

เรื่อง โครงการการคัดแยกเชื้อราที่สามารถย่อยไคตินเพื่อประยุกต์ใช้กำจัดแมลงสาบบ้านเชิงชีวภาพ

โดย 1. นางสาวจุฑาทิพ พรหมคำตัน

2. นางสาวรัชชนก สหมาย

3. นางสาวธันยชนก ลายคำ

โรงเรียน ยูพราขวิทยาลัย

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนประกอบของโครงการวิทยาศาสตร์ ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย

ในงานเวทีวิชาการนวัตกรรมสะเต็มศึกษาขั้นพื้นฐานแห่งชาติ ครั้งที่ 1 (ออนไลน์)

The 1st National Basic STEM Innovation E-Forum 2021

วันที่ 18 – 19 กันยายน พ.ศ. 2564

เรื่อง โครงการการคัดแยกเชื้อราที่สามารถย่อยไคตินเพื่อประยุกต์ใช้กำจัดแมลงสาบบ้านเชิงชีวภาพ

โดย 1. นางสาวจุฑาทิพ พรหมคำตัน
 2. นางสาวรัชชนก สมหมาย
 3.นางสาวธันยชนก ลายคำ

อาจารย์ปรึกษา นายมงคล ปัญญารัตน์

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาธิคุณจากคณะผู้บริหาร ผู้อำนวยการโรงเรียน นาย ธีปชัย วงษ์วรศรีโรจน์ และอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ คุณครูมงคล ปัญญารัตน์ ที่ได้ช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ให้แนวคิดว่าทำโครงการ ตลอดจนการแก้ปัญหาข้อบกพร่องมาโดยตลอด จนโครงการเล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ คณะผู้จัดทำจึงขอกราบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ คุณครูบรรณารักษ์ห้องสมุดโรงเรียนยุพราชวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการค้นคว้าข้อมูลในการจัดทำโครงการครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ นางคมคาย ทวีทรัพย์ล้ำเลิศ ผู้ที่ให้คำปรึกษาและแนะนำเกี่ยวกับแมลงสาบ อีกทั้งยังให้การสนับสนุนการจำหน่ายแมลงสาบพันธุ์อเมริกันให้แก่คณะผู้จัดทำ

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ญาติพี่น้อง และเพื่อนๆ ในโรงเรียนที่คอยให้การช่วยเหลือ คอยสนับสนุน คอยเป็นกำลังใจให้ด้วยดีเสมอมา คุณค่าทั้งหลายและสิ่งดีๆ ที่ได้รับจากการทำการโครงการนี้ ผู้จัดทำทำขอบให้เป็นความรู้แก่ผู้อ่านทุกท่าน ตลอดจนผู้ที่ต้องการทำโครงการประเภทนี้ ให้ได้รับความรู้อย่างทั่วถึงกัน

คณะผู้จัดทำ

ชื่อโครงการ การคัดแยกเชื้อราที่สามารถย่อยไคตินเพื่อประยุกต์ใช้กำจัดแมลงสาบบ้านเชิงชีวภาพ

ชื่อนักเรียน 1. นางสาวจุฑาทิพย์ พรหมคำตัน

2. นางสาวรัชชนก สมหมาย

3. นางสาวธันยชนก ลายคำ

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา นายมงคล ปัญญารัตน์

โรงเรียน ยุพราชวิทยาลัย

ที่อยู่ 238 ถนนพระปกเกล้า ตำบลศรีภูมิ อำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

โทรศัพท์ 053-418673-5 โทรสาร 053-418673-5 ต่อ111

ระยะเวลาทำโครงการ ตั้งแต่วันที่ 1 พฤศจิกายน 2563 - วันที่ 30 มิถุนายน 2564

บทคัดย่อ

ปัญหาแมลงสาบบ้าน(*Periplaneta Americana*)ที่อาศัยอยู่ตามที่ต่างๆภายในบริเวณบ้าน ซึ่งแมลงสาบบ้านเป็นพาหะนำโรคต่างๆ เช่น โรคเรื้อน กาฬโรค โรคติดเชื้อของระบบถ่าย และโรกระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น การกำจัดแมลงสาบบ้านปัจจุบันนิยมใช้สารเคมีฉีดพ่น แต่ยาฆ่าแมลงยังมีสารเคมีชนิดจำพวกกลุ่มสารคาร์บาเมต(Carbamate)และสารออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphate)ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ขัดขวางการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง ระบบประสาท รอบนอก และมีผลต่อกล้ามเนื้อต่าง ๆต่อมต่าง ๆและกล้ามเนื้อเรียบ ปัจจุบันจึงมีการเลือกใช้วิธีอื่นมาทดแทนสารเคมีก็คือ การใช้เชื้อราที่เจริญบนแมลงต่าง ๆมากำจัดแมลงก่อโรคทางการเกษตรอีกทั้ง เชื้อราสามารถหาง่าย ไม่อันตรายและไม่มีสารตกค้างต่อผู้ใช้งาน ทางผู้จัดทำโครงการจึงศึกษาหาเชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหารที่ผสมไคตินและประยุกต์ใช้กำจัดแมลงสาบบ้านเชิงชีวภาพ โดยคณะผู้จัดทำทำการคัดแยกเชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหารที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียด จากการนำตัวอย่างจากแหล่งต่างๆที่คาดว่าจะพบเชื้อราที่สามารถย่อยไคติน โดยนำตัวอย่างมาทำการ steak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียด พบว่าสามารถแยกเชื้อที่เจริญบนอาหารดังกล่าวได้ 1 ไอโซเลท จากตัวอย่างซังข้าวโพด เมื่อนำเชื้อราดังกล่าว ไปทำการคัดแยกจนบริสุทธิ์ นำไปทำการทดลองเพาะเชื้อราบนแมลงสาบที่ตายแล้ว แมลงสาบที่ยังมีชีวิต และไข่ของแมลงสาบ พบว่ามีการเจริญเติบโตของเชื้อราบนแมลงสาบที่ตายแล้ว และไข่แมลงสาบทุกใบที่หยดเชื้อรา จึงทราบได้ว่าเชื้อราสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของไข่แมลงสาบได้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูปภาพ	จ – ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
- ที่มาและความสำคัญ	1
- วัตถุประสงค์	1
- ขอบเขตการศึกษา	2
- ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	3 - 5
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
- วัสดุและอุปกรณ์	6
- วิธีการจัดทำโครงงาน	6 - 8
บทที่ 4 ผลการทดลอง	9-15
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	
- อภิปรายผลการทดลอง	16
- สรุปผลการดำเนินงาน	17
- ข้อเสนอแนะ	17
เอกสารอ้างอิง	18

สารบัญตาราง

ตารางที่

หน้าที่

ตารางที่ 1 : ผลจากการคัดแยกเชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหารที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียด 9

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่	หน้าที่
ภาพที่ 2.1 แมลงสาบบ้าน	3
ภาพที่ 1 : ลักษณะ โคลิโคนีเชื้อราที่คัดแยกได้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้ง บดละเอียดเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน	9
ภาพที่ 2 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 1 วันที่ 2	10
ภาพที่ 3 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 2 วันที่ 2	10
ภาพที่ 4 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 3 วันที่ 2	10
ภาพที่ 5 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 4 วันที่ 2	10
ภาพที่ 6 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 5 วันที่ 2	11
ภาพที่ 7 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 1 วันที่ 3	11
ภาพที่ 8 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 2 วันที่ 3	11
ภาพที่ 9 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 3 วันที่ 3	11
ภาพที่ 10 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 4 วันที่ 3	11
ภาพที่ 11 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 5 วันที่ 3	12
ภาพที่ 12 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 1 วันที่ 4	12
ภาพที่ 13 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 2 วันที่ 4	12
ภาพที่ 14 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 3 วันที่ 4	12
ภาพที่ 15 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 4 วันที่ 4	12
ภาพที่ 16 : การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 5 วันที่ 4	13
ภาพที่ 17 : การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 1 ด้วยการนำสปอร์ของเชื้อราติดแมลงสาบที่มีชีวิตเพียงวันแรก เพียงวันเดียว วันที่ 1	13
ภาพที่ 18 : การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 2 ด้วยการนำสปอร์ของเชื้อราติดแมลงสาบที่มีชีวิตเพียงวันแรก เพียงวันเดียว วันที่ 1	13
ภาพที่ 19 : การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 3 ด้วยการนำสปอร์ของเชื้อราติดแมลงสาบที่มีชีวิตเพียงวันแรก เพียงวันเดียว วันที่ 1	14

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่	หน้าที่
ภาพที่20 : การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 4 ด้วยการนำสปอร์ของเชื้อราฉีดแมลงสาบที่มีชีวิตเพียงวันแรก เพียงวันเดียว วันที่ 1	14
ภาพที่21 : การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 1 ด้วยการนำสปอร์ของเชื้อราฉีดแมลงสาบที่มีชีวิต เพียงวันแรกเพียงวันเดียว วันที่ 3	14
ภาพที่22 : การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 2 ด้วยการนำสปอร์ของเชื้อราฉีดแมลงสาบที่มีชีวิต เพียงวันแรกเพียงวันเดียว วันที่ 3	14
ภาพที่23 : การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 3 ด้วยการนำสปอร์ของเชื้อราฉีดแมลงสาบที่มีชีวิต เพียงวันแรกเพียงวันเดียว วันที่ 3	14
ภาพที่24 : การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 4 ด้วยการนำสปอร์ของเชื้อราฉีดแมลงสาบที่มีชีวิต เพียงวันแรกเพียงวันเดียว วันที่ 3	14
ภาพที่25 : การเลี้ยงแมลงสาบด้วยการนำสปอร์ของเชื้อราฉีดแมลงสาบที่มีชีวิตทุกๆ 2 วัน วันที่ 6	15
ภาพที่ 26: การเลี้ยงแมลงสาบด้วยการนำสปอร์ของเชื้อราฉีดแมลงสาบที่มีชีวิตทุกๆ 2 วัน วันที่ 6	15
ภาพที่ 27 : การเจริญเติบโตของเชื้อราบนไข่แมลงสาบวันที่ 7 ของการทดลอง	15
ภาพที่ 28 : การเจริญเติบโตของเชื้อราบนไข่แมลงสาบวันที่ 7 ของการทดลอง	15

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการ

โครงการการคัดแยกเชื้อราที่สามารถย่อยไคตินเพื่อประยุกต์ใช้กำจัดแมลงสาบบ้านเชิงชีวภาพ คณะผู้จัดทำได้พบเจอปัญหาแมลงสาบที่อาศัยอยู่ตามที่ต่างๆภายในบริเวณบ้าน ซึ่งแมลงสาบเป็นพาหะนำโรคต่างๆ เช่น โรคเรื้อน กาฬโรค โรคบิด โรคติดเชื้อของระบบถ่าย โรคฝี โรคผิวหนังพุพอง โรคระบบทางเดินอาหาร และโรคไทฟอยด์ เป็นต้น (<https://guru.sanook.com/7062/>) อาจจะทำให้ผู้อยู่อาศัยภายในบ้านติดเชื้อโรคได้ การกำจัดแมลงสาบฝนปัจจุบันนิยมใช้สารเคมีฉีดพ่น ซึ่งสามารถฆ่าแมลงสาบให้ตายได้ทันที แต่แมลงสาบที่อยู่ในรังยังสามารถเจริญเติบโตอยู่ในบ้านและออกมาสร้างความรำคาญใจแก่ผู้อยู่อาศัยได้เรื่อยๆ อีกทั้งสารเคมียังอาจปนเปื้อนกับผู้ใช้คนเกิดการสะสม อาจเป็นสาเหตุให้สุขภาพเสื่อมโทรมตามมา ปัจจุบันจึงมีการเลือกใช้วิธีอื่นๆมาทดแทนสารเคมีก็คือ การใช้เชื้อราที่เจริญบนแมลงต่างๆมากำจัดแมลงก่อโรคทางการเกษตร ทางผู้จัดทำจึงสนใจที่จะทำการคัดแยกหาเชื้อราที่สามารถกำจัดแมลงสาบได้ โดยทำการคัดแยกเชื้อราที่สามารถย่อยไคตินได้ และจะนำมาทดลองกำจัดแมลงสาบโดยศึกษาการเจริญเติบโตบนตัวแมลงสาบ และประยุกต์ใช้ในรูปแบบต่างเพื่อกำจัดแมลงสาบเชิงชีวภาพต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อแยกและคัดกรองเชื้อราที่สามารถย่อยไคตินได้
- 2) เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อราที่คัดแยกได้บนตัวแมลงสาบบ้าน

1.3 สมมติฐาน

เชื้อราที่สามารถย่อยไคตินที่คัดแยกได้ จะสามารถนำมาใช้กำจัดแมลงสาบเชิงชีวภาพได้

1.4 ตัวแปร

- ตัวแปรต้น : เชื้อรา
- ตัวแปรตาม : ความสามารถในการย่อยไคติน/ความสามารถในการย่อยแมลงสาบบ้าน
- ตัวแปรควบคุม : วิธีการคัดแยก, ชนิดของแมลงสาบ, อาหารที่ใช้ในการคัดแยก

1.5 ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1.5.1 สถานที่ : ห้องปฏิบัติการชีววิทยาโรงเรียนยุพราชวิทยาลัย จังหวัด เชียงใหม่

1.5.2 เวลา : ระยะเวลา

1.5.3 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.แมลงสาบบ้าน คือ แมลงสาบพันธุ์อเมริกา มีสีแดงสว่างไปจนถึงสีน้ำตาล
ซีอกโกแลต มีขนาด 35-40 มม. เป็นแมลงประเภทแมลงรบกวนที่มีขนาดใหญ่ที่สุดชนิดหนึ่ง

2.เชื้อราที่ย่อยโคตินได้ คือ เชื้อราที่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมโคตินจาก
แมลงสาบ แล้วเกิดเซลล์รื้อรอบๆ โคลิน

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ได้เชื้อราที่สามารถย่อยโคตินได้
- 2) ได้เชื้อราที่สามารถเจริญบนตัวแมลงสาบบ้านได้
- 3) นำเชื้อราที่คัดแยกได้ไปประยุกต์ใช้ในรูปแบบต่างๆที่เหมาะสมในการกำจัดแมลงสาบเชิงชีวภาพ

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้อง

การดำเนินโครงการวิทยาศาสตร์เรื่อง การคัดแยกเชื้อราที่สามารถย่อยไคตินเพื่อประยุกต์ใช้กำจัดแมลงสาบบ้านเชิงชีวภาพ คณะผู้จัดทำได้ศึกษาความหมายตลอดจนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาดังนี้

- 2.1 แมลงสาบบ้าน
- 2.2 เชื้อราที่สามารถกำจัดแมลงได้
- 2.3 วิธีการคัดแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์
- 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แมลงสาบบ้าน

แมลงสาบบ้านส่วนใหญ่ที่พบตามบ้านเรือนส่วนใหญ่เป็นแมลงสาบพันธุ์อเมริกัน ข้อมูลทั่วไปของแมลงสาบพันธุ์อเมริกันมีดังนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Periplaneta Americana* ลักษณะทางกายภาพ : ตัวเต็มวัยมีขนาดยาว 35 – 40 มม. เป็นแมลงสาบประเภทแมลงรบกวนที่มีขนาดใหญ่ที่สุดชนิดหนึ่ง มีสีแดงสว่างไปจนถึงสีน้ำตาล ช็อกโกแลต วงจรชีวิต : ตัวเมียผลิตรังไข่ (oothecae) 10 – 90 รัง โดยแต่ละรังมีไข่ 14 – 28 ใบ ตัวอ่อนใช้เวลา 150 วันในการเติบโตเป็นตัวเต็มวัย ช่วงชีวิตตัวเต็มวัยยาวนานตั้งแต่ 100 วัน ถึง 3 ปี พฤติกรรม : ชอบสิ่งแฉะลื้อมที่อบอุ่นและชื้น เช่น ท่อระบายของเสีย และท่อระบายน้ำ



ภาพที่ 2.1

ที่มา <https://www.unicorgroup.com/16600904>

2.2 เชื้อราที่สามารถกำจัดแมลงได้

2.2.1 เชื้อราเมธาไรเซียม (*Metarhizium* spp.)

เชื้อราเขียว เป็นจุลินทรีย์ขนาดเล็กพบในดินทั่วไป เป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงศัตรูพืช เจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส และสร้างสปอร์ได้ใน 5-7 วัน เส้นใยเริ่มต้นมีสีขาว สร้างสปอร์รูปร่างรี สีเขียวเข้ม เชื้อราเมธาไรเซียมสามารถทำลายแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด ทำลายได้ทั้งตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัย เช่น ตัวแรดมะพร้าว ตัวหมัดฝัก หนอนศัตรูพืช หนอนเจาะลำต้น หนอนกอ ปลวก หนอนทราย บั่ว ไร และเพลี้ยต่างๆ เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย เป็นต้น

2.2.3 เชื้อราบิวเวอเรีย (*Beauveria bassiana*)

เชื้อราบิวเวอเรีย เป็นเชื้อราที่มีสีขาว เจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 20-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ไม่น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อราปฏิปักษ์สามารถทำลายแมลงหรือทำให้เกิดโรคกับแมลงหลายชนิด ลักษณะของเส้นใย และสปอร์มีสีขาวหรือสีครีมซีด จัดเป็นเชื้อประเภท Saprophyte อาศัยและกินเศษซากที่ผุพัง

2.3 วิธีการคัดแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์

2.3.1 วิธีการทำอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขั้นตอนดังนี้

1. นำมันฝรั่งมาปอกเปลือก แล้วหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 1 x 1 x 1 ลบ.ซม.
2. นำมันฝรั่งต้มกับน้ำที่สะอาดประมาณ 1,000 ซี.ซี. โดยใช้ไฟอ่อน ๆ ทั้งนี้เพราะใช้ไฟแรง มันฝรั่งอาจจะเปื่อยยุ่ย และละลายออกมาทำให้อาหารวุ้นมีลักษณะ ชุ่มขาว ซึ่งยากต่อการสังเกตการเดินของ เส้นใยเห็ดการต้มมันฝรั่งควรใช้เวลานาน ประมาณ 15 นาที นับจากน้ำเดือด
3. ให้กรองเอากากมันฝรั่งออกและให้ต้มน้ำที่สกัดจากมันฝรั่งต่อไป จากนั้นจึงเติมน้ำตาลเด็กโทรส ในอัตราส่วน ตามสูตรลงไป หรืออาจจะใช้น้ำตาลทรายในประมาณเท่า ๆ กันแทนก็ได้แล้วให้คนจนกระทั่งน้ำตาลละลายหมด
4. ส่วนวุ้นทำขนมควรนำมาผสมกับน้ำเย็นเสียก่อน เพราะถ้าใส่ลงไปในส่วนผสมในลักษณะเป็นผงแล้ว จะทำให้อาหารวุ้นจับกันเป็นก้อนได้หลังจากที่นำวุ้นผสมกับน้ำเย็นแล้ว จึงเทใส่ลง ไปในส่วนผสม พร้อมกับคอยคนอยู่ตลอดเวลาเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารวุ้นไหม้บริเวณ ก้นหม้อ
5. เมื่ออาหารวุ้นละลายหมดแล้ว จึงนำอาหารวุ้นมาบรรจุขวดแบนหรือขวดก้นก็ได้ประมาณขวดละ 20 - 30 ซี.ซี. แต่ต้องระวังอย่าให้อาหารวุ้นเปื้อนปากขวด พร้อมกับจุกด้วยสำลี แล้วหุ้มด้วยกระดาษ ใช้ยางรัดให้เรียบร้อย
6. นำขวดอาหารวุ้นมาหนึ่งขวดเช็ดด้วยหมอนึ่งด้วยความดัน โดยใช้ความดันที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นานประมาณ 15 - 20 นาที แต่ถ้าไม่มีหมอนึ่งความดันให้ใช้วิธีนึ่งแบบธรรมดา โดยการนึ่ง 3 ครั้ง

7. ขวดอาหารวุ้นที่ผ่านการนึ่งแล้ว ก่อนที่อาหารวุ้นจะเย็นตัวลงหรือก่อนที่อาหารวุ้นแข็งตัว ให้นำขวดอาหารวุ้นมาวาง ในลักษณะนอน เพื่อเพิ่มพื้นผิวของอาหารวุ้น และเมื่ออาหารวุ้นแข็งตัวดีแล้ว ก็สามารถนำไปใช้ได้

2.3.2 การขีดเชื้อในจานเพาะเชื้อ (Streak Plate)

การขีดเชื้อในจานเพาะเชื้อคือการทำให้เชื้อที่มีปริมาณมากน้อยๆ กระจายออกจนแยกเป็นโคโลนี (Colony) เดี่ยวๆ ซึ่งแต่ละโคโลนีจะเจริญมาจากเซลล์เดียวจึงถือเป็นเชื้อที่บริสุทธิ์

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 ตัวอย่างสิ่งมีชีวิต

- แมลงสาบ
- เปลือกกุ้ง

3.1.2 ตัวอย่างเชื้อรา

- ตัวอย่างบิวเวอร์เรีย
- ตัวอย่างเมทาไรเซียม
- ตัวอย่างเชื้อราจากขังข้าวโพด
- ตัวอย่างเชื้อราจากแมลงสาบ
- ตัวอย่างเชื้อราจากขยะจากเกลือปลา

3.1.3 วัสดุอุปกรณ์

- อาหารวุ้นที่ผสมแมลงสาบบดละเอียด
- อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA
- ขวดโหลแก้วขนาดกลาง

3.1.4 เครื่องมือวัดทางวิทยาศาสตร์

- ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar airflow)
- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)

3.2 วิธีการจัดทำโครงการ

ในการจัดทำโครงการ มีวิธีการทดลอง แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่

ตอนที่ 1 การคัดแยกเชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหารที่ผสมไคติน

ตอนที่ 2 การศึกษาการเจริญของเชื้อราที่คัดแยกได้บนตัวแมลงสาบที่ตายแล้ว

ตอนที่ 3 การศึกษาการเจริญเชื้อราบนแมลงสาบที่มีชีวิต

ตอนที่ 1 การคัดแยกเชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหารที่ผสมแมลงสาบด

3.2.1.1 เก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างที่ใช้ในการแยกเชื้อราจากเปลือกกุ้ง แมลงสาบ ตัวอย่างบิวเวอร์เรีย ตัวอย่างเมทาไรเซียม ตัวอย่างเชื้อราจากขังข้าวโพด ตัวอย่างเชื้อราจากแมลงสาบ ตัวอย่างเชื้อราจากขยะจากเกล็ดปลา และแหล่งน้ำทิ้งจากการอุปโภคต่างๆ นำมาทำการคัดแยกเชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหารวุ้นที่ผสมแมลงสาบดละเอียด (สูตรประกอบด้วยวุ้น 15 กรัม แมลงสาบแห้งบด 15 กรัม น้ำ 1 ลิตร) ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

3.2.1.2 การแยกเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

นำตัวอย่างเชื้อรามา 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:1 แล้วทำการ Streak plate บนอาหารวุ้นที่ผสมแมลงสาบด ทำการบ่มเพาะที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-10 วัน จากนั้นทำการถ่ายเชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหารดังกล่าวลงในหารชุดใหม่จนกว่าเชื้อราจะบริสุทธิ์

ตอนที่ 2 การศึกษาการเจริญของเชื้อราที่คัดแยกได้บนตัวแมลงสาบที่ตายแล้ว

3.2.2.1 การเตรียมแมลงสาบและการแปะเชื้อราบนแมลงสาบที่ตายแล้ว

นำแมลงสาบบ้านที่มีขนาดใกล้เคียงกันทำให้ตายโดนผ่านความร้อน 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ (เครื่อง Autoclave) ทำการตัดเชื้อราบนอาหารวุ้นขนาด 2*2 มิลลิเมตร วางบนท้องแมลงสาบ (จัดแมลงสาบให้หงายท้องขึ้นบนจานเพาะเชื้อที่ฝาปิด) สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อราเป็นระยะเวลา 1 เดือน

ตอนที่ 3 การทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อราที่คัดเลือกได้บนแมลงสาบที่มีชีวิต

3.2.3.1 การคัดแยกเชื้อรา

นำสปอร์ของเชื้อราผสมกับน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร แล้วดูดสารละลายที่ได้หยดลงบนท้องแมลงสาบที่มีชีวิตจำนวน 3 หด แล้วทำการเพาะเลี้ยงแมลงสาบในขวดแก้ว จากนั้นทำการสังเกตการเจริญของเชื้อราทุกวัน

3.2.3.2.2 จีดสปอร์ของเชื้อราบนตัวแมลงสาบ

3.2.3.2.1 หยดสารละลายสปอร์เชื้อราเพียงวันเดียว

นำสปอร์ของเชื้อราผสมกับน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร แล้วดูดสารละลายที่ได้หยดลงบนท้องแมลงสาบที่มีชีวิตจำนวน 3 หด แล้วทำการเพาะเลี้ยงแมลงสาบในขวดพลาสติก โดยหยดสารละลาย จากนั้นทำการสังเกตการเจริญของเชื้อราเป็นระยะเวลา 1 เดือน

3.2.3.2.2 หยดสารละลายสปอร์ของเชื้อราทุกๆ 2 วัน

นำสปอร์ของเชื้อราผสมกับน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร แล้วดูดสารละลายที่ได้หยดลงบนท้องแมลงสาบ ที่มีชีวิตจำนวน 3 หยด แล้วทำการเพาะเลี้ยงแมลงสาบในขวดพลาสติก โดยหยดสารละลายทุกๆ 2 วัน จากนั้นทำการสังเกตการเจริญของเชื้อราเป็นระยะเวลา 1 เดือน

ตอนที่ 4 การทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อราที่คัดเลือกได้บนไข่ของแมลงสาบ

นำเชื้อราที่คัดเลือกได้มาทำการเพาะบนอาหาร PDA จนเชื้อราเจริญเติบโตเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นทำการผสมเชื้อรา ด้วย น้ำกลั่นจำนวน 2 ml บนจานอาหาร ทำการดูด น้ำกลั่นที่ทำการผสมสปอร์ของ เชื้อรา หยดลงบน ไข่ของแมลงสาบจำนวน 1 หยดเปรียบเทียบกับไข่แมลงสาบที่ทำการหยดน้ำกลั่นเพียง อย่างเดียว ทำการทิ้งไว้สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อราบนไข่แมลงสาบ

บทที่ 4

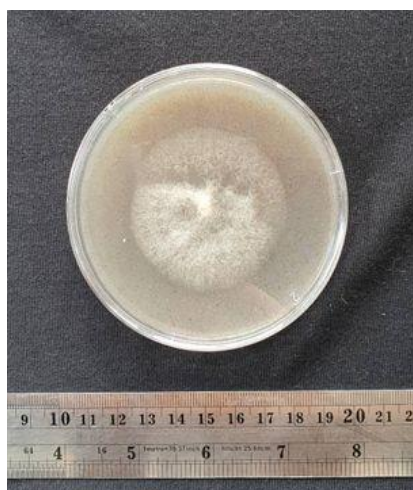
ผลการทดลอง

ในการจัดทำโครงงานวิทยาศาสตร์ เรื่อง การคัดแยกเชื้อราที่สามารถย่อยไคตินเพื่อประยุกต์ใช้กำจัดแมลงสาบบ้านเชิงชีวภาพ มีผลการทดลอง ดังนี้

4.1 ผลจากการคัดแยกเชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหารที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียด

จากการนำตัวอย่างจากแหล่งต่างๆ ที่คาดว่าจะพบเชื้อราที่สามารถย่อยไคติน โดยนำตัวอย่างมาทำการ steak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียด (สูตรอาหารคือ วุ้น 15 กรัม เปลือกแมลงสาบแห้งบด 15 กรัม น้ำกลั่น 1 ลิตร) ทำการ steak plate บนอาหารที่ผสมเปลือกแมลงสาบบด

ตัวอย่างเชื้อรา	จำนวนเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียด (ไอโซเลต)
ตัวอย่างบิวเวอร์เรีย	ไม่พบเชื้อราที่เจริญ
ตัวอย่างเมทาไรเซียม	ไม่พบเชื้อราที่เจริญ
ตัวอย่างเชื้อราจากขังข้าวโพด	พบเชื้อราที่เจริญ 1 ไอโซเลต
ตัวอย่างเชื้อราจากแมลงสาบ	ไม่พบเชื้อราที่เจริญ
ตัวอย่างเชื้อราจากขยะจากเกล็ดปลา	ไม่พบเชื้อราที่เจริญ



(ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนีเชื้อราที่คัดแยกได้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียด เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน)

จากการนำตัวอย่างจากแหล่งต่างๆที่คาดว่าจะพบเชื้อราที่สามารถย่อยไคติน โดยนำตัวอย่างมาทำการ steak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียด (สูตรอาหารคือ วุ้น 15 กรัม เปลือกแมลงสาบแห้งบด 15 กรัม น้ำกลั่น 1 ลิตร) พบว่าสามารถแยกเชื้อที่เจริญบนอาหารดังกล่าวได้ 1 ไอโซเลท จากตัวอย่างซังข้าวโพด

4.2 ผลจากการศึกษาการเจริญของเชื้อราที่คัดแยกได้บนตัวแมลงสาบที่ตายแล้ว

นำแมลงสาบบ้านที่มีขนาดใกล้เคียงกันทำให้ตายโดยผ่าน ความร้อน 121 องศา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ (เครื่อง Autoclave) ทำการตัดเชื้อราบนอาหารวุ้นขนาด 2*2 มิลลิเมตร วางบนท้องแมลงสาบ (จัดแมลงสาบให้หงายท้องขึ้นบนจานเพาะเชื้อที่มีฝาปิด)

ผลการทดลองในวันที่ 2



(ภาพที่ 2 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 1)



(ภาพที่ 3 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 2)



(ภาพที่ 4 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 3)



(ภาพที่ 5 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 4)



(ภาพที่ 6 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 5)

ผลการทดลองวันที่ 3



(ภาพที่ 7 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 1)



(ภาพที่ 8 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 2)



(ภาพที่ 9 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 3)



(ภาพที่ 10 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 4)



(ภาพที่ 11 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 5)

ผลการทดลองในวันที่ 4



(ภาพที่ 12 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 1)



(ภาพที่ 13 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 2)



(ภาพที่ 14 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 3)



(ภาพที่ 15 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 4)



(ภาพที่ 16 การเจริญของเชื้อราบนแมลงสาบตัวที่ 5 วันที่ 4)

จากการทดลองและสังเกตการเจริญของเชื้อราที่คัดแยกได้บนตัวแมลงสาบที่ตายแล้ว พบว่า เชื้อราเริ่มเจริญเติบโตบนตัวแมลงสาบที่ตายแล้ว ในวันที่ 2 หลังจากการทดลองได้เพียง 1 วัน เชื้อรามีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ

4.3 ผลจากการศึกษาการเจริญของเชื้อราที่คัดแยกได้บนตัวแมลงสาบที่ยังมีชีวิต

นำเชื้อราที่คัดแยกได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียดจนเกิดสปอร์ ทำการผสมน้ำกลั่นจำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงไปผสมกับเชื้อราบนจานอาหารแล้วดูดสารละลายที่ได้หยดลงบนท้องแมลงสาบที่มีชีวิตจำนวน 3 หยดทำการเพาะเลี้ยงแมลงสาบในขวดแก้ว

4.3.1 ผลการทดลองเมื่อนำสปอร์ของเชื้อราฉีดแมลงสาบที่มีชีวิตเพียงวันแรกเพียงวันเดียว

ผลการทดลองในวันที่ 1



(ภาพที่ 17 การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 1)



(ภาพที่ 18 การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 2)



(ภาพที่ 19 การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 3)



(ภาพที่ 20 การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 4)

ผลการทดลองในวันที่ 2



(ภาพที่ 21 การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 1)



(ภาพที่ 22 การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 2)



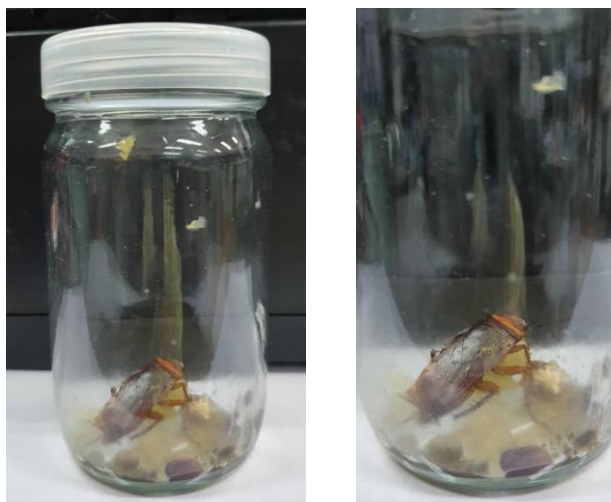
(ภาพที่ 23 การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 3)



(ภาพที่ 24 การเลี้ยงแมลงสาบตัวที่ 4)

จากการทดลองและสังเกตอาการ พบว่า เมื่อเลี้ยงแมลงสาบเป็นเวลา 1 อาทิตย์ ไม่พบการเจริญของเชื้อราบนตัวแมลงสาบ

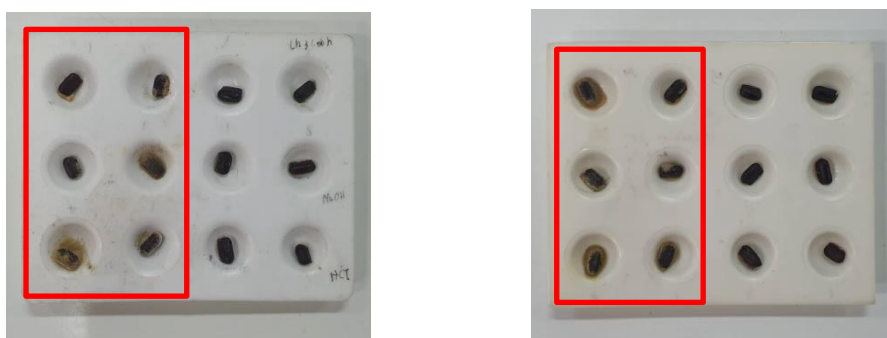
4.3.2 ผลการทดลองเมื่อนำสปอร์ของเชื้อราชนิดแมลงสาบที่มีชีวิตทุกๆ 2 วัน



(ภาพที่ 25 และ ภาพที่ 26 การเลี้ยงแมลงสาบด้วยการนำสปอร์ของเชื้อราชนิดแมลงสาบที่มีชีวิตทุกๆ 2 วัน วันที่ 6)

จากการทดลอง พบว่า เมื่อเลี้ยงแมลงสาบจนถึงวันที่ 6 พบว่าการเจริญของเชื้อราบนปีกแมลงสาบ 1 ใน 3 ตัวที่ทำการทดลอง

4.4 ผลจากการศึกษาการเจริญของเชื้อราที่คัดแยกได้บนไข่แมลงสาบที่ยังมีชีวิต



(ภาพที่ 27 และ ภาพที่ 28 การเจริญเติบโตของเชื้อราบนไข่แมลงสาบวันที่ 7 ของการทดลอง)

จากการทดลอง พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 7 วันพบว่า 6 ช่องแรกคือไข่แมลงสาบที่ทำการหยอดเชื้อราพบการเจริญเติบโตของเชื้อราบนไข่แมลงสาบ ส่วนไข่แมลงสาบที่ไม่ได้ทำการหยด เชื้อราไม่พบการเจริญเติบโต

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษา การคัดแยกเชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหารที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียด จากการนำตัวอย่างจากแหล่งต่างๆที่คาดว่าจะพบเชื้อราที่สามารถย่อยไคติน โดยนำตัวอย่างมาทำการ steak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียด (สูตรอาหารคือ วุ้น 15 กรัม เปลือกแมลงสาบแห้งบด 15 กรัม น้ำกลั่น 1 ลิตร)ทำการ steak plate บนอาหารที่ผสมเปลือกแมลงสาบ

ผลการศึกษาพบว่า ตัวอย่างเชื้อราจากซังข้าวโพด พบเชื้อราที่เจริญ 1 ไอโซเลท จากการนำตัวอย่างจากแหล่งต่างๆที่คาดว่าจะพบเชื้อราที่สามารถย่อยไคติน โดยนำตัวอย่างมาทำการ steak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียด (สูตรอาหารคือ วุ้น 15 กรัม เปลือกแมลงสาบแห้งบด 15 กรัม น้ำกลั่น 1 ลิตร) พบว่าสามารถแยกเชื้อที่เจริญบนอาหารดังกล่าวได้ 1 ไอโซเลท จาก ตัวอย่างซังข้าวโพด

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อราที่คัดแยกได้บนตัวแมลงสาบที่ตายแล้ว ผลการศึกษาพบว่า เชื้อราเริ่มเจริญเติบโตบนตัวแมลงสาบที่ตายแล้ว ในวันที่ 2 หลังจากการทดลองได้เพียง 1 วัน เชื้อรามีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อราที่คัดแยกได้บนตัวแมลงสาบที่ยังมีชีวิต การทดลองเมื่อนำสปอร์ของเชื้อราฉีดแมลงสาบที่มีชีวิตเพียงวันแรกเพียงวันเดียว

ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเลี้ยงแมลงสาบเป็นเวลา 1 อาทิตย์ ไม่พบการเจริญของเชื้อราบนตัวแมลงสาบ

จากการศึกษาการทดลองเมื่อนำสปอร์ของเชื้อราฉีดแมลงสาบที่มีชีวิตทุกๆ 2 วัน ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเลี้ยงแมลงสาบจนถึงวันที่ 6 พบว่ามีการเจริญของเชื้อราบนปีกแมลงสาบ 1 ใน 3 ตัวที่ทำการทดลอง

จากการศึกษาการทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อราที่คัดเลือกได้บนไข่ของแมลงสาบ เมื่อทำการทิ้งไว้เพื่อสังเกต พบว่ามีการเจริญเติบโตของเชื้อราบนไข่แมลงสาบทุกใบที่หยดเชื้อรา และไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อราบนไข่ทุกใบที่หยดน้ำกลั่น

5.2 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการคัดแยกเชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหารที่ผสมเปลือกแมลงสาบแห้งบดละเอียด และจากการศึกษาการเจริญของเชื้อราที่คัดแยกได้บนตัวแมลงสาบที่ตายแล้ว และจากการศึกษาการเจริญของเชื้อราที่คัดแยกได้บนตัวแมลงสาบที่ยังมีชีวิต การทดลองเมื่อนำสปอร์ของเชื้อราชนิดแมลงสาบที่มีชีวิตเพียงวันแรกเพียงวันเดียว การทดลองเมื่อนำสปอร์ของเชื้อราชนิดแมลงสาบที่มีชีวิตทุกๆ 2 วัน พบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อราจะเจริญเติบโตได้ดีขึ้นเรื่อยๆ ในแมลงสาบที่ตายแล้วการทดลองและจากการทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อราที่คัดเลือกได้บนไข่แมลงสาบ พบว่าเชื้อราบนไข่ที่หยดเชื้อรา และไม่พบเชื้อราบนไข่ที่หยดน้ำกลั่น

5.3 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองในครั้งนี้ ทำให้ทราบข้อมูลบางอย่างที่สามารถนำไปปรับปรุงงานทดลองในครั้งต่อไป จึงเสนอแนะไว้เพื่อเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจดังนี้

5.3.1 ควรทำการทดลองมากกว่า 3 ครั้งเพราะบางครั้งเราอาจจะทำผิดพลาดตรงจุดใดจุดหนึ่ง เช่น เราตั้งไว้นานเกินเวลาที่เรากำหนด

5.3.2 ควรกะเวลาในการเพาะเชื้อราจากวิธีการทักแบบที่กล่าวมาข้างต้นให้เหมาะสม

เอกสารที่เกี่ยวข้อง

จักรวาล ชมพูนศรี และ อุษาวดี ถาวรระ.(2559).แมลงสาบเจ้าวายร้าย,ครั้งที่1,กรุงเทพ,โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด

ธงชัย พุ่มพวง.(2562).เชื้อรากำจัดแมลงศัตรูพืช ใช้ง่าย ต้นทุนต่ำ ผลงาน มทร. ลำปาง, สืบค้นเมื่อ 13 มีนาคม 2564 จาก. <https://www.technologychaoban.com/>

Surendra K. Dara.(2017). Entomopathogenic microorganisms: modes of action and role in IPM , (8 May 2021). Available URL: <https://ucanr.edu/>

ศูนย์บริหารศัตรูพืชชัชนาท และ ศูนย์วิจัยเอสวี.(2562).การใช้เชื้อราบีเวอร์เรียควบคุมการระบาดของของแมลงหวี่ขาว,สืบค้นเมื่อ 8 พฤษภาคม 2564 จาก. <https://www.svgroup.co.th/>

ศูนย์บริหารศัตรูพืช จังหวัดขอนแก่น , ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตร ด้านอารักขาพืชจังหวัดสุราษฎร์ธานี และ ศูนย์วิจัยเอสวีกรุ๊ป.(2561).เชื้อเมธาไรเซียมคืออะไร,สืบค้นเมื่อ 8 พฤษภาคม 2564 จาก. <http://www.mitrpholmodernfarm.com/>

ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (MTEC) และ ชมรมไคติน - ไคโตซาน .(2544).ไคติน – ไคโตซาน, ครั้งที่ 1,กรุงเทพ,ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (MTEC)

วรรณิ ศรีนุตตระกุลและกลุ่มวิจัยพัฒนานิวเคลียร์สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน),จากเปลือกกุ้งและกระดองปูสู่ไคโตซาน,สืบค้นเมื่อ 10 เมษายน 2564 จาก. <http://nkc.tint.or.th/>