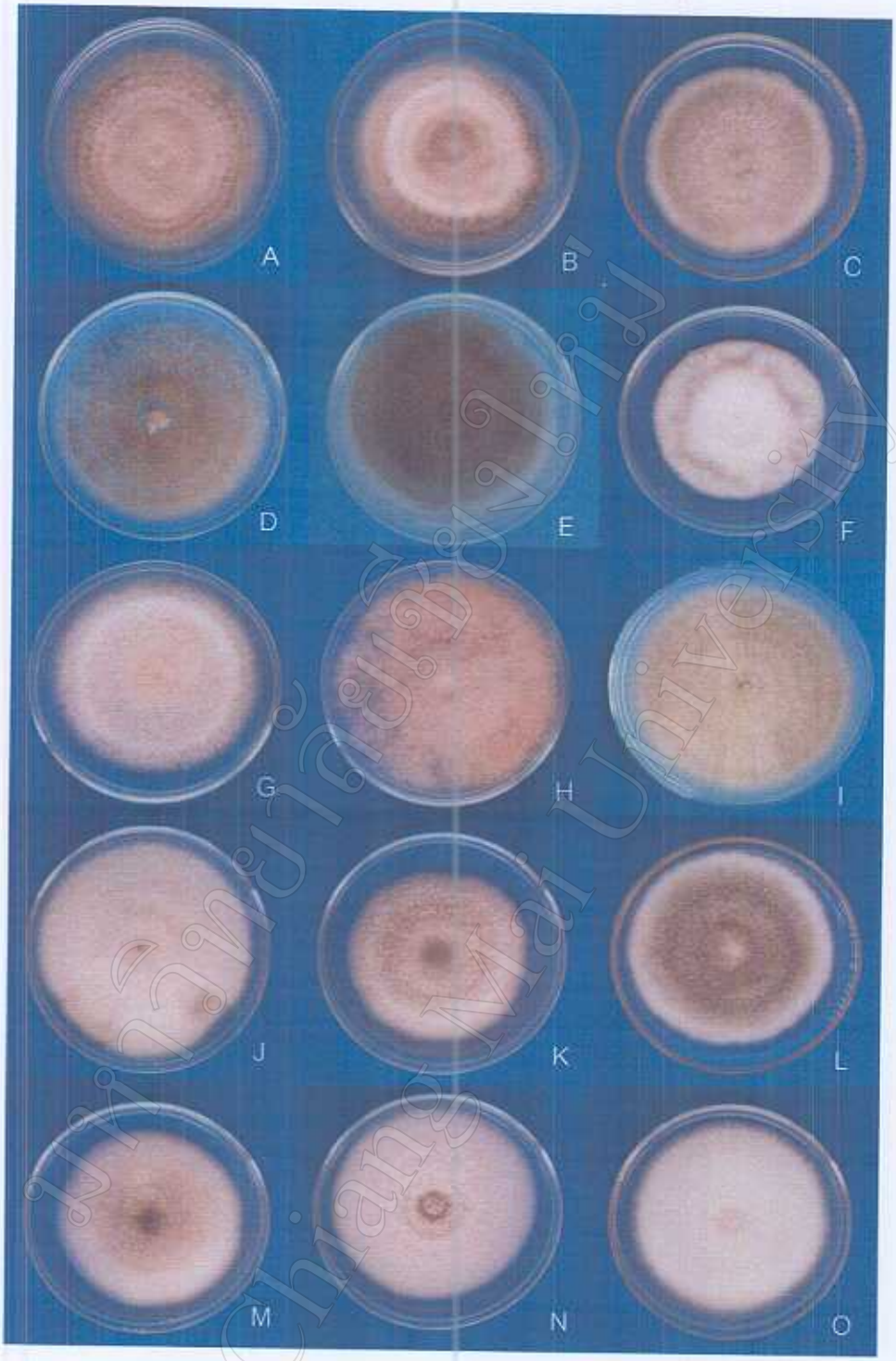
บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้จากพืชต่างชนิดกัน

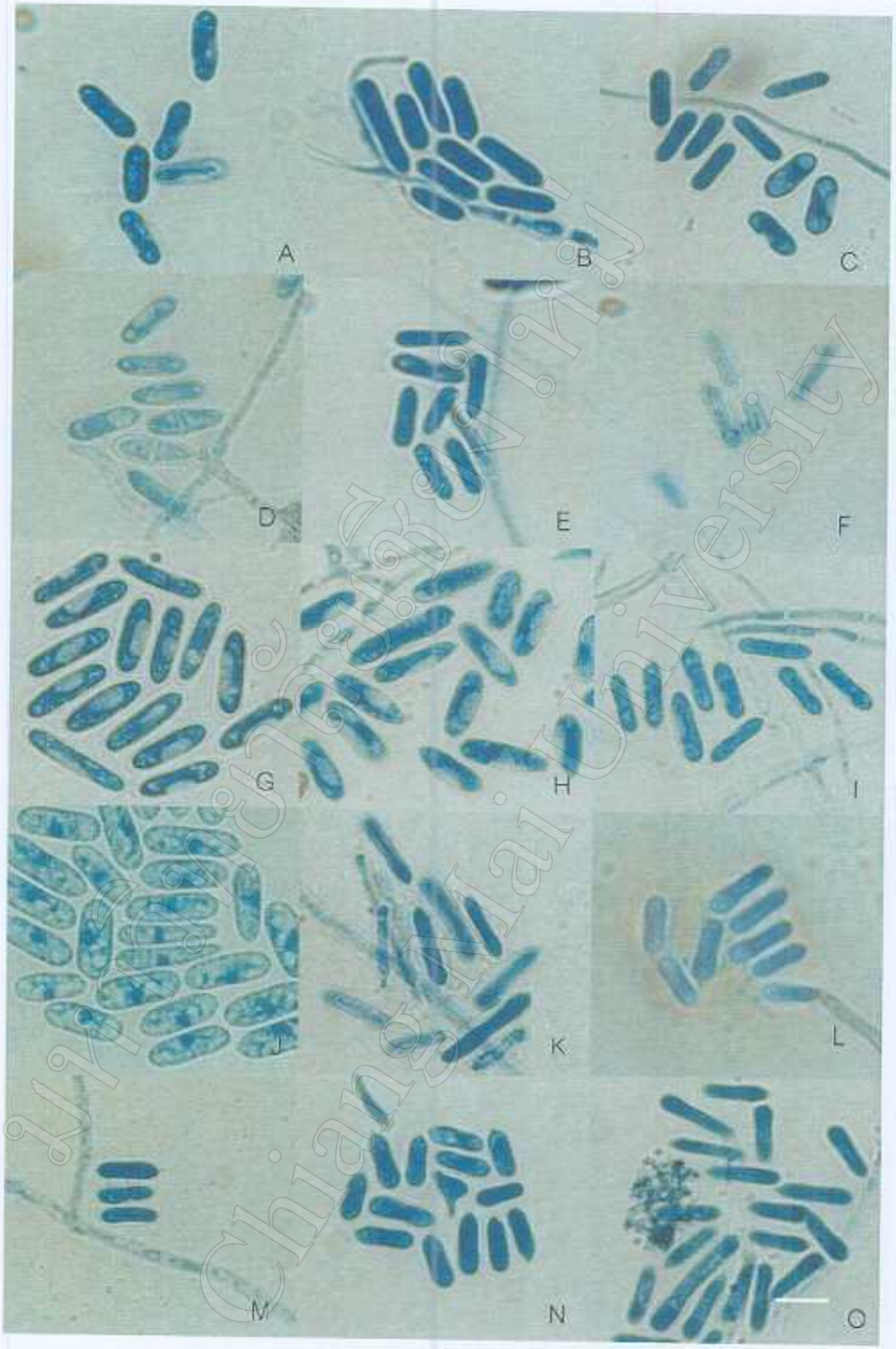
จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้จากพืชต่างชนิด โดยนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA และทำ slide culture พบว่าเชื้อราที่แยกได้สร้างโคโลนีมีสีแตกต่างกัน ตั้งแต่สีทั้งขาว ส้ม เขียว จนถึงเทา (ภาพที่ 2) สร้าง conidia รูปทรงกระบอกตรง มีขนาดตั้งแต่ 3.00-4.68 × 12.38-14.60 ไมครอน (ภาพที่ 3) สร้าง appressoria ทั้งแบบผิวเรียบและผิวขรุขระ มีขนาดตั้งแต่ 5.58-8.22 × 9.09-13.73 ไมครอน (ภาพที่ 4) เชื้อราที่แยกได้ส่วนใหญ่ไม่มีการสร้าง setae ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ยกเว้นเชื้อราที่แยกได้จากมะนาวเพียงไอโซเลทเดียว สำหรับ sclerotia พบสร้างเชื้อราที่แยกได้จาก ทับทิม ส้ม 1 กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า กล้วยไม้ ข้าวฟ่าง และมะนาว อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อมีตั้งแต่ 0.82-1.72 เซนติเมตรต่อวัน จากลักษณะและขนาดของ conidia และ appressoria ลักษณะ colony การสร้าง sclerotia และ setae บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และอัตราการเจริญเติบโตมีความแตกต่างกัน เมื่อนำลักษณะทางสัณฐานวิทยา และพืชอาศัย มาจัดจำแนกสปีชีส์ของเชื้อราแต่ละไอโซเลท โดยใช้หลักเกณฑ์ในการจำแนกของ Sutton (1980) พบว่าเชื้อราทุกไอโซเลทถูกจัดอยู่ใน *C. gloeosporioides* (ตารางที่ 6)



ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 15 ไอโซเลทที่แยกได้จากพืชอาศัยชนิดต่างๆ

A. สตรอเบอรี่ 1 B. สตรอเบอรี่ 2 C. ทับทิม D. ส้ม 1 E. ส้ม 2 F. ฝรั่ง
G. กล้วยหอม H. กล้วยน้ำว้า I. ลำไย J. พลับ K. กาแฟ L. กล้วยไม้
M. ข้าวฟ่าง N. มะนาว O. พริก

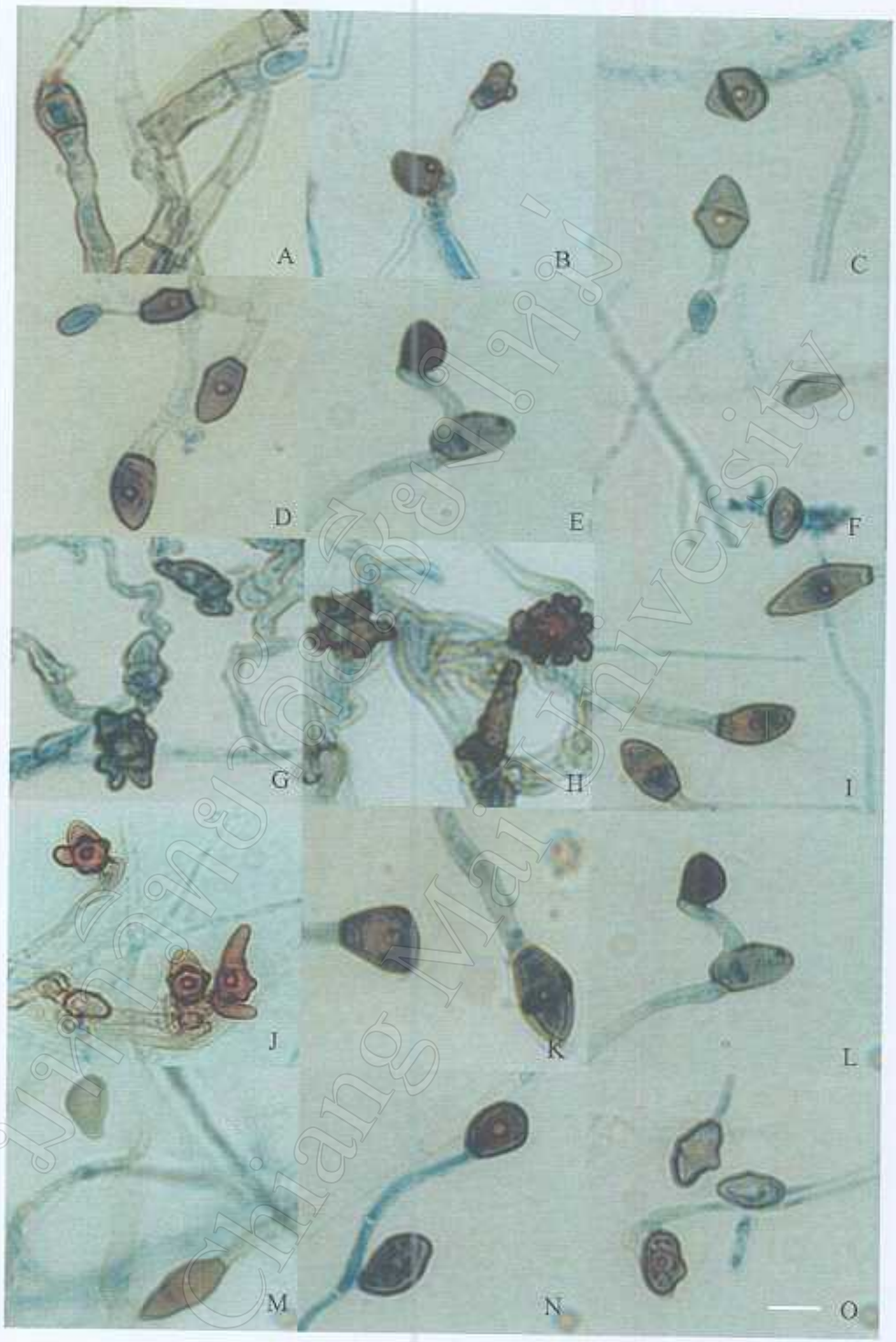
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



ภาพที่ 3 ลักษณะ conidia ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ทั้ง 15 ไอโซเลทที่แยกได้จาก พืชอาศัยชนิดต่างๆ เมื่อทำการย้อมด้วย lactophnol cottonblue

A. สตรอเบอรี่ 1 B. สตรอเบอรี่ 2 C. ทับทิม D. ส้ม 1 E. ส้ม 2 F. ฝรั่ง
G. กล้วยหอม H. กล้วยน้ำว้า I. ลำไย J. พลับ K. กาแฟ L. กล้วยไม้
M. ข้าวฟ่าง N. มะนาว O. พริก (บาร์ = 10 ไมครอน)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



ภาพที่ 4 ลักษณะ appressoria ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. บนอาหาร PCA ทั้ง 15 ไอโซเลทที่แยกได้จากพืชอาศัยชนิดต่างๆ เมื่อทำการย้อมด้วย lactophenol cottonblue

A. สตรอเบอรี่ 1 B. สตรอเบอรี่ 2 C. ทับทิม D. ส้ม 1 E. ส้ม 2 F. ฝรั่ง
G. กล้วยหอม H. กล้วยน้ำว้า I. ลำไย J. พลับ K. กาแฟ L. กล้วยไม้
M. ข้าวฟ่าง N. มะนาว O. พริก (บาร์ = 10 ไมครอน)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ตารางที่ 6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* ที่แยกจากพืชอาศัยชนิดต่างๆ

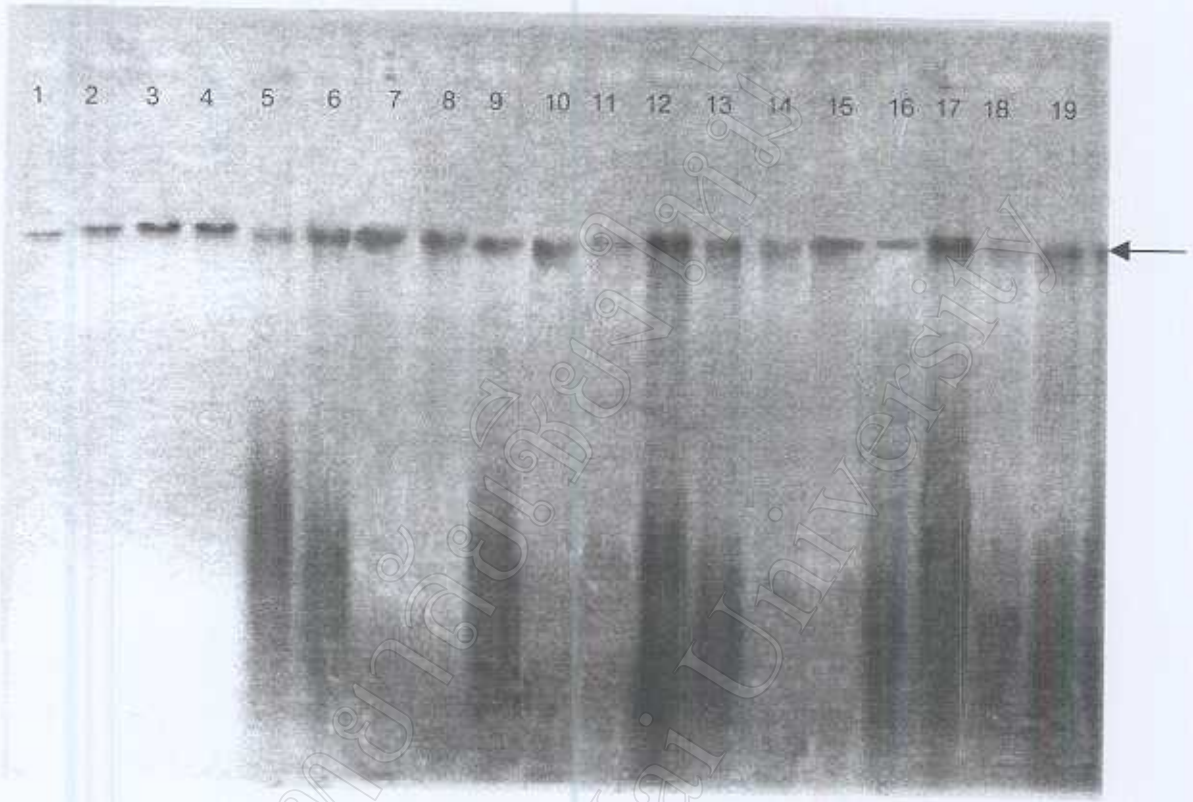
พืชอาศัย	ลักษณะโคโลนีและเส้นใย	Conidia		Appressoria		Sclerotia	Setae	อัตราการเจริญ (cm/day)	สปีชีส์
		ขนาด	ลักษณะ	ขนาด	ลักษณะ				
สตรอเบอรี่ 1	สีขาวถึงเทาอ่อนอมชมพู	3.34 × 13.51	ทรงกระบอก	5.58 × 10.13	ผิวเรียบ	ไม่มี	ไม่มี	0.95	*C. gloeosporioides*
สตรอเบอรี่ 2	ขาวถึงเทาอ่อนอมชมพู	3.08 × 12.67	ทรงกระบอก	6.47 × 10.12	ผิวเรียบ	ไม่มี	ไม่มี	0.82	*C. gloeosporioides*
ทับทิม	ขาวถึงเทา	3.10 × 13.08	ทรงกระบอก	5.70 × 9.09	ผิวเรียบ	มี	ไม่มี	1.43	*C. gloeosporioides*
ส้ม 1	ขาวถึงเขียว	4.37 × 12.90	ทรงกระบอก	6.54 × 13.73	ผิวเรียบ	มี	ไม่มี	1.59	*C. gloeosporioides*
ส้ม 2	ขาวถึงเทาเข็มเกือบดำ	4.68 × 12.51	ทรงกระบอก	6.86 × 13.08	ผิวเรียบ	ไม่มี	ไม่มี	1.33	*C. gloeosporioides*
ฝรั่ง	ขาวถึงเทา	3.00 × 14.19	ทรงกระบอก	6.16 × 10.84	ผิวเรียบ	ไม่มี	ไม่มี	1.07	*C. gloeosporioides*
กล้วยหอม	ขาวถึงชมพูส้ม	3.78 × 13.59	ทรงกระบอก	8.22 × 11.15	ผิวขรุขระ	มี	ไม่มี	1.65	*C. gloeosporioides*
กล้วยน้ำว้า	ขาวถึงชมพูส้ม	3.58 × 12.69	ทรงกระบอก	7.86 × 11.15	ผิวขรุขระ	มี	ไม่มี	1.72	*C. gloeosporioides*
ลำไย	ขาวถึงเทา	3.03 × 12.51	ทรงกระบอก	6.58 × 11.15	ผิวเรียบ	ไม่มี	ไม่มี	1.46	*C. gloeosporioides*
พลับ	ขาวถึงเทา	4.47 × 14.34	ทรงกระบอก	6.35 × 11.20	ผิวขรุขระ	ไม่มี	ไม่มี	1.12	*C. gloeosporioides*
กาแฟ	ขาวถึงเทาเข้ม	3.21 × 14.60	ทรงกระบอก	6.17 × 10.10	ผิวเรียบ	ไม่มี	ไม่มี	1.15	*C. gloeosporioides*
กล้วยไม้	ขาวถึงเทาเข็ม	3.10 × 12.64	ทรงกระบอก	6.08 × 10.51	ผิวเรียบ	มี	ไม่มี	1.43	*C. gloeosporioides*
ข้าวฟ่าง	ขาวถึงเทา	3.44 × 12.56	ทรงกระบอก	7.07 × 11.08	ผิวเรียบ	มี	ไม่มี	1.15	*C. gloeosporioides*
มะนาว	ขาวถึงเทา	3.42 × 12.38	ทรงกระบอก	6.68 × 10.36	ผิวเรียบ	มี	มี	1.24	*C. gloeosporioides*
พริก	ขาวถึงเทา	3.00 × 12.44	ทรงกระบอก	6.48 × 11.05	ผิวเรียบ	ไม่มี	ไม่มี	1.33	*C. gloeosporioides*

2. การสกัดดีเอ็นเอจากเส้นใยของเชื้อราและตรวจสอบคุณภาพ

จากการเลี้ยงเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากพืชอาศัยต่างชนิด นำมาเลี้ยงในอาหาร PDB เป็นเวลา 1-2 วัน จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ตั้งทิ้งไว้จนเส้นใยแห้ง (สังเกตุจากที่ไม่มีน้ำหยดลงมา) แล้วจึงนำมาทำการสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการที่ได้ดัดแปลงจาก Rogers และ Bendich (1988) เมื่อนำมาตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (Lamda DNA marker) ที่ความเข้มข้น 25, 50, 100 และ 200 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ด้วย agarose gel electrophoresis พบว่ามีปริมาณดีเอ็นเออยู่ในช่วงตั้งแต่ 25-200 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร (ดังแสดงในภาพที่ 5) ซึ่งจากภาพที่ 5 จะเห็นว่า เชื้อราที่แยกได้จากสตรอเบอรี่ 1 กล้วยหอม กล้วยไม้ และมะนาว ดีเอ็นเอมีความเข้มข้นประมาณ 25 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ในขณะที่เชื้อราซึ่งแยกได้จากลำไย พลับ กาแฟ และ พริก ดีเอ็นเอมีความเข้มข้นประมาณ 50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เชื้อราที่แยกได้จากสตรอเบอรี่ 2 ทับทิม ส้ม 1 ส้ม 2 และ ฝรั่ง ดีเอ็นเอมีความเข้มข้นประมาณ 100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เชื้อราที่แยกได้จากกล้วยน้ำว้า และข้าวฟ่าง ดีเอ็นเอมีความเข้มข้นประมาณ 200 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

3. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้ง 15 ไอโซเลทจากการทำ AFLP

เมื่อนำดีเอ็นเอ 500 นาโนกรัม มาย่อยด้วยเอนไซม์ *Eco*RI และ *Mse*I อย่างละ 5 unit ทำการตรวจสอบประสิทธิภาพการย่อย โดยสุ่มตรวจ 6 ไอโซเลทจากดีเอ็นเอของเชื้อราตัวอย่างทั้งหมด 15 ไอโซเลท คือ ส้ม 1 ส้ม 2 ทับทิม กล้วยน้ำว้า กาแฟ และกล้วยไม้ นำมาตรวจสอบด้วยวิธี agrose gel electrophoresis พบว่าสามารถย่อยได้อย่างสมบูรณ์ โดยไม่พบแถบ ดีเอ็นเออยู่บนเจลแสดงว่า ดีเอ็นเอของเชื้อราที่แยกได้มีความเหมาะสมที่จะนำมาวิเคราะห์ขั้นต่อไป จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ตัดด้วย enzyme แล้ว มาเชื่อมต่อกับ adapter ทั้งสองชนิด คือ *Eco*RI-adapter และ *Mse*I-adapter และเมื่อนำไปทำ PCR ครั้งที่หนึ่งโดยใช้ primer 2 ชนิด ที่มีลำดับเบสเข้าชุดกับ adapter แต่ยาวกว่าลำดับเบสของ adapter ที่ปลาย 3' อยู่ 1 คู่เบส คือ *Eco*RI-A /*Mse*I-C ทำปฏิกิริยา จำนวน 30 รอบ โดย denaturing ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที annealing ที่ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และ polymerizing ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วินาที จากนั้นนำมาตรวจสอบด้วยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) พบว่าแถบดีเอ็นเอมีลักษณะเป็นปื้น จึงต้องนำผลผลิต PCR ครั้งที่หนึ่ง นำมาทำเจือจาง 10 เท่าด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและใช้เป็น template ในปฏิกิริยา PCR ครั้งที่สอง โดยใช้ primer ทั้ง 4 คู่ คือ



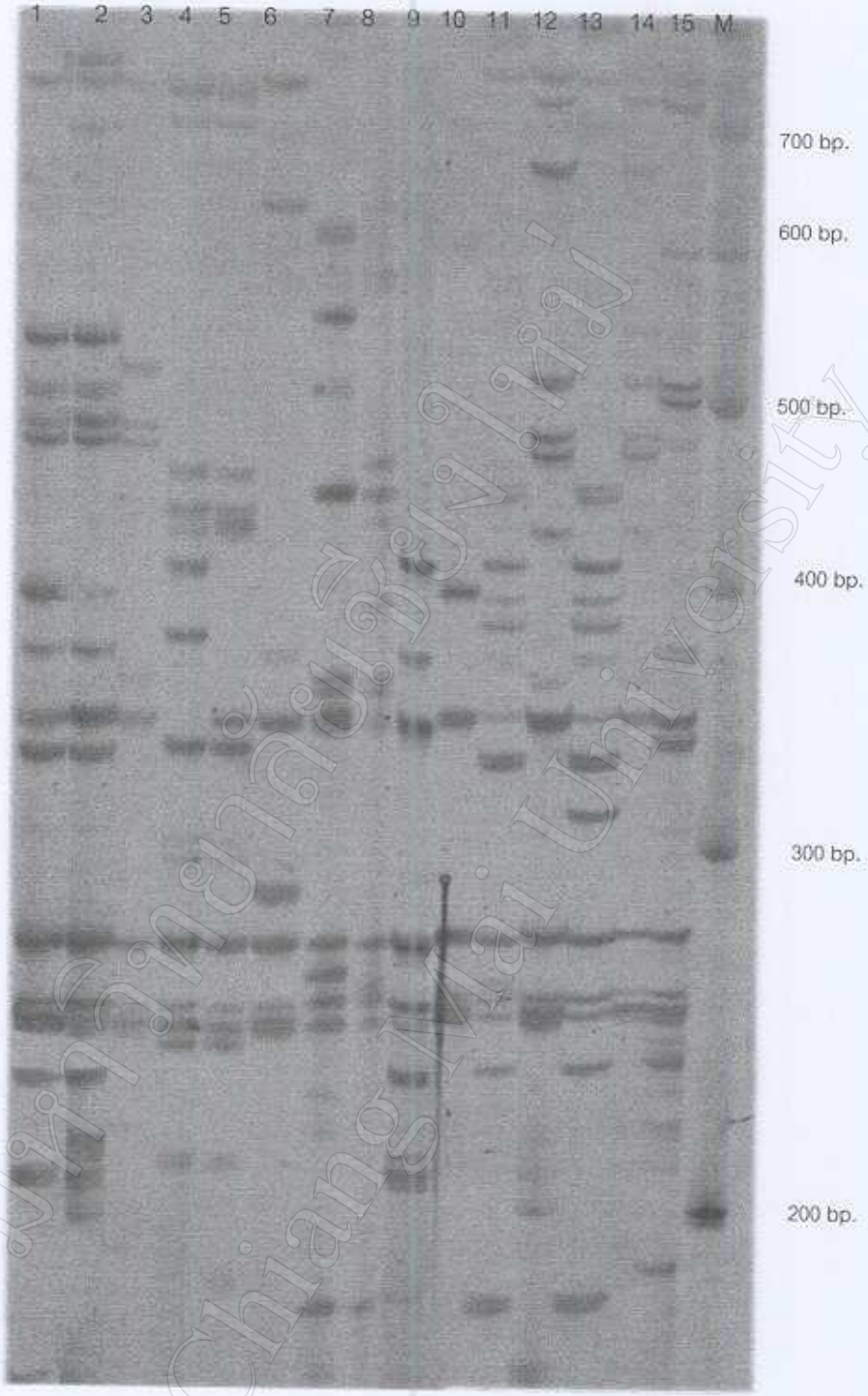
ภาพที่ 5 ปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 15 ไอโซเลทที่แยกได้จากพืชอาศัยชนิดต่างๆ

จากภาพ lane ที่ 1-4 คือ Lamda DNA marker ที่ความเข้มข้น 25, 50, 100 และ 200 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ตามลำดับ lane ที่ 5-9 คือ ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเชื้อราที่แยกได้จากพืชอาศัยสตรอเบอรี่ 1 สตรอเบอรี่ 2 ทับทิม ส้ม 1 ส้ม 2 ฝรั่ง กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า ลำไย พลับ กาแฟ กล้วยไม้ ข้าวฟ่าง มะนาว และ พริก ตามลำดับ (ลูกศรแสดงแถบดีเอ็นเอ)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

*Eco*RI-A/*Mes*I-CAG, *Eco*RI-A/*Mes*I-CAC, *Eco*RI-A/*Mes*I-CAT, *Eco*RI-AC/*Mes*I-C ปฏิกิริยา PCR ที่จะเริ่มต้นที่ 1 รอบของ denaturing ที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที annealing ที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที และ polymerizing ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นปรับให้ annealing temperature ลดลง 1 องศาเซลเซียสในทุกๆ รอบจนอุณหภูมิลดลง เหลือ 56 องศาเซลเซียส แล้วทำต่ออีก 25 รอบ จากนั้นนำผลผลิตดีเอ็นเอจาก PCR ครั้งที่ 2 มาตรวจสอบบน polyacrylamide gel electrophoresis และย้อมสีเจลด้วยวิธี silver strain พบดีเอ็นเอเคลื่อนที่ผ่าน AFLP gel ที่ความยาวตั้งแต่ 200-1,000 base pair แต่แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนจะอยู่ในช่วงความยาว 300-800 base pair (ภาพที่ 6-9) ซึ่งสามารถนำมาใช้หาความสัมพันธ์ของเชื้อราแต่ละไอโซเลทได้

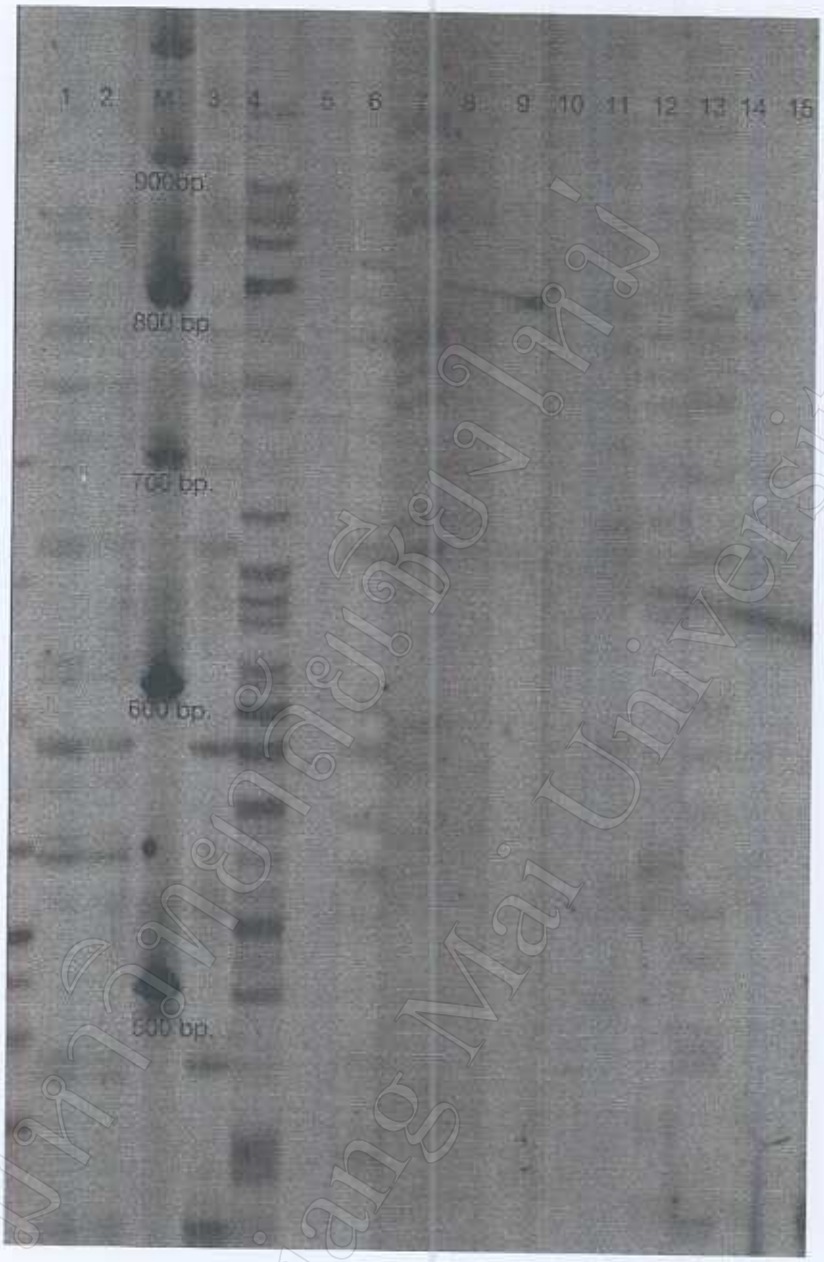
ทำการตรวจแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบน AFLP-gel พบว่า primer แต่ละคู่จะแสดงทั้งแถบดีเอ็นเอที่แสดงเอกลักษณ์ของสปีชีส์และแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างภายในสปีชีส์ แถบดีเอ็นเอที่แสดงเอกลักษณ์ของสปีชีส์ เช่นลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ primer *Eco*RI-A/*Mes*I-CAC ที่ช่วงความยาวประมาณ 250, 280, และ 350 base pair (ภาพที่ 7) เป็นต้น สำหรับแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างภายในสปีชีส์ ซึ่งแสดงบน AFLP gel ของ primer ทั้ง 4 คู่ คือ primer *Eco*RI-A/*Mes*I-CAG, *Eco*RI-A/*Mes*I-CAC, *Eco*RI-A/*Mes*I-CAT, *Eco*RI-AC/*Mes*I-C พบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง (polymorphic bands) 48, 27, 50 และ 29 แถบตามลำดับ (ตาราง ภาคผนวกที่ 1-4) รวมแถบดีเอ็นเอที่สามารถนำมาใช้บอกความแตกต่างได้ทั้งสิ้น 154 แถบ นำข้อมูลของแถบดีเอ็นเอจาก primer แต่ละคู่มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc เพื่อจัดกลุ่มหาความสัมพันธ์ต่อไป



ภาพที่ 6 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 15 ไอโซเลท ด้วยเทคนิค AFLP โดยใช้ primer *Eco* RI-A/*Mse* I-CAG

lane ที่ 1-15 เป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อราที่แยกได้จากพืชอาศัย สตรอเบอรี่ 1 สตรอเบอรี่ 2 ทับทิม ส้ม 1 ส้ม 2 ฝรั่ง กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า ลำไย พลับ กาแฟ กล้วยไม้ ข้าวฟ่าง มะนาว พริก ตามลำดับ (M คือ 100 base pair marker)

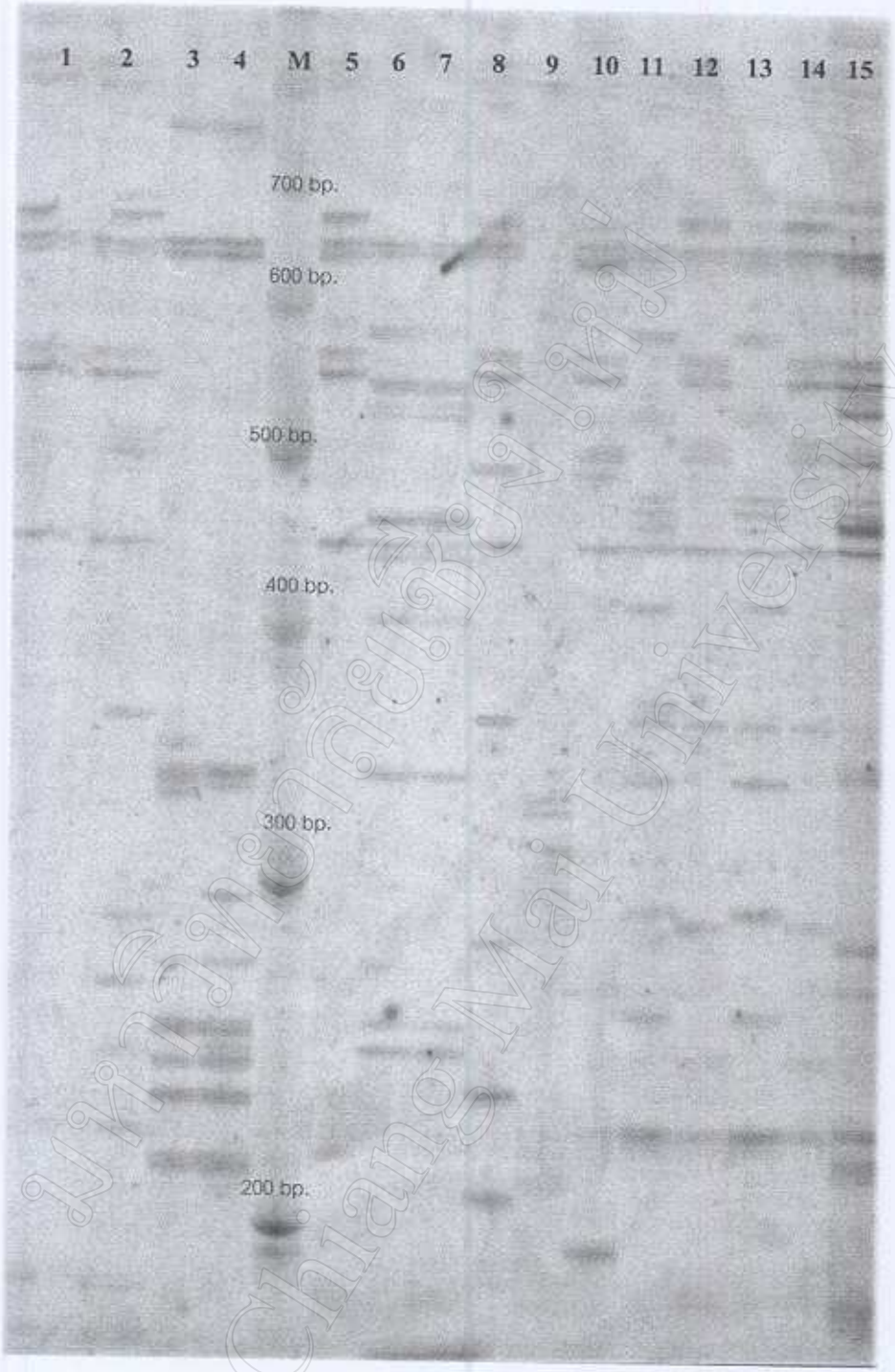
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



ภาพที่ 7 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 15 ไอโซเลท ด้วยเทคนิค AFLP โดยใช้ primer *Eco*RI-A/*Mse*I-CAC

lane ที่ 1-15 เป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อราที่แยกได้จากพืชอาศัย สตรอเบอรี่ 1 สตรอเบอรี่ 2 ทับทิม ส้ม 1 ส้ม 2 ฝรั่ง กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า ลำไย พลับ กาแฟ กล้วยไม้ ข้าวฟ่าง มะนาว พริก ตามลำดับ (M คือ 100 base pair marker)

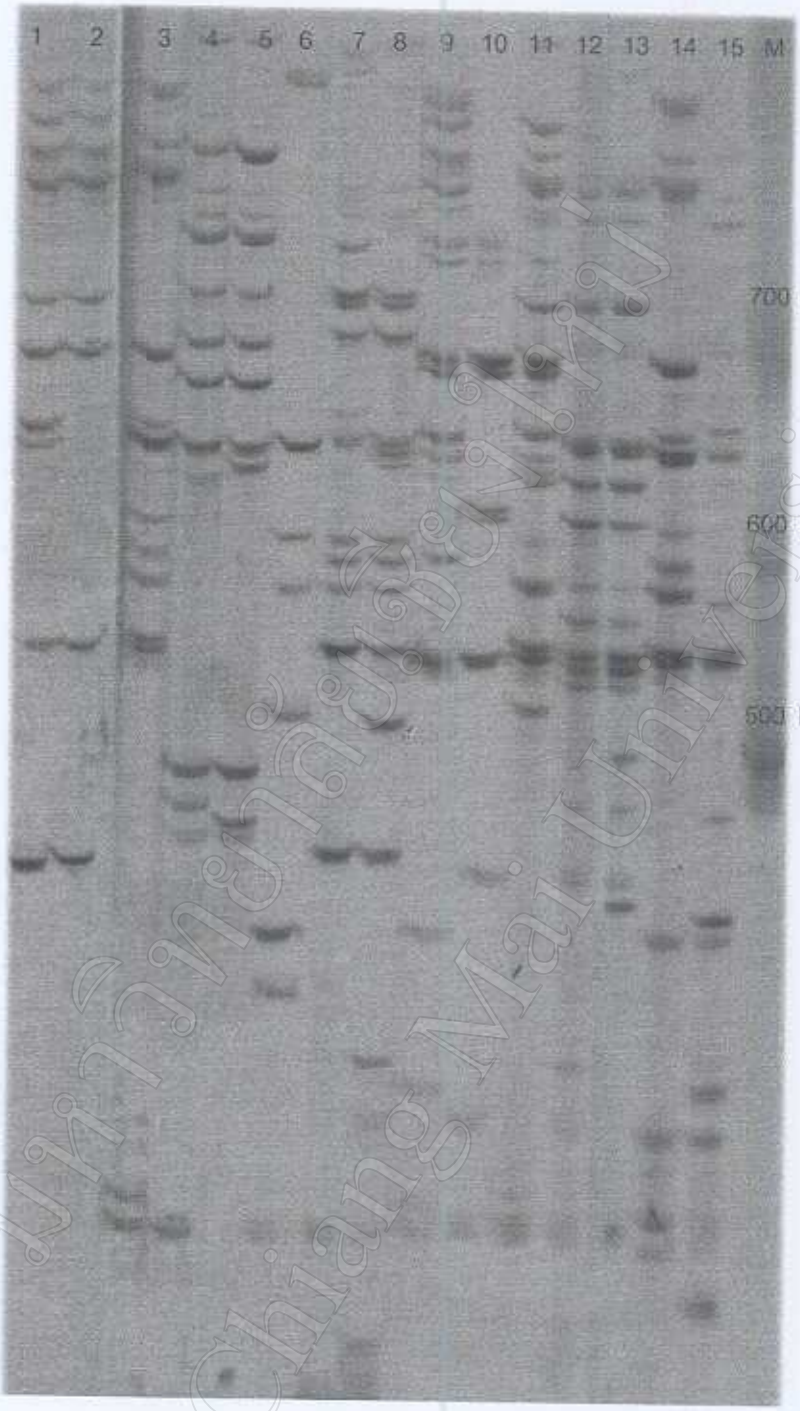
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



ภาพที่ 8 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 15 ไอโซเลท ด้วยเทคนิค AFLP โดยใช้ primer *Eco* RI-A/*Mse* I-CAT

lane ที่ 1-15 เป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อราที่แยกได้จากพืชอาศัย สตรอเบอรี่ 1 สตรอเบอรี่ 2 ทับทิม ส้ม 1 ส้ม 2 ฝรั่ง กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า ลำไย พลับ กาแฟ กล้วยไม้ ข้าวฟ่าง มะนาว พริก ตามลำดับ (M คือ 100 base pair marker)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



ภาพที่ 9 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 15 ไอโซเลท ด้วยเทคนิค AFLP โดยใช้ primer *Eco*RI-AC/*Mse*I-C

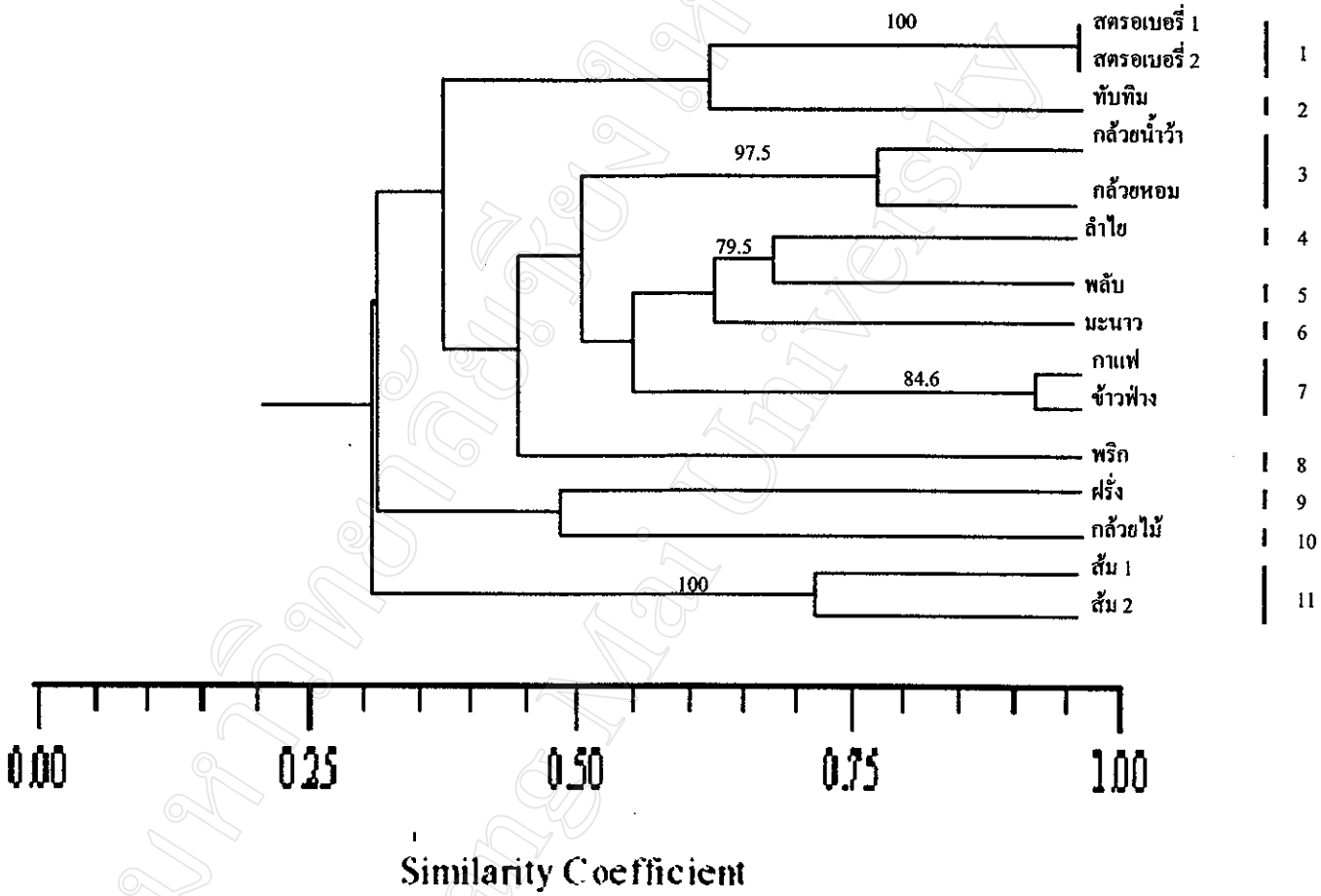
lane ที่ 1-15 เป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อราที่แยกได้จากพืชอาศัย สตรอเบอรี่ 1 สตรอเบอรี่ 2 ทับทิม ส้ม 1 ส้ม 2 ฝรั่ง กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า ลำไย พลับ กาแฟ กล้วยไม้ ข้าวฟ่าง มะนาว พริก ตามลำดับ (M คือ 100 base pair marker)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

4. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา

เมื่อนำ polymorphic bands ทั้ง 154 แถบมาทำการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป NTYSYSpc เพื่อหาความสัมพันธ์ของเชื้อราทั้ง 15 ไอโซเลท พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มได้ 11 กลุ่ม ที่ค่า similarity 0.70 ซึ่งเป็นค่ามาตรฐานที่ใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ภายในสปีชีส์ (อ้างโดยจินตนา, 2543) (ภาพที่ 10) โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากสตรอเบอรี่ 1 และสตรอเบอรี่ 2 กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากทับทิม กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จาก กล้วยหอมและกล้วยน้ำว้า กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากลำไย กลุ่มที่ 5 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากพลับ กลุ่มที่ 6 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากมะนาว กลุ่มที่ 7 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากกาแฟ และข้าวฟ่าง กลุ่มที่ 8 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากพริก กลุ่มที่ 9 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากฝรั่ง กลุ่มที่ 10 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากกล้วยไม้ และกลุ่มที่ 11 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากส้ม 1 และส้ม 2 โดยพบว่าเชื้อราที่แยกได้จากพืชชนิดเดียวกันจะมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันสูงกว่าเชื้อราที่แยกได้จากต่างพืชอาศัย ยกเว้นเชื้อราที่แยกได้จากข้าวฟ่างและกาแฟ ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากและถูกจัดไว้ในกลุ่มเดียวกัน เมื่อทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราต่างกลุ่ม พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากลำไย พลับ และมะนาวมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน ความสัมพันธ์เป็นแบบ monophytic และเชื้อราที่แยกได้จากสตรอเบอรี่และทับทิมมีความใกล้ชิดกันมากกว่าเชื้อราที่แยกได้จากพืชชนิดอื่นๆ ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราที่แยกได้จากสตรอเบอรี่และทับทิม ก็แสดงความสัมพันธ์แบบ monophytic เช่นกัน และเชื้อราที่แยกได้จากฝรั่งและกล้วยไม้มีความสัมพันธ์แบบ monophytic แต่เชื้อราที่แยกได้จากส้มทั้ง 2 ไอโซเลทไม่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อราที่แยกได้จากพืชอาศัยชนิดใดๆ เลย เมื่อพิจารณาจาก dendrogram พบว่าแสดงความสัมพันธ์แบบ paraphytic เมื่อได้ dendrogram แล้ว นำไปทำ cluster analysis ตรวจสอบ goodness of fit โดยใช้โปรแกรม COPH และ MXCOMP ได้ค่า cophenetic correlation (r) เท่ากับ 0.95 ซึ่งแปลความได้ว่า cluster นี้มี goodness of fit ดีมาก หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าได้ว่า phylogenetic tree ดังกล่าวสามารถเป็นที่ยอมรับกันได้โดยทั่วไป

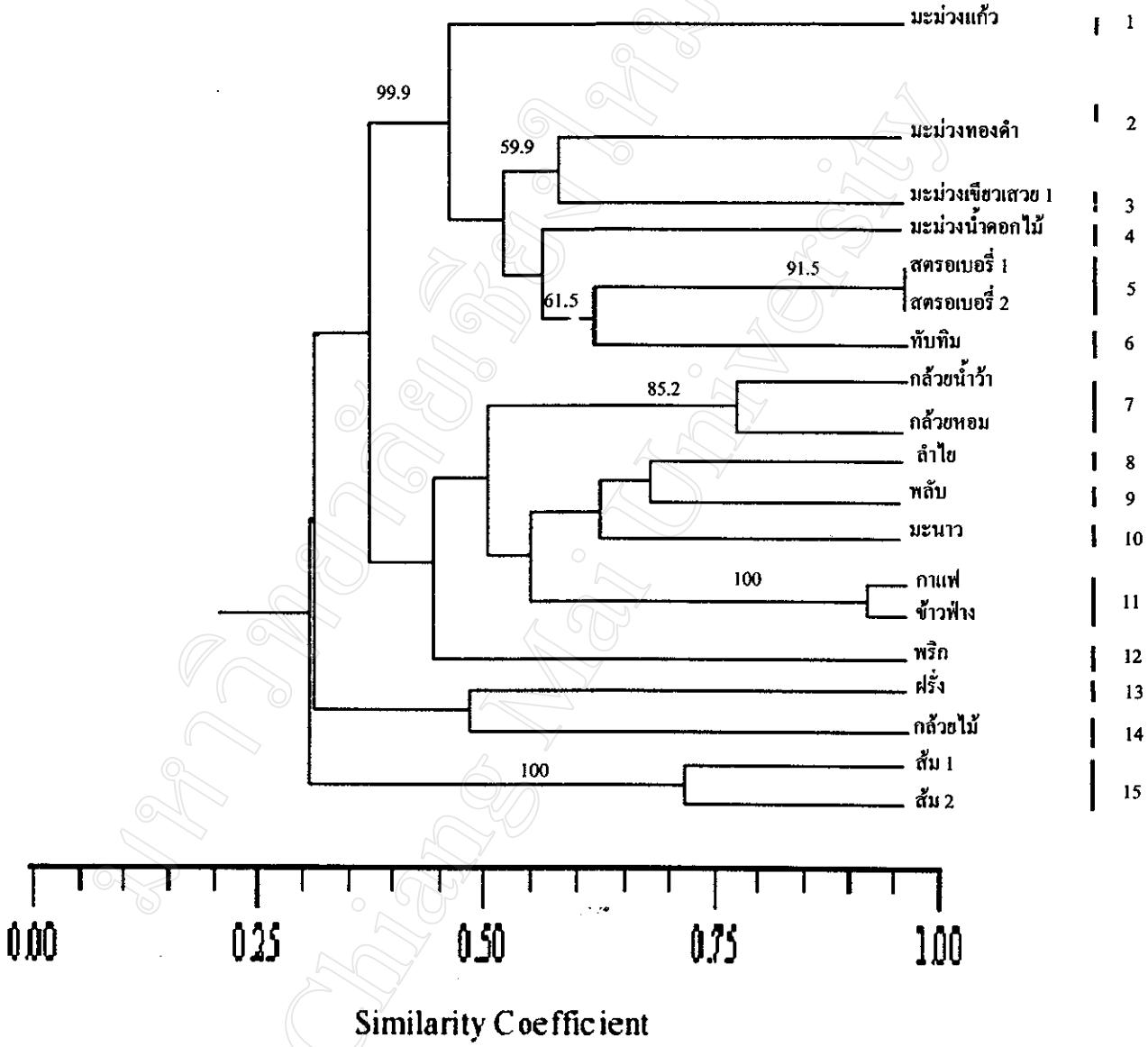
เมื่อนำเชื้อราทั้ง 15 ไอโซเลท มาศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมร่วมกับเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้ในมะม่วง 11 สายพันธุ์ (เอมอร, 2543) ซึ่งแยกได้ 4 กลุ่ม โดยทำการเลือกตัวแทนเชื้อราที่แยกได้จากมะม่วงกลุ่มละ 1 ไอโซเลท โดยในกลุ่มแรกเลือกมะม่วงแก้ว



ภาพที่ 10 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 15 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยวิธี UPGMA ที่ค่า Disc's similarity cofficient เท่ากับ 0.7

ตัวเลขที่แสดงบน dendrogram คือ ค่า bootstrap ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Winboot (1,000 ซ้ำ) r = 0.95

กลุ่มที่ 2 เลือกมะม่วงเขียวเสวย 1 กลุ่มที่ 3 เลือกมะม่วงน้ำดอกไม้ และกลุ่มที่ 4 เลือกมะม่วงหนองแซง 1 มาศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอร่วมกับเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากพืชอาศัยชนิดต่างๆ พบ polymorphic bands ทั้ง 154 แถบ เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป สำเร็จรูป NTYSYSpc พบว่า แยกได้ 15 กลุ่ม ที่ค่า similarity 0.70 (ภาพที่ 11) โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากมะม่วงแก้ว กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากมะม่วงทองดำ กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากมะม่วงเขียวเสวย 1 กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากมะม่วงน้ำดอกไม้ กลุ่มที่ 5 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากสตรอเบอรี่ 1 และสตรอเบอรี่ 2 กลุ่มที่ 6 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากทับทิม กลุ่มที่ 7 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากกล้วยหอมและกล้วยน้ำว้า กลุ่มที่ 8 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากลำไย กลุ่มที่ 9 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากพลับ กลุ่มที่ 10 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากมะนาว กลุ่มที่ 11 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากกาแฟ และข้าวฟ่าง กลุ่มที่ 12 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากพริก กลุ่มที่ 13 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จาก ฝรั่ง กลุ่มที่ 14 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากกล้วยไม้ และกลุ่มที่ 15 ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากส้ม 1 และส้ม 2 โดยพบว่าเชื้อราแต่ละกลุ่มที่แยกได้ยังคงมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันในพืชอาศัยเดียวกันเช่นเดิม แต่สตรอเบอรี่ และทับทิม มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อราที่แยกได้จากมะม่วงน้ำดอกไม้มากกว่าเชื้อราที่แยกได้จากพืชชนิดอื่นๆ



ภาพที่ 11 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 15 ไอโซเลท และเชื้อราที่แยกได้จากมะม่วง 4 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยวิธี UPGMA ที่ค่า Disc's similarity cofficient เท่ากับ 0.7

ตัวเลขที่แสดงบน dendrogram คือค่า bootstrap ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Winboot (1,000 ซ้ำ) r = 0.92