

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	11
ผลการทดลอง	21
วิจารณ์การทดลอง	52
สรุป	59
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	60
ภาคผนวก	65

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเส้ดำในอ้อยทดสอบ 4 พันธุ์ เมื่อทำการ ปลูกเชื้อด้วย teliospore suspension โดยวิธีการต่าง ๆ.....	25
2	เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเส้ดำในอ้อยทดสอบ 4 พันธุ์ เมื่อทำการ ปลูกเชื้อด้วย sporidia suspension โดยวิธีการต่าง ๆ .....	26
3	แหล่งที่มาของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> จากพื้นที่ปลูกต่าง ๆ ใน ประเทศไทยที่นำมาใช้ในการศึกษา .....	33
4	การจัดกลุ่มของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> จากแหล่งปลูกต่าง ๆ ใน ประเทศไทยตามขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง teliospore .....	37
5	การจัดกลุ่มของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> จากแหล่งปลูกต่าง ๆ ใน ประเทศไทย ตามขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี เมื่อเชื้อมีอายุ 28 วัน บนอาหาร Potato Dextrose Agar .....	40
6	การศึกษาลักษณะของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> สาเหตุโรคเส้ดำ อ้อย ในแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทยจำนวน 43 ไอโซเลท .....	47

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	วงจรชีวิตของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> .....	5
2	แสดงตำแหน่งที่ทำการปลูกเชื้อโดยการฉีด sporidia suspension และ ตำแหน่งที่นำมาตรวจสอบ .....	15
3	ลักษณะการสร้างเส้นใยในอ้อยหลังทำการปลูกเชื้อเป็นเวลา 4 เดือน ...	22
4	ลักษณะการเกิดโรคของอ้อยเมื่อได้รับการปลูกเชื้อวิธีการต่าง ๆ หลัง ปลูกเชื้อเป็นเวลา 4 เดือน .....	23
5	ผลผลิตของปฏิกิริยา PCR ได้แถบดีเอ็นเอขนาด 450 bp จากการ เจริณูของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> ระยะ teliospore, sporidia และ เส้นใย (mycelium) เมื่อตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ bE4 และ bE8 .....	27
6	ผลผลิตของปฏิกิริยา PCR จากการตรวจสอบความไวของปฏิกิริยา โดยผสมดีเอ็นเอของเชื้อราที่ความเข้มข้น 40 ng, 20 ng, 400 pg, 40 pg, 4 pg กับดีเอ็นเอของอ้อย 70 ng.....	28
7	ผลของปฏิกิริยา PCR ต่อดีเอ็นเอเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> ในอ้อย พันธุ์กำแพงแสน 94-13 (ก), อุทอง 1 (ข), H59-3775 (ค) และ K84-200 (ง) หลังจากทำการปลูกเชื้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ .....	30
8	แสดงลักษณะของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> ที่ตรวจพบในต้นกล้า อ้อย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อย้อมด้วยสี trypan blue .....	32
9	แหล่งที่มาของเชื้อ <i>Ustilago scitaminea</i> จากจังหวัดต่าง ๆ ที่มีการ เก็บตัวอย่างอ้อยที่แสดงอาการโรคเส้ดำ โดยสีน้ำเงิน = พื้นที่ ภาคเหนือ สีเหลือง = พื้นที่ภาคกลาง สีเขียว = พื้นที่ภาค ตะวันออกเฉียงเหนือ สีส้ม = พื้นที่ภาคตะวันออก สีชมพู = พื้นที่ ภาคตะวันตก .....	35
10	การงอกของ teliospore เกิดเป็น promycelium และแตกหน่อเป็น sporidia .....	36
11	ลักษณะสีของโคโลนีของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> บนอาหาร Potato Dextrose Agar เมื่อเชื้อ มีอายุ 3 วัน (ก) 7 วัน (ข) 14 วัน (ค) และ 21 วัน (ง) .....	42

### สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
12	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> 3 แบบ ที่นำมาใช้ ในการจัดกลุ่มเชื้อ แบบที่ 1 (ก) แบบที่ 2 (ข) และแบบที่ 3 (ค)	42
13	ลักษณะการเจริญและสีของโคโลนีของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> บนอาหาร Potato Dextrose Agar ไอโซเลท 1-15 เมื่อเชื้อมีอายุ 28 วัน .....	43
14	ลักษณะการเจริญและสีของโคโลนีของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> บนอาหาร Potato Dextrose Agar ไอโซเลท 16-30 เมื่อเชื้อมีอายุ 28 วัน .....	44
15	ลักษณะการเจริญและสีของโคโลนีของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> บนอาหาร Potato Dextrose Agar ไอโซเลท 31-43 เมื่อเชื้อมีอายุ 28 วัน .....	45
16	ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ <i>Ustilago scitaminea</i> จากไพรเมอร์ variable number of tandem repeats (VNTR) .....	49
17	ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ <i>Ustilago scitaminea</i> จากไพรเมอร์ internal transcribed spacer (ITS) .....	50
18	ลักษณะการกระจายตัวของเชื้อรา <i>Ustilago scitaminea</i> ไอโซเลทต่าง ๆ ที่จัดกลุ่มได้จากการทำ RAPD แถบดีเอ็นเอของเชื้อ เมื่อใช้ไพร เมอร์ internal transcribed spacer (ITS) โดย สีเขียวคือ ไม่พบแถบดี เอ็นเอ สีน้ำเงิน พบแถบดีเอ็นเอ 1 แถบ และสีแดง พบแถบดีเอ็น เอ 2 แถบ .....	51

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
1	ลักษณะการย้อมติดสีของเชื้อ <i>Ustilago scitaminea</i> ภายในเนื้อเยื่อ อ้อย หลังทำการปลูกเชื้อโดยวิธีการฉีด sporidia suspension เป็นเวลา 1 วัน ในอ้อย 4 พันธุ์ .....	66
2	ลักษณะการย้อมติดสีของเชื้อ <i>Ustilago scitaminea</i> ภายในเนื้อเยื่อ อ้อย หลังทำการปลูกเชื้อโดยวิธีการฉีด sporidia suspension เป็นเวลา 3 วัน ในอ้อย 4 พันธุ์ .....	67
3	ลักษณะการย้อมติดสีของเชื้อ <i>Ustilago scitaminea</i> ภายในเนื้อเยื่อ อ้อย หลังทำการปลูกเชื้อโดยวิธีการฉีด sporidia suspension เป็นเวลา 5 วัน ในอ้อย 4 พันธุ์ .....	68
4	ลักษณะการย้อมติดสีของเชื้อ <i>Ustilago scitaminea</i> ภายในเนื้อเยื่อ อ้อย หลังทำการปลูกเชื้อโดยวิธีการฉีด sporidia suspension เป็นเวลา 7 วัน ในอ้อย 4 พันธุ์ .....	69
5	ลักษณะการย้อมติดสีของเชื้อ <i>Ustilago scitaminea</i> ภายในเนื้อเยื่อ อ้อย หลังทำการปลูกเชื้อโดยวิธีการฉีด sporidia suspension เป็นเวลา 14 วัน ในอ้อย 4 พันธุ์ .....	70
6	ลักษณะการย้อมติดสีของเชื้อ <i>Ustilago scitaminea</i> ภายในเนื้อเยื่อ อ้อย หลังทำการปลูกเชื้อโดยวิธีการฉีด sporidia suspension เป็นเวลา 21 วัน ในอ้อย 4 พันธุ์ .....	71
7	ลักษณะการย้อมติดสีของเชื้อ <i>Ustilago scitaminea</i> ภายในเนื้อเยื่อ อ้อย หลังทำการปลูกเชื้อโดยวิธีการฉีด sporidia suspension เป็นเวลา 28 วัน ในอ้อย 4 พันธุ์ .....	72