

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> จากการวิเคราะห์ลำดับเบสในตำแหน่งอินเทอร์นัลทรานสคริปต์สเฟเซอร์	
ชื่อผู้เขียน	นางสาว อูไรลักษณ์ ภาคศิริ	
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	อ. ดร. ชัยวัฒน์ โตอนันต์	ประธานกรรมการ
	รศ. ดร. ประสาทพร สมิตะมาน	กรรมการ
	อ. ดร. อังสนา อัครพิศาล	กรรมการ

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ลำดับเบสในตำแหน่ง rDNA ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* จำนวน 11 formae speciales ได้แก่ *adzukicola*, *asparagi*, *cucumerinum*, *cyclaminis*, *gladioli*, *lycopersici* race 1, *lycopersici* race 2, *radicis-lycopersici*, *nicotianae*, *phaseoli* และ *raphani* เพื่อหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมภายในกลุ่ม โดยใช้เชื้อ *Fusarium solani* เป็นตัวเปรียบเทียบนอกกลุ่ม (outer group) เพื่อทำการสกัด DNA จากเส้นใยของเชื้อที่ใช้ทดสอบ จากนั้นนำมาเพิ่มปริมาณตรงตำแหน่งยีน ITS1, ITS2 และ 5.8S rDNA ด้วยเทคนิค PCR แล้วนำผลของ PCR ที่ได้มาหาลำดับเบสโดยใช้ PRISM Dye Terminator Cycle Sequencing Kit แล้วเปรียบเทียบลำดับเบสตามวิธีของ Lipman และ Person (1985) ด้วยโดยใช้โปรแกรม GENTYX-MAC จากผลการทดลองพบว่า เชื้อรา *F. oxysporum* ทั้ง 11 formae speciales มีลำดับเบสที่เหมือนกันมากกว่า 99 % แต่เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อรา *F. solani* แล้วพบว่าจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (มีความเหมือนกันเพียงประมาณ 95%) ซึ่งชี้ให้เห็นว่า เชื้อรา *F. oxysporum* ทั้ง 11 formae speciales นี้เป็น monophyletic อย่างไรก็ตาม จากการวิเคราะห์โดยวิธี bootstrap ด้วยการสุ่มนำลำดับเบสมาเปรียบเทียบกันจำนวน 1,000 ครั้ง พบว่า ภายในกลุ่มของเชื้อรา *F. oxysporum* นี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มด้วยกันคือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยเชื้อรา *adzukicola*,

cucumerinum, *gladioli*, *nicotianae*, *phaseoli* และ *raphani* กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยเชื้อรา *cyclaminis*, *lycopersici* race 1, *lycopersici* race 2, *radicis-lycopersici* และกลุ่มที่ 3 มีเพียง *formae speciales* เดียวคือ *asparagi*

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

Thesis Title	Phylogenetic Relationship of <i>Fusarium oxysporum</i> by Internal Transcribed Spacer Sequences Analysis	
Author	Miss Urailak Paksiri	
M.S.	Biotechnology	
Examining Committee	Lect. Dr. Chaiwat Toanun	Chairman
	Assoc. Prof. Dr. Prasartporn Smitamana	Member
	Lect. Dr. Angsana Akarapisan	Member

Abstract

Phylogenetic relationship of 11 *Fusarium oxysporum* formae speciales; *adzukicola*, *asparagi*, *cucumerinum*, *cyclaminis*, *gladioli*, *lycopersici* race 1, *lycopersici* race 2, *radicis-lycopersici*, *nicotianae*, *phaseoli*, and *raphani* was studied using rDNA sequence comparison in which the *F. solani* was used as the outer group control. DNAs of the investigated fungi were extracted from the mycelia, subsequently the nuclear rDNA regions spanning : ITS1, ITS2 and 5.8S rDNA genes, were amplified by PCR. Direct sequencing of the PCR product was done using a PRISM Dye Terminator Cycle Sequencing Kit. The nucleotide sequence data were subjected to pairwise alignment by the method of Lipman and Person (1985) using the GENTYX-MAC program. Results shown that all of the 11 formae speciales had highly conserved nucleotide sequence with the similarities greater than 99%, however they showed significantly difference from *F. solani* (similarities ~95%) indicated that the studied fungi were monophyletic. Furthermore, a bootstrap analysis of the sequence using 1,000 resamples of the data suggested that the tested fungi were consisted of three distinct groups. The first group consisted of formae speciales *adzukicola*, *gladioli*, *raphani*, *cucumerinum*, *phaseoli* and *nicotianae*. The second group was made of formae speciales *cyclaminis*, *lycopersici* race 1, *lycopersici* race 2 and *radicis-lycopersici* and the third was formae speciales *asparagi* only.