

การแยกเชื้อและจำแนกชนิดของเชื้อราที่เป็นโรคกับผักตบชวา

Isolation and Identification of Fungi Pathogenic to Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.)

วิชัย รักวิทยาสาสตร์ และ นิพนธ์ วิจารณ์

Vijai Rakvidhyasastra and Nipon Visarathanonth

ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ABSTRACT

Thirteen species of fungi were isolated from diseased leaf tissues of water hyacinth. Among them, only 3 species, *Alternaria eichhorniae*, *Myrothecium roridum* and *Rhizoctonia solani*, were proved as pathogens causing necrotic lesions on leaves of the host plant.

ผักตบชวา (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.) เป็นพืชลอยน้ำจัดอยู่ในตระกูล Pontederiaceae มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้ ปัจจุบันพบทั่วไปในภูมิภาคเขตร้อนและกึ่งร้อน ผักตบชวาจัดเป็นวัชพืชน้ำที่สำคัญยิ่งชนิดหนึ่ง ก่อให้เกิดความเสียหายร้ายแรงทางเศรษฐกิจ โดยจะขึ้นกีดขวางการคมนาคมทางน้ำ การชลประทาน และทำให้แหล่งน้ำนั้นไม่สามารถที่จะใช้ประโยชน์ได้ตามต้องการ (3,14) เนื่องจากผักตบชวาเป็นพืชที่เจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วปกคลุมพื้นที่เป็นบริเวณกว้าง การกำจัดโดยการขนย้ายผักตบชวากลับไปจากแหล่งน้ำจึงเป็นงานที่สิ้นเปลืองแรงงานและค่าใช้จ่ายสูง และแม้ว่าจะมีผู้นิยมใช้สารเคมี (herbicides) หลายชนิดฉีดพ่นเพื่อทำลายผักตบชวา (3) แต่สารเหล่านี้ก็มีข้อเสียในแง่พิษตกค้างที่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในบริเวณนั้น ในระยะ 10 กว่าปีมานี้ได้มีผู้สนใจศึกษาถึงศัตรูธรรมชาติของผักตบชวาเพื่อประโยชน์ในการกำจัดหรือลดจำนวนวัชพืชน้ำ ศัตรูธรรมชาติของผักตบชวาที่สำคัญ ได้แก่ ปลา หอย (snail) แมลงและเชื้อโรคพืชต่างๆ (3, 13, 14)

ในด้านที่เกี่ยวกับเชื้อรานั้น ได้มีผู้รายงานราที่สามารถทำให้เกิดโรคกับผักตบชวาไว้หลายชนิด เริ่ม

ตั้งแต่ปี 1927 ในประเทศ Dominican Republic มีผู้พบโรค rust และ smut ของผักตบชวาซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Uredo eichhorniae* Ciferri & Feragoso และ *Doasansia eichhorniae* Ciferri ตามลำดับ (7, 14) ในปี 1932 ในประเทศอินเดียและปี 1972 ในสหรัฐอเมริกา ได้มีรายงานโรคซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Fusarium roseum* Link emend Snyder & Hansen ทำให้เกิดจุดสีน้ำตาลบนแดงบนใบและก้านใบ เป็นผลให้ใบผักตบชวาเหลืองและเหี่ยว (10, 14) ในประเทศอินเดียเริ่มตั้งแต่ปี 1963 และในสหรัฐอเมริกา ปี 1970 ได้มีโครงการวิจัยเกี่ยวกับการกำจัดวัชพืชน้ำด้วยวิธี biological control จึงมีรายงานเพิ่มเติมเกี่ยวกับเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับผักตบชวามากขึ้นอีกหลายชนิดคือ: *Cercospora piaropi* Tharp., *Cephalosporium eichhorniae* Padwick, *Myrothecium roridum* Tode ex Fr., *Marasmiellus inoderma* (Berk.) Sing., *Alternaria eichhorniae* Nag Raj & Ponnappa (6, 7, 13, 14), *Helminthosporium bicolor* Mitra, *Curvularia clavata* Jain (14) *Rhizoctonia solani* Kuehn (2, 4, 7, 14).

จุดประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อต้องการทราบชนิดของเชื้อราที่สามารถทำให้เกิดโรคกับผักตบชวาในประเทศไทย อันจะเป็นแนวทางเพื่อประโยชน์ในการกำจัดวัชพืชน้ำด้วยวิธี biological control.

อุปกรณ์และวิธีการ

การแยกเชื้อ (isolation) :

นำผักตบชวาที่แสดงอาการโรคมานำมาทำการแยกเชื้อรา ด้วยวิธี tissue transplant (9) บนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อใช้ 1 เปอร์เซ็นต์ NaOCl (10% clorox solution) ในการทำ surface disinfection วาง tissue พืชลงในจานอาหารจานละ 4 จุด แล้วนำไป incubate ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วัน เพื่อให้เส้นใยของเชื้อราที่ต้องการการแยกเจริญจากเนื้อเยื่อพืชลงสู่อาหาร ใช้เข็มเขี่ยที่สนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดวุ้นอาหารพร้อมทั้งเส้นใยย้ายใส่ในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ (slant PDA) เมื่อเชื้อราเจริญเต็มที่ในหลอดอาหารจึงทำการแยกเชื้อต่างๆ ที่ได้นี้ให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี single spore isolation หรือ hyphal tip isolation (9, 12) จากนั้นจึงศึกษาลักษณะและจำแนกเชื้อราแต่ละ isolate ออกเป็น genus และ species (1, 5, 8, 11)

การปลูกเชื้อ (inoculation) :

ผักตบชวาที่ใช้ในงานทดลองนี้ เป็นผักตบชวาที่ปลูกอยู่ในกระถางเคลือบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 นิ้ว สูง 7.5 นิ้ว ที่ก้นกระถางใส่ดินประมาณ $\frac{1}{4}$ ของความสูงของกระถาง ตั้งกระถางเหล่านี้ไว้กลางแจ้งบนโต๊ะทดลองขนาด 39 × 72 × 28 นิ้ว เมื่อเวลาปลูกเชื้อเลือกใช้แต่เฉพาะใบผักตบชวาที่สมบูรณ์เท่านั้น

inoculum ที่ใช้ในการปลูกเชื้อเพื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา เตรียมได้โดยเลี้ยงเชื้อราที่จำแนกชนิดแล้วดังกล่าวแต่ละเชื้อบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ เมื่อ culture มีอายุครบ 7 วัน ใช้ cork borer ที่ฆ่าเชื้อแล้วมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มม. ตัด culture ของราพร้อมทั้งวุ้นอาหารออกเป็นชิ้นกลม เพื่อใช้เป็น inoculum สำหรับปลูกเชื้อต่อไป

วิธีปลูกเชื้อทำโดยวางชิ้น inoculum ที่เตรียมไว้นี้ลงบนบริเวณกลางใบผักตบชวา ใบละ 3 จุด โดยให้

แต่ละจุดห่างกันประมาณ 1-2 นิ้ว แล้วแต่ขนาดของใบที่ใช้ในการทดลอง แล้วคลุมด้วยถุงพลาสติก ก่อนคลุม spray ภายในถุงด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อให้เกิดสภาพความชื้นสูง ทำซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละเชื้อที่ใช้ทดลอง สำหรับ control นั้น ดำเนินวิธีการทดลองเช่นเดียวกับการปลูกเชื้อทุกอย่าง แต่ใช้ชิ้นวุ้นอาหาร PDA แทนชิ้น inoculum สังเกตอาการโรคที่เกิดขึ้นหลังจากการปลูกเชื้อ

การแยกเชื้อและการปลูกเชื้อซ้ำอีกครั้ง (reisolation and reinoculation) :

จากการทดลองปลูกเชื้อดังกล่าวข้างต้น เมื่อปรากฏว่าราใดสามารถทำให้พืชเกิดโรค ก็นำไปพืชที่เป็นโรคนั้นมาทำการแยกเชื้อ และปลูกเชื้อใหม่อีกครั้งหนึ่งเพื่อให้แน่ใจว่าเชื้อราที่เกี่ยวข้องนั้น เป็นสาเหตุของโรคอย่างแท้จริง

ผลการทดลอง

เชื้อราที่แยกได้จากใบผักตบชวาที่แสดงอาการโรคมีทั้งหมด 13 species ราชทั้งหมดนี้จัดอยู่ใน class Deuteromycetes ยกเว้น *Blakeslea trispora* Thaxter อยู่ใน class Phycmycetes และมีเชื้อราเพียง 3 species เท่านั้น เมื่อนำไปปลูกเชื้อสามารถทำให้ผักตบชวาเกิดโรคได้ ซึ่งได้แก่ รา *Alternaria eichhorniae* Nag Raj & Ponnappa, *Myrothecium roridum* Tode ex Fr. และ *Rhizoctonia solani* Kuehn (ตารางที่ 1)

Alternaria eichhorniae :

บนใบผักตบชวาหลังจากปลูกเชื้อได้ 24 ชม. อาการเริ่มแรกจะปรากฏเป็นจุดชุ่มน้ำที่บริเวณจุด inoculum ต่อมาแผลจะเปลี่ยนเป็นรอยไหมสีน้ำตาลรูปยาวรี และหลังจากปลูกเชื้อได้ 7 วัน แผลจะแผ่ขยายไปตามแนวยาวของใบ บางแผลอาจยาวไปจนถึงปลายใบ แผลที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมีขนาดต่างๆ กัน ตั้งแต่เป็นจุด necrotic เล็กๆ สีน้ำตาล จนถึงแผลใหญ่ที่มีรูปร่างรูปไข่หรือยาวรี และแผลจะแผ่ขยายไปตาม

ตารางที่ 1 ความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับผักตบชวาของเชื้อรา 13 species ที่แยกได้จากผักตบชวาที่แสดงอาการโรคในธรรมชาติ

เชื้อรา	ความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับผักตบชวา
Sub-division Deuteromycotina	
<i>Alternaria eichhorniae</i> Nag Raj & Ponnappa	+
<i>Curvularia lunata</i> (Wakker) Boedijn	-
<i>Fusarium lateritium</i> Nees emend Snyder & Hans.	-
<i>Gloeosporium</i> sp.	-
<i>Drechslera hawaiiensis</i> Ellis, Subram. & Jain	-
<i>D. holmii</i> (Luttrell) Subram. & Jain	-
<i>Myrothecium roridum</i> Tode ex Fr.	+
<i>Nodulisporium</i> sp.	-
<i>Nigrospora oryzae</i> (Berk. & Br.) Petch	-
<i>Phaeotrichoconis crotalariae</i> (Salam & Rao) Subram.	-
<i>Rhizoctonia solani</i> Kuehn	+
<i>Sclerotium</i> sp.	-
Sub-division Zygomycotina	
<i>Blakeslea trispora</i> Thaxter	-

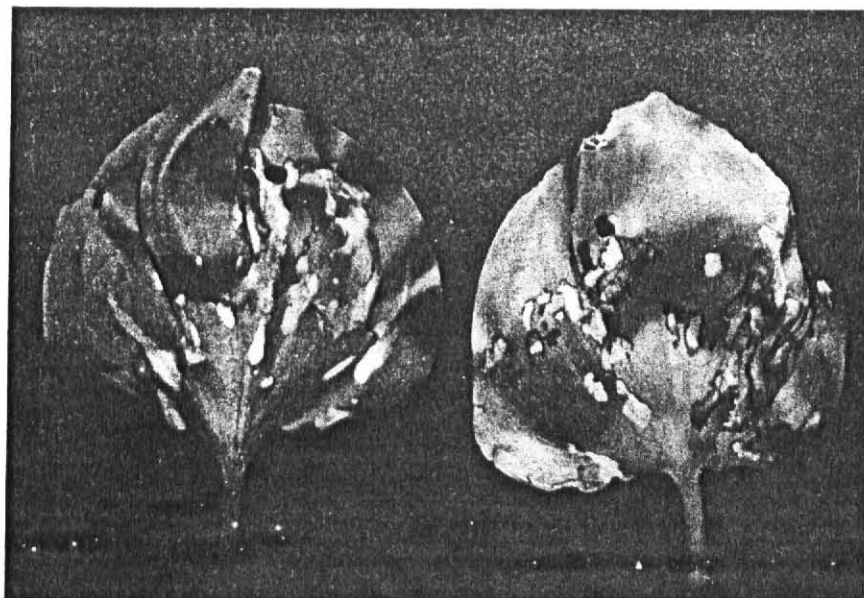
^a+ = เกิดโรค, - = ไม่เกิดโรค



รูปที่ 1 อาการโรคบนใบผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria eichhorniae* ตามธรรมชาติ



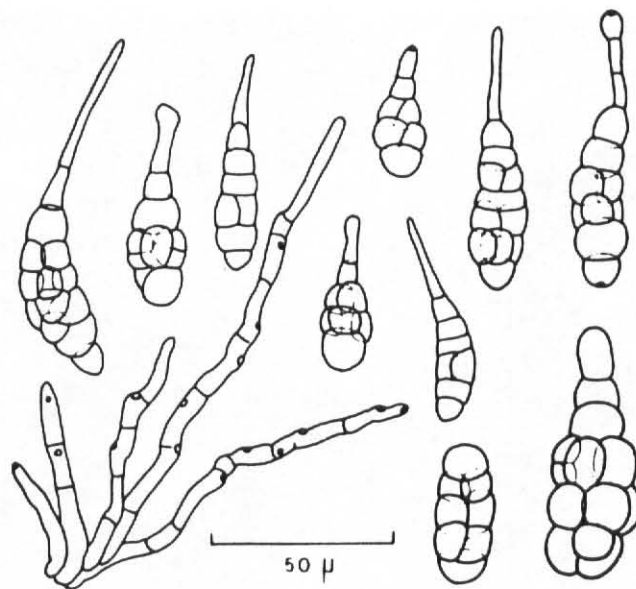
รูปที่ 2 อาการโรคนใบผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา *Myrothecium roridum* ตามธรรมชาติ



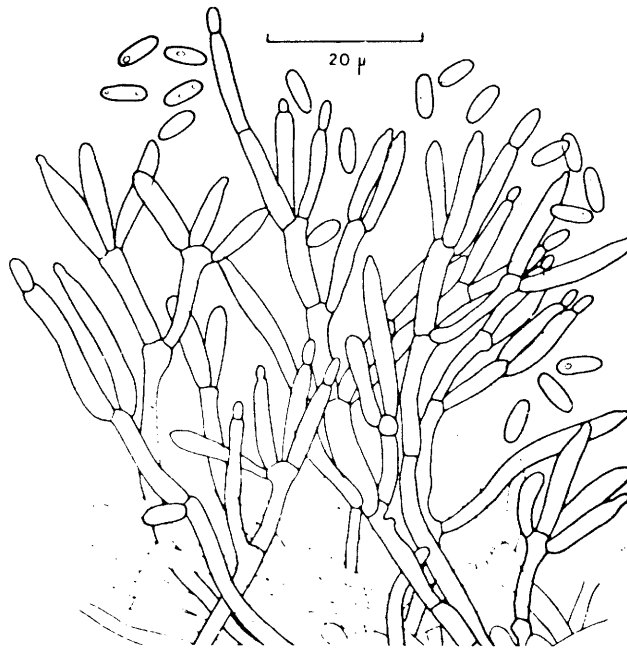
รูปที่ 3 อาการโรคนใบผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ตามธรรมชาติ ภาพซ้าย ผลด้านหน้าใบ ภาพขวาผลด้านหลังใบ



รูปที่ 4 Sporodochium ของรา *Myrothecium roridum* สร้างบนใบผักตบชวาที่เป็นโรคตามธรรมชาติ $\times 150$



รูปที่ 5 ภาพวาดจาก camera lucida แสดงลักษณะ conidiophore และ conidium ของรา *Alternaria eichhorniae* จากแผ่นบนใบผักตบชวาที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ



รูปที่ 6 ภาพวาดจาก camera lucida แสดงลักษณะของ conidiophore และ conidium ของรา *Myrothecium roridum* ที่สร้างบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

ยาวของใบเช่นกัน ที่กลางแผลมีสีน้ำตาลอ่อน ส่วนบริเวณขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้ม เนื้อเยื่อพืชรอบๆ แผลจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน แผลมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 6×12 มม. (รูปที่ 1)

A. eichhorniae เจริญได้ดีบนอาหาร PDA แต่จะสร้าง conidium ได้เป็นจำนวนมาก บนอาหาร corn meal agar บน PDA เมื่อมีอายุ 14 วันเส้นใยมีสีน้ำตาลมีผนังกันตามขวาง ผนังเรียบหรืออาจขรุขระเล็กน้อย เมื่อแก่เส้นใยมีความกว้างเฉลี่ย 3.6μ บนแผลจากใบผักตบชวา conidium เกิดบน conidiophore มักเกิดเป็นลูกโซ่สั้นๆ 2—3 conidia ต่อกัน conidium มีสีน้ำตาลปนเหลือง ผนังเรียบหรือขรุขระเล็กน้อย รูปร่าง obclavate และ ovate มี basal pore เห็นได้ชัด conidium ส่วนใหญ่มี beak ยาว ยกเว้นพวกที่มีรูปร่างแบบ ovate (รูปที่ 5) ขนาด conidium วัดรวมทั้ง beak มีขนาดตั้งแต่ $53.7 - 227.5 \times 10 - 30 \mu$ ขนาดเฉลี่ย $118.2 \times 21.8 \mu$ beak มีสีจางกว่าสีของตัว conidium มีรูปร่างทรงกระบอกยาวปลายมนหรืออาจ

โป่งออกและมีรูที่ปลายสุด (รูปที่ 5) ความยาวของ beak เฉลี่ย 64.5μ conidium มี septum ตามแนวยาวและแนวขวางเฉลี่ยเท่ากับ 4 และ 7 ตามลำดับ

บนอาหาร PDA เมื่อย้ายเชื้อหลายครั้งติดต่อกัน เชื้อจะสร้าง pigment สีเข้มขึ้นตามลำดับในอาหาร เริ่มตั้งแต่สีม่วงปนแดงจนกระทั่งสีส้มแดงเข้ม และความสามารถในการสร้าง conidium จะค่อยๆ หดไป จนกระทั่งไม่สามารถสร้างได้เลย

Myrothecium roridum :

หลังจากปลูกเชื้อได้ 48 ชม. ใบผักตบชวาจะเริ่มแสดงอาการโรค โดยเกิดเป็นรอยแผลชุ่มน้ำที่บริเวณจุดของ inoculum จุดแผลเหล่านี้จะค่อยๆ แผ่ขยายออกไปตามแนวยาวของใบ และในที่สุดจะเปลี่ยนเป็นแผลยาว โดยมีความกว้างที่สุดที่จุดเริ่มต้น และจะค่อยๆ แคบเรียวเล็กลงทุกที ทำให้ส่วนปลายแผลมีลักษณะเรียวแหลม แผลที่เกิดตามธรรมชาติก็มีลักษณะเช่นเดียวกันนี้ (รูปที่ 2) ขนาดของแผลไม่

คงที่อาจรวมกันเป็นแผลใหญ่ เมื่อพืชเป็นโรครุนแรง ส่วนกว้างที่สุดของแผลมีขนาดตั้งแต่ 1–10 มม. และมีความยาวตั้งแต่ 4–140 มม. แผลมีขนาดเฉลี่ย 4.1×26.3 มม. บนแผลที่แก่เชื้อราจะสร้าง sporodochium สีชมพูอ่อนมีเส้นใยสีขาวฟูอยู่รอบๆ สร้างทั้งบนด้านหน้าและด้านหลังของแผล เมื่อมองทางด้านตรง (top view) sporodochium มีรูปร่างค่อนข้างกลมหรือยาวรีเล็กน้อย ที่ปลายมี conidium รวมกันเป็นกลุ่มสีดำ (รูปที่ 4)

บนอาหาร PDA โคโลนีของ *M. roridum* มีสีขาว เริ่มสร้าง sporodochium เมื่อเชื้อราอายุตั้งแต่ 4–5 วัน โดยจะสร้างที่บริเวณกลางโคโลนีก่อน เมื่ออายุได้ 14 วัน จะเห็นเป็นจุดสีดำเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วไป เส้นใยมีผนังกันตามขวาง มีความกว้างเฉลี่ย 2.4μ sporodochium มีรูปร่างกลมจนถึงยาวรีวัดทางด้านตรง (top view) มีขนาดตั้งแต่ $25-300 \times 25-225 \mu$ ขนาดเฉลี่ย $124 \times 100 \mu$ conidiophore เกิดที่ sporodochium มีการแตกกิ่งก้าน 2–3 ครั้ง (รูปที่ 6) phialide มีรูปร่างทรงกระบอกยาว เกิดรวมกันเป็นชั้นคล้าย hymenium มีขนาดตั้งแต่ $10-50 \times 2-2.5 \mu$ ขนาดเฉลี่ย $16.7 \times 2.4 \mu$ เกิดแตกจากก้าน conidiophore เป็นกลุ่มๆ ละ 2–3 อัน (รูปที่ 6) conidium มีรูปร่างทรงกระบอกสั้น หัวท้ายมน เมื่ออยู่เดี่ยวๆ มีสีเขียวอ่อนหรือไม่มีสี เมื่ออยู่เป็นกลุ่มมีสีดำ มีขนาดค่อนข้างสม่ำเสมอ ขนาดเฉลี่ย $14 \times 5 \mu$

Rhizoctonia solani :

อาการโรคบนใบผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อ *R. solani* เริ่มแสดงหลังจากปลูกเชื้อได้ 48 ชม. โดยปรากฏเป็นแผลไหม้สีน้ำตาลอ่อนที่บริเวณจุดของ inoculum ขอบแผลไม่สม่ำเสมอ ความกว้างของแผลประมาณ 1 ซม. แพลนี้จะแผ่ขยายใหญ่อย่างรวดเร็วเป็นวงกว้างมีขอบเว้าไม่สม่ำเสมอเมื่อเป็นมากจะมีลักษณะเป็นชั้นๆ แต่ละชั้นมีขอบสีน้ำตาลเข้ม และหลังจากปลูกเชื้อได้ 7 วัน แผลจะแผ่ขยายรวมกันทำให้ใบเหี่ยวและตายได้ แผลที่เกิดในธรรมชาติมีลักษณะเช่นเดียวกับแผล

ที่เกิดจากการปลูกเชื้อ (รูปที่ 3) บนแผลที่แก่เชื้อราจะสร้างเมล็ด sclerotium สีน้ำตาลอยู่เป็นกลุ่มๆ ละ 3–4 เมล็ด

R. solani เจริญได้อย่างรวดเร็วบนอาหาร PDA โคโลนีมีสีน้ำตาลอ่อน สร้าง sclerotium กระจายอยู่ทั่วไป เริ่มเมื่อ culture มีอายุได้ประมาณ 6–8 วัน sclerotium มีสีน้ำตาล มีลักษณะเป็นก้อนกลม มีบ้างที่มีรูปร่างไม่สม่ำเสมอ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 0.5–2.1 มม. ขนาดเฉลี่ย 1.6 มม. เส้นใยมีผนังกันตามขวาง มีความกว้างเฉลี่ย 8.7μ

วิจารณ์

เชื้อราที่พบเป็นโรคกับผักตบชวาในประเทศไทย ทั้ง 3 ชนิดนี้ เป็นพวกเดียวกันกับที่พบในประเทศอินเดีย (7, 14) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะประเทศไทยและอินเดียนี้อยู่ในภูมิภาคแถบเดียวกัน และแม้ว่าขณะนี้เราจะพบว่าเชื้อราทำลายผักตบชวาน้อยชนิดกว่าในประเทศอินเดีย แต่ราทั้ง 3 นี้ก็เป็นราที่จัดอยู่ในพวกที่มีประสิทธิภาพในการทำลายผักตบชวาสูง (14)

จากการสังเกตอาการโรคที่เกิดขึ้นในธรรมชาติและจากการทดลองปลูกเชื้อกับผักตบชวา *Rhizoctonia solani* สามารถทำให้พืชเกิดโรคได้อย่างรุนแรงและรวดเร็วกว่าชนิดอื่น อย่างไรก็ดี โดยที่ *R. solani* เป็นราที่มีพืชอาศัยกว้างมาก (4, 14) ดังนั้น การที่จะนำรามาใช้ประโยชน์ในการกำจัดผักตบชวาจึงควรต้องคำนึงถึงผลเสียหายที่อาจเกิดขึ้นกับพืชชนิดอื่นด้วย ส่วนรา *Myrothecium roridum* นั้นก็มีพืชอาศัยกว้างเช่นเดียวกัน (14)

ราที่น่าสนใจ ได้แก่ *Alternaria eichhorniae* แม้ว่ารานี้จะทำลายผักตบชวาได้ไม่รวดเร็วเท่า *R. solani* แต่ก็เป็นราที่มีพืชอาศัยแคบมาก อาจกล่าวได้ว่าเชื้อราทำลายได้ดีแต่เฉพาะผักตบชวาเท่านั้น (7, 14) รานี้จึงอาจใช้ประโยชน์ในแง่ลดอัตราการเจริญเติบโตของผักตบชวาหรือทำให้พืชอ่อนแอลง แม้ว่าจะไม่อาจที่จะทำลายวัชพืชนี้ให้ตายได้ก็ตาม

เอกสารอ้างอิง

1. ELLIS, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. 608 p.
2. FREEMAN, T.E. and F.W. ZETTLER. 1971. *Rhizoctonia* blight of water hyacinth. *Phytopathology*. 61 : 892.
3. HOLM, L.G., L.W. WELDON and R.D. BLACKBURN. 1969. Aquatic weeds. *Science* 166 : 699-709.
4. JOYNER, B.G. and T.E. FREEMAN. 1973. Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* to aquatic plants. *Phytopathology* 63 : 681-685.
5. MEHROTRA, B.S. and M.D. MEHROTRA. 1964. Taxonomic studies of Choanephoraceae in India. *Mycopath. Mycol. Appl.* 22 : 21-39.
6. NAG RAJ, T.R. 1965. Thread blight of water hyacinth. *Current Science* 34 : 618-619. (Abstr. in ASRCT Biological Series No. 4, Bangkok. 1972.)
7. NAG RAJ, T.R. and K.M. PONNAPPA. 1970. Blight of water-hyacinth caused by *Alternaria eichhorniae* sp. nov. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55 : 123-130.
8. PARMETER, J.R., JR. and H.S. WHITNEY. 1970. Taxonomy and nomenclature of the imperfect stage p. 7-19. In: J.R. Parmeter, Jr. (ed.). *Rhizoctonia solani*, biology and pathology. University of Calif. Press, Los Angeles.
9. RIKER, A.J. and REGINA S. RIKER. 1936. Introduction to research on plant diseases. John S. Swift Co. Inc. New York. 117 p.
10. RINTZ R.E. and T.E. FREEMAN. 1972. *Fusarium roseum* pathogenic to water hyacinth in Florida. *Phytopathology* 62 : 806.
11. SUBRAMANIAN, C.V. 1971. Hyphomycetes. Indian Council of Agricultural Research. New Delhi. 930 p.
12. TUITE, J. 1969. Plant pathological methods: fungi and bacteria. Burgess Publishing Co. Minneapolis, Minn. 239 p.
13. WILSON, C.L. 1969. Use of plant pathogens in weed control. *Annu. Rev. Phytopathol.* 7 : 411-434.
14. ZETTLER, F.W. and T.E. FREEMAN. 1972. Plant pathogens as biocontrols of aquatic weeds. *Annu. Rev. Phytopathol.* 10 : 455-470.