

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เป็นเชื้อราโรคแมลงที่มีการนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตรและปศุสัตว์อย่างแพร่หลาย จากการศึกษาเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 และ PSUM04 ที่เลี้ยงผ่านแมลงอาศัยหอนผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* จำนวน 3, 5 และ 7 ครั้ง และการเลี้ยงบนอาหารเทียมแบบต่อเนื่อง 5 และ 10 ครั้ง ต่อการเปลี่ยนแปลงต่อคุณลักษณะบางประการของเชื้อรา โดยเฉพาะลักษณะทางฟิโนไทป์และจีโนไทป์ เช่น การเจริญของเส้นใย การสร้างสปอร์ กิจกรรมของเอนไซม์ ความรุนแรง และการแสดงออกของยีนส์ พบว่าอัตราการเจริญของเส้นใยของเชื้อราที่เลี้ยงในสภาวะต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกัน โดยเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 ที่เลี้ยงบนอาหารเทียมแบบต่อเนื่อง 10 ครั้ง และเชื้อรา PSUM04 ที่เลี้ยงบนอาหารเทียมแบบต่อเนื่อง 5 ครั้ง มีอัตราการเจริญของเส้นใยค่อนข้างน้อย สำหรับเชื้อราที่เลี้ยงผ่านแมลงอาศัยมีการสร้างสปอร์เป็นจำนวนมากและไม่แตกต่างจากเชื้อราเริ่มต้น ส่วนเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหารเทียมแบบต่อเนื่องมีการสร้างสปอร์จำนวนน้อยสำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ พบว่าเชื้อรา PSUM02 ที่เลี้ยงผ่านแมลงอาศัย 7 ครั้งพบกิจกรรมของเอนไซม์ protease เท่านั้น ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ของเชื้อราที่เลี้ยงในสภาวะอื่นๆ ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ สำหรับเชื้อรา PSUM04 ที่เลี้ยงในสภาวะต่างๆ พบกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิด โดยพบมากในเชื้อราที่เลี้ยงผ่านแมลงอาศัย 5 ครั้ง ความรุนแรงของเชื้อราต่อหอนผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 และ PSUM04 ที่เลี้ยงผ่านแมลงอาศัย 7 ครั้งมีความรุนแรงสูงที่สุด โดยมีค่า LT_{50} เท่ากับ 1.59 และ 1.30 วันตามลำดับ ส่วนเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหารเทียมแบบต่อเนื่องมีความรุนแรงน้อยกว่าเชื้อราที่เลี้ยงผ่านแมลงอาศัย โดยมีค่า LT_{50} น้อยกว่าถึง 3 เท่า ค่าอัตราการรอดชีวิต (AST) ของหอนผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* ที่ถูกเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 และ PSUM04 ที่เลี้ยงผ่านแมลงอาศัย 7 ครั้ง มีค่าน้อยที่สุด คือ 2.29 และ 2.25 วันตามลำดับ ส่วนเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหารเทียมแบบต่อเนื่องมีค่า AST มากกว่าเชื้อราที่เลี้ยงผ่านแมลงอาศัย 7 ครั้งถึง 2.5 เท่า สำหรับการแสดงออกของยีนส์ความรุนแรง *Chi1* และ *Pr1A* ของเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 และ PSUM04 พบว่าเชื้อราที่เลี้ยงผ่านแมลงอาศัยมีปริมาณการแสดงออกของยีนส์ทั้งสองมากกว่าเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหารเทียมแบบต่อเนื่อง การเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเทียมแบบต่อเนื่องเป็นการลดความสามารถในการเกิดโรคและความรุนแรงของเชื้อรา ส่วนการเลี้ยงเชื้อราผ่านแมลงอาศัยสามารถรักษา หรือเพิ่มคุณลักษณะดังกล่าวไว้ได้

คำสำคัญ: *Metarhizium anisopliae*; การเลี้ยงบนอาหารเทียมแบบต่อเนื่อง; การเลี้ยงผ่านแมลงอาศัย; ความรุนแรง; *Corcyra cephalonica*;

Abstract

Metarhizium anisopliae is entomopathogenic fungus used for controlling various agricultural and livestock insect pests. The different culture conditions could affected some properties of the fungus. The phenotypic and metabolic properties (mycelial growth, sporulation, enzyme activity, virulence and gene expression) of *M. anisopliae* PSUM02 and PSUM04 were investigated after successive subcultures on artificial medium (5 or 10 cycles), and after passages through larvae of *Corcyra cephalonica* (3, 5, or 7 cycles). The mycelial growth rates were not in general significantly affected, with the exceptions of PSUM02 subcultured for 10 times and PSUM04 subcultured for 5 times that had slightly low mycelial growth rates. Passages through insect host gave the highest spore productions, similar to stock culture as untreated control, while subculturing on artificial medium lowered spore production several folds. Only after 7 passages through insect host did PSUM02 have protease activity, while other treatments and control had no chitinase or protease activities. Both control and all treatments of PSUM04 had chitinase and protease activities, and these were highest after 5 passages through insect host. The highest virulence on *C. cephalonica* larvae by *M. anisopliae* PSUM02 and PSUM04 was found after 7 passages through insect host, with respective LT_{50} times of 1.59 d and 1.30 d. Successive subculturing lowered the virulence, more than tripling the LT_{50} times relative to the most virulent cases. Average survival time (AST) of *C. cephalonica* infected with *M. anisopliae* PSUM02 and PSUM04 after 7 passages through insect host showed the lowest AST of 2.29 d and 2.25 d. Successive subculturing lowered the virulence, more than 2.5 times the AST relative to the most virulent cases. All case categories of virulence gene, *Chi1* and *Pr1A*, expression showed that the fungal passages through insect host more expressed *Chi1* and *Pr1A* than the fungal successive subculturing on artificial medium. Successive subculturing on artificial medium consistently decreased pathogenicity and virulence relative to stock culture as control, while passages through insect host consistently increased these.

Keywords: *Metarhizium anisopliae*; successive subcultures; passage; virulence; *Corcyra cephalonica*