

บทที่ 4

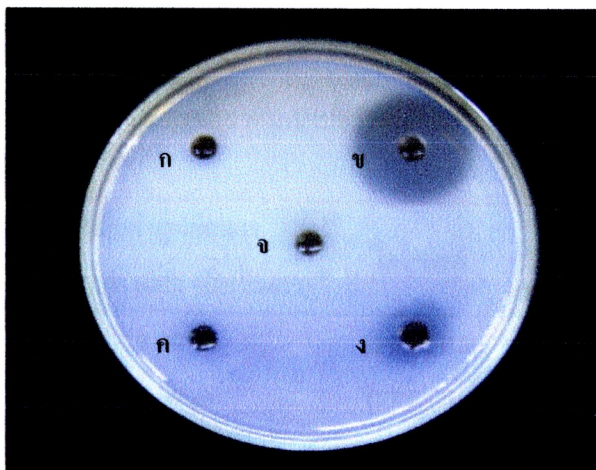
ผลการทดลอง

1. การรวบรวมและคัดเลือกเชื้อ *Metarhizium* spp.

เชื้อ *Metarhizium* spp. ที่ใช้ในการทดลองจำนวน 100 ไอโซเลต เป็นไอโซเลตที่รวบรวมได้จากห้องปฏิบัติการโรคพืชของแมลง ภายใต้โครงการวิจัยของโครงการเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร จำนวน 85 ไอโซเลต คือ IPKKU165-249 (ศิริชัย สิริมังกรรัตน์ และอลงกต โพธิ์ดี, ติดต่อบริษัท) และไอโซเลตที่เก็บรวบรวมเพิ่มเติมจากดินแปลงปลูกยางพาราในจังหวัดเลย (Lop) หนองบัวลำภู (Npp) และอุดรธานี (Udp) ซึ่งแยกเชื้อได้จำนวน 15 ไอโซเลต คือ Lop1/1, Lop1/3, Lop2/1, Lop2/2, Npp2/1, Npp2/2, Npp2/3, Npp2/5, Npp2/6, Npp2/7, Npp2/8, Npp2/10, Udp2/1, Udp2/2 และ Udp2/3

2. กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในเชิงกึ่งปริมาณของเชื้อ *Metarhizium* spp.

จากการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโปร่งแสงเพื่อหากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสของเชื้อ *Metarhizium* spp. จากการตรวจผลในเชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitative enzyme assay) (ภาพที่ 14) ในแต่ละไอโซเลต จำนวน 100 ไอโซเลต พบมีกิจกรรมทั้งหมด 97 ไอโซเลต แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโปร่งแสง พบว่ามีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 8.25 - 29.88 มิลลิเมตร (ภาพที่ 15) ซึ่งไอโซเลตที่ให้ค่าสูงสุด คือ ไอโซเลต Npp2/2 มีค่าเท่ากับ 29.88 มิลลิเมตร โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับไอโซเลต Npp2/7 (28.88 มิลลิเมตร), Npp2/6 (28.75 มิลลิเมตร), Lop2/1 (28.13 มิลลิเมตร), Udp2/3 (27.13 มิลลิเมตร), Npp2/1 (27.10 มิลลิเมตร), IPKKU166 (27.00 มิลลิเมตร), Npp2/8 (26.88 มิลลิเมตร) และ Npp2/5 (26.78 มิลลิเมตร) และ Npp2/3 (26.63 มิลลิเมตร) ส่วนไอโซเลตที่ไม่พบบริเวณโปร่งแสงมีจำนวน 3 ไอโซเลตได้แก่ IPKKU165, 234 และ 235 (ตารางที่ 4)



ภาพที่ 14 กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในเชิงกึ่งปริมาณของเชื้อ *Metarhizium* spp.

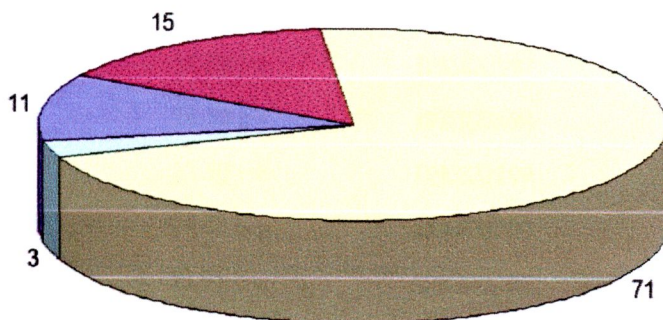
ก ไอโซเลต IPKKU165

ข ไอโซเลต IPKKU166

ค ไอโซเลต IPKKU234

ง ไอโซเลต IPKKU211

จ control culture filtrate ที่ถูกทำให้เสื่อมสภาพแล้ว



■ กิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสที่มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณโปร่งแสงระหว่าง 25.13-29.88 มิลลิเมตร

■ กิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสที่มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณโปร่งแสงระหว่าง 15.38-22.25 มิลลิเมตร

■ กิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสที่มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณโปร่งแสงระหว่าง 8.25-15.00 มิลลิเมตร

□ ไม่พบกิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอส

ภาพที่ 15 จำนวนไอโซเลตของเชื้อ *Metarhizium* spp. ที่มีและไม่มีกิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสในเชิงกึ่งปริมาณ

ตารางที่ 4 กิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอสในเชิงกึ่งปริมาณของเชื้อ *Metarhizium* spp. ไอโซเลตต่างๆ
จากการย่อยสารละลายเจลาติน 1 เปอร์เซ็นต์ ใน phosphate buffer 0.1 M, pH 7.0

ไอโซเลต	เส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโปร่งแสง (มิลลิเมตร) ^{1/}	ไอโซเลต	เส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโปร่งแสง (มิลลิเมตร) ^{1/}
IPKKU165	0.00 v	IPKKU186	8.25 u
IPKKU166	27.00 ab	IPKKU187	9.25 tu
IPKKU167	12.88 j-t	IPKKU188	13.38 i-j
IPKKU168	13.25 i-t	IPKKU189	16.13 g-k
IPKKU169	11.88 k-u	IPKKU190	12.75 j-t
IPKKU170	11.38 n-u	IPKKU191	13.25 i-t
IPKKU171	11.88 k-u	IPKKU192	12.13 k-u
IPKKU172	11.50 m-u	IPKKU193	10.00 q-u
IPKKU173	14.13 h-r	IPKKU194	12.13 k-u
IPKKU174	15.38 h-n	IPKKU195	11.50 m-u
IPKKU175	15.75 h-m	IPKKU196	10.00 q-u
IPKKU176	12.38 j-u	IPKKU197	14.38 h-q
IPKKU177	16.50 g-j	IPKKU198	14.13 h-r
IPKKU178	12.50 j-u	IPKKU199	9.75 r-u
IPKKU179	14.63 h-p	IPKKU200	9.88 r-u
IPKKU180	13.75 h-s	IPKKU201	10.75 o-u
IPKKU181	12.25 j-u	IPKKU202	16.00 g-l
IPKKU182	11.38 n-u	IPKKU203	15.00 h-o
IPKKU183	14.50 h-p	IPKKU204	13.75 h-s
IPKKU184	11.00 o-t	IPKKU205	11.13 n-t
IPKKU185	9.50 stu	IPKKU206	11.25 n-u

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P > 0.05, DMRT)



ตารางที่ 4 กิจกรรมเอนไซม์โปรตีนในเชิงปริมาณของเชื้อ *Metarhizium* spp. ไอโซเลตต่างๆ
จากการย่อยสลายละลาจลิน 1 เปอร์เซ็นต์ ใน phosphate buffer 0.1 M, pH 7.0 (ต่อ)

ไอโซเลต	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลาง บริเวณโปร่งแสง (มิลลิเมตร) ^{1/}	ไอโซเลต	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลาง บริเวณโปร่งแสง (มิลลิเมตร) ^{1/}
IPKKU207	11.00 o-u	IPKKU229	10.00 q-u
IPKKU208	10.38 p-u	IPKKU230	10.00 q-u
IPKKU209	14.50 h-p	IPKKU231	10.25 p-u
IPKKU210	10.75 o-t	IPKKU232	9.63 stu
IPKKU211	12.50 j-u	IPKKU233	9.00 tu
IPKKU212	12.50 j-u	IPKKU234	0.00 v
IPKKU213	13.75 h-s	IPKKU235	0.00 v
IPKKU214	10.50 p-u	IPKKU236	9.38 s-u
IPKKU215	11.50 m-u	IPKKU237	15.00 h-o
IPKKU216	12.63 j-u	IPKKU238	17.63 e-h
IPKKU217	14.63 h-p	IPKKU239	17.13 f-i
IPKKU218	12.38 j-u	IPKKU240	10.88 o-u
IPKKU219	10.63 p-u	IPKKU241	11.25 o-u
IPKKU220	16.13 g-k	IPKKU242	11.13 n-u
IPKKU221	11.25 n-u	IPKKU243	15.75 h-m
IPKKU222	10.00 q-u	IPKKU244	10.88 o-u
IPKKU223	10.00 q-u	IPKKU245	10.50 p-u
IPKKU224	10.00 q-u	IPKKU246	11.75 m-u
IPKKU225	12.38 j-u	IPKKU247	12.00 k-u
IPKKU226	10.00 q-u	IPKKU248	12.38 j-u
IPKKU227	19.75 d-g	IPKKU249	12.38 j-u
IPKKU228	9.25 tu	Lop1/1	20.38 def

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$, DMRT)

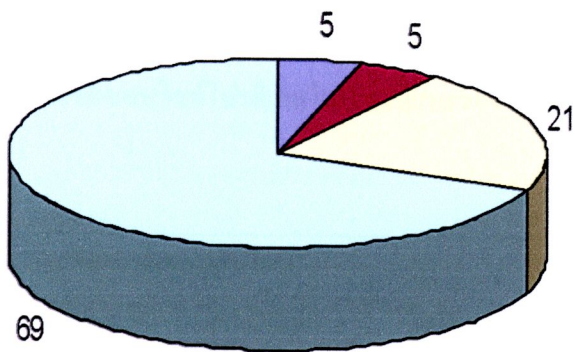
ตารางที่ 4 กิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสในเชิงปริมาณของเชื้อ *Metarhizium* spp. ไอโซเลตต่างๆ จากการย่อยสารละลายเจลาติน 1 เปอร์เซ็นต์ ใน phosphate buffer 0.1 M, pH 7.0 (ต่อ)

ไอโซเลต	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโปร่งแสง (มิลลิเมตร) ^{1/}	ไอโซเลต	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณโปร่งแสง (มิลลิเมตร) ^{1/}
Lop1/3	20.50 def	Npp2/6	28.75 ab
Lop2/1	28.13 ab	Npp2/7	28.88 ab
Lop2/2	21.13 de	Npp2/8	26.88 ab
Npp2/1	27.10 ab	Npp2/10	25.13 bc
Npp2/2	29.88 a	Udp2/1	22.25 dc
Npp2/3	26.63 ab	Udp2/2	21.50 d
Npp2/5	26.78 ab	Udp2/3	27.13 ab
C.V. (%)	17.24		

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P > 0.05, DMRT)

3. กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในเชิงปริมาณของเชื้อ *Metarhizium* spp.

จากการคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในเชิงปริมาณ (quantitative enzyme assay) ของเชื้อ *Metarhizium* spp. จำนวน 100 ไอโซเลต โดยเปรียบเทียบจากปริมาณโปรตีนใน culture filtrate พบว่า ค่าที่ได้อยู่ระหว่าง 2.39 - 379.21 ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง ซึ่งไอโซเลตที่มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุดและต่ำที่สุด คือเชื้อ *Metarhizium* spp. ไอโซเลต IPKKU218 และ 189 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 379.21 และ 2.39 ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง ตามลำดับ สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสที่มีค่าสูงรองลงมาในลำดับต้นๆ 2 อันดับ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ (P < 0.05) กับไอโซเลต IPKKU218 โดยมีค่าตั้งแต่ 92.41 ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมงขึ้นไป คือ ไอโซเลต Lop2/2 และ IPKKU196 ทั้งนี้มีค่าเท่ากับ 100.07 และ 92.41 ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง ตามลำดับ โดยที่ค่าเฉลี่ยกิจกรรมของเอนไซม์ที่มีค่าระหว่าง 78.49 - 379.21, 51.03 - 74.32 และ 25.26 - 44.26 และ 2.39 - 24.98 จำนวน 5, 5, 21 และ 69 ไอโซเลต ตามลำดับ (ภาพที่ 16, ตารางที่ 5)



- กิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสมีค่าระหว่าง 78.49-379.21 ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง
- กิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสมีค่าระหว่าง 51.03-74.32 ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง
- กิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสมีค่าระหว่าง 25.26-44.26 ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง
- กิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสมีค่าระหว่าง 2.39-24.98 ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง

ภาพที่ 16 จำนวนไอโซเลตของเชื้อ *Metarhizium* spp. ที่มีและไม่มีกิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสในเชิงปริมาณ

ตารางที่ 5 กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในเชิงปริมาณของเชื้อ *Metarhizium* spp. ไอโซเลตต่างๆ

ไอโซเลต	กิจกรรมของเอนไซม์ ^{1/}		ไอโซเลต	กิจกรรมของเอนไซม์ ^{1/}	
	[ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง]			[ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง]	
IPKKU165	35.96	h-n	IPKKU176	32.82	i-p
IPKKU166	78.49	cd	IPKKU177	8.28	s-y
IPKKU167	14.04	o-y	IPKKU178	20.88	l-y
IPKKU168	37.16	h-m	IPKKU179	23.87	j-y
IPKKU169	10.46	r-y	IPKKU180	6.94	t-y
IPKKU170	8.99	r-y	IPKKU181	28.99	j-s
IPKKU171	14.49	o-y	IPKKU182	15.86	n-y
IPKKU172	12.01	o-y	IPKKU183	9.58	r-y
IPKKU173	8.36	s-y	IPKKU184	41.99	g-k
IPKKU174	37.92	h-l	IPKKU185	21.35	k-y
IPKKU175	6.51	t-y	IPKKU186	14.55	o-y

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P > 0.05, DMRT)

ตารางที่ 5 กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในเชิงปริมาณของเชื้อ *Metarhizium* spp. ไอโซเลตต่างๆ (ต่อ)

กิจกรรมของเอนไซม์ ^{1/}		กิจกรรมของเอนไซม์ ^{1/}	
ไอโซเลต	[ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง]	ไอโซเลต	[ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง]
IPKKU187	13.27 o-y	IPKKU210	25.56 j-w
IPKKU188	5.64 u-y	IPKKU211	23.72 j-y
IPKKU189	2.39 y	IPKKU212	27.42 j-t
IPKKU190	12.95 o-y	IPKKU213	22.73 k-y
IPKKU191	20.97 k-y	IPKKU214	35.98 h-n
IPKKU192	15.08 n-y	IPKKU215	32.09 i-q
IPKKU193	8.51 s-y	IPKKU216	64.43 def
IPKKU194	12.26 o-y	IPKKU217	12.45 o-y
IPKKU195	17.26 m-y	IPKKU218	379.21 a
IPKKU196	92.41 bc	IPKKU219	3.36 xy
IPKKU197	4.71 wxy	IPKKU220	3.96 wxy
IPKKU198	25.26 j-w	IPKKU221	13.47 o-y
IPKKU199	8.62 s-y	IPKKU222	15.13 n-y
IPKKU200	5.81 t-y	IPKKU223	33.18 i-o
IPKKU201	74.32 de	IPKKU224	10.01 r-y
IPKKU202	18.71 l-y	IPKKU225	5.36 u-y
IPKKU203	11.65 p-y	IPKKU226	26.81 j-u
IPKKU204	17. 62 m-y	IPKKU227	38.31 g-m
IPKKU205	30.35 j-r	IPKKU228	8.47 s-y
IPKKU206	28.85 j-s	IPKKU229	29.26 j-s
IPKKU207	26.44 j-v	IPKKU230	18.88 l-y
IPKKU208	39.51 g-l	IPKKU231	2.87 y
IPKKU209	81.22 cd	IPKKU232	5.52 u-y

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P > 0.05, DMRT)

ตารางที่ 5 กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในเชิงปริมาณของเชื้อ *Metarhizium* spp. ไอโซเลตต่างๆ (ต่อ)

กิจกรรมของเอนไซม์ ^{1/}		กิจกรรมของเอนไซม์ ^{1/}	
ไอโซเลต	[ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง]	ไอโซเลต	[ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง]
IPKKU233	9.27 r-y	IPKKU249	7.74 s-y
IPKKU234	9.71 r-y	Lop1/1	25.40 j-w
IPKKU235	15.03 n-y	Lop1/3	17.92 m-y
IPKKU236	13.15 o-y	Lop2/1	57.40 efg
IPKKU237	9.21 r-y	Lop2/2	100.07 b
IPKKU238	11.92 o-y	Npp2/1	11.29 q-y
IPKKU239	10.95 q-y	Npp2/2	10.29 r-y
IPKKU240	14.00 o-y	Npp2/3	55.08 fgh
IPKKU241	21.77 k-y	Npp2/5	3.31 xy
IPKKU242	7.11 t-y	Npp2/6	51.03 f-i
IPKKU243	6.12 t-y	Npp2/7	44.26 g-j
IPKKU244	5.78 t-y	Npp2/8	5.00 v-y
IPKKU245	13.29 o-y	Npp2/10	15.40 n-y
IPKKU246	24.98 j-x	Udp2/1	5.54 u-y
IPKKU247	22.76 k-y	Udp2/2	4.08 wxy
IPKKU248	13.41 o-y	Udp2/3	4.93 v-y
C.V. (%)	40.85		

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P > 0.05, DMRT)

4. ประสิทธิภาพในการทำลายแมลงของเชื้อ *Metarhizium* spp.

4.1 หนอนนก

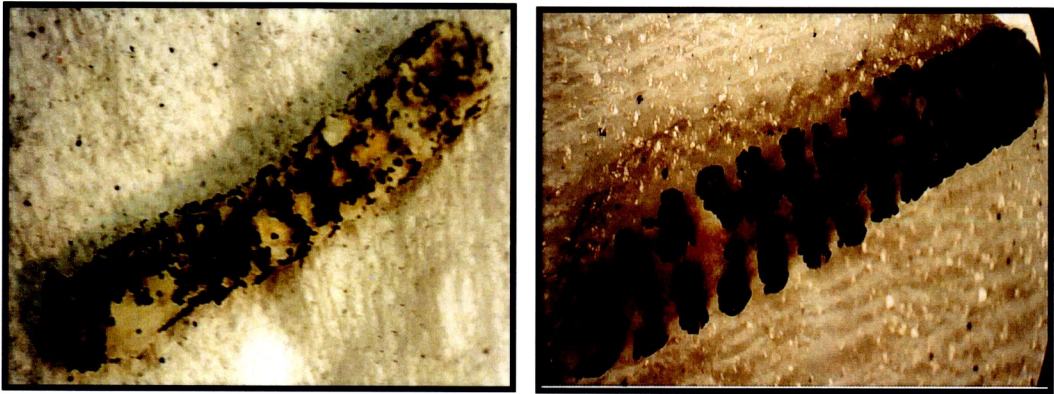
จากผลการทดลองหากิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสในเชิงปริมาณ จำนวน 100 ไอโซเลต และเมื่อนำมาสุ่มคัดเลือกเชื้อ *Metarhizium* spp. ได้ 15 ไอโซเลตเพื่อใช้เป็นตัวแทนในการทดสอบ คือ IPKKU169, 178, 186, 200, 208, 210, 212, 214, 215, 216, 218, 219, 242, Npp2/6 และ Lop2/2 โดย

ผลการปลูกเชื้อให้กับหนอนนก พบว่าไอโซเลต IPKKU 218 และ Npp2/6 ให้เปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุด (90.48 เปอร์เซ็นต์) และต่ำที่สุด (39.88 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ โดยมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนค่าตั้งแต่ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปและมีประสิทธิภาพในการทำลายสูงสุด 5 อันดับ ตามลำดับ คือ ไอโซเลต IPKKU218 (90.48 เปอร์เซ็นต์), ไอโซเลต IPKKU169 (86.63 เปอร์เซ็นต์), ไอโซเลต IPKKU178 (86.60 เปอร์เซ็นต์), ไอโซเลต IPKKU219 (85.19 เปอร์เซ็นต์) และ IPKKU216 (81.90 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 6) ซึ่งหนอนนกที่ถูกเชื้อ *Metarhizium* spp. เข้าทำลายจะมีลักษณะแข็ง มีเส้นใย และสปอร์สีเขียวขึ้นปกคลุมทั่วทั้งลำตัว (ภาพที่ 17)

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Metarhizium* spp. ไอโซเลตต่าง ๆ ที่ได้จากการสุมในการทำลาย หนอนนก (*Tenebrio molitor* L.)

ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การตาย	ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การตาย
IPKKU169	86.63 a	IPKKU215	74.40 ab
IPKKU178	86.60 a	IPKKU216	81.90 ab
IPKKU186	64.45 abc	IPKKU218	90.48 a
IPKKU200	71.48 abc	IPKKU219	85.19 ab
IPKKU208	66.07 abc	IPKKU242	68.30 abc
IPKKU210	53.33 bc	Npp2/6	39.88 c
IPKKU212	77.84 ab	Lop2/2	52.98 bc
IPKKU214	58.52 abc		
C.V. (%)	23.64		

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$, DMRT)



ภาพที่ 17 ตัวอย่างลักษณะของหนอนนก (*Tenebrio molitor* L.) ที่ถูกเชื้อ *Metarhizium* sp. เข้าทำลาย

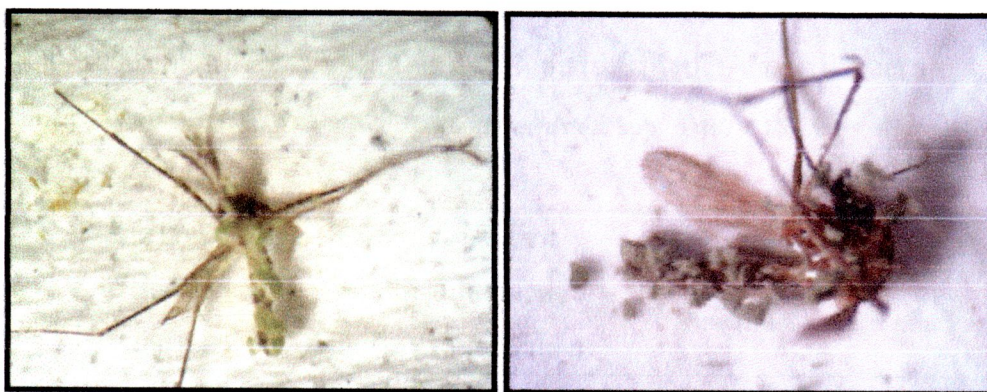
4.2 ยุงลายบ้าน

ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Metarhizium* spp. จำนวน 15 ไอโซเลตที่ได้จากการสุ่มดักล่าวข้างต้น ซึ่งเป็นกลุ่มเดียวกันกับที่ใช้ทดสอบกับหนอนนก พบว่า ไอโซเลต Lop2/2 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 81.33 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่แตกต่างทางสถิติกับ ไอโซเลต IPKKU218 และ IPKKU216 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 78.00 และ 71.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่ไอโซเลตที่ทำลายตัวเต็มวัยยุงลายบ้านได้ต่ำสุดคือ IPKKU242 (28.67 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 7) และยุงลายบ้านที่ถูกเชื้อ *Metarhizium* spp. เข้าทำลายจะมีลักษณะแข็ง มีเส้นใย และสปอร์สีเขียวขึ้นปกคลุมทั่วทั้งลำตัว คล้ายกับที่เกิดกับหนอนนก (ภาพที่ 18)

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Metarhizium* spp. ไอโซเลตต่าง ๆ ในการทำลายตัวเต็มวัยยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*)

ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การตาย	ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การตาย
IPKKU169	35.33 c	IPKKU215	62.00 c
IPKKU178	69.33 bc	IPKKU216	71.33 abc
IPKKU186	47.33 d	IPKKU218	78.00 ab
IPKKU200	64.67 c	IPKKU219	35.33 e
IPKKU208	68.00 bc	IPKKU242	28.67 e
IPKKU210	50.00 d	Lop2/2	81.33 a
IPKKU212	61.33 c	Npp2/6	64.00 c
IPKKU214	67.33 bc		
C.V. (%)	9.88		

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P > 0.05, DMRT)



ภาพที่ 18 ตัวอย่างของลักษณะตัวเต็มวัยยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ที่ถูกเชื้อ *Metarhizium* sp. ไอโซเลต Lop2/2 เข้าทำลาย

4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสและประสิทธิภาพในการทำ ทำลายแมลง

เมื่อนำข้อมูลของกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส ทั้งในเชิงกึ่งปริมาณและเชิงปริมาณ ร่วมกับประสิทธิภาพในการทำให้หนอนนกและตัวเต็มวัยยุงลายบ้านตาย มาเปรียบเทียบกัน พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ในเชิงปริมาณ สามารถบ่งชี้ความสามารถในการทำลายหนอนนกและตัวเต็มวัยยุงลายบ้าน โดยเฉพาะในเชื้อ *Metarhizium* spp. ในไอโซเลต IPKKU218 และ Lop2/2 ที่มี กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 379.21 และ 100.07 ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมงตามลำดับ โดยทำให้ยุงลายตาย 78.00 และ 81.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนั้นในการทดสอบกับ หนอนนก ไอโซเลต IPKKU218 ยังสามารถทำให้หนอนนกตายได้สูงสุด 90.48 เปอร์เซ็นต์ ที่ น่าสนใจ ได้แก่ ไอโซเลต IPKKU178 และ IPKKU216 ซึ่งทำให้หนอนนกตายได้ 86.60 และ 81.90 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) และในตัวเต็มวัยยุงลายบ้านตายจากเชื้อไอโซเลต ทั้งสองดังกล่าวเท่ากับ 69.33 และ 71.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติแม้ว่า กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสไม่สูงมาก แต่ก็พบว่ามีความสัมพันธ์ของเอนไซม์โปรตีเอสอยู่ โดย ไอโซเลต IPKKU178 มีกิจกรรม 20.88 ส่วน IPKKU216 มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส 64.43 ไทโรซีน-ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง (ตารางที่ 8)

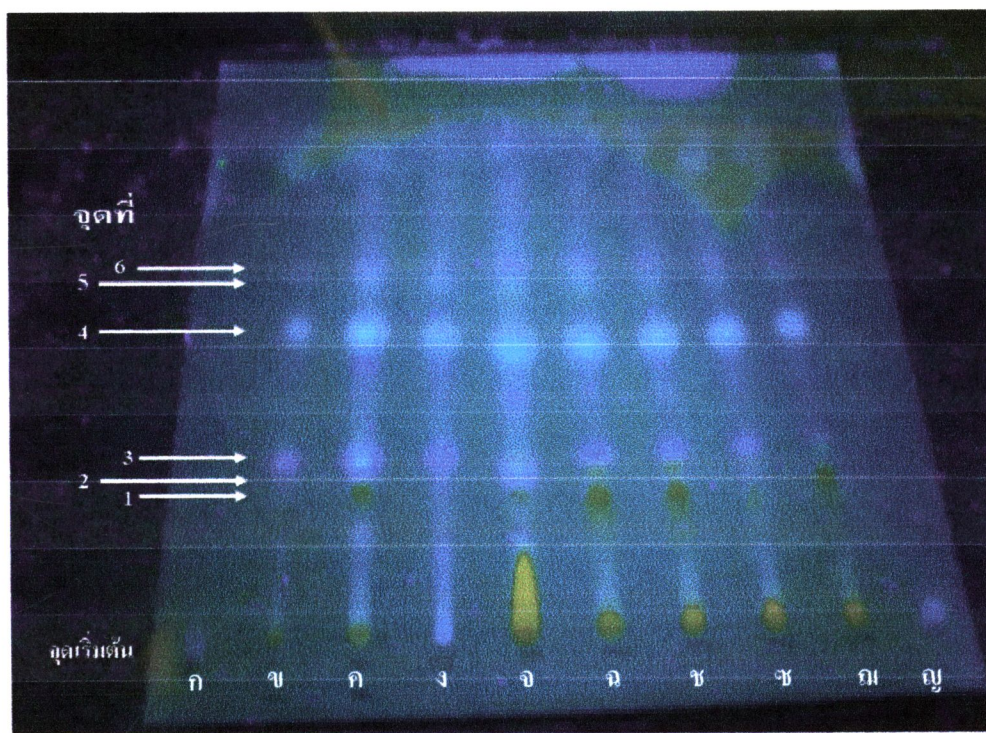
ตารางที่ 8 เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสในเชิงกึ่งปริมาณ เชิงปริมาณ และความสามารถในการทำลายแมลงของเชื้อ *Metarhizium* spp. จำนวน 15 ไอโซเลต

ไอโซเลต	เส้นผ่าศูนย์กลาง บริเวณโปร่งแสง (มิลลิเมตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ ไทรโรซีน-ไมโครโมลต่อ มิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง	เปอร์เซ็นต์การตาย หนอนนก	เปอร์เซ็นต์การตาย ตัวเต็มวัยยุงลายบ้าน
IPKKU169	11.88 c	10.46 efg	86.63 a	35.33 e
IPKKU178	12.50 c	20.88 d-g	86.60 a	69.33 bc
IPKKU186	8.25 d	14.55 efg	64.45 abc	47.33 d
IPKKU200	9.81 cd	5.81 fg	71.48 abc	64.67 c
IPKKU208	10.38 cd	39.51 cde	66.07 abc	68.00 bc
IPKKU210	10.75 cd	25.56 d-g	53.33 bc	50.00 d
IPKKU212	12.50 c	27.42 d-g	77.84 ab	61.33 c
IPKKU214	10.50 cd	35.98 c-f	58.52 abc	67.33 bc
IPKKU215	11.50 cd	39.09 d-g	74.40 ab	62.00 c
IPKKU216	12.63 c	64.43 c	81.90 ab	71.33 abc
IPKKU218	12.38 c	379.21 a	90.48 a	78.00 ab
IPKKU219	10.63 cd	3.36 g	85.19 ab	35.33 e
IPKKU242	11.13 cd	7.11 fg	68.30 abc	28.67 e
Lop2/2	21.13 b	100.07 b	39.88 c	81.33 a
Npp2/6	28.75 a	51.03 cd	52.98 c	64.00 c
C.V. (%)	15.50	30.24	23.64	9.88

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P > 0.05, DMRT)

5. การพิษ destruxin ของเชื้อ *Metarhizium* spp.

จากการตรวจสอบ destruxin ด้วย thin layer chromatography เมื่อนำแผ่น TLC ไปตรวจสอบภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต (UV) ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร พบว่ามีจุดเรืองแสงเป็นสีฟ้า 2 จุดที่สังเกตเห็นเด่นชัดที่สุดในทุกไอโซเลต (จุดที่ 4) โดยมีค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.480 - 0.496 และจุดที่ 3 ซึ่งมีค่า R_f เท่ากับ 0.246 - 0.264 ส่วนในจุดที่ 1 และ 2 จะมีสีเหลือง ค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.192 - 0.264 พบในไอโซเลต IPKKU 194, 225, 246, 247, 248, และ 249 ส่วนในจุดที่ 5 มีค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.504 - 0.592 พบใน 6 ไอโซเลต คือ ไอโซเลต IPKKU189, 194, 221, 225, 246 และ 249 แต่ไม่ปรากฏจุดที่ 5 นี้ในไอโซเลต IPKKU 247 และ 248 ส่วนจุดที่ 6 พบในไอโซเลต IPKKU189, 194, 247 และ 248 (ค่า R_f อยู่ระหว่าง 0.640 - 0.648) (ภาพที่ 19, ตารางที่ 9) และเมื่อตรวจสอบที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร จะไม่พบจุดเรืองแสง แต่จะพบจุดสีดำจำนวนตั้งแต่ 1 ถึง 4 จุด ตามไอโซเลตต่างๆ คือ ไอโซเลต IPKKU189 และ 221 พบ 1 จุด คือจุดที่ 5 ($R_f = 0.744$ และ 0.736 ตามลำดับ) IPKKU248 พบ 2 จุด คือจุดที่ 1 และ 5 ($R_f = 0.224$ และ 0.736) IPKKU249 พบ 3 จุด คือจุดที่ 1, 3 และ 5 ($R_f = 0.240, 0.432$ และ 0.736) และพบ 4 จุดในไอโซเลต IPKKU194 คือจุดที่ 1, 2, 3 และ 5 ($R_f = 0.216, 0.246, 0.496$ และ 0.752), IPKKU225 คือจุด 1, 3, 4 และ 5 ($R_f = 0.216, 0.432, 0.560$ และ 0.736), IPKKU246 คือจุด 1, 2, 3 และ 5 ($R_f = 0.200, 0.240, 0.480$ และ 0.736) และ IPKKU 247 คือจุด 1, 2, 3 และ 5 ($R_f = 0.200, 0.232, 0.480$ และ 0.728) (ภาพที่ 20, ตารางที่ 10)



ภาพที่ 19 แผ่น Thin layer chromatography ภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

จุดที่ 1-6, ตามลำดับ; 1 ค่า R_f อยู่ในช่วง 0.192 - 0.210, 2 ค่า R_f อยู่ในช่วง 0.224 - 0.264, 3 ค่า R_f อยู่ในช่วง 0.246 - 0.264, 4 ค่า R_f อยู่ในช่วง 0.480 - 0.496, 5 ค่า R_f อยู่ในช่วง 0.504 - 0.592, 6 ค่า R_f อยู่ในช่วง 0.640 - 0.648

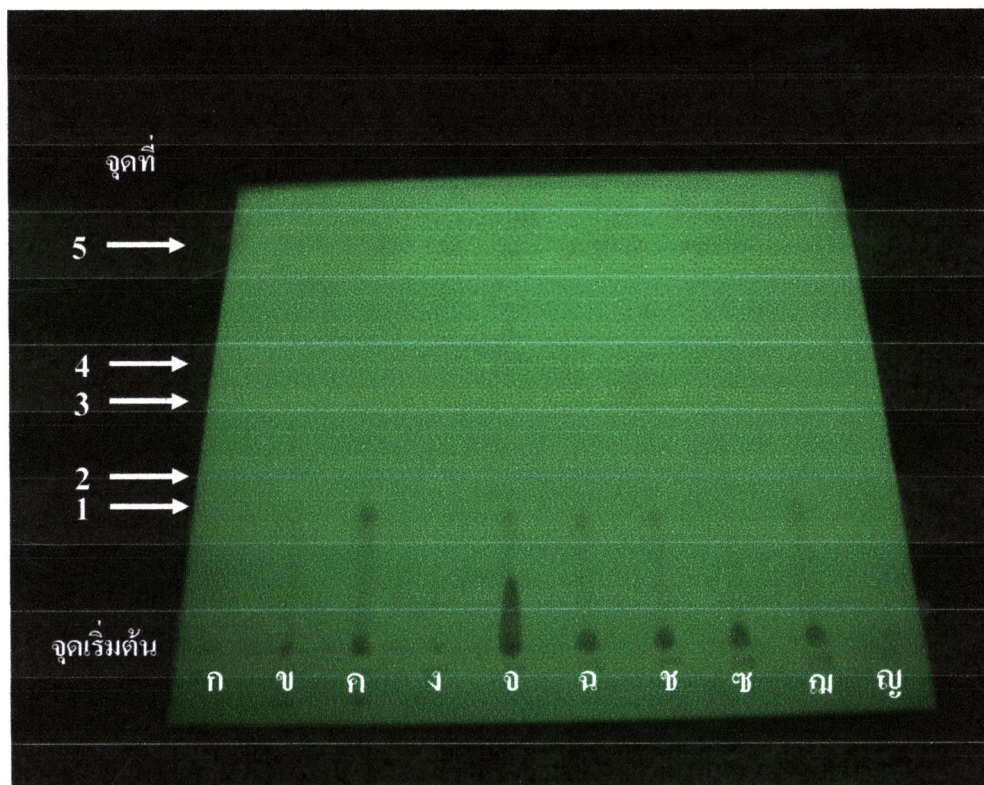
ก Standard destruxin B	ฉ IPKKU246
ข IPKKU189	ช IPKKU247
ค IPKKU194	ซ IPKKU248
ง IPKKU221	ฅ IPKKU249
จ IPKKU225	ญ Standard destruxin E

ตารางที่ 9 ค่า R_f จากแผ่น Thin layer chromatography ภายใตแสงอุลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

ช่องที่	ไอโซเลต	ค่า R_f ของจุดที่ ¹					
		1	2	3	4	5	6
ก	Standard Destruxin B	-	-	-	-	-	-
ข	IPKKU189	-	-	0.264	-	0.520	0.640
ค	IPKKU194	0.210	0.232	0.256	-	0.504	0.648
ง	IPKKU221	-	-	0.256	0.496	0.592	-
จ	IPKKU225	0.208	0.232	0.246	0.480	0.544	-
ฉ	IPKKU246	0.192	0.240	0.256	0.480	0.560	-
ช	IPKKU247	0.208	0.224	0.246	0.488	-	0.640
ซ	IPKKU248	0.193	0.264	-	0.496	-	0.640
ฌ	IPKKU249	0.210	0.224	-	0.496	0.584	
ญ	Standard Destruxin E	-	-	-	-	-	-

¹ เรืองแสงอุลตราไวโอเลต; จุดที่ 1 และ 2 สีเหลือง, 3 สีฟ้า, 4 สีฟ้าเข้ม, 5 และ 6 สีฟ้าอ่อน





ภาพที่ 20 แผ่น Thin layer chromatography ภายใตแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 365

นาโนเมตร

จุดที่ 1-5, ตามลำดับ; 1 ค่า R_f อยู่ในช่วง 0.200 - 0.240, 2 ค่า R_f อยู่ในช่วง 0.232 - 0.246, 3 ค่า R_f เท่ากับ 0.432 - 0.496, 4 ค่า R_f เท่ากับ 0.560, 5 ค่า R_f อยู่ในช่วง 0.728 - 0.752

ก Standard destruxin B

ฉ IPKKU246

ข IPKKU189

ช IPKKU247

ค IPKKU194

ช IPKKU248

ง IPKKU221

ฉ IPKKU249

จ IPKKU225

ญ Standard destruxin E

ตารางที่ 10 ค่า Rf จากแผ่น Thin layer chromatography ภายใตแสงอุลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร

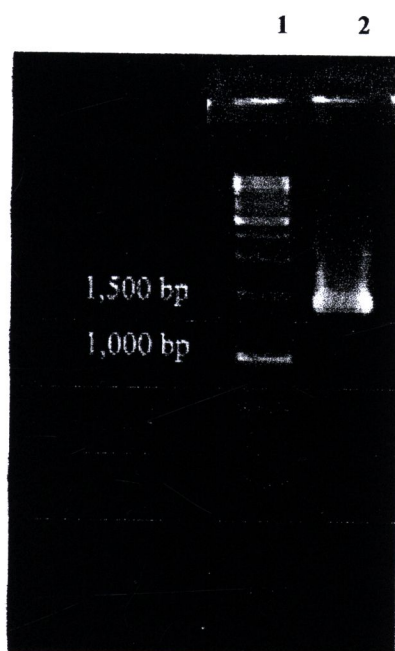
ช่องที่	ไอโซเลต	ค่า Rf จุดที่ ¹					
		1	2	3	4	5	6
ก	Standard Destruxin B	-	-	-	-	-	-
ข	IPKKU189	-	-	-	-	0.744	-
ค	IPKKU194	0.216	0.246	0.496	-	0.752	-
ง	IPKKU221	-	-	-	-	0.736	-
จ	IPKKU225	0.216	-	0.432	0.560	0.736	-
ฉ	IPKKU246	0.200	0.240	0.480	-	0.736	-
ช	IPKKU247	0.200	0.232	0.480	-	0.728	-
ซ	IPKKU248	0.224	-	-	-	0.736	-
ฌ	IPKKU249	0.240	-	0.432	-	0.736	-
ญ	Standard Destruxin E	-	-	-	-	-	-

¹ จุดสีค่าทุกจุด

6. การโคลนยีนควบคุมการผลิตเอนไซม์โปรตีเอสของเชื้อ *Metarhizium* spp.

เมื่อนำเชื้อรา *Metarhizium* spp. ไอโซเลต Lop 2/2 มาเพิ่มปริมาณในส่วนของยีนควบคุมการผลิตเอนไซม์โปรตีเอส (*pr1*) ด้วยไพรเมอร์ที่ได้ออกแบบมาสำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์โปรตีเอส (*pr1*) ของเชื้อนี้ พบว่า ผลิตภัณฑ์ PCR (PCR product) ที่ได้มีขนาดประมาณ 1,500 คู่เบส (ภาพที่ 21) ดังนั้นจึงนำผลิตภัณฑ์ PCR ของเชื้อรา *Metarhizium* ไอโซเลต Lop2/2 ซึ่งเป็นไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดขุงลายบ้านไปโคลนแล้วสกัดดีเอ็นเอจากพลาสมิดที่มีขึ้นเป้าหมาย แล้วย้ายยีนเป้าหมายนั้นไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งได้ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 1,439 คู่เบส จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank ผลการเปรียบเทียบแสดงให้เห็นว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ดังกล่าวมีความเหมือนกับลำดับ นิวคลีโอไทด์ของยีน *pr1* elastase-like serine protease (AB073327) ของเชื้อรา *M. anisopliae* 96 เปอร์เซนต์ (ภาพที่ 22) โดยพบว่า ยีน *pr1* ประกอบด้วย 4 exon (1...192, 269..454, 514..1026, 1099..129) หรือเรียกว่าเป็นส่วนของ coding sequence ซึ่ง

สามารถแปลเป็นรหัสโปรตีน(translation)ได้กับ 3 intron (193..268,455..513,1027..1098) และพบว่าความยาวนิวคลีโอไทด์ของ intron มีความผันแปรตั้งแต่ 58-75 คู่เบสและมีลำดับเบสซ้ำที่อยู่ระหว่าง exon : intron คือ NGGTAAGT อยู่ช่วงต้นของทุก intron เหมือนกันทั้งสามแห่ง



ภาพที่ 21 ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อรา *Metarhizium* sp. เมื่อเพิ่มปริมาณในส่วนของยีน *pr1* ด้วยไพรเมอร์ Pr1F1 และ Pr1R1
 เลนที่ 1 : 1 kb DNA Ladder Plus
 เลนที่ 2 : เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต Lop2/2

```

gi|16506135|dbj|AB073327.1|  ACTCCTCAGGCTGAGAGCATCATTGCCGACAAAGTATATTGTCAAGTTCAA 50
Lop2/2pr1  ----CTCAGGCTGAGAGCATCATTGCCGACAAAGTATATTGTCAAGTTCAA 46
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  GGATGATATTGCGCGTATCGCTACCGATGACACGGTCAGCGCTCTTACCT 100
Lop2/2pr1  GGATGATATTGCGCGTATCGCTACCGATGACACGGTCAGCGCTCTTACCT 96
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  CCAAAGCCGACTTCGTTTACGAGCACGGCTTCCATGGGTTTGACGGCTCC 150
Lop2/2pr1  CCAAAGCCGACTTCGTTTACGAGCACGGCTTCCATGGGTTTGACGGCTCT 146
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  CTCACCAAGGAGGAGCTGAAGATGCTTCGTGAGCACCCGGGTGTAAGTAC 200
Lop2/2pr1  CTCACCAAGGAGGAGCTGAAGATGCTTCGTGAGCACCCGGGTGTAAGTAC 196
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  CCCCTCCACCTTACCTAGGTAGTCAAGGGAACATGTAGGTGTTTGTTC 250
Lop2/2pr1  CCCCTCCACCTTACCTAGGTAGTCAAGGGAACATGTAGGTGTTTGTTC 246
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  TGAACCGCTGCCCATAGGTGCTGATTTCATTGAGAAGGACGCCGTGATGCC 300
Lop2/2pr1  TGAACCGCTGCCCATAGGTGCTGATTTCATTGAGAAGGACGCCGTGATGCC 296
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  TATCAGCGGCATCACTGAGCAGAGCGGTGCTCCCTGGGCTTTGGGCGCA 350
Lop2/2pr1  TATCAGCGGCATCACTGAGCAGAGCGGTGCTCCCTGGGCTTTGGGCGCA 346
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  TCTCACACGCGCCAGAAGGGAAGCAACCCCTATCGCTACGATGATAGTGCC 400
Lop2/2pr1  TCTCTCACCGCAATAGGGAAGCAACCCCTATCGCTACGATGATAGTGCT 396
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  GGTGAGGGTACTTGCCTATATATCATTGACACTGGTATTGAGGCCCTTCA 450
Lop2/2pr1  GGTGAGGGTACTTGCCTATATATCATTGACACTGGTATTGAGGCCCTTCA 446
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  CCCCGTAAGTTGTGCGCGCAAAACTTCCATAGTGGAGTAGGAATTTAC 500
Lop2/2pr1  CCCCGTAAGTTGTGCGCGCAAAACTTCCATAGTGGAGTAGGAATTTAC 496
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  CAATATCATCCAGGATTTCGGGGTCCGGCCACTTTTCTTAAAGAGCTTCA 550
Lop2/2pr1  CAATATCATCCAGGATTTCGGGGTCCGGCCACTTTTCTTAAAGAGCTTCA 546
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  TCAGCGGTCAAAACAGTGTATGGCCACGGGCTGCGGACTCACTGCGCTGGT 600
Lop2/2pr1  TTAGCGGTCAAAACAGTGTATGGCCACGGGCTGCGGACTCACTGCGCTGGT 596
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  ACCATTGGTAGCAAAAGCTACGGTGTTCGCCAAAAGGCTAAGCTCTATGG 650
Lop2/2pr1  ACCATTGGTAGCAAAAGCTACGGTGTTCGCCAAAAGGCTAAGCTCTATGG 646
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  TGTCAAAGTTCTTGACAAACAGGGCAGTGGTTCTCTACTCCGGTATCATCA 700
Lop2/2pr1  TGTCAAAGTTCTTGATAAACAGGGCAGTGGTTCTCTACTCCGGTATCATCA 696
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  GTGGCATGGACTACGTTGCACAGGACTCCAGAGCCCGGGCTGCCCTAAA 750
Lop2/2pr1  GTGGCATGGACTACGTTGCACAGGACTCCAGAGCCCGGGCTGCCCTAAA 746
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  GGCGCCATTGCTTCCATGAGCCTGGGAGGTGGCTACTCGCGTCCGTCAA 800
Lop2/2pr1  GGCGCCATTGCTTCCATGAGCCTGGGAGGTGGCTACTCGCGTCCGTCAA 796
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  CCAAGGTGCTGCTGCTTTGGTCAAATTCCTGGTGTCTTCTTGGCGGTGCG 850
Lop2/2pr1  CCAAGGTGCTGCTGCTTTGGTCAAATTCCTGGTGTCTTCTTGGCGGTGCG 846
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  CTGGCAACGATAACCGGGATTGCCAGAACACCTCTCCGGCTTCCGAGCCT 900
Lop2/2pr1  CTGGCAACGATAACCGGGATTGCCAGAACACCTCTCCGGCTTCCGAGCCT 896
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  TCTGCTGCACTGTTGGTGCCACTGATTCAAATGACAAACGATCTTCTCT 950
Lop2/2pr1  ACTGCTGCACTGTTGGTGCCACTGATTCAAATGACAAACGATCTTCTCT 946
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  CTCCAACTACGGCAAAGTTGTCGATATTTTCGCTCCGTGTACCGGTGTT 1000
Lop2/2pr1  CTCCAACTACGGCAAAGTTGTCGATATTTTCGCTCCGTGTACCGGTGTT 996
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  TTTCACCTGGATTGGTGGCAGCACTGTAAGTATTGTACCTACCTCGATA 1050
Lop2/2pr1  TTTCACCTGGATTGGTGGCAGCACTGTAAGTATTGTACCTACCTCGATA 1046
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  AGCTTACGAGACAGGCTTTTGGCTCAGAACAGCTCTAACAGGTTTAGAA 1100
Lop2/2pr1  AGCTTACGAGACAGGCTTTTGGCTCAGAACAGCTCTAACAGGTTTAGAA 1096
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  CACCATCTCTGGCACCTCATGGCTACTGCCATATTGCGGCTCTGGCTG 1150
Lop2/2pr1  CACCATCTCTGGCACCTCATGGCTACTGCCATATTGCGGCTCTGGCTG 1146
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  CCTACCTCAGTGGCGCTCCAAAGCAAGACTACCCCTCCGGCTTTTGAAG 1200
Lop2/2pr1  CCTACCTCAGTGGCGCTCCAAAGCAAGACTACCCCTCCGGCTTTTGAAG 1196
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  AAGATCCAGGACACTGCTACCAAGAACGGCTCACCAGGTGTTCCCTCTGG 1250
Lop2/2pr1  AAGATCCAGGACACTGCTACCAAGAACGGCTCACCAGGTGTTCCCTCTGG 1246
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  CACTGTCAACTACCTGCTACAAACGGCAACGGTGCCTAAATCTTAACT 1300
Lop2/2pr1  CACTGTCAACTACCTGCTACAAACGGCAACGGTGCCTAAATCTTAACT 1296
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  TGAGCATGGGGGGA-----ATCTTCAGTGAAGAGACGGCGATTGGTT 1343
Lop2/2pr1  TGAGCCGGGGGGGGGGGAGACCCTTCAGTGAAGAGACGGCGATTGGTT 1346
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  GGTGTATATTTGAGATGATTTCACAGGCTCGAATCCCGCC--AAAGGT 1391
Lop2/2pr1  GGTGTATATTTGAGATGATTTCACAGGCTCGAATCCCGCC--AAAGGT 1396
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  ATATATTTATATTTCTATATCTTTCACCAAGTACATTATGATGATGGA 1441
Lop2/2pr1  ATATATTTATATTTCTATATTTTTCACCAAGTACATTATGATGATGGA 1439
*****
gi|16506135|dbj|AB073327.1|  ACGTCA 1447
Lop2/2pr1  -----

```

ภาพที่ 22 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *pr1* ของเชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต Lop2/2 กับยีน *pr1* elastase-like serine protease จากเชื้อ *Metarhizium anisopliae* (AB073327) จากฐานข้อมูล GenBank (บริเวณที่มีเครื่องหมาย * แสดงความเหมือนกันของนิวคลีโอไทด์)