

บทคัดย่อ

Bacillus thuringiensis เป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารพิษทำลายแมลงหลายกลุ่ม เช่น กลุ่มหนอนผีเสื้อ หนอนดักแด้ แมลงวัน เป็นต้น ได้มีการนำ *B. thuringiensis* มาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชมาเป็นเวลานาน อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าแมลงศัตรูพืชบางชนิดสามารถสร้างความต้านทานต่อ *B. thuringiensis* การวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาการพัฒนาความต้านทานของ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 กับหนอนใยผักสายพันธุ์ BBS และสายพันธุ์ TMS โดยทดสอบประสิทธิภาพกับ *B. thuringiensis* ทั้งสายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการเพื่อหาระดับความเข้มข้นที่ทำให้หนอนทดสอบตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) และทดสอบการพัฒนาความต้านทานของหนอนใยผักต่อ *B. thuringiensis* โดยให้หนอนใยผักสายพันธุ์ BBS และสายพันธุ์ TMS ได้รับ *B. thuringiensis* ที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (LC₁₀) อย่างต่อเนื่องได้ทั้งหมด 7 รุ่น พบว่าอัตราความต้านทาน (RR) หนอนใยผักสายพันธุ์ BBS รุ่นที่ 7 ที่ได้รับ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 มีค่าเท่ากับ 0.954 ส่วนสายพันธุ์ JC590 มีค่า 0.648 ส่วนหนอนใยผักสายพันธุ์ TMS รุ่นที่ 7 ที่ได้รับ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 มีค่าเท่ากับ 0.481 ส่วนสายพันธุ์ JC590 มีค่าเท่ากับ 31.58 ค่า Heritability (h^2) ของหนอนใยผักสายพันธุ์ BBS กับ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 เท่ากับ 0.047 และ -0.009 ส่วนหนอนใยผักสายพันธุ์ TMS กับ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 ได้ค่า h^2 เท่ากับ 0.074 และ -0.081 เมื่อนำมาหาค่าความแรงของ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 พบว่าค่าความแรงของ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 กับหนอนใยผักสายพันธุ์ BBS และสายพันธุ์ TMS โดยเปรียบเทียบกับ *B. thuringiensis* มาตรฐานรูปแบบผง (TW1) มีค่าความแรง 25,473 - 57,945.94 IU และ 12,236.8 - 28,429 IU/ml ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ *B. thuringiensis* มาตรฐานรูปแบบน้ำขุ่น (TW2) มีค่าความแรง 3,438.53 - 22,265.5 IU/ml และ 3,308 - 38,964 IU/ml ตามลำดับ ในการทดสอบเพื่อหาค่าความแรงของ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 เปรียบเทียบกับ TW1 เป็นสายพันธุ์มาตรฐาน โดยทดสอบกับหนอนใยผักสายพันธุ์ BBS และสายพันธุ์ TMS โดยใช้ TW1 เป็นสายพันธุ์มาตรฐาน มีค่าความแรง 14,975.6 - 53,600 IU/ml และ 2,293.3 - 34,970.40 IU/ml ตามลำดับ ขณะที่การเปรียบเทียบโดยใช้ TW2 เป็นสายพันธุ์มาตรฐาน มีค่าความแรง 3,228.29 - 10,776.37 IU/ml และ 2,642.6 - 7,302 IU/ml ตามลำดับ การศึกษาเกี่ยวกับยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนที่เป็นพิษ (*cry* genes) เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางชีวภาพของสายพันธุ์เพื่อใช้ประกอบการอธิบายถึงการทำงานในระดับชีวโมเลกุลของยีนที่ควบคุมความเป็นพิษของจุลินทรีย์ต่อชนิดแมลงศัตรูพืช โดยอาศัยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโพลีเมอร์เชน (polymerase chain reaction, PCR) และไพรเมอร์ในกลุ่มของยีน *cry* พบว่า *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 พบยีน *cry* จำนวน 7 ชนิด คือ ยีน *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I* และ *cry2A* และ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 พบยีน *cry* จำนวน 6 ชนิด คือ ยีน *cry1Ab*, *cry1C*, *cry1D*,

cry1E, *cry1I* และ *cry2A* ทั้งบนโครโมโซมและพลาสมิด ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์บีทีและการนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดได้ในอนาคต

Abstract

Bacillus thuringiensis is bacteria, producing insecticidal toxin, which widely used as bio-control agent in plantation field for many years. However, some pest insects can develop resistance to this organism. In this study, bacterial resistance development in diamondback moth (*Plutella xylostella*) of *B. thuringiensis* JC150 and JC590 was tested against *P. xylostella* strain BBS and TMS. The resistance rate (RR) of *P. xylostella* strain BBS and TMS calculated from LC_{10} of *B. thuringiensis* JC150 and JC590 for 7 generations of *P. xylostella* were 0.954, 0.648, 0.481, and 31.58, respectively. The Heritability (h^2) of *P. xylostella* strain BBS and TMS against *B. thuringiensis* JC150 and JC590 were 0.047, -0.009, 0.074, and -0.081, respectively. For potency study, the results of *B. thuringiensis* JC150 against *P. xylostella* strain BBS and TMS were 25,473 - 57,945.94 IU and 12,236.8 - 28,429 IU/ml, when compared with commercial strain of *B. thuringiensis* TW1 (powder product), and 25,473 - 57,945.94 IU and 12,236.8 - 28,429 IU/ml when compared with commercial strain of *B. thuringiensis* TW2 (concentrated liquid product). The potency of *B. thuringiensis* JC590 on *P. xylostella* strain BBS and TMS, were 14,975.6 -53,600 IU/ml and 2,293.3 - 34,970.40 IU/ml, when compared with commercial strain of *B. thuringiensis* TW1, and 3,228.29 -10,776.37 IU/ml and 2,642.6 -7,302 IU/ml when compared with commercial strain of *B. thuringiensis* TW2. The molecular study of *cry* genes showed that *cry* genes were presence both on chromosomal and plasmid DNA of *B. thuringiensis* JC150 and JC590. The genes *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I* and *cry2A* were detected on both chromosomal and plasmid DNA of *B. thuringiensis* JC150 and the genes *cry1Ab*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I*, and *cry2A* were on both chromosomal and plasmid DNA of *B. thuringiensis* JC590. The results obtained here could be used in development and application of *B. thuringiensis* in the near future.