

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การแยกและการจัดจำแนกเชื้อ *Rhizoctonia* spp. สาเหตุโรค根腐ในสตอร์เบอร์รี่

ผลการแยกเชื้อจากการสตอร์เบอร์รี่ที่แสดงอาการเหี่ยวนใน 5 พื้นที่เพาะปลูกของจังหวัด เชียงใหม่ และเชียงราย ได้เชื้อราที่มีลักษณะเฉพาะของรา *Rhizoctonia* spp. คือ ไม่สร้างโconiเดียม การแตกแขนงของเต็นนไปไกล์ผ่านก้นด้านปลาย เต็นนไขที่แตกแขนงมีรอยคุดและสร้างผ่านก้นไกล์ชุดแตกแขนง (ภาพที่ 3) จำนวนห้องสีน้ำเงิน 70 ไอโซเลท เมื่อทำการข้อมนิวเคลียสด้วยสี Geimsa และตรวจนับจำนวนพับ เชื้อราที่มีจำนวนนิวเคลียสในแต่ละเซลล์เท่ากับสอง (binucleate) จำนวน 68 ไอโซเลท (97%) ส่วนใหญ่มีโโคโนนีเป็นสีขาวครีม ดังแสดงในภาพที่ 4 และพับเชื้อราที่มีจำนวนนิวเคลียสในแต่ละเซลล์มากกว่าสอง (multinucleate) จำนวน 2 ไอโซเลท (3%) มีโโคโนนีสีน้ำตาล ดังแสดงในภาพที่ 5 หลังจากจำแนกออกเป็น anastomosis group (AG) จากความสามารถในการรวมเต็นนไขกับ tester strain พบ binucleate *Rhizoctonia* AG-A จำนวน 29 ไอโซเลท (41.5%) AG-G 26 ไอโซเลท (37.1%) AG-P 5 ไอโซเลท (7.1%) และที่ไม่สามารถจำแนกได้ (unknown) 10 ไอโซเลท (14.3%) แบ่งออกเป็น unknown binucleate 8 ไอโซเลท และ unknown multinucleate 2 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 3 เมื่อพิจารณาตามพื้นที่เก็บตัวอย่างพบว่า เชื้อที่พบร่วมในตัวอย่างจากสถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์จำนวน 14 ไอโซเลท เป็น binucleate ห้องหมุด ประกอบด้วย AG-A 7 ไอโซเลท และ AG-G 7 ไอโซเลท เชื้อที่พบร่วมในตัวอย่างจากแปลงเกษตรกรบ้านบ่อแก้วจำนวน 18 ไอโซเลท เป็น binucleate ห้องหมุดเช่นกัน ประกอบด้วย AG-A 8 ไอโซเลท AG-G 5 ไอโซเลท และ AG-P 5 ไอโซเลท เชื้อที่พบร่วมในตัวอย่างจากแปลงเกษตรกรอำเภอเมืองจำนวน 20 ไอโซเลท เป็น binucleate 18 ไอโซเลท ประกอบด้วย AG-A 4 ไอโซเลท AG-G 14 ไอโซเลท และ เป็น multinucleate จำนวน 2 ไอโซเลท ซึ่งไม่สามารถจำแนกได้ ตัวอย่างจากสถานีวิจัยโครงการหลวงอ่างขางพบ binucleate *Rhizoctonia* AG-A เพียงอย่างเดียวจำนวน 9 ไอโซเลท และตัวอย่างจากแปลงเกษตรกรบ้านห้วยน้ำรินพบร่วมจำนวน 9 ไอโซเลท เป็น binucleate *Rhizoctonia* AG-A 1 ไอโซเลท และที่ไม่สามารถจำแนกได้ 8 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 4



ภาพที่ 3 ลักษณะเส้นใยของราในสกุล *Rhizoctonia*



ก.

ข.

ภาพที่ 4 ลักษณะนิวเคลียส และโภคินีของรา binucleate *Rhizoctonia*

- นิวเคลียสของรา binucleate *Rhizoctonia* ติดตื้น้ำเงินเข้มหลังข้อมือคัวห์ Geimsa stain
- โภคินีของเชื้อรา binucleate *Rhizoctonia* อายุ 7 วัน บนอาหาร PDA มีสีขาว



ภาพที่ 5 ดักจับนิวเคลียสและโคลโนนของเชื้อรา multinucleate *Rhizoctonia*

- นิวเคลียสของรา *Rhizoctonia* ติดสีน้ำเงินเข้มหลังข้อมัดวัย Geimsa stain
- โคลโนนของเชื้อรา *Rhizoctonia* อายุ 7 วัน บนอาหาร PDA มีสีน้ำตาล

ตารางที่ 4 จำนวนนิวเคลียส และ anastomosis group (AG) ของเชื้อ *Rhizoctonia* spp. ที่แยกได้จากแหล่งปลูกศรubs 5 แห่ง

แหล่ง	จำนวน (ไอโซเลท)	จำนวนนิวเคลียส		Anastomosis group (AG)			
		binucleate	multinucleate	A	G	P	unknown
แมริน	20	18	2	4	14	-	2(multi)
บ่อแก้ว	18	18	-	8	5	5	-
อินทนนท์	14	14	-	7	7	-	-
อ่างขาง	9	9	-	9	-	-	-
หัวยั่วน้ำริน	9	9	-	1	-	-	8(bi)
รวม	70	68 (97%)	2 (3%)	29 (41.5%)	26 (37.1%)	5 (7.1%)	10 (14.3%)

2. การแยกกลุ่มเชื้อรา *Rhizoctonia spp.* ด้วยเทคนิค PCR-RFLP

จากการ捺ดีเอ็นเอที่สกัดได้มามเพิ่มปริมาณในส่วนของ 28S rDNA และ ITS1-5.8S-ITS2 แล้วนำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 4 และ 8 ชนิดตามลำดับ ได้ผลลัพธ์ดังต่อไปนี้

2.1 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วน 28S rDNA และการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ

2.1.1 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วน 28S rDNA

จากการใช้ primer LROR/LR7 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วน 28S rDNA ของตัวอย่างทั้ง 75 ไอโซเลท พบ PCR-product ขนาดคือ 1.4 กิโลเบส และ 1.8 กิโลเบส (ภาพที่ 6) ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกตามขนาด PCR-product ได้ 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่มี PCR-product ขนาด 1.4 กิโลเบส มีจำนวนทั้งสิ้น 50 ไอโซเลท กลุ่มที่มี PCR-product ขนาด 1.8 กิโลเบส มีจำนวนทั้งสิ้น 19 ไอโซเลท และกลุ่มที่มี PCR-product ขนาด 1.4 และ 1.8 กิโลเบส มีจำนวนทั้งสิ้น 6 ไอโซเลท



ภาพที่ 6 PCR-product ของ *Rhizoctonia spp.* จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วน 28S rDNA ด้วย primer LROR/LR7

M: ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder (Amersham Pharmacia, USA) 1: tester AG-A, 2: tester AG-G, 3: MR04, 4: MR19, 5: BK01, 6: BK02, 7: AK03, 8: AK04, 9: AK05, 10: AK06, 11: AK07, 12: AK08, 13: AK09, 14: IN02, 15: IN11, 16: IN12, 17: IN14

2.1.2 การตัด PCR-product ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ

HhaI หลังจากนำดีเอ็นเอในส่วน 28S rDNA มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HhaI* แล้วตรวจผลบน 1.5% agarose พบແບນดีเอ็นเอที่มีขนาดต่างกัน 8 แอบນมีขนาดตั้งแต่ 140 – 1,040 คู่เบส (bp) และมีรูปแบบดีเอ็นเอทั้งหมด 9 รูปแบบ (ภาพที่ 7) เมื่อนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่ม แล้วแสดงผลในรูป dendrogram พบว่า สามารถแบ่งตัวอย่างทั้งหมดออกเป็น 9 กลุ่ม ในจำนวนนี้ 8 กลุ่มที่สามารถภายในกลุ่มเป็นเชือกที่อยู่ใน AG เดียวกันทั้งหมดคือ กลุ่มที่ 2 – 9 และมีเพียง กลุ่มเดียวที่สามารถภายในกลุ่มเป็นเชือด่าง AG กันคือ กลุ่มที่ 1 ซึ่งพบ AG-G จัดรวมอยู่กับ AG-P ดังแสดงในภาพที่ 9

TaqI หลังจากนำดีเอ็นเอในส่วน 28S rDNA มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *TaqI* แล้วตรวจผลบน 1.5% agarose พบແບນดีเอ็นเอที่มีขนาดต่างกัน 8 แอบນมีขนาดตั้งแต่ 250 – 980 คู่เบส และมีรูปแบบดีเอ็นเอทั้งหมด 7 รูปแบบ (ภาพที่ 7) เมื่อนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่มแล้วแสดงผลในรูป dendrogram พบว่า สามารถแบ่งตัวอย่างทั้งหมดออกเป็น 7 กลุ่ม ในจำนวนนี้มี 5 กลุ่ม ที่สามารถภายในกลุ่มเป็นเชือกที่อยู่ใน AG เดียวกัน คือ กลุ่มที่ 1, 2, 3, 5 และ 7 และมี 2 กลุ่มที่สามารถภายในกลุ่มเป็นเชือกที่อยู่ต่าง AG กัน คือกลุ่มที่ 4 พบ AG-A จัดอยู่รวมกับเชือก multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้ (Unk-multi) และกลุ่มที่ 6 พบ AG-A และ AG-G จัดรวมอยู่กับเชือก binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้ (Unk-bi) ดังแสดงในภาพที่ 10

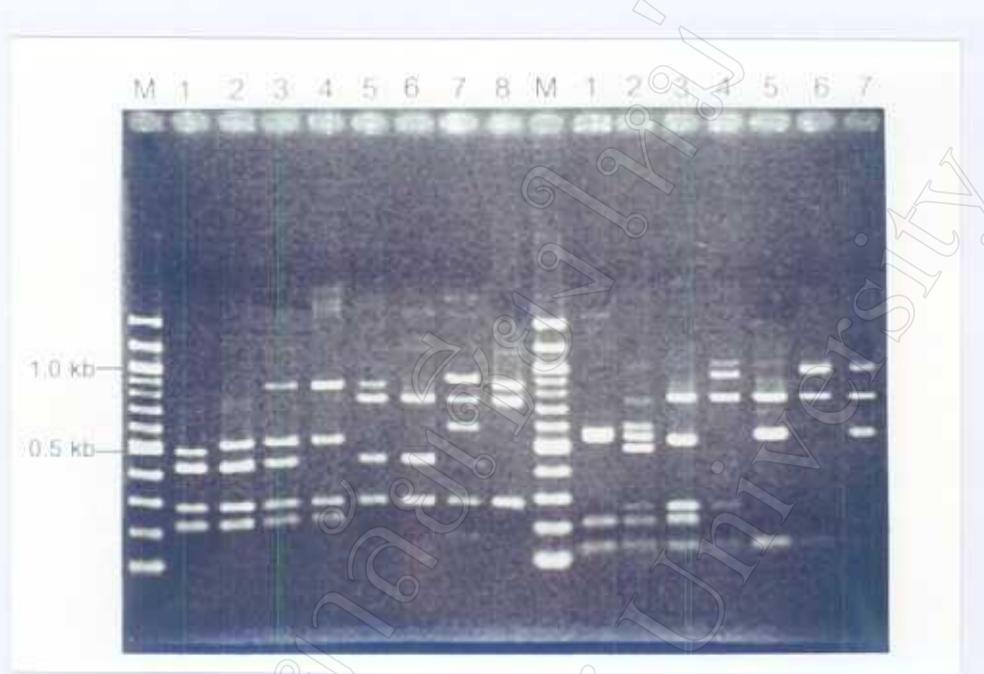
MspI หลังจากนำดีเอ็นเอในส่วน 28S rDNA มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MspI* แล้วตรวจผลบน 1.5% agarose พบແບນดีเอ็นเอที่มีขนาดต่างกัน 9 แอบນมีขนาดตั้งแต่ 220 – 900 คู่เบส และมีรูปแบบดีเอ็นเอทั้งหมด 8 รูปแบบ (ภาพที่ 8) เมื่อนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่มแล้วแสดงผลในรูป dendrogram พบว่า สามารถแบ่งตัวอย่างทั้งหมดออกเป็น 8 กลุ่ม ในจำนวนนี้มี 6 กลุ่ม ที่สามารถภายในกลุ่มเป็นเชือกที่อยู่ใน AG เดียวกัน คือ กลุ่มที่ 2, 3, 4, 5, 6 และ 8 และมี 2 กลุ่มที่สามารถภายในกลุ่มเป็นเชือกที่อยู่ต่าง AG กัน คือกลุ่มที่ 1 พบ AG-G จัดรวมอยู่กับ AG-P และ กลุ่มที่ 7 พบ AG-A จัดรวมอยู่กับ Unk-bi ดังแสดงในภาพที่ 11

MboI หลังจากน้ำดีเย็นเอาในส่วน 28S rDNA มาตัดคิ้วเขอน ไขม์ตัดจำเพาะ *MboI* แล้วตรวจผลบน 1.5% agarose พบແດນคิ้วเข็นເອທີມີບາດຕ່າງກັນ 7 ແຕນມີບາດຕັ້ງແຕ່ 120 – 1,000 ຄູ່ບັສ ແລະມີຮູບແບບຄືເອັນເອທິ່ງໜົມ 7 ຮູບແບບ (ກາພທີ 7) ເມື່ອນຳນາວິເຄຣະໜີຈັດກຸ່ມແລ້ວ ແສດງຜົລໃນຮູບ dendrogram ພບວ່າ ສາມາຮອດແບ່ງຕ້ວອຍ່າງທັງໝົມຄອອກເປັນ 7 ກຸ່ມ ໃນຈຳນວນນີ້ມີ 6 ກຸ່ມທີ່ສາມາຊີກກາບໃນກຸ່ມເປັນເຊື້ອທ່ອງໝູ້ໃນ AG ເດີວກັນ ອື່ອ ກຸ່ມທີ່ 2 – 7 ແລະມີເພີ່ງກຸ່ມເດີວທີ່ ສາມາຊີກກາບໃນກຸ່ມເປັນເຊື້ອດ່າງ AG ກັນ ອື່ອ ກຸ່ມທີ່ 1 ພບ AG-A, AG-G, AG-P ແລະ Unk-bi ຈັດກຸ່ມອູ້ດ້ວຍກັນ ດັ່ງແສດງໃນກາພທີ 12



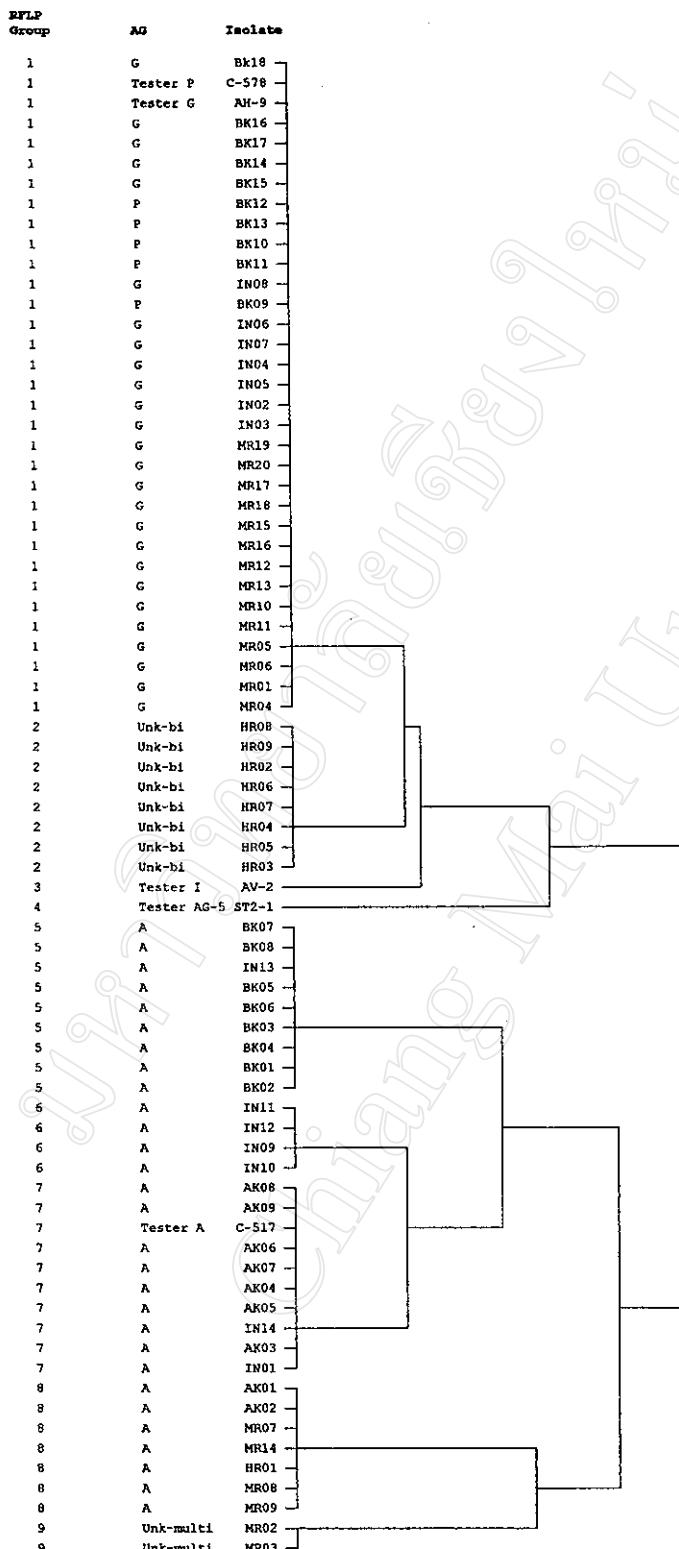
ກາພທີ 7 ຮູບແບບຄືເອັນເອທີກັດກຸ່ມກັດກຸ່ມຫຼັງການຕັດຕິເອັນເອໃນສ່ວນ 28S rDNA ດ້ວຍເອົາໃໝ່ຕັດຈຳເພາະ *HhaI* ແລະ *TaqI*

M: ດີເອັນເມາດຮູານ 100 bp ladder (NEB, UK) 1 – 9 ຮູບແບບຄືເອັນເອທີທີ່ເກີດຂຶ້ນຫຼັງການຕັດດ້ວຍ ໄອນໄຊມີຕັດຈຳເພາະ *HhaI* ໂອໂຫເລກ AK06, MR04, tester AG-I, IN11, HR05, BK07, MR07, MR02 ແລະ tester AG-5 ຕາມລຳດັບ 10 – 16 ຮູບແບບຄືເອັນເອທີທີ່ເກີດຂຶ້ນຫຼັງການຕັດດ້ວຍເອົາໃໝ່ຕັດຈຳເພາະ *TaqI* ໂອໂຫເລກ MR13, tester AG-I, BK13, MR04, IN09, BK02 ແລະ tester AG-5 ຕາມລຳດັບ



ภาพที่ 8 รูปแบบคีเอ็นเอหลังการตัดดีเอ็นเอในส่วน 28S rDNA ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MspI* และ *MboI*

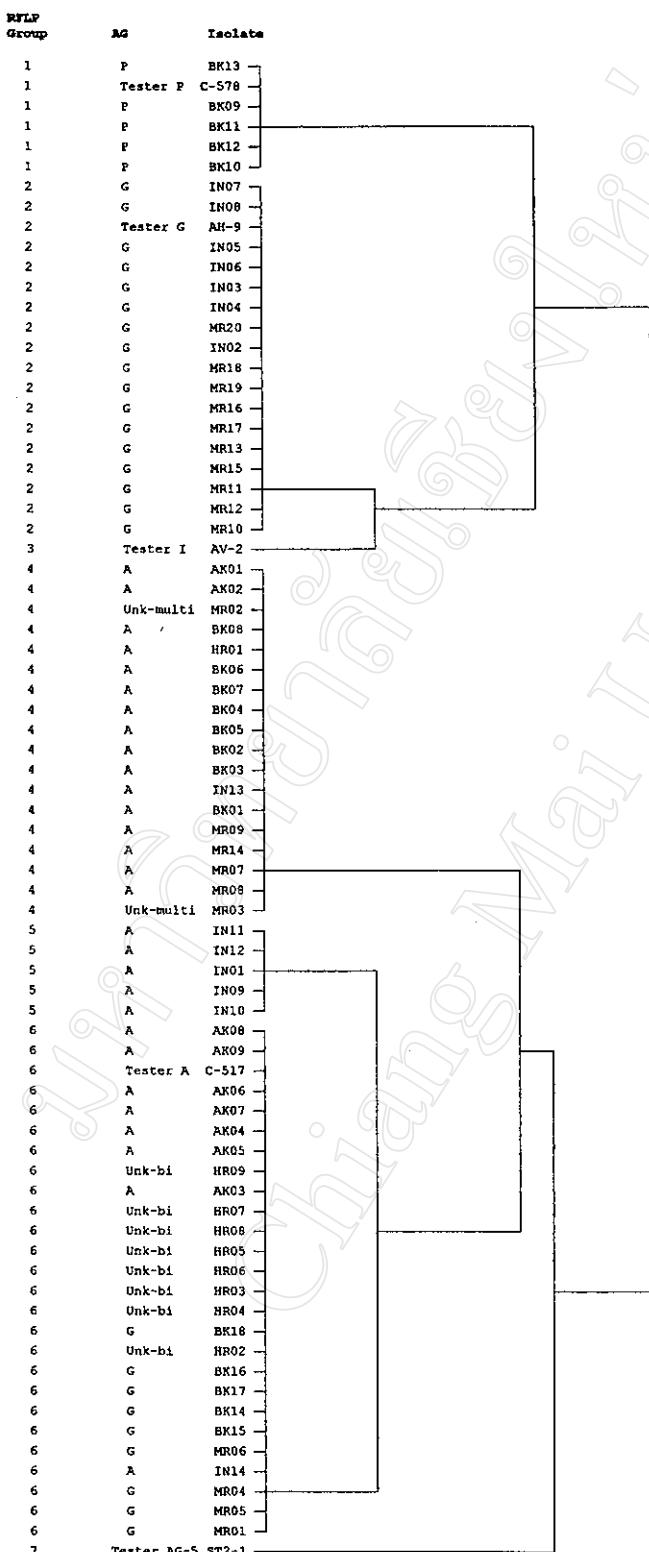
M: คีเอ็นเอนาตรูป 100 bp ladder (NEB, UK) 1 – 8 รูปแบบคีเอ็นเอที่เกิดขึ้นหลังการตัดด้วย เอนไซม์ตัดจำเพาะ *MspI* ไอโซเลท MR11, HR05, IN12, BK07, tester AG-I, BK13, tester AG-5 และ MR02 ตามลำดับ 9 – 15 รูปแบบคีเอ็นเอที่เกิดขึ้นหลังการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MboI* ไอโซเลท MR10, tester AG-I, MR02, tester AG-5, MR04, BK04 และ IN12 ตามลำดับ



AK = อ่างชาด, BK = บ่อแก้ว, HR = หัวน้ำริน, IN = อินทนนท์, MR = แม่ริน, Unk-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้

ภาพที่ 9 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อราก *Rhizoctonia* spp. จำนวน 75 ไอโซเลทจากการตัดคีเอ็นเอในส่วน

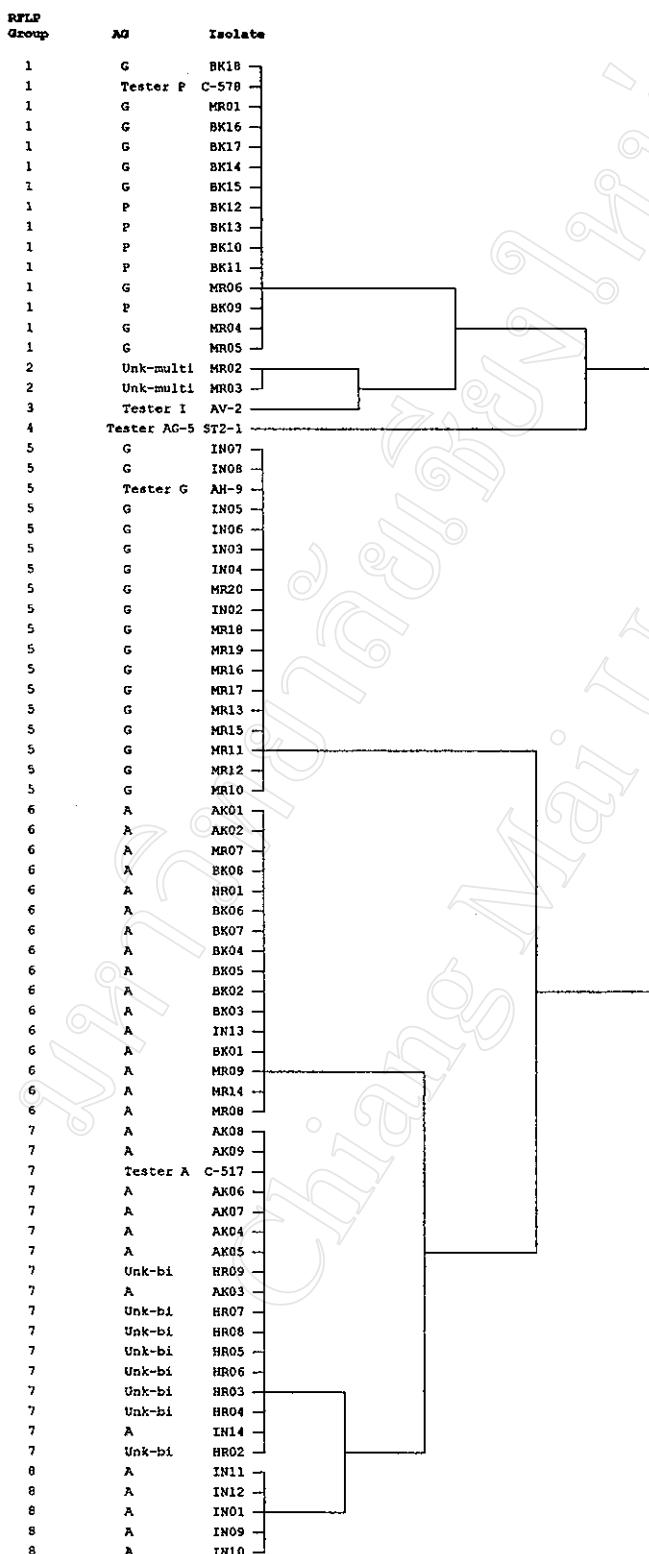
28S rDNA ตัวย่อนไซม์ตัดจำเพาะ *Hha*I



AK = อ่างขาง, BK = บ่อแก้ว, HR = หัวบนเริ่น, IN = อินทนนท์, MR = แมริม, Unk-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้

ภาพที่ 10 Dendrogram และผลการจัดกลุ่มเชื้อราก *Rhizoctonia* spp. จำนวน 75 ไอโซเดทจาก การตัดศีรีเย็นแอในส่วน

28S rDNA ด้วยเอนไซม์ตัดชั้นพะ *TaqI*



AK = อ่างขา, BK = บ่อเกี้ยว, HR = หัวเหง้าริน, IN = อินทนนท์, MR = แม่ริม, Unk-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้

ภาพที่ 11 Dendrogram และการจัดกลุ่มเชื้อราก *Rhizoctonia* spp. จำนวน 75 ไอโซเลตจากการตัดคีอีเอ็นแอในส่วน

28S rDNA ด้วยเอนไซม์ตัดช้ำเพาะ *MspI*

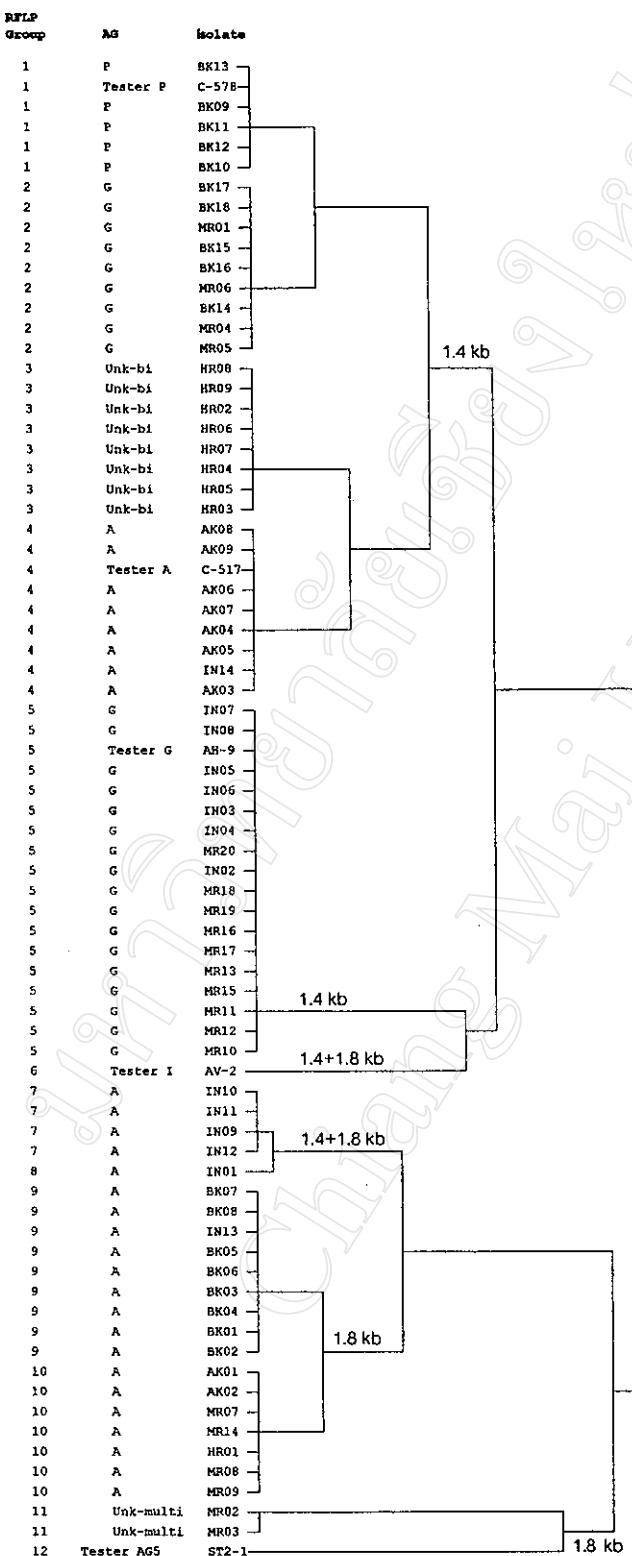
RFLP Group	AG	Isolate
1	A	AK09
1	Tester F	C-576
1	Tester A	C-517
1	A	AK07
1	A	AK08
1	A	AK05
1	A	AK06
1	A	AK03
1	A	AK04
1	Unk-bi	HR08
1	Unk-bi	HR09
1	Unk-bi	HR06
1	Unk-bi	HR07
1	Unk-bi	HR04
1	Unk-bi	HR05
1	Unk-bi	HR02
1	Unk-bi	HR03
1	G	BK17
1	G	BK18
1	G	BK15
1	G	BK16
1	P	BK13
1	G	BK14
1	P	BK11
1	P	BK12
1	P	BK09
1	P	BK10
1	G	MR06
1	A	IN14
1	G	MR04
1	G	MR05
1	G	MR01
2	A	IN01
2	A	IN12
2	A	IN10
2	A	IN11
2	A	IN09
3	A	AK01
3	A	AK02
3	A	MR07
3	A	BK08
3	A	HR01
3	A	BK06
3	A	BK07
3	A	BK04
3	A	BK05
3	A	BK02
3	A	BK03
3	A	IN13
3	A	BK01
3	A	MR09
3	A	MR14
3	A	MR08
4	Tester AG-5 ST2-1	
5	Unk-multi	MR02
5	Unk-multi	MR03
6	G	IN07
6	G	IN08
6	Tester G	AH-9
6	G	IN05
6	G	IN06
6	G	IN03
6	G	IN04
6	G	MR20
6	G	IN02
6	G	MR18
6	G	MR19
6	G	MR16
6	G	MR17
6	G	MR13
6	G	MR15
6	G	MR11
6	G	MR12
6	G	MR10
7	Tester I	AV-2

AK = อ่างขา, BK = บ่อแก้ว, HR = หัวยน์ริน, IN = อินพันธุ์, MR = แม่ริน, Unk-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้

ภาพที่ 12 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อราก *Rhizoctonia* spp. จำนวน 75 ไอโซเลทจาก การตัดดีเอ็นเอในส่วน

28S rDNA คิวบิก่อน ไชม์ตัดจำเพาะ *MboI*

เมื่อนำผลที่ได้จากการตัดตัวย่อน ไซม์ตัดจำเพาะทั้ง 4 ชนิดมาวิเคราะห์ร่วมกับขนาด PCR-product แล้วนำเสนอในรูป dendrogram พบว่า ตัวอย่างทั้งหมดแบ่งออกเป็น 12 กลุ่มตามขนาด PCR-product และรูปแบบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในแต่ละคน ไซม์ โดยสามารถแบ่งกลุ่ม เป็นเชื้อที่อยู่ใน AG เดียวกันทั้งหมด กลุ่มที่ 1 มีสมาชิกจำนวน 6 ไอโซเลท เป็นเชื้อที่อยู่ใน AG-P มีขนาด PCR-product ขนาด 1.4 กิโลเบต กลุ่มที่ 2 มีสมาชิกจำนวน 9 ไอโซเลท เป็นเชื้อที่อยู่ใน AG-G มี PCR-product ขนาด 1.4 กิโลเบต กลุ่มที่ 3 มีสมาชิกจำนวน 8 ไอโซเลท เป็นเชื้อที่อยู่ใน Unk-bi มี PCR-product ขนาด 1.4 กิโลเบต กลุ่มที่ 4 มีสมาชิกจำนวน 9 ไอโซเลท เป็นเชื้อที่อยู่ใน AG-A มี PCR-product ขนาด 1.4 กิโลเบต กลุ่มที่ 5 มีสมาชิกจำนวน 18 ไอโซเลท เป็นเชื้อที่อยู่ใน AG-G มี PCR-product ขนาด 1.4 กิโลเบต กลุ่มที่ 6 มีสมาชิกเพียง 1 ไอโซเลทเดียวคือ tester AG-I มี PCR-product ขนาด 1.4 และ 1.8 กิโลเบต กลุ่มที่ 7 และ 8 มีสมาชิกเป็นเชื้อที่อยู่ใน AG-A มี PCR-product ขนาด 1.4 และ 1.8 กิโลเบตทั้ง 2 กลุ่ม และมีสมาชิกจำนวน 4 และ 1 ไอโซเลทตามลำดับ กลุ่มที่ 9 และ 10 มีสมาชิกเป็นเชื้อที่จัดอยู่ใน AG-A เช่นกัน มี PCR-product ขนาด 1.8 กิโลเบต และมีสมาชิกจำนวน 9 และ 7 ไอโซเลทตามลำดับ กลุ่มที่ 11 มีสมาชิกจำนวน 2 ไอโซเลทเป็น Unk-multi มี PCR-product ขนาด 1.8 กิโลเบต และกลุ่มที่ 12 มีเพียง 1 ไอโซเลทเดียว คือ tester AG-5 มี PCR-product ขนาด 1.8 กิโลเบต ดังแสดงในภาพที่ 13 และตารางที่ 5



AK = อ่างขาง, BK = บ่อแก้ว, HR = หัวยน้าริน, IN = อินทนนท์, MR = แมริน, Unk-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้

ภาพที่ 13 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อราก *Rhizoctonia* spp. จำนวน 75 ไอโซเลทจากการตัดตีอีนเอในส่วน

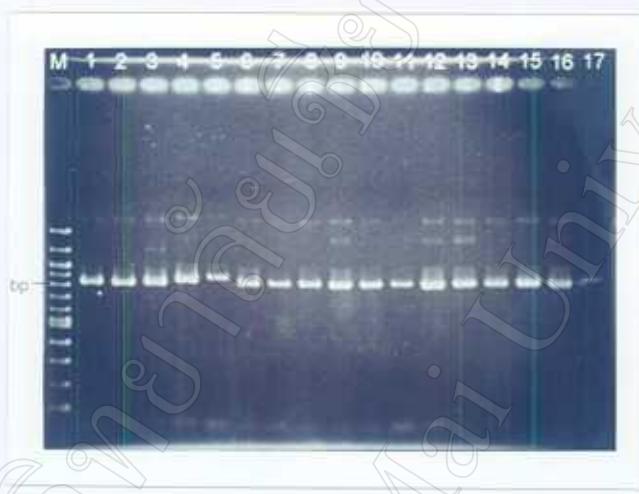
28S rDNA ด้วย.enz ไซม์ตัดที่ HhaI, TaqI, MspI และ Mbo

ตารางที่ 5 Anastomosis group, RFLP group, บนา PCR-product และขนาดแอลกอโนเมอร์ในช่วง 28S rDNA หลังการตัดด้วย酵ん "enzymatic" สำหรับพืชทาง HhaI, MboI, Mspl และ TaqI ของรา *Rhizoctonia* spp. ที่แยกได้จากสารออกฤทธิ์

Anastomosis Group (AG)		RFLP Group		ขนาด PCR-product		ขนาดแอลกอโนเมอร์ที่ใช้ในการตัดด้วย酵ん "enzymatic" สำหรับพืชทาง HhaI, MboI, Mspl และ TaqI			
AG-P	1	-	1.8	+	700, 370, 240, 140	760, 550, 120	730, 425, 270	520, 380, 250	
AG-G	2	-	-	+	700, 370, 240, 140	760, 550, 120	730, 425, 270	620, 520, 250	
Unknown-binucleate	3	-	-	+	1,040, 700, 370, 240, 140	760, 550, 120	520, 425, 270, 220	620, 520, 250	
AG-A	4	-	-	+	550, 370, 240, 140	760, 550, 120	520, 425, 270, 220	620, 520, 250	
AG-G	5	-	-	+	700, 370, 240, 140	520, 200, 120	500, 425, 270, 220	520, 330, 250	
AG-I	6	+	-	+	700, 550, 370, 240, 140	550, 500, 200, 120	850, 730, 425, 270	660, 520, 330, 250	
AG-A	7	+	-	+	840, 550, 370, 240, 140	1,000, 760, 550, 120	850, 520, 425, 270, 220	950, 620, 520, 250	
AG-A	8	+	-	+	550, 370, 240, 140	1,000, 760, 550, 120	850, 520, 425, 270, 220	950, 620, 520, 250	
AG-A	9	+	-	-	840, 550, 240, 140	1,000, 760, 120	850, 520, 270, 220	950, 620, 250	
AG-A	10	+	-	-	780, 550, 240, 140	1,000, 760, 120	850, 520, 270, 220	950, 620, 250	
Unknown-multinucleate	11	+	-	-	780, 700, 240, 140	760, 550, 250, 200, 120	850, 730, 270	950, 620, 250	
AG-S	12	+	-	-	840, 700, 240, 140	1,000, 760, 250, 120	900, 730, 570, 270	980, 620, 250	

2.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 และการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจัมเพาะ

2.2.1 หลังทราบผลการวิเคราะห์จัดกลุ่มในการทดสอบที่ 2.1 จึงทำการสุ่มตัวอย่าง สมาชิกในแต่ละกลุ่มมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วย primer ITS1F/Rhsp2 รวมทั้งสิ้น 23 ไอโซเลท พน PCR-product มีขนาดอยู่ในช่วง 800 – 900 กูเบส ดังแสดงในภาพที่ 14



ภาพที่ 14 PCR-product ของ *Rhizoctonia* spp. จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วย primer ITS1F/Rhsp2

M: ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder (NEB, UK) 1: tester AG-A, 2: tester AG-G, 3: tester AG-I, 4: tester AG-S, 5: Unk-multi, 6: MR09, 7: MR19, 8: IN02, 9: IN01, 10: IN07, 11: IN08, 12: IN09, 13: IN12, 14: IN13, 15: BK01, 16: BK04, 17: BK05, 18: BK10

2.2.2 การตัด PCR-product ด้วยเอนไซม์ตัดจัมเพาะ

Clal หลังจากนำดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจัมเพาะ *Clal* พนเดบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันทั้งหมด 7 แผ่น มีขนาดตั้งแต่ 180 – 590 กูเบส และมีรูปแบบดีเอ็นเอ 4 รูปแบบ (ภาพที่ 15) เมื่อนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่มแล้วแสดงผลในรูป dendrogram พนว่า ตัวอย่างทั้งหมดแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ในจำนวนนี้มี 3 กลุ่มที่สมาชิกภายในกลุ่มเป็นเชื้อที่อยู่ต่าง AG กัน คือ กลุ่มที่ 1, 3 และ 4 ส่วนในกลุ่มที่ 2 มีสมาชิกเพียง ไอโซเลทเดียวคือ tester AG-I กลุ่มที่ 1 พน Unk-bi จัดรวมอยู่กับ AG-A และ AG-G กลุ่มที่ 3 พน AG-G จัดรวมอยู่กับ AG-P และกลุ่มที่ 4 พน Unk-multi จัดรวมอยู่กับ AG-S ดังแสดงในภาพที่ 16

HhaI หลังจากนำดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HhaI* พบແບນດีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันทั้งหมด 12 แอบน มีขนาดตั้งแต่ 370 – 870 คู่เบส และมีรูปแบบดีเอ็นเอ 7 รูปแบบ (ภาพที่ 17) เมื่อนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่มแล้วแสดงผลในรูป dendrogram พบว่า ตัวอย่างทั้งหมดแบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม ในจำนวนนี้มี 6 กลุ่มที่สามารถพยากรณ์ในกลุ่มนี้ที่อยู่ใน AG เดียวกันทั้งหมด คือ กลุ่มที่ 1, 2, 3, 4, 6 และ 7 และมี 1 กลุ่มที่สามารถพยากรณ์ในกลุ่มนี้ที่อยู่ใน AG เดียวกันทั้งหมด คือ กลุ่มที่ 5 พบ Unk-multi, AG-P และ tester AG-5 จัดรวมอยู่ด้วยกัน ดังแสดงในภาพที่ 18

MboI หลังจากนำดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MboI* พบແບນดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันทั้งหมด 10 แอบน มีขนาดตั้งแต่ 80 – 250 คู่เบส และมีรูปแบบดีเอ็นเอ 5 รูปแบบ (ภาพที่ 19) เมื่อนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่มแล้วแสดงผลในรูป dendrogram พบว่า ตัวอย่างทั้งหมดแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ในจำนวนนี้มี 3 กลุ่มที่สามารถพยากรณ์ในกลุ่มนี้ที่อยู่ใน AG เดียวกันทั้งหมด คือ กลุ่มที่ 2, 4, และ 5 และมี 2 กลุ่มที่สามารถพยากรณ์ในกลุ่มนี้ที่อยู่ใน AG เดียวกันทั้งหมด คือ กลุ่มที่ 1 และ 3 โดยในกลุ่มที่ 1 พบเชื้อ AG-A จัดรวมอยู่กับ AG-G และกลุ่มที่ 3 พบเชื้อ AG-G, tester AG-5 และ AG-P จัดรวมอยู่ร่วมกัน ดังแสดงในภาพที่ 20

MseI หลังจากนำดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MseI* พบແບນดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันทั้งหมด 13 แอบน มีขนาดตั้งแต่ 60 – 500 คู่เบส และมีรูปแบบดีเอ็นเอ 6 รูปแบบ (ภาพที่ 21) เมื่อนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่มแล้วแสดงผลในรูป dendrogram พบว่า ตัวอย่างทั้งหมดแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ในจำนวนนี้มี 3 กลุ่มที่สามารถพยากรณ์ในกลุ่มนี้ที่อยู่ใน AG เดียวกันทั้งหมด คือ กลุ่มที่ 4, 5, และ 6 และมี 3 กลุ่มที่สามารถพยากรณ์ในกลุ่มนี้ที่อยู่ใน AG เดียวกันทั้งหมด คือ กลุ่มที่ 1, 2 และ 3 โดยในกลุ่มที่ 1 พบ Unk-bi จัดรวมอยู่กับเชื้อ AG-A กลุ่มที่ 2 พบ Unk-multi จัดรวมอยู่กับ AG-G และกลุ่มที่ 3 พบเชื้อ AG-P, AG-G และ tester AG-5 จัดรวมอยู่ด้วยกัน ดังแสดงในภาพที่ 22

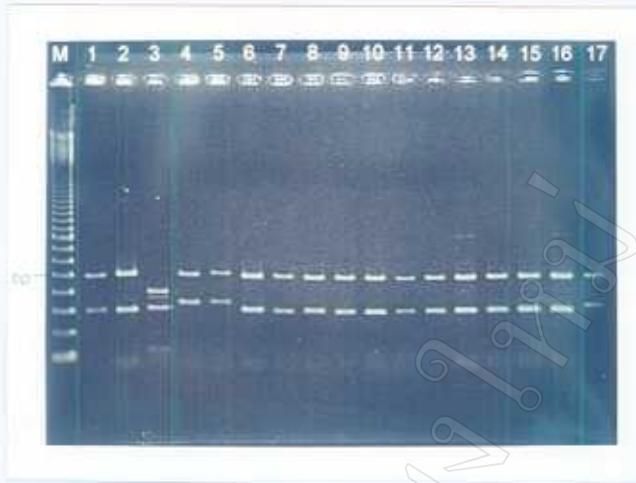
RsaI หลังจากนำดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *RsaI* พบว่าสามารถตัดดีเอ็นเอตัวอย่างได้ทั้งหมด 14 ไลโซเลท คือ Lane ที่ 1, 6, 8, 11-16, 18-20, 22 และ 23 มีແບນดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันทั้งหมด 4 แอบน มีขนาดตั้งแต่ 260 – 600 คู่เบส และมีรูปแบบดีเอ็นเอ 2 รูปแบบ (ภาพที่ 23) เมื่อนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่มแล้วแสดงผลในรูป dendrogram พบว่า ตัวอย่างทั้งหมดแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ในจำนวนนี้มี 2 กลุ่มที่สามารถพยากรณ์ใน

กลุ่มเป็นเชื้อที่อยู่ใน AG เดียวกันทั้งหมด คือ กลุ่มที่ 1 และ 2 และมี 1 กลุ่มที่สามารถภายในกลุ่มเป็นเชื้อต่าง AG กัน คือ กลุ่มที่ 3 ที่ Unk-bi, Unk-multi, AG-G, AG-P, tester AG-I และ tester AG-5 ถูกจัดรวมอยู่ด้วยกัน ดังแสดงในภาพที่ 24

TaqI หลังจากนำดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *TaqI* พบร้า รูปแบบดีเอ็นเอที่ได้ใกล้เคียงกับการตัดด้วยเอนไซม์ *ClaI* โดยพบແບບดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันทั้งหมด 8 แคน มีขนาดตั้งแต่ 130 – 520 คู่เบส และมีรูปแบบดีเอ็นเอ 4 รูปแบบ (ภาพที่ 25) เมื่อนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่มแล้วแสดงผลในรูป dendrogram พบร้า ตัวอย่างทั้งหมดถูกออกเป็น 4 กลุ่ม ในจำนวนนี้มี 3 กลุ่มที่สามารถภายในกลุ่มเป็นเชื้อต่าง AG กันคือ กลุ่มที่ 1, 2 และ 4 ส่วนในกลุ่มที่ 3 มีสามารถเพียงไอลเซเลฟเดียวคือ tester AG-I ในกลุ่มที่ 1 พน AG-A, AG-G และ Unk-bi จัดรวมอยู่ด้วยกัน กลุ่มที่ 2 พน AG-G และ AG-P 3 จัดรวมอยู่ด้วยกัน และในกลุ่มที่ 4 พน AG-I, AG-5 และ Unk-multi จัดรวมอยู่ด้วยกัน ดังแสดงในภาพที่ 26

XmnI หลังจากนำดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *XmnI* พนແບບดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันทั้งหมด 3 แคน มีขนาดตั้งแต่ 240 – 660 คู่เบส และมีรูปแบบดีเอ็นเอ 2 รูปแบบ (ภาพที่ 27) เมื่อนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่มแล้วแสดงผลในรูป dendrogram พบร้า ตัวอย่างทั้งหมดแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มประกอบไปด้วยเชื้อที่อยู่ต่าง AG กัน กลุ่มที่ 1 พน AG-A, AG-G, AG-I และ Unk-bi จัดรวมอยู่ด้วยกัน กลุ่มที่ 2 พน AG-G, AG-5 AG-P และ Unk-multi จัดรวมอยู่ด้วยกัน ดังแสดงในภาพที่ 28

MspI หลังจากนำดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MspI* พบร้า มีเพียงไอลเซเลฟเดียวที่เอนไซม์สามารถตัดได้คือ tester AG-I (ภาพที่ 29) จึงไม่นำไปวิเคราะห์จัดกลุ่ม



ภาพที่ 15 แผ่นคีเอ็นเอที่ปราบภูหลังการตัดคีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2

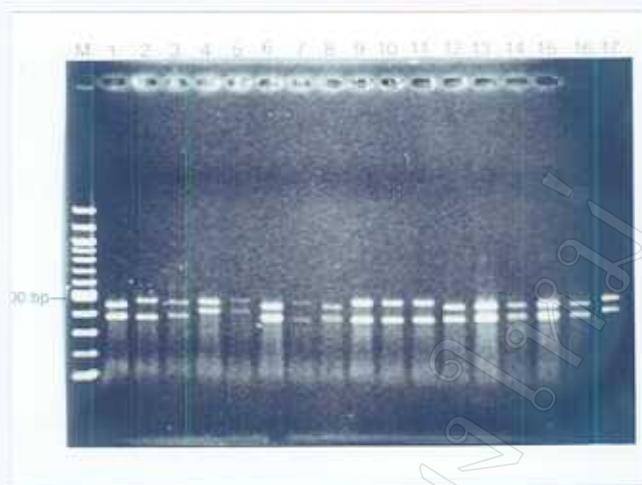
ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Cla*I

M: ตีเร็นเอมาร์ฐาน 100 bp ladder (Amersham Pharmacia, USA) 1: tester AG-A, 2: tester AG-G, 3: tester AG-I, 4: tester AG-5, 5: Unk-multi, 6: MR09, 7: MR19, 8: IN02, 9: IN01, 10: IN07, 11: IN08, 12: IN09, 13: IN12, 14: IN13, 15: BK01, 16: BK04, 17: BK05, 18: BK10

RFLP Group	AG	Isolate
1	A	AK02
1	A	AK06
1	Tester A	C-517
1	A	MR01
1	Unk-bi	HR07
1	A	BK34
1	A	BK05
1	A	IN13
1	A	BK01
1	A	IN09
1	A	IN12
1	G	IN07
1	G	IN06
1	G	MR19
1	A	IN03
1	Tester G	AN-9
1	A	MR09
2	Tester I	AV-2
3	G	BK15
3	G	BK17
3	P	BK10
4	Tester AG-5	ST2-1
4	Unk-multi	MR02

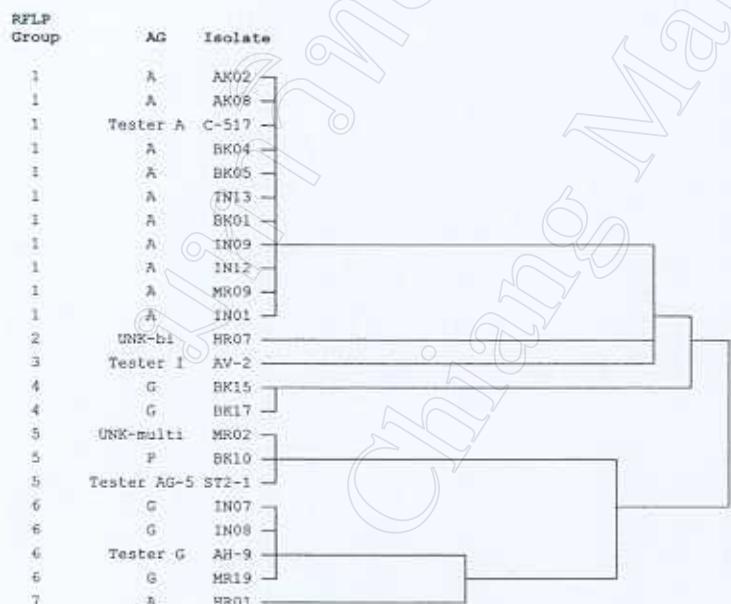
AK = อ่างชาต, BK = บ่อเก็บ, HR = หัวหน้าริบิน, IN = อินกนันท์, MR = แมริน, Unk-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจดจำแนกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจดจำแนกได้

ภาพที่ 16 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อราก *Rhizoctonia* spp. จำนวน 23 ไอโซเลทจากการตัดคีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Cla*I



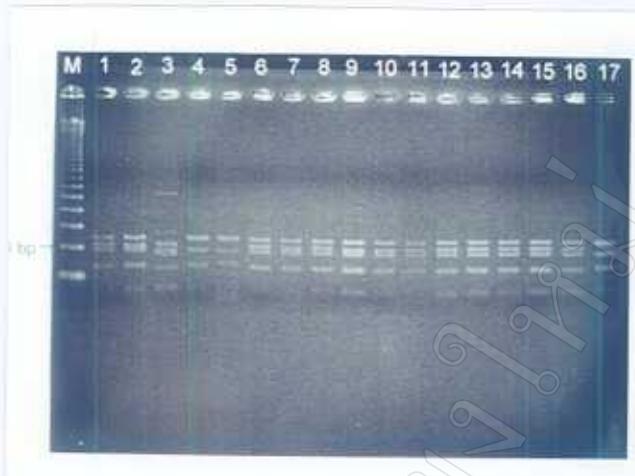
ภาพที่ 17 แบบคีเอ็นเอที่ปราบภูหลังการตัดคีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดจัมเพาะ *Hha*I

M: คีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder (NEB, UK) 1: tester AG-A, 2: tester AG-G, 3: tester AG-I, 4: tester AG-5, 5: Unk-multi, 6: MR09, 7: MR19, 8: IN02, 9: IN01, 10: IN07, 11: IN08, 12: IN09, 13: IN12, 14: IN13, 15: BK01, 16: BK04, 17: BK05, 18: BK10



AK = อ่างขา, BK = บ่อแก้ว, HR = หัวน้ำริมน้ำ, IN = อินกนนท์, MR = เมริน, Unk-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจามแนกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจามแนกได้

ภาพที่ 18 Dendrogram และผลการจัดกลุ่มเชื้อราก *Rhizoctonia* spp. จำนวน 23 ไอโซเลทจากการตัดคีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดจัมเพาะ *Hha*I



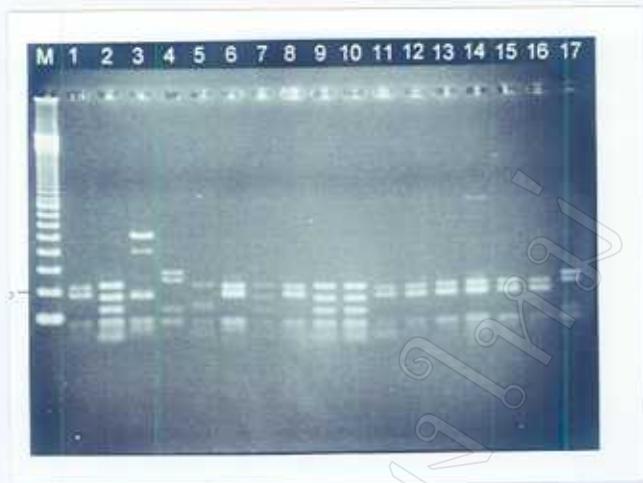
ภาพที่ 19 แบบคีเอ็นเอที่ปรากฏหลังการตัดคีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MboI*

M: คีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder (Amersham Pharmacia, USA) 1: tester AG-A, 2: tester AG-G, 3: tester AG-I, 4: tester AG-5, 5: Unk-multi, 6: MR09, 7: MR19, 8: IN02, 9: IN01, 10: IN07, 11: IN08, 12: IN09, 13: IN12, 14: IN13, 15: BK01, 16: BK04, 17: BK05, 18: BK10

RFLP Group	AG	Isolate
1	A	AK02
1	A	AK08
1	Tester A	C-517
1	A	BK05
1	A	HR01
1	A	BK01
1	A	BK04
1	A	IN12
1	A	IN13
1	G	IN08
1	A	IN09
1	A	IN01
1	G	IN07
1	A	MR09
1	G	MR19
1	Tester G	AH-9
2	UNK-bi	HR07
3	G	BK15
3	G	BK17
3	Tester AG-5 ST2-1	
3	P	BK10
4	UNK-multi	MB02
5	Tester I	RV-2

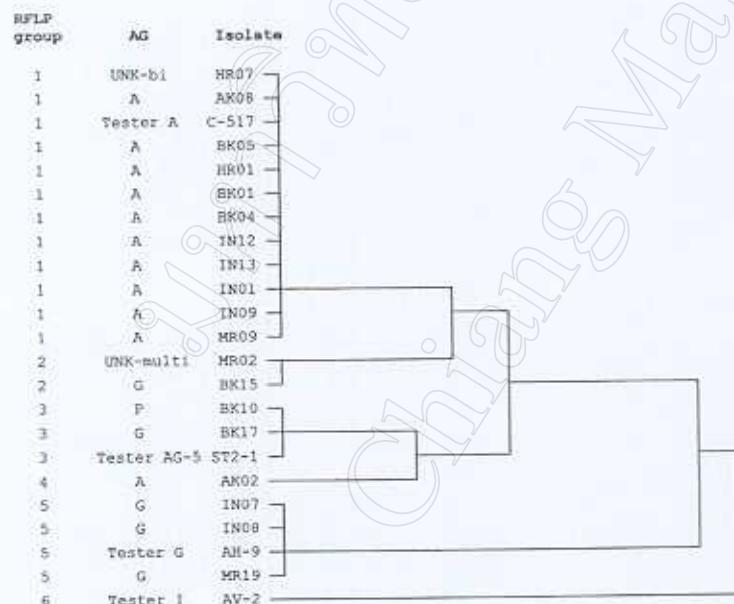
AK = อ่างขา, BK = บ่อแก้ว, HR = หัวข่านริน, IN = อินทนนท์, MR = เมริน, Unk-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจัดแนกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจัดแนกได้

ภาพที่ 20 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อราก *Rhizoctonia* spp. จำนวน 23 ไอโซเดฟจาก การตัดคีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MboI*



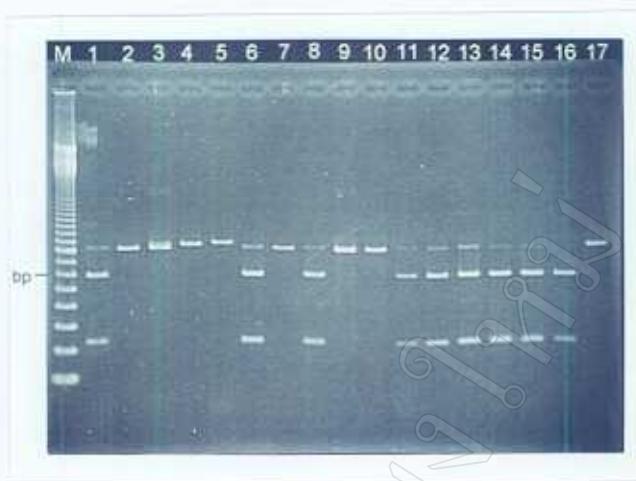
ภาพที่ 21 แผนกีเอ็นเอที่ปราบภูหลังการตัดกีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MseI*

M: คีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder (Amersham Pharmacia, USA) 1: tester AG-A, 2: tester AG-G, 3: tester AG-I, 4: tester AG-5, 5: Unk-multi, 6: MR09, 7: MR19, 8: IN02, 9: IN01, 10: IN07, 11: IN08, 12: IN09, 13: IN12, 14: IN13, 15: BK01, 16: BK04, 17: BK05, 18: BK10



AK = อ่างขาว, BK = บ่อแก้ว, HR = หัวขี้ริบิน, IN = อินทนนท์, MR = แม่ริม, Unk-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถแยกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถแยกได้

ภาพที่ 22 Dendrogram และผลการจัดกลุ่มเชื้อร้า *Rhizoctonia* spp. จำนวน 23 ไอโซเลตจากการตัดกีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MseI*



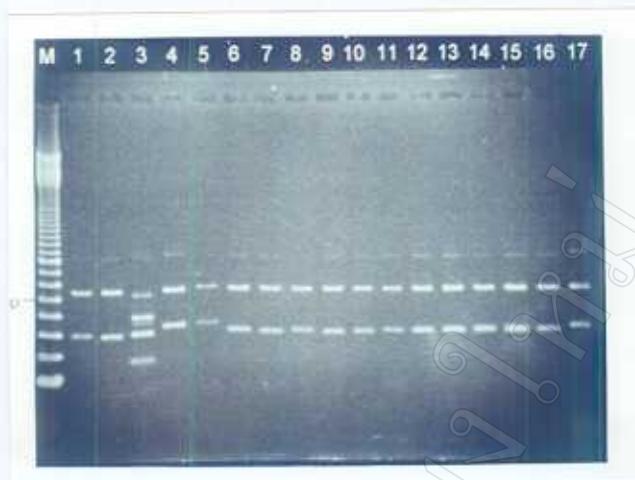
ภาพที่ 23 แคนติเจ็นเออทีป์รากฎหลังการตัดคีเด็นเออในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดข้ามพะ *RsaI*

M: คีเด็นเอโนารชาน 100 bp ladder (Amersham Pharmacia, USA) 1: tester AG-A, 2: tester AG-G, 3: tester AG-I, 4: tester AG-5, 5: Unk-multi, 6: MR09, 7: MR19, 8: IN02, 9: IN01, 10: IN07, 11: IN08, 12: IN09, 13: IN12, 14: IN13, 15: BK01, 16: BK04, 17: BK05, 18: BK10

RFLP Group	AG	Isolate
1	A	AK02
1	A	AK08
1	Tester AG C-517	
1	A	BK05
1	A	HR01
1	A	BK01
1	A	BK04
1	A	IN12
1	A	IN13
1	A	IN01
1	A	IN09
1	A	MR09
2	G	BK15
2	G	BK17
3	UNK-multi	MR02
3	P	BK10
3	Tester AG-5 ST2-1	
3	G	IN08
3	UNK-bi	HR07
3	Tester G AH-9	
3	G	MR19
3	G	IN07
3	Tester I AV-2	

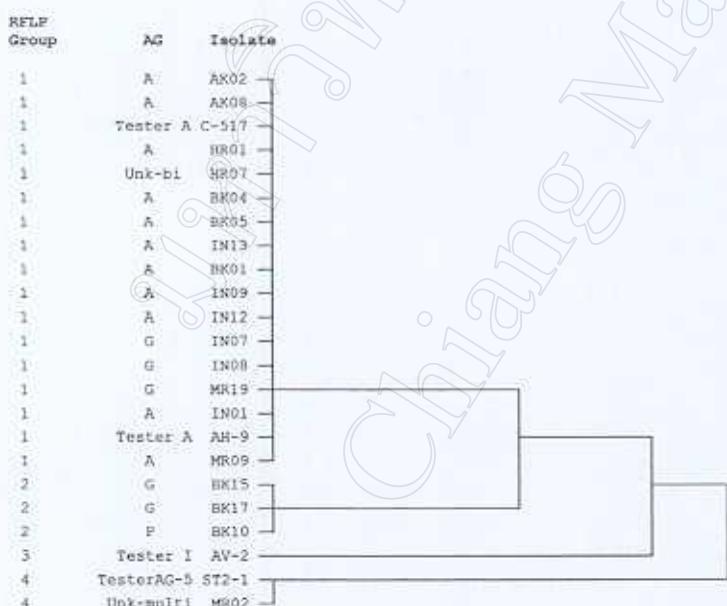
AK = อ่างขา, BK = บ่อแก้ว, HR = หัวยนาริน, IN = อินทนนท์, MR = แม่ริม, Unk-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้

ภาพที่ 24 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อราก *Rhizoctonia* spp. จำนวน 23 ไอโซเลทจากการตัดคีเด็นเออในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดข้ามพะ *RsaI*



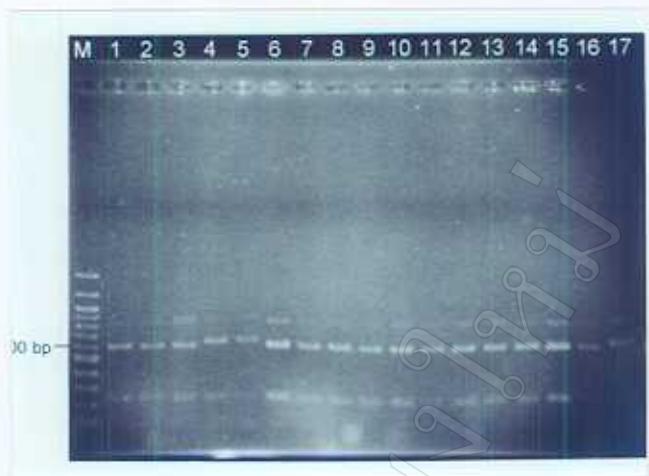
ภาพที่ 25 แบบดีเอ็นเอที่ปราบภูหลังการตัดดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดขั้นพาส *TaqI*

M: ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder (Amersham Pharmacia, USA) 1: tester AG-A, 2: tester AG-G, 3: tester AG-I, 4: tester AG-5, 5: Unk-multi, 6: MR09, 7: MR19, 8: IN02, 9: IN01, 10: IN07, 11: IN08, 12: IN09, 13: IN12, 14: IN13, 15: BK01, 16: BK04, 17: BK05, 18: BK10



AK = อ่างขา, BK = บ่อแก้ว, HR = หัวข่านวิน, IN = อินทนนท์, MR = แม่ริม, Unk-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้

ภาพที่ 26 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อราก *Rhizoctonia* spp. จำนวน 23 ไอโซเลทจากการตัดดีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดขั้นพาส *TaqI*



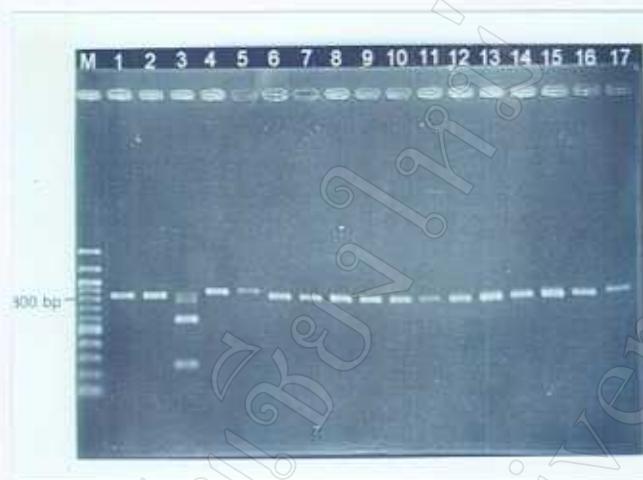
ภาพที่ 27 แบบคีเอ็นเอที่ปรากฏหลังการคัดคีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดจัมเพส *XmnI*

M: คีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder (NEB, UK) 1: tester AG-A, 2: tester AG-G, 3: tester AG-I, 4: tester AG-5, 5: Unk-multi, 6: MR09, 7: MR19, 8: IN02, 9: IN01, 10: IN07, 11: IN08, 12: IN09, 13: IN12, 14: IN13, 15: BK01, 16: BK04, 17: BK05, 18: BK10

RFLP Group	AG	Isolate
1	A	AR02
1	A	AK08
1	Tester A	C-517
1	A	HR01
1	Unk-bi	MR07
1	A	BK04
1	A	BK05
1	A	IN13
1	B	BK01
1	A	IN09
1	A	IN12
1	G	IN07
1	G	IN08
1	G	MR19
1	A	IN01
1	Tester I	AV-2
1	A	MR09
1	Tester G	AR-9
2	G	BK15
2	G	BK17
2	Tester AG-5	ST2-1
2	Unk-multi	MR02
2	P	BK10

AK = อ่างขา, BK = บ่อแก้ว, HR = หัวข่านริน, IN = อินทนนท์, MR = แม่ริม, Unk-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้

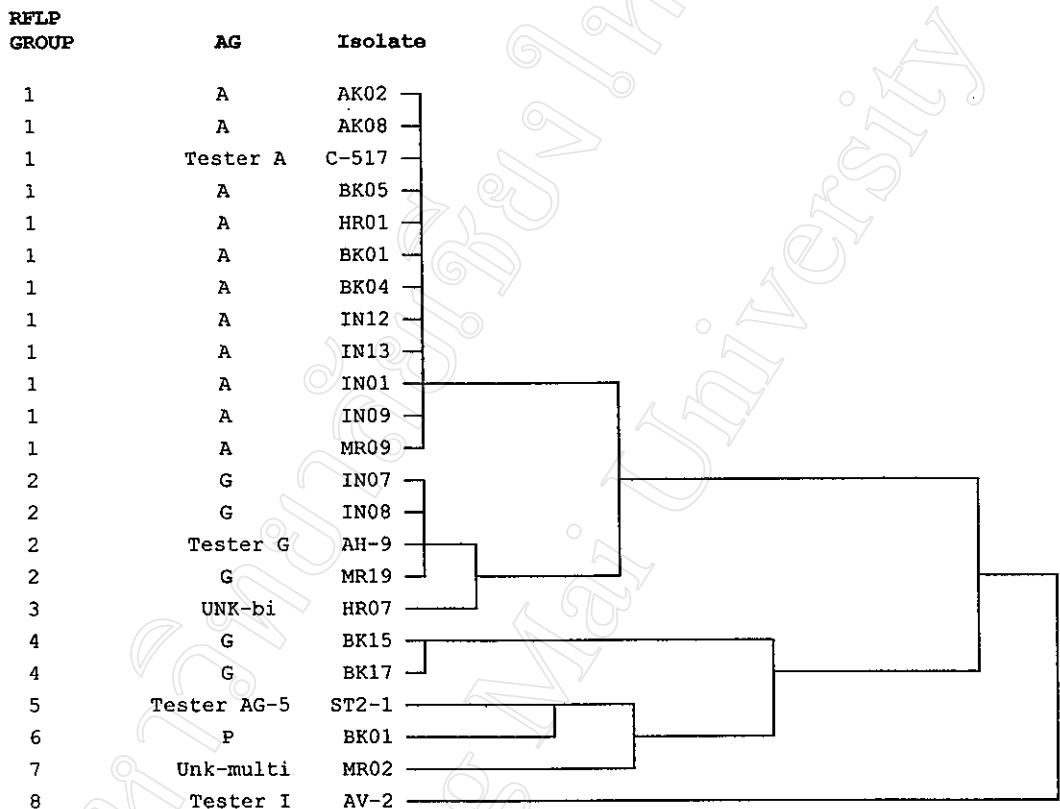
ภาพที่ 28 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อราก *Rhizoctonia* spp. จำนวน 23 ไอโซเลทจากการคัดคีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดจัมเพส *XmnI*



ภาพที่ 29 แบบตีເຈັ້ນເອົ້າທີ່ປະກູບຮັງການຕັດຕື່ເຈັ້ນເອົ້າໃນຂວາງ ITS1-5.8S-ITS2 ດ້ວຍ
ເອົ້າໃໝ່ຕັດຈຳເພາະ *MspI*

M: ຕີເຈັ້ນເອມາຄຽນ 100 bp ladder (NEB, UK) 1: tester AG-A, 2: tester AG-G, 3: tester AG-I, 4: tester AG-5, 5: Unk-multi, 6: MR09, 7: MR19, 8: IN02, 9: IN01, 10: IN07, 11: IN08, 12: IN09, 13: IN12, 14: IN13, 15: BK01, 16: BK04, 17: BK05, 18: BK10

เมื่อนำรูปแบบຕີເຈັ້ນເອຈາກແຕ່ລະເອນໄຊນ໌ມາວິເກຣະຫ່ວ່ມກັນແລ້ວແສດງຜລິນຢູ່
dendrogram ພນວ່າ ການນຳພຸດຂອງເອົ້າໃໝ່ *ClaI*, *MboI* ແລະ *RsaI* ມາວິເກຣະຫ່ວ່ມກັນສາມາດ
ໃຫ້ຜລິນການຂັດກຸມໄດ້ຕຽງກັນການຈັດຈຳແນກແບບ AG ໂດຍຕ້ວຍຢ່າງທັງ 23 ໄອໂລເລກ ແນ່ງອອກ
ເປັນ 8 ກຸມ ກຸມທີ 1 ເປັນເຊື້ອທີ່ອູ້ໃນ AG-A ມີສາມາດຈຳນວນ 12 ໄອໂລເລກ ກຸມທີ 2 ເປັນເຊື້ອ
ທີ່ອູ້ໃນ AG-G ມີສາມາດຈຳນວນ 4 ໄອໂລເລກ ກຸມທີ 3 ເປັນເຊື້ອ binucleate *Rhizoctonia* ທີ່
ໄມ່ສາມາດຈຳແນກໄດ້ (Unk-bi) ກຸມທີ 4 ເປັນເຊື້ອທີ່ອູ້ໃນ AG-G ຈຳນວນ 2 ໄອໂລເລກ ກຸມທີ 5
ເປັນ tester AG-5 ກຸມທີ 6 ເປັນເຊື້ອທີ່ອູ້ໃນ AG-P ກຸມທີ 7 ເປັນເຊື້ອ multinucleate *Rhizoctonia*
ທີ່ໄມ່ສາມາດຈຳແນກໄດ້ (Unk-multi) ແລະ ກຸມທີ 8 ເປັນ tester AG-I ດັ່ງແສດງໃນກາພທີ 30 ແລະ
ຕາຮາງທີ 6



AK = ยางบาง, BK = บ่อแก้ว, HR = หัวยันริม, IN = อินทนนท์, MR = แม่ริม, UNK-bi = binucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้, Unk-multi = multinucleate *Rhizoctonia* ที่ไม่สามารถจำแนกได้

ภาพที่ 30 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อราก *Rhizoctonia* spp. จำนวน 23 ไอโซเลทจากการตัด

คีอี็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Cla*I, *Mbo*I และ *Rsa*I

ตารางที่ 6 Anastomosis group, RFLP group และขนาดแอบคีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 หลังตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Clal*, *MboI* และ *RsaI* ของรา *Rhizoctonia* spp. ที่แยกได้จากรากสตรอเบอร์รี่

Anastomosis group (AG)	RFLP group	ขนาดของแอบคีเอ็นเอในช่วง ITS1-5.8S-ITS2 หลังตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (คู่เบส)		
		<i>Clal</i>	<i>MboI</i>	<i>RsaI</i>
AG-A	1	580, 300	250, 220, 200, 135, 80	600, 260
AG-G	2	580, 300	250, 220, 200, 135, 80	uncut*
Unknown-binucleate	3	580, 300	250, 200, 135, 80	uncut
AG-G	4	580, 300	250, 200, 145, 80	550, 340
AG-5	5	590, 330	250, 200, 145, 80	uncut
AG-P	6	580, 330	250, 200, 145, 80	uncut
Unknown-multinucleate	7	590, 330	250, 200, 160, 80	uncut
AG-I	8	550, 400, 300, 180	220, 190, 180, 125, 80	uncut

* ไม่ถูกตัดโดยเอนไซม์ตัดจำเพาะ