

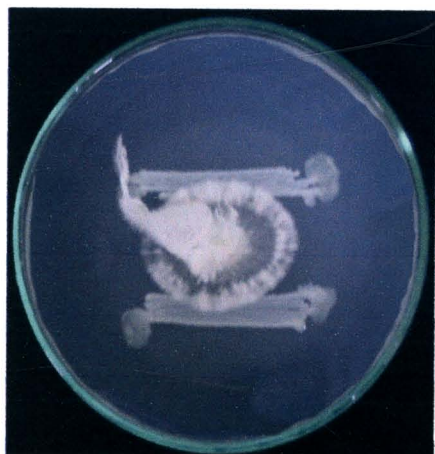
บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งเชื้อรา *Sclerotium rolfii* โดยวิธี Dual culture technique

จากการนำแบคทีเรีย 78 ไอโซเลต มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *S. rolfii* พบว่า 11 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยรา ได้แก่ 4Z2B-4, 2Z2D-5, 4Z1D-2, 4Z2E-1, 4Z4C-2, Z1B-1, Z3B-2, Z4G-1, 2Z1A-5, 2Z2E-7 และ 2Z4E-2 โดยให้เปอร์เซ็นต์ยับยั้งเท่ากับ 50, 56, 50, 40, 60, 40, 48, 56, 40, 56 และ 60 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1, รูปที่ 4.1, 4.2, 4.3 และ 4.4)

ตารางที่ 4.1 แบคทีเรียที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Sclerotium rolfii* และเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

ไอโซเลต ของ แบคทีเรีย	% ยับยั้ง การเจริญ ของเส้นใย	ไอโซเลต ของ แบคทีเรีย	% ยับยั้ง การเจริญ ของเส้นใย	ไอโซเลต ของ แบคทีเรีย	% ยับยั้ง การเจริญ ของเส้นใย	ไอโซเลต ของ แบคทีเรีย	% ยับยั้ง การเจริญ ของเส้นใย
Z1C-8	0	4Z2B-3	0	4Z1C-1	0	2Z2E-7	56
Z1A-8	0	4Z4B-3	0	4Z1C-4	0	2Z4E-2	60
Z2A-1	0	2Z4C-2	0	4Z1D-2	50	4Z2A-4	0
2Z1C-4	0	2Z2A-2	0	4Z2B-2	0	2Z3C-5	0
Z1A-9	0	4Z3C-3	0	4Z2D-1	0	4Z4D-4	0
4Z2A-5	0	4Z2B-1	0	4Z2E-1	40	4Z4D-5	0
4Z3D-2	0	4Z3D-3	0	4Z2E-3	0	2Z4A-3	0
4Z2C-2	0	4Z4E-1	0	4Z3A-1	0	4Z1B-5	0
4Z1E-1	0	Z1A-12	0	4Z4C-2	60	2Z3D-4	0
4Z3D-5	0	4Z1B-2	0	Z1A-14	0	4Z3E-5	0
4Z4A-2	0	4Z4B-5	0	2Z1C-3	0	4Z4B-2	0
4Z4E-2	0	2Z2C-3	0	2Z1E-1	0	Z3C-2	0
Z2A-7	0	2Z2D-3	0	2Z4A-5	0	Z3B-6	0
4Z3D-1	0	2Z2D-5	56	4Z1A-1	0	Z3F-2	0
4Z2A-1	0	2Z1A-2	0	4Z3E-2	0	2Z3D-5	0
4Z4D-3	0	2Z1C-5	0	4Z4A-1	0	2Z1D-6	0
4Z3E-1	0	2Z2D-2	0	Z1B-1	40	4Z2C-3	0
4Z2B-4	50	2Z3B-3	0	Z3B-2	48	4Z4B-4	0
4Z3B-5	0	4Z1A-3	0	Z4G-1	56		
4Z2E-5	0	4Z1A-5	0	2Z1A-5	40		



4Z4C-2



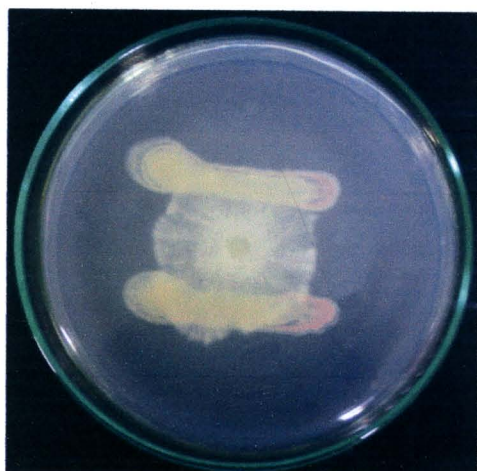
2Z4E-2



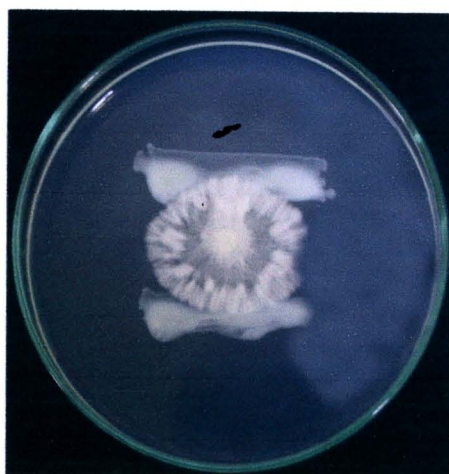
2Z2D-5



Z4G-1



4Z2B-4



2Z2E-7

รูปที่ 4.1 ลักษณะของการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ที่ถูกยับยั้งด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดบนจานอาหาร Potato dextrose agar ตามวิธี dual culture บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน



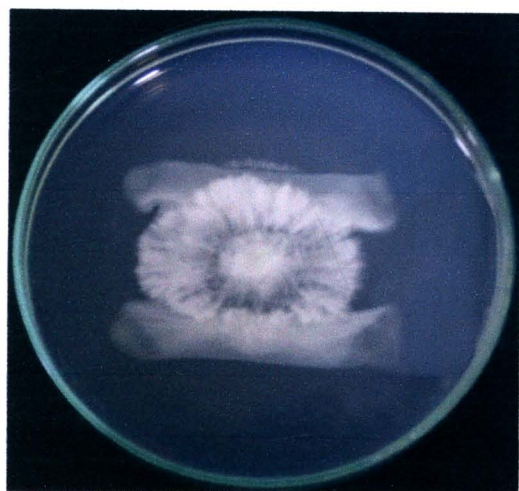
4Z1D-2



Z1B-1



2Z1A-5

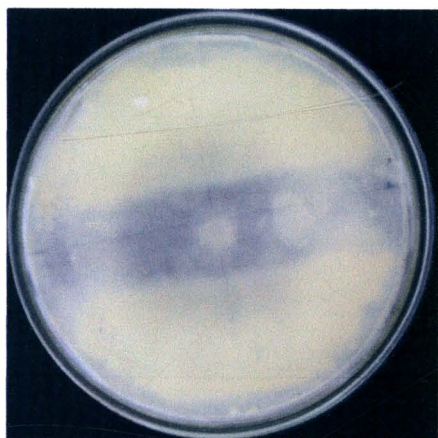


Z3B-2

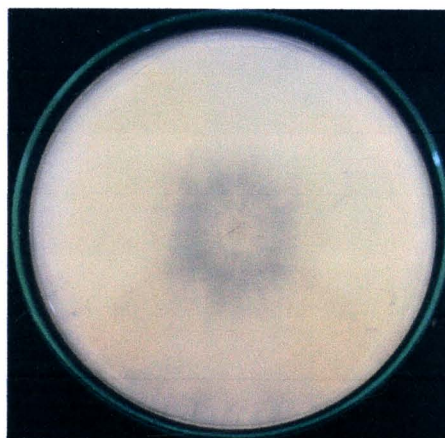


-4Z2E-1

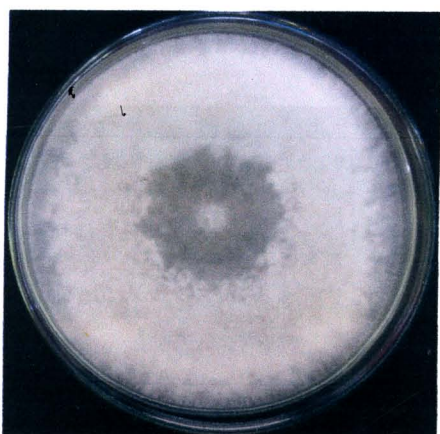
รูปที่ 4.2 ลักษณะของการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ที่ถูกยับยั้งด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดบนจานอาหาร Potato dextrose agar ตามวิธี dual culture บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน



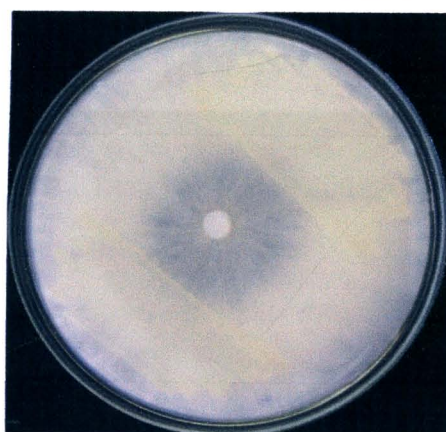
Z1C-8



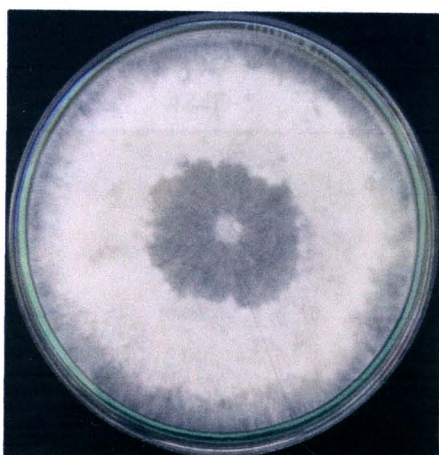
Z 1A-8



2Z1C-4



2Z2A-2



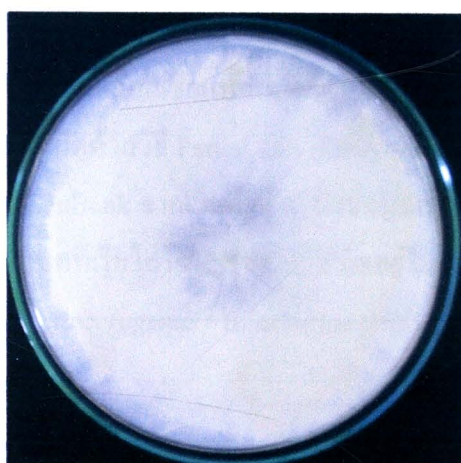
2Z4A-5



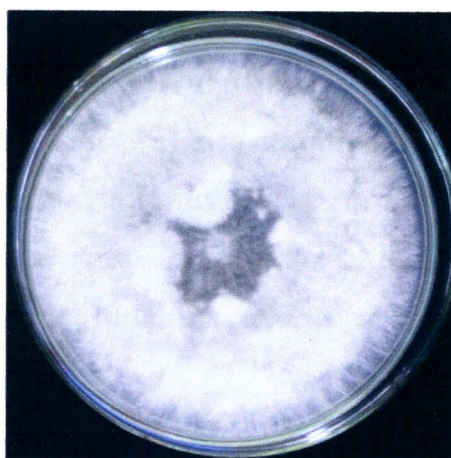
2Z3C-5

รูปที่ 4.3 ลักษณะของการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ที่ไม่ถูกยับยั้งด้วยเชื้อแบคทีเรียบาง
ไอโซเลตเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดบนจานอาหาร Potato dextrose agar ตามวิธี dual culture
บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน





4Z2A-5



4Z2B-1



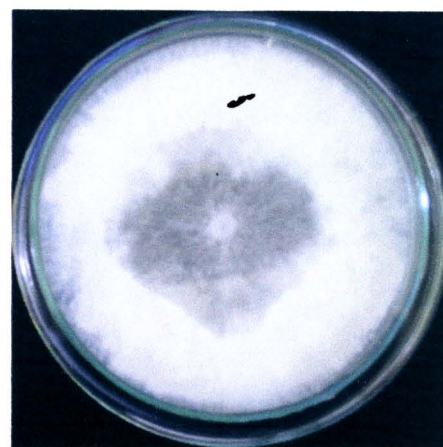
4Z4D-5



4Z2E-3



4Z3D-5



4Z4B-5

รูปที่ 4.4 ลักษณะของการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ที่ไม่ถูกยับยั้งด้วยเชื้อแบคทีเรียบาง ไอโซเลต เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดบนจานอาหาร Potato dextrose agar ตามวิธี dual culture บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

4.2 ผลการศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุลของเชื้อ *Pseudomonas* ที่แยกได้ และวิเคราะห์กลุ่ม

จากการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจำนวน 4 ไอโซเลตที่ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง มากกว่าหรือเท่ากับ 50 มาจำแนกชนิดด้วยวิธี Partial 16S rDNA sequencing นำข้อมูลที่ได้ตรวจสอบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ GenBank จากเว็บต่าง ๆ นำข้อมูลสร้างต้นไม้ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) พบว่า แบคทีเรียไอโซเลต 4Z2B-4 จัดอยู่ในกลุ่ม *Pseudomonas* sp. ไอโซเลต 2Z2E-7, Z4G-1 คือ *Enterobacter cancerogenus* / *E. asburiae* และ 2Z4E-2 จัดอยู่ในกลุ่ม *Enterobacter* sp. (รูปที่ 4.5, 4.6, 4.7 และ 4.8)

					
	5	15	25	35	45
<i>P. fulva</i>	AGTTTGATCC	TGGCTCAGAT	TGAACGCTGG	CGGCAGGCCT	AACACATGCA
<i>P. koreensis</i>	-----	-----	--AACGCTGG	CGGCAGGCCT	AACACATGCA
4Z2B-4	-----	-----	-----	-----	-----
Conserve					
					
	55	65	75	85	95
<i>P. fulva</i>	AGTCGAGCGG	ATGACAGGAG	CTTGCTCCTG	GATTCAGCGG	CGGACGGGTG
<i>P. koreensis</i>	AGTCGAGCGG	ATGAAAGGAG	CTTGCTCCTG	GATTCAGCGG	CGGACGGGTG
4Z2B-4	--TCGAGCGG	ATGAGAGGAG	CTTGCTCTTC	GATTCAGCGG	CGGACGGGTG
Conserve	*****	****	*****	*****	*****
					
	105	115	125	135	145
<i>P. fulva</i>	AGTAATGCCT	AGGAATCTGC	CTGGTAGTGG	GGGACAACGT	TTCGAAAGGA
<i>P. koreensis</i>	AGTAATGCCT	AGGAATCTGC	CTGGTAGTGG	GGGACAACGT	TTCGAAAGGA
4Z2B-4	AGTAATGCCT	AGGAATCTGC	CTGGTAGTGG	GGGACAACGT	TTCGAAAGGA
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	155	165	175	185	195
<i>P. fulva</i>	ACGCTAATAC	CGCATACGTC	CTACGGGAGA	AAGCAGGGGA	CCTTCGGGCC
<i>P. koreensis</i>	ACGCTAATAC	CGCATACGTC	CTACGGGAGA	AAGCAGGGGA	CCTTCGGGCC
4Z2B-4	ACGCTAATAC	CGCATACGTC	CTACGGGAGA	AAGCAGGGGA	CCTTCGGGCC
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	205	215	225	235	245
<i>P. fulva</i>	TTGCGCTATC	AGATGAGCCT	AGGTCGGATT	AGCTTGTTGG	TGAGGTAATG
<i>P. koreensis</i>	TTGCGCTATC	AGATGAGCCT	AGGTCGGATT	AGCTAGTTGG	TGAGGTAATG
4Z2B-4	TTGCGCTATC	AGATGAGCCT	AGGTCGGATT	AGCTAGTAGG	TGAGGTAATG
Conserve	*****	*****	*****	****	*****
					
	255	265	275	285	295
<i>P. fulva</i>	GCTCACCAAG	GCGACGACCT	GTAACCTGGTC	TGAGAGGATG	ATCAGTCACA
<i>P. koreensis</i>	GCTCACCAAG	GCGACGATCC	GTAACCTGGTC	TGAGAGGATG	ATCAGTCACA
4Z2B-4	GCTCACCTAG	GCGACGATCC	GTAACCTGGTC	TGAGAGGATG	ATCAGTCACA
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****

					
	305	315	325	335	345
<i>P. fulva</i>	CTGGAAGTGA	GACACGGTCC	AGACTCCTAC	GGGAGGCAGC	AGTGGGGAAT
<i>P. koreensis</i>	CTGGAAGTGA	GACACGGTCC	AGACTCCTAC	GGGAGGCAGC	AGTGGGGAAT
4Z2B-4	CTGGAAGTGA	GACACGGTCC	AGACTCCTAC	GGGAGGCAGC	AGTGGGGAAT
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	355	365	375	385	395
<i>P. fulva</i>	ATTGGACAAT	GGGCGAAAGC	CTGATCCAGC	CATGCCGCGT	GTGTGAAGAA
<i>P. koreensis</i>	ATTGGACAAT	GGGCGAAAGC	CTGATCCAGC	CATGCCGCGT	GTGTGAAGAA
4Z2B-4	ATTGGACAAT	GGGCGAAAGC	CTGATCCAGC	CATGCCGCGT	GTGTGAAGAA
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	405	415	425	435	445
<i>P. fulva</i>	GGTCTTCGGA	TTGTAAAGCA	CTTTAAGTTG	GGAGGAAGGG	TTGTAGATTA
<i>P. koreensis</i>	GGTCTTCGGA	TTGTAAAGCA	CTTTAAGTTG	GGAGGAAGGG	TTGTAGATTA
4Z2B-4	GGTCTTCGGA	TTGTAAAGCA	CTTTAAGTTG	GGAGGAAGGG	TTGTACGTTA
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	455	465	475	485	495
<i>P. fulva</i>	ATACTCTGCA	ATTTTGACGT	TACCGACAGA	ATAAGCACCG	GCTAACTCTG
<i>P. koreensis</i>	ATACTCTGCA	ATTTTGACGT	TACCGACAGA	ATAAGCACCG	GCTAACTCTG
4Z2B-4	ATACTCTGCA	ATTTTGACGT	TACCGACAGA	ATAAGCACCG	GCTAACTCTG
Conserve	****	****	*****	*****	*****
					
	505	515	525	535	545
<i>P. fulva</i>	TGCCAGCAGC	CGCGGTAATA	CAGAGGGTGC	AAGCGTTAAT	CGGAATTACT
<i>P. koreensis</i>	TGCCAGCAGC	CGCGGTAATA	CAGAGGGTGC	AAGCGTTAAT	CGGAATTACT
4Z2B-4	TGCCAGCAGC	CGCGGTAATA	CAGAGGGTGC	AAGCGTTAAT	CGGAATTACT
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	555	565	575	585	595
<i>P. fulva</i>	GGGCGTAAAG	CGCGCGTAGG	TGGTTTGTTA	AGTTGGATGT	GAAAGCCCCG
<i>P. koreensis</i>	GGGCGTAAAG	CGCGCGTAGG	TGGTTTGTTA	AGTTGGATGT	GAAATCCCCG
4Z2B-4	GGGCGTAAAG	CGCGCGTAGG	TGGTTTGTTA	AGTTGGATGT	GAAATCCCCG
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****

					
	605	615	625	635	645
<i>P. fulva</i>	GGCTCAACCT	GGGAACTGCA	TCCAAAACTG	GCAAGCTAGA	GTACGGTAGA
<i>P. koreensis</i>	GGCTCAACCT	GGGAACTGCA	TCCAAAACTG	GCAAGCTAGA	GTATGGTAGA
4Z2B-4	GGCTCAACCT	GGGAACTGCA	TCCAAAACTG	GCGAGCTAGA	GTATGGTAGA
Conserve	*****	*****	*****	** *****	*** *****
					
	655	665	675	685	695
<i>P. fulva</i>	GGGTGGTGGA	ATTCCTGTG	TAGCGGTGAA	ATGCGTAGAT	ATAGGAAGGA
<i>P. koreensis</i>	GGGTGGTGGA	ATTCCTGTG	TAGCGGTGAA	ATGCGTAGAT	ATAGGAAGGA
4Z2B-4	GGGTGGTGGA	ATTCCTGTG	TAGCGGTGAA	ATGCGTAGAT	ATAGGAAGGA
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	705	715	725	735	
<i>P. fulva</i>	ACACCAGTGG	CGAAGGCGAC	CACCTGGACT	GATACTGA	
<i>P. koreensis</i>	ACACCAGTGG	CGAAGGCGAC	CACCTGGACT	GATACTGA	
4Z2B-4	ACACCAGTGG	CGAAGGCGAC	CACCTGGACT	GATACTGA	
Conserve	*****	*****	*****	*****	

รูปที่ 4.5 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณปลาย 5' ของ 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต 4Z2B-4 กับเชื้อมาตรฐาน(Type strains) ของ *Pseudomonas fulva* IAM1529T (D84015) และ *Pseudomonas koreensis* Ps 9-14T (AF468452) บริเวณที่มีเครื่องหมาย * แสดงความเหมือนกันของนิวคลีโอไทด์

					
	5	15	25	35	45
<i>E.asburiae</i>	-----ACGCT	GGCGGCAGGC	CTAACACATG	CAAGTCGAGC	GGTAGCACAG
<i>E.cancerogenus</i>	ATTGAACGCT	GGCGGCAGGC	CTAACACATG	CAAGTCGARC	GGTARCACAG
Z4G-1	-----	-----	-----	---TCGAGC	GGTAGCACAG
2Z2E-7	-----	-----	-----	---TCGAGC	GGTAACACAG
Conserve				**** *	**** *****

					
	55	65	75	85	95
<i>E.asburiae</i>	GGAGCTTGCT	CCTGGGTGAC	GAGCGGCGGA	CGGGTGAGTA	ATGTCTGGGA
<i>E.cancerogenus</i>	AGAGCTTGCT	CTCGGGTGAC	GAGYGGCGGA	CGGGTGAGTA	ATGTCTGGGA
Z4G-1	AGAGCTTGCT	CTCGGGTGAC	GAGCGGCGGA	CGGGTGAGTA	ATGTCTGGGA
2Z2E-7	GGAGCTTGCT	CCTGGGTGAC	GAGCGGCGGA	CGGGTGAGTA	ATGTCTGGGA
Conserve	***** *	*****	*** *****	*****	*****

					
	105	115	125	135	145
<i>E.asburiae</i>	AACTGCCTGA	TGGAGGGGGA	TAACACTGG	AAACGGTAGC	TAATACCGCA
<i>E.cancerogenus</i>	AACTGCCTGA	TGGAGGGGGA	TAACACTGG	AAACGGTAGC	TAATACCGCA
Z4G-1	AACTGCCTGA	TGGAGGGGGA	TAACACTGG	AAACGGTAGC	TAATACCGCA
2Z2E-7	AACTGCCTGA	TGGAGGGGGA	TAACACTGG	AAACGGTAGC	TAATACCGCA
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****

					
	155	165	175	185	195
<i>E.asburiae</i>	TAACGTCGCA	AGACCAAAGA	GGGGGACCTT	CGGGCCTCTT	GCCATCAGAT
<i>E.cancerogenus</i>	TAACGTCGCA	AGACCAAAGA	GGGGGACCTT	CGGGCCTCTT	GCCATCAGAT
Z4G-1	TAACGTCGCA	AGACCAAAGA	GGGGGACCTT	CGGGCCTCTT	GCCATCAGAT
2Z2E-7	TAATGTCGCA	AGACCAAAGA	GGGGGACCTT	CGGGCCTCTT	GCCATCAGAT
Conserve	*** *****	*****	*****	*****	*****

					
	205	215	225	235	245
<i>E.asburiae</i>	GTGCCCAGAT	GGGATTAGCT	AGTAGGTGGG	GTAACGGCTC	ACCTAGGCGA
<i>E.cancerogenus</i>	GTGCCCAGAT	GGGATTAGCT	AGTAGGTGGG	GTAACGGCTC	ACCTAGGCGA
Z4G-1	GTGCCCAGAT	GGGATTAGCT	AGTAGGTGGG	GTAACGGCTC	ACCTAGGCGA
2Z2E-7	GTGCCCAGAT	GGGATTAGCT	AGTAGGTGGG	GTAACGGCTC	ACCTAGGCGA
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****

					
	255	265	275	285	295
<i>E.asburiae</i>	CGATCCCTAG	CTGGTCTGAG	AGGATGACCA	GCCACACTGG	AACTGAGACA
<i>E.cancerogenus</i>	CGATCCCTAG	CTGGTCTGAG	AGGATGACCA	GCCACACTGG	AACTGAGACA
Z4G-1	CGATCCCTAG	CTGGTCTGAG	AGGATGACCA	GCCACACTGG	AACTGAGACA
2Z2E-7	CGATCCCTAG	CTGGTCTGAG	AGGATGACCA	GCCACACTGG	AACTGAGACA
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****

					
	305	315	325	335	345
<i>E.asburiae</i>	CGGTCCAGAC	TCCTACGGGA	GGCAGCAGTG	GGGAATATTG	CACAATGGGC
<i>E.cancerogenus</i>	CGGTCCAGAC	TCCTACGGGA	GGCAGCAGTG	GGGAATATTG	CACAATGGGC
Z4G-1	CGGTCCAGAC	TCCTACGGGA	GGCAGCAGTG	GGGAATATTG	CACAATGGGC
2Z2E-7	CGGTCCAGAC	TCCTACGGGA	GGCAGCAGTG	GGGAATATTG	CACAATGGGC
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****

					
	355	365	375	385	395
<i>E.asburiae</i>	GCAAGCCTGA	TGCAGCCATG	CCGCGTGTAT	GAAGAAGGCC	TTCGGGTTGT
<i>E.cancerogenus</i>	GCAASCCTGA	TGCAGCCATG	CCGCGTGTAT	GAAGAAGGCC	TTCGGGTTGT
Z4G-1	GCAAGCCTGA	TGCAGCCATG	CCGCGTGTAT	GAAGAAGGCC	TTCGGGTTGT
2Z2E-7	GCAAGCCTGA	TGCAGCCATG	CCGCGTGTAT	GAAGAAGGCC	TTCGGGTTGT
Conserve	**** *	*****	*****	*****	*****

					
	405	415	425	435	445
<i>E.asburiae</i>	AAAGTACTTT	CAGCGGGGAG	GAAGGCGATA	AGGTTAATAA	CCTTGTCGAT
<i>E.cancerogenus</i>	AAAGTACTTT	CAGCGGGGAG	GAAGGCGATA	AGGTTAATAA	CCTTGTCGAT
Z4G-1	AAAGTACTTT	CAGCGGGGAG	GAAGGCGATA	AGGTTAATAA	CCTTGTCGAT
2Z2E-7	AAAGTACTTT	CAGCGAGGAG	GAAGGCGTTG	TGGTTAATAA	CCACAGTGAT
Conserve	*****	*****	*****	*****	***

					
	455	465	475	485	495
<i>E.asburiae</i>	TGACGTTACC	CGCAGAAGAA	GCACCGGCTA	ACTCCGTGCC	AGCAGCCGCG
<i>E.cancerogenus</i>	TGACGTTACC	CGCAGAARAA	GCACCGGCTA	ACTCCGTGCC	AGCAGCCGCG
Z4G-1	TGACGTTACC	CGCAGAAGAA	GCACCGGCTA	ACTCCGTGCC	AGCAGCCGCG
2Z2E-7	TGACGTTACT	CGCAGAAGAA	GCACCGGCTA	ACTCCGTGCC	AGCAGCCGCG
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****

					
	505	515	525	535	545
<i>E.asburiae</i>	GTAATACGGA	GGGTGCAAGC	GTTAATCGGA	ATTACTGGGC	GTAAAGCGCA
<i>E.cancerogenus</i>	GTAATACGGA	GGGTGCAAGC	GTTAATCGGA	ATTACTGGGC	GTAAAGCGCA
Z4G-1	GTAATACGGA	GGGTGCAAGC	GTTAATCGGA	ATTACTGGGC	GTAAAGCGCA
2Z2E-7	GTAATACGGA	GGGTGCAAGC	GTTAATCGGA	ATTACTGGGC	GTAAAGCGCA
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****

					
	555	565	575	585	595
<i>E.asburiae</i>	CGCAGGCGGT	CTGTCAAGTC	GGATGTGAAA	TCCCCGGGCT	CAACCTGGGA
<i>E.cancerogenus</i>	CGCAGGCGGT	CTGTCAAGTC	GGATGTGAAA	TCCCCGGGCT	CAACCTGGGA
Z4G-1	CGCAGGCGGT	CTGTCAAGTC	GGATGTGAAA	TCCCCGGGCT	CAACCTGGGA
2Z2E-7	CGCAGGCGGT	CTGTCAAGTC	GGATGTGAAA	TCCCCGGGCT	CAACCTGGGA
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****

					
	605	615	625	635	645
<i>E.asburiae</i>	ACTGCATTCT	AAACTGGCAG	GCTAGAGTCT	TGTAGAGGGG	GGTAGAATTC
<i>E.cancerogenus</i>	ACTGCATTCT	AAACTGGCAG	GCTAGAGTCT	TGTAGAGGGG	GGTAGAATTC
Z4G-1	ACTGCATTCT	AAACTGGCAG	GCTAGAGTCT	TGTAGAGGGG	GGTAGAATTC
2Z2E-7	ACTGCATTCT	AAACTGGCAG	GCTAGAGTCT	TGTAGAGGGG	GGTAGAATTC
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****

					
	655	665	675	685	695
<i>E.asburiae</i>	CAGGTGTAGC	GGTGAAATGC	GTAGAGATCT	GGAGGAATAC	CGGTGGCGAA
<i>E.cancerogenus</i>	CAGGTGTAGC	GGTGAAATGC	GTAGAGATCT	GGAGGAATAC	CGGTGGCGAA
Z4G-1	CAGGTGTAGC	GGTGAAATGC	GTAGAGATCT	GGAGGAATAC	CGGTGGCGAA
2Z2E-7	CAGGTGTAGC	GGTGAAATGC	GTAGAGATCT	GGAGGAATAC	CGGTGGCGAA
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	705	715			
<i>E.asburiae</i>	GGCGGCCCCC	TGGACAAAGA	CTGA		
<i>E.cancerogenus</i>	GGCGGCCCCC	TGGACAAAGA	CTGA		
Z4G-1	GGCGGCCCCC	TGGACAAAGA	CTGA		
2Z2E-7	GGCGGCCCCC	TGGACAAAGA	CTGA		
Conserve	*****	*****	****		

รูปที่ 4.6 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณปลาย 5 ' ของ 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต 2Z2E-7, Z4G-1 กับเชื้อมาตรฐาน (Type strains) ของ *Enterobacter asburiae* JCM 6051T (AB004744) และ *Enterobacter cancerogenus* LMG 2693T (Z96078) บริเวณที่มีเครื่องหมาย * แสดงความเหมือนกันของนิวคลีโอไทด์

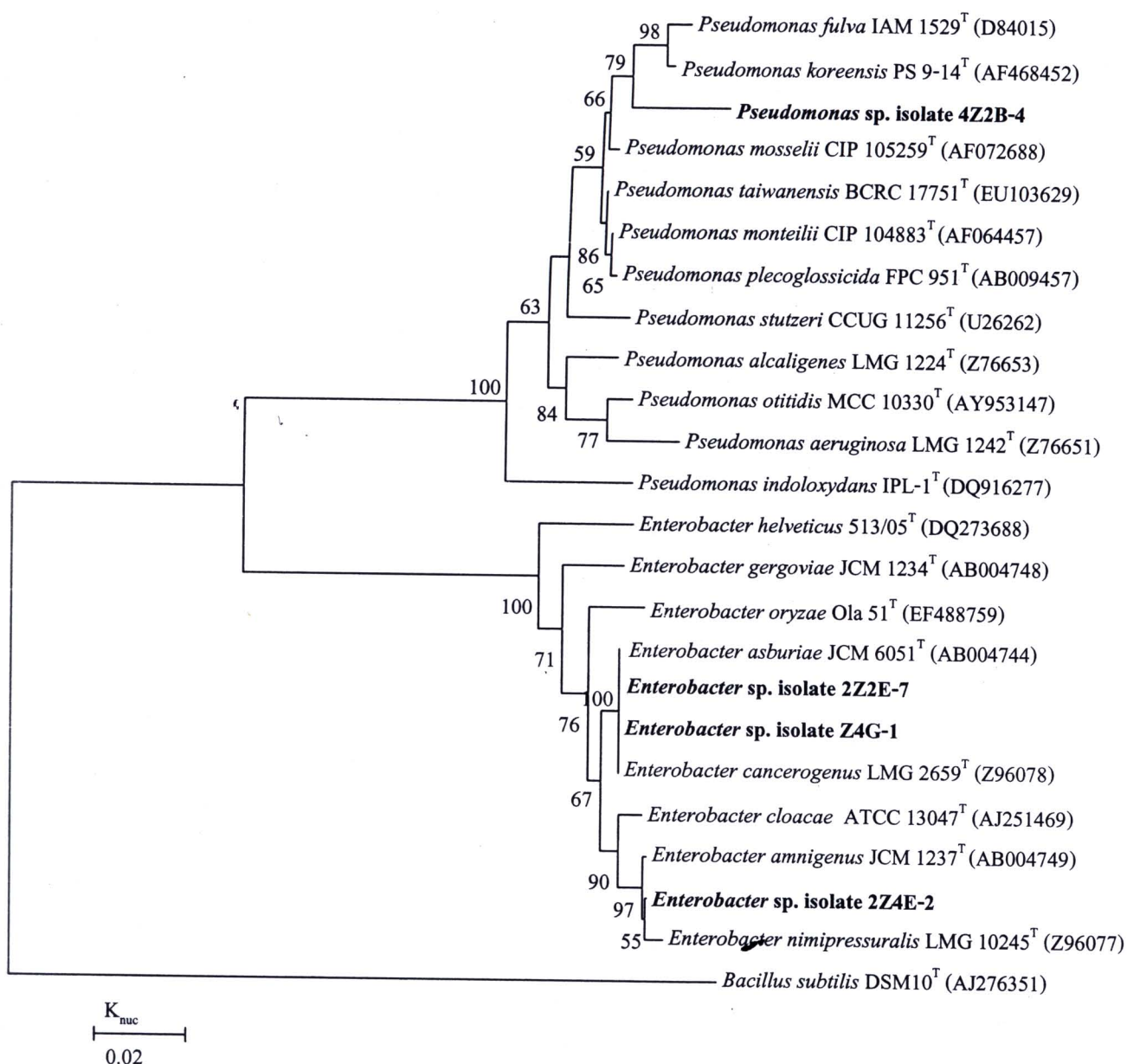
					
	5	15	25	35	45
2Z4E-2	-----	-----	-----	----TCGAGC	GGTAACACAG
<i>E. amnigenus</i>	-----ACGCT	GGCGGCAGGC	CTAACACATG	CAAGTCGAGC	GGTAGCACAG
<i>E. nimipressuralis</i>	ATTGAACGCT	GGCGGCAGGC	CTAACACATG	CAAGTCGAGC	GGTAGCACAG
Conserve				*****	**** *****
					
	55	65	75	85	95
2Z4E-2	GGAGCTTGCT	CCT--GGGT	GACGAGCGGC	GGACGGGTGA	GTAATGTCTG
<i>E. amnigenus</i>	AGAGCTTGCT	CTC--GGGT	GACGAGCGGC	GGACGGGTGA	GTAATGTCTG
<i>E. nimipressuralis</i>	AGAGCTTGCT	TCTTCAGGGT	GACGAGCGGC	GGACGGGTGA	GTAATGTCTG
Conserve	*****	****	*****	*****	*****
					
	105	115	125	135	145
2Z4E-2	GGAAACTGCC	TGATGGAGGG	GGATAACTAC	TGGAAACGGT	AGCTAATACC
<i>E. amnigenus</i>	GGAAACTGCC	TGATGGAGGG	GGATAACTAC	TGGAAACGGT	AGCTAATACC
<i>E. nimipressuralis</i>	GGAAACTGCC	TGATGGAGGG	GGATAACTAC	TGGAAACGGT	AGCTAATACC
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	155	165	175	185	195
2Z4E-2	GCATAATGTC	GCAAGACCAA	AGAGGGGGAC	CTTCGGGCCT	CTTGCCATCA
<i>E. amnigenus</i>	GCATAANGTC	GCAAGACCAA	AGAGGGGGAC	CTTCGGGCCT	CTTGCCATCA
<i>E. nimipressuralis</i>	GCATAACGTC	GCAAGACCAA	AGAGGGGGAC	CTTCGGGCCT	CTTGCCATCA
Conserve	*****	*** *****	*****	*****	*****
					
	205	215	225	235	245
2Z4E-2	GATGTGCCCA	GATGGGATTA	GCTAGTAGGT	GGGGTAACGG	CTCACCTAGG
<i>E. amnigenus</i>	GATGTGCCCA	GATGGGATTA	GCTAGTAGGT	GGGGTAATGG	CTCACCTAGG
<i>E. nimipressuralis</i>	GATGTGCCCA	GATGGGATTA	GCTAGTAGGT	GGGGTAACGG	CTCACCTAGG
Conserve	*****	*****	*****	*****	** *****
					
	255	265	275	285	295
2Z4E-2	CGACGATCCC	TAGCTGGTCT	GAGAGGATGA	CCAGCCACAC	TGGAACCTAG
<i>E. amnigenus</i>	CGACGATCCC	TAGCTGGTCT	GAGAGGATGA	CCAGCCACAC	TGGAACCTAG
<i>E. nimipressuralis</i>	CGACGATCCC	TAGCTGGTCT	GAGAGGATGA	CCAGCCACAC	TGGAACCTAG
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****

					
	305	315	325	335	345
2Z4E-2	ACACGGTCCA	GACTCCTACG	GGAGGCAGCA	GTGGGGAATA	TTGCACAATG
<i>E. amnigenus</i>	ACACGGTCCA	GACTCCTACG	GGAGGCAGCA	GTGGGGAATA	TTGCACAATG
<i>E. nimipressuralis</i>	ACACGGTCCA	GACTCCTACG	GGAGGCAGCA	GTGGGGAATA	TTGCACAATG
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	355	365	375	385	395
2Z4E-2	GGCGCAAGCC	TGATGCAGCC	ATGCCGCGTG	TATGAAGAAG	GCCTTCGGGT
<i>E. amnigenus</i>	GGCGCAAGCC	TGATGCAGCC	ATGCCGCGTG	TATGAAGAAG	GCCTTCGGGT
<i>E. nimipressuralis</i>	GGCGCAAGCC	TGATGCAGCC	ATGCCGCGTG	TATGAAGAAG	GCCTTCGGGT
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	405	415	425	435	445
2Z4E-2	TGTAAAGTAC	TTTCAGCGAG	GAGGAAGGCG	TTGTGGTTAA	TAACCACAGT
<i>E. amnigenus</i>	TGTAAAGTAC	TTTCAGCGAG	GAGGAAGGCA	TTGTGGTTAA	TAACCACAGT
<i>E. nimipressuralis</i>	TGTAAAGTAC	TTTCAGCGAG	GAGGAAGGCA	TTGTGGTTAA	TAACCACAGT
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	455	465	475	485	495
2Z4E-2	GATTGACGTT	ACTCGCAGAA	GAAGCACCGG	CTAACTCCGT	GCCAGCAGCC
<i>E. amnigenus</i>	GATTGACGTT	ACTCGCAGAA	GAAGCACCGG	CTAACTCCGT	GCCAGCAGCC
<i>E. nimipressuralis</i>	GATTGACGTT	ACTCGCAGAA	GAAGCACCGG	CTAACTCCGT	GCCAGCAGCC
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	505	515	525	535	545
2Z4E-2	GCGGTAATAC	GGAGGGTGCA	AGCGTTAATC	GGAATTACTG	GGCGTAAAGC
<i>E. amnigenus</i>	GCGGTAATAC	GGAGGGTGCA	AGCGTTAATC	GGAATTACTG	GGCGTAAAGC
<i>E. nimipressuralis</i>	GCGGTAATAC	GGAGGGTGCA	AGCGTTAATC	GGAATTACTG	GGCGTAAAGC
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	555	565	575	585	595
2Z4E-2	GCACGCAGGC	GGTCTGTCAA	GTCGGATGTG	AAATCCCCGG	GCTCAACCTG
<i>E. amnigenus</i>	GCACGCAGGC	GGTCTGTCAA	GTCGGATGTG	AAATCCCCGG	GCTCAACCTG
<i>E. nimipressuralis</i>	GCACGCAGGC	GGTCTGTCAA	GTCGGATGTG	AAATCCCCGG	GCTCAACCTG
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****

					
	605	615	625	635	645
2Z4E-2	GGAAGTGCAT	TCGAAACTGG	CAGGCTAGAG	TCTTGTAGAG	GGGGGTAGAA
<i>E. amnigenus</i>	GGAAGTGCAT	TCGAAACTGG	CAGGCTAGAG	TCTTGTAGAG	GGGGGTAGAA
<i>E. nimipressuralis</i>	GGAAGTGCAT	TCGAAACTGG	CAGGCTAGAG	TCTTGTAGAG	GGGGGTAGAA
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	655	665	675	685	695
2Z4E-2	TTCCAGGTGT	AGCGGTGAAA	TGCGTAGAGA	TCTGGAGGAA	TACCGGTGGC
<i>E. amnigenus</i>	TTCCAGGTGT	AGCGGTGAAA	TGCGTAGAGA	TCTGGAGGAA	TACCGGTGGC
<i>E. nimipressuralis</i>	TTCCAGGTGT	AGCGGTGAAA	TGCGTAGAGA	TCTGGAGGAA	TACCGGTGGC
Conserve	*****	*****	*****	*****	*****
					
	705	715	725		
2Z4E-2	GAAGGCGGCC	CCCTGGACAA	AGACTGA		
<i>E. amnigenus</i>	GAAGGCGGCC	CCCTGGACAA	AGACTGA		
<i>E. nimipressuralis</i>	GAAGGCGGCC	CCCTGGACAA	AGACTGA		
Conserve	*****	*****	*****		



รูปที่ 4.7 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณปลาย 5' ของ 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต 2Z4E-2 กับเชื้อมาตรฐาน (Type strains) ของ *Enterobacter amnigenus* JCM 1237T (AB004749) และ *Enterobacter nimipressuralis* LMG 10245T (Z96077) บริเวณที่มีเครื่องหมาย * แสดงความเหมือนกันของนิวคลีโอไทด์



รูปที่ 4.8 ต้นไม้ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ บริเวณ 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต 4Z2B-4, 2Z2E-7, Z4G-1 และ 2Z4E-2 โดยวิธี Neighbor-joining method