

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5080336

ชื่อโครงการ: ความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ในระดับโมเลกุลของสายพันธุ์เชื้อรา
สนิมข้าวโพดในประเทศไทย

ชื่อนักวิจัย : ดร.จินตนา อันอาดมิ่งาม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

e-mail address: agrine@ku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

ราสนิมข้าวโพดเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งสำหรับการเพาะปลูกข้าวโพด ในประเทศไทยเคยมีรายงานการพบโรคราสนิมข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ 2 ชนิด คือ *Puccinia polysora* (Southern rust) และ *P. sorghi* (common rust) ซึ่งเชื้อราทั้ง 2 ชนิดนี้มีความแตกต่างกันทั้งวงจรชีวิตและสภาพแวดล้อมสำหรับการก่อให้เกิดโรค ในการศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจการเกิดโรคราสนิมและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสนิมข้าวโพดในพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดที่สำคัญๆ ของประเทศ ซึ่งจากการสำรวจใน 14 จังหวัด และเก็บตัวอย่างโรคราสนิมข้าวโพดได้ทั้งสิ้น 105 ไอโซเลท พบว่าโรคราสนิมเกิดบนข้าวโพดทั้ง 3 ชนิด คือ ข้าวโพดหวาน ข้าวโพดข้าวเหนียว และข้าวโพดไร่ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคแตกต่างกันระหว่างพันธุ์และชนิดของข้าวโพด การสำรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ urediospores และ teliospores พบว่า สามารถแบ่งกลุ่มโดยใช้สีของ pustule ได้ 3 subgroup (แดง, ส้ม, และเหลือง) และมีรูปร่างกลมถึงยาว สำหรับ urediospores เกิดขึ้นภายใน uredia ซึ่งอาจมีหรือไม่มี paraphysis เกิดขึ้นด้วย ในการสำรวจครั้งนี้เราพบว่ามีเพียง 1 ตัวอย่างเท่านั้นที่พบราสนิมในระยะ telial stage โดยมีการสร้าง teliospores สีเข้ม มีผนังกันแบ่งเป็น 2 เซลล์ เกิดภายใน uredia urediospores ส่วนมากรูปร่างกลมถึงค่อนข้างกลม มีสี cinnamon brown การจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกตัวอย่างทั้งหมดเป็น *P. polysora* การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสนิมข้าวโพดด้วยเทคนิค PCR-inter simple sequence repeat (ISSR) โดยใช้ไพรเมอร์ GAG(TCG)₅, GAG (CGA)₅, (CGA)₅, (GTC)₅ และ (CAG)₅ พบว่าเชื้อรามีความหลากหลายสูงและสามารถรวบรวมแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันได้ 38 แถบ และเมื่อนำไปวิเคราะห์การจัดกลุ่มพบว่าสามารถแบ่งแยกตัวอย่างได้เป็น 17 กลุ่มที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนที่ 75% จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเทคนิค ISSR สามารถใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของราสนิมข้าวโพดได้ และการวิเคราะห์ลำดับเบสของ ribosomal DNA ในส่วน internal transcribed spacer (ITS) เพื่อประเมินความสัมพันธ์ระหว่างตัวอย่างเชื้อราสนิมข้าวโพด จากการวิเคราะห์ Phylogenetic tree ของลำดับเบสบริเวณ ITS พบว่า ตัวอย่างของ *P. polysora* ที่ศึกษาในครั้งนี้จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน และแยกกลุ่มจากลำดับเบสของ *P. sorghi* ที่ได้จากฐานข้อมูล จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าลำดับเบสบริเวณ ITS นั้นสามารถนำมาใช้ในการจำแนกเชื้อรา *P. polysora* และ *P. sorghi* ได้

คำสำคัญ: ราสนิมข้าวโพด , *Puccinia polysora*, southern rust, common rust, ISSR, ITS

Abstract

Project code: MRG5080336

Project title: Genetic Diversity and Molecular Relationships of Race of Corn Rust Fungi in Thailand

Investigator: Dr. Jintana Unartngam Kasetsart University

e-mail address: agrjne@ku.ac.th

Project period : 2 years

Corn rust fungi are considered a major pathogen in corn production. Two corn rust species, *Puccinia polysora* (Southern rust) and *P. sorghi* (common rust) which are different in their life cycle and preferred environment have been reported in Thailand. In this study, occurrence and genetic diversity of corn rust were observed in various location of corn plantation in Thailand. One hundred and five specimens were collected from fourteen provinces of Thailand. The rust fungi were found on sweet, waxy and field corns, but disease severities were different among varieties and types of corns. The morphological characteristics of urediospores and teliospores were observed under microscope. Pustule colors on leaf could be divided into three subgroups (red, orange and yellow) and the shapes were circular to elongate. Urediospores occurs with and without paraphysis in uredia. Interestingly, one of the specimens examined produces dark teliospores with one septate in uredia. The urediospores were mostly ovoid-oblong with cinnamon-brown color. Based on morphology-based identification, all specimens collected were identified as *P. polysora*. The genetic diversity of corn rust was analyzed using PCR amplification of inter simple sequence repeat (ISSR) region. A high variety of 38 polymorphic bands were found among the specimens, after PCR amplification using five SSR primers, GAG(TCG)₅, GAG (CGA)₅, (CGA)₅, (GTC)₅ and (CAG)₅ and used for constructing the phylogenetic tree. The cluster analysis divided the specimens into 17 subgroup at 75% similarity with high bootstrap supporting. These results showed that ISSR region was useful for analysis of genetic diversity of corn rust fungi. The internal transcribed spacer (ITS) of ribosomal DNA sequences analysis was subjected to be analyzed in determining the relationship among corn rust fungi. The phylogenetic analysis of ITS regions among corn rust also showed that most of specimens of *P. polysora* were nested together in the same clade and separated from the *P. sorghi* sequence. This data indicated that ITS region is sufficient to distinguish between *P. polysora* and *P. sorghi*.

Keywords : corn rust , *Puccinia polysora*, southern rust, common rust, ISSR, ITS