การบ่งชี้สายพันธุ์ (race) ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จำนวน 11 ไอโซเลต และเชื้อรา Fusarium ชนิดอื่นอีก จำนวน 5 ไอโซเลต ได้แก่ *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, *F. moniliforme*, *F. poae*, และ *F. solani* โดยการศึกษารูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) ด้วยเทคนิค random amplified polymorphic DNA (RAPD) โดยใช้เชื้อรา Fol ที่เป็นมาตรฐาน คือ ไอโซเลต Fol 1 (race 1), Fol 2 (race 2), Fol 3N (race 3) จากประเทศเนเธอร์แลนด์ และ Fol 3A (race 3) จากประเทศสหรัฐอเมริกา และใช้ไพรเมอร์ จำนวน 20 ชุด ได้แก่ Operon Kit E จำนวน 2 ชุด และ Kit H จำนวน 18 ชุด พบว่าสามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา Fol ได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มที่ทำให้เกิดโรคกับมะเขือเทศ และกลุ่มที่ไม่ทำให้เกิดโรคกับมะเขือเทศ นอกจากนั้นพบว่าไพรเมอร์ OPE-03 และ OPH-20 สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อรา Fol race 3 ออกจาก race 1 และ 2 ได้อย่างชัดเจน แต่ไพรเมอร์ดังกล่าว ยังไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่าง race 1 และ 2 ได้ เมื่อทำการศึกษารูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) ของเชื้อรา Fol ทั้ง 3 races ด้วยเทคนิค amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) โดยการเพิ่มปริมาณ DNA ในส่วนของ ITS1-5.8S-ITS2 region rDNA ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 แล้วย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Sau* 3A I และ *Rsa* I พบว่า เอนไซม์ *Sau* 3A I สามารถย่อย DNA ของเชื้อรา Fol ได้ทุกไอโซเลต และให้รูปแบบของ DNA ที่สามารถแบ่งเชื้อรา Fol ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มี DNA ขนาด 320 bp จำนวน 12ไอโซเลต และกลุ่มที่ 2 มี DNA ขนาด 250 bp จำนวน 3 ไอโซเลต ส่วน เอนไซม์ *Rsa* I สามารถย่อย DNA ในส่วนของ ITS1-5.8S-ITS2 region rDNA ของเชื้อรา Fol ได้เพียง 2 ไอโซเลต คือ KK5 และ CM1 แล้วได้ DNA ขนาด 450 bp ซึ่งยังไม่สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อ Fol ในระดับ race ได้ เมื่อทำการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของ ITS1-5.8S-ITS2 region rDNA ของเชื้อราทั้ง 3 race พบว่ามีขนาดประมาณ 580 bp จึงได้ออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงกับเชื้อรา Fol แต่ละ race แล้วตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงของ primer ด้วยเทคนิค PCR พบว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบสามารถเพิ่มปริมาณ DNA ของเชื้อรา Fol และเชื้อราชนิดอื่น รวมทั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยไพรเมอร์ดังกล่าวให้รูปแบบลายพิมพ์ DNA ของเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่แตกต่างจากเชื้อราชนิดอื่น และแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ หลังจากนั้นทดลองเพิ่มปริมาณ DNA ของเชื้อรา Fol โดยใช้ไพรเมอร์ FOL1 (ที่มีด้าน forward เป็น 5'-CTTGGTTTGCCTGCGGCGTG-3' และด้าน reverse เป็น 5'-GCAAGCGCCGGTGCGGCAGT-3') โดยปรับใช้อุณหภูมิ annealing ในปฏิกิริยา PCR ที่แตกต่างกัน พบว่าอุณหภูมิ annealing ที่ 60 องศาเซลเซียส ทำให้ลายพิมพ์ DNA ของเชื้อรา Fol ที่แตกต่างกันในแต่ละ race และ สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อรา Fol race 1, 2 และ 3 ออกจากกันได้ ซึ่งไพรเมอร์ดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ต่อการตรวจรับรองปลอดโรคพืชของมะเขือเทศเพื่อการส่งออกต่อไป

Eleven isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) were collected from tomato plants in Northeast Thailand. Race identification of the derived Fol isolates and 5 isolates of other Fusarium species, *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, *F. moniliforme*, *F. poae* and *F. solani* was investigated using random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. The pure cultures of Fol 1 (race 1), Fol 2 (race 2), Fol 3N (race 3), which were provided from the Netherlands and Fol 3A (race 3) from the United States of America, were used as standard races of Fol. DNA fingerprints of all tested Fol isolates regenerated by 8 arbitrary primers (Operon Kit E, 2 primers and Kit H, 6 primers) were examined. The result showed that Fol isolates could be divided into two groups, pathogenic Fol and non-pathogenic Fol. The primers OPE-03 and OPH-20 can be used to discriminate clearly between Fol race 3 and a group of race 1 and 2. However, these primers were not able to discriminate individually among Fol race 1, 2 and 3. Genomic rDNA of ITS1-5.8S-ITS2 region of all Fol was amplified by polymerase chain reaction (PCR) technique using primer ITS1 and ITS4 and characterized by amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) technique. Restriction enzyme *Sau* 3A I and *Rsa* I were used to digest the PCR products. The result showed that enzyme *Sau* 3A I could digest DNA of ITS1-5.8S-ITS2 region rDNA of all Fol isolates. The Fol tested isolates were divided into two groups; group one, twelve isolates of Fol with DNA 320 bp and group two; three isolates of Fol with DNA 250 bp. Enzyme *Rsa* I digested DNA of ITS1-5.8S-ITS2 region rDNA of Fol only two isolates, KK5 and CM1 with DNA 450 bp. However, ARDRA technique using restriction enzyme *Sau* 3A I and *Rsa* I was not suitable to discriminate between Fol race 1, 2 and 3. The PCR products of ITS1-5.8S-ITS2 region rDNA were sequenced and aligned to design 6 specific primers for Fol race 1, race 2 and race 3. Nine isolates of other Fusaria and two isolates of bacteria were used for reference. The primers were tested for their specificity against Fol race 1, 2, 3 and other Fusaria and bacteria. The result showed that the primers were not specific to Fol race1, 2 and 3. Surprisingly, these primers could amplify genomic DNA of other fungi and some bacteria. However, DNA fingerprint were different in DNA patterns of *Fusarium* spp. showing only one band and the other showing more bands than *Fusarium* spp. Genomic DNA of Fol were amplified by using primers FOL1 (forward 5'-CTTGGTTTGCCTGCGGCGTG-3' and reverse 5'-GCAAGCGCCGGTGCGGCAGT-3') and optimized the annealing temperature. The result showed that at 60 °C of annealing temperature it could be discriminated individually among Fol race 1, 2 and 3, based on DNA fingerprints. These selected primers could be further applied for seed certification program for export.