

มธุกร สมพงษ์ : ความแตกต่างระหว่างเชื้อ *Sphaceloma* spp. สาเหตุโรคสแคบขององุ่น  
กับพืชชนิดอื่น (DIFFERENCES AMONG *Sphaceloma* spp. CAUSING SCAB  
DISEASE IN GRAPES AND OTHER PLANTS) อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร.โสภณ  
วงศ์แก้ว, 71 หน้า.

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างเชื้อ *Sphaceloma* spp. สาเหตุโรคสแคบขององุ่นกับพืชชนิดอื่น ทำการศึกษาเชื้อทั้งหมด จำนวน 52 ไอโซเลต คือ จากองุ่น 24 ไอโซเลต หนุ่ยยาง (*Euphorbia heterophylla* L.) 3 ไอโซเลต ชงโค (*Bauhinia purpurea* Linn.) 3 ไอโซเลต ข่อย (*Streblus asper* Lour.) 2 ไอโซเลต ส้มโอ (*Citrus maxima* Merr.) 2 ไอโซเลต และฝรั่ง (*Psidium guajava* L.) 1 ไอโซเลต พบว่า ลักษณะโคโลนีของไอโซเลตที่แยกได้จากองุ่นที่เลี้ยงบนอาหาร PDA มีความแตกต่างกัน และแตกต่างจากไอโซเลตที่แยกได้จากพืชชนิดอื่น ลักษณะโคโลนีที่ต่างกัน ได้แก่ ลักษณะของผิว ความหนา การสร้าง arial mycelium ขนาดและสี ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มตามลักษณะสีได้ 12 กลุ่ม คือ สีเหลือง เหลือง – ส้ม เหลือง – น้ำตาล น้ำตาล น้ำตาลเข้ม ขาว แดง น้ำตาลเข้ม – เขียว ดำ น้ำตาล – เหลือง เหลืองขาว และ น้ำตาล – ขาว สำหรับขนาดของโคโลนีบนอาหาร PDA วัดที่อายุ 35 วัน พบว่าไอโซเลตที่แยกได้จากองุ่นมีขนาดเฉลี่ยใหญ่ที่สุด คือ  $3.70 \pm 0.10 \times 3.82 \pm 0.08$  เซนติเมตร ขณะที่เชื้อที่แยกได้จาก ข่อย ชงโค หนุ่ยยาง และส้มโอ มีขนาดโคโลนีใกล้เคียงกัน คือ  $3.04 \pm 0.48 \times 3.22 \pm 0.50$   $2.48 \pm 0.39 \times 2.86 \pm 0.02$   $2.22 \pm 0.40 \times 2.41 \pm 0.39$  และ  $2.04 \pm 0.36 \times 2.16 \pm 0.42$  เซนติเมตร ตามลำดับ โดยส่วนเชื้อที่แยกได้จากฝรั่งมีขนาดเล็กที่สุด คือ  $1.60 \pm 0.10 \times 1.74 \pm 0.11$  เซนติเมตร สำหรับลักษณะของโคโลนีเดียวพบว่าแต่ละไอโซเลต มีลักษณะของโคโลนีเดียวคล้ายกันคือ เป็นเซลล์เดี่ยว สี รูปทรงกระบอก มีขนาดเล็ก หัวท้ายมน และมีวงกลมใส (guttie) อยู่ภายในเซลล์ และพบว่าขนาดของโคโลนีเดียวของเชื้อที่แยกได้จากองุ่น และส้มโอมีขนาดใกล้เคียงกัน คือ  $2.1 - 3.6 \times 3.4 - 6.7 \mu\text{m}$  ขณะที่เชื้อจากหนุ่ยยางมีขนาดใหญ่ที่สุด คือ  $3.6 - 4.2 \times 6.6 - 7.2 \mu\text{m}$  และเชื้อจากชงโคมีขนาดเล็กที่สุด คือ  $1.7 - 2.9 \times 2.8 - 5.3 \mu\text{m}$  อย่างไรก็ตามขนาดโคโลนีเดียวของเชื้อที่แยกได้จากองุ่น มีความแตกต่างกันค่อนข้างมากในแต่ละไอโซเลต การศึกษาขนาดของดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์เพิ่มปริมาณ DNA ในส่วนของ ITS1-5.8S-ITS2 rDNA ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ primer ITS4 และITS5 สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อที่แยกได้จากองุ่นและพืชอื่นได้เป็น 6 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีขนาดดีเอ็นเอเท่ากับ 648 bp ได้แก่ ไอโซเลต GMei1 Nk 4-1 GSH และ BR8851 กลุ่มที่ 2 ไอโซเลตที่มีจำนวนดีเอ็นเอ 2 แถบ ขนาด 608 และ 648 bp ได้แก่ Cb 1 - 1 และ GPTY\_F\_R4 ซึ่งเหมือนกับหนุ่ยยาง ไอโซเลต ESS\_PPR\_S และ ชงโค ไอโซเลต CCS\_SW2 กลุ่มที่ 3 แถบดีเอ็นเอมีขนาดเท่ากับ 1,374 bp ได้แก่ ไอโซเลต Pr 4-1 และชงโค ไอโซเลต CCS\_SW กลุ่มที่ 4 คือ ไอโซเลต Rc 5 - 1 ไม่พบ แถบดีเอ็นเอ ซึ่งเหมือนกับ

ไอโซเลตของส้มโอ และฝรั่ง กลุ่มที่ 5 มีแถบดีเอ็นเอขนาดเท่ากับ 608 คือไอโซเลตจากหนุ่ยยาง ESS\_PPR\_S ซึ่งเหมือนไอโซเลตจากข่อย และกลุ่มสุดท้ายมีแถบดีเอ็นเอ 2 ขนาดเท่ากับ 608 และ 1,374 bp คือไอโซเลตจากชงโค และเมื่อนำจีนดีเอ็นเอซึ่งได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด คือ *MspI* และ *HhaI* พบว่า ให้ผลแตกต่างกับการใช้เทคนิค PCR ในการจัดกลุ่ม โดยเชื้อไอโซเลต GSH ที่เคยจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *GMei1 Nk 4-1* และ BR8851 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอแตกต่างออกไป แต่กลับไปเหมือนกับบองุ่นไอโซเลต Cb 1 – 1 และ ไอโซเลตจากข่อย สำหรับไอโซเลต ESS และ ESS\_PPR\_S ที่ได้จากหนุ่ยยางไม่พบแถบดีเอ็นเอ แต่ ไอโซเลต CCS\_SW CCS และ CCS204 จากชงโค ให้แถบแตกต่างจากบองุ่นและพืชชนิดอื่นอย่าง ชัดเจน ส่วนบองุ่นไอโซเลต *GMei1* และ *Nk 4-1* จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับบองุ่นไอโซเลต GPTY\_F\_R4 และไอโซเลตจากส้มโอ จึงเป็นไปได้ว่า *Sphaceloma* บางไอโซเลตที่เข้าทำลายบองุ่นเป็นชนิดเดียวกับที่เข้าทำลายส้มโอ เช่นเดียวกับไอโซเลตที่ Sfb จาก ข่อย มีดีเอ็นเอจำนวน 4 แถบเหมือนกับบองุ่น ไอโซเลต GSH และ Cb 1 – 1 การคัดเลือกตัวแทนของเชื้อจากความแตกต่างทาง ฐานานวิทยา จำนวน 22 ไอโซเลต มาศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนพืชทดสอบ พบว่าเชื้อจากบองุ่น บางไอโซเลตสามารถก่อให้เกิดโรครกับ ส้มโอ ข่อย หนุ่ยยาง ชงโค และฝรั่ง ขณะที่เชื้อที่แยกได้จาก พืชทดสอบบาง ไอโซเลต สามารถเข้าทำลายบองุ่นได้ ยกเว้นไอโซเลตที่แยกได้จากฝรั่ง ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า เชื้อ *Sphaceloma* ที่พบในบองุ่น อาจไม่ใช่เชื้อ *Sphaceloma ampelinum* ทั้งหมด และเชื้อที่ ทำให้เกิดโรคสแคบในบองุ่นสามารถก่อโรคในพืชอื่นได้เช่นกัน

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

ปีการศึกษา 2553

ลายมือชื่อนักศึกษา \_\_\_\_\_

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา \_\_\_\_\_

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม \_\_\_\_\_

MATHUKORN SOMPONG : DIFFERENCES AMONG *Sphaceloma* spp.

CAUSING SCAB DISEASE IN GRAPES AND OTHER PLANTS. THESIS

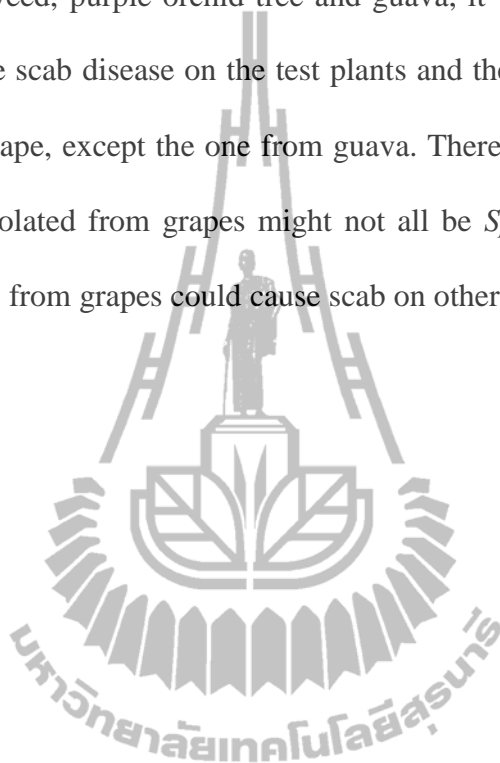
ADVISOR : SOPONE WONGKAEW, Ph.D., 71 PP.

*Sphaceloma* spp./SCAB/GRAPES

The objective of this research is to compare the differences among *Sphaceloma* spp. causing scab disease in grapes with that of other plant species. Fifty two *Sphaceloma* isolates were studied. Twenty four isolates were from grapes, 3 from milk weed (*Euphorbia heterophylla* L.), 3 from purple orchid tree (*Bauhinia purpurea* Linn.), 3 from Siamese rough bush (*Streblus asper* Lour.), 2 from pomelo (*Citrus maxima* Merr.) and 1 from guava (*Psidium guajava* L.) It was found that the colony morphology of the cultures on PDA were different among the grape isolates and those isolated from other plant species. The colony characteristics under the study were surface texture, elevation arial mycelium production, size and coloration which could be divided into 12 groups as yellow, yellow – orange, yellow – brown, brown, dark – brown, white, red, darkbrown – green, black, brown – yellow, yellow – white and brown – white. The averaged colony size measured at 35 days of grape isolates was the largest having the size of  $3.70 \pm 0.10 \times 3.82 \pm 0.08$  cm while those of purple orchid tree, Siamese rough bush, milk weed and pomelo had a medium size of  $3.04 \pm 0.48 \times 3.22 \pm 0.50$   $2.48 \pm 0.39 \times 2.86 \pm 0.02$   $2.22 \pm 0.40 \times 2.41 \pm 0.39$  and  $2.04 \pm 0.36 \times 2.16 \pm 0.42$  cm respectively. The isolate from guava had the smallest colony size of  $1.60 \pm 0.10 \times 1.74 \pm 0.11$  cm. The study of conidium characteristics found that most isolates had similar conidium morphology which were single – celled, hyaline, cylindrical shaped with rounded ends and contained cellular guttule. Conidial size of

isolates from grapes were about the same size of those from pomelo which were  $2.1 - 3.6 \times 3.4 - 6.7 \mu\text{m}$  while those from milk weed were the biggest of  $3.6 - 4.2 \times 6.6 - 7.2 \mu\text{m}$ . Isolates from purple orchid tree appeared to have the smallest conidial size of  $1.7 - 2.9 \times 2.8 - 5.3 \mu\text{m}$ . Great differences in terms of conidial size were observed among the isolates from grapes. PCR amplification of the ITS1-5.8S-ITS2 rDNA of representative isolates from grapes and other plant species using the ITS4 and ITS5 primers yielded DNA of different sizes which could be divided into 6 groups. First group the grape isolates, Gmei1, Nk 4 – 1, GSH and BR8851 yielded 1 DNA band of 648 bp. Second group, the grape isolates Cb 1 – 1 and GPTY\_F\_R4, the milk weed isolate ESS\_PPR\_S and the purple orchid tree isolate CCS\_SW2 yielded 2 DNA bands of 608 and 648 bp. Third group, the grape isolate Pr 4 – 1 and the purple orchid tree CCS\_SW isolate yielded 1 DNA band of 1,374 bp. Fourth group, the grape isolate Rc 5 – 1 and the guava isolate did not yield any DNA band. Fifth group, the milk weed ESS\_PPR\_S and the Siamese rough bush isolates yield 1 DNA band of 608 bp. And the last group, were those from purple orchid tree isolate CCS204 and some grape isolates yielded 3 DNA bands of 608, 648 and 1,374 bp. After being digested with the restriction enzymes *MspI* and *HhaI*, the PCR products from each isolates gave different results from that of the PCR grouping. Most of the grape isolates still remained in the same group except GSH. For isolates ESS and ESS\_PPR\_S from milk weed, there were no bands observed. But the digested PCR product of this isolate became similar to those of Cb 1 – 1 grape isolate and the Siamese rough bush isolate. Those from purple orchid tree CCS\_SW, CCS and CCS204 gave DNA band distinctive from those of the grape and other plant isolates while OLSY, the pomelo isolate gave 3 DNA bands similar to those from Gmei1 and

Nk 4 – 1, the grape isolates indicating that some of the *Sphaceloma* isolates from grape could infect pomelo. By selecting 22 isolates representing those that showed similar morphological characters for pathogenicity test on grapes, pomelo, Siamese rough bush, milk weed, purple orchid tree and guava, it was found that some grape isolates could cause scab disease on the test plants and the isolates from other plants could also infect grape, except the one from guava. Therefore, it could be concluded that *Sphaceloma* isolated from grapes might not all be *Sphaceloma ampelinum* and some of the isolates from grapes could cause scab on other plants as well.



School of Crop Production Technology

Academic Year 2010

Student's Signature\_\_\_\_\_

Advisor's Signature\_\_\_\_\_

Co advisor's Signature\_\_\_\_\_