

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราเป็งใน Tribe Phyllactinieae

ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย

ผู้เขียน

นางสาวนิตดา วัฒนวิทย์

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยวัฒน์ โตนันต์ ประธานกรรมการ

อาจารย์ ดร. สรัญญา ณ ลำปาง กรรมการ

## บทคัดย่อ

จากการสำรวจเชื้อราเป็งในระหว่างปี พ.ศ. 2546-2548 ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเก็บรวบรวม, ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และจัดจำแนกชนิดของเชื้อราเป็งใน Tribe Phyllactinieae ที่พบบนพืชอาศัยต่าง ๆ รวมทั้งใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาในการจัดจำแนกชนิด และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogeny) ของเชื้อรา ซึ่งเชื้อราใน Tribe Phyllactinieae นี้ นับเป็นเชื้อราเป็งเพียงกลุ่มเดียวที่มีลักษณะการเจริญของเส้นใยเป็นแบบ endophytic ผลจากการสำรวจพบว่า มีเชื้อราเป็งในกลุ่มนี้เข้าทำลายพืชอาศัยรวม 15 ชนิดพืชอาศัย ใน 8 ตระกูล เมื่อนำตัวอย่างดังกล่าวมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า มีเชื้อรา 4 ตัวอย่างที่พบบนถุน (*Cassia fistula* L), *Dalbergia lanceolaria* L. f. var. *lakhonensis* (Gagnep.) Niyo. & Ho, ซ้อ (*Gmelina arborea* Roxb) และสมอพิเภก (*Terminalia bellirica* (Gaertn) Roxb) ที่พบโครงสร้างการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ อย่างไรก็ตาม จำนวนของ ascospores ที่พบบนตัวอย่างของสมอพิเภก (*Terminalia bellirica* (Gaertn) Roxb) มีเพียงเล็กน้อยจึงไม่เพียงพอที่จะนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศได้ และพบว่าเชื้อราที่ทำการศึกษานี้มีรูปร่าง ลักษณะ และขนาดของ conidia และ conidiophore ที่แตกต่างกันออกไปในแต่ละชนิดพืชอาศัย ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้อธิบายถึงลักษณะ ตลอดจนได้วาดภาพ และถ่ายภาพลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อราในแต่ละพืชอาศัยอย่างละเอียด นอกจากนี้

ยังพบว่าจากตัวอย่างพืชทั้ง 15 ชนิดนี้มีมากถึง 13 ชนิดที่เป็นการรายงานพบเป็นครั้งแรกในประเทศไทย และในจำนวน 13 ชนิดนี้มี 2 ชนิดที่เป็นการรายงานพบครั้งแรกในโลก

เมื่อทำการศึกษาค้นหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราแป้ง โดยวิเคราะห์จากลำดับเบสของ rDNA ตรงตำแหน่ง ITS และ 28S สามารถหาลำดับเบสของเชื้อราได้ 13 ชนิด และเปรียบเทียบกับข้อมูลของเชื้อราแป้งใน Tribe Phyllactinieae ที่รายงานไว้ใน DNA Databank of Japan (DDBJ) โดยวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Clustal X และคำนวณหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยสร้าง phylogenetic tree ด้วยวิธี Neighbor-joining, Maximum parsimony และ PUAP Mac Rat พบว่าเชื้อราที่พบบนพืชอาศัยทั้ง 13 ชนิดนั้นมี 9 ชนิดที่จัดอยู่ใน genus *Ovulariopsis* ส่วนอีก 4 ชนิดที่เหลือจัดอยู่ใน genus *Oidiopsis* โดยที่เชื้อราใน genus *Ovulariopsis* จำนวน 9 ชนิดนี้ยังสามารถแบ่งออกได้เป็น 6 กลุ่ม ดังนี้คือ กลุ่มแรกได้แก่ เชื้อราที่พบบนอินทนิลบก (*Lagerstroemia macrocarpa* var. *macrocarpa*) และ อินทนิลน้ำ (*Lagerstroemia speciosa* var. *speciosa*) กลุ่มที่สองได้แก่ เชื้อราที่พบบนคูน (*Cassia fistula*) และ จีเห็ด (*Senna siamea*) กลุ่มที่สามได้แก่ เชื้อราที่พบบนสมอพิเภก (*Terminalia bellirica*) กลุ่มที่สี่ได้แก่ เชื้อราที่พบบนช่อ (*Gmelina arborea*) กลุ่มที่ห้าได้แก่ เชื้อราที่พบบน *Dalbergia lanceolaria* L. f. var. *lakhonensis* และกลุ่มที่หกได้แก่ เชื้อราที่พบบนหม่อน (*Morus alba*) และปอสา (*Broussonetia papyrifera*) ส่วนเชื้อราใน genus *Oidiopsis* จำนวน 4 ชนิดได้แก่ เชื้อราที่พบบนพริกหนุ่ม (*Capsicum annuum* var. *minimum*), พริกชี้ฟ้า (*Capsicum annuum* var. *acuminatum*), พริกชี้หนู (*Capsicum frutescens*) และผักขง (*Euphorbia heterophylla*) นั้นจัดเป็นกลุ่มเดียวกันคือ จัดเป็นเชื้อรา *Leveillula taurica* ซึ่งจากการศึกษาเชื้อราแป้งในครั้งนี้ นับเป็นครั้งแรกในประเทศไทยที่ได้นำเอาลักษณะทางสัณฐานวิทยา มาเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากการศึกษาลำดับเบสตรงตำแหน่ง ITS และ 28S ของ rDNA เพื่อใช้ในการศึกษาถึงวิวัฒนาการ และจำแนกชนิดของเชื้อราในกลุ่ม Tribe Phyllactinieae

**Thesis Title** Phylogenetics of the Powdery Mildews in Tribe Phyllactinieae in Northern Thailand

**Author** Miss Wanitda Watthanaworawit

**Degree** Master of Science (Plant Pathology)

**Thesis Advisory Committee**

Assoc. Prof. Dr. Chaiwat To-anun

Chairperson

Lect. Dr. Sarunya Nalumpang

Member

## Abstract

During 2003-2005, a survey of powdery mildew fungi was conducted in Northern Thailand. The objectives of this study were to collect and identify the powdery mildews in Tribe Phyllactinieae by using morphological characteristics and molecular phylogenetic analyses. Endophytic or partly endophytic mycelium was the major characteristic of the Tribe Phyllactinieae which was different from the other Tribe of powdery mildews. In this study, 15 plants species covering 8 families were infected by this fungal group. On these 15 plant species, under the microscopic observation, 4 species of powdery mildews, *Cassia fistula* L., *Dalbergia lanceolaria* L. f. var. *lakhonensis* (Gagnep.) Niy. & Ho., *Gmelina arborea* Roxb. and *Terminalia bellirica* (Gaertn) Roxb., producing both anamorphic and teleomorphic states but a few of ascomata found on *Terminalia bellirica* (Gaertn) Roxb. This study provided descriptions of powdery mildews on each host plant species, their anamorphic and teleomorphic (if found) characteristics, specimens examination, taxonomic notes, photographs and drawings. The morphology of the conidia and conidiophores of each fungus found on each host plant species were different in size and shape. Within 15 host plants species, 13 species are first recorded in Thailand, in which 2 of them are first recorded in the world.

To study the phylogenetic relationship of this fungal group, 13 fungal specimens were used for sequencing of a nuclear large subunit (28S) and internal transcribed spacer (ITS) of rDNA region and compare with the sequence obtained from the DNA Databank of Japan (DDBJ). The sequences were initially aligned using the Clustal X package. Phylogenetic tree was obtained from the data using Neighbor-Joining, Maximum Parsimony and PAUP Mac Rat methods. The results indicated that 9 specimens were belonged to genus *Ovulariopsis* and 4 specimens were belonged to genus *Oidiopsis*. Moreover, from the phylogenetic tree, 9 fungi in genus *Ovulariopsis* could be identified into 6 different groups. The first group including the fungi found on Queen's flower (*Lagerstroemia macrocarpa* var. *macrocarpa*) and Queen's flower (*Lagerstroemia speciosa* var. *speciosa*), the second group were the fungi found on golden shower (*Cassia fistula*) and cassod tree (*Senna siamea*), the third group was the fungus found on beleric myrobalan (*Terminalia bellirica*), the fourth group was the fungus found on gmelina (*Gmelina arborea*), the fifth was the fungus found on *Dalbergia lanceolaria* L. f. var. *lakhonensis*, and the sixth were the fungi found on mulberry (*Morus alba*) and paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*). The genus *Oidiopsis* that found on 4 specimens, chili pepper (*Capsicum annuum* var. *minimum*), spur pepper (*Capsicum annuum* var. *acuminatum*), bird pepper (*Capsicum frutescens*) and milk weed (*Euphorbia heterophylla*) were classified as the same fungal group and were identified as *Leveillula taurica*. This is the first comprehensive study of the powdery mildews belonging to Tribe Phyllactinieae in Thailand which compares morphological characteristics with phylogenetic analyses of the ITS and 28S nucleotide sequence.