

หัวข้อวิจัย	การตรวจสอบการแลกเปลี่ยนทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงสายพันธุ์ที่ผลิตเป็นสูตรสำเร็จและที่เป็นจุลินทรีย์ท้องถิ่นซึ่งก่อโรคกับแมลงในระบบนิเวศเกษตร
ผู้ดำเนินการวิจัย	นายรุ่งเกียรติ แก้วเพชร นางสาวศมาพร แสงยศ นางทิพย์วิมล กิตติวราพล และ นายฉัตรชนก บุญไชย
ที่ปรึกษา	-
หน่วยงาน	โปรแกรมชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต
ปีการศึกษา	2554

บทคัดย่อ

การสำรวจ และ จำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง ในระบบนิเวศเกษตร ในแปลงพืชผัก ในจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และ ลำปาง พบเชื้อรา 6 ชนิด ที่สามารถก่อโรคกับแมลงศัตรูพืชผักหลายชนิด ได้แก่ เชื้อราในกลุ่ม Hyphomycetes คือ *Beauveria bassiana*, *Hirsutella* sp., *Metarhizium* sp., *Nomuraea rileyi* และ กลุ่ม Entomophthorales คือ *Zoophthora aphidis* และ *Erynia neoaphidis* จากการศึกษาลักษณะ สัณฐานวิทยา ความสามารถในการก่อโรค และ ลักษณะพันธุกรรม ปรากฏว่าเชื้อรา *B. bassiana* และ *Metarhizium* sp. สามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหารเทียมได้ ในปริมาณที่เพียงพอต่อการทดสอบ และ สกัด genomic DNA โดยผลการวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรม ตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) ด้วยวิธี RAPD-PCR (random amplified polymorphic DNA – polymerase chain reaction) โดยใช้สายเอ็นเอ หรือ ไพรมอร์ OPA-3 สามารถจำแนกพันธุกรรมของเชื้อรานี้ออกได้เป็นสองกลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ แยกได้จากแมลงในอันดับ Homoptera และ กลุ่มที่แยกได้จากหนอนผีเสื้อในอันดับ Lepidoptera สูตรสำเร็จ และ ตัวอย่างดิน นอกจากนั้น ผลการทดสอบความเข้ากันได้ของส่วนเจริญแบบไม่อาศัยเพศ (Vegetative compatibility) ด้วยวิธี non-utilizing (nit) mutant compatible pairing ชี้ให้เห็นว่า *B. bassiana* มีแนวโน้มการ เกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมจำนวน 3 จาก 9 ไอโซเลทส์ ทั้งนี้การศึกษารั้งนี้ เป็นการศึกษาในปีแรกของ โครงการ ดังนั้นในปีต่อไป จะทำการศึกษาต่อยอด โดยการวิเคราะห์พันธุกรรม และ ความสามารถในการก่อโรค หลังการแลกเปลี่ยนพันธุกรรมของ *B. bassiana* ด้วยวิธี RAPD-DNA โดยสายดีเอ็นเอ หรือ ไพรมอร์ที่เกี่ยวข้อง เพิ่มเติม และ/หรือ สังเคราะห์ไพรมอร์จากตัวอย่างเชื้อราที่รวบรวมได้ และอาจมีการใช้วิธีการ RFLP (restriction fragment length polymorphism) ควบคู่กันไปกับวิธีการที่ใช้อยู่ และ ในที่สุดจะมีการนำไป แสดงผลเป็นตัวชี้วัดความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (genetic distance) และ แผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) เพื่อแสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ ของสายพันธุ์ที่มีบรรพบุรุษร่วมกันของเชื้อราชนิดนี้

Research Title: Detection of genetic exchange of formulation and local Strains of entomopathogenic Fungi in the agro-ecosystem

Researchers: Rungkiat Kaewpeth, Samaporn Saengy, Tipvimon Kittivarapon and Chutchanok Boonchai

Research Consultants: -

Organization: Suan Dusit Rajabhat University

Academic Year: 2011

ABSTRACT

Survey and identification of entomopathogens collected from vegetable crops areas was conducted in Chiang Mai, Lamphun and Lampang provinces. It was found that 6 pathogens available for control several species of vegetable pests including Hyphomycetes, *Beauveria bassiana*, *Hirsutella* sp., *Metarhizium* sp., *Nomuraea rileyi* and Entomophthorales, *Zoophthora aphidi*, and *Erynia neoaphidis*. Study on their morphology, pathogenicity and genetical characteristic revealed that *B. bassiana* and *Metarhizium* sp. could be mass propagated on artificial media in sufficient quantity for the test and genomic DNA extraction. Thus DNA fingerprinting of *B. bassiana* was analyzed using RAPD-PCR (randomly amplified polymorphic DNAs – polymerase chain reaction) marker and OPA-3 primer could differentiate the entomopathogenic isolates obtained from homopterous insects as group one and those obtained from lepidopterous insects, formulated microbial insecticides and soil samples as group two. The vegetative compatibility test using non-utilizing (nit) mutant compatible pairs revealed 3 isolates out of 9 isolates of *B. bassiana*, exhibiting vegetative compatibility group (VCG) indicating possible genetic exchange. The result obtained so far was preliminary and was in the initial stage of the investigation. It is anticipated that further study on DNA fingerprint and pathogenicity of the VCG of *B. bassiana* be conducted using RAPD-DNA with additional and/or reproducible primers. Additionally, another molecular marker, RFLP (restriction fragment length polymorphism) may be used for comparison. Finally the genetic distance and the phylogenetic tree of *B. bassiana* could be constructed.