นันทิยา เตชะติ 2551 : การจำแนกชนิดและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบขีดข้าวโพด ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รองศาสตราจารย์สุดฤดี ประเทืองวงศ์, Ph.D, 105 หน้า

ในระยะเวลา 2 ปีที่ผ่านมา พบโรคข้าวโพดที่ปลูกเป็นการค้าแสดงอาการหลายแบบปะปนกัน ได้แก่ การเกิดหรือไม่เกิดอาการฉ่ำน้ำ การมีหรือไม่มี halo ล้อมรอบแผล รวมทั้งขนาดและรูปร่างของแผล ซึ่งอาการโดยรวมมีลักษณะคล้ายคลึงโรคใบขีดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในจีนัส *Acidovorax* จึงทำการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุที่แยกได้จากแผลที่แสดงอาการต่าง ๆ ดังกล่าวด้วยวิธีมาตรฐานทางด้านสรีรวิทยาและชีวเคมี และยืนยันความถูกต้องแม่นยำระดับ species ด้วยการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนสารพันธุกรรมบริเวณ 16S-23S rDNA ITS region ตลอดจนศึกษาการเรียงตัวของสารพันธุกรรมของชิ้นส่วนดีเอ็นเอดังกล่าว ผลการทดลองนี้พบว่าเชื้อสาเหตุที่สุ่มมาจากทุกอาการเป็นแบคทีเรียแกรมลบ โคโลนีลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ สีขาวขุ่น เส้นผ่าศูนย์กลาง 1-2 มิลลิเมตร บนอาหาร NGA เมื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค เชื้อสามารถก่อให้เกิดอาการเช่นเดียวกับที่พบในสภาพธรรมชาติ เมื่อสุ่มตัวแทนเชื้อจากกลุ่มที่แสดงลักษณะอาการที่แตกต่างกันนำมาเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอนเอที่บริเวณ 16s-23s ITS ของเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* พบว่าชิ้นส่วนดีเอ็นเอดังกล่าวมีขนาด 615 bp ในเชื้อทดสอบทุกสายพันธุ์ และเมื่อนำไปศึกษาการเรียงตัวของสารพันธุกรรม (DNA sequencing) พบว่า เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคสายพันธุ์ Aaa1 Aaa9 Aaa84 มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือน 99, 100 และ 99% (% identity) กับ *A. avenae* subsp. *avenae* สายพันธุ์ FC-320 ต่อมาได้ศึกษายืนยันความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุ โดยใช้เทคนิค rep-PCR พบว่าเชื้อ *A. avenae* subsp. *avenae* รวม 109 สายพันธุ์ สามารถแยกได้ 2 กลุ่มที่มีความสัมพันธ์กับอาการและระดับความรุนแรงโรคที่แตกต่างกัน ซึ่งพบว่าประชากรเชื้อในกลุ่มแสดงอาการโรคไม่รุนแรงมีความสัมพันธ์กับลักษณะอาการในกลุ่มฟีโนไทป์ A ที่แสดงลักษณะอาการใบขีดสั้น สีน้ำตาลอ่อน ขอบแผลไม่เรียบ และพันธุกรรมของประชากรเชื้อในกลุ่มแสดงอาการก่อโรครุนแรงมีความสัมพันธ์กับกลุ่มลักษณะอาการฟีโนไทป์ B ประชากรกลุ่มนี้ ข้าวโพดแสดงอาการแผลขีดฉ่ำน้ำ มี halo ล้อมรอบ ขยายยาวตามเส้นใบ และสัมพันธ์กับกลุ่มลักษณะอาการฟีโนไทป์ C ซึ่งข้าวโพดจะแสดงอาการแผลขีดยาวสีน้ำตาล ขนานตามเส้นใบ และแผลจะขยายกว้างออกด้านข้างทำให้แผลเชื่อมติดกันจนเกิดอาการใบไหม้ คิดเป็น 72.4 และ 22.8% ของประชากรเชื้อในกลุ่มรุนแรงตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าเชื้อ *A. avenae* subsp. *avenae* ทุกสายพันธุ์สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอขนาด 750 และ 1000 bp จากไพรเมอร์ BOX และพบว่าในกลุ่มพันธุกรรมที่ก่อให้เกิดอาการโรครุนแรงจะปรากฏแถบดีเอ็นเอเฉพาะขนาด 1500 bp ขณะเดียวกันพบว่าลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุที่ได้จากการศึกษาทดลองในครั้งนี้ไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาและพันธุ์พืชอาศัย นอกจากนี้การทดลองเพื่อให้ได้ข้อมูลจำเพาะของปฏิสัมพันธ์ระหว่างพืชกับเชื้อสาเหตุโรคด้านเทคนิคการปลูกเชื้อ พันธุ์พืชต้านทาน และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม มีความจำเป็นต่อการเฝ้าระวังการระบาดและการคัดเลือกตลอดจนปรับปรุงพันธุ์ต้านทานและกลยุทธ์การป้องกันกำจัดโรค โดยนำเชื้อสายพันธุ์ Aaa9 คัดเลือกจาก 109 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงในการก่อโรคสูงสุด มาทดสอบศึกษาเปรียบเทียบเทคนิคปลูกเชื้อ 3 วิธี บนข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ผลการทดลองพบว่าเทคนิคการปลูกเชื้อด้วยการพ่นเซลล์ suspension ของเชื้อสาเหตุโรคและให้ความชื้นติดต่อกัน 48 ชั่วโมง ด้วยการคลุมถุงพลาสติก เป็นวิธีที่เหมาะสม สะดวก รวดเร็ว และสามารถสังเกตพัฒนาการการเกิดโรคได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับวิธีอื่น เมื่อนำวิธีนี้มาใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวโพดต้านทานโรคใบขีด สามารถแบ่งกลุ่มระดับความต้านทานได้ 3 กลุ่ม คือ พันธุ์ที่มีระดับการเป็นโรคต่ำ ได้แก่ พันธุ์บ้านสวน ซูการ์75 KSSC915 Ki39, Ki40, Ki44, Ki45, Ki32, Ki35, Ki37, Ki38, Ki43, Ki46, Ki49, Ki50 และ Ki กลุ่มพันธุ์ที่มีระดับการเป็นโรคปานกลาง ได้แก่ พันธุ์ KSSC904, 14004, ไฮบริกซ์10 KSSC604 Ki31, Ki33, Ki36, Ki41, Ki42, Ki47, Ki48, Ki51, Ki33 และ Ki36 กลุ่มพันธุ์ที่มีระดับการเป็นโรคสูง ได้แก่ พันธุ์ KSSC903, อินทรี2, KSSC901 และไฮบริกซ์3

Nantiya Techati 2008 Identification and Genetic Diversity of Bacterial Leaf streak of Corn. Master of Science (Agriculture), Major Field : Plant Pathology , Department of Plant Pathology. Thesis Advisor : Associate Professor Sutruedee Prathuangwong, Ph.D. 105 papes.

In the past two years, a bacterial disease of corn exhibited complex symptoms was observed on commercial fields. Infected plants seemed to be a bacterial leaf streak caused by genus *Acidovorax*, but disease development was varied among with or without water soaking and halo, and lesion size and shape. Bacterial isolated and cultured from the lesions were identified using standard physiological and biochemical tests and confirmed by species-specific polymerase chain reaction of the 16S-23S rDNA ITS and DNA sequencing analysis. Gram reaction, aerobic, rod-shaped bacterium that produced creamy white, circular smooth with entire margins, glisteming colonies with 1-2 mm in diameter on NGA medium was isolated consistently from those diseased plants. Pathogenicity tests established symptoms similar to those observed on corn plants in the fields. Confirming the 16S-23S ITS PCR analysis resulted in fragment about 615 bp belonging to *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* from all randomly representative strains of different symptoms and result of DNA sequencing of Aaa1, Aaa9 and Aaa84 representative isolates have been 99, 100 and 99% identity with *A. avenae* subsp. *avenae* FC-320, resembling bacterial leaf streak approaches. The strains were also identified in term of their DNA fingerprinting profiles using repetitive-PCR analysis. Result showed the existence of two differentiated groups within 109 strains of *A. avenae* subsp. *avenae*, one included non-aggressive strains group that were more associated with phenotypic symptoms: short streak lesions and irregular margin (Group A). The other groups as aggressive strains that consisting of strains that were usually associated with phenotypic symptoms: long streak lesions, water soaking and haloes parallel with leaf vein (Group B) and long streak lesions and leaf blight observed (Group C). The fingerprints were distinctly different by BOX primer that 1500 bp was detected by strains belonging to Group B and C (72.4 and 22.8% respectively), and 750 and 1000 bp belonging to all group. These strain groups were not associated with either geographic distribution or corn cultivars. The investigation of specificity between host-parasite interaction including pathogen strain, inoculation technique, resistance germplasm and favored condition is necessary for monitoring epidermics, breeding material, and control strategy. The three methods of inoculation techniques were studies using the most virulence strain Aaa9, and cv Insee2 with varying inoculation periods. The inoculation method on 7 days old plant with 48-h bacterial suspension, handle spray and covered with plastic bag for 48-h, has been resulted in significantly highest level of disease severity ($p \leq 0.05$). This developed method was use to evaluate the 33 sweet and field corn cultivars that could be identified their resistance level into 3 groups including group I: Sugar75, Ban-Souan, KSSC915, Ki39, Ki40, Ki44, Ki45, Ki32, Ki35, Ki37, Ki38, Ki 43, Ki46, Ki49, Ki 50 and Ki52; group II: Hybrid10, KSSC904,14004, Ki31, Ki33, Ki36, Ki41, Ki42, Ki47, Ki48, and Ki51; and group III: KSSC903, Insee2, KSSC901 and Hybrid3 showed resistant, moderately resistant, and susceptible infection by *A. avenae* subsp. *avenae* respectively.