งานวิจัยเรื่อง

การตรวจสอบการแลกเปลี่ยนทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง สายพันธุ์ที่ผลิตเป็นสูตรสำเร็จและที่เป็นจุลินทรีย์ท้องถิ่นซึ่งก่อโรคกับแมลง ในระบบนิเวศเกษตร

โดย

รุ่งเกียรติ แก้วเพชร

ศมาพร แสงยศ

ทิพย์วิมล กิตติวราพล

ฉัตรชนก บุญไชย

มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

2554

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ที่ให้การสนับสนุน และคำปรึกษาในการวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโปรแกรมชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ที่ให้การสนับสนุนวัสดุอุปกรณ์ และสถานที่ในการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติภาคเหนือตอนบน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ และ ห้องปฏิบัติการ ดีเอ็นเอเทคโนโลยี และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องที่ให้ความอนุเคราะห์และคำแนะนำเกี่ยวกับการศึกษาลักษณะพันธุกรรม รวมถึงเกษตรกรในพื้นที่ศึกษา ในจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และ ลำปาง ที่ให้ความสะดวกในการเข้าศึกษาในพื้นที่แปลงปลูกพืช เพื่อรวบรวมตัวอย่างเชื้อรา ในโครงการวิจัย และการศึกษา มา ณ โอกาสนี้ด้วย

รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และ คณะ

ธันวาคม พ.ศ. 2553

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* จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา ความสามารถในการก่อโรค และ ลักษณะพันธุกรรม ปรากฏว่าเชื้อรา *B. bassiana* และ *Metarhizium* sp. สามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหารเทียมได้ ในปริมาณที่เพียงพอต่อการทดสอบ และสกัด genomic DNA โดยผลการวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรม ตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) ด้วยวิธี RAPD-PCR (random amplified polymorphic DNA – polymerase chain reaction) โดยใช้สายเอ็นเอ หรือ ไพรเมอร์ OPA-3 สามารถจำแนกพันธุกรรมของเชื้อรานี้ออกได้เป็นสองกลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่แยกได้จากแมลงในอันดับ Homoptera และ กลุ่มที่แยกได้จากหนอนผีเสื้อในอันดับ Lepidoptera สูตรสำเร็จ และ ตัวอย่างดิน นอกจากนั้น ผลการทดสอบความเข้ากันได้ของส่วนเจริญแบบไม่อาศัยเพศ (Vegetative compatibility) ด้วยวิธี non-utilizing (nit) mutant compatible pairing ชี้ให้เห็นว่า *B. bassiana* มีแนวโน้มการเกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมจำนวน 3 จาก 9 ไอโซเลทซ์ ทั้งนี้การศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาในปีแรกของโครงการ ดังนั้นในปีต่อไป จะทำการศึกษาต่อยอด โดยการวิเคราะห์พันธุกรรม และ ความสามารถในการก่อโรคหลังการแลกเปลี่ยนพันธุกรรมของ *B. bassiana* ด้วยวิธี RAPD-DNA โดยสายดีเอ็นเอ หรือ ไพรเมอร์ที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม และ/หรือ สังเคราะห์ไพร์เมอร์จากตัวอย่างเชื้อราที่รวบรวมได้ และอาจมีการใช้วิธีการ RFLP (restriction fragment length polymorphism) ควบคู่กันไปกับวิธีการที่ใช้อยู่ และ ในที่สุดจะมีการนำไปแสดงผลเป็นตัวชี้วัดความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (genetic distance) และ แผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) เพื่อแสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ ของสายพันธุกรรมที่มีบรรพบุรุษร่วมกันของเชื้อราชนิดนี้

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 form 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.