ประสิทธิภาพของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงในการควบคุมปลวกใต้ดิน (*Coptotermes gestroi*) (Wasmann)

Efficacy of Entomopathogenic Fungi in Controlling Subterranean Termite (*Coptotermes gestroi*) (Wasmann)

คำนำ

ปลวกเป็นแมลงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งในแง่ของการก่อให้เกิดโทษและสร้างความเสียหาย ไม่ว่าจะเป็นอาคารบ้านเรือน สิ่งปลูกสร้าง ไม้ใช้ประโยชน์ รวมไปถึงผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปมาจากไม้ได้อย่างรุนแรงและกว้างขวาง สามารถคิดเป็นมูลค่าความเสียหายทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตเมืองร้อนปีละไม่ต่ำกว่า 15,000 ล้านบาท (ศานิต, 2546) โดยปลวกที่สร้างความเสียหายให้แก่บ้านเรือนในประเทศไทยมากที่สุดถึง 90 เปอร์เซ็นต์ เป็นปลวกที่ทำรังอาศัยอยู่ใต้ดิน (subterranean termite) สายพันธุ์ *Coptotermes gestroi* (จารุณี และยุพาพร, 2544; Sornumat, 1996) ปลวกชนิดนี้จะอาศัยและสร้างรังอยู่ใต้ดินเกือบตลอดอายุขัย (พจน์, 2508) โดยจะทำท่อทางเดินขึ้นมาหาแหล่งอาหารจากโครงสร้างหรือวัสดุสิ่งของที่เป็นส่วนหนึ่ง ของบ้านเรือนที่มีเซลลูโลส (cellulose) เป็นองค์ประกอบหลักบนดินเหนือรังหรืออาณาจักรของปลวกนั่นเอง (Jones, 1991)

ปัจจุบันทั่วโลกมีการตื่นตัวกันมากขึ้นในการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม เพื่อสนับสนุนให้มนุษย์ได้ตระหนักถึงผลกระทบของการใช้สารเคมีในการกำจัดแมลง เนื่องจากการใช้สารเคมีส่วนใหญ่มักขาดความจำเพาะเจาะจงในการทำลายแมลง (Hall, 1998) และมีพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมสูงเป็นเหตุให้แมลงที่เป็นประโยชน์หลายชนิดสูญพันธุ์เกิดผลกระทบอย่างต่อเนื่องแก่สายใยอาหารและระบบนิเวศของโลก จึงมีการหันมาใช้การควบคุมแมลงโดยชีววิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเพิ่มมากขึ้น (สมศักดิ์, 2544) อีกทั้งยังเป็นการลดการดื้อยาของแมลงและเป็นวิธีการควบคุมที่ถาวรไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีซ้ำติดต่อกันอยู่เสมอ (มยุรา, 2535) ในเวลาต่อมาได้มีการศึกษาค้นพบเชื้อรา Class Deuteromycetes หลายสกุลที่มีความสามารถใช้ควบคุมและกำจัดแมลงได้เป็นอย่างดี (Humber, 1998) เช่นเชื้อราในสกุล *Metarhizium* ที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย เช่น ในประเทศออสเตรเลียมีการนำเชื้อ *M. anisopliae* ไปใช้ในการควบคุมปลวกใต้ดินและมีการจดทะเบียนเพื่อจัดจำหน่ายอย่างเป็นทางการ (Milner *et al.*, 1997; Humber, 1998; Wang and Powell, 2004; Sun *et al.*, 2002) ส่วนในประเทศไทย

เริ่มมีการใช้ *M. anisopliae* ในปี พ.ศ. 2525 ในการควบคุมด้วงแรดมะพร้าวโดยให้ประสิทธิภาพในการทำลายสูงมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ (มะลิวัลย์, 2534) จากนั้นจึงขยายผลนำไปใช้ในการควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นๆ เช่น เพลี้ยกระโดด และตั๊กแตน เป็นต้น (สมศักดิ์, 2544) ส่วนเชื้อราในสกุล Beauveria เช่น เชื้อ *Beauveria bassiana* มีประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลากหลาย เช่น เพลี้ยไฟ หมัด มอด และหนอนศัตรูพืชชนิดอื่นๆ ซึ่งให้ประสิทธิภาพในการควบคุมค่อนข้างยาวนาน (Wasilla, 2001) ปัจจุบันยังพบว่ามีเชื้อราอีกจำนวนมากที่สามารถใช้ควบคุมแมลงได้ดี และมีความหลากหลายทั้งความรุนแรงของเชื้อ ประสิทธิผลการออกฤทธิ์ ความจำเพาะเจาะจงกับแมลงอาศัย แตกต่างกันตามแต่ลักษณะทางพันธุกรรมและสายพันธุ์ของเชื้อนั้นๆ (มะลิวัลย์, 2534 ; Price *et al*., 1997)

การศึกษาวิจัยทดสอบประสิทธิภาพและความสามารถของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงในการควบคุมปลวกใต้ดินครั้งนี้ จัดทำขึ้นเพื่อเสนอเป็นแนวทางเลือกในการควบคุมแมลงด้วยชีววิธีในปัจจุบันที่ส่งผลเป็นประโยชน์ต่อเศรษฐกิจ ลดมูลค่าการนำเข้าสารเคมีจากต่างประเทศและความสูญเสียจากการเข้าทำลายของปลวก ทำให้เกิดกระบวนการใช้ทรัพยากรอย่างยั่งยืนรวมถึงการลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมของประเทศอีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. คัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดปลวกใต้ดินในห้องปฏิบัติการ
2. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราที่คัดเลือกในการลดการเข้าทำลายเนื้อไม้ของปลวก
3. ศึกษากลไกการเข้าทำลายปลวกของเชื้อราโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope)

การตรวจเอกสาร

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับปลวก

ปลวกจัดเป็นแมลงสังคมชนิดหนึ่ง (social insect) ที่ชอบอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (ศานิต, 2546) มีชีวิตความเป็นอยู่ที่สลับซับซ้อน รวมไปถึงรูปร่างและหน้าที่ซึ่งแตกต่างกันอย่างเด่นชัด แบ่งออกเป็น 3 วรรณะ คือ วรรณะงานทำหน้าที่หาอาหารมาเลี้ยงสมาชิกในรัง สร้างและซ่อมแซมรัง วรรณะทหารทำหน้าที่ป้องกันศัตรู และวรรณะสืบพันธุ์ทำหน้าที่สืบพันธุ์และวางไข่เป็นต้น (จารุณี และยุพาพร, 2546) แต่ปลวกบางสายพันธุ์ก็มีไม่ครบทุกวรรณะ (พจน์, 2508) อุปนิสัยโดยทั่วไปของปลวกมักชอบที่มืดและอับชื้น (จารุณี และยุพาพร, 2546) ไม่ชอบแสงสว่างและที่โล่งแจ้ง (เสาวภา, 2536) ทำให้ยากต่อการสำรวจและพบเห็น

ปลวกส่วนใหญ่จะกินอาหารประเภทเนื้อไม้ เปลือกไม้ เศษไม้ ใบไม้ และวัสดุอื่นๆ ที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ (ยุพาพร, 2542) ถึงแม้ว่าปลวกจะไม่สามารถย่อยเนื้อไม้ได้โดยตรงแต่ภายในระบบทางเดินอาหารของปลวกจะมีสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เช่น แบคทีเรีย รา หรือโปรโตซัว อาศัยอยู่ในกระเพาะส่วนหลัง (ileum) ของลำไส้ส่วนท้าย (hind gut) ซึ่งจะทำหน้าที่ช่วยย่อยเซลลูโลสให้แก่ปลวก (ศานิต, 2546) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ปลวกมีบทบาทสำคัญในการช่วยย่อยสลายไม้ เศษไม้ และวัสดุอื่นๆ เพื่อนำแร่ธาตุหมุนเวียนกลับสู่ระบบนิเวศ (เพชร, 2541) แต่อย่างไรก็ตามก็ยังพบว่ามีปลวกบางชนิดที่สามารถก่อให้เกิดความเสียหายต่อไม้ที่นำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมายมหาศาลเช่นเดียวกัน

1. ชีววิทยาและวงจรชีวิตของปลวก

ปลวกเป็นแมลงสังคมที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มอย่าถาวร (เสาวภา, 2536) มีราชินีประจำรังเพื่อทำหน้าที่ควบคุมกิจกรรมต่างๆ ของสมาชิกภายในรัง (พจน์, 2508) โดยใช้ฮอร์โมนสังคม (social hormone) ควบคุมการวางไข่ให้อัตราส่วนของประชากรในวรรณะต่างๆ สมดุลอยู่ตลอดเวลา (เพชร, 2541) สามารถแบ่งออกเป็น 3 วรรณะ ตามหน้าที่การทำงาน (จารุณี, ม.ป.ป.; ยุพาพร, 2542; ไพฑูรย์, 2544; ศานิต, 2546) ดังนี้

1.1 ปลวกสืบพันธุ์ (reproductive) ทำหน้าที่สืบพันธุ์ กระจายพันธุ์ และวางไข่ซึ่งแต่ละอาณาจักรจะมีปลวกสืบพันธุ์ 2 ประเภท คือ

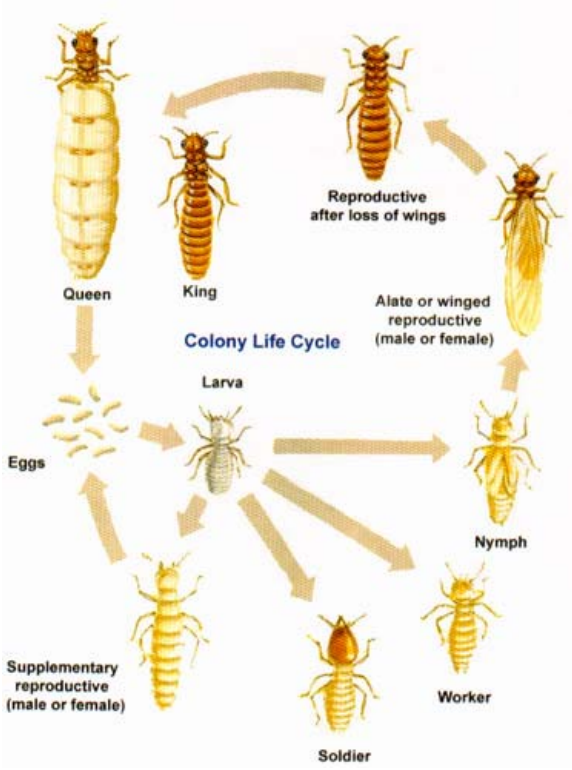
1.1.1. วรรณะสืบพันธุ์ประเภทแรก (primary reproductive) หรือ แมลงเม่า (alates) ปลวกวรรณะนี้มีลำตัวสีเข้ม ปีกยาว จะบินออกจากรังเมื่อถึงเวลาที่เหมาะสมเพื่อสร้างอาณาจักรใหม่ หลังจากได้คู่แมลงเม่าจะสลัดปีกทิ้ง ลักษณะรูปร่างภายนอกของตัวผู้ที่กลายเป็นราชา (king) มักไม่เปลี่ยนแปลงแต่ตัวเมียจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างโดยปล้องท้องตัวเมียจะค่อยๆ พองบวมออกเนื่องจากการขยายใหญ่ของรังไข่จนกลายเป็นราชินี (queen) ทำหน้าที่ควบคุมกิจกรรมต่างๆ ภายในรัง

1.1.2. วรรณะสืบพันธุ์ประเภทรอง (supplementary reproductive) ปลวกวรรณะนี้มีสีของลำตัวอ่อนและส่วนปีกไม่เจริญเท่าพวกวรรณะสืบพันธุ์ประเภทแรกเป็นเพียงแผ่นเล็กๆ ติดอยู่บริเวณหลังเท่านั้น ปลวกชนิดนี้เจริญมาจากตัวอ่อนวรรณะสืบพันธุ์ (nymph) ซึ่งจะกลับมามีการเจริญทางเพศขึ้นใหม่เมื่อราชินีและราชาตาย แต่มีการเจริญไม่เท่าพวกวรรณะสืบพันธุ์ประเภทแรก เพราะอวัยวะสืบพันธุ์ถูกกดห้ามไว้โดยฟีโรโมนยับยั้ง (inhibitory pheromones) ที่ราชินีสร้างขึ้น

1.2 ปลวกงาน (worker) มีจำนวนมากที่สุดในรังทั้งที่เป็นตัวอ่อนและตัวเต็มวัย เป็นหมันและตาบอด มีลำตัวเล็กกว่าวรรณะอื่น สีซีด ไม่มีปีก ใช้หนวดเป็นอวัยวะสำหรับคลำทางและรับความรู้สึก กรามมีขนาดค่อนข้างเล็ก หนวดจะมีจำนวนปล้องน้อยกว่าปลวกวรรณะอื่น ปลวกงานทำหน้าที่ทุกอย่างภายในอาณาจักร เช่น การเก็บรวบรวมอาหารและหาอาหารมาเลี้ยงสมาชิกภายในรัง สร้างที่อยู่อาศัยลักษณะต่างๆ ตามความเหมาะสมภายในอาณาจักร ตลอดจนดูแลรักษาและซ่อมแซมรัง สำหรับปลวกที่สร้างจอมปลวกทุกชนิดปลวกงานจะมีหน้าที่ในการเพาะเลี้ยงสวนเห็ด (fungus garden) ซึ่งเป็นเห็ดในสกุล Termitomyceae เพื่อใช้เป็นอาหารภายในรัง

1.3 ปลวกทหาร (soldier) เป็นปลวกตัวเต็มวัยที่ไม่มีปีก เป็นหมัน ส่วนหัวมีขนาดใหญ่ สีเข้ม กรามมีลักษณะขยายใหญ่ ยาว เรียว เหมือนกรรไกร บางชนิดเป็นแง่งหรือบิดเป็นเกลียว บางชนิดกรามจะเปลี่ยนรูปเป็นอวัยวะปลายเปิดคล้ายงวง ปลวกทหารไม่สามารถกินอาหารเองได้ต้องได้รับการดูแลจากปลวกงาน หน้าที่ของปลวกทหารคือป้องกันรังและต่อสู้ศัตรู โดยการใช้หัวอุดรังที่เป็นรูหรือใช้ส่วนหัวเคาะพื้นหรือผนังรังเมื่อมีศัตรูมารุกราน เข้าต่อสู้กับผู้รุกรานโดยใช้กรามหนีบเหมือนกับพวกมด สำหรับปลวกวรรณะทหารบางชนิดที่มีกรามเป็นอวัยวะคล้ายงวงเรียกนาซูท (nasute) จะใช้อวัยวะนี้ขับของเหลวเหนียวพุ่งออกมาใส่ศัตรูผู้รุกราน

การสร้างรังใหม่ของปลวกมักจะอยู่ในช่วงฤดูฝน (เพชร, 2541) ส่วนใหญ่มักเป็นช่วงหลังฝนตกใหม่ๆ ขณะที่พื้นดินยังอ่อนนุ่ม (พจน์, 2508) โดยปลวกในวรรณะสืบพันธุ์ที่โตเต็มที่หรือแมลงเม่าเพศผู้และเพศเมียจะบินออกจากรังในช่วงพลบค่ำประมาณ 18.00 - 19.30 น. (จารุณี และยุพาพร, 2544) โดยอาศัยไฟเป็นเครื่องนำทางให้มาจับคู่ผสมพันธุ์กัน (พจน์, 2508) จากนั้นจึงจะสลัดปีกทิ้งและเจาะรูลงไปในดินหรือเข้าไปในเนื้อไม้เพื่อก่อสร้างนิคมใหม่ เมื่อผ่านไป 2 - 3 วันราชินีจะเริ่มวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ และเพิ่มจำนวนมากขึ้นเรื่อยๆ (จารุณี และยุพาพร, 2544) ซึ่งปลวกราชินีบางชนิด เช่น *Nasutitermes extiosus* และ *C. lacteus* สามารถวางไข่ได้มากถึง 2,000 – 3,000 ฟองต่อวัน (Watson and Gay, 1991) โดยความสามารถในการวางไข่ของราชินีในแต่ละรังจะแปรผันตามจำนวนปลวกงานที่มีอยู่ภายในนิคม เพราะปลวกงานมีหน้าที่ในการหาอาหารมาปรนเปรอราชินีของมัน (พจน์, 2508) เมื่อไข่ฟักออกมา ตัวอ่อนจะมีการเจริญเติบโตลอกคราบจนเป็นตัวเต็มวัยโดยมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างทีละน้อย (gradual metamorphosis) ซึ่งจัดเป็นการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไม่สมบูรณ์แบบ Paurometabola ซึ่งไข่รุ่นแรกจะฟักออกมาเป็นปลวกไม่มีปีกและเป็นหมัน (larva) จากนั้นสารเคมีบางอย่างที่ผลิตออกมาจากทวารหนักของนางพญาจะเป็นตัวกำหนดให้ตัวอ่อนพัฒนาไปเป็นปลวกวรรณะต่างๆ (จารุณี และยุพาพร, 2544; ศานิต, 2546) เกิดเป็นวงจรชีวิตของปลวกที่สลับซับซ้อนต่อไป (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของปลวก

ที่มา : จารุณี และยุพาพร (2544)

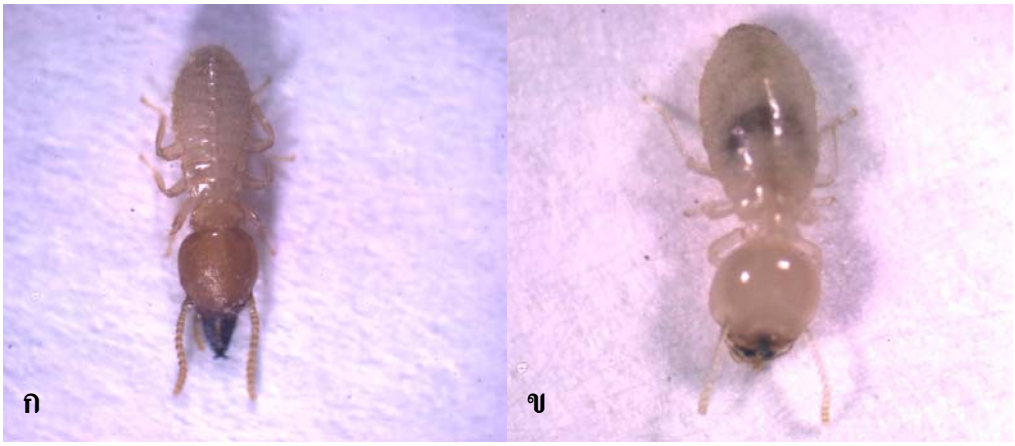
2. การจัดจำแนกปลวก

ปลวกจัดเป็นสัตว์ที่อยู่ในชั้น Insecta อันดับ Isoptera (Hickin, 1971) มาจากรากศัพท์ iso = เท่ากัน ptera = ปีก (เสาวภา, 2536) ปัจจุบันพบแล้วประมาณ 2,300 ชนิด ใน 7 วงศ์ ปากเป็นแบบกัดกิน ชนิดที่มีปีกจะมีตารวมที่เจริญดี ชนิดที่ไม่มีปีกอาจมีหรือไม่มีตารวมและมีตาเดี่ยว 2 ตาหรือไม่มีเลย หนวดมีขนาดสั้นส่วนใหญ่เป็นแบบสร้อยลูกปัด (monoliform) บางชนิดเป็นแบบเส้นด้าย (filiform) ชนิดที่มีปีกก็จะมีปีก 2 คู่ ซึ่งมีขนาดเท่ากันและสามารถสลัดทิ้งได้ ขาเป็นแบบใช้เดิน ฝ่าเท้าส่วนใหญ่มี 4 ปล้องแต่บางชนิดอาจมีมากกว่า 6 ปล้อง อวัยวะเพศมักเสื่อมหรือไม่มีเพศ แพนหางมีขนาดสั้น (ศานิต, 2546) ในประเทศไทยพบปลวกประมาณ 92 ชนิด แยกเป็นปลวกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในประเทศ 10 กว่าชนิด (ยุพาพร, 2542) รวมไปถึงปลวกใต้ดินชนิด *C. gestroi* ที่สามารถสร้างความเสียหายให้แก่อาคารบ้านเรือนในเขตชุมชนได้มากที่สุดด้วย

ปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* (ภาพที่ 2) เป็นปลวกสายพันธุ์ที่มีขนาดเล็ก รูปร่างส่วนหัวของปลวกวรรณะทหารเป็นรูปไข่สีเหลืองทอง กราม (mandibles) มีสีน้ำตาลแดง หนวด (antenna) มีสีน้ำตาลอ่อนยาว 14 – 15 ปล้อง โพรโนตัม (pronotum) มีสีน้ำตาลทองอ่อนกว่าส่วนหัว ขาและท้องมีสีซีด มีความยาวของหัววัดถึงฐานกรามประมาณ 1.40 – 1.51 มิลลิเมตร และมีความกว้างสุดของส่วนหัวประมาณ 1.15 – 1.24 มิลลิเมตร (Ahmad, 1965) (ภาพที่ 3) และพบรูเปิดขนาดเล็กใต้ริมฝีปากบน (fontanelle) เพื่อใช้สำหรับขับสารเหนียวสีขาวขุ่นออกมาใส่ศัตรูผู้รุกราน (Watson and Gay, 1991)

อนุกรมวิธานตั้งแต่อันดับ (Order) ของปลวกชนิด *C. gestroi* (Wasmann)

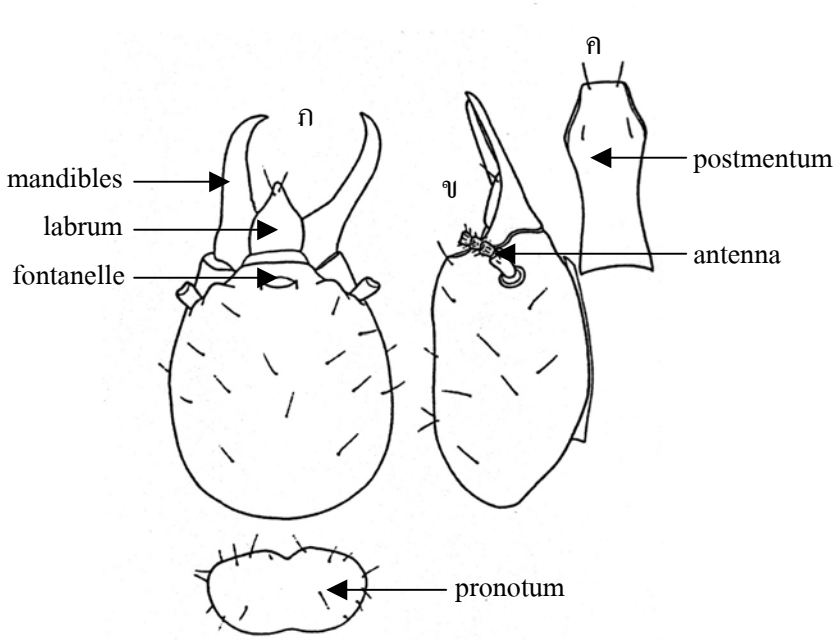
Order : Isoptera
Family : Rhinotermitidae
Subfamily : Coptotermitinae
Genus : Coptotermes Wasmann
Species : *C. gestroi* (Wasmann)



ภาพที่ 2 ปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *Coptotermes gestroi*

(ก) วรรณะทหาร

(ข) วรรณะกรรมกร



ภาพที่ 3 ลักษณะทางสันฐานวิทยาส่วนหัวของปลวกวรรณะทหารสายพันธุ์ *Coptotermes gestroi*

(ก) ด้านบนของส่วนหัวและโพรโนตัม

(ข) ด้านข้างของส่วนหัว

(ค) ด้านบนของริมฝีปากล่างส่วนโพสท์เมนตัม (postmentum)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Ahmad (1965)

สภาพความเป็นอยู่หรือสภาพทางนิเวศวิทยารวมถึงอุปนิสัยในการกินอาหารของปลวกแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน สามารถจำแนกอย่างกว้างๆ เป็น 2 ประเภท โดยใช้แหล่งที่อยู่อาศัยเป็นเกณฑ์ (จารุณี, ม.ป.ป.; พจน์, 2508; ยุพาพร, 2542) ดังนี้

2.1 ปลวกที่อยู่อาศัยในเนื้อไม้ ปลวกประเภทนี้มีชีวิตอยู่เฉพาะในเนื้อไม้เหนือพื้นดิน เป็นพวกที่ไม่มีปลวกงานหรือวรรณะกรรมกรโดยเฉพาะ อาศัยพวกตัวอ่อน (immature nymphs) ทำหน้าที่ทุกอย่างของนิคมแทนปลวกงาน เมื่อตัวอ่อนเหล่านี้เจริญเติบโตขึ้นมา ก็จะกลายเป็นปลวกทหารและเป็นปลวกสืบพันธุ์ต่อไป ปลวกประเภทนี้สามารถแบ่งย่อยได้อีก 2 พวก ดังนี้

2.1.1 ปลวกไม้แห้ง (dry-wood termites) เป็นพวกที่อาศัยอยู่ในเนื้อไม้ที่แห้งและมีความชื้นต่ำ มักพบตัวได้ยากสามารถสังเกตลักษณะการเข้าทำลายได้จากวัสดุแข็งเป็นเม็ดกลมรีอยู่ภายในเนื้อไม้ที่ถูกกินเป็นโพรงที่อาจร่วงหล่นออกมาภายนอกตามรูที่ผิวไม้ (จารุณี และยุพาพร, 2544) ในประเทศไทยพบปลวกไม้แห้งที่สำคัญ 2 ชนิด คือ *Cryptotermes thailandis* และ *Cryptotermes domesticus* (นิรนาม, 2543)

2.1.2 ปลวกไม้เปียก (damp-wood termites) ปลวกพวกนี้อาศัยอยู่ในเนื้อไม้ยืนต้นหรือไม้ล้มตายที่ผุพังและมีความชื้นสูง ไม่เป็นอันตรายต่อไม้ใช้ประโยชน์ในอาคารบ้านเรือน

2.2 ปลวกที่อยู่อาศัยในดิน ปลวกประเภทนี้จะอาศัยอยู่ในดิน แล้วออกไปหาอาหารที่อยู่ตามพื้นดินหรือเหนือพื้นดิน โดยส่วนใหญ่จะทำทางเดินดินห่อหุ้มตัว เพื่อป้องกันการสูญเสียความชื้นและหลบซ่อนตัวจากศัตรูที่มารบกวน สามารถจำแนกได้เป็น 3 พวก ดังนี้

2.2.1 ปลวกใต้ดิน (subterranean termites) ปลวกพวกนี้จะอยู่อาศัยและทำรังอยู่ใต้ดิน โดยจะทำท่อทางเดินด้วยดินขึ้นตามส่วนต่างๆ ของอาคาร เพื่อใช้ในการหาอาหารและเป็นเครื่องป้องกันอันตรายจากศัตรูที่อยู่เหนือดิน โดยปลวกในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่จัดเป็นพวกที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่ออาคารและสิ่งก่อสร้างมากที่สุดเช่น ปลวกในสกุล *Coptotermes, Microtermes, Ancistrotermes* และ *Hypotermes* เป็นต้น ชนิดที่มีความสำคัญมากที่สุดในประเทศ คือ *C. gestroi* (นิรนาม, 2543)

2.2.2 ปลวกที่อยู่ตามจอมปลวก (mound-building termites) ปลวกพวกนี้สร้างรังขนาดใหญ่อยู่ตามพื้นดิน โดยใช้ดินก่อเป็นเนินสูงขึ้นมาจากพื้นดินเรียกกันจอมปลวก เช่น ปลวกในสกุล *Globitermes, Odontotermes* และ *Macrotermes* เป็นต้น

2.2.3 ปลวกที่อยู่ตามรังขนาดเล็ก (cartoon nest termites) รังของปลวกพวกนี้ถูกสร้างขึ้นจากสิ่งขับถ่ายของมันผสมกับดินและเศษไม้ชิ้นเล็กๆ ซึ่งรังอาจจะอยู่ในดิน บนพื้นดิน และเหนือพื้นดิน เช่น ปลวกในสกุล *Microcerotermes, Termes, Dicuspiditermes, Nasutitermes* และ *Hospitalitermes* เป็นต้น

3. <u>ขอบเขตการแพร่กระจาย</u>

ปลวกส่วนใหญ่มักพบการแพร่กระจายในเขตร้อนชื้นหรือบริเวณใกล้เคียงระหว่างเส้นศูนย์สูตร 45 องศาเหนือ ไปจนถึง 50 องศาใต้ (Jones, 1991) บริเวณที่พบปลวกมากที่สุดอยู่ในเขตพื้นที่ค่อนข้างร้อนจนถึงเขตอบอุ่นแถบแอฟริกา อเมริกากลาง อเมริกาใต้ ญี่ปุ่น และเอเชีย (จารุณี, 2539) แต่ก็ยังสามารถพบปลวกบางชนิดในเขตหนาวเย็น เช่น *Reticulitermes lucifugus* และ *Kaletermes flaviollis* (Hickin, 1971)

4. <u>แหล่งอาหารของปลวก</u>

ปลวกส่วนใหญ่กินอาหารประเภทเนื้อไม้ เปลือกไม้ เศษไม้ ใบไม้ หรือวัสดุอื่นๆ ที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ โดยในลำไส้ปลวกมีจุลินทรีย์พวก โปรโตซัว แบคทีเรีย หรือเชื้อราอาศัยอยู่ทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์เพื่อช่วยในการย่อยอาหารประเภทเซลลูโลสและสารประกอบอื่นๆ ให้กลายเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายปลวก แหล่งอาหารของปลวกจำแนกออกเป็น 4 ประเภท (ยุพา พร, 2542) ดังนี้

4.1 ไม้ (wood) อาจเป็นไม้เนื้อสด ไม้แห้ง หรือไม้ที่ผุเล็กน้อย ปลวกที่กินไม้เป็นอาหารเช่น ปลวกไม้แห้ง ปลวกไม้เปียก ปลวกใต้ดินในสกุล *Coptotermes, Microtermes, Ancistrotermes*, *Hypotermes* ปลวกสร้างรังขนาดใหญ่ในสกุล *Globitermes, Macrotermes* หรือ *Odontotermes* บางชนิด และปลวกสร้างรังขนาดเล็กในสกุล *Microcerotermes* และ *Nasutitermes*

4.2 ดิน และฮิวมัส (soil and humus) ดินและอินทรียวัตถุต่างๆ ที่ย่อยสลายเน่าเปื่อยอยู่ในดิน จะเป็นอาหารของปลวกที่สร้างรังบางชนิด เช่น ปลวกในสกุล *Termes, Capritermes, Amitermes*

4.3 ใบไม้ และเศษซากพืชที่ทับถมกันอยู่บนพื้นดิน (leaves and litter) ปลวกบางชนิดจะสามารถกินอาหารได้หลายอย่างคือ นอกจากจะกินเนื้อไม้เป็นอาหารแล้วก็ยังกินพวกใบไม้และเศษซากพืชที่ทับถมอยู่บนพื้นดินเป็นอาหารอีกด้วย เช่น ปลวกในสกุล *Macrotermes, Microtermes, Odontotermes* และ *Hipotermes* เป็นต้น

4.4 ไลเคนและมอส (lichen and moss) ที่เกาะอยู่ตามพื้นดิน กิ่งไม้ ท่อนไม้ หรือตามลำต้นของไม้ยืนต้น เป็นแหล่งอาหารของปลวกที่สร้างรังขนาดเล็กในสกุล *Hospitalitermes*

5. <u>ความสำคัญของปลวก</u>

ปลวกเป็นแมลงทำลายไม้ที่ทำความเสียหายให้แก่อาคารบ้านเรือนและไม้ใช้ประโยชน์ในกิจการต่างๆ มาช้านานแล้ว แต่เดิมปลวกเป็นแมลงที่มีอยู่ตามบริเวณป่าไม้อาศัยอาหารจากต้นไม้ที่ล้มตาย กิ่งไม้ ตอไม้ และรากไม้ที่ตายแล้ว การที่ปลวกได้แพร่พันธุ์ออกมาจากป่าและค่อยๆ ขยายตัวออกไปทีละน้อยควบคู่ไปกับความเจริญของสังคมเมือง เนื่องจากมนุษย์ได้พยายามประดิษฐ์และสะสมอาหารของปลวกไว้มากขึ้นเรื่อยๆ ด้วยการตัดไม้จากป่าเพื่อปลูกสิ่งก่อสร้างที่อยู่อาศัย ประกอบการเกษตรกรรม ซึ่งไม้เหล่านี้ล้วนเป็นอาหารอย่างดีสำหรับปลวก ดังนั้นเมื่อมีอาหารอยู่ที่ไหนปลวกจึงแพร่กระจายตามไปด้วย (พจน์, 2508)

ปลวกใต้ดินจะสร้างท่อทางเดินสานต่อกันเป็นร่างแหเพื่อเสาะหาแหล่งน้ำและแหล่งอาหารเลี้ยงชีพ (Jones, 1991) โดยมีศูนย์กลางของรังอยู่ใต้สิ่งก่อสร้างนั้นๆ เพื่อรอคอยเวลาที่จะเข้ามาคุกคามแหล่งอาหารใหม่ของพวกมัน (Brenton, 2001) โดยเฉพาะปลวกใต้ดินชนิด *C. gestroi* ซึ่งจัดเป็นปลวกชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากที่สุดในประเทศโดยก่อให้เกิดความเสียหายต่ออาคารบ้านเรือนในเขตเมืองสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ของอาคารที่ถูกทำลาย (จารุณี และยุพาพร, 2544) ความสูญเสียที่เกิดจากการทำลายของปลวกนั้นจะทำให้สิ้นเปลืองทรัพย์สมบัติตลอดจนเงินค่าใช้จ่ายในการซื้อหาและเสียค่าแรงในการปลูกสร้างซ่อมแซมอย่างมากมาย (ภาพที่ 4)

ภาพที่ 4 ความเสียหายภายในตัวอาคารที่เกิดจากปลวกใต้ดิน

แม้ว่าปลวกบางชนิดจะเป็นศัตรูที่ทำความเสียหายให้แก่ไม้ ต้นไม้ หรือผลิตผลป่าไม้ แต่ในทางนิเวศวิทยาแล้วปลวกกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ถูกจัดให้เป็นแมลงที่มีคุณประโยชน์และมีความสำคัญต่อระบบนิเวศป่าไม้มากซึ่งถือเป็นผู้ย่อยสลาย (decomposer) ในป่าธรรมชาติที่สำคัญโดยจะทำหน้าที่ร่วมกันกับเชื้อราและแบคทีเรีย พบว่าประมาณ 3 ใน 4 ของขยะธรรมชาติ เช่น ซากพืช เศษพืช ใบไม้ หรือท่อนไม้ หรือต้นไม้ที่หักร่วงหล่นทับทมกันอยู่ในป่า ปลวกจะทำหน้าที่ช่วยในการย่อยสลายให้ผุพังจนเปลี่ยนแปลงไปเป็นฮิวมัส (humus) หรืออินทรียวัตถุภายในดิน ก่อให้เกิดการหมุนเวียนของแร่ธาตุอาหารในดินอย่างรวดเร็วสร้างความอุดมสมบูรณ์ให้แก่ดินในป่าที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของต้นไม้และระบบนิเวศต่อไป (จารุณี และยุพาพร, 2546)

เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลง

เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลง (Entomopathogenic fungi) เป็นเชื้อรากลุ่มหนึ่งที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติมีส่วนเป็นตัวช่วยในการควบคุมปริมาณของแมลงในธรรมชาติให้อยู่ในสภาวะสมดุล ซึ่งเชื้อราส่วนใหญ่จะมีวิธีการและกลไกในการเข้าทำลายแมลงทางผิวลำตัวโดยตรง (มะลิวัลย์, 2534) โดยการสร้างเส้นใยเจริญ (germ tube) แทงลงไปภายในตัวแมลง จากนั้นจะดูดเอาสารอาหารต่างๆ ภายในตัวแมลงไปเป็นอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ต่อไป จากการศึกษาพบว่าเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงบางชนิดมีความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงอาศัยสูง เช่น เชื้อราในสกุล

Cordyceps, Hypocrella และ *Torrubiella* แต่เชื้อราในสกุล *Metarhizium* และ *Beauvaria* สามารถก่อให้เกิดโรคกับแมลงอาศัยที่เป็นศัตรูต่อมนุษย์และพืชได้หลายชนิด (สมศักดิ์, 2544; Butt, 2002)

ดังนั้นการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงจึงถือว่าเป็นวิธีแก้ไขปัญหาทางธรรมชาติอีกทางเลือกหนึ่ง ที่ให้ผลดีไม่ก่อให้เกิดการสะสมสารพิษตกค้างในสภาพแวดล้อมเหมือนการใช้สารเคมี ไม่ทำให้เกิดการดื้อยา และยังเป็นวิธีการควบคุมที่ถาวรผิดกับการใช้สารเคมีที่เป็นวิธีการควบคุมแบบชั่วคราวต้องมีการใช้สารเคมีซ้ำติดต่อกันอยู่เสมอ (มยุรา, 2535; สมศักดิ์, 2544)

1. ลักษณะโดยทั่วไปของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลง

เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงนั้นมีมากมายหลายกลุ่มและกลุ่มที่ได้รับความนิยมและทำการศึกษากันอย่างแพร่หลายคือ เชื้อราใน Class Deuteromycetes ซึ่งเรียกอีกชื่อหนึ่งได้ว่า imperfect fungi เนื่องจากเชื้อราในกลุ่มนี้มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและสร้างโคนิเดีย (conidia) เพื่อใช้ในการแพร่พันธุ์ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544) ไม่มีคลอโรฟิลล์ จึงไม่สามารถสังเคราะห์อาหารขึ้นมาเองได้ ต้องได้รับสารอาหารซึ่งเป็นสารอินทรีย์จากภายนอกโดยการดูดซึมสารอาหารเข้าไปในเซลล์ จึงถูกจัดเป็นสิ่งมีชีวิตจำพวก heterotrophic eukaryotic organism (วาสนา, 2544)

1.1. Genus Metarhizium เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในแมลงที่อยู่ใน Class Deuteromycetes (Hyphomycetes) สามารถแยกได้ 3 ชนิด ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของโคนิเดีย เช่น รูปร่าง ขนาด และสี เป็นต้น (Dent, n.d.; Humber, 1998) (ตารางที่ 1 และภาพที่ 5) โดยแต่ละชนิดจะมีความแปรผันทางพันธุกรรมของสายพันธุ์เช่น เชื้อรา *M. flavoviride* จะมีความหลากหลายของสายพันธุ์แตกต่างกันตามถิ่นอาศัยเมื่อนำมาศึกษาโดยเทคนิคทาง PCR (Inglis *et al*., 1999) ซึ่งความหลากหลายของสายพันธุ์จะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงอาศัยมีมากน้อยแตกต่างกัน (Wei-Bing and Ming-Guang, 2004; Milner *et al*., 1997) ในปัจจุบันพบว่ามีการนำเชื้อราในสกุลนี้มาใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีอย่างแพร่หลาย 2 ชนิด คือ *M. anisopliae* และ *M. flavoviride* (Sideney *et al*., 2001) ซึ่งเชื้อราในสกุล *Metarhizium* โดยทั่วไปจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 15 – 30 องศาเซลเซียส (Kershaw *et al*., 1999) สามารถสร้างสปอร์ได้มากที่สุดเมื่อได้รับแสงสว่างอย่างต่อเนื่อง 24 ชั่วโมงต่อวัน (Sideney *et al*., 2001) ลักษณะของโคโลนีเมื่อแรกเริ่มจะมีสีขาวจนเมื่อเจริญเต็มที่จะเห็นโคนิเดียสีเขียวที่โตเต็มที่กระจายอยู่โดยรอบ (Tanada and Kaya, 1993)

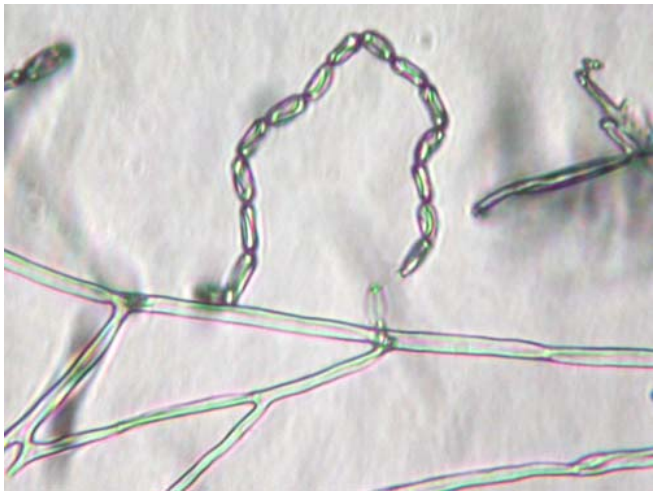
อนุกรมวิธานของ *M. anisopliae* และ *M. flavoviride*

Kingdom	: Fungi (Myceteae)	Fungi (Myceteae)
Division	: Eumycota	Eumycota
Sub-division	: Deutermycotina	Deutermycotina
Class	: Deuteromycetes (Hyphomycetes)	Deuteromycetes (Hyphomycetes)
Order	: Moniliales	Moniliales
Family	: Moniliaceae	Moniliaceae
Genus	: Metarhizium	Metarhizium
Species	: anisopliae	flavoviride
Scientific name	: *Metarhizium anisopliae*	*Metarhizium flavoviride*

ตารางที่ 1 การจัดจำแนกชนิดของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา

CONIDIA	PHIALIDE	COLOR of conidia	OTHER CHARACTERS	SPECIES
≤ 9 µm long, cylindrical, often with middle ± constricted ≥ 11 µm long (shape same as for *M .a. anisopliae*) 7-9 µm long ovoid < 7 µm long ovoid	cylindrical	Green (many possible shades), yellow-green, brown (often with green tones) to yellow	Ubiquitous, with extremely wide host range, more often affecting hosts in soil than on aerial plant parts	***anisopliae*** *var.* ***anisopliae***
			Widely distributed; appears to be stable diploid from of *M. a .var. anisopliae*	*var.* ***majus***
	clavate (wider at apex)	Dull yellowish green or grey-green	Grows more slowly and sporulates later later in culture than M. anisopliae; widely distributed	***flavoviride*** *var.* ***flavoviride*** *var.* ***minus***
4-6 x 1.5-2.5 µm ovoid	Clavate, with apex sometimes nearly conical	White to pale brown	Conidia in powdery masses rather than compact columns	***album***

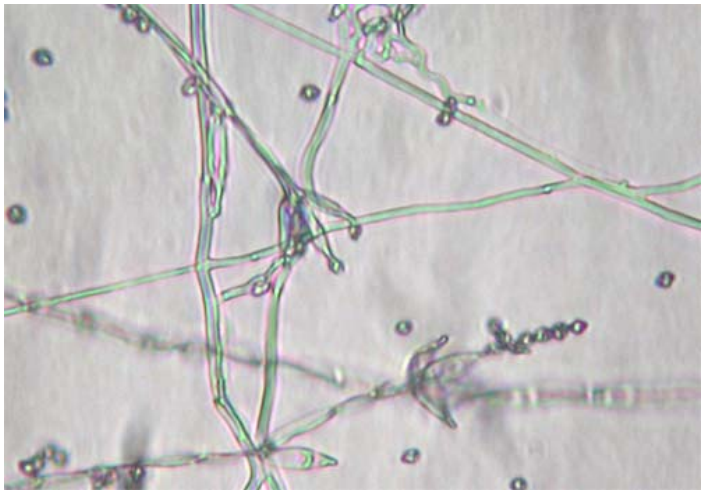
ที่มา: Humber (1998)



ภาพที่ 5 ลักษณะโคนิเดียของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*

จากรายงานพบว่า *M. anisopliae* มีความปลอดภัยสูงเหมาะแก่การใช้เป็นสารปราบศัตรูพืช เนื่องจากไม่พบการติดเชื้อในสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย เช่น นก ปลา หนู หมู และกระต่าย ในพื้นที่ที่มีการใช้เชื้อ (Zimmermann, 1994) โดยจะทำการทดสอบความปลอดภัยของเชื้อ *Metarhizium* ทั้ง 2 ชนิดก่อนที่จะขึ้นทะเบียนเป็นสินค้าที่ใช้สำหรับควบคุมแมลงศัตรูพืชที่ได้รับความสนใจอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ เช่น ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา และบราซิล เป็นต้น (Butt *et al.*, 2002) และมีรายงานเกี่ยวกับความทนทานของเชื้อ *M. anisopliae* ในนามการค้า BioCane™ ว่าสามารถคงอยู่ในดินได้นานกว่า 3 ปี ส่วนปัญหาเกี่ยวกับปัจจัยทางกายภาพทั่วไปเช่น ฝนและประเภทของดินนั้นแทบจะไม่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพเชื้อเลย (Milner *et al*., 2003)

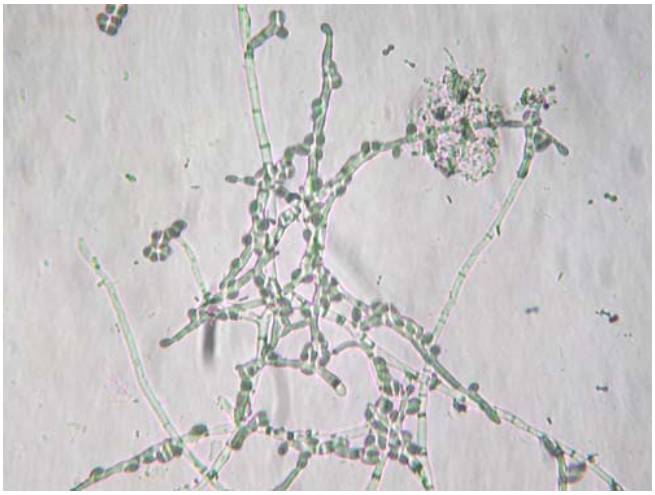
1.2. Genus Paecilomyces เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงที่อยู่ใน Class Deuteromycetes (Hyphomycetes) สามารถพบได้ในดินทั่วไป (Humber, 1998) มีลักษณะคล้ายราในสกุล *Penicillium* แต่ไม่พบสีเขียวบนโคโลนี ราในสกุลนี้จะสร้างเส้นใยที่มีผนังกั้น (septate) มีผนังเรียบเป็นส่วนใหญ่ ไม่มีสีหรือสีเหลืองอ่อน เป็นราที่มี verticillate conidiophore แตกเป็นกิ่งก้าน ส่วน phialide ทรงกระบอกมีปลายยาวและให้กำเนิด conidium ที่เป็นเซลล์เดียว ผนังเรียบไม่มีสี ต่อกันเป็นลูกโซ่ยาว (Samson, 1974) ราในสกุลนี้มีทั้งหมด 23 ชนิด โดยมีความแตกต่างกันในส่วนของ conidiogenous structure (Brown and Smith, 1957)



ภาพที่ 6 ลักษณะโคนิเดียของเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus*

เชื้อรา *P. lilacinus* (ภาพที่ 6) มีประสิทธิภาพในการทำลายไข่และตัวของไส้เดือนฝอยรากปม (สุภกิจ, 2532; คมกฤช, 2539) มีความทนทานต่อสภาพความเป็นกรด-ด่างในดินได้ในช่วง pH 2 – 10 และยังสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 8 – 38 องศาเซลเซียส แต่ที่เหมาะสมคือ 26 – 30 องศาเซลเซียส (Domsh *et al*., 1980) โคโลนีสามารถเจริญได้รวดเร็วเมื่อเลี้ยงบนอาหาร Malt agar ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีได้ 5 – 7 เซนติเมตรภายใน 14 วัน (Samson, 1974)

1.3 Genus Beauveria เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงที่อยู่ใน Class Deuteromycetes (Hyphomycetes) เหมือนกับ *P. lilacinus*, *M. anisopliae* และ *M. flavoviride* สามารถพบได้ในดินตามธรรมชาติทั่วโลก (Humber, 1998) เชื้อราในกลุ่มนี้มักมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ สามารถสร้าง สปอร์ได้หลายแบบในสภาวะแตกต่างกัน แพร่กระจายและอยู่รอดได้ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม เชื้อราบางชนิดในสกุลนี้ เช่น *Beauveria bassiana* หรือเป็นที่รู้จักอีกชื่อหนึ่งว่า “white muscardine disease” มีความสามารถในการควบคุมแมลงได้หลากหลายชนิด อีกทั้งยังช่วยรักษาสิ่งแวดล้อมไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อปลาและสิ่งมีชีวิตอื่นในบริเวณที่มีการใช้ผลิตภัณฑ์จากเชื้อราชนิดนี้ (วาสนา, 2544; Wasilla, 2001) เชื้อรา *B. bassiana* สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส โดยจะเห็นลักษณะโคโลนีที่เจริญเป็นสีขาว (Steinhaus, 1949)



ภาพที่ 7 ลักษณะโคนิเดียของเชื้อรา *Beauveria bassiana*

ผลิตภัณฑ์สารปราบศัตรูพืชจากเชื้อรา *B. bassiana* (ภาพที่ 7) มีประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช เพลี้ยไฟ หมัด มอด หนอนไหม และหนอนชนิดอื่นๆ โดยให้ประสิทธิภาพยาวนาน แต่ไม่ทนทานต่อแสง ส่วนอัตราการตายของแมลงยังขึ้นกับปัจจัยอื่นเช่น อุณหภูมิ ในการทดลองเชื้อ *B. bassiana* กับตัวเพลี้ยที่เลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิคงที่ 72 องศาฟาเรนไฮต์ พบว่าตัวเพลี้ยจะตายภายใน 3 - 5 วัน แต่เมื่อนำไปทดสอบในสภาวะธรรมชาติพื้นที่จริงในรัฐอลาสกาตัวเพลี้ยจะตายภายใน 7 - 10 วัน ซึ่งช้ากว่าผลในห้องปฏิบัติการ (Wasilla, 2001)

2. การพัฒนาของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงในแมลงอาศัย

สปอร์ของเชื้อราเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคราในแมลง ส่วนใหญ่พบว่าแมลงมีการติดเชื้อทางผิวลำตัวมากที่สุด ส่วนการเข้าทำลายผ่านทางระบบหายใจและทางเดินอาหารพบน้อยมากเพียง 2 - 3 ชนิด เท่านั้น (มะลิวัลย์, 2534 ; Moino *et al*., 2002) ซึ่งวิธีการเข้าทำลายและระยะการก่อให้เกิดโรคติดเชื้อ (disease phase) ของเชื้อราแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันตามสายพันธุ์ของเชื้อและสภาพความเป็นอยู่ของแมลงและยังพบว่าเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงส่วนใหญ่มักมีความสามารถในการจดจำแมลงอาศัยของเชื้อแต่ละชนิดได้ (Butt, 2002)

ขั้นตอนการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราก่อโรคกับแมลงมีความคล้ายคลึงกัน เริ่มจากการที่สปอร์สัมผัสกับผิวของแมลง (cuticle) จนได้ตำแหน่งจดจำที่เหมาะสม เชื้อราจะเริ่มปลดปล่อย

cuticle-degrading enzymes (CDEs) ซึ่งประกอบด้วยเอ็นไซม์หลากหลายประเภท เช่น proteases, esterases, lipases และ chitinases ซึ่งมีระดับความรุนแรงและชนิดแตกต่างกันออกมาย่อยผิวของแมลง (Butt, 2002) จากนั้นสปอร์จะพัฒนาและเข้ารุกรานแมลงอาศัยโดยการสร้างเส้นใยเจริญแทงเข้าไปภายในตัวแมลงโดยจะสร้างส่วนที่เรียกว่า appressoria เพื่อช่วยในการยึดเกาะกับผิวแมลงอาศัย จนเมื่อเชื้อราสามารถเจริญเข้าไปได้แล้วจึงจะสร้างเส้นใยเข้าไปตามระบบโลหิต ระบบประสาท กล้ามเนื้อ และอวัยวะต่างๆ พร้อมทั้งขยายจำนวนไปพร้อมกันโดยกลุ่มของเส้นใย (mycelium) จะหักออกเป็นท่อนสั้นๆ และเข้าทำลายย่อยสลายดูดกินส่วนต่างๆ จนกระทั่งเจริญเต็มภายในตัวแมลง ในขณะเดียวกันเชื้อราจะสร้างสารพิษอีกหลายชนิดที่ส่งผลกระทบต่อการดำรงชีพของแมลงอาศัย ทั้งนี้การตายของแมลงจะขึ้นอยู่กับเงื่อนไขและปัจจัยอื่นๆ ด้วย (มะลิวัลย์, 2534; สมศักดิ์, 2544; Milner, 2000; Moino *et al*., 2002)

3. สารพิษจากเชื้อรา

เชื้อราแต่ละชนิดมีการสร้างสารพิษ (mycotoxin) แตกต่างกัน เช่น *M. anisopliae* สามารถสร้างสารพิษ cyclic peptide toxins ชนิด destruxins A, B, C, D และ E ที่จัดเป็นสารกำจัดแมลงชนิดหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสูง โดยงานวิจัยส่วนใหญ่มักศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษของ destruxins A และ B เพื่อใช้ประโยชน์ในการกำจัดแมลงอาศัยทางตรงและทางอ้อมมากกว่าชนิดอื่น (Jech-Wei *et al*., 1999; Kershaw *et al*., 1999; Yi-Min, 2001) และมีงานวิจัยพบว่า *B. bassiana* สามารถผลิตสารพิษหลายชนิด เช่น beauvercin, beauverolides, bassianolide, isarokides (A, B และ C) และ oxalic acid ที่มีความเป็นพิษต่อแมลง เป็นต้น (Donald, 1981)

4. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อวิธีควบคุมศัตรูพืชทางชีวภาพ

หากมนุษย์ต้องการนำสารปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ มาใช้ให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดจะต้องพิจารณาอันตรกิริยาร่วมกัน (interaction) ระหว่างองค์ประกอบต่างๆ ที่มีความสัมพันธ์กันอย่างต่อเนื่องให้มาก เช่น เชื้อรา แมลงอาศัย และสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีการนำเชื้อรา มาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชเพราะเชื้อรามีขั้นตอนการทำลายแมลงจากทางด้านนอกหรือผิวของแมลงก่อน ซึ่งถ้าสภาพแวดล้อมของพื้นที่นั้นๆ ไม่เอื้อต่อการเจริญของเชื้อราก็จะทำให้การลงทุนเปล่าประโยชน์ไม่ได้ประสิทธิภาพเท่าที่ควร (Butt, 2002)

4.1 เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลง เชื้อราที่จะนำมาใช้ต้องมีความเหมาะสมและเข้ากับแมลงอาศัยได้เป็นอย่างดี ซึ่งขึ้นกับความสามารถในการจดจำพื้นผิวของแมลงอาศัยที่มีความจำเพาะกันแต่เชื้อราบางชนิดก็มีความสามารถในการเข้าทำลายแมลงอาศัยได้หลายชนิด เช่น เชื้อราในสกุล *Metarhizium* จึงมีการนำมาใช้ในการควบคุมแมลงที่อยู่ในวงศ์ต่างๆ ดังนี้ Lepidoptera, Isoptera, Orthotera, Homoptera และ Coleoptera (Krutmuang , 1996; Price *et al*.,1997; Nina *et al*., 1998; Inglis *et al*., 1999; Kershaw *et al*., 1999; Sideney, 2001) นอกจากนี้ยังใช้ในการควบคุมไข่ของแมงมุม spider mite *(Tetranychus cinnabarinus)* ได้เป็นอย่างดีด้วย (Wei-bing and Ming-Guang, 2004) และเชื้อราที่มีประสิทธิภาพจะต้องมีความรุนแรงเพียงพอที่จะทำให้แมลงอาศัยตายได้ ไม่ว่าจะเป็นการสร้างเอ็นไซม์บางชนิดหรือสารพิษบางอย่าง ซึ่งความรุนแรงของเชื้อราดังกล่าวนั้นจะมีประสิทธิภาพควบคุมแมลงแตกต่างกันไปตามชนิดและสายพันธุ์ (มะลิวัลย์, 2534; Milner, 1997)

เชื้อราส่วนใหญ่มีชีวิตอยู่ได้นานในรูปของ conidia, spore, sclerotia, chlamydospore หรือ resting spore ทั้งภายนอกและภายในของตัวแมลงอาศัย ซึ่งความคงทนของเชื้อจะมีความสำคัญสืบเนื่องต่อไปในการนำไปใช้ การเก็บรักษา และทำผลิตภัณฑ์ (มะลิวัลย์, 2534; Butt, 2002) ซึ่งในธรรมชาติเราไม่สามารถทราบปริมาณที่แน่นอนของเชื้อราก่อโรคที่ทำให้แมลงอาศัยตายได้จึงต้องมีการทดสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อการนำไปใช้จริงให้ได้ประโยชน์สูงสุด

4.2 แมลงอาศัย ในตัวแมลงอาศัยจะมีแร่ธาตุและอาหารที่เหมาะสมต่อเชื้อราก่อโรคอยู่โดยจะส่งผลเอื้อต่อการเจริญของราในแมลงอาศัยนั้นๆ และแมลงยังมีองค์ประกอบที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเชื้อ เช่น พฤติกรรม ลักษณะทางสรีรวิทยา และสัณฐานวิทยา (Butt, 2001, 2002) ในกรณีแมลงสังคม เช่น ปลวกจะมีพฤติกรรมในการดำรงชีวิตอยู่เป็นกลุ่มประชากรที่หนาแน่นส่งผลให้เกิดการระบาดของโรคที่เกิดจากเชื้อราได้ง่ายขึ้น (เสาวภา, 2536)

4.3 สิ่งแวดล้อม

4.3.1 แสงและรังสี เชื้อราที่ถูกนำไปใช้งานควรได้รับการปกป้องจากแสงแดดก่อน เพราะแสงแดดสามารถก่อให้เกิดอันตรายต่อโคนิเดียของเชื้อราได้ ในทางการค้าทั่วไปมักใช้ oil หรือ oil-soluble sunscreens เคลือบไว้ (Butt, 2001)

4.3.2 อุณหภูมิ อุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อกระบวนการสร้างเส้นใยเจริญของเชื้อรา โดยทั่วไปอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมจะมีผลยับยั้งการเข้าติดเชื้อ (infection) ในแมลงอาศัยหรือลดการสร้างและเจริญเติบโตของเชื้อราด้วย (Jenkins, 1998; Butt, 2002)

4.2.3 ความชื้น น้ำเป็นสิ่งจำเป็นอย่างหนึ่งสำหรับการดำรงชีวิตของเชื้อรา โดยทั่วๆไป เชื้อราประเภทนี้ต้องการความชื้นสูงมาก เพื่อใช้ในการเจริญและการสร้างสปอร์ (Ludmilla *et al.*, 1999) แต่บางสายพันธุ์ก็สามารถเจริญได้ในที่มีความชื้นสัมพันธ์ต่ำ เช่น *M. flavoviridae* (Butt, 2002)

4.2.4 น้ำฝน ปริมาณน้ำฝนที่มากขึ้นจะส่งผลให้มีความชื้นเพิ่มขึ้นแต่น้ำฝนก็สามารถชะล้างหรือพัดพาโคนิเดียออกไปจากผิวของแมลงอาศัยได้ภายในระยะเวลาอันรวดเร็ว (Enenwan *et al*., 2000)

4.2.5 ลักษณะดิน ลักษณะของดินมีความสัมพันธ์กับการแพร่กระจายของเชื้อก่อโรค และเป็นที่สะสมของเชื้อราเพื่อรอวันจะเข้าทำลายแมลงอาศัย สามารถแยกได้เป็น 2 ลักษณะสำคัญ คือ ลักษณะทางกายภาพเช่นโครงสร้างของดินหรือเนื้อดิน และลักษณะทางชีวภาพซึ่งหมายถึงสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในดินเช่นจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถขับสารบางอย่างออกมาทำลายหรือเข้ายับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคที่เราใช้ควบคุมรวมไปถึงสิ่งมีชีวิตอื่นๆที่กินเชื้อราเป็นอาหารด้วย (Butt, 2002)

5. <u>การใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืชทางชีววิธี</u>

เนื่องจากเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงมีความหลากหลายในด้านยุทธศาสตร์การนำไปใช้เพื่อกำจัดแมลงศัตรูเป้าหมายที่หลากหลาย เช่น การเข้าทำลายส่วนต่างๆ ของแมลงโดยเข้าย่อยและดูดกินสารอาหารในตัวแมลง การปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาย่อยหรือการขับสารพิษออกมาเพื่อทำลายแมลงอาศัย (Butt, 2002) จึงก็มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์เหล่านี้ในรูปของสินค้าที่มีการแข่งขันสูงและได้รับความนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย (Hall and Menn, 1998) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาจากเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงในปัจจุบัน

Country	Trade name	Fungus	Target	Crop
USA	Mycocontrol/Botanigard	*Beauveria bassiana*	whiteflies/aphids/thrips	Glasshouse tomatoes/ornamentals
USA	Naturalis	*B. bassiana*	Sucking insects	Cotton/glasshouse crops
USA	BioBlast	*Metarhizium anisopliae*	Termites	house
USA/Europe	PFR-97™	*Paecilomyces fumosoroseus*	whiteflies/thrips	glasshouse crops
UK	Vertalec/Mycotal	*Verticillium lecanii*	aphids/thrips	glasshouse crops
South Africa	Green Muscle	*M. anisopliae*	locusts	natural bushland
Reunion	Betel	*B. bassiana*	Scarabs beetle larvae	sugarcane
Switzerland	Engerlingspilz	*Beauveria brongniartii*	Scarabs beetle larvae	pasture
Switzerland	Beauveria Schweizer	*B. brongniartii*	Scarabs beetle larvae	pasture
France	Ostrinol	*B. bassiana*	Corn borer	maize
Australia	BioGreen	*M. flavoviride*	Red-headed cockchafer	pasture/turf

ที่มา : ดัดแปลงจาก Humber (2001)

อนุชา (2537) พบเชื้อรา *P. lilacinus* จำนวน 4 สายพันธุ์ ที่มีความสามารถในการเข้าทำลายไข่ไส้เดือนฝอยรากปมได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ คือ AK 3-09, AK 6-03, NK 1-14 และ NK 1-15 จากตัวอย่างพืชที่เป็นโรครากปมจากภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกของประเทศ

Wang and Powell (2004) ได้รายงานว่า เชื้อ *M. anisopliae* strain (SRRC2588) สายพันธุ์ใหม่ที่คัดแยกมาจากซากของปลวกสายพันธุ์ *C. formosanus* ในประเทศจีนมีประสิทธิภาพในการเข้าควบคุมปลวก *Reticulitermes flavipes* ที่เลี้ยงไว้ในภาชนะที่บรรจุด้วยกรวดและทรายได้ถึง 100

เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นของสปอร์ $\geq 3X10^{6}$ โคนิเดีย/ลบ.ซม. และได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อดังกล่าวในรูปเหยื่อที่ผสมผงเซลลูโลสพบว่าเหยื่อนั้นมีความสามารถในการควบคุมปลวกทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ *R. flavipes* และ *C. formosanus* ที่ความเข้มข้น $1.5X10^{8}$ และ $3X10^{8}$ โคนิเดีย/กรัม ในภาชนะเลี้ยงที่บรรจุด้วยกรวดและทรายเช่นกัน

Sun *et al.* (2002) ได้รายงานว่า ความสามารถในการผลิตสปอร์ภายนอกตัวแมลงของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงสามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกประสิทธิภาพในการใช้เป็นจุลชีพควบคุมแมลง (microbial control) ได้ จากการทดสอบเชื้อราจำนวน 22 สายพันธุ์ ต่อปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. formosanus* พบว่าเชื้อราในกลุ่ม *M. anisopliae* มีอัตราการเจริญของเส้นใยและมีการสร้างสปอร์ที่รวดเร็วกว่าเชื้อราในกลุ่ม *B. bassiana* จึงเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาเป็นจุลชีพในการควบคุมปลวกซึ่งเป็นแมลงสังคมได้มากกว่า ส่วน *B. bassiana* มีความสามารถในการผลิตสปอร์ได้ในปริมาณมากกว่าแต่ให้อัตราการเจริญของเส้นใยและการผลิตสปอร์ที่ช้ากว่า ส่งผลให้ปลวกสร้างกลไกในการปกป้องโรคระบาดภายในรังของตัวเองได้ทันท่วงทีทำให้การส่งต่อของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงนั้นลดลง

Krutmuang (1996) ได้รายงานว่า เชื้อ *M. anisopliae var. majus* และ *M. anisopliae var. anisopliae* มีความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต่อปลวกงานสายพันธุ์ *Coptetermes sp.* และ *Microcerotermes sp.* โดยเปอร์เซ็นต์การตายของปลวกงานขึ้นกับความเข้มข้นและสายพันธุ์ของเชื้อที่ใช้ พบว่าปลวกจะเริ่มตายหลังจากได้รับเชื้อ 2 วัน พอเข้าวันที่ 7 จะมีการพัฒนาของกระจุกใยราสีขาวพร้อมทั้งมีการสร้างโคนิเดียสีเขียวปรากฏอยู่รอบซากปลวกที่ตาย ซึ่งเชื้อ *M. anisopliae var. anisopliae* มีประสิทธิภาพในการกำจัดปลวกมากกว่า *M. anisopliae var. majus*

Milner *et al.* (1997) ได้รายงานว่า พบ *M. anisopliae* code name FI-610 ที่มีความสามารถสูงในการเข้าทำลายและก่อให้เกิดโรคระบาดในปลวก *Coptotermes spp.*จากการสำรวจเชื้อทั้งหมดจำนวน 93 สายพันธุ์ โดยใช้เชื้อ 30 กรัม ที่ความเข้มข้น $3X10^{11}$ เป่าเข้าไปในศูนย์กลางของรังปลวกเป็นระยะเวลานาน 6 เดือน พบว่าภายในรังนั้นไม่พบปลวกเหลือชีวิตรอดอยู่เลย

Price *et al.* (1997) ได้รายงานว่า เชื้อ *M. flavoviride* มีประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมตั๊กแตน Hopper (*Locustana pardaliva*, Walker) ได้ดี ให้เปอร์เซ็นต์การตายถึง 98 เปอร์เซ็นต์ภายหลังจากได้รับเชื้อดังกล่าว 3 สัปดาห์

Sakchoowong (1998) ได้รายงานว่า เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลง *B. bassiana* และ *M. anisopliae* มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินใบสัก โดยให้เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยที่ 60.24 และ 37.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งความสามารถดังกล่าวขึ้นกับความเข้มข้นของสปอร์เชื้อราและชนิดของเชื้อราด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การคัดเลือกเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *Coptotermes gestroi*

นำปลวกสายพันธุ์ *C. gestroi* จากสำนักวิจัยเศรษฐกิจและผลิตผลป่าไม้ กรมป่าไม้ มาเลี้ยงในกล่องพลาสติกเลี้ยงแมลง ขนาด 17 X 25 X 9 เซนติเมตรที่บรรจุด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.1) ชุ่มน้ำ ที่อุณหภูมิห้อง ในตู้ทึบแสง เพิ่มความชื้นในบรรยากาศโดยการหล่อด้วยถาดใส่น้ำและพ่นน้ำกลั่นฆ่าเชื้อลงในกล่องเลี้ยงปลวกทุกวัน

วางแผนการทดลองโดยแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) สุ่มเลือกปลวกทั้งหมด 50 ตัวต่อ 1 ชุดการทดลองใช้จำนวนปลวกงานต่อปลวกทหารในอัตราส่วน 45 : 5 ก่อนการลงเชื้อราก่อโรค 1 วัน ในจานแก้วทดสอบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตรที่บรรจุกระดาษกรองชุ่มน้ำไว้แล้ว

เลี้ยงเชื้อ Entomopathogenic fungi จำนวน 6 สายพันธุ์ ดังนี้ *Paecilomyces lilacinus* (BCC6121), *Beauveria bassiana* (CKB048), *Metarhizium anisopliae* (CKM048), *M. anisopliae* (BCC4541), *M. anisopliae* (BCC4951) และ *M. flavoviride* (BCC1380) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 14 วัน จากนั้นเก็บและนับสปอร์ด้วย haematocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้ได้ความเข้มข้น $1X10^8$ โคนิเดีย/มล. พร้อมหยด Tween 80 ลงไป 0.01 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงทั้ง 6 ชนิด โดยใช้ auto pipette หยดลงบนกระดาษกรองในจานแก้วทดสอบที่มีปลวกเตรียมไว้ข้างต้นที่อุณหภูมิห้อง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 7 ชุดๆ ละ 5 ซ้ำ ดังนี้

การทดลองชุดที่ 1 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* โดยไม่มีการลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงเป็นจานควบคุม (control)

การทดลองชุดที่ 2 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* และลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงสายพันธุ์ *P. lilacinus* (BCC 6121)

การทดลองชุดที่ 3 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* และลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงสายพันธุ์ *B. bassiana* (CKB048)

การทดลองชุดที่ 4 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* และลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงสายพันธุ์ *M. anisopliae* (CKM048)

การทดลองชุดที่ 5 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* และลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงสายพันธุ์ *M. anisopliae* (BCC4541)

การทดลองชุดที่ 6 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* และลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงสายพันธุ์ *M. anisopliae* (BCC4951)

การทดลองชุดที่ 7 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* และลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงสายพันธุ์ *M. flavoviride* (BCC1380)

คัดแยกและนับตัวตายของปลวกออกจากจานทดสอบในวันที่ 2, 4, 6, 8 และ 14 ของการทดลอง เพื่อหาค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดและค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของปลวก และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดและค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของแต่ละการทดลองด้วยวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT) แล้วตรวจสอบยืนยันผลการทดลองอีกขั้นโดยการนำปลวกที่ตายไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ (NaOCl) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 5 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อกำจัดเชื้อราที่อยู่ภายนอกตัวปลวกออก พักไว้สักครู่รอจนเกือบแห้ง จึงนำไปวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สังเกตลักษณะการเจริญของโคโลนีที่ปรากฏ

การหาจำนวนปลวกที่อยู่รอด

จำนวนปลวกที่อยู่รอด = จำนวนปลวกเริ่มต้น – จำนวนปลวกที่ตาย

การหาเปอร์เซ็นต์การตายของปลวกโดยใช้สูตร Abbott's formula เนื่องจากพบการตายของปลวกในจานควบคุม (Matsumura, 1976)

Real mortality Percentage = [(X-Y) x 100] / (100-Y)

X = Mortality percentage in treatment

Y = Mortality percentage in control group

2. <u>อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *M. anisopliae* (CKM 048)</u>

เลี้ยงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose agar with yeast extract (SDAY) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 14 วันในตู้ทึบแสงที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ จากนั้นจึงตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อเจริญเต็มผิวหน้าด้วย cork borer ขนาด 1 เซนติเมตร ย้ายมาวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่เตรียมไว้ ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 4 ระดับ คือ 10, 20, 30, 40 และอุณหภูมิห้อง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดๆ ละ 5 ซ้ำ ดังนี้

การทดลองชุดที่ 1 เชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่อุณหภูมิห้องเป็นจานควบคุม

การทดลองชุดที่ 2 เชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

การทดลองชุดที่ 3 เชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

การทดลองชุดที่ 4 เชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

การทดลองชุดที่ 5 เชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ตรวจวัดและบันทึกการเจริญของโคโลนีของเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่ปรากฏในวันที่ 2, 4, 6, 8 และ 14 ของการทดลอง พร้อมเปรียบเทียบความแตกต่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแต่ละการทดลองด้วยวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT)

3. <u>ความเข้มข้นของเชื้อรา *M. anisopliae* (CKM048) ที่เหมาะสมในการใช้ควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi*</u>

วางแผนการทดลองโดยแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) สุ่มเลือกปลวกทั้งหมด 50 ตัวต่อ 1 ชุดการทดลองใช้จำนวนปลวกงานต่อปลวกทหารในอัตราส่วน 45 : 5 ก่อนการลงเชื้อก่อโรค 1 วัน ในจานแก้วทดสอบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ที่บรรจุกระดาษกรองชุ่มน้ำไว้แล้ว

เลี้ยงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน จากนั้นทำการเก็บและนับสปอร์ด้วย haematocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้ได้ความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ คือ $3X10^5$, $3X10^6$, $3X10^7$ และ $3X10^8$ โคนิเดีย/มล. พร้อมหยด Tween 80 ลงไป 0.01 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นใช้ auto pipette ดูดเชื้อที่ความเข้มข้นทั้ง 4 ระดับ หยดลงบนกระดาษกรองในจานแก้วทดสอบที่มีปลวกเตรียมไว้ข้างต้นในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดๆ ละ 5 ซ้ำ (ภาพที่ 8) ดังนี้

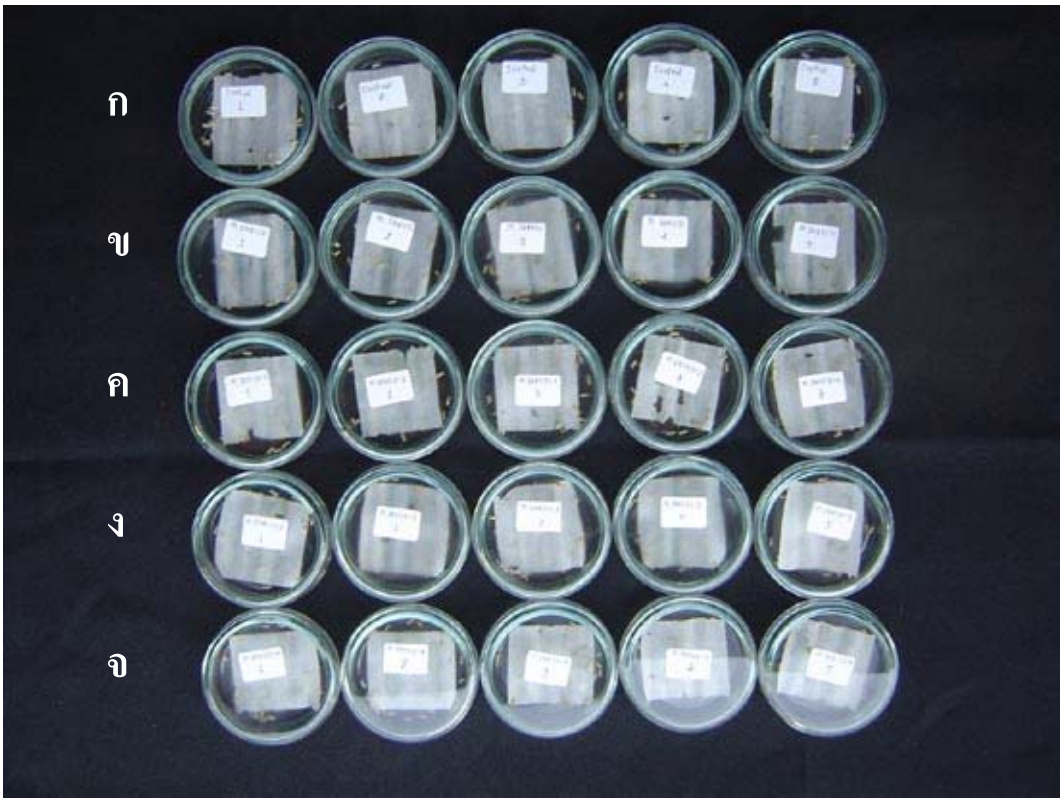
การทดลองชุดที่ 1 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* เป็นจานควบคุม

การทดลองชุดที่ 2 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* และลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่ความเข้มข้น 3 X 10^5 โคนิเดีย/มล.

การทดลองชุดที่ 3 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* และลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่ความเข้มข้น 3 X 10^6 โคนิเดีย/มล.

การทดลองชุดที่ 4 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* และลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่ความเข้มข้น 3 X 10^7 โคนิเดีย/มล.

การทดลองชุดที่ 5 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* และลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่ความเข้มข้น 3 X 10^8 โคนิเดีย/มล.



ภาพที่ 8 การทดสอบความเข้มข้นของ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ที่เหมาะสมในการใช้ควบคุมปลวกใต้ดิน *Coptotermes gestroi*

(ก) จานควบคุม

(ข) เชื้อ *M. anisopliae* ที่ความเข้มข้น $3X10^5$ โคนิเดีย/มล.

(ค) เชื้อ *M. anisopliae* ที่ความเข้มข้น $3X10^6$ โคนิเดีย/มล.

(ง) เชื้อ *M. anisopliae* ที่ความเข้มข้น $3X10^7$ โคนิเดีย/มล.

(จ) เชื้อ *M. anisopliae* ที่ความเข้มข้น $3X10^8$ โคนิเดีย/มล.

คัดแยกและนับตัวตายของปลวกออกจากจานทดสอบในวันที่ 2, 4, 6, 8 และ 14 ของการทดลอง เพื่อหาค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดและค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของปลวก และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดและค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของปลวกของแต่ละการทดลองด้วยวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT) แล้วตรวจสอบยืนยันผลการทดลองอีกขั้นโดยการนำปลวกที่ตายไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ (NaOCl) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 5 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อกำจัดเชื้อราที่อยู่ภายนอกตัวปลวก พักไว้สักครู่รอจนเกือบแห้งจึงนำไปวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY สังเกตลักษณะการเจริญของโคโลนีที่ปรากฏแล้วเก็บเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อในการควบคุมปลวกต่อไปอีก 3 รุ่น

เชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) แต่ละรุ่นที่ทำการทดลองจะใช้วิธีการทดสอบเหมือนการทดลองข้างต้นทุกประการเพื่อหาค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายที่ 14 วัน โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ชุดๆ ละ 5 ซ้ำ ดังนี้

การทดลองชุดที่ 1 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* เป็นจานควบคุม

การทดลองชุดที่ 2 เลี้ยงปลวก *C. gestroi* และลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่ความเข้มข้น 3 X 10^8 โคนิเดีย/มล.

คัดแยกและนับตัวตายของปลวกออกจากจานทดสอบในวันที่ 2, 4, 6, 8 และ 14 ของการทดลองเพื่อคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การตายของปลวกและเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของแต่ละการทดลองทั้ง 4 รุ่นด้วยวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT) ตรวจสอบยืนยันผลการทดลองอีกขั้นโดยการนำปลวกที่ตายไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ (NaOCl) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 5 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อกำจัดเชื้อราที่อยู่ภายนอกตัวปลวก พักไว้สักครู่รอจนเกือบแห้ง จึงนำไปวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY สังเกตลักษณะการเจริญของโคโลนีที่ปรากฏ

4. <u>การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* (CKM048) เพื่อใช้ลดการเข้าทำลายเนื้อไม้ของปลวกใต้ดินในสภาวะเลียนแบบธรรมชาติ</u>

เตรียมวัสดุอุปกรณ์ในการเลี้ยงปลวก ใช้กล่องพลาสติกเลี้ยงแมลงทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร ภายในบรรจุทรายและกรวดที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อปริมาณ 10 กรัม ที่พ่นน้ำกลั่นปลอดเชื้อไว้แล้ว จากนั้นเตรียมไม้ทดสอบโดยใช้ไม้ยางพาราขนาด 1.9 X 5 X 1.9 ลูกบาศก์เซนติเมตรที่ผ่านการอบแห้งจนน้ำหนักคงที่เป็นเวลา 7 วัน วางลงในฝั่งซ้ายของกล่องทดสอบที่มีวัสดุเลี้ยงปลวกเตรียมไว้ แล้วคัดแยกปลวกทั้งหมดจำนวน 300 ตัว ต่อ 1 ชุดการทดลอง ในอัตราส่วนปลวกงานต่อปลวกทหาร 250 : 50 เพื่อใช้ทดสอบในขั้นต่อไป

เลี้ยงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน จากนั้นเก็บและนับสปอร์ด้วย haematocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้ได้ความเข้มข้น $6X10^8$ โคนิเดีย/มล. พร้อมหยด Tween 80 ลงไป 0.01 เปอร์เซ็นต์ ลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการเข้าควบคุมปลวกใต้ดินในกล่องทดสอบที่มีปลวกเตรียมไว้ ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 7 ชุดๆ ละ 3 ซ้ำ (ภาพที่ 9) ดังนี้

การทดลองชุดที่ 1 ไม้ยางพาราที่ผ่านการอบแห้งแล้วเป็นกล่องควบคุม

การทดลองชุดที่ 2 ไม้ยางพารา และปลวกสายพันธุ์ *C. gestroi* ใช้ระยะเวลา 1 เดือน

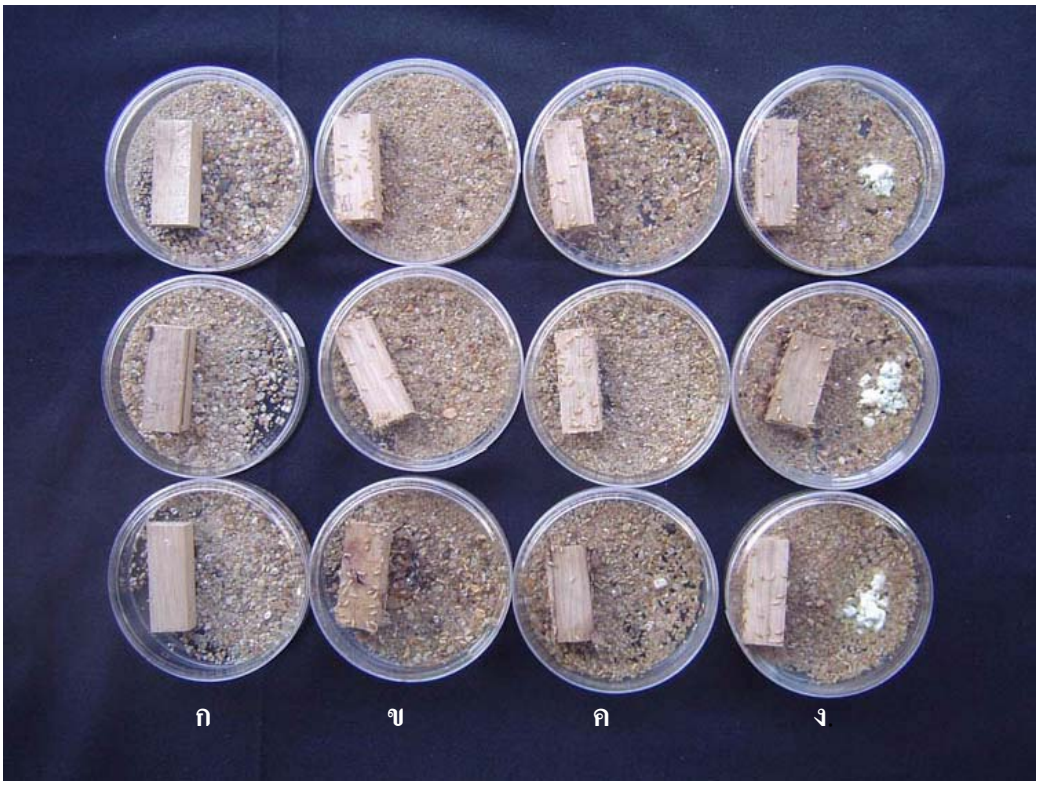
การทดลองชุดที่ 3 ไม้ยางพารา และปลวกสายพันธุ์ *C. gestroi* ลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่ความเข้มข้น $6 X 10^8$ โคนิเดีย/มล. แบบฉีดพ่น ระยะเวลาทดสอบ 1 เดือน

การทดลองชุดที่ 4 ไม้ยางพารา และปลวกสายพันธุ์ *C. gestroi* ลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) แบบเหยื่อล่อ (ที่ความเข้มข้น $6 X 10^8$ โคนิเดีย/มล. ผสมกับ cellulose powder 0.5 กรัม) ใช้ระยะเวลาทดสอบ 1 เดือน

การทดลองชุดที่ 5 ไม้ยางพารา และปลวกสายพันธุ์ *C. gestroi* ใช้ระยะเวลา 2 เดือน

การทดลองชุดที่ 6 ไม้ยางพารา และปลวกสายพันธุ์ *C. gestroi* ลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่ความเข้มข้น 6 X 10^8 โคนิเดีย/มล. แบบฉีดพ่น ใช้ระยะเวลาทดสอบ 2 เดือน

การทดลองชุดที่ 7 ไม้ยางพารา และปลวกสายพันธุ์ *C. gestroi* ลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) แบบเหยื่อล่อ (ที่ความเข้มข้น 6 X 10^8 โคนิเดีย/มล. ผสมกับ cellulose powder 0.5 กรัม) ใช้ระยะเวลาทดสอบ 2 เดือน



ภาพที่ 9 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (CKM048) เพื่อใช้ลดการเข้าทำลายไม้ของปลวกใต้ดินในสภาวะเลียนแบบธรรมชาติ

(ก) จานควบคุม

(ข) ไม้ที่ใส่ปลวกแต่ไม่ได้ลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลง

(ค) ไม้ที่ใส่ปลวก และลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) แบบฉีดพ่น

(ง) ไม้ที่ใส่ปลวก และลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) แบบเหยื่อล่อ

หล่อน้ำในกระบะที่ใส่กล่องทดสอบอยู่เสมอเพื่อรักษาความชื้นในบรรยากาศและพ่นน้ำกลั่นฆ่าเชื้อลงในกล่องทดสอบ 3 ครั้งต่อสัปดาห์ เมื่อครบ 1 และ 2 เดือนให้เก็บไม้จากชุดการทดลองที่ 1– 4 และ 5 – 7 ตามลำดับ มาทำความสะอาดและอบแห้งเพื่อนำค่าน้ำหนักแห้งที่ได้ไปคำนวณค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้ และนับแยกปลวกที่ยังมีชีวิตรอดออกจากวัสดุเลี้ยงเพื่อหาค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของปลวก เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้และค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของปลวกของแต่ละการทดลองด้วยวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT)

การหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้} = \left(\frac{\text{น้ำหนักแห้งไม้เริ่มต้น} - \text{น้ำหนักแห้งไม้ที่หายไป}}{\text{น้ำหนักแห้งไม้เริ่มต้น}}\right) \times 100$$

การหาเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของปลวก

$$\text{เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด} = \left(\frac{\text{จำนวนปลวกเริ่มต้น} - \text{จำนวนตัวตาย}}{\text{จำนวนปลวกเริ่มต้น}}\right) \times 100$$

5. <u>ศึกษาลักษณะการก่อให้เกิดโรคในปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* ของเชื้อรา *M. anisopliae* (CKM048) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด</u>

แยกปลวกลงในจานแก้วทดสอบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ที่บรรจุกระดาษกรองชุ่มน้ำไว้แล้วก่อนการลงเชื้อก่อโรค 1 วัน โดยสุ่มเลือกปลวกทั้งหมด 50 ตัวต่อ 1 ชุดการทดลอง ใช้จำนวนปลวกงานต่อปลวกทหารในอัตราส่วน 45 : 5

เลี้ยงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้ได้ความเข้มข้น $3X10^{8}$ โคนิเดีย/มล. พร้อมหยด Tween 80 ลงไป 0.01 เปอร์เซ็นต์ ใช้ auto pipette ดูดเชื้อหยดลงบนกระดาษกรองในจานแก้วทดสอบที่มีปลวกเตรียมไว้ข้างต้น แล้วเลี้ยงต่อในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 28 องศาเซลเซียส จำนวน 2 ซ้ำ

เก็บตัวอย่างปลวกที่ได้รับเชื้อราจำนวนซ้ำละ 2 ตัว ที่ 1, 48, 96, 144, 192 และ 312 ชั่วโมง ของการทดสอบเพื่อศึกษาลักษณะการเข้าทำลายภายนอกของเชื้อรา *M. anisopliae* (CKM048) ภายใต้

กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM) โดยการรักษาสภาพตัวอย่างในน้ำยาคงสภาพขั้นแรกใช้ glutaraldehyde 2.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ละลายใน 0.2 M cacodylate buffer pH 7.2 นาน 12 ชั่วโมง ที่ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการล้างน้ำยาคงสภาพตัวแรกออกด้วย 0.1 M cacodylate buffer pH 7.2 จำนวน 3 ครั้งๆ ละ 10 - 15 นาที แล้วทำการรักษาสภาพตัวอย่างขั้นที่สองโดยใช้น้ำยา 1 เปอร์เซ็นต์ osmium tetroxide (OsO_4) ที่ละลายใน 0.1 M cacodylate buffer pH 7.2 นาน 1 ชั่วโมง ที่ 4 องศาเซลเซียส ล้างน้ำยาคงสภาพขั้นที่สองออกด้วย 0.1 M cacodylate buffer pH 7.2 ทำซ้ำ 3 ครั้งๆ ละ 10 - 15 นาที แล้วกำจัดน้ำออกด้วย acetone series ที่ความเข้มข้น 30, 50, 70, 90, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยแต่ละความเข้มข้นใช้เวลานาน 10 – 15 นาที จากนั้นนำมาทำให้แห้งด้วยวิธี Critical Point Drying (CPD) พร้อมเคลือบตัวอย่างด้วยไอคาร์บอนตามด้วยไอทองแล้วนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดยี่ห้อ Hitachi รุ่น SEM S-2500 กำลังไฟขนาด 15 กิโลโวลต์

สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการ 410 ตึกชีววิทยา ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม

ศูนย์สังเคราะห์ภาพระดับนาโน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ระยะเวลาทำการวิจัย

ตั้งแต่ เดือน ตุลาคม 2546 จนถึง เดือน มีนาคม 2548

ผลและวิจารณ์

1. การคัดเลือกเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *Coptotermes gestroi*

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงทั้ง 6 สายพันธุ์ คือ *Paecilomyces lilacinus* (BCC6121), *Beauveria bassiana*(CKB048), *Metarhizium anisopliae* (CKM048), *M. anisopliae* (BCC4541), *M. anisopliae* (BCC4951) และ *M. flavoviride* (BCC1380) ความเข้มข้น $1X10^8$ โคนิเดีย/มล. ในจานแก้วทดสอบที่เลี้ยงปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* จำนวน 50 ตัวต่อชุดการทดลอง ที่อุณหภูมิห้อง 28 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน โดยคัดแยกปลวกที่ตายหลังจากทำการลงเชื้อจากจานทดสอบในวันที่ 2, 4, 6, 8 และ 14 เพื่อหาค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดและค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตาย พบว่าที่ 14 วันเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงมีผลทำให้จำนวนปลวกที่อยู่รอดลดน้อยลงทั้ง 6 สายพันธุ์ โดยค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วันในกลุ่มควบคุม, *Paecilomyces lilacinus* (BCC6121), *Beauveria bassiana*(CKB048), *Metarhizium anisopliae* (CKM048), *M. anisopliae* (BCC4541), *M. anisopliae* (BCC4951) และ *M. flavoviride* (BCC1380) มีค่าเท่ากับ 48.40, 39.60, 22.80, 11.60, 21.80, 23.60 และ 25.20 ตัวตามลำดับ และเมื่อนำค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วัน ไปประมวลผลทางสถิติเชิงเปรียบเทียบค่าความแปรปรวนเฉลี่ย Analysis of Variance (ANOVA) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่ามีชุดการทดลองอย่างน้อย 1 ชุด ที่ทำให้ค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วัน แตกต่างไปจากชุดการทดลองอื่น จึงได้ทำการแบ่งกลุ่มโดยจัดเรียงค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วัน จากน้อยไปหามากตามวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT) จากชุดการทดลองทั้งหมด 7 ชุด สามารถจำแนกกลุ่มได้ 4 กลุ่ม โดยเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงที่ทำให้ค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วันเหลือน้อยที่สุดเหมาะสมในการนำไปใช้ควบคุมปลวกใต้ดินมากที่สุดคือเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ลำดับที่ 2 รองลงมามี 4 เชื้อที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วันจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันคือเชื้อ *M. anisopliae* (BCC4541), *B. bassiana* (CKB048), *M. anisopliae* (BCC4951) และ *M. flavoviride* (BCC1380) ลำดับที่ 3 คือเชื้อ *P. lilacinus* (BCC6121) และอันดับที่ 4 สุดท้ายคือจานควบคุมที่ไม่มีการลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลง (ตารางที่ 3 และภาพที่ 10)

ส่วนค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายที่ 14 วัน พบว่าเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงนั้นมีผลทำให้ปลวกตายทั้ง 6 สายพันธุ์ และพบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายที่ 14 วันในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 3.2 จึงได้ใช้ Abbott's formula ในการคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายใหม่ โดยได้เฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายที่ 14 วันในกลุ่มควบคุม, *Paecilomyces lilacinus* (BCC6121), *Beauveria bassiana*(CKB048), *Metarhizium anisopliae* (CKM048), *M. anisopliae* (BCC4541), *M. anisopliae* (BCC4951) และ *M. flavoviride* (BCC1380) มีค่าเท่ากับ 0.00, 4.13, 49.59, 72.73, 51.65, 47.93 และ 44.63 ตามลำดับและเมื่อนำค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายในวันที่ 14 ไปประมวลผลทางสถิติเชิงเปรียบเทียบค่าความแปรปรวนเฉลี่ย ANOVA พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่ามีชุดการทดลองอย่างน้อย 1 ชุด ที่ทำให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายแตกต่างจากชุดการทดลองอื่น จึงได้แบ่งกลุ่มโดยจัดเรียงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายจากมากไปหาน้อยตามวิธี DMRT จากชุดการทดลองทั้งหมด 7 ชุด สามารถจำแนกได้เพียง 3 กลุ่มเท่านั้น โดยเชื้อที่มีประสิทธิภาพและความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์นี้มากที่สุดคือเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) อันดับที่ 2 รองลงมามีเชื้อ 4 ชนิดที่ให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายที่ 14 วันจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันคือเชื้อ *M. anisopliae* (BCC4541), *B. bassiana* (CKB048), *M. anisopliae* (BCC4951) และ *M. flavoviride* (BCC1380) ส่วนอันดับที่ 3 สุดท้ายคือเชื้อ *P. lilacinus* (BCC 6121) ซึ่งถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับจานควบคุม (ตารางที่ 3 และภาพที่ 11) แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *P. lilacinus* (BCC 6121) นั้นมีประสิทธิภาพในการเข้าควบคุมปลวกใต้ดินต่ำ

จากการทดสอบพบว่าเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) มีประสิทธิภาพในการก่อให้เกิดโรคกับปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* ได้ดีกว่าเชื้อ *B. bassiana* (CKB048) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองที่ Sun *et al.* (2003) ได้รายงานว่าเชื้อ *M. anisopliae* มีความสามารถในการส่งต่อเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. formosanus* ดีกว่าเชื้อ *B. bassiana* จึงมีความเหมาะสมที่จะนำเชื้อ *M. anisopliae* ไปพัฒนาเป็นเชื้อราก่อโรคในปลวกได้มากกว่า (CKB048) และ Milner *et al.* (1997) ได้รายงานว่า ความหลากหลายทางสายพันธุ์ของเชื้อ *M. anisopliae* มีผลต่อประสิทธิภาพในการเข้าควบคุมปลวกมากน้อยแตกต่างกันด้วยสอดคล้องกับผลการทดลองที่ให้ผลค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การตายของเชื้อ *M. anisopliae* จากการทดลองทั้ง 3 สายพันธุ์แตกต่างกัน

จากการเก็บข้อมูลตัวตายของปลวกใต้ดินอันเนื่องมาจากเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงมา คำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดในวันที่ 2, 4, 6, 8 และ 14 และค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายที่ 14 วัน พบว่าปลวกที่ได้รับเชื้อราทั้ง 6 สายพันธุ์ จะไม่ตายอย่างทันที ซึ่งมีความแตกต่างจากการใช้สารเคมีทั่วไปสอดคล้องกับที่ Moino *et al.* (2002) ได้รายงานว่ากระบวนการเข้าทำลายแมลงอาศัยของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงนั้นจะต้องอาศัยช่วงเวลาในการพัฒนาตัวเองเข้าสู่ระยะที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ อย่างต่อเนื่องเป็นลำดับขั้นตอน ดังนั้นเพื่อลดจำนวนปลวกที่อาจตายเนื่องจากปัจจัยอื่น เช่น ความอ่อนแอจากการเคลื่อนย้ายหรือการปรับเปลี่ยนสภาพแวดล้อมอย่างกระทันหัน จึงได้เลี้ยงปลวกในจานทดสอบก่อนล่วงหน้า 1 วัน ทำให้วันแรกๆ ของการทดสอบแทบจะไม่พบปลวกตายเลย จากนั้นเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมงในวันที่ 2 ที่เก็บแยกปลวกที่ตายออกมาจะพบจำนวนปลวกที่ตายเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ และมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 6 ของการทดสอบแสดงให้เห็นว่าปลวกนั้นตายเนื่องจากเชื้อราจริง

การทดลองครั้งนี้ต้องการเน้นผลให้ทราบว่าเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงชนิดใดที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้ควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* ซึ่งจากผลการทดลองทั้งค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วัน และเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยของปลวกว่าเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) มีประสิทธิภาพในการเข้าควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* มากที่สุดและเหมาะสมในการนำไปพัฒนาเป็นเชื้อราก่อโรคในปลวกจึงได้คัดเลือกเชื้อดังกล่าวเข้าสู่การทดลองขั้นต่อไป

2. <u>อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048)</u>

จากผลการทดลองที่ 1 พบว่าเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงสายพันธุ์ *M. anisopliae* (CKM048) ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* มากที่สุด จึงได้นำมาทดสอบหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ โดยนำเชื้อดังกล่าวขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร มาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน ได้แก่ 10, 20, 30, 40 และ 28±2 องศาเซลเซียส จากนั้นวัดผลการเจริญจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีที่ปรากฏในวันที่ 2, 4, 6, 8 และ 14 พบว่าการเจริญของโคโลนีที่อุณหภูมิห้อง 28±2 องศาเซลเซียส (ชุดการทดลองที่ 1) ซึ่งถือเป็นจานควบคุม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ยในวันที่ 2, 4, 6, 8 และ 14 เท่ากับ 1.87, 2.61, 3.77, 4.56 และ 6.88 เซนติเมตรตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส (ชุดการทดลองที่ 2) ไม่พบการเจริญของโคโลนีเกิดขึ้นเลยตลอด 14 วันทำให้เชื้อรามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 1 เซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (ชุดการทดลองที่ 3) พบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ยในวันที่ 2, 4, 6, 8 และ 14 เท่ากับ 1.39, 1.64, 2.39, 2.89 และ 5.00 เซนติเมตรตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ชุดการทดลองที่ 4) พบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ยในวันที่ 2, 4, 6, 8 และ 14 เท่ากับ 1.69, 2.31, 3.22, 3.68 และ 5.44 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ชุดการทดลองที่ 5) จากวันที่ 2 – 8 พบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีเท่ากับ 1 เซนติเมตร แสดงว่าไม่มีการเจริญของโคโลนีเกิดขึ้นเลย จนกระทั่งในวันที่ 14 จึงมีโคโลนีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ 1.2 เซนติเมตร (ตารางที่ 4 และภาพที่ 12)

เมื่อนำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ยของเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ กัน ไปประมวลผลทางสถิติเชิงเปรียบเทียบค่าความแปรปรวนเฉลี่ย ANOVA แล้วพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่ามีชุดการทดลองอย่างน้อย 1 ชุด ที่ทำให้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีแตกต่างไปจากชุดการทดลองอื่น จึงได้ทำการแบ่งกลุ่มโดยจัดเรียงค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีจากมากไปหาน้อยตามวิธี DMRT จากชุดการทดลองทั้งหมด 5 ชุด สามารถจำแนกกลุ่มได้ 5 กลุ่ม พบว่าอุณหภูมิที่ส่งผลให้โคโลนีของ *M. anisopliae* เจริญได้คือ 28, 30, 20,40 และ 10 องศาเซลเซียสเรียงจากมากไปหาน้อยตามลำดับ

จากการสังเกตลักษณะการเจริญของโคโลนี *M. anisopliae* (CKM048) พบว่าในจานทดสอบที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ไม่มีการเจริญของเส้นใยเกิดขึ้นเลยแม้กระทั่งด้านข้างของชิ้นวุ้นที่ได้นำ

มาวางไว้บนอาหารในจานทดสอบที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีการเจริญของโคโลนีสีขาวเกิดขึ้นอย่างช้าๆ ตั้งแต่วันแรกของการเก็บข้อมูล เส้นใยมีลักษณะบาง ฟูเล็กน้อย และเริ่มปรากฏโคนิเดียสีเขียวเข้มให้เห็นเด่นชัดในวันที่ 6 บริเวณศูนย์กลางของโคโลนี มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยที่ 14 วัน เท่ากับ 5.00 เซนติเมตรในจานทดสอบที่อุณหภูมิ 28 และ 30 องศาเซลเซียสจะให้ลักษณะการเจริญของโคโลนีใกล้เคียงกันและปรากฏการเจริญของโคโลนีอย่างรวดเร็วตั้งแต่การเก็บข้อมูลวันแรกโดยโคโลนีที่ปรากฏมีเส้นใยสีขาวหนาแน่น จากผลการสังเกตพบว่าจานทดสอบที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โคโลนีที่ปรากฏเริ่มแรกจะมีความหนามากกว่าที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเพียงเล็กน้อย ส่วนโคนิเดียสีเขียวเข้มเริ่มปรากฏให้เห็นบริเวณศูนย์กลางของโคโลนีในวันที่ 4 และหนาแน่นขึ้นจนกระทั่งครบ 14 วัน สำหรับในจานทดสอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสไม่เห็นการเจริญเพิ่มขึ้นตั้งแต่เริ่มเลี้ยงเชื้อจนถึงวันที่ 8 และจนในวันที่ 14 จึงปรากฏการเจริญของโคโลนีสีขาวเป็นวงบางๆ รอบชิ้นวุ้นเพียงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) สามารถเจริญได้ดีในช่วง 20 – 30 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญมากที่สุดอยู่ที่ 28 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับ Krutmuang (1996) ที่ได้รายงานว่าเชื้อ *M. anisopliae* ทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ *M. anisopliae var. majus* และ *M. anisopliae var. anisopliae* สามารถเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่ 25 –28 องศาเซลเซียส บนอาหาร SDAY เช่นกัน

ตารางที่ 4 การเจริญของโคโลนี *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ย (เซนติเมตร±SD)[1]				
	วันที่ 2[2]	วันที่ 4[2]	วันที่ 6[2]	วันที่ 8[2]	วันที่ 14[2]
10	1.00±0.00 [d]	1.00±0.00 [d]	1.00±0.00 [d]	1.00±0.00 [d]	1.00±0.00 [e]
20	1.39±0.07 [c]	1.64±0.08 [c]	2.39±0.06 [c]	2.89±0.15 [c]	5.00±0.06 [c]
28±2	1.87±0.09 [a]	2.61±0.14 [a]	3.77±0.19 [a]	4.56±0.22 [a]	6.88±0.18 [a]
30	1.69±0.07 [b]	2.31±0.11 [b]	3.22±0.13 [b]	3.68±0.11 [b]	5.44±0.18 [b]
40	1.00±0.00 [d]	1.00±0.00 [d]	1.00±0.00 [d]	1.00±0.00 [d]	1.20±0.00 [d]

หมายเหตุ (1) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ยเริ่มต้นที่ 1 เซนติเมตร

(2) ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์โดย DMRT

3. <u>ความเข้มข้นของเชื้อรา *M. anisopliae* (CKM048) ที่เหมาะสมในการใช้ควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi*</u>

จากการนำเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลง *M. anisopliae* (CKM048) ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* มากที่สุด มาศึกษาหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเข้าควบคุมปลวกในระดับต่างๆ กัน คือ $3X10^5$, $3X10^6$, $3X10^7$ และ $3X10^8$ โคนิเดีย/มล. โดยทำการหยดลงบนกระดาษกรองในจานแก้วทดสอบที่ทำการเลี้ยงปลวกจำนวน 50 ตัวต่อชุดการทดลอง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน เพื่อหาค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วัน และค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายที่ 6 และ 14 วัน พบว่าชุดการทดลองที่ 1 – 5 มีค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วัน เท่ากับ 49.4, 48.00, 37.80, 23.60 และ 5.00 ตัว ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายในวันที่ 6 เท่ากับ 0.00, 0.81, 16.60, 32.79 และ 65.18 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายในวันที่ 14 เท่ากับ 0.00, 1.62, 22.27, 51.01 และ 88.66 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 5, 6 และภาพที่ 13, 14)

<u>ตารางที่ 5</u> ค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกใต้ดิน *Coptotermes gestroi* ที่อยู่รอด หลังจากได้รับ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของเชื้อ (โคนิเดีย/มล.)	ค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอด (ตัว)					
	วันที่ 0[(1)]	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 14 (±SD) [(2)]
จานควบคุม	50.00	49.60	49.60	49.40	49.40	49.40 ± 0.55^{d}
$3X10^5$	50.00	49.60	49.00	48.40	48.00	48.00 ± 1.22^{d}
$3X10^6$	50.00	48.40	45.60	40.60	38.20	37.80 ± 1.30^{c}
$3X10^7$	50.00	47.80	42.60	32.60	26.60	23.60 ± 3.65^{b}
$3X10^8$	50.00	44.00	34.00	16.60	5.80	5.00 ± 4.90^{a}

<u>หมายเหตุ</u> (1) จำนวนปลวกเริ่มต้นที่ 50 ตัว

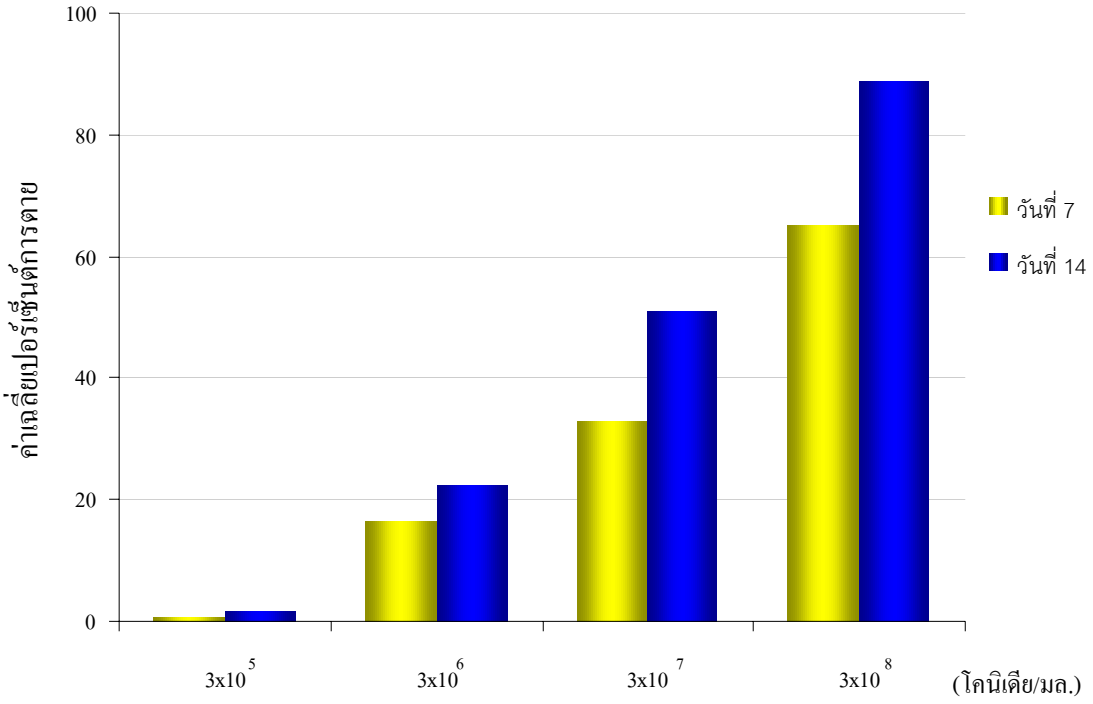
(2) ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์โดย DMRT

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของปลวกใต้ดิน *Coptotermes gestroi* ที่ได้รับเชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ

ความเข้มข้นของเชื้อ (โคนิเดีย/มล.)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตาย (±SD)[(1)(2)]	
	วันที่ 6	วันที่ 14
จานควบคุม	0.00[d]	0.00[d]
$3X10^5$	0.81±3.07[d]	1.62±2.48[d]
$3X10^6$	16.60±2.72[c]	22.27±2.64[c]
$3X10^7$	32.79±6.17[b]	51.01±7.38[b]
$3X10^8$	65.18±18.20[a]	88.66±9.92[a]

หมายเหตุ (1) ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์โดย DMRT

(2) ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายที่คำนวณจากสูตร Abbott's formula



ภาพที่ 14 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของปลวกใต้ดิน *Coptotermes gestroi* ที่ได้รับเชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ

จากการสังเกตพฤติกรรมของปลวกสายพันธุ์ *C. gestroi* ที่มีต่อเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าทันทีที่มีการลงเชื้อปลวกจะเดินเข้ามาหากระดาษกรองที่ถูกเชื้อดังกล่าวอย่างรวดเร็วไม่แตกต่างกับจานควบคุม แสดงให้เห็นว่าเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงทั้ง 4 ความเข้มข้น ไม่ได้ออกฤทธิ์ในการขับไล่ปลวก (non-repellent) แต่อย่างใดและความชื้นก็ยังเป็นปัจจัยดึงดูดปลวกให้เข้ามาสัมผัสกับเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงได้มากขึ้นอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่ Wang and Powell (2004) ได้รายงานว่าเชื้อ *M. anisopliae* ไม่ได้แสดงผลให้เห็นเด่นชัดถึงประสิทธิภาพในการขับไล่ปลวกสายพันธุ์ *R. flavipes* และ *C. formosanus* ออกจากพื้นที่ที่มีการใช้เชื้อ

เมื่อนำค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วัน ไปประมวลผลทางสถิติเชิงเปรียบเทียบค่าความแปรปรวนเฉลี่ย (ANOVA) แล้วพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่ามีชุดการทดลองอย่างน้อย 1 ชุด ที่ทำให้ค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วัน แตกต่างจากชุดการทดลองอื่น จึงได้ทำการแบ่งกลุ่มโดยจัดเรียงค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่ตายจากน้อยไปหามากตามวิธี DMRT จากชุดการทดลองทั้งหมด 5 ชุด สามารถจำแนกกลุ่มได้ 4 กลุ่ม พบว่ามีความเข้มข้นของเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) เพียง 3 ระดับเท่านั้นที่ส่งผลให้ค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดและค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยของปลวกแตกต่างออกไปจากจานควบคุม ได้แก่ $3X10^6$, $3X10^7$ และ $3X10^8$ โคนิเดีย/มล. และความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมปลวกมากที่สุดเพราะทำให้ค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วัน เหลือน้อยที่สุดคือ ความเข้มข้น $3X10^8$ โคนิเดีย/มล. ความเข้มข้นอันดับที่ 2 คือ $3X10^7$ โคนิเดีย/มล. และความเข้มข้นอันดับที่ 3 คือ $3X10^6$ โคนิเดีย/มล. ตามลำดับ ส่วนในอันดับที่ 4 กลุ่มสุดท้ายมี 2 ชุดการทดลองคือ $3X10^5$ โคนิเดีย/มล. และจานควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าที่ความเข้มข้น $3X10^5$ โคนิเดีย/มล. นั้นไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมปลวกใต้ดินเลย

จากการสังเกตปลวกที่ตายเมื่อแยกออกจากจานทดสอบนั้น พบว่าปลวกมักถูกห่อหุ้มด้วยขุยกระดาษรอบตัว ซึ่งเกิดจากการกระทำของสมาชิกที่ยังมีชีวิตอยู่ภายในจานทดสอบ ทำให้เกิดการลดเปอร์เซ็นต์การตายต่อเนื่อง (Domino effect) ของสมาชิกปลวกตัวอื่นภายในรังที่ยังไม่ได้รับเชื้อราโดยตรงได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Rath (2000) ที่ได้รายงานว่าปลวกจะมีพฤติกรรมทางสังคมในการป้องกันโรคระบาดที่อาจเกิดขึ้นกับสมาชิกภายในรังโดยการเก็บซากของปลวกที่ติดโรคไว้ในท่อทางเดินที่ถูกปิดตาย แต่ในขณะเดียวกันในการทดลองพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 2 – 4 วัน เชื้อราที่เจริญภายในตัวปลวกก็สามารถเจริญทะลุผ่านกระดาษออกมาได้ ซึ่งเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่จะทำให้เกิดการตายของปลวกบางตัวที่ยังไม่ได้รับเชื้อราโดยตรง

ในขณะที่เมื่อนำค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายในวันที่ 6 และ 14 ไปประมวลผลทางสถิติเชิงเปรียบเทียบค่าความแปรปรวนเฉลี่ย ANOVA พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่ามีชุดการทดลองอย่างน้อย 1 ชุด ที่ทำให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายแตกต่างจากชุดการทดลองอื่น จึงได้แบ่งกลุ่มโดยจัดเรียงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายจากมากไปหาน้อยตามวิธี DMRT จากชุดการทดลองทั้งหมด 5 ชุด แล้วสามารถจำแนกได้ 4 กลุ่ม พบว่าความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพส่งผลให้ปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* มีเปอร์เซ็นต์การตายได้สูงที่สุดคือ ความเข้มข้น $3X10^8$ โคนิเดีย/มล. ความเข้มข้นอันดับที่ 2 รองลงมาคือ $3X10^7$ โคนิเดีย/มล. และความเข้มข้นอันดับที่ 3 คือ $3X10^6$ โคนิเดีย/มล. ตามลำดับ ส่วนอันดับที่ 4 กลุ่มสุดท้ายมี 2 ชุดการทดลอง $3X10^5$ โคนิเดีย/มล. และจานควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 95 เปอร์เซ็นต์แสดงว่าที่ความเข้มข้น $3X10^5$ โคนิเดีย/มล. ไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมปลวกใต้ดินเลยซึ่งสอดคล้องกับที่ Youngchaitrakul (1999) ได้รายงานว่าเปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อนแมลงวันสายพันธุ์ *Musca domestica* จะสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเชื้อ *M. anisopliae* เพิ่มมากขึ้นตามลำดับ

จากผลการตรวจสอบขั้นยืนยันผลเมื่อนำปลวกที่ตายจากเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ไปกำจัดเชื้อราที่ปะปนอยู่ภายนอกตัวออกด้วยสารละลาย NaOCl เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ แล้ววางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY เพื่อสังเกตลักษณะของโคโลนีภายในตัวปลวกที่เจริญออกมาพบว่าในวันที่ 1-2 เริ่มมีเส้นใยของโคโลนีสีขาวออกมาคลุมตัวปลวกอย่างช้าๆ จนกระทั่งในวันที่ 3 ตรงศูนย์กลางโคโลนีเริ่มปรากฏโคนิเดียสีเขียวเข้มเล็กน้อยและเด่นชัดมากขึ้นเรื่อยๆ เมื่อโคโลนีอายุมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะโคโลนีที่ Ruchinarong (2002) ได้รายงานว่าโคโลนีของ *M. anisopliae* ที่ปรากฏเริ่มแรกจะเป็นสีขาวแต่เมื่อโคนิเดียเจริญเติบโตเต็มที่จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม

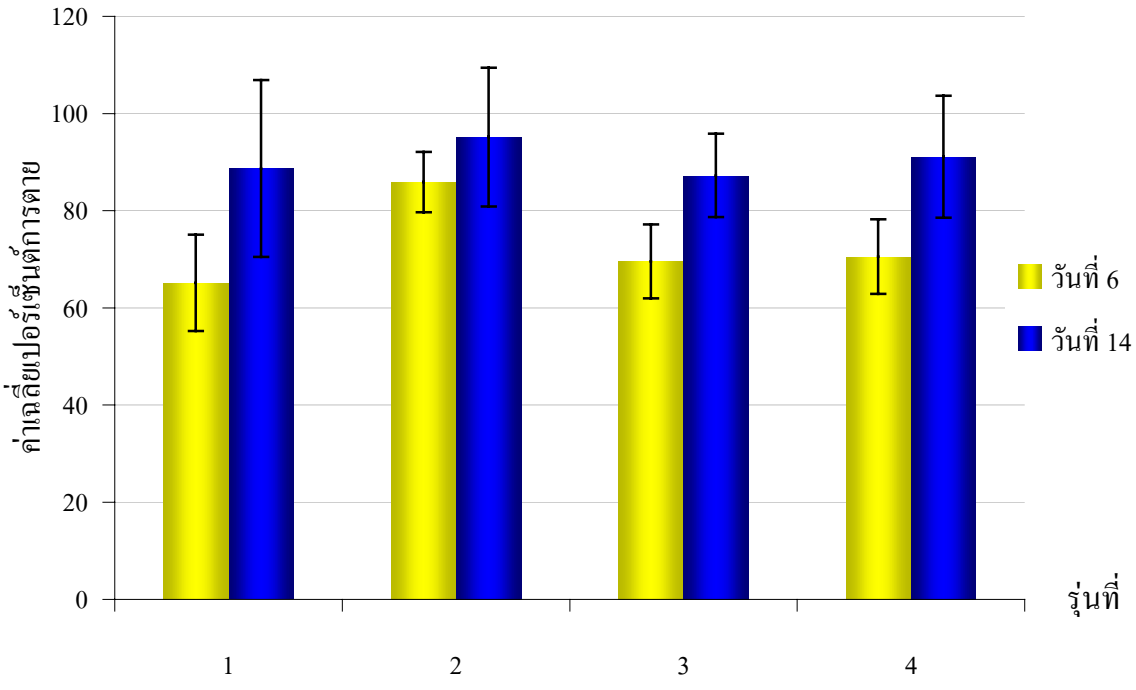
ภาพที่ 15 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ที่เจริญจากปลวกใต้ดิน *Coptotermes gestroi* ที่ตายในขั้นทดสอบยืนยันผล

สุดาภรณ์ (2544) ได้รายงานว่า การถ่ายเชื้อ *Metarhizium* spp. แต่ละรุ่นลงในเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างต่อเนื่องจะทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะเพิ่มสูงขึ้น จึงได้นำเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่ความเข้มข้น $3X10^8$ โคนิเดีย/มล. ไปทดสอบประสิทธิภาพเพื่อใช้ควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* ติดต่อกันอีก 3 รุ่น ในจานแก้วทดสอบที่เลี้ยงปลวกจำนวน 50 ตัวต่อชุดการทดลอง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าในเชื้อ รุ่นที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายที่ 14 วัน เท่ากับ 88.66, 95.16, 87.24 และ 91.13 ตามลำดับ และเมื่อนำค่าดังกล่าวไปประมวลผลทางสถิติเชิงเปรียบเทียบค่าความแปรปรวนเฉลี่ย (ANOVA) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ทั้ง 4 รุ่นไม่ได้ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยของปลวกลดลงแต่ประการใด (ตารางที่ 7 และภาพที่ 16) ซึ่งให้ผลแตกต่างกับ Krutmuang (1996) ที่ได้รายงานว่ารุ่นของเชื้อ *M. anisopliae* มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์การตายของปลวก *Coptotermes sp.* และ *Microcerotermes sp.* แต่ผลการวิเคราะห์นี้ผู้วิจัยไม่ได้นำไปจัดกลุ่มด้วยวิธี DMRT ซึ่งค่าที่พบนั้นไม่มีแนวโน้มว่าจะเพิ่มหรือลดลงแต่ประการใดและมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของปลวกใต้ดิน *Coptotermes gestroi* ที่ได้รับเชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ทั้ง 4 รุ่น

เชื้อ *M. anisopliae* (CKM048)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตาย (±SD)	
รุ่นที่	วันที่ 6	วันที่ 14
1	65.18±18.20 [b]	88.66±9.92 [a]
2	85.89±6.21 [a]	95.16±6.21 [a]
3	69.55±8.56 [ab]	87.24±7.61 [a]
4	70.56±12.54 [ab]	91.13±7.68 [a]

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์โดย DMRT



ภาพที่ 16 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของปลวกใต้ดิน *Coptotermes gestroi* ที่ได้รับเชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ทั้ง 4 รุ่น

4. <u>การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* (CKM048) เพื่อใช้ลดการเข้าทำลายไม้ของปลวกใต้ดินในสภาวะเลียนแบบธรรมชาติ</u>

จากการนำเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงชนิด *M. anisopliae* (CKM048) ซึ่งมีความสามารถในการเข้าควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* มากที่สุด มาทดสอบประสิทธิภาพในการลดการเข้าทำลายไม้ยางพาราในสภาวะเลียนแบบธรรมชาติ โดยเลี้ยงปลวกจำนวน 300 ตัวต่อชุดการทดลองในกล่องพลาสติกทรงกลมที่ใช้ทรายปลอดเชื้อเป็นวัสดุรองพื้น จากนั้นวางไม้ทดสอบที่ทราบน้ำหนักแห้งลงในด้านซ้ายของกล่องทดสอบของทุกชุดการทดลองที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส สภาวะปราศจากแสง พบว่าในจานควบคุมที่ไม่มีการใส่ปลวกลงในกล่องทดสอบ (ชุดการทดลองที่ 1) มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้ในเดือนที่ 1 และ 2 เท่ากับ 0.06 และ 0.13 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในกล่องทดสอบที่มีการเลี้ยงปลวกโดยไม่มีการลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลง (ชุดการทดลองที่ 2 และ 5) มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้ในเดือนที่ 1 และ 2 เท่ากับ 5.36 และ 9.74 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในเดือนที่ 1 และ 2 เท่ากับ 87.33 และ 74.22 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในกล่องทดสอบที่เลี้ยงปลวกและลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่ความเข้มข้น $6X10^{8}$ โคนิเดีย/มล. แบบฉีดพ่น (ชุดการทดลองที่ 3 และ 6) มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้ในเดือนที่ 1 และ 2 เท่ากับ 1.62 และ 2.27 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในเดือนที่ 1 และ 2 เท่ากับ 0.00 เปอร์เซ็นต์เท่ากันทั้ง 2 เดือน สำหรับในกล่องทดสอบที่เลี้ยงปลวกและวางเหยื่อล่อ *M. anisopliae* (CKM048) (ชุดการทดลองที่ 4 และ 7) มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้ในเดือนที่ 1 และ 2 เท่ากับ 5.11 และ 8.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในเดือนที่ 1 และ 2 เท่ากับ 60.33 และ 55.78 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 8, 9 และภาพที่ 17, 18)

เมื่อนำค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้ในเดือนที่ 1 ไปประมวลผลทางสถิติเชิงเปรียบเทียบค่าความแปรปรวนเฉลี่ย (ANOVA) แล้วพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่ามีชุดการทดลองอย่างน้อย 1 ชุด ที่ทำให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้แตกต่างจากชุดการทดลองอื่น จึงได้แบ่งกลุ่มโดยจัดเรียงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้จากน้อยไปหามากตามวิธี DMRT จากชุดการทดลองทั้งหมด 4 ชุด สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่ม พบว่าจานควบคุมซึ่งไม่มีการใส่ปลวกลงในกล่องทดสอบและกล่องเลี้ยงปลวกที่มีการใช้ *M. anisopliae* (CKM048) แบบฉีดพ่นถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันแสดงว่าวิธีการลงเชื้อแบบฉีดพ่นสามารถช่วยลดการเข้าทำลายไม้ของปลวกได้จริง ส่วนในกล่องเลี้ยงปลวกที่มีการใช้ *M. anisopliae* (CKM048) แบบเหยื่อล่อและกล่องเลี้ยงปลวกปกตินั้นถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันแสดงว่าวิธีการใช้เชื้อแบบเหยื่อล่อไม่ได้ช่วยลดการ

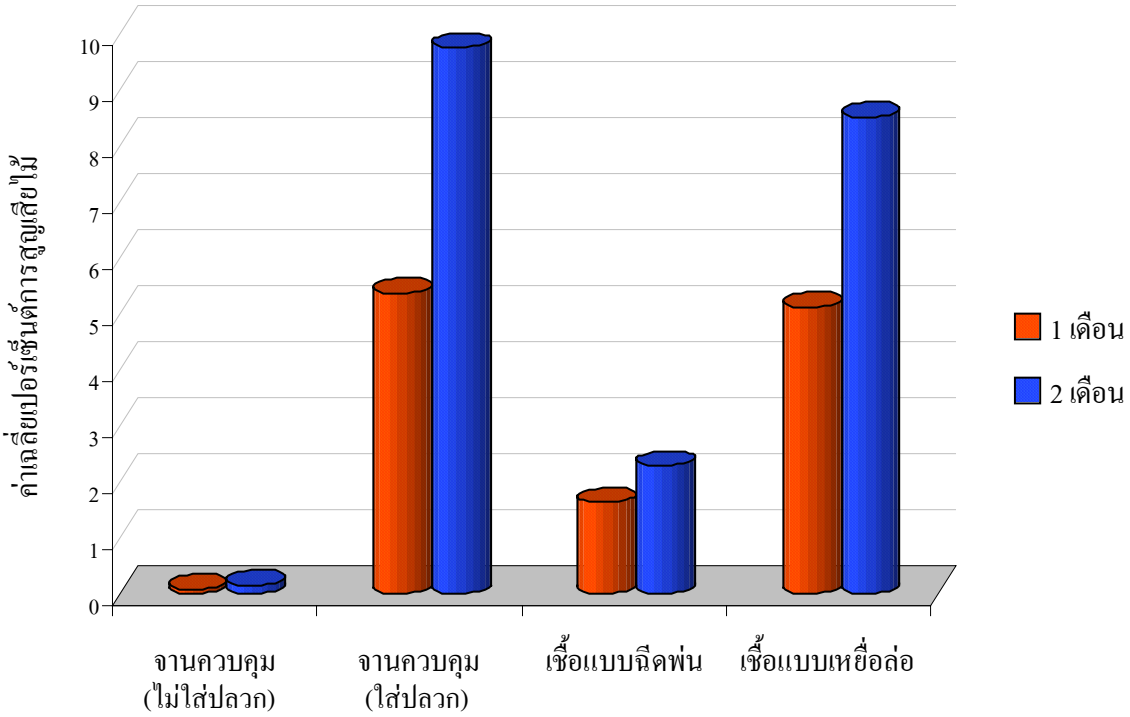
เข้าทำลายไม้ของปลวกเลย ซึ่งผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในเดือนที่ 2 ก็ให้ผลการจัดกลุ่มของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้สอดคล้องเหมือนกับเดือนที่ 1 ทุกประการ

ในขณะที่เมื่อนำค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของปลวกในเดือนที่ 1 ไปประมวลผลทางสถิติเชิงเปรียบเทียบค่าความแปรปรวนเฉลี่ย (ANOVA) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่ามีชุดการทดลองอย่างน้อย 1 ชุด ที่ทำให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดแตกต่างจากชุดการทดลองอื่น จึงได้แบ่งกลุ่มโดยจัดเรียงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้จากน้อยไปหามากตามวิธี DMRT จากชุดการทดลองทั้งหมด 3 ชุดการทดลอง สามารถจำแนกกลุ่มได้ 3 กลุ่ม พบว่าวิธีการใช้ *M. anisopliae* (CKM048) แบบฉีดพ่นทำให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของปลวกมีน้อยที่สุดเหมาะสมที่จะใช้ควบคุมปลวกใต้ดินมากที่สุด ลำดับที่ 2 รองลงมาคือการใช้ *M. anisopliae* (CKM048) แบบเหยื่อล่อ และลำดับสุดท้ายเป็นจานควบคุมที่ไม่ลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงและเมื่อนำค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของปลวกในเดือนที่ 2 ไปประมวลผลทางสถิติโดยวิธีเดียวกันพบว่าให้ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของปลวกเหมือนกับเดือนที่ 1 ทุกประการ

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้จากปลวกใต้ดิน *Coptotermes gestroi* หลังจากการใช้เชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ทั้ง 2 กรรมวิธี ที่ 1 และ 2 เดือน

	เปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้เฉลี่ย (±SD)	
	1 เดือน	2 เดือน
1. ไม้ control (ไม่ใส่ปลวก)	0.06 ± 0.05^{a}	0.13 ± 0.06^{a}
2. ไม้ control (ใส่ปลวก)	5.36 ± 1.40^{b}	9.74 ± 1.46^{b}
3. ไม้ ปลวก และ *M. anisopliae* แบบฉีดพ่น	1.62 ± 0.52^{a}	2.27 ± 0.95^{a}
4. ไม้ ปลวก และ *M. anisopliae* แบบเหยื่อล่อ	5.11 ± 2.25^{b}	8.50 ± 1.62^{b}

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์โดย DMRT

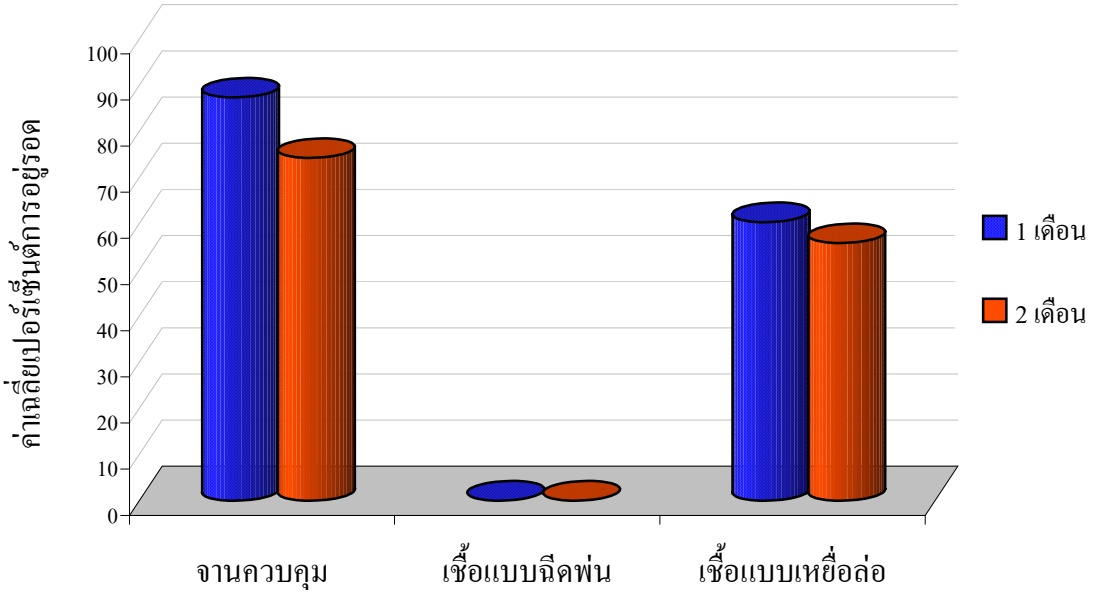


ภาพที่ 17 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม้จากปลวกใต้ดิน *Coptotermes gestroi* หลังจากการใช้เชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ทั้ง 2 กรรมวิธี ที่ 1 และ 2 เดือน

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ที่มีผลต่อการอยู่รอดของปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *Coptotermes gestroi* ในสภาวะเลียนแบบธรรมชาติ

	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด (±SD)	
	1 เดือน	2 เดือน
1. ปลวก (control)	87.33±4.81^{c}	74.22±13.00^{c}
2. ปลวก และ *M. anisopliae* แบบฉีดพ่น	0.00±0.0^{a}	0.0±0.0^{a}
3. ปลวก และ *M. anisopliae* แบบเหยื่อล่อ	60.33±5.61^{b}	55.78±6.78^{b}

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์โดย DMRT

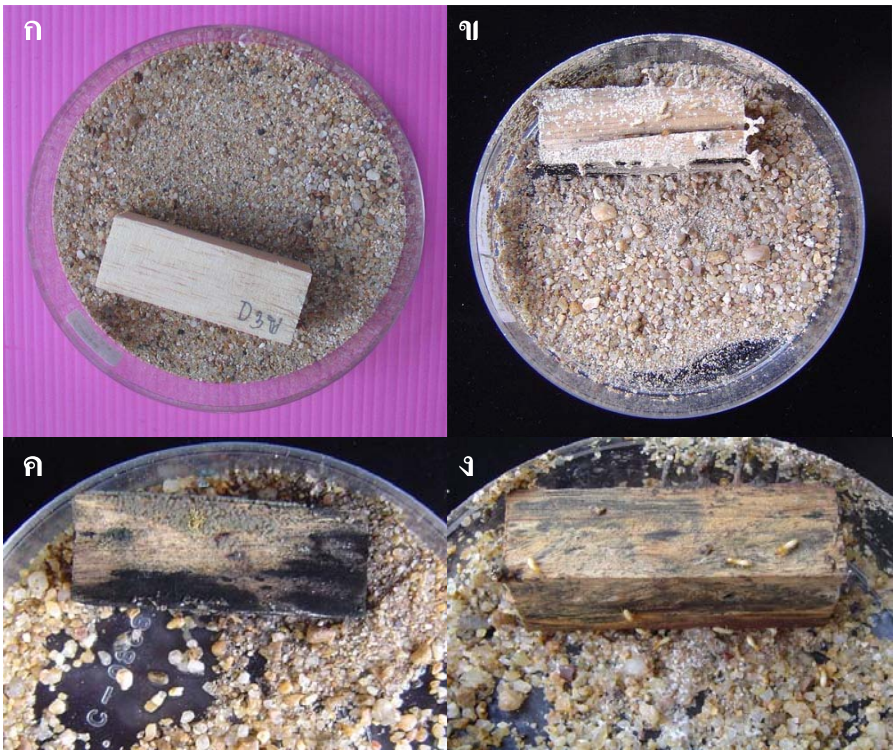


ภาพที่ 18 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ที่มีผลต่อการอยู่รอดของปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *Coptotermes gestroi* ในสภาวะเลียนแบบธรรมชาติ

จากการสังเกตพฤติกรรมของปลวก *C. gestroi* ที่มีต่อไม้ทดสอบจะเห็นว่าปลวกจะเดินเข้าหาและกัดแทะไม้อย่างรวดเร็วเมื่อถูกปล่อยลงไปในกล่องทดสอบ จนเมื่อทำการลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ทั้ง 2 กรรมวิธีลงในกล่องทดสอบจะพบว่าในกรรมวิธีที่ 1 การลงเชื้อแบบฉีดพ่นปลวกส่วนใหญ่จะงดกิจกรรมอื่นชั่วคราวและเดินเข้ามาสัมผัสเชื้อที่ฉีดพ่นส่งผลให้เกิดปลวกตายได้มากเนื่องจากปลวกมีโอกาสที่จะสัมผัสเชื้อได้มากกว่ากรรมวิธีแบบเหยื่อล่อ ส่วนในกรรมวิธีที่ 2 การลงเชื้อแบบเหยื่อล่อพบว่าปลวกส่วนใหญ่ที่อยู่ในวัสดุเลี้ยงจะเดินเข้าหาเหยื่อที่มีความเปียกอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกันแต่สักครู่ก็จะเดินกลับไปทำกิจกรรมอื่นตามเดิมส่วนปลวกที่ทำกิจกรรมอยู่บนไม้ก็ไม่ได้ลงมาหาเหยื่อล่อเพื่อสัมผัสหรือกินเหยื่อทำให้พบการตายของปลวกน้อยกว่าในกรรมวิธีแรก ซึ่งสอดคล้องกับที่ มะลิวัลย์ (2534) ได้รายงานว่าการเข้าทำลายแมลงอาศัยของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงส่วนใหญ่จะเข้าทางผิวลำตัวมากกว่าทางการกิน

ลักษณะภายนอกของไม้ทดสอบที่ถูกเข้าทำลายโดยปลวกในครั้งนี้ (ภาพที่ 19) พบว่าในกล่องทดสอบที่ไม่ได้ลงเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงไม้จะถูกกัดเป็นรูกลวงภายในเนื้อไม้ต่อเนื่องกันเป็นโพรงทำให้เกิดเป็นซอกหลืบและยังมีการสร้างรังโดยการนำดินขึ้นมาก่อสร้างโครงร่างดินมี

ลักษณะแข็งคล้ายปะการังหรือฟองน้ำซึ่งถือว่าเป็นลักษณะเฉพาะตัวของการเข้าทำลายของปลวกใต้ดินตามขอบไม้ยางพาราหรือบริเวณรอบขอบของกล่องทดสอบซึ่งลักษณะของการทำทางเดินดินและการสร้างรังที่ปรากฏในจานควบคุมมีความคล้ายคลึงกับในกล่องทดสอบที่มีการลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) แบบเหยื่อล่อ แต่ในกรรมวิธีการลงเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) แบบฉีดพ่นจะเห็นว่ามีการเข้าทำลายไม้ของปลวกเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และยังพบว่าในกล่องทดสอบที่มีการลงเชื้อแบบกรรมวิธีฉีดพ่นส่วนใหญ่จะมีเชื้อราเจริญบนไม้ภายหลังปลวกตายทั้งรัง 1 – 2 สัปดาห์ ซึ่งเป็นที่น่าสนใจว่าเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ที่จะใช้เพื่อช่วยลดการเข้าทำลายไม้ของปลวกนั้นอาจเป็นส่วนหนึ่งที่สามารถชักนำราชนิดอื่นให้เข้ามาเจริญในพื้นที่ที่มีการลงเชื้อได้หรือไม่



<u>ภาพที่ 19</u> สภาพของไม้ยางพาราในจานทดสอบ

(ก) ก่อนเริ่มการทดสอบ

(ข) หลังจากการเลี้ยงปลวกระยะเวลา 2 เดือน

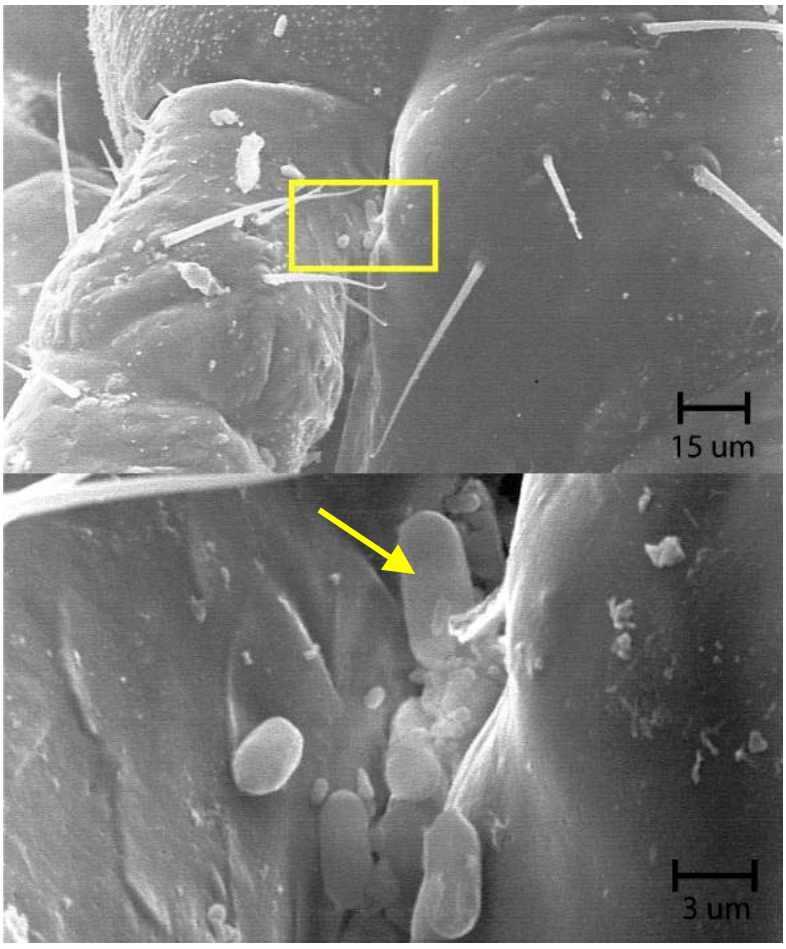
(ค) ลงเชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) แบบฉีดพ่น

(ง) ลงเชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) แบบเหยื่อล่อ

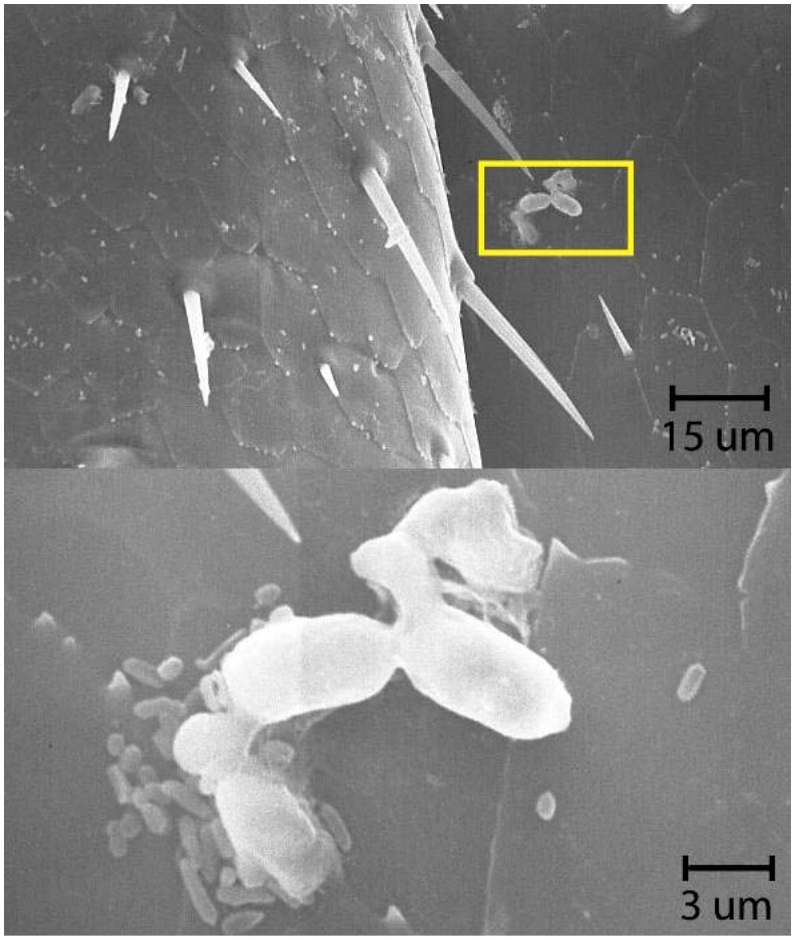
5. ลักษณะการก่อให้เกิดโรคในปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* ของเชื้อรา *M. anisopliae* (CKM048) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด

จากการศึกษาลักษณะการเจริญภายนอกของเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) บนปลวกใต้ดิน *C. gestroi* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด SEM เก็บตัวอย่างปลวกจำนวน 24 ตัว ไปผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างก่อนการดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM ที่ระยะเวลาต่างๆ กันคือ 1, 48, 96, 168, 216 และ 336 ชั่วโมง พบว่าระยะการก่อให้เกิดโรค (disease phase) ของเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ในชั่วโมงที่ 1 เชื้อเข้าสู่ระยะ adhesion โดยโคนิเดียที่ทำการฉีดพ่นลงไปเข้ายึดเกาะบริเวณผิวลำตัวของแมลง (ภาพที่ 20) ซึ่งจากผลการทดลองในครั้งนี้พบระยะ adhesion น้อยมาก อาจเนื่องมาจากการรักษาสภาพตัวอย่างในชุดแรกเร็วเกินไปทำให้โคนิเดียบางส่วนยังไม่สามารถเข้ายึดเกาะกับผิวลำตัวแมลงได้ดีทำให้โคนิเดียหลุดออกได้ง่ายในระหว่างการแช่น้ำยาคงสภาพ ในชั่วโมงที่ 48 เชื้อเข้าสู่ระยะ germination และ penetration (ภาพที่ 21 และ 22) สอดคล้องกับที่ Hanel (1981) ได้รายงานว่าเชื้อ *M. anisopliae* มีการพัฒนาเข้าสู่ระยะ germination และ penetration บนปลวก *Nasutitermes exitiosus* (Hill) ในช่วงเวลาระหว่าง 24 – 48 ชั่วโมง โดยตัวโคนิเดียที่เข้ายึดเกาะผนังลำตัวปลวกจะสร้าง germ tube งอกออกมาเพื่อเข้าไปหาแหล่งอาหารภายในตัวปลวก Butt (2002) ได้รายงานว่าในขณะที่ germ tube กำลังงอกเชื้อจะมีการหลั่ง cuticle-degrading enzymes (CDEs) ออกมาย่อยทำลายผนังลำตัวแมลง ซึ่ง Leger *et al.* (1998) ได้รายงานว่าเอ็นไซม์ CDEs ที่เชื้อ *M. anisopliae* สร้างขึ้นประกอบด้วยเอ็นไซม์หลายชนิดเช่น Pr1a, Pr1b, Pr2, metalloproteases, aspartyl proteases, aminopeptidases และ chitinases เป็นต้นเพื่อช่วยในการเปิดช่องให้เชื้อเข้าไปเจริญภายในลำตัวแมลง จากนั้นเชื้อจะเจริญอย่างรวดเร็วเกิดเป็นระยะ colonization ภายในลำตัวปลวกโดยเชื้อจะเข้าทำลาย ระบบโลหิต เนื้อเยื่อ และอวัยวะต่างๆ พร้อมขับสารพิษออกมาจนทำให้ปลวกตาย ส่วนในชั่วโมงที่ 96 และ 168 พบการเจริญของกลุ่มเส้นใยโผล่ (extrusion) ออกมานอกตัวปลวกบริเวณ ปาก ส่วนข้อต่อของขา และฐานรากของตุ่มขน (ภาพที่ 23) ซึ่งสอดคล้องกับ Hanel (1981) ที่ได้รายงานว่าเชื้อ *M. anisopliae* มีการสร้างเส้นใยออกมานอกตัวปลวกในช่วงเวลาระหว่าง 96 – 120 ชั่วโมงหลังจากลงเชื้อ จนปกคลุมปลวกที่ตายมากมาย (ภาพที่ 24 และ 25) จนเข้าสู่ระยะสุดท้าย conidiogenesis โดยส่วนปลายของเส้นใยจะมีการสร้างโคนิเดียมากมาย ซึ่งสอดคล้องกับ Neves *et al.* (2004) ได้รายงานว่าเชื้อ *M. anisopliae* จะเข้าสู่ระยะ conidiogenesis บนปลวก *Cornitermes cumulans* (Kollar) ในช่วงเวลาระหว่าง 144 – 166 ชั่วโมงหลังจากทำการลงเชื้อ สำหรับตัวอย่างปลวกที่เก็บในชั่วโมงที่ 216 – 336 ก็พบเชื้อในระยะ conidiogenesis เช่นเดียวกัน (ภาพที่ 26) แต่อาจพบการเจริญของเชื้อราชนิดอื่นที่เป็น secondary infection ได้อีกด้วย

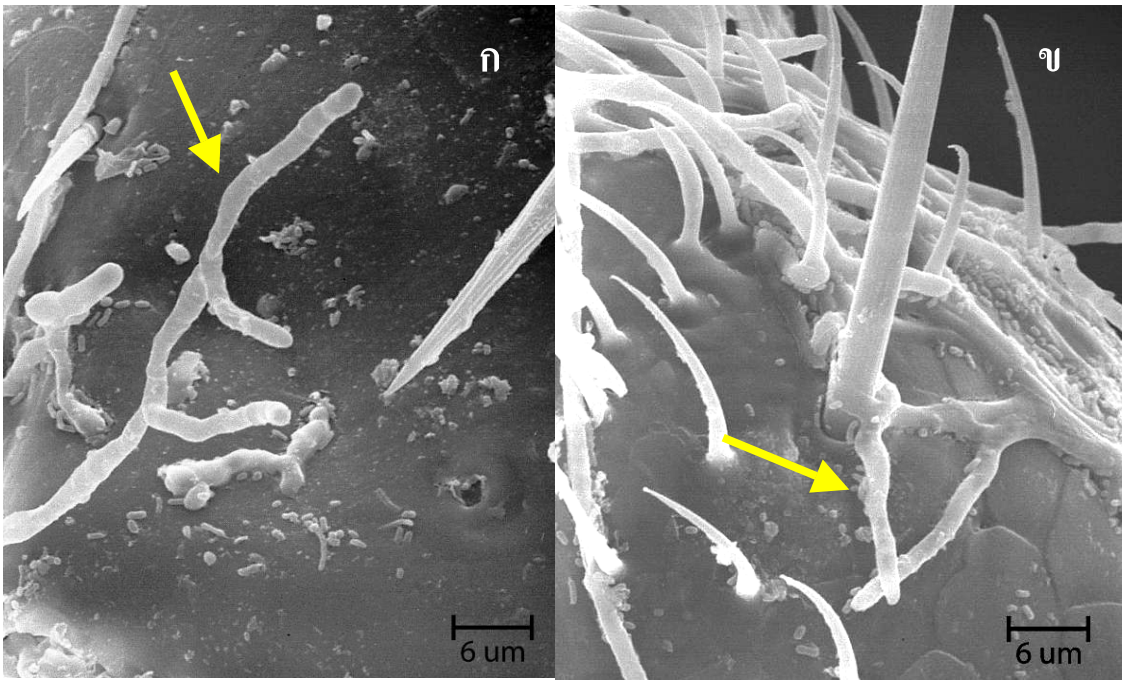
จากการศึกษาลักษณะการก่อให้เกิดโรคของเชื้อ *M. anisopliae* (CKM 048)ในครั้งนี้พบว่าโคนิเดีย ที่ปรากฏและเห็นเด่นชัดในระยะ conidiogenesis มีขนาดเล็กและมีความยาวประมาณ 5 – 8 μm ซึ่งจัดเป็นเชื้อ *M. anisopliae var. anisopliae* เนื่องจากลักษณะของโคนิเดียซึ่งให้ผลสอดคล้องกับที่ Krutmuang (1996) ได้รายงานว่า เชื้อ *M. anisopliae var. anisopliae* มีโคนิเดียขนาดเล็กและมีความยาวประมาณ 3 – 9 μm แตกต่างจากเชื้อ *M. anisopliae var. majus* ที่มีโคนิเดีย ขนาดใหญ่กว่าและยาวประมาณ 10 – 15 μm ซึ่งเชื้อ *M. anisopliae var. anisopliae* นับว่าเป็นสายพันธุ์ที่เข้าควบคุมปลวกได้เป็นอย่างดี



ภาพที่ 20 เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ในระยะ adhesion ที่เข้ายึดเกาะบริเวณส่วนหัวด้านหน้าใกล้ฐานหนวด



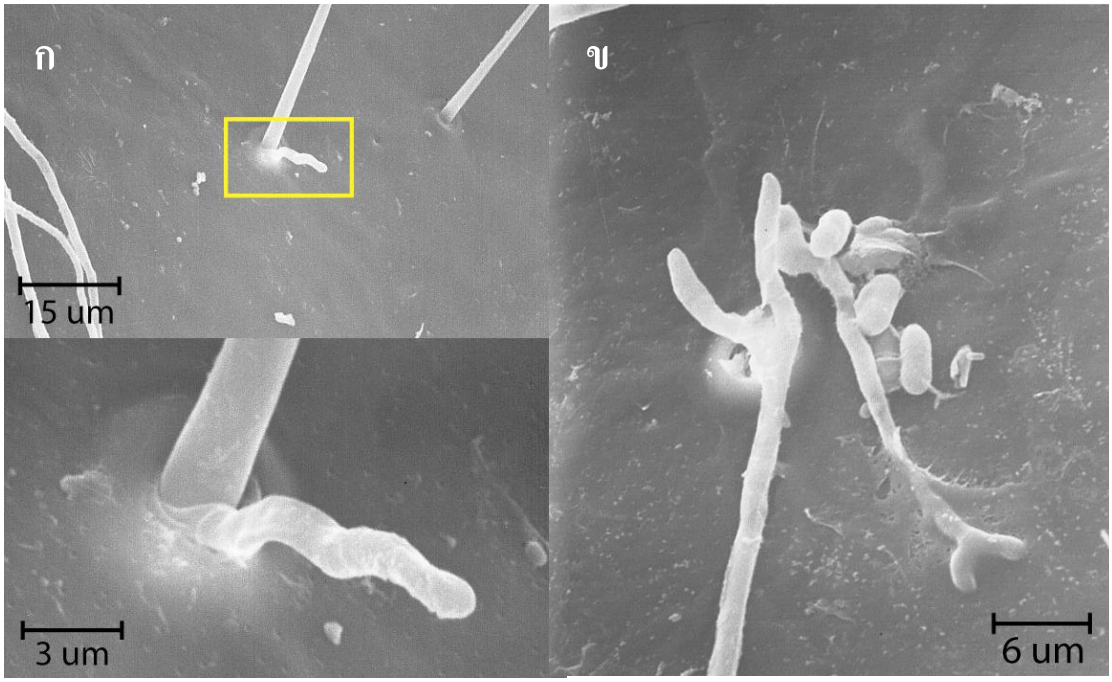
ภาพที่ 21 เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ในระยะ germination บริเวณส่วนท้องใกล้ระยางค์คู่สุดท้าย



ภาพที่ 22 เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ในระยะ penetration

(ก) บริเวณปล้องท้อง

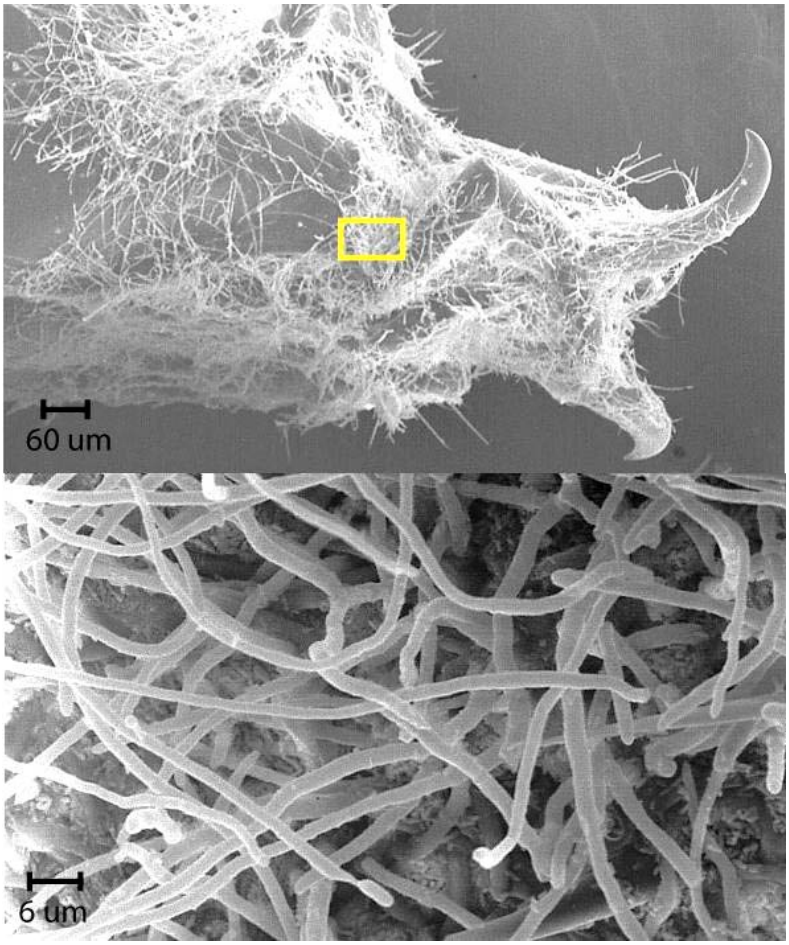
(ข) บริเวณส่วนหัว



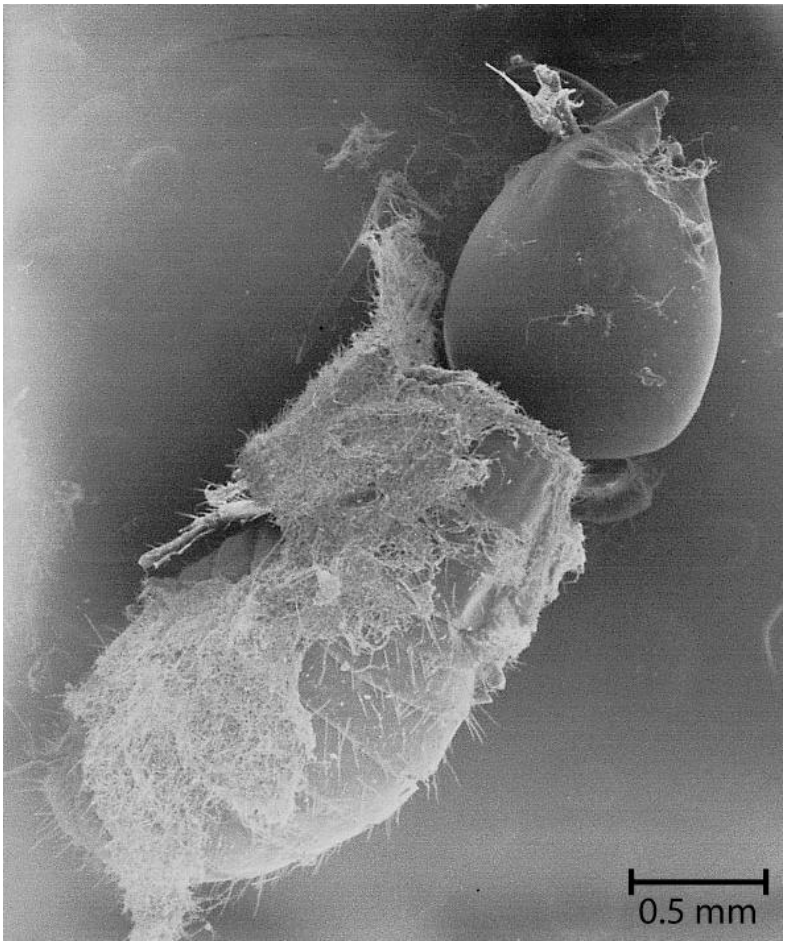
ภาพที่ 23 เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ในระยะ extrusion

(ก) บริเวณส่วนหัวด้านหน้า

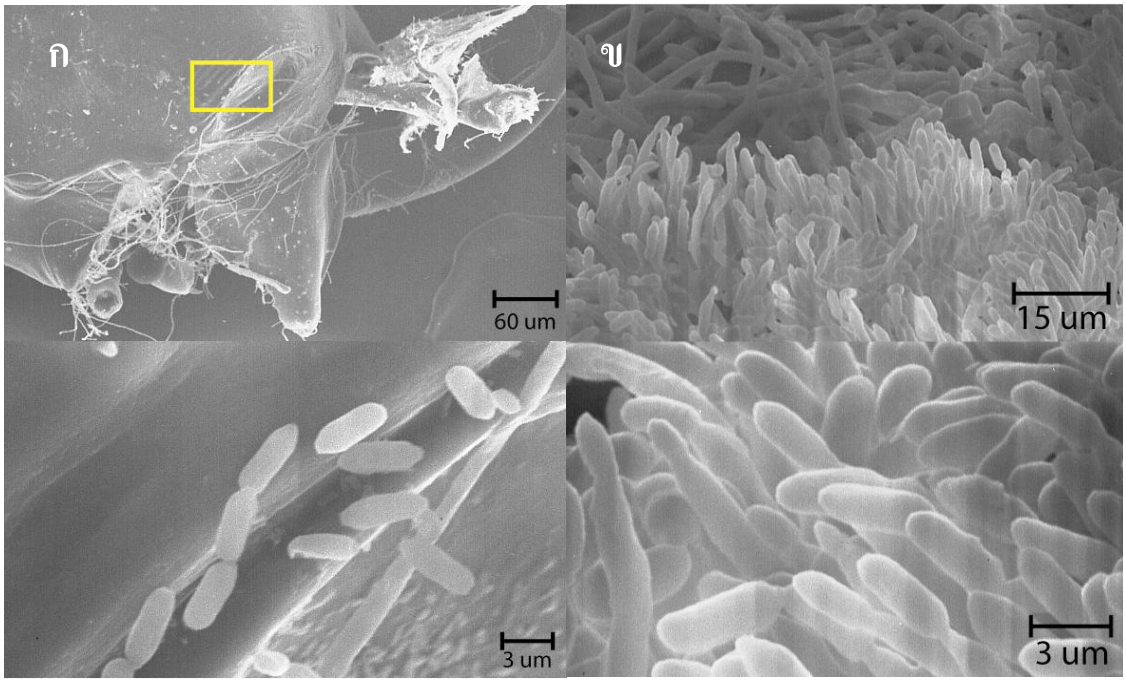
(ข) บริเวณส่วนหัวด้านท้าย



<u>ภาพที่ 24</u> การเจริญของกลุ่มเส้นใยเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (CKM048) บริเวณส่วนหัว



<u>ภาพที่ 25</u> ปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *Coptotermes gestroi* ที่ถูกปกคลุมไปด้วยเส้นใยของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (CKM048)



ภาพที่ 26 เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ในระยะ Conidiogenesis

(ก) บริเวณเบ้าตาในส่วนหัวด้านหน้า

(ข) บริเวณส่วนต่อระหว่างส่วนหัวกับปล้องอก

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. เชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *Coptotermes gestroi* สูงที่สุด จากการทดสอบเชื้อราที่คัดเลือกมาจำนวน 6 สายพันธุ์ โดยให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายที่ 14 วันประมาณ 73 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น $1X10^8$ โคนิเดีย/มล. ในจานแก้วทดสอบที่เลี้ยงปลวกจำนวน 50 ตัวต่อชุดการทดลอง

2. เชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสโดยให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีประมาณ 6.88 เซนติเมตรหลังจากเลี้ยงบนอาหาร SDAY ที่ปราศจากแสงนาน 14 วัน ลักษณะของโคโลนีเริ่มแรกเป็นสีขาวจนประมาณวันที่ 4 เริ่มปรากฏโคนิเดียสีเขียวเข้มตรงบริเวณศูนย์กลางของโคโลนี

3. ประสิทธิภาพของเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ขึ้นกับความเข้มข้นของโคนิเดียที่ใช้และความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการใช้ควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *C. gestroi* คือ $3X10^8$ โคนิเดีย/มล. โดยให้เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยที่ 14 วัน ประมาณ 89 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อทั้ง 4 รุ่นก็ให้ประสิทธิภาพในการเข้าควบคุมปลวกเท่าเทียมกัน

4. การใช้เชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) เพื่อช่วยลดการเข้าทำลายไม้และลดประชากรที่มีชีวิตของปลวกใต้ดินในสภาวะเลียนแบบธรรมชาติโดยกรรมวิธีแบบฉีดพ่นให้ประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้เชื้อโดยกรรมวิธีแบบเหยื่อล่อ และผลจากการทดสอบไม่พบปลวกเหลือชีวิตรอดในกล่องทดสอบเลยเมื่อใช้เชื้อแบบฉีดพ่นที่ความเข้มข้น $6X10^8$ โคนิเดีย/มล. ในกล่องทดสอบที่เลี้ยงปลวกจำนวน 300 ตัวต่อชุดการทดลอง ในระยะเวลา 1 เดือน

5. จากการศึกษาระยะการก่อให้เกิดโรคของเชื้อ *M. anisopliae* (CKM048) ต่อปลวกใต้ดินภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด สามารถแบ่งได้เป็นลำดับขั้นตอนกว้างๆ ดังนี้ เริ่มแรกภายใน 1 – 48 ชั่วโมง พบเชื้อในระยะ adhesion, germination และ penetration ต่อมาในเวลา 96 – 168 ชั่วโมง เชื้อเข้าสู่ระยะ colonization จนทำให้ปลวกตายและมีการเจริญของเส้นใยปกคลุมตัวปลวก จนสุดท้ายที่ 216 – 336 ชั่วโมงจะพบระยะ conidiogenesis เด่นชัด

ข้อเสนอแนะ

1. การนำปลวกใต้ดินมาใช้ในการทดสอบไม่ควรเลี้ยงรอก่อนการทดสอบนานเกิน 3 เดือน เนื่องจากตัวปลวกจะอ่อนแอและตายได้ง่าย สามารถสังเกตได้จากสีของลำตัวปลวกหากเป็นปลวกที่ไม่แข็งแรงจะมีสีขุ่นไม่ใสเหมือนปลวกที่แข็งแรงตามปกติ

2. การให้น้ำปลวกใต้ดินในจานหรือกล่องทดสอบที่ใส่เพียงกระดาษกรองนั้นควรสังเกตและกะปริมาณน้ำให้เหมาะสม เนื่องจากกระดาษกรองไม่สามารถอุ้มน้ำได้ดีเท่าเม็ดดิน อาจทำให้น้ำซึมออกมาท่วมตัวปลวกจนจมน้ำตายได้ สามารถสังเกตปลวกที่ตายด้วยสาเหตุจากน้ำได้จากลักษณะตัวตายที่จะบวมขึ้นเล็กน้อยสีซากจะออกขาวเหลือง

3. การใช้เชื้อรา *M. anisopliae* (CKM048) แบบเหยื่อล่อควรมีการพัฒนาตัวเหยื่อล่อให้มีความสามารถในการดึงดูดหรือล่อให้ปลวกเข้ามากินและสัมผัสนำเชื้อรากลับไปแพร่กระจายภายในรังของปลวกที่อาศัยอยู่ใต้ดินให้มากกว่าเหยื่อล่อที่ทำจาก cellulose powder เพราะการใช้เชื้อแบบเหยื่อล่อทำให้เกิดเชื้อราบนเนื้อไม้น้อยกว่าการใช้เชื้อแบบฉีดพ่น ถึงแม้จะให้ประสิทธิภาพน้อยกว่าแต่หากมีการเพิ่มความเข้มข้นโคนิเดียของเชื้อราคาดว่าจะได้ประสิทธิภาพสูงขึ้น

4. ควรทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* (CKM048) กับสารเคมีหรือสารจากธรรมชาติชนิดอื่นเพื่อศึกษาความสามารถในการเข้าควบคุมปลวกใต้ดินว่ามีข้อดีและข้อด้อยแตกต่างกันอย่างไรก่อนนำไปประยุกต์ใช้ในสภาพความเป็นจริง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

คมกฤช เพียภูเขียว. 2539. **ประสิทธิภาพของการผสมสายพันธุ์เชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ต่อการเข้าทำลายไข่ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*).** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จารุณี วงศ์ข้าหลวง. ม.ป.ป.. **การป้องกันและกำจัดศัตรูทำลายไม้.** ฝ่ายวิจัยป้องกันรักษาเนื้อไม้ กองวิจัยผลิตผลป่าไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

_____. 2539. ปลวก (Termites), น. 417-429. ใน**เอกสารสืบเนื่องจากการสัมมนาเรื่องความหลากหลายทางชีวภาพ-การใช้ประโยชน์-การอนุรักษ์-การวิจัย**. มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____และ ยุพาพร สรนุวัตร. 2544. **ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับปลวกและการป้องกันกำจัด**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักสารนิเทศ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

_____และ ยุพาพร สรนุวัตร. 2546. **ปลวก และบทบาทในระบบนิวศน์**. พิมพ์ครั้งที่ 1. อักษรสยามการพิมพ์, สำนักวิจัยเศรษฐกิจและผลิตผลป่าไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2544. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

นิรนาม. 2543. ปลวก. **จดหมายข่าว วท. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม** 3(7): 6-8.

พจน์ อนุวงศ์. 2508. **ปลวกกับการป้องกันไม้ และอาคารบ้านเรือน**. หมวดอาบน้ำยาไม้ กองค้นคว้า กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตร, กรุงเทพฯ.

เพชร. 2541. **"ปลวก" วัฏจักรในกองดิน.** Advanced Thailand Geographic. แหล่งที่มา: http://web.ku.ac.th/schoolnet/snet4/anatomy/bug.htm, 14 ธันวาคม 2546.

ไพฑูรย์ เล็กสวัสดิ์. 2544. **สัณฐานวิทยาภายนอก และการจัดจำแนกแมลง**. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

มยุรา สุนย์วีระ. 2535. **กีฏวิทยาทางการเกษตร**. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ

มะลิวัลย์ ปันยารชุน. 2534. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้เชื้อรา, น. 167-177. ใน กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ, ผู้รวบรวม. **การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี**. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ยุพาพร สรนุวัตร. 2542. **การศึกษาและการจำแนกชนิดปลวก**. ส่วนวิจัยและพัฒนาผลิตผลป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

วาสนา ฉัตรดำรง. 2544. **ราวิทยาเบื้องต้น**. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.

ศานิต รัตนภุมมะ. 2546. **กีฏวิทยาแม่บท**. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สมศักดิ์ ศิวิชัย. 2544. เชื้อราทำลายแมลง. **วารสารชีวปริทรรศน์** 3(3): 9-12.

สุดาภรณ์ ใจชื่น. 2544. **การควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*, Staal) ในข้าวโดยชีววิธีด้วย *Metarhizium* spp.**.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภกิจ สุขใจมิตร. 2532. **อิทธิพลของ antagonistic plants และเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp.**.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เสาวภา สนธิไชย. 2536. **ชีววิทยาของแมลง เล่มที่ 2**. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

อนุชา ธีรวุฒิธร. 2537. **ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ต่างสายพันธุ์ในการเข้าทำลายไข่ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*)**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Ahmad, M. 1965. Termites (Isoptera) of Thailand**. Bulletin of the American museum of natural history** vol. 131(1965): 1-114.

Brenton, P.C., J. King and F.R. Wylie. 2001. **Treating Subterranean Termite attacks in Buildings**. Available Source: http://www.dlgp.qld.gov.au/building_codes/, November 7, 2003.

Brown, A.H. and G. Smith. 1957. The genus *Paecilomyces* Bainier and its perfect stage Byssochlamys Westling. Trans. Brit. **Mycol. Soc.** 40: 17-49

Butt, T.M. 2002. Use of Entomogenous Fungi for the Control of Insect Pests, pp. 111-134. In K. Esser and J.W. Bennett, eds. **The Mycota vol. 6 A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research**. Springer, Berlin.

_____, C.W. Jackson and N. Magan. 2001. **Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential**. CABI Publishing, UK.

Dent, D. and Nina Jenkins. n.d. **Safety, Specificity and Distribution of Fungal Isolates**. London, UK.

Domsh, K.H., W. Gams and T.H. Anderson. 1980. **Compendium of Soil Fungi. Vol. I.** Academic Press, London.

Donald, R.W. 1981. Toxins of entomopathogenic fungi, pp. 441-463. In H.D. Burgus, ed. **Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980**. Academic Press, London.

Enenwan, I.N., Butt T.M., McCartney A., Oyejola B, Ibrahim L., Pye B.J. and S. Archar. 2000. Effect of formulation, application and rain on the persistence of entomopathogenous fungus on oilseed rape. **Mycology Research** 103(1): 653-661.

Hall, F.R., and Julius J. Menn. 1998. **Biopesticides Use and Delivery**. 1nd ed. Humana Press. Totowa, New Jersey.

Hanel, H. 1981. A bioassay for measuring the virulence of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. (fungi imperfect) against the termite *Nasutitermes exitiosus* (Hill) (Isoptera, Termitidae). **Z. Ang. Entomology** 92: 9-18.

Hickin, N.E. 1971. **Termites a world problem.** Hutchinson Benham Ltd., London.

Humber, R.A. 1998. **Entomopathogenic Fungal Identification APA/ESA Workshop**. Available Source: http://www.ppru.cornell.edu/mycology/Insect_mycology.html, December 20, 2003.

Inglis, D.G., Grant M.D., Lawrence M.K. and Mark S.G. 1999. Influence of Oscillating Temperatures on the Competitive Infection and Colonization of the Migratory Grasshopper by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Biological Control** 14(2): 111-120

Inglis, P.W., Bonifácio P. Magalhães and M. Cléria Valadares-Ingilis. 1999. Genetic variability in *Metarhizium flavoviride* revealed by telomeric fingerprinting. **FEMS Microbiology Letters** 179: 49-52.

Jech-Wei, C., Bing-Lan Lui and Yew-Min Tzeng. 1999. Purification and Quantification of destruxins A and B from *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Chromatography A** 830(1): 115-125.

Jenkins, N., Gabriel Heviefo, Jürgen Langewald, A.J. Cherry and C.J. Lomer. 1998. Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides. **Biocontrol/News and Information** 19(1): 21-31.

Jones, S.C. 1991. **Termite Control**. Available Source: http://ohioline.osu.edu/hyg-fact/2000/pdf/2092.pdf, December 20, 2003.

Kershaw, M.J., E.R. Moorhouse, R. Bateman, S.E. Reynolds and A.K. Charnley. 1999. The Role of Destruxins in the Pathogenicity of Three Species of Insect. **Journal of Invertebrate Pathology** 74(3): 213-223.

Krutmuang, P. 1996. **Laboratory studies on Green Muscardine Fungus, *Metarhizium anisopliae* for Control of Termites (Isoptera).** M.S. thesis, Kasetsart University.

Leger R.J., T.M. Butt, R. Staples and D.W. Roberts. 1989. Synthesis of proteins including a cuticle-degrading protease during differentiation of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Exp Mycol** 13: 253-262

Ludmilla, I., Butt T.M, Beckett A. and Clark S.J. 1999. Germination of oil-formulated conidia of the insect-pathogen, *Metarhizium anisopliae*. **Mycology Research** 103(1): 901-907.

Matsumura, E. 1976. **Toxicology of Insecticide.** 2nd ed. Plenum Press Inc., New York.

Milner, R.J. 2000. Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. **Biocontrol/News and Information** 21(2): 47-50.

_____, J.A. Staples and G.G. Lutton. 1997. The Selection of an Isolate of the Hyphomycete Fungus, *Metarhizium anisopliae* for Control of Termites in Australia. **Biological Control** 11(3): 240-247.

_____, S.P. and R. Mortan. 2003. Persistence of Conidia of *Metarhizium anisopliae* in Sugarcane Fields: Effect of isolate and formulation on persistence over 3.5 years. **Biocontrol Science and Technology** 13(5): 507-516.

Moino, A.Jr., Sérgio Batista Alves, Rogério Biaggioni Lopes, Pedro Manuel Oliveira, Janeiro Neves, Roberto Manoel Pereira and Solange Aparecida Vieira. 2002. Extetrnal Development of The Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in The Subterranean termite *Heterotermes tenuis*. **Scientia Agricola** 59 (2): 267-273.

Neves, P.M.O.J. and Sérgio B. Alves. 2004. External Events Related to the Infection Process of *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) by the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassina* and *Metarhizium anisopliae*. **Neotropical Entomology** 33(1): 051-056.

Price, R.E., R.P. Bateman, H.D. Brown, E.T. Butler and E.J. Müller. 1997. Aerial spray trails against brown locust (Locustana pardalina, Walker) nymphs in South Afraica using oil-based formulations of *Metarhizium flavoviride*. **Crop Protection** 16(4): 345-351.

Rath, A.C. 2000. The use of entomopatogenic fungi for control of termites. **Biocontrol Sci. Thechnology** 10: 563-581

Ruchinarong, P. 2002. **Conidia Production of A Green Muscadine fungus, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* on Solid Substrates and Its Efficacy to Control the Termite, *Coptotermes gestroi* (Wasmann).** M.S. thesis, Kasetsart University.

Sakchoowong, W. 1998. **Eeffects of Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin on Teak Defoliator (*Hyblaea puera* Cramer) (Lepidoptera:Noctuidae).** M.S. thesis, Kasetsart University.

Samson, R.A. 1974. *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. **Studies in Mycology** 6: 1-119.

Sideney, B.O., Cindia Mara Miniuk, Neiva Monteiro de Barros and João Lúcio Azevedo. 2001. Growth and Sporulation of *Metarhizium flavoviride* var. *Flavoviride* on Culture Media and Lighting Regimes. **Sci. agric.** 58(3): 613-616.

Sornumat, Y. 1996. **Studies on Damge of Constructions Caused by Subterranean Termites and control in Thailand.** Ph.D. thesis, Kyoto University.

Steinhaus, E.A. 1949. **Principles of Insect Pathology**. Mae Graw-Hill Book Co., New York.

Sun, J., J.R. Fuxa and Gregg Henderson. 2002. Sporulation of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Coptotermes formosanus* and in vitro. **Journal of Invertebrate Pathology** 81(2): 78-85.

_____. 2003. Effect of virulence, sporulation, and temperature on *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* laboratory transmission in *Coptotermes formosanus*. **Journal of Invertebrate Pathology** 84: 38-46.

Tanada, Y. and H.K. Kaya. 1993. **Insect Pathology**. Academic Press, New York.

Wang, C. and J.E. Powell. 2004. Cellulose bait improves the effectiveness of *Metarhizium anisopliae* as a microbial control of termites (Isoptera: Rhinotermitidae). **Biological Control** 30(2): 523-529.

Wasilla, A. 2001. **Microbial Insecticide: *Beauvaria bassiana***. Available Source: http://www.ipmofalaska.homestead.com/files/beauveria.html, May 21, 2004

Watson, J.A.L. and F.J. Gay. 1991. **The insects of Australia Vol I**. 2nd ed. Melbourne University Press, Australia.

Wei-Bing, S. and Ming-Guang Feng. 2004. Lethal effect of *Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari; Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. **Biological Control** 30(2): 165-173.

Yi-Min, H. and J.L. Ko. 2001. Determination of destruxins, cyclic peptide toxins, produced by different strains of *Metarhizium anisopliae* and their mutants induced by ethyl methane sulfonate and ultraviolet using HPLC method. **Toxicon** 39(6): 837-841.

Youngchaitrakul, S. 1999. **An Investigation on the Effect of Using the Fungus, *Metarhizium anisopliae* for Control of House Fly, *Musca domestica* L. (Diptera Muscidae).** M.S. thesis, Kasetsart University.

Zimmermann, G. 1994. Strategies for utilization of entomophatogenic fungi, pp. 67-73. In Proceeding, **Vlth International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control 1994**. Montpellier, France.

ภาคผนวก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

POTATO DEXTROSE AGAR (PDA)

Potato	200.0	g
Dextrose (D-Glucose)	20.0	g
Agar	15.0	g
Distilled water	1000.0	ml

SABOURAUD DEXTROSE AGAR WITH YEAST EXTRACT (SDAY)

Neopeptone (proteose)	10.0	g
Dextrose	40.0	g
Yeast extract	2.0	g
Agar	15.0	g
Distilled water	1000.0	ml

ตารางผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ Analysis of Variance (ANOVA) ของการคัดเลือกเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมปลวกใต้ดินสายพันธุ์ *Coptotermes gestroi*

ALIVE = ค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วัน

MOR 14 = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายในวันที่ 14

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ALIVE	Between Groups	4215.040	6	759.229	43.455	.000
	Within Groups	239.200	28	17.471		
	Total	4454.240	34			
MOR 14	Between Groups	21285.870	6	3547.645	48.519	.000
	Within Groups	2047.33	28	73.119		
	Total	23333.203	34			

ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ Analysis of Variance (ANOVA) ของการคัดเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM 048)

D2 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ยในวันที่ 2

D4 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ยในวันที่ 4

D6 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ยในวันที่ 6

D8 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ยในวันที่ 8

D14 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเฉลี่ยในวันที่ 14

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
D2	Between Groups	3.138	4	0.785	212.037	.000
	Within Groups	7.400E-02	20	3.700E-03		
	Total	3.212	24			
D4	Between Groups	10.912	4	2.728	331.669	.000
	Within Groups	0.164	20	8.225E-02		
	Total	11.076	24			
D6	Between Groups	31.963	4	7.991	685.893	.000
	Within Groups	0.233	20	1.65E-02		
	Total	32.196	24			
D8	Between Groups	51.044	4	12.761	765.893	.000
	Within Groups	0.333	20	1.666E-02		
	Total	51.377	24			
D14	Between Groups	141.013	4	35.253	2522.600	.000
	Within Groups	0.280	20	13.398E-02		
	Total	141.293	24			

ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

<u>ตารางผนวกที่ 3</u> ผลการวิเคราะห์ Analysis of Variance (ANOVA) ของการคัดเลือกความเข้มข้นของเชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ที่เหมาะสมที่สุดในการควบคุมปลวกใต้ดิน

MOR 6 = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายในวันที่ 6

MOR 14 = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายในวันที่ 14

ALIVE = ค่าเฉลี่ยจำนวนปลวกที่อยู่รอดที่ 14 วัน

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ALIVE	Between Groups	6945.360	4	1736.340	212.787	.000
	Within Groups	163.200	20	8.160		
	Total	7108.560	24			
MOR 6	Between Groups	14687.997	4	3671.999	47.564	.000
	Within Groups	1544.034	20	77.202		
	Total	16232.031	24			
MOR 14	Between Groups	28057.172	4	7014.293	211.326	.000
	Within Groups	663.836	20	33.192		
	Total	28721.008	24			

ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

<u>ตารางผนวกที่ 4</u> ผลการวิเคราะห์ Analysis of Variance (ANOVA) ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (CKM048) ทั้ง 4 รุ่นเพื่อใช้ในการควบคุมปลวกใต้ดิน

MOR 6 = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายในวันที่ 6

MOR 14 = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายในวันที่ 14

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MOR 6	Between Groups	1224.938	3	3604.208	46.541	.136
	Within Groups	3064.637	16	77.442		
	Total	4289.575	19			
MOR 14	Between Groups	180.470	3	6917.595	206.916	.441
	Within Groups	1015.614	16	33.432		
	Total	1196.084	19			

ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ Analysis of Variance (ANOVA) ของการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Metarhizium anisopliae* (CKM 048) เพื่อใช้ลดการเข้าทำลายไม้ของปลวกใต้ดินในสภาวะเลียนแบบธรรมชาติ

LOST1 = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายในเดือนที่ 1

LOST1 = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายในเดือนที่ 2

ALIVE1 = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ปลวกที่อยู่รอดที่ 1 เดือน

ALIVE2 = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ปลวกที่อยู่รอดที่ 2 เดือน

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LOST1	Between Groups	61.641	3	20.547	11.211	.000
	Within Groups	14.662	8	1.833		
	Total	76.303	11			
LOST2	Between Groups	197.449	3	65.816	46.580	.000
	Within Groups	11.304	8	1.413		
	Total	208.753	11			
ALIVE1	Between Groups	11996.222	2	5998.111	329.835	.000
	Within Groups	109.111	6	18.185		
	Total	12105.333	8			
ALIVE2	Between Groups	8960.296	2	4480.148	62.915	.000
	Within Groups	427.259	6	71.210		
	Total	9387.556	8			

ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 6 การจัดจำแนกชนิดของเชื้อราในสกุล *Paecilomyces* ตามลักษณะสัณฐานวิทยา

LENGTH of conidia	**SHAPE** of conidia	**COLOR** of conidia or colony	**OTHER CHARACTERS** and other key characters	**SPECIES**
≤ 3.5 μm	long ovoid	Pink-gray, pink-tan, tan, gray; reverse pale to yellow	c' phore smooth and colorless; conidia chains often long and conidia heads diffuse	***fumosoroseus***
	short fusoid, lemon-shaped	Purple-gray, tan, gray; colony reverse may be dark	c' phore often roughened and slightly colorled; conidia heads often compact with short conidia chains	***lilacinus***
	lemon-shaped, short ovoid	White, cream to yellowish; reverse may be yellow	c' phore smooth and colorless	***farinosus***
	subglobose to angular	Pink, red or wine-colored	-	***amoenoroseus***
≥ 5 μm	long ovoid or long fusoid	White / cream	-	***javanicus***

ที่มา : Humber (1998)

ตารางผนวกที่ 7 การจัดจำแนกชนิดของเชื้อราในสกุล *Beauveria* ตามลักษณะสัณฐานวิทยา

LENGTH of conidia	**SHAPE** of conidia	**COLOR** of conidia or colony	**OTHER CHARACTERS** and other key characters	**SPECIES**
≤ 3.5 μm	globose or subglobose	pink-gray, pink-tan, tan, gray; colony reverse pale to yellow	c' phore smooth and colorless; conidia chains often long and conidia heads diffuse	***bassiana***
≥ 5 μm	(distinctly) ovoid	purple-gray, tan, gray; colony reverse may be dark	c' phore often roughened and slightly colorled; conidia heads often compact with short conidia chains	***brongniartii***

ที่มา : Humber (1998)

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวพัชรินทร์ สว่างวัน
วัน เดือน ปี ที่เกิด	14 ธันวาคม 2521
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต โปรแกรมวิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันราชภัฏจันทรเกษม
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ผู้เชี่ยวชาญผลิตภัณฑ์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	บริษัท เวลเท็ค เฮลธ์แคร์ จำกัด
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-