



สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ  
รับที่ ๕๐/๙.๗.๖๖  
วันที่ ๒๐/๙.๗.๖๖

## บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ สภากาชาดไทย ๑๔๘๐ ถนนสุขุมวิท แขวงคลองเตย เขตคลองเตย กรุงเทพฯ ๑๐๑๖

ที่ กษ.๐๙๐๖/๒ ๑๙๖๖

วันที่ ๒๐ มิถุนายน ๒๕๖๖

เรื่อง แจ้งเวียนบทคัดย่อผลงานทางวิชาการเพื่อตรวจสอบ

เรียน พอ.กอง/สถาบัน/สำนัก/ศพส./สวพ.๑๙

๑๙๖๖

ด้วย นางสาวมลลิกา แก้ววิเศษ นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ ตำแหน่งเลขที่ ๙๖ กศุ์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ มีความประสงค์จะเข้ารับการคัดเลือกประเมินเข้าดำรงตำแหน่งผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร (นักวิชาการเกษตร เชี่ยวชาญ ตำแหน่งเลขที่ ๑๐๑๖) จึงขอส่งบทคัดย่อผลงานทางวิชาการเพื่อพิจารณาตรวจสอบ จำนวน ๓ เรื่อง ดังนี้

๑. ลายพิมพ์ตีอิ้นของเหตุเรื่องแสง
๒. การจำแนกเชื้อรากเขียวเมต้าไรเชียมด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล
๓. การผลิตเอนไซม์คิดเน斯จากเชื้อรากสาหร่ายในคราฟฟ์ของแมลง

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา และแจ้งให้นักวิชาการในสังกัดทราบ ทั้งนี้ หากไม่ตอบกลับมาภายในวันที่ ๕ กรกฎาคม ๒๕๖๖ จะถือว่าไม่มีผู้ได้คัดค้าน สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ จะนำผลงานดังกล่าวเสนอเข้ารับการประเมินต่อไป

(นายฉักร นาคประเสริฐ)

ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ที่ กษ.๐๙๐๖/.....  
วันที่ ๒๐/๙/๖๖

เรียน พอ.สวพ.๔/พชช./พอ.ศวพ./ศพก./พอ.กลุ่ม.....

เพื่อโปรดทราบ

เพื่อโปรดทราบและถือปฏิบัติ

เพื่อโปรดทราบและดำเนินการ

เพื่อโปรดพิจารณาดำเนินการ

ข้อเสนอแนะ.....

(นายบุญชู สายธน)

ผู้อำนวยการกลุ่มประสานและบริหารนโยบาย รักษาราชการแทน  
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ ๔

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร  
ก่อตั้งเมื่อ

## ลายพิมพ์ดีอีนเอชองห์เดร็อฟเรืองแสง

มัลลิกา แก้ววิเศษ<sup>1/</sup>

ราพร ไชยมา<sup>1/</sup>

บุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ<sup>1/</sup>

### บทคัดย่อ

เห็ดเรืองแสงหลายชนิดมีรายงานว่ามีสารสำคัญที่นำไปใช้ในการทางการแพทย์และการเกษตร จึงได้ศึกษาลายพิมพ์ดีอีนเอชองห์เดร็อฟเรืองแสง โดยทำการเก็บตัวอย่างเห็ดเรืองแสงที่ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เห็ดสวนผึ้ง อ. สวนผึ้ง จ.ราชบุรี โดยทำการเก็บตัวอย่างเห็ดเรืองแสงในเวลากลางคืน พบร้อยตัวอย่างเห็ดเรืองแสง 4 ชนิด ในทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา เห็ด D1 ดอกเห็ดมีสีขาว ลักษณะกลมคล้ายร่ม เห็ด D2 ดอกเห็ดมีสีขาวขุ่น ลักษณะคล้ายรังผึ้ง เห็ด D3 ดอกเห็ดมีสีขาว ลักษณะคล้ายเห็ดนางรม เห็ด D4 ลักษณะคล้ายร่ม เมื่อมีน้ำ D1 แต่ดอกเห็ดเป็นสีน้ำตาล นำขึ้นส่วนมาเลี้ยงขยายเส้นใยในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar แล้วสกัดดีอีนเอจากเส้นใยด้วยชุดสกัด ทำ PCR เพื่อเพิ่มปริมาณดีอีนเอบริเวน Internal Transcribed Spacer (ITS) โดยใช้ primer ITS 1 และ 4 จากนั้นส่งผลผลิตดีอีนเอเพื่อวิเคราะห์เพื่อหาลำดับเบส นำลำดับเบสที่ได้มาเปรียบเทียบผลในฐานข้อมูล NCBI จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลเห็ดเรืองแสงที่สามารถจำแนกได้ทั้ง genus และ species คือ D1 *Mycena chlorophos* และ D3 *Neonothopanus nimbi* อีก 2 ชนิด สามารถจำแนกได้เพียง genus คือ D2 *Favolaschia spp.* และ D4 *Mycena spp.* และจากการ alignment ลำดับเบสในส่วนเห็ดทั้ง 4 ชนิด พบร่วมบ้างส่วนที่มีลำดับเบสเหมือนกันประมาณ 100 กว่าเบส จากการศึกษาครั้งนี้สามารถที่จะขยายผลในการศึกษาสารสกัดจากเห็ดเรืองแสงที่พบได้

<sup>1/</sup> สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

## การจำแนกเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล

มัลลิกา แก้ววิเศษ<sup>1/</sup> เสารินิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์<sup>2/</sup>  
จีรภา ปัญญคิริ<sup>3/</sup> อัจฉราพรรณ ใจเจริญ<sup>1/</sup>

### บทคัดย่อ

เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (*Metarhizium spp.*) เป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลง แต่ การจำแนกโดยดูเพียงลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่อาจบอกໄอโโซเลทได้อย่างชัดเจน จึงได้มีนำเทคนิคชีวโมเลกุลมาใช้ในการจำแนก โดยทำการศึกษาตัวอย่างเชื้อราเขียวจากสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชและศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รวม 14 ตัวอย่าง ซึ่งจากการจำแนกเบื้องต้นโดยสัณฐานวิทยาพบว่าเป็น *Metarhizium anisopliae* 11 ตัวอย่าง *M. flavoride* 1 ตัวอย่าง และ *Metarhizium spp.* 2 ตัวอย่างซึ่งยังไม่สามารถแยก species ได้ ใช้เทคนิคพีซีอาร์ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) และบริเวณยีนโคติเนส พบร่วมกับการทำพีซีอาร์ในส่วนของปริมาณบริเวณ ITS โดยใช้ไพรเมอร์ ITS 1 และ ITS 4 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ทุกตัวอย่าง โดยเชื้อเมตาไรเซียมที่ยังไม่สามารถจำแนกระดับ species ได้ พบร่วม เป็น *Metarhizium annisoliae* และ *M. flavoride* ในส่วนของ *Metarhizium annisoliae* ยังแยกได้ถึงระดับ variety โดยพบร่วมมีทั้ง variety *annisoliae* และ *majus* ส่วนการเพิ่มปริมาณขึ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณยีนโคติเนส โดยใช้ไพรเมอร์ Ch4F และ Ch4R สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้เพียง 9 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างของ *Metarhizium annisoliae* ทั้งหมด และสามารถ จำแนกระดับ variety ได้เป็น *majus* ทั้งหมด จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าเทคนิคชีวโมเลกุลสามารถช่วยจำแนกเชื้อราเขียวในกรณีที่ยังไม่สามารถจำแนกได้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และยังช่วยจำแนกได้ละเอียดลงไปถึงระดับ variety ด้วย

<sup>1/</sup> สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

<sup>2/</sup> สำนักวิจัยพัฒนาการอารักษาพืช

<sup>3/</sup> ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

## การผลิตเอนไซม์โคติเนสจากเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง

มัลลิกา แก้ววิเศษ<sup>1/</sup>

จีรา ปัญชิริ<sup>2/</sup>

สาวนิตร์ โพธิพูนศักดิ์<sup>3/</sup>

### บทคัดย่อ

เอ็นไซม์โคติเนสเป็นเอ็นไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมศัตรูพืชซึ่งพบได้ในเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง จึงทำการรวบรวมและสำรวจเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคในแมลง ศึกษาการผลิตโคติเนสโดยนำเชื้อรามาเลี้ยงบน Chitin selective agar ซึ่งมี colloidal chitin ผสมอยู่ สังเกตวงใสที่ปราภภูบผิวน้ำอาหารคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการผลิตโคติเนสได้ ซึ่งมีทั้งเชื้อราเขียวเมตาโรเชียมและเชื้อรากาวบิวเวเลีย นำมาผลิตเอนไซม์โคติเนส โดยการผลิตในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Broth (PDB) ที่ใส่ chitin 1% ลงไป โดยใช้เชื้อราในการเริ่มต้น  $10^7$  สปอร์/มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องเยื่่า ที่อุณหภูมิ  $30^{\circ}\text{C}$  โดยใช้ระยะเวลา 5 วัน ตกตะกอนโดยการปั่นเหลว แล้วน้ำใสที่มีเอ็นไซม์โคติเนสไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dye ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเอนไซม์โคติเนสต่อหนอนกระทู้ผัก โดยทดสอบการการยับยั้งการอาหาร ให้หนอนวายส่องกินอาหารที่มีเอ็นไซม์โคติเนสปนในอาหารพบว่า หนอนบางตัวไม่กินอาหารที่มีเอ็นไซม์โคติเนสปนอยู่ในอาหาร ทำให้หนอนไม่เจริญเติบโตตามปกติ ขนาดตัวจะเล็กกว่าหนอนจากการรวมวิธีควบคุม หนอนที่ได้รับเอ็นไซม์โคติเนสจะเริ่มตายหลังจากกินอาหารไป 24 ชั่วโมง แต่จะเริ่มตายมากขึ้นหลังจากกินอาหารไป 5 วัน นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนโดยหยดเอนไซม์โคติเนสบนส่วนอกของหนอนวัย 4 พับว่า หนอนบางตัวจะตายไปโดยที่ไม่สามารถเข้าดักได้ จากผลการทดลองทำให้พบว่าเอ็นไซม์โคติเนสมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินอาหารและการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้ผักได้ ซึ่งจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชต่อไป

<sup>1/</sup> สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

<sup>2/</sup> สำนักวิจัยพัฒนาการอารักษารีชีฟ

<sup>3/</sup> ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ