ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์ลักษณะและควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่ต้านทานสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมในพริก
ผู้เขียน	นางสาววรรษมน บุญยิ่ง
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	อ. ดร. สรัญยา วัลยะเสวี ประธานกรรมการ รศ. ดร. ชัยวัฒน์ โตอนันต์ กรรมการ ผศ. ดร. อังสนา อัครพิศาล กรรมการ

บทคัดย่อ

จากการศึกษาและแยกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกในเขต อ.สันทราย อ.แม่ริม และจากตลาดในเขต จ.เชียงใหม่ ได้ทั้งหมด 100 ไอโซเลท ได้แก่ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* จำนวน 73 และ 27 ไอโซเลท ตามลำดับ เมื่อทดสอบความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 10, 50, 100, 500 และ 1,000 μg/ml ตามลำดับ พบเชื้อราที่ต้านทานสารกำจัดเชื้อราระดับสูง (HR) ระดับปานกลาง (MR) ระดับเล็กน้อย (WR) และเชื้อราที่อ่อนแอต่อสารกำจัดเชื้อรา (S) จำนวน 43, 5, 3 และ 49 ไอโซเลท ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน beta-tubulin ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. โดยเปรียบเทียบกับยีน beta-tubulin (*TUB2*) ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* (accession no. U14138) พบเชื้อรา HR มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในตำแหน่ง codon 198 จาก glutamic acid (G**A**G) เป็น alanine (G**C**G) ส่วนเชื้อรา MR มีการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง codon 162 โดยเปลี่ยนจาก methionine (GC**A**) เป็น valine (GC**G**) ส่วนกรณีของเชื้อรา WR และ S ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน

สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่กรองเชื้อแอคติโนมัยซีสออก (NF) และอาหารเลี้ยงเชื้อที่กรองเชื้อแอคติโนมัยซีสออก (F) จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ OMA60-1, OMA60-7, SEA60-34, SEA120-4, SEA120-28 และ SEA120-38 โดยทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ Cg24 (S), Cg49 (WR), Cc11 (MR),

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Cc53 (HR) และ Cg60 (HR) พบเชื้อแอคติโนมัยซีสจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ SEA60-34, OMA60-7 และ SEA120-28 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้โดย SEA60-34 (NF) มีเปอร์เซนต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 53.3-75.0% รองลงมาคือ OMA60-7 (NF) และ SEA120-28 (NF) มีเปอร์เซนต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 60.0-66.7% และ 43.3-58.3% ตามลำดับ ส่วนน้ำกรองชนิด F มีเปอร์เซนต์การยับยั้งเชื้อราต่ำกว่าชนิด NF ในทุกไอโซเลท เมื่อจัดจำแนกชนิดของเชื้อแอคติโนมัยซีสด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยาโดยอาศัยยีน 16S rDNA พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสทั้ง 6 ไอโซเลท จัดอยู่ในจีนัส *Streptromyces* sp.

สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีสชนิด NF และ F จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ OMA60-7, SEA60-34 และ SEA120-28 ต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์พริก โดยนำมาทดสอบเปอร์เซนต์การงอกกับเมล็ดพริกหนุ่มพันธุ์การค้า และพันธุ์พื้นเมือง พบว่าเมล็ดพริกทั้ง 2 ชนิดที่ผ่านการแช่อาหารเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีสชนิด NF และ F ทั้ง 3 ไอโซเลท มีเปอร์เซนต์การงอกอยู่ในช่วง 91.0-99.0% จากนั้นนำเมล็ดพริกที่ผ่านการแช่อาหารเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีสชนิด NF และ F มาเพาะกล้า เมื่อเพาะเลี้ยงต้นกล้าเป็นระยะเวลา 45 วัน จึงปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท Cg60 (HR) พบว่าภายหลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุเป็นเวลา 10 วัน เมล็ดพริกพันธุ์การค้าที่แช่ใน NF และ F มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคอยู่ในช่วง 63.9-75.0% และ 82.7-87.5% ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่แช่ด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคเท่ากับ 86.1% ส่วนเมล็ดพริกพันธุ์พื้นเมืองที่แช่ใน NF และ F มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคสูงกว่าเมล็ดพริกพันธุ์การค้า ซึ่งอยู่ในช่วง 76.7-83.6% และ 86.9-88.1% ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่แช่ด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคเท่ากับ 90.6%

การทดสอบการฉีดพ่นอาหารเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีสกับต้นกล้าพริกหนุ่มพันธุ์การค้าด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีสชนิด NF และ F จำนวน 3 ไอโซเลท โดยฉีดพ่น 2 วิธีได้แก่ ฉีดพ่นก่อน และหลังการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท Cg60 (HR) พบว่าการฉีดพ่นด้วย NF และ F ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคอยู่ในช่วง 38.3-46.7% และ 55.0-58.3% ตามลำดับ สำหรับการฉีดพ่นด้วย NF และ F หลังการปลูกเชื้อราสาเหตุมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคอยู่ในช่วง 41.0-46.0% และ 58.3-61.3% ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่ฉีดพ่นด้วยอาหาร EPM ก่อน และหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุ มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคเท่ากับ 91.0 และ 89.7% ตามลำดับ และเมื่อทดสอบความสามารถในการเกิดโรคบนต้นกล้าพริก โดยฉีดพ่นด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีสชนิด NF และ F จำนวน 3 ไอโซเลท พบว่าต้นกล้าพริกไม่ปรากฏอาการผิดปกติใดๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Characterization and Control of Carbendazim-resistant *Colletotrichum* spp. in Chili	
Author	Miss Wassamon Boonying	
Degree	Master of Science (Plant Pathology)	
Thesis Advisory Committee	Lect. Dr. Sarunya Valyasevi	Chairperson
	Assoc. Prof. Chaiwat Toanun	Member
	Asst. Prof. Dr. Angsana Akarapisan	Member

Abstract

One hundred isolates of *Colletotrichum* spp. causing anthracnose on chili were collected from Sansai and Mae Rim district and from markets in Chiag Mai. The isolates consisted of 73 isolates of *C. gloeosporioides* and 27 isolates of *C. capsici,* respectively. The preliminary test on the potato dextrose agar (PDA) medium amended with carbendazim at 0.1, 10, 50, 100, 500 and 1,000 µg/ml concentrations showed highly resistant (HR), moderately resistant (MR), weakly resistant (WR) and sensitive (S) of 43, 5, 3 and 49 isolates respectively. Nucleotide sequence analysis of beta-tubulin gene of HR, MR, WR and S compared with partial *TUB2* gene from *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* (accession no. U14138). All HR phenotype showed a mutation point with substitution of glutamic acid (G**A**G) to alanine (G**C**G) at codon 198, MR phenotype showed a mutation point with substitution of methionine (GC**A**) to valine (GC**G**) at codon 162 but no mutation point of amino acid was found in the WR and S phenotype.

The efficiency of culture medium (NF) and culture filtrate medium (F) of actinomyces from 6 isolates such as OMA60-1, OMA60-7, SEA60-34, SEA120-4, SEA120-28 and SEA120-38, were tested for inhibitory growth of *Colletotrichum* spp. causing anthracnose on chili strains Cg24 (S), Cg49 (WR), Cc11 (MR), Cc53 (HR) and Cg60 (HS). Results showed three isolates of actinomyces including SEA60-34, OMA60-7 and SEA120-28 respectively inhibited of *Colletotrichum* spp.. The SEA60-34 (NF) showed the percentages of growth inhibition of the pathogen range 53.3-75.0%, OMA60-7 (NF) and SEA120-28 (NF) showed the percentages of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

growth inhibition of the pathogen range 60.0-66.7% and 43.3-58.3% respectively. While, the culture filtrate medium of actinomyces resulted to be lower officiate in inhibit of pathogen compared with culture medium of actinomyces all isolates. The actinomyces isolates OMA60-1, OMA60-7, SEA60-34, SEA120-4, SEA120-28 and SEA120-38 were identified by 16S rDNA. The results revealed that all actinomyces were *Streptomyces* sp.

The culture medium of actinomyces type NF and F from 3 isolates of actinomyces including OMA60-7, SEA60-34 and SEA120-28 were tested for seed germination. The green chili including native seed and commercial seed were treated by NF and F. The resulted showed seed both were treated with NF and F had percentage of germination rang 91-99%. Then, the seed both were cultivated. When, forty-five day-old of seedling were inoculation with sporsuspension of *Colletotrichum* sp. Cg60 (HR). The resulted showed commercial seedling treated with NF and F had disease of rang 63.9-75.0% and 82.7-87.5% respectively, whereas commercial seedling treated with distill water had disease range 86.1%. While, native seed treated with NF and F had disease range 76.7-83.6% and 86.9-88.1% respectively, whereas native seedling treated with distill water had disease range 90.6%, were high disease than commercial seed treated with NF and F.

When sprayed with NF and F from three isolates of actinomyces on chili seedling of commercial green chili before and after inoculated with spore suspension of Cg60 (HR). It was found that the seedling were sprayed with NF and F before inoculated with Cg60 (HR) showed disease of range 38.64-46.00% and 55-61.33% respectively. Chili seedling were inoculated with spore suspension of Cg60 (HR) before sprayed with NF and F showed disease of range 41.0-46.0% and 58.3-61.3% respectively. While, the control were sprayed with EPM before inoculated with spore suspension of Cg60 (HR) showed disease of range 91.0 and 89.7% respectively. Three actinomyces isolates with high efficiency, NF and F were treated on seedling. The result showed actinomyces non-pathogenicity in chili.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved