

ชื่อเรื่อง	ลักษณะของเชื้อรา <i>Colletotrichum</i> spp. ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมในผลไม้
ผู้แต่ง	สุธาสินี ชัยชนะ
ที่มา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว) สถาบันวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 225 หน้า. 2550.
คำสำคัญ	anthracnose; carbendazim

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรค แอนแทรคโนสที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp., ระดับความทนทานของเชื้อราต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim โดยการเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim ความเข้มข้นต่างๆ, ลักษณะการงอกของ conidium เชื้อราบนเยื่อหุ้ม, ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืช และสมุนไพรในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. และศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim

จากการเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 147 ไอโซเลท ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 21 ไอโซเลท ที่แยกจากพืช 6 ชนิด (แอปเปิ้ล 1 ไอโซเลท, กล้วย 4 ไอโซเลท, ฝรั่ง 4 ไอโซเลท, มะม่วง 4 ไอโซเลท, มะละกอ 4 ไอโซเลท และส้ม 4 ไอโซเลท) โดยศึกษาลักษณะโคโลนี ขนาดและรูปร่างของ conidium และ appressorium และการสร้าง/ไม่สร้าง seta และ sclerotium สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อราได้ 3 กลุ่มโดย กลุ่มที่ 1 มีโคโลนีสีขาว สีเขียวและสีเทา สร้าง conidium รูปร่างคล้ายแคปซูล (cylindrical) สร้าง appressorium แบบกระบอง (clavate) บางไอโซเลทสร้าง seta และ sclerotium กลุ่มที่ 2 มีโคโลนีสีเทาอมส้ม สร้าง conidium รูปร่างคล้ายแคปซูล (cylindrical) สร้าง appressorium แบบไม่สม่ำเสมอ (irregular) ไม่สร้าง seta แต่สร้าง sclerotium และกลุ่มที่ 3 มี โคโลนีสีเทาอมส้ม สร้าง conidium รูปร่างคล้ายลูกรี (fusiform) สร้าง appressorium แบบกระบอง (clavate) ไม่สร้าง seta และ sclerotium เมื่อจัดจำแนกสปีชีส์โดยใช้หลักเกณฑ์ของ Sutton (1992) พบว่าสามารถจำแนกได้เป็น 3 สปีชีส์ ได้แก่ กลุ่มที่ 1 คือเชื้อรา *C. gloeosporioides* กลุ่มที่ 2 คือเชื้อรา *C. musae* และกลุ่มที่ 3 คือเชื้อรา *C. acutatum*

จากการนำเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมดมาทดสอบความทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim โดยการเลี้ยงบนอาหาร PDA ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim ความเข้มข้น 0.1, 1, 10, 100, 500 และ 1,000 ppm และประเมินระดับความทนทานของเชื้อราต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim 4 ระดับคือ ทนทานมาก (highly resistance; HR), ทนทานปานกลาง (moderately resistance; MR), ทนทานน้อย (weakly resistance; WR), และไม่ทนทาน (sensitive; S; สายพันธุ์ปกติ) พบว่ามีเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 70 ไอโซเลท ซึ่งแยกได้จากแอปเปิ้ล 1 ไอโซเลท กล้วย 1 ไอโซเลท ฝรั่ง 5 ไอโซเลท มะม่วง 26 ไอโซเลท มะละกอ 4 ไอโซเลท

และส้ม 32 ไอโซเลท สามารถทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราในระดับสูง (HR) ได้ โดยในการทดสอบครั้งนี้ ไม่พบเชื้อราที่มีความทนทานปานกลาง (MR) และเชื้อราที่มีความทนทานน้อย (WR)

จากการตรวจสอบลักษณะโคโลนีของเชื้อราสายพันธุ์ที่ทนทานต่อป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim ที่เจริญบนอาหาร PDA ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม ความเข้มข้น 500 ppm พบว่าเชื้อราสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim จะสร้างโคโลนี มีลักษณะการเจริญไม่แตกต่างจากการเจริญในชุดควบคุม (0 ppm) แต่พบว่ามีเชื้อราบางไอโซเลท ที่โคโลนีมีลักษณะผิดปกติ เช่น มีการสร้าง pigment สีน้ำตาลแดง ออกมาก่อนที่เส้นใยจะเจริญลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือบางไอโซเลทโคโลนีเจริญช้ากว่าปกติ ขอบโคโลนีหยัก เส้นใยสานตัวกันแน่นเป็นกระจุก และเมื่อตรวจสอบลักษณะเส้นใยเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ พบว่าลักษณะของเส้นใยเชื้อราสายพันธุ์ปกติ (S) และสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim (HR) ไม่แตกต่างกัน และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพของ สารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim ต่อการงอก germ tube ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. บน เชื้อหอม พบว่าสาร carbendazim ความเข้มข้น 500 ppm ไม่ยับยั้งการงอก germ tube ของเชื้อราทั้งสายพันธุ์ปกติ (S) และสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสาร carbendazim ในระดับสูง (HR) ได้

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 5 ชนิด คือ captan, carboxin, copper oxychloride, mancozeb และ benomyl ในอัตราแนะนำต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา พบว่า mancozeb มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุด (100%) ส่วนสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carboxin, captan และ benomyl เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเส้นใยรองลงมา แต่ในเชื้อราสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim (HR) นั้น benomyl มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้เพียงเล็กน้อย ส่วนสารป้องกันกำจัดเชื้อรา copper oxychloride เป็นสารที่ไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเส้นใย แต่มีผลทำให้โคโลนีเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ผิดปกติ โดยเส้นใยของเชื้อราจะเจริญบางติดกับผิวอาหาร และสีของโคโลนีเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราทั้ง 5 ชนิดต่อการงอกของ conidium บนเชื้อหอม พบว่า mancozeb สามารถยับยั้งการงอกของ conidium ได้ 100% ส่วนสารที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเส้นใยรองลงมาคือ carboxin และ captan ส่วน benomyl ยับยั้งการงอก germ tube ได้น้อย แต่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดี และพบว่า copper oxychloride ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของ conidium แต่ทำให้ conidium งอกผิดปกติโดย germ tube จะมีลักษณะทึบยาว สร้าง appressorium ได้น้อยเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสมุนไพร 3 ชนิด คือ กระชาย, ข่า และขิง ความเข้มข้น 0.1, 0.3, 0.5, 1, 3 และ 5% (w/v) ต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราพบว่ากระชายความเข้มข้น 5% (w/v) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ที่แยกได้จากฝรั่ง, มะม่วง และมะละกอสายพันธุ์ปกติ (S) ได้ดีที่สุด ส่วนข่า ความเข้มข้น 5% (w/v) ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสายพันธุ์ปกติ (S) ที่แยกจากส้ม และ เชื้อราสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim (HR) ที่แยกได้จากแอปเปิ้ล, ฝรั่ง และมะละกอได้ดีที่สุด และขิง

ความเข้มข้น 5% (w/v) สามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อราสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim (HR) ที่แยกได้จาก มะม่วง, มะละกอ และกล้วยทั้งสองสายพันธุ์ได้ดีที่สุด

เมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อราสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim (HR) จำนวน 16 ไอโซเลท ในตำแหน่งบางส่วนของยีน beta-tubulin ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ TB2R และ TB2L สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ขนาด 474 คู่เบส เมื่อวิเคราะห์ลำดับการจัดเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ ในตำแหน่งบางส่วนของยีน beta-tubulin พบการเปลี่ยนแปลงของเบสที่จำเพาะของกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 198 จาก glutamic acid (GAG) เป็น alanine (GCG)