

เอกสารสรุปผลงาน

- 1. ชื่อโครงการ:** ศึกษาการทนทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสในมะม่วง
- 2. ผู้ดำเนินการวิจัย:** อาจารย์ ดร.สรัญญา วัลยะเสวี
ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- 3. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย:**

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) เป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทย เนื่องจากมีการบริโภคทั้งในประเทศ และส่งออกต่างประเทศ ในรูปผลสดและแปรรูป (Anon, 1989) เพราะอุดมด้วยคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเฉพาะวิตามิน เอ และ บี (Singh *et al.*, 2008) แต่ปัญหาสำคัญในการผลิตและจัดจำหน่ายมะม่วงคือ การเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุของโรคแอนแทรกโนส (anthracnose) โดยทำให้เกิดลักษณะจุดสีดำ รูปร่างกลม ในระหว่างการบ่มหรือขนส่งจุดแผลเหล่านี้จะขยายใหญ่ขึ้น และลุกลาม ทำให้เน่าทั้งผลได้ อาการจุดเน่าดำบนผลนี้พบทำความเสียหายกับมะม่วงเกือบทุกสายพันธุ์ นอกจากนี้เชื้อราชนิดนี้ยังสามารถแฝงอยู่กับผลตั้งแต่อยู่ในแปลงปลูกโดยไม่แสดงอาการใดๆ แต่เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม เช่น ผลสุก หรือมีความชื้นสูงในระหว่างการเก็บรักษา หรือบรรจุหีบห่อเพื่อการขนส่ง จะแสดงอาการได้ซึ่งสามารถเข้าทำลายมะม่วงได้ตลอดระยะการเจริญเติบโต รวมทั้งหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตด้วย (นิพนธ์, 2531, 2542; อรุณี, 2533; Arauz, 2000; Ploetz, 2003; Akem, 2006) จากการศึกษาของ Fitzell and Peak (1984) พบว่าการแพร่กระจายของโรคแอนแทรกโนส เกิดจากโคนิเดียที่ผลิตบนใบที่เป็นโรคแล้วร่วงหล่น ช่อดอกที่แห้งและฐานรองดอก แพร่ระบาดไปโดยทางลมและฝน โดยเฉพาะในสภาพอากาศที่ชื้นอุณหภูมิสูง สลับกับความแห้งแล้ง สปอร์ของเชื้อราจากใบที่เป็นโรคจะไหลไปตามหยดน้ำลงสู่ขั้วผลแล้วกระจายไปทั่วผลทำให้ขั้วผลและก้นผลเน่า สำหรับการจัดการป้องกันกำจัดโรคนี้นั้นแปลงปลูก เกษตรกรนิยมใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราโดยเฉพาะสารกลุ่มเบนซิมิดาโซล (benzimidazole) เช่น คาร์เบนดาซิม (carbendazim), เบนโนมิล (benomyl) หรือ ไธอะเบนดาโซล (thiabendazol) เป็นต้น เนื่องจากควบคุมโรคได้ผลดีและรวดเร็ว (Prior *et al.*, 1992; Arauz, 2000; Ploetz, 2003; Akem, 2006) สารเคมีกลุ่มนี้เป็นสารชนิดดูดซึม (systemic fungicides) ที่ออกฤทธิ์แบบเฉพาะจุด (site specific mode of action) กล่าวคือ

จะเข้าไปจับกับโปรตีนทูบูลิน (tubulin) โดยเข้าไปจับอย่างจำเพาะเจาะจงกับโปรตีน beta-tubulin subunit ซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งของโครงสร้าง microtubules โครงสร้างนี้มีลักษณะคล้ายเส้นด้าย สำหรับดึงโครโมโซม (chromosome) ให้แยกคู่ เกิดขึ้นในขบวนการ mitosis ระยะ metaphase (ธรรมศักดิ์, 2543; Davides, 1986; Steffen *et al.*, 1996; Ma and Michailides, 2005) เนื่องด้วยลักษณะของการออกฤทธิ์แบบจำเพาะจุดนี้ ประกอบกับการใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่อง จึงส่งผลชักนำให้เชื้อราเกิดการพัฒนา หรือปรับตัวเองเพื่อความอยู่รอด จนเกิดการกลายพันธุ์เป็นสายพันธุ์ที่ต้านทานสารป้องกันกำจัดเชื้อราขึ้น เมื่อเกษตรกรยังคงใช้สารเคมีดังกล่าวเชื้อราสายพันธุ์ที่กลายพันธุ์ยังคงอยู่รอดได้ ซึ่งลักษณะการกลายพันธุ์ที่กล่าวมานี้ยังสามารถถ่ายทอดสู่รุ่นลูกหลานได้อีกด้วย และส่งผลให้เกิดการเพิ่มปริมาณภายในแปลงปลูกของเกษตรกรได้โดยไม่รู้ตัว (acquired fungicide resistance) (Brent and Hollimon, 1998; Ma and Michailides, 2005; Deising *et al.*, 2008; Damicone and Smith, 2009) ทำให้เกษตรกรประสบปัญหาไม่สามารถควบคุมการเกิดและแพร่ระบาดของโรคนี้ได้ รวมทั้งต้องสิ้นเปลืองเงินทุนและเวลาในการป้องกันกำจัดโรคจากรายงานของ Brent and Hollimon (1998) และ Damicone and Smith (2009) ได้จัดระดับความเสี่ยงต่อการพัฒนาความต้านทานต่อสารกลุ่มเบนซิมิดาโซลอยู่ในระดับความเสี่ยงสูง ประกอบกับ Deising *et al.* (2008) รายงานว่าเชื้อรา *Venturia inaequalis* และ *Botrytis cinerea* สามารถสร้างความต้านทานต่อสารกลุ่มนี้ในเวลาเพียงสองปี จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้การป้องกันกำจัดโรคนี้ไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร ซึ่งในงานวิจัยครั้งนี้ได้เลือกใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมเป็นสารทดสอบ เนื่องจากเกษตรกรใช้สารเคมีกลุ่มดังกล่าวติดต่อกันเป็นระยะเวลาอันยาวนานในพื้นที่ปลูกมะม่วง

ปัจจุบันมีนักวิจัยหลายท่านที่ได้ศึกษาความต้านทานต่อสารในกลุ่มเบนซิมิดาโซลของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่ระดับ phenotypic mutation พบว่าเชื้อราชนิดดังกล่าวเกิดความต้านทานต่อสารในกลุ่มนี้ขึ้นแล้วในหลายประเทศ (Sarish, 1989; Farungsang *et al.*, 1994; Sander *et al.*, 2000; Kumar *et al.*, 2007; Ru-Lin and Jun-Sheng, 2007) ส่วนการศึกษาความต้านทานต่อสารในกลุ่มนี้ที่ระดับ genetic mutation ส่วนใหญ่จะศึกษาเกี่ยวข้องกับจุดกลายพันธุ์ (point mutation) บนยีนเบต้าทูบูลิน (tubulin gene; *TUB*) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนตรงตำแหน่งจับของสารกลุ่มเบนซิมิดาโซล (benzimidazole binding site) โดยพบการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง codon 6, 50, 167, 198, 200 และ 240 เป็นต้น นอกจากนี้พบว่าการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง codon 198 มีรายงานมากที่สุด กล่าวคือกรดอะมิโน glycine, lysine, alanine หรือ valine จะเข้าไปแทนที่ glutamic acid ในตำแหน่ง codon นี้ (Ma and Michailides, 2005) ทั้งนี้พบว่ามีรายงานการศึกษาความต้านทานของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ต่อสารในกลุ่มเบนซิมิดาโซล บริเวณยีน *TUB2* เนื่องจากเป็นบริเวณที่คาดว่ามีตำแหน่งที่เกิดจุด