

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาลำดับเบสในตำแหน่ง ITS (ITS1, ITS2) และ 5.8S rDNA ของเชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 11 formae speciales จากดีเอ็นเอทั้งสองสาย ด้วยวิธี direct sequencing โดยใช้ primer 4 ชนิด พบว่าชิ้นของดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้มีขนาดเท่ากับ 456 คู่เบส ที่ประกอบด้วยลำดับเบสในตำแหน่ง ITS1 ขนาด 147 คู่เบส ลำดับเบสใน ตำแหน่ง ITS2 ขนาด 151 คู่เบส และลำดับเบสในตำแหน่งของ 5.8S rDNA ขนาด 158 คู่เบส ในเชื้อราทั้งหมด ยกเว้น เชื้อราใน formae speciales *cucumerinum* ที่มีขนาด 457 คู่เบส เนื่องจากมีลำดับเบสใน ตำแหน่ง ITS1 มากกว่าราอื่นๆ อยู่ 1 เบสทำให้มีขนาดเป็น 148 คู่เบส จากผลของลำดับเบสที่ได้ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ nucleotide databases จาก DNA Database of Japan (DDBJ) พบว่าลำดับเบสที่ได้จัดอยู่ในกลุ่มของลำดับเบสในตำแหน่ง 18S, 5.8S และ internal transcribed spacer ของเชื้อราในกลุ่ม *Fusarium oxysporum* เป็นส่วนใหญ่ โดยพบว่าความเหมือนกันของ ลำดับเบสคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้มากถึง 100% (online information source) ฉะนั้นจากลำดับเบสที่ เพิ่มปริมาณได้ในการทดลองจึงมั่นใจได้ว่าเป็นลำดับเบสในตำแหน่ง ITS และ 5.8S rDNA ของ เชื้อราในกลุ่ม *Fusarium oxysporum*

เมื่อทำการเปรียบเทียบตำแหน่ง ITS และ 5.8S rDNA ของเชื้อรา *F. oxysporum* ทั้ง 11 formae speciales ร่วมกับ เชื้อรา *F. solani* พบว่า ลำดับเบสในตำแหน่ง ITS1 และ 5.8S rDNA มีขนาดเท่ากัน คือ 147 และ 158 คู่เบส ตามลำดับ ยกเว้น ในตำแหน่ง ITS2 ของเชื้อรา *F. solani* พบว่ามีขนาด 165 คู่เบส และเมื่อทำการจัดจำแนกเชื้อราทั้ง 11 formae speciales โดยใช้ความคล้ายคลึงกันของลำดับเบส พบว่าสามารถจัดจำแนกเชื้อราออกได้ เป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย *adzukicola*, *gladioli*, *raphani*, *cucumerinum*, *phaseoli*, *nicotianae* กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย *cyclaminis*, *lycopersici* race 1, *lycopersici* race 2, *radicis* – *lycopersici* และ กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย *asparagi* โดยที่เชื้อราในแต่ละกลุ่มจะมีลำดับเบสที่เหมือนกันคิดเป็น เปอร์เซ็นต์ได้เท่ากับหนึ่งร้อยเปอร์เซ็นต์ และความแตกต่างของเชื้อราระหว่างกลุ่มพบว่า ลำดับเบส ในตำแหน่ง ITS1 ไม่พบความแตกต่างเลย ในขณะที่ลำดับเบสในตำแหน่ง ITS2 และ 5.8S rDNA มีความแตกต่างเล็กน้อย (รูปภาคผนวกที่ 13)

โดยทั่วไปแล้วลำดับเบสในตำแหน่ง coding region ของ rDNA เช่น 5.8S rDNA นี้เป็นบริเวณที่ลำดับเบสไม่มีความแตกต่าง หรือมีความแตกต่างกันน้อย (conserved regions) เหมาะสำหรับนำมาศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างเชื้อราที่มีความใกล้เคียงกัน (distantly related fungi) ส่วนลำดับเบสในตำแหน่ง noncoding region หรือ spacer region เช่น ITS region และ IGS region เป็นบริเวณที่มีความแตกต่างกันมาก (variable region) เหมาะสำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างเชื้อราที่มีความใกล้ชิดกัน (closely related fungi) (Hirata and Takamatsu, 1996) จากผลการทดลองพบว่า ลำดับเบสใน 5.8S rDNA มีความแตกต่างกันน้อยถือได้ว่าเป็นบริเวณ conserved region ส่วนลำดับเบสในตำแหน่ง ITS ก็พบว่ามีค่าความแตกต่างน้อย และจากค่าความเชื่อมั่นที่ได้จาก phylogenetic tree พบว่าได้ค่าที่ต่ำภายในกลุ่มของเชื้อรา ซึ่งผลการทดลองที่น่าจะเป็นไปได้ว่า เชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 11 formae speciales ที่ใช้ในการทดลองเป็น monophyletic หรือ เป็นกลุ่มของเชื้อราที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมาก สำหรับในการศึกษาเพื่อจัดจำแนกเชื้อราในกลุ่มนี้ ลำดับเบสในตำแหน่ง ITS และ 5.8S rDNA ที่เลือกใช้ อาจมีข้อจำกัดบางประการจึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้หากจะทำการศึกษาเพื่อจัดจำแนกเชื้อราในกลุ่มนี้ ลำดับเบสในตำแหน่งอื่นที่นิยมนำมาใช้และพบว่ามีประสิทธิภาพดีในการจัดจำแนกและศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราภายในสปีชีส์ (species) คือ IGS หรือ mitochondrial DNA (mtDNA) (White *et al.*, 1990; Peterson, 1991) ซึ่งหากจะมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อจัดจำแนกและศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราในกลุ่มนี้ ลำดับเบสในตำแหน่ง IGS หรือ mtDNA อาจนำมาใช้เพื่ออธิบายปัญหาที่ต้องการทราบได้มากกว่า