ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* บางชนิด

ชื่อผู้เขียน นางสาว จีรนันท์ ชัยวาฤทธิ์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืช

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

อ. ดร. ชัยวัฒน์ โตอนันต์	ประธานกรรมการ
อ. พิภพ ลำยอง	กรรมการ
รศ. ดร. สมบัติ ศรีชูวงศ์	กรรมการ
รศ. ดร. สายสมร ลำยอง	กรรมการ

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* จำนวน 15 formae speciales ได้แก่ *adzukicola*, *apii*, *asparagi*, *cepae*, *conglutinans*, *cucumerinum*, *fragariae*, *lagenariae*, *lini*, *luffae*, *melonis*, *narcissi*, *pini*, *phaseoli*, และ *vasinfectum* ด้วยเทคนิค AFLP (amplified fragment length polymorphism) โดยใช้ *F. moniliforme* และ *F. solani* เป็น outer group ในการเปรียบเทียบ เมื่อทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบบนอาหาร PDA พบว่า เชื้อราดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกัน ทั้งในด้านสีของโคโลนีและการสร้างรงควัตถุในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพบค่าเฉลี่ยของการเจริญเติบโตของแต่ละเชื้ออยู่ในช่วง 2.93 เซนติเมตร/วัน หรือใช้เวลา 8-10 วัน จึงจะเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าเชื้อราแต่ละชนิดจะผลิต macroconidia (รูปร่างแบบเรือ canoe มี 2-4 เซลล์ และมีความยาว 22.18-33.15 ไมครอน) และ microconidia (รูปไข่ถึงทรงกระบอก มี 1-2 เซลล์ และมีความยาว 5.91-10.05 ไมครอน) พบอยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อราใน *F. oxysporum* ที่นำมาศึกษานี้ไม่สามารถจัดจำแนกออกจากกันได้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา สำหรับการวิเคราะห์พันธุกรรมของเชื้อราที่นำมาทดสอบ โดยการสกัด DNA จากเชื้อราแต่ละชนิด จากนั้นจึงวิเคราะห์ด้วยเทคนิค

AFLP โดยใช้ *Eco*RI / *Mse*I เป็น adapter และใช้ *Eco*RI-A / *Mse*I-C เป็น primer ในการทำ PCR ครั้งที่ 1 และใช้ *Eco*RI-A / *Mse*I CAG; *Eco*RI-A / *Mse*I-CAC; *Eco*RI-A / *Mse*I-CAT และ *Eco* RI-AC / *Mse*I-C ในการทำ PCR ครั้งที่ 2 ภายหลังนำผลผลิตของ PCR มาตรวจสอบด้วย PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis) พบว่าจะได้จำนวนแถบ DNA ที่แตกต่างกันจำนวน 155 แถบ ซึ่งเมื่อนำแถบ DNA เหล่านี้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม UPGMA (unweighed paired group using averages) และ parsimony จะสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อราที่นำมาศึกษาออกได้เป็นกลุ่มๆ ที่ค่า similarity 0.70 ดังนี้คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ *F. oxysporum* f.sp. *conglutinans*, กลุ่มที่ 2 ได้แก่ *F. o.* f.sp. *phaseoli*, *F. o.* f.sp.*adzukicola*, *F. o.* f.sp. *cucumerinum*, *F. o.* f.sp. *melonis*, *F. o.* f.sp. *luffae* และ *F. o.* f.sp. *lagenaria*, กลุ่มที่ 3 ได้แก่ *F. o.* f.sp. *narscissi*, *F. o.* f.sp. *cepae*, และ *F. o.* f.sp. *asparagi*, กลุ่มที่ 4 ได้แก่ *F. o.* f.sp. *lini*, กลุ่มที่ 5 ได้แก่ *F. o.* f.sp. *fragariae*, กลุ่มที่ 6 ได้แก่ *F. o.* f.sp. *vasinfectum*, กลุ่มที่ 7 ได้แก่ *F. o.* f.sp. *apii*, กลุ่มที่ 8 ได้แก่ *F. o.* f.sp. *pini*, และกลุ่มที่ 9 ได้แก่ *F. moniloforme* และ *F. solani* โดยพบว่าภายในกลุ่มจะมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด เช่น เข้าทำลายพืชอาศัยที่อยู่ในตระกูลเดียวกัน เป็นต้น ดังนั้นเทคนิค AFLP จึงมีประโยชน์ในการจำแนกชนิดของเชื้อรา *Fusarium oxysporum*.

Thesis Title	Phylogenetic Relationship of Some Formae Speciales of *Fusarium oxysporum*
Author	Miss Jeeranan Chaiwarith
M.S.	Plant Pathology

Examining Committee

Lecturer Dr. Chaiwat To-anan	Chairman
Lecturer Pipob Lamyong	Member
Associate Professor Dr. Sombat Srichuwong	Member
Associate Prefessor Dr. Saisamorn Lamyong	Member

Abstract

Phylogenetic analysis of fifteen formae speciales of *Fusarium oxysporum* ; *adzukicola*, *apii*, *asparagi*, *cepae*, *conglutinans*, *cucumerinum*, *fragariae*, *lagenariae*, *lini*, *luffae*, *melonis*, *narcissi*, *pini*, *phaseoli*, and *vasinfectum* were examined by using AFLP technique. For comparison, *F. moniliforme* and *F. solani* were used as outer group. The morphological characteristic of the tested fungi on PDA medium showed no significantly difference in color of colony or pigment production on the medium. Average of the growth rate of each fungus was about 2.93 centimeters/day or 8 - 10 days to cover the petri dish. Microscopic studies showed that the tested fungi produced a lot of macroconidia (canoe shape; 2 - 4 cells and 22.18 - 33.15 micrometers, long) and microconidia (oval to cylindrical ; 1 - 2 cells and 5.91 - 10.05 micrometers, long). Indicated that all of the tested fungi (*F. oxysporum*) cannot be classified by using morphological characteristics. For genetic analysis of the tested fungi, DNA of each fungal isolate was extracted and analyzed by AFLP technique using *Eco*RI / *Mse*I as adapter, *Eco*RI-A / *Mse*I-C as the primers for the 1st PCR and *Eco*RI-A / *Mse*I CAG; *Eco*

RI-A / *Mse*I-CAC; *Eco*RI-A / *Mse*I-CAT and *Eco* RI-AC / *Mse*I-C as the primer for the 2nd PCR. After analysis of the PCR products by PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis) a total of 155 polymorphic bands were obtained and analyzed by UPGMA (unweighted paired group using averages) and parsimony. The result showed that all of tested fungi can be divided into 9 distinct groups at a similarity of 0.70 as follows; the first group consisted of formae speciales *conglutinans*., the second group was *phaseoli*, *adzukicola*, *cucumerinum*, *melonis*, *luffae* and *lagenariae*., the third group was *narcissi*, *cepae* and *asparagi*., the forth group was *lini*., the fifth group was *fragariae*., the sixth group was *vasinfectum*., the seventh was *apii*., the eighth group was *pini*., And the ninth group was *F. moniliforme* and *F. solani*. These result also showed that the fungi in the same group were close related since they were able to infected host of the same family. Therefore, the AFLP technique was useful for taxonomic of the *Fusarium oxysporum*.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University