ผนังเรียบ มีผนังกั้น ปลายโคนิเดียมี protuberant hilum ขนาด 2.5-3.0 ไมครอน โคนิเดียสามารถงอกได้ทั้ง 2 ด้าน

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-7.5 เซนติเมตรเมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 28 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีเป็นเส้นสีน้ำตาลอมเทา เจริญติดบนอาหารวุ้น สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีมีอายุ 7 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าแพรก หญ้าปากควาย หญ้าหวาย

หมายเหตุ

เชื้อรา *E. prolatum* จัดเป็นเชื้อราผสมข้ามสายพันธุ์ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ สร้างแอสโคมา เกิดจากการผสมบนสายพันธุ์ที่ต่างกันบนอาหาร Sach's agar ซึ่งมีส่วนประกอบของ corn leaf หรือ barley grain บ่มเชื้อในที่มืด อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ก่อให้เกิดโรคใบจุดบนข้าวโพด ข้าวฟ่าง รายงานพบในประเทศ เอทิโอเปีย และ สหรัฐอเมริกา



ภาพที่ 21 *Exserohilum prolatum* Leonard & Suggs.

ก.การงอกของโคนิเดีย

ข.โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

22. *Exserohilum rostratum* (Drechs.) Leonard & Suggs.

Teleomorph - *Setosphaeria rostrata* Leonard

ชื่ออื่น ๆ

- *Bipolaris halodes* (Drechs.) Shoem.
- *Bipolaris rostrata* (Drechs.) Shoem.
- *Drechslera halodes* (Drechs.) Subram. & Jain
- *Drechslera rostrata* (Drechs.) Richardson & Fraser
- *Exserohium halodes* (Drechs.) Leonard & Suggs.
- *Luttrellia rostrata* (Drechs.) Gonorstai
- *Helminthosporium halodes* Drechs.
- *Helminthosporium rostratum* Drechs.
- *Helminthosporium halodes* Drechsler var. *tritici* Mitra
- *Helminthosporium halodes* Drechsler var. *elaeidicola* Kovachich

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืช มีลักษณะตรง จนถึงทรงกระบอก ความกว้าง 5 - 8 ไมครอน ยาวมากกว่า 200 ไมครอน มีผนังเรียบและมีผนังกั้น

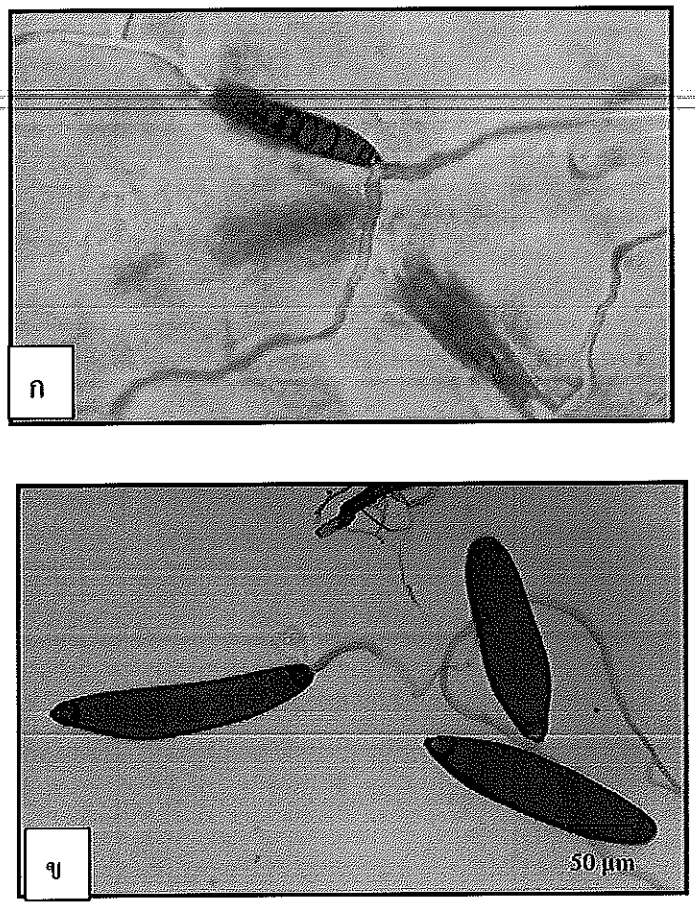
โคนิเดีย มีลักษณะตรง หรือ ทรงกระบอก ขนาด 7-29x15-200 ไมครอน มี 9-18 pseudoseptate ผนังเรียบ และมีผนังกั้นสีน้ำตาลเข้ม บริเวณส่วนปลายของโคนิเดียจะมี protuberant hilum โคนิเดียงอกได้ทั้ง 2 ด้าน

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-7.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15 วัน บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีเป็นเส้นสีเทาเจริญติดบนอาหารวุ้นสร้างโคนิเดีย เมื่อโคโลนีมีอายุ 7 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนกา

หมายเหตุ

เชื้อรา *E. rostratum* จัดเป็นเชื้อราผสมข้ามสายพันธุ์ และสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ แยกเชื้อได้จากหญ้ารังนก หญ้าแพรก หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก รายงานพบในหลายประเทศ อาทิเช่น ออสเตรเลีย และ จีน



ภาพที่ 22 *Exserohilum rostratum* (Drechs.) Leonard & Suggs.

ก. การงอกของโคนิเดีย

ข. โคนิเดีย

23. *Exserohilum sorghicola* Sivan. (ภาพที่ 23)

Teleomorph - ไม่มีรายงาน

ชื่ออื่น ๆ - ไม่มีรายงาน

ลักษณะเชื้อรา

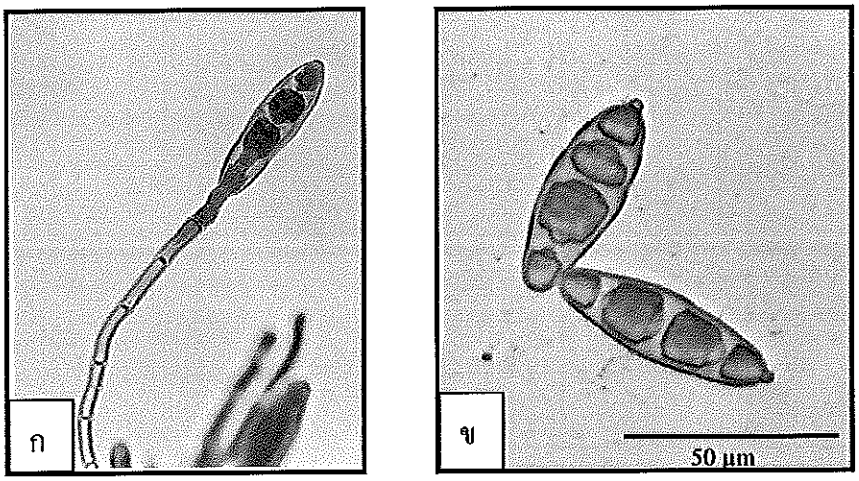
โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ บนเนื้อเยื่อพืช มีลักษณะตรง จนถึง ทรงกระบอก ขนาด 4 -5 x 65 - 200 ไมครอน ยาวมากกว่า 200 ไมครอน ปลายโคนิดิโอฟอร์หักไปมา มีผนังเรียบและ ฐานจะมีการโป่งพอง

โคนิเดีย มีลักษณะตรง จนถึงทรงกระบอกขนาด 5-7.5x22-47.5 ไมครอน มี 3-5 pseudoseptate ผนังเรียบ มีผนังกั้นแบ่งเซลล์ให้ตัดจากกัน มองเห็นอย่างชัดเจน สีน้ำตาลเข้ม ปลายของโคนิเดียจะมี protuberant hilum ขนาด 1-1.5 ไมครอน การงอกของโคนิเดียงอกได้ทั้ง 2 ด้าน

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA เส้นใย สีเทา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.0 เซนติเมตร สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีมีอายุ10 วัน บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส

แหล่งอาหารที่พบ หญ้าดอกแดง

หมายเหตุ -



ภาพที่ 23 *Exserohilum sorghicola* Sivan.

ก. โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

ข. โคนิเดีย

24. *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs. (ภาพที่ 24)

Teleomorph - *Setosphaeria turcica* (Luttr.) Leonard & Suggs.

ชื่ออื่น ๆ

- *Bipolaris turcica* (Pass.) Shoem.
- *Drechslera turcica* (Pass.) Subram. & Jain
- *Helminthosporium inconspicuum* Cooke & Ellis
- *Helminthosporium turcicum* Pass.

ลักษณะเชื้อรา

โคนิดิโอฟอร์ เกิดแบบเดี่ยว ๆ หรือเกาะกลุ่ม บนเนื้อเยื่อพืช ปลายโคนิดิโอฟอร์หักไปมา ลักษณะตรง จนถึง ทรงกระบอก ความกว้าง 5.0-8.0 ไมครอน ความยาวมากกว่า 200 ไมครอน มีผนังเรียบ และผนังกั้นสีน้ำตาล

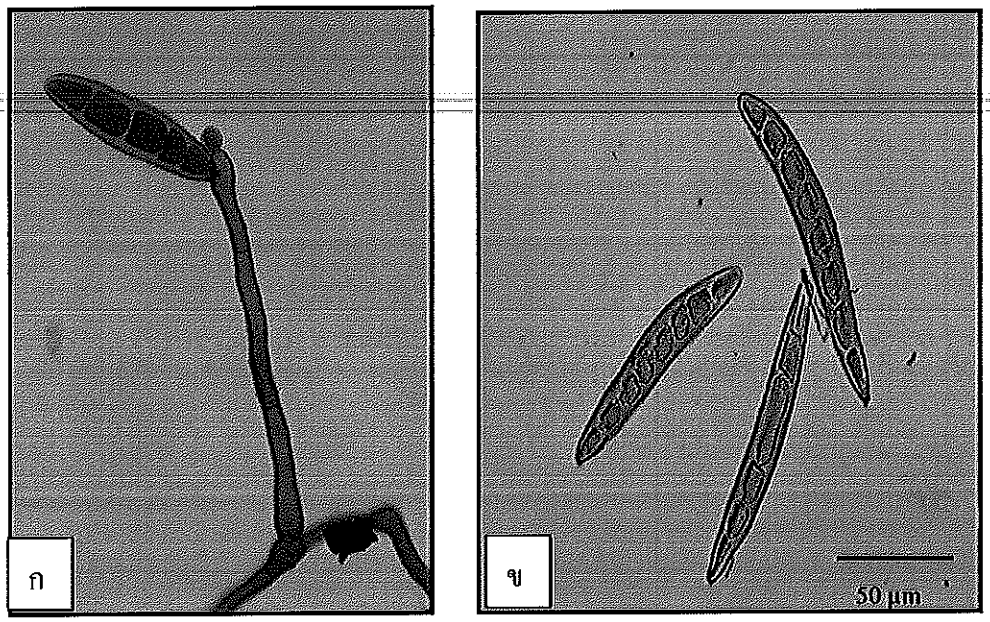
โคนิเดีย มีลักษณะคล้ายรูปไข่ หรือคล้ายกระบอง ขนาด 18-33x50-140ไมครอน มี 4-9 pseudoseptate ผนังเรียบสีน้ำตาลเข้ม ปลายโคนิเดีย มี protuberant hilum การงอกของโคนิเดียสามารถงอกได้ทั้ง 2 ด้าน

โคโลนี บนอาหารวุ้น CMA ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง6.0-6.5เซนติเมตรอายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีเป็นเส้นใยสีน้ำตาลอมเทา เส้นใยเจริญติดบนอาหาร สร้างโคนิเดียเมื่อโคโลนีมีอายุ 9 วัน

แหล่งอาหารที่พบ หญ้านกสีชมพู

หมายเหตุ

เชื้อรา *E. turcicum* สามารถผสมข้ามสายพันธุ์ได้ เป็นเชื้อราสาเหตุโรค northern leaf blight ของข้าวโพด ในประเทศสหรัฐอเมริกา



ภาพที่ 24 *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs.

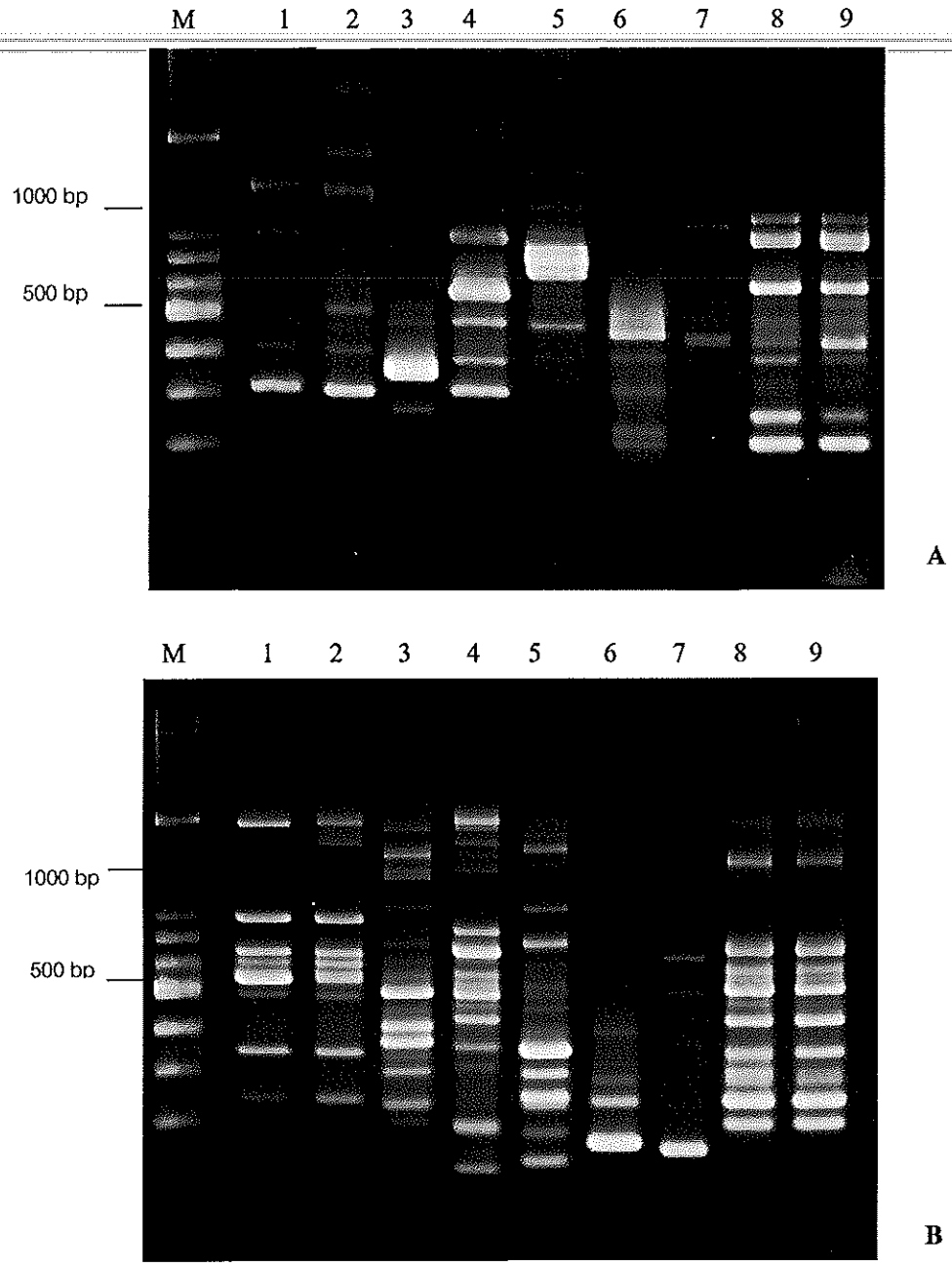
ก. โคนิดิโอฟอร์ และโคนิเดีย

ข. โคนิเดีย

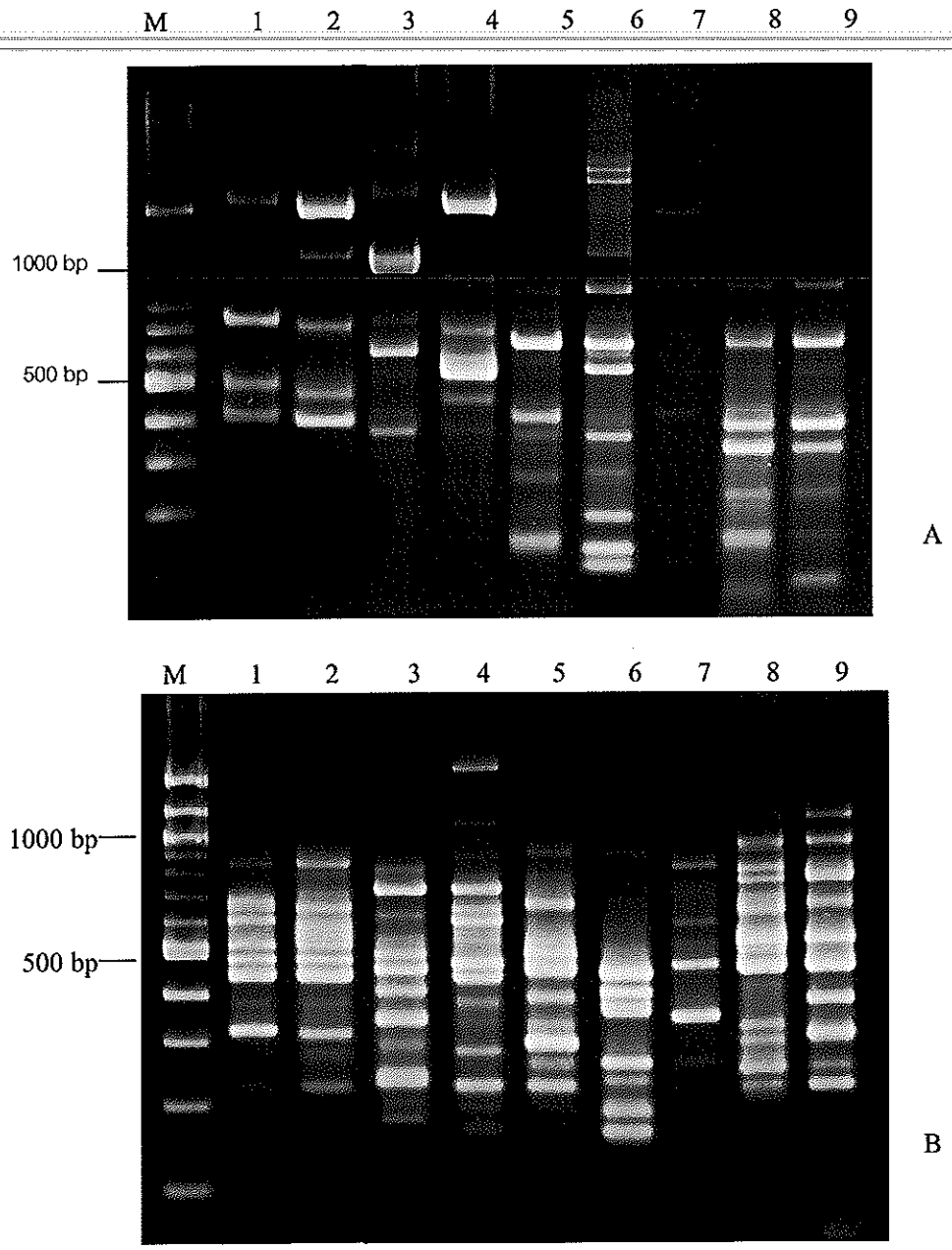
2.2 การจำแนกโดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)
จากการจำแนกเชื้อรา *Helminthosporium* - complex จากแหล่งต่างๆ จำนวน 237 ไอโซเลท สุ่มมา 9 ไอโซเลท โดยแต่ละไอโซเลทเป็นตัวแทนของแต่ละชนิด ยกเว้นเชื้อราหมายเลย 8 และ 9 เป็นเชื้อราชนิดเดียวกัน เชื้อราที่นำมาทดลองมีดังนี้ เชื้อรา *Bipolaris* จำนวน 3 ชนิด คือ *B. australiensis* (เชื้อราหมายเลข 1) *B. hawaiiensis* (เชื้อราหมายเลข 2) *B. setariae* (เชื้อราหมายเลข 3) เชื้อรา *Drechslera* จำนวน 1 ชนิด คือ *D. teres* (เชื้อราหมายเลข 4) และเชื้อรา *Exserohilum* จำนวน 4 ชนิด คือ *E. longirostratum* (เชื้อราหมายเลข 5) *E. holmii* (เชื้อราหมายเลข 6) *E. khartoumensis* (เชื้อราหมายเลข 7) และ *E. monoceras* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช (เชื้อราหมายเลข 8) และ จากจังหวัดสงขลา (เชื้อราหมายเลข 9) เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยไพรเมอร์ทั้ง 7 ชนิดคือ OPA-01, OPA-02, OPA-06, OPA-08, OPB-06, OPB-07 และ OPC-13 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 196 แถบ คิดเป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน 135 แถบ (68.87เปอร์เซ็นต์) และอีก 61 แถบ (31.13 เปอร์เซ็นต์) เป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความแตกต่างกันไพรเมอร์OPC-13 มีจำนวนแถบดีเอ็นเอสูงสุดคือ 31แถบ ไพรเมอร์ OPA-06 และ OPA-08 มีจำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุดเท่ากับ 26 แถบ ขณะที่ไพรเมอร์ OPB-07 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างสูงสุดเท่ากับ 86.20 เปอร์เซ็นต์ แสดงไว้ในตารางที่ 7 และภาพที่ 26

ตารางที่ 7 ชนิดของไพรเมอร์ จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน เปอร์เซ็นต์จำนวนดีเอ็นเอที่แตกต่าง

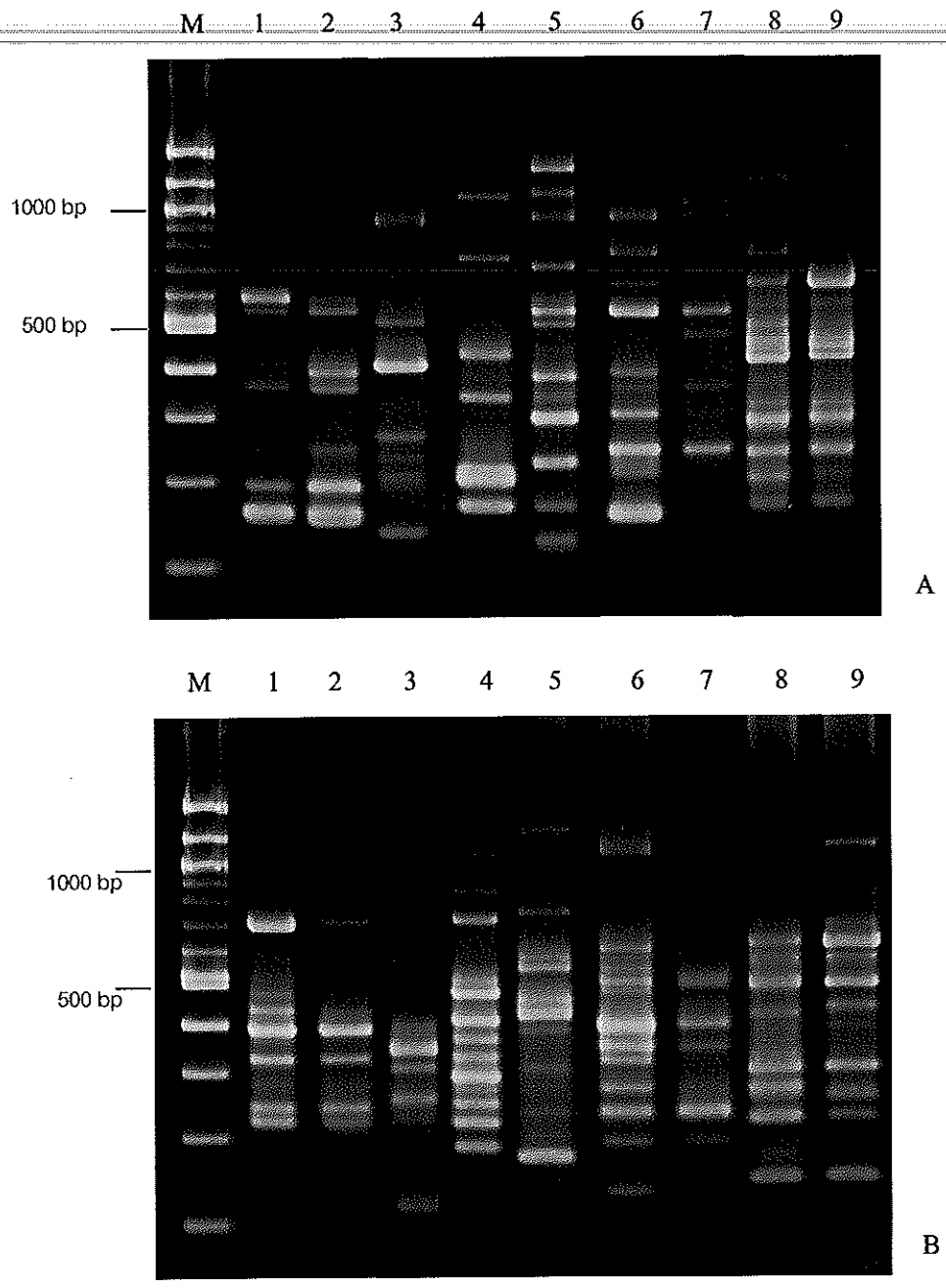
ไพรเมอร์	จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด	จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน	จำนวนแถบดีเอ็นที่แตกต่าง	%จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง
OPA - 01	27	13	14	51.85
OPA - 02	28	9	19	67.85
OPA - 06	26	8	18	69.23
OPA - 08	26	4	22	84.61
OPB - 06	29	13	16	55.17
OPB - 07	29	4	25	86.20
OPC - 13	31	10	21	67.74
รวม	196	61	135	
เฉลี่ย				68.87



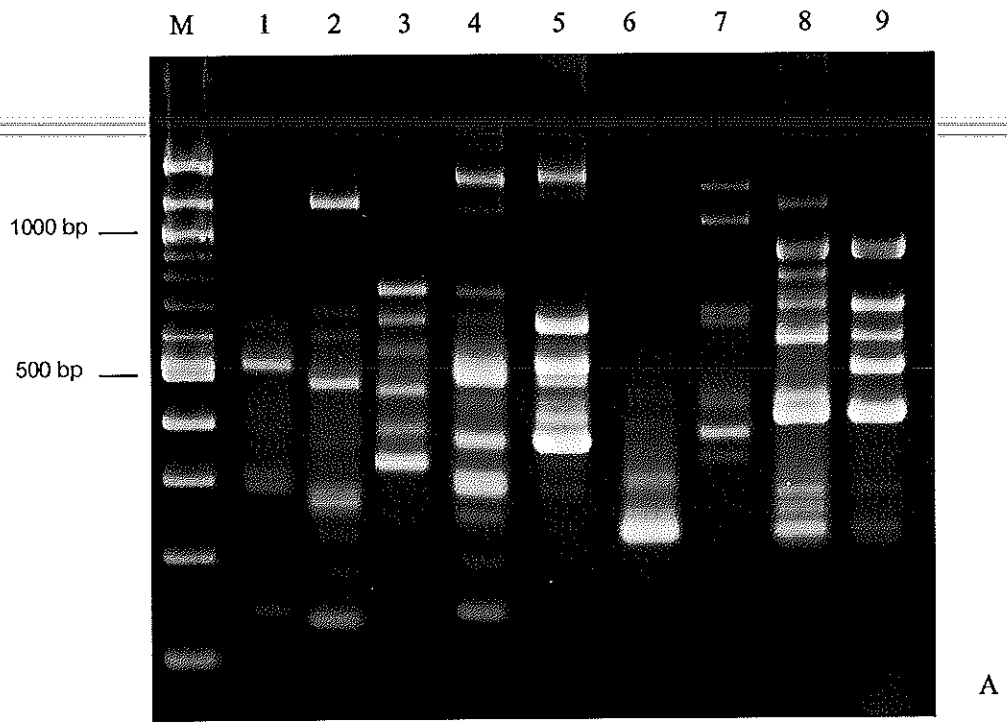
ภาพที่ 25 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex (1) *B. australiensis*, (2) *B. hawaiiensis*, (3) *B. setariae*, (4) *D. teres*, (5)*E. longirostratum*, (6) *E. holmii*, (7) *E. khartoumensis*, (8) *E. monoceras* จังหวัดนครศรีธรรมราช และ (9) *E. monoceras* จังหวัดสงขลา จากเทคนิค RAPD เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-01 (A) และ OPA-02 (B) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



ภาพที่ 26 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex (1) *B. australiensis*, (2) *B. hawaiiensis*, (3) *B. setariae*, (4) *D. teres*, (5)*E. longirostratum*, (6) *E. holmii*,(7) *E. khartoumensis*, (8) *E. monoceras* จังหวัดนครศรีธรรมราช และ (9) *E. monoceras* จังหวัดสงขลา จากเทคนิค RAPD เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-06 (A) และ OPA-08 (B) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



ภาพที่ 27 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex (1) *B. australiensis*, (2) *B. hawaiiensis*, (3) *B. setariae*, (4) *D. teres*, (5)*E. longirostratum*, (6) *E. holmii*, (7) *E. khartoumensis*, (8) *E. monoceras* จังหวัดนครศรีธรรมราช และ (9) *E. monoceras* จังหวัดสงขลา จากเทคนิค RAPD เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPB-06 (A) และ OPB-07 (B) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



ภาพที่ 28 รูปแบบแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Helminthosporium* – complex (1) *B. australiensis*, (2) *B. hawaiiensis*, (3) *B. setariae*, (4) *D. teres*, (5)*E. longirostratum*, (6) *E. holmii*, (7) *E. khartoumensis*, (8) *E. monoceras* จังหวัดนครศรีธรรมราช และ (9) *E. monoceras* จังหวัดสงขลา จากเทคนิค RAPD เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPC – 13 (A) M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

2.2.1 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมจากการใช้เทคนิค RAPD

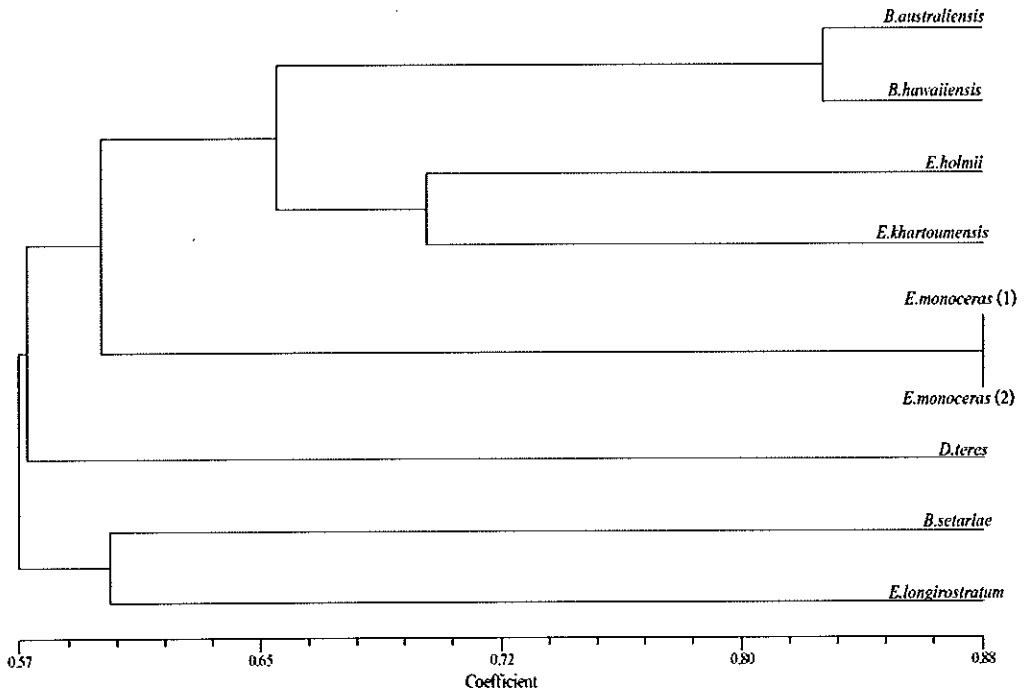
เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ในแต่ละชนิด โดยใช้แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างจำนวน 135 แถบ สร้างเดนโดรแกรมจากการวิเคราะห์ Cluster Analysis วิธี UPGMA ด้วยโปรแกรม NTSY พบว่ามีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.525 – 0.877 โดยตัวอย่างจากเชื้อราชนิดเดียวกันคือ เชื้อราหมายเลข 8 และ 9 ซึ่งเป็นเชื้อรา *E. monoceras* ทั้งคู่มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.877 ลำดับถัดมาคือ *B. australiensis* และ *B. hawaiiensis* มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.826 และกลุ่มที่มีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากที่สุดคือเชื้อรา *D. teres* และ *B. setariae* ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.525 (ภาพที่ 25 และ ตารางที่ 8)

จากรูปแบบของดีเอ็นเอ และเดนโดรแกรมที่ได้ พบว่าในกลุ่ม *Bipolaris* คือ *B. australiensis* และ *B. hawaiiensis* มีรูปแบบของดีเอ็นเอใกล้เคียงกันมาก และมีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง (0.826) ในขณะที่ *B. setariae* ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอแตกต่างจากสองชนิดที่กล่าวมาแล้วค่อนข้างมาก ส่วนในกลุ่มของเชื้อราสกุล *Exserohilum* พบว่า *E. longirostratum* ค่อนข้างมีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอต่างกับชนิดอื่น ๆ อย่างชัดเจน

จากผลการทดลองจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราโดยอาศัยเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุล เป็นการยืนยันผลจากการศึกษาซึ่งเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูง แม้ว่าจะเป็นเชื้อราชนิดเดียวกันก็สามารถแยกความแตกต่างได้ หากมีจีโนไทป์ที่แตกต่างกัน ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ และยังสามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางด้านพันธุกรรมได้อีกด้วยการทดลองนี้ ให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกับงานทดลองของ Oliveira และคณะ (2002) ซึ่งศึกษาการจำแนกสายพันธุ์เชื้อรา *B. sorokiniana* โดยเก็บตัวอย่างเชื้อราจากแต่ละสถานที่จำนวน 10 แหล่ง ซึ่งเทคนิคRAPD สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อราแต่ละชนิดได้อย่างชัดเจน เช่นเดียวกับงานทดลองของ Santos และ คณะ (2002) ศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา *D. tritici - repentis* เป็นเชื้อก่อให้เกิดโรคใบจุดบนข้าวสาลีโดยเก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวสาลีจากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 12 แหล่ง จากการศึกษาพบว่า เทคนิค RAPD สามารถบอกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา *D. tritici - repentis* จากแต่ละสถานที่ได้

ตารางที่ 8 ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Helminthosporium* – complex ในแต่ละชนิด

	B. aust	*B. ha*	*B. set*	*D. tere*	*E. log*	*E. hol*	*E. kha*	*E. mo* (1)	*E.mo*(2)
B. australiensis	1.000								
B. hawaiiensis	0.826	1.000							
B. setariae	0.586	0.556	1.000						
D. teres	0.632	0.581	0.525	1.000					
E. logirostratum	0.551	0.540	0.596	0.581	1.000				
E. holmii	0.632	0.622	0.596	0.540	0.591	1.000			
E. khartoumensis	0.678	0.668	0.635	0.556	0.576	0.698	1.000		
E. monoceras (1)	0.571	0.602	0.566	0.561	0.551	0.602	0.617	1.000	
E. monoceras (2)	0.571	0.591	0.556	0.551	0.540	0.602	0.596	0.877	1.000



ภาพที่ 29 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ในแต่ละชนิดด้วยเทคนิค RAPD

3. การพิสูจน์โรค

จากการทดสอบการพิสูจน์โรคของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex บนวัชพืช 12 ชนิด คือ หญ้าขน หญ้าดา หญ้ารังนก หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้าดอกแดง หญ้าสอนกระจับ หญ้าแพรก หญ้าขจบจบ หญ้านกสีชมพู และหญ้าหวาย เลือกปลูกเชื้อบนวัชพืชที่สำรวจ พบการเข้าทำลายจากเชื้อนั้น ๆ ในธรรมชาติ พบว่าเชื้อรา 11 ชนิด สามารถทำให้วัชพืชทดสอบเป็นโรคได้ ส่วนอีก 4 ชนิดไม่ก่อให้เกิดโรค ลักษณะทั่วไปของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Helminthosporium* - complex สามารถแบ่งออกได้ 2 ลักษณะอาการ คือ

อาการแผลจุด ลักษณะอาการใบจุดส่วนกลางใบ แผลมีขนาด 0.2 - 1.0 เซนติเมตร กระจายทั่วใบพืช ตัวอย่างเชื้อราที่ทำให้เกิดอาการใบจุดบนวัชพืชคือ *B. australiensis*, *B. australis*, *B. cynodontis* และ *B. setariae*

อาการแผลไหม้ ลักษณะแผลรูปร่างไม่แน่นอน บริเวณกลางแผลมีสีน้ำตาลเข้มกว่าขอบแผล เมื่อแผลขยายติดต่อกันทำให้ใบเหี่ยวแห้งตาย ตัวอย่างเชื้อราที่แสดงอาการใบไหม้บนวัชพืช คือ *B. hawaiiensis, E. holmii, E. khartoumensis, E. longirostratum, E. monoceras E. prolatum* และ *E. rostratum* (ตารางที่ 9) รายละเอียดการเกิดโรคของเชื้อรา 15 ชนิดบนวัชพืช

1) เชื้อรา *B. australiensis* ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการแผลจุดกับหญ้ารังนก และ หญ้าปากควาย แผลมีขนาด 0.5-1.0 เซนติเมตร กระจายทั่วใบหลังปลูกเชื้อ 9 วัน ส่วนหญ้าตีนนก หญ้าตีนกา และหญ้าดอกแดง ไม่แสดงอาการโรค

2) เชื้อรา *B. australis* ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการแผลจุดกับหญ้าแพรก โดยแสดงอาการ 7 วันหลังการปลูกเชื้อ ส่วนหญ้าสอนกระจับ และหญ้าขจรจบไม่แสดงอาการโรค

3) เชื้อรา *B. colocasiae* ไม่ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการโรค

4) เชื้อรา *B. cynodontis* ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการแผลจุดสีน้ำตาล บนหญ้าปากควาย และหญ้าแพรก แสดงอาการ 9 วัน หลังการปลูกเชื้อแต่ไม่แสดงอาการโรคบนหญ้ารังนก หญ้าตีนกา และหญ้าขจรจบ

5) เชื้อรา *B. hawaiiensis* ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการแผลไหม้ บนหญ้ารังนก หญ้าแพรก หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู และหญ้าปากควาย แผลมีขนาด 0.2-0.4x0.5-2.0 เซนติเมตร เกิดบริเวณปลายใบ ขยายจนถึงกลางใบ และสามารถเชื่อมต่อกันได้

6) เชื้อรา *B. leersiae* ไม่ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการโรค ในส่วนของการสำรวจโรค ได้จากส่วนใบของหญ้านกสีชมพู และหญ้าขน แสดงอาการแผลจุดสีน้ำตาล ขนาดรูปร่างไม่แน่นอน ประมาณ 0.2-0.5 เซนติเมตร ตามความยาวใบ

7) เชื้อรา *B. setariae* ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการแผลจุดสีน้ำตาลบนหญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนกา แสดงอาการ 9 วันหลังการปลูกเชื้อ แต่ไม่แสดงอาการโรคบน หญ้าปากควาย และหญ้าขจรจบ

8) เชื้อรา *D. erythrospila* ไม่ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการโรค

9) เชื้อรา *D. teres* ไม่ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการโรค

10) เชื้อรา *E. holmii* ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการแผลไหม้ บนหญ้าปากควาย ขอบแผลมีสีน้ำตาล ถึงสีดำขนาด 0.5-1.0x1.0-1.5 เซนติเมตร เกิดอาการ 5 วัน หลังการปลูกเชื้อ

11) เชื้อรา *E. khartoumensis* ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการแผลใบไหม้บนหญ้าปากควาย ขนาด 0.2-0.4x1-3 เซนติเมตร กระจายทั่วใบ เกิดอาการ 7 วัน หลังการปลูกเชื้อ

12) เชื้อรา *E. longirostratum* จากการทดสอบสามารถทำให้เกิดแผลไหม้กับหญ้าปากควาย แผลจะเกิดบริเวณส่วนปลายใบและขยายใหญ่ รูปร่างไม่แน่นอนขนาดประมาณ 0.2-0.4x1-3 เซนติเมตร แสดงอาการ 4 วันหลังการปลูกเชื้อ

13) เชื้อรา *E. monoceras* ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการแผลไหม้ กับหญ้านกสีชมพู บริเวณส่วนปลายใบ แผลมีขนาด 1-2x2-4 เซนติเมตร

14) เชื้อรา *E. prolatum* ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการแผลไหม้บนหญ้าแพรกและหญ้าปากควายขนาด0.2-0.5x1.0-1.5เซนติเมตร กระจายทั่วใบ หลังการปลูกเชื้อ 5 วัน

15) เชื้อรา *E. rostratum* ทำให้พืชทดสอบแสดงอาการแผลไหม้บนหญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนกา แสดงอากาการหลังการปลูกเชื้อ 7 วัน แผลจะเกิดบริเวณส่วนปลายใบและขยายใหญ่ รูปร่างไม่แน่นอนขนาดประมาณ 0.2-0.4x1-3 เซนติเมตร

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Helminthosporium* - complex บนวัชพืชชนิดต่าง ๆ พบวัชพืชที่แสดงอาการโรคจากการปลูกเชื้อ *Helminthosporium* - complex ชนิดต่าง ๆ มากที่สุดคือ หญ้าปากควาย โดยแสดงอาการทั้งใบจุดและใบไหม้

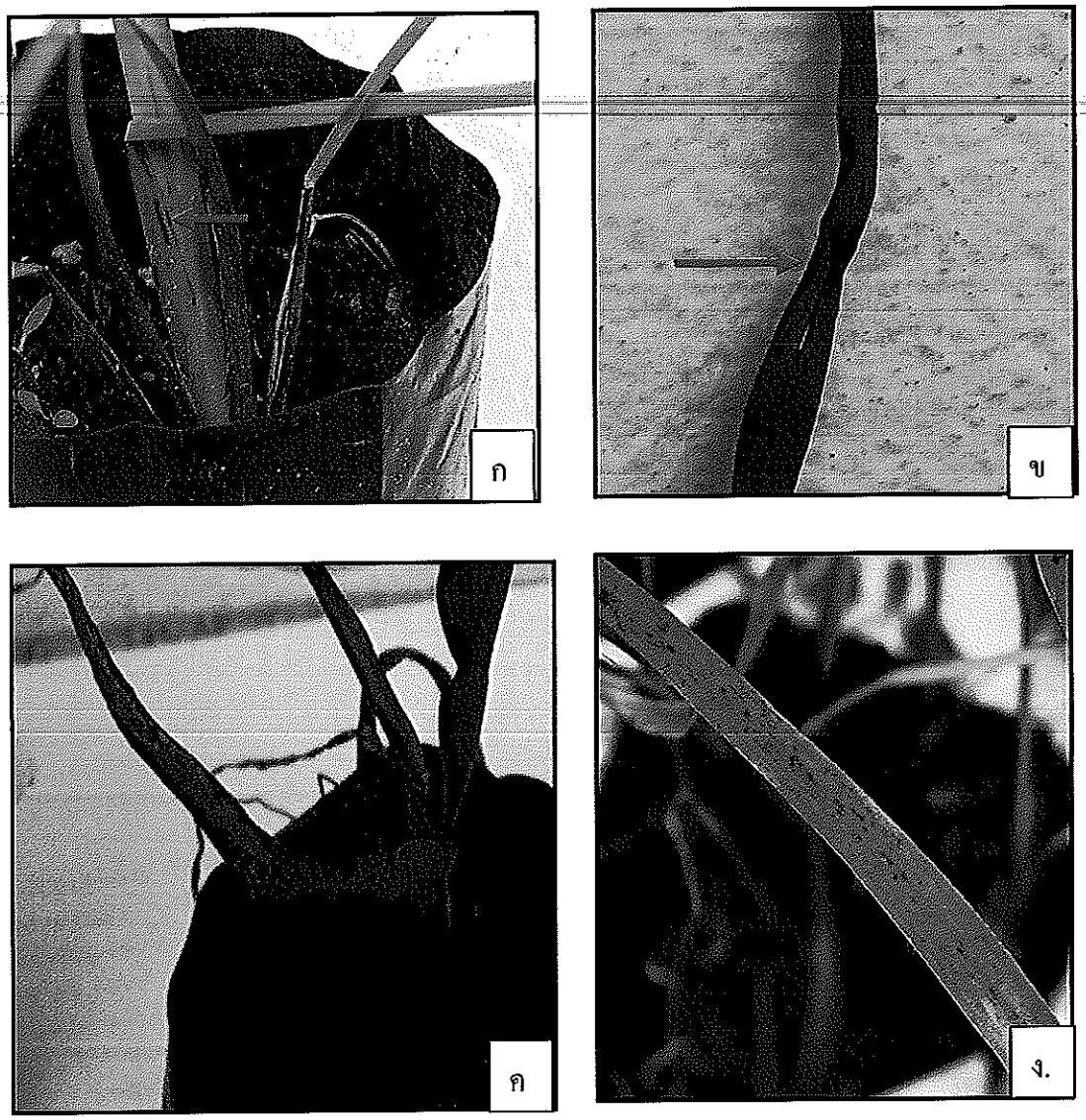
เชื้อก่อให้เกิดโรคบนหญ้าปากควาย มีด้วยกัน 7 ชนิดจากเชื้อที่เข้าทดสอบ 8 ชนิดคือ *B. australiensis, B. cynodontis, B. hawaiiensis, E. holmii, E. khartoumensis, E. longirostratum* และ *E. prolatum* รองลงมาคือ หญ้าแพรกแสดงอาการทั้งใบจุดและใบไหม้ จากเชื้อทดสอบ 4 ชนิด คือ *B. australis B. cynodontis B. hawaiiensis* และ *E. prolatum* ส่วนบนหญ้านกสีชมพูมีเชื้อก่อให้เกิดโรค 4 ชนิดจากเชื้อทดสอบ 7 ชนิด คือ *B. hawaiiensis B. setariae E. monoceras* และ *E. rostratum* จากการทดสอบเดียวกัน (ตารางที่ 9 และภาพที่ 30) เมื่อศึกษาถึงชนิดของเชื้อราก่อให้เกิดโรคบนวัชพืชชนิดต่าง ๆ เพื่อคัดเลือกเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ชนิดที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาทดสอบการควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี พบว่าเชื้อราซึ่งก่อให้เกิดโรคบนวัชพืชมาก

ที่สุดคือ *B. hawaiiensis* แสดงอาการแผลใบไหม้ บนหญ้ารังนก หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก หญ้าแพรก และหญ้านกสีชมพู แต่ไม่สามารถนำเชื้อรา *B. hawaiiensis* มาใช้ในการทดลองควบคุมวัชพืชได้เนื่องจากรายงานการทดลอง Sutton และ Joseph (1996) พบว่าเชื้อราชนิดนี้ทำให้เกิดโรค Phaeohyphomycosis กับสัตว์เลี้ยง และมนุษย์ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษายืนยันถึงสายพันธุ์ (strain) ที่ก่อโรคว่าเป็นสายพันธุ์เดียวกันหรือไม่ จึงควรที่จะมีการศึกษาต่อไปในอนาคต เนื่องจากเชื้อรา *B. hawaiiensis* สามารถทำลายวัชพืชได้อย่างรุนแรงและหลายชนิด สำหรับเชื้อก่อให้เกิดโรคบนวัชพืช รองลงมาคือเชื้อรา *E. rostratum* สามารถเข้าทำลายวัชพืชได้ 3 ชนิดคือ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู แต่ก่อให้เกิดโรคบนพืชเศรษฐกิจ อาทิ เช่น อ้อย (Ferreira and Comstock, 1993) ข้าวโพด (Shurtleff *et al.,* 1993) และปาล์มน้ำมัน (Forsberg, 1985) เช่นเดียวกับเชื้อรา *E. prolatum* และ *B. cynodontis* เข้าทำลายวัชพืชได้ 2 ชนิดคือ หญ้าปากควาย หญ้าแพรก รวมทั้งข้าวโพด (Shurtleff *et al.,* 1993) และปาล์มน้ำมัน (Forsberg, 1985)

สำหรับเชื้อรา *E. monoceras* แม้ก่อให้เกิดโรคใบไหม้บนวัชพืชเพียงชนิดเดียวคือ หญ้านกสีชมพู แต่เป็นวัชพืชที่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากในการเกษตรกรรม ประกอบกับไม่มีรายงานการเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจ (Zhang and Watson, 1997b) จึงได้เลือกเชื้อรา *E. monoceras* มาทดสอบการควบคุมวัชพืชหญ้านกสีชมพู โดยชีววิธี

ตารางที่ 9 ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Helminthosporium* - complex บนวัชพืชแต่ละชนิด

เชื้อรา	พืชทดสอบ											
	หวาย	ขน	ดา	รังนก	ปากควาย	ตี ตีนนก	ตีนกา	ดอกแดง	สอนกระจับ	แพรก	ขจรจบ	นกสีชมพู
1. *B. australiensis*	---	---	---	จุด	จุด	---	---	---	---	---	---	---
2. *B. australis*	---	---	---	---	---	---	---	---	---	จุด	---	---
3. *B. colocasiae*	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
4. *B. cynodontis*	---	---	---	---	จุด	---	---	---	---	จุด	---	---
5. *B. hawaiiensis*	---	---	---	ไหม้	ไหม้	ไหม้	---	---	---	ไหม้	---	ไหม้
6. *B. leerisae*	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
7. *B. setariae*	---	---	---	---	---	---	จุด	---	---	---	---	จุด
8. *D. erythrospila*	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
9. *D. teres*	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
10. *E. holmii*	---	---	---	---	ไหม้	---	---	---	---	---	---	---
11. *E. khartoumensis*	---	---	---	---	ไหม้	---	---	---	---	---	---	---
12. *E. longirostratum*	---	---	---	---	ไหม้	---	---	---	---	---	---	---
13. *E. monoceras*	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	ไหม้
14. *E. prolatum*	---	---	---	---	ไหม้	---	---	---	---	ไหม้	---	---
15. *E. rostratum*	---	---	---	---	---	ไหม้	ไหม้	---	---	---	---	ไหม้



ภาพที่ 30 อาการโรคใบจุดและใบไหม้ของวัชพืช จากการเข้าทำลายของเชื้อราชนิดต่าง ๆ

ก. อาการใบจุดของหญ้าปากควาย สาเหตุจากเชื้อ *Bipolaris cynodontis*

ข. อาการใบไหม้ของหญ้าปากควาย สาเหตุจากเชื้อ *Bipolaris hawaiiensis*

ค. อาการใบไหม้ของหญ้าปากควาย สาเหตุจากเชื้อ *Exserohilum longirostratum*

ง. อาการใบไหม้ของหญ้านกสีชมพู สาเหตุจากเชื้อ *Exserohilum monoceras*

4. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับข้าว ข้าวโพด และ ข้าวฟ่าง

จากการทดสอบความสามารถของเชื้อรา 15 ชนิด ในการเกิดโรคกับพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ จำนวน 3 ชนิดคือ ข้าว (พันธุ์เล็บนก), ข้าวโพด (ลูกผสมเดี่ยวพันธุ์อินทรีย์ 2)และข้าวฟ่าง พบเชื้อราที่แยกได้จากวัชพืช ทั้ง 15 ชนิดไม่ก่อให้เกิดโรคกับต้นข้าวที่ทดสอบมี 3ชนิดคือ *B. cynodontis, E. prolatum* และ *E. rostratum* ก่อให้เกิดโรคบนข้าวโพดโดยเชื้อรา *B. cynodontis* ทำให้เกิดอาการใบจุดสีเหลือง ขนาด 0. 2-1 เซนติเมตร กระจายทั่วใบพืช ส่วนเชื้อรา *E. prolatum* และ *E. rostratum* แสดงอาการแผลใบไหม้ ขอบแผลสีเหลืองอ่อน ตรงกลางแผลมีสีเทา แผลสามารถลามเชื่อมต่อกัน หากเป็นรุนแรงจะทำให้ใบแห้งเหี่ยวตาย และในการทดลองครั้งนี้มีเชื้อเพียง 1 ชนิด คือ *B. hawaiiensis* ทำให้เกิดโรคกับข้าวฟ่าง (ตารางที่ 10)

เชื้อราที่นำมาทดสอบในครั้งนี้มีจำนวน 6 ชนิด มีรายงานพบบนข้าวได้คือ *B. australiensis, B. cynodontis, B. hawaiiensis, E. longirostratum, E. prolatum* และ *E. rostratum* (Sivanesan *et al.,* 1987) ในส่วนงานทดลองของ Ou (1972) รายงานการเกิดโรคบนข้าวจำนวน 4 ชนิดคือ *B. australiensis, B. hawaiiensis, E. rostratum* และ *E. turcicum* เกิดแผลจุด ขอบแผลสีเหลือง แผลส่วนมากเป็นรูปไข่ ขนาดแผลประมาณ 1-1.5 มิลลิเมตร จนถึง 10 มิลลิเมตร ขึ้นอยู่กับความอ่อนแอของพืช แต่การทดสอบครั้งนี้ เชื้อราทั้ง 5 ชนิดไม่เข้าทำลายข้าวได้ อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ข้าวที่นำมาทดสอบในครั้งนี้มีความต้านทานต่อเชื้อรา รวมถึงอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา จากงานทดลองของ Percich (1997) ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิและความชื้นต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *B. oryzae* บนข้าวป่า (*Zizania palustris*) โดยพบว่าที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณการเกิดแผลใบจุดสีน้ำตาลบนข้าวป่ามีค่าสูงสุด หากอุณหภูมิสูงกว่า 30 องศาเซลเซียส การแสดงอาการแผลใบจุดจะลดลง ในส่วนของความชื้นสัมพันธ์ที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ระหว่าง 80 – 90 เปอร์เซ็นต์ จึงเห็นได้ว่าอุณหภูมิ และความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ข้าวเกิดโรค

ส่วนในข้าวโพดเชื้อก่อให้เกิดโรคมีเพียง 3 ชนิด คือ *B. cynodontis* แสดงอาการแผลจุดสีเหลืองแผลมีขนาด 0.2-4 เซนติเมตรกระจายทั่วใบพืชส่วนเชื้อรา *E. prolatum* และ *E .rostratum* แสดงอาการแผลใบไหม้ ขนาด 3-10 นิ้ว กลางแผลเป็นสีเทา จนถึงสีน้ำตาล ขอบแผลสีเหลือง อาการในช่วงแรกที่พบจะเกิดอาการฉ่ำน้ำ (water soaked) แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จนถึงสีดำ ทำให้ใบเหี่ยว (ภาพที่ 31) ส่วนเชื้อราอีก 12 ชนิด ไม่ก่อให้เกิดโรคบนข้าวโพดที่ทดสอบ Shurteff (1980) รายงานพบเชื้อรา *E. rostratum* ก่อให้เกิดโรคบนข้าวโพด ลักษณะอาการคล้ายโรค northern leaf blight ซึ่งเกิดจากเชื้อ *E. turcicum* ในส่วนงานทดลองของ Carson และ Van Dyke (1994) ศึกษาผลกระทบของแสง และอุณหภูมิ ต่อการเกิดโรคของเชื้อรา *E. turcicum* พบว่าการให้

แสงตลอดเวลา และควบคุมอุณหภูมิในช่วงกลางวันที่ 26 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิในช่วงกลางคืนที่ 22 องศาเซลเซียส ส่งผลให้การเกิดโรครุนแรงมากที่สุด

จากการทดสอบการก่อโรคของเชื้อรา เชื้อ *Helminthosporium* - complex 15 ชนิด บนข้าวฟ่าง พบว่ามีเพียง 1 ชนิด ที่ก่อให้เกิดโรคใบจุดคือ *B. hawaiiensis* ในขณะที่จากการศึกษาของSivanesan (1987) พบเชื้อรา *B. australiensis*, *E. khartoumensis*, *E.longirostratum*, *E. prolatum* และ *E. rostratum* ก่อให้เกิดโรคได้บนข้าวฟ่าง การที่ข้าวฟ่างไม่แสดงอาการโรคจากการปลูกเชื้อครั้งนี้ อาจเนื่องจากข้าวฟ่าง ชนิดที่นำมาทดสอบต้านทานต่อเชื้อรา หรือสภาพแวดล้อมในขณะที่ทำการปลูกเชื้อไม่เหมาะสม จึงทำให้ข้าวฟ่างไม่เกิดโรค

อย่างไรก็ตามนอกจากสภาพแวดล้อมซึ่งมีผลกระทบต่อกระบวนการเกิดโรคของพืชอาศัยโดยตรงแล้ว ยังพบว่าเชื้อราสาเหตุโรคมีส่วนในการสร้างความรุนแรงของเชื้อด้วยเช่นเดียวกัน จากงานทดลองของ Moriwaki และคณะ (2007) ศึกษายีนที่ควบคุมการเกิดโรคของเชื้อรา *B. oryzae* เชื้อสาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลบนข้าว พบว่ายีน BMK1 เป็นยีนซึ่งมีบทบาทในการควบคุมระดับความรุนแรงของโรค หากเชื้อสายพันธุ์ใดมียีน BMK1 เชื้อรา ชนิดนั้น จึงมีการแสดงอาการโรครุนแรงบนพันธุ์ข้าว

ตารางที่ 10 ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Helminthosporium* - complex บนข้าว ข้าวโพด และข้าวฟ่าง

ชื่อเชื้อรา	พืชอาศัย		
	ข้าว	ข้าวโพด	ข้าวฟ่าง
1. *B. australiensis*	0	0	0
2. *B. australis*	0	0	0
3. *B. colocasiae*	0	0	0
4. *B. cynodontis*	0	1	0
5. *Bipolaris hawaiiensis*	0	0	1
6. *B. leersiae*	0	0	0
7. *B. setariae*	0	0	0
8. *D. erythrospila*	0	0	0
9. *D. teres*	0	0	0
10. *E. holmii*	0	0	0
11. *E. khartoumensis*	0	0	0
12. *E. longirostratum*	0	0	0
13. *E. monoceras*	0	0	0
14. *E. prolatum*	0	2	0
15. *E. rostratum*	0	3	0

หมายเหตุ

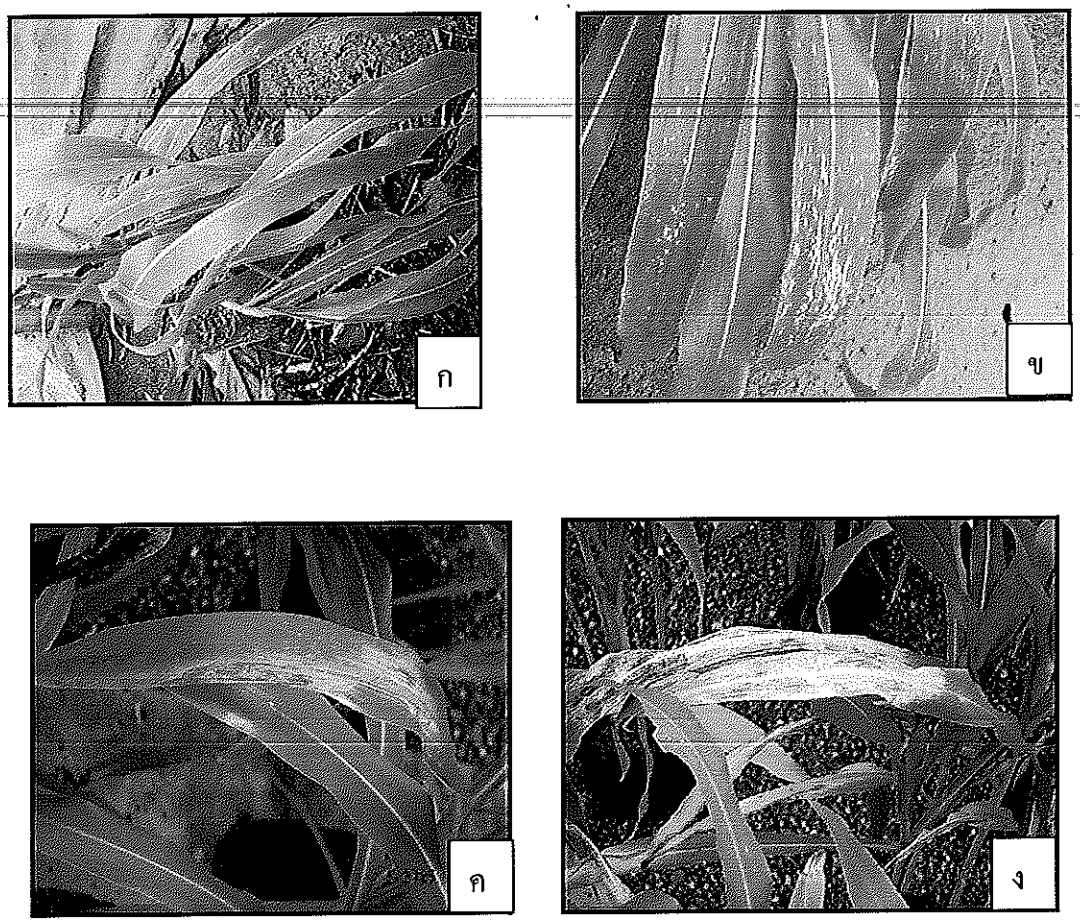
0 = ไม่มีอาการใบจุดและใบไหม้

1 = มีอาการใบจุดและใบไหม้ 1 – 25 เปอร์เซ็นต์

2 = มีอาการใบจุดและใบไหม้ 26 – 50 เปอร์เซ็นต์

3 = มีอาการใบจุดและใบไหม้ 51 – 75 เปอร์เซ็นต์

4 = มีอาการใบจุดและใบไหม้ มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 31 ระดับการเกิดโรคใบไหม้ของข้าวโพดจากเชื้อราชนิดต่าง ๆ หลังการปลูกเชื้อ 5 วัน

ก. ชุดควบคุม

ข. แสดงอาการโรคระดับ 1 จากเชื้อ *Bipolaris cynodontis*

ค. แสดงอาการโรคระดับ 2 จากเชื้อ *Exserohilum prolatum*

ง. แสดงอาการโรคระดับ 3 จากเชื้อ *Exserohilum rostratum*

5. ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างโคนิเดีย ของเชื้อ *Exserohilum monoceras*

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Helminthosporium* - complexบนวัชพืชและไม่ก่อโรคบนพืชเศรษฐกิจ 3 ชนิดคือ ข้าว ข้าวโพด และข้าวฟ่าง เพื่อใช้ในการควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี คัดเลือกเชื้อได้ 1 ชนิด คือ *E. monoceras* จึงนำมาศึกษาปัจจัยซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณของเชื้อ ดังต่อไปนี้

5.1 ปริมาณการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *Exserohilum monoceras* บนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด

จากการศึกษาเปรียบเทียบ การสร้างโคนิเดียบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 6 ชนิดได้แก่ Czapek – Dox agar (CDA), Corn meal agar (CMA), Malt extract agar (MEA), Potato dextrose agar (PDA), ½ Potato dextrose agar (½PDA), V- 8 agar (VA) นำเชื้อรา *E. monoceras* บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน จึงนับจำนวนโคนิเดีย โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 11 เชื้อรา *E. monoceras* สร้างโคนิเดียได้มากที่สุดบนอาหาร V-8 juice agar (VA) ถึง 13.56×10^7โคนิเดีย/จานเลี้ยงเชื้อ รองลงมาคืออาหาร CMA สร้างโคนิเดียได้ 2.04×10^7 โคนิเดีย/จานเลี้ยงเชื้อ ในอาหาร CDA MEA PDA และ½PDA ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 32)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมมากที่สุดในการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* คือ V-8 juice agar (VA) ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ CDA มีการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุด แต่มีการสร้างโคนิเดียได้น้อย ซึ่งให้ผลไปในทิศทางเดียวกับงานทดลองของ Zhang และ Watson (1997a) และยังพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้ออีกชนิดที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* คือ centrifuged V-8 agar (CVA) ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารอาหารซึ่งเป็นส่วนประกอบในอาหารแต่ละชนิดมีผลกระตุ้นให้เชื้อรามีการสร้าง โคนิเดียเพิ่มมากขึ้น ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใดมี อัตราส่วนปริมาณโปรตีนน้อย จะมีการสร้าง โคนิเดียได้มาก จึงทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อรา *Helminthosporium* - complex มีส่วนประกอบของใบข้าวโพด ใบข้าว หรือ เมล็ดข้าวฟ่าง เพิ่มเติมลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ

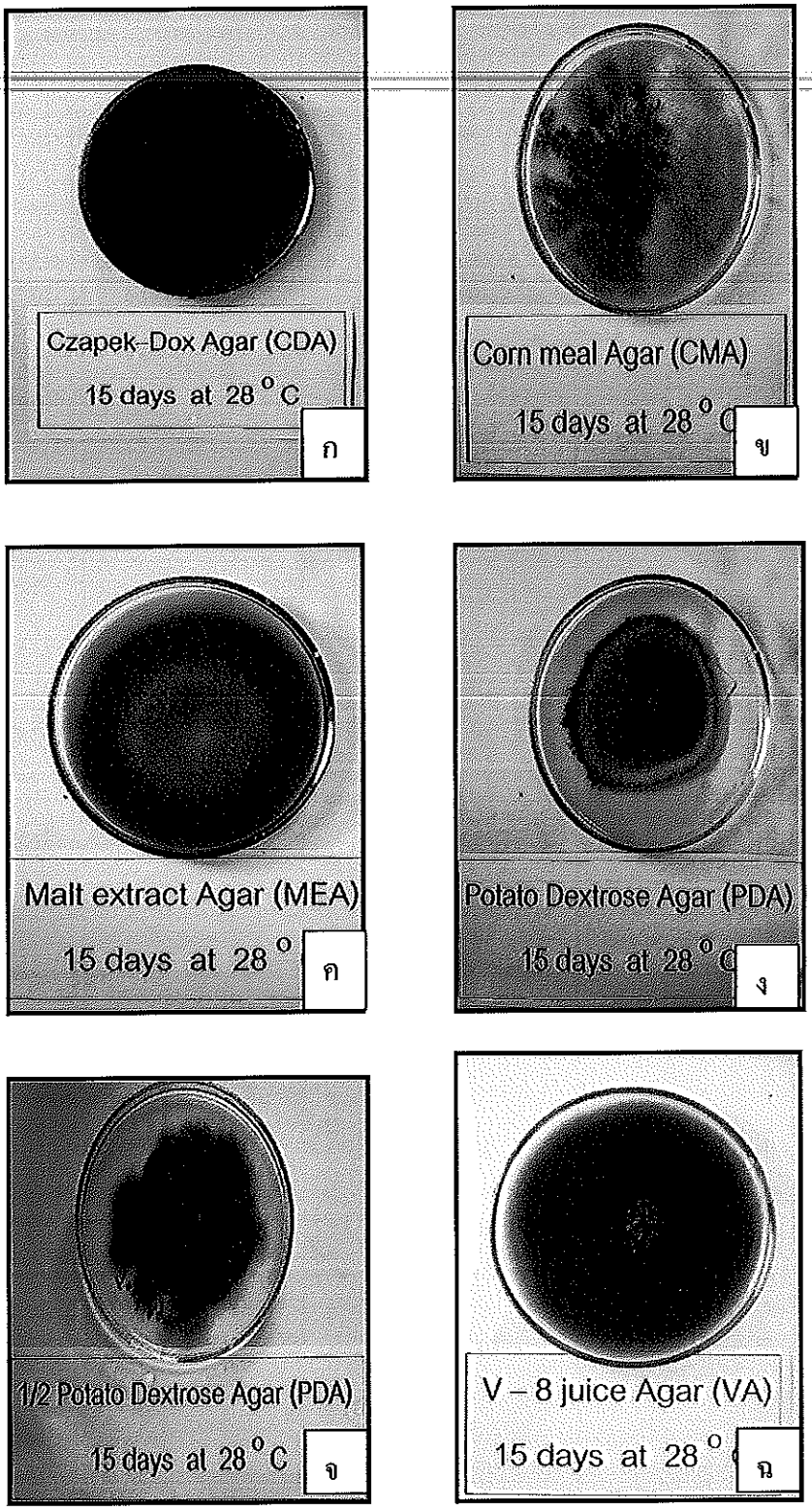
ตารางที่ 11 ปริมาณการสร้างโคนิเดียบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด

อาหารเลี้ยงเชื้อ	ความกว้างของโคโลนี (เซนติเมตร)	จำนวนโคนิเดีย ต่อ จานเลี้ยงเชื้อ ($x10^7$)
Czapek – Dox Agar (CDA)	8.00	0.17 c
Corn Meal Agar (CMA)	8.00	2.04 bc
Meal Extract Agar (MEA)	8.00	0.81 c
Potato Dextrose Agar (PDA)	5.70	0.21 c
½ Potato Dextrose Agar (½PDA)	6.50	0.13 c
V-8 juice Agar (VA)	8.00	13.56 a
F – test	nd	**
C.V.	nd	8.62

nd ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.01$

อักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการตรวจสอบโดย DMRT



ภาพที่ 32 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *Exserohilum monoceras* บนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

5.2 ผลของแสงต่อปริมาณการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* บนอาหาร VA

จากการทดสอบผลกระทบของแสงต่อปริมาณการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ VA ในสภาพที่มีแสงแตกต่างกัน 3 รูปแบบ คือ วางเลี้ยงเส้นใยในที่มืด 24 ชั่วโมง/วัน วางเลี้ยงเส้นใยให้ได้รับแสงสว่างปกติในห้องปฏิบัติการ 12 ชั่วโมง/วัน และวางเลี้ยงเส้นใยภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต 12 ชั่วโมง/วัน ตลอดการทดลอง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 12 พบว่าเชื้อรา *E. monoceras* วางเลี้ยงเส้นใยในที่มืดมีการสร้างโคนิเดียได้มากที่สุด 16.46×10^7 โคนิเดีย/จานเลี้ยงเชื้อ รองลงมาคือวางเลี้ยงเส้นใยให้ได้รับแสงสว่างปกติในห้องปฏิบัติการ 12 ชั่วโมง/วัน สร้างโคนิเดียได้ 0.92×10^7 โคนิเดีย/จานเลี้ยงเชื้อ และวางเลี้ยงเส้นใยภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต 12 ชั่วโมง/วัน สร้างโคนิเดียได้ 0.35×10^7 โคนิเดีย/จานเลี้ยงเชื้อ (ภาพที่ 33)

จากการทดลองพบว่าเชื้อรา *E. monoceras* สามารถสร้างโคนิเดียได้มากที่สุดในที่มืดตลอดการทดลอง ซึ่งให้ผลไปในทางเดียวกับงานทดลองของ Zhang และ Watson (1997a) พบว่าเส้นใยเชื้อรา *E. monoceras* เจริญได้น้อย วางเลี้ยงเส้นใยให้ได้รับแสงสว่างปกติในห้องปฏิบัติการ 12 ชั่วโมง/วัน และวางเลี้ยงเส้นใยภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 12 ชั่วโมง/วัน ตามลำดับ

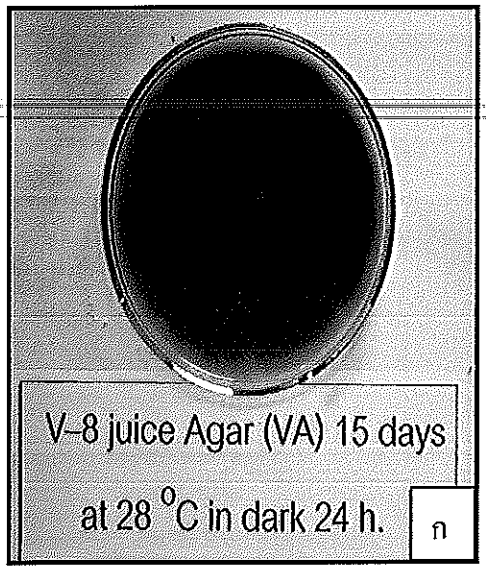
ตารางที่ 12 แสงต่อปริมาณการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* บนอาหาร VA

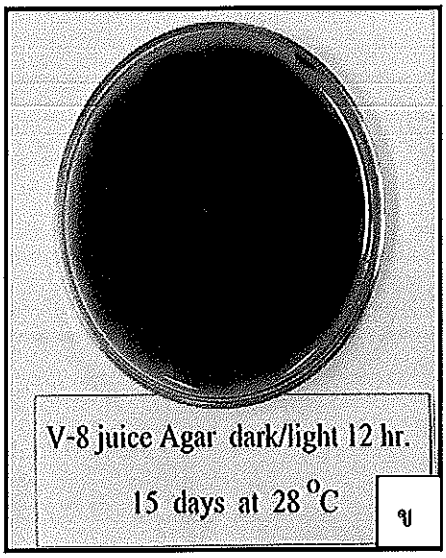
แสง	ความกว้างของโคโลนี (เซนติเมตร)	จำนวนโคนิเดีย ต่อ จานเลี้ยงเชื้อ ($x10^7$)
วางในที่มืด 24 ชั่วโมง	8.00	16.46 a
แสงสว่างปกติ 12 ชั่วโมง	8.00	0.92 b
ภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต	4.00	0.35 c
F – test	nd	**
C.V.	nd	12.76

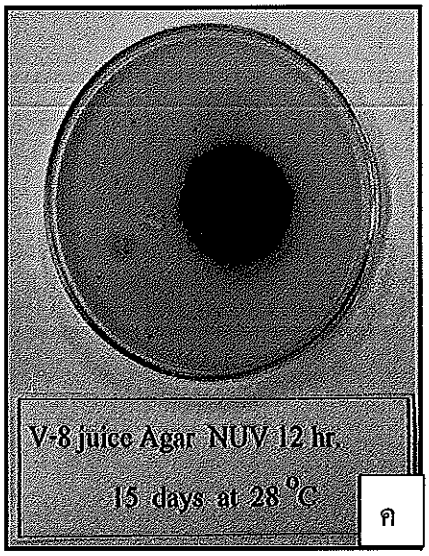
nd ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.01$

อักษรเหมือนกันในคอลัมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการตรวจสอบโดย DMRT







ภาพที่ 33 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *E. monoceras* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ VA ที่ระดับแสง ต่าง ๆ เป็นเวลา 15 วัน

5.3 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* บนอาหาร VA

จากการทดสอบผลของอุณหภูมิต่อปริมาณการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* บนอาหาร VA ทำการทดสอบอุณหภูมิต่าง ๆ คือ 20, 25, 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส โดยบ่มเชื้อในที่มืด เป็นเวลา 15 วัน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 13 เชื้อรา *E. monoceras* สร้างโคนิเดียได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 28 - 30 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สร้างโคนิเดียได้ 20.46×10^7 โคนิเดีย/จานเลี้ยงเชื้อ รองลงมาคือ ที่ 28, 25, 35 และ 20 องศาเซลเซียส สร้างโคนิเดียได้ 16.46×10^7, 8.98×10^7, 6.35×10^7 และ 4.02×10^7 ตามลำดับ (ภาพที่ 34)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าเส้นใยของเชื้อรา *E. monoceras* สามารถเจริญและสร้างโคนิเดียได้มากที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับงานทดลองของ Zhang และ Watson (1997a) เชื้อรา *E. monoceras* สร้างโคนิเดียได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 28 - 30 องศาเซลเซียส และโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* มีการเจริญได้ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียสและสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส

ดังนั้นในการเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ได้ปริมาณโคนิเดียที่มากพอ เพื่อทดสอบความสามารถของเชื้อรา *E. monoceras* ในการควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี จึงเลี้ยงเชื้อบนอาหาร V-8 juice Agar (VA) บ่มเชื้อที่ 30 องศาเซลเซียส ในที่มืด เป็นเวลา 15 วัน

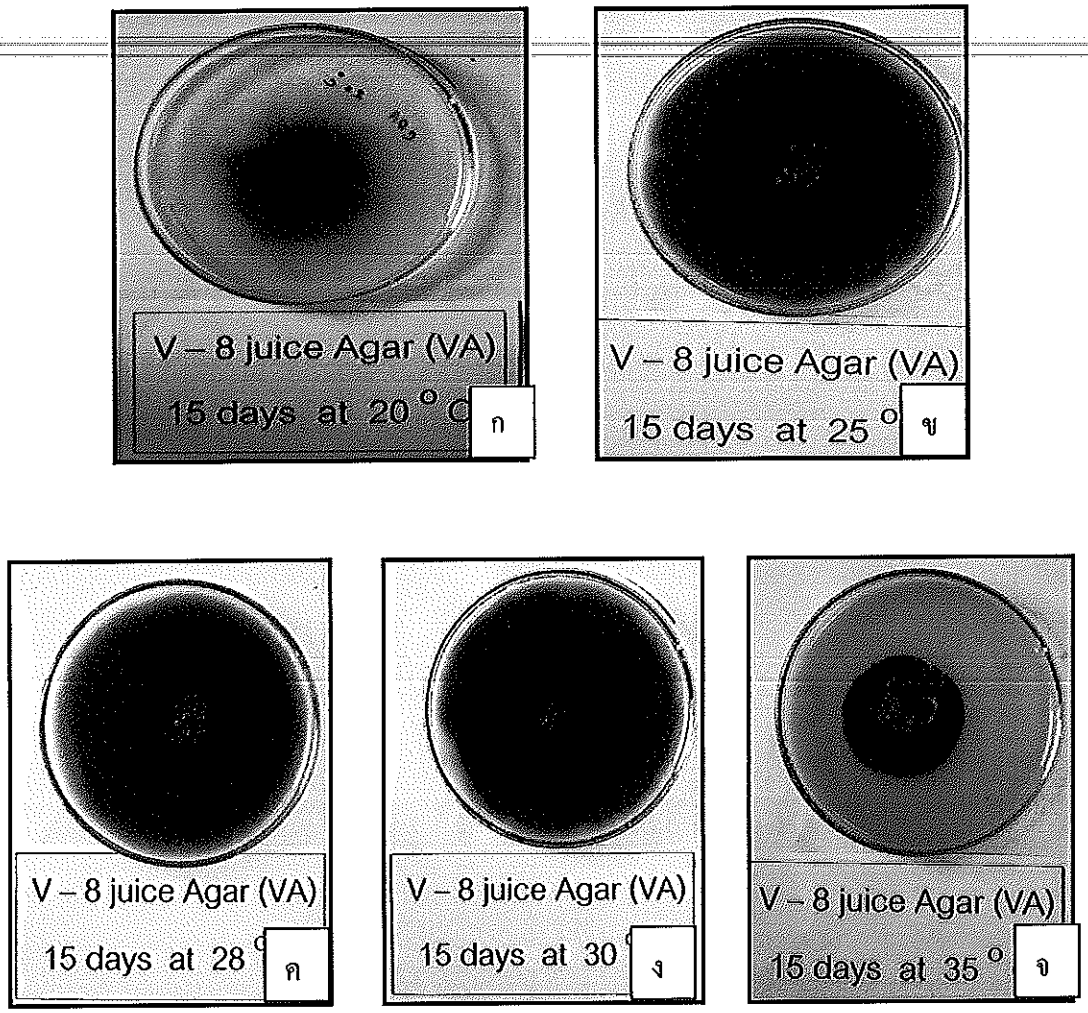
ตารางที่ 13 อุณหภูมิต่อปริมาณการสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *E. monoceras* บนอาหาร VA

อาหารเลี้ยงเชื้อ	ความกว้างของโคโลนี (เซนติเมตร)	จำนวนโคนิเดีย ต่อ จานเลี้ยงเชื้อ ($x10^7$)
อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส	5.50	4.02 c
อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	8.00	8.98 c
อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส	8.00	16.46 b
อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	8.00	20.46 a
อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	3.70	6.35 c
F – test	nd	**
C.V.	nd	9.58

nd ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.01$

อักษรเหมือนกันในคอลัมน์ เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการตรวจสอบโดย DMRT



ภาพที่ 34 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *E. monoceras* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ VA ที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 15 วัน

6. ความสามารถของเชื้อรา *E. monoceras* เพื่อใช้ควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี

จากผลการทดสอบความสามารถของเชื้อ *E. monoceras* บนหญ้านกสีชมพูที่ระดับอายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน อัตราความเข้มข้นของโคนิเดียแขวนลอย 10^3, 10^4, 10^5, 10^6 และ 10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4

หญ้านกสีชมพูอายุ 7 วัน มีดัชนีการเกิดโรคสูงสุดคือ 21.55 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ 14, 21 และ 28 วัน ซึ่งมีดัชนีการเกิดโรค 19.20, 14.65 และ 11.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ความเข้มข้นของโคนิเดียแขวนลอยของเชื้อรา*E. monoceras* ที่สามารถก่อให้เกิดโรค และมีดัชนีการเกิดโรคสูงสุดคือที่ 10^7โคนิเดีย/มิลลิลิตร ซึ่งมีดัชนีการเกิดโรคสูงสุดคือ 22.40 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ 10^3, 10^4, 10^5 และ10^6 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ซึ่งมีดัชนีการเกิดโรค 11.37 13.75 16.68 และ 19.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ดังนั้นความสามารถของเชื้อ *E. monoceras* เพื่อใช้ควบคุมบนหญ้านกสีชมพู จึงควรทดสอบที่ระดับอายุ 7 วัน และอัตราความเข้มข้นโคนิเดียแขวนลอย 10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร แต่เนื่องจากการเกิดโรคไม่รุนแรง และลักษณะอาการที่ปรากฏบนใบวัชพืช พบอาการแผลใบจุด แผลมีลักษณะเป็นจุดสีเหลืองขนาด 0.2-0.4 เซนติเมตร ค่อนข้างกลม กระจายทั่วใบพืช จึงไม่สามารถนำมาใช้ในการ ควบคุมหญ้านกสีชมพูได้ สอดคล้องกับงานทดลองของ อาทิตย์ กุคำอู และคณะ (2544) ที่ศึกษาประสิทธิภาพเชื้อรา *E. monoceras* ควบคุมการระบาดของหญ้าข้าวนก (*Ehinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) โดยใช้โคนิเดียแขวนลอย อัตราความเข้มข้น $1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร พบว่าเกิดอาการเป็นแผลจุดสีน้ำตาลแดง ขนาดเล็กบนใบ สำหรับในต่างประเทศ Zhang และ Watson (1997a, b) ศึกษาประสิทธิภาพของ เชื้อรา *E. monoceras* ควบคุมการระบาดของหญ้าสกุล *Echinochloa* spp. เช่นหญ้าข้าวนก และหญ้านกสีชมพู โดยใช้โคนิเดียแขวนลอย อัตราความเข้มข้น $5x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ควบคุมสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือน และสภาพแวดล้อมหลังการปลูกเชื้อ นำวัชพืชวางในที่มืด ที่ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงปรับอุณหภูมิให้อยู่ในระหว่าง 24-28 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ ตลอดการทดลอง ผลการทดลองพบว่าอัตราการตายของวัชพืชทั้ง 2 ชนิดสูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ และกล่าวว่าปัจจัยหลักในการส่งเสริมให้วัชพืชแสดงอาการโรครุนแรงคือสภาพแวดล้อม

ตารางที่ 14 ดัชนีการเข้าทำลายของเชื้อ *Exserohilum monoceras* บนหญ้านกสีชมพูที่อายุและความเข้มข้นของโคนิเดียแขวนลอยต่าง ๆ กัน

อายุวัชพืช	ระดับความเข้มข้นของโคนิเดียแขวนลอย					ค่าเฉลี่ยรวม
	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7	
อายุ 7 วัน	19.37	19.75	21.50	22.62	24.50	**21.55 a**
อายุ 14 วัน	13.50	16.37	20.37	22.25	23.50	**19.20 b**
อายุ 21 วัน	8.12	10.50	13.87	19.25	21.50	**14.65 c**
อายุ 28 วัน	4.50	8.37	11.00	13.50	20.12	**11.50 d**
ค่าเฉลี่ยรวม	**11.37 E**	**13.75 D**	**16.68 C**	**19.40 B**	**22.40 A**	**16.72**
F test **						
CV 17.08						

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.01$

อักษรเหมือนกันในคอลัมน์ และแถวเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการตรวจสอบโดย DMRT

บทที่ 4
สรุป

1. การเก็บรวบรวมเชื้อรา *Helminthosporium* - complex

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างวัชพืช แสดงอาการใบจุดและใบไหม้ บริเวณจังหวัด สงขลา และใกล้เคียง จำนวนทั้งสิ้น 149 ตัวอย่าง จากวัชพืช 24 ชนิด พบเชื้อรา *Helminthosporium* - complex บนวัชพืชจำนวน 14 ชนิด คือ หญ้าใบไผ่ หญ้าขน หญ้าสอนกระจับ หญ้ารังนก หญ้าแพรก หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนกา หญ้าคา หญ้าขจรจบ หญ้าเนเปียร์ หญ้าดอกแดง และหญ้าหวาย ส่วนวัชพืชซึ่งไม่พบเชื้อรา *Helminthosporium* - complex มีจำนวน 10 ชนิด คือ สาบแร้งสาบกา ผักโขมหนาม หญ้ามาเลย์ ผักปราบ สาบเสือ แห้วหมู ผักยาง หนวดปลาดุก ผักเบี้ยใหญ่ และหญ้าโขย่ง วัชพืชซึ่งพบเชื้อรามากที่สุดคือ หญ้าปากควาย พบจำนวน 13 ชนิด รองลงมาคือ หญ้านกสีชมพู พบจำนวน 8 ชนิด

2. การจำแนกชนิดของ *Helminthosporium* - complex

2.1 ศึกษาสัณฐานวิทยาของโคนิเดียจากเนื้อเยื่อวัชพืชที่เป็นโรค

แยกเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดและใบไหม้บนเนื่อเยื่อวัชพืชโดยวิธีแยกสปอร์เดี่ยวในอาหารวุ้น CMA พบเชื้อราทั้งหมด 237 ไอโซเลท จำแนกเชื้อราทั้งหมด 24 ชนิด เชื้อที่พบจำแนกได้ 3 สกุล (genus) คือ *Bipolaris* จำนวน 11 ชนิด เชื้อรา *Drechslera* จำนวน 3 ชนิดเชื้อรา *Exserohilum* จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *B. australiensis* (Ellis) Tsuda & Ueyama, *B. australis* Alcorn, *B. colocasiae* (Tandan & Bhargava) Alcorn, *B. cynodontis* (Marignoni) Shoem., *B. ellisii* (Danquah) Alcorn, *B. hawaiiensis* (Ellis) Uchida & Aragaki, *B. leersiae* (Atk.) Shoem., *B. sacchari* (Butler) Shoem., *B. setariae* (Saw.) Shoem., *B. sorokiniana* (Sacc.) Shoem., *B. sorghicola* (Lefebvre & Sherwin) Alcorn, *D. erythrospila* (Drechs.) Shoem., *D. euphorbiae* (Hansford) Ellis, *D. teres* (Sacc.) Shoem., *E. holmii* (Luttr.) Leonard & Suggs., *E. khartoumensis* El Shafie & Webster, *E. longirostratum* (Subram.) Sivan., *E. minor* Alcorn, *E. monoceras* (Drechs.) Leonard & Suggs., *E. paspali* Muchovej & Nesio, *E. prolatum* Leonard & Suggs., *E. rostratum* (Drechs.) Leonard & Suggs., *E. sorghicola* Sivan. และ*E. turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs. และเชื้อราซึ่งพบมากที่สุดบนวัชพืช คือ *B. hawaiiensis* และ *B. setariae* รองลงมาคือ *B. australiensis* และ *B. cynodontis*

2.2 การจำแนกทางชีวโมเลกุลโดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

การจำแนกเชื้อรา *Helminthosporium* - complex ทางด้านชีวโมเลกุลโดยใช้เทคนิค RAPD โดยทำการทดสอบกับ ตัวอย่างเชื้อราที่ทำการศึกษาจำนวน 9 ไอโซเลท โดยใช้ไพรเมอร์ 7 ชนิดคือ OPA – 01 OPA – 02, OPA – 06, OPA – 08, OPB – 06, OPB – 07 และOPC – 13 พบว่าให้ผลที่สอดคล้องกับรูปแบบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ RAPD – PCR แต่ละไพรเมอร์มีความแตกต่างกันทั้งในกลุ่มเชื้อราชนิดเดียวกัน และระหว่างกลุ่มเชื้อราจึงนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา *Helminthosporium* - complex แต่ละชนิด โดยใช้แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างจำนวน 135 แถบ พบเชื้อรา *Helminthosporium* - complex มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม ระหว่าง 0.525 - 0.877 โดยตัวอย่างเชื้อราชนิดเดียวกันคือ เชื้อราหมายเลข 8 และ 9 ซึ่งเป็นเชื้อรา *E. monoceras* ทั้งคู่มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุดคือ 0.877 ลำดับถัดมาคือ *B. australiensis* และ *B. hawaiiensis* มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.826 และ กลุ่มซึ่งมีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากที่สุดคือ เชื้อรา *D. teres* และ *B. setariae* เท่ากับ 0.525

3. การพิสูจน์โรค

จากการทดสอบพิสูจน์โรคเชื้อรา *Helminthosporium* – complex คัดเลือกเชื้อราจำนวน 15 ชนิด คือ *B. australiensis, B. australis, B. colocasiae, B. cynodontis, B. hawaiiensis, B. leersiae, B. setariae, D. erythrospila, D. teres, E. holmii, E. khartoumensis, E. longirostratum, E. monoceras, E. prolatum* และ *E. rostratum* เลือกปลูกเชื้อบนวัชพืชซึ่งสำรวจพบการเข้าทำลายจากเชื้อนั้นๆ ในธรรมชาติ จำนวน 12 ชนิด คือ หญ้าขน หญ้าคา หญ้ารังนก หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้าดอกแดง หญ้าสอนกระจับ หญ้าแพรก หญ้าขจบจบ หญ้านกสีชมพู และหญ้าหวาย พบเชื้อรา 11 ชนิด ก่อให้เกิดโรคบนวัชพืช คือ *B. australiensis, B. australis, B. cynodontis, B. hawaiiensis, B. leersiae, B. setariae, E. holmii, E. khartoumensis, E. longirostratum, E. monoceras , E. prolatum* และ *E. rostratum* ส่วนอีก 4 ชนิดไม่ก่อให้เกิดโรคบนวัชพืชคือ เชื้อรา *B. colocasiae, B. leersiae, D. erythrospila* และ *D. teres* เชื้อราก่อให้เกิดโรคมากที่สุดบนหญ้าปากควาย แสดงอาการแผลใบจุด และใบไหม้ รองลงมาคือหญ้าแพรก และหญ้านกสีชมพู ตามลำดับ

4. การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคบนข้าว ข้าวโพด และ ข้าวฟ่าง

จากการทดสอบความสามารถของเชื้อรา 15 ชนิด บนพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ จำนวน 3 ชนิดคือ ข้าว (พันธุ์เล็บนก) ข้าวโพด(ลูกผสมเดี่ยวพันธุ์อินทรีย์ 2) และข้าวฟ่าง พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากวัชพืช ทั้ง 15 ชนิด ไม่ก่อให้เกิดโรคบนข้าว เชื้อรา 3 ชนิด คือ *B. cynodontis*, *E. prolatum* และ*E. rostratum* ก่อให้เกิดโรคบนข้าวโพด และเชื้อรา 1 ชนิด คือ *B. hawaiiensis* ก่อให้เกิดโรคบนข้าวฟ่าง

5. ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างโคนิเดีย ของเชื้อ *E. monoceras*

จากการทดสอบปัจจัยซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณโคนิเดียของเชื้อ *E. monoceras*มากที่สุด คือ เลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ V-8 juice Agar บ่มเชื้อที่ 30 องศาเซลเซียส ในที่มืดตลอดการทดลอง

6. ความสามารถของเชื้อรา *E. monoceras* เพื่อใช้ควบคุมหญ้านกสีชมพูโดยชีววิธี

จากการทดลองความสามารถของเชื้อรา *E. monoceras* ในการเข้าทำลายหญ้านกสีชมพู โดยเปรียบเทียบระหว่างอายุ และอัตราความเข้มข้นโคนิเดียแขวนลอยของเชื้อรา *E. monoceras* พบว่าเชื้อราก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุดบนหญ้านกสีชมพูอายุ 7 วัน ที่โคนิเดียแขวนลอย อัตราความเข้มข้น 10^7โคนิเดีย/มิลลิลิตร

เอกสารอ้างอิง

บรรพต ณ ป้อมเพชร โกศล เจริญสม วิวัฒน์ เสือสะอาด และเดชพล พงศ์สุประดิษฐ์. 2522. แมลงที่มีความสำคัญในการควบคุมวัชพืชน้ำ โดยชีววิธีในประเทศไทย. เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 5. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ.

ปนัดดา ใยภักดี. 2545. สารกำจัดวัชพืชจากจุลินทรีย์. วารสารมหาวิทยาลัยศิลปากร. 2-22: 9-23.

พงษ์เทพ ขจรไชยกุล. 2522. โรคและศัตรูยางพารา. สงขลา: ศูนย์วิจัยการยางหาดใหญ่. ฉบับที่ 13 กันยายน.

พะยอม พินยพงศ์ ทัศนีย์ แจ่มจรรยา นุชรีย์ ศิริ และวิโรจน์ ขลิบสุวรรณ. 2541. โรควัชพืชในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. แก่นเกษตร 26 : 33-38.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2540. การจัดการโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อาทิตย์ กุดำอู พัฒนา สนธิรัตน ธวัช ปฏิรูปานุสร และภมร ปัตตาวะตัง. 2544. การศึกษาเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชที่สำคัญในนาข้าว. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 5. 21-23 พฤศจิกายน 2544. กาญจนบุรี. หน้า 367-374.

Alcorn, J.L. 1988. The taxonomy of *Helminthosporium* species. Annual Review of Phytopathology 26 : 37-56.

Bournival, B.L., Ginoza, H.S., Sohenck, S. and Moore, P.H. 1994. Characterization of sugarcane reponse to *Bipolaris sacchari* inoculation and host-specific HS-toxin. Phytopathology 84 : 672-676.

Carson, M.L. and Van Dyke, C.G. 1994. Effect of light and temperature on expression of partial resistance of maize to *Exserohilum turcicum*. Plant Disease 78 : 319-322.

Charudattan, R. 1996. Biological control of noxious weed species using plant pathogen. Plant Pathology Department University of Florida. [online]. Available: http://itre.ncsu.edu/cte/paper44.html [Accessed June 2, 2004]

Chandramohan, S. and Charudattan, R. 2001. Control of seven grasses with a mixture of three fungal pathogens with restricted host ranges. Biological Control 22 : 246-255.

Chandramohan, S., Charudattan, R., Sonoda, R.M. and Singh, M. 2002. Field evaluation of a fungal pathogen mixture for the control of seven weedy grasses. Weed Science 50 : 204-213.

Chiang, M.Y., Van Dyke, C.G. and Chilton, W.S. 1989. Four foliar pathogenic fungi for controlling seedling johnson grass (*Sorghum halepense*). Weed Science 37 : 802-809.

Cunfer, B.M. 1993. Common names of plant diseases of rye (*Secale cereale* L.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/ryet.asp. [Accessed May 3, 2005].

David, R.J. 1997. Common names of plant diseases of banana and plantain (*Musa* spp.) [online]. Available: http://apsnet.org/online/common/names/banana.asp. [Accessed October 13 , 2005]

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK 451- 452 pp. [online]. Available: http://www.isppweb.org/names_banana_pathogen.asp#fun.[Accessed October 13, 2005]

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Cambrian News, Aberystwyth. UK.

Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Cambrian News, Aberystwyth. UK.

Epstein, A.H. and Simons, M.D. 1993. Common names of plant diseases of oats (*Avena sativa*L.) primary collators. [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/oats.asp. [Accessed October 13, 2005]

Ferreira, S.A. and Comstock, J.C. 1993. Common names of plant diseases of sugarcane (*Saccharum* spp.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/sugarcane.asp. [Accessed May 3, 2005]

Figliola, S.S., Camper, N.D. and Riding, W.H. 1988. Potential biological control agent for goose grass (*Eleusine indica*). Weed Science 36 : 830-835.

Forsberg, L. 1985. Foliar diseases of nursery-grown Ornamental Palms in Queensland. Australasian Plant Pathology 14 : 64-71.

Gulya, T.J. and Masirevic, S. 1993. Common names of plant diseases of sunflower (*Helianthus annuus* L.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/sunflowr.asp. [Accessed May 3, 2005]

Hollier, C.A., Groth, D.E., Rush, M.C. and Webster, R.K. 1993. Common names of plant diseases of rice (*Oryza sativa* L.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/rice.asp. [Accessed May 3, 2005]

Horne, C.W. and Frederiksen, R.A. 1993. Common names of plant diseases of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/sorghum.asp. [Accessed May 3, 2005]

Jones, D.R., Tessera, M. and Quimio, A.J. 2000. Drechslera leaf spot in diseases of banana, CABI Publishing. [online]. Available: http://www.isppweb.org/names_banana_pathogen.asp#fun. [Accessed October13,2005]

Kamalakannan, A., Rabindran, V., Khabbaz, R.S. and Shmi, L.D. 2005. First report of Bipolaris leaf blight of coconut (*Cocos nucifera*) caused by *Bipolaris incurvata* in mainland India. [online]. Available: http://www.extento.hawaii.edu/kbase/Crop/Type/b_incur.htm. [Accessed October13, 2005]

Kucharek, L. and Raid, R. 2000. Some diseases of corn in Florida. [online] Available: http://plantpath.ifas.ufl.edu/takextpub/FactSheets/circ1130.pdf. [Accessed October 13, 2005]

Langaro, N.C., Reis, E.M. and Floss, E.L. 2001. Detection of *Drechslera avenae* in oat seeds. Fitopatologia Brasileira 26 : 745-748.

Lim, S.M. and Chamberlain, D.W. 2001. Common names of plant diseases of soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/soybeans.asp. [Accessed May 3, 2005]

Lyda, S.D. and Watkin, G.M. 2001. Common names of plant diseases of cotton (*Gossypium* spp.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/cotton.asp. [Accessed May 3, 2005]

Mathre, D.E. 2000. Common names of plant diseases of barley (*Hordeum vulgare* L.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/barley.asp. [Accessed May 3, 2005]

Moriwaki, A., Kihara, J., Mori, C. and Arase, S. 2007. A map kinase gene BMK1 is required for conidiation and pathogenicity in the rice leaf spot pathogen *Bipolaris oryzae*. Micrbiological Research 162 : 104-108.

Nishijima, W.T. 1999. Common names of plant diseases of papaya (*Carica papaya* L.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/papaya.asp. [Accessed May 3, 2005]

Ohr, H.D., Coffer, M.D. and Mcmillan, R.T. 2003. Common names of plant diseases of avocado (*Persea Americana* Miller.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/avocado.asp. [Accessed May 3, 2005]

Oliveira, A.M.R., Matsumra, A.T.S., Prestes, A.M. and Van Der Sand, S.T. 2002. Intraspecific variability of *Bipolaris sorokiniana* isolates determined by random– amplified polymorphic DNA (RAPD). Genetic and Molecular Research 1 : 350-358.

Ou, S.H. 1972. Rice disease. Common Wealth Mycological Institutem Kew, Surrey. England.

Pereich, J.A., Nyvall, R.F., Malvick, D.K. and Kohls, C.L. 1997. Interaction of temperature and moisture on infection of wild rice by *Bipolaris oryzae* in the growth chamber. Plant Disease 81 : 1193-1195.

Pernezny, K. and Simone, G.W. 2000. Common names of plant diseases of mango (*Mangifera indica* L.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/mango.asp. [Accessed May 3, 2005]

Ploetz, R. Harrison, N. and Jones, P. 1999. Common names of plant diseases of coconut palm (*Cocos nucifera* L.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/coconut.asp. [Accessed May 3, 2005]

Porter, D.M. 1993. Common names of plant diseases of peanut (*Arachis hypogaea* L.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/peanut.asp. [Accessed May 3, 2005]

Pratt, R.G. 2001. Occurrence and virulence of *Bipolaris hawaiiensis* on bermudagrass (*Cynodon dactylon*) on poultry waste application site in Mississippi. Plant Disease 85 : 1206 . [abstract]

Pratt, R. G. 2005. Variation in occurrence of dematiaceous hyphomycetes on forange bermudagrass over years sampling times and locations. Phytopathology 95 : 1183 -1190.

Reiss, E. and Horstmann, C. 2001. *Drechslera teres* infected barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves accumalate eight isoforms of Thaumatin - like protein. Physiological and Molecular Plant Pathology 84 : 435-439.

Riaz, M., Bockus, W.W. and Davis, M.A. 1991. Effect of wheat genotype time after inoculation and leaf age on condia production by *Drechslera tritici – repentis* . Phytopathology 81 : 1298-1302.

Roy A.K., Singh C.P. and Singh D.K. 1989. Some unrecorded fruit rot diseases of banana. Indian Phytopathology 42 : 202-203.

Santos, A.M.P., Matsumura, A.T.S. and Van Der Sand, S.T. 2002. Intraspecific genetic diversity of *Drecshlera tritici-repentis* detected by RAPD. Genetic and Molecular Biology 25 : 243 - 250.

Sharma, R.C. and Dubin, H.J. 1996. Effect of wheat cultivar mixtures on spot blotch (*Bipolaris sorokiniana*) and grain yield. Field Crop Research 48 : 95–101.

Shurtleff, M.C. 1980. Compendium of corn diseases. American Phytopathological Society. Inc.

Shurtleff, M.C., Edwards, D.I., Noel, G.R., Pederson, W.L. and White, D.G. 1993. Common names of plant diseases of corn(*Zea mays* L.). [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/corn.asp. [Accessed May 3, 2005]

Sivanesan , A.1987. Graminicolus species of *Bipolaris Curvularia Drechslera Exserohilum* and their teleomorphs. Mycological Papers 158 : 1-261.

Sneath, P.H. and Sokal, R.R. 1973. Numerical Taxonomy. Freeman, San Franeisco.

Sonoda,R.W. and Turner, B.M. 1993. *Bipolaris sacchari* on *Panicum maximum* in Florida. Plant Disease 77: 101. [abstract]

Sutton, M.A. and Joseph, I.S. 1996. The dematiaceous fungal genus *Bipolaris* and its role in human disease. Clinical Microbiology Newsletter 18 : 1-6.

TeBeest, D.O. 1991. Microbial Control of Weeds. Chapman and Hall, Inc., USA

Waterhouse, D.F. 1994. Biological Control of Weeds: Southeast Asian Prospects. Australian Centre for International Agricultural Research.

Wiese, W.V., Murray, T.D. and Forster, R.L. 2000. Common names of plant diseases of wheat (*Triticum* spp.) [online]. Available: http://www.apsnet.org/online/common/names/wheat.asp. [Accessed October 13, 2005]

Winder, S.R. and Van Dyke, G.C. 1990. The pathogenicity, virulence and biocontrol potential of two *Bipolaris* species on johnsongrass (*Sorghum halepense*). Weed Science 38 : 89–94.

Zhang, W.M., Moody, K. and Watson, A.K. 1996. Responses of *Echinochloa* species and rice (*Oryza sativa*) to indigenous pathogenic fungi. Plant Disease 80 : 1053-1058.

Zhang, W.M. and Watson, A.K. 1997a. Effect of dew period and temperature on the ability of *Exserohilum monoceras* to cause seedling mortality of *Echinochloa* species. Plant Disease 81 : 629-634.

Zhang, W.M. and Watson, A. K. 1997b. Efficacy of *Exserohilum monoceras* for the control of *Echinochloa* species in rice (*Oryza sativa*). Weed Science 45 : 144-150.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

Czapek – dox agar (CDA)

Sucrose	30.0	กรัม
$NaNO_3$	3.0	กรัม
KCl	0.5	กรัม
K_2HPO_4	1.0	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.05	กรัม
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

Corn meal agar (CMA)

Corn meal	40.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

Malt extract agar (MEA)

Malt extract	20.0	กรัม
Peptone	1.0	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

V-8 juice agar (VA)

V -8 juice	200	มิลลิลิตร
$CaCo_3$	3.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	800	มิลลิลิตร

Potato dextrose agar (PDA)

Potato	200	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

½ Potato dextrose agar (PDA)

Potato	100	กรัม
Dextrose	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุล

Lysis buffer ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

0.2 M Tris – HCl pH 8.0	3.152	กรัม
0.25M NaCl	1.461	กรัม
0.025 M Na_2 EDTA (pH8.0)	0.930	กรัม
1% Sodium dodecyl sulfate	1.0	กรัม

เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วจึงนำ lysis buffer บ่มที่อุณหภูมิ 64 องศาเซลเซียส จนกว่าสารละลายได้หมด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ และเติมสาร β - mercaptoethanol เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

TE buffer ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

1.0 M Tris – HCl (pH 7.5)	500	ไมโครลิตร
0.25 M Na_2 EDTA (pH7.0)	200	ไมโครลิตร

เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตรนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

TAE buffer เข้มข้น 50 เท่า

Tris – base	121.1	กรัม
Acetic – acid	28.5	มิลลิลิตร
0.5 M Na_2 EDTA (pH8.0)	50.0	มิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า และนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

DNA sample buffer

Bromophenol buffer	125	มิลลิลิตร
Xylene cyanol	125	มิลลิลิตร
Glycerol	15	มิลลิลิตร

1.5 % Agarose gel

เติม agarose 1.5 กรัมลงใน 1X TAE buffer 100 ml นำไปต้มจน agarose ละลายจึงเท agarose ลงในถาดที่เตรียมไว้เพื่อให้ได้ gel ขนาดที่ต้องการ

Ethidium bromide 10 มิลลิกรัม /มิลลิลิตร

น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ethidium bromide 1 กรัม

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 1 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยปริมาณการสร้างโคนิเดียบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

Source	df	SS	MS	F
Treatment	5	690.42	138.084	914.72 **
Error	18	2.717	0.15	
Total	23	693.138		

CV 8.62 %

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.01$

ตารางที่ 2 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยของแสงต่อปริมาณการสร้างโคนิเดียบนอาหาร VA

Source	df	SS	MS	F
Treatment	2	668.1313	334.0656	589.06 * *
Error	9	5.1040	0.5671	
Total	11	673.2354		

CV 12.74 %

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.01$

ตารางที่ 3 วิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ยอุณหภูมิต่อปริมาณการสร้างโคนิเดียบนอาหาร VA

Source	df	SS	MS	F
Treatment	4	773.2294	193.3073	166.29 * *
Error	15	17.43742	1.162495	
Total	19	790.6668		

CV 9.58 %

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.01$

ตารางที่ 4 วิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อ *Exserohilum monoceras* บนหญ้านกสีชมพู

Source	df	SS	MS	F
Treatment	19	2633.700	138.616	284.340 **
Age	3	1220.350	406.750	834.359 **
Conidia	4	307.761	1231.044	631.304 **
Age*conidia	12	182.406	15.201	31.181 **
Error	60	29.250		
Total	79	2662.950		

CV 17.08 %

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.01$

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวนพวรรณ นิลสุวรรณ

รหัสประจำตัวนักศึกษา 4642014

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (ผลิตกรรมชีวภาพ)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2546