ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

ปริญญา

โรคพืช	โรคพืช
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง ความผันแปรของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

Variation of *Colletotrichum gloeosporioides* causing chilli anthracnose VCultivars

นามผู้วิจัย นางสาวโชติรส รอดเกตุ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัติยา พงศ์พิสุทธา, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ....

(อาจารย์ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล, Dr.sc.agr.)

หัวหน้าภาควิชา ....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชนี ฮงประยูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ .... **เดือน** .... **พ.ศ.** ....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ความผันแปรของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

Variation of *Colletotrichum gloeosporioides* causing chilli anthracnose

โดย

นางสาวโชติรส รอดเกตุ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)
พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โชติรส รอดเกตุ 2555: ความผันแปรของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช) ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัติยา พงศ์พิสุทธา, Ph.D. 144 หน้า

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก จำนวน 58 ไอโซเลท ซึ่งเก็บตัวอย่างจากจังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ สุโขทัย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ อุดรธานี ขอนแก่น นครราชสีมา ศรีสะเกษ อุบลราชธานี กาญจนบุรี นครปฐม และประจวบคีรีขันธ์ จากลักษณะโคโลนีสามารถจัดกลุ่มเชื้อราได้ 8 กลุ่ม จากลักษณะรูปร่างสปอร์สามารถจัดกลุ่มได้ 3 กลุ่ม

อย่างไรก็ตามเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีความผันแปรลักษณะสัณฐานวิทยาค่อนข้างสูง จึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลมาศึกษาร่วมด้วย โดยการทำปฏิกิริยา Polymerase chain reaction (PCR) บริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 โดยใช้ไพรเมอร์ *Cg*Int ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* ร่วมกับ universal primer ITS4 ผลจากปฏิกิริยาได้แถบดีเอ็นเอ ขนาดประมาณ 450 คู่เบส เมื่อนำดีเอ็นเอมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 3 ชนิดคือ *Hae*III *Pvu*II และ *Eco*RI นำข้อมูลไปจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc. 2.20e ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 70 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ 2 กลุ่ม โดยมีค่า bootstrap เท่ากับ 86 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเชื้อราในกลุ่มที่ 1 นั้นประกอบด้วยเชื้อราไอโซเลทที่เก็บมาจากจังหวัด เชียงใหม่ ศรีสะเกษ นครปฐม นครสวรรค์ พิษณุโลก เพชรบูรณ์ ขอนแก่น อุบลราชธานี และประจวบคีรีขันธ์ และเชื้อราที่แยกมาจากจังหวัดเพชรบูรณ์จำนวน 4 ไอโซเลทไม่มีความผันแปรทางพันธุกรรม ส่วนเทคนิค Inter-simple sequencerepeat (ISSR)ใช้ไพรเมอร์ 4 ชนิด ได้แก่ $(CAG)_5$ $(GTG)_5$ $(GACA)_4$ และ $(TGTC)_4$ พบว่า $(CAG)_5$ มี polymorphic bands จำนวน 14 แถบ มีขนาด 400-1500 คู่เบส ส่วน $(GTG)_5$ มีจำนวน 14 แถบ มีขนาด 400-1300 คู่เบส ในขณะที่ $(GACA)_4$ และ $(TGTC)_4$ มี polymorphic bands จำนวน 10 แถบ มีขนาด 500-1300 คู่เบส และ 500-1800 คู่เบส ตามลำดับ นำข้อมูลไปวิเคราะห์และจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc. 2.20e พบว่า สามารถแบ่งกลุ่มของเชื้อรา 58 ไอโซเลท ได้ 6 กลุ่ม ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ พบว่า CM039 มีขนาด 325 คู่เบส แตกต่างไปจาก NKP018 NKS140 SKT046 และ SSK020 ซึ่งมีขนาด 441 439 449 และ 442 คู่เบส ตามลำดับ

การเก็บรักษาเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร potato carrot agar (PCA) และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 12 เดือน พบว่าลักษณะโคโลนีและรูปร่างของสปอร์เกิดการผันแปร ขณะที่ลักษณะของ seta และ appressoria ไม่เกิดการผันแปร การเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยส่วนใหญ่พบว่าอัตราการเจริญเติบโตและการงอกของสปอร์ที่เก็บบน PCA สูงกว่าเชื้อราที่เก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ส่วนการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริกพันธุ์จินดา พบว่าเชื้อราที่เก็บบน PCA จำนวน 42 ไอโซเลท และเชื้อราที่เก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 7 ไอโซเลท สามารถทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ 9 ไอโซเลท ที่เก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ สูญเสียความสามารถในการทำให้เกิดโรค พบว่าไอโซเลท SSK049 สามารถทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งก่อนและหลังการเก็บรักษาทั้งสองวิธี และมีความรุนแรงมากที่สุด โดยมีพื้นที่การเกิดโรคบนผลพริกทั้งก่อนการเก็บรักษา หลังการเก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งเท่ากับ 14.89, 10.21 และ 7.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

____________________ __________________________ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Chotiros Rodkate 2012: Variation of *Colletotrichum gloeosporioides* causing chilli anthracnose. Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Assistant Professor Ratiya Pongpisutta, Ph.D. 144 pages.

Morphological characteristics of fifty-eight *Colletotrichum gloeosporioides* isolates causing chilli anthracnose collected from Chiang Mai, Chiang Rai, Kanchanburi, Khon Kaen, Nakhon Pathom, Nakhon Ratchasima, Nakhon Sawan, Phetchabun, Phitsanulok, Prachuap Khiri Khan, Si Sa Ket, Sukhothai, Ubon Ratchathani and Udon Thani were studied. Based on colony characteristics were divided into 8 groups. Using conidial shapes were clustered into 3 groups.

However, *C. gloeosporioides* represented highly variation in morphology, hence molecular marker technique was required. Polymerase chain reaction (PCR) analysis of the ribosomal DNA (ITS1-5.8s-ITS2 region) with species-specific primer *Cg*Int in combination with the universal primer ITS4 was investigated to establish the identify of *C. gloeosporioides*. From this result, *Cg*Int/ITS4 was positive for all isolates of *C. gloeosporioides*, a fragment of approximately 450 bp was obtained. Three restriction enzymes, *Hae*III, *Pvu*II and *Eco*RI were used. All data were used to construct an UPGMA dendrogram by NTSYS pc 2.20e. There were 2 groups of *C. gloeosporioides* at 70% of DICE similarity with bootstrap value indicated 86%. The dendrogram revealed that group 1 comprised of isolates from Chiang Mai, Si Sa Ket, Nakhon Pathom, Nakhon Sawan, Phitsanulok, Phetchabun, Khon Kaen, Ubon Ratchathani and Prachuap Khiri Khan. Moreover, no genetic variation detected within four isolates of Phetchabun. Also, inter-simple sequencerepeat (ISSR) analysis was examined using 4 primers as (CAG)5, (GTG)5, (GACA)4 and (TGTC)4. (CAG)5 generated 14 bands from 400-1500 bp. (GTG)5 was found to produce 14 bands also with 400-1300 bp. Whilst (GACA)4 and (TGTC)4 showed amplified products with 10 bands generating fragments from 500-1300 and 500-1800 bp, respectively. All data were constructed by UPGMA cluster analysis with NTSYS pc 2.20e. Fifty-eight isolates were separated into 6 clusters at 50% of DICE similarity. DNA sequencing was revealed that CM039 with DNA size at 325 bp distinguished from NKP018, NKS140, SKT046 and SSK020 at 441, 439, 449 and 442 bp, respectively.

Cultural maintenance was studied using potato carrot agar (PCA) and sterile distilled water preservation for 12 months. Variation of colony types and conidial shapes were revealed while no variation occurred in setae and appressoria characteristics. Most isolates of *C. gloeosporioides* on PCA showing growth rate and spore germination were greater than isolates in sterile distilled water. Pathogenicity test was investigated on chilli fruits cv. Jinda. Forty two isolates maintained on PCA and seven isolates preserved in sterile distilled water showed 100% of disease incidence. Whilst, nine isolates maintained in sterile distilled water lost pathogenicity. SSK049 showed the greatest results in 100% of disease incidence before and after preservation by 2 methods and also in disease severity evaluated by inoculating on chilli fruits before and after preservations on PCA and in sterile distilled water with 14.89, 10.21 and 7.23% of diseased areas, respectively.

____________________ ____________________ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ รัติยา พงศ์พิสุทธา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักและดร. ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่ได้สละเวลาอันมีค่าในการให้คำปรึกษา แนะนำ ติดตาม วิธีการดำเนินการวิจัยและตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้โดยละเอียด รวมทั้งให้ความช่วยเหลือในด้านอื่นๆ เสมอมา ขอขอบพระคุณ ดร. จินตนา อันอาตม์งาม ประธานการสอบ และดร. บุญญวดี จิระวุฒิ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาโรคพืชที่ได้กรุณาให้ความรู้และคำแนะนำในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบคุณศูนย์วิทยาการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหาร สถาบันวิทยาการขั้นสูงแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย

ขอขอบคุณคุณวรานันท์ วิญญรัตน์ คุณนวรัตน์ อิ่มจิตร คุณจริยา สุนทร คุณเทพพนม แสงเพลิง และน้องๆ ทุกคนในห้องปฏิบัติการเชื้อรา ภาควิชาโรคพืช ที่คอยให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษา อีกทั้งยังให้ความช่วยเหลือ ในการทำวิทยานิพนธ์เสมอมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ และน้องสาว ที่คอยให้กำลังใจ คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือ และสนับสนุนทางด้านการเรียนดี

โชติรส รอดเกตุ

ตุลาคม 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	17
ผลและวิจารณ์	28
สรุป	133
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	136
ภาคผนวก	142
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	144

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่		หน้า
1	การเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จาก 14 จังหวัด	17
2	องค์ประกอบของ Master mix สำหรับปฏิกิริยา PCR-RFLP	22
3	องค์ประกอบของ Master mix สำหรับการตัดผลิตผล ITS ด้วยเอมไซม์ตัดจำเพาะ	23
4	ชนิดไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับปฏิกิริยา ISSR- PCR	24
5	องค์ประกอบของ Master mix สำหรับปฏิกิริยา ISSR- PCR	24
6	อุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับปฏิกิริยา ISSR- PCR ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*	25
7	อุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับปฏิกิริยา ISSR- PCR (ตัวควบคุม)	25
8	การแบ่งกลุ่มของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยอาศัยลักษณะโคโลนี	29
9	การแบ่งกลุ่มของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท โดยอาศัยลักษณะรูปร่างของสปอร์	35
10	เปรียบเทียบการแบ่งกลุ่มของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลทโดยอาศัยลักษณะของโคโลนีและลักษณะรูปร่างของสปอร์	40
11	ค่าเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท	42
12	อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท บนอาหาร PDA ในวันที่ 3	44
13	ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ได้จากการนำมาตัดด้วยเอนไซม์ *Hae*III	49
14	ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ได้จากการนำมาตัดด้วยเอนไซม์ *Pvu*II	49
15	ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ได้จากการนำมาตัดด้วยเอนไซม์ *Eco*RI	50
16	การแบ่งกลุ่มโดยเทคนิค ISSR- PCR ใช้ไพรเมอร์ (CAG)5	59

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า

17 การแบ่งกลุ่มโดยเทคนิค ISSR- PCR ใช้ไพรเมอร์ (GTG)5 59

18 การแบ่งกลุ่มโดยเทคนิค ISSR- PCR ใช้ไพรเมอร์ (GACA)4) 59

19 การแบ่งกลุ่มโดยเทคนิค ISSR- PCR ใช้ไพรเมอร์ (TGTC)4 60

20 การแบ่งกลุ่มโดยเทคนิค ISSR- PCR ใช้ไพรเมอร์ (CAG)5 (GTG)5 (GACA)4 และ (TGTC)4 60

21 ขนาดของแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง (polymorphic band) ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ (CAG)5 (GTG)5 (GACA)4 และ (TGTC)4 61

22 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เมื่อเก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในวันที่ 3 ของการเจริญเติบโตบนอาหาร PDA 71

23 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลทหลังการเก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 12 เดือน 74

24 เปรียบเทียบลักษณะรูปร่างของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เก็บรักษาบนอาหาร PCA จากระยะเริ่มต้น และระยะเวลา 12 เดือน 79

25 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*ทั้ง 58 ไอโซเลท เมื่อเก็บบนอาหาร PCA ที่ระยะเวลา 4,8 และ 12 เดือน 80

26 เปรียบเทียบลักษณะรูปร่างของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากระยะเริ่มต้น และระยะเวลา 12 เดือน 95

27 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ทั้ง 58 ไอโซเลท เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ระยะเวลา 4,8 และ 12 เดือน 96

28 ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ทั้ง 58 ไอโซเลท เมื่อเก็บบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 12 เดือน 107

29 ลักษณะ appressoriaและ setae ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้ง 58 ไอโซเลท เมื่อเก็บบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 12 เดือน 115

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า

30 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแผล ความรุนแรงของโรคและความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริกพันธุ์จินดาหลังการเก็บรักษาเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 12 เดือน 129

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* กลุ่มที่ 1 เส้นใยโคโลนีสีขาวปนเทากลาง โคโลนีสีเขียวขี้ม้าถึงเทา พบ concentric ring กลุ่มสปอร์ค่อนข้างน้อย สี pale salmon, salmon หรืออาจไม่พบ 31

2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* กลุ่มที่ 2 เส้นใยสีเขียวอมเทาถึงเขียวมะกอก เจริญแน่น พบ concentric ring บางไอโซเลทอาจพบเส้นใยสีขาวฟูเล็กน้อยที่ผิวหน้าอาหาร บางไอโซเลท พบกลุ่มสปอร์สี salmon 32

3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* กลุ่มที่ 3 เส้นใยมีสีเทาถึงเทาเข้มเขียวมะกอก เจริญแน่นบนอาหาร บางไอโซเลทพบกลางโคโลนีมีสีเขียวมะกอกถึงเทา ขอบโคโลนีสีขาว ไม่พบกลุ่มสปอร์ หากพบมีสี pale peach และ pale salmon เมื่ออายุมากกว่า 2 สัปดาห์ 33

4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* กลุ่มที่ 4 เส้นใยมีสีขาวถึงขาวปนเทาเขียวมะกอก เรียบกับ ผิวหน้าอาหาร concentric ring ชัดเจนพบกลุ่มสปอร์สี pale peach, pale salmon, salmon, salmon orange, orange 34

5 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* (A-C) กลุ่ม 5 เส้นใยมีสีขาวมีลักษณะฟูพบ concentric ring พบกลุ่มสปอร์ค่อนข้างน้อยสี salmon หรืออาจไม่พบ (D-E) กลุ่ม 6 เส้นใยมีลักษณะฟู บริเวณกลางโคโลนีสีเขียวอมเทาถึงเขียวมะกอกขอบสีขาว เจริญแน่น พบ concentric ring (F) กลุ่ม 7 เส้นใยมีสีขาวเจริญฟูบนอาหาร ขอบโคโลนีหยัก ไม่พบ concentric ring และกลุ่มสปอร์ (G) กลุ่ม 8 เส้นใยมีสีเขียวมะกอกเจริญแน่น กลางโคโลนีสีขาวถึงขาวปนเทามีลักษณะกลวง 34

6 ลักษณะรูปร่างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* กลุ่มที่ 1 สปอร์มีรูปร่างตรงทรงกระบอก ปลายมน(A-C) กลุ่มที่ 2 สปอร์มีรูปร่างตรง ทรงกระบอกกว้างปลายมน(D-E) กลุ่มที่ 3 สปอร์มีรูปร่างตรง ทรงกระบอกกว้างสั้นไปจนถึงรูปไข่ปลายมน (F) 38

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

7 ลักษณะรูปร่าง setae ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* (A) setae มีลักษณะสีน้ำตาลอ่อนไปจนถึงน้ำตาลเข้มและสีดำ มีลักษณะยาวปลายแหลม (B) setae มีลักษณะสีน้ำตาลเข้มและสีดำ มีลักษณะสั้นปลายมน (C) setae มีลักษณะสีน้ำตาลอ่อนไปจนถึงน้ำตาลเข้มมีลักษณะสั้น ปลายแหลม 39

8 ลักษณะรูปร่าง appressorium ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* : (A) รูปร่าง circular (B) รูปร่าง clavate (C) รูปร่าง long clavate (D) รูปร่าง irregular (E) รูปร่าง lobe (F) รูปร่าง allantoid (G) รูปร่างcylindrical และ (H) ลักษณะการเจริญแบบเดี่ยวๆ และแบบลูกโซ่ 41

9 เปอร์เซ็นต์การงอกของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท 43

10 ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลทบนอาหาร PDA 45

11 ชิ้นส่วนดีเอ็นบริเณ ITS ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยใช้เทคนิค PCR ไพรเมอร์ที่ *Cg*Int ร่วมกับ universal primer ITS4 ได้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 450 คู่เบส ladder =100 bp 48

12 ชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hae*III ladder = 100 bp 51

13 ชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Pvu*II ladder = 100 bp 52

14 ชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Eco*RI ladder = 100 bp 53

15 แสดงผลการจัดทำ UPGMA cluster จากการวิเคราะห์ข้อมูลชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เกิดจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Eco*RI, *Hae*III และ *Pvu*II ค่าที่แสดงบนกิ่งคือ ค่า bootstrap ที่คำนวณจาก 100 ซ้ำด้วยโปรแกรม Winboot 54

16 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ISSR-PCR ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยใช้ไพรเมอร์ (CAG)5 ladder: 1 kb, 100 bp 62

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ | หน้า

17 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ISSR-PCR ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยใช้ไพรเมอร์ (GTG)5 ladder: 1 kb, 100 bp 63

18 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ISSR-PCR ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยใช้ไพรเมอร์ (GACA)4 ladder: 1 kb, 100 bp 64

19 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ISSR-PCR ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยใช้ไพรเมอร์ (TGTC)4 ladder: 1 kb, 100 bp 65

20 แสดงผลการจัดทำ UPGMA cluster จากการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค ISSR-PCR ของเชื้อ *C.gloeosporioides* โดยใช้โปรแกรม NTSYS-pc version 2.01 โดยใช้วิธี UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Averages) ค่า cophenetic correlation (r) = 0.82 66

21 ลำดับเบสของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ไอโซเลท CM 039 ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int และ universal primer คือ ITS4 67

22 ลำดับเบสของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ไอโซเลท NKP 018 ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int และ universal primer คือ ITS4 67

23 ลำดับเบสของชิ้นส่วนดีเอ็นเอไอบริเวณ ITS โซเลท NKS 140 ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int และ universal primer คือ ITS4 67

24 ลำดับเบสของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ไอโซเลท SKT 046 ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int และ universal primer คือ ITS4 68

25 ลำดับเบสของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ไอโซเลท SSK 020 ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int และ universal primer คือ ITS4 68

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

26 เปรียบเทียบลำดับเบสและความสัมพันธ์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของไอโซเลท CM039, NKP018, NKS140, SKT046 และ SSK020 69

27 เปรียบเทียบอัตราค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท ที่เก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 12 เดือน 73

28 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท ที่เก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 12 เดือน 75

29 เปรียบเทียบลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท CM039, KK049 และ SSK049 หลังการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างกัน(A) ก่อนการเก็บรักษา (B) หลังเก็บรักษาบนอาหาร PCA เป็นเวลา 4 เดือน (C) หลังเก็บรักษาบนอาหาร PCA เป็นเวลา 8 เดือน (D) หลังเก็บรักษาบนอาหาร PCA เป็นเวลา 12 เดือน 77

30 เปรียบเทียบลักษณะรูปร่างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท NKP089, NKS140 และ PCB034 (A-C) ก่อนการเก็บรักษาบนอาหาร PCA และ (D-F) หลังการเก็บรักษาบนอาหาร PCA นาน 12 เดือน 78

31 เปรียบเทียบลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท CM039, KK049 และ SSK049 หลังการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างกัน(A) ก่อนการเก็บรักษา (B) หลังเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 4 เดือน (C) หลังเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 8 เดือน (D) หลังเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 12 เดือน 93

32 เปรียบเทียบลักษณะรูปร่างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท NKP089, NKS140 และ PCB034 (A-C) ก่อนการเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และ (D-F) หลังการเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 12 เดือน 94

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

33 ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกพันธุ์จินดาที่ปลูกเชื้อด้วย *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท CM039, KK049 และ SSK049 (A) ก่อนการเก็บรักษา พบว่าทั้ง 3 ไอโซเลททำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (B) เมื่อเก็บรักษาบนอาหาร PCA เป็นเวลา 12 เดือน พบว่า CM039 ทำให้เกิดโรคได้ 80, KK049 ทำให้เกิดโรคได้ต่ำกว่า 50 และ SSK049 ทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (C) เมื่อเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 12 เดือน พบว่า CM039 และ KK049 สูญเสียการเกิดโรค แต่ SSK049 ยังคงเกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ 128
34 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของขนาดแผลบนผลพริกพันธุ์จินดาหลังจากปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งก่อนเก็บรักษาและหลังเก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 12 เดือน 132

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความผันแปรของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

Variation of *Colletotrichum gloeosporioides* causing chilli anthracnose

คำนำ

เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก ทำให้เกิดความเสียหายอย่างมากต่อการผลิตพริกนอกจากนี้เชื้อรานี้ยังสามารถเข้าทำลายพืชได้หลายๆชนิดเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่มีพืชอาศัยค่อนข้างกว้าง มีรายงานว่าโรคแอนแทรคโนสของพริกนั้นในประเทศไทยพบเชื้อสาเหตุโรคนี้ คือ *C. gloeosporioides*, *C. capsici* และ *C. acutatum* (ธารทิพย และคณะ, 2548) อาการของโรคแอนแทรคโนสจะแสดงชัดเจนบนผลพริกที่แก่จัดหรือผลพริกที่สุกแล้ว โดยแผลจะเกิดรอยช้ำเป็นแอ่ง ยุบตัวลง มีลักษณะ กลมรี ขนาดค่อนข้างใหญ่ แผลที่เกิดใหม่มีสีเหลืองส้มและเมื่ออายุมากสีจะคล้ำลงเล็กน้อย ซึ่งเป็นกลุ่มของ acervuli เรียงซ้อนกันเป็นวงๆ (สมศิริ, 2521)

ประเทศไทยมีการปลูกพริกหลายชนิดและหลายพันธุ์ และสามารถปลูกได้ทั่วทุกภูมิภาค เพื่อนำไปบริโภค และส่งออกทั้งรูปผลสด ซอสพริก พริกแห้ง เครื่องแกงสำเร็จรูป พริกบดหรือป่นเพื่ออุตสาหกรรม ดังนั้นโรคแอนแทรคโนสจึงมีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อผลผลิตพริก ลักษณะของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่พบในประเทศไทยค่อนข้างมีความผันแปรสูง การจัดจำแนกเชื้อราโดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นเกณฑ์ เช่น สีและอัตราการเจริญของ colony ขนาดและรูปร่างของ conidia ขนาดและรูปร่างของ appressoria การสร้างหรือไม่สร้าง setae และ sclerotia (Bernstein *et al.*, 1995; Brown *et al.*, 1996) สามารถผันแปรได้ตามสภาพแวดล้อม การอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอ จึงจำเป็นที่จะต้องนำเทคนิคทางด้าน เครื่องหมายโมเลกุลเข้ามาร่วมด้วย

การใช้เทคนิคทางด้านเครื่องหมายโมเลกุลในการจัดจำแนกเชื้อรา เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความแม่นยำและรวดเร็วในการจัดจำแนกเชื้อรา (Samuels and Siefert, 1995) โดยลักษณะทาง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันจะมีลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนกัน (สุรินทร์, 2545) จึงสามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตได้หรือใช้ในการศึกษาความผันแปรของประชากรเชื้อราได้ การใช้เทคนิคทางด้านเครื่องหมายโมเลกุลนั้นใช้ในงานต่างๆ เช่น เทคนิค Random amplified polymorphic DNA (RAPD) นำมาใช้ในการศึกษาความผันแปรของประชากรเชื้อรา เทคนิค Restriction fragment length polymorphism (RFLP) นำมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ของประชากรเชื้อรา การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ Internal transcribed spacer (ITS) โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงต่อชนิดของเชื้อรา เพื่อใช้ในการจัดจำแนก เทคนิค Inter-simple sequence repeat (ISSR) เป็นเทคนิคที่มีการประยุกต์ใช้ในการจัดจำแนกความผันแปรทางพันธุกรรมของเชื้อรา สำหรับงานวิจัยนี้ได้ศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จึงนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค RFLP และ เทคนิค ISSR มาประยุกต์ใช้ นอกจากนี้ได้ศึกษาความสามารถในการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เพื่อเปรียบเทียบ pathogenicity หลังการเก็บเชื้อราชนิดนี้ด้วยวิธีเก็บที่แตกต่างกัน ผลจากการวิจัยจะทำให้เข้าใจถึงความผันแปรของเชื้อราจากแหล่งปลูกพริกต่างๆ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์พริกที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสและวิธีการเก็บรักษาเชื้อราที่เหมาะสมต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความผันแปรของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก

2. เพื่อศึกษาวิธีการเก็บเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในที่เหมาะสม

3. เพื่อศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* หลังการเก็บรักษาเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

โรคแอนแทรคโนสพริก มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum acutatum*, *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* เป็นสาเหตุหลัก สำหรับเชื้อรา *C. gloeosporioides* นั้นค่อนข้างมีความหลากหลายหรือความผันแปรค่อนข้างสูง จากการศึกษาของรัติยา และคณะ (2553) ซึ่งได้ศึกษาความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกและได้สำรวจเชื้อราสาเหตุโรคจากแหล่งปลูกพริกสำคัญ 15 จังหวัดพบว่าเชื้อรา species นี้ เมื่อเจริญบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) แสดงลักษณะโคโลนีแบ่งได้ 9 กลุ่ม ขณะที่ *C. capsici* และ *C. acutatum* แบ่งได้ 6 และ 5 กลุ่ม ตามลำดับ

1. การจัดจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum*

เชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบรายงานครั้งแรกโดย Tode ในปี ค.ศ. 1790 มีชื่อเดิมว่า *Vermicularia* ต่อมาเมื่อปี ค.ศ. 1837 Corda ได้เปลี่ยนจากสกุล *Vermicularia* เป็นชื่อใหม่คือ *Colletotrichum* และเป็นที่ยอมรับในชื่อนี้มาจนถึงปัจจุบัน (Sutton, 1992)

ในปัจจุบันได้จัดจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* ดังนี้

Kingdom Fungi
  Phylum Ascomycota
    Class Ascomycetes
      Order Phyllachorales
        Family Phyllachoraceae
          Genus *Colletotrichum*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีการสร้าง conidium อยู่ภายใน fruiting body แบบ acervulus สร้าง conidium มีเซลล์เดียว สีใส มีขนาด 7 - 20 × 2.5 - 5 ไมโครเมตร รูปร่างทรงกระบอกปลายมนส่วน conidiophore ซึ่งอยู่บน acervulus รูปร่างไม่แน่นอน มีความยาวประมาณ 500 ไมโครเมตร สร้าง seta ขนาด 200 × 4 - 8 ไมโครเมตร ซึ่งมี septum กั้น 1 - 4 แผ่น มีสีน้ำตาล ที่ฐานมีลักษณะโป่ง (Ploetz *et al.,* 1994; Pitt and Hocking, 1997) ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบเป็นสีเทาอ่อนจนถึงสีเทาเข้ม (Pitt and Hocking, 1997) ซึ่งลักษณะต่างๆ เหล่านี้อาจมีความแตกต่างกันไปได้บ้างเมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Sutton, 1980) ระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อรานี้ พบอยู่ในสกุล *Glomerella* (Sutton, 1992)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยา

ในประเทศไทยมีการรายงานถึงความหลากหลายทางลักษณะสัณฐานวิทยาในแต่ละสปีชีส์ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกมาจากผลพริกจำนวน 15 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ สุโขทัย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ อุดรธานี ขอนแก่น นครราชสีมา ศรีสะเกษ อุบลราชธานี กาญจนบุรี นครปฐม ประจวบคีรีขันธ์ และนครศรีธรรมราช นำมาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใต้แสง UV อาศัยลักษณะโคโลนีพบว่า *C. gloeosporioides* แบ่งได้ 9 กลุ่ม ขณะที่ *C. capsici* และ *C. acutatum* แบ่งเป็น 6 และ 5 กลุ่ม ตามลำดับ และพบว่ากลุ่มสปอร์ของ *C. gloeosporioides* มีสี pale peach, pale salmon, salmon, salmon orange, orange และ bright orange สปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกตรง ปลายมนอาจพบบ้างที่ปลายด้านหนึ่งเรียว ส่วน *C. capsici* พบกลุ่มสปอร์สี buff peach, pale peach, salmon, pale salmon และ salmon orange สปอร์มีรูปร่างเสี้ยววงพระจันทร์จนถึงรูปร่างรี ตรงปลายแหลม และ *C. acutatum* สร้างกลุ่มสีสปอร์สี orange และ bright orange รูปร่างรีหรือปลายเรียวด้านในด้านหนึ่ง (รัติยาและคณะ 2553)

Freeman *et al.* (2000) ได้ทำการแยกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จากผลอัลมอนด์ อะโวคาโด และ สตรอเบอรี่ จากประเทศอิสราเอล บางส่วนแยกจากผลอัลมอนด์ในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับเทคนิคทางด้านเครื่องหมายโมเลกุล พบว่าสปอร์ของ *Colletotrichum* ที่แยกมาจากอะโวคาโด มีรูปร่างทรงกระบอกตรง ปลายเรียว บ้างครั้งพบปลายแหลม มีขนาด 22 × 13 ไมโครเมตร ส่วน *C. acutatum* ที่แยกได้จากผลอัลมอนด์ในประเทศสหรัฐอเมริกา และจากสตรอเบอรี่ สปอร์มีรูปร่างเป็นกระสวย ปลายมน มีขนาด 20 × 13 ไมโครเมตร ส่วน *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากอะโวคาโด และพืชอื่นๆ สปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกตรง หัวท้ายมน มีขนาด 24 × 13 ไมโครเมตร

การศึกษาความหลากหลายทางลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากถั่วสไตโลของประเทศเม็กซิโก จำนวน 264 ไอโซเลท เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใต้แสง UV พบว่าโคโลนีมีลักษณะเส้นใยเรียบจนถึงฟู พบการสร้าง concentric ring โคโลนีมีสี white, orange, yellow, green, brown, black และ cream มีขนาด 55 – 25 มิลลิเมตร สปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกตรง หัวท้ายมน มีขนาด 9.2 - 18 × 2.4 – 4.7 ไมโครเมตร พบกลุ่มสปอร์มีสี whitish orange (Munaut *et al.*, 2001)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Pedro *et al*. (2002) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพืชดอกที่อยู่ในสกุล Lupinus และในส้ม โดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ให้ได้อายุ 5 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใต้แสง UV พบว่า *Colletotrichum* ที่แยกมาจากพืชดอกคือ *C. acutatum* สปอร์มีรูปร่างเป็นกระสวย ปลายแหลม โคโลนีมีสี ochre, pale pink, olive และ gray พบกลุ่มสปอร์สี salmon, carmine, ocher, olive green, pink และ orange ส่วน *Colletotrichum* ที่แยกมาจากส้มคือ *C. gloeosporioides* สปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกตรง หัวท้ายมน โคโลนีมีสี cream lead และ gray พบกลุ่มสปอร์สี orange

ในประเทศญี่ปุ่นได้มีการศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางด้านเครื่องหมายโมเลกุล ในการจำแนกบนอาหาร PDA ภายใต้แสง UV 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง อายุ 7 วัน พบว่า *C. boninense* สร้างสปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกใหญ่ ปลายมน มีขนาด 13 - 15.5 × 5 - 6 ไมโครเมตร appressorium มีรูปร่างไม่สม่ำเสมอ สีน้ำตาลเข้มมีขนาด 8 - 12.5 × 5.5 - 9 ไมโครเมตร โคโลนีมีสีครีมไปจนถึงสีส้ม ส่วน *C. gloeosporioides* สร้างสปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกรี หัวท้ายมน มีขนาดตั้งแต่ 12.5 – 16 × 3 – 4.5 ไมโครเมตร appressorium มีรูปร่างวงรี กระบอง สีน้ำตาล มีขนาด 6 - 20 × 4 - 12 ไมโครเมตร โคโลนีมีสีขาวปนเทา ไปจนถึงสีเทาเข้ม (Jouji *et al*., 2003)

ในปี ค.ศ. 2004 Guozhong *et al*. ศึกษาความผันแปรของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะรูปร่างของสปอร์และลักษณะของโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้จากเขตป่าสงวนในประเทศกายอานา โดยนำเชื้อรา *Colletotrichum* มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มอายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ใต้แสง UV ศึกษาลักษณะและขนาดของสปอร์รวมทั้งส่วนประกอบอื่นๆ พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* สปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกตรง ปลายเรียว หัวท้ายมน มีขนาดตั้งแต่ 13 - 16 × 3.5 - 4.5 ไมโครเมตร โคโลนีมีเส้นใยฟูสีขาวปนเทา จนถึงเทาเข้ม ไม่พบการสร้าง setae ส่วน *C. acutatum* สปอร์มีรูปร่างเป็นกระสวย ปลายมน มีขนาดตั้งแต่ 10.5 - 15.5 × 3 - 4 ไมโครเมตร โคโลนีมีสีขาวไปจนถึงสีน้ำตาลเทาปนน้ำตาล ไม่พบการสร้าง setae สำหรับ *C. boninense* สปอร์รูปร่างทรงกระบอก ปลายตัด มีขนาดตั้งแต่ 12.5 - 16 × 5 - 6 ไมโครเมตร โคโลนีมีสีน้ำตาลปนเทา ไม่พบการสร้าง setae และ *Glomerella cingulata* สปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกตรงเล็กน้อย ปลายตัดและเอียงเล็กน้อย มีขนาดตั้งแต่ 12.5 - 14 × 4 - 5.5 ไมโครเมตร โคโลนีมีสีเทาไปจนถึงสีน้ำตาลเข้ม พบการสร้าง setae

ในประเทศสเปนมีการศึกษาเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในสตรอเบอรี่ โดยการนำเชื้อรา *Colletotrichum* มาเลี้ยงบนอาหาร PDA อุณหภูมิ 25 องศา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เซลเซียส ใต้แสง UV เป็นเวลา 7 วัน แล้วทำการจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะของโคโลนีและขนาดของสปอร์พบว่าสามารถจำแนกได้ 2 สปีชีส์ ได้แก่ *C. acutatum* และ *C. gloeosporioides* ซึ่ง *C. acutatum* สร้างสปอร์ขนาด 7.12 × 3.30 ไมโครเมตร โคโลนีมีสีขาวปนเทา เทาน้ำตาล พบกลุ่มสปอร์มีสี salmon และ cream ส่วน *C. gloeosporioides* สร้างสปอร์ขนาด 12.65 × 4.63 ไมโครเมตร โคโลนีมีสีขาวปนเทา เทาเข้ม ไปจนถึงเขียวมะกอก ไม่พบการสร้างกลุ่มสปอร์ (Carlos *et al.,* 2008)

3. การใช้เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อจำแนกและศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา

ในการจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานเพียงอย่างเดียวนั้นอาจไม่มีความละเอียดมากพอ เนื่องจากความ ผันแปรของเชื้อราในสปีชีส์นี้มีค่อนข้างสูง ดังนั้นการใช้เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลจึงเข้ามามีบทบาทในการเพิ่มความแม่นยำให้มากขึ้น

การศึกษาเครื่องหมายโมเลกุล หรือ marker เพื่อวัตถุประสงค์ในการบ่งชี้ความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic diversity) ของสิ่งมีชีวิตทั้งทางปริมาณและคุณภาพ อาจเป็นการจำแนกความแตกต่างระหว่างและภายในสปีชีส์ (between and populations) หรือระหว่างแต่ละตัว (between individual) ก็ได้ เครื่องหมายที่ใช้บ่งบอกความแตกต่างนี้มี 2 ประเภท คือ เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (morphological marker) และเครื่องหมายทางโมเลกุล (molecular marker) สำหรับเครื่องหมายทางสัณฐานวิทยาเป็นการบอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต โดยการเปรียบเทียบลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยา และทางสรีรวิทยา (physiology) โดยได้รับอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ทำให้การตรวจสอบผิดพลาดได้ ส่วนเครื่องหมายทางโมเลกุลมี 2 ระดับ คือ ระดับโปรตีนซึ่งเป็นการตรวจสอบที่โมเลกุลของโปรตีนชนิดต่างๆ และในระดับดีเอ็นเอ ซึ่งตรวจสอบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (สุรินทร์, 2545)

เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) คือดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิต เป็นได้ทั้งดีเอ็นเอที่อยู่ที่ตำแหน่งหนึ่งๆ บนโครโมโซม (nuclear DNA) หรือดีเอ็นเอในออร์แกเนลล์ ซึ่งได้แก่ ไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA) หรือคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ (chloroplast DNA) ก็ได้ การที่สามารถใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายได้เนื่องจาก เกิดความแปรปรวนหรือความผันแปร หรือความหลากหลาย (variation) ของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ หรือเกิด polymorphism ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (สุรินทร์, 2545)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีตรวจสอบโพลีมอร์ฟิซึมของดีเอ็นเอ (DNA polymorphism) ทำได้โดยการหาลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (DNA sequencing) หรือตรวจสอบโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ การใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายบ่งบอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต มีที่มาจากการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) ซึ่งเป็นวิธีการที่ทำให้เกิดลายพิมพ์ หรือแบบแผนของดีเอ็นเอที่จำเพาะ สามารถตรวจสอบรูปแบบความแตกต่าง หรือโพลีมอร์ฟิซึมได้ วิธีการศึกษาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ตรวจสอบความหลากหลายของพันธุกรรม ได้แก่ วิธีไฮบริไดเซชั่น (hybridization) และวิธีเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยเทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction) (สุรินทร์, 2545)

1.) วิธีไฮบริไดเซชั่น ได้แก่ เทคนิค RFLP (Restricetion fraqment length polymorphism) หมายถึง ความแตกต่างหรือความหลากหลายของขนาดดีเอ็นเอ ที่เกิดจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตเก็บอยู่ในนิวเคลียส และออร์แกเนลล์บางชนิด ได้แก่ คลอโรพลาสต์และไมโตคอนเดรียในรูปของดีเอ็นเอ โมเลกุลของดีเอ็นเอที่อยู่ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตนี้ มีความสามารถที่จะจำลองโมเลกุลได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ แต่บางครั้งอาจมีการเปลี่ยนแปลงภายในดีเอ็นเอได้ เนื่องจากสิ่งแวดล้อมหรือข้อผิดพลาดของเซลล์เอง ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงถึงระดับโครโมโซมได้ การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้เกิดความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ซึ่งสามารถตรวจสอบโดยการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอแต่เป็นวิธีที่ทำได้ยากและใช้เวลานานมาก วิธีที่ง่าย คือ การนำดีเอ็นเอที่ต้องการหาความแตกต่างนั้นมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ ที่ตำแหน่งที่มีการเรียงตัวของเบสแบบจำเพาะ เรียกว่าตำแหน่งจดจำ (recognition site) ซึ่งตำแหน่งจดจำของเอนไซม์ตัดจำเพาะแต่ละชนิดประกอบด้วยเบส 4-8 คู่เบส เอนไซม์ชนิดหนึ่งตัดดีเอ็นเอเป้าหมายโมเลกุลหนึ่ง จะได้ชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดและจำนวนคงที่เสมอ หากดีเอ็นเอเป้าหมายมาจากแหล่งต่างกัน และมีลำดับเบสที่เปลี่ยนไป เมื่อนำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดเดียวกัน จะได้ขนาดและจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่แตกต่างจากเดิม ลักษณะนี้เรียกว่าเกิด polymorphism หรือมี RFLP (สุรินทร์, 2548)

2.) เทคนิค Internal transcribed spacer (ITS) เป็นเทคนิค RFLP ชนิดหนึ่ง เป็นการวิเคราะห์ลำดับเบสหรือดีเอ็นเอของเชื้อราเป็นอีกวิธีการหนึ่งสำหรับวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธ์ของเชื้อรา หรือในระดับที่สูงขึ้นไป หรือเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อราในกรณีที่ลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่เพียงพอในการจำแนกชนิดของเชื้อรา ดังนั้นการวิเคราะห์ลำดับเบสของเชื้อราจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้ เนื่องจากเป็นการตรวจสอบจากจีโนไทป์ของเชื้อราโดยตรง สำหรับลำดับเบส หรือชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่นิยมนำมาวิเคราะห์กันในเชื้อรา ได้แก่ ribosomal RNA (rRNA) gene cluster ซึ่งมีการแบ่งออกเป็นหลายๆส่วน ขึ้นอยู่กับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์ที่จะเลือกนำส่วนใดมาวิเคราะห์ เช่น ส่วนที่อยู่ระหว่างยีน หรือที่เรียกว่า ITS จะแบ่งเป็น ITS1 และ ITS2 ซึ่งคั่นด้วยส่วน 5.8S gene สำหรับส่วน ITS นั้นกล่าวคือเป็นส่วนที่เกิดการผันแปรได้เร็วเมื่อเชื้อเกิดการกลายพันธุ์ หรือเรียกว่า ส่วน variable region ซึ่งเหมาะสำหรับการศึกษาความสัมพันธ์หรือจำแนกในระดับที่ต่ำกว่า genus หรือ species แต่สำหรับส่วนอื่นๆ เช่น large subunit (28S), small subunit (18S) และ 5.8S นั้นจัดเป็นส่วนอนุรักษ์ หรือ conserve region ซึ่งเหมาะสำหรับการจำแนกเชื้อราในระดับจีนัสขึ้นไป เนื่องจากถ้าใช้วิเคราะห์สำหรับเชื้อราในสกุลเดียวกันหรือสปีชีส์เดียวกันอาจจะไม่มีความแตกต่างกันในส่วนนี้ (White *et al.,* 1990)

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค PCR เป็นวิธีที่ประยุกต์ใช้ได้หลากหลาย มีประสิทธิภาพสูงในการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอในตำแหน่งเฉพาะหรือปริมาณที่สนใจได้มากมาย เพียงใช้ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) เพียงเล็กน้อย เป็นเทคนิคที่มีความรวดเร็ว แม่นยำสูง และใช้งบประมาณไม่แพง หลักการสำคัญคือการอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase ซึ่งจะสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ ต่อจากทางด้านปลาย 3’ ของไพรเมอร์แต่ละชนิด การสร้างดีเอ็นเอสายใหม่จึงเกิดขึ้นในทิศทางจาก 5’ ไป 3’ ไพรเมอร์ทั้ง 2 ชนิดจะช่วยเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอได้เป็นจำนวนทวีคูณในแต่ละรอบของปฏิกิริยา PCR โดยปฏิกิริยาแต่ละรอบเกิดขึ้นจากการควบคุมอุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ อุณหภูมิที่ทำให้ดีเอ็นเอต้นแบบแยกตัวออกจากกัน (denaturition temperature) ตามด้วยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการให้ไพรเมอร์เกาะกับดีเอ็นเอต้นแบบ (annealing temperature) ตามด้วยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase (extension temperature) เป็นแบบนี้เรื่อยไปจนครบจำนวนรอบที่ตั้งเอาไว้ เมื่อปฏิกิริยา PCR จบแล้ว นำผลิตผลที่ได้ไปทำ electrophoresis และย้อมแถบดีเอ็นเอด้วย ethidiumbromide ซึ่งจะตรวจสอบได้ว่าขนาดของผลิตผลได้มีความยาวเท่าใด โดยเปรียบเทียบกับ DNA marker ซึ่งเป็นดีเอ็นเอที่ทราบขนาดแล้ว ความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น เกิดจากการเพิ่มขึ้นหรือขาดหายไปของชิ้นส่วนดีเอ็นเอภายในชิ้นดีเอ็นเอเป้าหมาย (Surzycki, 2000) เครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีพื้นฐานมาจากเทคนิค PCR ได้ถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา

สำหรับเทคนิค Inter-simple sequence repeat (ISSR) เป็นเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่อยู่ระหว่าง microsatellite หรือ simple sequence repeat โดยใช้ SSR ไพรเมอร์ ตรงบริเวณที่มีลำดับเบสชุดซ้ำ ซึ่งมีจำนวนหลายชุดในจีโนมของสิ่งมีชีวิต ขนาดของชุดซ้ำสั้นมากมีจำนวน 15-18 นิวคลีโอไทป์ มีลำดับเบสไม่ซับซ้อน เป็นการเกาะแบบไม่เจาะจงชัดเจนว่าเป็นตำแหน่งใด เป็นไพรเมอร์เพียง 1 ชนิด (single primer) ซึ่งเป็นดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสสั้นๆ ซ้ำกันและมีจำนวนมากอยู่ในจีโนม จัดว่าเป็น semispecific primer ที่มีความจำเพาะกับดีเอ็นเอเป้าหมาย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มากขึ้น ดังนั้นผลที่ได้จากการใช้ SSR primer ทำให้เราสามารถมองเห็นแถบของดีเอ็นเอ ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์มีหลายแถบเช่นเดียวกับเทคนิคอาร์เอพีดี แต่เทคนิคนี้มีข้อจำกัด คือ ไม่สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอที่เป็นเฮเทอโรไซโกตได้ ตรวจสอบได้เฉพาะดีเอ็นเอที่เป็นโฮโมไซโกตเท่านั้น (สุรินทร์, 2545) ข้อดีของเทคนิคนี้ คือ ไม่จำเป็นต้องทราบลำดับเบสในจีโนมของสิ่งมีชีวิต ซึ่งใช้ต้นทุนสูงในการศึกษา แต่สามารถใช้ประโยชน์จากลำดับเบสซ้ำๆ ที่พบทั่วไปในจีโนมของยูคาริโอต เป็นเทคนิคที่ง่ายแก่การประยุกต์ใช้และมีความเสถียรภาพสูง เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต (Nagaoka and Ogihara, 1997; Joshi *et al*., 2000) งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเชื้อรา *Colletotrichum* กับการใช้เทคนิคดังกล่าวข้างต้น มีดังนี้

ในปี ค.ศ. 2000 Freeman *et al.* ได้ศึกษาการใช้เทคนิคทางเครื่องหมายโมเลกุลในการวิเคราะห์เชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่พบในอัลมอนด์และผลไม้ต่างๆ โดยการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ คือไพรเมอร์ *Ca*Int2/ITS4 และไพรเมอร์ *Cg*Int/ITS4 พบว่าเชื้อรา *C. acutatum* และ *C. gloeosporioides* ให้ผลของปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน โดยเชื้อรา *C. acutatum* ให้แถบดีเอ็นเอตรงบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ขนาดประมาณ 490 คู่เบส ส่วนเชื้อรา *C. gloeosporioides* ให้แถบดีเอ็นเอมีขนาดประมาณ 450 คู่เบส เมื่อทำการวิเคราะห์ต่อโดยเทคนิค ISSR ใช้ไพรเมอร์ $(CAG)_5$ $(GACAC)_3$ $(TGTC)_4$ และ $(GACA)_4$ แล้วทำการส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และวิเคราะห์ phylogenetic tree พบว่าเชื้อรา *Colletotrichum* จำนวน 4 ไอโซเลท คือ *C. acutatum* TUT-5954 แยกจาก Israeli strawberry *C. acutatum* ALM-US-4 U.S. แยกจาก almond *C. acutatum* ALM-KSH-10 แยกจาก Israeli almond และ *C. gloeosporioides* AVO-37-4B แยกจาก Israeli avocado มีความแตกต่างไปจากเชื้อรา *Colletotrichum* ไอโซเลทอื่น

Pedro *et al.* (2000) พบว่าการใช้เทคนิค Polymerase chain reaction - Restriction fragment length polymorphism (PCR – RFLP) โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1/ITS2 และตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ *Alu*I, *Ban*II, *Hin*fI, *Pvu*II, *Msp*I, *Mvn*I, *Sau*3AI, *Scr*FI และ *Rsa*I พบว่าเอนไซม์ *Pvu*II, *Mvn*I และ *Scr*FI ใช้จำแนก species ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของสตรอเบอรี่ทั้งหมด 80 สายพันธุ์ พบว่า *C. acutatum*, *C. fragariae*, *Glomerella cingulata*, *C. coccodes* , *C. kahawae*, *C. gloeosporioides* และ *C. falcatum* ให้แถบดีเอ็นเอตรงบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ขนาดประมาณ 590 คู่เบสส่วน *C. crassipes* ให้แถบดีเอ็นเอมีขนาด 580 คู่เบส เมื่อใช้เอนไซม์ *Mvn*I พบว่าสามารถตัดดีเอ็นเอของเชื้อรา *Colletotrichum* ได้ทุกสปีชีส์ยกเว้น *G. cingulata* ส่วนเอนไซม์ *Pvu*II สามารถตัดดีเอ็นเอของ *C. acutatum*, *C. coccodes*,

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

C. kahawae, *C. gloeosporioides* และ *C. falcatum* ได้ตรงบริเวณ 590 คู่เบส ส่วน *C. fragariae* ตัดตรงบริเวณ 190 และ 400 คู่เบส เชื้อรา *G. cingulata* ตัดตรงบริเวณ 90 และ 400 คู่เบส และ *C. crassipes* ตัดตรงบริเวณ 580 คู่เบส และเอนไซม์ *Scr*FI สามารถตัดดีเอ็นเอของ *C. acutatum* ได้ตรงบริเวณ 120, 140 และ 330 คู่เบส ส่วน *C. fragariae*, *G. cingulata*, *C. kahawae* และ *C. gloeosporioides* ตัดตรงบริเวณ 110, 140 และ 310 คู่เบส *C. coccodes* ตัดบริเวณ 110 และ 480 คู่เบส *C. crassipes* ตัดตรงบริเวณ 90 และ 480 คู่เบส ส่วน *C. falcatum* ตัดตรงบริเวณ 60, 100, 140 และ 250 คู่เบส

Abang *et al*. (2002) ได้ศึกษาการใช้เทคนิค Internal transcribed spacer - Restriction fragment length polymorphism (ITS-RFLP) พบว่าสามารถจัดจำแนกเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพืชตระกูล yam ในประเทศไนจีเรีย และสามารถจัดความสัมพันธ์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ออกมาเป็นแผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1/ITS4 จากนั้นตัดด้วยเอนไซม์ *Alu*I, *Hha*I, *Hae*III, *Msp*I และ *Rsa*I พบว่าสามารถแบ่งได้ 7 กลุ่มที่ค่า similarity เท่ากับ 0.1 โดยกลุ่มที่ 1 คือ *F. oxysporum* กลุ่มที่ 2 Cg15 FGG' yam, Cg19 FGG' yam กลุ่มที่ 3 *C. acutatum* กลุ่มที่ 4 *C. coccodes* กลุ่มที่ 5 *C. dematium* กลุ่มที่ 6 *C. orbiculare* และ *C. lindemuthianum* และ กลุ่มที่ 7 *C. graminicola,* Cg25 SGG yam, Cg SASA 9yam, Cg S2 FGS yam, Cg SAS 8yam, *C. kahawae,* Cg SAS 3yam, *C. fragariae, C. musae,* Cg22 FGS' yam, Cg33 FGS' yam, Cg IMI s56878 citrus, Cg29 FGO' seed และ Cg S6 FGS' yam

ในปี ค.ศ. 2003 Martinez *et al.* ศึกษาเชื้อรา *C. acutatu, C. fragariae* และ *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของสตรอเบอรี่ โดยใช้เทคนิค PCR เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณ 5.8S และ ITS ด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบสำหรับ *Colletotrichum* spp. คือ *co*I1 (AAC CCT TTG TGA ACR TAC CTA) และ *co*I2 (TTA CTA CGC AAA GGA GGC T) พบว่าแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Colletotrichum* ทั้ง 3 สปีชีส์ ขนาด 462 คู่เบส ส่วน *C. acutatum* นั้นเมื่อใช้ไพรเมอร์จำเพาะคือ *acut*1 (CCG GAG GAA ACC AAA CTC TAT TTA C) กับไพรเมอร์ *co*I2 ได้แถบดีเอ็นเอขนาด 318 คู่เบส สำหรับ *C. gloeosporioides* และ *C. fragariae* เมื่อใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Mvn*I จะพบความแตกต่างใน 2 สปีชีส์นี้ได้ โดยเอนไซม์ *Mvn*I สามารถตัดเชื้อรา *C. gloeosporioides* ส่วน *C. fragariae* และ *C. acutatum* ไม่สามารถตัดได้ เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของ *Colletotrichum* ทั้ง 3 สปีชีส์ พบว่า *C. acutatum* แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ส่วน *C. gloeosporioides* และ *C. fragariae* นั้นจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Guozhong *et al*. (2004) ศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้จากป่าไม้ในเขตกายอานา โดยใช้การวิเคราะห์ซึ่งประกอบด้วยเทคนิค ISSR-PCR, RAPD และ ITS สำหรับเทคนิค ITS ใช้ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS6 พบว่าให้แถบดีเอ็นเอตรงบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ขนาดประมาณ 600 คู่เบส และเมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าสามารถจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* ได้ทั้งหมด 3 species คือ *C. gloeosporioides*, *C. boninense* และ *C. acutatum* เทคนิค ISSR-PCR เมื่อใช้ไพรเมอร์ AAC และ ACA พบว่าได้ขนาดชิ้นดีเอ็นเอที่ 210 - 3,050 คู่เบส และ 150 - 4,080 คู่เบสตามลำดับ สามารถแบ่งเชื้อราได้เป็น 8 กลุ่มจากค่า similarities ที่ 54 – 89 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเทคนิค RAPD ใช้ไพรเมอร์ AR10 และ AR16 พบว่าได้ขนาดชิ้นดีเอ็นเออยู่ระหว่าง 200 – 2,000 คู่เบส และ 100 – 1,950 คู่เบส ตามลำดับ และแบ่งได้เป็น 8 กลุ่มเช่นกัน

Raul *et al.* (2008) ได้ศึกษาการใช้เทคนิค ITS - RFLP ในการจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะละกอในประเทศเม็กซิโก จำนวน 34 ไอโซเลท โดยใช้ ไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงคือ ไพรเมอร์ *Cg*Int และไพรเมอร์ ITS4 และตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ *Alu*I, *Hind*III, *Hae*III, *Msp*I, *Mse*I, *Taq*I และ *Rsa*I ตรวจผลโดยวิธี agarose gel electrophoresis โดยใช้ agarose ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ใน 0.5×TBE buffer สามารถจำแนกชนิดของเชื้อรา *Colletotrichum* ได้ 2 สปีชีส์คือ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* เฉพาะเชื้อรา *C. gloeosporioides* เท่านั้นที่ให้แถบดีเอ็นเอตรงบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ขนาดประมาณ 450 คู่เบส เมื่อตัดดีเอ็นเอด้วย เอนไซม์ *Alu*I พบว่าสามารถตัดดีเอ็นเอของ *C. capsici* ได้ตรงบริเวณ 200 และ 380 คู่เบส ส่วน *C. gloeosporioides* ตัดได้ที่ 190 และ 380 คู่เบส ส่วนเอนไซม์ *Hae*III ตัดดีเอ็นเอของ *C. capsici* ได้ตรงบริเวณ 145, 170 และ 300 คู่เบส ส่วน *C. gloeosporioides* ตัดได้ที่ 140, 170 และ 280 คู่เบส เอนไซม์ *Hind*III และ *Mse*I ไม่สามารถตัดได้ทั้งสองสปีชีส์ เอนไซม์ *Msp*I สามารถตัดดีเอ็นเอของ *C. capsici* ได้ตรงบริเวณ 135 และ 450 คู่เบส ส่วน *C. gloeosporioides* ตัดได้ที่ 130 และ 300 คู่เบส เอนไซม์ *Rsa*I ไม่สามารถตัดดีเอ็นเอของ *C. capsici* แต่สำหรับ *C. gloeosporioides* ตัดได้ที่ 180 และ 380 คู่เบส เอนไซม์ *Taq*I ตัดดีเอ็นเอของ *C. capsici* ได้ตรงบริเวณ 80, 230 และ 250 คู่เบส ขณะที่ *C. gloeosporioides* ตัดได้ที่ 80, 230 และ 240 คู่เบส

ในปี ค.ศ. 2009 Kanchalika *et al.* ศึกษาการใช้เทคนิค ISSR-PCR ในการจำแนกเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก 3 ชนิด ได้แก่ bell pepper, long cayenne pepper และ bird’s eye chilli จำนวน 34 ไอโซเลท โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 6 ชนิด ได้แก่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

AF80820, AF80821, AF80822, AF80823, AF80824 และ AF80825 แล้วทำการวิเคราะห์ phylogenetic tree พบว่าสามารถแบ่งได้จำนวน 3 กลุ่มตามชนิดของพริก โดยกลุ่ม 1 แยกได้จาก bell pepper, long cayenne pepper และ bird's eye chilli กลุ่ม 2 แยกได้จาก bell pepper และ long cayenne pepper กลุ่ม 3 แยกได้จาก bird's eye chilli และพบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* แยกออกจากกันอย่างชัดเจน

จากรายงานของ Medeiros *et al*. (2010) พบว่าการจำแนกเชื้อรา *C. gloeosporioides* จากพืชอาศัยหลายชนิด โดยทำปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ *Cg*Int และ ITS4 พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ให้แถบดีเอ็นเอตรงบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ขนาดประมาณ 450 คู่เบส ส่วน *C. acutatum* และ *C. sublineolum* ไม่พบแถบดีเอ็นเอจากการใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อสปีชีส์นี้เลย นอกจากนี้ยังใช้เทคนิค ISSR โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 3 ชนิดแยกความหลากหลายของแต่ละไอโซเลท ซึ่งไพรเมอร์ $(GTG)_5$ สามารถแบ่งกลุ่มของเชื้อรา *Colletotrichum* ได้เป็น 6 กลุ่ม ไพรเมอร์ $(GACA)_4$ แบ่งได้ 4 กลุ่ม และไพรเมอร์ M13 แบ่งได้ 3 กลุ่ม มีค่า similarity 85 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในกลุ่มเดียวกันนั้นมีความสัมพันธ์กันในพืชอาศัย โดยพืชอาศัยชนิดเดียวกันจะอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

4. การศึกษาทางด้านความอยู่รอดของเชื้อรา

เชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกเป็นเชื้อราที่มีความสามารถในการดำรงชีวิตให้อยู่รอดได้ในเมล็ดพริก เศษซากพืชอาศัยในดินที่ทำการเพาะปลูก จึงได้มีการศึกษาถึงความอยู่รอดในที่ต่างๆของเชื้อรา *Colletotrichum*

ในปี ค.ศ. 1983 Nair *et al*. ศึกษาความอยู่รอดในดินของเชื้อรา *C. acutatum* โดยพบว่าเมื่อนำ conidium ของเชื้อรา *C. acutatum* จำนวน 5×10^5 ไปเก็บไว้ในดินที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 สัปดาห์ และทำการตรวจสอบความอยู่รอดในสัปดาห์ที่ 4, 8, 12, 16 และ 20 พบว่าที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส จำนวน conidium ที่เก็บในแต่ละสัปดาห์ลดลง 50, 75, 85, 90 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนั้น จำนวน conidium ลดลง 62, 83, 88, 95 และ 96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยพบว่าจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. acutatum* โดยทำให้จำนวน conidium ลดลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยปกติอาศัยอยู่ในเมล็ดของพืชอาศัย เมื่อนำเมล็ดดังกล่าวมาปลูกจึงพบว่า สามารถมีการเจริญพัฒนาทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกต่อไปได้ ในประเทศอินเดียพบว่าเชื้อรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* เข้าทำลายเมล็ดพริก และเจริญพัฒนาจนทำให้เกิดโรคได้ โดยทำการลองแบ่งออกเป็น 3 การทดลอง ซึ่ง การทดลองที่ 1 ใช้เมล็ดพริกที่ทำความสะอาดปลูกในดินที่สะอาด การทดลองที่ 2 ใช้เมล็ดพริกที่ทำความสะอาดปลูกในดินที่มีเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* การทดลองที่ 3 ใช้เมล็ดพริกที่มีเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ปลูกในดินที่สะอาด แล้วทำการตรวจเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ทุกๆ 7 วันเป็นเวลา 6 อาทิตย์พบว่าสามารถตรวจพบเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ในทุกๆ การทดลอง (Hadden and Black, 1987)

Freeman *et al.* (2001) ได้ทำการศึกษาความอยู่รอดในดินของเชื้อรา *C. acutatum* และ *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากสตรอเบอรี่ จำนวน 6 ไอโซเลท โดยศึกษาภายใต้สภาพห้องทดลองนำ conidium ของเชื้อรา *C. acutatum* และ *C. gloeosporioides* จำนวน 10^5 ใส่ลงในดินที่อบฆ่าเชื้อจำนวน 50 กรัม ที่มีส่วนผสมของดินทราย 92 เปอร์เซ็นต์ ดิน 8 เปอร์เซ็นต์ ค่า pH 7 ความชื้น 22 เปอร์เซ็นต์ เก็บในที่มืดอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ปี โดยทุกเดือนมีการใส่น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร ทำการตรวจสอบความอยู่รอดทุกๆ 50 วัน พบว่าเชื้อรา *C. acutatum* สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้จำนวน 2 ไอโซเลทจากจำนวน 4 ไอโซเลท ส่วนเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ทุกไอโซเลท

5. การศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรค

ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *C. gloeosporioides* นั้นขึ้นอยู่กับความรุนแรง (virulence) และพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุโรค แม้ว่าจะเป็นเชื้อชนิดเดียวกันก็ตาม นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรมของพืช สภาพแวดล้อม ซึ่งอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเชื้อหรือพืชอาศัยนั้น เชื้อสาเหตุสามารถสร้างสารพิษหรือเอนไซม์มาย่อยเพื่อเข้าทำลาย คือระยะการแทงผ่าน (penetration) แล้วทำการย่อยเซลล์ผิวพืชส่วนที่เชื้อสัมผัสเป็นการเปิดทางให้เชื้อสาเหตุเข้าสู่พืช และเจริญเติบโตภายในพืชจนพืชนั้นเกิดโรค (ไพโรจน์, 2525)

เชื้อรา *C. gloeosporioides* มีพืชอาศัยค่อนข้างกว้าง เช่น พริก กาแฟ มะม่วง สตรอเบอรี่ มะเขือเทศ แตงกวา อโวคาโด และส้ม (Afanador-Kafuri *et al.*, 2003) สำหรับการเข้าทำลายของ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกนั้นเกิดการเข้าทำลายแบบแฝง (latent infection) ในระยะที่ผลพริกสีเขียว ยังไม่สุก (immature fruits) โดยสปอร์ของเชื้อราหลังจากงอกบนผลพริก จะสร้าง appressorium แล้วเชื้อจะหยุดการเจริญ จนกระทั่งผลพริกเริ่มสุก เชื้อรา ก็เจริญต่อไป แต่บางสปอร์ซึ่งเป็นส่วนน้อยสามารถเข้าทำลายผลพริกในช่วงที่มีสีเขียวยังไม่สุก สาเหตุที่เชื้อไม่สามารถเข้าทำลายผลที่มีสีเขียวได้เนื่องจากผลพริกสร้างสาร phytoalexin ซึ่งเป็นพิษต่อเชื้อรา คือ capsicannol การสะสมของสารชนิดนี้ เกิดขึ้นหลังจากการปลูกเชื้อลงบนผลพริกสีเขียว 18 ชั่วโมง และมีปริมาณมากที่สุดหลังจากการปลูกเชื้อ 4 วัน บริเวณผิวของเนื้อเยื่อที่มีการปลูกเชื้อจะมีการสะสมสารชนิดนี้ในความเข้มข้นสูง ซึ่งมีปริมาณมากพอที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ สาร capsicannol ไม่สามารถตรวจพบได้ในผลปกติ แต่มีการสะสมอยู่บ้างเล็กน้อยถ้าผลพริกมีบาดแผล ส่วนในผลพริกสุกหลังจากปลูกเชื้อบนผลพริกพบว่า มีการสะสมของสาร capsicannol อย่างรวดเร็วปริมาณของสารในผลพริกสุกมีเพียงแค่จำกัดการพัฒนาของเชื้อเท่านั้น ความเข้มข้นของสาร capsicannol ในผลสุกจะต่ำกว่าในผลที่ไม่สุก เนื่องจากเมื่อผลสุกมากขึ้นความเข้มข้นของสาร capsicannol จะลดลงจนไม่เพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ทำให้ผลพริกแสดงอาการของโรคเพิ่มขึ้น (Adikaram *et al.,* 1982)

จากการศึกษาโดยใช้วิธีการทางชีวเคมีในการจัดจำแนกลักษณะของกระบวนการปล่อยเอนไซม์ serine proteinase พบว่า หากกิจกรรมของเอนไซม์ protease สูง ความสามารถในการก่อให้เกิดโรคก็จะรุนแรงเพิ่มมากขึ้น ซึ่งถือว่าความสัมพันธ์ของกิจกรรมของเอนไซม์ protease กับความสามารถในการก่อให้เกิดโรคเป็นไปในทิศทางเดียวกัน (Walton, 1994; Mendgen *et al*., 1996)

เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพืชตระกูล yam ในประเทศไนจีเรีย พบว่าความรุนแรงของโรคนั้นขึ้นอยู่กับเชื้อราและพืชอาศัย นอกจากนี้แล้วการเตรียมดินสถานที่ปลูกยังเป็นอีกปัจจัยหนึ่งในการทำให้เกิดโรคได้ โดยการทดลองดังกล่าวได้ศึกษาความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสในพื้นที่ปลูก yam จำนวน 5 แหล่ง ได้แก่ TDa 92-2, TDa 95/00328, TDa87/01091, TDa85/00250 และ TDa 289 พบว่า TDa 92-2 มีความรุนแรงของโรคสูงที่สุด 80 เปอร์เซ็นต์ ส่วน TDa87/01091, TDa 95/00328, TDa 289 และ TDa85/00250 มีความรุนแรง 42, 40, 24 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยพบว่าพื้นที่ TDa 92-2 มีการปลูก yam มากที่สุด จึงเป็นปัจจัยทำให้เชื้อรา *C. gloeosporioides* มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคได้มากที่สุด (Abang *et al*., 2002)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dunaevsky *et al*. (2006) พบว่าการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. gloeosporioides* นั้นมีกระบวนการหลายขั้นตอน เนื่องจากเชื้อราจะสร้างสารพิษหรือเอนไซม์ serine proteinase ออกมาเพื่อย่อยสลายส่วนของผนังเซลล์ของพืช แล้วเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสขึ้นบริเวณที่เชื้อสัมผัสกับผนังเซลล์พืชทำให้เชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถแทงผ่านเข้าสู่เซลล์พืชได้โดยตรง และทำให้พืชเป็นโรค

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ศึกษาลักษณะของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

1.1 ลักษณะโคโลนี

นำเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่แยกได้จากผลพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส จำนวน 58 ไอโซเลท จากพื้นที่ปลูกพริก 14 จังหวัด (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จาก 14 จังหวัด

พื้นที่เก็บตัวอย่าง	รหัส	ไอโซเลทที่แยกได้
เชียงราย	CR	CR011-1
เชียงใหม่	CM	CM001-2 CM011-1 CM013-2 CM029-1 CM039
สุโขทัย	SKT	SKT011 SKT037 SKT046 SKT048 SKT059 SKT060
พิษณุโลก	PSL	PSL076 PSL113 PSL115 PSL122 PSL131
เพชรบูรณ์	PCB	PCB002 PCB006 PCB026 PCB034 PCB048
นครสวรรค์	NKS	NKS140 NKS141 NKS144 NKS147
อุดรธานี	UDT	UDT096 UDT097 UDT098 UDT103
ขอนแก่น	KK	KK037 KK049 KK055 KK063 KK075
นครราชสีมา	NRS	NRS014-1 NRS022 NRS030
ศรีสะเกษ	SSK	SSK018 SSK020 SSK049 SSK050
อุบลราชธานี	UBR	UBR082 UBR092
กาญจนบุรี	KCB	KCB165 KCB170 KCB173 KCB182
นครปฐม	NKP	NKP013 NKP018 NKP089 NKP091 NKP092
ประจวบคีรีขันธ์	PKK	PKK067 PKK068 PKK077 PKK079 PKK083

เลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง near UV 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง นาน 7 วัน

ตรวจผลโดยบันทึกลักษณะโคโลนี และการสร้าง conidial mass รวมทั้งสีของ conidial mass

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2 รูปร่างและขนาดของสปอร์ การสร้าง seta และ appressoria

เลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง near UV 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง อายุ 7 วัน ใช้เทคนิค slide culture โดยตัดชิ้นวุ้นอาหาร PDA ขนาด 0.5 × 0.5 ตารางเซนติเมตร นำมาวางบน slide ปลูกเชื้อบริเวณกึ่งกลางของชิ้นวุ้นทั้ง 4 ด้าน จากนั้นปิดทับด้วย coverslide นำไปวางบนแท่งแก้วรูปตัววี ในจานเลี้ยงเชื้อซึ่งเติมน้ำกลั่น ทุกขั้นตอนใช้อุปกรณ์ที่นึ่งฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสง near UV 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง นาน 7 วัน

บันทึกข้อมูลโดยการตรวจสอบรูปร่าง วัดขนาดของสปอร์ ลักษณะของ setae และ appressoria โดยแต่ละวิธีบันทึกจากสปอร์ จำนวน 20 สปอร์ แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ย

1.3 ศึกษาการงอกของสปอร์

นำเชื้อรา C. gloeosporioides จำนวน 58 ไอโซเลท มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง near UV 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง อายุ 5 วัน จากนั้นนำมาทำสปอร์แขวนลอยความเข้มข้น 105 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ใช้ปิเปตดูดสปอร์แขวนลอยของเชื้อราปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดบนอาหาร water agar (WA) ใช้แท่งแก้วเกลี่ยสปอร์ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสง near UV หลังการบ่ม 8 ชั่วโมง

ตรวจนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราที่งอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และคำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา โดยวัดจากสปอร์จำนวน 20 สปอร์แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ย

1.4. ศึกษาอัตราการเจริญเติบโต

เลี้ยงเชื้อรา C. gloeosporioides จำนวน 58 ไอโซเลท บนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง near UV 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง นาน 7 วัน ทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

บันทึกข้อมูลโดยวัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราทุกวัน จนครบ 7 วัน ใช้สูตรคำนวณดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตของ dy} = \frac{\text{เส้นผ่าศูนย์กลางของ dy} - \text{เส้นผ่าศูนย์กลางของ dx}}{2}$$

dy = วันที่ต้องการศึกษา

dx = วันก่อนที่จะทำการศึกษา

2. ศึกษาเครื่องหมายโมเลกุล

2.1 การสกัดและตรวจคุณภาพดีเอ็นเอ

1. เลี้ยงเชื้อรา C. gloeosporioides บน อาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง near UV 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง อายุ 5 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนี ย้ายเชื้อราจำนวน 5 ชิ้นวุ้น มาเลี้ยงในอาหารเหลว Spezieller nahrstoffarmer broth (SNB) เขย่าบน rotary shaker เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำเส้นใยที่ได้กรองด้วยกระดาษกรอง (whatman no.1) แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำไปทำให้แห้งโดยใช้เครื่อง Lyophilization นาน 8 ชั่วโมง

2. สกัดดีเอ็นเอโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Zimand et al. (1994) บดตัวอย่างเชื้อราตัวอย่างละ 50 มิลลิกรัม ด้วย liquid nitrogen ให้ละเอียดแล้วถ่ายลงในหลอด eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

3. เติม extraction buffer (50 mM Tris-HCl pH 8.0, 850 mM NaCl, 100 mM EDTA, 1% SDS) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex

4. เติมเอนไซม์ proteinase K ปริมาตร 2.8 ไมโครลิตร เพื่อย่อยสลายและตกตะกอนโปรตีน ผสมให้เข้ากันโดยใช้ปลาย tip คนเบาๆ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

5. เติมสารละลาย phenol ปริมาตร 250 ไมโครลิตร และ สารละลาย chloroform:isoamyl alcohol (IAA) (อัตราส่วน 24:1) ที่เย็นจัด ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ระดับความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายส่วนใสด้านบน (supernatant) ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ใส่ในหลอด eppendorf ใหม่

7. เติมเอนไซม์ RNase A ปริมาตร 2.5 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นเติม chloroform:IAA (24:1) ที่เย็นจัด ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex

8. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ระดับความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายส่วนใส ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ใส่ในหลอด eppendorf ใหม่

9. เติม absolute alcohol ที่เย็นจัด ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ผสมเบาๆให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

10. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ระดับความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสที่เป็น absolute alcohol ทิ้ง ระวังอย่าให้ตะกอนที่ก้นหลอดหลุดออกมา

11. เติม 70% ethanol ที่เย็นจัด ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ระดับความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที 10 นาที แล้วเทสารละลายส่วนใสทิ้ง (ทำซ้ำ 2 รอบ)

12. ปล่อยให้ตะกอนดีเอ็นเอแห้ง โดยการเปิดฝาทิ้งไว้ นาน 20-30 นาที เติมสารละลาย 1×TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เก็บดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

13. จากนั้นตรวจสอบปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอ โดยการทำอิเลคโตรโฟริซิสบน 1.5 เปอร์เซ็นต์ agarose gel ใน 1×TBE buffer โดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 50 โวลต์ เป็นเวลา 90 นาที ตรวจสอบภายใต้แสง blue light บันทึกการเกิดแถบของดีเอ็นเอ

2.2 การวัดคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอ

โดยใช้วิธีการเรืองแสงของดีเอ็นเอภายใต้แสง blue light โดยเครื่อง Dark ReaderTm Transilluminator (Clare chemical research) แล้วเปรียบเทียบกับสารละลายดีเอ็นเอมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สามารถบอกถึงปริมาณดีเอ็นเอได้โดยประมาณ นอกจากนี้ยังสามารถบอกได้ถึงคุณภาพดีเอ็นเออีกด้วย โดยมีวิธีการดังนี้

1. เตรียม 1.5 เปอร์เซ็นต์ agarose gel โดยชั่งผง agarose gel 1.2 กรัม ใส่ใน 1×TBE buffer (Tris base, 0.5 mM EDTA, Boric acid) ปริมาตร 80 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปหลอมละลายด้วยไมโครเวฟ จนกระทั่ง วุ้นหลอมละลายหมด รอจนกระทั่งเย็นลงจึงเทลงในถาดเตรียมเจลที่มีหวีเสียบไว้ แล้วทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีจนกระทั่ง gel แข็งตัว

2. เมื่อ gel แข็งตัวแล้วย้ายเจลลงไปใน horizontal chamber โดยให้ด้านที่มีหวีอยู่ด้านขั้วลบ แล้วเท 1×TBE buffer ลงท่วมแผ่นเจลแล้วดึงหวีออก

3. ผสมสารละลายดีเอ็นเอ, loading buffer [10 mM Tris-HCl (pH 7.6), 0.03% bromophenol blue, 0.03% xylene cyanol FF, 60% glycerol, 60 mM EDTA] และ gel star (เจือจาง gel star : 1×TE buffer ในอัตราส่วน 1:17 ไมโครลิตร) ในสัดส่วน 5:2:3 ไมโครลิตร แล้วหยอดลงในช่องหวีด้วย pipette

4. ปิดฝาเครื่องแล้วเปิดกระแสไฟฟ้า ให้วิ่งผ่านจากขั้วลบ ไปยังขั้วบวก โดยใช้กระแสไฟฟ้า 50 โวลต์ และปิดกระแสไฟฟ้าเมื่อสีของ loading buffer เคลื่อนที่ไปได้ระยะทาง 3 ใน 4 ของแผ่น gel

5. นำแผ่น gel ไปส่องดูภายใต้แสง blue light และบันทึกภาพด้วยกล้อง digital Canon รุ่น 450D

2.3 การจำแนกเชื้อราโดยใช้เทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphism - Polymerase Chain Reaction (RFLP - PCR)

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยการเพิ่มปริมาณบริเวณส่วน ITS1-5.8S-ITS2 ใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int (5’-GGCCTCCCGCCTCCGG GCGG-3’) ร่วมกับ universal primer ITS4 (5’-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3’)

1. เตรียมดีเอ็นเอตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 25 นาโนกรัม และเตรียม Master mix ดังตารางที่ 2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. นำไปทำปฏิกิริยา PCR ด้วยเครื่อง พีซีอาร์รุ่น Tprofessional Standard Gradient ตั้งอุณหภูมิและเวลาของเครื่อง โดยเริ่มต้นที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที denature ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ทำปฏิกิริยาทั้งสิ้น 35 รอบ รอบสุดท้าย (final extension) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และอุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3. ตรวจสอบผลิตผล ITS (ITS product) โดยนำไปแยกชิ้นดีเอ็นเอด้วยวิธี electrophoresis โดยใช้ agarose gel ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมใน 1×TBE buffer ผ่านกระแสไฟฟ้า 50 โวลต์ นาน 90 นาที บันทึกการเกิดแถบของดีเอ็นเอภายใต้แสง blue light โดยเครื่อง Dark ReaderTm Transilluminator (Clare chemical research) และบันทึกภาพด้วยกล้อง digital Canon รุ่น 450D

4. นำผลิตผล ITS มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 3 ชนิด ได้แก่ HaeIII, PvuII และ EcoRI โดยการเตรียม Master mix ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของ Master mix สำหรับปฏิกิริยา PCR-RFLP

องค์ประกอบ	ความเข้มข้น	ปริมาตร/1 ปฏิกิริยา(μl)
DNA template	25 ng/ μl	1.0
sterile dH_2O	-	18.4
Dream *Taq* buffer^{Mg2+}	10X	2.5
dNTP	1 mM	1.0
*Cg*Int primer	10 μm	1.0
ITS4 primer	10 μm	1.0
Dream *Taq* polymerase	5 u/ μl	0.1
รวมทั้งหมด		25

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของ Master mix สำหรับการตัดผลิตผล ITS ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ

องค์ประกอบ	ปริมาตร/1 ปฏิกิริยา(μl)
PCR-product	10
Nuclease-free water	17
10x Buffer Tango^{tm}	2
Enzyme: *Hae*III, *Pvu*II และ *Eco*RI	1
รวมทั้งหมด	30

นำผลิตผลที่ย่อยด้วยเอนไซม์ (digested product) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นตรวจผลด้วยวิธี electrophoresis โดยใช้ agarose gel ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ผสมใน 1×TBE buffer ผ่านกระแสไฟฟ้า 75 โวลต์ เป็นเวลา 90 นาที

ตรวจดูลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นภายใต้แสง blue light เปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของผลิตผล

2.4 การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราโดยใช้เทคนิค Inter-simple sequence repeat - Polymerase chain reaction (ISSR- PCR)

วิธีการนี้อาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ microsatellite ด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 4 ชนิด (ตารางที่ 4) โดยเตรียม Master mix ดังตารางที่ 4 โดยศึกษาดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* 58 ไอโซเลท ซึ่งมีดีเอ็นเอของเชื้อรา *Fusarium* sp. เป็นตัวควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 ชนิดไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับปฏิกิริยา ISSR- PCR

ชนิด	ไพรเมอร์
1	$(GTG)_5$- (GTG GTG GTG GTG GTG)
2	$(GACA)_4$- (GACA GACA GACA GACA)
3	$(CAG)_5$- (CAG CAG CAG CAG CAG)
4	$(TGTC)_4$- (TGTC TG TC TGTC TGTC)

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของ Master mix สำหรับปฏิกิริยา ISSR- PCR

องค์ประกอบ	ความเข้มข้น	ปริมาตร/1 ปฏิกิริยา(µl)
DNA template	25 ng/ µl	1.0
sterile dH_2O	-	15.075
Dream *Taq* buffer	10X	2.5
$MgCl_2$	2 mM	0.25
dNTP	1 mM	5
primer	10 µm	1.0
Dream *Taq* polymerase	5 u/ µl	0.175
รวมทั้งหมด		25

1. เตรียมดีเอ็นเอตัวอย่าง ความเข้มข้น 25 นาโนกรัม จากนั้นนำมาเตรียม Master mix (ตารางที่ 5)

2. นำไปทำปฏิกิริยา PCR ด้วยเครื่อง พีซีอาร์รุ่น Tprofessional Standard Gradient ตั้งอุณหภูมิและเวลาของเครื่อง โดยเริ่มต้นที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที denature ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที ส่วน annealing ตั้งอุณหภูมิตามชนิดของไพรเมอร์และชนิดของเชื้อรา (ตารางที่ 6 และตารางที่ 7) เป็นเวลา 45 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จำนวน 40 รอบ รอบสุดท้ายอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. นำไปตรวจแยกชิ้นดีเอ็นเอด้วยวิธี electrophoresis โดยใช้ agarose gel ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมใน 1×TBE buffer ผ่านกระแสไฟฟ้า 80 โวลต์ นาน 90 นาที

ตรวจสอบภายใต้แสง blue light และบันทึกภาพด้วยกล้อง digital Canon รุ่น 450D เพื่อนำมาใช้ในการให้คะแนนและวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อจัดกลุ่มความสัมพันธ์

ตารางที่ 6 อุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับปฏิกิริยา ISSR- PCR ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

ชนิด	ไพรเมอร์	อุณหภูมิ (^{o}C)
1	$(GTG)_5$- (GTG GTG GTG GTG GTG)	56
2	$(GACA)_4$- (GACA GACA GACA GACA)	54
3	$(CAG)_5$- (CAG CAG CAG CAG CAG)	58
4	$(TGTC)_4$- (TGTC TGTC TGTC TGTC)	51

ตารางที่ 7 อุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับปฏิกิริยา ISSR- PCR (ตัวควบคุม)

ชนิด	ไพรเมอร์	อุณหภูมิ (^{o}C)
1	$(GTG)_5$- (GTG GTG GTG GTG GTG)	50
2	$(GACA)_4$- (GACA GACA GACA GACA)	54
3	$(CAG)_5$- (CAG CAG CAG CAG CAG)	54
4	$(TGTC)_4$- (TGTC TGTC TGTC TGTC)	46

วิเคราะห์ขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากภาพเจลที่บันทึกไว้ จากการทดลองที่ 2.3 และ 2.4 นำมาวิเคราะห์ในตำแหน่งที่มีแถบดีเอ็นเอปรากฏให้คะแนนเป็น 1 และการไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอให้คะแนนเป็น 0 นำผลการให้คะแนนไปวิเคราะห์ในโปรแกรม NTSYS-pc version 2.20e โดยค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนด้วยวิธีของ Dice (Dice Similarity Coefficient) และจัดกลุ่มโดยวิธี UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Averages) ซึ่งแสดงผลออกมาในรูปของ dendrogram จากนั้นตรวจสอบ dendrogram ว่าจัดกลุ่มได้ดีเพียงใดโดยการวิเคราะห์ค่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

cophenetic correlation (r) (Rohlf and Sokal, 1981) และกลุ่มที่จัดได้นั้นมีความน่าเชื่อถือด้วยค่า Bootstrap โดยใช้โปรแกรม Winboot (Yap and Nelson, 1996)

3. ศึกษาความผันแปรของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

นำเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง near UV 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง อายุ 7 วัน จากนั้นทำการเก็บเชื้อโดยแบ่งการเก็บเป็น 2 วิธีคือ

3.1 เก็บบนอาหาร potato carrot agar (PCA) นำเชื้อราเลี้ยงบน slant PCA บ่มที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 เดือน จากนั้นนำมาทดสอบความอยู่รอดเป็นระยะ 4, 8 และ 12 เดือน โดยการนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA

3.2 เก็บใน vial ที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 เดือน จากนั้นนำมาทดสอบความอยู่รอดเป็นระยะ 4, 8 และ 12 เดือน โดยการนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA

การเก็บข้อมูลโดยตรวจสอบลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ลักษณะของสปอร์ ลักษณะของ setae และ appressoria การงอกของสปอร์ และอัตราการเจริญเติบโต จากการเก็บรักษาเชื้อราทั้ง 2 วิธี

4. ศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริก

นำเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท ก่อนการเก็บรักษา หลังการเก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อนาน 12 เดือน มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง near UV 12 ชั่วโมงสลับมืด 12 ชั่วโมง อายุ 7 วัน จากนั้นทำการปลูกเชื้อใช้วิธี artificial inoculation ด้วย mycelial disc ซึ่งใช้ cork borer เจาะที่ขอบโคโลนีของเชื้อรา ใช้ผลพริกพันธุ์จินดาซึ่งทำความสะอาดด้วยแอลกฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ โดยการทำแผลด้วยเข็มที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ซึ่งมีความลึก 0.2 มิลลิเมตร ผลละ 1 แผล ส่วนการทดลองควบคุมนั้นใช้อาหาร PDA วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) โดยทดลองจำนวน 5 ผลต่อไอโซเลท จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้อง จึงแกะชิ้นวุ้นออกจากแผล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บันทึกข้อมูลโดยวัดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรค โดยวัดขนาดของแผลทุกวันเป็นเวลา 7 วัน และใช้โปรแกรม Scion Images Release Alpha 4.0.3.2 ในการวัดพื้นที่การเกิดโรคและพื้นที่ผิวทั้งหมด ใช้สูตร

เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค = <u>จำนวนผลพริกที่แสดงอาการโรค</u> × 100
จำนวนผลพริกทั้งหมด

ความรุนแรงของโรค = <u>พื้นที่ผิวของผลพริกที่แสดงอาการโรค</u> × 100
พื้นที่ผิวทั้งหมดของผลพริก

จากนั้นนำข้อมูลไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม R-stat version 2.12.2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

1. ศึกษาลักษณะของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

1.1 ลักษณะโคโลนี

จากการศึกษาลักษณะของเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่ามีความหลากหลาย เชื้อรา 58 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหาร PDA สร้างโคโลนี มีเส้นใยสีขาว ขาวปนเทา ไปจนถึงเขียวมะกอก เส้นใยละเอียดฟูแน่นจนถึงเส้นใยหยาบ บางไอโซเลทพบการสร้าง concentric ring กลุ่มของสปอร์มีสี salmon, pale peach, salmon orange และ plae salmon จากการอาศัยลักษณะของโคโลนีในการแบ่งกลุ่มพบว่า *C. gloeosporioides* สามารถแบ่งได้ 8 กลุ่ม (ตารางที่ 8 และภาพที่ 1-5)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 การแบ่งกลุ่มของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยอาศัยลักษณะโคโลนี

กลุ่ม	ลักษณะโคโลนี	ไอโซเลท
1	เส้นใยโคโลนีสีขาวปนเทากลาง โคโลนีสีเขียวขี้ม้าถึงเทา พบ concentric ring กลุ่มสปอร์สร้างค่อนข้างน้อย สี pale salmon,salmon หรืออาจไม่พบการสร้างกลุ่มสปอร์	KCB165 KCB170 KK037 KK055 NKP013 NKP018 NKS141 NRS014-1 PCB006 PCB026 PSL115 SKT011 SKT037 SKT046 SKT048 SKT060 SSK018 SSK020 UBR092 UDT098 UDT103 (21 isolates)
2	โคโลนีมีสีเขียวอมเทาถึงเขียวมะกอก เจริญแน่น พบ concentric ring บางไอโซเลทอาจพบเส้นใยสีขาวฟูเล็กน้อยที่ผิวหน้าอาหาร บางไอโซเลทพบกลุ่มสปอร์สี salmon	CM001-2 KK063 KK075 NKP089 NKP092 NRS022 PKK067 PKK077 PKK083 PSL076 PSL113 PSL122 SKT059 UBR082 UDT096 (15 isolates)
3	เส้นใยมีสีเทาถึงเทาเข้ม เขียวมะกอก เจริญแน่นบนอาหาร บางไอโซเลทพบกลางโคโลนีมีสีเขียวมะกอกถึงเทา ขอบโคโลนีสีขาว ไม่พบกลุ่มสปอร์ หากพบมีสี pale peach และ pale salmon เมื่ออายุมากกว่า 2 สัปดาห์	CM013-2 CM029-1 CR011-1 KCB182 NKS144 NRS030 PCB034 PCB048 SSK049 (9 isolates)
4	เส้นใยมีสีขาวถึงขาวปนเทาเขียวมะกอก เรียบกับ ผิวหน้าอาหาร concentric ring ชัดเจนพบกลุ่มสปอร์สี pale peach, pale salmon, salmon, salmon orange	CM039 KK049 NKP091 PKK079 PSL131 UDT097 (6 isolates)
5	เส้นใยมีสีขาว มีลักษณะฟูพบ concentric ring พบกลุ่มสปอร์ค่อนข้างน้อย สี salmon หรืออาจไม่พบ	KCB173 NKS140 NKS147 (3 isolates)
6	เส้นใยมีลักษณะฟู บริเวณกลางโคโลนีสีเขียวอมเทาถึงเขียวมะกอกขอบสีขาว เจริญแน่น พบ concentric ring ไม่พบการสร้างกลุ่มสปอร์	CM011-1 SSK050 (2 isolates)
7	เส้นใยมีสีขาวเจริญฟูบนอาหาร ขอบโคโลนีหยัก ไม่พบ concentric ring และกลุ่มสปอร์	PCB002 (1 isolate)
8	เส้นใยมีสีเขียวมะกอกเจริญแน่น กลางโคโลนีสีขาวถึงขาวปนเทา มีลักษณะกลวง	PKK068 (1 isolate)

งานวิจัยที่ได้ศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และพบความหลากหลาย หรือความผันแปรค่อนข้างสูงเช่น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

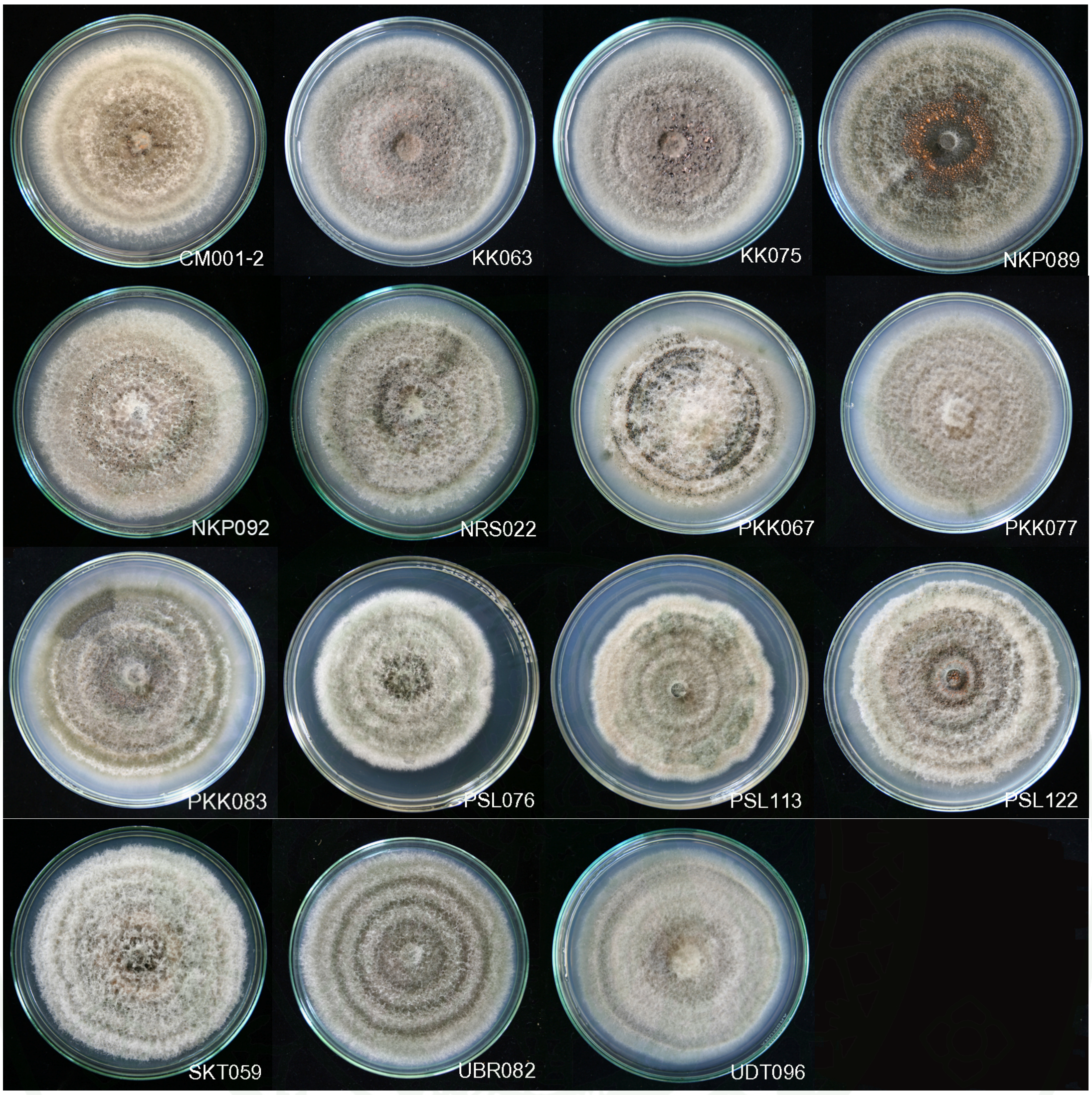
จากการรายงานของ รัติยาและคณะ ในปี 2553 โดยอาศัยลักษณะโคโลนีในการแบ่งกลุ่ม พบว่าสามารถแบ่ง *C. gloeosporioides* ได้จำนวน 9 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เส้นใยขาวปนเทากลางโคโลนีสีเขียวขี้ม้าถึงเทา พบกลุ่มสปอร์ค่อนข้างน้อยสี pale salmon, salmon orange กลุ่มที่ 2 เส้นใยสีขาวเทา เจริญฟูหยาบ บางไอโซเลทกลางโคโลนีมีเส้นใยสีเขียวมะกอกเทา และพบ concentric ring กลุ่มสปอร์สี pale salmon, salmon orange, salmon, bright orange, orange กลุ่มที่ 3 เส้นใยสีขาวปนเทา เรียบกับผิวหน้าอาหาร พบ concentric ring ชัดเจนกลุ่มสปอร์สี pale peach, pale salmon, salmon, salmon orange, orange กลุ่มที่ 4 เส้นใยสีขาวเจริญแน่นบนผิวหน้าอาหารละเอียด บาง ไอโซเลท พบเส้นใยสีเขียวมะกอกถึงเทาเข้มกลางโคโลนี บางไอโซเลทพบกลุ่มสปอร์สี pale salmon, salmon orange, bright orange กลุ่มที่ 5 เส้นใยสีเทา เทาเข้มถึงเขียวมะกอกเจริญแน่นบนอาหาร บางไอโซเลทพบกลางโคโลนีสีเขียวมะกอกเทาขอบสีขาว บางไอโซเลทพบกลุ่มสปอร์สี pale peach และ pale salmon กลุ่มที่ 6 เส้นใยสีเขียวอมเทาถึงเขียวมะกอก เจริญแน่นพบ concentric ring ไม่พบกลุ่มสปอร์ กลุ่มที่ 7 เส้นใยสีเขียวมะกอกเจริญแน่น กลางโคโลนีสีขาวปนเทา ไม่พบกลุ่มสปอร์ กลุ่มที่ 8 เส้นใยสีขาวเจริญฟูบนอาหาร ขอบโคโลนีหยัก บางไอโซเลทพบกลุ่มสปอร์สี pale salmon กลุ่มที่ 9 เส้นใยสีขาว ขาวปนเทา เขียวมะกอก เจริญเรียบ พบกลุ่มสปอร์สี salmon pale และsalmon

Abang *et al*. (2002) สามารถจัดกลุ่ม *C. gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมันแกวได้ 4 กลุ่มโดยกลุ่มที่ 1 มีเส้นใยสีขาว เส้นใยฟู เจริญเติบโตได้ดี พบกลุ่มสปอร์สี salmon กลุ่มที่ 2 เส้นใยสีเทา เจริญแน่น ไม่พบกลุ่มสปอร์ กลุ่มที่ 3 เส้นใยสีเขียวมะกอก เจริญแน่น ไม่พบกลุ่มสปอร์ กลุ่มที่ 4 เส้นใยสีเทาถึงเขียวมะกอก เจริญแน่น ไม่พบกลุ่มสปอร์ ส่วน Guozhong *et al*. (2004) ได้ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจัดจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้จากเขตป่าสงวนในกายอานา พบว่าสามารถจัดกลุ่ม *C. gloeosporioides* ได้ 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เส้นใยมีสีขาว เจริญแน่น กลุ่มที่ 2 เส้นใยสีเทาถึงเทาดำ เส้นใยฟูเจริญแน่น Pedro *et al*. (2002) สามารถจัดกลุ่ม *C. gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในส้มได้ 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 มีเส้นใยสีตะกั่ว เส้นใยฟู เจริญเติบโตได้ดี ไม่พบกลุ่มสปอร์ กลุ่มที่ 2 เส้นใยสีครีม เจริญแน่น ไม่พบกลุ่มสปอร์ กลุ่มที่ 3 เส้นใยสีขาว เจริญแน่นพบกลุ่มสปอร์สี orange

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

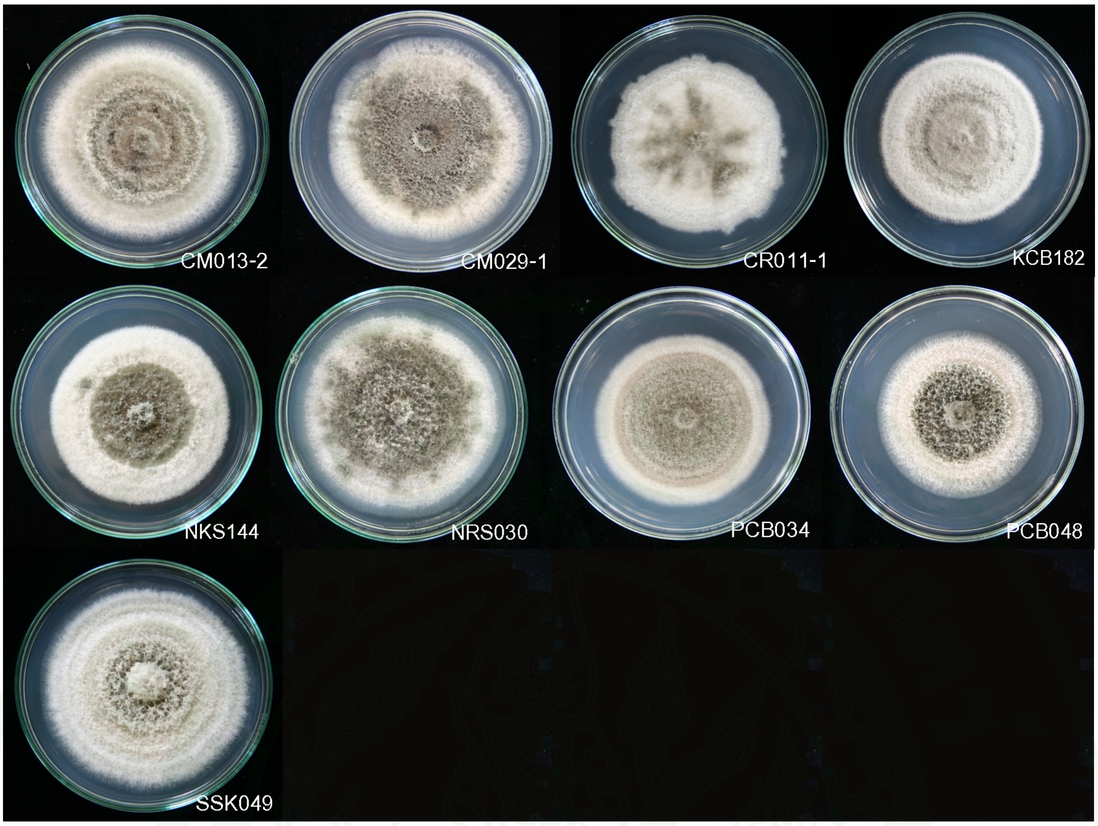
ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* กลุ่มที่ 1 เส้นใยโคโลนีสีขาวปนเทา กลาง โคโลนีสีเขียวขี้ม้าถึงเทา พบ concentric ring กลุ่มสปอร์ค่อนข้างน้อย สี pale salmon, salmon หรืออาจไม่พบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



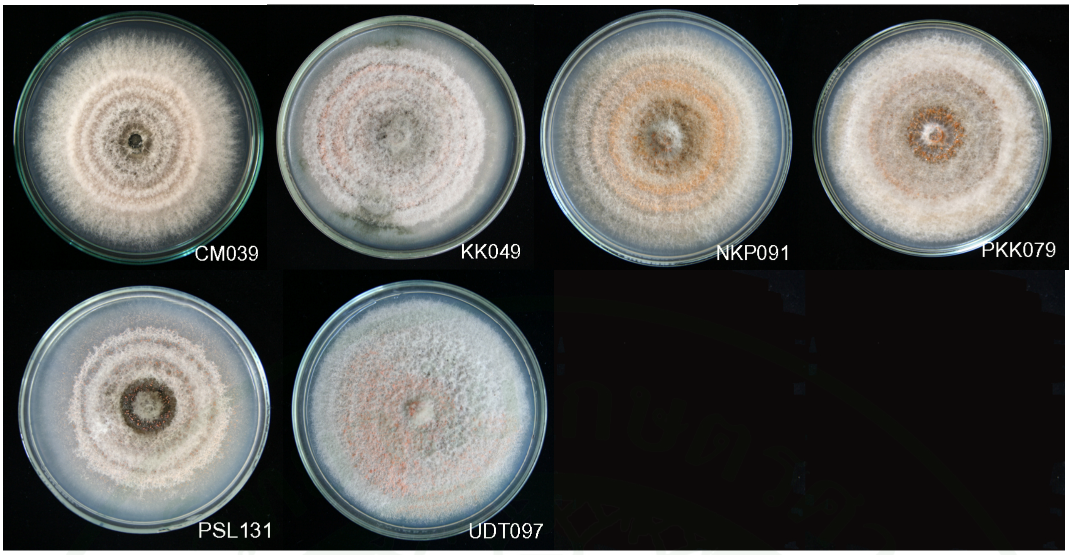
ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* กลุ่มที่ 2 เส้นใยสีเขียวอมเทาถึงเขียวมะกอก เจริญแน่น พบ concentric ring บางไอโซเลทอาจพบเส้นใยสีขาวฟูเล็กน้อยที่ผิวหน้าอาหาร บางไอโซเลท พบกลุ่มสปอร์สี salmon

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

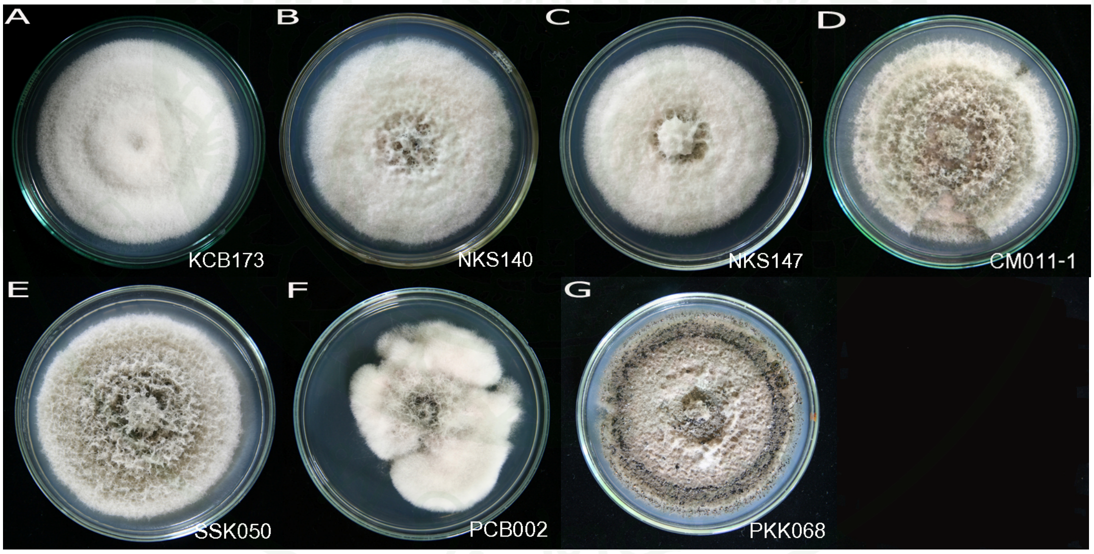


ภาพที่ 3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* กลุ่มที่ 3 เส้นใยมีสีเทาถึงเทาเข้ม เขียวมะกอก เจริญแน่นบนอาหาร บางไอโซเลทพบกลางโคโลนีมีสีเขียวมะกอกถึงเทา ขอบโคโลนีสีขาว ไม่พบกลุ่มสปอร์ หากพบมีสี pale peach และ pale salmon เมื่ออายุมากกว่า 2 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* กลุ่มที่ 4 เส้นใยมีสีขาวถึงขาวปนเทาเขียวมะกอก เรียบกับ ผิวหน้าอาหาร concentric ring ชัดเจนพบกลุ่มสปอร์สี pale peach, pale salmon, salmon, salmon orange



ภาพที่ 5 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* (A-C) กลุ่ม 5 เส้นใยมีสีขาว มีลักษณะฟู พบ concentric ring พบกลุ่มสปอร์ค่อนข้างน้อยสี salmon หรืออาจไม่พบ (D-E) กลุ่ม 6 เส้นใยมีลักษณะฟู บริเวณกลางโคโลนีสีเขียวอมเทาถึงเขียวมะกอกขอบสีขาว เจริญแน่น พบ concentric ring (F) กลุ่ม 7 เส้นใยมีสีขาวเจริญฟูบน อาหาร ขอบโคโลนีหยัก ไม่พบ concentric ring และกลุ่มสปอร์ (G) กลุ่ม 8 เส้นใยมีสีเขียวมะกอกเจริญแน่น กลางโคโลนีสีขาวถึงขาวปนเทา มีลักษณะกลวง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2 รูปร่างและขนาดของสปอร์ การสร้าง seta และ appressorium

เชื้อรา *C. gloeosporioides* สร้างสปอร์มีเซลล์เดียว ใสไม่มีสี มีฐานตัด จากการศึกษาลักษณะรูปร่าง และขนาดของสปอร์พบว่าสามารถแบ่งกลุ่ม โดยอาศัยลักษณะของรูปร่างสปอร์พบว่าสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 สปอร์มีรูปร่างตรง ทรงกระบอกเรียวยาว ปลายมน มีขนาดเฉลี่ย 10.38 – 13.13 × 2.75 – 3.38 ไมโครเมตร มีจำนวน 41 ไอโซเลท

กลุ่มที่ 2 สปอร์มีรูปร่างตรง ทรงกระบอกใหญ่ ปลายมน มีขนาดเฉลี่ย 11.50 – 13.38 × 3.00 – 3.88 ไมโครเมตร มีจำนวน 16 ไอโซเลท

กลุ่มที่ 3 สปอร์มีรูปร่างตรง ทรงกระบอกใหญ่สั้นไปจนถึงรูปไข่ ปลายมน มีขนาดเฉลี่ย 8.63 × 2.63 ไมโครเมตร มีจำนวน 1 ไอโซเลท

(ตารางที่ 9 และภาพที่ 6)

ตารางที่ 9 การแบ่งกลุ่มของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลทโดยอาศัยลักษณะรูปร่างของสปอร์

กลุ่ม	รูปร่างสปอร์	ขนาดสปอร์	ไอโซเลท		
1	รูปร่างตรง ทรงกระบอกเรียวยาว ปลายมน	10.38 – 13.13 × 2.75 – 3.38 μm	CM001-2	CM013-2	KCB165
			KCB170	KCB173	KCB182
			KK037	KK049	KK055
			KK063	KK075	NKP013
			NKP018	NKP091	NKP092
			NKS144	NRS014-1	PCB002
			PCB006	PCB026	PCB034
			PCB048	PKK067	PKK068
			PKK077	PKK079	PSL115
			PSL122	PSL131	SKT011
			SKT046	SKT048	SKT059
			SKT060	SSK018	SSK020
			SSK049	SSK050	UBR082
			UBR092	UDT097	(41 isolates)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 (ต่อ)

กลุ่ม	รูปร่างสปอร์	ขนาดสปอร์	ไอโซเลท
2	รูปร่างตรง ทรงกระบอกใหญ่ ปลายมน	11.50 – 13.38 × 3.00 – 3.88 μm	CM011-1 CM029-1 CM039 CR011-1 NKS140 NKS141 NKS147 NRS022 NRS030 PKK083 PSL076 PSL113 SKT037 UDT096 UDT098 UDT103 (16 isolates)
3	รูปร่างตรง ทรงกระบอกใหญ่สั้นไปจนถึงรูปไข่ ปลายมน	8.63 × 2.63 μm	NKP089 (1 isolate)

เมื่อแบ่งกลุ่มเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยอาศัยลักษณะโคโลนี และลักษณะรูปร่างของสปอร์ พบว่าในไอโซเลทที่จัดในกลุ่มเดียวกันเมื่ออาศัยลักษณะโคโลนี อาจไม่ได้อยู่ในกลุ่มเดียวกันเมื่อจัดกลุ่มโดยอาศัยรูปร่างสปอร์ (ตารางที่ 10) ซึ่งส่งผลให้เห็นถึงความหลากหลายของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่มีความผันแปรสูง จากการรายงานของ รัติยาและคณะ (2553) รายงานว่าสปอร์มีลักษณะเซลล์เดียว รูปร่าง cylindrical ตรงปลายมน ฐานตัดตรง สปอร์มีขนาด 3.75 - 22.50 × 1.50-5.00 ไมโครเมตร ส่วน Bailey and Jeger (1992) พบว่าลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีรูปร่างตรง ทรงกระบอก ปลายมน ฐานตัดสั้น มีขนาด 12.00 – 17.00 × 3.50 – 6.00 ไมโครเมตร และ Guozhong *et al.* (2004) พบว่าสปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกตรง ปลายเรียว หัวท้ายมน มีขนาดตั้งแต่ 13.00 – 16.00 × 3.50 - 4.50 ไมโครเมตร ในรายงานของ Jouji *et al.* (2003) ได้ศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ในประเทศญี่ปุ่น พบว่าสปอร์ของ *C. gloeosporioides* มีรูปร่างทรงกระบอกรี หัวท้ายมน มีขนาดตั้งแต่ 12.50 – 16.00 × 3.00 – 4.50 ไมโครเมตร ขณะที่ Simmonds (1965) พบว่าสปอร์ของ เชื้อรา *C. gloeosporioides* มีรูปร่างตรงทรงกระบอก ปลายมน ฐานเรียวตัดสั้น มีขนาด 11.00 – 17.50 × 3.00 – 5.00 ไมโครเมตร นอกจากนี้ Sutton (1980) พบว่าสปอร์มีลักษณะเซลล์เดียว ใส รูปร่างทรงกระบอกหัวท้ายมน ตรงฐานตัด และสปอร์มีขนาด 12.00 – 17.00 × 3.50 – 6.00 ไมโครเมตร

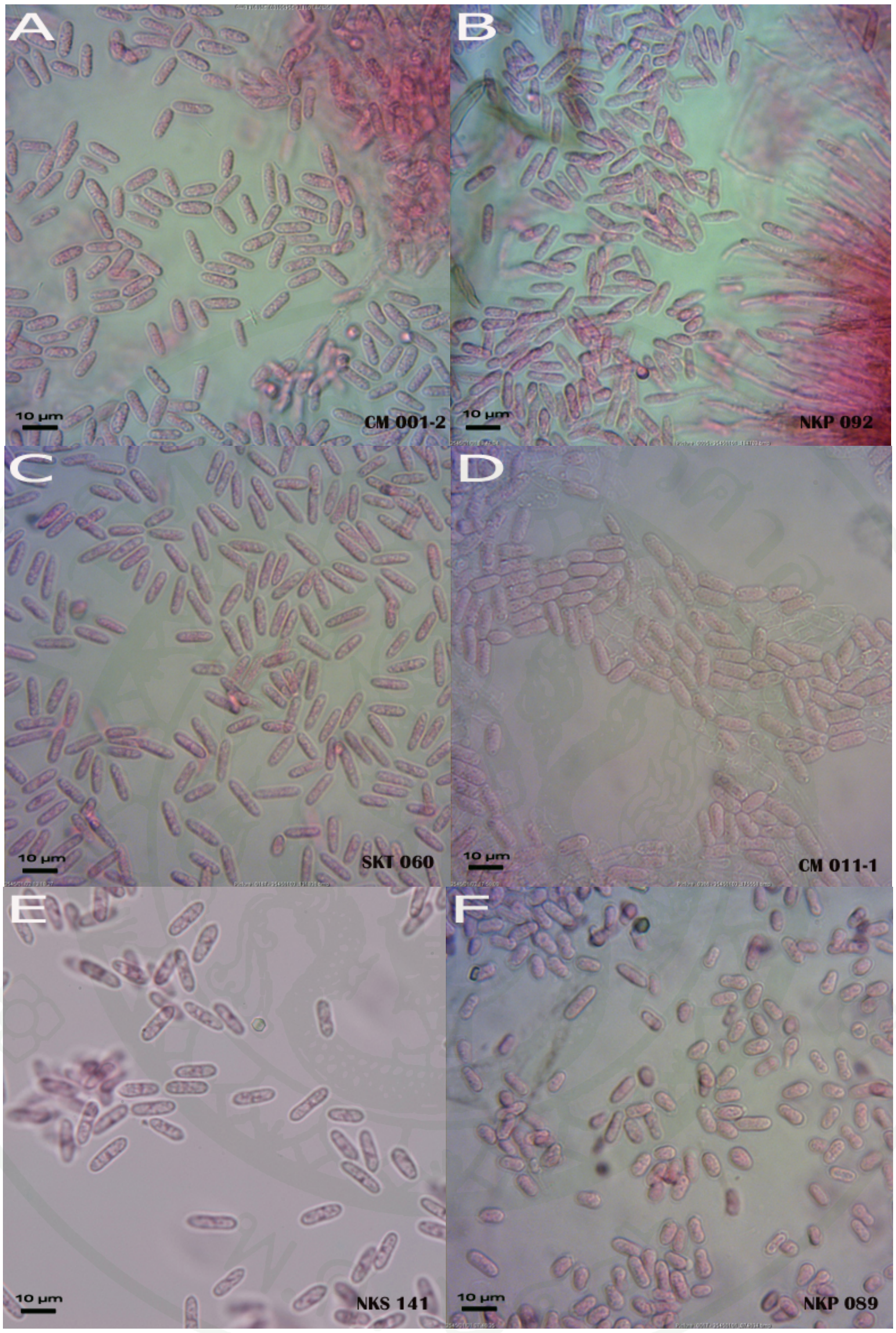
พบการสร้าง setae ในบางไอโซเลทเท่านั้น setae มีสีน้ำตาลอ่อนไปจนถึงน้ำตาลเข้มและสีดำ มีลักษณะปลายแหลม พบบ้างที่มีลักษณะปลายมน setae มีขนาด 38.50 – 85.50 × 2.50- 2.87 ไมโครเมตร (ภาพที่ 7) รัติยาและคณะ (2553) รายงานว่าพบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* สร้าง setae ในบางไอโซเลท มีสีน้ำตาล โคนแคบ ปลายแหลม และ เรียวแหลมปลายมนเล็กน้อย แต่ Guozhong *et al.* (2004) ไม่พบการสร้าง setae ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากเขตป่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สงวนในประเทศกายอานา ส่วนการสร้าง appressorium ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบการสร้าง appressorium รูปร่าง circular, clavate, long clavate, cylindrical, irregular, lobe, allantoid และพบลักษณะการเจริญแบบเดี่ยวๆ และแบบลูกโซ่ มีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 8) ซึ่งรูปร่างดังที่ได้กล่าวแล้วนั้นสามารถพบได้เกือบทุกไอโซเลท ส่วนขนาดเฉลี่ย 7.00 – 18.35 × 4.25 – 8.00 ไมโครเมตร

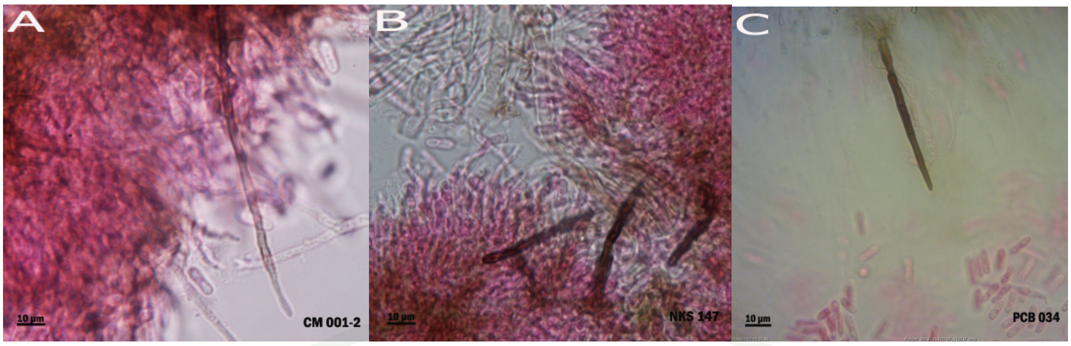
รัติยาและคณะ (2553) การสร้าง appressorium สีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม พบทั้งที่เจริญเดี่ยวๆ และต่อกันเป็นลูกโซ่ พบรูปร่าง lobe, clavate, long clavate, circular และ cylindrical ส่วน Sutton (1980) พบการสร้าง appressorium ที่มีรูปร่าง obovate มีสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำขนาด 6.00 – 20.00 × 4.00 – 12.00 ไมโครเมตร Abang *et al.* (2002) พบการสร้าง appressorium ที่มีรูปร่าง clavate, globose และ lobulate ขนาด 6.10 – 11.20 × 4.20 – 8.20 ไมโครเมตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 ลักษณะรูปร่างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* (A-C) กลุ่มที่ 1 สปอร์มีรูปร่างตรง ทรงกระบอก ปลายมน (D-E) กลุ่มที่ 2 สปอร์มีรูปร่างตรง ทรงกระบอกกว้าง ปลายมน (F) กลุ่มที่ 3 สปอร์มีรูปร่างตรง ทรงกระบอกกว้างสั้นไปจนถึงรูปไข่ ปลายมน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



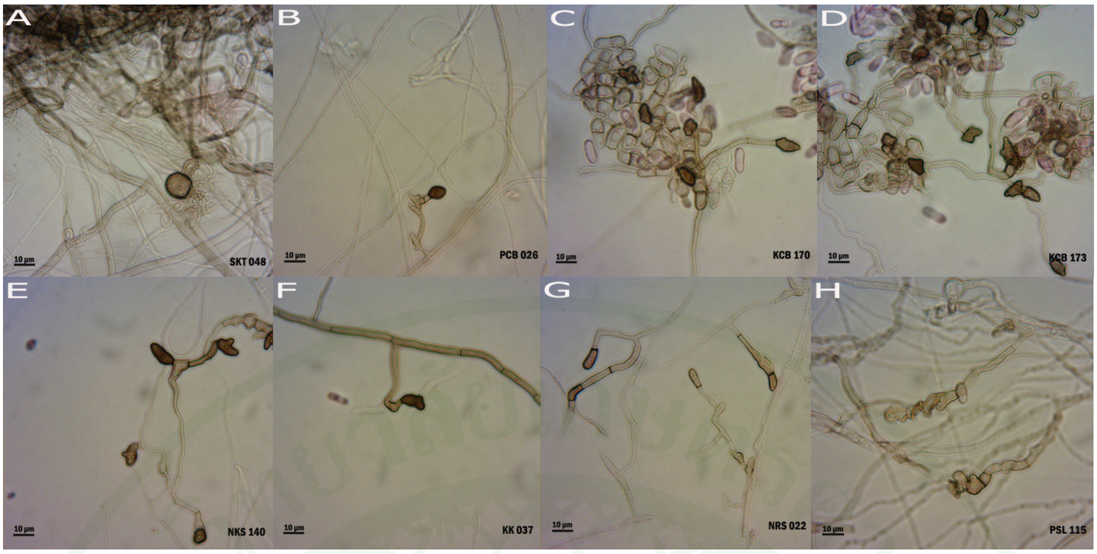
ภาพที่ 7 ลักษณะรูปร่าง setae ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* (A) setae สีน้ำตาลอ่อนไปจนถึงน้ำตาลเข้มและสีดำ มีลักษณะยาวปลายแหลม (B) setae สีน้ำตาลเข้มและสีดำ ลักษณะสั้นปลายมน (C) setae สีน้ำตาลอ่อนไปจนถึงน้ำตาลเข้ม ลักษณะสั้น ปลายแหลม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบการแบ่งกลุ่มของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลทโดยอาศัยลักษณะของโคโลนีและลักษณะรูปร่างของสปอร์

แบ่งตามลักษณะโคโลนี				แบ่งตามลักษณะรูปร่างสปอร์			
CM001-2	KK063	KK075	NKP089	CM001-2	CM013-2	KCB165	KCB170
NKP092	NRS022	PKK067	PKK077	KCB173	KCB182	KK037	KK049
PKK083	PSL076	PSL113	PSL122	KK055	KK063	KK075	NKP013
SKT059	UBR082	UDT	(15 isolates)	NKP018	NKP091	NKP092	NKS144
				NRS014-1	PCB002	PCB006	PCB026
				PCB034	PCB048	PKK067	PKK068
				PKK077	PKK079	PSL115	PSL122
				PSL131	SKT011	SKT046	SKT048
				SKT059	SKT060	SSK018	SSK020
				SSK049	SSK050	UBR082	UBR092
				UDT097			(41 isolates)
CM011-1	SSK050		(2 isolates)	CM011-1	CM029-1	CM039	CR011-1
				NKS140	NKS141	NKS147	NRS022
				NRS030	PKK083	PSL076	PSL113
				SKT037	UDT096	UDT098	UDT103
							(16 isolates)
CM013-2	CM029-1	CR011-1	KCB182	NKP089			(1 isolate)
NKS144	NRS030	PCB034	PCB048				
SSK049			(9 isolates)				
CM039	KK049	NKP091	PKK079				
PSL131	UDT097		(6 isolates)				
KCB165	KCB170	KK037	KK055				
NKP013	NKP018	NKS141	NRS014-1				
PCB006	PCB026	PSL115	SKT011				
SKT037	SKT046	SKT048	SKT060				
SSK018	SSK020	UBR092	UDT098				
UDT103			(21 isolates)				
KCB173	NKS140	NKS147	(3 isolates)				
PCB002			(1 isolate)				
PKK068			(1 isolate)				

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 8 ลักษณะรูปร่าง appressorium ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* : (A) รูปร่าง circular (B) รูปร่าง clavate (C) รูปร่าง long clavate (D) รูปร่าง irregular (E) รูปร่าง lobe (F) รูปร่าง allantoid (G) รูปร่างcylindrical และ (H) ลักษณะการเจริญแบบเดี่ยวๆ และแบบลูกโซ่

1.3 ศึกษาการงอกของสปอร์

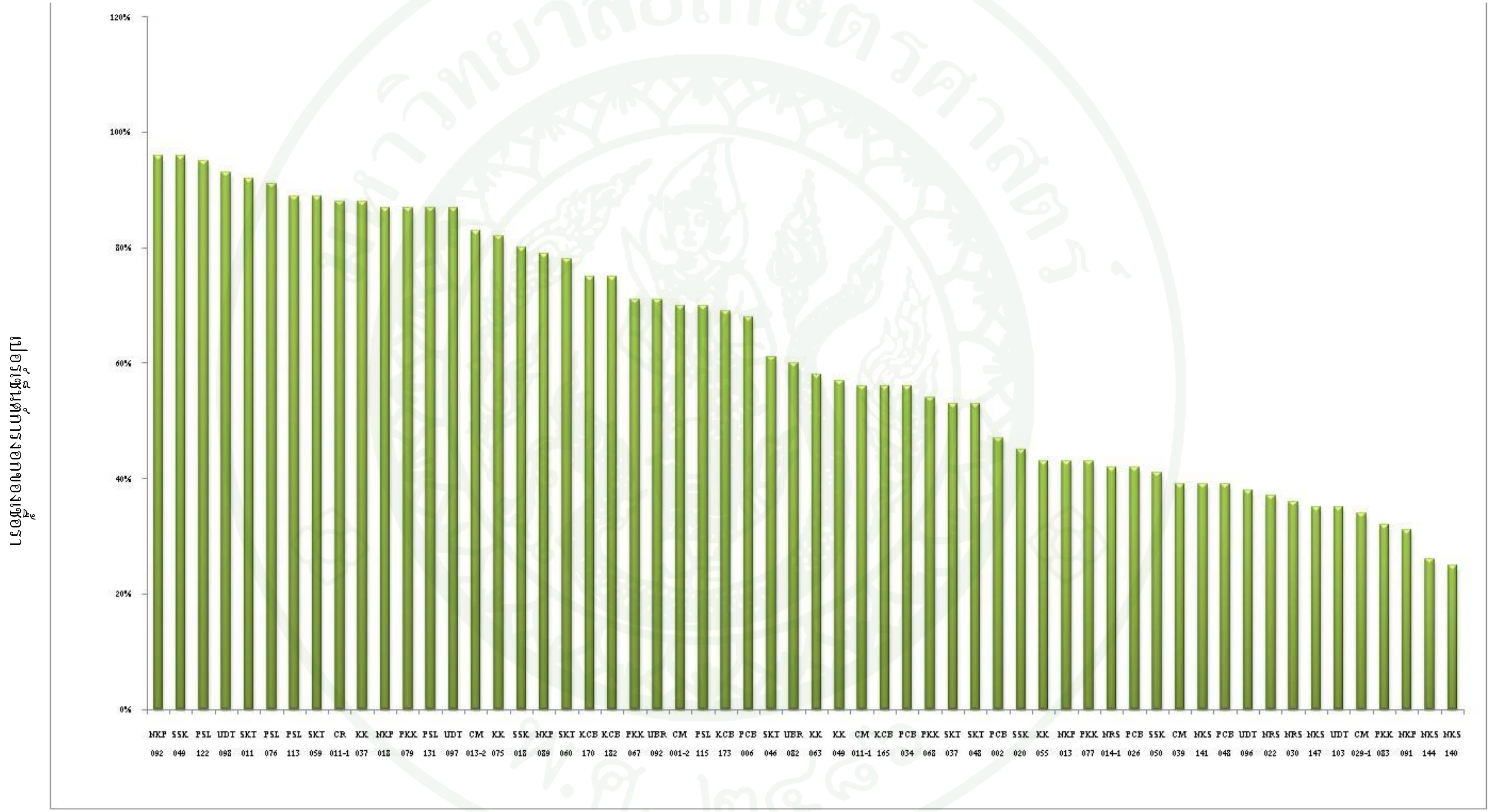
จากการคำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้ง 58 ไอโซเลทพบว่า ไอโซเลทที่มีความงอกมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ NKP092, SSK049, PSL122, UDT098, SKT011 และ PSL076 ซึ่งมีความงอก 96, 96, 95, 93, 92 และ 91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน ไอโซเลท NKS 140 มีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำที่สุด เท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองนี้สามารถที่จะคัดเลือกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไปใช้ในการทำงานวิจัยด้านการปรับปรุงพันธุ์พริกที่ต้านทานโรคแอนแทรคโนสต่อไป (ตารางที่ 11 และภาพที่ 9)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 11 ค่าเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท

ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การงอก	ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การงอก	ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การงอก
CM 001-2	70	NKS 140	25	PSL 122	95
CM 011-1	56	NKS 141	39	PSL 131	87
CM 013-2	83	NKS 144	26	SKT 011	92
CM 029-1	34	NKS 147	35	SKT 037	53
CM 039	39	NRS 014-1	42	SKT 046	61
CR 011-1	88	NRS 022	37	SKT 048	53
KCB 165	56	NRS 030	36	SKT 059	89
KCB 170	75	PCB 002	47	SKT 060	78
KCB 173	69	PCB 006	68	SSK 018	80
KCB 182	75	PCB 026	42	SSK 020	45
KK 037	88	PCB 034	56	SSK 049	96
KK 049	57	PCB 048	39	SSK 050	41
KK 055	43	PKK 067	71	UBR 082	60
KK 063	58	PKK 068	54	UBR 092	71
KK 075	82	PKK 077	43	UDT 096	38
NKP 013	43	PKK 079	87	UDT 097	87
NKP 018	87	PKK 083	32	UDT 098	93
NKP 089	79	PSL 076	91	UDT 103	35
NKP 091	31	PSL 113	89		
NKP 092	96	PSL 115	70		

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 9 เปอร์เซ็นต์การงอกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท

1.4 ศึกษาอัตราการเจริญเติบโต

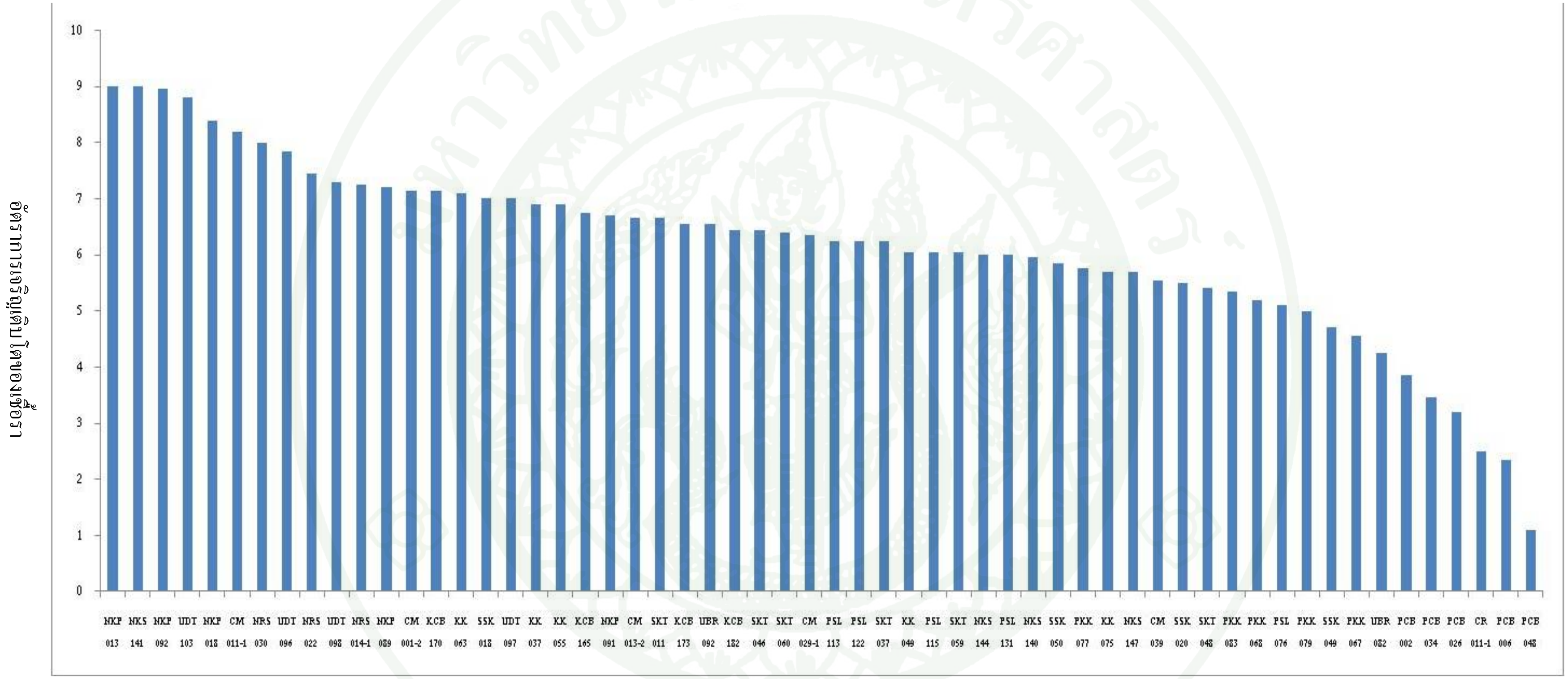
โดยธรรมชาติของเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าอัตราการเจริญเติบโตบนอาหาร PDA ในวันที่ 3 มีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด การทดลองนี้จึงได้นำข้อมูลในวันที่ 3 เพื่อเป็นการเปรียบเทียบ พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของโคโลนี โดยไอโซเลทที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงมีจำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ NKP013, NKP092, UDT103, NKP018 และ CM011-1 โดยมีอัตรา 9.00, 8.95, 8.80, 8.40 และ 8.20 ส่วนไอโซเลท PCB 048 มีอัตราการเจริญเติบโตช้าที่สุด เท่ากับ 1.10 มิลลิเมตร (ตารางที่ 12) ซึ่ง Jouji *et al.* (2003) ได้ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าเชื้อรามีอัตราการเจริญประมาณ 6-9 มิลลิเมตรต่อวัน ส่วนเชื้อรา *C. boninense* มีอัตราการเจริญเติบโตประมาณ 5.2-6.1 มิลลิเมตรต่อวัน ส่วน Pedro *et al.* (2002) ได้รายงานอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในส้ม มีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.65-6.23 มิลลิเมตรต่อวัน

สำหรับเชื้อราทั้ง 58 ไอโซเลทนั้นมีความแตกต่างในอัตราการเจริญเติบโต โดยพบอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยในวันที่ 3 ประมาณ 1.10-9.00 มิลลิเมตร

ตารางที่ 12 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท บนอาหาร PDA ในวันที่ 3

ไอโซเลท	การเจริญ (มม.)	ไอโซเลท	การเจริญ (มม.)	ไอโซเลท	การเจริญ (มม.)
CM 001-2	7.15	NKS 140	3.20	PSL 122	6.25
CM 011-1	8.20	NKS 141	3.45	PSL 131	6.00
CM 013-2	6.65	NKS 144	1.10	SKT 011	6.65
CM 029-1	6.35	NKS 147	4.55	SKT 037	6.25
CM 039	5.55	NRS 014-1	5.20	SKT 046	6.45
CR 011-1	2.50	NRS 022	5.75	SKT 048	5.40
KCB 165	6.75	NRS 030	5.00	SKT 059	6.05
KCB 170	7.15	PCB 002	5.35	SKT 060	6.40
KCB 173	6.55	PCB 006	5.10	SSK 018	7.00
KCB 182	6.45	PCB 026	6.25	SSK 020	5.50
KK 037	6.90	PCB 034	6.05	SSK 049	4.70
KK 049	6.05	PCB 048	3.20	SSK 050	5.85
KK 055	6.90	PKK 067	3.45	UBR 082	4.25
KK 063	7.10	PKK 068	1.10	UBR 092	6.55
KK 075	5.70	PKK 077	4.55	UDT 096	7.85
NKP 013	9.00	PKK 079	5.20	UDT 097	7.00
NKP 018	8.40	PKK 083	5.75	UDT 098	7.30
NKP 089	7.20	PSL 076	5.00	UDT 103	8.80
NKP 091	6.70	PSL 113	5.35		
NKP 092	8.95	PSL 115	5.10		

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 10 ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท บนอาหาร PDA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ศึกษาเครื่องหมายโมเลกุล

จากการศึกษาเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* พบว่ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยา เชื้อรานี้มีความผันแปรในลักษณะรูปร่างของสปอร์ และลักษณะของโคโลนี เมื่อนำมาศึกษาโดยใช้เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลพบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท นั้นมีความหลากหลายในระดับสปีชีส์ด้วยเช่นกัน

2.1 การวัดคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอ

ผลการสกัดดีเอ็นเอพบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท มีคุณภาพดี มีปริมาณดีเอ็นเอประมาณ 100 นาโนกรัม และไม่พบการปนเปื้อนจากคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนต่างๆ

2.2 การจำแนกเชื้อราโดยใช้เทคนิค Restriction Fragment length polymorphism – Polymerase chain reaction (RFLP - PCR)

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตรงบริเวณตำแหน่ง ITS1/ITS2 ซึ่งเป็นส่วนของไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอยีน (rDNA) ที่มีส่วนประกอบที่เป็นส่วนอนุรักษ์และส่วนที่ผันแปร โดยใช้ ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int (5’-GGCCTCCCGCCTCCGGGCGG-3’) ร่วมกับ universal primer ITS4 (5’-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3’) ได้แถบดีเอ็นเอตรงตำแหน่ง ITS ที่มีขนาดประมาณ 450 คู่เบส (ภาพที่ 11) จากการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อให้เกิดความมั่นใจต่อการจัดจำแนกเชื้อรา *C. gloeosporioides* หลังจากที่ใช้การจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในเบื้องต้นมาแล้ว มีงานวิจัยอื่นๆ ที่สอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ โดย Freeman *et al.* (2000) ศึกษาการใช้เทคนิคทางอณูชีวโมเลกุลในการวิเคราะห์เชื้อรา *Colletotrichum* ที่พบในอัลมอนด์และผลไม้ต่างๆ โดยการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ คือไพรเมอร์ *Ca*Int2/ITS4 และไพรเมอร์ *Cg*Int/ITS4 พบว่าเชื้อรา *C. acutatum* และ *C. gloeosporioides* ให้ผลของปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน โดยเชื้อรา *C. acutatum* ให้แถบดีเอ็นเอตรงบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ขนาดประมาณ 490 คู่เบส ส่วนเชื้อรา *C. gloeosporioides* ให้แถบดีเอ็นเอมีขนาดประมาณ 450 คู่เบส และจากงานวิจัยของ Medeiros *et al.* (2010) พบว่าการจำแนกเชื้อรา *C. gloeosporioides* จากพืชอาศัยหลายชนิด โดยทำปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ *Cg*Int และ ITS4 พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ให้แถบดีเอ็นเอตรงบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ขนาดประมาณ

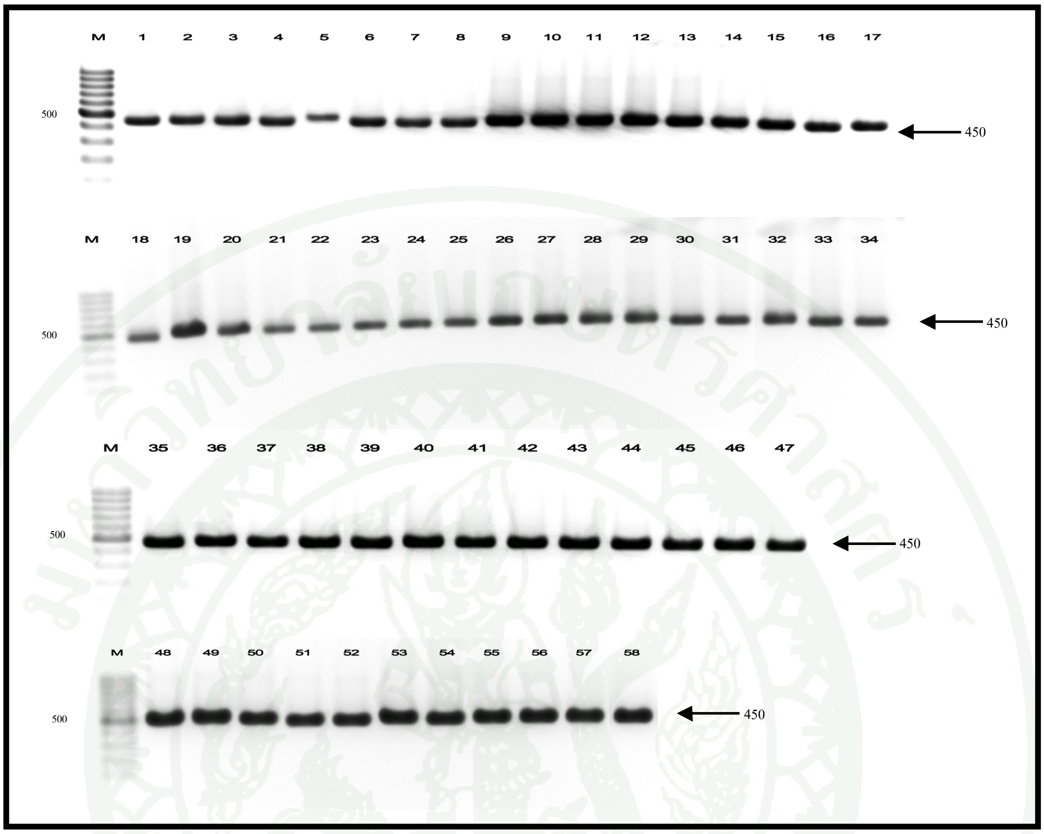
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

450 คู่เบส ส่วน *C. acutatum* แลt *C. sublineolum* ไม่พบแถบดีเอ็นเอจากการใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อสปีชีส์นี้เลย ส่วน Raul *et al*. (2008) ได้ศึกษาเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะละกอโดยทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยใช้ไพรเมอร์ *Cg*Int และ ITS4 พบว่าเฉพาะเชื้อรา *C. gloeosporioides* เท่านั้นที่ให้แถบดีเอ็นเอตรงบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ขนาดประมาณ 450 คู่เบส

เมื่อนำผล ITS ไปศึกษาต่อด้วยเทคนิค RFLP โดยตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะทั้ง 3 ชนิด คือ *Hae*III, *Pvu*II และ *Eco*RI พบว่าเอนไซม์ *Hae*III สามารถตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *C. gloeosporioides* ได้ โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่ม 1 ตัดดีเอ็นเอได้ 2 ชิ้น มีขนาด 169 และ 281 คู่เบส กลุ่ม 2 ตัดดีเอ็นเอได้ 2 ชิ้นมีขนาด 150 และ 300 คู่เบส (ตารางที่ 13) เอนไซม์ *Pvu*II ตัดดีเอ็นเอของ *C. gloeosporioides* ได้ 2 กลุ่ม กลุ่ม 1 ตัดดีเอ็นเอได้ 2 ชิ้น มีขนาด 179 และ 271 คู่เบส กลุ่ม 2 ตัดดีเอ็นเอได้ 1 ชิ้นมีขนาด 271 คู่เบส (ตารางที่ 14) และเอนไซม์ *Eco*RI สามารถตัดชิ้นส่วน ดีเอ็นเอของ *C. gloeosporioides* ได้ โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่ม 1 ตัดดีเอ็นเอได้ 2 ชิ้น มีขนาด 150 และ 300 คู่เบส กลุ่ม 2 ตัดดีเอ็นเอได้ 1 ชิ้น มีขนาด 300 คู่เบส (ตารางที่ 15)

จากศึกษาของ Raul *et al.* (2008) ได้ใช้เทคนิค RFLP-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ *Cg*Int ร่วมกับ ไพรเมอร์ ITS4 และใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะได้แก่ *Alu*I, *Hae*III, *Hind*III, *Mse*I, *Msp*I, *Rsa*I และ *Taq*I ในการตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากผลมะละกอ พบว่าเอนไซม์ *Alu*I สามารถตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *C. gloeosporioides* ได้ขนาด 190 และ 380 คู่เบส *Hae*III ได้ขนาด 140, 170 และ 280 คู่เบส *Msp*I ได้ขนาด 130 และ 300 คู่เบส *Rsa* I ได้ขนาด 180 และ 380 คู่เบส *Taq*I ได้ขนาด 80, 230 และ 240 คู่เบส ส่วน *Hind*III และ *Mse*I ไม่สามารถตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 11 ชิ้นส่วนดีเอ็นบริเณ ITS ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยใช้เทคนิค PCR ไพรเมอร์ที่ *CgInt* ร่วมกับ universal primer ITS4 ได้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 450 คู่เบส ladder =100 bp

Lane1= CM001-2	Lane2 = CM011-1	Lane3 = CM013-2	Lane4 = CM029-1
Lane5 = CM039	Lane6 = CR011-1	Lane7 = KCB165	Lane8 = KCB170
Lane9 = KCB173	Lane10 = KCB182	Lane11 = KK037	Lane12 = KK049
Lane13 = KK055	Lane14 = KK063	Lane15 = KK075	Lane16 = NKP013
Lane17 = NKP018	Lane18 = NKP089	Lane19 = NKP091	Lane20 = NKP092
Lane21 = NKS140	Lane22 = NKS141	Lane23 = NKS144	Lane24 = NKS147
Lane25 = NRS014-1	Lane26 = NRS022	Lane27 = NRS030	Lane28 = PCB002
Lane29 = PCB006	Lane30 = PCB026	Lane31 = PCB034	Lane32= PCB048
Lane33 = PKK067	Lane34 = PKK068	Lane35= PKK077	Lane36 = PKK079
Lane37 = PKK083	Lane38 = PSL076	Lane39 = PSL113	Lane40 = PSL115
Lane41 = PSL122	Lane42 = PSL131	Lane43 = SKT011	Lane44 = SKT037
Lane45 = SKT046	Lane46 = SKT048	Lane47 = SKT059	Lane48 = SKT060
Lane49 = SSK018	Lane50 = SSK020	Lane51 = SSK049	Lane52 = SSK050
Lane53 = UBR082	Lane54 = UBR092	Lane55 = UDT096	Lane56 = UDT097
Lane57 = UDT098	Lane58 = UDT103		

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 13 ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ได้จากการนำมาตัดด้วย เอนไซม์ *Hae*III

กลุ่ม	ไอโซเลท	ขนาดชิ้นดีเอ็นเอ (bp)
1	CM011-1 CM029-1 CM039 CR011-1	169, 281
	KCB165 KCB170 KCB173 KCB182	
	KK055 KK063 NKP089 NKS147	
	NRS014-1 NRS022 NRS030 PCB002	
	PCB006 PCB026 PCB034 PCB048	
	PKK083 PSL076 PSL122 SKT011	
	SKT037 SKT046 SKT048 SKT059	
	SKT060 SSK050 UBR092 UDT096	
	UDT097 UDT098 UDT103	
2	CM001-2 CM013-2 KK037 KK049	150, 300
	KK075 NKP013 NKP018 NKP091	
	NKP092 NKS140 NKS141 NKS144	
	PKK067 PKK068 PKK077 PKK079	
	PSL113 PSL115 PSL131 SSK018	
	SSK020 SSK049 UBR082	

ตารางที่ 14 ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ได้จากการนำมาตัดด้วยเอนไซม์ *Pvu*II

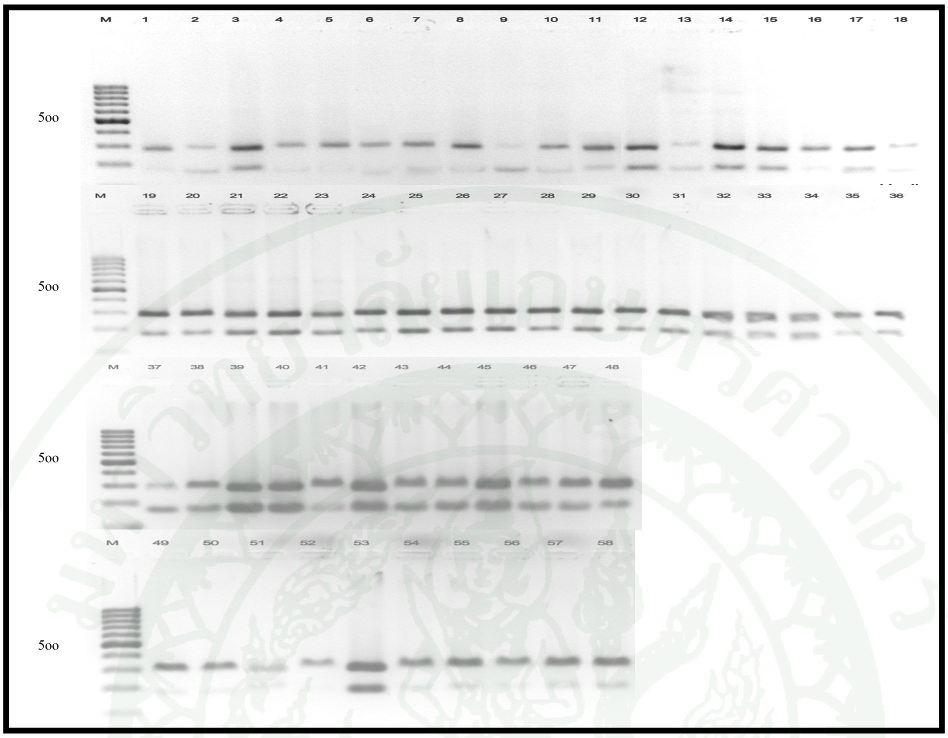
กลุ่ม	ไอโซเลท	ขนาดชิ้นดีเอ็นเอ (bp)
1	CM001-2 CM011-1 CM013-2 CM029-1	179, 271
	CM039 CR011-1 KCB165 KCB170	
	KCB173 KCB182 KK037 KK049	
	KK055 KK063 KK075 NKP013	
	NKP018 NKP089 NKP091 NKP092	
	NKS140 NKS141 NKS147 NRS014-1	
	NRS022 PKK067 PKK068 PKK077	
	PKK079 PSL076 PSL113 PSL115	
	PSL122 PSL131 SKT011 SKT037	
	SKT046 SKT048 SKT059 SKT060	
	SSK018 SSK020 SSK050 UBR082	
	UBR092 UDT096 UDT097 UDT098	
	UDT103	
2	NKS144 NRS030 PCB002 PCB006	271
	PCB026 PCB034 PCB048 PKK083	
	SSK049	

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 15 ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ได้จากการนำมาตัดด้วย เอนไซม์ *Eco*RI

กลุ่ม	ไอโซเลท				ขนาดชิ้นดีเอ็นเอ (bp)
1	CM001-2	CM013-2	KCB182	KK037	150, 300
	KK049	KK055	KK063	KK075	
	NKP018	NKP091	NKP092	NKS140	
	NKS141	NKS144	NKS147	NRS014-1	
	NRS022	NRS030	PCB002	PCB006	
	PCB026	PCB034	PCB048	PKK067	
	PKK068	PKK077	PKK079	PKK083	
	PSL076	PSL122	SKT048	SSK018	
	SSK020	UBR082	UBR092		
2	CM011-1	CM029-1	CM039	CR011-1	300
	KCB165	KCB170	KCB173	NKP013	
	NKP089	PSL113	PSL115	PSL131	
	SKT011	SKT037	SKT046	SKT059	
	SKT060	SSK049	SSK050	UDT096	
	UDT097	UDT098	UDT103		

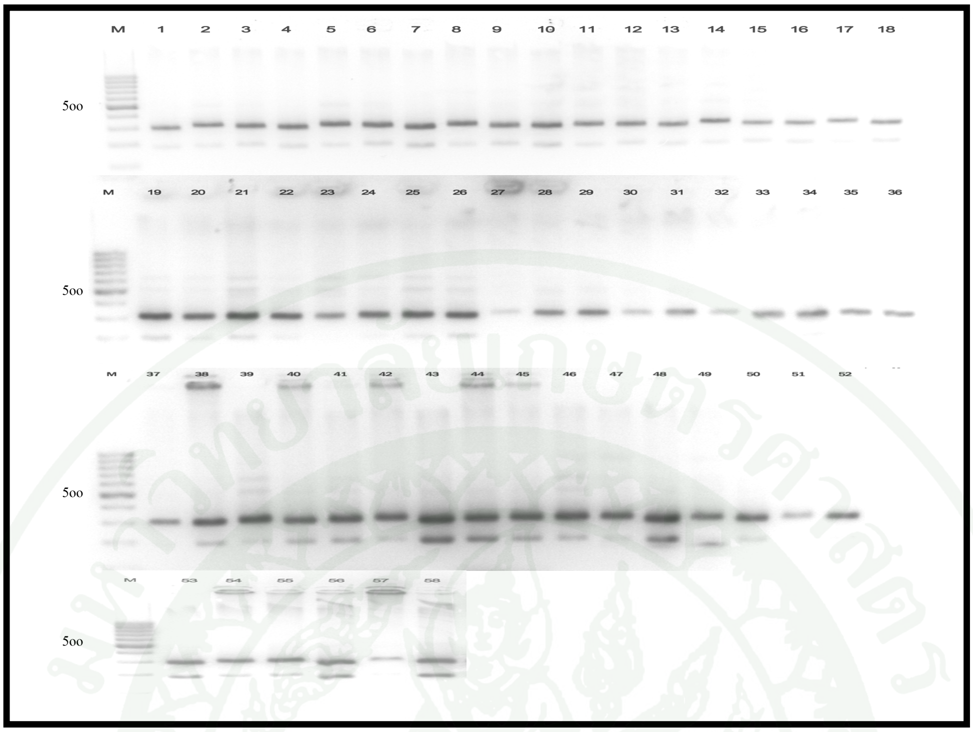
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 12 ชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Hae*III ladder = 100 bp

Lane1= CM001-2	Lane2 = CM011-1	Lane3 = CM013-2	Lane4 = CM029-1
Lane5 = CM039	Lane6 = CR011-1	Lane7 = KCB165	Lane8 = KCB170
Lane9 = KCB173	Lane10 = KCB182	Lane11 = KK037	Lane12 = KK049
Lane13 = KK055	Lane14 = KK063	Lane15 = KK075	Lane16 = NKP013
Lane17 = NKP018	Lane18 = NKP089	Lane19 = NKP091	Lane20 = NKP092
Lane21 = NKS140	Lane22 = NKS141	Lane23 = NKS144	Lane24 = NKS147
Lane25 = NRS014-1	Lane26 = NRS022	Lane27 = NRS030	Lane28 = PCB002
Lane29 = PCB006	Lane30 = PCB026	Lane31 = PCB034	Lane32= PCB048
Lane33 = PKK067	Lane34 = PKK068	Lane35= PKK077	Lane36 = PKK079
Lane37 = PKK083	Lane38 = PSL076	Lane39 = PSL113	Lane40 = PSL115
Lane41 = PSL122	Lane42 = PSL131	Lane43 = SKT011	Lane44 = SKT037
Lane45 = SKT046	Lane46 = SKT048	Lane47 = SKT059	Lane48 = SKT060
Lane49 = SSK018	Lane50 = SSK020	Lane51 = SSK049	Lane52 = SSK050
Lane53 = UBR082	Lane54 = UBR092	Lane55 = UDT096	Lane56 = UDT097
Lane57 = UDT098	Lane58 = UDT103		

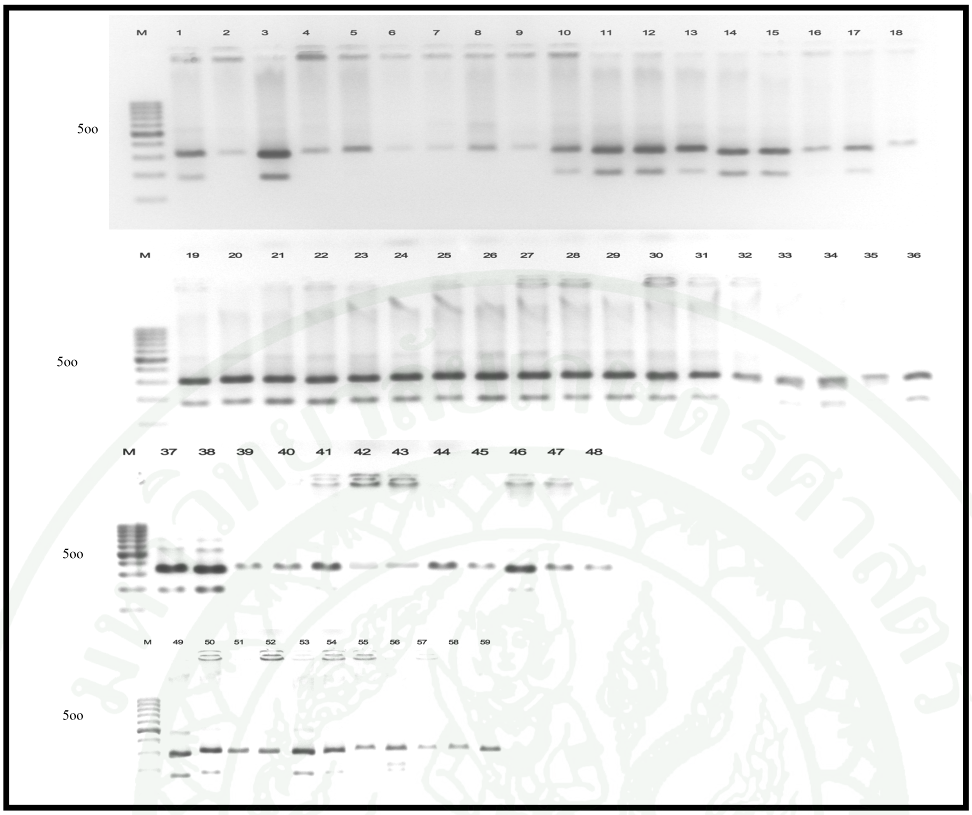
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 13 ชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Pvu*II ladder = 100 bp

Lane1= CM001-2	Lane2 = CM011-1	Lane3 = CM013-2	Lane4 = CM029-1
Lane5 = CM039	Lane6 = CR011-1	Lane7 = KCB165	Lane8 = KCB170
Lane9 = KCB173	Lane10 = KCB182	Lane11 = KK037	Lane12 = KK049
Lane13 = KK055	Lane14 = KK063	Lane15 = KK075	Lane16 = NKP013
Lane17 = NKP018	Lane18 = NKP089	Lane19 = NKP091	Lane20 = NKP092
Lane21 = NKS140	Lane22 = NKS141	Lane23 = NKS144	Lane24 = NKS147
Lane25 = NRS014-1	Lane26 = NRS022	Lane27 = NRS030	Lane28 = PCB002
Lane29 = PCB006	Lane30 = PCB026	Lane31 = PCB034	Lane32= PCB048
Lane33 = PKK067	Lane34 = PKK068	Lane35= PKK077	Lane36 = PKK079
Lane37 = PKK083	Lane38 = PSL076	Lane39 = PSL113	Lane40 = PSL115
Lane41 = PSL122	Lane42 = PSL131	Lane43 = SKT011	Lane44 = SKT037
Lane45 = SKT046	Lane46 = SKT048	Lane47 = SKT059	Lane48 = SKT060
Lane49 = SSK018	Lane50 = SSK020	Lane51 = SSK049	Lane52 = SSK050
Lane53 = UBR082	Lane54 = UBR092	Lane55 = UDT096	Lane56 = UDT097
Lane57 = UDT098	Lane58 = UDT103		

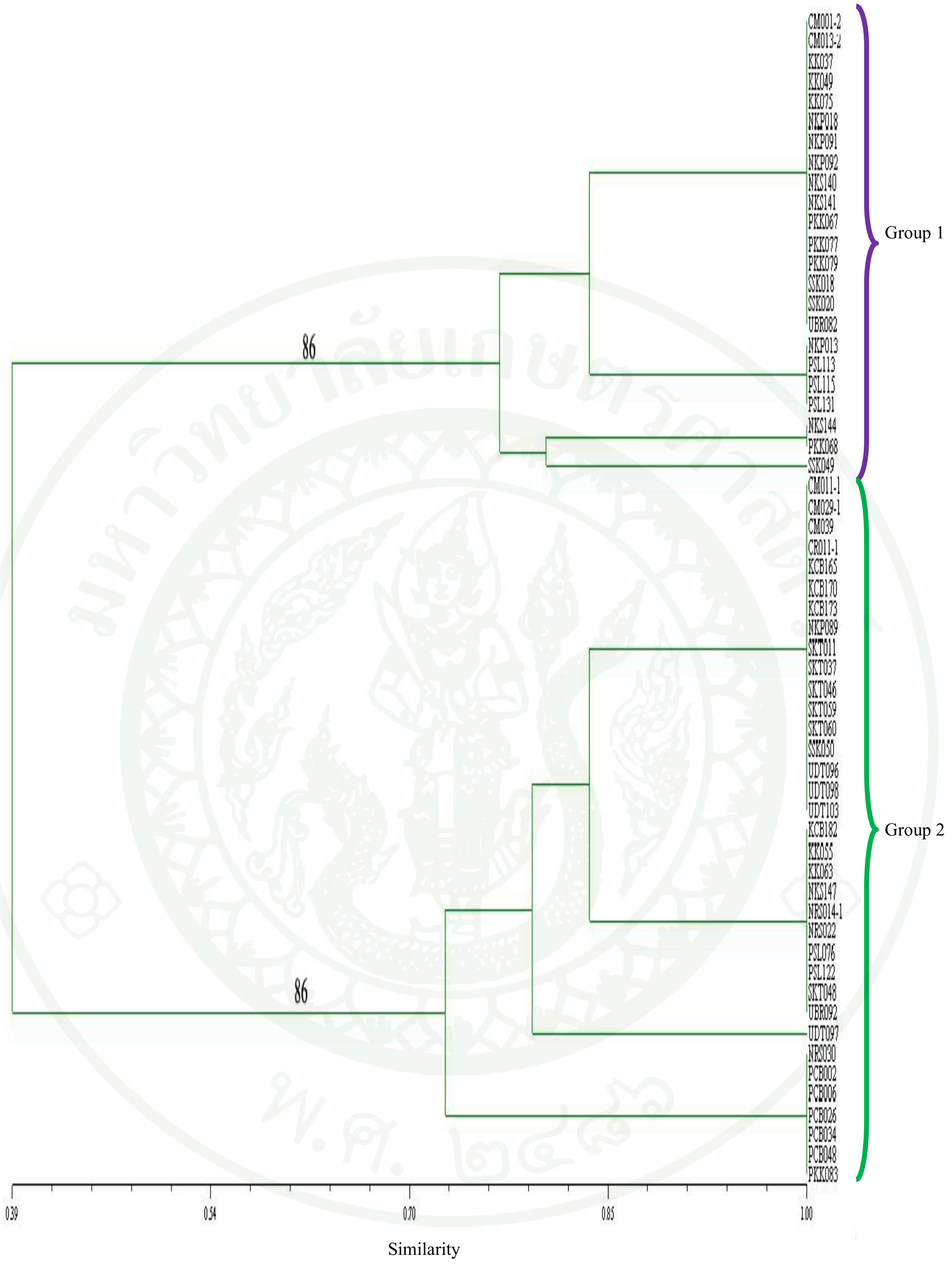
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 14 ชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ตัดด้วยเอนไซม์ *Eco*RI ladder = 100 bp

Lane1= CM001-2	Lane2 = CM011-1	Lane3 = CM013-2	Lane4 = CM029-1
Lane5 = CM039	Lane6 = CR011-1	Lane7 = KCB165	Lane8 = KCB170
Lane9 = KCB173	Lane10 = KCB182	Lane11 = KK037	Lane12 = KK049
Lane13 = KK055	Lane14 = KK063	Lane15 = KK075	Lane16 = NKP013
Lane17 = NKP018	Lane18 = NKP089	Lane19 = NKP091	Lane20 = NKP092
Lane21 = NKS140	Lane22 = NKS141	Lane23 = NKS144	Lane24 = NKS147
Lane25 = NRS014-1	Lane26 = NRS022	Lane27 = NRS030	Lane28 = PCB002
Lane29 = PCB006	Lane30 = PCB026	Lane31 = PCB034	Lane32= PCB048
Lane33 = PKK067	Lane34 = PKK068	Lane35= PKK077	Lane36 = PKK079
Lane37 = PKK083	Lane38 = PSL076	Lane39 = PSL113	Lane40 = PSL115
Lane41 = PSL122	Lane42 = PSL131	Lane43 = SKT011	Lane44 = SKT037
Lane45 = SKT046	Lane46 = SKT048	Lane47 = SKT059	Lane48 = SKT060
Lane49 = SSK018	Lane50 = SSK020	Lane51 = SSK049	Lane52 = SSK050
Lane53 = UBR082	Lane54 = UBR092	Lane55 = UDT096	Lane56 = UDT097
Lane57 = UDT098	Lane58 = UDT103		

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 15 แสดงผลการจัดทำ UPGMA cluster จากการวิเคราะห์ข้อมูลชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เกิดจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Eco*RI, *Hae*III และ *Pvu*II ค่าที่แสดงบนกิ่งคือ ค่า bootstrap ที่คำนวณจาก 100 ซ้ำด้วยโปรแกรม Winboot

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลจากการวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA cluster ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 70 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถจัดกลุ่มเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้จำนวน 2 กลุ่ม โดยพบว่ากลุ่มที่ 1 มีจำนวน 23 ไอโซเลท มีค่า bootstrap 86 และ กลุ่มที่ 2 มีจำนวน 35 ไอโซเลท มีค่า bootstrap 86 พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ 2 มีความหลากหลายของสมาชิกที่เก็บมาจากทั้ง 14 จังหวัด ในขณะที่กลุ่มที่ 1 นั้นมีสมาชิกที่เก็บรวบรวมมาจาก 7 จังหวัด จาก dendrogram (ภาพที่ 15) พบว่าไอโซเลท CM001-2, CM013-2, KK037, KK049, KK075, NKP018, NKP092, NKS140, NKS141, PKK067, PKK077, PKK079, SSK018, SSK020 และ UBR082 ที่เก็บมาจาก เชียงใหม่ ขอนแก่น นครปฐม นครสวรรค์ ประจวบคีรีขันธ์ ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน ส่วนไอโซเลท NKS144 ที่แยกจากนครสวรรค์ มีความสัมพันธ์กับ PKK068 ที่แยกจากประจวบคีรีขันธ์ ส่วนเชื้อราที่แยกจากจังหวัด เพชรบูรณ์ทั้ง 4 ไอโซเลทที่นำมาวิเคราะห์พบว่าไม่มีความผันแปรทางพันธุกรรม

อย่างไรก็ตามในการศึกษาความผันแปรของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ในครั้งนี้ยังได้นำเทคนิค ISSR-PCR เข้ามาเปรียบเทียบด้วยเช่นกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.3 การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราโดยใช้เทคนิค Inter-simple sequence repeat - Polymerase chain reaction (ISSR- PCR)

จากการศึกษาปฏิกิริยา Inter-simple sequence repeat - Polymerase chain reaction (ISSR- PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ 4 ชนิด ได้แก่ $(CAG)_5$ $(GTG)_5$ $(GACA)_4$ และ $(TGTC)_4$ สร้าง polymorphic band จำนวน 14, 14, 10 และ 10 band ตามลำดับ มีขนาด 400-1500, 400-1300, 500-1300 และ 500-1800 คู่เบส ตามลำดับ (ตารางที่ 21)

เมื่อจำแนกกลุ่มของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยใช้ primer $(CAG)_5$ พบว่าการสร้างแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแปรปรวน หรือ polymorphic band แบ่งได้ 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 มี 8 band ได้แก่ 400, 450, 550, 650, 950, 1000, 1300 และ 1500 กลุ่มที่ 2 มี 10 band ได้แก่ 400, 450, 550, 800, 850, 950, 1000, 1100, 1300 และ 1500 กลุ่มที่ 3 มี 8 band ได้แก่ 500, 550, 650, 800, 1000, 1300, 1400 และ 1500 โดยมีตำแหน่งที่เหมือนกัน คือ 550, 1000, 1300 และ 1500 (ตารางที่ 16)

เมื่อใช้ไพรเมอร์ $(GTG)_5$พบการสร้างแถบดีเอ็นเอมี polymorphic band แบ่งได้ 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 มี 14 band ได้แก่ 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 1000, 1100 และ 1300 กลุ่มที่ 2 มี 10 band ได้แก่ 450, 500, 550, 650, 700, 750, 800, 950, 1100 และ 1300 โดยมีตำแหน่งที่เหมือนกัน คือ 450, 500, 550, 650, 700, 750, 800, 1100 และ 1300 (ตารางที่ 17)

หากใช้ไพรเมอร์ $(GACA)_4$ พบว่าการสร้างแถบดีเอ็นเอมี polymorphic band แบ่งได้ 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 มี 10 band ได้แก่ 500, 550, 600, 650, 750, 850, 950, 1000, 1100 และ 1300 กลุ่มที่ 2 มี 9 band ได้แก่ 500, 550, 600, 650, 750, 950, 1000, 1100 และ 1300 กลุ่มที่ 3 มี 5 band ได้แก่ 550, 650, 950, 1100 และ 1300 โดยมีตำแหน่งที่เหมือนกัน คือ 550, 650, 950, 1100 และ 1300 (ตารางที่ 18)

ส่วนไพรเมอร์ $(TGTC)_4$ นั้นพบการสร้างแถบดีเอ็นเอมี polymorphic band แบ่งได้ 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 มี 10 band ได้แก่ 500, 650, 700, 750, 900, 1100, 1200, 1400, 1500 และ 1800 กลุ่มที่ 2 มี 8 band ได้แก่ 500, 650, 700, 750, 900, 1100, 1200 และ 1400 โดยมีตำแหน่งที่เหมือนกัน คือ 500, 650, 700, 750, 900, 1100, 1200 และ 1400 (ตารางที่ 19)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลจากการวิเคราะห์ UPGMA cluster ของ polymorphic band จำนวน 48 band (ตารางที่ 21)จากการใช้ไพรเมอร์ทั้ง 4 ชนิด ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้ง 58 ไอโซเลท ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถจัดกลุ่มเชื้อรา ได้จำนวน 6 กลุ่ม โดยพบว่า

กลุ่มที่ 1 มีจำนวน 21ไอโซเลท ได้แก่ CM001-2, CM011-1, CM013-2, CM029-1, CR011-1, KCB165, KCB170, KCB173, KCB182, KK037, KK049, KK055, KK063, KK075, NKP013, NKP018, NRS030, PCB002, PCB048, PKK077 และ SKT046

กลุ่มที่ 2 มีจำนวน 31 ไอโซเลท ได้แก่ NKP089, NKP091, NKP092, NKS140, NKS141, NKS144, PCB006, PCB026, PCB034, PKK067, PKK068, PKK079, PKK083, PSL076, PSL122, PSL113, PSL115, PSL131, SKT011, SKT037, SKT048, SKT059, SKT060, SSK049, SSK050, UBR082, UBR092, UDT096, UDT097, UDT098 และ UDT103

กลุ่มที่ 3 มีจำนวน 1 ไอโซเลท ได้แก่ SSK020

กลุ่มที่ 4 มีจำนวน 1 ไอโซเลท ได้แก่ SSK018

กลุ่มที่ 5 มีจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ NKS147, NRS014-1 และ NRS022

กลุ่มที่ 6 มีจำนวน 1 ไอโซเลท ได้แก่ CM039

จากการแบ่งกลุ่มโดยการวิเคราะห์จาก phylogenetic tree พบว่า เชื้อราที่อยู่ในกลุ่มที่ 1 นั้นเก็บมาจากพื้นที่จังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ เพชรบูรณ์ ขอนแก่น นครราชสีมา สุโขทัย กาญจนบุรี นครปฐม และประจวบคีรีขันธ์ และในกลุ่มที่ 1 นี้พบว่าเชื้อราที่เก็บมาจากจังหวัด ขอนแก่น และ กาญจนบุรี กลับไม่มีความผันแปรทางพันธุกรรม เนื่องจากทุกไอโซเลทที่เก็บมาอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ส่วนเชื้อราที่อยู่ในกลุ่มที่ 2 นั้นเป็นไอโซเลทที่เก็บมาจากพื้นที่จังหวัด ศรีสะเกษ เพชรบูรณ์พิษณุโลก นครสวรรค์ อุดรธานี อุบลราชธานี สุโขทัย นครปฐม และประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งก็พบว่าเชื้อราที่เก็บมาจากจังหวัด พิษณุโลก อุดรธานี และ อุบลราชธานี ไม่มีความผันแปรทางพันธุกรรมเช่นกัน ส่วนเชื้อราที่อยู่ในกลุ่มที่ 3 และ 4 นั้นเก็บมาจากพื้นที่จังหวัด ศรีสะเกษ ในขณะที่เชื้อราที่อยู่ในกลุ่มที่ 5 นั้นเก็บมาจากพื้นที่จังหวัด นครราชสีมา และ นครสวรรค์ และเชื้อราที่อยู่ในกลุ่มที่ 6 นั้นเก็บมาจากพื้นที่จังหวัด เชียงใหม่ โดยพบว่ากลุ่มที่ 3, 4, 5 และ 6 นั้นมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความแตกต่างทางลักษณะทางพันธุกรรมไปจาก เชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เก็บมาจากพื้นที่อื่น และแตกต่างไปจาก ไอโซเลทที่เก็บจากพื้นที่เดียวกันค่อนข้างมาก (ภาพที่ 20)

หากเปรียบเทียบความสัมพันธ์ในลักษณะพันธุกรรม พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลทที่เก็บจากพื้นที่หนึ่ง อาจมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับไอโซเลทที่เก็บมาจากอีกพื้นที่หนึ่งได้ จากการวิเคราะห์ dendrogram (ภาพที่ 20) พบว่าเชื้อราไอโซเลท CM001-2 และ CM013-2 ซึ่งเก็บมาจากเชียงใหม่ มีความสัมพันธ์กับ KK063 ที่เก็บจาก ขอนแก่น มากกว่าไอโซเลท CM029-1 ที่เก็บจากพื้นที่เดียวกัน หรือไอโซเลท CR011-1 ที่เก็บมาจาก เชียงราย มีความสัมพันธ์กับเชื้อราไอโซเลท KCB182 ที่เก็บมาจาก กาญจนบุรี หรือเชื้อราไอโซเลท NKP092 ที่เก็บมาจาก นครปฐม มีความสัมพันธ์กับไอโซเลท NKS140 ที่เก็บจาก นครสวรรค์ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราไอโซเลท PCB034, PKK079 และ SKT011 ที่แยกจาก เพชรบูรณ์ ประจวบคีรีขันธ์ และสุโขทัย ตามลำดับ มีความสัมพันธ์มากกว่าไอโซเลทที่เก็บจากพื้นที่เดียวกัน นอกเหนือจากนี้ หากเปรียบเทียบไอโซเลทที่เก็บได้จากเขตจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า SSK049, SSK050, UDT103, UDT097, UDT096,UDT098, UBR082 และ UBR092 ที่เก็บจากจังหวัดศรีสะเกษ อุบลราชธานี และอุดรธานี มีความใกล้ชิดหรือมีความสัมพันธ์ค่อนข้างสูง นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราไอโซเลท NRS014-1 จาก นครราชสีมา มีความสัมพันธ์กับไอโซเลท NKS147 ที่เก็บมาจากนครสวรรค์

ดังนั้นจึงเลือกตัวแทนกลุ่มเพื่อส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (บริษัท First Base Laboratories ประเทศมาเลเซีย) จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ CM039, NKP018, NKS140, SKT 046 และ SSK 020 พบว่ามีขนาดดีเอ็นเอ 325, 441, 439, 449 และ 442 คู่เบส ตามลำดับ (ภาพที่ 21-25) จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ได้มาเปรียบเทียบความเหมือนและความผันแปร (ภาพที่ 26) จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวแทนกลุ่ม จาก 5 ไอโซเลท พบว่า NKP018, NKS140, SKT046 และ SSK020 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนใหญ่ที่ใกล้เคียงกัน และมีความแตกต่างในบางส่วน ในขณะที่ไอโซเลท CM039 มีความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ไปจาก 4 ไอโซเลท ดังกล่าวข้างต้นค่อนข้างมากแสดงให้เห็นว่าเทคนิค ISSR-PCR ใช้ในการศึกษาด้านความผันแปรของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ค่อนข้างดี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 16 การแบ่งกลุ่มโดยเทคนิค ISSR- PCR ใช้ไพรเมอร์ $(CAG)_5$

กลุ่ม	ไอโซเลท	แถบดีเอ็นเอ (bp)
1	CM001-2 CM011-1 CM013-2 CM029-1 CR011-1	400 450 550 650 950
	KCB165 KCB170 KCB173 KCB182 KK037	1000 1300 1500
	KK049 KK055 KK063 KK075 NKP013	
	NKP018 NKS140 NRS030 PCB048 PKK077	
	PSL131 SKT046 SKT060 SSK018 SSK020	
	SSK049 UBR082 UDT097 UDT103	
2	NKP089 NKP091 NKP092 NKS141 NKS144	400 450 550 800 850
	NKS147 NRS014-1 NRS022 PCB002 PCB006	950 1000 1100 1300
	PCB026 PCB034 PKK067 PKK068 PKK079	1500
	PKK083 PSL076 PSL113 PSL115 PSL122	
	SKT011 SKT037 SKT048 SKT059 SSK050	
	UBR092 UDT096 UDT098	
3	CM039	500 550 650 800 1000
		1300 1400 1500

ตารางที่ 17 การแบ่งกลุ่มโดยเทคนิค ISSR- PCR ใช้ไพรเมอร์ $(GTG)_5$

กลุ่ม	ไอโซเลท	แถบดีเอ็นเอ (bp)
1	CM001-2 CM011-1 CM013-2 CM029-1 CM039	400 450 500 550 600
	CR011-1 KCB165 KCB170 KCB173 KCB182	650 700 750 800 850
	KK037 KK049 KK063 KK075 NKP013	900 1000 1100 1300
	NKP018 NRS030 PCB002 PCB006 PCB026	
	PCB034 PCB048 PKK077 PKK079 PKK083	
	PSL076 PSL113 PSL115 PSL122 PSL131	
	SKT011 SKT037 SKT046 SKT048 SKT059	
	SKT060 SSK018 SSK049 SSK050 UBR082	
	UBR092 UDT096 UDT097 UDT098 UDT103	
2	KK055 NKP089 NKP091 NKP092 NKS140	450 500 550 650 700
	NKS141 NKS144 NKS147 NRS014-1 NRS022	750 800 950 1100 1300
	PKK067 PKK068 SSK020	

ตารางที่ 18 การแบ่งกลุ่มโดยเทคนิค ISSR- PCR ใช้ไพรเมอร์ $(GACA)_4$

กลุ่ม	ไอโซเลท	แถบดีเอ็นเอ (bp)
1	CM001-2 CM011-1 CM013-2 CM029-1 CR011-1	500 550 600 650 750
	KCB165 KCB170 KCB173 KCB182 KK049	850 950 1000 1100 1300
	KK055 KK063 KK075 NKP089 NKP091	
	NKP092 NKS141 NRS030 PCB002 PCB006	
	PCB026 PCB034 PCB048 PKK067 PKK068	
	PKK077 PKK079 PKK083 PSL076 PSL113	
	PSL115 PSL122 PSL131 SKT011 SKT037	
	SKT046 SKT048 SKT059 SKT060 SSK018	
	SSK020 SSK049 SSK050 UBR082 UBR092	
	UDT096 UDT097 UDT098 UDT103	
2	CM039 NKP013 NKP018 NKS140 NKS144	500 550 600 650 750
	NKS147 NRS014-1 NRS022	950 1000 1100 1300
3	KK037	550 650 950 1100 1300

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 19 การแบ่งกลุ่มโดยเทคนิค ISSR- PCR ใช้ไพรเมอร์ $(TGTC)_4$

กลุ่ม	ไอโซเลท	แถบดีเอ็นเอ (bp)
1	CM001-2 CM011-1 CM013-2 CM029-1 CM039 CR011-1 KCB165 KCB170 KCB173 KCB182 KK037 KK049 KK055 KK063 KK075 NKP013 NKP018 NKP089 NKP091 NKP092 NKS141 NKS144 NKS147 NRS014-1 NRS022 PCB002 PCB006 PCB026 PCB034 PCB04 PKK067 PKK068 PKK077 PKK079 PKK083 PSL076 PSL113 PSL115 PSL122 PSL131 SKT011 SKT037 SKT046 SKT048 SKT059 SKT060 SSK020 SSK049 SSK050 UBR082 UBR092 UDT096 UDT097 UDT098 UDT103	500 650 700 750 900 1100 1200 1400 1500 1800
2	NKS140 NRS030 SSK018	500 650 700 750 900 1100 1200 1400

ตารางที่ 20 การแบ่งกลุ่มโดยเทคนิค ISSR- PCR ใช้ไพรเมอร์ $(CAG)_5$ $(GTG)_5$ $(GACA)_4$ และ $(TGTC)_4$

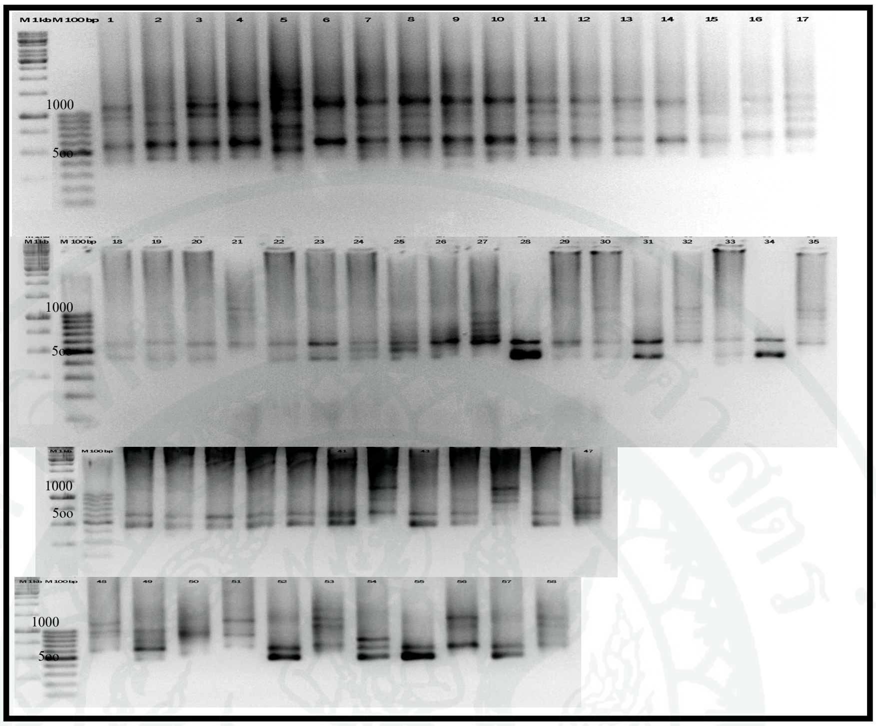
กลุ่ม	ไอโซเลท	แถบดีเอ็นเอ (bp)
1	CM001-2 CM011-1 CM013-2 CM029-1 CR011-1 KCB165 KCB170 KCB173 KCB182 KK037 KK049 KK055 KK063 KK075 NKP013 NKP018 NRS030 PCB002 PCB048 PKK077 SKT046	400 450 500 550 600 650 700 750 800 850 900 950 1000 1100 1200 1300 1500 1800
2	NKP089 NKP091 NKP092 NKS140 NKS141 NKS144 PCB006 PCB026 PCB034 PKK067 PKK068 PKK079 PKK083 PSL076 PSL122 PSL113 PSL115 PSL131 SKT011 SKT037 SKT048 SKT059 SKT060 SSK049 SSK050 UBR082 UBR092 UDT096 UDT097 UDT098 UDT103	400 450 550 600 650 750 800 850 900 950 1000 1100 1300 1500
3	SSK020	550 650 750 950 1000
4	SSK018	550 600 700 750 800 900 950 1000
5	NKS147 NRS014-1 NRS022	400 450 500 550 650 700 750 800 900 950 1000 1100 1200 1300 1400 1500
6	CM 039	500 550 600 650 750 800 900 1000 1300 1400 1500

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 21 ขนาดของแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง (polymorphic band) ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค ISSR ด้วยไพรเมอร์ $(CAG)_5$ $(GTG)_5$ $(GACA)_4$ และ $(TGTC)_4$

ไพรเมอร์	จำนวนแถบดีเอ็นเอ	แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน (bp)																		
$(CAG)_5$	14	400	450	500	550		650			800	850		950	1000	1100	1200	1300	1400	1500	
$(GTG)_5$	14	400	450	500	550	600	650	700	750	800	850	900		1000	1100		1300			
$(GACA)_4$	10			500	550	600	650		750		850		950	1000	1100		1300			
$(TGTC)_4$	10			500			650	700	750			900			1100	1200		1400	1500	1800

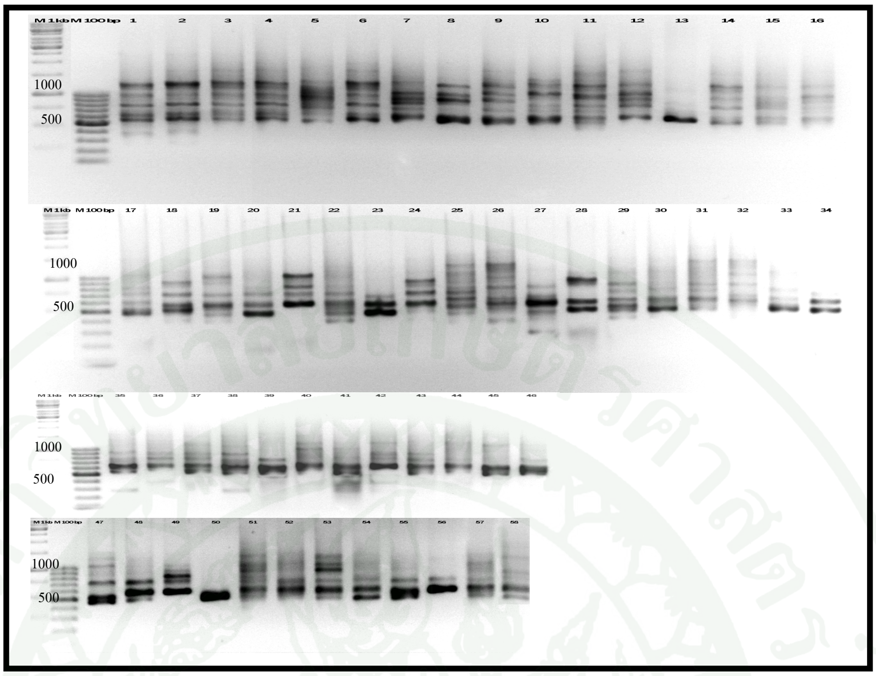
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 16 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ISSR-PCR ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยใช้ไพรเมอร์ $(CAG)_5$ ladder: 1 kb, 100 bp

Lane1= CM001-2	Lane2 = CM011-1	Lane3 = CM013-2	Lane4 = CM029-1
Lane5 = CM039	Lane6 = CR011-1	Lane7 = KCB165	Lane8 = KCB170
Lane9 = KCB173	Lane10 = KCB182	Lane11 = KK037	Lane12 = KK049
Lane13 = KK055	Lane14 = KK063	Lane15 = KK075	Lane16 = NKP013
Lane17 = NKP018	Lane18 = NKP089	Lane19 = NKP091	Lane20 = NKP092
Lane21 = NKS140	Lane22 = NKS141	Lane23 = NKS144	Lane24 = NKS147
Lane25 = NRS014-1	Lane26 = NRS022	Lane27 = NRS030	Lane28 = PCB002
Lane29 = PCB006	Lane30 = PCB026	Lane31 = PCB034	Lane32= PCB048
Lane33 = PKK067	Lane34 = PKK068	Lane35= PKK077	Lane36 = PKK079
Lane37 = PKK083	Lane38 = PSL076	Lane39 = PSL113	Lane40 = PSL115
Lane41 = PSL122	Lane42 = PSL131	Lane43 = SKT011	Lane44 = SKT037
Lane45 = SKT046	Lane46 = SKT048	Lane47 = SKT059	Lane48 = SKT060
Lane49 = SSK018	Lane50 = SSK020	Lane51 = SSK049	Lane52 = SSK050
Lane53 = UBR082	Lane54 = UBR092	Lane55 = UDT096	Lane56 = UDT097
Lane57 = UDT098	Lane58 = UDT103		

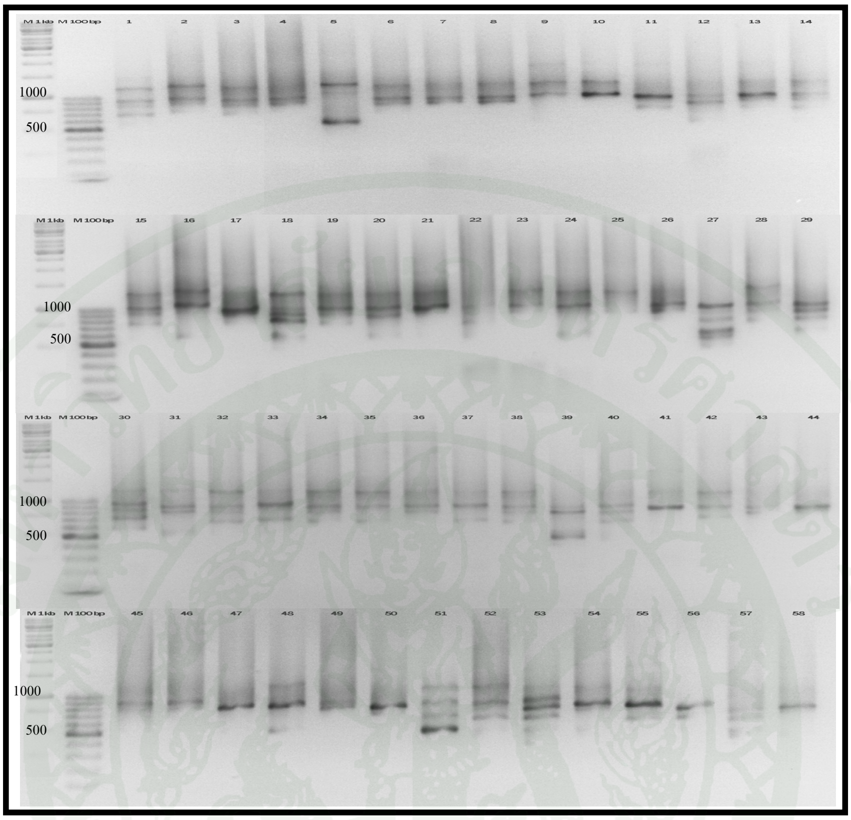
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 17 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ISSR-PCR ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยใช้ไพรเมอร์ $(GTG)_5$ ladder: 1 kb, 100 bp

Lane1= CM001-2	Lane2 = CM011-1	Lane3 = CM013-2	Lane4 = CM029-1
Lane5 = CM039	Lane6 = CR011-1	Lane7 = KCB165	Lane8 = KCB170
Lane9 = KCB173	Lane10 = KCB182	Lane11 = KK037	Lane12 = KK049
Lane13 = KK055	Lane14 = KK063	Lane15 = KK075	Lane16 = NKP013
Lane17 = NKP018	Lane18 = NKP089	Lane19 = NKP091	Lane20 = NKP092
Lane21 = NKS140	Lane22 = NKS141	Lane23 = NKS144	Lane24 = NKS147
Lane25 = NRS014-1	Lane26 = NRS022	Lane27 = NRS030	Lane28 = PCB002
Lane29 = PCB006	Lane30 = PCB026	Lane31 = PCB034	Lane32= PCB048
Lane33 = PKK067	Lane34 = PKK068	Lane35= PKK077	Lane36 = PKK079
Lane37 = PKK083	Lane38 = PSL076	Lane39 = PSL113	Lane40 = PSL115
Lane41 = PSL122	Lane42 = PSL131	Lane43 = SKT011	Lane44 = SKT037
Lane45 = SKT046	Lane46 = SKT048	Lane47 = SKT059	Lane48 = SKT060
Lane49 = SSK018	Lane50 = SSK020	Lane51 = SSK049	Lane52 = SSK050
Lane53 = UBR082	Lane54 = UBR092	Lane55 = UDT096	Lane56 = UDT097
Lane57 = UDT098	Lane58 = UDT103		

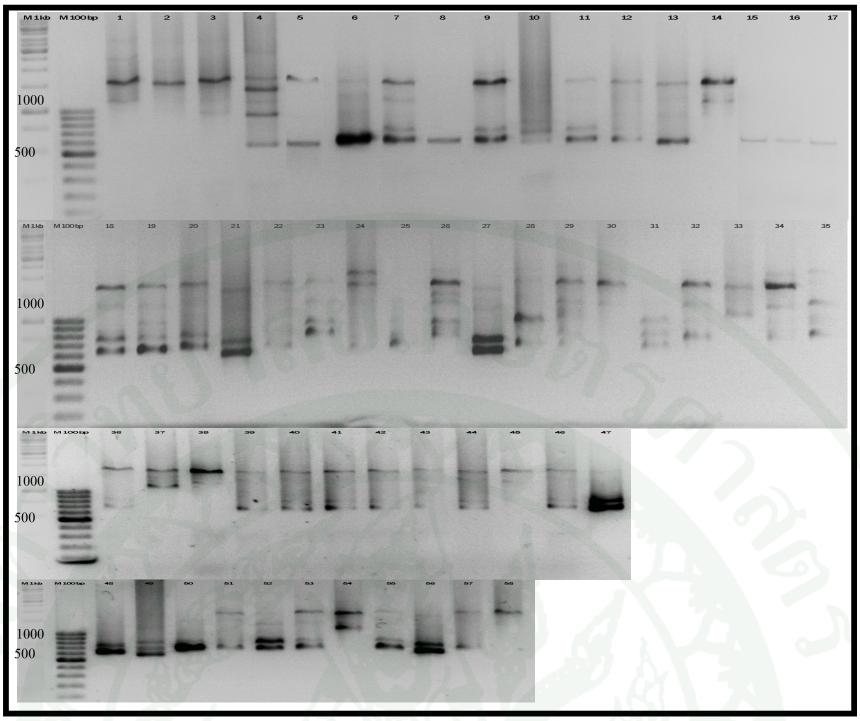
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 18 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ISSR-PCR ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยใช้ไพรเมอร์ $(GACA)_4$ ladder: 1 kb, 100 bp

Lane1= CM001-2	Lane2 = CM011-1	Lane3 = CM013-2	Lane4 = CM029-1
Lane5 = CM039	Lane6 = CR011-1	Lane7 = KCB165	Lane8 = KCB170
Lane9 = KCB173	Lane10 = KCB182	Lane11 = KK037	Lane12 = KK049
Lane13 = KK055	Lane14 = KK063	Lane15 = KK075	Lane16 = NKP013
Lane17 = NKP018	Lane18 = NKP089	Lane19 = NKP091	Lane20 = NKP092
Lane21 = NKS140	Lane22 = NKS141	Lane23 = NKS144	Lane24 = NKS147
Lane25 = NRS014-1	Lane26 = NRS022	Lane27 = NRS030	Lane28 = PCB002
Lane29 = PCB006	Lane30 = PCB026	Lane31 = PCB034	Lane32= PCB048
Lane33 = PKK067	Lane34 = PKK068	Lane35= PKK077	Lane36 = PKK079
Lane37 = PKK083	Lane38 = PSL076	Lane39 = PSL113	Lane40 = PSL115
Lane41 = PSL122	Lane42 = PSL131	Lane43 = SKT011	Lane44 = SKT037
Lane45 = SKT046	Lane46 = SKT048	Lane47 = SKT059	Lane48 = SKT060
Lane49 = SSK018	Lane50 = SSK020	Lane51 = SSK049	Lane52 = SSK050
Lane53 = UBR082	Lane54 = UBR092	Lane55 = UDT096	Lane56 = UDT097
Lane57 = UDT098	Lane58 = UDT103		

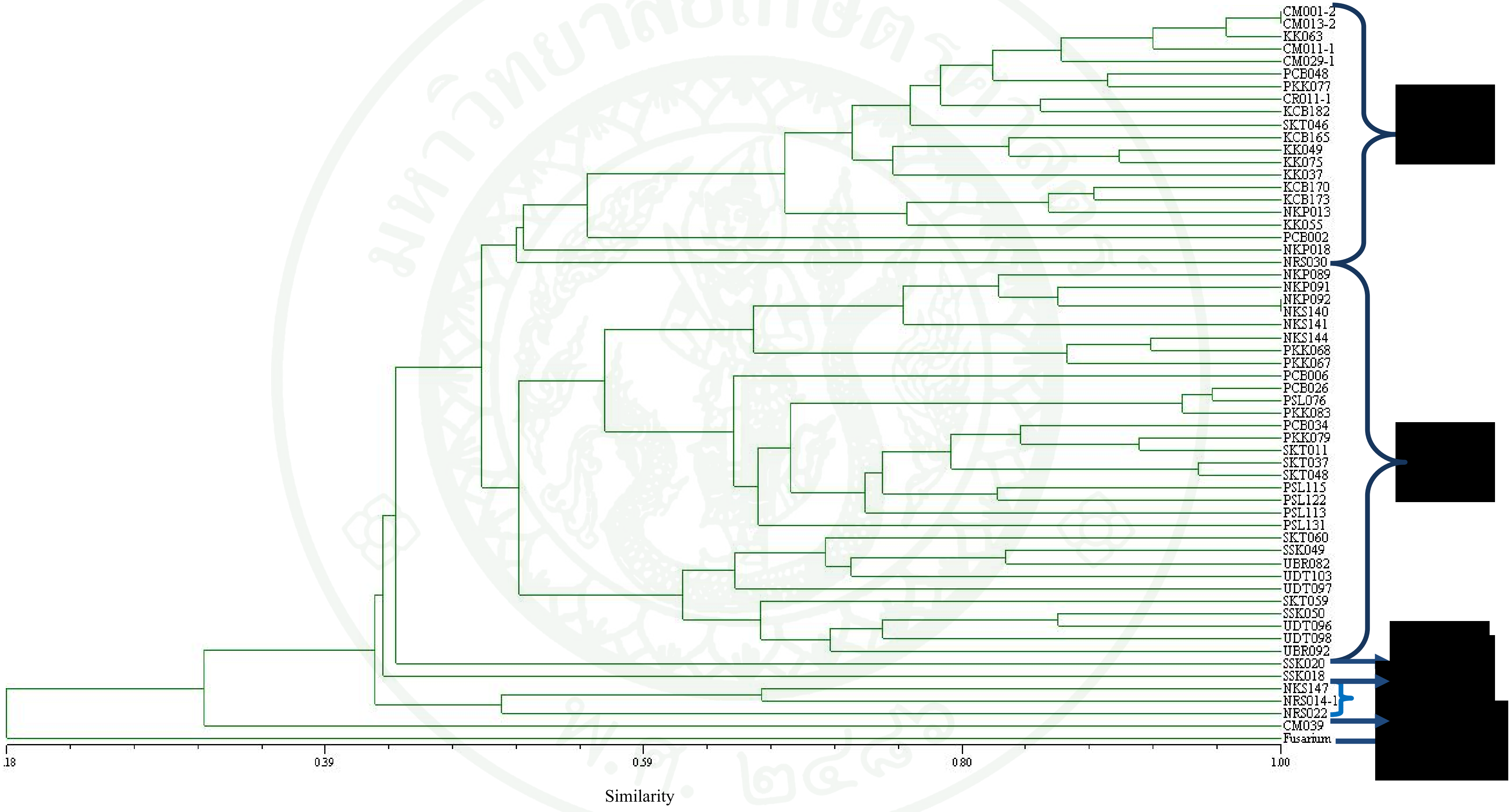
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 19 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ISSR-PCR ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยใช้ไพรเมอร์ $(TGTC)_4$ ladder: 1 kb, 100 bp

Lane1= CM001-2	Lane2 = CM011-1	Lane3 = CM013-2	Lane4 = CM029-1
Lane5 = CM039	Lane6 = CR011-1	Lane7 = KCB165	Lane8 = KCB170
Lane9 = KCB173	Lane10 = KCB182	Lane11 = KK037	Lane12 = KK049
Lane13 = KK055	Lane14 = KK063	Lane15 = KK075	Lane16 = NKP013
Lane17 = NKP018	Lane18 = NKP089	Lane19 = NKP091	Lane20 = NKP092
Lane21 = NKS140	Lane22 = NKS141	Lane23 = NKS144	Lane24 = NKS147
Lane25 = NRS014-1	Lane26 = NRS022	Lane27 = NRS030	Lane28 = PCB002
Lane29 = PCB006	Lane30 = PCB026	Lane31 = PCB034	Lane32= PCB048
Lane33 = PKK067	Lane34 = PKK068	Lane35= PKK077	Lane36 = PKK079
Lane37 = PKK083	Lane38 = PSL076	Lane39 = PSL113	Lane40 = PSL115
Lane41 = PSL122	Lane42 = PSL131	Lane43 = SKT011	Lane44 = SKT037
Lane45 = SKT046	Lane46 = SKT048	Lane47 = SKT059	Lane48 = SKT060
Lane49 = SSK018	Lane50 = SSK020	Lane51 = SSK049	Lane52 = SSK050
Lane53 = UBR082	Lane54 = UBR092	Lane55 = UDT096	Lane56 = UDT097
Lane57 = UDT098	Lane58 = UDT103		

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 20 แสดงผลการจัดทำ UPGMA cluster จากการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค ISSR-PCR ของเชื้อ *C.gloeosporioides* โดยใช้โปรแกรม NTSYS-pc version 2.20e โดยใช้วิธี UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Averages) ค่า cophenetic correlation (r) = 0.82

LOCUS CM039 325 bp
FEATURES Location/Qualifiers
ORIGIN
1 TTGTGACACG AGACATTTTG CACATAGCGG AAAGCCTCCG CCTCGGCGGG TATCTGGGCA
61 TTTTATAAAC GAGGAGCCTC CCGCCCCGGC GGGTAATTTG CAAATTATTA AAGAGAAATC
121 TTATCTTGTG TGGTATTAGA GATAAAAAAA GGGAGAAGCT GACTACGGAG CGGAGCATCA
181 TCCGCTTATT GATATGCCCC AGATACCCCG CCCGGAGCGG AGGCCAAATT TCGCTTATTG
241 ATATGCCCCA GATACCCCCG GCGGAAAGGG AAACAAAACT CTTTTTTTTA TATGTCCCCA
301 ATCCCCGCGG CAAGCTGTAA ATTTA

ภาพที่ 21 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ไอโซเลท CM 039 ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int และ universal primer คือ ITS4

LOCUS NKP018 441 bp
FEATURES Location/Qualifiers
ORIGIN
1 GAAATTCGGC CTGCCAGCGG GAGGCCAGGT CACCTTTGGA AATTGGGGGT TTTACGGCAA
61 GAGTCCCTCC GGATCCCAGT GCGAGACGTA AAGTTACTAC GCAAAGGAGG CTCCGGGAGG
121 GTCCGCCACT ACCTTTGAGG GCCTACATCA GCTGTAGGGC CCCAACACCA AGCAGAGCTT
181 GAGGGTTGAA ATGACGCTCG AACAGGCATG CCCGCCAGAA TGCTGGCGGG CGCAATGTGC
241 GTTCAAAGAT TCGATGATTC ACTGAATTCT GCAATTCACA TTACTTATCG CATTTCGCTG
301 CGTTCTTCAT CGATGCCAGA ACCAAGAGAT CCGTTGTTAA AAGTTTTGAT TATTTGCTTG
361 TACCACTCAG AAGAAACGTC GTTAAATCAG AGTTTGGTTA TCCTCCGGCG GGCGCCGACC
421 CGCCCGGAGG CGGGAGGCCA A

ภาพที่ 22 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ไอโซเลท NKP 018 ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int และ universal primer คือ ITS4

LOCUS NKS140 439 bp
FEATURES Location/Qualifiers
ORIGIN
1 GAATCGGCGG CCAGCGGGAG GCCAGGTCAC CTTTGGAAAT TGGGGGGTTT TACGGCAAGA
61 GTCCCTCCGG ATCCCAGTGC GAGACGTAAA GTTACTACGC AAAGGAGGCT CCGGGAGGGT
121 CCGCCACTAC CTTTGAGGGC CTACATCAGC TGTAGGGCCC CAACACCAAG CAGAGCTTGA
181 GGGTTGAAAT GACGCTCGAA CAGGCATGCC CGCCAGAATG CTGGCGGGCG CAATGTGCGT
241 TCAAAGATTC GATGATTCAC TGAATTCTGC AATTCACATT ACTTATCGCA TTTCGCTGCG
301 TTCTTCATCG ATGCCAGAAC CAAGAGATCC GTTGTTAAAA GTTTTGATTA TTTGCTTGTA
361 CCACTCAGAA GAAACGTCGT TAAATCAGAG TTTGGTTATC CTCCGGCGGG CGCCGACCCG
421 CCCGGAGGCG GGAGGCCAA

ภาพที่ 23 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ไอโซเลท NKS 140 ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int และ universal primer คือ ITS4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

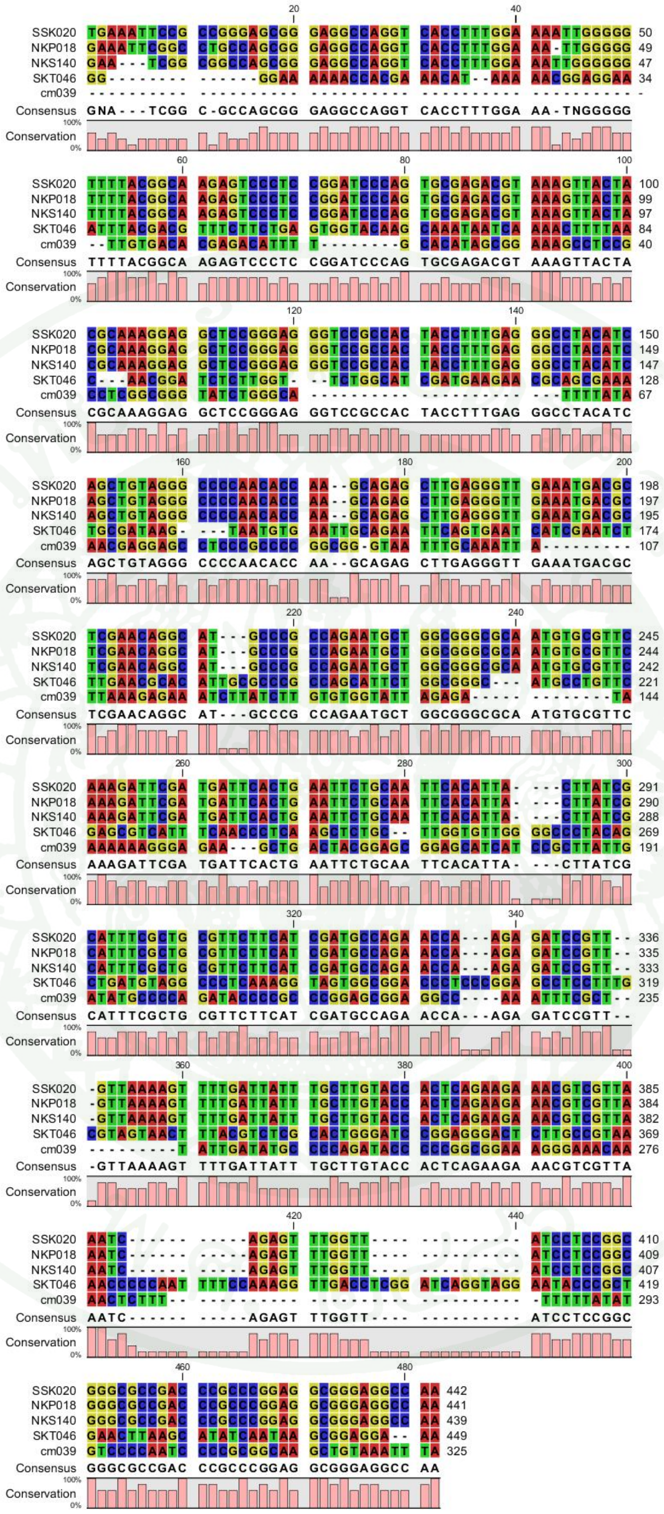
```
LOCUS       SKT046                449 bp
FEATURES          Location/Qualifiers
ORIGIN
        1 GGGGAAAAAA CCACGAAACA TAAAAACGGA GGAAATTTAC GACGTTTCTT CTGAGTGGTA
       61 CAAGCAAATA ATCAAAACTT TTAACAACGG ATCTCTTGGT TCTGGCATCG ATGAAGAACG
      121 CAGCGAAATG CGATAAGTAA TGTGAATTGC AGAATTCAGT GAATCATCGA ATCTTTGAAC
      181 GCACATTGCG CCCGCCAGCA TTCTGGCGGG CATGCCTGTT CGAGCGTCAT TTCAACCCTC
      241 AAGCTCTGCT TGGTGTTGGG GCCCTACAGC TGATGTAGGC CCTCAAAGGT AGTGGCGGAC
      301 CCTCCCGGAG CCTCCTTTGC GTAGTAACTT TACGTCTCGC ACTGGGATCC GGAGGGACTC
      361 TTGCCGTAAA ACCCCCAATT TTCCAAAGGT TGACCTCGGA TCAGGTAGGA ATACCCGCTG
      421 AACTTAAGCA TATCAATAAG CGGAGGAAA
```

ภาพที่ 24 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ไอโซเลท SKT 046 ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int และ universal primer คือ ITS4

```
LOCUS       SSK020                442 bp
FEATURES          Location/Qualifiers
ORIGIN
        1 TGAAATTCCG CCGGGAGCGG GAGGCCAGGT CACCTTTGGA AAATTGGGGG TTTTACGGCA
       61 AGAGTCCCTC CGGATCCCAG TGCGAGACGT AAAGTTACTA CGCAAAGGAG GCTCCGGGAG
      121 GGTCCGCCAC TACCTTTGAG GGCCTACATC AGCTGTAGGG CCCCAACACC AAGCAGAGCT
      181 TGAGGGTTGA AATGACGCTC GAACAGGCAT GCCCGCCAGA ATGCTGGCGG GCGCAATGTG
      241 CGTTCAAAGA TTCGATGATT CACTGAATTC TGCAATTCAC ATTACTTATC GCATTTCGCT
      301 GCGTTCTTCA TCGATGCCAG AACCAAGAGA TCCGTTGTTA AAAGTTTTGA TTATTTGCTT
      361 GTACCACTCA GAAGAAACGT CGTTAAATCA GAGTTTGGTT ATCCTCCGGC GGGCGCCGAC
      421 CCGCCCGGAG GCGGGAGGCC AA
```

ภาพที่ 25 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ไอโซเลท SSK 018 ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int และ universal primer คือ ITS4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 26 เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของไอโซเลท CM039, NKP018, NKS140, SKT046 และ SSK020

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การศึกษาความผันแปรของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

3.1 ความผันแปรในอัตราการเจริญเติบโตของ เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร potato carrot agar (PCA) และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

ศึกษาความผันแปรของเชื้อราหลังการเก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ บนอาหาร PDA ที่ระยะการเก็บรักษา 4, 8 และ 12 เดือน พบว่าการเก็บรักษาบนอาหาร PCA เมื่อระยะ 4 เดือน เชื้อรา *C. gloeosporioides* มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยในวันที่ 3 ประมาณ 3.64 (NRS022) - 5.67 (SSK018) มิลลิเมตร ส่วนที่ระยะ 8 และ 12 เดือน มีอัตราการเจริญเติบโต ประมาณ 3.84 (CM011-1) - 5.66 (SSK018) และ 3.71 (NRS022) - 5.90 (SSK050) มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนการเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อระยะ 4 เดือน ทดสอบบนอาหาร PDA พบว่า เชื้อรา *C. gloeosporioides* มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยในวันที่ 3 ประมาณ 3.89 (CM029-1) - 5.77 (KCB165) มิลลิเมตร ส่วนที่ระยะ 8 และ 12 เดือน มีอัตราการเจริญเติบโต ประมาณ 2.25 (UDT103) - 5.73 (PKK077) และ 2.26 (KK055) - 5.17 (SSK018) มิลลิเมตร ตามลำดับ การเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ หลายไอโซเลทมีอัตราการเจริญลดต่ำลง เมื่อทดสอบบนอาหาร PDA หลังเก็บรักษานาน 12 เดือน พบว่าไอโซเลท NRS030, SKT060 และ KK055 มีอัตราการเจริญเติบโต 2.71, 2.47 และ 2.26 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วน ไอโซเลทที่มีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่า 5 มิลลิเมตรมีจำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ SSK018, KCB165, PKKP68 และ UBR082 โดยมีอัตรา 5.17, 5.12, 5.05 และ 5.02 มิลลิเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 22) ในขณะที่การเก็บรักษาบนอาหาร PCA นั้นเมื่อตรวจสอบอัตราการเจริญบนอาหาร PDA หลังการเก็บรักษานาน 12 เดือน นั้น พบว่ามีจำนวน 38 ไอโซเลท ที่มีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่า 5 มิลลิเมตร ส่วนอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่า 4 มิลลิเมตรมีจำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ CM029-1 และ NRS022 ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโต 3.74 และ 3.71 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 22)

หากเปรียบเทียบไอโซเลท NRS030, SKT060 และ KK055 ที่เก็บบนอาหาร PCA แล้ว พบว่าอัตราการเจริญเติบโตบนอาหาร PDA ในวันที่ 3 มีค่า 5.27, 4.89 และ 5.09 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 22และภาพที่ 27)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 22 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เมื่อเก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

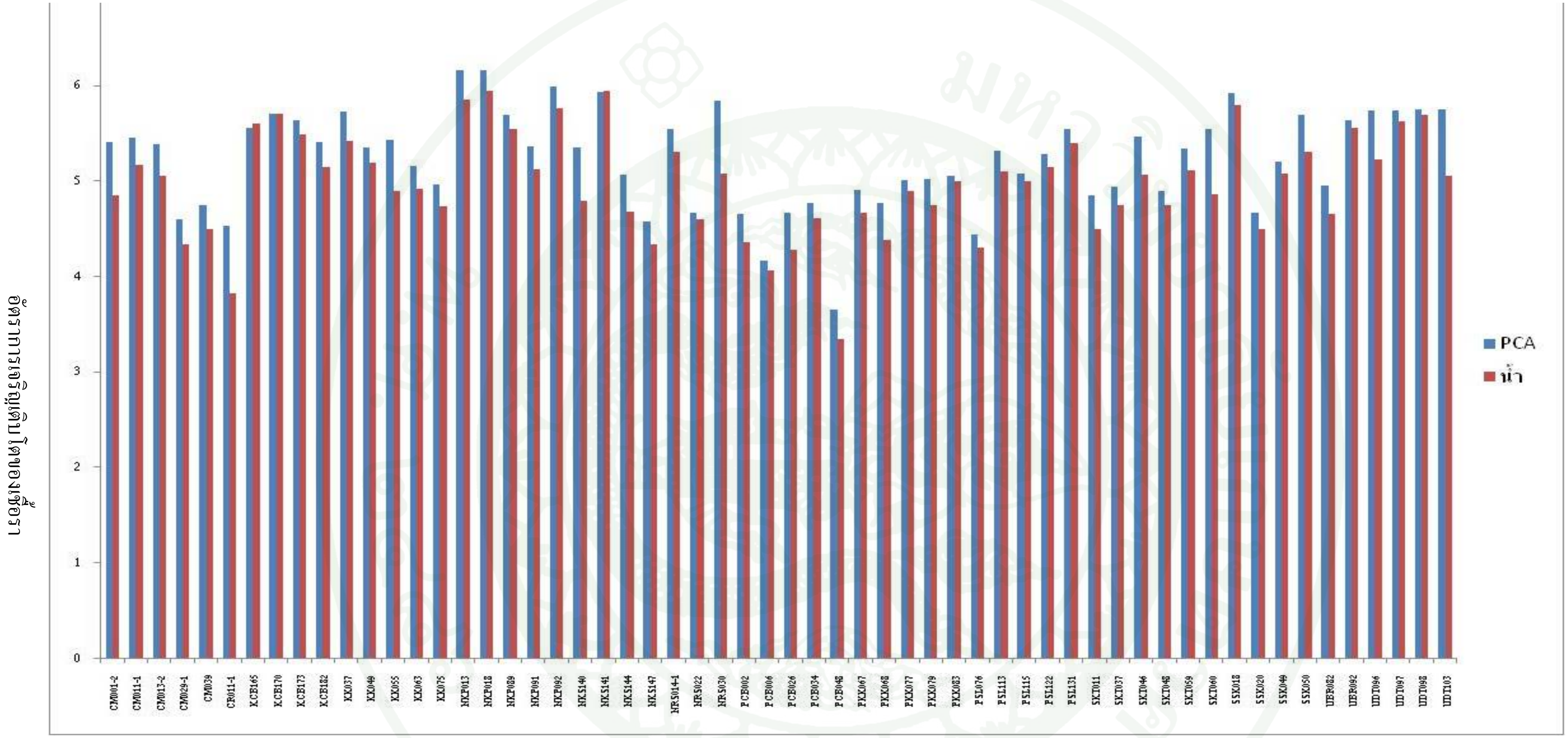
ไอโซเลท	อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราเมื่อเก็บรักษาเชื้อบนอาหาร PCA (มม.)			อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราเมื่อเก็บรักษาเชื้อในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (มม.)		
	อายุ 4 เดือน	อายุ 8 เดือน	อายุ 12 เดือน	อายุ 4 เดือน	อายุ 8 เดือน	อายุ 12 เดือน
CM 001-2	5.03	4.53	4.93	4.91	4.32	3.04
CM 011-1	4.77	3.84	5.02	5.1	4.08	3.33
CM 013-2	5.15	4.66	5.05	4.71	4.96	3.92
CM 029-1	4.05	4.27	3.74	3.89	3.69	3.46
CM 039	4.51	4.11	4.81	4.47	4.15	4.05
CR 011-1	5.34	5.12	5.19	4.25	5.16	3.37
KCB 165	5.01	5.02	5.48	5.77	4.82	5.12
KCB 170	4.78	5.11	5.72	5.49	5.53	4.65
KCB 173	5.39	5.08	5.56	5.32	5.33	4.77
KCB 182	5.42	4.91	4.86	5.06	4.57	4.54
KK 037	5.45	5.15	5.40	5	5.13	4.63
KK 049	5.11	4.85	5.40	4.97	5.00	4.75
KK 055	4.81	4.95	5.09	5.05	5.36	2.26
KK 063	4.43	4.37	4.7	4.72	4.29	3.60
KK 075	5.26	4.23	4.66	4.77	4.91	3.58
NKP 013	5.27	4.96	5.42	5.29	4.76	4.37
NKP 018	5.49	5.30	5.46	5.84	5.50	4.03
NKP 089	5.46	4.72	5.40	5.24	4.85	4.91
NKP 091	4.97	4.86	4.90	4.86	4.76	4.16
NKP 092	4.77	5.01	5.25	5.18	4.79	4.14
NKS 140	5.03	5.17	5.24	4	5.23	4.01
NKS 141	4.79	4.87	5.06	5.6	5.06	4.46
NKS 144	4.77	4.77	4.75	4.83	4.08	3.84
NKS 147	3.91	4.03	4.71	4.15	4.09	3.45
NRS 014-1	4.89	4.76	5.24	4.9	5.32	3.74
NRS 022	3.64	3.89	3.71	4.19	4.20	3.36
NRS 030	5.16	4.93	5.27	5.14	4.49	2.71
PCB 002	4.56	5.00	5.25	4.79	4.81	4.03
PCB 006	4.55	4.67	5.08	4.89	5.10	4.71
PCB 026	4.89	5.15	5.44	5.39	5.56	4.61
PCB 034	5.27	4.93	5.46	5.33	5.44	4.23
PCB 048	4.55	4.40	4.56	4.22	3.89	4.18
PKK 067	5.08	4.79	5.23	5.02	5.26	3.85
PKK 068	4.31	4.36	5.23	4.79	4.28	5.05
PKK 077	4.26	4.84	5.20	5.01	5.73	3.35
PKK 079	5.19	4.87	5.03	5.41	4.24	4.37
PKK 083	5.03	4.49	5.34	4.86	5.08	4.99
PSL 076	4.18	4.41	4.05	4.39	4.05	3.91
PSL 113	5.13	4.86	5.02	4.65	5.36	4.16
PSL 115	4.68	4.75	4.84	5.17	4.92	4.77
PSL 122	4.81	5.03	5.01	5.34	5.20	3.83
PSL 131	5.42	5.26	5.48	5.52	5.66	4.43
SKT 011	4.21	4.27	4.25	4.28	4.33	5.08
SKT 037	4.30	4.39	4.83	4.36	4.75	3.65
SKT 046	4.49	5.45	5.48	5.61	4.39	3.84
SKT 048	4.70	4.76	4.76	5.27	5.31	4.54

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 22 (ต่อ)

ไอโซเลท	อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราเมื่อเก็บรักษาเชื้อบนอาหาร PCA (มม.)			อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราเมื่อเก็บรักษาเชื้อในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (มม.)		
	อายุ 4 เดือน	อายุ 8 เดือน	อายุ 12 เดือน	อายุ 4 เดือน	อายุ 8 เดือน	อายุ 12 เดือน
SKT 059	5.19	4.97	5.14	4.96	5.15	4.28
SKT 060	5.52	5.36	4.89	5.33	5.25	2.47
SSK018	5.67	5.66	5.35	5.43	5.60	5.17
SSK 020	4.38	4.37	4.44	4.4	4.38	3.65
SSK 049	5.24	5.21	5.64	5.59	5.42	4.64
SSK 050	5.54	5.45	5.90	5.62	5.49	4.26
UBR 082	4.96	5.34	5.26	5.55	5.43	5.02
UBR 092	4.86	5.48	5.66	5.62	5.46	4.62
UDT 096	5.06	5.16	4.89	5.42	3.98	3.68
UDT 097	5.06	5.45	5.47	5.51	5.51	4.49
UDT 098	5.32	4.99	5.53	5.26	5.42	4.81
UDT 103	4.55	4.93	4.71	5.06	2.25	4.16

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 27 เปรียบเทียบอัตราค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท ที่เก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อนาน 12 เดือน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

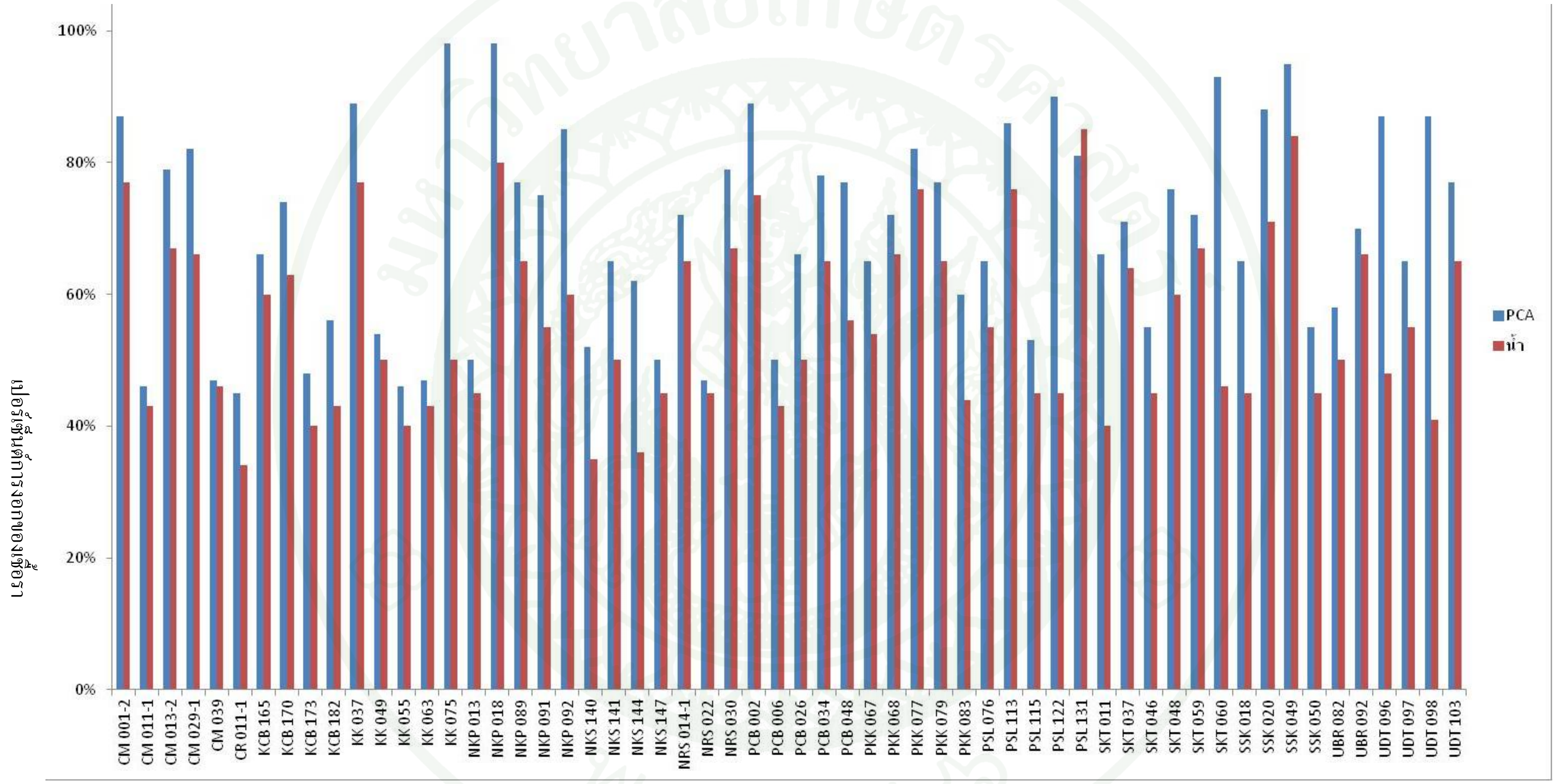
3.2 ความผันแปรของการงอกสปอร์ของ เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร potato carrot agar (PCA) และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

หลังจากการเก็บเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 12 เดือน พบว่าการเก็บรักษาบนอาหาร PCA มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ ประมาณ 45 (CR011-1) – 98 (KK075 และ NKP018) เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ ประมาณ 34 (CR011-1) - 85 (PSL131) เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อนั้น ทำให้การงอกของสปอร์ลดต่ำลง เมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บรักษาบนอาหาร PCA โดยพบว่าไอโซเลท CR011-1 มีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำที่สุด เท่ากับ 34 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลทที่มีความงอกมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ PSL131, SSK049 และ NKP018 ซึ่งมีความงอก 85, 84 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเชื้อราที่เก็บรักษาบนอาหาร PCA พบว่าไอโซเลทที่มีการงอกของสปอร์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ KK075, NKP018, SSK049, SKT060 และ PSL122 ซึ่งมีความงอก 98, 98, 95, 93 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนไอโซเลท CR011-1 มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำที่สุด เท่ากับ 45 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 23 และภาพที่ 28)

ตารางที่ 23 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลทหลังการเก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อนาน 12 เดือน

ไอโซเลท	การงอกของสปอร์(%)		ไอโซเลท	การงอกของสปอร์ (%)		ไอโซเลท	การงอกของสปอร์(%)	
	เก็บบน PCA	เก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ		เก็บบน PCA	เก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ		เก็บบน PCA	เก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
CM 001-2	87	77	NKS 140	52	35	PSL 122	90	45
CM 011-1	46	43	NKS 141	65	50	PSL 131	81	85
CM 013-2	79	67	NKS 144	62	36	SKT 011	66	40
CM 029-1	82	66	NKS 147	50	45	SKT 037	71	64
CM 039	47	46	NRS 014-1	72	65	SKT 046	55	45
CR 011-1	45	34	NRS 022	47	45	SKT 048	76	60
KCB 165	66	60	NRS 030	79	67	SKT 059	72	67
KCB 170	74	63	PCB 002	89	75	SKT 060	93	46
KCB 173	48	40	PCB 006	50	43	SSK 018	65	45
KCB 182	56	43	PCB 026	66	50	SSK 020	88	71
KK 037	89	77	PCB 034	78	65	SSK 049	95	84
KK 049	54	50	PCB 048	77	56	SSK 050	55	45
KK 055	46	40	PKK 067	65	54	UBR 082	58	50
KK 063	47	43	PKK 068	72	66	UBR 092	70	66
KK 075	98	50	PKK 077	82	76	UDT 096	87	48
NKP 013	50	45	PKK 079	77	65	UDT 097	65	55
NKP 018	98	80	PKK 083	60	44	UDT 098	87	41
NKP 089	77	65	PSL 076	65	55	UDT 103	77	65
NKP 091	75	55	PSL 113	86	76			
NKP 092	85	60	PSL 115	53	45			

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 28 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลทหลังการเก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อนาน 12 เดือน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

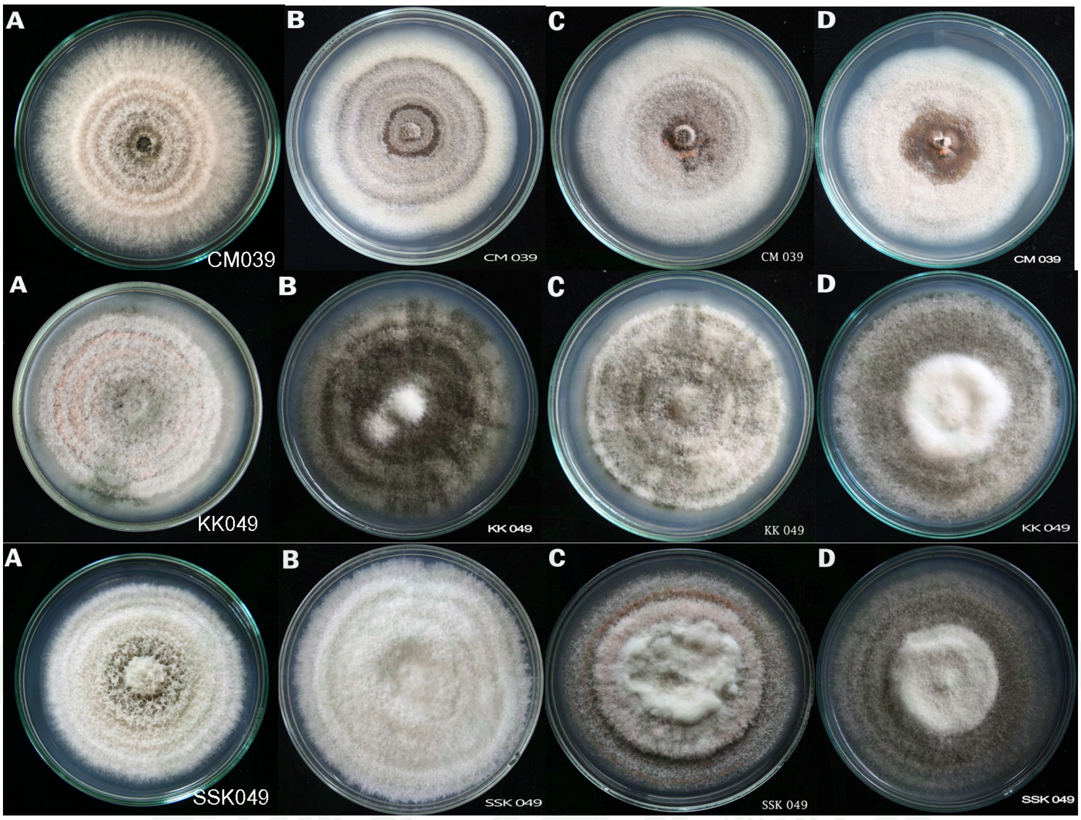
3.3 ความผันแปรของลักษณะสัณฐานวิทยา

เมื่อเก็บรักษาบนอาหาร PCA นาน 12 เดือน

ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เก็บบนอาหาร PCA การศึกษาลักษณะของโคโลนีพบว่ามีความแตกต่างกันในทุกระยะที่มีการทดสอบ เช่น จากลักษณะโคโลนีสร้างเส้นใยฟู พบการสร้าง spore mass สี salmon, pale peach, pale salmon และ salmon orange เมื่อระยะเวลานานขึ้นกลับสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร ไม่พบการสร้าง spore mass หรือมีการสร้างเส้นใยสีขาว เมื่อระยะเวลานานขึ้นกลับสร้างเส้นใยสีขาวตรงกลางโคโลนีสีเขียวขี้ม้า (ตารางที่ 25 และ ภาพที่ 29)

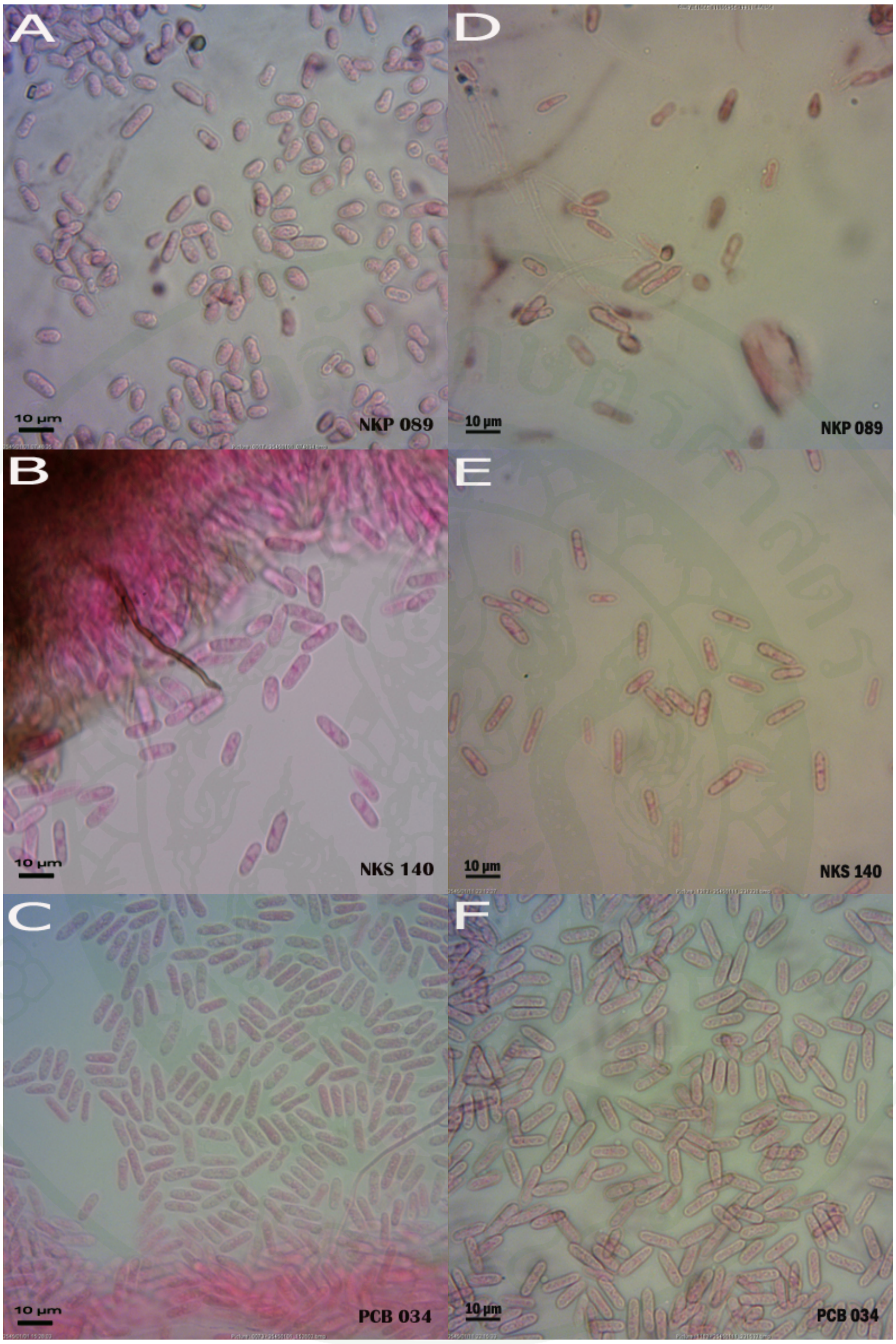
จากการศึกษาลักษณะของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* หลังการเก็บรักษาบนอาหาร PCA นาน 12 เดือน พบว่าสปอร์มีรูปร่างเปลี่ยนแปลงไป เช่น เดิมสปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่ หัวท้ายมน หลังการเก็บรักษานาน 12 เดือน พบว่า สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาว หัวท้ายมน ได้แก่ ไอโซเลท CM029-1, NKS140, NKS141, NRS022, PKK083, PSL076, PSL113, SKT037, UDT098 และ UDT103 หรือ เดิมสปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาว หัวท้ายมน หลังการเก็บรักษานาน 12 เดือน พบว่า สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่ หัวท้ายมน ได้แก่ ไอโซเลท KCB170, KCB182, KK055, NKP091, NKS144, PCB006, PCB034, SKT059 และ SKT060 หรือเดิมสปอร์รูปร่างทรงกระบอกสั้น หัวท้ายมน หลังการเก็บรักษานาน 12 เดือน พบว่า สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่ หัวท้ายมน ได้แก่ ไอโซเลท NKP089 (ตารางที่ 24) นอกจากนี้ยังพบลักษณะการสร้าง setae มีการเปลี่ยนแปลง โดยพบว่าเดิมมีการสร้าง setae หลังการเก็บรักษานาน 12 เดือน พบว่าไม่มีการสร้าง setae ได้แก่ ไอโซเลท CM001-2, CM011-1, CR011-1, KCB165, NKP013, NKP091, NKP092, NKS140, NKS147, NRS022, PCB002, PCB034, PKK067, PKK068, PKK077, PKK083, PSL113, SKT011, SKT046, SKT060 และ SSK020 (ตารางที่ 29)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 29 เปรียบเทียบลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท CM039, KK049 และ SSK049 หลังการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างกัน(A) ก่อนการเก็บรักษา (B) หลังเก็บรักษาบนอาหาร PCA เป็นเวลา 4 เดือน (C) หลังเก็บรักษาบนอาหาร PCA เป็นเวลา 8 เดือน (D) หลังเก็บรักษาบนอาหาร PCA เป็นเวลา 12 เดือน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 30 เปรียบเทียบลักษณะรูปร่างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท NKP089, NKS140 และ PCB034 (A-C) ก่อนการเก็บรักษาบนอาหาร PCA และ (D-F) หลังการเก็บรักษาบนอาหาร PCA นาน 12 เดือน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 24 เปรียบเทียบลักษณะรูปร่างของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เก็บรักษาบนอาหาร PCA จากระยะเริ่มต้น และระยะเวลา 12 เดือน

ไอโซเลท	รูปร่างสปอร์อายุ 0 เดือน	รูปร่างสปอร์อายุ 12 เดือน
CM 029-1	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
KCB 170	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
KCB 182	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
KK 055	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกสั้นหัวท้ายมน
NKP 089	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกสั้นหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
NKP 091	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
NKS 140	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
NKS 141	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
NKS 144	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
NRS 022	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
PCB 006	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
PCB 034	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
PKK 083	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
PSL 076	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
PSL 113	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
SKT 037	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกสั้นหัวท้ายมน
SKT 059	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
SKT 060	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
UDT 098	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
UDT 103	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 25 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ทั้ง 58 ไอโซเลทเมื่อเก็บบนอาหาร PCA ที่ระยะเวลา 4, 8 และ 12 เดือน

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
CM001-2	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	เส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	เส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	เส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ
CM011-1	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู เส้นใยมีสีเทาบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนี่สีขาว	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทาปนขาว มีการเกิด concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนีขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
CM013-2	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีมีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีเทา มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารกลางโคโลนีมีเส้นใยสีเทาขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
CM029-1	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีสีเทาบริเวณกลางโคโลนีขอบโคโลนีมีเส้นใยสีขาว	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย มีสีเทาบริเวณกลางโคโลนีขอบโคโลนีมีเส้นใยสีขาวมีการเกิด concentric ringพบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
CM039	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี pale peach บริเวณตรงที่เกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารกลางโคโลนีมีสีเทาขอบสีขาวมีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี pale peach บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาวมีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี pale peach บริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารกลางโคโลนีมีสีเทาขอบสีขาวมีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี pale peach บริเวณกลางโคโลนี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 25 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
CR011-1	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีมีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีมีเส้นใยสีขาวไม่มีการสร้าง concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
KCB165	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนเทา มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ringพบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
KCB170	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ringพบการสร้าง spore mass สี pale salmon บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring
KCB173	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวไม่มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยมีสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
KCB182	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีขาวขอบโคโลนีมีเทา ไม่มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีมีสีขาวขอบโคโลนีมีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนีและ concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีมีสีเทาขอบโคโลนีมีขาว มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 25 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
KK037	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี
KK049	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาวปนเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass บริเวณ concentric ring สี pale salmon	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาวปนเทา มีการสร้าง concentric ring
KK055	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร ตรงกลางโคโลนีมีเส้นใยสีเทาส่วนขอบโคโลนีมีสีขาว	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
KK063	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารตรงกลางสีเทาขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonกลางโคโลนี
KK075	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทามีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารขอบสีเทากลางโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารขอบสีเทากลางโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon กลางโคโลนี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 25 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
NKP013	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวไม่มีการสร้าง concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon กลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
NKP018	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาว ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทา มีการเกิด concentric ring
NKP089	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาปนดำมีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีขาวขอบสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
NKP091	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารมีเส้นใยสีขาวปนส้มมีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon orange บริเวณกลางโคโลนีและตรงconcentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีสีขาวขอบโคโลนีมีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring
NKP092	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวบริเวณกลางโคโลนีมีจุดสีดำ มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 25 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
NKS140	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว บริเวณกลางโคโลนีมีจุดสีดำ ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass
NKS141	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารตรงขอบโคโลนีมีเส้นใยสีขาวกลางโคโลนีมีเส้นใยสีเขียวขี้ม้า	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
NKS144	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีเทา ขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีขาว ขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี
NKS147	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ringพบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวบริเวณขอบมีสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารมีสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ
NRS014-1	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี pale salmon บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ
NRS022	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารมีเส้นใยสีเทา concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 25 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
NRS030	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว พบการสร้าง spore mass สี pale peach บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร กลางโคโลนีมีสีเทาขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบฟูเล็กน้อยสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
PCB002	เส้นใยมีสีขาวเจริญฟูบน อาหาร ขอบโคโลนีหยัก ไม่พบ concentric ring และกลุ่มสปอร์	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณขอบโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณขอบและกลางโคโลนี
PCB006	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณขอบโคโลนี กลางโคโลนีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว กลางโคโลนีมีสีเทา มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีเทา มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
PCB026	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว ไม่มีการสร้าง concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี
PCB034	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร กลางโคโลนีมีเส้นใยสีเทาขอบโคโลนีมีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี pale peach บริเวณ concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีมีสีเทาขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเรียบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 25 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
PCB048	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ringพบการสร้าง spore mass สี pale salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี และตรง concentric ring ขอบโคโลนีเรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการสร้าง concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ
PKK067	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณ concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารกลางโคโลนีมีสีเทาขอบมีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนีและ concentric ring	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารกลางโคโลนีมีสีเทาขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring
PKK068	ส้นใยมีสีเขียวมะกอกเจริญแน่นกลางโคโลนีสีขาวถึงขาวปนเทา มีลักษณะกลวง	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีเทาขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring
PKK077	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทา มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีเรียบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 25 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
PKK079	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ringสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีสีขาว บริเวณขอบมีสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
PKK083	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทาเข้มตรงกลางมีเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการสร้าง concentric ring
PSL076	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางโคโลนีสีเทาขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
PSL113	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาบริเวณขอบโคโลนี กลางโคโลนีเส้นใยสีเขียวขี้ม้า มีการสร้าง concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูสีเทาปนขาว มีการเกิด concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีสีเทาขอบสีขาว มีการเกิด concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass
PSL115	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีขาวขอบโคโลนีสีเทา มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีขาวขอบโคโลนีสีเทา มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 25 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
PSL122	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาวบริเวณขอบโคโลนี กลางโคโลนีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีขาว ขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีขาว ขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร กลางโคโลนีมีเส้นใยสีเทาบริเวณขอบโคโลนีสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
PSL131	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวไม่มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ
SKT011	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี pale salmon บริเวณconcentric ring	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาวปนส้ม มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเรียบ
SKT037	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 25 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
SKT046	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring ขอบโคคลนีเรียบ
SKT048	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาวไม่มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาว มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร ขอบสีเทากลางโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาว มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ
SKT059	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาวปนเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว ไม่มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว ไม่มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass
SKT060	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาวปนเทา มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีขาวขอบโคโลนีสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
SSK018	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาว พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 25 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
SSK020	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทาปนขาว มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางสีเทาเข้ม ขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีขาว ขอบโคโลนีสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณขอบโคโลนี
SSK049	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร ขอบโคโลนีมีเส้นใยสีขาว กลางโคโลนีมีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีมีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring
SSK050	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู ขอบโคโลนีมีเส้นใยสีเทา กลางโคโลนีมีเส้นใยสีขาว	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางสีเทาเข้ม ขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ
UBR082	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูสีเทา มีการเกิด concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณขอบโคโลนี
UBR092	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวตรงขอบมีสีเขียวขี้ม้า มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางสีเทาเข้ม ขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 25 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
UDT096	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารตรงกลางสีเทาขอบสีขาว มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาวปนส้ม มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
UDT097	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการเกิด concentric ringพบการสร้าง spore mass สี salmon orange กระจายทั่วโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีมีสีเทาขอบสีขาวมีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนเทามีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนีและตรง concentric ring ขอบโคโลนีเรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา พบการสร้าง spore mass สี salmon กระจายรอบโคโลนี
UDT098	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีเทาตรงกลางโคโลนีขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางสีเทาเข้มขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณขอบโคโลนีและกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทา มีการเกิด concentric ring มีพบการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี
UDT103	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมื่อเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อนาน 12 เดือน

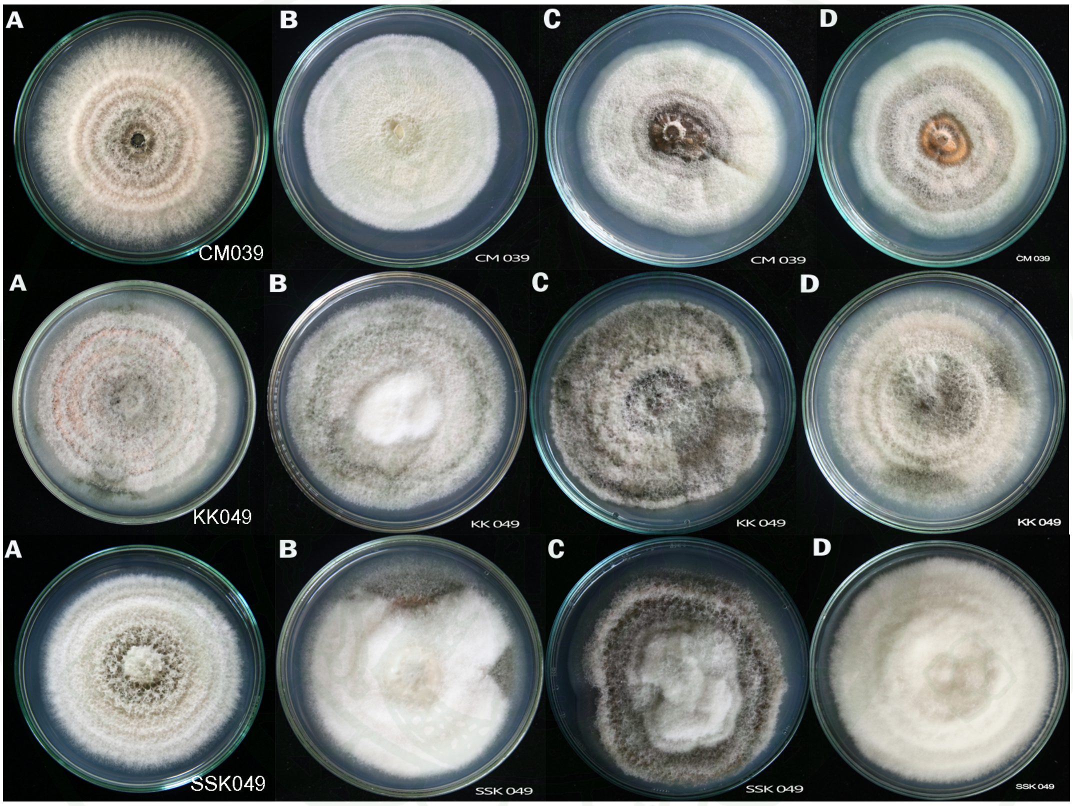
ความผันแปรด้านสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ การศึกษาลักษณะของโคโลนีพบว่ามีความแตกต่างกันในทุกระยะที่มีการทดสอบเช่นเดียวกัน จากลักษณะโคโลนีสร้างเส้นใยฟู พบการสร้าง spore mass สี salmon, pale peach, pale salmon และ salmon orange เมื่อระยะเวลานานขึ้นกลับสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร ไม่พบการสร้าง spore mass หรือมีการสร้างเส้นใยสีขาว เมื่อระยะเวลานานขึ้นกลับสร้างแต่เส้นใยสีเทา (ตารางที่ 27 และภาพที่ 31)

จากการศึกษาลักษณะของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* หลังการเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 12 เดือน พบว่าสปอร์มีรูปร่างเปลี่ยนแปลงไป เช่น เดิมสปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่ หัวท้ายมน หลังการเก็บรักษานาน 12 เดือน พบว่า สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาว หัวท้ายมน ได้แก่ ไอโซเลท CM011-1, CM029-1, NKS140, NKS141, NRS022, NRS030, PSL113, SKT037, และ UDT103 หรือ เดิมสปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาว หัวท้ายมน หลังการเก็บรักษานาน 12 เดือน พบว่า สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่ หัวท้ายมน ได้แก่ ไอโซเลท KCB182, KK037, KK055, KK063, KK075, NKP091, NKS144, PSL115, SKT059 และ UDT097 (ตารางที่ 26) นอกจากนี้ยังพบลักษณะการสร้าง setae มีการเปลี่ยนแปลง โดยพบว่าเดิมมีการสร้าง setae หลังการเก็บรักษานาน 12 เดือน พบว่าไม่มีการสร้าง setae เช่น CM001-2, CM011-1, CR011-1, KCB165, NKP013, NKP091, NKP092, NKS140, NKS147, NRS022, PCB002, PCB034, PKK067, PKK068, PKK077, PKK083, PSL113, SKT011, SKT046, SKT060 และ SSK020 หรือจากเดิมที่ไม่มีการสร้าง setae หลังการเก็บรักษานาน 12 เดือน พบว่ามีการสร้างเกิดขึ้น เช่น NKP018 และ PSL122 (ตารางที่ 29) อย่างไรก็ตามพบว่าลักษณะของ appresoria ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ตารางที่ 29)

จากการศึกษาของ Freeman *et al.* (2002) ในการศึกษาความอยู่รอดของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากสตรอเบอรี่ จำนวน 6 ไอโซเลท โดยการเก็บรักษาสปอร์ภายในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เมื่อเวลาผ่านไป 1 ปีได้ทำการตรวจสอบความอยู่รอดของเชื้อ พบว่าลักษณะของสปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกหัวท้ายมน และมีความยาวขนาด 24 – 13 ไมโครเมตร ซึ่งมีลักษณะไม่แตกต่างจากเดิมก่อนการเก็บเชื้อ แต่ปริมาณของสปอร์มีจำนวนลดลง ทั้งนี้การมีชีวิตรอดของเชื้อรายังขึ้นอยู่กับสภาพปัจจัยภายนอกและสภาพการปรับตัวของเชื้อรา และจากงานวิจัยของ

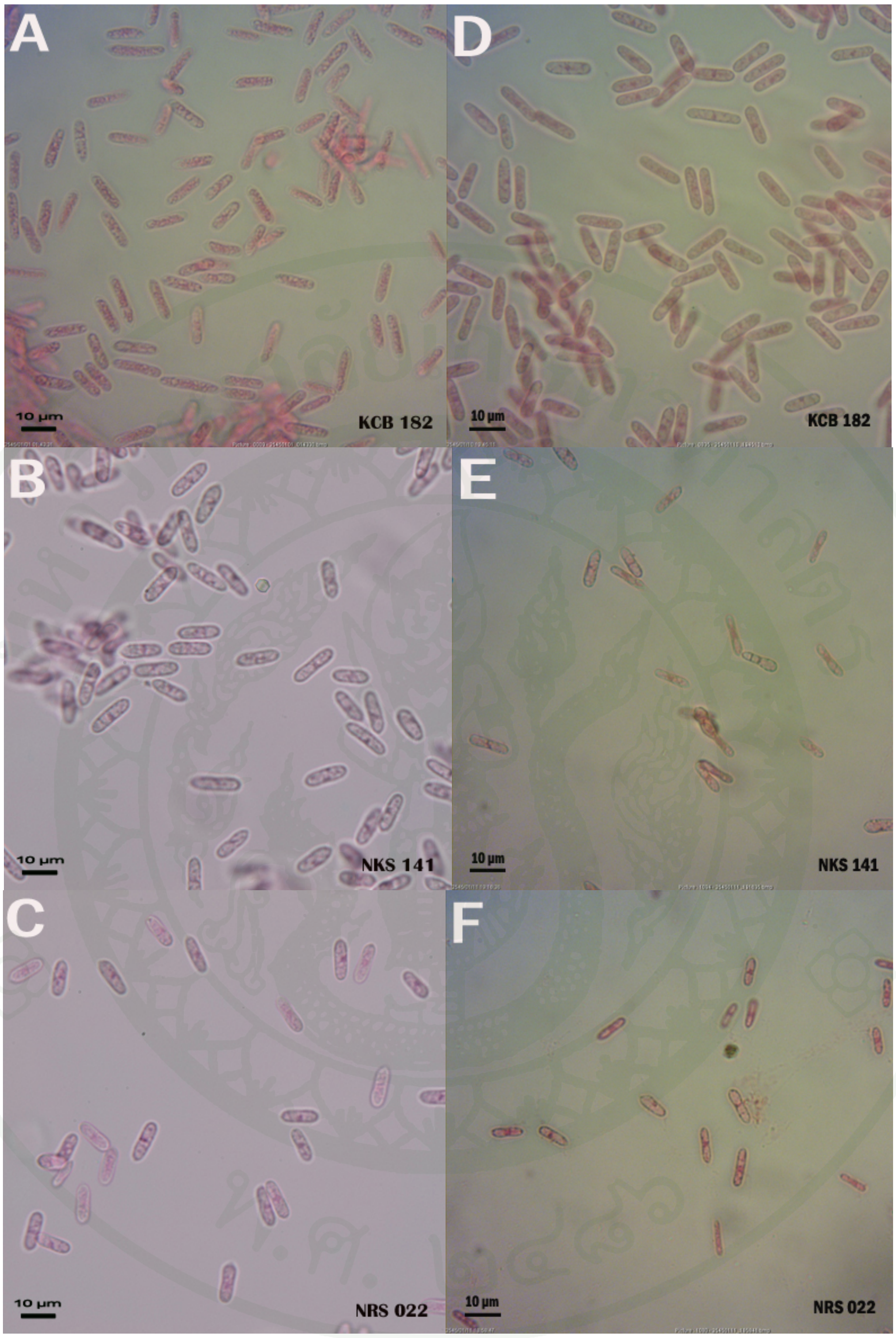
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Ripoche *et al.* (2008) ซึ่งได้ทำการศึกษาความมีชีวิตรอดของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในดินที่ผ่านการปลูก yam เมื่อเวลาผ่านไป 4 เดือน พบว่าลักษณะของสปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกหัวท้ายมน และมีความยาวขนาด 25 – 15 ไมโครเมตร ปริมาณของสปอร์มีจำนวนเพิ่มขึ้น แต่ลักษณะของสปอร์ไม่เปลี่ยนแปลง



ภาพที่ 31 เปรียบเทียบลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท CM039, KK049 และ SSK049 หลังการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างกัน(A) ก่อนการเก็บรักษา (B) หลังเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 4 เดือน (C) หลังเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 8 เดือน (D) หลังเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 12 เดือน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 32 เปรียบเทียบลักษณะรูปร่างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท NKP089, NKS140 และ PCB034 (A-C) ก่อนการเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และ (D-F) หลังการเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 12 เดือน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 26 เปรียบเทียบลักษณะรูปร่างของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากระยะเริ่มต้น และระยะเวลา 12 เดือน

ไอโซเลท	รูปร่างสปอร์อายุ 0 เดือน	รูปร่างสปอร์อายุ 12 เดือน
CM 011-1	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
CM 029-1	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
KCB 182	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
KK 037	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
KK 055	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
KK 063	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
KK 075	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
NKP 091	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
NKS 140	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
NKS 141	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
NKS 144	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
NRS 022	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
NRS 030	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
PSL 113	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
PSL 115	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
SKT 037	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน
SKT 059	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
UDT 097	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน
UDT 103	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 27 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ทั้ง 58 ไอโซเลทเมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ระยะเวลา 4, 8 และ 12 เดือน

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
CM001-2	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณขอบโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ
CM011-1	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนีขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนเทา มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีสีขาวขอบสีเขียวขี้ม้า มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass
CM013-2	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนีขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางโคโลนีสีเทาขอบสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
CM029-1	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีสีเทาบริเวณกลางโคโลนีขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางโคโลนีมีสีเทาเข้ม ขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางโคโลนีมีสีขาว ขอบโคโลนีสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
CM039	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี pale peach บริเวณตรงที่เกิด concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารตรงกลางโคโลนีสีเทาขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring กลางโคโลนีมีการสร้าง spore mass สี salmon	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารตรงกลางโคโลนีสีเทาเข้มขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring กลางโคโลนีมีการสร้าง spore mass สี salmon

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 27 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
CR011-1	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารตรงกลางสีเทาขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณขอบโคโลนี
KCB165	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนเทา มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวขอบโคโลนีมีสีเทาเข้มมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass
KCB170	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ringพบการสร้าง spore mass สี pale salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวอมส้มมีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณขอบโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูบริเวณกลางโคโลนีสีขาวมีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
KCB173	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว ไม่มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยกลางโคโลนีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณขอบโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีสีขาวอมส้มขอบสีเทา มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณ concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีสีขาวอมส้มขอบสีเทา มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
KCB182	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางโคโลนีสีขาวขอบสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนี มีการสร้าง concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 27 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
KK037	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารกลางโคโลนีมีเส้นใยสีขาวขอบโคโลนีสีเทา มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูบริเวณตรงกลางโคโลนีมีสีเทาเข้มขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่มีการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยบริเวณตรงกลางโคโลนีมีสีเทาเข้มขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
KK049	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาวปนเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass บริเวณ concentric ring สี pale salmon	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางโคโลนีสีขาวขอบสีเทา มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางโคโลนีสีเขียวขี้ม้าขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเขียวขี้ม้าปนสีขาว มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
KK055	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร ตรงกลางโคโลนีมีเส้นใยสีเทาส่วนขอบโคโลนีมีสีขาว	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางโคโลนีสีเขียวขี้ม้าขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass
KK063	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารตรงกลางโคโลนีสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางโคโลนีสีเทาเข้มขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass
KK075	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทามีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาและสีขาวมีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารบริเวณกลางโคโลนีสีขาวขอบสีเทา มีการเกิด concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยบริเวณกลางโคโลนีสีเทาเข้มขอบสีขาว มีการเกิด concentric ringพบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
NKP013	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางโคโลนีสีเทาขอบสีขาว มีการเกิด concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางโคโลนีสีเทาขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 27 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
NKP018	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาว ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูมากสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
NKP089	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาปนดำมีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารตรงกลางโคโลนีสีขาวขอบสีเขียวขี้ม้ามีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore massสี salmon บริเวณกลางโคโลนี
NKP091	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารมีเส้นใยสีขาวปนส้มมีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon orange บริเวณกลางโคโลนีและตรงconcentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวขอบสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่มีการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารตรงกลางสีเทาขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีเรียบ
NKP092	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว บริเวณกลางโคโลนีมีจุดสีดำ มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารมีสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
NKS140	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว บริเวณกลางโคโลนีมีจุดสีดำ ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารมีสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล้กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
NKS141	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารตรงขอบโคโลนีมีเส้นใยสีขาว กลางโคโลนีมีเส้นใยสีเขียวขี้ม้า	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยตรงกลางโคโลนีสีเทาขอบสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 27 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
NKS144	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีน้ำตาลบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass
NKS147	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ringพบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ
NRS014-1	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี pale salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ
NRS022	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารมีเส้นใยสีเทา concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวอมส้มมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
NRS030	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว พบการสร้าง spore mass สี pale peach บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางโคโลนีสีเขียวขี้ม้าขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางโคโลนีสีเทาเข้มขอบสีขาว มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
PCB002	เส้นใยมีสีขาวเจริญฟูบน อาหาร ขอบโคโลนีหยัก ไม่พบ concentric ring และกลุ่มสปอร์	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวอมส้ม มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีไม่เรียบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 27 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
PCB006	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณขอบโคโลนี กลางโคโลนีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณขอบโคโลนี กลางโคโลนีเส้นใยสีเขียวเข้ม มีการสร้าง concentric ring
PCB026	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass
PCB034	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร กลางโคโลนีมีเส้นใยสีเทา ขอบโคโลนีมีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี pale peach บริเวณ concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร กลางโคโลนีสีขาวขอบสีเขียว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีสีขาว ขอบสีเขียวขี้ม้า มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ
PCB048	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเขียวขี้ม้าบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ringพบการสร้าง spore mass สี pale salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนสีเขียวขี้ม้า มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางโคโลนีสีเทาเข้มขอบสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass
PKK067	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณ concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเขียวขี้ม้า มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore massสี salmon บริเวณกลางโคโลนี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 27 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
PKK068	ส้นใยมีสีเขียวมะกอกเจริญแน่นกลางโคโลนีสีขาวถึงขาวปนเทา มีลักษณะกลวง	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีเทาปนขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูมีสีต่างกันแต่ละด้าน ด้านหนึ่งสีขาวอีกด้านสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางโคโลนีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
PKK077	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon กระจายทั่วโคโลนี ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางโคโลนีสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass
PKK079	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ringสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูมีสีขาวปนเขียว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูมีสีขาว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนีและบริเวณ concentric ring
PKK083	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาวมีการสร้าง concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาวบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีสีขาวขอบสีเขียวขี้ม้า มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาวอมส้ม มีการสร้าง concentric ring ไม่พบ spore mass
PSL076	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาว มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่มีการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารตรงกลางโคโลนีสีเทาขอบสีขาว มีการสร้าง concentric ring

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 27 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
PSL113	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาบริเวณขอบโคโลนี กลางโคโลนีเส้นใยสีเขียวขี้ม้า มีการสร้าง concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีเทาปนเขียว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
PSL115	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีสีขาวขอบสีเขียว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูมีสีต่างกันแต่ละด้าน ด้านหนึ่งสีขาวอีกด้านสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีสีขาวขอบสีเทา มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
PSL122	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาวบริเวณขอบโคโลนี กลางโคโลนีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูบริเวณกลางโคโลนีสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon กระจายทั่ว ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนสีเทา มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยบริเวณกลางโคโลนีสีขาวขอบสีเทา มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี
PSL131	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทาบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูมากสีขาวปนเทา บริเวณกลางโคโลนีจะฟูมากมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทาปนขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 27 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
SKT011	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี pale salmon บริเวณ concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาวอมส้ม มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีส้ม มีการเกิด concentric ring กลางโคโลนีมีการสร้าง spore mass สี peach บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีส้ม มีการเกิด concentric ring กลางโคโลนีมีการสร้าง spore mass สี peach บริเวณขอบและกลางโคโลนี
SKT037	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวมีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีไม่เรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
SKT046	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	บริเวณตรงกลางโคโลนีเส้นใยฟูมากมีสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ
SKT048	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาวไม่มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาวไม่มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
SKT059	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาวปนเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวอมส้มมีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon กระจายทั่วโคโลนี ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีฟูสีเทาเข้มขอบสีขาว มีการเกิด concentric ringไม่มีการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
SKT060	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาวปนเทา มีการสร้าง concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูสีส้มไม่มีการสร้าง concentric ring ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวอมส้ม มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon กระจายทั่วโคโลนี ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทา มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon กระจายทั่วโคโลนี ขอบโคโลนีเรียบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 27 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
SSK018	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาว พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่มีการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีส้มปนเขียว มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีไม่เรียบ
SSK020	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนเขียว มีการเกิด concentric ring ไม่มีการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทาเข้มปนขาว มีการเกิด concentric ring ไม่มีการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทา มีการเกิด concentric ring ไม่มีการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
SSK049	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร ขอบโคโลนีมีเส้นใยสีขาว กลางโคโลนีมีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูขอบโคโลนีมีเส้นใยสีเทา กลางโคโลนี่มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณขอบโคโลนี ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูขอบโคโลนีมีเส้นใยสีเทา กลางโคโลนี่มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณขอบโคโลนี ขอบโคโลนีไม่เรียบ
SSK050	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู ขอบโคโลนีมีเส้นใยสีเทา กลางโคโลนีมีเส้นใยสีขาว	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีสีขาว ขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	บริเวณกลางโคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟูมากสีขาวขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ
UBR082	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีสีขาว ขอบสีเทาเข้ม มีการเกิด concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูกลางโคโลนีสีเทาเข้มขอบสีขาว มีการเกิด concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 27 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 4 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 8 เดือน	ลักษณะโคโลนีเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 เดือน
UBR092	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass	มีการสร้างเส้นใยฟูมากสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูมากสีขาวไม่มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีเทามีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีเรียบ
UDT096	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการสร้าง concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูตรงกลางโคโลนีมีสีเทาเข้ม ขอบโคโลนีสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass บริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเรียบ
UDT097	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการเกิด concentric ringพบการสร้าง spore mass สี salmon orange กระจายทั่วโคโลนี	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหาร มีเส้นใยสีเทา มีการเกิด concentric ringพบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนีและตรงconcentric ring	มีการสร้างเส้นใยฟูสีส้มอมเขียว มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmonบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีส้มปนเทา มีการเกิด concentric ring มีการุสร้าง spore mass สี salmonกระจายทั่วโคโลนี ขอบโคโลนีเรียบ
UDT098	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีเทา มีการเกิด concentric ring พบการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี	มีการสร้างเส้นใยฟูสีขาวปนเทา มีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนีขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีส้มปนเทามีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนีขอบโคโลนีเรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูสีเทามีการเกิด concentric ring มีการสร้าง spore mass สี salmon บริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเรียบ
UDT103	โคโลนีมีการสร้างเส้นใยฟู มีเส้นใยสีขาว มีการสร้าง concentric ringไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยเรียบไปกับอาหารสีขาวมีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ	มีการสร้างเส้นใยฟูเล็กน้อยสีขาว มีการเกิด concentric ring ไม่พบการสร้าง spore mass ขอบโคโลนีไม่เรียบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 28 ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ทั้ง 58 ไอโซเลทเมื่อเก็บบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 12 เดือน

ไอโซเลท	ลักษณะสปอร์ที่เวลา 0 เดือน	ขนาด (μm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ขนาด (μm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	ขนาด (μm)
CM001-2	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.62 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.00 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.25 × 3.00
CM011-1	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	13.00 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.12 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.10 × 3.00
CM013-2	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.62 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.13 × 3.12	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.37 × 3.00
CM029-1	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.25 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.63 × 2.87	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.37 × 2.87
CM039	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	11.50 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.37 × 3.50	สปอร์รูร่ปางทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.75 × 4.00
CR011-1	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.64 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.87 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	13.75 × 4.00
KCB165	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.25 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.50 × 2.62	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.37 × 3.00
KCB170	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.25 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	11.25 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.75 × 3.50

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 28 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะสปอร์ที่เวลา 0 เดือน	ขนาด (µm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ขนาด (µm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	ขนาด (µm)
KCB173	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.75 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.87 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.50 × 3.50
KCB182	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	14.5 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.00 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	15.62 × 4.00
KK037	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.12 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.50 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.75 × 4.25
KK049	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.12 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.50 × 2.87	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.87 × 3.00
KK055	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.12 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกสั้นหัวท้ายมน	11.37 × 3.75	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.50 × 3.75
KK063	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.12 × 2.75	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.87 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	13.50 × 4.00
KK075	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.12 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.00 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	14.00 × 3.75
NKP013	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.12 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.25 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.37 × 3.00

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 28 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะสปอร์ที่เวลา 0 เดือน	ขนาด (µm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ขนาด (µm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	ขนาด (µm)
NKP018	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.50 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.00 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	14.00 × 3.00
NKP089	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกสั้นหัวท้ายมน	8.62 × 2.62	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	9.62 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกสั้นหัวท้ายมน	10.00 × 4.25
NKP091	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.75 × 3.12	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	11.88 × 3.87	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	13.50 × 4.25
NKP092	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.87 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.87 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.25 × 3.00
NKS140	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.75 × 3.87	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.37 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.75 × 3.25
NKS141	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.64 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.75 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.12 × 3.00
NKS144	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.87 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	13.25 × 3.75	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	10.50 × 4.20
NKS147	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.12 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.25 × 2.75	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.62 × 3.00

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 28 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะสปอร์ที่เวลา 0 เดือน	ขนาด (µm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ขนาด (µm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	ขนาด (µm)
NRS014-1	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.75 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.37 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.62 × 3.00
NRS022	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.12 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	9.75 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.75 × 3.25
NRS030	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.125 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.89 × 3.12	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.50 × 4.00
PCB002	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.37 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.12 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.37 × 3.75
PCB006	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.75 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.50 × 3.87	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.50 × 3.50
PCB026	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.12 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.12 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	14.25 × 3.75
PCB034	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.87 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	13.25 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.25 × 3.50
PCB048	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	14.10 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวเล็กหัวท้ายมน	9.30 × 2.75	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	6.75 × 3.00

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 28 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะสปอร์ที่เวลา 0 เดือน	ขนาด (µm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ขนาด (µm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	ขนาด (µm)
PKK067	สปอร์รูร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.00 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.87 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.75 × 3.00
PKK068	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.98 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.87 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.50 × 3.00
PKK077	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.37 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.00 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.12 × 3.12
PKK079	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.63 × 3.12	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.870 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.75 × 3.50
PKK083	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	11.50 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.00 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	11.37 × 3.50
PSL076	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	13.37 × 3.75	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.75 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	11.75 × 4.00
PSL113	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	11.63 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.00 × 3.75	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.12 × 2.87
PSL115	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.38 × 3.12	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.25 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.62 × 3.62

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 28 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะสปอร์ที่เวลา 0 เดือน	ขนาด (µm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ขนาด (µm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	ขนาด (µm)
PSL122	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.63 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.00 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.50 × 3.00
PSL131	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.00 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.00 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.50 × 2.75
SKT011	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.00 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.50 × 3.75	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.25 × 3.50
SKT037	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	13.37 × 3.75	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกสั้นหัวท้ายมน	9.75 × 2.87	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	9.25 × 2.75
SKT046	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.87 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.25 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.62 × 3.12
SKT048	สปอร์รูร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.89 × 3.12	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	9.87 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.50 × 3.37
SKT059	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.75 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	13.00 × 3.75	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	13.25 × 4.25
SSK018	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.87 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.87 × 3.25	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	14.00 × 3.50

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 28 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะสปอร์ที่เวลา 0 เดือน	ขนาด (µm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ขนาด (µm)	ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	ขนาด (µm)
SSK020	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.87 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.62 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	13.25 × 3.25
SSK049	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.89 × 3.12	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.87 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.75 × 3.50
SSK050	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.25 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.37 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.25 × 3.25
UBR082	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.75 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.25 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	14.50 × 3.37
UBR092	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.89 × 3.12	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.75 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.62 × 3.00
UDT096	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	11.75 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	10.62 × 4.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	11.75 × 4.00
UDT097	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	12.25 × 3.37	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.13 × 3.12	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	12.75 × 4.50
UDT098	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	11.50 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	10.87 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	11.25 × 4.50

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 28 (ต่อ)

ไอโซเลท	**ลักษณะสปอร์ที่เวลา 0 เดือน**	**ขนาด (µm)**	**ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บบนอาหาร PCA**	**ขนาด (µm)**	**ลักษณะสปอร์เมื่อเก็บในน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อ**	**ขนาด (µm)**
UDT103	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกใหญ่หัวท้ายมน	11.50 × 3.50	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.37 × 3.00	สปอร์รูปร่างทรงกระบอกเรียวยาวหัวท้ายมน	11.00 × 2.50

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 29 ลักษณะ appressoriaและ setae ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้ง 58 ไอโซเลทเมื่อเก็บบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 12 เดือน

ไอโซเลท	ลักษณะ appressoriaและ setae ที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
CM001-2	รูปร่าง cylindrical ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.5× 11.25 µm setae เรียวยาวเสมอกันปลายแหลมผนังไม่เรียบสีน้ำตาลอ่อน มีขนาด 2.875 × 85.5 µm	รูปร่าง cylindrical ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5× 8µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง cylindrical ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6× 8.75 µm ไม่พบการสร้าง setae
CM011-1	รูปร่าง circularผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5 × 9.25 µm setaeเรียวยาวเสมอกันปลายแหลมผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้ม มีขนาด2.5 ×76.25 µm	รูปร่าง circularผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.75 × 9 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circularผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6.25 × 9 µm ไม่พบการสร้าง setae
CM013-2	รูปร่าง irregular และมีการเจริญแบบเป็นลูกโซ่ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.75 × 11.75µm setaeเรียวยาวเสมอกันปลายแหลมผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้ม มีขนาด 2.5 ×62.5 µm	รูปร่าง irregular และมีการเจริญแบบเป็นลูกโซ่ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5 × 7.25 µm setaeเรียวยาวเสมอกันปลายแหลมขนาดไม่ยาวมากผนังไม่เรียบสีน้ำตาลมีขนาด 2.5 ×60µm	รูปร่าง irregular และมีการเจริญแบบเป็นลูกโซ่ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 7.75µm setae เรียวเสมอกันปลายแหลมขนาดไม่ยาวมากผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้มมีขนาด 2.5 ×60 µm
CM029-1	รูปร่าง clavate และ irregular ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6.25 × 8.25 µmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate และ irregular ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.25 × 7.5µmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate และ irregular ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.25 × 8.5µmไม่พบการสร้าง setae
CM039	รูปร่าง circular clavate และ irregular ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 7 × 18.35µmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circular clavate และ irregular ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6.25 × 8.75µmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circular clavate และ irregular ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 7.25 × 10.25µmไม่พบการสร้าง setae

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 29 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะ appressoriaและ setae ที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
CR011-1	รูปร่าง allantoids clavate irregular และ มีการเจริญแบบเป็นลูกโซ่ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลขนาด 5.25 × 7.25μmsetae เรียวยาวปลายแหลมผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้ม มีขนาด2.5 ×67.5μm	รูปร่าง allantoids clavate irregular และ มีการเจริญแบบเป็นลูกโซ่ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลขนาด 6 × 10.25μm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง allantoids clavate irregular และ มีการเจริญแบบเป็นลูกโซ่ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลขนาด 6.5 × 9.25μmไม่พบการสร้าง setae
KCB165	รูปร่าง circular clavate และ lobeผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6× 8.25μmsetae เรียวยาวเสมอกันปลายแหลมผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้ม มีขนาด 2.63 × 88μm	รูปร่าง circular clavate และ lobeผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6.25× 8μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circular clavate และ lobeผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6.25× 9 μmไม่พบการสร้าง setae
KCB170	รูปร่าง long clavate irregular และ lobe ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 8 × 8.25μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate irregular และ lobe ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75 × 8.5μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate irregular และ lobe ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6 × 9.25 μmไม่พบการสร้าง setae
KCB173	รูปร่าง irregular long clavate และ lobe ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6 × 8.25μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregular long clavate และ lobe ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75 × 11.25μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregular long clavate และ lobe ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 10 μmไม่พบการสร้าง setae
KCB182	รูปร่าง circular clavate long clavate lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำ ขนาด 6.25 × 8.5μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circular clavate long clavate lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด5.5 × 9.25 μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circular clavate long clavate lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.5 × 8.75 μmไม่พบการสร้าง setae

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 29 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะ appressoriaและ setae ที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
KK037	รูปร่าง allantoids lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาล ขนาด 6.75 × 9µmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง allantoids lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาล ขนาด 5.75 × 7.75µmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง allantoids lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลขนาด 5.25 × 8 µmไม่พบการสร้าง setae
KK049	มีการเจริญแบบเดี่ยวๆ และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาขนาด 5.5 × 7.5µmไม่พบการสร้าง setae	มีการเจริญแบบเดี่ยวๆ และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาขนาด5.25 × 9.5µmไม่พบการสร้าง setae	มีการเจริญแบบเดี่ยวๆ และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาขนาด 6 × 10.5 µmไม่พบการสร้าง setae
KK055	รูปร่าง long clavate irregular และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำ ขนาด 5.5 × 7.25 µmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate irregular และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.75 × 11 µmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate irregular และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75 × 8.25 µmไม่พบการสร้าง setae
KK063	รูปร่าง long clavate lobe 1และมีการเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.75 × 7.75µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate lobe 1และมีการเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6.25 × 10.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate lobe 1และมีการเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาล ขนาด 5.5 × 7.5 µm ไม่พบการสร้าง setae
KK075	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6 × 7.5µmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.25 × 8.75µmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำ ขนาด 6.5 × 9.5 µmไม่พบการสร้าง setae
NKP013	รูปร่าง lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 7 × 18.35µm setae เรียวเสมอกันปลายแหลมผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้ม มีขนาด 2.5 ×50µm	รูปร่าง lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำ ขนาด 6.25 × 9.25µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำ ขนาด 6× 9.5 µm ไม่พบการสร้าง setae

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 29 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะ appressoriaและ setae ที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
NKP018	รูปร่าง lobe long clavate และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด6.25 × 7.75 µm setae เรียวเสมอกันปลายแหลมขนาดไม่ยาวมากผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้ม มีขนาด 2.5 ×55.5 µm	รูปร่าง lobe long clavate และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6 × 8.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง lobe long clavate และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำ ขนาด 5.75 × 9 µm ไม่พบการสร้าง setae
NKP089	รูปร่าง clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6.25 × 8 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.25 × 6.75µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.5 × 6.75 µm ไม่พบการสร้าง setae
NKP091	รูปร่าง clavate irregular และ circular ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด6 × 7.75 µm setae เรียวยาวปลายทู่ขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำ มีขนาด 2.5 ×40 µm	รูปร่าง clavate irregular และ circular ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.75 × 8.75 µmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate irregular และ circular ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.5 × 8.25 µm ไม่พบการสร้าง setae
NKP092	รูปร่าง long clavate และirregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.25× 10 µm setae เรียวเสมอกันปลายทู่ขนาดไม่ยาวมากผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้ม มีขนาด 2.63 ×74.25 µm	รูปร่าง long clavate และirregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.25× 10 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate และirregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75× 9µm ไม่พบการสร้าง setae
NKS140	รูปร่าง lobe long clavate และirregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.25× 9 µm setae เรียวเสมอกันปลายทู่ขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้ม มีขนาด 2.5 ×60 µm	รูปร่าง lobe long clavate และirregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.25× 11.25µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง lobe long clavate และirregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.5× 9.25µm ไม่พบการสร้าง setae

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 29 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะ appressoriaและ setae ที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
NKS141	รูปร่าง lobe และclavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6 × 7.5 μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง lobe และclavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.25 × 9.5 μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง lobe และclavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.5 × 9.25μmไม่พบการสร้าง setae
NKS144	รูปร่าง lobe และcircular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด6.5 × 10.75μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง lobe และcircular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด7.25 × 9.25μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง lobe และcircular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 8.25μmไม่พบการสร้าง setae
NKS147	รูปร่าง long clavate และirregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 7.25 × 12.75μm setae เรียวเสมอกันปลายทู่ขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้ม มีขนาด 2.5 ×40μm	รูปร่าง long clavate และirregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.25 × 10.75μm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate และirregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.25 × 9.5 μm ไม่พบการสร้าง setae
NRS014-1	รูปร่าง cylindrical และirregular ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 8.5μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง cylindrical และirregular ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 8.5μmไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง cylindrical และirregular ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75 × 9.25 μmไม่พบการสร้าง setae
NRS022	รูปร่าง cylindricalและirregular ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 7.75μm setae เรียวเสมอกันปลายทู่ขนาดไม่ยาวมากผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้ม มี ขนาด 2.5 ×68.5 μm	รูปร่าง cylindricalและirregular ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5 × 8.5 μm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง cylindricalและirregular ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.25 × 7.75 μm ไม่พบการสร้าง setae
NRS030	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75 × 7.5 μm setae เรียวเสมอกันปลายทู่ขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำ มีขนาด 2.5 ×40 μm	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำ ขนาด 5.5 × 8.75 μm เรียวยาวเสมอกันปลายทู่ผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำ มีขนาด 2.63 ×74.25 μm	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75 × 8.75 μm setae เรียวยาวปลายแหลมผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้มมีขนาด 2.63 × 88 μm

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 29 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะ appressoriaและ setae ที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
PCB002	รูปร่าง allantoids และ long clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลขนาด4.25 × 8 µm setae เรียวเสมอกันปลายทู่ขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำ มีขนาด 2.75 × 45.5 µm	รูปร่าง allantoids และ long clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลขนาด 6 × 8 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง allantoids และ long clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลขนาด 5.5 × 9.5 µm ไม่พบการสร้าง setae
PCB006	รูปร่าง cylindrical long clavate clavate และ circular ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 7 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง cylindrical long clavate clavate และ circular ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.25 × 8.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง cylindrical long clavate clavate และ circular ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.25 × 8.5 µm ไม่พบการสร้าง setae
PCB026	รูปร่าง clavate long clavate และirregularผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด5.75 × 7.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate long clavate และirregularผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.5 × 7.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate long clavate และirregularผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.25 × 7.5 µm ไม่พบการสร้าง setae
PCB034	รูปร่าง circularผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6.5 × 9.5 µm setae เรียวเสมอกันปลายแหลมขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำ มีขนาด 2.65 ×42.5 µm	รูปร่าง circularผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.5 × 7.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circularผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.25 ×8.25 µm ไม่พบการสร้าง setae
PCB048	รูปร่าง circular และ clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 7 × 18.35 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circular และ clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6.25 × 9.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circular และ clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6.25 × 9.5 µm ไม่พบการสร้าง setae
PKK067	รูปร่าง cylindricalและ long clavate ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.5 × 11 µm setae เรียวเสมอกันปลายทู่ขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำมีขนาด 2.5 × 40 µm	รูปร่าง cylindricalและ long clavate ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75 × 8.25 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง cylindricalและ long clavate ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75 ×8.25 µm ไม่พบการสร้าง setae

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 29 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะ appressoriaและ setae ที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
PKK068	รูปร่าง irregular long clavate และมีการเจริญแบบเดี่ยวๆ และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด6 × 7.5 µm setae เรียวเสมอกันปลายทู่ขนาดยาวผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้ม มีขนาด 2.5 × 81.75 µm	รูปร่าง irregular long clavate และมีการเจริญแบบเดี่ยวๆ และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6 × 9.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregular long clavate และมีการเจริญแบบเดี่ยวๆ และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6 × 9.5 µm ไม่พบการสร้าง setae
PKK077	รูปร่าง irregular lobe และ long clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด5.5× 7.75 µm setae เรียวยาวปลายแหลมผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำ มีขนาด 2.5 × 75 µm	รูปร่าง irregular lobe และ long clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75× 9 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregular lobe และ long clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6× 9.5 µm ไม่พบการสร้าง setae
PKK079	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6 × 7.25 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 7.5 µm setae เรียวปลายแหลมขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้มมีขนาด 2.5 × 45.5 µm	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำ 5.75 × 7.75 µm ไม่พบการสร้าง setae
PKK083	รูปร่าง irregularและ circular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด7.25 × 7.75 µm setae เรียวยาวปลายแหลมขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำ มีขนาด 2.5 ×38.5 µm	รูปร่าง irregularและ circular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 7 × 8.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregularและ circular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6 × 9 µm ไม่พบการสร้าง setae
PSL076	รูปร่าง clavate irregular และ long clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด6 × 11.25 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate irregular และ long clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.5 × 8.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate irregular และ long clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.5 ×8.5 µm ไม่พบการสร้าง setae

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 29 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะ appressoriaและ setae ที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
PSL113	รูปร่าง irregular และ long clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด6.25 × 8.5 µm setae เรียวเสมอกันปลายทู่ขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำมีขนาด 2.65 ×41 µm	รูปร่าง irregular และ long clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.25 × 8.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregular และ long clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75 × 9 µm ไม่พบการสร้าง setae
PSL115	มีการเจริญแบบเดี่ยวๆ และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด8 × 10.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	มีการเจริญแบบเดี่ยวๆ และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6.25 × 9 µm ไม่พบการสร้าง setae	มีการเจริญแบบเดี่ยวๆ และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6 × 9 µm ไม่พบการสร้าง setae
PSL122	รูปร่าง irregular lobe และ long clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด6.25 × 8.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregular lobe และ long clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.5 × 8.5 µm setae แรียวยาวปลายแหลมผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำมีขนาด 2.5 ×63 µm	รูปร่าง irregular lobe และ long clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.75 × 9.75 µm ไม่พบการสร้าง setae
PSL131	รูปร่าง long clavate lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด5× 7.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.25× 7.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.25× 9 µm ไม่พบการสร้าง setae
SKT011	มีการเจริญแบบเดี่ยวๆ และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด7 × 11.25 µm setae เรียวเสมอกันปลายทู่ขนาดยาวผนังไม่เรียบสีน้ำตาลเข้ม มีขนาด 2.5 ×80 µm	มีการเจริญแบบเดี่ยวๆ และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.75 × 8.25 µm ไม่พบการสร้าง setae	มีการเจริญแบบเดี่ยวๆ และเจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.5 × 8.25 µm ไม่พบการสร้าง setae
SKT037	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.25 × 7.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.25 × 8.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75 × 8 µm ไม่พบการสร้าง setae

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 29 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะ appressoriaและ setae ที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
SKT046	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.25 × 7.75 µm setae เรียวยาวปลายแหลมขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำ มีขนาด 2.65 ×45.5 µm	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.25 × 8.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.75 × 9 µm ไม่พบการสร้าง setae
SKT048	รูปร่าง circular และ long clavateผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด6.25 × 8 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circular และ long clavateผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6 × 8.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circular และ long clavateผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.5 × 8.5 µm ไม่พบการสร้าง setae
SKT059	รูปร่าง lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด6.5 × 8.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75 × 9 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง lobe และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 7.5 µm ไม่พบการสร้าง setae
SKT060	รูปร่าง clavate และ irregular ผนังหนาเรียบสีน้ำตาลดำขนาด5 × 11.5 µm setae เรียวยาวปลายแหลมผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำ มีขนาด 2.5 ×63 µm	รูปร่าง clavate และ irregular ผนังหนาเรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.75 × 9.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate และ irregular ผนังหนาเรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.25 × 8 µm ไม่พบการสร้าง setae
SSK018	รูปร่าง circularผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6× 8 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circularผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.75× 7.25 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง circularผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6× 7.75 µm setae เรียวยาวปลายแหลมขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลดำมีขนาด 2.5 ×55.5 µm
SSK020	รูปร่าง lobe และ long clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด5.75 × 7.75 µm setae เรียวเสมอกันปลายทู่ขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลมีขนาด 2.65 ×40 µm	รูปร่าง lobe และ long clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6 × 8 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง lobe และ long clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 9.25 µm ไม่พบการสร้าง setae

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 29 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะ appressoriaและ setae ที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
SSK049	รูปร่าง long clavate และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด6 × 7.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 7.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate และ irregular ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6 × 7.75 µm setae เรียวเสมอกันปลายทู่ขนาดสั้นผนังไม่เรียบสีน้ำตาลมีขนาด 2.5 ×63.5 µm
SSK050	รูปร่าง clavate และ long clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด5.75 × 7.25 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate และ long clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.75 × 8 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate และ long clavate ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.75 × 8 µm ไม่พบการสร้าง setae
UBR082	รูปร่าง clavate และ irregular ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด6.75 × 7 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate และ irregular ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 5.75 × 9.25 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง clavate และ irregular ผนังเรียบเล็กน้อยสีน้ำตาลขนาด 6.25 × 7.5 µm ไม่พบการสร้าง setae
UBR092	รูปร่าง long clavate และ lobeผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด5.5 × 11.25 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate และ lobeผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.75 × 9.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง long clavate และ lobeผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.75 × 8.75 µm ไม่พบการสร้าง setae
UDT096	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.25 × 9.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.5 × 8.25 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregularผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 8.5 µm ไม่พบการสร้าง setae
UDT097	รูปร่าง cylindrical และ long clavate ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด5.5 × 8.25 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง cylindrical และ long clavate ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6 × 9.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง cylindrical และ long clavate ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.25 × 8 µm ไม่พบการสร้าง setae

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 29 (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะ appressoriaและ setae ที่เวลา 0 เดือน	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บบนอาหาร PCA	ลักษณะ appressoriaและ setae เมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
UDT098	รูปร่าง irregular และ clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด6 × 8.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregular และ clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6.5 × 9.5 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง irregular และ clavate ผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 6 × 8.5 µm ไม่พบการสร้าง setae
UDT103	รูปร่าง cylindricalและ long clavate ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด5.5 × 12.25 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง cylindricalและ long clavate ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 8.75 µm ไม่พบการสร้าง setae	รูปร่าง cylindricalและ long clavate ยาวผนังหนาไม่เรียบสีน้ำตาลดำขนาด 5.5 × 7.25 µm ไม่พบการสร้าง setae

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริก

จากการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท บนผลพริกพันธุ์จินดาก่อนการเก็บรักษาเชื้อ โดยใช้วิธี artificial inoculation ด้วย mycelia disc หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน พบว่า แผลบนผลพริกมีอาการเป็นจุดช้ำ เนื้อเยื่อยุบตัวลง แผลมีรูปร่างกลมหรือรี บริเวณขอบมีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ขอบแผลสม่ำเสมอ มีตุ่มเล็กๆ สีดำเรียงซ้อนกันเป็นรูปวงรีหลายชั้น ซึ่งเป็นกลุ่มของ acervulus บางครั้งพบกลุ่ม conidial mass ลักษณะเยิ้มสี salmon และ pale salmon บริเวณแผล ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในทุกๆไอโซเลท จากนั้นนำเชื้อราซึ่งเก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 12 เดือน มาทดสอบความรุนแรงโรคบนผลพริกพันธุ์จินดา พบว่าแผลบนผลพริกมีลักษณะยุบตัวลง แผลเกิดใหม่มีสีเหลืองส้ม ต่อมาแผลมีสีคล้ำลง พบการสร้างของกลุ่ม acervulus เรียงซ้อนกันเป็นวงๆ อยู่ในบริเวณแผล บางครั้งพบการสร้าง conidial mass สี salmon นอกจากนี้พบว่าบางไอโซเลทหลังการเก็บรักษา เป็นเวลา 12 เดือน แล้วนั้น ทำให้ความรุนแรงของโรคลดลง หรือสูญเสียความสามารถในการทำให้เกิดโรคได้ เช่น ไอโซเลท CM039 ก่อนการเก็บรักษาสามารถทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีพื้นที่การเกิดโรค 3.42 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาบนอาหาร PCA เป็นเวลา 12 เดือน พบว่าสามารถทำให้เกิดโรคได้ 80 เปอร์เซ็นต์ และมีพื้นที่การเกิดโรค 2.83 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 12 เดือน พบว่าสูญเสียความสามารถในการทำให้เกิดโรค (ภาพที่ 33) ส่วนไอโซเลท KK049 ก่อนการเก็บรักษาสามารถทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีพื้นที่การเกิดโรค 8.85 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาบนอาหาร PCA เป็นเวลา 12 เดือน พบว่าสามารถทำให้เกิดโรคได้ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ มีพื้นที่การเกิดโรค 2.63 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่เก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 12 เดือน พบว่าสูญเสียความสามารถทำให้เกิดโรคได้ (ภาพที่ 33)ในขณะที่ไอโซเลท SSK049 ก่อนการเก็บรักษาสามารถทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีพื้นที่การเกิดโรค 14.89 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาบนอาหาร PCA เป็นเวลา 12 เดือน พบว่าสามารถทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีพื้นที่การเกิดโรค 10.21 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่เก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 12 เดือน พบว่าสามารถทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีพื้นที่การเกิดโรค 7.23 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 33)

เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อบน ผลพริกพันธุ์จินดาพบว่า เชื้อราที่เก็บบนอาหาร PCA ที่ยังมีความสามารถในการทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 42 ไอโซเลท ได้แก่ CM001-2, CM011-1, CM013-2, CR011-1, KCB165, KCB170, KCB173,

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

KCB182, KK037, NKP013, NKP018, NKP089, NKP091, NKP092, NKS140, NKS141, NKS147, NRS022, NRS030, PCB002, PCB006, PCB034, PKK067, PKK077, PKK079, PKK083, PSL113, PSL115, PSL122, PSL131, SKT037, SKT046, SKT048, SKT059, SKT060, SSK018, SSK049, SSK050, UBR092, UDT096, UDT097 และ UDT103 ส่วนไอโซเลทที่ทำให้เกิดโรค 60-80 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 13 ไอโซเลท ได้แก่ CM029-1, CM039, KK075, NKS144, NRS014-1, PCB026, PCB048, PKK068, PSL076, SKT011, SSK020, UBR082 และ UDT098 ส่วนไอโซเลทที่ทำให้เกิดโรคได้ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ KK049, KK055 และ KK063 (ตารางที่ 30)

ส่วนเชื้อราที่เก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อทดสอบบนผลพริกพันธุ์จินดา พบว่ามีเพียง 7 ไอโซเลท ที่พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ KCB165, NKS141, PCB026, SSK018, SSK049, SSK050 และ UBR 082 ส่วนที่ทำให้เกิดโรค 60-80 และ 20-40 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 20 และ 22 ไอโซเลท ตามลำดับ ในขณะที่ 9 ไอโซเลท สูญเสียความสามารถในการทำให้เกิดโรค ได้แก่ ไอโซเลท CM011-1, CM039, KK049, KK063, NRS014-1, NRS022, PKK068, PSL122 และ SKT046 (ตารางที่ 30)

เมื่อเปรียบเทียบความรุนแรงของโรค พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เก็บบน PCA มีความรุนแรงในการเกิดโรคสูงกว่าเชื้อราที่เก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เชื้อราที่เก็บบน PCA ที่ยังคงมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคทั้งก่อนและหลังเก็บ 12 เดือน มีเท่ากับหรือมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 18 ไอโซเลท ได้แก่ CM013-2, KCB170, KCB182, KK037, NKP013, NKP089, NKP091, NKP092, NKS140, PCB006, PSL076, PSL115, SKT046, SKT048, SKT060, SSK049, SSK050 และ UBR082 (ตารางที่ 30)

นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา จำนวน 3 ไอโซเลท ที่มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเท่ากับหรือมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ หลังการเก็บบนอาหาร PCA 12 เดือน ขณะที่ก่อนเก็บรักษาเชื้อรามีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคที่น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ไอโซเลท NKS141, PCB002 และ PKK083

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 33 ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกพันธุ์จินดาที่ปลูกเชื้อด้วย *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท CM039, KK049 และ SSK049 (A) ก่อนการเก็บรักษา พบว่าทั้ง 3 ไอโซเลททำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (B) เมื่อเก็บรักษาบนอาหาร PCA เป็นเวลา 12 เดือน พบว่า CM039 ทำให้เกิดโรคได้ 80, KK049 ทำให้เกิดโรคได้ต่ำกว่า 50 และ SSK049 ทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (C) เมื่อเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 12 เดือน พบว่า CM039 และ KK049 สูญเสียการเกิดโรค แต่ SSK049 ยังคงเกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 30 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแผล ความรุนแรงของโรคและความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริกพันธุ์จินดาหลังการเก็บรักษาเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 12 เดือน

ไอโซเลท	เก็บรักษาเชื้อที่เวลา 0 เดือน			เก็บรักษาเชื้อบนอาหาร PCA 12 เดือน			เก็บรักษาเชื้อในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 12 เดือน		
	ค่าเฉลี่ยของแผล (มม.)	ความรุนแรง (%)	การเกิดโรค (%)	ค่าเฉลี่ยของแผล (มม.)	ความรุนแรง (%)	การเกิดโรค (%)	ค่าเฉลี่ยของแผล (มม.)	ความรุนแรง (%)	การเกิดโรค (%)
CM 001-2	7.84^{cdefgh}	7.5376^{cdefgh}	100	4.78^{bcdefg}	4.596^{bcdef}	100	$4.14^{abcdefg}$	3.98^{abcdef}	80
CM 011-1	$12.46^{abcdefgh}$	$11.982^{abcdefgh}$	100	$9.9^{abcdefg}$	9.52^{abcdef}	100	0^{g}	0^{f}	0
CM 013-2	16.58^{abc}	15.942^{abc}	100	$11.22^{abcdefg}$	10.788^{abcdef}	100	0.3^{g}	0.288^{f}	20
CM 029-1	9.62^{cdefgh}	9.252^{cdefgh}	100	3.28^{bcdefg}	3.156^{bcdef}	80	0.72^{defg}	0.694^{def}	40
CM 039	3.56^{gh}	3.422^{gh}	100	2.94^{bcdefg}	2.826^{bcdef}	80	0^{g}	0^{f}	0
CR 011-1	$10.3^{abcdefgh}$	$9.904^{abcdefgh}$	100	$5.8^{abcdefg}$	5.576^{abcdef}	100	0.7^{defg}	0.672^{def}	20
KCB 165	$13.92^{abcdefg}$	$13.386^{abcdefg}$	100	4.58^{bcdefg}	4.408^{bcdef}	100	7.969^{abc}	7.652^{abc}	100
KCB 170	$13.06^{abcdefgh}$	$12.64^{abcdefgh}$	100	$13.16^{abcdefg}$	12.654^{abcdef}	100	1.08^{cdefg}	1.038^{cdef}	40
KCB 173	16.76^{abc}	16.116^{abc}	100	$9.52^{abcdefg}$	9.152^{abcdef}	100	$4.96^{abcdefg}$	4.766^{abcdef}	80
KCB 182	15.24^{abcde}	14.654^{abcde}	100	15.36^{abcd}	14.77^{abc}	100	$3.42^{abcdefg}$	3.288^{abcdef}	80
KK 037	$13.06^{abcdefgh}$	$12.558^{abcdefgh}$	100	$12.5^{abcdefg}$	12.018^{abcdef}	100	$4.14^{abcdefg}$	3.99^{abcdef}	60
KK 049	9.2^{cdefgh}	8.848^{cdefgh}	100	2.74^{bcdefg}	2.626^{bcdef}	20	0^{g}	0^{f}	0
KK 055	$10.04^{bcdefgh}$	$9.652^{bcdefgh}$	100	4.3^{bcdefg}	4.126^{bcdef}	40	1.72^{bcdefg}	1.652^{bcdef}	60
KK 063	2.9^{h}	2.79^{h}	100	0.8^{g}	0.77^{f}	40	0^{g}	0^{f}	0
KK 075	9.28^{cdefgh}	8.924^{cdefgh}	100	3.22^{bcdefg}	3.094^{bcdef}	60	$3.12^{abcdefg}$	3^{abcdef}	40
NKP 013	$12.82^{abcdefgh}$	$12.326^{abcdefgh}$	100	$10.44^{abcdefg}$	10.038^{abcdef}	100	1.44^{bcdefg}	1.384^{bcdef}	20
NKP 018	$12.54^{abcdefgh}$	$12.058^{abcdefgh}$	100	$9.42^{abcdefg}$	9.06^{abcdef}	100	$4.14^{abcdefg}$	3.976^{abcdef}	80
NKP 089	$13.06^{abcdefgh}$	$12.558^{abcdefgh}$	100	14.86^{abcde}	14.288^{abcd}	100	$3.54^{abcdefg}$	3.402^{abcdef}	40

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 30 (ต่อ)

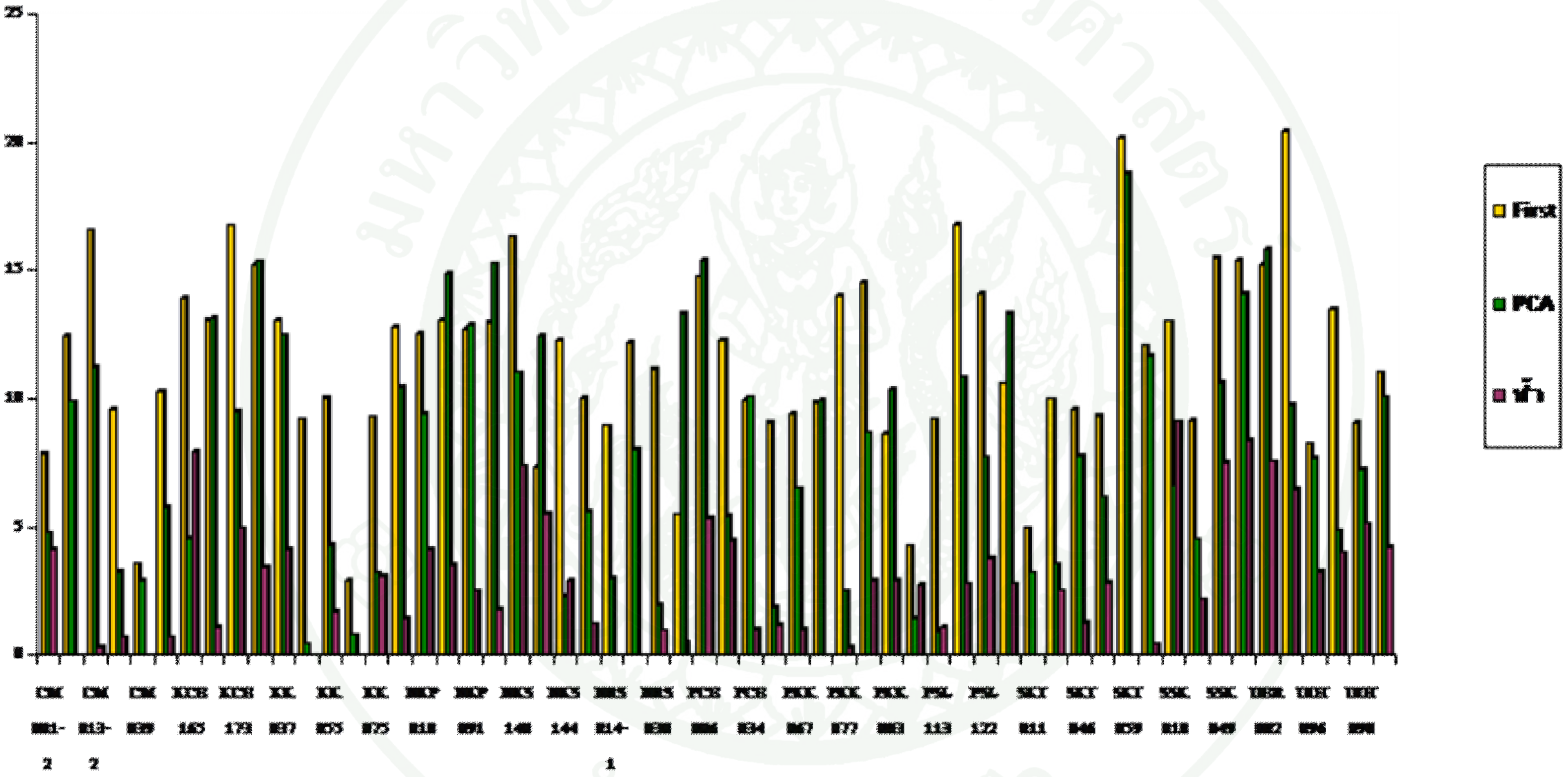
ไอโซเลท	เก็บรักษาเชื้อที่เวลา 0 เดือน			เก็บรักษาเชื้อบนอาหาร PCA 12 เดือน			เก็บรักษาเชื้อในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 12 เดือน		
	ค่าเฉลี่ยของแผล (มม.)	ความรุนแรง (%)	การเกิดโรค (%)	ค่าเฉลี่ยของแผล (มม.)	ความรุนแรง (%)	การเกิดโรค (%)	ค่าเฉลี่ยของแผล (มม.)	ความรุนแรง (%)	การเกิดโรค (%)
NKP 091	12.72^{abcdefgh}	12.232^{abcdefgh}	100	12.88^{abcdefg}	12.386^{abcdef}	100	2.52^{abcdefg}	2.424^{abcdef}	40
NKP 092	12.96^{abcdefgh}	12.462^{abcdefgh}	100	15.26^{abcd}	14.674^{abc}	100	1.8^{bcdefg}	1.728^{bcdef}	40
NKS 140	16.32^{abc}	15.694^{abc}	100	11.04^{abcdefg}	10.616^{abcdef}	100	7.38^{abcdef}	7.092^{abcde}	80
NKS 141	7.36^{cdefgh}	7.076^{cdefgh}	100	12.48^{abcdefg}	12^{abcdef}	100	5.54^{abcdefg}	5.216^{abcdef}	100
NKS 144	12.26^{abcdefgh}	11.79^{abcdefgh}	100	2.32^{defg}	3.168^{bcdef}	80	2.94^{abcdefg}	2.826^{abcdef}	40
NKS 147	10.04^{bcdefgh}	9.654^{bcdefgh}	100	5.62^{bcdefg}	5.396^{bcdef}	100	1.24^{cdefg}	1.19^{cdef}	60
NRS014-1	8.94^{cdefgh}	8.598^{cdefgh}	100	3^{bcdefg}	2.886^{bcdef}	80	0^{g}	0^{f}	0
NRS 022	12.18^{abcdefgh}	11.71^{abcdefgh}	100	8.02^{abcdefg}	7.712^{abcdef}	100	0^{g}	0^{f}	0
NRS 030	11.18^{abcdefgh}	10.75^{abcdefgh}	100	1.98^{efg}	1.906^{def}	100	0.98^{defg}	0.94^{def}	60
PCB 002	5.48^{defgh}	5.272^{defgh}	100	13.3^{abcdefg}	12.788^{abcdef}	100	0.54^{efg}	0.518^{ef}	20
PCB 006	14.74^{abcde}	14.172^{abcde}	100	15.42^{abc}	14.828^{abc}	100	5.34^{abcdefg}	5.13^{abcdef}	80
PCB 026	12.28^{abcdefgh}	11.806^{abcdefgh}	100	5.44^{bcdefg}	5.232^{bcdef}	60	4.5^{abcdefg}	4.36^{abcdef}	100
PCB 034	9.94^{bcdefgh}	9.558^{bcdefgh}	100	10.08^{abcdefg}	9.692^{abcdef}	100	1^{cdefg}	0.962^{cdef}	40
PCB 048	9.1^{cdefgh}	8.754^{cdefgh}	100	1.9^{efg}	1.836^{def}	80	1.18^{cdefg}	1.134^{cdef}	40
PKK 067	9.4^{cdefgh}	9.042^{cdefgh}	100	6.52^{abcdefg}	6.268^{abcdef}	100	1^{cdefg}	0.962^{cdef}	40
PKK 068	9.84^{bcdefgh}	9.46^{bcdefgh}	100	9.92^{abcdefg}	9.538^{abcdef}	80	0^{g}	0^{f}	0
PKK 077	14.04^{abcdef}	13.498^{abcdef}	100	2.52^{cdefg}	2.422^{cdef}	100	0.32^{g}	0.306^{f}	20
PKK 079	14.56^{abcdef}	13.998^{abcdef}	100	8.68^{abcdefg}	8.336^{abcdef}	100	2.9^{abcdefg}	2.788^{abcdef}	40
PKK 083	8.66^{cdefgh}	8.326^{cdefgh}	100	10.4^{abcdefg}	10^{abcdef}	100	2.94^{abcdefg}	2.87^{abcdef}	80
PSL 076	16.8^{abc}	16.154^{abc}	100	10.84^{abcdefg}	10.462^{abcdef}	100	2.78^{abcdefg}	2.676^{abcdef}	80

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 30 (ต่อ)

ไอโซเลท	เก็บรักษาเชื้อที่เวลา 0 เดือน			เก็บรักษาเชื้อบนอาหาร PCA 12 เดือน			เก็บรักษาเชื้อในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 12 เดือน		
	ค่าเฉลี่ยของแผล (มม.)	ความรุนแรง (%)	การเกิดโรค (%)	ค่าเฉลี่ยของแผล (มม.)	ความรุนแรง (%)	การเกิดโรค (%)	ค่าเฉลี่ยของแผล (มม.)	ความรุนแรง (%)	การเกิดโรค (%)
PSL 113	14.12^{abcdef}	13.576^{abcdef}	100	$7.74^{abcdefg}$	7.45^{abcdef}	100	$3.78^{abcdefg}$	4.016^{abcdef}	60
PSL 115	$10.6^{abcdefgh}$	$10.296^{abcdefgh}$	100	$13.34^{abcdefg}$	12.83^{abcdef}	100	$2.8^{abcdefg}$	2.692^{abcdef}	40
PSL 122	4.96^{efgh}	4.768^{efgh}	100	3.22^{bcdefg}	3.098^{bcdef}	80	0^{g}	0^{f}	0
PSL 131	$10^{bcdefgh}$	$9.616^{bcdefgh}$	100	3.56^{bcdefg}	3.428^{bcdef}	100	$2.54^{abcdefg}$	2.442^{abcdef}	40
SKT 011	9.6^{cdefgh}	9.228^{cdefgh}	100	$7.78^{abcdefg}$	7.488^{abcdef}	100	1.28^{cdefg}	1.228^{cdef}	60
SKT 037	9.32^{cdefgh}	8.964^{cdefgh}	100	$6.16^{abcdefg}$	5.906^{abcdef}	100	$2.84^{abcdefg}$	2.73^{abcdef}	80
SKT 046	20.16^{ab}	19.386^{ab}	100	18.76^{a}	18.034^{a}	100	0^{g}	0^{f}	0
SKT 048	16.8^{abc}	16.154^{abc}	100	$10.84^{abcdefg}$	10.462^{abcdef}	100	$2.78^{abcdefg}$	2.676^{abcdef}	80
SKT 059	14.12^{abcdef}	13.576^{abcdef}	100	$7.74^{abcdefg}$	7.45^{abcdef}	100	$3.78^{abcdefg}$	4.016^{abcdef}	60
SKT 060	$12.06^{abcdefgh}$	$11.596^{abcdefgh}$	100	$11.66^{abcdefg}$	11.21^{abcdef}	100	0.44^{fg}	0.426^{ef}	20
SSK 018	$13.02^{abcdefgh}$	$12.518^{abcdefgh}$	100	$6.66^{abcdefg}$	6.428^{abcdef}	100	9.12^{a}	8.768^{a}	100
SSK 020	9.14^{cdefgh}	$8.78^{bcdefgh}$	100	4.54^{bcdefg}	4.364^{bcdef}	60	$2.18^{abcdefg}$	2.098^{abcdef}	40
SSK 049	15.48^{abcd}	14.884^{abcd}	100	$10.62^{abcdefg}$	10.212^{abcdef}	100	7.5^{abcde}	7.23^{abcd}	100
SSK 050	15.4^{abcd}	14.808^{abcd}	100	14.1^{abcdef}	13.56^{abcde}	100	8.38^{ab}	8.058^{ab}	100
UBR 082	15.24^{abcde}	14.652^{abcde}	100	15.86^{ab}	15.25^{ab}	80	7.56^{abcd}	7.27^{abcd}	100
UBR 092	20.44^{a}	19.652^{a}	100	$9.76^{abcdefg}$	9.382^{abcdef}	100	$6.46^{abcdefg}$	6.214^{abcdef}	80
UDT 096	8.24^{cdefgh}	7.924^{cdefgh}	100	$7.68^{abcdefg}$	7.382^{abcdef}	100	$3.28^{abcdefg}$	3.154^{abcdef}	20
UDT 097	$13.48^{abcdefg}$	$12.96^{abcdefg}$	100	4.88^{bcdefg}	4.692^{bcdef}	100	$4^{abcdefg}$	3.848^{abcdef}	60
UDT 098	9.1^{cedefg}	8.75^{cdefgh}	100	$7.26^{abcdefg}$	6.98^{abcdef}	60	$5.12^{abcdefg}$	4.922^{abcdef}	80
UDT 103	$11.02^{abcdefgh}$	$10.592^{abcdefgh}$	100	$10.08^{abcdefg}$	9.692^{abcdef}	100	$4.22^{abcdefg}$	4.058^{abcdef}	40

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 34 เปรียบเทรยบตาสเฉลี่ยของขนาดแผลบนผลพริกพันธุ์จินดา หลังจากปลูกเชื้อรา *C. Gloeosporioides* ซึ่งก่อนเก็บรักษา และหลังการเก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเมื่อเวลาผ่านไป 12 เดือน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาความผันแปรของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลท ซึ่งเก็บมาจากพื้นที่ปลูกพริก 14 จังหวัดคือ เชียงราย เชียงใหม่ สุโขทัย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ อุดรธานี ขอนแก่น นครราชสีมา ศรีสะเกษ อุบลราชธานี กาญจนบุรี นครปฐม และประจวบคีรีขันธ์ อาศัยลักษณะของโคโลนีสามารถแบ่งกลุ่มของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้จำนวน 8 กลุ่ม เมื่อแบ่งกลุ่มตามลักษณะของสปอร์มีความแตกต่างไปจากการแบ่งตามลักษณะโคโลนี พบว่าสามารถแบ่งได้จำนวน 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 สปอร์มีรูปร่างตรง ทรงกระบอกเรียว ปลายมน ขนาด 10.38 – 13.13 × 2.75 – 3.38 ไมโครเมตร กลุ่มที่ 2 สปอร์มีรูปร่างตรง ทรงกระบอกใหญ่ ปลายมน ขนาด 11.50 – 13.38 × 3.00 – 3.88 ไมโครเมตร กลุ่มที่ 3 สปอร์มีรูปร่างตรง ทรงกระบอกใหญ่สั้นไปจนถึงรูปไข่ ปลายมน ขนาด 8.63 × 2.63 ไมโครเมตร ขณะที่ลักษณะของ setae และ appressorium นั้นพบว่าในแต่ละไอโซเลทเองนั้นสร้างได้โดยมีรูปร่างหลายแบบ จึงไม่น่าจะนำมาเป็นตัวชี้วัดได้

การศึกษาเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล จากการศึกษาโดยใช้ปฏิกิริยา PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* คือ *Cg*Int (5’-GGCCTCCCGCCTCCGGGCGG-3’) ร่วมกับ universal primer ITS4 (5’-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3’) ได้แถบดีเอ็นเอตรงบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ขนาดประมาณ 450 คู่เบส เมื่อนำผลผลิต ITS มาศึกษาต่อด้วยเทคนิค RFLP โดยตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะทั้ง 3 ชนิด คือ *Hae*III, *Pvu*II และ *Eco*RI พบว่า เอนไซม์ตัดจำเพาะทั้ง 3 ชนิดสามารถตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ โดยเอนไซม์ *Hae*III สามารถตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *C. gloeosporioides* ได้ โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่ม 1 ตัดดีเอ็นเอได้ 2 ชิ้น มีขนาด 169 และ 281 คู่เบส และกลุ่ม 2 ตัดดีเอ็นเอได้ 2 ชิ้นมีขนาด 150 และ 300 คู่เบส ส่วนเอนไซม์ *Pvu*II ตัดดีเอ็นเอของ *C. gloeosporioides* ได้ 2 กลุ่ม กลุ่ม 1 ตัดดีเอ็นเอได้ 2 ชิ้น มีขนาด 179 และ 271 คู่เบส และกลุ่ม 2 ตัดดีเอ็นเอได้ 1 ชิ้นมีขนาด 271 คู่เบส เอนไซม์ *Eco*RI สามารถตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *C. gloeosporioides* ได้ โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่ม 1 ตัดดีเอ็นเอได้ 2 ชิ้น มีขนาด 150 และ 300 คู่เบส และกลุ่ม 2 ตัดดีเอ็นเอได้ 1 ชิ้น มีขนาด 300 คู่เบส เมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์และจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA โดยใช้โปรแกรม NTSYS 2.20e ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (similarity coefficient) 70 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ค่า cophenetic correlation (r) เท่ากับ 0.85 มีค่า bootstrap 86 สามารถแบ่งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 มีจำนวน 23 ไอโซเลท ซึ่งเป็นไอโซเลทที่เก็บมาจาก 7 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ขอนแก่น นครปฐม นครสวรรค์ ประจวบคีรีขันธ์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศรีสะเกษ และ อุบลราชธานี และกลุ่มที่ 2 มีจำนวน 35 ไอโซเลท เป็นไอโซเลทที่เก็บมาจาก 14 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ พิษณุโลก เพชรบูรณ์ อุดรธานี นครราชสีมา กาญจนบุรี ขอนแก่น นครปฐม นครสวรรค์ ประจวบคีรีขันธ์ สุโขทัย ศรีสะเกษ และ อุบลราชธานี โดยจาก dendrogram พบว่าไอโซเลท CM001-2, CM013-2, KK037, KK049, KK075, NKP018, NKP092, NKS140, NKS141, PKK067, PKK077, PKK079, SSK018, SSK020 และ UBR082 ซึ่งเก็บมาจาก เชียงใหม่ ขอนแก่น นครปฐม นครสวรรค์ ประจวบคีรีขันธ์ ศรีสะเกษ และ อุบลราชธานี มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม ส่วนไอโซเลทที่แยกจากจังหวัดเพชรบูรณ์ทั้ง 4 ไอโซเลท ไม่มีความผันแปรทางพันธุกรรม

จากการศึกษาปฏิกิริยา ISSR- PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 4 ชนิด ได้แก่ $(CAG)_5$ $(GTG)_5$ $(GACA)_4$ และ $(TGTC)_4$ สามารถสร้าง polymorphic band จำนวน 14, 14, 10 และ 10 band มีขนาด 400-1500, 400-1300, 500-1300 และ 500-1800 คู่เบส ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูล polymorphic band จำนวน 48 band มาวิเคราะห์และจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA โดยใช้โปรแกรม NTSYS 2.20e ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (similarity coefficient) 50 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ค่า cophenetic correlation (r) เท่ากับ 0.822 แสดงว่าการจัดกลุ่มอยู่ในเกณฑ์ดี กลุ่มที่จัดได้นั้นมีความน่าเชื่อถือด้วยค่า bootstrap เท่ากับ 42.4 พบว่า *C. gloeosporioides* จำนวน 58 ไอโซเลทนั้น แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม หากเปรียบเทียบความใกล้ชิดทางพันธุกรรม พบว่าเชื้อราที่เก็บในพื้นที่หนึ่งมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับอีกพื้นที่หนึ่ง เช่น CR011-1 ที่เก็บจากเชียงราย มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับ KCB182 ที่เก็บจากกาญจนบุรี เชื้อรา *C. gloeosporioides* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเก็บจากจังหวัดศรีสะเกษ อุบลราชธานี และ อุดรธานี ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมคือไอโซเลท SSK049, SSK050, UDT103, UDT097, UDT096, UDT098, UBR082 และ UBR092 สำหรับเชื้อรา CM039 นั้นเมื่อศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม โดยเทคนิค ISSR-PCR พบว่ามีลักษณะทางด้านพันธุกรรมแตกต่างไปจากกลุ่มที่เก็บมาจากจังหวัดอื่นๆ และกลุ่มที่เก็บมาจากพื้นที่เดียวกันทั้ง polymorphic bands และลำดับนิวคลีโอไทด์ แต่เมื่อใช้เทคนิค ITS-PCR พบว่าอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับ CM011-1, CM029-1 และไอโซเลทที่แยกมาจากจังหวัดเชียงราย CR001-1 การศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมครั้งนี้พบว่าเทคนิค ISSR-PCR สามารถบอกถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกได้ค่อนข้างดี

เมื่อนำเชื้อรา *C. gloeosporioides* มาทดสอบในการเก็บรักษาเชื้อบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 12 เดือน และ ศึกษาความผันแปรของเชื้อบนอาหาร PDA เป็นระยะ 4, 8

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และ 12 เดือน พบว่าหลังเก็บนาน 12 เดือนอัตราการเจริญของเชื้อราที่เก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อต่ำลง ขณะที่เมื่อเก็บรักษาบนอาหาร PCA นั้น พบเชื้อราจำนวน 38 ไอโซเลท มีอัตราการเจริญบนอาหาร PDA ในเดือนที่ 12 เกิน 5 มิลลิเมตร ทั้งนี้เมื่อวัดการเจริญเติบโตในวันที่ 3 บนอาหาร PDA และเมื่อศึกษาการงอกของสปอร์พบว่าเมื่อเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 12 เดือน เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ลดต่ำลง เมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บรักษาบนอาหาร PCA จากการศึกษาลักษณะทางโคโลนีพบว่าทุกไอโซเลทมีการเปลี่ยนแปลงไปทุกระยะ และรูปร่างของสปอร์มีการเปลี่ยนแปลงไปเช่นกัน ขณะที่ลักษณะของ setae และ appressorium เป็นลักษณะที่ไม่ผันแปร ซึ่งระยะเวลาของการเก็บรักษาเชื้อราและความแตกต่างของการเก็บรักษาเชื้อ ทำให้เกิดความผันแปรทางลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้

การทดสอบการทำให้เกิดโรคบนผลพริกพันธุ์จินดา โดยใช้เชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เก็บรักษาบนอาหาร PCA และในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นระยะเวลา 12 เดือนใช้วิธี artificial inoculation ด้วย mycelia disc ในการปลูกเชื้อพบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เก็บรักษาบนอาหาร PCA โดยไอโซเลท CM001-2, CM011-1, CM013-2, CR011-1, KCB165, KCB170, KCB173, KCB182, KK037, NKP013, NKP018, NKP089, NKP091, NKP092, NKS140, NKS141, NKS147, NRS022, NRS030, PCB002, PCB006, PCB034, PKK067, PKK077, PKK079, PKK083, PSL113, PSL115, PSL122, PSL131, SKT037, SKT046, SKT048, SKT059, SKT060, SSK018, SSK049, SSK050, UBR092, UDT096, UDT097 และ UDT103 ยังคงมีความสามารถในการทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไอโซเลท CM029-1, CM039, KK075, NKS144, NRS014-1, PCB026, PCB048, PKK068, PSL076, SKT011, SSK020, UBR082 และ UDT098 ทำให้เกิดโรค 60-80 เปอร์เซ็นต์ และไอโซเลท KK049, KK055 และ KK063 ทำให้เกิดโรคได้ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อราที่เก็บรักษาเชื้อราในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ พบว่ามีเพียง 7 ไอโซเลท ที่มีเปอร์เซ็นต์ การเกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ KCB165, NKS141, PCB026, SSK018, SSK049, SSK050 และ UBR082 ส่วนที่ทำให้เกิดโรค 60-80 และ 20-40 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 20 และ 22 ไอโซเลท ตามลำดับ ในขณะที่ 9 ไอโซเลท สูญเสียความสามารถในการทำให้เกิดโรค โดยมีค่า 0 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ไอโซเลท CM011-1, CM039, KK049, KK063, NRS014-1, NRS022, PKK068, PSL122 และ SKT046 จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าวิธีการเก็บรักษาเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีผลต่อ pathogenicity ของเชื้อ ซึ่งทำให้เกิดความผันแปรได้ การเก็บเชื้อราที่เหมาะสมเท่านั้นที่จะยังคงประโยชน์ต่อการนำไปใช้ต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

ธารทิพย ภาสบุตร กรรณิการ์ เพี้ยนภักตร์ และธนิตย์ ปล่องบรรจง. 2548. **รวบรวมและจัดจำแนกชนิดเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของไม้ผลและพืชเศรษฐกิจ.** กลุ่มวิจัยโรคพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรุงเทพฯ.

ไพโรจน์ จ๋วงพานิช. 2525. **หลักวิชาโรคพืช.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

รัติยา พงศ์พิสุทธา วรานันท์ วิญญูรัตน์ โชติรส รอดเกตุ และเทพพนม แสงเพลิง. 2553. ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 41:1 (พิเศษ) 318-321 น.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. **จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกาตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2548. **พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สมศิริ จิ๋วสกุล. 2521. **เซรุ่มวิทยา การถ่ายทอดทางเมล็ดของโรคแอนแทรคโนสของพริกและประสิทธิภาพของสารเคมีควบคุมโรคบนใบ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Abang, M.M., S.T. Winter, K.R. Green, P. Hoffmann, H.D. Mignouna and G.A.Wolf. 2002. Molecular identification of *Colletotrichum gloeosporioides* causing yam anthracnose in Nigeria. **Plant Pathology** 51: 63-71.

Adikaram, N.K.B., A.E. Brown and T.R. Swinburne. 1982. Phytoalexin involvement in the latent infection of *Capsicum annuum* L. fruit caused by *Glomerella cingulata (Stonem*). **Physiological Plant Pathology** 21: 161-170.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Afanador, K.L., D. Minz, M. Maymon and S. Freeman. 2003. Characterization of *Colletotrichum* isolates from tamarillo passiflora and mango in Columbia and identification of a unique species from the genus. **Phytopathology** 93: 579-587.

Bailey, J.A. and M.J. Jeger. 1992. Colletotrichum Biology, Pathology and Control **CAB International**. Wallingford UK. 15 p.

Bernstein, B., E.I. Zehr, R.A. Dean and E. Shabi. 1995. Characteristics of *Colletotrichum* from peach, apple, pecan and other hosts. **Plant Diseases** 79: 478-482.

Brown, A.E., S. Sreenivasaprasad and L.W. Timmer. 1996. Molecular characterization of slow-growing orange and key lime antracnose strain of *Colletotrichum* from citrus as *C. acutatum*. **Phytopathology** 86: 523-527.

Carlos, G., C. Maria, J.F.A. Francisco, B. Giles, V. Inmaculada, C. Alison and M.C. Jesus. 2008. Isolation and pathogenicity of *Colletotrichum* spp. Causing anthracnose of strawberry in south west Spain. European *Journal of Plant Pathology* ***120: 409-415.***

Dunaevsky, Y.E., A.R. Matveeva, G.A. Beliakova, V.I. Domash and M.A. Belozersky. 2006. Extracellular Alkaline Proteinase of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Biochemistry** (Moscow) 72 (3): 345-350.

Freeman, S., D. Minz, E. Jurkevitch, M. Maymon and E. Shabi. 2000. Molecular Analyses of *Colletotrichum* Species from Almond and Other Fruits. **Phytopathology** 90: 608-614.

Freeman, S., D. Minz, Maymon and A. Veibil. 2001. Genetic diversity within *Colletotrichum acutatum* sensu Simmonds. **Phytopathology** 91: 586-592.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Guozhong, L.U., F.C. Paul, R. Alex and M.S. Coralie. 2004. Diversity and molecular relationships of endophytic *Colletotrichum* isolates from the Iwokrama Forest Reserve Guyana. **Mycologia Research** 108(1): 53-63.

Hadden, J.F. and L.L. Black. 1987. Comparison of virulence of tomato and pepper isolates of *Colletotrichum* spp. **Phytopathology** 77: 641.

Kanchalika, R., H.K. Wang, F.C. Lin and S. Kasem. 2010. ISSR for comparison of cross-inoculation potential of Colletotrichum capsici causing chilli anthracnose. African **Journal of Microbiology Research** 4(1): 76-83.

Joshi, S.P., V.S. Gupta, R.K. Aggarwal, P.K. Ranjekar and D.S. Brar. 2000. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus Oryza. Theoretical and Applied Genetics 60:1311-1320.

Jouji, M., S. Toyozo and T. Takao. 2003. Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum boninense* sp. nov. from Japan. **Mycoscience** 44 : 47-53.

Martinez, C.P.V., A. Querol, F.M.B. Suarez, L.M.D. Garcia and E. Barrio. 2003. Phylogenetic relationships among *Colletotrichum* pathogens of strawberry and design of PCR primer for their identification. **Journal of Phytopathology** 151: 135-143.

Medeiros, L.V., D.B. Maciel, V.V. Medeiros, K.L.M. Houlloun and N.T. Oliveira. 2010. *Pel*B gene in isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from several hosts. **Genetics and Molecular Research** 9(2): 661-673.

Mendgen, K., M. Hanh and H. Diesing. 1996. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. Annual Review of **Phytopathology** 34: 367-386.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Munaut, F. T., N. Hamaide and H. Maraite. 2001. Molecular and morphological characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* from native Mexican *Stylosanthes* species. **Plant Pathology** 50: 383-396.

Nagaoka, T. and Y. Ogihara. 1997. Applicability of inter_simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics 94: 597-602.

Nair, J., F.J . Newhoor and J.B. Corbin. 1983. Survival of *Colletotrichum acutatum* f.sp. pinea in soil and pine debris. Transactions of the British **Mycological Society** 81(1): 53-63.

Pedro, V.M.C., B. Eladio, G.M. Dolores and Q. Amparo. 2000. Identification of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose of strawberry based on the internal transcribed spacers of the ribosomal region.Federation of European **Microbiological Societies** 189: 97-101.

Pedro, T., S. Sreenivasaprasad, N.M. Joao and O. Helena. 2002. Genetic and Morphological Characterization of *Colletotrichum acutatum* Causing Anthracnose of Lupins. **Phytopathology** 92(9): 986-996.

Pitt, J.I. and A.D Hocking. 1997. **Fungi and Food Spoilage Second edition**. London Blackie Academic and Professional. p. 593.

Ploetz, R.C., G.A. Zentmayer, W.T. Nishjima, K.G. Rohrbach and H.D. Ohr. 1994 Compendium of tropical fruit diseases. **American Phytopathological Society**. p. 2–22.

Raul, T.T., Q.R. Andres, C.V. Alberto, L. Patricia, L.S. Alfonso and P.B. Daisy. 2008. PCR-Based Detection and Characterization of the Fungal Pathogens *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum capsici* Causing Anthracnose in Papaya(*Carica papaya* L.) in the Yucatan Peninsula. **Molecular Biotechnology** 40: 293-298.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Ripoche, A., G. Jacqua, F. Bussiere, S. Guyader and J. Sierra. 2008. Survival of *Colletotrichum gloeosporioides* (causal agent of yam anthracnose) on yam residues decomposing in soil. Applied **Soil Ecology** 38: 270-278.

Rohlf, F.J. and R.R. Sokal. 1981. **Comparing numerical taxonomic studies**. Systematic Zool. 30: 459-490.

Samuels, G.J. and K.A. Seifert. 1995. The impact of molecular characters on systematics of filamentous ascomycetes. Annual Reviews **Phytopathology**. 33: 37-67.

Simmonds, J.H. 1965. A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland. Queensland **Journal of Agriculture and Animal Science**. 22: 437-459.

Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes Fungi Imperfecti with Pycnidia Acervuli and Stromata. Surrey England Commonwealth Mycological Institute. p. 696.

_______ 1992. The Genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In *Colletotrichum* biology pathology and control (eds. J.A. Bailey and M.J. Jeger). CAB International. Wallingford. p. 1-26.

Surzycki, S. 2000. **Basic Techniques in Molecular Biology**. Springer-Verlag, Germany.

Walton, J.D. 1994. Deconstructing the cell wall. **Plant physiology** 104: 1113-1118.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pages 315-322 in: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. M.A. Innis, D.H. Gelfand and J.J. Sninsky, eds. Academic Press, San Diego, CA.

Yap, I.V. and R.J. Nelson. 1996. Winboot:program for performing bootstrap analysis of binary data to determine the confidence limits of UPGMA-based dendrogram. International rice research lnstitute. Manita, Philippines.

Zimand, G., L. Valinsky, Y. Elad, I. Chet and S. Manulis. 1994. Use of RAPD procedure for the identification of Trichoderma strains. **Mycological Research** 95: 531–534.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

<u>สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

1. Potato Dextrose Agar (PDA)

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาล Dextrose	20	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

2. Potato Carrot Agar (PCA)

มันฝรั่ง	20	กรัม
แครอท	20	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

3. Water Agar (WA)

วุ้น	15	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

4. Spezieller Nahrstoffarmer broth (SNB)

KH_2PO_4	1	กรัม
KNO_3	1	กรัม
$MgSO_4.\ 7H_2O$	0.5	กรัม
KCL	0.5	กรัม
น้ำตาล Sucrose	2.0	กรัม
น้ำตาล Dextrose	2.0	กรัม
Yeast Extract	1	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ – นามสกุล	นางสาวโชติรส รอดเกตุ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 4 มีนาคม พ.ศ. 2529
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ อ.เมือง จ.นครสวรรค์
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2550)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานทางวิชาการ	โชติรส รอดเกตุ รัติยา พงศ์พิสุทธา และชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. 2554. ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 42:3 (พิเศษ). 331-334 น.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์