

บทคัดย่อ

171562

การรวบรวมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคไหม (*Bombyx mori* L.) จากแหล่งเลี้ยงไหมในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จำนวน 16 จังหวัด คือ จังหวัด กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ มหาสารคาม มุกดาหาร ร้อยเอ็ด เลย ศรีสะเกษ สกลนคร สุรินทร์ หนองคาย อุดรธานี อุบลราชธานี และอำนาจเจริญ สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 397 ไอโซเลต หลังจากทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับไหมวัย 3 พันธุ์ กสก. 7 ที่อุณหภูมิห้อง (27-33 °C) ความชื้นสัมพัทธ์ 62-86 % พบว่ามีไอโซเลตที่ก่อให้เกิดโรคกับไหม 123 ไอโซเลต ซึ่งเมื่อนำไปจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี สามารถจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียได้ 4 ชนิด (species) ได้แก่ เชื้อ *Bacillus thuringiensis* (51 ไอโซเลต) เชื้อ *Serratia marcescens* (39 ไอโซเลต) เชื้อ *Staphylococcus aureus* (19 ไอโซเลต) และเชื้อ *S. sciuri* (14 ไอโซเลต) นอกจากนั้นเมื่อนำผลึกโปรตีนของเชื้อ *B. thuringiensis* มาศึกษา สามารถจัดได้เป็น 5 กลุ่มคือ กลุ่มผลึกโปรตีน รูปทรงกลม รูปทรง bipyramid ขนาดใหญ่ รูปทรง bipyramid ขนาดเล็ก ร่วมกับขนาดใหญ่ รูปทรง bipyramid ขนาดเล็กและขนาดใหญ่ร่วมกับรูปทรงสี่เหลี่ยม และรูปทรง bipyramid ขนาดเล็ก ส่วนการจัดจำแนกเชื้อแต่ละ species ด้วยเทคนิค ARDRA โดยการสุ่มเชื้อ *B. thuringiensis* จากรูปร่างของผลึกโปรตีน กลุ่มละ 2 ไอโซเลต เชื้อ *S. marcescens* 6 ไอโซเลต *S. aureus* และ *S. sciuri* ชนิดละ 2 ไอโซเลต ซึ่งเมื่อตัดผลิตภัณฑ์ PCR (~1400 bp) ในส่วน 16S rDNA ของเชื้อแต่ละชนิดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 7 ชนิดคือ *Ava* II, *Bsp*M II, *Fnu*D II, *Hae* III, *Hpa* II, *Mse* I และ *Taq* I พบว่า ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างไอโซเลตของเชื้อชนิดเดียวกันได้ อย่างไรก็ตาม เมื่อศึกษาข้อมูลลำดับเบสดีเอ็นเอของ partial length ในส่วน 16S rDNA เฉพาะของตัวแทนเชื้อ *B. thuringiensis* กลุ่มละ 1 ไอโซเลต เพื่อบ่งบอกถึงความสัมพันธ์ของลำดับเบสของเชื้อตัวแทนดังกล่าว โดยใช้โปรแกรม DNAstar เมนูย่อย megalign พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างเชื้อตัวแทนไอโซเลตและมีความสัมพันธ์ที่สอดคล้องกันกับรูปร่างของผลึกโปรตีน กล่าวคือ ไอโซเลตที่ผลึกโปรตีนที่มีรูปร่างคล้ายกันนั้นมีความสัมพันธ์ที่ใกล้เคียงกันมากกว่าไอโซเลตที่ผลึกโปรตีนมีรูปร่างต่างกัน และไอโซเลตที่มีผลึกโปรตีนรูปทรงกลมมีความสัมพันธ์กับไอโซเลตอื่นน้อยที่สุด

ABSTRACT

171562

The collection of bacterial diseases of silkworm (*Bombyx mori* L.) were carried through 16 provinces (Amnat Charoen, Buri Ram, Chaiyaphum, Kalasin, Khon Kaen, Loei, Maha Sarakham, Mukdahan, Nakhon Ratchasima, Nong Khai, Roi ET, Sakon Nakhon, Si Sa Ket, Surin, Ubon Ratchathani and Udon Thani) in the northeast of Thailand. There were 397 bacterial isolates, assayed on 3rd instar larvae of silkworm (DOAE 7) at room temperature (27-33 °C, RH 62-86%). It was found that 123 isolates, which were proved to be the bacterial causal agent of silkworm. Morphological characterizations and biochemical properties were conducted for identification and revealed that these isolates were classified into 4 species from 3 genus of, *Bacillus thuringiensis* (51 isolates), *Serratia marcescens* (39 isolates), *Staphylococcus aureus* (19 isolates) and *S. sciuri* (14 isolates). In addition, the morphology of the *B. thuringiensis* parasporal crystal were studied. It was found that these could be grouped into 5 categories depended on crystal shapes: spherical group; large bipyramid group; small-and large bipyramid group; small-, large bipyramid and cuboidal group; and small bipyramid group. Characterization of randomized bacterial isolates of each pathogen were also undertaken using ARDRA technique with 7 restriction enzymes. The 2 isolates of each groups of *B. thuringiensis* based on crystal protein shape, 6 isolates of *S. marcescens* and 2 isolates of each *S. aureus* and *S. sciuri* were selected for the test. Seven restriction enzymes, *Ava* II, *BspM* II, *FnuD* II, *Hae* III, *Hpa* II, *Mse* I and *Taq* I were used to cut the PCR products (~1400 bp) obtained from 16S rDNA of bacterial isolates tested. This study shows that ARDRA technique cannot be used to identify into isolate within the species. However, using the DNASTAR program (magalign) to compare with an alignment of the partial length on 16S rDNA sequences of the representative isolates of *B. thuringiensis* (1 isolate/group) reveals the differences between those isolates, which paralleled with the shapes of crystal. That means, *B. thuringiensis* isolates with similar morphological characteristic relate genetically among the groups more than those with different morphological crystal. Interestingly, the isolates with spherical crystal are least correlation with other isolates.