

วารานันท์ วิทยุรัตน์ 2554: การจำแนกชนิดและศึกษาความรุนแรงของเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคนแอนแทรกโนสพริก ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช) ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัตติยา พงศ์พิสุทธา, Ph.D. 136 หน้า

จัดจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคนแอนแทรกโนสพริก จำนวน 58 ไอโซเลท ซึ่งเก็บตัวอย่างในจังหวัดเชียงราย นครศรีธรรมราช และ สุโขทัย อาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา สามารถจำแนกเชื้อราได้ 3 สปีชีส์ คือ *C. acutatum* (*Ca*) *C. capsici* (*Cc*) และ *C. gloeosporioides* (*Cg*) จากลักษณะโคโลนีสามารถจัดกลุ่มเชื้อราได้ 5 8 และ 7 กลุ่ม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามลักษณะสัณฐานวิทยามีความผันแปรค่อนข้างสูง จึงใช้ร่วมกับเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล โดยการทำปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) บริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ด้วย universal primer ITS4/ITS5 ได้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 600 คู่เบส และนำดีเอ็นเอมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 3 ชนิด คือ *AluI* *BamHI* และ *RsaI* แยกชิ้นส่วนด้วยปฏิกิริยาอิเล็กโตรโฟรีซิส บน 2% agarose gel พบว่า *AluI* และ *RsaI* ไม่สามารถตัดดีเอ็นเอของ *Ca* ขณะที่ *BamHI* และ *RsaI* ไม่สามารถตัดดีเอ็นเอของ *Cc* ได้ ส่วน *AluI* สามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่าง *Ca* และ *Cg* ได้ เมื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับ นิวคลีโอไทด์สามารถจำแนกได้เป็น 3 สปีชีส์ ตรงตามลักษณะสัณฐานวิทยา และงานวิจัยนี้จำแนก *Cg* ได้ 2 กลุ่ม

การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์บนอาหาร casein hydrolysis medium (CHM) และ casein from bovine milk medium (CBM) พบว่าเชื้อราสร้างเอนไซม์บางชนิดมาย่อยอาหารทั้ง 2 ชนิดได้ ทำให้เกิด clear zone รอบโคโลนี บนอาหาร CHM พบ *Ca* สร้าง clear zone มีความกว้างมากที่สุดคือ 10.10 มม. รองลงมาได้แก่ *Cg* และ *Cc* มีขนาด 2.78 และ 1.85 มม. ตามลำดับ ขณะที่บนอาหาร CBM พบ *Ca* และ *Cg* สร้าง clear zone กว้าง 4.62 และ 0.93 มม. ตามลำดับ ส่วน *Cc* ทุก Isolate ไม่สร้าง clear zone เมื่อนำมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในอาหารเหลวที่ผสม CBM ความเข้มข้น 1% พบว่า *Cg* มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ได้สูงที่สุดคือ 6.67 ยูนิต/มก. ขณะที่ *Cc* และ *Ca* มีค่า 4.03 และ 3.63 ยูนิต/มก. ตามลำดับ

การทดสอบการปลูกเชื้อบนผลพริกพันธุ์จินดาและบางช้าง โดยใช้ mycelial disc (MD) และ conidial suspension (CS) พบว่าการปลูกเชื้อด้วย MD กับพริกพันธุ์บางช้างด้วย *Ca* และ *Cg* พบการเกิดโรค 100% ขณะที่ *Cc* พบการเกิดโรค 96.67% ส่วนการปลูกเชื้อด้วย CS กับพริกพันธุ์จินดาพบว่าเชื้อราทั้ง 3 สปีชีส์ ทำให้เกิดโรคได้ 100% จากการประเมินความรุนแรงของเชื้อในการทำให้เกิดโรค พบว่าผลจากการปลูกเชื้อบนผลพริกพันธุ์จินดา มีขนาดใหญ่กว่าบนผลพริกพันธุ์บางช้าง อย่างไรก็ตามพริกพันธุ์บางช้างที่ใช้ inoculum ที่แตกต่างกัน แสดงความรุนแรงของโรคไปในทิศทางเดียวกัน โดยพบว่าเมื่อนำ *Ca* *Cc* และ *Cg* มาปลูกเชื้อด้วย MD พบพื้นที่การเกิดโรค 16.55 16.06 และ 3.85% ตามลำดับ และเมื่อใช้ CS พบพื้นที่การเกิดโรค 7.43 6.27 และ 3.76% ตามลำดับ เปรียบเทียบการสร้าง clear zone และค่าของกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสกับความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน เอนไซม์ที่เชื้อราสร้างขึ้นมาอาจไม่ใช่ตัวแปรสำคัญในการทำให้เกิดความรุนแรงของโรคได้ แต่อาจจะเป็นปัจจัยรองในการช่วยให้เชื้อราสาเหตุโรคเข้าทำลายพืชได้ง่ายขึ้น