



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

โรคพืช

โรคพืช

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การตรวจสอบเชื้อรา *Ustilago scitaminea* Sydow ในการเข้าทำลายอ้อยระยะเริ่มต้น

Determination of *Ustilago scitaminea* Sydow on the Infection of Sugarcane at the Early Stage

นามผู้วิจัย นางสาวรัญญา อริยสุระ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชลิตา เล็กสมบูรณ์, วท.ด.)

กรรมการ

(อาจารย์ชัยณรงค์ รัตนกริธากุล, Dr.sc.agr.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เรวัต เลิศฤทัยโยธิน, D.Agr.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชลิตา เล็กสมบูรณ์, วท.ด.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อัจฉกหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่..... เดือน..... พ.ศ.....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การตรวจสอบเชื้อรา *Ustilago scitaminea* Sydow ในการเข้าทำลายอ้อยระยะเริ่มต้น

Determination of *Ustilago scitaminea* Sydow on the Infection of Sugarcane at the Early Stage

โดย

นางสาววิญญา อริยสุระ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2550

ISBN 974-16-2816-1

วรัญญา อริยสุระ 2550: การตรวจสอบเชื้อรา *Ustilago scitaminea* Sydow ในการเข้า
ทำลายอ้อยระยะเริ่มต้น ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขา
โรคพืช ภาควิชาโรคพืช ปรธานกรรมการที่ปรึกษา:
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชลิตา เล็กสมบูรณ์, วท.ด. 72 หน้า
ISBN 974-16-2816-1

การศึกษาวีธีการปลูกเชื้อโรคแล้วในอ้อย สาเหตุจากเชื้อรา *Ustilago scitaminea* Sydow.
ในสภาพเรือนทดลอง โดยวิธีการปลูกเชื้อแบบแช่ท่อนพันธุ์ และการฉีดสปอร์เข้าสู่ต้นกล้าอ้อย
พันธุ์ K84-200, อุ่ทอง 1, H59-3775 และกำแพงแสน 94-13 ใช้เชื้อระยะการเจริญ sporidia
และ teliospore พบว่าการปลูกเชื้อด้วย teliospore โดยการฉีดสปอร์เข้าสู่ต้นกล้า แสดงอาการของ
โรคได้อย่างรวดเร็วกว่าวิธีการปลูกเชื้อด้วยการแช่ท่อนพันธุ์ ภายหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 2 เดือน
พบการสร้างแล้วในอ้อยพันธุ์อุ่ทอง 1 และ H59-3775

การตรวจสอบเชื้อรา *U. scitaminea* Sydow ในอ้อยพันธุ์ อุ่ทอง 1, K84-200, H59-3775
และกำแพงแสน 94-13 ด้วยเทคนิค PCR และ กล้องจุลทรรศน์ หลังจากทำการปลูกเชื้อด้วยการ
ฉีด sporidia ที่ 1, 3, 5, 7, 14, 21, และ 28 วัน การตรวจเชื้อด้วยเทคนิค PCR ด้วยไพรเมอร์ bE4
และ bE8 พบแถบแบนดีเอ็นเอขนาด 450 bp ในอ้อยพันธุ์ กำแพงแสน 94-13 และอุ่ทอง 1
หลังทำการปลูกเชื้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แต่ตรวจไม่พบในอ้อยพันธุ์ K84-200 และ H59-
3775 การตรวจเชื้อโดยกล้องจุลทรรศน์ ตรวจพบเชื้อได้อย่างรวดเร็วที่ 24 ชั่วโมงหลังทำการ
ปลูกเชื้อ วิธีการตรวจเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อาจนำมาใช้ในการตรวจเชื้อในต้นกล้าอ้อยที่ไม่
แสดงอาการ แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบเชื้อและความต้านทานโรคของอ้อย

การศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา *U. scitaminea* Sydow 43 ไอโซเลท จากขนาดของ
teliospore และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี แสดงการจัดกลุ่มได้ 2 และ 3 กลุ่มตามลำดับ
การจัดกลุ่มของเชื้อทั้ง 43 ไอโซเลท ด้วยเทคนิค PCR ด้วยไพรเมอร์ VNTR และ ITS ประกอบไป
ด้วยรูปแบบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอจำนวน 1 และ 3 รูปแบบตามลำดับ โดยไม่พบความสัมพันธ์
ระหว่างสายพันธุ์เชื้อกับแหล่งปลูก

Waranya Ariyasura 2007: Determination of *Ustilago scitaminea* Sydow on the Infection of Sugarcane at the Early Stage. Master of Science (Agriculture), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Assistant Professor Chalida Leksomboon, Ph.D. 72 pages.
ISBN 974-16-2816-1

Study on the inoculation procedure in sugarcane to smut disease, caused by *Ustilago scitaminea* Sydow was conducted in the greenhouse condition. The main treatments were the immersion of seed cane and injection of young seedling on K84-200, UT1, H59-3775 and KPS 94-13, Both seed cane and young seedlings were inoculated with sporidia and teliospore of pathogen. The inoculation on the seedlings with teliospore by the injection method developed disease symptom rapidly and relatively easy to apply than the immersion method. By 2 months of age, smut whips began to emerge from injected seedlings of UT1 and H59-3775.

A detection of *U. scitaminea* Sydow in UT1, K84-200, H59-3775 and KPS94-13 was performed with Polymerase Chain Reaction (PCR) and microscopy after inoculation with sporidia by injection method at 1, 3, 5, 7, 14, 21 and 28 days. Primers *bE4* and *bE8* amplified a DNA fragment of 450 bp in KPS 94-13 and UT1 at 4 weeks post-inoculation. Under identical PCR condition, no amplification product was observed in K84-200 and H59-3775. In microscopic sections, hyphae were seen all in inoculated plants as early as 24 hr after inoculation. While the microscopy may be used to detect the smut pathogen in plantlets not exhibiting symptoms, there was no relationship between the presence of the pathogen and plant resistance.

Variation among 43 isolates of *U. scitaminea* Sydow in size of teliospore and diameter of mycelial colony were assessed. The results demonstrated that the isolates could be divided into 2 and 3 groups, respectively. DNA primers corresponding to variable number of tandem repeats (VNTR) and internal transcribed spacer (ITS) were employed to generate DNA fingerprints of 43 isolates by PCR technique. These results showed 2 DNA bands and grouped into 1 and 3 DNA fingerprint patterns from primer VNTR and ITS, respectively. There was no correlation among clusters to geographic location in considering PCR data.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ชลิตา เล็กสมบูรณ์ ประธานกรรมการ ดร.ชัยณรงค์ รัตนกรีกาทกุล กรรมการสาขาวิชาเอก ผู้ช่วยศาสตราจารย์เรวัต เลิศฤทัยโยธิน กรรมการสาขาวิชารอง และรองศาสตราจารย์สุรเดช จินตกานนท์ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้สั่งสอนให้ความรู้ ความช่วยเหลือ และคำแนะนำต่าง ๆ ตลอดการตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้ จนเสร็จสมบูรณ์และขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาโรคพืชและอาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนประสิทธิประสาทวิชาความรู้แก่ข้าพเจ้าจนสำเร็จการศึกษา

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้ช่วยเหลือให้ทุนคัณฑ์และวิจัยประเภทวิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาอ้อยและน้ำตาล สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการคัณฑ์วิจัยในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบคุณคุณศิริวรรณ สมितिอาภรณ์ ในความช่วยเหลือและแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาอ้อยและน้ำตาลและเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิจัยสภาวะแวดล้อม ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน พี่น้องพี่และน้องทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ตลอดช่วงระยะเวลาการศึกษา

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่และน้องที่ให้อกำลังใจเสมอมา ประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขอมอบแต่คุณแม่จันทนา อริยสุระ คุณพ่อ ครูอาจารย์ พี่และน้อง

วรัญญา อริยสุระ
ตุลาคม 2549