

โชติรส รอดเกตุ 2555: ความผันแปรของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสพริก ปริญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช) ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัตติยา พงศ์พิศุทธา, Ph.D. 144 หน้า

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสพริก จำนวน 58 ไอโซเลท ซึ่งเก็บตัวอย่างจากจังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ สุโขทัย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ อุรธานี ขอนแก่น นครราชสีมา ศรีสะเกษ อุบลราชธานี กาญจนบุรี นครปฐม และประจวบคีรีขันธ์ จากลักษณะโคโลนีสามารถจัดกลุ่มเชื้อราได้ 8 กลุ่ม จากลักษณะรูปร่างสปอร์สามารถจัดกลุ่มได้ 3 กลุ่ม

อย่างไรก็ตามเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีความผันแปรลักษณะสัณฐานวิทยาค่อนข้างสูง จึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลมาศึกษาร่วมด้วย โดยการทำปฏิกิริยา Polymerase chain reaction (PCR) บริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 โดยใช้ไพรเมอร์ CgInt ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* ร่วมกับ universal primer ITS4 ผลจากปฏิกิริยาได้แถบดีเอ็นเอ ขนาดประมาณ 450 คู่เบส เมื่อนำดีเอ็นเอมาตัดด้วย เอนไซม์ตัดจำเพาะ 3 ชนิดคือ *HaeIII* *PvuII* และ *EcoRI* นำข้อมูลไปจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc. 2.20e ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 70 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ 2 กลุ่ม โดยมีค่า bootstrap เท่ากับ 86 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเชื้อราในกลุ่มที่ 1 นั้นประกอบด้วยเชื้อราไอโซเลทที่เก็บมาจากจังหวัด เชียงใหม่ ศรีสะเกษ นครปฐม นครสวรรค์ พิษณุโลก เพชรบูรณ์ ขอนแก่น อุบลราชธานี และประจวบคีรีขันธ์ และเชื้อราที่แยกมาจากจังหวัดเพชรบูรณ์จำนวน 4 ไอโซเลทไม่มีความผันแปรทางพันธุกรรม ส่วนเทคนิค Inter-simple sequencerepeat (ISSR) ใช้ไพรเมอร์ 4 ชนิด ได้แก่ (CAG)₅ (GTG)₅ (GACA)₄ และ (TGTC)₄ พบว่า (CAG)₅ มี polymorphic bands จำนวน 14 แถบ มีขนาด 400-1500 คู่เบส ส่วน (GTG)₅ มีจำนวน 14 แถบ มีขนาด 400-1300 คู่เบส ในขณะที่ (GACA)₄ และ (TGTC)₄ มี polymorphic bands จำนวน 10 แถบ มีขนาด 500-1300 คู่เบส และ 500-1800 คู่เบส ตามลำดับ นำข้อมูลไปวิเคราะห์และจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc. 2.20e พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มของเชื้อรา 58 ไอโซเลท ได้ 6 กลุ่ม ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ พบว่า CM039 มีขนาด 325 คู่เบส แตกต่างไปจาก NKP018 NKS140 SKT046 และ SSK020 ซึ่งมีขนาด 441 439 449 และ 442 คู่เบส ตามลำดับ

การเก็บรักษาเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร potato carrot agar (PCA) และในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 12 เดือน พบว่าลักษณะโคโลนีและรูปร่างของสปอร์เกิดการผันแปร ขณะที่ลักษณะของ **seta** และ **appressoria** ไม่เกิดการผันแปร การเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยส่วนใหญ่พบว่าอัตราการเจริญเติบโตและการงอกของสปอร์ที่เก็บบน PCA สูงกว่าเชื้อราที่เก็บในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ส่วนการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริกพันธุ์จินดา พบว่าเชื้อราที่เก็บบน PCA จำนวน 42 ไอโซเลท และเชื้อราที่เก็บในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 7 ไอโซเลท สามารถทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ 9 ไอโซเลท ที่เก็บในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ สูญเสียความสามารถในการทำให้เกิดโรค พบว่าไอโซเลท SSK049 สามารถทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งก่อนและหลังการเก็บรักษาทั้งสองวิธี และมีความรุนแรงมากที่สุด โดยมีพื้นที่การเกิดโรคบนผลพริกทั้งก่อนการเก็บรักษา หลังการเก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งเท่ากับ 14.89, 10.21 และ 7.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ