

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



250426

การวิเคราะห์ลักษณะความต้านทานของมอดหัวป้อม
ต่อสารไซเปอร์เมทรินโดยเทคนิคทางอนุพันธุศาสตร์

ณัฐพร จันทร์ทะ

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
(เกษตรศาสตร์)
สาขาวิชาสัตววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ตุลาคม 2554

600255123

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



250426

การวิเคราะห์ลักษณะความต้านทานของมอดหัวป้อม
ต่อสารไซเปอร์เมทรินโดยเทคนิคทางอนุพันธุศาสตร์



ณัฐพร จันทะ

วิทยานิพนธ์นี้เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัยเพื่อเป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
(เกษตรศาสตร์)
สาขาวิชากีฏวิทยา

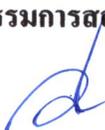
บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ตุลาคม 2554

การวิเคราะห์ลักษณะความต้านทานของมอดหัวป้อมต่อสารไซเปอร์เมทรินโดย
เทคนิคทางอนุพันธุศาสตร์

ณัฐพร จันทะ

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
สาขาวิชากีฏวิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


.....ประธานกรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นครินทร์ พรภิปไหว


.....กรรมการ
อาจารย์ ดร. เยาวถักษณ์ จันทร์บาง


.....กรรมการ
อาจารย์ ดร. พัชรินทร์ ครูฑาเมือง

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์


.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
อาจารย์ ดร. เยาวถักษณ์ จันทร์บาง


.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
อาจารย์ ดร. พัชรินทร์ ครูฑาเมือง

15 ตุลาคม 2554

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาของ อาจารย์ ดร. เขียวลักษณ์ จันทร์บาง ที่สละเวลาให้คำแนะนำปรึกษา ตลอดจนตรวจสอบแก้ไข และให้ความช่วยเหลือจนวิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.พัชรินทร์ ครุฑเมือง ที่ให้คำแนะนำ และชี้แนะที่เป็นประโยชน์ ตลอดจนตรวจสอบวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นครินทร์ พริบไหว ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ให้คำแนะนำ และชี้แนะแนวทางการปฏิบัติงานตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภมิตร เมฆฉาย ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษา และช่วยเหลือการวางแผนการทดลองครั้งนี้

ขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษา และวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการที่มอบทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ และห้องปฏิบัติการครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณอัญชลี วงษา ที่ให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในการทดลองทางอนุพันธุศาสตร์จนงานทดลองสำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ นายนราคร ชูฉาย และนางสาวกัญฉนิศา คำตะนิศย์ ที่ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบใจเพื่อน ๆ น้อง ๆ ในห้องปฏิบัติการทุกคนที่คอยให้กำลังใจ และความช่วยเหลือเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณบุญคุณอันใหญ่หลวงของบิดามารดา และครอบครัวอันเป็นที่รัก ที่ให้ทั้งความรักความอบอุ่น กำลังใจ และคอยดูแลช่วยเหลือทุกอย่าง ตั้งแต่เด็กจนโตจนทำให้ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในวันนี้ได้ ผู้วิจัยสำนึกคุณและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

คุณประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขอมอบแก่ คุณพ่อ คุณแม่ ครูอาจารย์ และผู้มีพระคุณ ทุก ๆ ท่าน

ณัฐพร จันทร์

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การวิเคราะห์ลักษณะความต้านทานของมอดหัวป้อมต่อ
สารไซเปอร์เมทริน โดยเทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์

ผู้เขียน

นายฉัฐพร จันทะ

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) กัญญาวิทยา

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อาจารย์ ดร. เขียวลักษณ์ จันทร์บาง

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

อาจารย์ ดร. พชรินทร์ ครูขแมเมือง

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

250426

มอดหัวป้อม *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera:Bostrichidae) เป็นแมลงศัตรู
ธัญพืชที่สำคัญในโรงเก็บ ในการป้องกันกำจัดมอดหัวป้อม มีการแนะนำให้ใช้ สารไซเปอร์เมทริน
การศึกษานี้มีจุดประสงค์ที่จะคัดเลือกมอดหัวป้อมให้มีความต้านทานต่อสารไซเปอร์เมทริน และ
เปรียบเทียบความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic
DNA : RAPD) โดยเก็บตัวอย่างมอดหัวป้อมจากแหล่งเก็บรักษาข้าวเปลือกในจังหวัดเชียงใหม่
นำมาคัดเลือก (selection) ด้วยสารไซเปอร์เมทริน พบว่าสารไซเปอร์เมทรินมีค่า Median lethal
concentration (LC₅₀) เท่ากับ 16.51 ppm จากนั้นทำการคัดเลือกมอดหัวป้อมอย่างต่อเนื่องจำนวน 5
รุ่น (generation) ด้วยสารไซเปอร์เมทรินที่ระดับ LC₂₅ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการตายระหว่าง
รุ่นต่าง ๆ พบว่ามอดหัวป้อมรุ่นที่ 1 และรุ่นที่ 5 มีอัตราการตาย 80 และ 55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มี
ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งมีแนวโน้มว่ามอดหัวป้อมต้านทานต่อสาร
ไซเปอร์เมทรินได้ในรุ่นที่ 5

จากนั้นนำมอดหัวป้อมตัวเต็มวัยที่ผ่านการคัดเลือกด้วยสารไซเปอร์เมทริน เปรียบเทียบความ
แตกต่างทางพันธุกรรมกับชุดควบคุม โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD) จากการใช้ arbitrary primer
จำนวน 20 ไพรเมอร์ เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มโดยอาศัยปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR) คัดเลือก
ไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการบ่งชี้ความแตกต่างได้ชัดเจนด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส พบว่ามี 1

ไพรมอร์ คือ OPAB-11 ที่สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกันระหว่าง
มอดหัวป้อมที่ถูกคัดเลือกด้วยสารไซเปอร์เมทรินกับชุดควบคุม (ไม่ได้รับสารเคมี) เกิดเป็นแถบ
ดีเอ็นเอที่จำเพาะเจาะจง น้ำหนักโมเลกุล 500, 650 และ 870 คู่เบส สามารถนำมาใช้ในการ
ออกแบบไพรมอร์เพื่อพัฒนาเป็นดีเอ็นเอเครื่องหมาย (DNA marker) ในการตรวจสอบ
ความต้านทาน และเปรียบเทียบกลุ่มประชากรแมลงที่ถูกกระตุ้นด้วยสิ่งแวดล้อมที่ต่างกันได้

Thesis Title Analysis of Cypermethrin Resistance Traits of Lesser Grain Borer
(*Rhyzopertha dominica* (Fabricius)) Using a Molecular Technique

Author Mr. Nattaporn Chanta

Degree Master of Science (Agriculture) Entomology

Thesis Advisory Committee

Lect. Dr. Yaowaluk Chanbang

Advisor

Lect. Dr. Patcharin Krutmuang

Co-advisor

ABSTRACT

250426

The lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Fabricius), is one of most important stored grain- insect pests on rough rice. Cypermethrin has been recommended for the widely uses in empty grain bins for controlling stored-grain insects. The objective of this research is to establish the cypermethrin resistance colony and assess the resistance traits using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis. Adult of lesser grain borers were collected from rough rice storage in Chiang Mai province. In laboratory condition, the cypermethrin was treated on rough rice as grain mixing. The LC_{50} of cypermethrin on lesser grain borer was 16.51 ppm. Cypermethrin selection was conducted using sub lethal dose at LC_{25} (7.71 ppm) for 5 generations in laboratory. With LC_{25} level, the lesser grain borer mortality in Generation 1 (80.00%) and generation 5 (50.00 %) were significantly different ($P < 0.05$). The result suggested that lesser grain borer tended to be resistant to cypermethrin in generation 5. The resistance traits and untreated control were examined using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Twenty arbitrary primers of 10 nucleotides were used in amplification. Polymorphic pattern was detected in 1 primer OPAB-11. Specific bands were found length from 500, 650 and 870 basepairs.

250426

RAPD marker OPAB-11 could be used as marker for resistant detection between insect population treated in different environment.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	28
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	37
เอกสารอ้างอิง	39
ภาคผนวก	43
ประวัติผู้เขียน	48

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า	
3.1	ลำดับเบสของไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง	23
3.2	ปริมาณและความเข้มข้นของสารต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์	25
4.1	เปอร์เซ็นต์การตายของมอดหัวป้อมตัวเต็มวัย ตามจำนวนชั่วโมงหลังจากปล่อยลงไปในช่วงเปลือกคลุกสารไซเปอร์เมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ	28
4.2	วิเคราะห์ค่า LC_{25} ของสารไซเปอร์เมทรินหลังมอดหัวป้อมได้รับเป็นเวลา 48 ชั่วโมง	29
4.3	เปอร์เซ็นต์การตายของมอดหัวป้อมตัวเต็มวัยทั้ง 5 รุ่น เมื่อได้รับสารไซเปอร์เมทรินเข้มข้น 7.708 ppm	30
4.4	ปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดจากมอดหัวป้อม	33

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า	
3.1	มอดหัวป้อมระยะตัวเต็มวัย	16
3.2	ขวดโหลแก้วมีฝาปิดเป็นตาข่ายถี่ ขนาดบรรจุ 500 มิลลิลิตร เพื่อใช้เลี้ยงแมลง	17
3.3	ไข่ของมอดหัวป้อม	18
3.4	มอดหัวป้อมระยะตัวอ่อน	18
3.5	มอดหัวป้อมระยะดักแด้	19
3.6	แผนภาพแสดงการคัดเลือกมอดหัวป้อมด้วยสารไซเปอร์เมทริน เพื่อใช้ในการตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรมด้วยวิธีอาร์เอพีดี	21
4.1	เปรียบเทียบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดจากมอดหัวป้อม 5 และ 10 ตัว	32
4.2	แถบดีเอ็นเอจากวิธีอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ OPD-18 OPAB-14 และ OPAB-11 ใน 1 เปอร์เซ็นต์อะกาโรสเจล	34
4.3	แถบดีเอ็นเอจากวิธีอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ OPD-18 OPAB-14 และ OPAB-11 ใน 4 เปอร์เซ็นต์โพลีอะครีลาไมด์เจล	35