รายงานการวิจัย

ประจำปีงบประมาณ 2561

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

การคัดเลือกจุลชีพเพื่อใช้ในการควบคุมทางชีวภาพต่อแมลงศัตรูพืช

Screening for microbes as biocontrol agents for agricultural insect pests

คณะผู้วิจัย

อาจารย์ ดร.เกรียง กาญจนวตี

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่แล้วเสร็จ

พุทธศักราช 2562

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2561 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี รวมทั้ง หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ และศูนย์เครือข่ายการเรียนรู้เพื่อภูมิภาค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา และหน่วยยานพาหนะและซ่อมบำรุง คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนามมาเป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

เพลี้ยไฟเป็นแมลงศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจหลายชนิดในหลายประเทศทั่วโลก ใช้การควบคุมทางชีวภาพ (biological control) เป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการควบคุมประชากรเพลี้ยไฟโดยไม่พึ่งพาการใช้สารเคมีซึ่งอาจทำให้เกิดผลกระทบต่อเกษตรกรและสิ่งแวดล้อม โครงการวิจัยนี้ได้ทำการตรวจสอบทางสัณฐานวิทยาพบว่าเพลี้ยไฟที่พบในสวนกล้วยไม้อยู่ใน สกุล *Dichromothrips* และเมื่อทำการแยกเชื้อราที่อาจก่อโรคในเพลี้ยไฟได้จากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในพื้นที่โครงการ อพ.สธ. พบว่าสามารถแยกเชื้อราจากเพลี้ยไฟที่จายได้ทั้งหมด 29 isolate ซึ่งจัดอยู่ใน 7 กลุ่ม ได้แก่ สกุล *Penicillium,* สกุล *Cladosporium,* สกุล *Aspergillus,* สกุล *Fusarium,* สกุล *Microsphaeropsis,* สกุล *Purpureocillium* และ สกุล *Cochliobolus* จากการทบทวนงานวิจัยก่อนหน้าพบว่า กลุ่มเชื้อราที่มีแนวโน้มในการก่อโรคในเพลี้ยไฟ ได้แก่ สกุล *Penicillium,* สกุล *Cladosporium,* สกุล *Aspergillus* และ สกุล *Purpureocillium* สำหรับงานวิจัยในขั้นถัดไปจะนำเชื้อราแต่ละกลุ่มไปทดสอบกับเพลี้ยไฟเพื่อหาประสิทธิภาพในการก่อโรค

คำสำคัญ: เพลี้ยไฟ, แมลงศัตรูพืช, การควบคุมทางชีวภาพ, เชื้อราก่อโรคในแมลง และ *Dichromothrips*

Abstract

Thrips are an insect pest that cause global-scale losses in many economically important plants. Among pest-control approaches, the biological control is an alternative solution to chemical pesticides which may have negative effects on health and environment. In this study, the morphology of thrips collected from an orchid farm showed the common characters of the *Dichromothrips* genus. The 29 isolates of the potential insect pathogenic fungi were isolated from thrips cultured with the spore suspension extracted from soil collected from the Plant Genetic Conservation Project under the Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn areas. These fungal isolates were categorized into seven genera: *Penicillium, Cladosporium, Aspergillus, Fusarium, Microsphaeropsis, Purpureocillium* and *Cochliobolus*. The *Penicillium, Cladosporium, Aspergillus* and *Purpureocillium* genera could be potentially used as biological control agents according to the previously published articles. The pathogenicity assay of each fungal isolate will be conducted to find the efficiency of fungal isolates against thrips.

Keywords: thrip, pest insect, biological control, entomopathogenic fungi and *Dichromothrips*

สารบัญ

กิตติกรรมประกาศ 2

บทคัดย่อ 3

Abstract 4

สารบัญ 5

สารบัญตาราง 6

สารบัญภาพ 7

1. บทนำ 10

2. วัตถุประสงค์ 11

3. ขอบเขตการวิจัย 11

4. วิธีดำเนินการวิจัย 12

4.1 สัณฐานวิทยาของแมลงศัตรูพืชที่พบในสวนกล้วยไม้ 12

4.2 การสกัดดีเอ็นเอจากเชื้อรา 12

4.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ 12

4.4 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ 13

5. ผลและอภิปรายผลการศึกษา 14

5.1 สัณฐานวิทยาของแมลงศัตรูพืชที่พบในสวนกล้วยไม้ 14

5.2 การระบุสกุลของเชื้อราที่พบจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ 17

6. สรุปผลการศึกษา 27

ข้อเสนอแนะ 27

เอกสารอ้างอิง 28

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 การระบุสกุลของเชื้อราที่พบจากเพลี้ยไฟที่ฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ 26

สารบัญภาพ

รูปที่ 1 ก. ด้านหลังของเพลี้ยไฟ ข. ด้านท้องของเพลี้ยไฟ 14
รูปที่ 2 ส่วนหัวของเพลี้ยไฟ ลูกศรสีดำแสดงขนคู่ที่ 3 15
รูปที่ 3 ปลองที่หนวดของเพลี้ยไฟจำนวน 8 ปล้อง 15
รูปที่ 4 แถบริ้วบริเวณอกปล้องแรก 16
รูปที่ 5 ขอบปล้องท้องที่ 8 ที่มีการเรียงตัวของขนที่สมบูรณ์ พาดผ่านตลอดขอบปล้อง 16
รูปที่ 6 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ) 19
รูปที่ 7 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Penicillium* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Penicillium purpurogenum* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ) 20
รูปที่ 8 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Cladosporium* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Toxicocladosporium irritans* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ) 21
รูปที่ 9 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Aspergillus* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Aspergillus steynii* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ) 22
รูปที่ 10 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Fusarium* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Cladosporium colombiae* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ) 23
รูปที่ 11 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Microsphaeropsis* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Cyclothyriella rubronotata* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ) 24
รูปที่ 12 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Purpureocillium* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น

ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Hypocrea neorufum* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ).....24
รูปที่ 13 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Cochliobolus* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Rhizopus microsporus* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ).....25

คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

TBE buffer	Tris-borate-EDTA buffer
SDS	sodium dodecyl sulphate

1. บทนำ

ในสถานะการณ์ปัจจุบันประชากรของโลกอาศัยอาหารจากการเกษตรกรรมเป็นหลัก โดยมีการประเมินว่าในประเทศที่กำลังพัฒนา เช่น ประเทศไทย มีประชากรเพิ่มขึ้นถึงปีละ 2-3 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่มีอาหารเพิ่มขึ้นเพียงปีละ 1 เปอร์เซ็นต์ (Sallam and El-wakeil, 2009) ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณอาหารไม่เพียงพอต่อประชากรที่เพิ่มขึ้น หนึ่งในสาเหตุหลักของการสูญเสียผลผลิตทางการเกษตรคือการเข้าทำลายของแมลงกินพืช (herbivorous insects) โดยมีการประเมินว่าในทุก ๆ ปีแมลงทำลายผลผลิตทางการเกษตรมากถึง 1 ใน 5 ของผลผลิตทั้งโลก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะแมลงเป็นสัตว์ที่มีปริมาณและความหลากหลายมากที่สุดในโลก ซึ่งทำให้สามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี

วิธีการกำจัดแมลงศัตรูพืชสามารถทำได้โดยการใช้สารเคมี เช่น สารเคมีในกลุ่ม organochlorines, organophosphates, organosulfurs, carbamates, และ formamidines ซึ่งปัญหาของสารเหล่านี้คือ มีความเป็นพิษต่อคนและยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย การไม่พึ่งพาสารเคมีหรือเกษตรอินทรีย์โดยใช้ตัวควบคุมทางชีวภาพ (biocontrol agents) เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ทำให้เกษตรกรสามารถควบคุมการระบาดของแมลงศัตรูพืช และยังช่วยลดผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกรและสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังสามารถช่วยลดค่าใช้จ่ายของเกษตรกรอีกด้วย การควบคุมทางชีวภาพ (biological control) คือ การนำเอากระบวนการที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ โดยสิ่งมีชีวิตหนึ่งๆ จะมีศัตรูตามธรรมชาติ (natural enemies) ที่คอยล่า แก่งแย่ง หรือ แข่งขัน กับสิ่งมีชีวิตดังกล่าว ซึ่งเป็นตัวควบคุมให้ประชากรอยู่ในสมดุล แต่ในสภาพแวดล้อมที่เป็นพื้นที่เกษตรกรรม สิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูพืชมีอาหารปริมาณมากประกอบกับไม่มีศัตรูตามธรรมชาติจึงทาให้เกิดการแพร่ระบาดขึ้น โดยการควบคุมการแพร่ระบาดสามารถทำได้ดังนี้ 1) ตรวจสอบว่าศัตรูตามธรรมชาติของศัตรูพืชที่ระบาดคือสิ่งมีชีวิตใด 2) เพิ่มจานวนศัตรูตามธรรมชาติดังกล่าวในพื้นที่ที่ศัตรูพืชระบาด 3) อนุรักษ์ประชากรศัตรูตามธรรมชาติให้คงอยู่ในพื้นที่เกษตรกรรม ด้วยกระบวนการดังกล่าวทาให้เราสามารถควบคุมการระบาดของศัตรูพืชได้ โดยศัตรูตามธรรมชาติก็ยังคงมีอยู่ในพื้นที่ คอยควบคุมประชากรของศัตรูพืช

การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยวิธีชีวภาพสามารถทำได้โดยตัวควบคุมทางชีวภาพหลายประเภท เช่น การใช้แมลงตัวห้ำตัวเบียน, การใช้ไส้เดือนฝอย (nematodes), การใช้ protists หรือ การใช้จุลชีพ การใช้จุลชีพ เช่น เชื้อรา และ แบคทีเรีย ซึ่งมีความได้เปรียบตัวควบคุมทางชีวภาพอื่นเนื่องจาก สามารถเลี้ยงเพิ่มจำนวนได้ง่ายและรวดเร็วในห้องปฏิบัติการ ใช้พื้นที่ในการเลี้ยงน้อย และ ค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงไม่แพง รวมถึงจุลชีพยังมีความจำเพาะกับแมลงศัตรูพืชสูงทำให้ไม่กระทบต่อเกษตรกรและสิ่งแวดล้อม

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อสนองพระราชดำริ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ (อพ.สธ.)
2. เพื่อให้ได้จุลชีพที่สามารถใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกรและสิ่งแวดล้อม

3. ขอบเขตการวิจัย

1. โครงการวิจัยนี้เป็นการคัดเลือกจุลชีพที่มีความสามารถในการก่อโรคในแมลงศัตรูพืชจากพื้นที่ของโครงการ อพ.สธ.ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง มาใช้ควบคุมประชากรแมลงศัตรูพืชที่ระบาดในพื้นที่เกษตรกรรมอย่างมีประสิทธิภาพ

4. วิธีดำเนินการวิจัย

4.1 สัณฐานวิทยาของแมลงศัตรูพืชที่พบในสวนกล้วยไม้

ตรวจสอบสัณฐานวิทยาของแมลงศัตรูพืชที่พบในสวนกล้วยไม้โดยใช้ stereomicroscope และ compound microscope เพื่อเทียบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เคยมีการบรรยายไว้

4.2 การสกัดดีเอ็นเอจากเชื้อรา

นำ 200 mM Tris pH 8.5 80 µl, 250 mM NaCl 100 µl , 25 mM EDTA 25 µl , 0.5% sodium dodecyl sulphate (SDS) 20 µl และ น้ำกลั่น 175 µl ปริมาตรรวมทั้งหมดเป็น 400 µl ใส่ใน 1.5 mL microcentrifuge tube ทำให้ผนังเซลล์แตกโดยใช้ blue pestle บดจนละเอียด เติม 100 µl ของ phenol: chloroform: isoamyl alcohol (25:24:1) และ ปั่นที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที นำของเหลวใส่ใน 1.5 mL microcentrifuge tube ใหม่ เติม 100 µl ของ chloroform: isoamyl alcohol (24:1) และ ปั่นที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที นำของเหลวใส่ใน 1.5 mL microcentrifuge tube ใหม่ เติม 150 µl ของ 3M CH_3COONa pH 5.2 เติม 650 µl ของ isopropanol ปั่นที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอ 70% ethanol ที่เย็นจัด แล้วจึงดูดของเหลวออก ทิ้งให้ดีเอ็นเอแห้ง ละลายดีเอ็นเอด้วยน้ำกลั่น 100 µl และเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C

4.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ที่บริเวณยีน โดยใช้ไพรเมอร์ชนิด ITS1 (5’-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3’) และ ITS4 (5’-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3’) การทำปฏิริยาพีซีอาร์ปริมาตรประกอยด้วย ไพรเมอร์ ITS1 ที่มีความเข็มข้น 0.2 µM, ไพรเมอร์ ITS4 ที่มีความเข็มข้น 0.2 µM, Emerald Amp GT PCR Master Mix (Takara) มีความเข็มข้น 1x และ DNA template ที่ถูกเจือจาง 10 เท่า สำหรับเชื้อราใช้สภาวะดังนี้

1)	Initial denaturation	95°C	2 นาที
2)	Denaturation	95°C	30 วินาที
3)	Annealing	57°C	30 วินาที
4)	Extension	72°C	30 วินาที
	(ขั้นตอนที่ 2-4 จำนวน 30 รอบ)		
5)	Final extension	72°C	10 นาที

ตรวจสอบผลของปฏิกิริยาหรือผลิตภัณฑ์พีซีอาร์โดยเทคนิค agarose gel electrophoresis โดยใช้ 1% agarose ใน 1xTBE buffer (Tris-borate-EDTA buffer) และใช้ EcoDyeTM Nucleic Acid Staining Solution ในการย้อมสีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้ เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (KAPATM Universal Ladder) โดยใช้ความต่างศักย์ที่ 75 โวลต์ เป็นเวลา 50 นาที ตรวจดูขนาดพร้อมบันทึกภาพของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ภายใต้แสงยูวี ด้วยเครื่องถ่ายรูปเจล (gel documentation system) เมื่อพบแถบของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ต้องการจะทำซ้ำโดยเพิ่มปริมาตรปฏิกิริยาพีซีอาร์เป็น 50 µL จากนั้นทำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ให้บริสุทธิ์โดยใช้ MiniElute PCR purification kit (QIAGEN) แล้วส่งวิเคราะห์เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

4.4 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยการใช้โปรแกรม Bioedit Sequence Alignment Editor version 7.2.5 บนระบบปฏิบัติการวินโดวส์ มาทำการอ่านกราฟ eletropherograms ที่ได้จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์รวมทั้งทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสายนิวคลีโอไทด์ จากนั้นนำผลที่ได้มาตรวจสอบและเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล Genbank ด้วยโปรแกรม BLAST analysis (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) โดยเลือกข้อมูลลำดับที่มีค่าความใกล้เคียงกับตัวอย่างชนิดไส้เดือนฝอยมากที่สุดประมาณ 20 ลำดับ มาสร้าง phylogenetic tree โดยใช้โปรแกรม Mega7 ซึ่งมีขั้นตอน คือ จัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายให้ตรงกันโดยใช้ Clustal W จากนั้นนำมาสร้างแผนภูมิโดยใช้การจัดกลุ่มแบบ neighbor-joining และใช้โมเดลคือ Kimura 2-parameter ตรวจสอบความน่าเชื่อถือของ phylogenetic tree ที่ได้ โดยใช้ bootstrap จำนวน 1,000 ครั้ง และทำการสร้าง phylogenetic tree แบบตรึงรากโดยใช้ตัวนอกกลุ่ม (outgroup)

5. ผลและอภิปรายผลการศึกษา

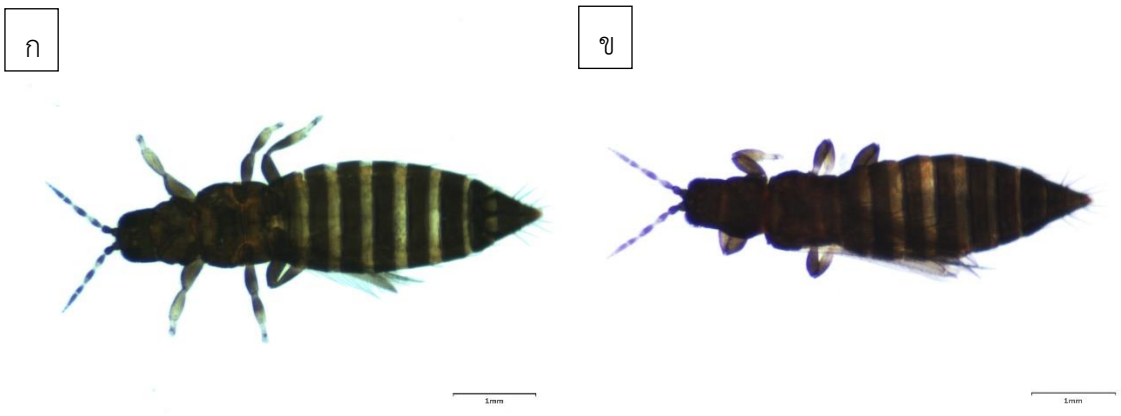
5.1 สัณฐานวิทยาของแมลงศัตรูพืชที่พบในสวนกล้วยไม้

เมื่อพิจารณาสัณฐานวิทยาของเพลี้ยไฟซึ่งอยู่ในอันดับ Thysanoptera และ วงศ์ Thripidae พบว่า ลำตัว สีดำมีขนาดยาว 0.8-1.0 มิลลิเมตร (รูปที่ 1) ส่วนหัว มีความกว้างมากกว่าความยาว ตาเดี่ยว 3 ตา ขนคู่ที่ 3 บริเวณตาเดี่ยวอยู่บริเวณนอกกรอบสามเหลี่ยมของตาเดี่ยวทั้ง 3 ตา (รูปที่ 2) หนวดมีจำนวนปล้อง 8 ปล้อง (รูปที่ 3) ส่วนอก อกปล้องแรกมีริ้วรอยเป็นเส้นตามขวางปล้องและมีขนาดเล็กกระจายทั่วและมีขนสั้นสั้นๆ เรียงรอบขอปล้อง (รูปที่ 4) อกปล้องที่สอง ส่วนท้อง ปล้องท้องทุกปล้องไม่มีลวดลาย ขอบปล้องท้องที่ 8 มีการเรียงตัวของขนที่สมบูรณ์ พาดผ่านตลอดขอบปล้อง (รูปที่ 5) ตรงกับสกุล *Dichromothrips* ที่ Mould และ Ng (2009) ได้บรรยายไว้

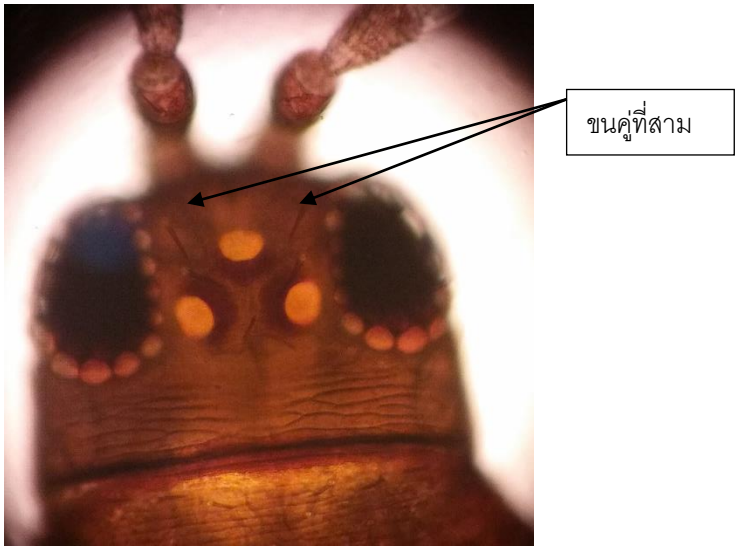
Order: Thysanoptera

Family: Thripidae

Genus: *Dichromothrips*

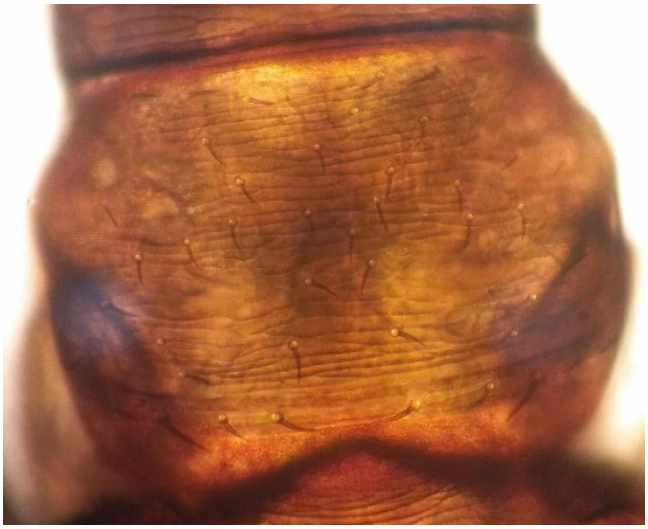


รูปที่ 1 ก. ด้านหลังของเพลี้ยไฟ ข. ด้านท้องของเพลี้ยไฟ

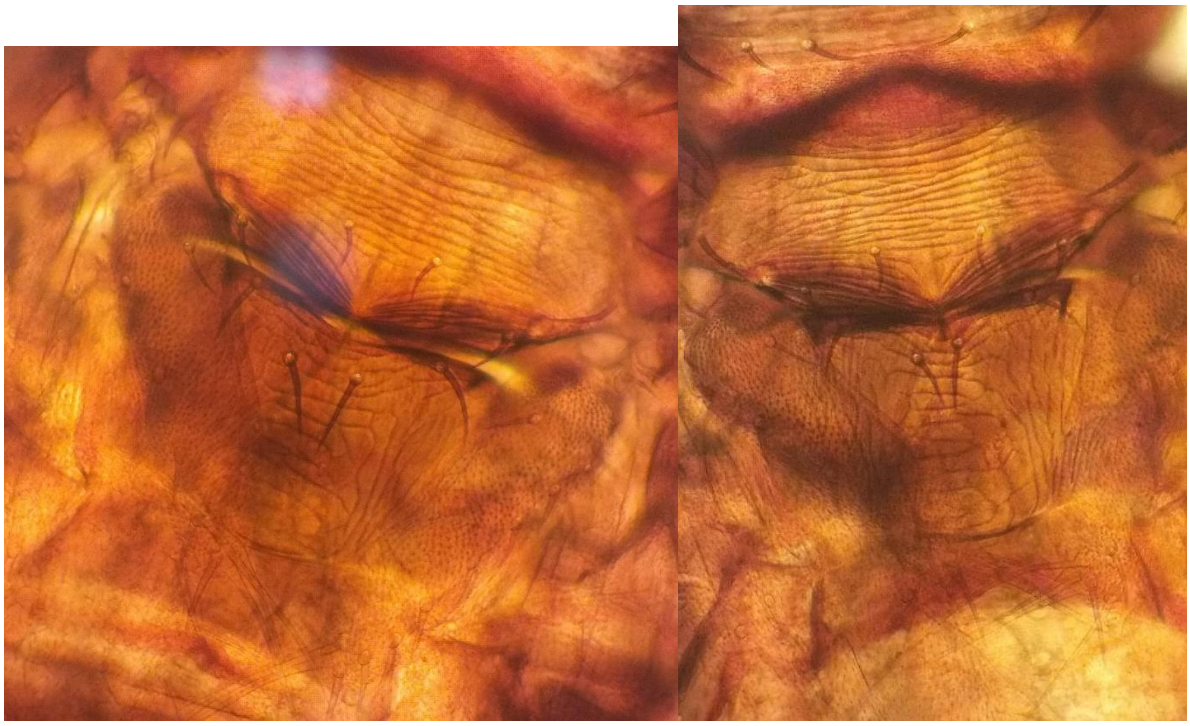


รูปที่ 2 ส่วนหัวของเพลี้ยไฟ ลูกศรสีดำแสดงขนคู่ที่ 3

รูปที่ 3 ปลองที่หนวดของเพลี้ยไฟจำนวน 8 ปล้อง



รูปที่ 4 แถบริ้วบริเวณอกปล้องแรก



รูปที่ 5 ขอบปล้องท้องที่ 8 ที่มีการเรียงตัวของขนที่สมบูรณ์ พาดผ่านตลอดขอบปล้อง

5.2 การระบุสกุลของเชื้อราที่พบจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ

เพลี้ยไฟเป็นแมลงที่ทำลายพืชที่ใช้ปากในการเจาะดูดกินน้ำเลี้ยงจากลำต้นพืช ซึ่งทำให้พืชเหี่ยวเฉาตาย โดยเชื้อราที่แยกได้จากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ อาจนำมาใช้ก่อโรคกับเพลี้ยไฟได้ เพื่อการระบุชนิดของเชื้อราที่อาจก่อโรคในเพลี้ยไฟสกุล *Dichromothrips* เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลจึงถูกนำมาใช้ในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราเพื่อนำมาสร้าง phylogenetic tree ด้วยวิธี neighbor joining เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราแต่ละกลุ่ม มาเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม BLAST พบเชื่อรา 7 สกุล คือ เชื้อราในสกุล *Penicillium,* สกุล *Cladosporium,* สกุล *Aspergillus,* สกุล *Fusarium,* สกุล *Microsphaeropsis,* สกุล *Purpureocillium* และ สกุล *Cochliobolus* (รูปที่ 6)

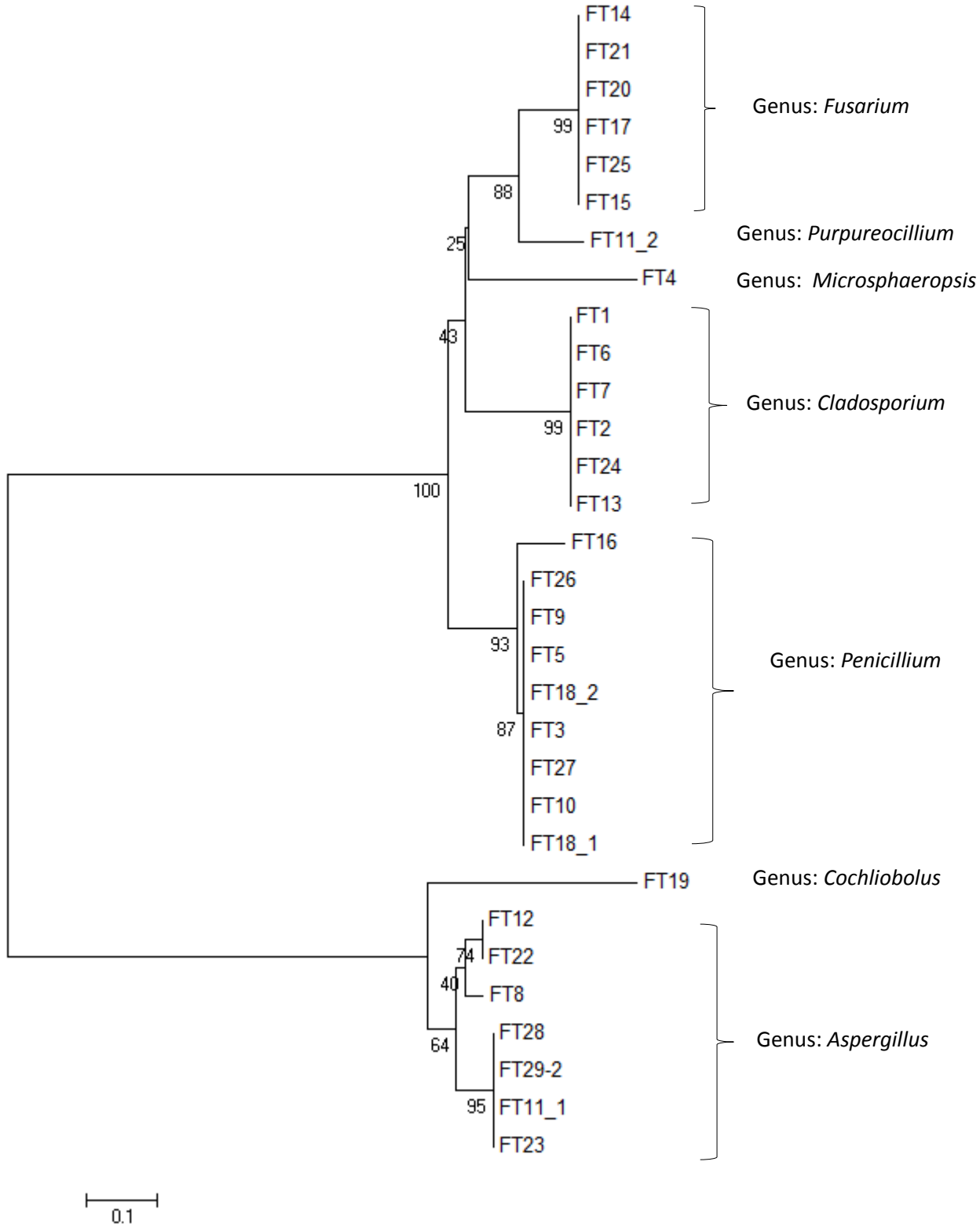
เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราแต่ละกลุ่มและลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงมาสร้าง phylogenetic tree ด้วยวิธี neighbor joining พบว่าไม่สามารถระบุชนิดของเชื้อราในกลุ่มสกุล *Penicillium* (FT3, FT9, FT10, FT18.1, FT18.2, FT26, FT27, FT16 และ FT29) ได้ เนื่องจากมีความสัมพันธ์วิวัฒนาการใกล้ชิดกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราสกุล *Penicillium* มากกว่า 1 ชนิด เช่น *Penicillium asturianum*, *Penicillium expansum* และ *Penicillium oxalicum* (รูปที่ 7) สำหรับเชื้อราในกลุ่มสกุล *Cladosporium* (FT1, FT2, FT6, FT7 และ FT13) พบว่าไม่สามารถระบุชนิดได้ เนื่องจากมีความสัมพันธ์วิวัฒนาการใกล้ชิดกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราสกุล *Cladosporium* มากกว่า 1 ชนิด เช่น *Cladosporium_cladosporioides*, *Cladosporium_oxysporum*, *Cladosporium_perangustum*, และ *Cladosporium_iranicum* (รูปที่ 8) สำหรับเชื้อราในกลุ่มสกุล *Aspergillus* (FT12, FT22, FT8, FT11.1, FT28 และ FT23) พบว่าไม่สามารถระบุชนิดได้ เนื่องจากมีความสัมพันธ์วิวัฒนาการใกล้ชิดกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราสกุล *Aspergillus* มากกว่า 1 ชนิด เช่น *Aspergillus_fijiensis, Aspergillus_japonicus, Aspergillus_brunneoviolaceus* และ *Aspergillus_aculeatinus* (รูปที่ 9) สำหรับเชื้อราในกลุ่มสกุล *Fusarium* (FT11.2, FT14, FT17, FT20, FT21 และ FT25) พบว่าไม่สามารถระบุชนิดได้ เนื่องจากมีความสัมพันธ์วิวัฒนาการใกล้ชิดกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราสกุล *Fusarium* มากกว่า 1 ชนิด เช่น *Fusarium_proliferatum*, *Fusarium_equiseti*, และ *Fusarium annulatum* (รูปที่ 10) สำหรับเชื้อราในกลุ่มสกุล *Microsphaeropsis* (FT4) พบว่า มีความสัมพันธ์วิวัฒนาการใกล้ชิดกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Microsphaeropsis arundinis* มากที่สุด แต่ทั้งนี้อาจเป็นเชื้อราชนิดอื่น เช่น *Paraconiothyrium estuarinum* ได้เช่นเดียวกัน (รูปที่ 11) สำหรับเชื้อราในกลุ่มสกุล *Purpureocillium* (FT11.2) พบว่า มีความสัมพันธ์วิวัฒนาการใกล้ชิดกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Purpureocillium lilacinum* มากที่สุด แต่ทั้งนี้อาจเป็นเชื้อราชนิดอื่น เช่น *Isaria takamizusanensis* หรือ *Paecilomyces lilacinus* ได้เช่นเดียวกัน (รูปที่ 12) สำหรับเชื้อราในกลุ่มสกุล *Cochliobolus* (FT19) พบว่าไม่สามารถระบุชนิดได้ เนื่องจากมีความสัมพันธ์วิวัฒนาการใกล้ชิดกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราสกุล *Cochliobolus* และ *Curvularia* มากกว่า 1 ชนิด เช่น *Cochliobolus hawaiiensis*, *Cochliobolus dactyloctenii*, *Cochliobolus australiensis*, และ *Cochliobolus nisikadoi* (รูปที่ 13)

เมื่อพิจารณาถึงความเป็นไปได้ในการใช้เชื้อราที่แยกได้ในการควบคุมประชากรของเพลี้ยไฟ มีรายงานว่าสารสกัดจากเชื้อราในสกุล *Penicillium* สามารถใช้ฆ่ามอดแป้งแดง *Tribolium castaneum* ได้ (Al-Keridis, 2015) *Aspergillus* sp. สามารถใช้ควบคุมประชากรของยุง *Culex quinquefasciatus* ได้ดีกว่าเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ซึ่งเป็นเชื้อราที่นิยมใช้ในการควบคุมประชากรแมลง (Bawin et al., 2016) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดจากเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* มีฤทธิ์ในการฆ่า tobacco cutworm (Guo et al., 2017) สำหรับสกุล *Purpureocillium* มีรายงานว่า *Purpureocillium lilacinum* เป็นเชื้อราที่สามารถก่อโรคในแมลงจำพวกมอดแป้ง *Tribolium confusum* ได้ (Barra et al., 2015) แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มในการใช้เชื้อราในสกุลดังกล่าวในการควมคุมประชากรเพลี้ยไฟได้

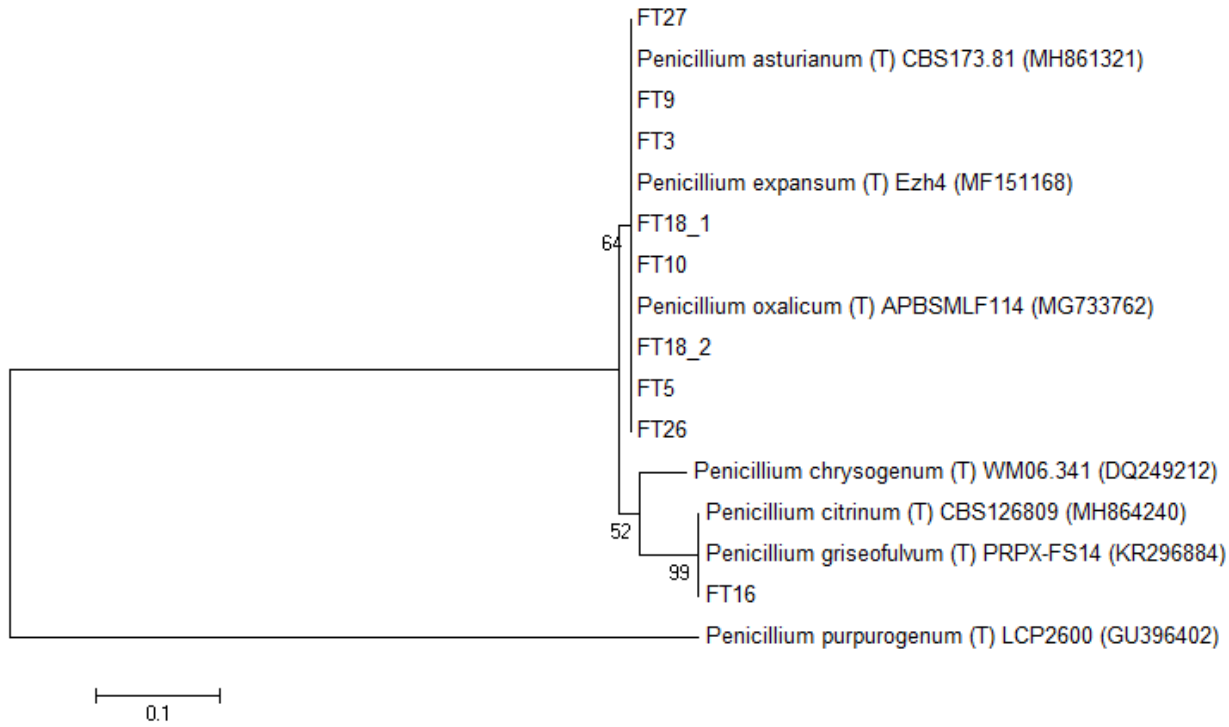
สำหรับสกุล *Cladosporium* มีราบยงานว่าเมื่อผสมสารสกัดจากเชื้อรา *Cladosporium uredinicola* ในอาหารให้กับ tobacco cutworm (*Spodoptera litura*) สารสกัดจากเชื้อราสามารถทำให้เกิดความผิดปกติทางการเจริญของ tobacco cutworm ทำให้ใช้เวลาในการเจริญจากระยะตัวหนอนถึงตัวเต็มวัยนานกว่าปกติ และยังทำให้การลอกคราบของดักแด้ลดลง ตัวเต็มวัยอายุสั้นลง และ การสืบพันธุ์ลดลง (Thakur et al., 2013) ยังมีการค้นพบว่าสารสกัดจากเชื้อรา *Cladosporium velox* ยืดเวลาในการเจริญจากระยะตัวหนอนถึงตัวเต็มวัย tobacco cutworm และยังส่งผลกระทบต่ออายุและการสืบพันธุ์ของตัวเต็มวัยโดยอาจใช้กระบวนการยับยั้งเอนไซม์ alpha glycosidases ที่ทางเดินอาหารของแมลง (Singh et al., 2016)

สำหรับสกุล *Fusarium* มีรายงานว่า *Fusarium subglutinans* สามารถใช้ฆ่าเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* และ เพลี้ย *Aphis gossypii* (Demirözer et al., 2016) แต่เชื้อราสกุล *Fusarium* เป็นเชื้อราที่สามารถก่อโรคในพืชได้จึงอาจไม่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ควบคุมประชากรแมลงศัตรูทางการเกษตร

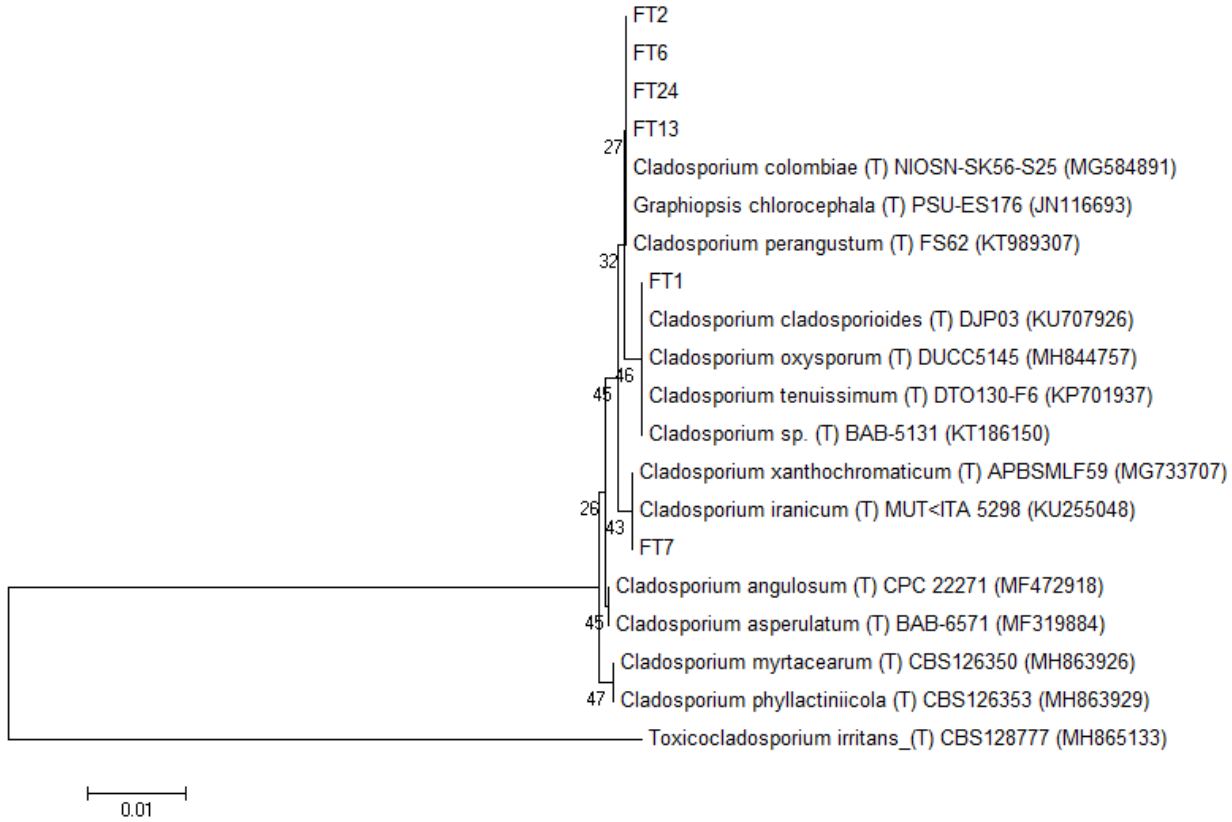
เพื่อให้ได้ชนิดที่แน่ชัดของเชื้อราจำเป็นจะต้องศึกษาเพิ่มเติมทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณอื่น ๆ โดยผู้วิจัยได้สรุปสกุลของเชื้อราที่พบจากเพลี้ยไฟที่ฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในตารางที่ 1



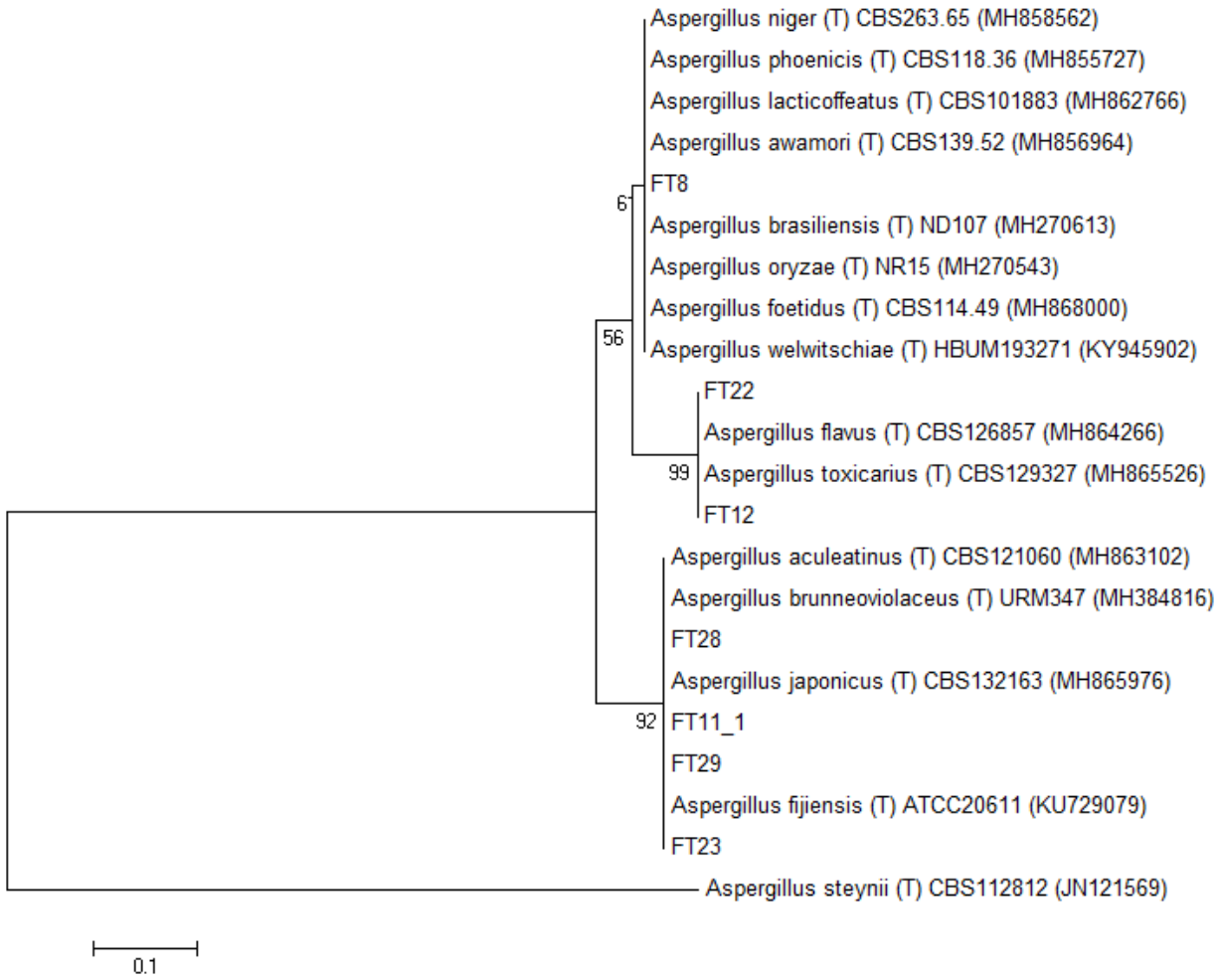
รูปที่ 6 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ)



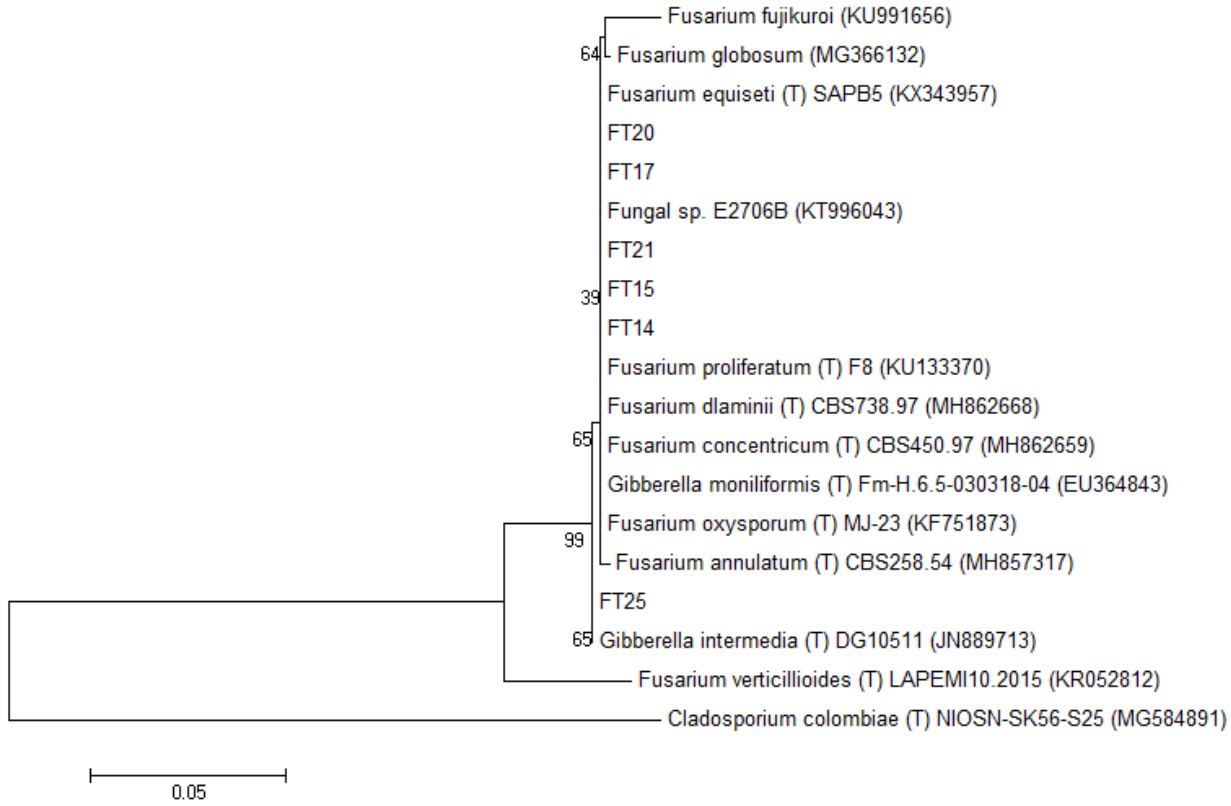
รูปที่ 7 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Penicillium* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Penicillium purpurogenum* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ)



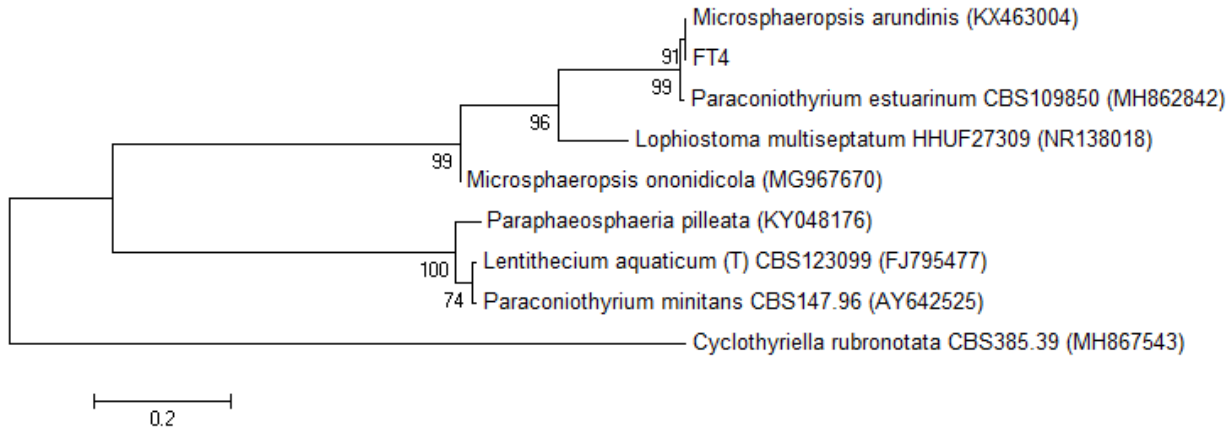
รูปที่ 8 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Cladosporium* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Toxicocladosporium irritans* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ)



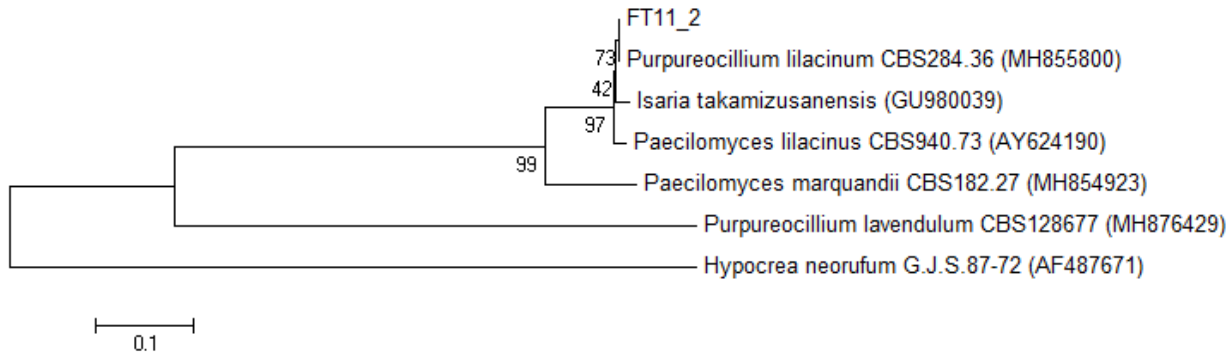
รูปที่ 9 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Aspergillus* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Aspergillus steynii* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ)



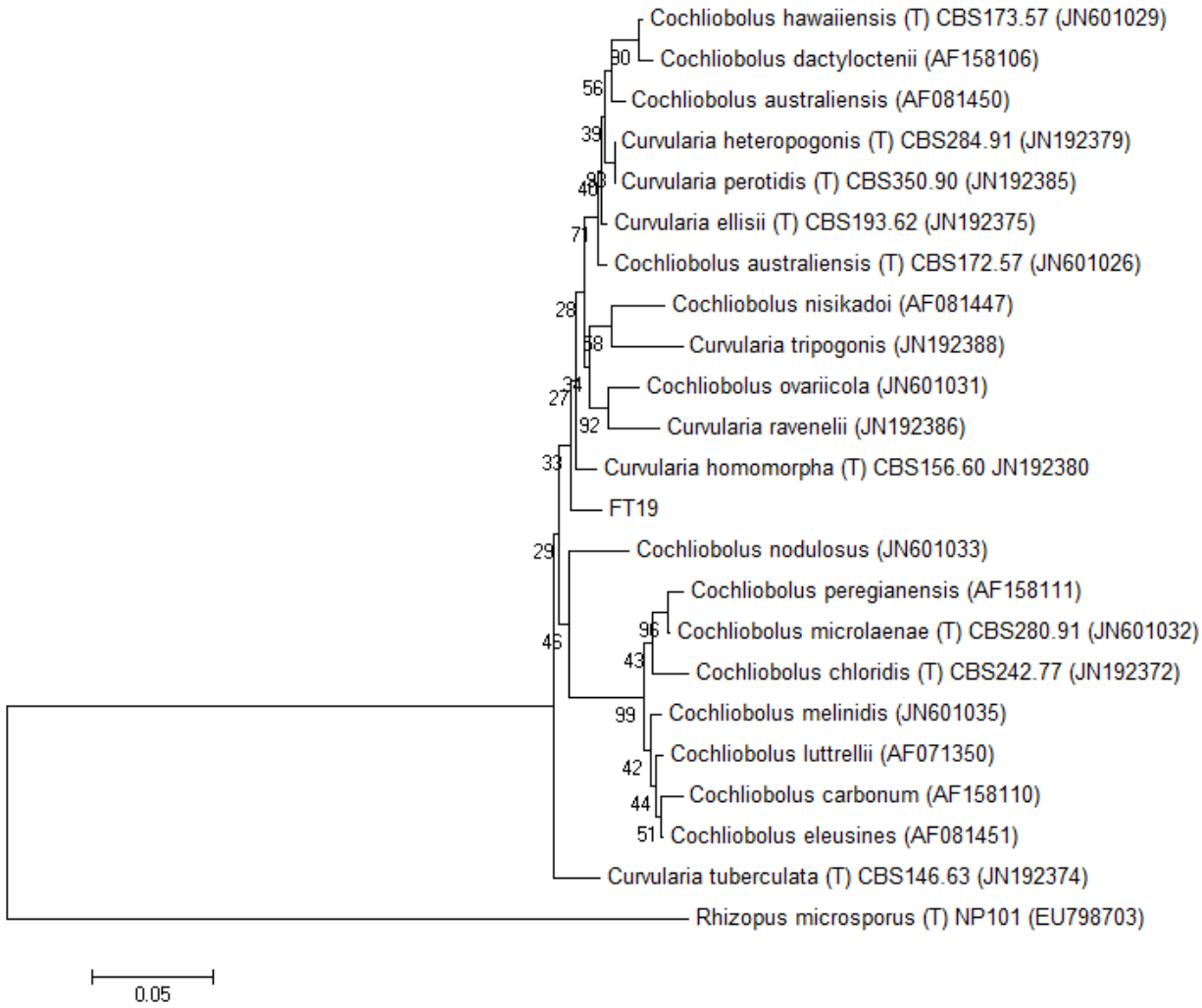
รูปที่ 10 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Fusarium* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Cladosporium colombiae* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ)



รูปที่ 11 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Microsphaeropsis* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Cyclothyriella rubronotata* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ)



รูปที่ 12 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Purpureocillium* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Hypocrea neorufum* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ)



รูปที่ 13 Neighbor joining phylogenic tree ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื่อราที่แยกจากเพลี้ยไฟที่ตายหลังฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ ในกลุ่มสกุล *Cochliobolus* และลำดับนิวคลีโอไทด์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียง โดยมี *Rhizopus microsporus* เป็น outgroup ค่า bootstrap คำนวณ โดยวิธี neighbor joining (1,000 ซ้ำ)

ตารางที่ 1 การระบุสกุลของเชื้อราที่พบจากเพลี้ยไฟที่ฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ

isolates	แหล่งที่มา	สกุล
FT1	ศูนย์ฝึกอบรมและสัมมนา สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Cladosporium*
FT2	ศูนย์ปฏิบัติการลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Cladosporium*
FT3	ศูนย์ปฏิบัติการลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Penicillium*
FT4	ศูนย์ฝึกอบรมและสัมมนา สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Microsphaeropsis*
FT5	ศูนย์ปฏิบัติการลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Penicillium*
FT6	ศูนย์ฝึกอบรมและสัมมนา สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Cladosporium*
FT7	ศูนย์ปฏิบัติการลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Cladosporium*
FT8	น้ำประปา (ใช้เป็นตัวควบคุม)	*Aspergillus*
FT9	น้ำประปา (ใช้เป็นตัวควบคุม)	*Penicillium*
FT10	ศูนย์ปฏิบัติการลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Penicillium*
FT11_1	ศูนย์ปฏิบัติการลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Aspergillus*
FT11_2	ศูนย์ปฏิบัติการลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Purpureocillium*
FT12	สวนกล้วยไม้ อำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี	*Aspergillus*
FT13	สวนกล้วยไม้ อำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี	*Cladosporium*
FT14	ศูนย์ฝึกอบรมและสัมมนา สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Fusarium*
FT15	ศูนย์ฝึกอบรมและสัมมนา สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Fusarium*
FT16	ศูนย์ฝึกอบรมและสัมมนา สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Penicillium*
FT17	ศูนย์ฝึกอบรมและสัมมนา สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Fusarium*
FT18_1	ศูนย์ฝึกอบรมและสัมมนา สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Penicillium*
FT18_2	ศูนย์ฝึกอบรมและสัมมนา สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Penicillium*
FT19	น้ำประปา (ใช้เป็นตัวควบคุม)	*Cochliobolus*
FT20	น้ำประปา (ใช้เป็นตัวควบคุม)	*Fusarium*
FT21	สวนกล้วยไม้ อำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี	*Fusarium*
FT22	สวนกล้วยไม้ อำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี	*Aspergillus*
FT23	ศูนย์เครือข่ายการเรียนรู้เพื่อภูมิภาค จังหวัดสระบุรี	*Aspergillus*
FT24	ศูนย์เครือข่ายการเรียนรู้เพื่อภูมิภาค จังหวัดสระบุรี	*Cladosporium*
FT25	ศูนย์ปฏิบัติการลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Fusarium*
FT26	ศูนย์ปฏิบัติการลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว	*Penicillium*
FT27	อุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน	*Penicillium*
FT28	อุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน	*Aspergillus*
FT29	อุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน	*Aspergillus*

6. สรุปผลการศึกษา

จากการตรวจสอบโดยสัณฐานวิทยาพบว่าเพลี้ยไฟที่พบในสวนกล้วยไม้อยู่ใน สกุล *Dichromothrips* โดยเมื่อนำเพลี้ยไฟดังกล่าวมาเลี้ยงและฉีดพ่นด้วยน้ำที่สกัดจากดินแหล่งต่าง ๆ จากพื้นที่ในโครงการ อพ.สธ. พบว่าสามารถแยกเชื้อราจากเพลี้ยไฟที่จายได้ทั้งหมด 29 isolate ซึ่งจัดอยู่ใน 7 กลุ่ม ได้แก่ สกุล *Penicillium,* สกุล *Cladosporium,* สกุล *Aspergillus,* สกุล *Fusarium,* สกุล *Microsphaeropsis,* สกุล *Purpureocillium* และ สกุล *Cochliobolus*

ข้อเสนอแนะ

สำหรับงานวิจัยในขั้นถัดไปจะนำเชื้อราแต่ละกลุ่มไปทดสอบกับเพลี้ยไฟเพื่อหาประสิทธิภาพในการก่อโรค โดยค่าประสิทธิภาพในการก่อโรคจะเป็นข้อมูลสำคัญในการเลือกเชื้อราเพื่อทำการศึกษาในขั้นถัดไป ได้แก่ การระบุชนิด และ การทดสอบภาคสนาม

เอกสารอ้างอิง

Al-Keridis, L.A., 2015. Application of *penicillium* sp as entomopathogenic fungi to control the red rust beetle *Tribolium castaneum* (Hbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). Biosci. Biotechnol. Res. Asia 12, 7–12. https://doi.org/10.13005/bbra/2001

Barra, P., Etcheverry, M., Nesci, A., 2015. Improvement of the insecticidal capacity of two *Purpureocillium lilacinum* strains against *Tribolium confusum*. Insects 6, 206–223. https://doi.org/10.3390/insects6010206

Bawin, T., Seye, F., Boukraa, S., Zimmer, J.Y., Raharimalala, F.N., Zune, Q., Ndiaye, M., Delvigne, F., Francis, F., 2016. Production of two entomopathogenic *Aspergillus* species and insecticidal activity against the mosquito *Culex quinquefasciatus* compared to *Metarhizium anisopliae*. Biocontrol Sci. Technol. 26, 617–629. https://doi.org/10.1080/09583157.2015.1134767

Demirözer, O., Uzun, A., Arici, Ş., Gep, İ., Bakay, R., 2016. Insecticidal eff ect of *Fusarium subglutinans* on *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera : Thripidae) 66–72. https://doi.org/10.1515/hppj-2016-0008

Guo, Z., Gai, C., Cai, C., Chen, L., Liu, S., Zeng, Y., Yuan, J., Mei, W., Dai, H., 2017. Metabolites with insecticidal activity from *Aspergillus fumigatus* JRJ111048 Isolated from mangrove plant *Acrostichum specioum* Endemic to Hainan island. Mar. Drugs 15. https://doi.org/10.3390/md15120381

Sallam, A., El-wakeil, N., 2009. Biological and Ecological Studies on Land Snails and Their Control, in: Integrated Pest Management and Pest Control – Current and Future Tactics. pp. 413–444.

Singh, B., Kaur, T., Kaur, S., Manhas, R.K., Kaur, A., 2016. Insecticidal potential of an endophytic *Cladosporium velox* against <i>Spodoptera litura<i> mediated through inhibition of alpha glycosidases. Pestic. Biochem. Physiol. 131, 46–52. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.01.004

Thakur, A., Singh, V., Kaur, A., Kaur, S., 2013. Insecticidal potential of an endophytic fungus, *Cladosporium uredinicola*, against *Spodoptera litura*. Phytoparasitica 41, 373–382. https://doi.org/10.1007/s12600-013-0298-9

Mound, L.A. and Ng, Y.F. 2009. An illustrated key to the genera of Thripinae (Thysanoptera) from South East Asia. Zootaxa. 2265: 27–47.

Mound, L., Nakahara, S. and Tsuda, M.D. 2016. Thysanoptera-Terebrantia of the Hawaiian Islands: an identification manual. ZooKeys 549: 71–126.

Sartiami,. D. and Mound, L. 2013. Identification of the terebrantian thrips (Insecta, Thysanoptera) associated with cultivated plants in Java, Indonesia. ZooKeys 306: 1–21.

ประวัติคณะผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล (ไทย) เกรียง กาญจนวตี

(อังกฤษ) Krieng Kanchanawatee

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ ดร. ระดับ A-5

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ติดต่อ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กทม 10330

โทรศัพท์ 02-218-5380

โทรศัพท์มือถือ 081-733-7654

โทรสาร 02-218-5386

E-mail: kan.krieng@gmail.com

ประวัติการศึกษา

2546-2550 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา (เกียรตินิยมอันดับ 1) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2551-2555 Ph.D. in Cell and Molecular Biology, University of Edinburgh, Edinburgh, UK

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญ

ชีววิทยาระดับโมเลกุลและระดับเซลล์, ชีววิทยาการเจริญ, พันธุศาสตร์, การเกิดโรคในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และ ระบบภูมิคุ้มกันในแมลง

รางวัลที่ได้รับ

2546-2550 ทุนพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) ในระดับปริญญาตรี

2551-2555 ทุนพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) เพื่อศึกษาต่อในระดับต่างประเทศ ในระดับปริญญาโทและเอก

ประสบการณ์การทำงานวิจัย

- Characterisation of the importance of S-nitrosoglutathione reductase (GSNOR) in *Drosophila melanogaster* immunity and fertility
- Identification of a denitrosylated target of GSNOR in *D. melanogaster* defence signalling pathway
- Map-based cloning of *Arabidopsis thaliana gsnor1-3* suppressor mutations
- *In vitro S*-nitrosylation of *D. melanogaster* NADPH oxidase
- Development of nitric oxide analyzer based technique for Drosophila *S*-nitrosothiols measurement
- Amplified fragment length polymorphisms (AFLP) technique development for the falciparum malaria (*Plasmodium falciparum*) genotyping

- Cloning and expression of *P. falciparum* Hexokinase

เทคนิคในงานวิจัยที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ

- Quantification of nitrosative species by nitric oxide analyzer
- *In vitro* and *in vivo* biotin switch assays (*S*-nitrosylation assays)
- Map-based cloning
- Real time PCR
- Confocal microscopy
- Protein interactions
- Plant tissue culture
- *D. melanogaster*, *A. thaliana*, fungi and bacteria handling and genetic manipulation
- Molecular biology techniques for DNA, RNA and proteins, such as PCR, RT-PCR, gene cloning and protein expression, protein purification, and Western blot

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

2557-2558 การคัดเลือกสายพันธุ์กล้วยไม้ต้านโรคที่เกิดจากจุลชีพ จาก cell culture กล้วยไม้ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ เป็นหัวหน้าโครงการวิจัย (ทุนพัฒนาอาจารย์ใหม่/นักวิจัยใหม่ ปีที่ 1 จากกองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

2558-2559 การใช้ไส้เดือนฝอย Rhabditida เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพต่อหอยทากศัตรูพืชในสวนกล้วยไม้ The use of Rhabditida nematodes as biocontrol agents for controlling pest snails in orchid farms รหัสโครงการ 5802200033 ทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ประจำปีงบประมาณ 2558 จำนวนเงิน 2,155,280 บาท ระยะเวลาเริ่ม 3 สิงหาคม 2558-2 กุมภาพันธ์ 2560

2559-2560 การคัดเลือกจุลชีพเพื่อใช้ในการควบคุมทางชีวภาพต่อแมลงศัตรูพืช Screening for microbes as biocontrol agents for agricultural insect pests ทุนสนับสนุนจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (โครงการ อพ.สธ.-จุฬาฯ) (the Plant Genetics Conservation Project under the Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn) งบประมาณปี 2559 จำนวนเงิน 130,000.00 บาท ระยะเวลาเริ่ม 1 ตุลาคม 2559-30 กันยายน 2560

ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่

Krieng Kanchanawatee, Gary Loake and David Finnegan. (2012) S-Nitrosylation in Immunity and Fertility: A Mechanism Conserved in Plants and Animals. The 53rd Annual Drosophila Conference, Chicago, IL, USA.

Editorial board

2558-ปัจจุบัน An editorial board member of the 'Genomics and Genetics' international journal

Reviewer of research articles

BMC Complementary and Alternative Medicine

Genomics and Genetics