การศึกษาและแยกเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกุหลาบ จำนวนทั้งสิ้น 93 ไอโซเลท จากสวนกุหลาบ ต.ร้องวัวแดง อ.สันกำแพง จำนวน 38 ไอโซเลท จาก อ.เมือง (สวนสาธารณะบวกหาด) จำนวน 13 ไอโซเลท และจาก ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ จำนวน 42 ไอโซเลท พบเชื้อราสาเหตุคือ *Colletotrichum gloeosporioides* ลักษณะแผลเป็นสีน้ำตาลเข้มจุดค่อนข้างกลมบนใบกุหลาบ พบว่าเชื้อราสร้างสปอร์ เซลล์เดียว สีใส ลักษณะหัวท้ายมน (cylindrical) ขนาดประมาณ 2.71-5.0 x 10.42-14.04 ไมครอน เมื่อตรวจสอบความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึมกลุ่มเบนซิมิดาโซล ได้แก่ สารคาร์เบนดาซิม บีโนมิล และไทโอฟาเนต เมทธิล พบเชื้อราที่ต้านทานต่อสารกลุ่มเบนซิมิดาโซล จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ SC-020, SC-021 และ SC-038 ที่แยกได้จากสวนกุหลาบ อ.สันกำแพง เพราะเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลท ถูกยับยั้งการเจริญได้ 0-2.35% และทำการทดสอบสารป้องกันกำจัดเชื้อรากลุ่มอื่นๆ ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส ได้แก่สารชนิดดูดซึมกลุ่มไตรอะโซล (ไซโปรโคนาโซล และเฮกซะโคนาโซล) กลุ่มอะคริลามายด์ (เบนาแล็กซิล) และสารชนิดสัมผัส ได้แก่ กลุ่มไดไทโอคาร์บาเมต (แมนโคเซ็บ) กลุ่มฟาโลไนไตร์ (คลอโรธาโรนิล) และกลุ่มอินออร์แกนิค (คอปเปอร์ ออกซีคลอไรด์) พบว่าสารเคมี 4 กลุ่มไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ มีเพียงแต่ลดการเจริญของเชื้อราให้ช้าลงเท่านั้น ยกเว้นสารกลุ่มไตรอะโซล (เฮกซะโคนาโซล) ที่สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดีที่สุด เพราะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ทดสอบได้ถึง 100% จากนั้นนำเชื้อราไอโซเลท SC-017, SC-020, SC-021 และ SC-038 มาตรวจหาการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งของ beta-tubulin (TUB2) ยีน ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ specific primers CTBF และCTBR ซึ่ง CTBF จะ prime ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 1,150 ถึง 1,165 และ CTBR prime ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 1,475 ถึง 1,490 จากนั้นนำผลผลิตจาก PCR ที่ได้ซึ่งมีขนาด 341 bp มาวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ พบการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ beta-tubulin (TUB2) ยีน ที่ตำแหน่ง 1,286 เปลี่ยนจาก adenine (A) เป็น cytosine (C) เมื่อเปรียบเทียบกับไอโซเลทที่ไม่ต้านทาน ซึ่งเป็นผลทำให้การกลายพันธุ์ปรากฏที่ตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ codon 198 คือ glutamic acid (GAG) ถูกแทนที่ด้วย alanine (GCG) นอกจากนี้ยังพบว่านิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 1,278 ของไอโซเลท SC-020 และ SC-021 มีการเปลี่ยนจาก cytosine (C) เป็น thymine (T) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งนี้ไม่มีผลต่อการแปลรหัสไปเป็นกรดอะมิโนตัวอื่น จากการทดลองครั้งนี้พบว่าเทคนิค PCR เป็นเทคนิคที่สามารถนำมาใช้ตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนที่เกิดจากการต้านทานสารเคมีได้อย่างมีประสิทธิภาพและแม่นยำทำให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงภายในกลไกของยีนเชื้อราที่เกิดการต้านทานได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น

Ninety three isolates of the causal agent of anthracnose disease of *Rosa* spp. were studied. The fungal isolates were collected from the rose gardens in Tambon Rongwuadang, San Kamphaeng District (38 isolates), Mueang District (Suan Buak Hard park) (13 isolates) and Tambon Pong Yeang, Mae Rim District, Chiang Mai Province (42 isolates). It was found that the pathogen is *Colletotrichum gloeosporioides* and the symptoms showed the oval dark brown spots on rose leaves. Spore of the pathogenic fungi were single cell, transparent, cylindrical and the size was around 2.71-5.0 x 10.42-14.04 microns. The pathogen was evaluated for the systemic fungicide resistance. The group of fungicides is benzimidazole, which are carbendazim, benomyl and thiophanate methyl. The experiment result indicated that 3 isolates SC-020, SC-021 and SC-038 from San Khamphaeng District are highly resistant to benzimidazole because all 3 pathogen isolates could be inhibit 0-2.35%. After that, the pathogen was also tested with several other fungicide groups for controlling anthracnose. The systemic fungicides are triazole group (cyproconazole and hexaconazole) and acrylamide group (benalaxyl) and the contact fungicides are dithiocarbamate group (mancozeb), phthalonitrile group (chlorothalonil) and inorganic group (copper oxychloride). It was found that four chemicals could not inhibit growth but could slow down the growth of fungi excepted triazole group (hexaconazole) showed the best result which the percentage of inhibit was 100. Polymerase chain reaction (PCR) technique was used to amplify the benzimidazole resisted pathogen DNA of isolates SC-017, SC-020, SC-021 and SC-038 for detection of the beta-tubulin (TUB2) gene mutation. With the specific primers CTBF and CTBR which prime the nucleotides 1,150-1,165 and 1,475-1,490 respectively, the partial of beta-tubulin gene band was found 341 bp in length. The PCR product was taken to detect the nucleotide sequence. As the result, the change of the beta-tubulin gene nucleotide at 1,286 was found that adenine (A) was replaced with cytosine (C) when comparing with sensitive isolate. From sequencing results, the point mutation occurred at amino acid codon 198 causing a change from glutamic acid (GAG) to alanine (GCG). Furthermore, the nucleotide 1,278 of the isolate SC-020 and SC-021 DNA was also changed from cytosine (C) to thymine (T). However, the change does not affect the amino acid synthesis. In conclusion, the PCR technique is capable and accurately to detect gene mutation, which caused by the chemical resistance. This method could inform about changes in gene mechanism of fungi more clearly.