

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชื้อราแป้งในสกุลอออยเดียม

สกุลย่อยชูโคอออยเดียม ที่พบในจังหวัดเชียงใหม่

ผู้เขียน

นางสาวอำไพวรรณ สุनावิน

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชัยวัฒน์ โตอนันต์ ประธานกรรมการ

อาจารย์ ดร. ชวนพิศ บุญชิตศิริกุล กรรมการ

อาจารย์ ดร. สรัญญา ณ ลำปาง กรรมการ

บทคัดย่อ

จากการสำรวจเชื้อราแป้งในระหว่างปี พ.ศ. 2546 ถึง พ.ศ. 2547 ในจังหวัดเชียงใหม่ โดยมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาถึงการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราแป้งภายใน genus *Oidium* ที่อยู่ใน subgenus *Pseudoidium* ซึ่งเชื้อราใน subgenus นี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญคือ สร้าง conidia เกิดเดี่ยวๆ, ไม่ต่อกันเป็นสายโซ่ โดยสร้างได้วันละ 1 conidium ภายใน conidia ไม่มี fibrosin body เมื่อ conidia งอกจะให้กำเนิด germ tube มีลักษณะเป็นแบบ polygoni type เชื้อราในกลุ่มนี้หากพบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะจัดไว้ใน genus *Erysiphe* ซึ่งจากการศึกษาพบว่าสามารถเก็บรวบรวมเชื้อราได้จากตัวอย่างพืชทั้งสิ้น 152 ตัวอย่าง รวม 40 ชนิดพืชอาศัย ใน 30 ตระกูล เมื่อนำตัวอย่างดังกล่าวมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่ามีเพียงเชื้อราตัวอย่างเดียวที่พบบนพืช *Rhododendron* sp. ที่พบว่ามี การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ อย่างไรก็ตามจำนวนของ ascomata ที่พบมีเพียงเล็กน้อยจึงไม่เพียงพอที่จะศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศได้ และถึงแม้ว่าเชื้อราที่ทำการศึกษาในครั้งนี้จะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกัน แต่พบว่ามีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันไปในแต่ละชนิดพืชอาศัย ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้อธิบายถึงลักษณะ ตลอดจนได้วาดภาพและถ่ายภาพลักษณะต่างๆ ของเชื้อราในแต่ละพืชอาศัยอย่างละเอียด โดยพบว่าจากตัวอย่างพืชทั้ง 40 ตัวอย่างนี้มี 31 ตัวอย่างที่เป็นการรายงานพบ

ในประเทศไทยเป็นครั้งแรก อย่างไรก็ตามเนื่องจากเชื้อราดังกล่าวมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใกล้เคียงกันจึงเป็นการยากที่จะจำแนกชนิดในระดับ species ได้

ในการศึกษาถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราในกลุ่มนี้ ได้มีการศึกษาลำดับเบส ตรงตำแหน่ง rDNA จากตัวอย่างรวม 24 ชนิดพืช แล้วจึงนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลของเชื้อราแบ่งใน genus *Erysiphe* รวม 13 ตัวอย่าง ที่มีรายงานไว้ในธนาคาร DNA ของประเทศญี่ปุ่น (DDBJ) จากลำดับเบสดังกล่าวสามารถนำมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Clustal V จากนั้นคำนวณหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและสร้าง Phylogenetic tree ได้ด้วยวิธี maximum-likelihood (ML), distance และ parsimony ซึ่งจากผลการทดลองสรุปได้ว่าเชื้อราทั้ง 24 ตัวอย่างนั้นสามารถ ยืนยันได้ว่าควรจัดจำแนกอยู่ใน genus *Oidium* subgenus *Pseudoidium* และเชื้อราดังกล่าวสามารถคาดคะเนได้ว่าหากพบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะสร้าง ascomata ที่จัดอยู่ใน genus *Erysiphe* และในการทดลองนี้ยังได้ทดสอบการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราทั้ง 24 ชนิดโดยสามารถจำแนกออกได้เป็น 9 กลุ่มดังนี้คือ กลุ่มที่หนึ่ง ได้แก่เชื้อราที่พบบนพืชอาศัยรวม 6 ชนิด คือ *Zizyphus nummularia*, *Colubrina longipes*, *Aristolochia indica*, *Hydrangea hortensis*, *Carica papaya* และ *Nelumbo nucifera* ซึ่งเชื้อราในกลุ่มนี้มีความใกล้ชิดกับเชื้อรา *Erysiphe aquilegia*, กลุ่มที่สอง ได้แก่เชื้อราที่พบบน *Mucuna bractecta* และ *Bauhinia purpurea* โดยมีความใกล้ชิดกับเชื้อรา *Erysiphe glycines*, กลุ่มที่สาม ได้แก่เชื้อราที่พบบน *Sesbania grandiflora*, *Mirabilis jalapa* และ *Tamarindus indica* ซึ่งเชื้อราในกลุ่มนี้มีความใกล้ชิดกับเชื้อรา *Erysiphe (Microsphaera) trifolii*, กลุ่มที่สี่ ได้แก่เชื้อราที่พบบน *Desmodium triflorum* และ *Mohamla siamosis*, กลุ่มที่ห้า ได้แก่เชื้อราที่พบบน *Brassica parachinensis* ซึ่งมีความใกล้ชิดกับเชื้อรา *Erysiphe betae*, กลุ่มที่หก ได้แก่เชื้อราที่พบบน *Hydrocotyle javanica*, *Antigonon leptopus*, *Muehlenbeckia platyclada* และ *Polygonum odoratum* ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อรา *Erysiphe heraclei* และ *Erysiphe polygoni*, กลุ่มที่เจ็ด ได้แก่เชื้อราที่พบบน *Cyclea barbata*, *Ipomoea obscura*, *Stephania venosa* และ *Bixa orellana* ที่มีความใกล้ชิดกับเชื้อรา *Erysiphe (Microsphaera) pseudolonicerae*, กลุ่มที่แปด ได้แก่เชื้อราที่พบบน *Viburnum inopinatum* และกลุ่มที่เก้า ได้แก่เชื้อราที่พบบน *Tectona grandis* ซึ่งการศึกษาเชื้อราแบ่งในครั้งนี้ นับเป็นครั้งแรกในประเทศไทย ที่นำเอาลักษณะทางสัณฐานวิทยามาเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากการศึกษาลำดับเบสตรงตำแหน่ง ITS เพื่อใช้ในการศึกษาถึงวิวัฒนาการ และใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อราในกลุ่มนี้

Thesis Title Phylogenetic Relationship of Powdery Mildew in Genus
Oidium Subgenus *Pseudoidium* Found in Chiang Mai Province

Author Miss Aumpaiwan Sunawan

Degree Master of Science (Plant Pathology)

Thesis Advisory Committee

Asst. Prof. Dr. Chaiwat To-anun Chairperson

Lect. Dr. Chuanpit Boonchitsirikol Member

Lect. Dr. Saranya Nalumpang Member

Abstract

During 2003-2004, a survey of powdery mildew fungi was conducted in Chiang Mai Province of Thailand. The main objective of this study was to describe and identify powdery mildews in the genus *Oidium*, subgenus *Pseudoidium*. This subgenus is characterized by conidia produced singly (solitary) one at a time per day without fibrosin body and polygoni type germ tubes. The teleomorphic state, if found, belonged to the genus *Erysiphe*. In this study, 152 specimens were collected covering 40 host plant species, 30 host families that are infected by this subgenus. On these 40 plant species, under the microscopic observation, only one specie of powdery mildew, *Rhododendron* sp., producing both anamorphic and teleomorphic states but a few of its ascoma was found. This study provides descriptions of powdery mildews on each host plant species, their anamorphic and teleomorphic (if found) characteristics, specimens examined, taxonomic notes, photographs and drawings. Within 40 host plant species, 31 species are first records in Thailand. Although, morphology of the conidia and conidiophores are similar in most of the fungal samples but they are different in size and shape which make it difficult or impossible to classify the fungal species.

To study the phylogenetic relationship of this fungal group, 24 specimens were used for sequencing of rDNA region and compare with 13 specimens of the genus *Erysiphe* from the DNA Databank of Japan (DDBJ). The sequences were initially aligned using the Clustal V package (Higgins *et al.*, 1992). Phylogenetic trees were obtained from the data using maximum-likelihood (ML), distance, and parsimony methods. The results confirmed that all of the 24 specimens can be identified as a genus *Oidium* subgenus *Pseudoidium*. These specimens should belong to the genus *Erysiphe* if their teleomorphic state are found. In addition, the molecular tool was conducted to aid the identification of anamorphic materials by assessing the rDNA sequence in which these 24 specimens can be grouped into 9 difference groups as follows; the first group including the fungi from 6 specimens, *Zizyphus nummularia*, *Colubrina longipes*, *Aristolochia indica*, *Hydrangea hortensis*, *Carica papaya* and *Nelumbo nucifera*, which are closely related to *Erysiphe aquilegia*. The second group are the fungi from *Mucuna bractecta* and *Bauhinia purpurea* which are closely related to *Erysiphe glycines*. The third group are from *Sesbania grandiflora*, *Mirabilis jalapa* and *Tamarindus indica* and they are closely related to *Erysiphe (Microsphaera) trifolii*. The fourth group are consist of the fungi from *Desmodium triflorum* and *Mohamla siamosis*. The fifth is the fungus from *Brassica parachinensis* and it was closely related to *E. betae*, the sixth are from *Hydrocotyle javanica*, *Antigonon leptopus*, *Muehlenbeckia platyclada* and *Polygonum odoratum* which are closely related to *E. heraclei* and *E. polygoni*. The seventh are from *Cyclea barbata*, *Ipomoea obscura*, *Stephania venosa* and *Bixa orellana* which closed to *Erysiphe (Microsphaera) pseudonicerae*. The eighth is the fungus from *Viburnum inopinatum* and the ninth is the fungus from *Tectona grandis*. This is the first comprehensive study of powdery mildews in Thailand which compares morphological characteristics with phylogenetic analyses of the ITS nucleotide sequence.