พัชริดา คำภูเมือง : แบคทีเรียในดินที่สามารถทำลายโครงสร้างของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง (BACTERIA IN SOIL CAPABLE OF DESTROYING STRUCTURE OF CASSAVA MEALY BUGS) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรีลักษณ์ รอดทอง, 155 หน้า.

เพลี้ยแป้งทำลายพืชโดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากทุกส่วนของพืชทำให้พืชเหี่ยวตาย เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของมันสำปะหลัง การควบคุมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังโดยอาศัยแบคทีเรียในดินมีแนวโน้มเป็นวิธีที่ประหยัดและยั่งยืน จากการศึกษาโครงสร้างและส่วนประกอบทางเคมีของเพลี้ยแป้งที่เป็นสารอาหารของแบคทีเรีย และทดสอบความเป็นไปได้ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกในการทำลายโครงสร้างของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังที่พบในพื้นที่ที่มีการทำลายพืชในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ชนิดเพลี้ยแป้งสีชมพู (*Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero) ซึ่งพบมากกว่าอีก 3 ชนิด ที่พบคือ เพลี้ยแป้งสีเขียว (*Phenacoccus maderiensis* Green) เพลี้ยแป้งแจ๊คเบียดเลย์ (*Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel & Miller) และเพลี้ยแป้งลาย (*Ferrisia virgata* Cockerel) ลำตัวของเพลี้ยแป้งสีชมพูที่ศึกษา มีชั้นคิวติเคิลหนาประมาณ 3-4 ไมโครเมตร มีช่องเปิดที่แบคทีเรียสามารถบุกรุก ได้แก่ ช่องบริเวณด้านบนของส่วนหัวและส่วนท้ายลำตัว (Ostioles) ช่องของต่อมสร้างไขที่พบกระจายอยู่ทั่วไปตามผนังลำตัว ช่องเปิดบริเวณส่วนท้อง (Circulus) และรูหายใจ (Spiracles) มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-59 2-7 17-20 และ 19-30 ไมโครเมตร ตามลำดับ ตัวเพลี้ยแป้งมีปริมาณคาร์บอนทั้งหมด ไนโตรเจนทั้งหมด และความชื้นโดยเฉลี่ยร้อยละ 46.35 6.74 และ 77.30 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จากการคัดแยกแบคทีเรียในดินได้จำนวน 416 ไอโซเลต และคัดเลือกจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ ความสามารถในการสร้างเอนไซม์โปรติเอส ไลเปส และไคติเนส และการเจริญในอาหารเหลวที่เตรียมจากเพลี้ยแป้งได้จำนวน 8 ไอโซเลต ที่ให้รหัสคือ PCSMA53 CCSMA59 SSTBA15 SSTBA16 SSSMA5 SSTBA26 KBSMA65 และ KSSMA80 เมื่อเตรียมเชื้อที่คัดเลือกในสารละลายน้ำเกลือปลอดเชื้อให้ได้ปริมาณ $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ฉีดพ่นด้วยปริมาตร 2 มิลลิลิตร บนลำตัวเพลี้ยแป้ง 40 ตัว ที่เกาะบนยอดมันสำปะหลังคลอบคลุมพื้นที่ 16 ตารางเซนติเมตร และฉีดพ่นสารละลายแขวนลอยของแบคทีเรียปริมาตรเท่ากันบนเพลี้ยแป้ง 40 ตัว ที่กระจายอยู่ในดิน (ชุดดินโคราช) และได้รับอาหารจากใบมันสำปะหลัง คลอบคลุมพื้นที่ 50 ตารางเซนติเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และใช้สารละลายน้ำเกลือปลอดเชื้ออย่างเดียวฉีดพ่นเพลี้ยแป้งสำหรับชุดควบคุม ควบคุมสภาวะทดลองที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 70 เป็นเวลา 5 วัน พบว่ามีการตายของเพลี้ยแป้งจากการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียไอโซเลต PCSMA53 CCSMA59 SSTBA15 SSTBA16 SSSMA5 SSTBA26 KBSMA65 และ KSSMA80 จากที่อาศัยบนยอดมันสำปะหลังร้อยละ 81.67 70.0 38.33

35.84 40.0 23.35 28.33 และ 18.38 ตามลำดับ และที่อยู่ในดินร้อยละ 92.50 90.83 80.0 64.17 57.50 50.85 44.18 และ 27.50 ตามลำดับ ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดพบเซลล์แบคทีเรียจำนวนมากบริเวณช่องเปิดบริเวณด้านบนของส่วนหัวและส่วนท้ายลำตัว และช่องเปิดของต่อมสร้างเส้นไขตามผิวลำตัว เมื่อศึกษาสมบัติทางสรีรวิทยาของแบคทีเรียจำนวน 8 ไอโซเลต PCSMA53 CCSMA59 SSTBA15 SSTBA26 SSTBA16 KSSMA80 KBSMA65 และ SSSMA5 พบความหลากหลายของสกุลของแบคทีเรีย จำนวน 4 สกุล คือ Pseudomonas Serratia Chromobacterium และ Chryseobacterium จากนั้นนำมาวิเคราะห์เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S ribosomal RNA gene และเมื่อเปรียบเทียบความเหมือนกับข้อมูลจากฐานข้อมูล GenBank มีความเหมือนกับ *Pseudomonas aeruginosa* KVD14-MG *Serratia marcescens* 7/18r *Chromobacterium pseudoviolacium* LMG3953 *Chryseobacterium gleum* ALR-8 *Chromobacterium piscinae* LMG3947 *Pseudomonas fluorescens* DKP1 *Chryseobacterium indologenes* MUT2 และ *Chromobacterium piscinae* LMG3947 ร้อยละ 98.0 96.8 99.3 99.7 98.3 99.8 99.2 และ 96.6 ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาชีววิทยา
ปีการศึกษา 2558

ลายมือชื่อนักศึกษา พัชริดา คำเมือง
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

PATCHARIDA KHUMPUMUANG : BACTERIA IN SOIL CAPABLE OF DESTROYING STRUCTURE OF CASSAVA MEALY BUGS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SUREELAK RODTONG, Ph.D. 155 PP.

CASSAVA MEALYBUGS/SOIL BACTERIA/ STRUCTURE OF MEALY BUGS

Mealy bug is important pest insect of cassava, could destroy plant by suck to eat the nutrient from every the part of the plant were depressed plant dies. The control cassava mealy bugs by soil bacteria have tendency economical and sustainable methods. From the study of structures and chemical components of cassava mealy bugs that could serve as nutrients of bacteria and the possibility of using selected isolates of soil bacteria for destroying structures of cassava mealy bug, that destroy the plant in Northeastern Thailand. Found species, pink mealy bug (*Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero) higher than three species, green mealy bug (*Phenacoccus maderiensis* Green), jack beard mealy bug (*Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel & Miller), and striped mealy bug (*Ferrisia virgata* Cockerel). Pink mealy bugs were studied, have cuticle layer size, 3-4 μm. Found the structure of open pores can destroy by using soil bacteria such as anterior and posterior pores (ostioles), several pores for producing wax filament, abdomen pores (circulus) and respiration pores (spiracles) have diameter 2-59, 2-7, 17-20, and 9-30 μm, respectively. Chemical compositions of the body of mealy bug found total carbon, total nitrogen, and moisture content 46.35, 6.74, and 77.30% by dry basis, respectively. A total of 416 bacterial isolates from soil samples were collected and screened by morphological characteristic, producing protease lipase and chitinase enzymes, and can grow in cassava mealy bug broth. Eight isolates of PCSMA53, CCSMA59, SSTBA15, SSTBA16, SSSMA5, SSTBA26,

KBSMA65, and KSSMA80, after sprayed 2 ml of bacterial suspension ($10^8$ cells/ml) with 0.85% normal saline on third instar stages of forty cassava mealy bug feed on peak of cassava stem, the area 16 square centimeter and compared with in soil, the area 50 square centimeter, 70 humidity at 25-28 ºC for 5 days (triplicate test). Found structure that bacteria can be destroyed mealy bug such as anterior and posterior pores (ostioles), and several pores for producing wax filament on the body. Found the motility of mealy bug on soil 92.5, 90.83, 80.0, 64.17, 57.5, 50.85, 44.18, and 27.50%, respectively and compared with on cassava, 81.67, 70.0, 38.33, 35.84, 40.0, 23.35, 28.33, and 18.38%, respectively, these were significantly ($p>0.05$). Eight bacterial isolates, PCSMA53, CCSMA59, SSTBA15, SSTBA26, SSTBA16, KSSMA80, KBSMA65, and SSSMA5, from physiological characterization, four genera: Pseudomonas, Serratia, Chromobacterium and Chryseobacterium were classified. Then representative isolates of these bacteria were selected for 16S ribosomal RNA gene. When compared to sequences from GenBank database, had 98.0, 96.8, 99.3, 99.7, 98.3, 99.8, 99.2 and 96.6% similarity to *Pseudomonas aeruginosa* KVD14-MG, *Serratia marcescens* 7/18r, *Chromobacterium pseudoviolacium* LMG3953, *Chryseobacterium gleum* ALR-8, *Chromobacterium piscinae* LMG3947, *Chryseobacterium indologenes* MUT2, *Pseudomonas fluorescens* DKP1, and *Chromobacterium piscinae* LMG3947, respectively.

School of Biology

Academic Year 2015

Student's Signature Patcharida Khompumuang

Advisor's Signature Sureelak Rodtong

Co-advisor's Signature H. Uraisrong

Co-advisor's Signature