

สุพจน์ เหลืองประพุกที่ 2554: ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *Pseudoplagiostoma eucalypti* สาเหตุโรคใบจุดและใบไหม้ในยูคาลิปตัส ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ เกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์จินตนา อันอาดมิ่งาม, Ph.D 88 หน้า

โรคใบจุดและใบไหม้ เป็นปัญหาหลักในการปลูกสร้างสวนป่ายูคาลิปตัส ซึ่งเดิมมีรายงานว่าเกิดจากเชื้อรา *Cryptosporiopsis eucalypti* อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมีการจัดจำแนกใหม่เป็นเชื้อรา *Pseudoplagiostoma eucalypti* โดยใช้ข้อมูลทางด้านอนุชีววิทยาร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกและประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดและใบไหม้ยูคาลิปตัสในประเทศไทย เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับงานปรับปรุงพันธุ์ยูคาลิปตัสด้านทานโรคใบจุดและใบไหม้สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคใบจุดและใบไหม้จากแหล่งปลูกยูคาลิปตัสใน 10 จังหวัดของประเทศไทย และนำมาจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และวัดอัตราการเจริญเติบโตของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากผลการศึกษสามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Ps. eucalypti* ซึ่งมีความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยเฉพาะลักษณะการเจริญของโคโลนี เมื่อนำเชื้อรา *Ps. eucalypti* มาวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค AFLP โดยใช้ 4 คู่ไพรเมอร์ พบว่าให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 77 แถบจากทั้งหมด 178 แถบ นำแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS โดยคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนตามวิธีของ Dice และจัดกลุ่มโดยวิธี UPGMA พบว่า เชื้อรา *Ps. eucalypti* มีความหลากหลายทางพันธุกรรม ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 10 กลุ่ม โดยมีค่า cophenetic correlation (r) = 0.955 จากผลการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอแสดงให้เห็นว่าการแบ่งกลุ่มไม่สอดคล้องกับแหล่งที่มาของเชื้อ การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS ของ ribosomal DNA จำนวน 8 ไอโซเลตโดยใช้ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 และวิเคราะห์ข้อมูลร่วมกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากฐานข้อมูล GenBank (DDBJ) โดยใช้โปรแกรม CLC Main Workbench จากการจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 8 ไอโซเลตนี้ จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Ps. eucalypti* ที่บันทึกไว้ในฐานข้อมูล โดยมีค่า bootstrap สูงถึง 100% จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการจำแนกชนิดของเชื้อราด้วยข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของ ITS นั้นจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Ps. eucalypti* ซึ่งสอดคล้องกับการจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา นอกจากนี้ได้คัดเลือกเอนไซม์ตัดจำเพาะสำหรับย่อยชิ้นส่วนบริเวณ ITS เพื่อใช้เป็นเครื่องหมายแยกความแตกต่างของเชื้อรา *Ps. eucalypti* ออกจากเชื้อราชนิดอื่น โดยใช้โปรแกรม CLC Main Workbench จากการทดสอบเอนไซม์จำนวน 10 ชนิด พบว่า การย่อยด้วยเอนไซม์ *AluI* และ *HinCII* สามารถแยก *Ps. eucalypti* และ *Ps. oldii* ออกจาก *Ps. variabile* ได้ ในขณะที่เอนไซม์ *Ctr10I*, *EcoRI*, *HaeII*, *HaeIII*, *HinCII*, *MseI*, *StuI* และ *TaqI* ไม่สามารถแยกเชื้อรา *Ps. eucalypti*, *Ps. oldii* และ *Ps. variabile* ออกจากกันได้

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก