



245561



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ศึกษาการทนทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม

และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา

Colletotrichum gloeosporioides สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง

โดย...อ.ดร. สรัญญา วัลยะเสวี

ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กันยายน 2553

๐๐๐๒๓๑๒๓๔

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



245561



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ศึกษาการทนทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม

และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา

Colletotrichum gloeosporioides สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง

โดย...อ.ดร. สรัญญา วัลยะเสวี

ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กันยายน 2553

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ศึกษาการทนทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม

และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา

Colletotrichum gloeosporioides สาเหตุโรคน้ำตาแห้งมะม่วง

Fungicide Determination of Beta-Tubulin Gene Point Mutation
in *Colletotrichum gloeosporioides* Causing Mango Anthracnose

โดย

อ.ดร. สรัญญา วัลยะเสวี

ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยในครั้งนี้ประสบความสำเร็จลงได้ด้วยดี โดยได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้บริหาร และเจ้าหน้าที่ของสำนักงานฯ ตลอดจนผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่เล็งเห็นความสำคัญของงานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์พื้นฐาน โดยให้การสนับสนุน และให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาของงานวิจัย

ขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ ที่ให้การสนับสนุนด้านเครื่องมือต่างๆ ทำให้ผู้วิจัยสามารถดำเนินการวิจัยมาได้อย่างต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ชัยวัฒน์ โตอนันต์ ภาควิชาภูมิวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผู้ที่สนับสนุนโดยเป็นนักวิจัยที่ปรึกษาให้กับโครงการวิจัย ตลอดจนส่งเสริมและสนับสนุนงานวิจัยตลอดมา และ Prof. Dr. Kazuya Akimitsu แห่งมหาวิทยาลัยคาทอลิก ประเทศญี่ปุ่น ที่ให้คำแนะนำและเป็นที่ปรึกษา อีกทั้งสนับสนุนในด้านการตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารต่างๆ จนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดีตลอดมา ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลงานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่องานทางด้านโรคพืชและการเกษตรของประเทศไทยต่อไปในอนาคต



อ.ดร. สรัญญา วัลยะเสวี

ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5080437

ชื่อโครงการ : ศึกษาการทนทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง

ชื่อนักวิจัย : ดร. สรัญญา วัลยะเสวี สังกัดมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

E-mail Address : sarunya@chiangmai.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี (2 กรกฎาคม พ.ศ. 2550 ถึง 1 กรกฎาคม พ.ศ. 2552)

245561

เก็บรวบรวมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสจากใบและผลมะม่วงจากตลาดและสวนในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 17 สายพันธุ์ ได้ทั้งหมด 150 ไอโซเลท ประเมินความสามารถในการทนทานสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม โดยทดสอบบนอาหาร potato dextrose agar ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 1, 10, 100, 500 และ 1,000 mg/l ตามลำดับ พบเชื้อรากลุ่ม HR จำนวน 112 ไอโซเลท (74.7%) กลุ่ม MR จำนวน 1 ไอโซเลท (0.6%) และกลุ่ม S จำนวน 37 ไอโซเลท (24.7%) เมื่อวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ และกรดอะมิโนจากตัวอย่างเชื้อราแต่ละระดับความต้านทาน ที่ตำแหน่งบางส่วนของยีนเบต้าทูบูลิน (*TUB2*) เปรียบเทียบกับเชื้อรา *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* (accession no. U14138) พบการเปลี่ยนแปลงในกลุ่ม HR โดยลำดับนิวคลีโอไทด์เปลี่ยนจาก adenine (A) เป็น cytosine (C) เป็นผลทำให้ที่ตำแหน่งของกรดอะมิโน codon 198 เกิดการกลายพันธุ์ จาก glutamic acid (GAG) เป็น alanine (GCG) ซึ่งสัมพันธ์กับลักษณะกลายพันธุ์ที่แสดงออกต่อสารคาร์เบนดาซิมจากธรรมชาติ สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ 2 ชนิด ได้แก่ จากต้นยูคาลิปตัสและไม้สะเดา ในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าน้ำส้มควันไม้ทั้ง 2 ชนิดที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 2% (v/v) ขึ้นไป ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100% สำหรับการทดสอบยับยั้งการงอกของโคนินเดียที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าน้ำส้มควันไม้ทั้ง 2 ชนิดที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1% (v/v) ขึ้นไป สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100% นอกจากนี้การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง พบว่าการแช่มะม่วงในน้ำส้มควันไม้ 1% (v/v) เป็นเวลา 1 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ในช่วง 55.17 – 100% ในขณะที่ชุดควบคุมพบว่าบนผลมะม่วงแสดงอาการของโรคทั่วทั้งผลในระยะเวลา 16 วันหลังจากปลูกเชื้อ

คำหลัก: ความทนทานสารกำจัดเชื้อรา โรคแอนแทรคโนสของมะม่วง น้ำส้มควันไม้

Colletotrichum gloeosporioides

Abstract

Project Code : MRG5080437

Project Title : Fungicide Determination of Beta-Tubulin Gene Point Mutation in
Colletotrichum gloeosporioides Causing Mango Anthracnose

Investigator : Dr.Sarunya Valyasevi Chiang Mai University

E-mail Address : sarunya@chiangmai.ac.th

Project Period : 2 years (2 July 2007 - 1 July 2009)

245561

Isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* causing mango anthracnose were isolated from diseased leaves and fruits of 17 cultivars of mango collected from markets and orchards in Muang district, Chiang Mai. One hundred and fifty isolates of *Colletotrichum* spp. were successfully obtained. The carbendazim-resistant assay was conducted on potato dextrose agar amended with carbendazim at various concentrations: 0.1, 1, 10, 100, 500 and 1,000 mg/l, respectively. The results showed that 112 isolates were HR, 1 isolate was MR and 37 isolates were S phenotype. The differences in the carbendazim-resistant phenotypes were conspicuous in sequence analysis of the partial second beta-tubulin (*TUB2*) gene. Amino acid sequence analysis in comparison with wild type *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* (accession no. U14138) was carried out HR phenotype revealed a substitution of codon 198, which encoded glutamic acid (E) in S phenotype, was converted to a codon for alanine (A) which was closely associated with conferring carbendazim resistance of phenotypic mutation from field. Assays on the efficiency of vinegar extracts of eucalyptus and neem trees for controlling *C. gloeosporioides* were carried out. In this experiment, both vinegar extracts could completely inhibit the hyphal growth of *C. gloeosporioides* (100% efficiency) at 2% (v/v) concentration, and showed inhibition activity to the conidial germination of *C. gloeosporioides* (100% efficiency) after 24 hour at 1% (v/v) concentration. The inhibition activity assays was also carried out by soaking mango fruits into eucalyptus vinegar. The soaking mango fruits in 1% eucalyptus vinegar extract for 1 min produced the highest inhibition activity. Using this combination, the mango fruits did not show any anthracnose symptom up to 16 days incubation period while the control has shown the symptom over the mango.

Keywords : fungicide resistant, mango anthracnose, *Colletotrichum gloeosporioides*,
vinegar extracts

สารบัญ

	หน้า
1. ชื่อโครงการ	1
2. ผู้ดำเนินการวิจัย	1
3. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
4. วัตถุประสงค์ของการศึกษา	20
5. ระเบียบวิธีวิจัย	21
6. ผลการวิจัย	28
7. อภิปรายผลการทดลอง	80
8. สรุปผลการทดลอง	82
9. เอกสารอ้างอิง	85
ผลที่ได้รับจากโครงการฯผลที่ได้รับจากโครงการฯ	91