

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

1. การรวบรวมเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีส จากตัวอย่างพืชที่เก็บจากแปลงศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และแปลงศูนย์พัฒนาโครงการหลวงหนองหอย อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่

#### 1.1 การเก็บตัวอย่างพืชตระกูลกะหล่ำ และการแยกเชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีส

จากการแยกเชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีส จากชิ้นพืชตระกูลกะหล่ำ 5 ชนิด ได้แก่ ผักกาดฮ่องเต้ ผักคะน้า ผักกาดเขียวปลี ผักกวางตุ้ง และกะหล่ำดอก จากพื้นที่ปลูก 2 แหล่งคือ บริเวณที่ราบ และที่สูง โดยทำการแยกเชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีสบนอาหาร IMA-2 เป็นเวลา 1 เดือน พบโคโลนีที่มีลักษณะเป็นเส้นใยบริเวณผิวหน้าของชิ้นพืช (ภาพที่ 4) พบว่าสามารถแยกเชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีส ได้รวม 75 ไอโซเลท โดยแยกได้จากผักกาดฮ่องเต้ ที่ราบจำนวน 4 ไอโซเลท ผักกาดฮ่องเต้ ที่สูงจำนวน 32 ไอโซเลท ผักคะน้าที่ราบจำนวน 4 ไอโซเลท ผักคะน้าที่สูงจำนวน 8 ไอโซเลท ผักกาดเขียวปลีจำนวน 5 ไอโซเลท ผักกวางตุ้งจำนวน 7 ไอโซเลท และกะหล่ำดอกจำนวน 15 ไอโซเลทเมื่อเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีที่เกิดจากส่วนต่างๆ ของพืช พบว่า ส่วนใหญ่แยกได้จากส่วนใบ พบเชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีส ทั้งหมด 41 ไอโซเลท ส่วนของลำต้น และรากมี 19 ไอโซเลท และ 15 ไอโซเลทตามลำดับ และเมื่อแยกตามชนิดของพืชพบว่าแยกได้จากฮ่องเต้(ที่สูง)มากที่สุด รองลงมาได้แก่ กะหล่ำดอก คิดเป็น 42.67 และ 20.00 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1)



A

B

ภาพที่ 4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีสที่เจริญจากใบ และลำต้น หลังจากเลี้ยงบนอาหาร IMA – 2 นาน 1 เดือน

A : เชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีสที่เจริญจากใบ

B : เชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีสที่เจริญจากลำต้น

ตารางที่ 1 จำนวนไอโซเลทของเชื้อเอนโคไฟท์ดิก แอคติโนมัยซีส ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของพืชตระกูลกะหล่ำ หลังการเลี้ยงบนอาหาร IMA-2 นาน 1 เดือน

ชนิดผัก	บริเวณที่พบเชื้อเอนโคไฟท์ดิก แอคติโนมัยซีส			รวม
	ใบ	ลำต้น	ราก	
ฮ่องเต้ (ที่ราบ)	2	1	1	4
ฮ่องเต้ (ที่สูง)	18	8	6	32
คะน้า (ที่ราบ)	1	3	-	4
คะน้า (ที่สูง)	3	2	3	8
ผักกาดเขียวปลี	3	-	2	5
กวางตุ้ง	4	3	-	7
กะหล่ำดอก	10	2	3	15
รวม	41	19	15	75

โดยให้ชื่อไอโซเลทในแต่ละสกุลตามอักษรภาษาอังกฤษ 3 ตัวของชื่อสามัญ หรือชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชอาศัย ได้แก่

ผักกาดฮ่องเต้ (Pai-tsai) ที่เก็บได้จากบริเวณที่ราบจำนวน 4 ไอโซเลท ให้ชื่อ PAI-L1 ถึง PAI-L4 ส่วนจากบริเวณที่สูงจำนวน 32 ไอโซเลท ให้ชื่อ PAI-D1 ถึง PAI-D32 จากผักคะน้า (Chinese kale) เก็บได้จากบริเวณที่ราบจำนวน 3 ไอโซเลท ให้ชื่อ KAL-L1 ถึง KAL-L3 ส่วนจากบริเวณที่สูงจำนวน 8 ไอโซเลท ให้ชื่อ KAL1 ถึง KAL8 จากผักกาดเขียวปลี (indian mustard) จำนวน 5 ไอโซเลท ให้ชื่อ IN-MUS1 ถึง IN-MUS5 จากผักกวางตุ้ง (chinese mustard) จำนวน 7 ไอโซเลท ให้ชื่อ CH-MUS1 ถึง CH-MUS7 และจากกะหล่ำดอก (cauliflower) จำนวน 3 ไอโซเลท ให้ชื่อ CAU1 ถึง CAU3

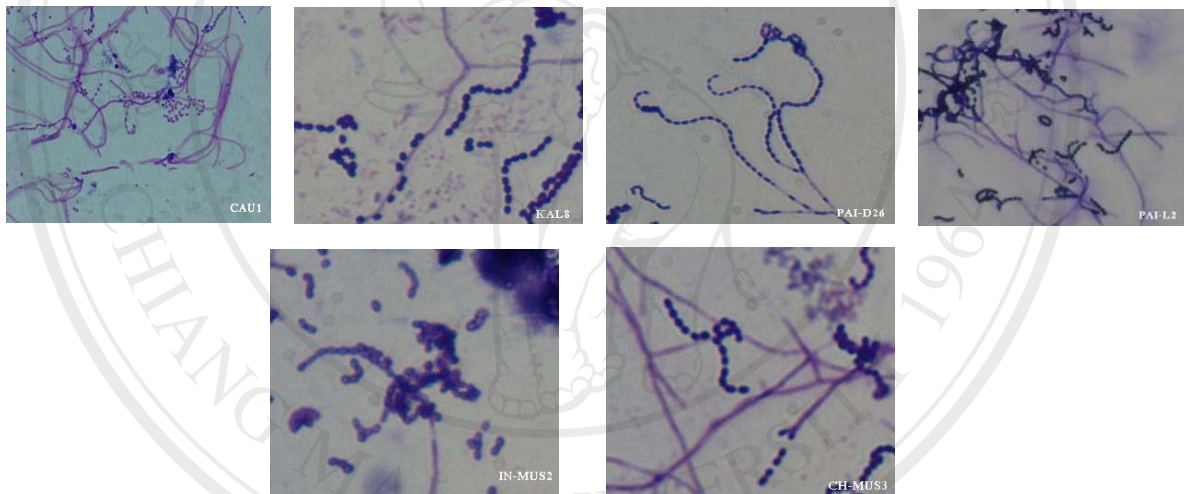
## 1.2 การจำแนกชนิดของเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีต

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีต ในห้องปฏิบัติการ: จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีต ทั้งหมด 60 ไอโซเลต อีก 15 ไอโซเลตไม่มีการเจริญของเชื้อ โดยบันทึกสีของโคโลนี (อ้างอิงหมายเลขสี จาก Anonymous, 1987) ลักษณะเส้นใย การแตกแขนงของเส้นใย และการย้อมสีเพื่อตรวจดูลักษณะการเรียงเส้นสายสปอร์ รูปร่างของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบที่กำลังขยาย 1000 เท่า สามารถจำแนกได้เป็น 4 สกุล ตามหลักการจำแนกของ Williams *et al.* (1989) ได้แก่

สกุล *Streptomyces* มีโคโลนีสีต่างๆ ที่พบ ดังนี้ น้ำตาลอมส้ม ผิวนูน, สีครีม, สีเหลือง, สีเหลืองครีม, สีเหลืองอ่อน, สีขาวขุ่น และสีขาวครีม มี substrate mycelium สีต่างๆ เช่น สีส้ม, สีเหลือง, สีเหลืองอมส้ม, สีน้ำตาลอ่อน, สีขาวขุ่น, สีขาวครีม และสีครีม มี aerial mycelium สร้างสปอร์คล้ายผงแป้งสีขาวเมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีเทา, ผงแป้งสีเหลืองอ่อน และผงแป้งสีเทา เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวโดยมีลักษณะการเรียงตัวที่แตกต่างกันหลายแบบ ได้แก่ retinaculiaperti type, rectiflexibiles type และ spirales type พบจำนวน 43 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลต CAU1, CAU2, CAU3, KAL3, KAL6, KAL7, KAL8, PAI-D1, PAI-D4, PAI-D7, PAI-D8, PAI-D10, PAI-D11, PAI-D12, PAI-D13, PAI-D14, PAI-D15, PAI-D17, PAI-D18, PAI-D19, PAI-D21, PAI-D22, PAI-D23, PAI-D24, PAI-D25, PAI-D26, PAI-D27, PAI-D28, PAI-D29, PAI-D30, PAI-L1, PAI-L2, PAI-L3, PAI-L4, IN-MUS1, IN-MUS2, IN-MUS3, IN-MUS4, IN-MUS5, CH-MUS1, CH-MUS3, CH-MUS4 และ CH-MUS5 (ภาพที่ 5)



A



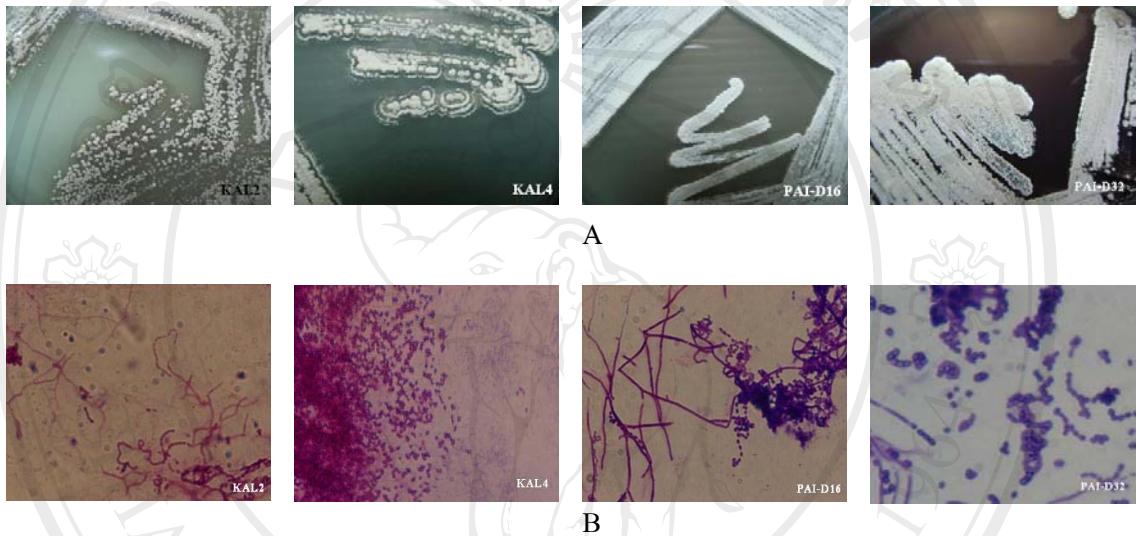
B

ภาพที่ 5 ลักษณะโคโลนี และสปอร์ของเชื้อเอนโดไฟต์ดึก แอคติโนมัยซีต สกุล *Streptomyces* ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของฝักตระกูลกะหล่ำ 5 ไอโซเลต

A : ลักษณะโคโลนี      B : ลักษณะสปอร์

Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

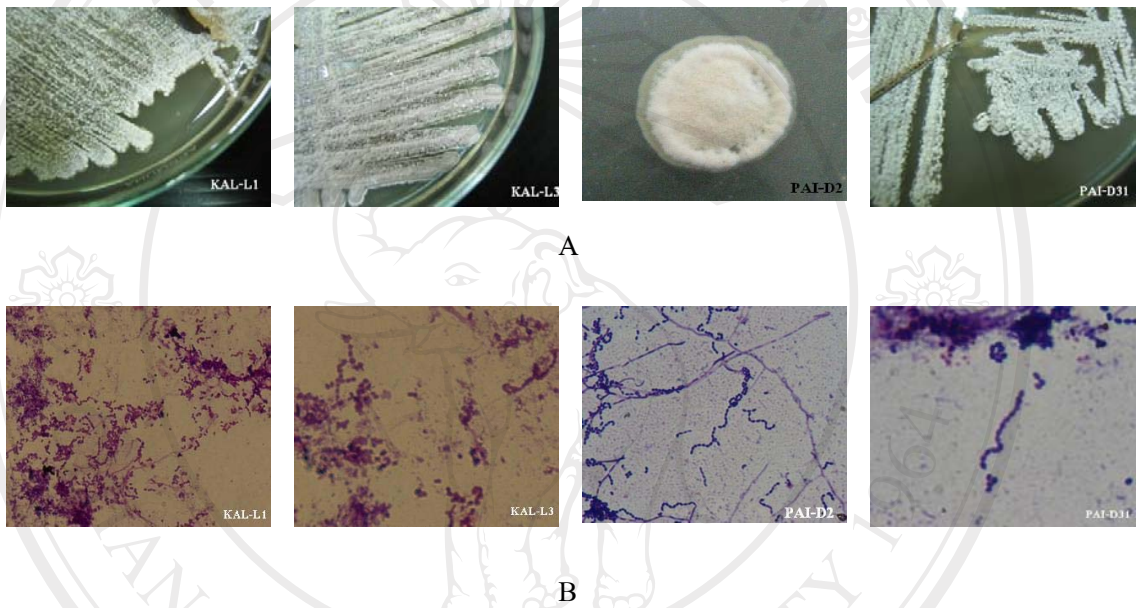
สกุล *Nocardia* มีโคโลนีส่วนใหญ่ที่พบเป็นสีเทา มีการเจริญของเชื้อสม่ำเสมอ ผิวโคโลนีมีลักษณะคล้ายผงแป้ง ไม่พบโครงสร้างสืบพันธุ์อื่นนอกจากสปอร์ เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาว สปอร์เกิดการแตกหักของ aerial mycelium พบจำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท KAL2, KAL4, PAI-D16 และ PAI-D32 (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 ลักษณะโคโลนี และสปอร์ของเชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนมัยซิส สกุล *Nocardia* ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของฝักตระกูลกะหล่ำ 4 ไอโซเลท

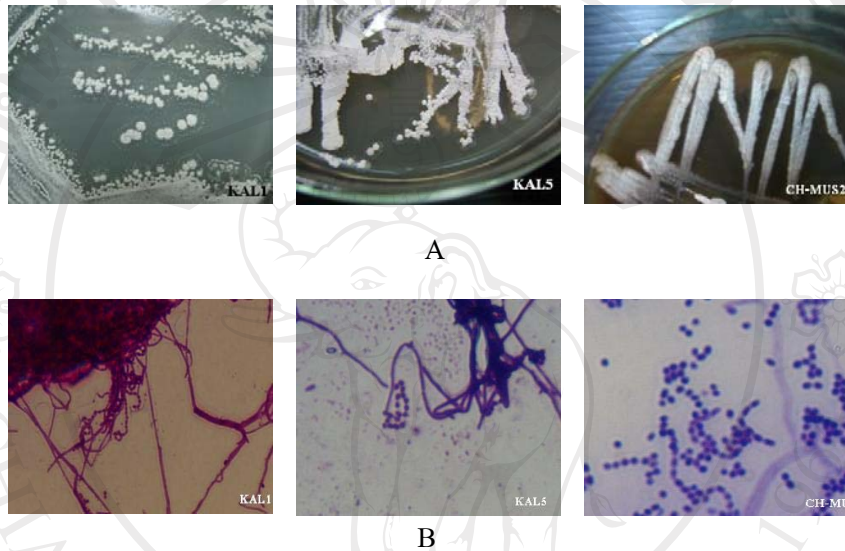
A : ลักษณะโคโลนี B : ลักษณะสปอร์

สกุล *Nocardioide* มีโคโลนีสีขาวเหลือง ลักษณะคล้ายผงแป้ง มีการเจริญของเชื้อสม่าเสมอหนาแน่น ไม่พบโครงสร้างสืบพันธุ์อื่นนอกจากสปอร์ เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาว สปอร์เกิดการแตกหักของ aerial mycelium พบจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท KAL-L1, KAL-L2, KAL-L3, PAI-D2, PAI-D3 และ PAI-D31 (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ลักษณะโคโลนี และสปอร์ของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส สกุล *Nocardioide* ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของฝักระถังกะหล่ำ 4 ไอโซเลท  
A : ลักษณะโคโลนี      B : ลักษณะสปอร์

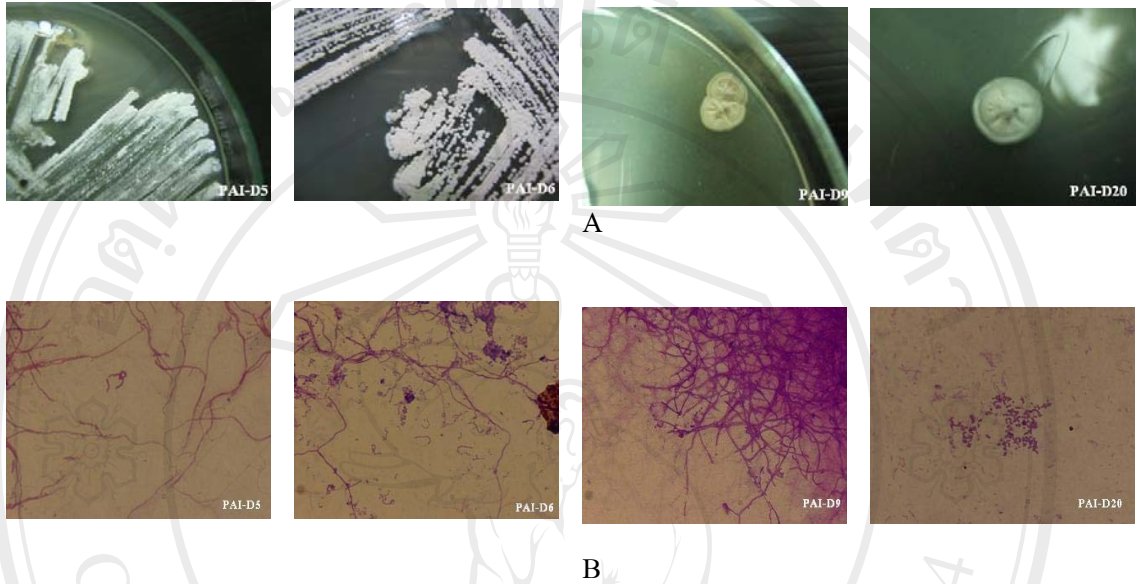
สกุล *Nocardiosis* มีโคโลนีสีขาวเหลือง ลักษณะคล้ายผงแป้ง มีการเจริญของเชื้อสม่ำเสมอ ไม่พบโครงสร้างสืบพันธุ์อื่นนอกจากสปอร์ เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวแบบ irregularly zig-zagged สปอร์เกิดการแตกหักของ aerial mycelium พบจำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลต KAL1, KAL5 และ CH-MUS2 (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 ลักษณะโคโลนี และสปอร์ของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซิส สกุล *Nocardiosis* ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของฝักระถูกกะหล่ำ 3 ไอโซเลต

A : ลักษณะโคโลนี B : ลักษณะสปอร์

กลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีสที่ไม่สามารถจำแนกสกุลได้ 4 ไอโซเลท เนื่องจากมีลักษณะโครงสร้างของเชื้อไม่ชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ ไอโซเลท PAI-D5, PAI-D6, PAI-D9 และ PAI-D20 (ภาพที่ 9)



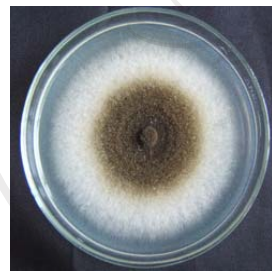
ภาพที่ 9 ลักษณะโคโลนี และสปอร์ของเชื้อเอนโดไฟต์ดึก แอคติโนมัยซีส ไม่ทราบสกุลที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของผักฮองเต้ที่แยกได้จากบริเวณที่สูง 4 ไอโซเลท  
A : ลักษณะโคโลนี      B : ลักษณะสปอร์



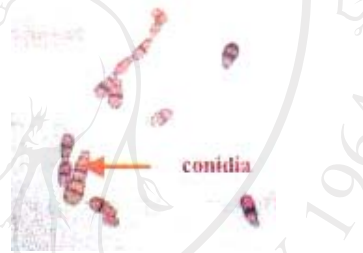
2. การคัดเลือกเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส ที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* และ เชื้อรา *Cercospora* sp.

2.1 การแยกเชื้อสาเหตุโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* และ เชื้อรา *Cercospora* sp.

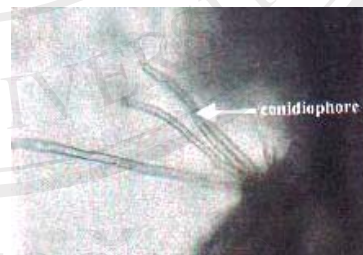
จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดทั้ง 2 ชนิด ซึ่งโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* มีลักษณะโคโลนีเป็นสีเขียวมะกอก บริเวณรอบๆ ของโคโลนีเป็นสีขาว conidia มีรูปร่างเป็นกระบอกหัวกลับ สีนํ้าตาลอ่อนถึงเข้ม มีผนังกันตามขวาง ส่วนเชื้อรา *Cercospora* sp. ลักษณะโคโลนีเป็นสีเขียวเข้ม มี conidiophore ของเชื้อเกิดบนผิวพืช เป็นกลุ่มสีน้ำตาลอ่อน มีผนังกัน conidia มีลักษณะเรียวยาวคล้ายเข็ม (ภาพที่ 10)



A



B



ภาพที่ 10 ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA และสปอร์ของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดวงแหวนและเชื้อรา *Cercospora* sp. สาเหตุโรคใบจุดตากบ

A : ลักษณะโคโลนี และสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* อายุ 7 วัน

B : ลักษณะโคโลนี และconidiophore ของเชื้อรา *Cercospora* sp. อายุ 30 วัน

## 2.2 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนมัยซีสในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* และ เชื้อรา *Cercospora* sp.

นำเชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนมัยซีสที่แยกจากพืชตระกูลกะหล่ำชนิดต่าง ๆ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดของกะหล่ำที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* และ เชื้อรา *Cercospora* sp. โดยวิธี dual culture พบว่าเชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนมัยซีสสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Alternaria brassicicola* อยู่ระหว่าง 24.78 - 72.77% และเชื้อ *Cercospora* sp. อยู่ระหว่าง 16.02 - 54.05% โดยพบว่าเชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนมัยซีสที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อราทั้ง 2 ชนิดสูงสุดคือ ไอโซเลทที่แยกจากผักฮ่องเต้ที่สูง (PAI-D1) ซึ่งพบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิดแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อจำแนกเชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนมัยซีสตามชนิดของพืชที่แยกได้ต่อการยับยั้งเชื้อทั้ง สองชนิด พบว่าเชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากผักคะน้าบริเวณที่ราบ (KAL-L) 3 ไอโซเลท สามารถยับยั้ง และให้ผลการวัดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ต่อการเจริญของเชื้อ *A. brassicicola* อยู่ระหว่าง 48.89 - 70.00% และเชื้อ *Cercospora* sp. อยู่ระหว่าง 23.43 - 31.46% พบว่าไอโซเลท KAL-L2 สามารถยับยั้งเชื้อ *A. brassicicola* และเชื้อ *Cercospora* sp. สูงที่สุดมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 70.00 และ 31.46% ตามลำดับ โดยพบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกัน และแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากผักคะน้าบริเวณที่สูง (KAL) 8 ไอโซเลท สามารถยับยั้งและให้ผลการวัดบริเวณยับยั้งต่อการเจริญของเชื้อ *A. brassicicola* อยู่ระหว่าง 52.22 - 70.55% และเชื้อ *Cercospora* sp. อยู่ระหว่าง 28.53 - 38.16% พบว่า ไอโซเลท KAL8 สามารถยับยั้งเชื้อ *A. brassicicola* สูงสุดที่ 70.55% ส่วนการยับยั้งเชื้อ *Cercospora* sp. ได้ทำการทดลองกับเชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากผักคะน้า 3 ไอโซเลท เนื่องจากเชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนมัยซีส 5 ไอโซเลทไม่สามารถเจริญเติบโตได้หลังจากทำการแยก จึงได้ทำการทดลอง 3 ไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท KAL 3 สามารถยับยั้งสูงสุดที่ 38.16% โดยพบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกัน และแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากกะหล่ำดอก (CAU) 3 ไอโซเลท สามารถยับยั้งและให้ผลการวัดบริเวณยับยั้งต่อการเจริญเชื้อ *A. brassicicola* อยู่ระหว่าง 62.22 - 71.11% และเชื้อ *Cercospora* sp. อยู่ระหว่าง 36.11 - 41.16% พบว่าไอโซเลท CAU1 สามารถยับยั้งเชื้อ *A. brassicicola* สูงสุดที่ 71.11% โดยแตกต่างกัน และแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ ส่วนผลการยับยั้งเชื้อ *Cercospora* sp. พบว่าไอโซเลท CAU3 สามารถยับยั้งสูงสุดที่ 41.16% ความสามารถในการยับยั้งไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากผักกาดฮ่องเต้ ที่แยกจากบริเวณที่ราบ (PAI-L) 4 ไอโซเลท สามารถยับยั้งและให้ผลการวัดบริเวณยับยั้งต่อการเจริญเชื้อ *A. brassicicola* อยู่ระหว่าง 56.67 - 68.33% และเชื้อ *Cercospora* sp. อยู่ระหว่าง 25.03 - 35.77% พบว่าไอโซเลท PAI-L1 สามารถยับยั้งเชื้อ *A. brassicicola* และเชื้อ *Cercospora* sp. สูงที่สุดมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 68.33 และ 35.77 % ตามลำดับ โดยพบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกัน และแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากผักกาดฮ่องเต้ ที่แยกจากบริเวณที่สูง (PAI-D) 32 ไอโซเลท สามารถยับยั้งและให้ผลการวัดบริเวณยับยั้งต่อการเจริญเชื้อ *A. brassicicola* อยู่ระหว่าง 42.22 - 72.77% และเชื้อ *Cercospora* sp. อยู่ระหว่าง 16.02 - 54.05% พบว่าไอโซเลท PAI-D1 สามารถยับยั้งเชื้อ *A. brassicicola* และเชื้อ *Cercospora* sp. สูงที่สุดมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 72.77 และ 54.05 % ตามลำดับ โดยพบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกัน และแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากผักกาดเขียวปลี (IN-MUS) 5 ไอโซเลท สามารถยับยั้งและให้ผลการวัดบริเวณยับยั้งต่อการเจริญเชื้อ *A. brassicicola* อยู่ระหว่าง 24.78 - 71.86% และเชื้อ *Cercospora* sp. อยู่ระหว่าง 20.81 - 42.14% พบว่าไอโซเลท IN-MUS1 สามารถยับยั้งเชื้อ *A. brassicicola* สูงสุดที่ 71.86% ส่วนผลการยับยั้งเชื้อ *Cercospora* sp. พบว่าไอโซเลท IN-MUS2 สามารถยับยั้งสูงสุดที่ 42.14% โดยพบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกัน และแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากผักกาดกวางตุ้ง (CH-MUS) 5 ไอโซเลท สามารถยับยั้งและให้ผลการวัดบริเวณยับยั้งต่อการเจริญเชื้อ *A. brassicicola* อยู่ระหว่าง 36.33 - 70.86% และเชื้อ *Cercospora* sp. อยู่ระหว่าง 16.93 - 46.15% พบว่าไอโซเลท CH-MUS1 สามารถยับยั้งเชื้อ *A. brassicicola* และเชื้อ *Cercospora* sp. สูงที่สุดมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 70.86 และ 46.15 %ตามลำดับ โดยพบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกัน และแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสที่แยกจากผักตระกูลกะหล่ำทั้งหมด 60 ไอโซเลท ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดวงแหวน และเชื้อรา *Cercospora* sp. สาเหตุโรคใบจุดตาบ พบว่ามีความสามารถการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่แตกต่างกัน และแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เชื้อ

เอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสที่ให้ผลในการยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีที่สุดได้แก่ ไอโซเลท PAI-D1, CAU1, IN-MUS1 และ KAL8 (ตารางที่ 2, ภาพที่ 11 และภาพที่ 12)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส จำนวน 60 ไอโซเลท ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria brassicicola* และ *Cercospora* sp. สาเหตุโรครีบจุดของผักตระกูลกะหล่ำ

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส (ไอโซเลท)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง <sup>1</sup> (%)	
	<i>Alternaria brassicicola</i>	<i>Cercospora</i> sp.
KAL-L1	48.89 <sup>d/2</sup>	24.66 <sup>mn</sup>
KAL-L2	70.00 <sup>tuv</sup>	31.46 <sup>hi</sup>
KAL-L3	53.33 <sup>efg</sup>	23.43 <sup>no</sup>
KAL1	52.22 <sup>def</sup>	-
KAL2	64.44 <sup>nopqr</sup>	28.53 <sup>j</sup>
KAL3	54.45 <sup>fgh</sup>	38.16 <sup>f</sup>
KAL4	53.89 <sup>hijk</sup>	-
KAL5	58.33 <sup>hijkl</sup>	-
KAL6	56.67 <sup>ghij</sup>	-
KAL7	60.55 <sup>ijklmn</sup>	-
KAL8	70.55 <sup>tuv</sup>	34.38 <sup>g</sup>
CAU1	71.11 <sup>uv</sup>	36.76 <sup>fg</sup>
CAU2	62.22 <sup>lmno</sup>	36.11 <sup>fg</sup>
CAU3	62.77 <sup>mnop</sup>	41.16 <sup>de</sup>
PAI-L1	68.33 <sup>rstu</sup>	35.77 <sup>fg</sup>
PAI-L2	63.33 <sup>mnopq</sup>	28.00 <sup>j</sup>
PAI-L3	57.78 <sup>hijk</sup>	25.03 <sup>lm</sup>
PAI-L4	56.67 <sup>ghij</sup>	26.13 <sup>kl</sup>
PAI-D1	72.77 <sup>v</sup>	54.05 <sup>a</sup>
PAI-D2	63.33 <sup>mnopq</sup>	17.92 <sup>q</sup>
PAI-D3	62.22 <sup>lmno</sup>	50.98 <sup>ab</sup>

ตารางที่ 2 (ต่อ)

เชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีส (ไอโซเลต)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง <sup>1</sup> (%)	
	<i>Alternaria brassicicola</i>	<i>Cercospora</i> sp.
PAI-D4	62.22 <sup>lmno</sup>	43.56 <sup>cd</sup>
PAI-D5	67.78 <sup>rstu</sup>	50.98 <sup>ab</sup>
PAI-D6	70.55 <sup>tuv</sup>	50.98 <sup>ab</sup>
PAI-D7	64.44 <sup>nopqr/2</sup>	33.93 <sup>gh</sup>
PAI-D8	67.22 <sup>qrstu</sup>	40.50 <sup>de</sup>
PAI-D9	66.67 <sup>pqrst</sup>	44.85 <sup>c</sup>
PAI-D10	62.77 <sup>mnop</sup>	41.78 <sup>de</sup>
PAI-D11	59.44 <sup>ijklm</sup>	34.36 <sup>g</sup>
PAI-D12	53.89 <sup>hijk</sup>	24.36 <sup>mn</sup>
PAI-D13	64.44 <sup>nopqr</sup>	24.73 <sup>mn</sup>
PAI-D14	61.66 <sup>klmno</sup>	27.37 <sup>jk</sup>
PAI-D15	55.00 <sup>fgh</sup>	27.80 <sup>jk</sup>
PAI-D16	53.89 <sup>hijk</sup>	31.29 <sup>hi</sup>
PAI-D17	56.67 <sup>fgh</sup>	27.80 <sup>jk</sup>
PAI-D18	59.44 <sup>ijklm</sup>	37.43 <sup>f</sup>
PAI-D19	53.89 <sup>hijk</sup>	34.36 <sup>g</sup>
PAI-D20	55.56 <sup>fghi</sup>	28.23 <sup>j</sup>
PAI-D21	65.55 <sup>opqrs</sup>	41.42 <sup>de</sup>
PAI-D22	62.78 <sup>mnop</sup>	41.42 <sup>de</sup>
PAI-D23	65.56 <sup>opqrs</sup>	43.56 <sup>cd</sup>
PAI-D24	68.89 <sup>stuv</sup>	40.92 <sup>de</sup>
PAI-D25	60.55 <sup>ijklmn</sup>	53.95 <sup>a</sup>

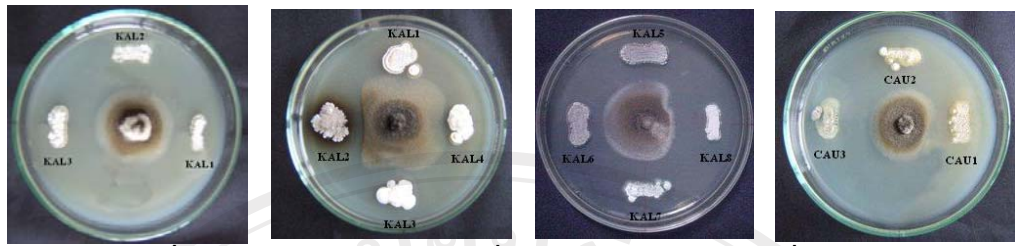
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

ตารางที่ 2 (ต่อ)

เชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีส (ไอโซเลท)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง <sup>1</sup> (%)	
	<i>Alternaria brassicicola</i>	<i>Cercospora</i> sp.
PAI-D26	58.33 <sup>hijkl</sup>	54.00 <sup>a</sup>
PAI-D27	48.89 <sup>d</sup>	53.80 <sup>a</sup>
PAI-D28	50.00 <sup>de</sup>	27.88 <sup>jk</sup>
PAI-D29	57.22 <sup>ghi</sup>	37.33 <sup>f</sup>
PAI-D30	50.00 <sup>de/2</sup>	34.06 <sup>g</sup>
PAI-D31	42.22 <sup>c</sup>	16.95 <sup>qr</sup>
PAI-D32	49.44 <sup>de</sup>	16.02 <sup>r</sup>
IN-MUS1	71.86 <sup>uv</sup>	28.05 <sup>j</sup>
IN-MUS2	68.87 <sup>stuv</sup>	42.14 <sup>de</sup>
IN-MUS3	67.50 <sup>rstu</sup>	26.18 <sup>kl</sup>
IN-MUS4	70.50 <sup>tuv</sup>	20.81 <sup>op</sup>
IN-MUS5	24.78 <sup>a</sup>	21.62 <sup>op</sup>
CH-MUS1	70.86 <sup>v</sup>	46.15 <sup>bc</sup>
CH-MUS2	67.41 <sup>qrstu</sup>	25.22 <sup>lm</sup>
CH-MUS3	70.11 <sup>tuv</sup>	37.02 <sup>f</sup>
CH-MUS4	70.49 <sup>uv</sup>	28.17 <sup>j</sup>
CH-MUS5	36.33 <sup>b</sup>	16.93 <sup>r</sup>
CV (%)	6.98	3.21
LSD	4.02	1.08

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

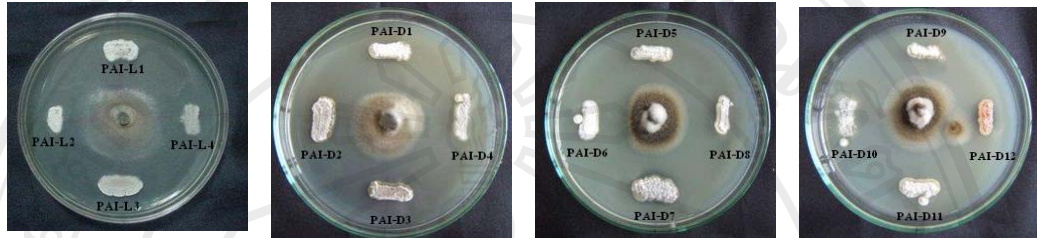
<sup>2</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่ความเชื่อมั่น 95 %



ผักคะน้าที่ราบ

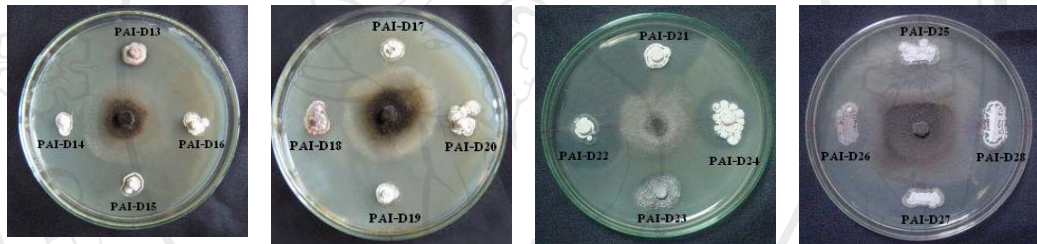
ผักคะน้าที่สูง

กะหล่ำดอก

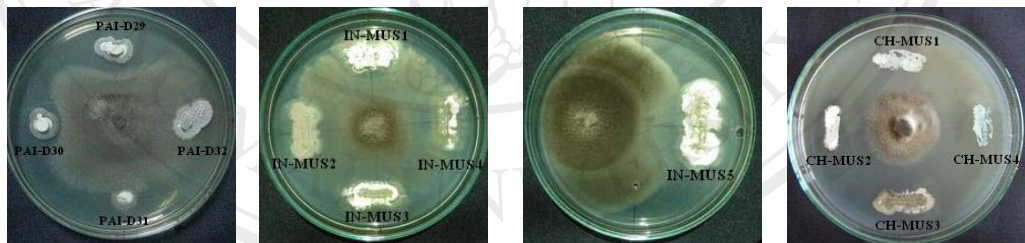


ผักฮ่องเต้ที่ราบ

ผักฮ่องเต้ที่สูง



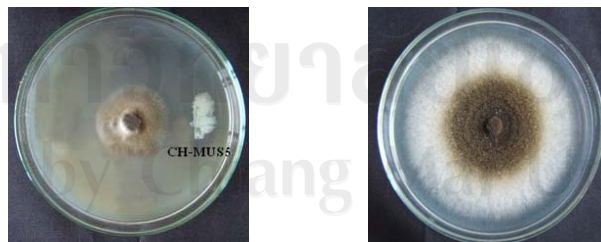
ผักฮ่องเต้ที่สูง



ผักฮ่องเต้ที่สูง

ผักกาดเขียวปลี

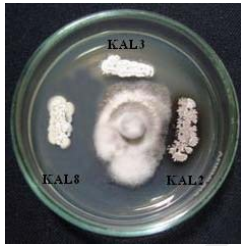
ผักกวางตุ้ง



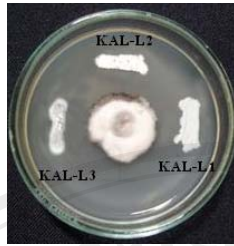
ผักกวางตุ้ง

ชุดควบคุม

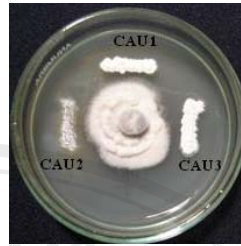
ภาพที่ 11 ประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟต์ดิก แอคติโนมัยซีส์จำนวน 60 ไอโซเลท ที่แยกได้จาก  
 คะน้า กะหล่ำดอก ผักฮ่องเต้ ผักกาดเขียวปลี และผักกวางตุ้ง ในการยับยั้งการเจริญของ  
 เชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของผักตระกูลกะหล่ำ โดยวิธี dual  
 culture เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เลี้ยงเชื้อ *A. brassicicola* อย่างเดียว



ผักคะน้าที่ราบ



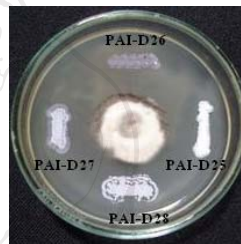
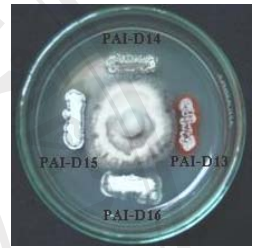
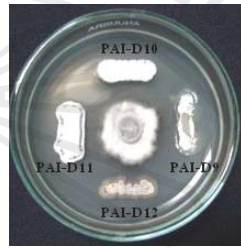
ผักคะน้าที่สูง



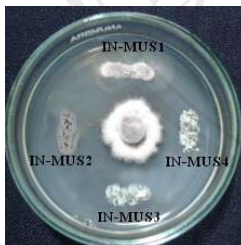
กะหล่ำดอก



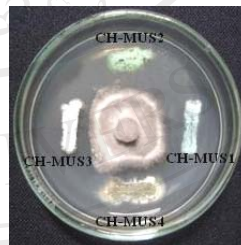
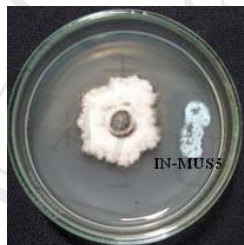
ผักฮ่องเต้ที่ราบ



ผักฮ่องเต้ที่สูง



ผักกาดเขียวปลี



ผักกวางตุ้ง



ชุดควบคุม

ภาพที่ 12 ประสิทธิภาพของเชื้ออนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส จำนวน 55 ไอโซเลทที่แยกได้จากคะน้า กะหล่ำดอก ผักฮ่องเต้ ผักกาดเขียวปลี และผักกวางตุ้ง ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Cercospora* sp. สาเหตุโรคใบจุดของผักตระกูลกะหล่ำ โดยวิธี dual culture เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เลี้ยงเชื้อ *A. brassicicola* อย่างเดียว



### 3. ปัจจัยของอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสต่อไอโซเลทที่ได้คัดเลือก ไอโซเลท PAI-D1, CAU1, IN-MUS1 และ KAL8

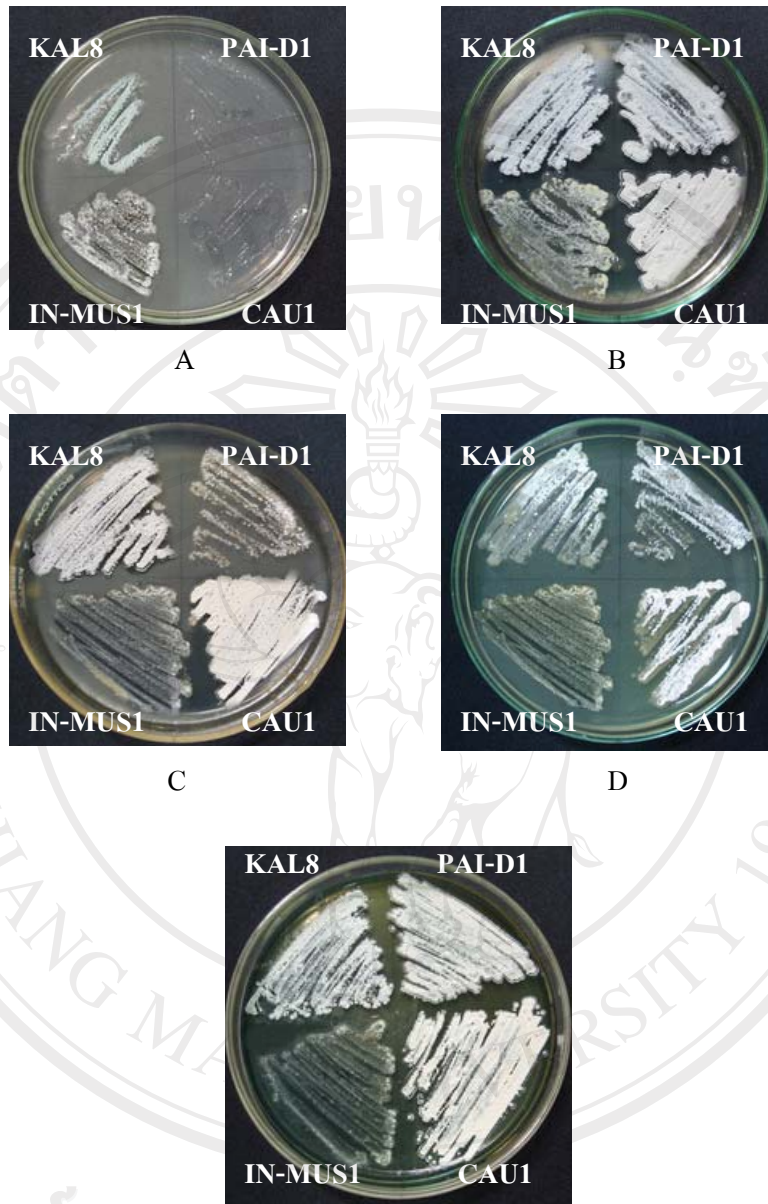
#### 3.1 ปัจจัยของอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส

จากการทดสอบเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสที่คัดเลือก โดยเลี้ยงบนอาหาร IMA-2 แล้วนำไปทดสอบที่ระดับอุณหภูมิต่างๆกัน ที่ 10, 20, 25, 30 และ 40 °C พบว่า ไอโซเลท PAI-D1 สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 40 °C เจริญได้ปานกลางที่อุณหภูมิ 20-30 °C และไม่เจริญที่อุณหภูมิ 10 °C ไอโซเลท CAU1 สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 20-25 °C สามารถเจริญได้ปานกลางที่อุณหภูมิ 30-40 °C และไม่เจริญที่อุณหภูมิ 10 °C ไอโซเลท IN-MUS1 สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 20 °C สามารถเจริญได้ปานกลางที่อุณหภูมิ 10 °C และเชื้อไม่มีการเจริญที่อุณหภูมิ 25-40 °C และไอโซเลท KAL8 สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 20-25 °C สามารถเจริญได้ปานกลางที่อุณหภูมิ 30-40 °C เชื้อเจริญน้อยที่อุณหภูมิ 10 °C ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 13

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส จำนวน 4 ไอโซเลทที่เจริญบนอาหาร IMA-2 ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลานาน 1 สัปดาห์

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส (ไอโซเลท)	ระดับอุณหภูมิ (°C)				
	10	20	25	30	40
PAI-D1	—	++	+	++	+++
CAU1	—	+++	+++	++	++
IN-MUS1	+	++	—	—	—
KAL8	+	+++	+++	++	++

— หมายถึง เชื้อไม่เจริญ  
 + „ มีการเจริญน้อย  
 ++ „ มีการเจริญปานกลาง  
 +++ „ มีการเจริญดีมาก



## ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ภาพที่ 13 ลักษณะการเจริญของเชื้อเอนโดไฟต์ดักแควคตินอมัยซิส จำนวน 4 ไอโซเลทบนอาหาร IMA-2 ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลานาน 1 สัปดาห์

A : 10 องศาเซลเซียส B : 20 องศาเซลเซียส

C : 25 องศาเซลเซียส D : 30 องศาเซลเซียส

E : 40 องศาเซลเซียส

### 3.2 ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส

นำเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท PAI-D1 CAU1 IN-MUS1 และ KAL8 ที่เลี้ยงบนอาหาร IMA-2 ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่างกันตั้งแต่ 4 ถึง 9 พบว่า ไอโซเลท PAI-D1 CAU1 และ KAL8 สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 5-9 และเจริญน้อยที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 4 ไอโซเลท IN-MUS1 สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 9 โดยมีการเจริญได้ปานกลางที่ค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 6-8 และเชื้อไม่มีการเจริญที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 4 ดังแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 14

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส จำนวน 4 ไอโซเลทที่เจริญบนอาหาร IMA-2 ที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง จาก 4 ถึง 9 เป็นเวลานาน 5 วัน

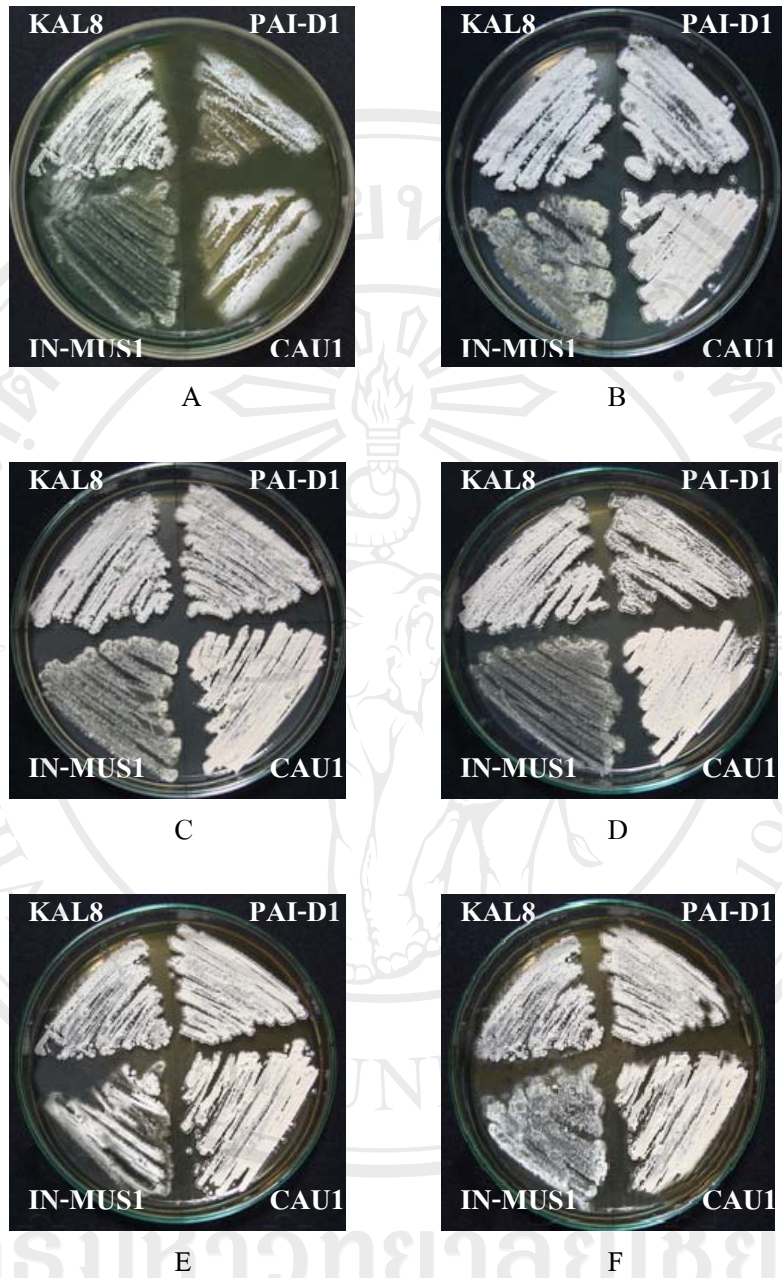
เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส (ไอโซเลท)	ระดับ pH ของอาหาร					
	4	5	6	7	8	9
PAI-D1	++	+++	+++	+++	+++	+++
CAU1	++	+++	+++	+++	+++	+++
IN-MUS1	—	+	++	++	++	+++
KAL8	++	+++	+++	+++	+++	+++

— หมายถึง เชื้อไม่เจริญ

+ ,, มีการเจริญน้อย

++ ,, มีการเจริญปานกลาง

+++ ,, มีการเจริญดีมาก



ภาพที่ 14 ลักษณะการเจริญของเชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีส จำนวน 4 ไอโซเลทบนอาหาร IMA-2 ที่ระดับค่าความเป็น กรด-ด่าง (pH) จาก 4 ถึง 9 เป็นเวลานาน 5 วัน

A : pH 4

B : pH 5

C : pH 6

D : pH 7

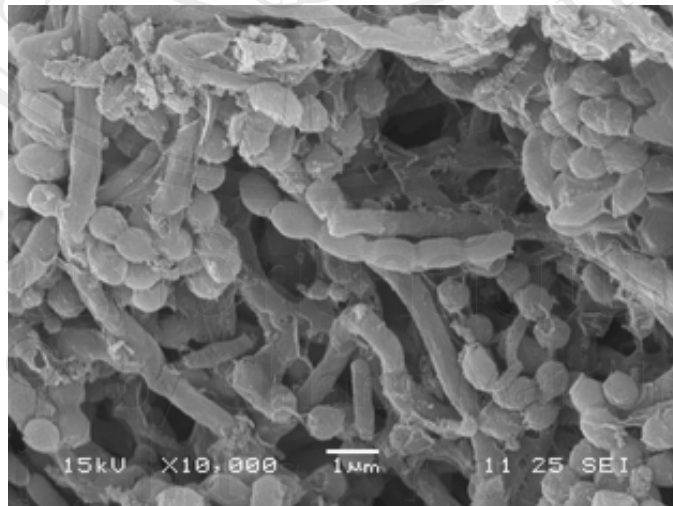
E : pH 8

F : pH 9

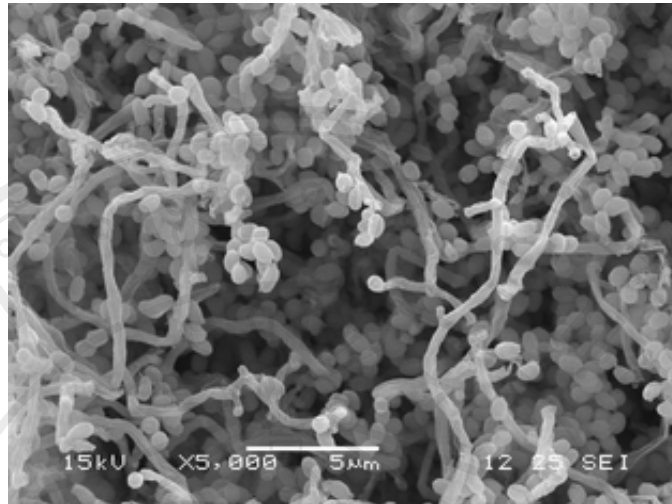
#### 4. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเอนโดไฟต์ดึก แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท CAU1, KAL8 และ PAI-D1 ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

จากการศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรดด่างที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อเอนโดไฟต์ดึก แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท PAI-D1, CAU1, IN-MUS1 และ KAL8 พบว่ามีไอโซเลท IN-MUS1 ให้ผลการทดลองที่แตกต่างไป จึงไม่นำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเอนโดไฟต์ดึก แอคติโนมัยซีส ภายใต้อุปกรณ์ SEM โดยจากการศึกษาเชื้อเอนโดไฟต์ดึก แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท PAI-D1, CAU1 และ KAL8 สามารถอธิบายลักษณะของเชื้อได้ดังนี้

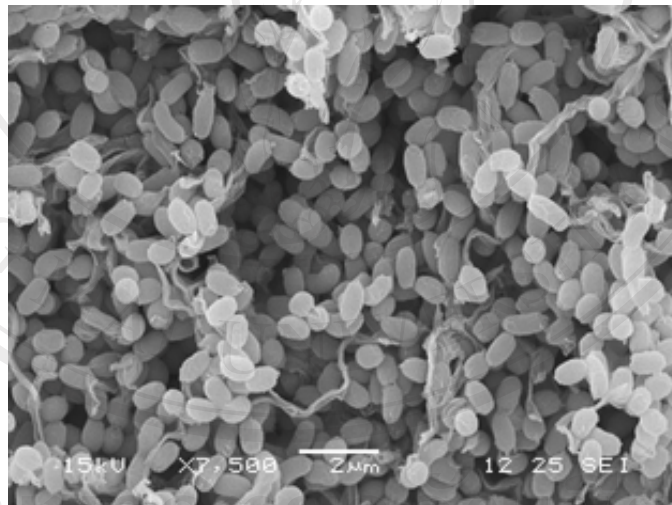
เชื้อเอนโดไฟต์ดึก แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท CAU1 ที่กำลังขยาย 10000 เท่ามีสปอร์ทั้งลักษณะเป็นท่อนสั้นถึงกลม และผิวของสปอร์เรียบ เรียงต่อกันเป็นสายสั้นถึงยาว (ภาพที่ 15) เชื้อเอนโดไฟต์ดึก แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KAL8 กำลังขยาย 5000 เท่าสปอร์มีรูปร่างเป็นท่อนสั้นถึงกลมรีเป็นรูปไข่ (oval) ผิวของสปอร์เรียบ สปอร์มีขนาดเล็ก ซึ่งเล็กกว่าไอโซเลท CAU1 (ภาพที่ 16) ส่วนเชื้อเอนโดไฟต์ดึก แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท PAI-D1 ที่กำลังขยาย 7500 เท่าสปอร์มีทั้งลักษณะเป็นรูปไข่จนถึงเป็นท่อน และโค้งงอเล็กน้อยสปอร์ผิวเรียบ เรียงต่อกันเป็นสายยาว (ภาพที่ 17) จากการศึกษภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด พบว่าเชื้อเอนโดไฟต์ดึก แอคติโนมัยซีสมีลักษณะที่คล้ายกัน



ภาพที่ 15 ลักษณะสปอร์ของเชื้อเอนโดไฟต์ดึก แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท CAU1 ภายใต้อุปกรณ์ SEM กำลังขยาย 10000 เท่า



ภาพที่ 16 ลักษณะสปอร์ของเชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท KAL8 ภายใต้อุปกรณ์ SEM  
กำลังขยาย 5000 เท่า



ภาพที่ 17 ลักษณะสปอร์ของเชื้อเอนโดไฟต์ติก แอคติโนมัยซีส ไอโซเลท PAI-D1 ภายใต้อุปกรณ์  
SEM กำลังขยาย 7500 เท่า

## 5. การวิเคราะห์ดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP)

จากการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสจากพืชตระกูลกะหล่ำ 60 สายพันธุ์ และเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสที่เป็นสาเหตุโรคนแผลสะเก็ดหัวมันฝรั่ง (potato scab) ที่เกิดจากเชื้อ *Streptomyces scabies* จำนวน 2 สายพันธุ์ เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสที่แยกจากพืชตระกูลกะหล่ำ จากการตรวจปริมาณดีเอ็นเอ โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส ในอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อตรวจสอบคุณภาพ และปริมาณของดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน โดยนำดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา PCR ร่วมกับไพรเมอร์ F1 (5'-AGAGTTTGATCITGGCTCAG-3') และ R5 (5'-ACGGITACCTTGTTACGACTT-3') บริเวณยีน 16S rDNA ของเชื้อแอคติโนมัยซีส พบว่าได้ผลิตภัณฑ์ PCR ขนาดประมาณ 1500 คู่เบส (ภาพที่ 18) เมื่อนำเอาผลผลิตของ PCR มาย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 3 ชนิดคือ *EcoRV*, *KpnI* และ *PstI* นำมาตรวจสอบบนอะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิส หลังจากการย่อย พบว่า เมื่อใช้เอนไซม์ *EcoRV* ย่อยได้แถบดีเอ็นเอรูป 2 แถบ คือ ได้ดีเอ็นเอที่มีขนาด 850 และ 650 คู่เบส ซึ่งพบเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสทุกสายพันธุ์ (ภาพที่ 19) และเมื่อย่อยด้วยเอนไซม์ *KpnI* ก็ได้แถบดีเอ็นเอรูปแบบเดียว แต่ได้ดีเอ็นเอ 2 แถบคือ ขนาดประมาณ 1,050 และ 500 คู่เบส ตามลำดับ (ภาพที่ 20) สำหรับเอนไซม์ *PstI* ได้รูปแบบเอ็นเอ 4 แบบ คือ แบบที่ 1 ได้ดีเอ็นเอ 3 แถบ ขนาดประมาณ 950, 450 และ 150 คู่เบส แบบที่ 2 ได้ดีเอ็นเอ 2 แถบ ขนาดประมาณ 1,050 และ 450 คู่เบส แบบที่ 3 ได้ดีเอ็นเอ 2 แถบ ขนาดประมาณ 850 และ 650 คู่เบส แบบที่ 4 ได้ดีเอ็นเอ 2 แถบ ขนาดประมาณ 1,000 และ 500 คู่เบส (ภาพที่ 21)

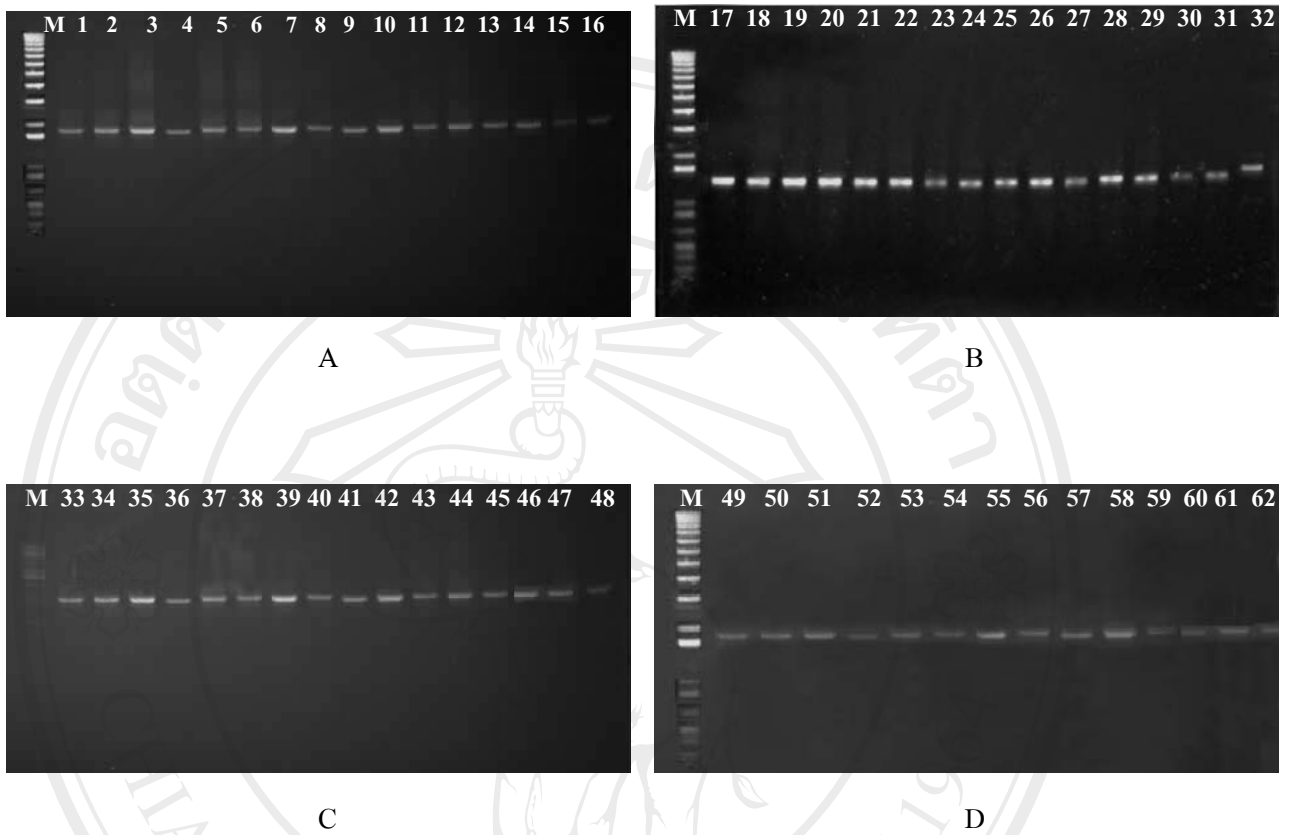
เมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc เพื่อจัดกลุ่มเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีสจำนวน 62 ไอโซเลท ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มได้ 4 กลุ่ม ที่ค่า similarity 0.77

กลุ่ม A ประกอบด้วย CAU1, CAU3, KAL1- KAL4, KAL6, KAL7, PAI-L1- PAI-L4, PAI-D1, PAI-D3, PAI-D5, PAI-D8, PAI-D10, PAI-D12 - PAI-D16, PAI-D18, PAI-D19, PAI-D21, PAI-D24, PAI-D26 - PAI-D28, PAI-D30 - PAI-D32, IN-MUS1 - IN-MUS4, CH-MUS1 - CH-MUS3 และ CH-MUS5

กลุ่ม B ประกอบด้วย Potato1, Potato2, KAL5, KAL8, KAL-L1, KAL-L2, PAI-D2, PAI-D6, PAI-D9, PAI-D17, PAI-D20, PAI-D22, PAI-D25 PAI-D29, CH-MUS4 และ IN-MUS5

กลุ่ม C ประกอบด้วย CAU2, PAI-D4 และ PAI-D11

กลุ่ม D ประกอบด้วย KAL-L3, PAI-D7 และ PAI-D23 (ภาพที่ 22)



ภาพที่ 18 ลักษณะแถบดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีต จำนวน 62 ไอโซเลทที่แยกด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ยีนที่ตำแหน่ง 16S rDNA

M : marker 1 kb ladder

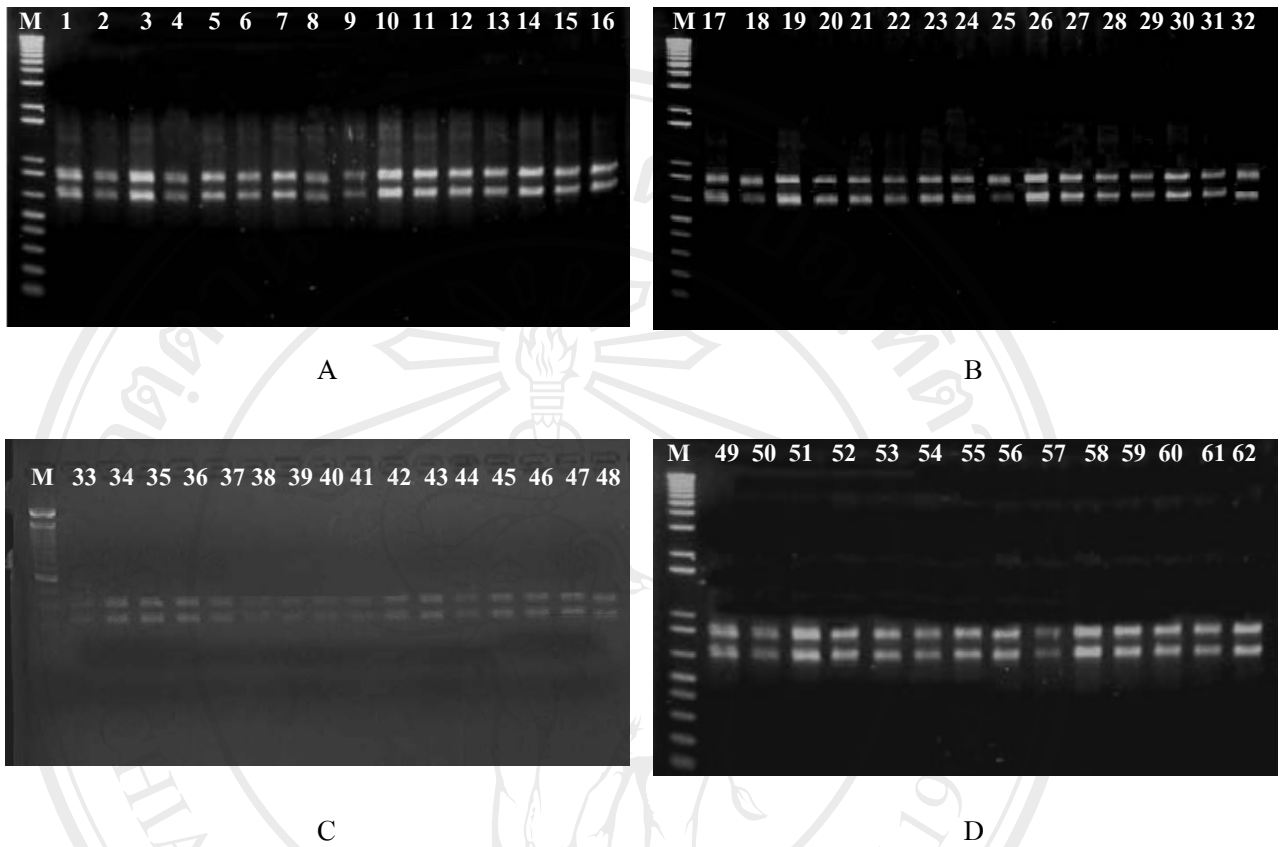
A : ไอโซเลทที่ 1-16 ได้แก่ ไอโซเลท Potato1, Potato2, CAU1 - CAU3, KAL1- KAL8 และ KAL-L1- KAL-L3

B : ไอโซเลทที่ 17 - 32 ได้แก่ ไอโซเลท CH-MUS1- CH-MUS5, IN-MUS1- IN-MUS5 และ PAI-D1- PAI-D6

C : ไอโซเลทที่ 33 - 48 ได้แก่ ไอโซเลท PAI-D7- PAI-D22

D : ไอโซเลทที่ 49 - 62 ได้แก่ ไอโซเลท PAI-D23- PAI-D32 และ PAI-L1- PAI-L4





ภาพที่ 19 ลักษณะแถบดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส จำนวน 62 ไอโซเลท ที่แยกด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *EcoRV*

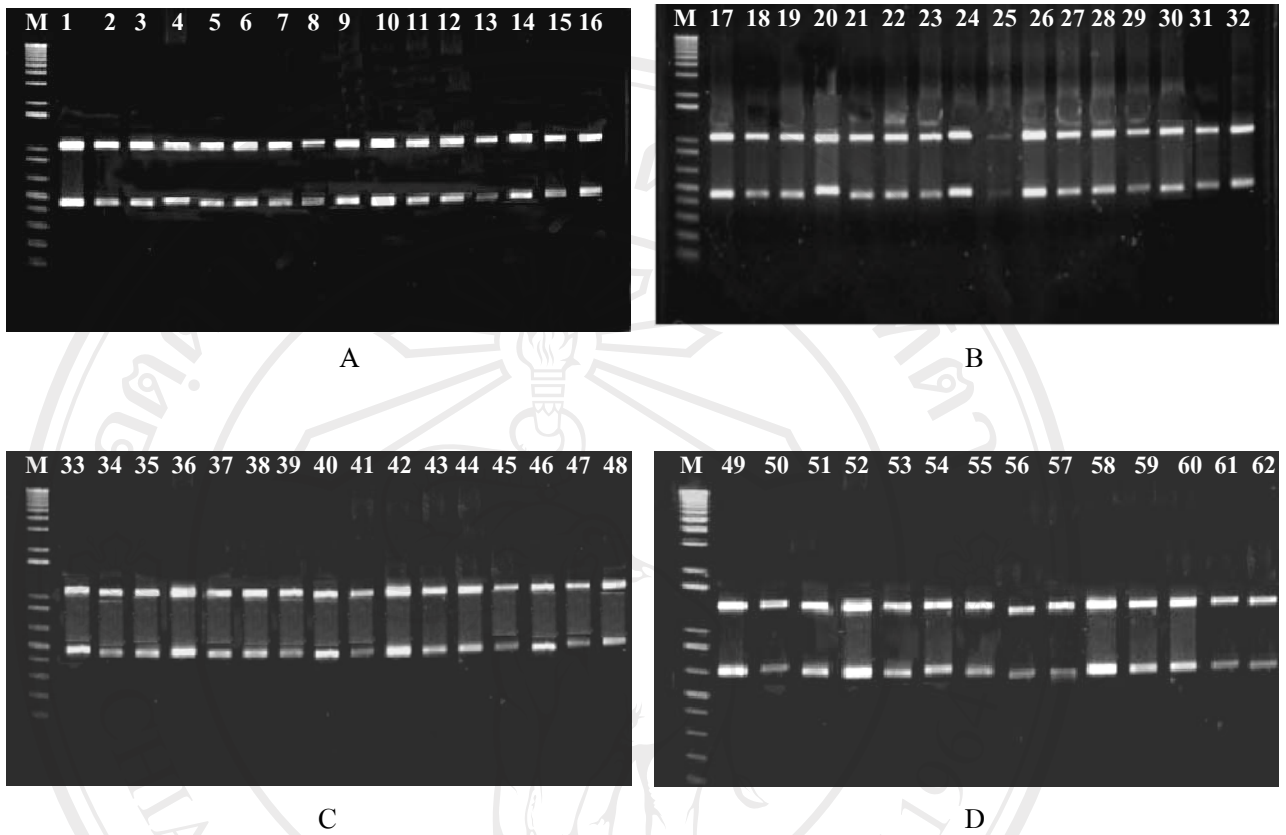
M : marker 1 kb ladder

A : ไอโซเลทที่ 1-16 ได้แก่ ไอโซเลท Potato1, Potato2, CAU1 - CAU3, KAL1- KAL8 และ KAL-L1- KAL-L3

B : ไอโซเลทที่ 17 – 32 ได้แก่ ไอโซเลท CH-MUS1- CH-MUS5, IN-MUS1- IN-MUS5 และ PAI-D1- PAI-D6

C : ไอโซเลทที่ 33 – 48 ได้แก่ ไอโซเลท PAI-D7- PAI-D22

D : ไอโซเลทที่ 49 – 62 ได้แก่ ไอโซเลท PAI-D23- PAI-D32 และ PAI-L1- PAI-L4



ภาพที่ 20 ลักษณะแถบดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซิส จำนวน 62 ไอโซเลท ที่แยกด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *KpnI*

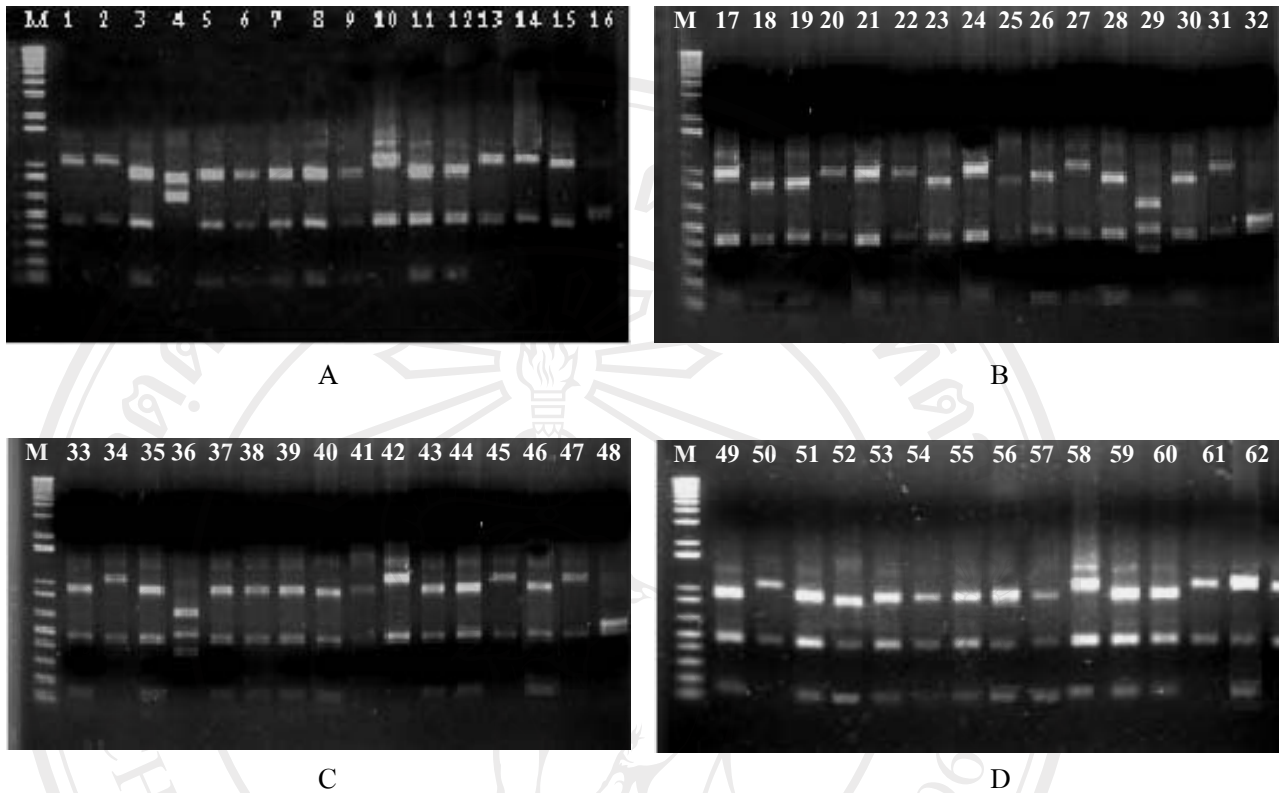
M : marker 1 kb ladder

A : ไอโซเลทที่ 1-16 ได้แก่ ไอโซเลท Potato1, Potato2, CAU1 - CAU3, KAL1- KAL8 และ KAL-L1- KAL-L3

B : ไอโซเลทที่ 17 – 32 ได้แก่ ไอโซเลท CH-MUS1- CH-MUS5, IN-MUS1- IN-MUS5 และ PAI-D1- PAI-D6

C : ไอโซเลทที่ 33 – 48 ได้แก่ ไอโซเลท PAI-D7- PAI-D22

D : ไอโซเลทที่ 49 – 62 ได้แก่ ไอโซเลท PAI-D23- PAI-D32 และ PAI-L1- PAI-L4



ภาพที่ 21 ลักษณะแถบดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ดิก แอคติโนมัยซีส จำนวน 62 ไอโซเลท ที่แยกด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Pst*I

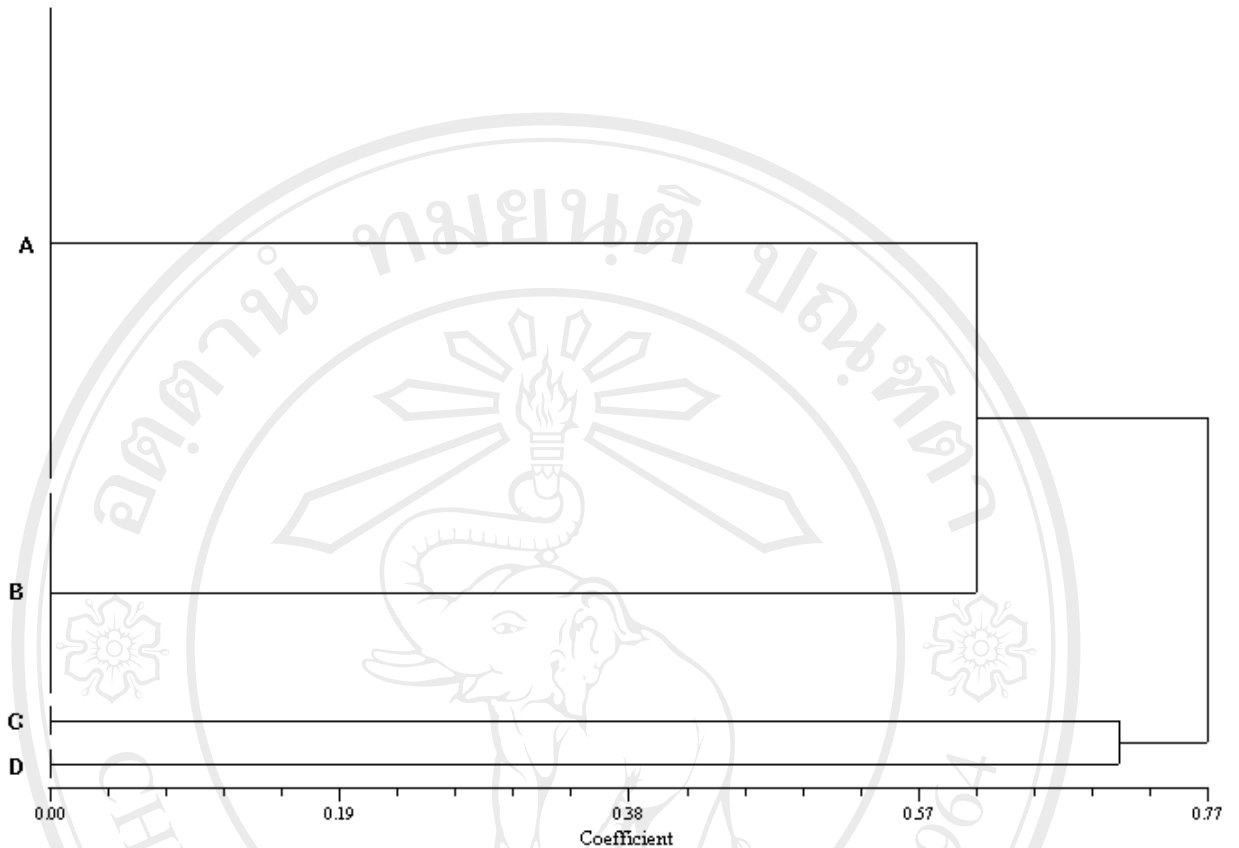
M : marker 1 kb ladder

A : ไอโซเลทที่ 1-16 ได้แก่ ไอโซเลท Potato1, Potato2, CAU1 - CAU3, KAL1- KAL8 และ KAL-L1- KAL-L3

B : ไอโซเลทที่ 17 - 32 ได้แก่ ไอโซเลท CH-MUS1- CH-MUS5, IN-MUS1- IN-MUS5 และ PAI-D1- PAI-D6

C : ไอโซเลทที่ 33 - 48 ได้แก่ ไอโซเลท PAI-D7- PAI-D22

D : ไอโซเลทที่ 49 - 62 ได้แก่ ไอโซเลท PAI-D23- PAI-D32 และ PAI-L1- PAI-L4



ภาพที่ 22 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซีส จากการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 8 polymorphic band ทั้ง 62 ไอโซเลท โดยวิธี UPGMA ด้วยค่า Dice's similarity coefficient ที่ค่า similarity เท่ากับ 0.77 แบ่งได้ 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่ม A : CAU1, CAU3, KAL1-KAL4, KAL6, KAL7, PAI-L1-PAI-L4, PAI-D1,

PAI-D3, PAI-D5, PAI-D8, PAI-D10, PAI-D12-PAI-D16, PAI-D18, PAI-D19,

PAI-D21, PAI-D24, PAI-D26, PAI-D27, PAI-D28, PAI-D30, PAI-D31, PAI-

D32, IN-MUS1, IN-MUS2, IN-MUS3, IN-MUS4, CH-MUS1, CH-MUS2, CH-

MUS3 และ CH-MUS5

กลุ่ม B : Potato1, Potato2, KAL5, KAL8, KAL-L1, KAL-L2, PAI-D2, PAI-D6, PAI-D9,

PAI-D17, PAI-D20, PAI-D22, PAI-D25 PAI-D29, CH-MUS4 และ IN-MUS5

กลุ่ม C : CAU2, PAI-D4 และ PAI-D11

กลุ่ม D : KAL-L3, PAI-D7 และ PAI-D23