

## การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Bipolaris* และ *Curvularia* ที่พบบนข้าวโพด

### Identification of *Bipolaris* and *Curvularia* on maize

มะโนรัตน์ สุดสงวน<sup>1,2\*</sup>, ชนินทร ดวงสอาด<sup>2</sup>, พรพิมล อธิปัญญาคม<sup>2</sup>, สุนีรัตน์ สีมะเตือ<sup>2</sup>, อมรรักษ์ คัดใจเดียว<sup>2</sup> และ ศรีญา ณ ลำปาง<sup>1</sup>

Manorat Sudsanguan<sup>1,2\*</sup>, Chanintorn Doungsa-ard<sup>2</sup>, Pornpimon Athipunyakom<sup>2</sup>, Suneerat Seemadua<sup>2</sup>, Amonrat Kitjaideaw<sup>2</sup> and Sarunya Nalumpang<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ภาควิชาภูมิวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

<sup>1</sup> Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

<sup>2</sup> สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

<sup>2</sup> Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture

\* Corresponding author: s.manorat@gmail.com

**บทคัดย่อ:** สํารวจและเก็บตัวอย่างข้าวโพดที่แสดงอาการใบจุดและใบไหม้จากแหล่งปลูกในจังหวัดกาญจนบุรี จันทบุรี เชียงราย เชียงใหม่ ตาก นครปฐม นครราชสีมา ประจวบคีรีขันธ์ พะเยา พิษณุโลก เพชรบูรณ์ ลำพูน ลพบุรี สระแก้ว สุโขทัย และ อุตรดิตถ์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2559 - กันยายน 2562 แยกเชื้อราสาเหตุของโรคใบจุดและใบไหม้จากตัวอย่างโรคพืชจำนวน 58 ตัวอย่างด้วยวิธี tissue transplanting ได้จำนวน 66 ไอโซเลต จำแนกชนิดโดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐาน ได้แก่ ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) โคโคนิเดีย และ ก้านชูสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าสามารถจำแนกได้ 2 สกุล ได้แก่ *Bipolaris* spp. จำนวน 34 ไอโซเลต และ *Curvularia* spp. จำนวน 32 ไอโซเลต จากนั้นจำแนกชนิดเบื้องต้นโดยใช้ Internal Transcribed Spacer (ITS) จำแนกได้เชื้อรา *Bipolaris* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Bipolaris maydis* และ *Bipolaris turcica* และเชื้อรา *Curvularia* ได้แก่ *Curvularia akaii*, *Curvularia clavata*, *Curvularia geniculata* และ *Curvularia lunata* ตัวอย่างที่ได้จากการศึกษาจัดทำเป็นตัวอย่างแห้งเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

**คำสำคัญ:** โรคใบจุด; โรคใบไหม้; ข้าวโพด; *Bipolaris*; *Curvularia*

**ABSTRACT:** Leaf spot and blight disease of maize were observed and collected from Kanchanaburi, Chanthaburi, Chiang Rai, Chiang Mai, Tak, Nakhon Pathom, Nakhon Ratchasima, Prachuap Khiri Khan, Phayao, Phitsanulok, Phetchabun, Lamphun, Lop Buri, Sakaeo, Sukhotai and Uttaradit provinces during October 2017 to September 2019. The causal agents of leaf spot and blight diseases were isolated from 58 specimens of maize by tissue transplanting technique. The sixty-six isolates were found and observed under light microscope. The identification had been done based on morphological characters such as colonization on Potato Dextrose Agar (PDA), conidia and conidiophores. The result showed that sixty-six isolates comprised of two genera, which were *Bipolaris* 34 isolates and *Curvularia* 32 isolates. The preliminary identification had been done based on the Internal Transcribed Spacer (ITS) data and found that there were two species of *Bipolaris*, namely *Bipolaris maydis* and *Bipolaris turcica*. The *Curvularia* isolates were also identified as *Curvularia akaii*, *Curvularia clavata*, *Curvularia geniculata* and *Curvularia lunata*. All specimens from this study have been curated at Thai Plant Protection Herbarium, located at Plant Pathology Research Group, Plant Research and Development, Department of Agriculture, Bangkok, Thailand.

**Keywords:** leaf spot; leaf blight; maize; *Bipolaris*; *Curvularia*

## บทนำ

เชื้อราสกุล *Bipolaris* และ *Curvularia* มีระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Teleomorph) อยู่ในสกุล *Cochliobolus* Drechsler จัดอยู่ใน Division Ascomycota Class Dothideomycetes Order Pleosporales Family Pleosporales สามารถพบได้ทั่วไปและเป็นสาเหตุของโรคพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น โรคเมล็ดต่างข้าว ใบจุดสีน้ำตาลของข้าว โรคใบจุดข้าวสาลี ใบจุดปาล์มน้ำมัน โรคใบจุด โรคใบไหม้ข้าวโพด (จิตรา, 2547; Kumar et al., 2002; Knight et al., 2010; Manamgoda et al., 2011; 2012; Gurung et al., 2013)

ข้าวโพดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทย มีการปลูกเพื่อบริโภคทั้งภายในประเทศและส่งออกไปยังต่างประเทศ ในปี 2562 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวโพด ประมาณ 6.3 ล้านไร่ และให้ผลผลิตมากกว่า 4.5 ล้านตัน โดยข้าวโพดที่มีการปลูกมากที่สุด คือ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ข้าวโพดหวาน และข้าวโพดฝักอ่อน ตามลำดับ (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2563) การปลูกข้าวโพดมักพบปัญหาศัตรูพืชหลายชนิด เช่น แมลง สัตว์ศัตรูพืช และโรคพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคพืชที่มีสาเหตุจากเชื้อรา โดยโรคที่พบมากและส่งผลกระทบต่อการผลิตข้าวโพด ได้แก่ โรคใบไหม้ โรคใบจุด โรคราสนิม และโรคราน้ำค้าง การจำแนกชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากโรคต่าง ๆ เหล่านี้จะช่วยให้ทราบถึงชนิดของเชื้อราที่เป็นปัจจุบัน และเนื่องจากเชื้อราบางชนิดมีลักษณะโครงสร้างของก้านชูสปอร์และสปอร์ที่คล้ายคลึงกันทำให้จำแนกชนิดได้ยาก จากการรายงานดังกล่าวในช่วงต้นแสดงให้เห็นว่าเชื้อราสกุล *Bipolaris* และ *Curvularia* นอกจากเป็นสาเหตุของโรคข้าวโพดแล้วสามารถก่อเกิดโรคในพืชหลายชนิดและด้วยสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปอาจทำให้ชนิดของเชื้อรามีความหลากหลายมากขึ้นทั้งการพัฒนาของเชื้อและความรุนแรงในการเข้าทำลายพืช ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่ต้องทำการจำแนกชนิดของเชื้อราทั้ง 2 สกุลนี้ เพื่อทราบถึงชนิดและการระบาดของโรคพืชเพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาหาแนวทางการป้องกันกำจัดเพื่อลดปัญหาการเกิดโรคและสามารถลดการสูญเสียของผลผลิตทำให้เกษตรกรสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้มากขึ้นและได้ผลผลิตที่มีคุณภาพตรงตามความต้องการของตลาดส่งผลดีต่อเศรษฐกิจของประเทศ

## วิธีการศึกษา

### การเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อสาเหตุโรค

เก็บส่วนของข้าวโพดที่มีลักษณะอาการใบจุดและใบไหม้ ห่อด้วยกระดาษ ใสถุงพลาสติก และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ ชื่อผู้เก็บ และข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ เพื่อนำมาแยกเชื้อสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ ทำการแยกเชื้อราโดยวิธี tissue transplanting บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน เมื่อพบเส้นใยของเชื้อราที่เจริญออกจากชิ้นพืชให้ทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์เลี้ยงบนอาหาร PDA และเก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อราเพื่อศึกษาต่อไป

### การศึกษาลักษณะทางสัณฐานและการจำแนกชนิด

นำเชื้อราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน และบันทึกลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ อัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลักษณะและสีของโคโคนี บันทึกลักษณะทางสัณฐาน ได้แก่ รูปร่าง ขนาด สี ของก้านชูสปอร์ (conidiophores) โคนิเดีย (conidia) และโครงสร้างอื่นๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope และ compound microscope บันทึกขนาด รูปร่าง และถ่ายภาพ จากนั้นนำข้อมูลขนาดโครงสร้างต่างๆ ที่วัดได้มาหาค่าเฉลี่ย และจำแนกชนิดโดยเปรียบเทียบลักษณะของเชื้อราที่ศึกษากับคู่มือของ Ellis (1971, 1976) Manamgoda et al. (2014) และ Seifert et al. (2011) จากนั้นนำเชื้อราบริสุทธิ์มาสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ Dounsard et al. (2015) และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ของตำแหน่ง ITS โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1: CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA และ ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC (White et al., 1990) ด้วย Green Hot Start PCR Master Mix (biotechrabbit™) ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ กำหนด annealing temperature ที่ 56 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยังบริษัท Macrogen Korea เพื่อทำ purification และ sequencing นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) มาทำการวิเคราะห์ โดยเปรียบเทียบกับ type sequence วิเคราะห์ dataset ของ ITS จำนวน 560 bp ด้วย phylogenetic criteria คือ Maximum Likelihood (ML) กำหนด maximum likelihood bootstrap จำนวน 1000 ครั้ง

## ผลการศึกษาและวิจารณ์

### การเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อสาเหตุโรค

เก็บตัวอย่างใบข้าวโพดที่มีลักษณะอาการจุดหรือไหม้ จำนวน 58 ตัวอย่าง จากจังหวัดกาญจนบุรี จันทบุรี เชียงราย เชียงใหม่ ตาก นครปฐม นครราชสีมา ประจวบคีรีขันธ์ พะเยา พิษณุโลก เพชรบูรณ์ ลำพูน ลพบุรี สระแก้ว

สุโขทัย และ อุตรดิตถ์ และสามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 66 ไอโซเลตโดยลักษณะอาการใบจุดสามารถแยกได้ 23 ไอโซเลต และลักษณะอาการใบไหม้แยกได้ทั้ง 43 ไอโซเลต จังหวัดที่พบอาการใบไหม้มากที่สุด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย พิษณุโลก ตามลำดับ จังหวัดอื่นๆ สามารถพบกระจายได้ทั่วไป

#### การศึกษาลักษณะทางสัณฐานและการจำแนกชนิด

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อราที่แยกได้ โดยเปรียบเทียบกับเอกสารการจำแนกเชื้อรา Dematiaceous hyphomycetes และ more Dematiaceous hyphomycetes ของ Ellis M.B. (1971, 1976) และ The Genera of Hyphomycetes ของ Seifert et al. (2011) และทำการตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลด้วยยีน ตำแหน่ง ITS จำนวน 560 bp พบว่า สามารถจำแนกชนิดได้ดังนี้ เชื้อราสกุล *Bipolaris* spp. จำนวน 34 ไอโซเลต จำแนกได้ 2 ชนิด ได้แก่ *B. maydis* และ *B. turcica* เชื้อราสกุล *Curvularia* spp. จำนวน 32 ไอโซเลต จำแนกได้ 4 ชนิด ได้แก่ *C. akaii* *C. clavata* *C. geniculata* และ *C. lunata* (Table 1)

**Table 1** Plant pathogenic fungi isolated from plant disease samples in different location during October 2017 to September 2019

Fungal name	Location	Isolates
<i>Bipolaris maydis</i>	Chantaburi	P019
	Chai Prakan, Chiang Mai	P076
	Mae Khao Tom, Mueang, Ching Rai	P059
	Mae Suai, Mae Suai, Ching Rai	P062
	Pa Tueng, Mae Chan, Ching Rai	P065
	Sikhio, Nakhon Ratchasima	P091
	Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom	P092
	Kui Buri, Prachuap Khiri Khan	P018
	Tha Chang, Phrom Phiram, Phitsanulok	P080 P083
	Thap Yai Chiang, Phrom Phiram, Phitsanulok	P086
	Li, Lamphun	P067
	Pak Khwae, Muang, Sukhothai	P100
	Wang Mai Khon, Sawankhalok, Sukhothai	P073 P074
	Thap Phrik, Arayaprathet, Sa Kaeo	P098
	<i>B. turcica</i>	PhraThaen, Tha Maka, Kanchanaburi
Thung Satok, San Pa Tong, Chiang Mai		P048
Tha Ton, Mae Ai, Chiang Mai		P050
Nong Han, San Sai, Chiang Mai		P055 P057
Mae Khao Tom, Mueang, Ching Rai		P058
Mae Suai, Ching Rai		P061
Pong Phrae, Mae Lao, Chiang Rai		P064
Ruam Thai Phatthana, Phop Phra, Tak		P049
Thung Bua, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom		P051
Pak Chong, Nakhon Ratchasima		P090
Sa, Chiang Muan, Phayao		P047
Pak Khwae, Muang, Sukhothai		P071
Plak Raet, Bang Rakam, Phitsanulok		P078
Matong, Phrom Phiram, Phitsanulok		P079
Khao Kho, Khao Kho, Phetchabun		P034
Wang Mai Khon, Sawankhalok, Sukhothai	P072	
Tha Sak, Phichai, Uttaradit	P069	
<i>Curvularia akaii</i>	Thung Bua, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom	P042

	Matong, Phrom Phiram, Phitsanulok	P081
	Thap Phrik, Arayaprathet, Sa Kaeo	P099
<i>C. clavata</i>	Kamphaeng Saen, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom	P093
	Tha Chang, Phrom Phiram, Phitsanulok	P084
<i>C. geniculata</i>	Chai Prakan, Chiang Mai	P041
	Nong Han, San Sai, Chiang Mai	P056
<i>C. lunata</i>	PhraThaen, Tha Maka, Kanchanaburi	P095
	Wang Khanai, Tha Muang, Kanchanaburi	P096 P097
	Nong Lan, Tha Maka, Kanchanaburi	P037
	Tha Ton, Mae Ai, Chiang Mai	P033
	Chai Prakan, Chiang Mai	P052
	Thung Satok, San Pa Tong, Chiang Mai	P053 P054
	Mae Khao Tom, Mueang, Ching Rai	P060
	Pa Tueng, Mae Chan, Chiang Rai	P066
	Na Ngua, Muang, Phetchabun	P032
	Pak Khwae, Muang, Sukhothai	P042
	Ban Pa, Muang, Phitsanulok	P077
	Matong, Phrom Phiram, Phitsanulok	P079 P082
	Thap Yai Chiang, Phrom Phiram, Phitsanulok	P085 P088
	Thung Samo, Khao Kho, Phetchabun	P045
	Sa, Chiang Muan, Phayao	P046
	Chai Narai, Chai Badan, Lop Buri	P035
	Li, Lamphun	P067 P068
	Wang Mai Khon, Sawankhalok, Sukhothai	P075
	Tha Sak, Phichai, Uttaradit	P070 P063

การจำแนกเชื้อราสกุล *Bipolaris* และ *Curvularia* โดยมีรายละเอียดต่างๆ ดังต่อไปนี้

Scientific Classification

Kingdom:	Fungi
Phylum:	Ascomycota
Class:	Dothideomycetes
Subclass:	Pleosporomycetidae
Order:	Pleosporales
Family:	Pleosporaceae
Genus:	<i>Bipolaris</i> , <i>Curvularia</i>

*Bipolaris maydis* Y. Nisik & (Miyake) Shoemaker

ชื่อพ้อง: ≡ *Helminthosporium maydis* Y. Nisik. & Miyake, 1926, Ber. Ohara Inst. landw. Biol.: 243 (1926)

≡ *Drechslera maydis* (Y. Nisik. & C. Miyake) Subram. & B.L. Jain, 1966, Current Science 35 (14): 354 (1966)

= *Ophiobolus heterostrophus* Drechsler, Journal of Agricultural Research 31: 701 (1925)

พบเป็นสาเหตุของโรคใบไหม้แผลเล็กในข้าวโพด โดยลักษณะอาการระยะแรกจะเกิดจุดเล็กๆ มีสีเขียวย่อมน ต่อมาแผลจะขยายขนาดใหญ่ขึ้นเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า บริเวณกลางแผลมีสีเทาและขอบแผลมีสีน้ำตาลแดง หากแผลขยายขนาดใหญ่หลายๆ แผลติดกันจะทำให้เกิดอาการใบไหม้ ราชชนิดนี้มีพืชอาศัยที่หลากหลายสามารถพบในข้าวฟ่าง ข้าว และหญ้า (Duan et al., 1992) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา โคลนินบนอาหาร PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.7 ซม. เมื่ออายุ 7 วัน

ที่อุณหภูมิ 28°C เส้นใยเจริญงอกขึ้น ลักษณะฟู มีสีขาวเทาถึงดำ ใต้อาหารวันมีสีดำ ก้านชูสปอร์มีลักษณะตั้งตรงหรือโค้งงอ ผนังเรียบ มีสีน้ำตาล บริเวณปลายก้านชูสปอร์มีสีน้ำตาลอ่อนใส มีการหักงอแบบ geniculate โคนิเดียมีลักษณะทรงกระบอก โค้งงอ มีสีเขียวมะกอกจนถึงน้ำตาล ผนังกั้นแบบ pseudoseptate มี 5-11 เซลล์ (Figure 1A) มีขนาด 60.7-101.3 x 13.2-18.0 ไมโครเมตร สอดคล้องกับรายงานของ กัญญา (2545) และ ศรีสุรางค์ และคณะ (2550) รายงานรา *B. maydis* เป็นสาเหตุโรคใบไหม้แผลเล็กในข้าวโพด นอกจากนี้ราชนิดนี้ยังสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดได้ เนื่องจากราชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วไปบนผิวเมล็ด (รัตติยา และคณะ, 2557)

***Bipolaris turcica* (Pass.) Shoemaker**

**ชื่อพ้อง:** *Helminthosporium turcicum* Pass., Boln Comiz. Agr. Parmense: 3 (1876)

*Drechslera turcica* (Pass.) Subram. & B.L. Jain, Current Science 35 (14): 355 (1966)

*Exserohilum turcicum* (Pass.) K.J. Leonard & Suggs, Mycologia 66: 291 (1974)

*Luttrellia turcica* (Pass.) Khokhr., Vodorosli, Gribv I Mkh Dal'nego Vostoka: 81 (1978)

*Helminthosporium inconspicuum* Cooke & Ellis, Grevillea 6 (39): 88 (1878)

พบเป็นสาเหตุของโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด โดยลักษณะอาการมักพบอาการที่ใบหกรุนแรกพบได้ทั้งกาบใบและฝัก โดยเริ่มแรกแผลจะมีลักษณะซ้ำ สีน้ำตาลและขยายขนาดเป็นแผลขนาดใหญ่ มีลักษณะยาวตามใบ มีสีดำบริเวณกลางแผลและกระจายทั่วแผลซึ่งเป็น fruiting body ของเชื้อสาเหตุโรค พบมากในข้าวโพดหวานซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคนี้ หากอาการรุนแรงจะขยายขนาดและทำให้เกิดใบไหม้ ราชนิดนี้มีพืชอาศัยที่หลากหลายสามารถพบในข้าวฟ่าง และหญ้า (Ellis, 1971) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา โคลนินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 ซม. เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28°C มีสีเทาเข้มจนถึงดำ ใต้อาหารวันมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ ก้านชูสปอร์มีลักษณะตั้งตรงหรือโค้งงอเล็กน้อย เกิดแบบเดี่ยวหรือกลุ่ม ผนังเรียบ มีสีน้ำตาล บริเวณปลายก้านชูสปอร์มีสีน้ำตาลอ่อนใส โคนิเดียมีลักษณะโค้งงอเล็กน้อย รูปร่างรีคล้ายกระสวย (ellipsoidal) ถึงคล้ายกระบอง (obclavate) มีสีน้ำตาลฟางข้าว (straw-coloured) ผนังเรียบ มีผนังกั้นแบบ pseudoseptate มี 4-9 เซลล์ มี hilum ชัดเจนอยู่ที่ฐานของโคนิเดีย (Figure 1B) มีขนาด 50-120 x 19-24 ไมโครเมตร สอดคล้องกับการงานวิจัยที่เคยมีรายงาน *B. turcica* เป็นสาเหตุของโรคใบไหม้แผลใหญ่โดย กัญญา (2545) และ ศรีสุรางค์ และคณะ (2550) ข้อสังเกตจากการสำรวจพบโรคนี้มากในข้าวโพดหวานและพบได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของข้าวโพดหากรุนแรงทำให้เกิดใบไหม้โดยเฉพาะในต้นกล้าจะทำให้ต้นไม่เจริญเติบโตและตายได้

***Curvularia akaii* (Tsuda & Ueyama)**

พบเป็นสาเหตุของโรคใบจุด มีลักษณะอาการจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กกระจายบนใบข้าวโพด นอกจากพบเป็นสาเหตุของโรคพืชชนิดนี้สามารถพบในหญ้าสีแดงหรือหญ้าข้าวโอ๊ตสีแดงได้เช่นเดียวกัน (Tsuda and Ueyama, 1985) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา โคลนินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.5 ซม. เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28°C ลักษณะคล้ายก้ามหอย มีสีเทา ใต้อาหารวันมีสีดำ ก้านชูสปอร์แบบเดี่ยวหรือเป็นกลุ่ม มีลักษณะตั้งตรงหรือโค้งงอ ผนังเรียบ มีสีน้ำตาลส่วนบริเวณปลายก้านชูสปอร์มีสีน้ำตาลอ่อน มีการหักงอแบบ geniculate โคนิเดียมีรูปร่างคล้ายกระบอง (clavate) หรือโค้งงอเล็กน้อย ผนังเรียบ สีน้ำตาล มีผนังกั้น (septate) 3 เส้น เซลล์บริเวณกลางมีสีเข้ม บริเวณปลายเซลล์มีสีอ่อน เซลล์ที่สามจากฐานจะมีลักษณะโป่งพองและมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์อื่น (Figure 1D) มีขนาด 24.7-33.5 x 8.5-13.7 ไมโครเมตร โดยสอดคล้องกับการศึกษาของกัญญา (2545) ที่ทำการแยกราชนิดนี้จากข้าวโพดที่มีอาการใบไหม้ นอกจากนี้มีรายงานพบในหญ้า *Themeda triandra* และ *T. japonica* ในประเทศญี่ปุ่น (Tsuda and Ueyama, 1985)

***Curvularia clavata* B.L. Jain**

พบเป็นสาเหตุของโรคใบจุด มีลักษณะอาการจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กกระจายบนใบข้าวโพด นอกจากพบเป็นสาเหตุของโรคข้าวโพดและข้าวฟ่างแล้วราชนิดนี้สามารถพบในหญ้าห่านาที่และหญ้าพะดอเขียว (กัญญา, 2545; Ellis, 1971) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา โคลนินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 ซม. เมื่ออายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 28°C มีลักษณะฟูคล้ายก้ามหอย มีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ใต้อาหารวันมีสีดำ ก้านชูสปอร์แบบเดี่ยวหรือเป็นกลุ่ม มีลักษณะตั้งตรงหรือโค้งงอ ผนังเรียบ มีสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม บริเวณปลายมีสีอ่อน โคนิเดียมีรูปร่างวงรีคล้ายไข่หรือรูปร่างคล้ายกระบอง ผนังเรียบ มีสีน้ำตาลเข้ม มีผนังกั้น 3 เส้น เซลล์บริเวณกลางมีสีเข้ม บริเวณปลายเซลล์มีสีอ่อน (Figure 1E) มีขนาด 17.6-28.9 x 7.5-13.0 ไมโครเมตร สอดคล้องกับการศึกษาของกัญญา (2545) แยกราชนิดนี้จากข้าวโพดที่มีอาการใบไหม้ และหญ้าพะดอเขียวที่มีอาการใบจุด นอกจากนี้มีรายงานพบในข้าวฟ่าง และ Tripogon (Ellis, 1971)

***Curvularia geniculata* (Tracy & Earle) Boedijn**

พบเป็นสาเหตุของโรคใบจุด ใบไหม้ มีลักษณะอาการจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กกระจายบนใบข้าวโพดหากอาการรุนแรงแผลจุดจะรวมกันเป็นแผลไหม้มีรายงานพบได้ทั่วไปและเป็นสาเหตุโรคจุดในพืชหลายชนิด เช่น โรคใบจุดใบ

และไหม้ข้าวโพด (กัญญา 2545; Ellis, 1971) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา โคลนินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.7 ซม. เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28°C มีลักษณะฟูเล็กน้อย มีสีน้ำตาลปนเขียวมะกอก ก้านชูสปอร์ มีลักษณะตั้งตรง ผนังเรียบ มีสีน้ำตาลเข้ม บริเวณปลายหักแบบ geniculate โค้นเดียว มีลักษณะคล้ายกระสวย โค้งงอเล็กน้อย ผนังเรียบ มีผนังกัน 3-4 เส้น (Figure 1F) มีขนาด 8.7-12.3 × 19.6-30.5 ไมโครเมตร สอดคล้องกับรายงานของกัญญา (2545) และ จิตรา (2547) รายงานพบในข้าวโพด หนุ่้าแก้วหมู่ หนุ่้าปากควาย หนุ่้านกสีชมพู จังหวัดนครปฐม และนนทบุรี

*Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn

ชื่อพ้อง: *Acrethecium lunata* Wakker, De ziekten van her suikerriet op Java, die niet door dieren veroorzaakt worden worden: 196 (1898)

=*Helminyosporium curvulum* Sacc., Atti della Accademia Scientifica Veneto-Trentino-Istria: 10: 89 (1916)

=*Helmisporium curvulum* Sacc., (1916)

พบเป็นสาเหตุของโรคใบจุด มีลักษณะอาการจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กกระจายบนใบข้าวโพด ราชชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วไปทั้งในพืชและดิน มีรายงานพบในเมล็ดข้าว ข้าวฟ่าง สุปู่ดำ หน้าวัว เยอบีร่า หนุ่้ายาง กล้วยไม้สกุลหวายเอี้ย ถั่วดำ (นิยม, 2542; สมศิริ และ ศศิวิมล, 2011; Ellis, 1971; Lal et al., 2014) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา โคลนินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 ซม. เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28°C มีลักษณะฟูเล็กน้อยคล้ายกำมะหยี่ มีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ใต้อาหารรูนมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ ก้านชูสปอร์เกิดแบบเดี่ยว มีลักษณะตั้งตรงหรือหักไปมา ผนังเรียบ มีสีน้ำตาล บริเวณปลายก้านชูสปอร์มีสีน้ำตาลอ่อน โค้นเดียวมีลักษณะโค้งเล็กน้อย รูปร่างคล้ายครีวของค์ ผนังเรียบ มีผนังกัน 3 เส้น บริเวณกลางเซลล์มีสีน้ำตาลเข้มกว่าบริเวณปลายเซลล์ทั้ง 2 ข้าง (Figure 1H) มีขนาด 18.0-31.7 × 8.3-15.9 ไมโครเมตร สอดคล้องกับรายงานของพีระวรรณ และคณะ (2553) ที่ทำการศึกษาและแยกราชชนิดนี้ได้จากโรคใบจุดข้าวโพด โรคเมล็ดต่างข้าว โรคเมล็ดเน่าดำข้าวฟ่าง โรคใบไหม้สุปุ่ดำ โรคใบจุดหน้าวัว โรคใบไหม้เยอบีร่า และโรคใบไหม้หนุ่้ายาง สมศิริ และ ศศิวิมล (2011) รายงานแยกราชชนิดนี้ได้จากโรคเกสรดำในดอกกล้วยไม้สกุลหวายเอี้ยสกุล ที่ผลิตเป็นการค้า นอกจากนี้พบเชื้อราชชนิดนี้ในดินปลูกอ้อย ปอ มันสำปะหลัง และพบเป็นราเอนโดไฟท์ในใบ *Globba* sp. (นิยม, 2542; Kokaew, 2011)

จากผลการทดลองสังเกตได้ว่าเชื้อราสกุล *Bipolaris* และ *Curvularia* สามารถพบได้บนพืชหลายชนิดและในพืชบางชนิดสามารถพบได้ทั้ง 2 สกุล แสดงให้เห็นว่าเชื้อราทั้ง 2 สกุลนี้มีพืชอาศัยกว้างและไม่แสดงความจำเพาะเจาะจงต่อพืชอาศัย บางชนิดสามารถพบได้ทั้งในพืชและในดิน แต่ทั้งนี้การจำแนกชนิดของเชื้อราทั้ง 2 สกุลในการทดลองนี้ใช้เพียงลักษณะทางสัณฐานและยีนตำแหน่ง ITS เพียงตำแหน่งเดียวเท่านั้นจึงจำเป็นต้องมีการนำเชื้อราที่แยกได้ไปศึกษาด้านชีวโมเลกุลต่อไปโดยการเพิ่มตำแหน่งของยีนในการศึกษาเพื่อความแม่นยำและชัดเจนมากยิ่งขึ้น เนื่องจากเชื้อราในสกุล *Bipolaris* และ *Curvularia* บางชนิดมีลักษณะคล้ายคลึงและมีความซับซ้อนกันมาก เช่น *C. lunata* ดังนั้นจำเป็นต้องใช้วิธีการจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับชีวโมเลกุลต่อไป



Figure 1 Conidia of *Bipolaris* and *Curvularia*: A) *B. maydis* (P098); B) *B. turcica* (P034); C) *C. akaii* (P081); D) *C. clavata* (P093); E) *C. geniculata* (P041); F) *C. lunata* (P095)

## สรุป

เก็บตัวอย่างข้าวโพดที่มีลักษณะอาการใบจุดและใบไหม้ จำนวน 58 ตัวอย่าง จากจังหวัดกาญจนบุรี จันทบุรี เชียงราย เชียงใหม่ ตาก นครปฐม นครราชสีมา ประจวบคีรีขันธ์ พะเยา พิษณุโลก เพชรบูรณ์ ลำพูน ลพบุรี สระแก้ว สุโขทัย และอุดรดิตถ์ ในช่วงเดือนตุลาคม 2559 - กันยายน 2562 สามารถแยกเชื้อราได้ จำนวน 66 ไอโซเลต ดังนี้ เชื้อราสกุล *Bipolaris* spp. จำนวน 34 ไอโซเลต จำแนกได้ 2 ชนิด ได้แก่ *B. maydis* และ *B. turcica* เชื้อราสกุล *Curvularia* spp. จำนวน 32 ไอโซเลต จำแนกได้ 4 ชนิด ได้แก่ *C. akaii* *C. clavata* *C. geniculata* และ *C. lunata*

โดยลักษณะอาการใบจุดสามารถแยกได้ *Curvularia* และลักษณะอาการใบไหม้แยกได้ทั้ง *Bipolaris* และ *Curvularia* จังหวัดที่พบอาการใบไหม้มากที่สุด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย พิชณุโลก ตามลำดับ จังหวัดอื่นๆ สามารถพบกระจายได้ทั่วไป

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบการศึกษาโรคที่พบในข้าวโพดและใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการทำงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโรคพืชที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Bipolaris* และ *Curvularia* นอกจากนี้สามารถนำมาเป็นข้อมูลประกอบในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชได้

### คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสมาชิกห้องปฏิบัติการวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำหรับความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและการเก็บข้อมูลในงานวิจัยครั้งนี้ ผลงานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาการจำแนกชนิดของโรคราน้ำค้างข้าวโพดในประเทศไทยซึ่งได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการทุนปริญญาเอกเฉลิมพระเกียรติทรงครองราชย์ 70 ปี สำนักวิจัยพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)

### เอกสารอ้างอิง

- กัญญา เจริญไทย. 2545. เชื้อรา Dematiaceous Hyphomycetes บนข้าว ข้าวโพด วัชพืชใบแคบ และดินบริเวณราก. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- คณิงนิจ บุศราคำ. 2545. โรคของกล้วยไม้ดิน ราเอนโดไฟท์บนใบและราก และราดินบริเวณรอบราก. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- จิตรา เกาะแก้ว. 2547. ความหลากหลายของเชื้อราบนวัชพืชที่เป็นโรคในแปลงผักและแนวทางการนำมาใช้ควบคุมวัชพืชทางชีวภาพ. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- นิยม สุตเพระ. 2542. ความหลากหลายของราดินและราโรคพืชในดินปลูกพืชไร่ จังหวัดสกลนคร. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พีระวรรณ พัฒนวิภาส, ทัศนพร ทศคร และ ธารทิพย์ ภาสบุตร. 2553. สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อรา *Curvularia* spp. น. 1782-1793. ใน: ผลงานวิจัยและพัฒนา ปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- รัตยา พงศ์พิสุทธา, ชัยณรงค์ รัตนกริฑากุล และ รมภพ บรรเจิดเชิดชู. 2557. เชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ (Fungi on seed). พิมพ์ครั้งที่ 1. แดเน็กซ์อินเตอร์คอร์ปอเรชั่น, กรุงเทพฯ.
- ศุภย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร. 2563. รายงานข้อมูลภาวะการผลิตพืช. (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล <https://production.doae.go.th/service/site/login>. ค้นเมื่อ 3 พฤศจิกายน 2563.
- ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช, พรพิมล อธิปัญญาคม, ธารทิพย์ ภาสบุตร, ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี, ศรีสุข พูนผลกุล, วุฒิสักดิ์ บุตรธนู, พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และ เพลินพิศ สงสังข์. 2550. สำรวจ รวบรวม ตัวอย่างโรคพืชในประเทศไทย. น. 1108-1127. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2549. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- สมศิริ แสงโชติ และ ศศิวิมล ลักษณะพิสุทธิ์. 2011. โรคที่สำคัญของดอกกล้วยไม้ตัดดอกสกุลหวายเยี่ยสกุลที่ผลิตเป็นการค้า. วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร 42:(พิเศษ 1): 315-318.
- Doungsa-ard, C., McTaggart, A.R., Geering, A.D.W., Dalisay, T.U., Ray, J. and R.G. Shivas. 2015. *Uromycladium falcatarium* sp. nov., the cause of gall rust on *Paraserianthes falcataria* in south-east Asia. *Australasian Plant Pathology*. 44: 25-30.
- Duan, C. H., W. H. Tsai and C. C. Tu. 1992. Some host plant of *Bipolaris maydis* in Taiwan. *Plant Pathology Bulletin*. 13: 156-157.
- Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- Gurung, S., B. N. Mahto, S. Gyawali and T. B. Adhikari. 2013. Phenotypic and molecular diversity of *Cochlibolus sativus* populations from wheat. *Plant Disease*. 97: 62-73.

- Knight, N. L., G. J. Platz, A. Lehmensiek and M. W. Sutherlan. 2010. An investigation of genetic variation among Australian isolates of *Bipolaris sorokiniana* from different cereal tissues and comparison of their abilities to cause spot blotch on barley. *Australasian Plant Pathology*. 39: 207-216.
- Kokaew, J. 2011. Diversity and bioactivities of endophytic fungi from Thai forests. Ph. D. Thesis, Kasetsart University, Bangkok.
- Kumar, J., P. Schäfer, R. Hückelhoven, G. Langen, H. Baltruschat, E. Stein, S. Nagarajan and K.H. Kogel. 2002. *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control double dagger. *Molecular Plant Pathology*. 3(4): 185-195.
- Lal, M., M. Ali, S. Kumar, V. Singh and A. Khan. 2014. Effect of media, nitrogen sources and temperature on the growth and sporulation of *Curvularia lunata* causing curvularia leaf spot of Blackgram. *The Bioscan*. 9(3): 1197-1199.
- Manamgoda, D.S., L. Cai, A.H. Bahkali, E. Chukeatirote and K.D. Hyde. 2011. *Cochliobolus*: an overview and current status of species. *Fungal Diversity*. 51(1): 3-42.
- Manamgoda, D. S., L. Cai, E. H. C. McKenzie, P.W. Crous, H. Madrid, E.i Chukeatirote, R. G. Shivas, Y. P. Tan and K. D. Hyde. 2012. A phylogenetic and taxonomic re-evaluation of the *Bipolaris* - *Cochliobolus* - *Curvularia* Complex. *Fungal Diversity*. 56: 131-144.
- Manamgoda D.S., A.H. Madri, A.Y. Rossman, L.A. Castlebury, E. Chukeatirote and K.D. Hyde. 2014. The genus *Bipolaris*. *Studies in Mycology*. 79: 221-288.
- Manoch, L., O. Jeamjitt, K. Jaroenthai and C. Sringiew. 2002. Plant pathogenic fungi from rice kernel and other host plant. P. 99. In: Abstracts of the 1th International Conference on Tropical and Subtropical Plant Disease. 5-8 Nov. 2002. Chiang Mai, Thailand.
- Seifert, K., G. Morgan-Jones, W. Gams and B. Kendrick. 2011. The Genera of Hyphomycetes. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands.
- Tsuda, M. and A. Ueyama. 1985. Two new *Pseudocochliobolus* and new species of *Curvularia*. *Transactions of the Mycological Society of Japan*. 26(3): 231-330.
- Ullstrup, A.J. 1972. The impacts of the southern corn leaf blight epidemics of 1970-1971. *Annual Reviews of Phytopathology*. 10: 37-50.
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, ed. M Innis, D Gelfand, J Shinsky, T White: Academic Press. Inc.