ABSTRACT

Mosquitoes cause annoyance and are vectors of many medically important diseases. Thus, mosquito controls are needed to reduce numbers of mosquitoes. At present, we begin to pay attention to the biological control because we faced the problem that mosquitoes have developed resistance to chemical agents. This research project was the preliminary study on the isolation of fungi from mosquito larvae collected from aquatic habitats in the northern Thailand, the larvicidal activity of these fungal isolates in laboratory and their growth characteristics. Mosquito larvae samples were collected from 100 aquatic habitats. Thirty two isolates of fungi were isolated from 49 infected cadavers. After the larvicidal activity against laboratory colonies was tested, only 10 isolates exhibited more than 50% mortality. Three isolates were selected according to their high killing ability and obvious sign of fungal infection. The isolate No. 12A-6 appeared to be *Trichoderma viride* had LC_{50} values against *Culex quinquefasciatus, Aedes aegypti, Anopheles dirus,* and *Anopheles minimus* at concentration of 7.16×10^5, 1.29×10^6, 1.40×10^6, and 1.71×10^6 spores/ml, respectively. The optimal conditions for growth was at 20-25 $^{\circ}$C and at pH 5-6. This fungus could assimilate all the carbon and nitrogen sources tested. The isolate No. 10A-15W which was identified as *Beauveria sp.* demonstrated larvicidal activity against all 4 species of mosquito larvae with LC_{50} values at 2.43×10^6,

2.92 x 10^6, 1.18 x 10^6, and 3.96 x 10^6 spores/ml, respectively. The optimal conditions for growth of this fungus was at 20-25 °C and at pH ranges 6-8. This fungal isolate could assimilate all the carbon and nitrogen sources tested. The isolate No. 29B-5W which was identified as *Aspergillus niveus* could kill those 4 species of mosquito larvae with LC_{50} values at 1.79 x 10^4, 1.59 x 10^5, 6.73 x 10^4, and 3.86 x 10^5 spores/ml, respectively. It was believed that the toxin of these two fungal isolates (No. 10A-15W & 29B-5W) might contribute to this larvicidal activity. The optimal conditions for growth of isolate No. 29B-5W was at 25-37°C and at pH range of 5-8. This fungus could also assimilate all the carbon and nitrogen sources tested. Moreover, there were two interesting isolates of fungi which, one was isolate No. 35C-1 which was identified as *Aphanomyces sp.* and the another one was isolate No. 36A-LK which was identified as *Leptolegnia sp.* Both isolates were aquatic fungi which infected mosquito larvae and obviously showed sign of fungal infection in mosquito larvae. The isolate No. 35C-1, *Aphanomyces sp.*, grew well at 20-37 °C and at pH 5-8. Peptone and glucose were used as the sole sources of nitrogen and carbon for growth. Whereas the isolate No. 36A-LK, *Leptolegnia sp.*, grew well at 20-25 °C and at pH 6-8. Peptone was used as the sole source of nitrogen; glucose and maltose were equally excellent as carbon sources.

บทคัดย่อ

ยุงนอกจากจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดความรำคาญแล้วยังเป็นพาหะนำโรคที่สำคัญทางการแพทย์หลายโรค ดังนั้นวิธีควบคุมและกำจัดยุงจึงมีความจำเป็นต้องใช้เพื่อลดจำนวนยุง ในปัจจุบันนี้เราเริ่มหันมาสนใจชีววิธีในการควบคุมและกำจัดยุง เนื่องจากพบปัญหาว่ายุงเริ่มดื้อต่อสารเคมี ดังนั้นการค้นคว้าวิจัยเรื่องนี้จึงเป็นการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการแยกเชื้อราจากลูกน้ำ ซึ่งเก็บจากแหล่งน้ำในเขตภาคเหนือของประเทศไทย ความสามารถในการฆ่าลูกน้ำของเชื้อราที่แยกได้ในห้องปฏิบัติการ และศึกษาคุณลักษณะการเจริญของเชื้อราเหล่านี้ จากตัวอย่างลูกน้ำซึ่งเก็บจากแหล่งน้ำ 100 แหล่ง มีเชื้อรา 32 สายพันธุ์ที่สามารถแยกได้จากลูกน้ำที่ติดเชื้อราจำนวน 49 ตัว หลังจากทดสอบความสามารถในการฆ่าลูกน้ำในห้องปฏิบัติการแล้ว พบว่ามีเพียง 10 สายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติในการฆ่าลูกน้ำได้ และ 3 สายพันธุ์ถูกคัดเลือกเนื่องจากมีความสามารถในการฆ่าลูกน้ำได้สูง และพบลักษณะการติดเชื้อราได้ชัดเจน เชื้อราสายพันธุ์ที่ 12A-6 ซึ่งเป็นชนิด *Trichoderma viride* สามารถฆ่าลูกน้ำยุงชนิด *Culex quinquefasciatus, Aedes aegypti, Anopheles dirus* และ *Anopheles minimus* และมีค่า LC_{50} ที่ความเข้มข้น 7.16×10^5, 1.29×10^6, 1.40×10^6 และ 1.71×10^6 สปอร์/มล. ตามลำดับ สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อคือ ที่อุณหภูมิ 20-25 °ซ และที่ pH 5-6 เชื้อรานี้สามารถใช้คาร์บอนและไนโตรเจนจากแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ใช้ในการทดสอบได้ทุกชนิด เชื้อราสายพันธุ์ที่ 10A-15W ซึ่งเป็นชนิด *Beauveria* sp. มีคุณสมบัติในการฆ่าลูกน้ำทั้ง 4 ชนิดได้และมีค่า LC_{50} ที่ความเข้มข้น 2.43×10^6, 2.92×10^6, 1.18×10^6 และ 3.96×10^6 สปอร์/มล. ตามลำดับ สารพิษของเชื้อราชนิดนี้มีผลในการฆ่าลูกน้ำด้วย สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อนี้คือ ที่อุณหภูมิระหว่าง 20-25°ซ. และที่ pH 6-8 เชื้อนี้สามารถใช้คาร์บอนและไนโตรเจนที่ใช้ในการทดสอบได้ทุกชนิด เชื้อราสายพันธุ์ที่ 29B-5W ซึ่งเป็นชนิด *Aspergillus niveus* สามารถฆ่าลูกน้ำทั้ง 4 ชนิดได้และมีค่า LC_{50} ที่ความเข้มข้น 1.79×10^4, 1.59×10^5, $6.73 \times$

10^4, และ 3.86×10^5 สปอร์/มล. ตามลำดับสารพิษของเชื้อรานี้สามารถฆ่าลูกน้ำได้เช่นกัน สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อราชนิดนี้คือ ที่อุณหภูมิ 25-37 °ซ และที่ pH 5-8 เชื้อนี้สามารถใช้คาร์บอนและไนโตรเจนที่ใช้ในการทดสอบได้ทุกชนิด นอกจากนี้ยังพบเชื้อราที่น่าสนใจอีก 2 สายพันธุ์ คือ ชนิด *Aphanomyces sp.* สายพันธุ์ที่ 35C-1 และชนิด *Leptolegnia sp.* สายพันธุ์ที่ 36A-LK ซึ่งทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นราน้ำซึ่งก่อให้เกิดโรคในลูกน้ำ และแสดงลักษณะการติดเชื้อราในลูกน้ำได้ชัดเจน *Aphanomyces sp.* สายพันธุ์ที่ 35C-1 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20-37°ซ. และที่ pH 5-8 สามารถใช้ไนโตรเจนจากเปปโตนเท่านั้นและใช้คาร์บอนจากน้ำตาลกลูโคส ขณะที่ชนิด *Leptolegnia sp.* สายพันธุ์ที่ 36A-LK เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20-25 °ซ. และที่ pH 6-8 เชื้อราชนิดนี้สามารถใช้ไนโตรเจนจากเปปโตนเท่านั้นและคาร์บอนจากน้ำตาลกลูโคสและมอลโตส