

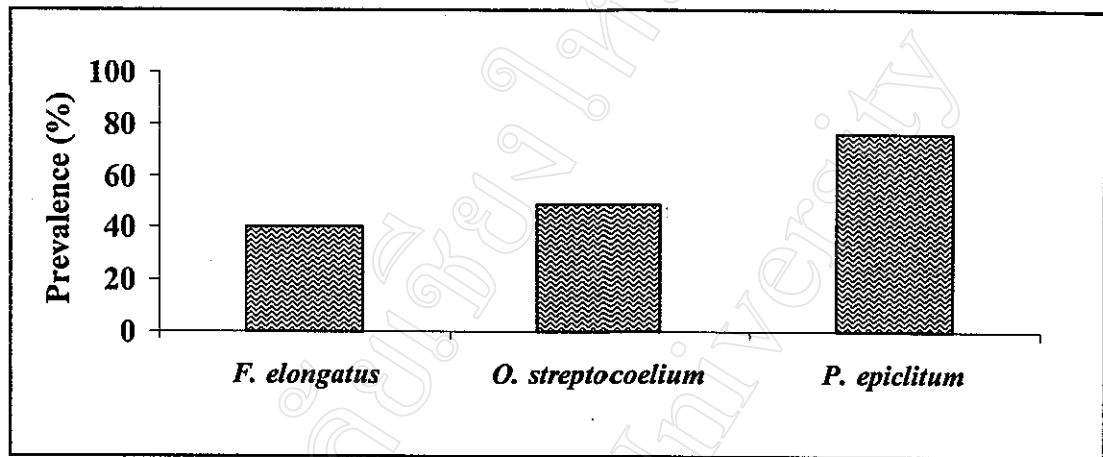
บทที่ 4

ผลการศึกษา

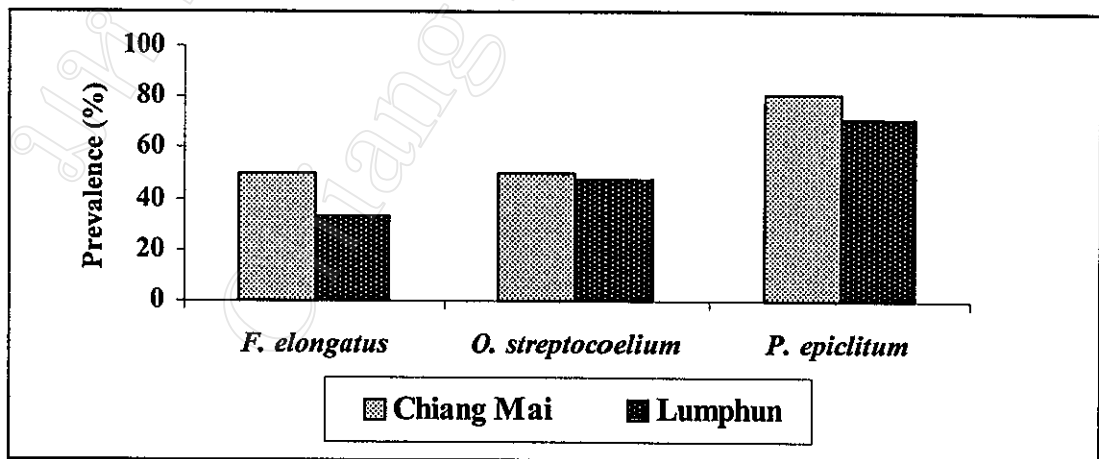
ผลการสำรวจชนิดของพยาธิใบไม้จากกระเพาะผ้าขี้ริ้วของโค

ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2543 ได้ทำการเก็บตัวอย่างพยาธิใบไม้จากกระเพาะผ้าขี้ริ้วของโค (*Bos indicus*) ในอำเภอเมืองของจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน จากโคทั้งหมด 37 ตัว พบพยาธิใบไม้ในโค 29 ตัวมีค่า prevalence รวมเท่ากับ 78.38% ชนิดของพยาธิใบไม้ที่พบคือ *Fischoederius elongatus* (Poiries,1883), *Orthocoelium streptocoelium* (Fischoeder,1901) และ *Paramphistomum epiclitum* Fischoedes,1904 มีค่า prevalence เท่ากับ 40.54%, 48.65% และ 75.68% ตามลำดับ (รูป 2)

ในจังหวัดเชียงใหม่ มีค่า prevalence รวมเท่ากับ 87.50% พบพยาธิใบไม้ 3 ชนิดคือ *F. elongatus*, *O. streptocoelium* และ *P. epiclitum* มีค่า prevalence เท่ากับ 50.00%, 50.00% และ 81.25% ตามลำดับ ส่วนจังหวัดลำพูน มีค่า prevalence รวมเท่ากับ 71.43% พบพยาธิ 3 ชนิดเช่นกัน โดยมีค่า prevalence เท่ากับ 33.33%, 47.62% และ 71.43% (รูป 3)



รูป 2 แสดงค่า prevalence รวมของพยาธิจากโคทั้งหมด



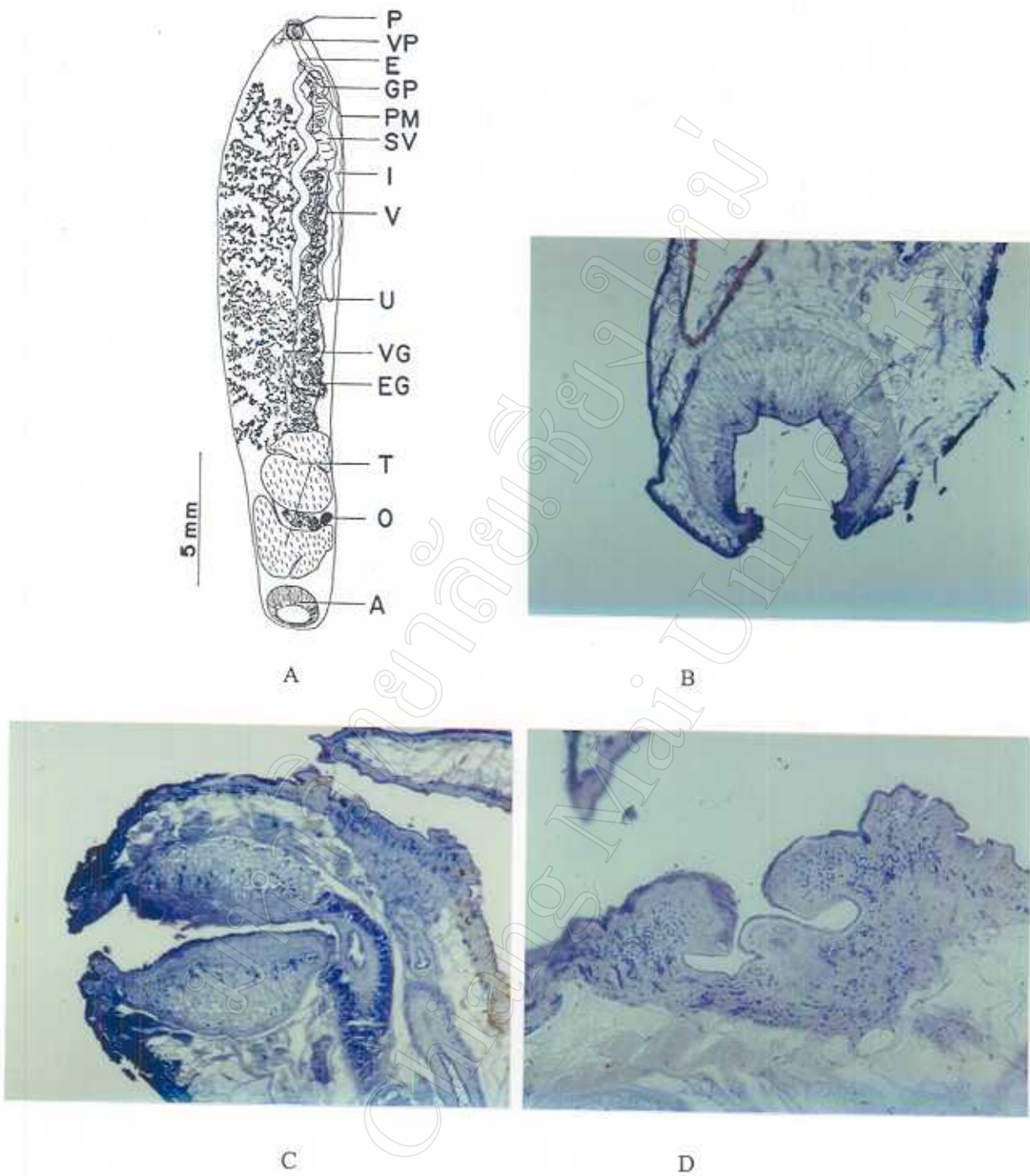
รูป 3 แสดงค่า prevalence ของพยาธิเปรียบเทียบระหว่างจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน

ผลการศึกษากายรูปวิทยาของพยาธิใบไม้

Fischoederius elongatus (Poiries, 1883)

ลักษณะรูปร่าง

ลำตัวยาว 9.60-24.00 มิลลิเมตร กว้าง 2.88-6.15 มิลลิเมตร (รูป 4A) acetabulum ยาว 1.02-1.78 มิลลิเมตร กว้าง 1.32-2.5 มิลลิเมตร มีลักษณะแบบ *Fischoederius* type (รูป 4B) Pharynx ยาว 0.57-0.73 มิลลิเมตร กว้าง 0.45-0.70 มิลลิเมตร มีลักษณะแบบ *Paramphistomum* type (รูป 4B) esophagus ยาว 0.87-1.25 มิลลิเมตร กว้าง 0.2-0.3 มิลลิเมตร intestine แยกเป็น 2 ข้างไม่แยกห่างกันมาก ส่วนปลายสิ้นสุดประมาณกึ่งกลางลำตัว Testis เรียงกันตามยาว ยาว 1.17-2.83 มิลลิเมตร กว้าง 1.30-2.30 มิลลิเมตร pars musculaosa เจริญพอสมควร Ovary ยาว 0.80-0.88 มิลลิเมตร กว้าง 0.52-0.58 มิลลิเมตร terminal genitalium อยู่ใน ventral pouch มีลักษณะแบบ *Gracile* type (รูป 4D) Egg ยาว 0.30-0.38 มิลลิเมตร กว้าง 0.15-0.18 มิลลิเมตร

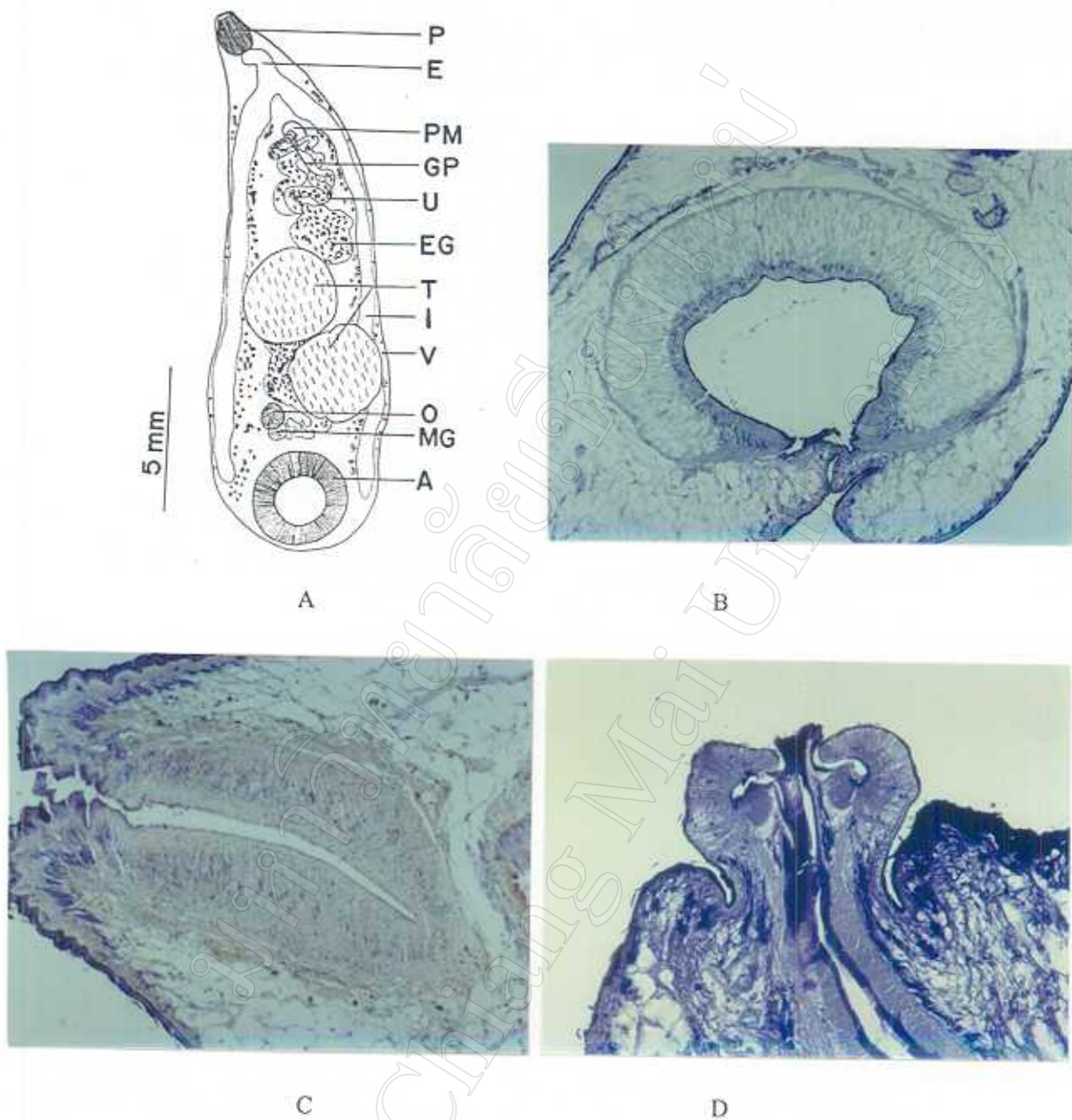


- รูป 4 A) รูปวาด *Fischoederius elongatus*
 B) รูปถ่าย Median sagittal section of acetabulum แบบ *Fischoederius* type
 C) รูปถ่าย Median sagittal section of pharynx แบบ *Paramphistomum* type
 D) รูปถ่าย Median sagittal section of terminal genitalium แบบ *Gracile* type

Orthocoelium streptocoelium (Fischöeder, 1901)

ลักษณะรูปร่าง

ลำตัวยาว 13.00-16.40 มิลลิเมตร กว้าง 5.30-7.20 มิลลิเมตร (รูป 5A) acetabulum มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.62-2.90 มิลลิเมตร ลักษณะแบบ *Streptocoelium* type (รูป 5B) Pharynx ยาว 0.97-1.40 มิลลิเมตร กว้าง 0.95-1.15 มิลลิเมตร มีลักษณะแบบ *Calicophoron* type (รูป 5C) esophagus ยาว 1.00-1.13 มิลลิเมตร 0.42-0.53 มิลลิเมตร พบ muscular sphincter anterior testis ยาว 1.97-2.60 มิลลิเมตร กว้าง 1.67-2.75 มิลลิเมตร ส่วน Posterior testis ยาว 1.80-2.95 มิลลิเมตร กว้าง 1.70-2.63 มิลลิเมตร pars muscosa เจริญดี ovary ยาว 0.62-1.65 มิลลิเมตร กว้าง 0.45-0.90 มิลลิเมตร terminal genitalium แบบ *Streptocoelium* type (รูป 5D) genital pore postbifurcal Eggs ยาว 0.27-0.33 มิลลิเมตร กว้าง 0.12-0.18 มิลลิเมตร

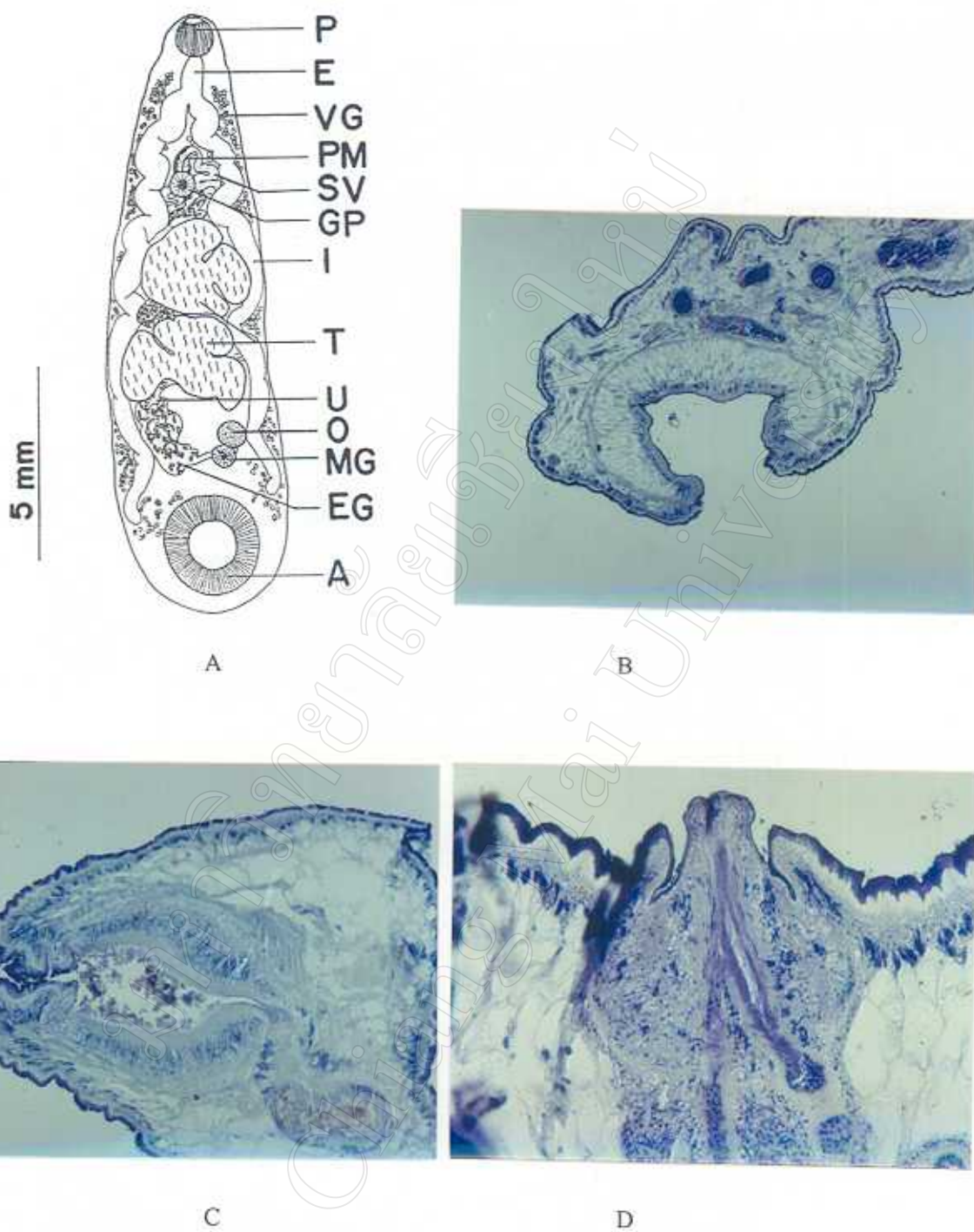


รูป 5 A) รูปวาด *Orthocoelium streptocoelium*
 B) รูปถ่าย Median sagittal sections of acetabulum แบบ *Streptocoelium* type
 C) รูปถ่าย Median sagittal section of pharynx แบบ *Calicophoron* type
 D) รูปถ่าย Median sagittal section of terminal genitalium แบบ *Streptocoelium* type

Paramphistomum epiclitum Fischoes, 1904

ลักษณะรูปร่าง

ลำตัวยาว 11.00-13.20 มิลลิเมตร กว้าง 3.15-4.10 มิลลิเมตร (รูป 6A) acetabulum ยาว 1.97-2.35 มิลลิเมตร กว้าง 1.90-2.50 มิลลิเมตร มีลักษณะแบบ *Paramphistomum* type (รูป 6B) pharynx ยาว 0.85-0.93 มิลลิเมตร กว้าง 0.82-0.88 มิลลิเมตร ลักษณะแบบ *Calicophoron* type (รูป 6C) without muscular thickening anterior testis ยาว 0.97-2.13 มิลลิเมตร กว้าง 1.17-2.38 มิลลิเมตร posterior testis ยาว 1.05-1.75 มิลลิเมตร กว้าง 1.02-2.50 pars muscosa สั้น เจริญไม่ค่อขดี Ovary มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.50-0.60 มิลลิเมตร terminal genitalium แบบ *Epiclitum* type (รูป 6D) genital pore postbifurcal eggs ยาว 0.25-0.33 มิลลิเมตร กว้าง 0.12-0.18 มิลลิเมตร



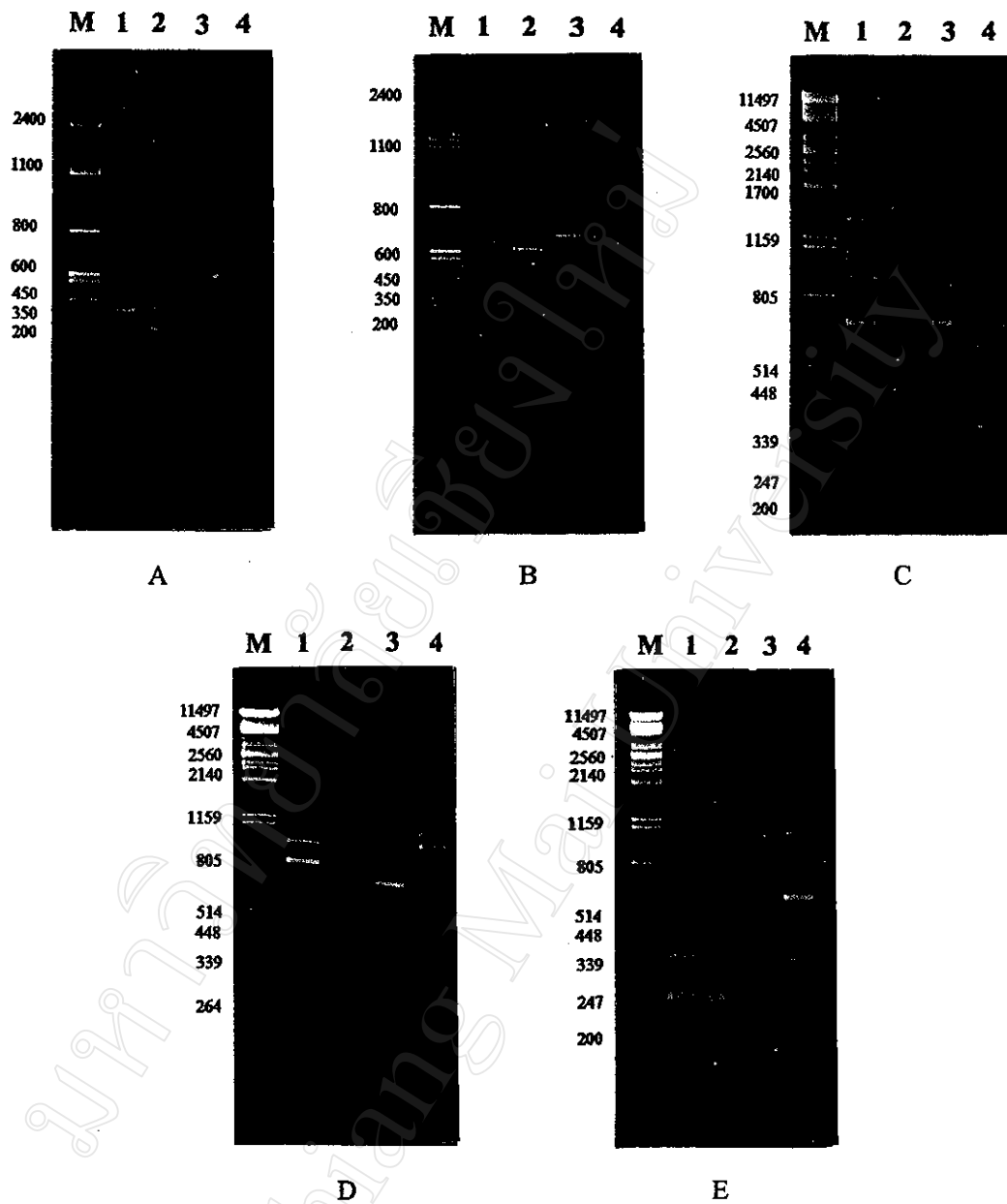
รูป 6 A) รูปวาด *Paramphistomum epiclitum*
 B) รูปถ่าย Median sagittal sections of acetabulum แบบ *Paramphistomum* type
 C) รูปถ่าย Median sagittal section of pharynx แบบ *Calicophoron* type
 D) รูปถ่าย Median sagittal section of terminal genitalium แบบ *Epiclitum* type

ผลการศึกษาทางด้านอนุชีววิทยา

จากการใช้เทคนิค HAT-RAPD เพื่อวิเคราะห์พันธุกรรมของพยาธิโดยเตรียมดีเอ็นเอจากพยาธิใบไม้จากกระเพาะปลาซีรัวโคทั้ง 3 ชนิดคือ *F. elongatus*, *O. streptocoelium* และ *P. epiclitum* และตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ *Stellantchasmus falcatus* จากปลาเข็ม ซึ่งใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) แล้วนำไปเพิ่มขยายปริมาณโดยอาศัยปฏิกิริยา PCR โดยใช้ arbitrary primer จำนวน 6 primers พบว่า OPA-05 ไม่สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ขึ้นมาได้ ส่วนอีก 5 primers คือ OPA-02 OPA-04 OPB-18 OPC-09 และ OPH-11 (ตาราง 1) สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ได้และยังพบว่ามีย่านักโมเลกุลที่แตกต่างกัน (polymorphic bands) ในระหว่างชนิดพยาธิอีกด้วย การศึกษาแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจาก 5 primers พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 61 แถบ ย่านักโมเลกุลตั้งแต่ 135-3450 bp. และเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีย่านักโมเลกุลแตกต่างกันจำนวน 50 แถบ ซึ่งใช้ออกความแตกต่างระหว่างชนิดพยาธิได้

ตาราง 1 แสดงลำดับเบสของ primer และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากเทคนิค HAT-RAPD จากพยาธิ 4 ชนิด

primer	ลำดับเบส 5'→3'	จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด	จำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีย่านักโมเลกุลแตกต่างกัน
OPA-02	TGCCGAGCTG	10	9
OPA-04	AATCGGGCTG	8	7
OPB-18	CCACAGCAGT	16	12
OPC-09	CTCACCGTCC	11	8
OPH-11	CTTCCGCAGT	16	14



รูป 7 แบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพยาธิทั้ง 4 ชนิด โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ primer

A) OPA-02 B) OPA-04 C) OPB-18 D) OPC-09 E) OPH-11

(lane M, molecular weight marker ; lane 1, *P. epiclitum* ; lane 2, *O. streptocoelium* ;

lane 3, *F. elongatus* ; lane 4, *S. falcatus*)

จากรูป 7A แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPA-02 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 10 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 135-760 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 9 แถบ และมีน้ำหนักโมเลกุลร่วมกันเพียง 1 แถบ คือ แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุล 290 bp. พบใน *F. elongatus* และ *S. falcatu*

จากรูป 7B แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPA-04 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 8 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 105-800 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 7 แถบ และมีน้ำหนักโมเลกุลร่วมกันเพียง 1 แถบ คือ แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุล 660 bp. พบใน *F. elongatus* และ *S. falcatu*

จากรูป 7C แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPB-18 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 16 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 220-2050 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 12 แถบ และมีน้ำหนักโมเลกุลร่วมกัน 4 แถบ ได้แก่ แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุล 660 bp. พบใน *P. epiclitum* และ *F. elongatus* แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุล 840 bp. พบใน *F. elongatus* และ *S. falcatu* แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุล 1050 bp. พบใน *P. epiclitum* และ *O. streptocoelium* แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุล 1800 bp. พบใน *P. epiclitum* และ *O. streptocoelium*

จากรูป 7D แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPC-09 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 11 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 570-2000 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 8 แถบ และที่มีน้ำหนักโมเลกุลร่วมกัน 3 แถบ ได้แก่ แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุล 640 bp. พบใน *O. streptocoelium* และ *F. elongatus* แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุล 700 bp. พบใน *P. epiclitum* และ *O. streptocoelium* แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุล 1130 bp. พบใน *F. elongatus* และ *S. falcatu*

จากรูป 7E แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPH-11 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 16 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200-3450 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 14 แถบ และที่มีน้ำหนักโมเลกุลร่วมกัน 2 แถบ ได้แก่ แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุล 250 bp. พบใน *P. epiclitum* และ *O. streptocoelium* แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุล 1350 bp. พบใน *P. epiclitum* และ *S. falcatu*

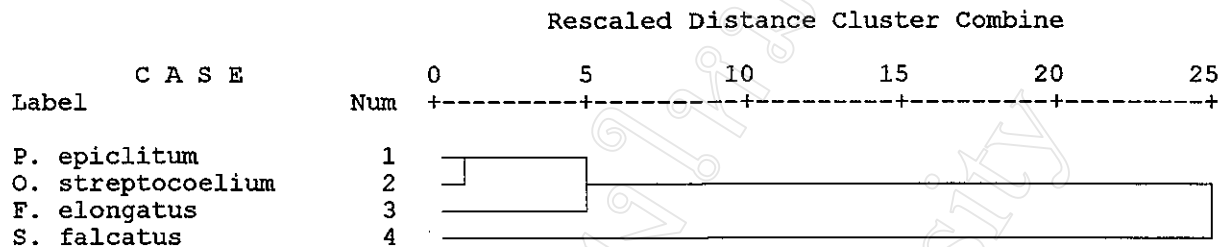
ตาราง 2 แสดงการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอในแต่ละตำแหน่งจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพยาธิทั้ง 4 ชนิด โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ primer OPA-02, OPA-04, OPB-18, OPC-09 และ OPH-11 ซึ่งกำหนดค่าการปรากฏแถบดีเอ็นเอเป็น 1 และไม่ปรากฏแถบเป็น 0

ชนิด	ค่าแทนการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ		
	OPA-02 1→10	OPA-04 1→8	OPB-18 1→16
<i>P. epiclutum</i>	0000110000	00101000	0000100101110101
<i>O. streptocoelium</i>	1100001000	10010100	1010000000010011
<i>F. elongatus</i>	0001000001	00000001	0000110010001000
<i>S. falcatu</i>	0011000110	01000011	0101001010000000

ตาราง 2 (ต่อ) แสดงการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอในแต่ละตำแหน่งจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพยาธิทั้ง 4 ชนิด โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ primer OPA-02, OPA-04, OPB-18, OPC-09 และ OPH-11 ซึ่งกำหนดค่าการปรากฏแถบดีเอ็นเอเป็น 1 และไม่ปรากฏแถบเป็น 0

ชนิด	ค่าแทนการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ	
	OPC-09 1→11	OPH-11 1→16
<i>P. epiclutum</i>	00011010001	010000000000100
<i>O. streptocoelium</i>	01010000000	0100001001110000
<i>F. elongatus</i>	01100001100	0010010100000000
<i>S. falcatu</i>	10000100110	1001100010001111

Dendrogram using Average Linkage (Between Groups)

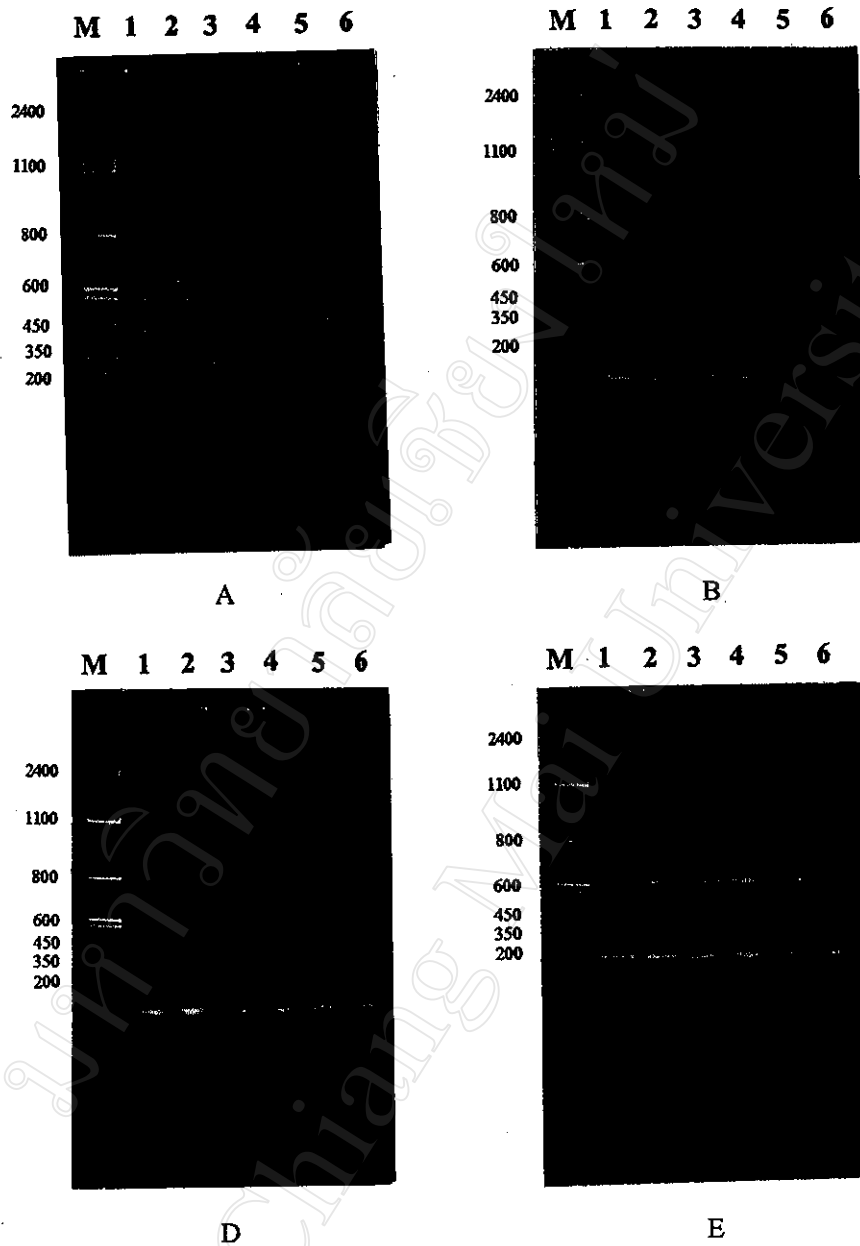


ภาพ 8 dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของพยาธิใบไม้จากกระเพาะปลาซีรัวโคทั้ง 3 ชนิด และพยาธิใบไม้ *S. falcatus* จากปลาซึ่ม (control) จากการใช้ primer OPA-02, OPA-04, OPB-18, OPC-09 และ OPH-11

ตาราง 3 แสดงอัตราส่วนของ homologous fragments (ด้านบน) และค่า similarity index (ด้านล่าง)

	<i>P. epiclitum</i>	<i>O. streptocoelium</i>	<i>F. elongatus</i>	<i>S. falcatus</i>
<i>P. epiclitum</i>		4/35	1/31	1/40
<i>O. streptocoelium</i>	0.2286		1/32	0/41
<i>F. elongatus</i>	0.0645	0.0625		4/37
<i>S. falcatus</i>	0.0500	0	0.2162	

จากการใช้เทคนิค HAT-RAPD เพื่อวิเคราะห์พันธุกรรมของ *P. epiclitum* ซึ่งเตรียมดีเอ็นเอจากพยาธิใบไม้ที่ได้จากโคจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 3 ตัว โคจากจังหวัดลำพูน 3 ตัว แล้วนำไปเพิ่มขยายปริมาณโดยอาศัยปฏิกิริยา PCR โดยใช้ arbitrary primer จำนวน 4 primers คือ OPA-04, OPA-07, OPH-11 และ OPQ-20 พบว่าสามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ได้ทั้งหมด แต่น้ำหนักโมเลกุลของ ดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกัน (monomorphic bands) ระหว่างพยาธิที่มาจากโคคนละพื้นที่ การศึกษาแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจาก 4 primers พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 34 แถบ น้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 110-940 bp.



รูป 9 แบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *P. epiclitum* โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ primer

A) OPA-04 B) OPA-07 C) OPH-11 D) OPQ-20

(lane M, molecular weight marker ; lane 1-3, ตัวอย่างพยาธิจากเชียงใหม่ ;

lane 4-6 , ตัวอย่างพยาธิจากลำพูน)

จากรูป 8A แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPA-04 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 12 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 180-840 bp. แถบดีเอ็นเอที่ได้มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพหุรีที่ได้จากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 180 230 360 425 475 500 600 670 740 780 810 และ 840 ตามลำดับ

จากรูป 8B แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPA-07 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 12 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 110-940 bp. แถบดีเอ็นเอที่ได้มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพหุรีที่มาจากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 110 180 310 430 510 560 610 640 710 780 840 และ 940 ตามลำดับ

จากรูป 8C แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPH-11 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 4 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 150-930 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพหุรีที่มาจากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 150 720 810 และ 930 ตามลำดับ

จากรูป 8D แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPQ-20 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 6 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 175-700 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพหุรีที่มาจากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 175 220 250 600 650 และ 700 ตามลำดับ

จากการใช้เทคนิค HAT-RAPD เพื่อวิเคราะห์พันธุกรรมของ *O. streptocoeilium* ซึ่งเตรียมดีเอ็นเอจากพหุรีใบไม้ที่ได้จากโคจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 3 ตัว โคจากจังหวัดลำพูน 3 ตัว แล้วนำไปเพิ่มขยายปริมาณโดยอาศัยปฏิกิริยา PCR โดยใช้ arbitrary primer จำนวน 4 primers คือ OPA-02, OPA-04, OPE-13, OPH-17 และ OPW-17 พบว่าสามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ได้ทั้งหมด แต่ น้ำหนักโมเลกุลของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกัน (monomorphic bands) ระหว่างพหุรีที่ได้จากโคคนละพื้นที่ การศึกษาแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจาก 5 primers พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 48 แถบ น้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 100-1050 bp.

จากรูป 9A แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPA-02 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 13 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 100-820 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพหุรีที่มาจากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 100 120 175 190 250 320 390 450 620 670 720 780 และ 820 ตามลำดับ

จากรูป 9B แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPA-04 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 14 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 190-1050 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนัก

โมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพยาธิที่ได้จากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 190 280 490 600 620 670 700 780 810 860 880 930 960 และ 1050 ตามลำดับ

จากรูป 9C แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPE-13 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 15 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 135-960 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพยาธิที่มาจากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 135 175 205 295 350 460 550 580 620 660 810 850 880 920 และ 960 ตามลำดับ

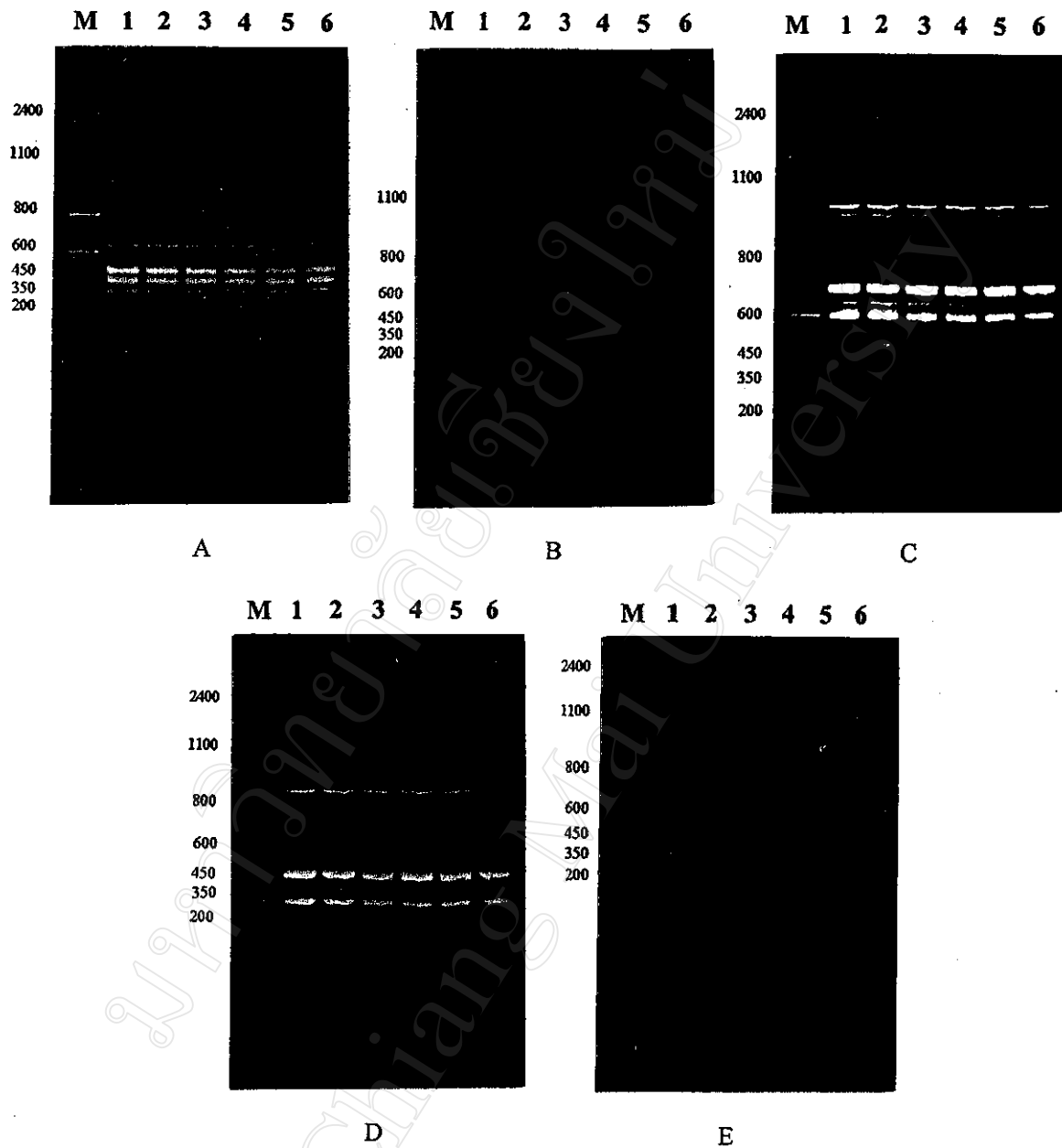
จากรูป 9D แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPH-17 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 5 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 100-610 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพยาธิที่มาจากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 100 135 365 500 และ 610 ตามลำดับ

จากรูป 9E แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPW-17 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอเพียง 1 แถบ น้ำหนักโมเลกุล 350 bp. แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นมีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพยาธิที่ได้จากโคคนละพื้นที่

จากการใช้เทคนิค HAT-RAPD เพื่อวิเคราะห์พันธุกรรมของ *F. elongatus* ซึ่งเตรียมดีเอ็นเอจากพยาธิใบไม้ที่ได้จากโคจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 3 ตัว โคจากจังหวัดลำพูน 3 ตัว แล้วนำไปเพิ่มขยายปริมาณโดยอาศัยปฏิกิริยา PCR โดยใช้ arbitrary primer จำนวน 5 primers คือ OPA-02, OPA-07, OPH-11, OPQ-14 และ OPW-14 พบว่าสามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ได้ แต่น้ำหนักโมเลกุลของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกัน (monomorphic bands) ระหว่างพยาธิที่ได้จากโคคนละพื้นที่ การศึกษาแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจาก 5 primers พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 42 แถบ น้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 100-1010 bp.

จากรูป 10A แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPA-02 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 8 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 180-780 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพยาธิที่มาจากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 180 220 350 540 620 660 700 และ 780 ตามลำดับ

จากรูป 10B แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPA-07 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 6 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 100-880 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพยาธิที่มาจากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 100 230 600 700 800 และ 880 ตามลำดับ

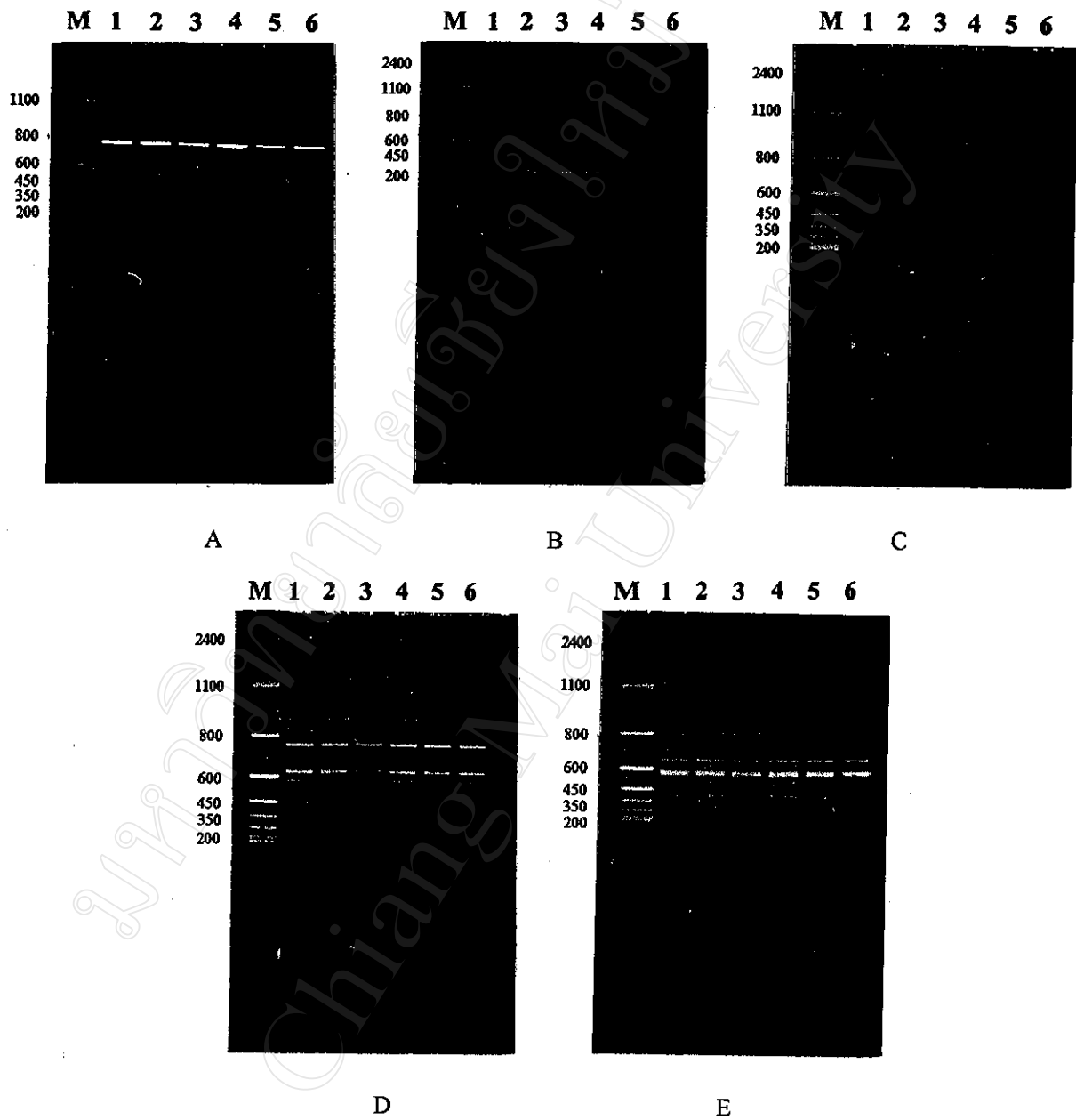


รูป 10 แบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *O. streptocoelium* โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ primer

A) OPA-02 B) OPA-04 C) OPE-13 D) OPH-17 E) OPW-17

(lane M, molecular weight marker ; lane 1-3, ตัวอย่างพยาธิจากเชียงใหม่ ;

lane 4-6 , ตัวอย่างพยาธิจากลำพูน)



รูป 11 แบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *F. elongatus* โดยเทคนิค HAT-RAPD ที่ใช้ primer

A) OPA-02 B) OPA-07 C) OPH-11 D) OPQ-14 E) OPW-14

(lane M, molecular weight marker ; lane 1-3, ตัวอย่างพยาธิจากเชียงใหม่ ;

lane 4-6 , ตัวอย่างพยาธิจากลำพูน)

จากรูป 10C แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPH-11 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 13 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 190-1010 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพยาธิที่มาจากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 190 235 320 470 510 600 630 720 760 800 830 970 และ 1010 ตามลำดับ

จากรูป 10D แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPQ-14 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 6 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200-900 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพยาธิที่มาจากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 200 540 570 520 750 และ 900 ตามลำดับ

จากรูป 10E แสดงแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้ primer OPW-14 ซึ่งทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 9 แถบ น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 550-800 bp. เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกันระหว่างพยาธิที่ได้จากโคคนละพื้นที่ โดยเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุล 110 130 250 370 470 550 610 640 และ 800 ตามลำดับ