

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ความ	หลากหลายของพืชอาศัยของเชื้อรา <i>Exserohilum turcicum</i>
ผู้เขียน	นางสาวนิภาพร บุตรสิงห์
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. ประสาทพร สมิตะมาน

บทคัดย่อ

ผลการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคใบไหม้แผลใหญ่ข้าวโพดจากแปลงปลูกในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา ลำพูน ลำปาง ตาก กาญจนบุรี หนองคาย เลย นครราชสีมา ขอนแก่น และ อุบลราชธานี พบอาการใบไหม้แผลใหญ่บนข้าวโพดและหญ้านกสีชมพู เกิดจากเชื้อราสาเหตุ *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard and Suggs. มีลักษณะแผลเรียวยาวคล้ายกระสวย สีน้ำตาล มีขนาดระหว่าง 2.5-15 เซนติเมตร โดยจะพบอาการของโรคเกิดขึ้นบนใบส่วนล่างของลำต้นก่อนแล้ว อาการจะพัฒนาไปยังใบส่วนบนของลำต้น สำหรับอาการใบไหม้แผลใหญ่บนหญ้านกสีชมพู แผลมีลักษณะเรียวยาวตามความยาวของใบ สีน้ำตาลมีขอบแผลสีเหลือง เมื่อนำเชื้อราสาเหตุที่แยกได้จาก ตัวอย่างในพื้นที่ต่างๆ มาศึกษาลักษณะการเจริญและการสร้างสปอร์บนอาหาร PDA PDAYe CMA CLIA RBA V-8 MEA และ OMA ภายใต้การให้แสงแบบต่างๆ คือ สภาพมืดต่อเนื่อง สภาพให้แสง ต่อเนื่อง สภาพให้แสง 12 ชม.สลับที่มีมืด 12 ชม. ในสภาพห้องปฏิบัติการ และให้แสง NUV 12 ชม. สลับแสงปกติ 12 ชม. โดยวัดอัตราการเจริญทุกๆ 2 วันจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหาร พบว่าอัตราการเจริญ ลักษณะรูปร่าง และสีของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุแต่ละไอโซเลท บนอาหารแต่ละชนิด ภายใต้ การให้แสงสว่างแบบต่างๆ มีความแปรปรวน ซึ่งเชื้อราสาเหตุสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร PDA สำหรับความสามารถในการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุ พบว่าเชื้อราสามารถสร้างสปอร์ได้ดีบน อาหาร V-8 ทุกสภาพการให้แสง นอกจากนี้เมื่อศึกษาลักษณะรูปร่างของเชื้อรา *E. turcicum* ไอโซเลท จากข้าวโพดและหญ้านกสีชมพูด้วยเทคนิค slide culture บนอาหาร PDA พบว่าเชื้อราสาเหตุมีการ

สร้างโคนิดเดียว สีเขียวอมเทา รูปร่างของ โคนิดเดียวเรียวยาวเรียกว่า spindle shape ซึ่งจะมีลักษณะทั้งแบบ โคนิดเล็กน้อยและแบบตรง และมีส่วนตรงกลางกว้างกว่าส่วนปลายทั้งสองข้าง มีผนังกัน 3-8 เซลล์ มี hilum ยื่นออกมาอย่างชัดเจน ขนาดของโคนิดเดียวไอโซเลทจากข้าวโพดมีความยาวอยู่ในช่วง 38.08-135.00 ไมครอนและกว้าง 10.40-29.47 ไมครอน ในขณะที่ขนาดของโคนิดเดียวไอโซเลทจากหญ้านกสีชมพูมีความยาวอยู่ในช่วง 63.87-133.14 ไมครอนและกว้าง 11.14-25.64 ไมครอน การศึกษาความสามารถในการเข้าทำลายพืชอาศัยของเชื้อรา *E. turcicum* กับพืชตระกูล Poaceae และ Cyperaceae 16 ชนิด ประกอบด้วยพืชปลูก 5 ชนิดและวัชพืช 11 ชนิด ในสภาพโรงเรือนพบว่าเชื้อราสาเหตุสามารถเข้าทำลายได้บนพืช 15 ชนิด ยกเว้นอ้อย โดยมีลักษณะอาการของโรคบนพืชแต่ละชนิดแตกต่างกัน อาการที่พบบนข้าวโพด 8 พันธุ์ มีลักษณะเหมือนกันคือ แผลรูปร่างเรียวยาวคล้ายกระสวย สีน้ำตาล ลักษณะอาการที่ปรากฏบนข้าว 4 พันธุ์ ข้าวฟ่าง 3 พันธุ์ กก และหญ้านกสีม่วง แผลเป็นจุดเดี่ยวๆหรืออาจรวมกันเป็น แถบสีน้ำตาลแดงหรือน้ำตาลเข้ม สำหรับอาการที่พบบนเดือย หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้าปากควาย หญ้านกสีชมพู หญ้าขน หญ้าเนเปียร์ หญ้าอะตราดัม หญ้าพลิ - แคนทุลัม และหญ้ารูซี่ แผลมีลักษณะใหม่สีน้ำตาลและมีขอบแผลสีเหลือง และจากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่ของเชื้อรา *E. turcicum* 34 ไอโซเลทกับข้าวโพด พันธุ์ HIBRIX 3 พบว่าระดับความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุแต่ละไอโซเลทมีความแตกต่างกันซึ่งมีระดับความรุนแรงอยู่ในช่วง 0.90-3.15 นอกจากนี้ได้ทดสอบความต้านทานต่อโรคโดยใช้ข้าวโพดจากแหล่งต่างๆจำนวน 183 พันธุ์ในสภาพแปลงทดลอง 2 พื้นที่ด้วยการฉีดพ่น inoculums ของเชื้อไอโซเลท H และ KL ที่ความเข้มข้นของสปอร์ 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตรพบว่าข้าวโพดแต่ละพันธุ์ทั้ง 2 พื้นที่ มีความต้านทานต่อเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลทแตกต่างกันโดยในแปลงที่ 1 มีข้าวโพดจำนวน 33 และ 46 พันธุ์ ที่มีระดับความรุนแรงของโรคน้อยกว่า 1 ต่อเชื้อไอโซเลท H และ KL ตามลำดับ โดยพันธุ์ที่ต้านทานต่อเชื้อไอโซเลท H มากที่สุดคือ Ki17 และพันธุ์ MON-019F ต้านทานต่อไอโซเลท KL มากที่สุดในขณะแปลงที่ 2 มีเพียง 2 พันธุ์ที่มีระดับความรุนแรงของโรคน้อยกว่า 1 เมื่อปลูกเชื้อด้วยไอโซเลท H ซึ่งพันธุ์ที่ต้านทานมากที่สุดคือ FC19 และพันธุ์ที่ต้านทานต่อเชื้อไอโซเลท KL มากที่สุดมี 42 พันธุ์โดยมีระดับความรุนแรงเท่ากับ 1 ทั้งหมด

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา mancozeb (ความเข้มข้น 500 1,000 และ 1,500 ppm.) propiconazole (ความเข้มข้น 250 500 และ 750 ppm.) propineb (ความเข้มข้น 525 1,050

และ 1,575 ppm.) และ azoxystrobin (ความเข้มข้น 62.5 125 และ 187.5 ppm.) ในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่าสารเคมี mancozeb propiconazole และ propineb มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือนด้วยการฉีดพ่นสารเคมีก่อนและหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุ 1 3 5 และ 7 วัน พบว่าสารเคมีทั้ง 4 ชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่ได้ในระดับสูงทุกความเข้มข้น หลังจากนั้นได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Serratia plymuthica* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *E. turcicum* ในสภาพห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Dual culture พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุได้ 38.94 เปอร์เซ็นต์ โดยการสร้างสารที่ทำให้เชื้อราสาเหตุไม่สามารถเจริญต่อไปได้และเมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือนด้วยการปลูกเชื้อปฏิปักษ์ก่อนและหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุ 1 3 5 และ 7 วัน พบว่าชุดทดสอบที่มีการปลูกเชื้อปฏิปักษ์ก่อน 7 วันมีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเกิดโรคสูงที่สุดคือ 93.33 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ เมื่อวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบข้าวโพดในแต่ละชุดทดสอบพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์จะแปรผัน โดยตรงกับระดับการเกิดโรค

Thesis Title	Host Range Diversity of <i>Exserohilum turcicum</i> Causal Agent of Northern Corn Leaf Blight and It's Control
Author	Miss Nipaporn Bhudsing
Degree	Master of science (Biotechnology)
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Prasartporn Smitamana

Abstract

Results from the survey and samples collection for the northern corn leaf blight (NCLB) disease from maize growing areas of Chiang Mai, Chiang Rai, Phayao, Lamphun, Lampang, Tak, Kanchanaburi, Nong Khai, Loei, Nakhon Ratchasima, Khon Kaen, and Ubon Ratchathani Provinces, the typical symptom of this disease caused by *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard and Suggs was found. The lesion characteristics were cigar shaped, brown in color, and lesion size was range from 2.5 to 15 cm. Lesion most often began on lower leaves and spread to upper leaves, whereas the lesion on *Echinochloa colona* (L.) Link. was elongated shape on leaves, brown with yellow margin color. The causal agent of NCLB was isolated from infected maize samples and investigated the following characteristics: cultural and sporulation performance on different media; PDA, PDAYe, CMA, CLIA, RBA, V-8, MEA, and OMA under different light conditions; continuous dark, continuous light, alternating 12 hours of light and dark, and alternating 12 hours of NUV and normal light. Growth rates were measured at two-day intervals up to mycelia fully cover the media surface. Results revealed the different colony growth rate, characteristics, and colors were observed from each isolates on different media and light condition. The best mycelial growth found on PDA, whereas the highest sporulation obtained from the V-8 medium under continuous light condition. Comparing the morphology of the conidia of *E. turcicum* isolated from maize and

E. colona (L.) Link. was performed on the slide culture using PDA as culture medium. Olive-gray color, spindle-shape with slightly curved, and elongated 3 to 8 septa conidia were characterized from the two isolates. In addition, special protruding hilum was also observed. Size of conidia from maize isolates was found to range from 38.08 to 135 μ in length and 10.40 to 29.47 μ in width, whereas conidia from *E. colona* isolates was found to range from 63.87 to 13.14 μ in length and 11.14 to 25.64 μ in width.

Studies on host range of *E. turcicum* on 14 members of the family Poaceae and Cyperaceae, including 5 species of economics crop and 11 weeds species were done in the greenhouse. Fifteen species of plant were infected with *E. turcicum* and developed different symptoms on each plant, anyhow sugar cane did not developed any symptom. The symptoms on 8 maize line was brown color, cigar shape lesion, Symptoms on the 4 rice varieties, three sorghum cultivars, umbrella plant, and purple guinea were either red-brown or dark brown color spot or strip whereas lesion pearl millet, crab grass, arm grass, jungle rice, crowfoot grass, para grass, napier grass, atratum grass, plicatum grass, and ruzi grass was different sizes necrosis lesion, brown in color and yellow margin. Pathogenicity of the collected 34 isolates were performed by inoculating on HIBRIX 3 in green house , different diseases incidence determined form size of lesions ranging from 0.90 to 3.15. Moreover, evaluation of 183 maize lines from several sources under the field condition at 2 locations using inoculums from isolates H and Kl at the concentration 10^4 spore/ml. Difference resistant level were found on both lines and locations. From the first location, 33 and 46 lines showed resistant to the isolate H and Kl respectively with the disease score ≤ 1 whereby the Ki17 line showed the highest disease resistant level for isolate H and MON-019F line for the isolate KL. In second field only 2 lines showed disease severity level ≤ 1 to the isolate H and FC19 line showed highest disease resistance, whereas 42 lines showed the same level of resistant (1) to isolate KL.

Screening for the effective fungicide in controlling NCLB, mancozeb (concentration 500 1,000 and 1,500 ppm.) propiconazole (concentration 250 500 and 750 ppm.) propineb -

(concentration 525 1,050 and 1,575 ppm.) and azoxystrobin (concentration 62.5 125 and 187.5 ppm.) were tested, from the plate experiment mancozeb, propiconazole, and propineb completely inhibited the growth (100%) in all concentration. From the greenhouse experiment by spraying all fungicide at the time before and after pathogen inoculation of 1 3 5 and 7 day. The result showed that mancozeb, propiconazole, propineb and azoxystrobin could effectively control the disease development. Study on efficiency of antagonist bacteria, *Serratia plymuthica* on NCLB controlling by dual culture technique, the *S. plymuthica* could inhibit the mycelia growth around 38.94 %. Result from the greenhouse using the same time lab as the fungicides, showed the strong effect when 7 day-preinoculation application (93.33 %). When the chlorophyll content was considered, the concentration of chlorophyll was highly related to the disease severity.