

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิบั้กษาในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp.

Screening of Antagonistic Bacteria to Control *Fusarium* sp.

วรารณณ์ สุทธิสา^{1*} สุรศักดิ์ ชันคำ¹ ดวงกมล แก้วพิพัฒน์¹ วรณิสา วงศ์คำช่าง¹ วิทยา ยางทรัพย์¹ และ ธันย์ชนก วาดเมือง¹
Sutthisa, W. ^{1*}, KhanKhum, S. ¹, Kaewpipat, D. ¹, Wongkhamchang, W. ¹, Yangsap, W. ¹ and Wadmuang, T. ¹

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Khamriang Sub-District, Kantarawichai District, Maha Sarakham Province, 44150

* Corresponding author: waraporn.s@msu.ac.th

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 20 ไอโซเลต ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium* sp. ด้วยเทคนิคการเลี้ยงเชื้อร่วมกัน พบว่า ไอโซเลต RPA2-2-1 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้ดีที่สุดใน มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 50.5 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบประสิทธิภาพของสารกรองเซลล์ RPA2-2-1 ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium* sp. พบว่าสามารถยับยั้งได้โดยไม่พบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium* sp. และสารกรองเซลล์สามารถยับยั้งการงอกของโคนิเดียเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้ 94.6 และ 89.9 เปอร์เซ็นต์ หลังจากบ่มเขื่อนาน 5 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ การจำแนกชนิดเบื้องต้นด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า RPA2-2-1 มีโคโลนีกลม สีครีม ขอบเรียบ ดิสก์แกรมบวกละมีการสร้างเอนโดสปอร์ คาดว่าเป็นเชื้อในสกุล *Bacillus* sp. การพัฒนาสูตรสำเร็จชนิดเม็ดอัลจินตโดยใช้วัสดุพาที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ ทาลคัม แป้งมัน และแป้งข้าวโพด พบว่าได้เม็ดอัลจินตที่มีลักษณะกลม ผิวขรุขระ สีครีมถึงน้ำตาล มีความรอดชีวิตของเชื้อ 1.3×10^7 , 8.6×10^7 และ 1.0×10^7 cfu ต่อกรัม ตามลำดับ จากเชื้อเริ่มต้น 1×10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp. บนคะน้า พบว่าการใช้เม็ดอัลจินตสูตรที่ 3 (แป้งข้าวโพด) โรยลงดินที่ผสมเชื้อรา *Fusarium* sp. พบการเกิดโรคเพียง 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น

คำสำคัญ: การควบคุมโดยชีววิธี ชีวภัณฑ์ เม็ดอัลจินต

Abstract

The efficacy of all 20 isolates of bacteria in inhibiting *Fusarium* sp. mycelium growth was tested using dual culture technique. It was found that RPA2-2-1 is the best inhibited *Fusarium* sp. mycelium growth with 50.5% inhibition. Testing the efficiency of RPA2-2-1 culture filtrate in inhibiting the mycelium growth of *Fusarium* sp., it was found that it could be inhibited growth of *Fusarium* sp. hyphae and RPA2-2-1 culture filtrate inhibited the germination of *Fusarium* sp. conidia with 94.6 and 89.9% after incubation for 5 and 24 hours, respectively. Morphological identification showed that RPA2-2-1 colonies was round, cream-colored, smooth-edged, Gram-positive and endospore-forming, probably belonging to the genus *Bacillus*. The development of alginate pellets formulations was carried out using 3 different carrier materials: talcum, tapioca starch and corn starch. It was found that alginate pellets were round, rough, cream to brown in color. The viability of the bacteria was 1.3×10^7 , 8.6×10^7 and 1.0×10^7 cfu/g, respectively, from the initial concentration of 1×10^8 cfu/ml. When alginate pellets were tested for efficacy in controlling *Fusarium* sp. on kale, the result show that 20% of disease incidence was found when using alginate granule formulation 3 (corn starch) sprinkle on the soil mixed with *Fusarium* sp. which is significantly different from other treatment.

Keywords: biological control, bioproduct, alginate pellet

สารพรีไบโอติกในแป้งกล้วยดิบซินไบโอติกที่ส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติกสายพันธุ์จากธรรมชาติ

Effect of Prebiotics in Raw Banana Flour on the Growth of Probiotic Strains Isolated from a Synbiotic Raw Banana Product Powder

ปราริชาติ ไชยแสง¹ สมฤดี หวังนิยม¹ และ สุจิรา มณีรัตน์^{1*}
Chaisang, P. ¹, Wangniyom, S. ¹ and Maneerat, S. ^{1*}

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

¹ Biology Department, Faculty of Science, Mahasarakham University

* Corresponding author: sujira.m@msu.ac.th

บทคัดย่อ

กล้วยจัดว่าเป็นผลไม้ท้องถิ่นที่มีราคาถูก หาง่ายและบำรุงสุขภาพ หากแต่กล้วยที่สุกแล้วจะเก็บรักษาได้ไม่นานและราคาตลาดจะตกต่ำ การนำกล้วยมาแปรรูปให้เป็นผลิตภัณฑ์สามารถยืดอายุการเก็บได้ และสามารถเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจของผลิตภัณฑ์แป้งกล้วยดิบได้ วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ของสารพรีไบโอติก ในผลิตภัณฑ์แป้งกล้วยซินไบโอติก และแป้งกล้วยดิบ 100 เปอร์เซ็นต์ ของผลิตภัณฑ์จากชุมชนในจังหวัดมหาสารคาม ที่ได้จากการนำกล้วยน้ำว้าดิบมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์ที่ศึกษาเป็นรูปแบบสูตรผสมประกอบด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติก ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ชนิดดีที่มีประโยชน์ต่อลำไส้ และสารพรีไบโอติกที่ไม่สามารถย่อยหรือดูดซึมในระบบทางเดินอาหารและเป็นแหล่งอาหารของโปรไบโอติกได้ ในการศึกษาครั้งนี้ นำผลิตภัณฑ์แป้งกล้วยซินไบโอติก และแป้งกล้วยดิบ 100 เปอร์เซ็นต์ มาแยกแบคทีเรียกรดแลคติกได้ทั้งหมด 13 ไอโซเลต ทำการทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นด้วยเทคนิคการย้อมสีแกรม เอนโดสปอร์ ทดสอบเอนไซม์อะไมเลส และออกซิเดส พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวกทั้งหมด ไม่สร้างสปอร์ ศึกษาการเจริญของแบคทีเรีย 9 ไอโซเลต จาก 13 ไอโซเลต พบว่าไอโซเลต A02, A03 และ B01 มีการเจริญสูงสุดในอาหาร M17 ที่ปรับสูตร โดยการเติมแป้งกล้วย 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีการผลิต % acidity มีค่าอยู่ระหว่าง 1.66-2.16 เปอร์เซ็นต์ และ pH มีค่าอยู่ระหว่าง 5.5-6.5 และมีการผลิตกรดไขมันสายสั้น ได้แก่ acetic acid, lactic acid, formic acid และ propionic ในปริมาณที่มีผลต่อสุขภาพลำไส้ จากผลการวิเคราะห์กรดไขมันสายสั้นที่จุลินทรีย์ผลิตในอาหารเลี้ยงเชื้อปรับสูตรโดยการเติมแป้งกล้วยดิบ พบว่า ไอโซเลต A02 สามารถผลิตกรดไขมันสายสั้นได้ดีที่สุดในเวลาที่รวดเร็วที่สุด

คำสำคัญ: ซินไบโอติก แป้งกล้วยดิบ พรีไบโอติก โปรไบโอติก

Abstract

Banana is the good food ever, as it is benefit to the health, cheap and easy to eat. However, banana when ripened is not good to be served because it is too fast ripened. Processed of raw banana into banana powder is an alternative way to extend it shelf-life. In addition, the basic knowledge of banana in terms of nutritional values is good to be informed as well as the facts about health benefits from raw banana. The objective of this study was to study effect of prebiotics in 100 percent raw banana and synbiotic banana flour on the growth of probiotic strains isolated from the local banana powder products. The product was formulated with probiotic bacteria and included prebiotic substances. In this study, 13 isolates of lactic acid bacteria were isolated from synbiotic banana flour and 100 percent of raw banana flour. They were Gram's- positive bacteria and non-spore forming bacteria. Nine isolates from 13 isolates were cultered in M17 medium including 1 percent of raw banana flour (modified M17 medium). As the result, all isolates could grow in modified M17 medium. We found that isolates A02, A03 and B01 showed maximum growth in modified M17 medium. These isolates showed % acidity in the range of 1.66-2.16% and pH in the range of 5.5-6.5. They produced short chain fatty acids which are acetic acid, lactic acid, formic acid and propionic acid which are good for gut health. From this study, isolate A02 can be the best of short chain fatty acid producer for the future healthy banana products.

Keywords: synbiotics, raw banana flour, prebiotics, probiotics

การเจริญของเชื้อรา *Ganoderma* sp. บนเศษซากปาล์มน้ำมันในดิน
และการควบคุมโดย *Trichoderma virens*

Growth of *Ganoderma* sp. on Oil Palm Wastes in Soil and Control by *Trichoderma virens*

รัตนา ไบจิ¹ และ ธนัญชนก ไชยรินทร์^{1*}
Rattana, B.¹ and Thanunchanok C.^{1*}

¹ สาขาวิชานวัตกรรมเกษตรและการจัดการ (วิชาเอกการจัดการศัตรูพืช) คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110 ประเทศไทย

¹ Agricultural Innovation and Management Division (Pest Management), Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90110 Thailand

* Corresponding author: thanunchanok.c@psu.ac.th

บทคัดย่อ

Ganoderma sp. เป็นเชื้อราในกลุ่มราฟุสีขาวที่ทำให้เกิดโรคลำต้นเน่าในปาล์มน้ำมัน งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบการเจริญของเชื้อรา *Ganoderma* sp. บนเศษซากปาล์มน้ำมัน และทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma virens* ต่อเชื้อรา *Ganoderma* sp. ในดิน โดยทำการผสมดินกับเศษใบ ราก และทางปาล์ม จากนั้นปลูกเชื้อ *Ganoderma* sp. เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่ามีเส้นใยสีขาวของเชื้อรา *Ganoderma* sp. เจริญปกคลุมบนเศษซากปาล์มทั้งในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อ *Ganoderma* sp. เพียงอย่างเดียว และกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อ *Ganoderma* sp. ร่วมกับเชื้อรา *T. virens* และเพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อรา *Ganoderma* sp. จึงสกัดดีเอ็นเอของเชื้อราจากเศษซากปาล์มน้ำมัน และเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ร่วมกับการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะ พบว่าเชื้อที่เจริญบนเศษซากปาล์มน้ำมันคือเชื้อ *Ganoderma* sp. ทั้งนี้ถึงแม้ว่า *T. virens* สามารถยับยั้งการเจริญของ *Ganoderma* sp. บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อในสภาพห้องปฏิบัติการได้ (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 31.0) แต่เชื้อราปฏิปักษ์ดังกล่าวไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Ganoderma* sp. ในดินได้ ดังนั้นวิธีการที่เหมาะสมในการใช้ *T. virens* เพื่อควบคุม *Ganoderma* sp. ในดินจึงยังต้องมีการศึกษาวิจัยต่อไป

คำสำคัญ: *Ganoderma* sp. เศษซากปาล์มน้ำมัน เชื้อราปฏิปักษ์ โรคลำต้นเน่า

Abstract

Ganoderma sp. is a white rot fungus that causes basal stem rot disease in oil palms. This research aimed to evaluate the growth of *Ganoderma* sp. on oil palm wastes in soil and the antagonistic potential of *Trichoderma virens* against *Ganoderma* sp. was also determined in the mixed soil with oil palm wastes (leaves, roots, and palm stalks). After 2 weeks of *Ganoderma* sp. and *T. virens* inoculations, white mycelia were found on the oil palm wastes in both treatments including individual *Ganoderma* sp. and the combination *Ganoderma* sp. and *T. virens*. To confirm *Ganoderma* sp., the fungal DNA was extracted from oil palm wastes, and PCR technique was done with specific primers for *Ganoderma* sp. It was found that the fungal mycelium that grew on oil palm wastes was *Ganoderma* sp. Although *T. virens* could inhibit *Ganoderma*'s growth on agar medium under laboratory conditions (% inhibition was 31.0), it could not control *Ganoderma* sp. in the soil in the present study. Furthermore, the optimal use of *T. virens* to control *Ganoderma* sp. in soil needs to be conducted.

Keywords: *Ganoderma* sp., oil palm wastes, antagonistic fungi, basal stem rot disease

สัณฐานวิทยาและโมเลกุลในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของราดำ *Aspergillus* Species ที่แยกได้จากดิน
ในภาคใต้ของประเทศไทย
Morphological and Molecular Identification of Black *Aspergillus* Species Isolated from Soil
in Southern Thailand

อิทธิพล จิตพิทักษ์¹ เมธาพร รอดแก้ว¹ และ ชนินันท์ พรสุริยา^{1*}
Chitphithak, I. , Rodkaew, M. and Pornsuriya, C.

¹ สาขาวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ 90110

¹ Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai Campus 90110

*Corresponding author: chaninun.p@psu.ac.th

บทคัดย่อ

ราดำแอสเปอร์จิลไล (*Aspergillus* section *Nigri*) พบได้ทั่วไปในดิน มีทั้งชนิดที่เป็นประโยชน์และชนิดที่ก่อโรคต่อมนุษย์ ราในกลุ่มนี้เป็นหนึ่งในกลุ่มราที่จัดจำแนกและระบุชนิดได้ยาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อระบุชนิดของราในกลุ่มนี้ด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางโมเลกุล โดยการแยกเชื้อ *Aspergillus* section *Nigri* จากดินซึ่งเก็บมาจาก 14 จังหวัดในภาคใต้ของประเทศไทยด้วยวิธีเจือจางแบบอนุกรม 10 เท่า ได้ 70 ไอโซเลต ระบุชนิดด้วยการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอบริเวณ internal transcribed spacer (ITS) ยีน Translation elongation factor 1 α (*EF-1 α*) และยีน RNA polymerase II (*RPB2*) ได้ 8 ชนิด ได้แก่ *A. aculeatinus*, *A. assiutensis*, *A. floridensis*, *A. neoniger*, *A. niger*, *A. tubingensis*, *A. trinidadensis* และ *A. vadensis* และได้แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราดำ *Aspergillus* species แต่ละชนิด และอธิบายความสำคัญเพื่อเป็นข้อมูลในการนำรากลุ่มนี้ไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตร

คำสำคัญ: ราดำแอสเปอร์จิลไล สัณฐานวิทยา ลำดับนิวคลีโอไทด์

Abstract

The black aspergilli (*Aspergillus* section *Nigri*) are commonly found in soil. There are both beneficial and pathogenic species to humans. This section is one of the most difficult to classify and identify. Therefore, the aim of this study was to identify the species of fungi in this section based on morphological and molecular characteristics. Seventy isolates of *Aspergillus* section *Nigri* were isolated from soil collected from 14 provinces in southern Thailand by a 10-fold serial dilution method. Eight species: *A. aculeatinus*, *A. assiutensis*, *A. floridensis*, *A. neoniger*, *A. niger*, *A. tubingensis*, *A. trinidadensis* and *A. vadensis* were identified by DNA sequencing data analysis on the internal transcribed spacer (ITS) region, translation elongation factor 1 α (*EF-1 α*) gene and RNA polymerase II (*RPB2*) gene. The morphological characteristics of each black *Aspergillus* species have been illustrated and described for their significance in the agricultural utilization of these fungi.

Keywords: black aspergilli, morphology, DNA sequencing

การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์บีที (*Bacillus thuringiensis*) ร่วมกับสารเคมีในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพด
ลายจุด (*Spodoptera frugiperda*) (Lepidoptera: Noctuidae) ในกลุ่มเกษตรกรปลูกข้าวโพดข้าวเหนียว
จังหวัดขอนแก่น

The Efficiency of the Bioproduct *Bacillus thuringiensis* combined with Insecticide for Control of
Fall Armyworm (FAW), *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) on
Farmer Group Waxy Corn Production in Khonkaen Province

เอมอร เพชรทอง¹ รัตติกาล ยุทธศิลป์¹ ศิลดา ประนาโส¹ และ อัญชลี ชาวนา¹
Phetthong, E.^{1*} Yutthasin R.¹ Pranaso, S.¹ and Chawna, A.¹

¹ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 ขอนแก่น เลขที่ 180 หมู่ 27 ถนนมิตรภาพ ตำบลศิลา อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40000

¹ Agricultural Research and Development Region 3 Khon Kaen 180 M. 27, Mitarpap Road, Sila Sub-district, Mueang District, Khon
Kaen Province 40000

* Corresponding author: emornu@gmail.com

บทคัดย่อ

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (*Spodoptera frugiperda*) เป็นศัตรูที่มีความสำคัญต่อการปลูกข้าวโพด สร้างความเสียหายแก่ผลผลิต ทำให้เกษตรกรมีรายได้ลดลง การศึกษาครั้งนี้ได้นำชีวภัณฑ์บีทีใช้ร่วมกับสารเคมีเพื่อกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวในแปลงเกษตรกรในจังหวัดขอนแก่น ในปี 2565 โดยออกแบบเป็นการวิจัยเชิงปฏิบัติการแบบมีส่วนร่วม (Participatory Action Research : PAR) ประกอบด้วย 2 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 วิธีทดสอบใช้เทคโนโลยีของกรมวิชาการเกษตร (DOA) โดยใช้ชีวภัณฑ์บีทีร่วมกับการใช้สารเคมี และ กรรมวิธีที่ 2 วิธีเกษตรกรเป็นวิธีที่เกษตรกรปฏิบัติอยู่เดิม (ใช้สารเคมี) ดำเนินการในพื้นที่เกษตรกร 10 ราย รายละ 1 ไร่ต่อกรรมวิธี รวมพื้นที่ศึกษา 20 ไร่ โดยศึกษาทั้งในฤดูแล้งและฤดูฝน ผลการศึกษาพบว่า การผลิตข้าวโพดข้าวเหนียว ในฤดูแล้ง เดือนมกราคม-มีนาคม 2565 ผลผลิตเฉลี่ยวิธีทดสอบ 1,934 กก./ไร่ วิธีเกษตรกร 1,503 กก./ไร่ ผลผลิตเพิ่มขึ้น 22% รายได้เพิ่มขึ้นจาก 18,356 บาท/ไร่ เป็น 23,606 บาท/ไร่ คิดเป็น 22% ต้นทุนในการผลิตลดลงจาก 5,352 บาท/ไร่ เป็น 3,998 บาท/ไร่ คิดเป็น 25% การผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวในฤดูฝน เดือนพฤษภาคม-กรกฎาคม 2565 ผลผลิตเฉลี่ยวิธีทดสอบ 1,345 กก./ไร่ วิธีเกษตรกร 1,139 กก./ไร่ รายได้เพิ่มขึ้นจาก 13,664 บาท/ไร่ เป็น 16,423 บาท/ไร่ คิดเป็น 16% ต้นทุนในการผลิตลดลงจาก 5,102 บาท/ไร่ เป็น 3,672 บาท/ไร่ คิดเป็น 28%

คำสำคัญ: บีที หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด สารเคมี ชีวภัณฑ์

Abstract

Fall armyworm (FAW), *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) is a key serious pest of corn production. It has the potential to reduce corn yield, resulting in lower income for farmer. In this study, the bioproduct *Bacillus thuringiensis* combined with an insecticide was employed against Fall armyworm in waxy corn production in farmer groups in Khonkaen Province from October 2021 to December 2022. The Participatory Action Research: PAR was used. There were 2 methods with Method1: the technology of Department of Agriculture by using *Bacillus thuringiensis* combined with insecticide, DOA practice and Method2: farmer practice. Ten farmers were chosen, and each provided one rai for each method (a total of 20 rai). The study was conducted during both the dry and rainy seasons. The result revealed that the average yield production of waxy corn in the dry season, January-March 2022 from Method1 is 1,934 kg./rai and Method2: is 1,503 kg./rai, representing a 22% increase in productivity. The farmer income increased from 18,356 baht/rai to 23,606 baht/rai. The production costs decreased 5,352 baht/rai to 3,998 baht/rai or 25%. For the rainy season, May-July 2022, the average yield production from Method1: 1,345 kg./rai and Method2 : 1,139 kg./rai,

representing a 16% increase in productivity. The farmer increased 13,664 baht/rai to 16,423 baht/rai. The production costs decreased 5,102 baht/rai to 3,672 baht/rai or 28%.

Keywords: *Bacillus thuringensis*, *Spodoptera frugiperda*, insecticide, bioproduct

ยุงในฟาร์มปศุสัตว์ของภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทยและความไวต่อสารกำจัดลูกน้ำ

Mosquitoes in Livestock Farms of Southern Peninsular Thailand and Larvicide Susceptibility

เทพยุดา ย่องซื่อ¹ สุนัยนา สathantriphop² และ กราญจนา ถาอินชุม^{1*}
Yongsue, T. ¹, Sathantriphop, S.² and Tainchum, K.^{1*}

¹ สาขาวิชานวัตกรรมและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ต.คอหงส์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

¹ Agricultural Innovation and Management, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Kor Hong Subdistrict, Hat Yai District, Songkhla Province 90110

² สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี 11000

² National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi 11000

*Corresponding author: krajana.s@psu.ac.th

บทคัดย่อ

ยุงเป็นแมลงศัตรูที่ดูดเลือดและส่งผลกระทบต่อสุขภาพและผลผลิตในการทำปศุสัตว์ในภาคใต้ของประเทศไทย การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจชนิดของยุงในฟาร์มปศุสัตว์ภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทยและประเมินความไวและความคงทนของทรายอะเบทกำจัดลูกน้ำในยุงลายสวนสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการและภาคสนาม วางแผนทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างลูกน้ำจากฟาร์มแพะนม โคเนื้อ โคนม ในเขตพื้นที่ 6 จังหวัด (พัทลุง สตูล ปัตตานี นราธิวาส ยะลา และสงขลา) โดยในแต่ละพื้นที่เข้าเก็บ 1 ครั้ง ลูกน้ำยุงถูกนำกลับมาเลี้ยงเป็นตัวเต็มวัยในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจำแนกชนิดตัวเต็มวัยใต้กล้องจุลทรรศน์ จากการสำรวจพบยุง 4 ชนิดได้แก่ ยุงลายสวน *Aedes albopictus* ยุงก้นปล่องชันไคคัส *Anopheles sundaicus* s.l. ยุงรำคาญ *Culex quinquefasciatus* และยุงยักษ *Toxorhynchites splendens* โดยเลือกยุงลายสวน *Ae. albopictus* จากจังหวัดสงขลาเป็นตัวแทนประชากรภาคสนามเลี้ยงเพิ่มปริมาณและนำไปทดสอบกับสารกำจัดลูกน้ำเป็น ทรายเคลือบสารเคมีฟอส 3 ผลิตภัณฑ์ จากพื้นที่สำรวจที่ประชาชนนิยมใช้ เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างความไวของยุงประชากรห้องปฏิบัติการและภาคสนาม จากนั้นทดสอบความคงทนของทรายอะเบทที่ใส่ในโอ่งน้ำเป็นระยะเวลา 1, 2, และ 3 เดือน ผลการทดสอบยุงประชากรห้องปฏิบัติการและภาคสนาม มีความไวต่อสารทั้ง 3 ผลิตภัณฑ์อยู่ในช่วง 97.5-100% ความคงทนของผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 ผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างกัน การสำรวจชนิดยุงและความไวรวมถึงความคงทนของการกำจัดลูกน้ำ ยุงอาจเปลี่ยนแปลงไป เกษตรกรสามารถนำข้อมูลที่ได้นี้พิจารณาการป้องกันควบคุมให้เหมาะสมเพื่อประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป

คำสำคัญ: ยุงลายสวน, ทรายอะเบท, ความไวต่อสารกำจัดลูกน้ำ, ฟาร์มปศุสัตว์

Abstract

Mosquitoes are blood-sucking insects that affect the health and productivity of livestock in southern Thailand. The objective of this study was to explore the species of mosquitoes on livestock farms in lower southern Thailand and to assess the larvicide susceptibility and persistence of temephos sand to larvae in laboratory strains of *Aedes albopictus* and the field population. It is planned to investigate larvae sampling from dairy goats, beef cattle, and dairy cattle farms in six provinces (Phatthalung, Satun, Pattani, Narathiwat, Yala, and Songkhla). Mosquitoes were collected once in each area. Mosquito larvae were reared in the laboratory condition until they were adults. Adult mosquitoes were classified under a microscope. Four species of mosquitoes were found; *Aedes albopictus*, *Anopheles sundaicus* s.l., *Culex quinquefasciatus*, and *Toxorhynchites splendens*. The high density of *Ae. albopictus* from Songkhla province was found and selected as the representative of the field population. The three commercial temephos larvicidal sands were used for testing in larvicide susceptibility for both laboratory and field populations of *Ae. albopictus*. The persistence of temephos larvicidal sand was tested after applying it in a water jar for 1, 2, and 3 months. The larvicide susceptibility of the laboratory and field population was in the range of 97.5-100%. The persistence of larvicide action was different. The information on species and larvicidal susceptibility of mosquitoes in livestock farm could be used by best farmer practices for mosquito prevention and control.

Keywords: *Aedes albopictus*, abate sand, larvicide susceptibility, livestock farm

การระบุชนิดของเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบด่างหม่อนด้วยเทคนิค RT-PCR

Identification of a Virus Causing Foliar Mosaic Disease by RT-PCR Technique

สุรศักดิ์ ชันคำ*¹, ศิริญา จำปานนตร¹, ปวีณา ปิยง¹, วันวิสาข์ ตาปราบ¹, สุดารัตน์ แก้วบุญเรือง¹, พิชญานิน เหลืองอ่อน¹, โรเบอร์โต ดี ฟาเรียส², ภูวนารถ มณีโชติ³, สุวัฒน์ พรหมมา⁴ และ จุฑารัตน์ จามกระโทก⁵
Khankhum, S.^{1*}, Champanate, S.¹, Piyang, P.¹, Taprab, W.¹, Kaewboonruang, S.¹, Laung-on, P.¹, de Farias, A.R.G.², Maneechoat, P.³, Promma, S.⁴ and Jamkratoke, J.⁵

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Khamriang, Kantharawichai, Mahasarakham 44150

² ศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านการศึกษาวิจัยเชื้อรา มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ต.ท่าสูด อ.เมือง จ.เชียงราย 57100

² Center of Excellence in Fungal Research, Mae Fah Luang University, Thasud, Muang, Chiang Rai 57100,

³ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 50 ถนนพหลโยธิน แขวงจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

³ Plant Protection Research and Development office, Department of Agriculture, 50 Phaholyothin Rd. Chatuchak, Bangkok 10900

⁴ ศูนย์ความเป็นเลิศทางนวัตกรรมไหม มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

⁴ Center of Excellence for Silk Innovation, Mahasarakham University, Khamriang, Kantharawichai, Mahasarakham 44150

⁵ สำนักงานหม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ เขต 4 นครราชสีมา ต.ในเมือง อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

⁵ The Queen Sirikit Sericulture Region Office 4: Nakhonratchasima Province, Naimueang, Mueang, Nakhon Ratchasima 30000

*Corresponding author: surasak.kk@msu.ac.th

บทคัดย่อ

เมื่อนำกิ่งหม่อนสายพันธุ์สกลนคร 72 ที่มีอาการใบด่างจากแปลงปลูก จังหวัดมุกดาหาร มาทดสอบการถ่ายทอดเชื้อไวรัสด้วยวิธีทาบกิ่งและวิธีกล พบว่าประมาณ 15 วัน หลังการถ่ายเชื้อ พบอาการใบด่าง ใบเสียรูป และผลจุดตาย จึงนำมาสกัดอาร์เอ็นเอรวม เพื่อใช้เป็นแม่แบบในการเพิ่มปริมาณยีนของเชื้อไวรัส Mulberry vein banding virus (MuVBV) ด้วยเทคนิค two-steps RT-PCR พบว่าอุณหภูมิขั้น annealing ที่ 58 และ 52 องศาเซลเซียส เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาด้วยคูไพรเมอร์ที่ออกแบบมาเพื่อเพิ่มปริมาณยีน nucleocapsid (N) และ non-structural silencing (NSs) ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน N และยีน NSs พบว่ามีความยาว 834 เบส แปลเป็นลำดับกรดอะมิโนได้ 277 กรดอะมิโน และยีนมีความยาว 1,320 เบส แปลเป็นลำดับกรดอะมิโนได้ 439 กรดอะมิโน ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนที่ได้กับฐานข้อมูล Genbank พบว่าโปรตีน N มีความเหมือนกับไวรัส MuVBV ไอโซเลต XCSY-3, XZDL-1 และ HX-2 ที่ระดับ 92.77, 92.77 และ 92.41 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโปรตีน NSs มีความเหมือนกับไวรัส MuVBV ไอโซเลต XCSY-3, HX-2 และ XZDL-1 ที่ระดับ 90.66, 90.66 และ 89.97 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการสร้าง phylogenetic tree ด้วยลำดับกรดอะมิโน ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าเชื้อไวรัสสาเหตุใบด่างหม่อนเป็นไวรัส MuVBV ไอโซเลต TH-MSN72 และการพัฒนาเทคนิค RT-PCR เพื่อการตรวจสอบชนิดไวรัสมีความสำคัญในการนำไปประยุกต์ใช้ในการกำหนดมาตรการป้องกันโรค และควบคุมโรคอย่างมีประสิทธิภาพในอนาคตต่อไป

คำสำคัญ: หม่อน, ใบด่าง, RT-PCR

Abstract

The mulberry trees var. Sakon Nakhon 72 with mosaic leaves were collected from a growing field in Mukdahan province. The transmission of a virus was attempted to perform through grafting and mechanical techniques. Fifteen days after the transmission, the healthy leaves expressed mosaic, deformation, and necrotic spot symptoms, which were indicated as viral infections. Then, the total RNA was extracted and used as a template in two-step RT-PCR to amplify the nucleocapsid (N) and non-structural silencing (NSs) genes of the Mulberry vein banding virus (MuVBV). The optimal annealing temperatures for the primer pairs of the N gene and the NSs gene were determined to be 58 and 52°C, respectively. The nucleotide and amino acid sequences of the virus isolate TH-MSN72 were analyzed, and it was found that the sequence of the N gene contained 834 bases, which were translated into 277 amino acid residues, whereas the NSs gene contained 1,320 bases, which were translated into 439 amino acid residues. The identities of the N amino acid sequence to MuVBV isolates XCSY-3, XZDL-1, and HX-2 were 92.77, 92.77, and 92.41%, respectively, whereas the identities of the NSs amino

acid sequence to MuVBV isolates XCSY-3, HX-2, and XZDL-1 were 90.66, 90.66, and 89.97%, respectively. The phylogenetic trees reconstructed from N and NSs proteins revealed that this virus was the Mulberry vein banding virus isolate TH-MSN72. Consequently, the findings of this study have future implications for the management and control of viral diseases in mulberry cultivation.

Keywords: mulberry, foliar mosaic, RT-PCR