เชื้อราทำจัดแมลง :
ทางเลือกใหม่ของการควบคุมแมลงศัตรูพืช

Entomopathogenic Fungi
as Alternatives for Insect Pest Control



ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มาลี ตั้งระเบียบ

เชื้อรากำจัดแมลง :

ทางเลือกใหม่ของการควบคุมแมลงศัตรูพืช

Entomopathogenic Fungi as Alternatives for Insect Pest Control

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มาลี ตั้งระเบียบ

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

เชื้อรากำจัดแมลง : ทางเลือกใหม่ของการควบคุมแมลงศัตรูพืช
Entomopathogenic Fungi as Alternatives for Insect Pest Control

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มาลี ตั้งระเบียบ

ราคา **750** บาท

พิมพ์ครั้งที่ 1 เดือนมกราคม พ.ศ. 2561 จำนวน 200 เล่ม

หนังสือเล่มนี้สงวนสิทธิ์ตาม พ.ร.บ. ลิขสิทธิ์ พุทธศักราช 2558
ห้ามผู้ใดพิมพ์ซ้ำ ลอกเลียน ส่วนใดส่วนหนึ่งของหนังสือเล่มนี้
ไม่ว่าในรูปแบบใดๆ นอกจากจะได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรเท่านั้น

ข้อมูลทางบรรณานุกรมของสำนักหอสมุดแห่งชาติ
National Library of Thailand Cataloging in Publication Data

มาลี ตั้งระเบียบ.

เชื้อรากำจัดแมลง : ทางเลือกใหม่ของการควบคุมแมลงศัตรูพืช .--กรุงเทพฯ : บริษัท โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์ จำกัด, 2561.

240 หน้า.

1. เชื้อรากำจัดแมลง. 2. การควบคุมแมลงศัตรูพืช. I. ชื่อเรื่อง.

632
ISBN 978-616-445-908-3

พิมพ์ที่ โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์
113/13 ซอยวัดสุวรรณคีรี ถนนบรมราชชนนี
แขวงอรุณอมรินทร์ เขตบางกอกน้อย
กรุงเทพมหานคร 10700

คำนำ

จากระบบการค้าของโลกได้เปลี่ยนแปลงไปสู่ระบบการค้าเสรีที่มีการแข่งขันกันสูง เงื่อนไขต่าง ๆ ได้ถูกกำหนดขึ้นแทนมาตรการทางภาษี เพื่อสกัดกั้นการนำเข้าสินค้าของแต่ละประเทศ โดยเฉพาะมาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช หลายประเทศที่นำเข้าสินค้าเกษตรได้เพิ่มความเข้มงวดกับการตรวจสอบศัตรูพืชและสารพิษตกค้างในพืชผัก ผลไม้ และไม้ดอก ประกอบกับการบริโภคภายในประเทศที่ผู้บริโภคนิยมบริโภคผักและผลไม้ที่ปลอดสารพิษมากขึ้น จึงได้มีความพยายามที่จะหาวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชด้วยวิธีการต่าง ๆ ทดแทนการใช้สารเคมี โดยมีเป้าหมายที่จะเพิ่มผลผลิตและให้มีกำไรสูงสุด เชื้อรากำจัดแมลงที่เป็นสาเหตุทำให้แมลงเกิดโรคตาย ในปัจจุบันเป็นที่สนใจและมีการใช้กันอย่างกว้างขวาง แต่ยังขาดความรู้ความเข้าใจกันและการปฏิบัติอย่างถูกวิธี ผู้เขียนจึงได้เรียบเรียงหนังสือเรื่อง **เชื้อรากำจัดแมลง : ทางเลือกใหม่ของการควบคุมแมลงศัตรูพืช** ขึ้นจากการพยายามรวบรวมข้อมูลของเชื้อรากำจัดแมลงให้ได้อย่างสมบูรณ์ ประกอบกับประสบการณ์ในการทำงานวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีมาตลอดเกือบสองทศวรรษ โดยข้อมูลในหนังสือเล่มนี้กล่าวถึง เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้กำจัดแมลง รายละเอียดของเชื้อรากำจัดแมลง กลไกการเกิดโรค การพัฒนาเชื้อราเป็นสารชีวภัณฑ์ควบคุมแมลงศัตรูพืชรูปแบบต่าง ๆ เทคนิคการใช้ให้ได้ผลในแมลงศัตรูพืชแต่ละชนิด การใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราในระบบการบูรณาการบริหารจัดการศัตรูพืช รวมถึงเทคโนโลยีการผลิตเชื้อราแบบง่ายที่ยังคงประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เพื่อเป็นทางเลือกอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่อไป

ผู้เขียนมีความมุ่งหวังที่จะให้ผู้อ่านได้รับประโยชน์จากหนังสือเล่มนี้ในการใช้เป็นเอกสารค้นคว้าสำหรับบุคคลทั่วไปที่สนใจ การนำไปประยุกต์ใช้ในการเกษตรเพื่อความปลอดภัยของผู้ใช้ ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ส่งเสริมการปลูกพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ รวมทั้งเพื่อให้เกิดความเข้มแข็งในการส่งออกพืชผลของประเทศอย่างยั่งยืน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มาลี ตั้งระเบียบ

สารบัญ

หน้า

บทที่ 1 บทนำ (Introduction)..... 1

เชื้อสาเหตุโรคแมลง (Entomopathogen)..... 1

เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการกำจัดแมลง..... 2

1. เชื้อแบคทีเรีย..... 2

2. เชื้อไวรัส..... 4

3. เชื้อรา..... 6

4. ไส้เดือนฝอย..... 8

5. โพรโทซัว..... 10

สรุป..... 13

เอกสารอ้างอิง..... 13

บทที่ 2 เชื้อราแมลง (Insect fungi)..... 15

ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา..... 15

การสืบพันธุ์ของเชื้อรา..... 17

การดำรงชีวิตของเชื้อรา..... 18

การจำแนกหมวดหมู่ของเชื้อรา..... 18

ความสัมพันธ์ของเชื้อรากับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น..... 24

เชื้อราสาเหตุโรคแมลง หรือเชื้อราก่อโรค หรือเชื้อรากำจัดแมลง..... 24

การจัดจำแนกเชื้อรากำจัดแมลง 26

สรุป..... 43

เอกสารอ้างอิง..... 44

บทที่ 3 กลไกการออกฤทธิ์ของเชื้อรากำจัดแมลง

(Mode of action of entomopathogenic fungi)..... 47

กลไกการเข้าทำลายของเชื้อราต่อแมลง..... 47

ปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อราต่อแมลง..... 53

สรุป..... 61

เอกสารอ้างอิง..... 62

หน้า

บทที่ 4 การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลง (Development Formulation of Entomopathogenic Fungi). 67

ขั้นตอนในการพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์กำจัดแมลง..... 68

การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อรา..... 68

การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์..... 78

ชนิดและประเภทของสารเสริมประสิทธิภาพ..... 81

วิธีการพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลง..... 83

การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบเม็ด..... 83

การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบผงละลายน้ำ..... 84

การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบผงคลุกเมล็ด..... 85

การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบสารแขวนลอยเข้มข้น... 88

การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบน้ำมันเข้มข้น..... 88

การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบเจลและครีม..... 89

การกำหนดมาตรฐานชีวภัณฑ์..... 89

การคำนวณความเข้มข้น..... 90

สรุป..... 91

เอกสารอ้างอิง..... 92

บทที่ 5 เทคนิคการใช้เชื้อรากำจัดแมลงศัตรูพืชให้ได้ผล (Application technique of entomopathogenic fungi for insect pest control)..... 101

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืช..... 103

เทคนิคการใช้เชื้อรากำจัดแมลงในพืชชนิดต่าง ๆ 107

นาข้าว..... 107

พืชไร่..... 110

พืชผัก..... 113

ไม้ผล..... 122

ไม้ดอกไม้ประดับ..... 124

แมลงศัตรูในโรงเก็บ..... 126

ป่าไม้..... 128

หน้า

เทคนิคการใช้เชื้อรากำจัดแมลงในแต่ละกลุ่มแมลง..... 129
ข้อดี ข้อจำกัดของการใช้เชื้อรากำจัดแมลง..... 132
สรุป..... 134
เอกสารอ้างอิง..... 135

บทที่ 6 การใช้เชื้อรากำจัดแมลงควบคุมศัตรูอื่น ๆ (Entomopathogenic fungi in controlling other pests)..... 151

เชื้อรากำจัดแมลงควบคุมแมลงทางการแพทย์และสาธารณสุข..... 151
เชื้อรากำจัดแมลงควบคุมเห็บโค..... 155
เชื้อรากำจัดแมลงควบคุมหอย..... 164
สรุป..... 166
เอกสารอ้างอิง..... 167

บทที่ 7 เชื้อรากำจัดแมลงในระบบการควบคุมศัตรูพืชแบบบูรณาการ (Integration of entomopathogenic fungi into pest management)... 173

การใช้เชื้อราร่วมกับผลิตภัณฑ์หางไหล..... 173
การใช้เชื้อราร่วมกับสารล่อแมลง..... 177
การใช้เชื้อราร่วมกับสารไล่..... 182
การใช้เชื้อราร่วมกับสารเคมี..... 184
สรุป..... 187
เอกสารอ้างอิง..... 188

บทที่ 8 เทคโนโลยีการผลิตเชื้อรากำจัดแมลงแบบง่าย (A Simple Technology for the mass production of entomopathogenic fungi)..... 193

เทคโนโลยีอย่างง่ายในการผลิตโคนิเดีย..... 193
การผลิตโคนิเดียโดยตรงที่ใช้เมล็ดธัญพืชเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อ..... 193
การผลิตโคนิเดียจากอาหารเหลว..... 205
เทคโนโลยีอย่างง่ายในการผลิตบลาสโตสปอร์..... 205
สรุป..... 203

หน้า

เอกสารอ้างอิง..... 203

ดัชนี **211**

Index **216**

ประวัติผู้เขียน..... **224**

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ตัวอย่างเชื้อรากำจัดแมลงที่มีรูปของ anamorphs และ teleomorphs.....	26
2.2	การจัดจำแนกเชื้อรากำจัดแมลง.....	29
2.3	ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Beauveria* spp.....	35
3.1	เชื้อรากำจัดแมลงต่างชนิดกันมีความสามารถในการทำให้เพลี้ยไฟ..... *Frankliniella occidentalis* และ *Thrips tabaci* เกิดโรคตายได้แตกต่างกัน	54
3.2	ค่าระดับความรุนแรงของเชื้อราต่างชนิดกันกับไรขาวพริก.....	56
3.3	การตอบสนองของเพลี้ยไฟต่างชนิดกันต่อเชื้อราชนิดเดียวกัน.....	57
3.4	ความรุนแรงของเชื้อราในการทำให้เพลี้ยไฟเกิดโรคตายในแต่ละระยะการเจริญเติบโต.....	58
3.5	การตอบสนองของตัวอ่อนจิ้งหรีดใหญ่ (*Brachytrupes portentosus* Lict) ในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตต่อเชื้อรากำจัดแมลง.....	58
3.6	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การตายของจิ้งหรีดใหญ่ (*Brachytrupes portentosus* Lict.) เพศผู้และเพศเมียจากเชื้อรากำจัดแมลง	59
3.7	เปอร์เซ็นต์การงอก และความยาวของ germ tube ของเชื้อรา *Beauveria bassiana* บนผนังลำตัวของเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* ที่อุณหภูมิต่าง ๆกัน หลังการปลูกเชื้อราที่ 12 และ 24 ชั่วโมง.....	59
3.8	เปอร์เซ็นต์ penetration ของเชื้อรา *Beauveria bassiana* เข้าไปในผนังลำตัวของเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน.....	60
4.1	Solid Substrates Evaluated for Production of the Principal Entomopathogenic Ascomycetes.....	70
4.2	ระดับความเข้มข้นของสปอร์ของเชื้อรากำจัดที่เลี้ยงบนเมล็ดธัญพืชต่างชนิดกัน...	72
4.3	ระดับความเข้มข้นของสปอร์ของเชื้อรากำจัดที่เลี้ยงบนผลิตภัณฑ์แป้งต่างชนิดกัน.....	74
4.4	ความเข้มข้นของบลาสโตสปอร์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อราต่างชนิดกัน.....	77
4.5	ความเข้มข้นของเชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบผงคลุกเมล็ดที่มีอัตราส่วนของสารพาต่าง ๆ กัน.....	87

ตารางที่ **หน้า**

5.1 ค่า LC_{50} ของเชื้อรา *Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae* ต่อตัวอ่อนเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* และ *Thrips tabaci* บนพืชอาศัยต่าง ๆ กัน..... 106

5.2 เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงของศัตรูกะหล่ำจากเชื้อรากำจัดแมลง..... 114

5.3 เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงของเพลี้ยอ่อนกะหล่ำจากเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ระดับความเข้มข้น 1×10^{8} สปอร์ต่อมิลลิลิตร..... 116

5.4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความหนาแน่นของตัวเต็มวัยด้วงหมัดผัก และความเสียหายที่เกิดขึ้นบนใบผักกาดกวางตุ้งจากการทดสอบในแปลงสภาพแปลงเมื่อมีการใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae*..... 115 117

5.5 ค่า LC_{50} และ LC_{50} ของเชื้อรากำจัดแมลงต่อเพลี้ยไฟ *Scirtothrips dorsalis*..... 120

5.6 ค่า LC_{50} และ LC_{50} ของเชื้อรากำจัดแมลงต่อไรขาว *Polyphagotarsonemus latus*..... 120

5.7 ค่า LC_{50} และ LC_{50} ของเชื้อรากำจัดแมลงต่อหนอนระยะสุดท้ายแมลงวันพริก *Bactocera latifrons*..... 121

5.8 เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงของไรแดงกุหลาบเนื่องจากเชื้อราสาเหตุโรคแมลงระยะ 3 วันหลังการพ่นเชื้อรา..... 125

6.1 ค่า LC_{50} และ LT_{50} ของเชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae* และ *Metarhizium flavoviride* ต่อหนอนแมลงวันหัวเขียว **(***Chrysomya megacephala***)** ระยะที่ 2..... 153

6.2 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* isolate 6171 ต่อระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ ของแมลงวันหัวเขียว (*Chrysomya megacephala*) 154

6.3 เปอร์เซ็นต์การตายของเห็บโคเพศเมียระยะกินเลือดจนอิ่มตัว (engorge) ด้วยเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลตต่าง ๆ 160

6.4 อัตราการตายของเห็บเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มเนื่องจากเชื้อรา *Beauveria bassiana* 161

6.5 การวางไข่ของเห็บโครยะตัวเปง (engorged female) เมื่อ ทดสอบกับเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride* และ *Isaria fumosoroseus* 163

ตารางที่ **หน้า**

6.6 เปอร์เซ็นต์การตายของหอยเชอรี่ตัวเต็มวัยจากเชื้อรากำจัดแมลงที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อราร้อยละ 1..... 164

6.7 เปอร์เซ็นต์การตายของหอยเชอรี่จากเชื้อรา *Beauveria bassiana* ที่อยู่ในน้ำที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน..... 164

6.8 เปอร์เซ็นต์การตายของหอยแว่นจากเชื้อรากำจัดแมลงที่ระดับความเข้มข้นของร้อยละ 1..... 166

7.1 ผลของผลิตภัณฑ์หางไหลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกสปอร์เชื้อรา *Beauveria bassiana*... 174

7.2 ผลของผลิตภัณฑ์หางไหลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา *Metarhizium* spp. 175

7.3 ผลของผลิตภัณฑ์หางไหลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา *Isaria* spp..... 176

7.4 เปอร์เซ็นต์การเข้าหาอาหารล่อของจิ้งหรีดใหญ่..... 179

7.5 เปอร์เซ็นต์ความเสียหายของต้นถั่วจากการทำลายของแมลงวันเจาะลำต้นถั่วหลังการใช้สารชีวภัณฑ์เชื้อราและสารไล่แมลง..... 184

7.6 ผลของสารเคมีต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae*..... 185

7.7 ผลของสารเคมีตามอัตราแนะนำต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Beauveria bassiana* และ เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* 186

8.1 ความเข้มข้นของเชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana* ในวัสดุเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน ที่ระยะเวลาการบ่มเชื้อ 7 วัน..... 198

8.2 ผลของความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ต่อการปนเปื้อนของวัสดุเลี้ยงเชื้อ..... 201

8.3 ความเข้มข้นของโคนิเดียเชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ที่ผลิตได้จากบลาสโตสปอร์..... 206

8.4 ความเข้มข้นของบลาสโตสปอร์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกันที่ระยะเวลาในการเขย่า ให้มีการแลกเปลี่ยนออกซิเจน 5 วัน..... 208

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.1	กลไกการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรียต่อแมลงศัตรูพืช	3
1.2	ลักษณะอาการตายของหนอนผีเสื้อเมื่อได้รับเชื้อ *Bacillus thuringiensis*	3
1.3	กลไกการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสต่อแมลงศัตรูพืช	5
1.4	ลักษณะอาการตายของหนอนผีเสื้อเมื่อได้รับเชื้อ Nucleopolyhedrovirus	5
1.5	กลไกการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรากำจัดแมลง	7
1.6	ลักษณะอาการตายของจิ้งหรีดใหญ่ศัตรูพืชเมื่อได้รับเชื้อรา	7
1.7	ลักษณะไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง	8
1.8	กลไกการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอย	9
1.9	ลักษณะอาการของหนอนเนื่องจากไส้เดือนฝอย	10
1.10	ลักษณะของโพรโทซัว	11
1.11	กลไกการเข้าทำลายของโพรโทซัวในผึ้ง	12
2.1	ลักษณะเส้นใยที่ไม่มีผนังกั้น (Aseptate hypha)	16
2.2	ลักษณะเส้นใยที่มีผนังกั้น (Septate hypha)	16
2.3	ไดอะแกรมการจัดจำแนกหมวดหมู่ของเชื้อรา	19
2.4	ลักษณะสปอร์ของเชื้อรากำจัดแมลงในไฟลั่มต่าง ๆ	31
2.5	ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรากำจัดแมลงบางชนิด	32
2.6	ลักษณะรูปร่างของโคนิเดียของเชื้อรา *Beauveria* spp.	38
2.7	ลักษณะรูปร่างของโคนิเดียของเชื้อรา *Metarhizium* spp.	39
2.8	ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Beauveria bassiana*	40
2.9	ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*	41
2.10	ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Isaria fumosorosea*	42
2.11	ลักษณะสปอร์ของโคนิเดีย *Beauveria bassiana Metarhizium anisopliae*	43
3.1	แสดงเมื่อพ่นเชื้อรากำจัดแมลงไปที่ตัวแมลงพบสปอร์ติดที่ส่วนต่าง ๆ ของแมลง	48
3.2	การงอกของสปอร์บนผนังลำตัวแมลงที่ระยะเวลา 18 ชั่วโมงหลังการพ่นเชื้อ	49
3.3	การสร้างโครงสร้างแทงทะลุผนังลำตัวแมลงของเชื้อรา	50
3.4	ลักษณะของสปอร์ที่แทงผ่านทะลุผนังลำตัวแมลง	50

ภาพที่ **หน้า**

3.5 สปอร์แทงทะลุผ่านผนังลำตัวแมลงเข้าสู่ช่องว่างในตัวแมลง..... 51
3.6 การแทงทะลุเส้นใยออกนอกตัวแมลง..... 52
3.7 การสร้างสปอร์เชื้อราขึ้นปกคลุมตัวแมลง..... 53
4.1 ลักษณะของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ที่เลี้ยงในวัสดุเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ..... 73
4.2 ลักษณะของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ที่เลี้ยงในวัสดุเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ..... 73
4.3 ลักษณะของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ที่เจริญเติบโตบนผลิตภัณฑ์แป้งต่างชนิดกัน 75
4.4 ลักษณะของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ที่เจริญบนผลิตภัณฑ์แป้งต่างชนิดกัน 75
4.5 ลักษณะ mycelium pellet ของเชื้อรากำจัดแมลงที่เลี้ยงด้วยอัตราส่วน
คาร์บอน: ไนโตรเจนไม่เหมาะสม..... 76
4.6 เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบเม็ด *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae*.... 84
4.7 สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อราแบบผงละลายน้ำ..... 85
4.8 สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรา *Beauveria bassiana* รูปแบบผงคลุกเมล็ดที่
ผสมทัลคัมและดินเบาที่อัตราส่วนต่าง ๆ กัน 86
4.9 สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* รูปแบบผงคลุกเมล็ดที่
ผสมทัลคัมและดินเบาที่อัตราส่วนต่าง ๆ กัน..... 87
4.10 การนับสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงด้วย hemocytometer..... 90
5.1 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของโคนิเดีย เชื้อรา *Beauveria bassiana* บนใบแตงกวา
และฝ้ายที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันภายหลังการพ่น..... 105
5.2 เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟเนื่องจาก เชื้อรา *Beauveria bassiana* บนใบ
แตงกวาและฝ้ายที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันภายหลังการพ่น..... 105
5.3 ระยะการเจริญเติบโตของข้าว..... 108
5.4 ชนิดของแมลงศัตรูข้าวในแต่ละช่วงอายุ..... 109
5.5 เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ถูกทำลายด้วยเชื้อรา..... 109
5.6 ระยะการเจริญเติบโตของอ้อย..... 111
5.7 ด้วงหนวดยาวอ้อยถูกทำลายด้วยเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*..... 111
5.8 เพลี้ยแป้งถูกทำลายด้วยเชื้อรา..... 112
5.9 ระยะการเจริญเติบโตและแมลงที่พบในพืชตระกูลกะหล่ำ..... 113

ภาพที่		หน้า
5.10	หนอนผีเสื้อตระกูลกะหล่ำ และเพลี้ยอ่อนถูกทำลายด้วยเชื้อรากำจัดแมลง.....	115
5.11	ด้วงหมัดผัก และมวนผักกาด ถูกทำลายด้วยเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*	117
5.12	แมลงศัตรูในแต่ละระยะของการปลูกมะเขือเทศ.....	118
5.13	แมลงหวี่ขาว ถูกทำลายด้วยเชื้อรา *Isaria*.....	119
5.14	ลักษณะตัวเต็มวัยและดักแด้แมลงวันผลไม้ที่ถูกทำลายด้วยเชื้อรากำจัดแมลง	124
5.15	ไรแดงถูกทำลายด้วยเชื้อรากำจัดแมลง.....	126
5.16	การตายของด้วยงวงข้าวโพดจากเชื้อรา.....	127
5.17	ลักษณะผีเสื้อสักที่ถูกทำลายด้วยเชื้อรา *Beauveria bassiana*.....	128
5.18	วงจรชีวิตของด้วงหมัดผัก.....	130
6.1	แมลงวันหัวเขียวถูกทำลายด้วยเชื้อรากำจัดแมลง.....	152
6.2	เห็บในแต่ละระยะการเจริญเติบโตถูกทำลายด้วยเชื้อรากำจัดแมลง.....	160
7.1	วงจรชีวิตจิ้งหรีดใหญ่	178
7.2	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของเมล็ดกาแฟดิบที่สุ่มนับบนต้นกาแฟ.....	181
7.3	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของเมล็ดกาแฟสุกแก่.....	181
7.4	ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่าง ๆ ในการไล่ตัวเต็มวัยแมลงวันเจาะลำต้นถั่วภายในระยะเวลา 5 นาที หลังการได้รับน้ำมันหอมระเหย.....	183
8.1	ลักษณะของเมล็ดก่อนต้ม และลักษณะของเมล็ดหลังต้มที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อรา	194
8.2	การเจริญของเชื้อราในเมล็ดข้าวโพดบดหยาบและเต็มเมล็ด.....	195
8.3	ตำแหน่งการใช้เข็มหมุดเจาะถุงที่ตำแหน่งแตกต่างกัน 3 ระดับ	197
8.4	ระยะการมัดจากปากถุง.....	197
8.5	การเจริญของเชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana* ในข้าวสาลีที่ทำให้ปราศจากเชื้อ ด้วย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	199
8.6	การเจริญของเชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana* ในข้าวโพดบด ที่ทำให้ปราศจากเชื้อ ด้วย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน.....	199
8.7	การเจริญของเชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana* ในข้าวเหนียวที่ทำให้ปราศจากเชื้อ ด้วย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน.....	200
8.8	การเจริญของเชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana* ในข้าวจ้าวที่ทำให้ปราศจากเชื้อด้วย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน.....	200
8.9	ขั้นตอนการผลิตโคนิเดียจากอาหารเหลว.....	207

บทที่ 1 บทนำ

(Introduction)

เชื้อสาเหตุโรคแมลง (Entomopathogen)

แมลงก็เหมือนสิ่งมีชีวิตทั้งหลายที่เป็นโรคตาย ซึ่งเป็นกฎธรรมชาติที่ใช้ควบคุมจำนวนประชากรของสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย ในธรรมชาติมีจุลินทรีย์มากมายหลายชนิดที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกับแมลง ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส ไส้เดือนฝอย โพรโทซัว ริเคเซีย รวมทั้งเชื้อรา ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กลุ่มใหญ่ที่ พบว่าทำให้เกิดโรคกับแมลงมากกว่ากลุ่มเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ จากการค้นคว้าและศึกษาพบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงเป็นจำนวนมาก แต่มิใช่ว่าจุลินทรีย์ทุกชนิดจะสามารถนำมาใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ การใช้เชื้อจุลินทรีย์หรือผลผลิตของเชื้อจุลินทรีย์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เรียกว่าการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยเชื้อจุลินทรีย์ (microbial control)

เชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการกำจัดศัตรูพืชได้แตกต่างกัน เช่น เชื้อแบคทีเรียและไวรัส จะใช้ได้ผลกับเฉพาะแมลงที่มีปากกัดกิน และส่วนใหญ่จำกัดอยู่ที่ระยะตัวหนอนเพราะเชื้อจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการทำลายแมลงได้เมื่อแมลงต้องกินเชื้อจุลินทรีย์เหล่านั้นเข้าไปแล้วผ่านระบบการย่อยอาหารของกระเพาะอาหารแมลงแล้วจึงปลดปล่อยสารพิษออกมาจึงมีผลทำให้แมลงตาย ในขณะที่เชื้อรามีข้อได้เปรียบที่สามารถเข้าทำลายแมลงได้โดยผ่านทางผนังลำตัว (Lacey, 1997) โดยสปอร์ของเชื้อราเมื่อติดที่ผนังลำตัวแมลงจะงอกส่วนของ germ tube แทงทะลุผ่านผนังลำตัวแมลงเข้าไปในช่องว่างของลำตัวแมลง ซึ่งในช่องว่างของลำตัวแมลงมีเลือดทำให้เชื้อราเจริญเพิ่มปริมาณได้ในเลือดของแมลง เป็นเหตุให้แมลงตายในที่สุด ดังนั้น จึงทำให้สามารถใช้เชื้อราในการควบคุมแมลงที่ดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช เช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มวนศัตรูพืช แมลงที่มีปากกัดกิน เช่น หนอนผีเสื้อ หนอนด้วง ด้วง ตั๊กแตน หรือแมลงที่มีปัญหาในการควบคุม เนื่องจากมีวงจรชีวิตระยะที่ทำลายผลผลิตไม่เอื้ออำนวยให้มีการใช้สารเคมี หรือวิธีการอื่น ๆ เช่น แมลงวันผลไม้ แมลงวันพริก มอดเจาะผลกาแฟที่วงจรชีวิตแมลงส่วนใหญ่อยู่ในผลหรือด้วงหมัดผัก ด้วงเต่าแตง ปลวก เสี้ยนดิน ที่วงจรชีวิตส่วนใหญ่อยู่ในดิน เป็นต้น

เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการกำจัดแมลง

1. เชื้อแบคทีเรีย (Bacteria)

เชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการกำจัดแมลง ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์บาซิลาซิอี้ (Family Bacillaceae) สกุลบาซิลัส (Genus Bacillus) บาซิลัสเป็นเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติพบได้ทุกหนทุกแห่งในโลก ทั้งในอากาศดิน น้ำ แม้บนต้นไม้และใบไม้ มีลักษณะเฉพาะคือ สามารถสร้างสารพิษ ซึ่งเมื่อแมลงกินเข้าไปทำให้แมลงตายได้จึงมีศักยภาพสูงในการควบคุมแมลงศัตรูพืช แต่มีความปลอดภัย ต่อสัตว์เลือดอุ่น (มนุษย์และสัตว์) สัตว์น้ำพวกปลาและแมลงที่เป็นประโยชน์ เช่น ผึ้ง ต่อ แตน แมลงห้ำ แมลงเบียน เป็นต้น

เชื้อ *Bacillus* ที่นำมาใช้ในการกำจัดแมลง ได้แก่

Bacillus thuringiensis หรือที่รู้จักกันทั่วไปในนามว่า บีที (B T) ใช้กำจัดแมลงได้หลายชนิด แต่ละชนิดมีผลึกโปรตีนที่เป็นพิษจำเพาะเจาะจงต่อกลุ่มของแมลงดังนี้

Bacillus thuringiensis var. aizawai มีประโยชน์สำหรับการกำจัดหนอนต่าง ๆ รวมทั้งหนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก ที่อยู่ในวัยแรก ๆ

Bacillus thuringiensis var. kurstaki มีประโยชน์ในการกำจัดหนอนผีเสื้อต่าง ๆ หลายชนิด

Bacillus thuringiensis var. tenebrionis มีประโยชน์ในการกำจัดมอดแป้งต่าง ๆ ในวงศ์ Tenebrionidae

Bacillus thuringiensis var. israelensis มีประโยชน์ในการกำจัดยุง แมลงวันดำ

Bacillus popilliae ประโยชน์ในการกำจัดแมลงวงศ์ Scarabaeidae

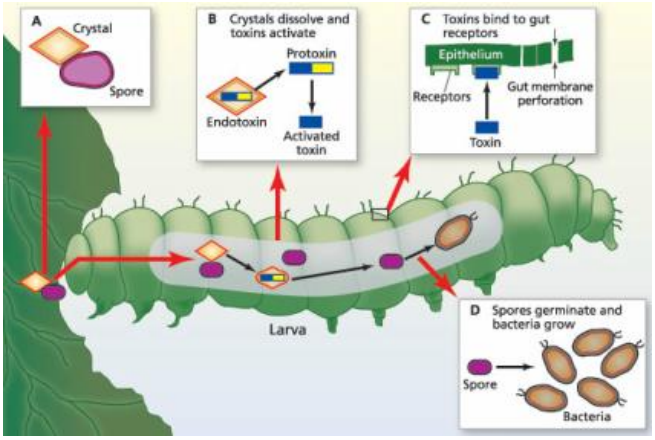
Bacillus sphaericus ประโยชน์ในการกำจัดลูกยุง

Bacillus moritai ประโยชน์ในการกำจัดแมลงอันดับ Diptera เช่น แมลงวันบ้าน

กลไกการเข้าทำลาย

แมลง ต้องกินเชื้อแบคทีเรียเข้าไปจึงจะมีฤทธิ์ในการฆ่าแมลง ส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพเฉพาะกับตัวอ่อนหรือหนอนของแมลง ยกเว้นบางสายพันธุ์เท่านั้นที่ทำลายได้ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของด้วงปีกแข็งบางชนิด บางกรณีแมลงกินสารพิษในรูปของ โพรทอกซิน (protoxin) ที่ยังไม่เป็นพิษเข้าไป

แต่เมื่อเข้าไปอยู่ที่กระเพาะซึ่งมีน้ำย่อยที่มีความเป็นด่างค่อนข้างสูงทำให้เกิดกระบวนการย่อยโพรทอกซินออกมาเป็นสารพิษ สารพิษนี้จะไปอยู่ที่ผนังเซลล์ของกระเพาะและทำลายผนังเซลให้เป็นแผล น้ำย่อยที่มีฤทธิ์เป็นด่างจะเข้าไปตามรอยแผลไปอยู่ที่ช่องว่างภายในลำตัวของแมลง ทำให้แมลงเกิดอาการหยุดกินอาหาร ส่วนสปอร์ที่แมลงกินเข้าไปจะไปขยายพันธุ์อยู่ที่ลำไส้และบางส่วนเข้าไปตามรอยแผลไปแบ่งตัวอยู่ตามเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในตัวแมลงเป็นสาเหตุให้แมลงเป็นอัมพาตทั่วตัว แมลงตายในที่สุด (ภาพที่ 1.1)



ภาพที่ 1.1 กลไกการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรียต่อแมลงศัตรูพืช

ที่มา : Suvanthinis (2015)

ลักษณะการตายของแมลง แมลงที่ตายด้วยเชื้อแบคทีเรีย ลำตัวจะตัวอ่อนนุ่ม ซากเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ (ภาพที่ 1.2) และมีกลิ่นเหม็น



ภาพที่ 1.2 ลักษณะอาการตายของหนอนผีเสื้อเมื่อได้รับเชื้อ *Bacillus thuringiensis*

ที่มา : Biologicalcontrol.info (n.d.)

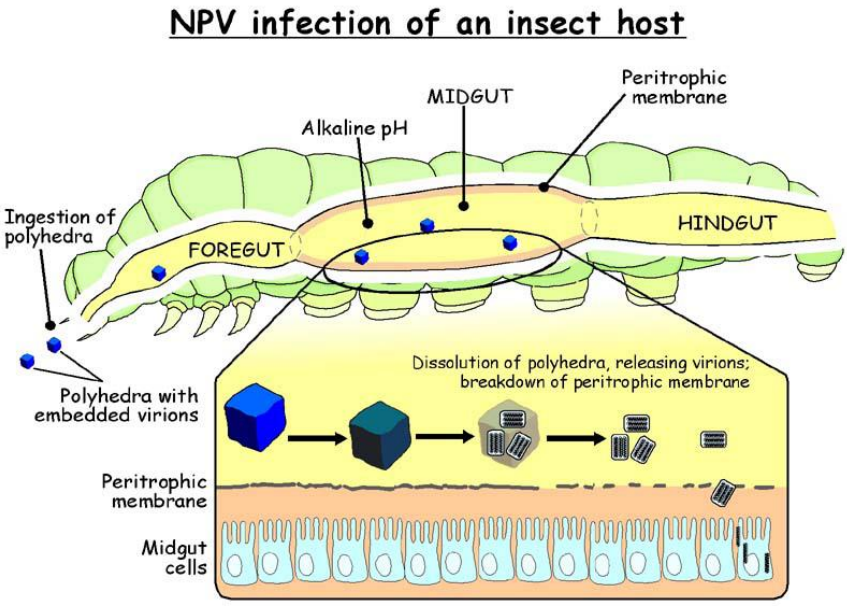
2. เชื้อไวรัส (Virus)

ไวรัสเป็นจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคกับแมลง ปัจจุบันพบไวรัสของแมลงมากกว่า 20 กลุ่ม แต่ชนิดที่มีความสำคัญนำมาใช้ในการควบคุมแมลง ได้แก่ วงศ์บาคูโลวิริดี (Family Baculoviridae) ซึ่งมีลักษณะสำคัญ คือ อนุภาคไวรัส (nucleocapsid) เป็นท่อนตรง (rod-shaped) มีผนังล้อมรอบ มีสารพันธุกรรมแบบดีเอ็นเอเส้นคู่พันเป็นเกลียววงกลม เป็นไวรัสที่สร้างผลึกโปรตีน (Polyhedra) ห่อหุ้มอนุภาคไวรัส จึงสามารถคงทนอยู่ภายนอกตัวแมลงได้ในระดับหนึ่ง ไวรัสจัดเป็นตัวเบียนที่แท้จริง (obligate parasite) จำเป็นต้องอาศัยกลไกของเซลล์ที่เข้าไปอาศัยอยู่ ช่วยสร้างสิ่งต่าง ๆ ที่ต้องการเพื่อการขยายพันธุ์ ดังนั้น ไวรัสจะเจริญเพิ่มปริมาณได้เมื่ออยู่ในเซลล์ที่มีชีวิตที่เหมาะสมเท่านั้น จึงทำให้ไวรัสมีความเฉพาะเจาะจงสูงกับแมลงอาศัย เชื้อไวรัสชนิดไหน ก็ใช้ควบคุมแมลงชนิดนั้น ไม่สามารถใช้ข้ามชนิดกันได้ เช่น SeNPV เป็นเชื้อไวรัสกำจัดหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigue*) ก็สามารถใช้ควบคุมหนอนกระทู้หอมเท่านั้น ไม่สามารถนำมาควบคุมหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ได้แก่ ไวรัสวงศ์บาคูโลวิริดี แบ่งเป็น 2 สกุล คือ

1. สกุลนิวคลีโอพอลิฮีโดรไวรัส (เอ็น พี วี) (Genus *Nucleopolyhedrovirus*: NPV) ใช้ควบคุมหนอนผีเสื้อหลายชนิด สำหรับประเทศไทยมีการค้นพบและศึกษาวิจัยไวรัส เอ็น พี วี เพียง 5 ชนิด คือ ไวรัสหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนคืบกะหล่ำปลีและหนอนไหม เป็นต้น
2. สกุลกรานูโลไวรัส (จี วี) (Genus Granulovirus, GV) เป็นไวรัสที่มีความเฉพาะเจาะจงมากถึงระดับสปีชีส์ของแมลง ทำลายเฉพาะตัวอ่อนของหนอนผีเสื้อ โดยเฉพาะในวงศ์ Noctuidae

กลไกการเข้าทำลาย (ภาพที่ 1.3)

กลไกการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสเช่นเดียวกันกับเชื้อแบคทีเรียที่แมลงต้องกินเชื้อไวรัสเข้าไปทางปากผ่านกระเพาะอาหารจึงมีฤทธิ์ฆ่าแมลง โดยน้ำย่อยในกระเพาะอาหารส่วนกลางที่มีสภาพเป็นด่างจัดจะย่อยสลายผลึกโปรตีน และปล่อยไวริออนออกมาซึ่งไวริออนเหล่านี้จะเคลื่อนย้ายไปที่ผนังกระเพาะอาหาร แล้วผนังเมมเบรนที่ล้อมรอบอนุภาคไวรัสจะเชื่อมต่อเข้ากับผนังของเซลล์กระเพาะอาหารส่วนกลางแล้วปล่อยเฉพาะส่วนของนิวคลีโอไทด์ เข้าไปในเซลล์ผ่านเข้าไปในนิวเคลียสของเซลล์แมลงทวีจำนวนจนนิวเคลียสแตก จากนั้นเชื้อไวรัสเข้าสู่ช่องว่างในลำตัวแมลง เคลื่อนย้ายไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ หนอนที่ได้รับเชื้อไวรัส จะมีสีขาวซีดและมีจุดแต้มจางหรือสีดำเข้ม บางชนิดอาจเคลื่อนที่ไปสู่ยอดต้นพืช ไม่กินอาหารและห้อยหัวลงมาจากยอด หรือกิ่งพืช ลำตัวจะเยิ้ม ผนังแตกง่ายและมีน้ำไหลเยิ้ม



ภาพที่ 1.3 กลไกการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสต่อแมลงศัตรูพืช

ที่มา : Hoover *et al*. (2011)

ลักษณะการตายของแมลง

แมลงที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลายลำตัวมีอาการเป็นจ้ำ ๆ สีเหลืองหรือสีขาวขุ่น ผนังลำตัวเปราะบาง และแตกง่าย มีน้ำสีขาวขุ่นไหลออกมา (ภาพที่ 1.4) ซึ่งไม่มีกลิ่นเหม็นเหมือนกับการตายจากเชื้อแบคทีเรีย



ภาพที่ 1.4 ลักษณะอาการตายของหนอนผีเสื้อเมื่อได้รับเชื้อ *Nucleopolyhedrovirus*

ที่มา : Biologicalcontrol.info (n.d.)

3. เชื้อรา (Fungi)

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่มีมากที่สุด และเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีมากเป็นอันดับสองรองจากแมลง สามารถพบได้ทั่วไป เป็น heterotrophic organism คือไม่สามารถสังเคราะห์อาหารเองได้ การดำรงชีวิตของเชื้อรา มีทั้งแบบเจริญได้ในเซลล์สิ่งมีชีวิตเท่านั้น (obligate parasite) เจริญได้ทั้งในสิ่งมีชีวิต และอาหารเลี้ยงเชื้อ (semi- parasite) และเจริญในซากพืช ซากสัตว์ (saprophytes) การสืบพันธุ์มีทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ ในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ สปอร์เชื้อราที่เป็นส่วนของโคนิเดีย (conidia) ที่สร้างบนก้านชูสปอร์ (conidiophores) มีความทนทานสามารถแพร่กระจายได้ไกล จึงเป็นส่วนสำคัญในการแพร่กระจายเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคแมลง

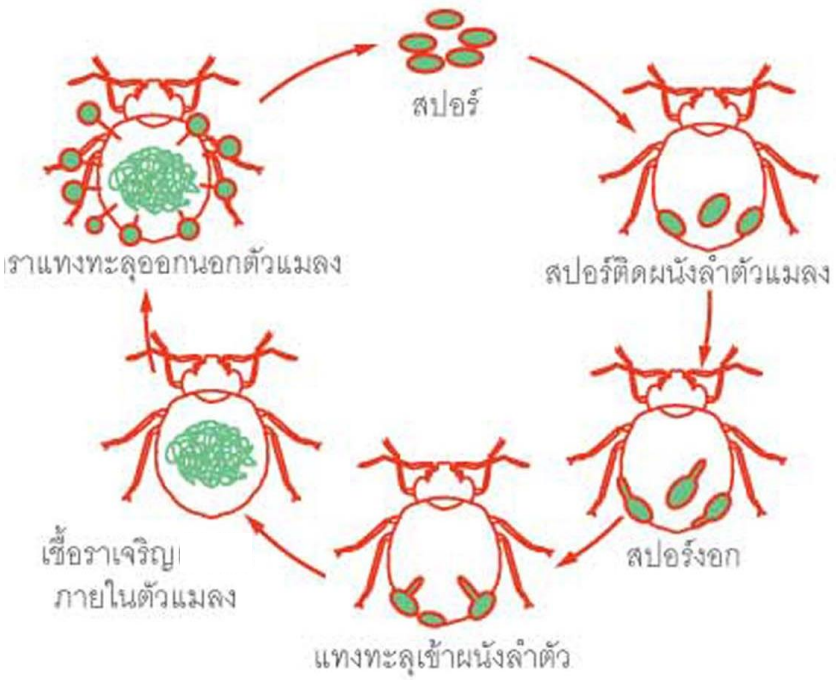
Entomopathogenic fungi มีการแปลกันไปได้หลายแบบ เช่น เชื้อราสาเหตุโรคแมลง เชื้อราก่อโรคแมลง หรือเชื้อรากำจัดแมลง โดยในหนังสือเล่มนี้จะใช้คำว่า เชื้อรากำจัดแมลง

กลไกการเข้าทำลาย

เชื้อรากำจัดแมลง มีข้อได้เปรียบเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่เชื้อราสามารถเข้าสู่แมลงได้ทางผนังลำตัว เจริญได้ด้วยเลือดของแมลงที่อยู่ในช่องว่างของลำตัว (ภาพที่ 1.5) จึงสามารถใช้กำจัดแมลงได้ทุกประเภทที่ทำลายพืชด้วยวิธีการต่าง ๆ เชื้อรา *Beauveria bassiana Metarhizium anisopliae Isaria fumosorosea* เป็นเชื้อราที่มีแมลงอาศัยกว้างพบมีการศึกษามากที่สุด

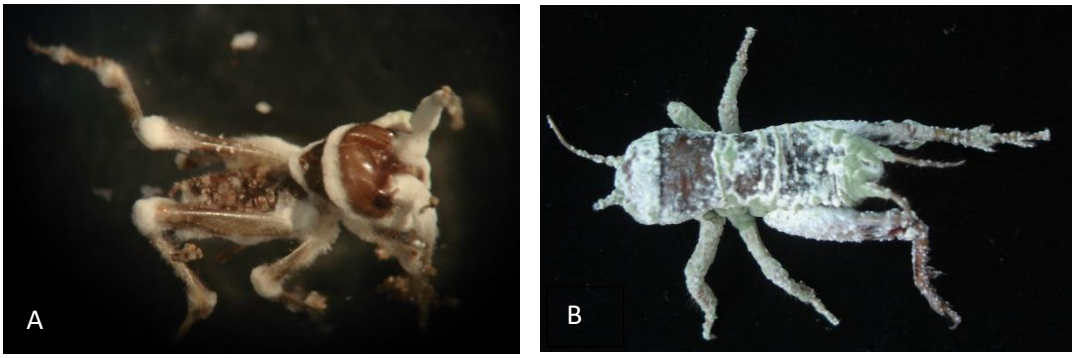
ลักษณะการตายของแมลง

แมลงที่ได้รับเชื้อรา อาการเริ่มแรก แมลงอ่อนแอ ไม่กินอาหาร และตายในที่สุด แมลงที่ตายจากเชื้อรา ลำตัวแข็งตรง และเมื่อมีความชื้น ช่วงแรกพบมีเส้นใยสีขาวแทงออกมาจากตัวแมลงและพบมีสปอร์ของเชื้อราขึ้นปกคลุมตามลักษณะของเชื้อราที่ทำลาย เช่น หากแมลงได้รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* ลำตัวปกคลุมด้วยสปอร์สีขาว หากได้รับเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ลำตัวปกคลุมด้วยสปอร์สีเขียว (ภาพที่ 1.6)



ภาพที่ 1.5 กลไกการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรากำจัดแมลง

ที่มา : มาลี (2550)



ภาพที่ 1.6 ลักษณะอาการตายของจิ้งหรีดใหญ่ศัตรูพืชเมื่อได้รับเชื้อรา

(A) *Beauveria bassiana* (B) *Metarhizium anisopliae*

4. ไส้เดือนฝอย (nematode)

ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงที่นำมาศึกษาการควบคุมศัตรูพืชมีอยู่ 2 วงศ์ ได้แก่ Steinernematidae Heterorhabditidae สำหรับสกุลที่นำมาใช้ในการกำจัดแมลงมีลักษณะต่างจากไส้เดือนฝอยชนิดอื่น ๆ ที่มีแบคทีเรีย *Xenorhabdus nematophilus* อาศัยอยู่ในส่วนของลำไส้มีผลทำให้แมลงตายและยังมีส่วนสำคัญต่อการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยเมื่อเข้าไปอยู่ในตัวแมลงวงศ์ Heterorhabditidae เป็นวงศ์ที่มีการขยายพันธุ์โดยไม่ใช้เพศ

ลักษณะทั่วไป

ไส้เดือนฝอยมีรูปร่างเรียวยาวเหมือนเส้นด้าย ส่วนหัวกลมมน ส่วนหางแคบลงและเรียวแหลมที่ปลาย ลำตัวไม่แบ่งเป็นปล้อง มีผนังแข็งหุ้มรอบตัว ในขณะเป็นตัวอ่อนเล็ก ๆ ลำตัวมักจะโปร่งแสงเห็นอวัยวะภายในชัดเจน (ภาพที่ 1.7) แต่เมื่อโตเต็มที่ลำตัวจะทึบแสง ไม่มีอวัยวะในการเคลื่อนที่ จึงเคลื่อนที่ได้เฉพาะในของเหลว โดยการบิดตัวซ้ายที ขวาที ไปมาอย่างรวดเร็ว ซึ่งทำให้เป็นข้อจำกัดอย่างหนึ่งในการใช้ควบคุมแมลง เนื่องจากต้องมีความชื้นสูงในแปลง ไส้เดือนฝอยจึงจะเคลื่อนที่ไปหาแมลงอาศัยได้



ภาพที่ 1.7 ลักษณะไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

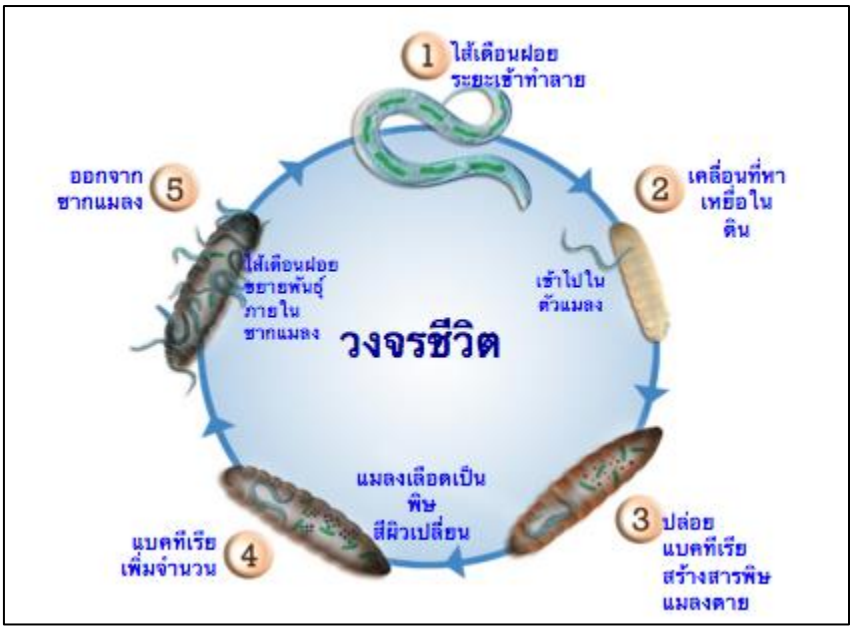
กลไกการเข้าทำลาย

ไส้เดือนฝอยวงศ์ Steinernematode จะชอนไชเข้าสู่แมลงทางปากเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้อาจเข้าทางทวารหนักและรูหายใจ ส่วนไส้เดือนฝอยวงศ์ Heterorhabditidae มีความสามารถเจาะผนังลำตัวของแมลงอาศัยได้ หลังจากเข้าไปในตัวแมลงแล้วจะชอนไชเข้าสู่กระแสเลือด ขณะเดียวกันก็จะขับถ่ายแบคทีเรียซึ่งอยู่ในลำไส้ออกมา ทำให้เลือดเป็นพิษ เป็นสาเหตุสำคัญทำให้แมลงตาย ไส้เดือนฝอยจะเพิ่ม

ปริมาณในตัวแมลงจนกว่าอาหารในตัวแมลงจะหมด จากนั้นจึงออกจากแมลงอาศัย และหาแมลงอาศัยตัวอื่นต่อไป (ภาพที่ 1.8)

ลักษณะการตายของแมลง

ลักษณะหนอนที่ตายเนื่องจากไส้เดือนฝอย จะเหนียวนิ่ม สีซีดจาง หรือเหลืองครีม จะอยู่นิ่ง ถ้าไม่สังเกตดูจะคิดว่ายังไม่ตาย และเมื่อนำไปใส่ในน้ำและมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ จะพบไส้เดือนฝอยออกจากตัวแมลงมาเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 1.9) ไส้เดือนฝอยสามารถเข้าทำลายแมลงได้หลากหลายชนิด เช่น หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนกินใต้ผิวเปลือกลำไย และหนอนด้วงต่าง ๆ การมีชีวิตของไส้เดือนฝอยขึ้นอยู่กับความชื้นเป็นสำคัญ ดังนั้นการนำไส้เดือนฝอยไปใช้ในการควบคุมศัตรูพืชต้องพิจารณาความชื้นเป็นปัจจัยแรก หากไม่มีความชื้นไส้เดือนฝอยไม่สามารถชอนไชเข้าไปตามส่วนต่างๆ ของแมลงอาศัยได้ ประสิทธิภาพการควบคุมแมลงจึงไม่เกิดขึ้น



ภาพที่ 1.8 กลไกการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอย

ที่มา : กรมวิชาการเกษตร (2016)



ภาพที่ 1.9 ลักษณะอาการตายของหนอนเนื่องจากไส้เดือนฝอย

5. โพรโทซัว (Protozao)

โพรโทซัว เป็นสัตว์เซลเดียว มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า แต่มีความสามารถสูงและลักษณะการดำรงชีพเหมือนสัตว์หลายเซลล์ โดยมีระบบต่าง ๆ ภายในตัวเองอย่างสมบูรณ์ เช่น การสืบพันธุ์ การย่อยอาหาร การหายใจ และการขับถ่าย โดยทั่วไปเคลื่อนไหวได้ ปัจจุบันโพรโทซัวแบ่งได้ เป็น 7 Phylum และพบว่า 4 Phylum ที่เป็นสาเหตุของโรคในสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง คือ Phylum Ciliophira, Sarcomastigophora, Apicomplexa และ Microspora ทั้ง 4 phylum นี้ phylum Microspora เท่านั้นที่มีแนวโน้มนำมาใช้ในการควบคุมแมลง ส่วนมากเป็น free- living species ดำรงชีวิตอยู่ตามลำพัง หรือเป็นกลุ่มอยู่อย่างอิสระแต่มีหลายชนิดที่มีความสัมพันธ์กับแมลง ซึ่งมีทั้งแบบที่มีความสัมพันธ์แบบ mutualism, commensalism และ parasitism (Gaugler and Kaya. 1990) เป็นต้น

ความสัมพันธ์แบบ mutualism เป็นความสัมพันธ์ที่โพรโทซัว อาศัยอยู่ในลำไส้ปลวก ซึ่งต่างฝ่ายต่างต้องพึ่งพาอาศัยกัน หากแยกจากกันจะไม่สามารถดำรงชีวิตได้ โพรโทซัวได้อาหารจากปลวก ในขณะที่ ปลวกได้โพรโทซัวช่วยย่อยไม้ เป็นต้น เช่นโพรโทซัว ไทรโคนิมฟา (Trichonympha) (ภาพที่ 1.10)




ภาพที่ 1.10 ลักษณะของ โพรโทซัว (A) โพรโทซัวในลำไส้ปลวก (B) โพรโทซัว *Paramecium aurelia*

ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki

ความสัมพันธ์แบบ Commensalism เป็นการอยู่ร่วมกันโดยแมลงอาศัยไม่เสียประโยชน์และไม่ได้ประโยชน์ เช่น *Entamoeba coli* เป็นโพรโทซัวที่อยู่ในลำไส้ ที่คอยกินแบคทีเรียในลำไส้ เป็นต้น

ความสัมพันธ์แบบ parasitism พบโพรโทซัวประมาณเกือบ 1 หมื่นชนิดเป็นปรสิตของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังรวมทั้งมนุษย์ โพรโทซัวพวกสปอโรซัวเป็นปรสิตที่สำคัญที่สุดที่ทำให้เกิดโรค

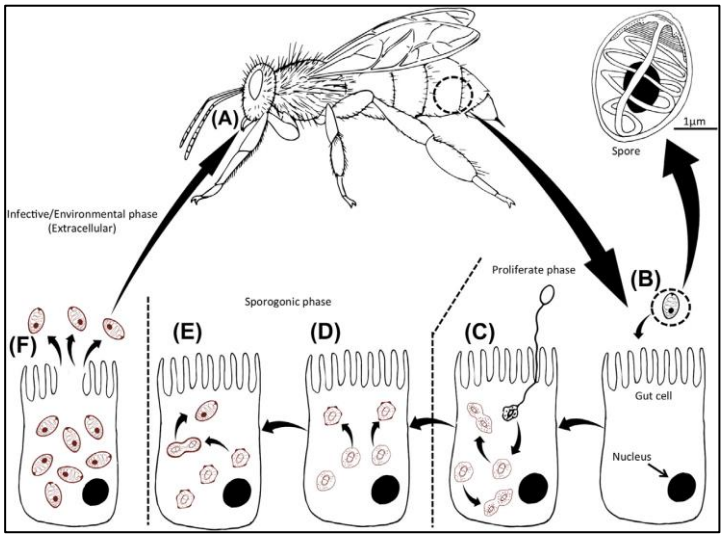
เชื้อโพรโทซัวที่ทำให้เกิดโรคกับแมลง แบ่งได้ 5 กลุ่ม ดังนี้

1. Flagellates
2. Amoebae
3. Sporozoa เป็นโพรโทซัวที่ทำให้เกิดโรคกับแมลง
4. Microsporidans
5. Ciliates

กลไกการเกิดโรคจากเชื้อโพรโทซัว (ภาพที่ 1.11)

การเข้าทำลายของเชื้อโพรโทซัว เกิดขึ้นเมื่อแมลงกินเชื้อโพรโทซัวเข้าไปในกระเพาะอาหาร เชื้อสร้าง polar lobe เพื่อเจาะทะลุเข้าไปในเซลล์ epithelium ของกระเพาะอาหาร และมีการเพิ่มปริมาณใน protoplasm เชื้อโพรโทซัวขยายตัวทำลายเซลล์ข้างเคียง เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลายเพิ่มขึ้น แมลงมีความ

แข็งแรงลดลง การผสมพันธุ์ลดลง การวางไข่ลดลง พฤติกรรมแมลงเปลี่ยนแปลงไปก่อนที่แมลงตาย ซึ่งใช้เวลาหลายวัน หรือเป็นสัปดาห์



ภาพที่ 1.11 กลไกการเข้าทำลายของเชื้อโพรโทซัวในผึ้ง

ที่มา : Wittner and Weiss (1999)

ลักษณะอาการ

แมลงที่เป็นโรคเนื่องจากเชื้อโพรโทซัว ไม่มีอาการที่เฉพาะเจาะจงของโรคอย่างชัดเจน เมื่อแมลงได้รับเชื้ออาการของโรคอาจปรากฏเฉพาะที่อวัยวะหรือเนื้อเยื่อที่เชื้อเข้าทำลาย แต่ถ้าเชื้อเข้าทำลายอวัยวะทั่ว ๆ ไป แมลงจะแสดงอาการเจริญเติบโตผิดปกติ เชื่องช้าลง ไม่กินอาหาร ตายในระยะหนอนหรือดักแด้ หรือเป็นตัวเต็มวัยที่พิการไม่แข็งแรง อายุสั้นความสามารถในการสืบพันธุ์ลดลง ส่วนบางโรคแสดงอาการแบบ Systemic ที่แมลงจะตายอย่างรวดเร็ว เช่น เชื้อ *Nosema bombycis* Naegeli ที่ทำให้เกิดโรคกับหนอนไหม พบมีจุดสีน้ำตาลหรือดำกระจายบนผนังลำตัว ส่วนเชื้อโพรโทซัวในกลุ่ม amoebae เช่น *Malamoeba locustae* ทำให้ตั๊กแตนไม่สามารถกำหนดทิศทางการเคลื่อนที่ได้ จะชักกระตุก และตายในที่สุด การตายเกิดจากเชื้อโพรโทซัว ไปเจริญเพิ่มปริมาณทำให้เซลล์แตกตาย นอกจากอาการ systemic แล้ว โพรโทซัวทำให้แมลงที่ได้รับเชื้อเกิดอาการ chronic คือ เป็นโรคแบบค่อยเป็นค่อยไป ใช้เวลานานกว่าแมลงจะตาย บางครั้งตลอดช่วงชีวิต

การได้รับเชื้อและถ่ายทอดเชื้อโพรโทซัว

1. โดยการกินสปอร์ หรือโพรโทซัวระยะอื่นๆที่มีปะปนในอาหารเข้าไป โดยปกติมักเกิดกับแมลงระยะตัวอ่อน
2. ได้รับเชื้อผ่านทางไข่ ทั้งที่ติดมากับไข่ หรือเกิดจากเชื้อเข้าทำลายอวัยวะสืบพันธุ์ของแมลง
3. ผ่านทาง อวัยวะวางไข่ (ovipositor) ของแมลงเบียนชนิดต่าง ๆ

ซึ่งการได้รับเชื้อที่แตกต่างกันนี้ มีผลต่อการแสดงอาการที่แตกต่างกัน การได้รับเชื้อโดยการกินแมลงจะแสดงอาการของโรคแบบ chronic แต่หากได้รับเชื้อผ่านทางไข่ จะแสดงอาการแบบ systemic

เชื้อโพรโทซัว จัดเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่มีความเฉพาะเจาะจง เช่นเดียวกับเชื้อราที่สามารถทำให้แมลงเกิดโรคข้ามวงค์ ข้ามอันดับได้ แต่มีความเป็นโรคไม่รุนแรง ยากต่อการเพิ่มปริมาณ การใช้โพรโทซัวในลักษณะ bio insecticides จึงไม่เหมาะสม ณ.ปัจจุบัน

สรุป

เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในแมลง ได้แก่ แบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา ไส้เดือนฝอย โพรโทซัว และริคเคทเซีย แต่ไม่ใช่จุลินทรีย์ทุกชนิดจะสามารถนำมาใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ จากการค้นคว้าศึกษาพบจุลินทรีย์ที่สามารถทำให้เกิดโรคกับแมลงได้จำนวนมากแต่มีเพียงไม่กี่ชนิดที่ได้พัฒนามาใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชได้ จุลินทรีย์ที่พัฒนามาเป็นการค้าใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืช เช่น เชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus thuringiensis* เชื้อไวรัส ได้แก่ *Nucleopolyhedrovirus* เชื้อรา ได้แก่ *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ไส้เดือนฝอย ได้แก่ *Steinemema carpocapse* และ ไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ ไทย *Steinernema siamkayai* เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2559. ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง สืบค้นจาก http://microorganism.expertdoa.com/nematode_1.php สืบค้นเมื่อ 8/10/2559.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2550. เชื้อรากำจัดแมลง. เอกสารเผยแพร่ สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา. 25 หน้า.

Biologicalcontrol. Info. n.d. available at http://www.biologicalcontrol.info/pathogens.html Accessed 8/10/2560

Gaugler, R. and Kaya, H.K. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Roton, Florida. 365 p.

Hoover K., Grove, M., Gardner, M., Hughes, D.P., McNeil, J. and Slavicek, J. 2011. A gene for an extended phenotype. Science 333 : 1401.

https://th.wikipedia.org/wiki/ โพรโทซัว

Lacey, L.A. 1997. Manual of Techniques in Insect Pathology. Academic Press. 409 p.

Lacey, L.A. 2017. Microbial control of insect and mite pests. Academic Press. 451 p.

Suvanthinis. 2015. Bacteria (online) Available at https://www.slideshare.net/Suvanthinis/2015-0325-agb-12022 Accessed 8/10/2560

Wittner, M. and Weiss, L.M. 1999. Microsporidia and microsporidiosis. ASM Press, Washington DC.

บทที่ 2 เชื้อราแมลง

(Insect Fungi)

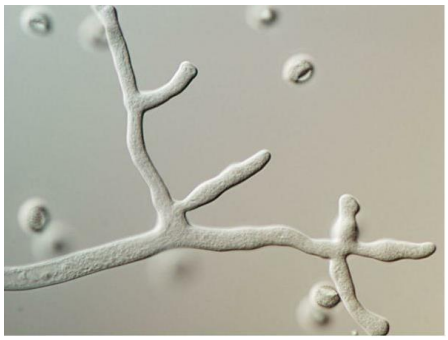
เชื้อรา (Fungi) เป็นยูแคริโอตที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ ก่อนหน้านี้มีการจัดเชื้อราอยู่ในกลุ่มพืชชั้นต่ำ แต่เมื่อมีวิทยาศาสตร์ทันสมัยขึ้น มีการศึกษาได้ถึงระดับโมเลกุล พบว่าเชื้อรามีความใกล้ชิดกับสัตว์มากกว่าพืช เชื้อราสร้างอาหารเองไม่ได้ต้องการสารอินทรีย์เป็นอาหาร จัดเป็นจุลินทรีย์กลุ่มใหญ่ มีจำนวนมากรองจากแมลง มีการค้นพบแล้วจำนวนมากกว่า 100,000 ชนิด มีรูปร่างแตกต่างกันมากมาย มีทั้งที่เป็นเซลล์เดียวเช่น ยีสต์และที่เป็นหลายเซลล์ มีลักษณะแตกต่างจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น คือมีผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ หรือไคติน อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือทั้งสองอย่าง มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ มีสปอร์เพื่อการสืบพันธุ์ มีการดำรงชีวิตได้ 3 แบบ

ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

รามีทั้งชนิดที่เป็นเซลล์เดียว เช่น ยีสต์ และที่เป็นหลายเซลล์เรียงเป็นเส้นใย เส้นใยแต่ละเส้นเรียกว่า ไฮฟา (hypha) ซึ่งไฮฟารวมกันเป็นกลุ่มเส้นใยขนาดใหญ่มองเห็นด้วยตาเปล่า เรียกว่า ไมซีเลียม (mycelium) เส้นใยของเชื้อรา จำแนกได้ 2 แบบ คือ

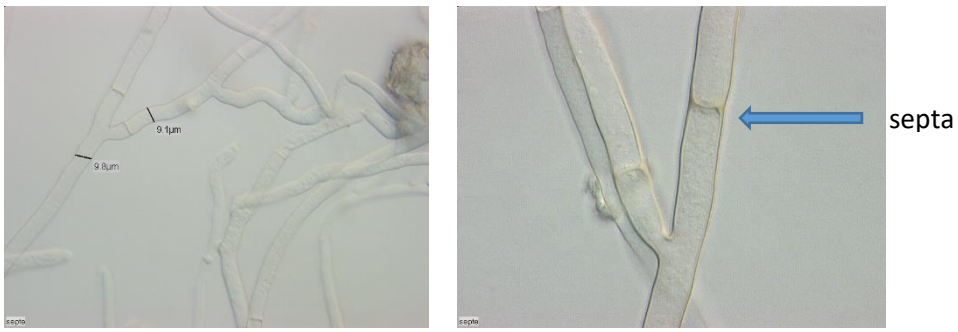
1. เส้นใยที่ไม่มีผนังกั้น (Non-septate hypha หรือ Coenocytic hypha) เส้นใยมีลักษณะเป็นท่อทะลุถึงกันโดยตลอดมีหลายนิวเคลียส (ภาพที่ 2.1)

2. เส้นใยที่มีผนังกั้น (Septate hypha) เป็นเส้นใยที่แต่ละเซลล์จะมีผนังกั้นไว้ทำให้ดูลักษณะเป็นห้อง ๆ (ภาพที่ 2.2) ในแต่ละเซลล์จะเชื่อมกันด้วยรูตรงกลางของผนังกั้นภายในเซลล์มีนิวเคลียสและไซโทพลาซึม อาจมีหนึ่งนิวเคลียส (uninucleate) หรือหลายนิวเคลียส (multinucleate)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะเส้นใยที่ไม่มีผนังกั้น (Aseptate hypha)

ที่มา : Shelly (2014)



ภาพที่ 2.2 ลักษณะเส้นใยที่มีผนังกั้น (Septate hypha)

เส้นใยของเชื้อรามีการเจริญได้สองทิศทาง ตามขวางเจริญไปอย่างเต็มที่แล้วจึงหยุดเจริญ ส่วนการเจริญตามยาวของเส้นใยจะขยายยาวออกไปและแตกแขนงอย่างไม่จำกัดตราบเท่าที่สภาวะแวดล้อมยังเหมาะสม เส้นใยที่มารวมกันเป็นไมซีเลียมจะประกอบด้วยสองส่วน ส่วนแรก เป็นไมซีเลียมที่ยึดเกาะกับอาหารเรียกว่า vegetative mycelium ทำหน้าที่ดูดสารอาหารไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ส่วนที่สอง เป็น ไมซีเลียมที่ยื่นไปในอากาศ เรียกว่า aerial mycelium หรือ reproductive mycelium ทำหน้าที่สร้างสปอร์เพื่อการสืบพันธุ์ ส่วนอาหารที่จำเป็นในการเจริญเป็นได้ทั้งสารอินทรีย์และอนินทรีย์ โดยทั่วไปเชื้อราใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ส่วนสารประกอบอินทรีย์ของไนโตรเจนใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน อุณหภูมิในการเจริญอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 0-35 องศาเซลเซียส แต่บางชนิดเป็นพวก

thermophilic fungi มีอุณหภูมิสูงสุดเจริญได้ที่ 50-60 องศาเซลเซียสแต่อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส pH ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 4-6 แต่เจริญได้ในช่วง pH 2-10

การสืบพันธุ์ของเชื้อรา

เชื้อรามีการสืบพันธุ์ได้ 2 แบบ ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ

การสืบพันธุแบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) แบ่งได้ดังนี้

1. การแตกหักเป็นท่อน (Fragmentation) เกิดจากเส้นใยหักเป็นส่วน ๆ แต่ละส่วนเรียก oidia สามารถเจริญเป็นเส้นใยใหม่ได้

2. การแตกหน่อ (Budding) เป็นการที่เซลล์แบ่งออกเป็นหน่อขนาดเล็กและนิวเคลียสของเซลล์แม่แบ่งออกเป็นสองนิวเคลียส นิวเคลียสอันหนึ่งจะเคลื่อนย้ายไปเป็นนิวเคลียสของหน่อ เมื่อหน่อเจริญเต็มที่จะคอดเว้าขาดจากกัน หน่อที่หลุดออกมาเจริญต่อไปได้ เรียกหน่อที่ได้นี้ว่า blastospores

3. การแบ่งตัว (fission) เซลล์แต่ละเซลล์จะคอดตรงกลาง แล้วแบ่งออกเป็น 2 ส่วน พบได้ในยีสต์บางชนิด

4. การสร้างสปอร์ (sporulation) สปอร์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual spore) เป็นการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศที่พบมากที่สุด สปอร์ที่สร้างมีชื่อเรียกแตกต่างกันไป เช่น

1. condiospore หรือ conidia เป็นสปอร์ที่ไม่มีสิ่งหุ้ม เกิดที่ปลายเส้นใยที่ทำหน้าที่ชูสปอร์ (conidiophore) ที่ปลายของเส้นใย จะมีเซลล์ที่เรียกว่า sterigma ทำหน้าที่สร้าง conidia

2. sporangiospore เป็นสปอร์ที่เกิดจากปลายเส้นใยพองออกเป็นกระเปาะ แล้วต่อมามีผนังกั้นเกิดขึ้นภายใน กระเปาะจะมีผนังหนาและเจริญเป็นอับสปอร์ (sporangium)นิวเคลียสภายในอับสปอร์จะมีการแบ่งตัวหลาย ๆ ครั้ง โดยมีส่วนของโพรโทพลาซึมและผนังหนามาหุ้มกลายเป็นสปอร์ที่เรียกว่า sporangiospore

3. arthrospore หรือ oidia เป็นสปอร์เซลล์เดียวที่เกิดจากเส้นใยหลุดออกมากลายเป็นสปอร์

4. chlamydospore เป็นสปอร์เดียวผนังหนา คงทนต่อสภาพที่ไม่เหมาะสมได้

5. blastospore เป็นสปอร์ที่เกิดจากการแตกหน่อของสปอร์เดิม

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

การสืบพันธุ์ของเชื้อราแบบอาศัยเพศเกิดขึ้นยากกว่าการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ และต้องการปัจจัยจำเพาะสูง เช่น ต้องการสารอาหาร แร่ธาตุ หรือวิตามินบางอย่างเป็นพิเศษ นอกเหนือจากชนิดที่ต้องการในระยะเจริญของเส้นใย ความเป็นกรดด่างของอาหาร และอุณหภูมิที่เหมาะสม อาจต้องอยู่ในช่วงจำกัดกว่าเดิม เชื้อราบางชนิด แต่ละโคโลนีสามารถสร้างสปอร์แบบอาศัยเพศได้เอง แต่บางชนิดอาจต้องจับคู่กับเส้นใยหรือสปอร์ของโคโลนีอื่นก่อน จึงจะสามารถเกิดการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศได้ สปอร์ที่เกิดแบบอาศัยเพศของ pseudofungi พวก oomycetes เรียกว่า โอโอสปอร์ (oospore) สปอร์ที่เกิดแบบอาศัยเพศของ true fungi พวก zygomycetes เรียกว่า ไซโกสปอร์ (zygospore) สปอร์ที่เกิดแบบอาศัยเพศของ true fungi พวก ascomycetes เรียกว่า แอสโคสปอร์ (ascospore) และสปอร์ที่เกิดแบบอาศัยเพศของ true fungi พวก basidiomycetes เรียกว่า เบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) เป็นต้น

การดำรงชีวิตของเชื้อรา

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ การดำรงชีวิตของเชื้อรา มี 3 รูปแบบ ได้แก่

1. Saprophyte เป็นเชื้อราที่ได้อินทรียสารจากสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้ว เช่น ซากพืชหรือซากสัตว์ต่าง ๆ เป็นอาหาร เชื้อราเหล่านี้ไม่สามารถเจริญบนสิ่งที่มีชีวิตได้
2. Obligate parasite เป็นเชื้อราที่ได้อินทรียสารจากสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ เจริญเฉพาะในสิ่งที่มีชีวิตเท่านั้น เรียกว่า ปรสิตที่แท้จริง
3. Facultative parasite หรือ semi parasite เป็นเชื้อราที่เจริญบนสิ่งที่มีชีวิตและเมื่อสิ่งที่มีชีวิตนั้นตาย ก็เจริญบนซากสิ่งที่มีชีวิตนั้นได้

การจัดจำแนกหมวดหมู่ของเชื้อรา

การจัดจำแนกหมวดหมู่ของเชื้อรานักวิทยาศาสตร์แต่ละท่านมีการจัดจำแนกเชื้อราแตกต่างกันไป ที่อาศัยลักษณะของสปอร์แบบมีเพศ ลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ โครงสร้างการเจริญเติบโตและการดำรงชีวิต การจัดจำแนก ตามหลักของ Alexopoulos and Mims (1979) จัดเชื้อราอยู่ในอาณาจักร (Kingdom) Fungi หรือ Myceteae และแบ่งออกเป็น 3 divisions ได้แก่

Gymnomycota Mastigomycota และ Amastigomycota และเมื่อ Patterson and Sogin (1992) ได้จำแนกสิ่งมีชีวิตออกเป็น 7 kingdom โดยเชื้อราอยู่ใน 2 kingdom ได้แก่ Kingdom Fungi และ Kingdom Chromista

Kingdom Fungi ประกอบด้วย 3 phylum ได้แก่ Zygomycota Basidiomycota และ Ascomycota และมีส่วน Deuteromycetes ส่วน Kingdom Chromista ได้แก่ Oomycota (ภาพที่ 2.3)

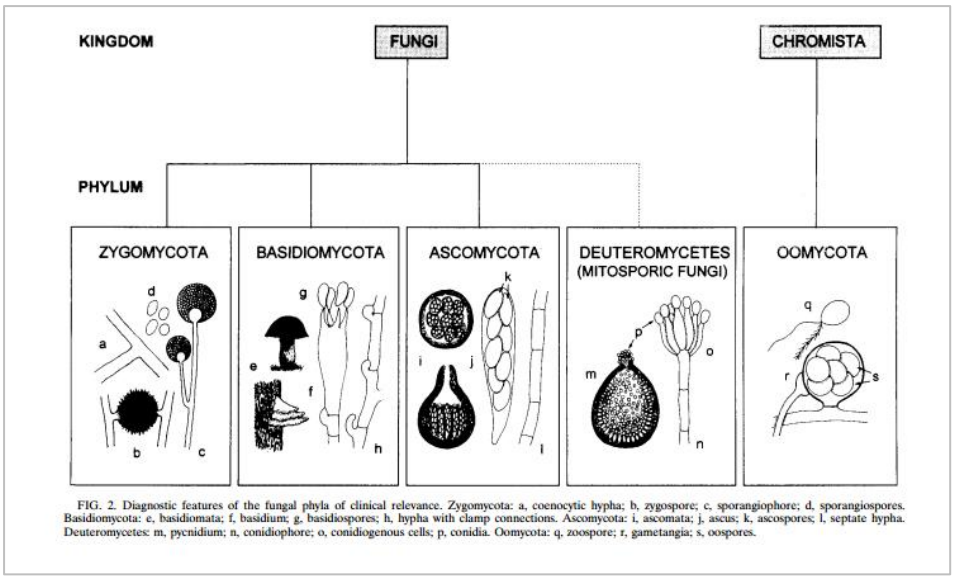


FIG. 2. Diagnostic features of the fungal phyla of clinical relevance. Zygomycota: a, coenocytic hypha; b, zygospore; c, sporangiophore; d, sporangiospores. Basidiomycota: e, basidiomata; f, basidium; g, basidiospores; h, hypha with clamp connections. Ascomycota: i, ascomata; j, ascus; k, ascospores; l, septate hypha. Deuteromycetes: m, pycnidium; n, conidiophore; o, conidiogenous cells; p, conidia. Oomycota: q, zoospore; r, gametangia; s, oospores.

ภาพที่ 2.3 ไดอะแกรมการจัดจำแนกหมวดหมู่ของเชื้อรา

ที่มา : Guarro, *et al.* (1999)

ส่วน Ainsworth จัดเชื้อราอยู่ใน Kingdom Fungi แต่แบ่งออกเป็น 2 Division คือ Division Myxomycota ได้แก่ ราเมือกต่าง ๆ และ Eumycota ได้แก่ True fungi สำหรับราชั้นต่ำ (Lower fungi) นั้น หมายถึง ราใน Subdivision Mastigomycotina และ Zygomycotina ซึ่งราใน 2 Subdivision ดังกล่าวนี้ แต่เดิม Mycologist มักกล่าวรวมไว้ใน Class Phycomycetes ส่วนราชั้นสูง (Higher fungi) หมายถึง ราใน Subdivision Deuteromycotina Ascomycotina และ Basidiomycotina จากราที่มีประมาณ 45,000 species นั้น 90% จัดเป็นราชั้นสูง ส่วนการจัดหมวดหมู่ของราตามความสัมพันธ์ทาง

วิวัฒนาการ (Phylogenetic classification) ได้จัดราไว้ ใน 3 Kingdom คือ Kingdom Fungi Kingdom Stramenopila และ Kingdom Protists ซึ่งแต่ละ Kingdom ได้แยกย่อยเป็นไฟลัมต่าง ๆ ดังนี้

1. Kingdom Protista ประกอบด้วย Phylum Acrasiomycota Phylum Dictyosteliomycota Phylum Myxomycota และ Phylum Plasmodiophoromycota
2. Kingdom Stramenopila ประกอบด้วย Phylum Oomycota Phylum Hyphochytridiomycota และ Phylum Labyrinthulomycota
3. Kingdom Fungi ประกอบด้วย Phylum Chytridiomycota Phylum Zygomycota Phylum Ascomycota และ Phylum Basidiomycota

Kingdom Protista

Phylum Myxomycota ราใน phylum Myxomycota ได้แก่ ราเมือก (slime mold) รา ประเภทนี้มีลักษณะก้ำกึ่งกันระหว่าง fungus และ animal มีช่วงชีวิตคล้ายสัตว์และพืชปนกัน ด้วยเหตุนี้ การจำแนกราเมือกจึงสามารถพบได้ทั้งใน Kingdom Animal โดยรวมเข้าไว้กับพวก protozoa ใน class Myxomycota ใน Kingdom Protista และใน Kingdom Fungi ลักษณะสำคัญของราเมือกก็คือ เป็นเซลล์ยูแคริโอต ไม่มีผนังเซลล์ ไม่มีคลอโรฟิลล์ ประกอบด้วยกลุ่มของโพรโทพลาซึมที่แผ่กระจายมี ลักษณะเป็นเมือก มี somatic phase ประกอบด้วย เซลล์ที่ไม่มีผนังหุ้ม เซลล์เหล่านี้อาจอยู่เดี่ยว ๆ มี การเคลื่อนที่แบบ amoeboid หรืออาจอยู่รวมกันในลักษณะกลุ่มก้อนที่เรียกว่า pseudoplasmodium หรือ plasmodium ซึ่งมีลักษณะคล้ายร่างแห ซึ่งอาจมีขนาดใหญ่หลายเซนติเมตร แต่ไม่สามารถจัดเป็น พวก multicellular เนื่องจากไม่มีการแบ่ง cytoplasm เป็นเซลล์ย่อย ๆ แต่เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีการ แบ่งนิวเคลียสอย่างเดียว และแต่ละนิวเคลียสของ plasmodium ส่วนมากเป็น diploid ภายในท่อเล็ก ๆ ของ plasmodium จะมีการไหลของ cytoplasm ไปทางใดทางหนึ่ง และต่อมาก็จะไหลย้อนกลับ ซึ่งจะ เป็นการนำเอาอาหารและออกซิเจนไปสู่ส่วนต่าง ๆ การกินอาหารของ plasmodium จะเกิดขึ้นด้วย กระบวนการ phagocytosis โดยยื่น pseudopodia ไปล้อมรอบอาหาร เช่น ส่วนของพืชที่เน่าเปื่อยผุพัง และเมื่ออาหารหมดไปแล้ว การเจริญแบบ Plasmodium ก็สิ้นสุดลง และจะเปลี่ยนรูปแบบของการเจริญ เข้าสู่การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ซึ่งมีรูปแบบคล้ายคลึงกับเชื้อรา การสืบพันธุ์คล้ายสัตว์กับพืช พอระยะ สืบพันธุ์ ราเมือกจะสร้างอับสปอร์ ภายในสปอร์มีผนังเซลล์ เป็นเซลลูโลสเช่นเดียวกับพืช ราในกลุ่มนี้

ทั้งหมดเป็น heterotrophic อาหารที่ได้รับส่วนใหญ่โดยการย่อยเซลล์ของแบคทีเรีย หรือ protozoa ราเมือกดำรงชีวิตแบบผู้ย่อยสลาย (saprophytism)

Kingdom Stramenopila

Phylum Oomycota

Phylum Oomycota ส่วนใหญ่พบในสภาพแวดล้อมที่มีน้ำ ลักษณะสำคัญของเชื้อรา Phylum นี้ คือมี zoospore ที่มีแฟลกเจลลาสองเส้นออกจากด้านหน้าและด้านหลังเซลล์ การสืบพันธุ์มีทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดย hypha เปลี่ยนแปลงเป็น sporangium ภายในมี zoospore ซึ่งเกิดจากการแบ่งเซลล์แบบ mitosis zoospore ซึ่งมีแฟลกเจลลาสองเส้น จะหลุดออกจาก sporangium และอาจเข้า encyst เพื่อพักตัว เมื่อ zoospore งอก จะสร้าง hypha ใหม่ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศมีการสร้าง oogonium ซึ่งเป็นปลาย hypha ที่พองออก ตัวอย่างเชื้อรากลุ่มนี้ได้แก่ Phytophthora Pythium เป็นต้น

Kingdom Fungi

1. Phylum Chytridiomycota

เชื้อราในไฟลัมนี้เป็นราชั้นต่ำ ส่วนมากจะอยู่ในน้ำ บางชนิดเป็น saprophyte บางชนิดเป็น parasite ของพวก protists พืช และสัตว์ต่าง ๆ แต่เดิมการจัดหมวดหมู่ของเชื้อราไม่ได้รวม chrytrids ไว้ใน kingdom fungi เนื่องจากยึดถือเอาว่า อาณาจักรนี้จะไม่สร้างสปอร์ที่มี flagella ในขณะที่ chrytrids มี flagella หนึ่งเส้น ที่เรียกว่า zoospore แต่เมื่อมีความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์ มีการเปรียบเทียบในระดับโมเลกุล พบว่ามีความใกล้ชิดระหว่าง chrytrids กับเชื้อราอื่น ๆ คุณลักษณะที่พ้องกันกับเชื้อรา คือ ความสามารถในการดูดซับอาหารและผนังเซลล์ประกอบด้วยไคติน พวก chytrids ส่วนใหญ่จะสร้าง hyphae แม้ว่ามีบางชนิดที่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ นอกจากนี้ chytrids ยังสร้างเอนไซม์และมี metabolic pathway แบบเดียวกันกับเชื้อราอื่น ๆ (ต่างจาก protist ที่คล้ายเชื้อรา เช่น ราเมือก และรำน้ำ) จากหลักฐานในระดับโมเลกลุได้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า chrytids เป็นเชื้อราที่ primitive ที่สุด และมีลักษณะที่ยังมี flagella ซึ่งอาจอยู่ในช่วงของการเปลี่ยนแปลงมาจาก protist ในระยะต้นของวิวัฒนาการ Chytrids ที่สำคัญ ได้แก่ Olpidium, Synchytrium และ Physoderma เป็นต้น

2. Phylum Zygomycota (Conjugation Fungi)

เชื้อราในไฟลัมนี้ส่วนมากอยู่บนบก ในดิน และสิ่งของที่เน่าเปื่อย กลุ่มที่มีความสำคัญและรู้จักกัน คือ Mycorrhiza ซึ่งจะอยู่ร่วมกับพืชในลักษณะของ mutualism เส้นใยของเชื้อรากลุ่มนี้จะสร้าง septa ในขณะที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์เท่านั้น เชื้อราที่รู้จักกันอย่าง แพร่หลายอีกชนิดหนึ่ง คือ ราดำ (*Rhizopus stolonifer)* ราชนิดนี้จะงอกเส้นใย แผ่ครอบคลุมอาหารและงอกเส้นใย เจริญลงไปในอาหาร เมื่อเจริญเต็มที่จะสร้างอับสปอร์รูปกลม สีดำ ชูขึ้นมาเหนือผิวของอาหาร ภายในมีสปอร์จำนวนมาก เมื่อปลิวไปตกในที่เหมาะสมก็เจริญเป็นเส้นใยใหม่การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ zygomycota จะเกิดขึ้นจาก mycelium ที่มีลักษณะของ mating type ที่แตกต่างกัน (รูปร่างดูจากภายนอกไม่ออก แต่ส่วนประกอบทางเคมีต่างกัน) ต่างงอกหลอดมาชนกัน แล้วจึงเกิดการรวมเซลล์ขึ้นบริเวณปลายของส่วนที่ยื่นมาติดกัน แล้วเซลล์ที่รวมกันนี้จะค่อย ๆ สร้างผนังที่ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้เรียกว่า zygosporangium เมื่อเกิดการรวมนิวเคลียสแล้วจึงเกิดการแบ่งเซลล์แบบ meiosis อีก และเมื่อสิ่งแวดล้อมเหมาะสมจะมีการสร้างสปอร์และปล่อย haploid spore จำนวนมากออกมาสู่อาหารใหม่ สปอร์ลักษณะนี้ เรียกว่า สปอร์พักตัวหรือ Zygospore การสืบพันธุ์ส่วนใหญ่เป็นแบบไม่อาศัยเพศ Sporangiospore ที่ถูกสร้างอาจอยู่ในลักษณะ Conidia Chlamydospore Oidia หรือ Arthrospore

3. Phylum Ascomycota (Sac fungi)

เชื้อราในไฟลัมนี้จัดเป็นราชั้นสูง พบมีอยู่บนบก ในน้ำ ทั้งน้ำจืดและน้ำเค็ม มีทั้งที่อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ เช่น ยีสต์ บางชนิดสร้าง fruiting bodies ขนาดใหญ่ เช่น cup fungi เห็ดหิ้ง Morel และเห็ด Truffles Ascomycetes หลายชนิด จะอาศัยอยู่ร่วมกับสาหร่ายที่เรียกว่า ไลเคน (Lichens) บางชนิดเป็น mycorrhiza ของพืช ลักษณะโดยเฉพาะของ Ascomycetes มีการสร้างสปอร์แบบอาศัยเพศ แบบ ascospore ในอับสปอร์ (ascus/asci) และสิ่งที่ต่างจาก zygomycota อย่างหนึ่ง คือ ระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะเกิดขึ้นใน fruiting bodies ขนาดใหญ่ ที่เรียกว่า ascocarp และ asci เกิดขึ้นภายใน ascocarp ไฟลัม Ascomycetes สามารถสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศได้จำนวนมากโดยสร้างที่ส่วนปลายของ hyphae ซึ่งมีลักษณะพิเศษที่เรียกว่า ก้านชูสปอร์ (conidiophore) สปอร์จะถูกสร้างขึ้นเป็นสายโดยไม่อยู่ในอับสปอร์ สปอร์แบบนี้ เรียกว่า conidia ซึ่งมาจากภาษากรีกที่หมายถึงฝุ่นละออง ราในกลุ่มนี้จะมี 2 สภาพ คือ สภาพที่สร้างถุง ascus ซึ่งเป็นระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเรียกว่า Ascigerous หรือ

Perfect stage และสภาพที่มีการสร้าง Conidia ซึ่งเป็นระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า Imperfect stage (ราบางชนิดอาจมีแต่การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเรียกว่า Fungi Imperfecti ซึ่งถ้าเป็นการแบ่งแบบเก่าจะหมายถึง Deuteromycota

สรุปลักษณะที่สำคัญของ Ascomycota

1) เส้นใยมีผนังกั้น

2) สปอร์แบบมีเพศสร้างภายใน ascus มี 8 ascospore

3) สปอร์แบบไม่มีเพศ ไม่สร้างใน ascus และสปอร์ไม่เคลื่อนที่

4) ไม่ต้องการความชื้นมากในการเจริญ

ตัวอย่างเชื้อรากลุ่มนี้ ได้แก่ ยีสต์ , Aspergillus และ Penicillium เป็นต้น

4. Phylum Basidiomycota (Club fungi)

เชื้อราในไฟลัมนี้ ได้แก่ เห็ดชนิดต่าง ๆ ลักษณะของ basidium จะมีรูปร่างคล้ายกระบอง (club like shape) จึงถูกเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า club fungi Basidiomycetes เป็นเชื้อราที่มีความสำคัญในการย่อยสลายไม้และชิ้นส่วนของพืช ก่อให้เกิดการผุพังอย่างรวดเร็ว เห็ด ราสามารถที่จะย่อยสลาย lignin ซึ่งเป็นสาร polymer ที่ซับซ้อน อันเป็นส่วนประกอบที่พบมากในเนื้อไม้ นอกจากนี้ Basidiomycetes หลายชนิดจัดเป็น mycorrhiza บางชนิดเป็น parasite เช่น โรคราสนิม และโรค smuts วัฏจักรชีวิตของ club fungi จะประกอบด้วย dikaryotic mycelium ที่ไวต่อสิ่งแวดล้อม เมื่อสิ่งแวดล้อมเหมาะสมจะมีการสร้าง fruiting bodies ที่เรียกว่า basidiocarp ซึ่งเป็นที่อยู่ของ basidia จำนวนมาก สปอร์แบบอาศัยเพศ จะเกิดบน basidia นี้ ส่วนการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ จะเกิดน้อยกว่า ไฟลัม Ascomycetes ดอกเห็ดเป็นตัวอย่างของ basidiocarp หมวกของดอกเห็ดจะเป็นส่วนที่ป้องกันและยึดส่วนที่เป็นครีบทางด้านล่างที่เป็นที่อยู่ของ basidia จำนวนมาก พื้นที่ผิวของครีบของดอกเห็ดแต่ละดอกอาจมากถึง 200 ตารางเซนติเมตร เห็ด 1 ดอกสามารถที่จะปล่อยสปอร์ออกมาได้ถึงพันล้านสปอร์ ซึ่งจะร่วงลงทางด้านใต้ดอกเห็ดและถูกลมพัดพาไป

สรุปลักษณะที่สำคัญของ Basidiomycota

1) เส้นใยมีผนังกั้น

2) สปอร์ไม่เคลื่อนที่

3) สปอร์แบบมีเพศสร้างบน basidium โดยแต่ละ basidium มี 4 basidiiospore

4) เส้นใยเป็นชนิด binucleate mycelium คือมีสองนิวเคลียสในแต่ละเซลล์

ตัวอย่างเชื้อรากลุ่มนี้ ได้แก่ เห็ดชนิดต่าง ๆ

ความสัมพันธ์ของเชื้อรากับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น

สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกันได้หลายรูปแบบ เช่นเดียวกันความสัมพันธ์ของเชื้อรากับแมลงซึ่ง พบมีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกันได้หลายรูปแบบ ดังนี้

1. ความสัมพันธ์เกื้อกูลซึ่งกันและกัน (symbiosis) ซึ่งมีอยู่ 2 ภาวะ ได้แก่

1) ภาวะพึ่งพา (Mutualism) หมายถึง การอยู่ร่วมกันของสิ่งมีชีวิต 2 ชนิด โดยต่างก็ได้รับประโยชน์ซึ่งกันและกัน หากแยกกันอยู่จะไม่สามารถดำรงชีวิตต่อไปได้ เช่น ไลเคนส์

2) ภาวะได้ประโยชน์ร่วมกัน (Protocooperation) หมายถึง การอยู่ร่วมกันของสิ่งมีชีวิต 2 ชนิด โดยก็ได้รับประโยชน์ซึ่งกันและกัน แม้แยกกันอยู่ก็สามารถดำรงชีวิตได้ตามปกติ เช่น เชื้อรา Mycorrhiza ซึ่งจะอยู่ร่วมกับพืช

2. ความสัมพันธ์แบบ pathogen เป็นความสัมพันธ์ที่ทำให้แมลงเกิดโรค เรียกว่า Entomopathogenic fungi คือ เชื้อราสาเหตุโรคแมลง หรือเชื้อราก่อโรค หรือเชื้อรากำจัดแมลง

เชื้อราสาเหตุโรคแมลง หรือเชื้อราก่อโรค หรือเชื้อรากำจัดแมลง (Entomopathogenic fungi) :

เชื้อรากำจัดแมลงมีความเฉพาะเจาะจง เป็นสาเหตุทำให้แมลงหรือสัตว์ที่มีรยางค์เป็นข้อเป็นปล้อง คือสัตว์ในไฟลัม Arthropoda อื่น ๆ เช่น ไร เห็บ เกิดโรคตาย โดยไม่ก่อให้เกิดโรคในพืช สัตว์ชนิดต่างๆ รวมถึงคนแต่อย่างใด

ประวัติการวิจัยและพัฒนาเชื้อรากำจัดแมลง

จุลินทรีย์ชนิดแรกที่ถูกค้นพบเป็นสาเหตุโรคแมลงคือ เชื้อรา โดยมีบันทึกการพบครั้งแรก ในปี 1726 โดย De Reaumur นักกีฏวิทยาชาวฝรั่งเศส โดยพบเชื้อรา Coryceps ในหนอนผีเสื้อ หลังจากนั้นอีก 100 ปีต่อมา ในปี 1826 ได้พบมีการเขียนบทความเรื่องความสัมพันธ์ของเชื้อรากับแมลงโดย Kirby and Spence ในหนังสือ An Introduction to Entomology ปี 1835 Agostino Bassi de Iodi นักกีฏวิทยาชาวอิตาเลียน ได้รายงานพบเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับหนอนไหม (*Bombyx mori* L.) และได้ทำการทดลองให้เห็นว่ามีเชื้อราเข้าไปเจริญในหนอนไหมได้ และเชื้อรานี้สามารถถ่ายทอดจากตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งได้ แต่ไม่ติดต่อไปยังมนุษย์ ซึ่งมีผลทำให้อุตสาหกรรมการเลี้ยงไหมของประเทศในทวีปยุโรปต้องสูญเสียไหมทุกปี เรียกโรคนี้ว่า white muscadine ซึ่งต่อมาได้ตั้งชื่อเชื้อราสีขาวที่ทำให้เกิดโรคกับหนอนไหนนี้ว่า *Beauveria bassiana* ซึ่งเป็นชื่อที่ตั้งขึ้นเพื่อให้เกรียติแก่ Bassi นอกจากนี้ Agostino Bassi de Iodi ได้รับการยกย่องให้เป็นบิดาแห่งโรควิทยาของแมลง (Father of Insect Pathology) ในปี 1878 นักสัตววิทยาชาวรัสเซีย Élie Metchnikof ค้นพบโรค muscardine สีเขียว ซึ่งตั้งชื่อว่า *Entomophthora anisopliae* ต่อมาเปลี่ยนเป็น *Metarhizium anisopliae* โดย Sorokin ในปี 1883. และ Sorokin เป็นคนแนะนำให้ใช้เชื้อรานี้มาใช้ในการควบคุมศัตรูพืช โดยการเลี้ยงเชื้อ *Metarhizium* แล้วนำไปใช้ควบคุม cockchafer (*Anisoplia austriaca* Hbst) ในปี 1865 Shimer พบเชื้อราสีขาวซึ่งเป็นสาเหตุทำให้มวน (chinch bug) ตายเป็นจำนวนมาก แต่ไม่มีใครในขณะนั้นเชื่อว่า เชื้อราสีขาวเป็นสาเหตุของการระบาดของโรค ต่อมา Forbes พบเชื้อราขาวระบาดทำลาย chinch bug อีกในปี 1887 พอปี 1888 Lugger ทำให้เกิดการระบาดของเชื้อรา *Beauveria* เพื่อกำจัดมวน chinch bug ด้วยการแพร่กระจายมวนที่เป็นโรคไปในที่ต่าง ๆ ซึ่งมีทั้งที่ประสบผลสำเร็จในการกำจัด และไม่ประสบผลสำเร็จ และหลังจากนั้น ได้มีการนำเชื้อรามากำจัดแมลงมากขึ้น และในปี 1944-1945 ได้มีการเริ่มยุคใหม่ของการศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคแมลงอย่างกว้างขวาง และถือว่า Steinhaus เป็นบิดาของโรคของแมลงยุคใหม่ (Father of Modern Insect Pathology) (Tanada and Kaya 1993)

การจัดจำแนกเชื้อรากำจัดแมลง

ในโลกนี้มีเชื้อราประมาณ 1.5-5.1 ล้านชนิด ในจำนวนนี้ ประมาณ 100 สกุล 750-1,000 ชนิด เป็นเชื้อรากำจัดแมลง (ST. Leger and Wang, 2010)

เดิมเชื้อรากำจัดแมลงมีการจัดจำแนกไว้ 6 ไฟลัม โดยไฟลัม Deuteromycota เป็นรูปของเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual state) หรือที่เรียกว่า annamorphs แต่ถ้าเชื้อราดังกล่าวเป็นรูปของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual state) หรือที่เรียกว่า teleomorphs (ตารางที่ 2.1) จะถูกจำแนกอยู่ในไฟลัม Ascomycota หรือ Basidiomycota ดังนั้นในปัจจุบัน เมื่อมีการใช้ผลการวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอ (gene sequence) ไฟลัม Deuteromycota ได้ถูกยุบไปอยู่รวมในไฟลัม Ascomycota หรือ Basidiomycota โดยดูจากพันธุกรรมว่าเหมือนกับไฟลัมไหน เชื้อรากำจัดแมลงจึงมีการจัดจำแนกไว้ 5 ไฟลัม (ตารางที่ 2.2) ซึ่งมีรูปร่างของสปอร์ในแต่ละไฟลัมแตกต่างกัน (ภาพที่ 2.4)

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างเชื้อรากำจัดแมลงที่มีรูปของ anamorphs และ teleomorphs

Anamorphs state	Teleomorph state
Akanthomyces aranearum Mains	*Cordyceps thaxteri* (Petch) Mains
Akanthomyces cinereus Jones	*Torrubiella* sp.
Akanthomyces pistillariiformis Samson and Evans	*Cordyceps tuberculate* (Lebert) Maire
Aschersonia coffeae Henn.	*Moelleriella javanica* (Penz and Sacc.) Chaverri and Hodge
Aschersonia oxystoma Berk	*Moelleriella oxystoma* (Berk) Chaverri, Lin and Hodge
Aschersonia placenta Berk	*Moelleriella raciborskii* (Zimm) Chaverri, Lin and Hodge
Aschersonia samoensis Henn.	*Hypocrella discoidea* (Berk and Broome) Sacc.

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างเชื้อรากำจัดแมลงที่มีรูปของ anamorphs และ teleomorphs (ต่อ)

Anamorphs state	Teleomorph state
Aschersonia calendulina Jones and Mongkolsamrit	*Hypocrella calendulina* Jones and Mongkolsamrit
Aschersonia luteola Jones and Mongkolsamrit	*Hypocrella luteola* Jones and Mongkolsamrit
Beauveria bassiana (Bals. Criv.) Vuill	*Cordyceps staphylinidicola* Kobayasi and Shimizu
Paecilomyces cinnamomeus (Petch) Samson and Gams	*Conoideocrella luteorostrata* (Zimm.) Johnson, Sung, Jones and Spatafora
Nomuraea atypicola (Yasuda) Samson	*Cordyceps cylindrical* Petch
Isaria sp.	*Cordyceps ninchukispora* (Su and Wang) Sung, Sung, Jones and Spatafora
Isaria tenuipes Peck	*Cordyceps takaomontana* Yakush and Kumaz
Gibellula dimorpha Tzean, Hsieh and Wu	*Torrubiella dimorpha* Tzean, Hsieh and Wu
Gibellula pulchra Cavara	*Torrubiella arachnophila var. pulchra* Mains
Hirsutella sp.	*Ophiocordyceps brunneipunctata* Sung, Sung Jones and Spatafora
Hirsutella formicarum Petch	*Ophiocordyceps unilateralis* (Tul.) Petch
Hirsutella saussurei (Cooke) Speare)	*Ophiocordyceps humbertii* (Robin) Sung, Sung, Jones and Spatafora
Hirsutella versicolor Petch	*Torrubiella pruinosa* Minter and Brady
Hymenostilbe dipterigena Petch	*Ophiocordyceps dipterigena* Sung, Sung, Jones and Spatafora
Hymenostilbe nutans Samson and Evans	*Ophiocordyceps nutans* Sung, Sung Jones and Spatafora

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างเชื้อรากำจัดแมลงที่มีรูปของ anamorphs และ teleomorphs (ต่อ)

Anamorphs state	Teleomorph state
Hymenostilbe ventricosa Jones	*Ophiocordyceps blattae* Petch
Hymenostilbe aurantiaca Jones	*Ophiocordyceps myrmecophila* Sung, Sung, Jones and Spatafora
Hymenostilbe sphecophila Petch	*Ophiocordyceps sphecocephala* Sung, Sung, Jones and Spatafora
*Metarhizium anisopliae (*Metschn.) Sorokin	*Metacordyceps brittlebankisoides* Sung, Sung, Jones and Spatafora
Verticillium hemipterigenum Petch	*Torrubiella hemipterigena* Petch

ที่มา : สุชาดา และคณะ (2553)

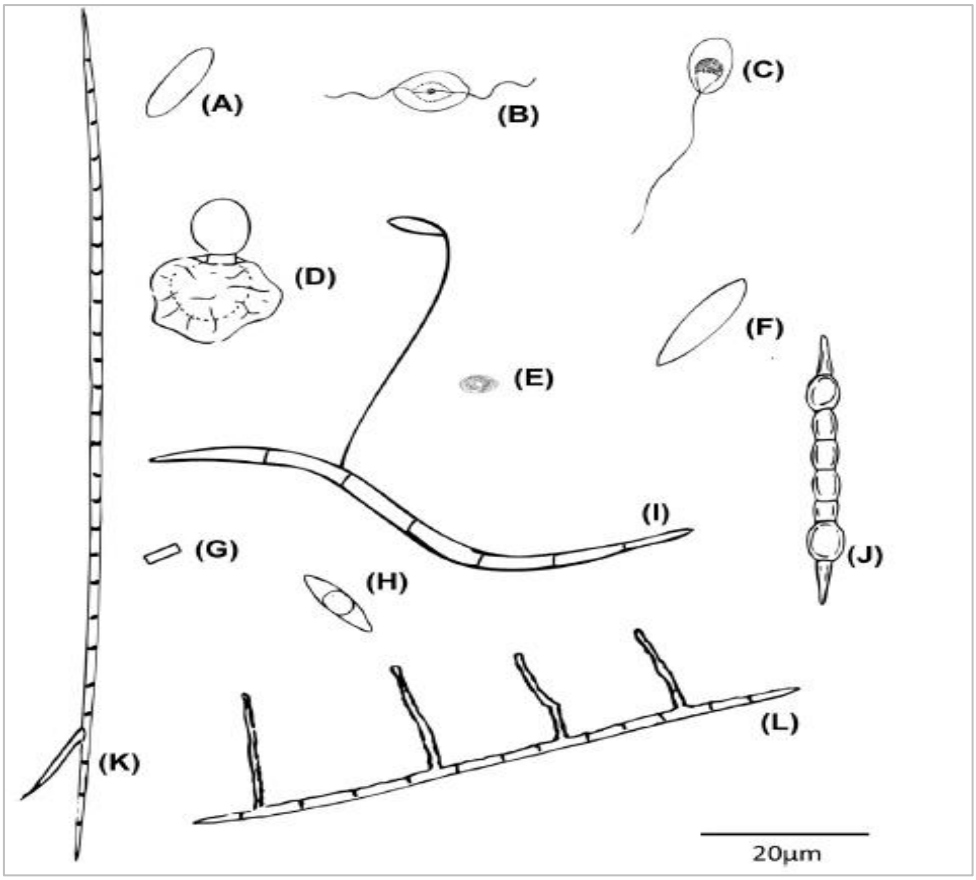
ตารางที่ 2.2 การจัดจำแนกเชื้อรากำจัดแมลง (Classification of entomopathogenic fungi)

Phylum	Class	Order	Family	Genus
1. Oomycota	Oomycetes	Lagenidiales		*Lagenidium*
				Aphanomycopsis
				Atkinsiella
				Couchia
		Saprolegniales		*Leptolegnia*
2. Chytridiomycota	Chytridiomycetes	Blastocladiales	Coelomomycetaceae	*Coelomomyces*
				Coelomycidium
				Catenaria
		Chytridiales		*Myriophagus*
3. Zygomycota	Zygomycetes	Entomophthorales	Ancylistaceae	*Conidiobolus*
				Basidiobolus
			Entomophthoraceae	*Entomophthora*
				Entomophaga
				Erynia
				Eryniopsis
				Furia
				Massospora
				Strongwellsea
				Pandora
				Orthomyces
				Tarichium
				Zoophthora
			Neozygitaceae	*Neozygites*
				Thaxterosporium
		Mucorales	Mucoraceae	*Sporodiniella*
	Trichomycetes	Amoebidiales		*Amoebiales*
4. Basidiomycota	Phragmobasidiomycetes	Septobasidiales		*Septobasidium*
				Uredinella
				Harpographium
				Aegerita
5. Ascomycota	Plectomycetes		Ascosphaerales	*Ascoaphaera*
	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreaceae	*Cordycepioideus*
			Nectriacea	*Nectria*
		Clavicipitales	Clavicipitaceae	*Hypocrella*
				Metacordyceps
				Regiocrella

ตารางที่ 2.2 การจัดจำแนกเชื้อรากำจัดแมลง (Classification of entomopathogenic fungi) (ต่อ)

Phylum	Class	Order	Family	Genus
5. Ascomycota		Clavicipitales	Clavicipitaceae	*Torrubiella*
				Aschersonia
				Tetranacrium
				Acremonium
				Akanthomyces
				Aschersonia
				Aspergillus
		Hypocreales	Clavicipitaceae	*Beauveria*
				Culicinomyces
				Fusarium
				Gibellula
				Hirsutella
				Hymenostilbe
				Metarhizium
				Nomuraea
				Isaria
				Paecilomyces
				Paraisaria
				Pseudogibellula
				Sorosporella
				Sporothrix
				Tetracrium
				Tilachlidiopsis
				Tolypocladium
				Lecanicillium
			Cordycipitaceae	*Cordyceps*
			Ophiocordycipitaceae	*Ophiocordyceps*
				Elaphocordyceps

ที่มา : Roy *et al.* (2006)

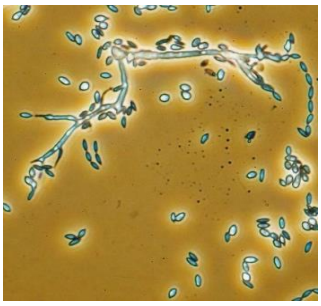
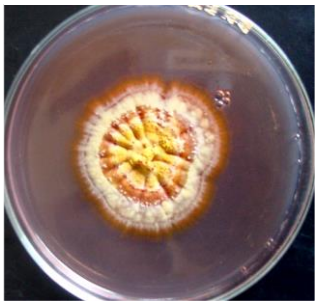
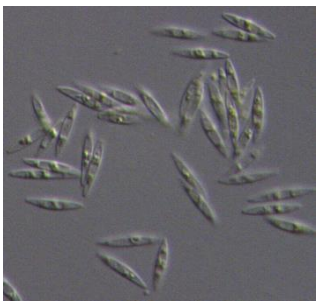
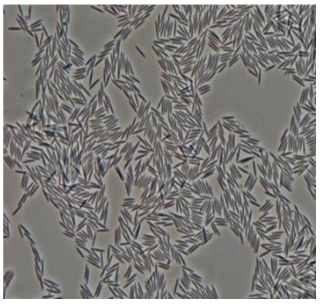
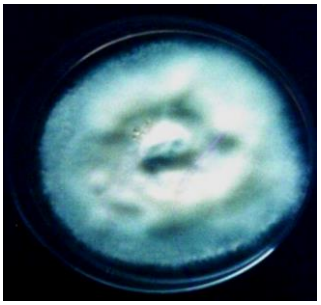


ภาพที่ 2.4 ลักษณะสปอร์ของเชื้อรากำจัดแมลงในไฟลัมต่าง ๆ

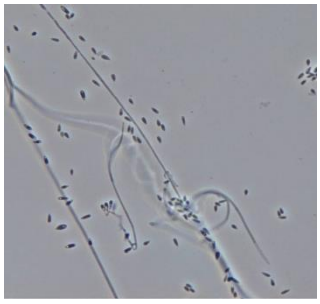
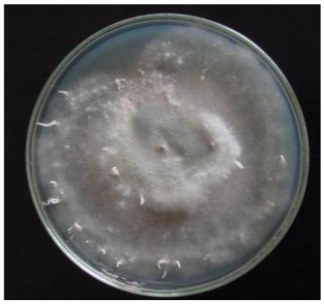
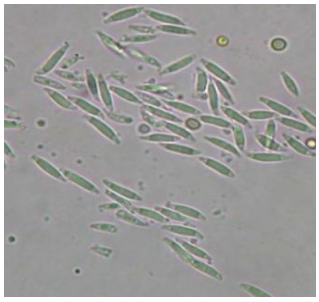
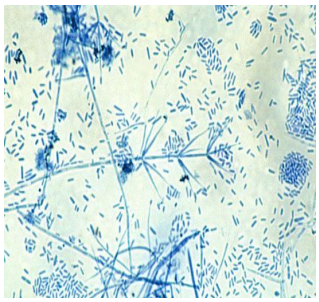
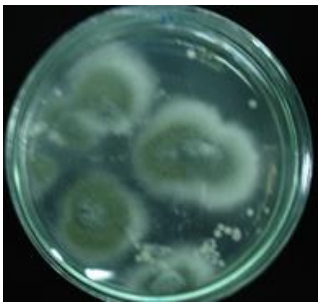
ที่มา : Araujo and Hughes (2016)

(A) Ascomycota : *Moelleriella sloaneae* (13-15 x 2.8-3 µm) (Chaverri, Liu and Hodge, 2008); (B) Oomycota : *Lagenidium giganteum* (8-9 x 9-10 µm) (Couch, 1935); (C) Chytridiomycota *Coelomomyces psophorae* (5 x 10) (Whisler, Zebold, and Shemanchuk, 1975); (D) Entomophthoromycota : *Entomophthora thripidum* (10-15 x 8-12 µm) (Samson *et al*., 1979); (E) Microsporidia *Nosema hyperae* (3.1 x 1.7 µm) (Bulla and Cheng, 1977); (F) Basidiomycota *Septobasidium maesae* (18-19.5 x 4-5 µm) (Lu and Guo, 2009); (G) Ascomycota *Ophiocordyceps lloydii* (4 x 1 µm) (Kobayasi and Shimizu, 1978); (H) Ascomycota *Hypocrella raciborskii* (10-16 x 2.5-4 µm) (Liu, Chaverri and Hodge, 2006); (I) Ascomycota : *Ophiocordyceps camponoti-rufipedis* (80-95 x 2-3 µm) (Evans, Elliot and Hughes, 2011); (J) Ascomycota : *Ophiocordyceps blattae* (40-60 x 4-6 µm) (Petch, 1924); (K) Ascomycota : *Ophiocordyceps camponoti-melanotici* (170-210 x 4-5 µm) (Evans *et al*., 2011); (L) Ascomycota : *Ophiocordyceps camponoti-novogranadensis* (75-95 x 2.5-3.5 µm) (Evans *et al*., 2011).

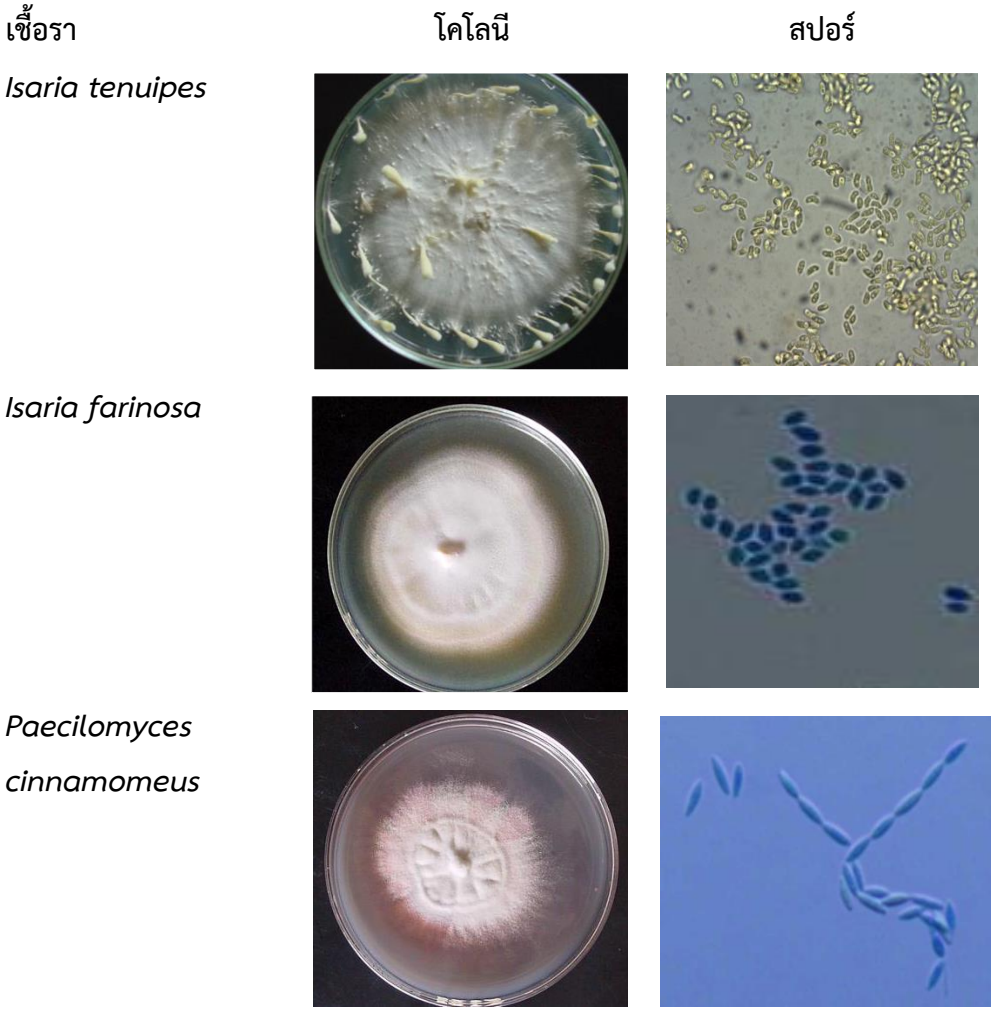
เชื้อรากำจัดแมลงมีหลากหลายสกุล แต่ที่รู้จักกันแพร่หลาย ดังแสดงภาพที่ 2.5 ซึ่งมีลักษณะสัณฐานวิทยา (Morphology) ของโคโลนีและสปอร์ แตกต่างกันไป

เชื้อรา	โคโลนี	สปอร์
Akanthomyces sp.		
Aschersonia badia		
Cordyceps pseudomilitalis		
Hirsutella sp.		

ภาพที่ 2.5 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรากำจัดแมลงบางชนิด

เชื้อรา	โคโลนี	สปอร์
Torrubiella sp.		
Hypocrella sp.		
Lecanicillium sp.		
Nomuraea sp.		

ภาพที่ 2.5 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรากำจัดแมลงบางชนิด (ต่อ)



ภาพที่ 2.5 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรากำจัดแมลงบางชนิด (ต่อ)

เชื้อรากำจัดแมลงที่รู้จักกันแพร่หลาย มีการแพร่กระจายได้ทั่วโลก มีแมลงอาศัยกว้าง และได้มีการศึกษาพัฒนาเพื่อนำมาใช้ในการควบคุมแมลงกันมาก ได้แก่ เชื้อราสกุล *Beauveria* และ *Metarhizium* ซึ่งจากเทคนิคทางด้านพันธุกรรม สามารถจำแนกสกุลเชื้อรา *Beauveria* เป็นชนิดต่างๆ ได้แก่ *B. bassiana, B. Amorpha, B. Caledonica, B. Asiatica, B. Australis, B. Brongniartii, B. Kipukae, B. Malawiensis, B. Pseudobassiana, B. sungii, B. varroae, B. vermiconia, B. lii, B. sinensis, B. hoplocheli, B. rudraprayagi, B. medogensis* ซึ่งเชื้อรา *Beauveria* แต่ละชนิด มีลักษณะสัณฐานวิทยา ดังแสดงในตารางที่ 2.3 ภาพที่ 2.6

ตารางที่ 2.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Beauveria* spp.

Species	Colony	Conidiogenous cell	Conidia size (µm)			Conidial shape
			L	W	L:W	
B. *bassiana*	White and often becoming yellowish white	Base subspherical to ampulliform, 3–6 µm	2.7	2.2	1.2	Globose, subglobose or broadly ellipsoid, rarely ellipsoid
B. amorpha	White, changing to yellowish white	Base subspherical to ampulliform, 3–6 µm	3.3	2.0	1.6	Cylindrical, ellipsoidal, often
B. caledonica	White to cream to dull buf	Base swollen, ellipsoidal to conoidal, 2.6–4.2 ×1.6–3.3 µm	4.7	2.2	2.1	Ellipsoidal to cylindrical
B. asiatica	White, changing to yellowish white	Base subspherical to ampulliform, 3–6 µm	3.2	2.3	1.4	Ellipsoidal or oblong
B. australis	Margin white with interior colony yellowish white	Base subspherical to ampulliform, 3–6 µm	2.3	1.9	1.2	Subglobose, broadly ellipsoid or ellipsoid, less commonly globose
B. brongniartii	White and often becoming yellowish white to pale yellow	Base subspherical to ampulliform, 3–6 µm	3.0	1.6	1.9	Ellipsoidal to sub-cylindrical
B. kipukae	Margin white and colony interior white or changing to yellowish white	Base subspherical to ampulliform, 3–6 µm	2.5	2.2	1.2	Globose, subglobose or broadly ellipsoid, rarely ellipsoid

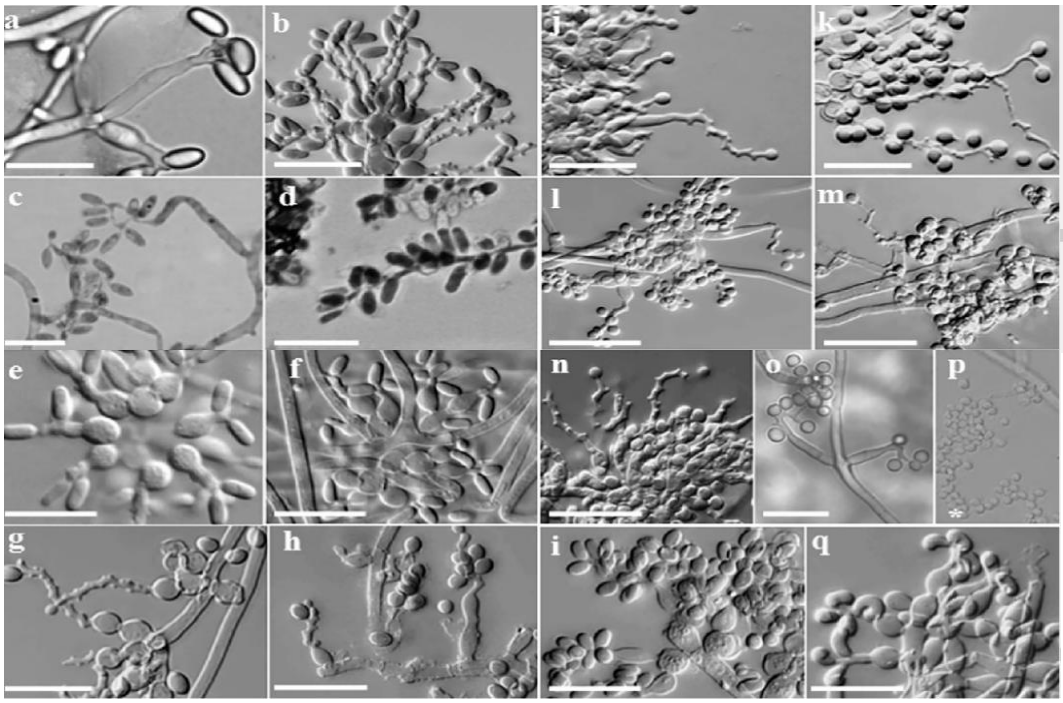
ตารางที่ 2.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Beauveria* spp. (ต่อ)

Species	Colony	Conidiogenous cell	Conidia size(µm)			Conidial shape
			L	W	L:W	
B. *pseudobassiana*	White or changing to yellowish white to pale yellow	Base subspherical to ampulliform, 3–6 µm	2.3	2	1.2	Subglobose or broadly ellipsoid, rarely ellipsoid
B. malawiensis	White to pale pink, slightly zonate	Base globose to obpyriform, 4.2–6.6 µm	L*W = 3.7–4.5 ×1.3–1.9			Cylindrical
B. sungii	White or changing to yellowish white	Base globose to obpyriform, 4.2–6.6 µm	3.0	2.1	1.5	Ellipsoidal or oblong
B. varroae	Margin white, interior changing to yellowish white to pale yellow	Base subspherical to ampulliform, 3–6 µm	2.5	2.2	1.1	Globose, subglobose or broadly ellipsoid
B. vermiconia	White, becoming pale citron yellow in the centre	Base ellipsoidal to flask-shaped, 4–5×2–2.5 µm	2.1	2.3	1.2	Comma-shaped
B. lii	White to cream	Base ellipsoidal to cylindrical, 4.8–9.0 ×1.7–2.6 µm	5.2	2.3	2.3	Ellipsoidal to cylindrical, occasionally obovoid
B. sinensis	White to pale pink	Solitary, slightly or no swollen base, 8.2–20 × 1.6–3.0 µm	4.1	1.7	2.4	Elongate ellipsoidal to cylindrical

ตารางที่ 2.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Beauveria* spp. (ต่อ)

Species	Colony	Conidiogenous cell	Conidia size(µm)			Conidial shape
			L	W	L:W	
B. hoplocheli	White to pale yellow	Base flask-shaped to elongate, 4.5–7.5 ×1.0–1.5 µm	4	2	2	Subcylindrical to cylindrical
B. rudraprayagi	White to light yellow	Base sub-spherical to ampulliform,3.5–6 µm	2.5–4.0 ×2.5–4.0			Globose, subglobose
B. medogensis	White and changing to light yellowish in colony interior	Base sub-spherical to flask-shaped, 2.5–3.0 ×3.0–6.0 µm	2.6	2.3	1.1	Globose to subglobose

ที่มา : Imoulan *et al*. (2017)



ภาพที่ 2.6 ลักษณะรูปร่างของโคนิเดียของเชื้อรา *Beauveria* spp.

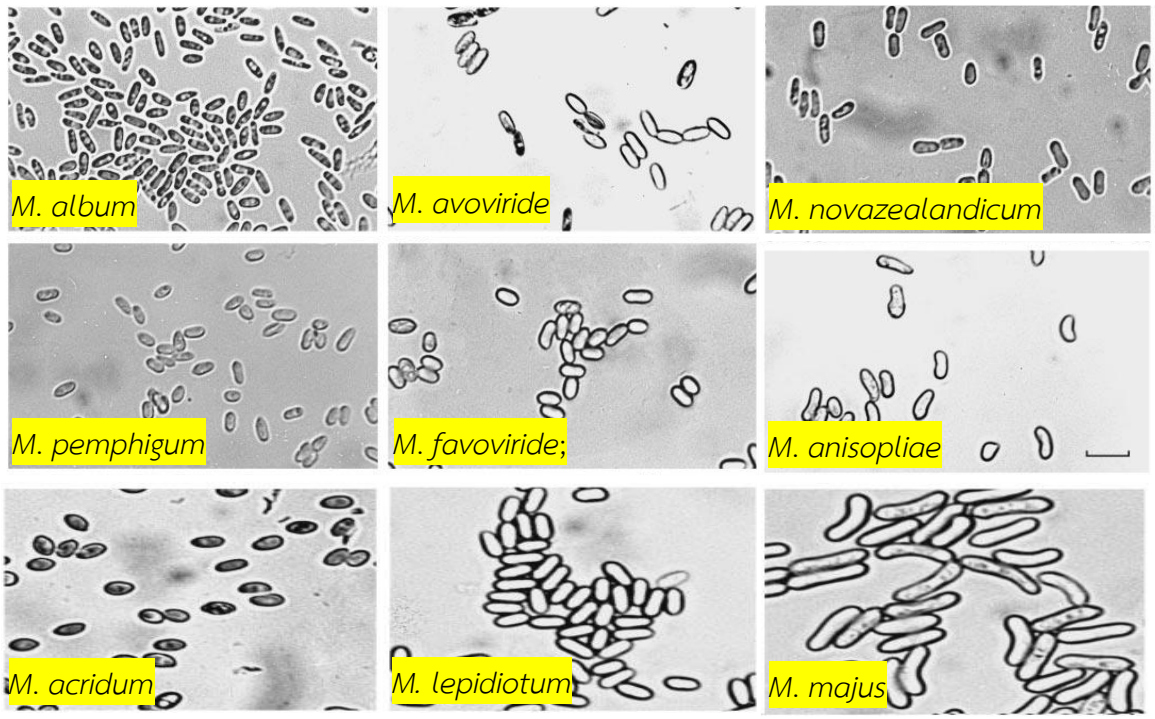
(a) *B. lii*; (b) *B. Amorpha*; (c) *B. sinensis*; (d) *B. hoplocheli*; (e) *B. malawiensis*; (f) *B. caledonica*. (g) *B. asiatica*; (h) *B. sungii*; (i) *B. brongniartii*. (J) *B. australis*; (k) *B. bassiana*; (l) *B. kipukae*; (m) *B. varroae*; (n) *B. pseudobassiana*; (o) *B. medogensis*; (p) *B. rudraprayagi*. (q) *B. vermiconia* Scale bars: 10 μm.

ที่มา : Imoulan *et al*. (2017)

สำหรับเชื้อรา *Metarhizium* พบมีรายงานการจำแนกสกุล ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1883 ส่วนมากโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นหลัก ต่อมาเมื่อมีการจำแนก โดยใช้ multigene phylogenetics สามารถจัดจำแนกเชื้อรา *Metarhizium* ได้หลายชนิด เชื้อรา *Metarhizium* ที่ได้วินิจฉัยไว้ในปัจจุบันมีดังนี้ *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin, 1883, *Metarhizium cicadinum* (Höhn.) Petch, 1931, *Metarhizium truncatum* Petch, 1931, *Metarhizium glutinosum* Pope, 1944, *Metarhizium flavoviride* Gams and Rozsypal, 1973, *Metarhizium cylindrosporum* Chen and Guo, 1986, *Metarhizium iadini* Guo, 1991, *Metarhizium taii* Liang and Liu, 1991,

Metarhizium viridicolumnare (Matsush.) 1993, Huang and Li, 2004, *Metarhizium frigidum* Bisch. and Rehner, 2007 ในปี 2009 Bisch., Rehner and Humber ได้มีการจัดจำแนกเป็นเชื้อรา *Metarhizium acridum*

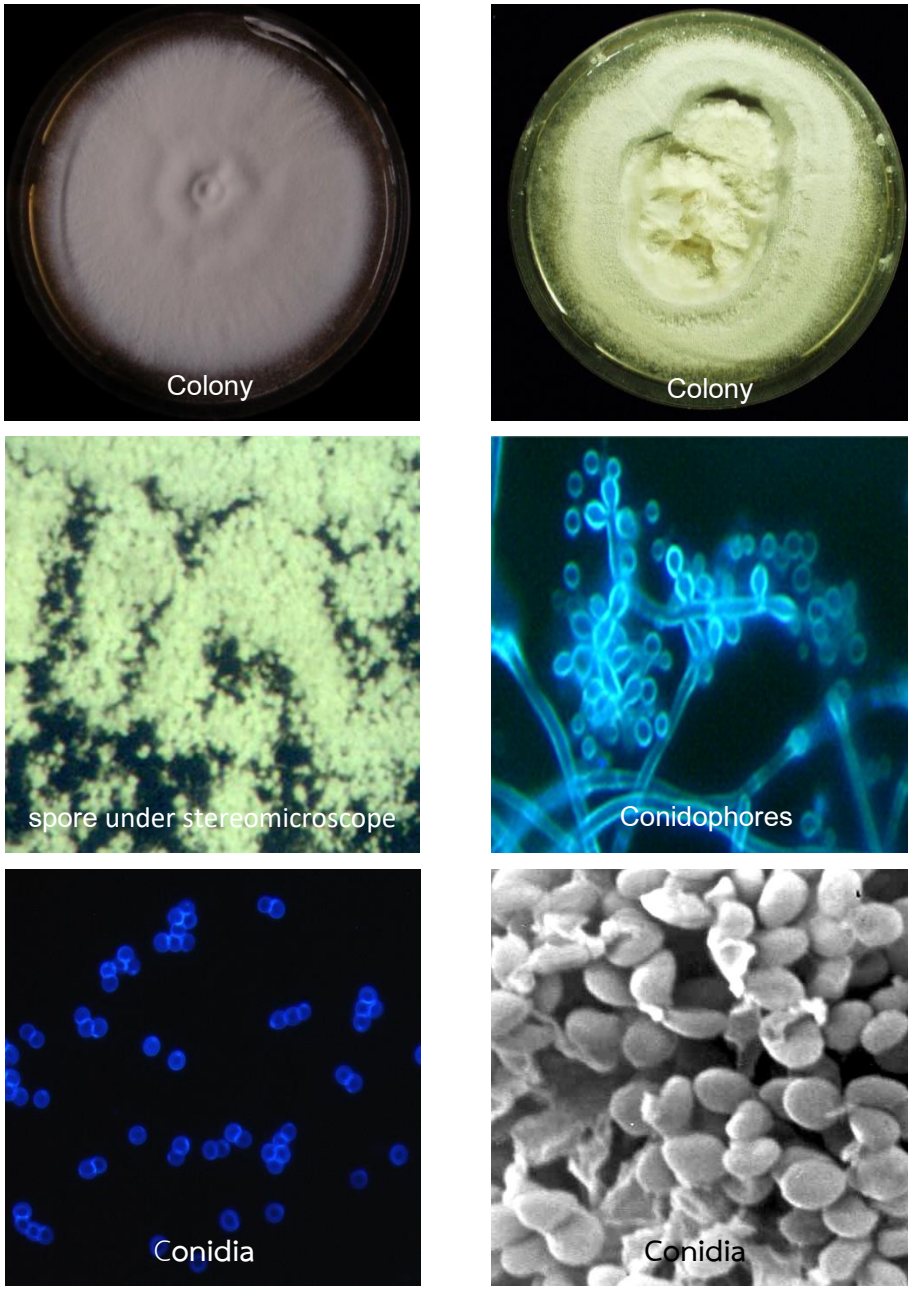
รูปร่างลักษณะโคนิเดียของเชื้อรา *Metarhizium* spp. มีขนาดแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิด (ภาพที่ 2.7)



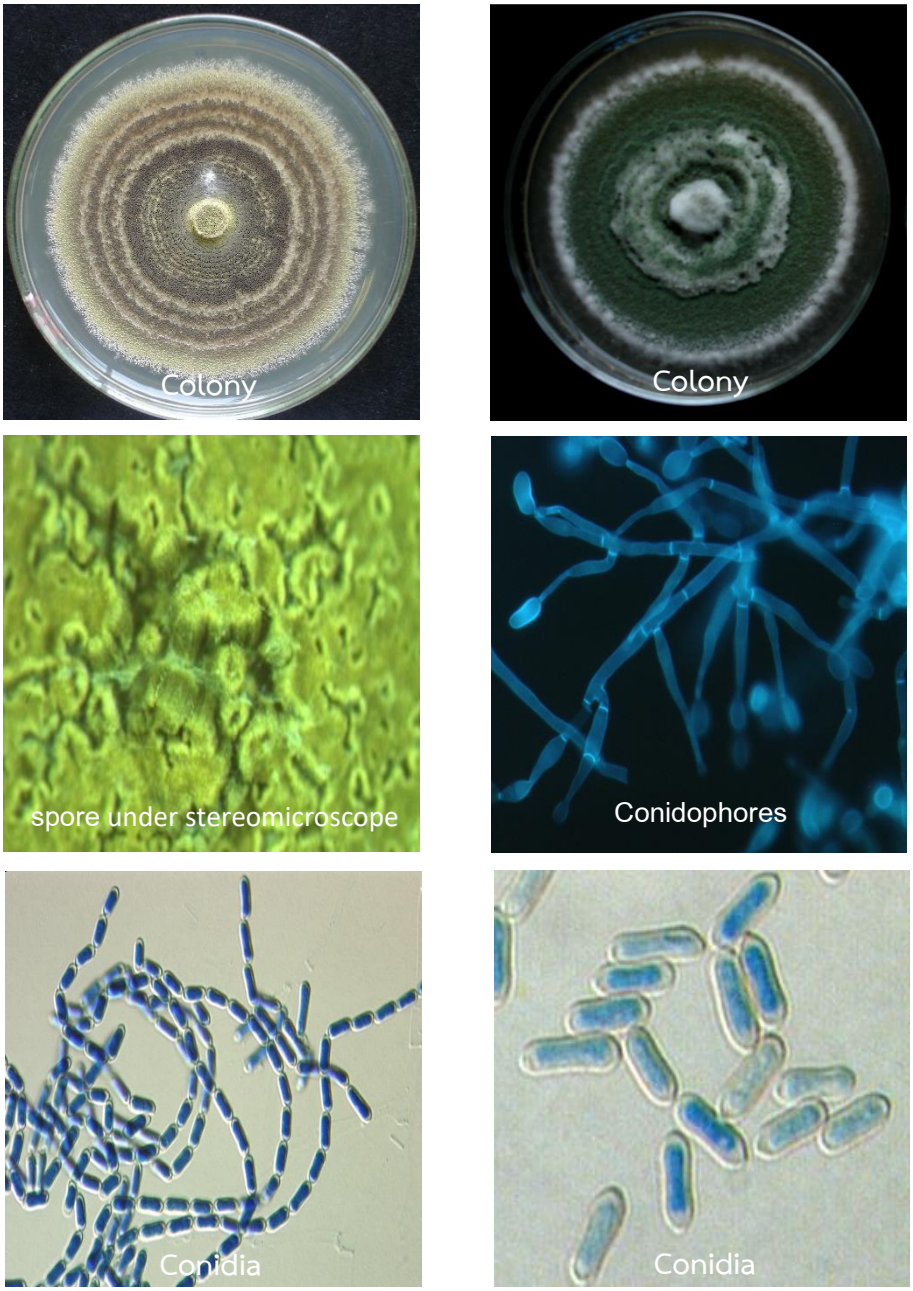
ภาพที่ 2.7 ลักษณะรูปร่างของโคนิเดียของเชื้อรา *Metarhizium* spp.
ที่มา : Driver, *et al.* (2000)

de Faria and Wraight (2007) รายงานว่า ตั้งแต่ปี 1960 เป็นต้นมา มีชีวภัณฑ์เชื้อราที่นำมาใช้ในการควบคุมแมลง มากกว่า 171 ผลิตภัณฑ์ เกือบทั้งหมด เป็นเชื้อรา *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Metarhizium anisopliae* และ *Isaria fumosorosea* ซึ่งจากการศึกษาของมาลี พบว่าเชื้อราชนิดเดียวกัน แต่คัดแยกได้ต่างไอโซเลตกันมีสีของโคโลนีแตกต่างกัน และเมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ สำหรับเชื้อรา *Beauveria bassiana* ทำให้เห็นการสร้างสปอร์เป็นก้อนกลมๆ เหมือนกับ snow ball เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์คอมพาวด์ จะเห็นโคนิเดียสร้างมาจากก้านชูสปอร์ สปอร์มีลักษณะกลม มีขนาด 2-4 µm (ภาพที่ 2.8) สำหรับเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ภายใต้

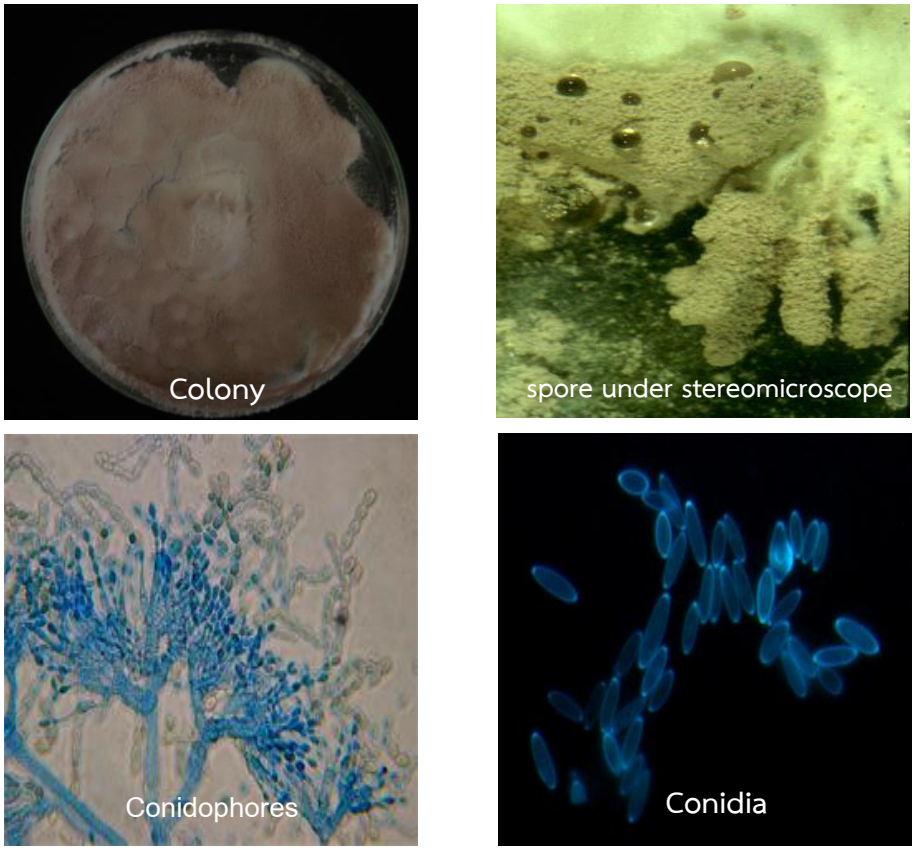
กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ จะเห็นโคนิเดียต่อตัวกันเป็นชั้นๆ สำหรับโคนิเดียเมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์คอมพาวด์ จะเห็นเป็นรูปกระสวย (ภาพที่ 2.9) ภาพที่ 2.10 แสดงลักษณะของเชื้อรา *Isaria fumosorosea*



ภาพที่ 2.8 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Beauveria bassiana*



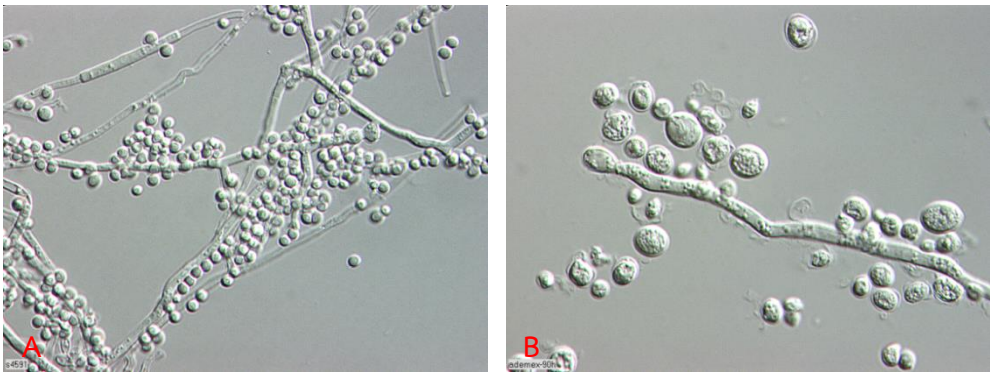
ภาพที่ 2.9 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*



ภาพที่ 2.10 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Isaria fumosorosea*

เชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* สร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศได้ใน 2 รูปแบบ เมื่อเลี้ยงในอาหารแข็ง เช่น อาหารวุ้น แป้ง หรือผลิตภัณฑ์ของแป้ง เมล็ดธัญพืช ได้สปอร์ในรูปของโคนิเดีย ซึ่งผลิตจากปลายเส้นใย ส่วนเมื่อเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวจะได้บลาสโตสปอร์ ซึ่งเป็นสปอร์ที่เกิดจากการแตกหน่อของสปอร์เดิม (ภาพที่ 2.11) การสร้างสปอร์ของเชื้อราในอาหารเหลวต้องมีสัดส่วนของคาร์บอนกับไนโตรเจนที่เหมาะสมและมีการแลกเปลี่ยนอากาศเชื้อราจึงจะสามารถสร้างบลาสโตสปอร์ ส่วนโคนิเดียที่ผลิตจากปลายเส้นใยนั้นความชื้นมีผลทำให้เชื้อราสร้างโคนิเดียได้ดี และการทำให้เส้นใยแตกหัก จะเพิ่มปริมาณโคนิเดีย สำหรับอาหารที่ใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อรากำจัดแมลงนั้นขึ้นอยู่กับว่าจะใช้เชื้อราเพื่อจุดประสงค์ใด หากต้องการผลิตโคนิเดียเชื้อราใช้อาหาร Malt extract peptone agar (3% malt extract + 0.5% soymeal peptone + 1.5% agar) แต่เมื่อต้องการเก็บรักษาเชื้อราไว้ซึ่ง

เชื้อรามีการสร้างเส้นใยมากกว่าโคนิเดียควรเลี้ยงด้วยอาหาร Sabouraud yeast agar (4% glucose +1% soymeal peptone +0.5% yeast + 1.5% agar) (Zimmermann, 1993)



ภาพที่ 2.11 ลักษณะสปอร์ของโคนิเดีย (A) บลาสโตสปอร์ (B) ของเชื้อรา *Beauveria bassiana*

สรุป

เชื้อราเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีมากเป็นอันดับสองรองจากแมลง มีทั้งการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ เชื้อรามีความสัมพันธ์กับแมลงได้หลายรูปแบบ มีทั้งที่อยู่กับแบบพึ่งพาอาศัยกัน ต่างฝ่ายต่างได้ประโยชน์ร่วมกัน หรือเป็นสาเหตุของโรค เรียกรวมว่า insect fungi แต่หากเป็นความสัมพันธ์ที่เป็นสาเหตุของโรค (pathogen) เรียกว่า entomopathogenic fungi ซึ่งมีการแปลเป็นภาษาไทยได้ เป็นเชื้อราสาเหตุโรคแมลง เชื้อราก่อโรค หรือผู้เขียนใช้คำว่า เชื้อรากำจัดแมลง เพื่อให้มองเห็นภาพได้ชัดเจนว่าเป็นเชื้อราที่เป็นสาเหตุทำให้แมลงเกิดโรคตาย โดยไม่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย (non target) อื่น ๆ โดยได้นำเอาสปอร์ของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ซึ่งอยู่ในรูปโคนิเดียที่ผลิตที่ปลายเส้นใยมาใช้เพื่อการควบคุมแมลง เนื่องจากมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมและเป็นตัวที่ทำให้เชื้อราแพร่กระจายไปได้ในธรรมชาติ และได้มีการพัฒนาเป็น mycopesticide ในหลายรูปแบบ (formulation) เพื่อให้เหมาะสมกับการควบคุมแมลงที่มีการทำลายพืชได้หลากหลายในถิ่นที่อยู่อาศัยและพฤติกรรมที่แตกต่างกันของแมลง

เอกสารอ้างอิง

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2550. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 6. พิมพ์ที่โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ 723 น.

สุชาดา มงคลสัมฤทธิ์ เจเน็ต เจนนิเฟอร์ เหลืองสอาด กนกศรี ทัศนาทัย สมศักดิ์ ศิวิชัย. 2553. ราก่อโรคในแมลงของประเทศไทย. 164 น.

Ainswort, G.C. 1976. Introduction to the history of mycology. Cambridge Univ. Press, London. 359 pp.

Alexopoulos, C.J. and Mims, C.W. 1979. Introductory mycology. John Wiley and Sons, New York. 613 pp.

Araujo, J.P.M. and Hughes, D.P. 2016. Diversity of entomopathogenic fungi: Which groups conquered the insect body? Advances in Genetics. 94 : 2-32.

Barr, D.J.S. 1992. Evolution and kingdoms of organisms from the perspective of a mycologist. Mycologia. 84(1) : 1-11.

Beakes, G.W., Glockling, S.L. and Sekimoto, S. 2012. The evolutionary phylogeny of the oomycete fungi. Protoplasma. 249(1) : 3-19.

Blackwell, M. 2011. The Fungi : 1, 2, 3. 5.1 million species? American Journal of Botany. 98(3) : 426-438.

Chaverri, P., Liu, M. and Hodge, K.T. 2008. A monograph of the entomopathogenic genera Hypocrella, Moelleriella and Samuelsia gen. nov. (Ascomycota, Hypocreales, Clavicipitaceae), and their aschersonia-like anamorphs in the Neotropics. Studies in Mycology. 60 : 1-66.

de Faria, M.R. and Wraight, S.P. 2007. Mycoinsecticide and Mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. Biological Control. 43 : 237–256.

Driver, F., Milner, R. and Trueman, J. 2000. A taxonomic revision of Metarhizium based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. Mycological Research. 104(2) : 134-150.

Gleason, F.H. and Lilje, O. 2009. Structure and function of fungal zoospores : ecological implications. Fungal Ecology. 2(2) : 53-59.

Guarro, J., Gene, J. and Stchigel, A.M. 1999. Developments in Fungal Taxonomy. Clinical Microbiology Reviews. 2(3) : 454–500.

Imoulan, A., Hussain, M., Kirk, P.M., Meziane, A.E. and Yao, Y.J. 2017. Entomopathogenic fungus Beauveria: Host specificity, ecology and significance of morpho-molecular characterization in accurate taxonomic classification. Journal of Asia-Pacific Entomology. 20 : 1204–1212.

Imoulan, A., Wu, H.J., Lu, W.L., Li, Y., Li, B.B., Yang, R.H., Wang, J., Wang, X.L., Kirk, P.M. and Yao, Y.J. 2016. *Beauveria medogensis* sp. nov., a new fungus of the entomopathogenic genus from China. Journal of Invertebrate Pathology 139 : 74–81.

Kepler, R.M., Humber, R.A., Bischoff, J.F. and Rehner, S.A. 2014. Clarification of generic and species boundaries for Metarhizium and related fungi through multigene phylogenetics Mycologia. 106(4) : 811-829.

Luangsa-ard, J.J., Hywel-Jones, N.L., Manoch, L. and Samson, R.A. 2005. On the relationships of Paecilomyces sect. Isarioidea species. Mycological Research 109 : 581-589.

Patterson, D.J and Sogin M.L. 1992. Eukaryote origins and protistan diversity. pp 13–46. In: Hartman H. and Matsuno, K (eds) The origin and evolution of the cell. World Scientific, New Jersey.

Roy, H.E., Steinkraus, D., Eilenberg, J., Hajek, A.E. and Pell, J.K. 2006. Bizarre interactions and endgames : entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. Annual Review Entomology. 51 : 331-357.

Samson, R.A. 1974. Paecilomyces and some allied Hyphomycetes. Studies in Mycology. 6 : 32-36.

Shelly, 2014. Kingdom fungi. Available at https://www.slideserve.com/shelly/kingdom-fungi. Accessed 14 August 2017.

ST. Leger, R.J. and Wang, C. 2010. Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve efficacy against insect pests. Applied Microbiology and Biotechnology. 85 : 901-907.

Tanada, Y. and Kaya, H.K. 1993. Insect Pathology. Academic Press, San Diego. 666 pp.

Zimmermann, G. 1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. Pesticide science. 37 : 375-379.

บทที่ 3 กลไกการออกฤทธิ์ของเชื้อรากำจัดแมลง

(Mode of action of entomopathogenic fungi)

เชื้อรากำจัดแมลง มีข้อได้เปรียบเชื้อจุลินทรีย์กำจัดแมลงชนิดอื่น ๆ ที่สามารถเข้าทำลายแมลงได้โดยผ่านทางผนังลำตัว (Tanda and Kaya, 1993) จึงสามารถทำให้แมลงทุกระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ ตัวเต็มวัยเกิดโรคตายได้หากเมื่อได้สัมผัสกับเชื้อรา อีกทั้งแมลงมีปากหลายชนิดเพื่อกินอาหาร ดังนั้นไม่ว่าแมลงจะมีปากกัดกิน ปากเจาะดูด ปากดูดกิน ปากเขี่ยดูด กัดซับดูด เชื้อราสามารถเข้าทำลายมลงได้ทั้งสิ้น ซึ่งจะแตกต่างจากการที่แมลงได้รับเชื้อจุลินทรีย์โดยการกินเพราะเมื่อแมลงลอกคราบจะลอกเอากระเพาะอาหารส่วนกลางออกมาด้วย หากแมลงได้รับเชื้อในจังหวะที่แมลงลอกคราบ เชื้อจะถูกขับออกมาจากตัวแมลงพร้อมกับการลอกคราบซึ่งกระเพาะอาหารส่วนกลางเป็นส่วนที่มีการดูดซึมมากที่สุดจึงมักพบบ่อยครั้งที่แมลงเมื่อได้รับสารประเภทกินตายแมลงมักไม่ตาย เชื้อราใช้ความชื้นที่ผนังลำตัวแมลงเพื่อการงอก germ tube แทงทะลุผ่านชั้นผนังลำตัวแมลงเข้าสู่เลือดของแมลง ซึ่งแมลงมีเลือดระบบเปิด เลือดไหลเวียนไปตามช่องว่างในลำตัวแมลง ดังนั้นเมื่อเชื้อราเข้าไปสู่ช่องว่างลำตัวแมลงได้ จึงสามารถแพร่กระจายไปได้ทั่วตัวแมลง และถึงแม้แมลงจะมีการลอกคราบเพื่อการเจริญเติบโตในระยะต่อ ๆ ไป เลือดของแมลงยังคงเป็นเลือดเดิม เชื้อราจึงสามารถถ่ายทอดไปได้ยังระยะการเจริญเติบโตอื่น ๆ ของแมลง

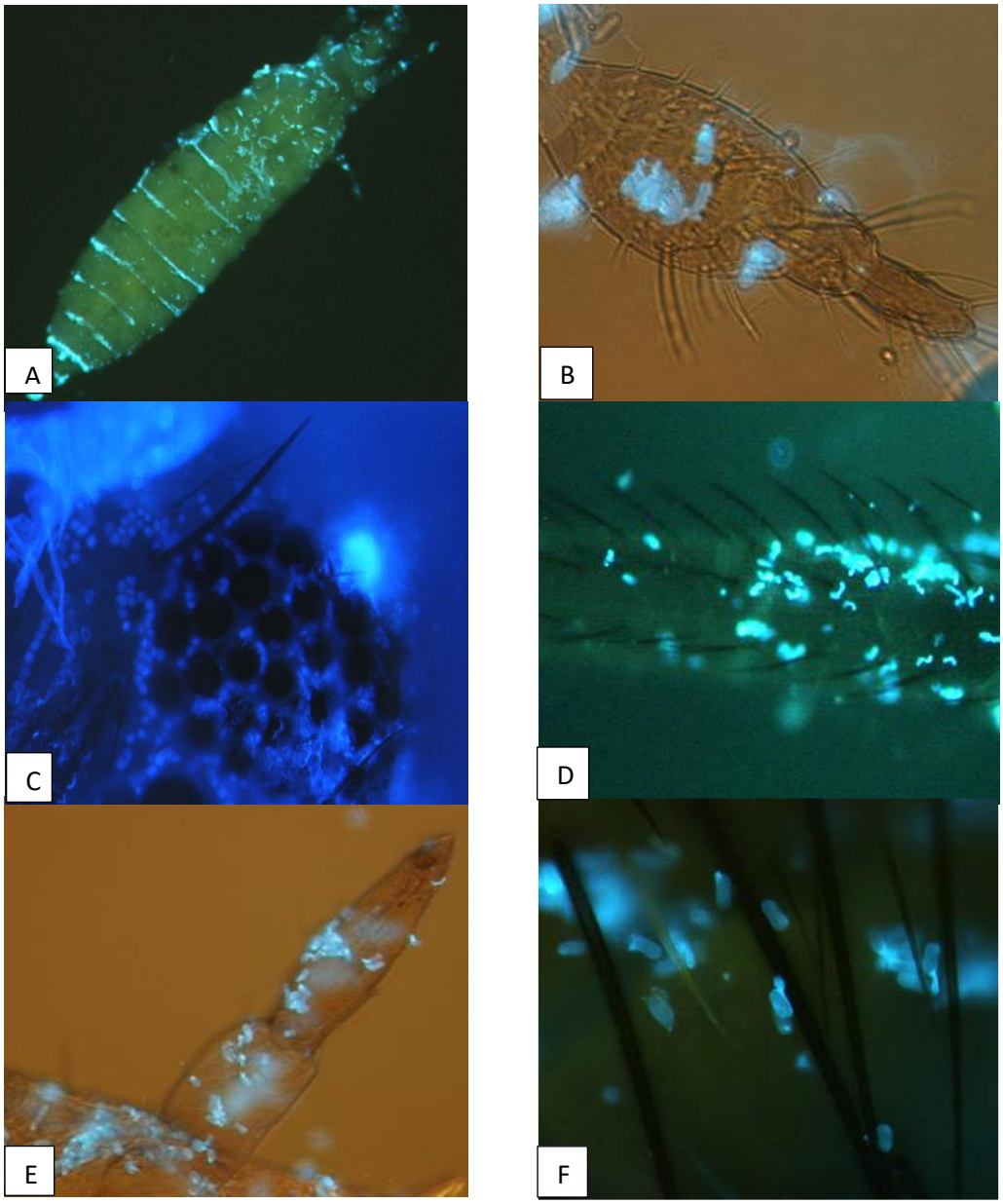
กลไกการเข้าทำลายของเชื้อราต่อแมลง

Boucais and Pendland (1991) ได้แบ่งกลไกการเข้าทำลายของเชื้อราต่อแมลงได้ ดังนี้

1. ระยะสปอร์เชื้อราติดที่ผนังลำตัวแมลง (attachment of conidia) เป็นขั้นตอนแรกของเชื้อราที่สามารถเข้าทำลายแมลงได้ หากสปอร์ไม่สัมผัสกับผนังลำตัวแมลง กลไกการออกฤทธิ์ของเชื้อราก็จะไม่สามารถเกิดขึ้นได้ สปอร์เชื้อราสามารถสัมผัสได้ทุกส่วนของแมลง ไม่ว่าจะเป็นที่ลำตัว หนวด ตา ปีก หรือแม้แต่เส้นขน (ภาพที่ 3.1) สปอร์ถูกยึดเกาะบนผนังลำตัวแมลงได้ด้วยการผสมผสานกันของแรงยึด (passive hydrophobic forces, electrostatic forces) และปฏิสัมพันธ์กันของสปอร์และผนังลำตัวแมลง

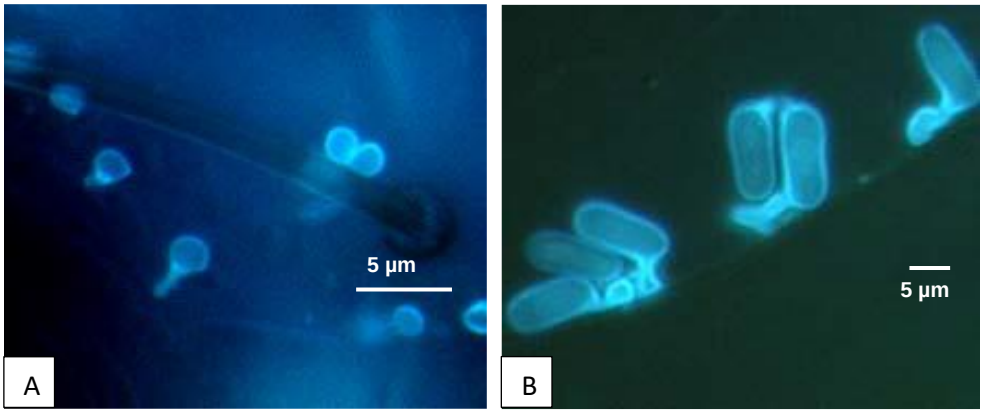
2. ระยะสปอร์งอก (germination and evaluation of germ tube on cuticle) เมื่อมีความชื้นสปอร์เชื้อราจึงงอกได้ โดยปกติแมลงประกอบด้วยน้ำประมาณ 50-90% ของน้ำหนักตัว ดังนั้นจึงมี

ความชื้นที่ผนังลำตัวที่มากพอที่ทำให้สปอร์ที่ติดที่ผนังลำตัวแมลงงอกได้ (ภาพที่ 3.2) สปอร์เริ่มงอกที่ 12 ชั่วโมงหลังจากสัมผัสกับผนังลำตัวแมลง (Thungrabeab, 2006)



ภาพที่ 3.1 แสดงเมื่อพ่นเชื้อรากำจัดแมลงไปที่ตัวแมลงพบสปอร์ติดที่ส่วนต่าง ๆ ของแมลง

(A) ตามปล้องของลำตัว (B) ปลายหนวด (C) ตารวม (D) ปีก (E) ปลายขา (F) เส้นขน



ภาพที่ 3.2 การงอกของสปอร์บนผนังลำตัวแมลงที่ระยะเวลา 18 ชั่วโมงหลังการพ่นเชื้อ

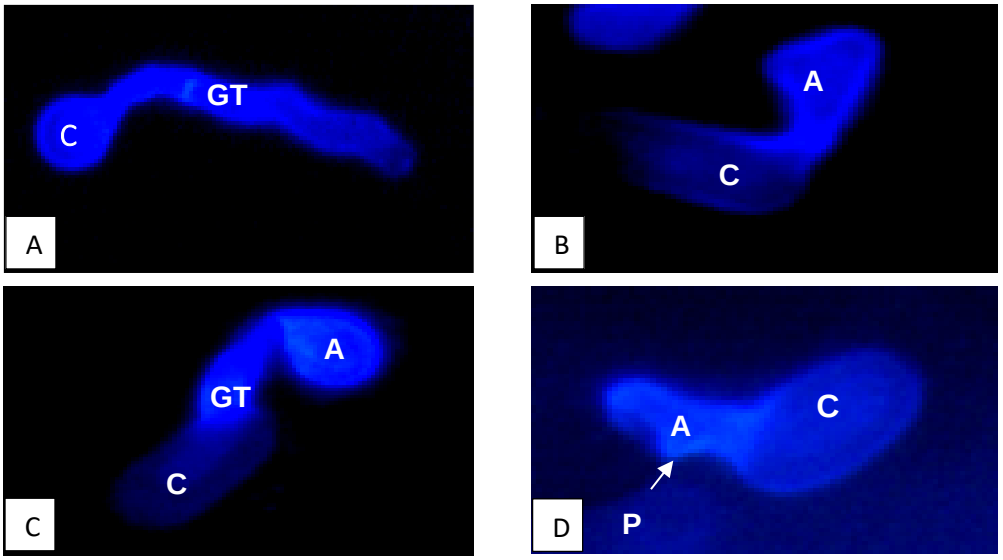
(A) การงอกของเชื้อรา *Beauveria bassiana*

(B) การงอกของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*

3. การแทงทะลุเข้าสู่ผนังลำตัวแมลง (Penetration of the fungal into the cuticle) สปอร์เชื้อราที่งอกแล้วสามารถแทงทะลุผ่านเข้าไปในตัวแมลงได้หรือไม่นั้น ขึ้นอยู่กับ

3.1 เอนไซม์ การที่แมลงมีโครงกระดูกอยู่ภายนอกลำตัว (exoskeleton) ที่ประกอบด้วยสารไคติน ซึ่งเป็นสารโมเลกุลเชิงซ้อนของไนโตรเจนัส พอลิแซ็กคาไรด์ (nitrogenous polysacharide) มีความแข็งแรงพอ ๆ กับ cellulose ในพืชแต่มีความแข็งและความยืดหยุ่นได้ในตัว ซึ่งเกิดจากการที่มีสาร sclerotin อยู่นั่นเอง จึงช่วยปกป้องไม่ให้สูญเสียน้ำและสารเคมีหรือสารพิษเข้าสู่ตัวแมลง เชื้อราจะผ่านผนังลำตัวแมลงได้จึงต้องมีเอนไซม์ที่ช่วยย่อยผนังลำตัวแมลง เอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยผนังลำตัวแมลงในขณะที่เชื้อราแทงเข้าสู่ตัวแมลง ได้แก่ lipase/esterases, catalases, cytochrome P450s, proteases และ chitinases

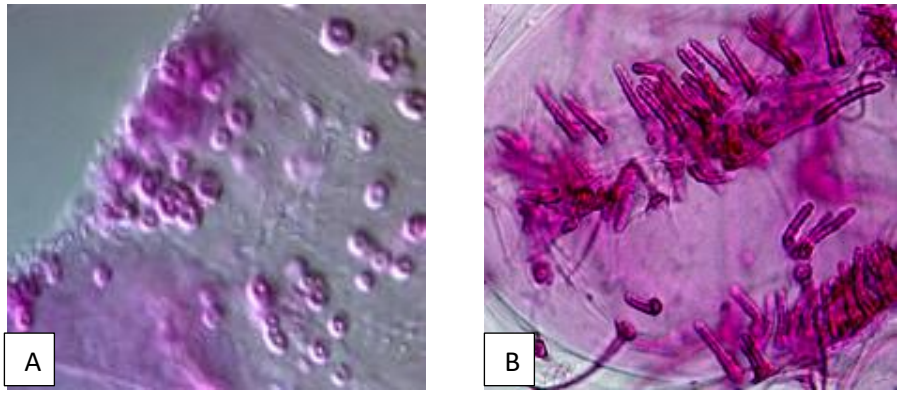
3.2 การสร้างโครงสร้างพิเศษสำหรับการเข้าทำลายแมลง เชื้อราเข้าทำลายแมลงได้เนื่องจากมีการสร้าง germ tube หรือการสร้างโครงสร้างพิเศษ เช่น appessorium, penetration peg (ภาพที่ 3.3) เพื่อใช้แทงทะลุเข้าไปในตัวแมลง เชื้อรา *Beauveria* และ *Metarhizium* พบมีการสร้าง appessorium ส่วนเชื้อรา *Lecanicillium* ไม่พบมีการสร้าง appressorium แต่จะสร้าง penetration peg เพื่อแทงทะลุเข้าไปในตัวแมลง



ภาพที่ 3.3 การสร้างโครงสร้างแทงทะลุผนังลำตัวแมลงของเชื้อรา (A) ไม่มีการสร้าง appressorium (B) มีการสร้าง appressorium ใกล้โคนิเดีย (C) มีการสร้าง appressorium ที่ส่วนปลาย germ tube (D) มีการสร้าง penetration peg

C = Conidium, GT= germ tube, A= appressorium, P= penetration peg

3.3 การงอกของสปอร์เชื้อรา มีขบวนการทุติยภูมิ และขบวนการทางชีวเคมีอื่น ๆ (secondary and other metabolites) เพื่อช่วยย่อยสลายผนังลำตัวแมลง ทำให้เชื้อราแทงทะลุผ่านผนังลำตัวแมลงได้ (ภาพที่ 3.4)

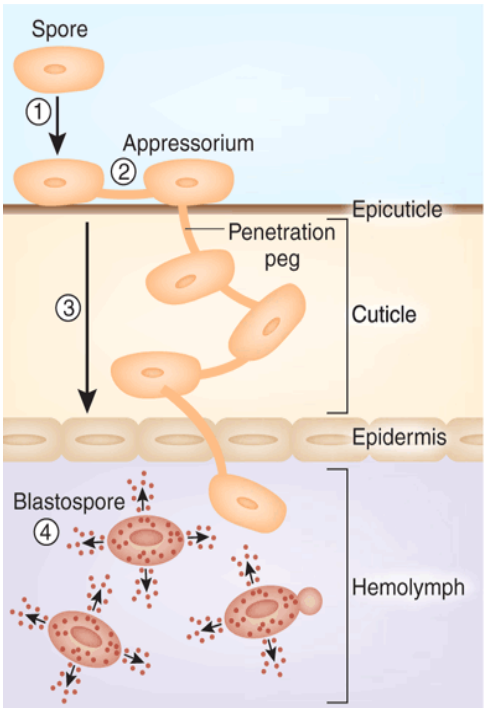


ภาพที่ 3.4 ลักษณะของสปอร์ที่แทงผ่านทะลุผนังลำตัวแมลง

(A) ด้านบนผนังตัวแมลง (B) มองทะลุเข้าไปในลำตัวตัวแมลง

4. ระยะการเพิ่มปริมาณในเลือดแมลง (Colonization of the Hemolymph)

เมื่อสปอร์เชื้อรางอกแทงทะลุผ่านชั้นของผนังลำตัวแมลงเข้าไปสู่ช่องว่างในตัวแมลงที่มีเลือดในช่องว่างลำตัวแมลง (เนื่องจากระบบเลือดของแมลงเป็นระบบเปิดที่ไม่มีเส้นเลือด เลือดจึงไหลเวียนอยู่ในช่องว่างในลำตัวแมลง) เชื้อราสร้างสปอร์แบบบลาสโตสปอร์ (สปอร์เกิดการแตกหน่อจากสปอร์เดิม) (ภาพที่ 3.5) เพิ่มปริมาณสปอร์ในเลือดของแมลง จนแมลงอ่อนแอและตายในที่สุด จากการศึกษาของ Thungrabeab (2006) พบว่า เชื้อราเพิ่มปริมาณในเลือดของเพลี้ยไฟจนเต็มช่องว่างในลำตัวใช้ระยะเวลา 36 ชั่วโมง



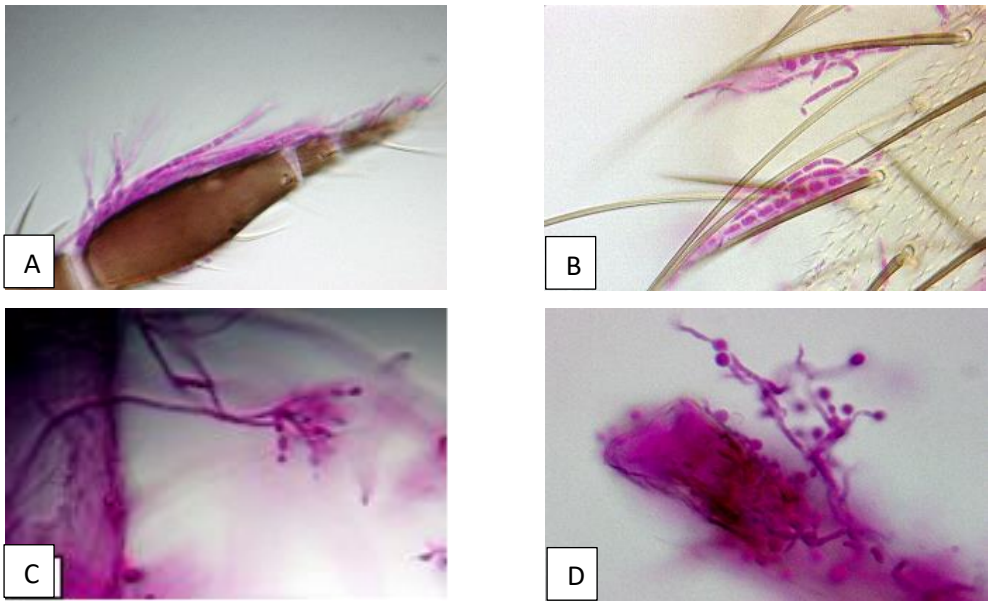
ภาพที่ 3.5 สปอร์แทงทะลุผ่านผนังลำตัวแมลงเข้าสู่ช่องว่างในตัวแมลง

ที่มา : Inglis *et al.* (2001)

5. ระยะการสร้างเส้นใยและสปอร์ (Extrusion and Sporulation)

การเพิ่มปริมาณเชื้อราในเลือดที่อยู่ในช่องว่างลำตัวแมลงมากขึ้นมีผลทำให้สปอร์เชื้อราไปขัดขวางการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ของแมลง ไปแย่งธาตุอาหารของแมลงมาใช้เพื่อการเจริญของเชื้อรา จึงทำให้แมลงตายในที่สุด หรืออีกกระบวนการหนึ่งที่ทำให้แมลงตาย เนื่องจากในช่วงที่เชื้อรามีการแบ่งตัวเพื่อการเจริญ มีการสร้างสารพิษมาทำลายแมลง ซึ่งสารพิษที่เชื้อราสร้างขึ้นนี้ นอกจากจะขึ้นอยู่กับชนิด

ของเชื้อราแล้ว ยังขึ้นอยู่กับเลือดของแมลงว่ามีสารอาหารที่เหมาะสมที่เชื้อราจะสร้างสารพิษได้หรือไม่ เชื้อราที่สร้างสารพิษได้จะทำให้แมลงตายเร็วขึ้นและอาจไม่พบเส้นใยขึ้นปกคลุมแมลง เมื่อแมลงสร้างบลาสโตสปอร์เต็มช่องว่างลำตัวแมลงแล้วแมลงตาย เมื่อแมลงตายไม่มีเลือดไหลเวียนในช่องว่างลำตัวแมลง ส่วนของบลาสโตสปอร์จึงสร้างเส้นใยเจริญเติบโตจนเต็มตัวแมลง แล้วเส้นใยเหล่านั้นจึงงอกแทงทะลุผนังลำตัวแมลงออกมาด้านนอก สร้างก้านชูสปอร์และสร้างโคนิเดียที่ปลาย (ภาพที่ 3.6) จึงมองเห็นแมลงถูกปกคลุมด้วยเชื้อรา (ภาพที่ 3.7)



ภาพที่ 3.6 การแทงทะลุเส้นใยออกนอกตัวแมลง (A, B) และการสร้างโคนิเดียที่ปลายเส้นใย (C, D)

สาเหตุที่ทำให้แมลงตาย มีได้ดังนี้

1. การที่เชื้อราแทงทะลุเข้าไปในช่องว่างในลำตัวแมลง จึงไปแย่งธาตุอาหารของแมลงมาใช้เพื่อเชื้อราเจริญ เชื้อราที่เจริญจึงไปเบียดเบียนทำลายอวัยวะต่าง ๆ ภายในตัวแมลง ทำให้แมลงตาย

2. สารพิษ มีรายงานเชื้อรากำจัดแมลงหลายชนิดสามารถสร้างสารพิษ ที่มีผลในการเป็นสารฆ่าแมลงเช่น Destruxins ribotoxin anisoplin จากเชื้อรา *Metarhizium* Beauvericins , bassiacridin, bassianolide จากเชื้อรา *Beauveria* isarolides, bassianolides และ beauverolides. จากเชื้อรา *Isaria fumosoroseus* และ hirsutellin A, ribotoxin จากเชื้อรา *Hirsutella thompsonii*



ภาพที่ 3.7 การสร้างสปอร์เชื้อราขึ้นปกคลุมตัวแมลง

ปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อราต่อแมลง

ความสามารถในการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรากำจัดแมลง ไม่ได้ขึ้นกับกลไกของการเข้าทำลายของเชื้อราเพียงอย่างเดียว แต่ขึ้นอยู่กับ ความสัมพันธ์ของเชื้อรา - แมลง - พืช ที่เรียกว่า Trithrophic โดยมีปัจจัยทางกายภาพสภาพแวดล้อม เกี่ยวข้อง (Benz, 1987; Ferron *et al*., 1991; Thungrabeab, 2006) Boucais and Pendland (1991) รายงานว่ากระบวนการที่เชื้อเข้าทำลายสิ่งอาศัย (host) ได้เริ่มจาก การที่โคนิเดียติดผนังลำตัว การงอกของโคนิเดีย การสร้าง germ tube แทงทะลุผ่านผนังลำตัว และการเจริญภายในตัว host เชื้อราแต่ละชนิดเข้าทำลาย host ได้ต่างกัน หรือแม้แต่เชื้อชนิดเดียวกันแต่ต่างไอโซเลตกัน ก็มีความสามารถในการทำลาย host ได้ต่างกันเช่นกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของผนังลำตัวและสารเคมีในตัวแมลง ที่เฉพาะเจาะจงให้เชื้อราเจริญหรือไม่ เป็นต้น ส่วนจำนวนโคนิเดียที่ติดผนังลำตัว การพัฒนาของ germ tube นั้นขึ้นอยู่กับความรุนแรงของไอโซเลตเชื้อรานั้น ๆ (Altre *et al*., 1999) ซึ่งรายละเอียดของปัจจัยต่าง ๆ มีดังนี้

1. เชื้อรา

เชื้อราต่างชนิดกันทำให้ความสามารถในการเกิดโรคกับแมลงต่างกัน Sengonca *et al.* (2006) และ Thungrabeab *et al.* (2006b) ศึกษาพบว่า เชื้อราต่างชนิดกันมีความสามารถในการทำให้เพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* และ *Thrips tabaci* เกิดโรคได้ต่างกัน ดังตารางที่ 3 .2 แสดงให้เห็นความอ่อนแอของเพลี้ยไฟ ที่มีต่อเชื้อราชนิดต่าง ๆ เชื้อราบางชนิดมีความสามารถทำให้เพลี้ยไฟตายได้ร้อยละ 100 แต่เชื้อราบางชนิดไม่มีผลทำให้เพลี้ยไฟตายได้เลย หรือแม้แต่เชื้อราชนิดเดียวกันแต่ต่างไอโซเลตกันก็มีผลทำให้การเกิดโรคของเพลี้ยไฟได้แตกต่างกัน (ตารางที่ 3.1)

Brownbridge (1995) รายงานว่า มีเชื้อราอย่างน้อย 7 ชนิด ได้แก่ *Verticillium lecanii Conidiobolus coronatus Neozygites parvaisporo Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae Paecilomyces farinosus Paecilomyces fumosoroseus* ที่พบทำลายเพลี้ยไฟ *F. occidentalis* ได้แตกต่างกัน นอกจากนี้ Chandler (2005) รายงานว่าเชื้อรา 41 ไอโซเลท จาก 25 สกุล สกุล *Metarhizium, Hirtsutella* และ *Lecanicillium* มีความสามารถในการทำให้ไร 2 จุด *Tetranychus urticae* ในมะเขือเทศเกิดโรคตายได้

ตารางที่ 3.1 เชื้อรากำจัดแมลงต่างชนิดกันมีความสามารถในการทำให้เพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* และ *Thrips tabaci* เกิดโรคตายได้แตกต่างกัน

ชนิดของเชื้อรา	ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (Corrected mortality)	
		F. occidentalis	*Thrips tabaci*
Akanthomyces sp	AK.3497	49.28±7.41	42.87±4.48
	AK.3582	42.51±14.62	37.37±4.04
Aschersonia badia	Ab.917	52.19±11.45	12.45±9.81
Aschersonia samoensis	As.4335	11.76±4.40	7.64±0.45
	As.4593	52.83±6.23	15.74±9.64
Aschersonia tamurai	At.5673	24.02±1.35	4.54±0.11
	At 6373	52.43±1.66	20.63±4.41
Beauveria bassiana	Bb.4591	98.57±1.43	96.66±3.91
	Bb.5082	68.91±17.98	65.08±9.54
	Bb.5335	100.00±0.00	95.52±2.93
	Bb.6243	90.32±1.31	91.18±2.26
	Bb.7772	70.12±11.54	72.62±2.57

ตารางที่ 3.1 เชื้อรากำจัดแมลงต่างชนิดกันมีความสามารถในการทำให้เพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* และ *Thrips tabaci* เกิดโรคตายได้แตกต่างกัน (ต่อ)

ชนิดของเชื้อรา	ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (Corrected mortality)	
		F. occidentalis	*Thrips tabaci*
Cordycep pseudomilitaris	Cp.951	00.00±0.66	00.00±0.00
Hirsutella citriformis	Hic7679	54.07±11.62	9.47±1.49
Hirsutella formicarum	Hif.7731	7.64±7.63	28.89±8.01
Hypocrella discoidea	Hd.4385	00.00±0.00	00.00±0.00
Hymenostilbe sp.	HY.1294	00.00±0.00	00.00±0.00
Metarhizium anisopliae	Ma.5035	53.96±3.01	49.94±15.00
	Ma. 6079	87.10±3.27	96.84±1.80
	Ma.6098	20.85±5.00	23.52±5.96
	Ma.6171	75.57±11.67	80.00±5.06
	Ma.7965	100.00±0.00	97.33±2.22
Metarhizium flavoviride	Mf.5744	47.61±9.53	33.33±3.33
	Mf.1164	8.76±4.71	43.33±9.62
Isaria farinosus	Pfa.3517	69.04±12.99	54.56±8.06
Isaria fumosoroseus	Pfu.5338	95.42±1.05	87.76±2.23
	Pfu.2507	89.87±4.49	76.11±0.56
Paecilomyces javanicus	Pj.5870	8.29±4.07	11.11±1.50
Paecilomyces lilacinus	Pl.5066	62.84±4.62	73.69±0.68
Isaria tenuipes	Pt.6718	5.09±3.04	15.27±2.37
	Pt.7646	59.12±9.98	36.11±6.59
Torrubiella petchii	Tp.6200	4.54±4.54	00.00±0.00
Torrubiella tenuis	Tt.345	00.00±0.00	00.00±0.00
Lecanicillium lecanii	Vl.3087	31.97±5.49	11.52±2.57

ที่มา: Sengonca *et al.* (2006) and Thungrabeab *et al.* (2006b)

นอกจากชนิดของเชื้อรากำจัดแมลงจะมีความสามารถในการทำให้แมลงเกิดโรคได้แตกต่างกัน แล้วความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นมีความแตกต่างกันด้วยเช่นกัน ความรุนแรงของโรคใช้พารามิเตอร์ ที่เป็น ค่า LD_{50} : Lethal Doses (ปริมาณเชื้อราที่ทำให้แมลงตายได้ร้อยละ 50 ที่ระยะเวลาเดียวกัน หรือ LC_{50} : Lethal Concentration (ความเข้มข้นของเชื้อราที่ทำให้แมลงตายได้ร้อยละ 50 ที่ระยะเวลา

เดียวกัน หรือ LT_{50} : Lethal Time (ระยะเวลาที่ทำให้แมลงตายร้อยละ 50 ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน หรือปริมาณเชื้อราที่เท่ากัน) อาจใช้ค่าใดค่าหนึ่งหรือใช้ร่วมกันได้ ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับเชื้อรา ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ค่าระดับความรุนแรงของเชื้อราต่างชนิดกันกับไรขาวพริก

ชนิดของเชื้อรา	Isolate no.	LC_{50}±SE	LT_{50}±SE
Beauveria bassiana	Bb.6988	$4.82 \pm 0.31 \times 10^{6}$	3.76 ± 0.5
	Bb.2637	$2.16 \pm 0.28 \times 10^{5}$	5.15 ± 0.2
Metarhizium anisopliae	Ma.6171	$2.63 \pm 0.67 \times 10^{5}$	3.63 ± 0.1
Metarhizium flavoviride	Mfl.5744	$7.47 \pm 1.26 \times 10^{4}$	4.04 ± 0.4
	Mfl.1164	$1.78 \pm 1.30 \times 10^{7}$	4.25 ± 0.5

ที่มา: มาลี และคณะ (2551)

2. แมลง

เชื้อราสามารถเข้าทำลายแมลงได้หรือไม่มีปัจจัยพื้นฐานแตกต่างกัน ดังนี้

2.1 ชนิดของแมลง

แมลงต่างชนิดกันการเข้าทำลายของเชื้อราแตกต่างกัน Malee และ Sirinun (2002) รายงานว่า เพลี้ยอ่อน *Macrosiphum euphobia* และ *Muzus persicae* มีการตอบสนองต่อเชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ไทย จำนวน 24 ไอโซเลต แตกต่างกัน Vimala *et al*. (2003) รายงานว่า เชื้อรา *Nomuraea rileyi* มีประสิทธิภาพทำให้หนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa armigera* และหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* เกิดโรคและตายได้ 100% เช่นเดียวกันเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium muscarium* และ *Cordyceps cardinalis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก (Rajesh *et al*., 2009) มีรายงานพบว่า เชื้อ *Isaria fumosoroseus* มีความสามารถในการทำให้หนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) เกิดโรคตายได้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีเชื้อราอีกหลายชนิดได้แก่ *Zoophthor radicans Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* มีประสิทธิภาพในการควบคุม หนอนใยผัก ได้ดี (Altre *et al*. 1999, Maketon *et al*. 2008) ระหว่างเพลี้ยไฟ 5 ชนิดได้แก่ *Frankliniella intonsa, F. occidentalis, Thrips coloratus, T. hawaiiensis* และ *T. tabaci* พบว่า *T. tabaci* มีความอ่อนแอต่อการเกิดโรคจากเชื้อรา *B. bassiana* มากที่สุด (Makoto and Takatomi, 2005) ตารางที่ 3.3 แสดงให้เห็นถึงการตอบสนองของเพลี้ยไฟต่างชนิดกันต่อเชื้อราชนิดเดียวกัน

ตารางที่ 3.3 การตอบสนองของเพลี้ยไฟต่างชนิดกันต่อเชื้อราชนิดเดียวกัน

ชนิดของเชื้อรา	เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (Corrected mortality)		
	ชนิดของเพลี้ยไฟ		
	Scirtothrips dorsalis	*Frankliniella occidentalis*	*Thrips tabaci*
Aschersonia samoensis	7.41 ± 1.33	52.83±6.23	15.74±9.64
Aschersonia tamurai	27.46 ± 5.13	52.43±1.66	20.63±4.41
Beauveria bassiana	89.77 ± 5.97	100.00±0.00	95.52±2.93
Metarhizium anisopliae	94.20 ± 3.12	100.00±0.00	97.33±2.22
Metarhizium flavoviride	54.44 ± 5.55	8.76±4.71	43.33±9.62
Isaria farinosus	58.54 ± 8.34	69.04±12.99	54.56±8.06
Isaria fumosoroseus	75.98 ± 4.30	95.42±1.05	87.76±2.23
Isaria tenuipes	68.46 ± 7.08	5.09±3.04	15.27±2.37
Lecanicillium lecanii	74.54 ± 9.79	36.07±7.59	8.76±0.50

ที่มา : ดัดแปลงจาก Thungrabeab (2006) มาลี และคณะ (2551)

2.2 ระยะการเจริญเติบโตของแมลง

ด้วยแมลงมีการเจริญเติบโตหลายระยะซึ่งเชื้อราเข้าทำลายแมลงได้ในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตแตกต่างกัน (Ferron, 1991) ทั้งนี้ทั้งนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของแมลงด้วย Thungrabeab (2006) รายงานว่า ระยะตัวอ่อนของเพลี้ยไฟ เป็นระยะที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของแมลงมากที่สุด และในระยะตัวอ่อนด้วยกัน ตัวอ่อนระยะหลัง ๆ จะอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อรามากกว่าตัวอ่อนระยะแรก (ตารางที่ 3.4) แต่ในขณะที่หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนระยะแรกจะอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อรามากกว่าหนอนระยะหลัง ๆ (Mohamed *et al.*, 1977) ส่วน Vestergaard *et al.* (1995) และ Ekesi and Maniania (2000) รายงานว่า ระยะตัวเต็มวัยของเพลี้ยไฟ *F. occidentalis* และเพลี้ยไฟ *Megalurothrips sjostedti* มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อรามากที่สุด สำหรับแมลงหวี่ขาว *Bemisia argentifolii* ความสามารถในการเกิดโรคเนื่องจากเชื้อรา *Lecanicillium* (*Verticillium*) *lecanii* ลดลง เมื่อระยะการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกันกับแมลงหวี่ขาว *Trialeurodes vaporariorum* ที่พบว่าระยะตัวเต็มวัยเกิดโรคเนื่องจากเชื้อรา *Aschersonia aleyrodis* น้อยที่สุด (Fransen *et al*., 1987) ส่วนจิ้งหรีดใหญ่ (*Brachytrupes portentosus* Lict) พบว่า เมื่อระยะตัวอ่อนเพิ่มมากขึ้น ความอ่อนแอต่อเชื้อรากำจัดแมลงลดลง (ตารางที่ 3.5) การที่ระยะการเจริญเติบโตของแมลงมีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อรานั้น เนื่องมาจากปฏิสัมพันธ์กันของผนังลำตัวแมลงและเชื้อรา ผนังลำตัว

แมลงแต่ละระยะของการเจริญเติบโตย่อมมีความแตกต่างกัน และการที่ระยะตัวเต็มวัยของเพลี้ยไฟมีความทนทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยไฟ เนื่องจากเพลี้ยไฟมีการเคลื่อนที่ตลอดเวลา อาจมีผลทำให้สปอร์ที่ติดบนผนังลำตัวเพลี้ยไฟหลุดจากตัวแมลง เป็นต้น วิวัฒน์ และคณะ (2548) ได้ทำการสำรวจและวิจัยเชื้อรา *M. anisopliae* ควบคุมด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย *Dorysthenes buqueti* Guerin (Coleoptera: Cerambycidae) พบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถเข้าทำลายด้วงตั้งแต่ระยะไข่จนถึงตัวเต็มวัย โดยที่ระยะหนอนถูกทำลายได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์มากกว่าระยะการเจริญเติบโตระยะอื่น ๆ ของด้วง

ตารางที่ 3.4 ความรุนแรงของเชื้อราในการทำให้เพลี้ยไฟเกิดโรคตายในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

ชนิดของเชื้อรา	ค่าLC_{50} (โคนิเดีย/มิลลิลิตร)		
	ระยะหนอน	ระยะดักแด้	ระยะตัวเต็มวัย
Beauveria bassiana	$1.55x10^4$	$7.41x10^4$	$1.62x10^5$
Metarhizium anisopliae	$1.12x10^4$	$2.95x10^4$	$6.92x10^4$
Isaria fumosoroseus	$1.62x10^4$	$1.48x10^5$	$2.75x10^5$

ที่มา : Thungrabeab (2006)

ตารางที่ 3.5 การตอบสนองของตัวอ่อนจิ้งหรีดใหญ่ (*Brachytrupes portentosus* Lict) ในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตต่อเชื้อรากำจัดแมลง

ชนิดของเชื้อรา	เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง						
	วัยที่ 1	วัยที่ 2	วัยที่ 3	วัยที่ 4	วัยที่ 5	วัยที่ 6	วัยที่ 7
Beauveria bassiana	100	100	100	93.33	87.33	87.33	83.00
Metarhizium anisopliae	100	100	100	100	92.00	91.66	89.00

ที่มา : มาลี และสุมาฬี (2557)

2.3 เพศของแมลง

แมลงเพศผู้และเพศเมียมีการตอบสนองต่อการเข้าทำลายของเชื้อรากำจัดแมลงแตกต่างกัน การศึกษาของมาลี และสุมาฬี (2557) พบว่า เพศเมียของจิ้งหรีดใหญ่ มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อรามากกว่าเพศผู้ (ตารางที่ 3.6)

ตารางที่ 3.6 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การตายของจิ้งหรีดใหญ่ (*Brachytrupes portentosus* Lict.) เพศผู้และเพศเมียจากเชื้อรากำจัดแมลง

ชนิดของเชื้อรา	เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง	
	เพศผู้	เพศเมีย
Beauveria bassiana	83.33	91.66
Metarhizium anisopliae	91.66	100

ที่มา : มาลี และสุมาฬี (2557)

3. สภาพแวดล้อม

ปัจจัยสภาพแวดล้อมมีส่วนสำคัญอย่างมากที่จะสนับสนุนหรือยังยั้งในการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรา (Benz, 1987) ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรา ได้แก่ อุณหภูมิและความชื้น

3.1 อุณหภูมิ การงอกของเชื้อราที่ผนังลำตัวแมลงขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ อุณหภูมิต่ำเชื้อรางอกได้น้อยกว่าเมื่ออุณหภูมิสูง (Ekesi *et al.,* 1999; Campbell *et. al,* 1996; Thomas and Jenkins, 1997) แต่ความยาวของ germ tube จะยาวที่สุดที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum temperature) (ตารางที่ 3.7) ซึ่งช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเชื้อราในการเข้าทำลายแมลงอยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.7 เปอร์เซ็นต์การงอกและความยาว germ tube เชื้อรา *Beauveria bassiana* บนผนังลำตัวเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* ที่อุณหภูมิต่าง ๆ หลังการปลูกเชื้อราที่ 12 และ 24 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	อุณหภูมิ (°C)	%การงอก	ความยาว germ tub (µm)
12	18	67.48	-
	25	98.33	-
	30	98.67	-
	35	99.33	-
24	18	98.89	6.1
	25	100.00	13.0
	30	100.00	11.3
	35	99.33	9.4

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Thungrabeab (2006)

อุณหภูมินอกจากมีผลต่อการงอกของสปอร์เชื้อราที่ผนังลำตัวแมลงแล้วยังพบว่ามีผลต่อความเร็วของการ penetration ที่อุณหภูมิต่ำ มีการ penetrate ได้น้อยกว่าอุณหภูมิสูง (Maniania and Fargues, 1992; Tefera and Pringie, 2003) เปอร์เซ็นต์ penetration ของเชื้อรา *Beauveria bassiana* เข้าไปในผนังลำตัวของเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.8

ตารางที่ 3.8 เปอร์เซ็นต์ penetration ของเชื้อรา *Beauveria bassiana* เข้าไปในผนังลำตัวของเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน

อุณหภูมิ (°C)	Percentage of penetration
18	75.57
25	98.77
30	98.23
35	99.41

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Thungrabeab (2006)

3.2 ความชื้น

สปอร์เชื้อราเมื่ออยู่ภายใต้อากาศเย็นและแห้งจะสามารถคงสภาพอยู่ได้ (Hedgecock *et al*., 1995) แต่เมื่อมีความชื้นสปอร์จะงอก (Osborne and Landa, 1992) ช่วงกว้างของความชื้นที่สามารถทำให้สปอร์งอกแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของเชื้อราและชนิดแมลง ช่วงความชื้นสัมพัทธ์ ที่พบว่าเชื้อรายังคงประสิทธิภาพในการทำลายแมลงที่ช่วงความชื้นสัมพัทธ์ 25-85 เปอร์เซ็นต์ (Osborne and Landa, 1992) แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า การเข้าทำลายของเชื้อราต่อแมลงนั้น ขึ้นอยู่กับ บรรยากาศรอบ ๆ ตัวแมลงมากกว่าความชื้นสัมพัทธ์ (Lacey *et al*., 1996; Wraight *et al,* 2000; Vidal *et al*., 2003)

4. พืชอาหารแมลง

เนื่องจากอาหารมีความสัมพันธ์กับเลือดของแมลงโดยตรง และเชื้อราต้องใช้เลือดเพื่อการเจริญ Todd *et al.* (2005) พบว่า เพลี้ยไฟ *F. occidentalis* ที่ทำลายถั่วจะอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *B. bassiana* เป็น 6 เท่าของเพลี้ยไฟที่เลี้ยง บน impatient เพลี้ยไฟ *T. tabaci* ที่กินแตงกวา ถูกเชื้อราทำลายได้มากกว่า เพลี้ยไฟที่ดูดน้ำเลี้ยงจากฝ้าย (Thungrabeab *et al.,* 2006b) Poprawski *et al.* (2000) รายงานว่า ตัวอ่อนของ *Trialeurode vaporariorum* ที่กินแตงกวาเป็นอาหารเกิดโรคตายจากเชื้อรา *B. bassiana* มากกว่าที่กินมะเขือเทศเป็นอาหาร ส่วน Ramoska and Tood (1985) พบว่า มวน

ดอกรัก *Blissus leucopterus* ที่กินข้าวฟ่าง และข้าวโพด มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรามากกว่า มวนดอกรักที่กินข้าวสาลี เป็นต้น

สรุป

กลไกการเข้าทำลายของเชื้อราต่อแมลงได้เริ่มจากสปอร์เชื้อราสัมผัสกับผนังลำตัวแมลงภายใน 12 ชั่วโมง สปอร์เชื้อรางอกเส้นใยแทงทะลุผ่านผนังลำตัวเข้าไปเจริญเติบโตอยู่ภายในตัวแมลง ระยะนี้แมลงเริ่มอ่อนแอ ไม่ค่อยกินอาหาร และตายไปในที่สุด เมื่อแมลงตายและมีความชื้นเหมาะสมเส้นใยเชื้อราแทงทะลุออกมานอกลำตัวแมลง ระยะเวลาตั้งแต่สปอร์ติดที่ลำตัวจนกระทั่งงอกทะลุลำตัวออกมา ใช้เวลา 3-5 วัน ขึ้นกับชนิดแมลงและตำแหน่งที่เชื้อราแทงเข้าไปในตัวแมลง เช่น เชื้อราที่แทงเข้าบริเวณลำตัวจะทำให้แมลงตายเร็วกว่าการแทงเข้าทางปีก เป็นต้น เชื้อราสามารถแทงเข้าสู่แมลงทางผนังลำตัวได้ทุกส่วน เช่น ลำตัว ขา ปีก หนวด ตา เป็นต้น แมลงที่มีลำตัวอ่อนนุ่ม สปอร์จะแทงเข้าได้ทุกส่วน แต่แมลงที่มีลำตัวแข็ง เช่น ด้วง เชื้อราแทงเข้าที่รอยต่อระหว่างปล้อง การแทงออกมาจากตัวแมลงก็เช่นกัน เส้นใยเชื้อราสามารถแทงออกมาได้ทุกส่วน โดยแมลงปีกแข็งเห็นเชื้อราแทงออกมาจากข้อปล้องก่อน เส้นใยที่แทงออกมาจะสร้างสปอร์แพร่กระจายไปในธรรมชาติ แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรากำจัดแมลง ไม่ได้ขึ้นกับกลไกของการเข้าทำลายของเชื้อราเพียงอย่างเดียว แต่ขึ้นอยู่กับชนิดเชื้อรา แมลง (ชนิด ระยะการเจริญเติบโต และเพศของแมลง) สภาพแวดล้อม อันได้แก่ อุณหภูมิและความชื้น รวมถึงพืชอาหารของแมลง

เอกสารอ้างอิง

มาลี ตั้งระเบียบ และสุมาพี พรหมรุกขชาติ. 2557. การศึกษาหาวิธีการควบคุมจิ้งหรีด วงศ์ Gryllidae โดยชีววิธีสำหรับการเพาะปลูกพืชบนพื้นที่สูง. หน้า 130-134 ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 7 วันที่ 25 กันยายน พ.ศ. 2557 อุทยานหลวงราชพฤกษ์ อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ จริยา วิสิทธ์พาณิชย์ และจันทร์เพ็ญ วิวัฒน์. 2551. การประเมินความสามารถของเชื้อสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยไฟพริก (*Scirtothrips dorsalis* Hood) (Thysanoptera : Thripidae) และไรขาวพริก (*Polyphagotarsonemus latus* Banks) (Acaridae : Tarsonemidae) ในพริก การประชุมวิชาการ นักวิจัยรุ่นใหม่ พบเมธีวิจัยอาวุโส สกว. ครั้งที่ 8 16-18 ตุลาคม 2551 โรงแรมฮอลิเดย์อินน์ รีสอร์ท รีเจนท์ บีช ชะอำ จ. เพชรบุรี.

วิวัฒน์ เสือสะอาด พิมพรรณ สมมาตย์ ศิติภา นักขัตระ วิมลมาศ โอสถเสน และอาภรณ์ ปั้นทองคำ. 2548. การเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* และการนำไปใช้ควบคุมหนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย *Dorysthenes buqueti* Guerin (Coleoptera : Cerambycediae) ในสภาพไร่ การประชุมวิชาการประจำปี 2548 ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติและมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 28-30 มิถุนายน 2548 ณ โรงแรมเฟลิกซ์ริเวอร์แคว รีสอร์ท กาญจนบุรี. หน้า 1-13.

Altre, J.A., Vandenberg, J.D. and Cantone, F.A. 1999. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates to diamondback moth, *Plutella xylostella* : correlation with spore size, germination speed, and attachment to cuticle. Journal of Invertebrate Pathology. 73 : 322-338.

Benz, G., 1987. Environment, pp. 177-214. In : Fuxa, J.R. and Tanada, Y. (eds.): Epizootiology of fungal diseases. John Wiley, New York, USA.

Boucias, D.G. and Pendland, J.C. 1991. The fungal cell wall and its involvement in the pathogenic process in insect hosts, pp. 303-316. In : Latge, J.P. and Boucias, D.G. (eds.) : Fungal cell wall and immune response 1st ed. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany.

Brownbridge, M. 1995. Prospect for mycopathogens in thrips management, pp. 281-295. In : Parker, B., Skinner, L.M. and Lewis, T. (eds.): Thrips biological and management, Plenum Press, New York, USA.

Campbell, M.A., Medd, R.W. and Brown, J.F. 1996. Growth and sporulation of *Pyrenophora semeniperda* in vitro : effects of culture media, temperature and pH. Mycological Research. 100 : 311-317.

Chandler, D., Davidson, G. and Jacobson, R.J. 2005. Laboratory and glasshouse evaluation of entomopathogenic fungi against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari; Tetranychidae) on tomato, *Lycopersicon esculentum*. Biocontrol Science and Technology. 15 : 37-54.

Ekesi, S. and Maniania, N.K. 2000. Susceptibility of *Megalurothrips sjostedti* developmental stages to *Metarhizium anisopliae* and the effects of infection on feeding, adult fecundity, egg fertility and longevity. Entomologia Experimentalis et Applicata. 94 : 229-236.

Ekesi, S., Maniania, N.K., and Ampong, N.K. 1999. Effect of temperature on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Megalurothrips sjostedti*. Biocontrol Science and Technology. 9 : 177-185.

Ferron, P., Fargues, J. and Riba, G. 1991. Fungi as microbial insecticides against pest, pp. 665-706. In : Arora D.K., Ajello L. and Mukerji. K,G. (eds.): Handbook of applied mycology : humans, animals and insects, Vol. 2. Marcel Dekker, New York, USA.

Fransen, J. J., Winkelman, K. and Van. Lenteren, J.C. 1987. The different mortality at various life stages of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Hymenoptera : Aleyrodidae), by infection with the fungus *Aschersonia aleyrodis* (Deuteromycotina : Coelomycetes). Journal of Invertebrate Pathology. 50 : 158–165.

Hedgecock, S., Moore, D., Higgins, P.M. and Prior, C.M. 1995. Influence of moisture content on temperature tolerance and storage of *Metarhizium flavoviride* conidia in an oil formulation. Biocontrol Science and Technology. 5(3) : 371-378.

Inglis, G.D., Goettel, T.M. and Strasser, B. 2001. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pest. p. 23-69. In : Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N. (Ed.). Fungi as biocontrol agent. Wallingford : CAB International.

Lacey, L.A., Fransen, J.J. and Carruthers, R.I. 1996. Global distribution of naturally occurring fungi of *Bemisia*, their biologies and use as biological control agents, pp. 401-433. In : Gerling, D. and Mayer, R. (eds.) : *Bemisia* : Taxonomy, biology, damage, control and management. Intercept, Andover, UK.

Maketon, M., Orosz-Coghlan, P. and Jaengarun, J. 2008. Field evaluation of Isaria fumosorosea in controlling the diamondback moth (*Plutella xylostella*) in Chinese kale. Phytoparasitica. 36 : 260-263.

Makoto, A. and Takatumi, I. 2005. Susceptibility of five species of thrips to different strain of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. Applied Entomology and Zoology. 40 (4) : 667-674.

Malee Thungrabeab and Sirinun Aemprapa. 2002. Screening of entomopathogenic fungi *Beauveria* spp. against the aphid, *Myzu spersicae* and *Macrosiphum euphorbiae* In Proceeding 3rd International conference on Biopesticides 22-26 April 2002 Kuala Lumper, Malaysia, p. 157-160.

Maniania, N.K. and Fargues, J. 1992. Susceptibility of *Mamestra brassicae* (L.) and *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lep., Noctuidae) to the hyphomycetes *Paecilomyces fumosoroseus* (Brown and Smith) and *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson at two temperatures. Journal of Applie Entomology. 13 : 518-524.

Mohamed, A.K.A., Sikorowski, P.P. and Beii, J.V. 1977. Susceptibility of *Heliothis zea* larvae to *Nomurae rileyi* at various temperatures. Journal of Invertebrate Pathology, 30 : 414-417.

Osborne, L.S. and Landa, Z. 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. Florida Entomologist. 75 : 456-471.

Poprawski, T.J., Greenberg, S.M. and Ciomperlik, M.A., 2000. Effect of host plant on *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* induced mortality of *Trialeurodes vaporariorum* (Hom; Aleyrodidae). Environmental Entomology. 29 : 1048-1053.

Rajesh Anand, Birendra Prasad, Bhupendra and Nath Tiwar. 2009. Relative susceptibility of *Spodoptera litura* pupae to selected entomopathogenic fungi. BioControl. 54 : 85–92.

Ramoska, W.A. and Todd, T. 1985. Variation in Efficacy and Viability of *Beauveria bassiana* in the Chinch Bug (Hemiptera : Lygaeidae) as a Result of Feeding Activity on Selected Host Plants. Environmental Entomology. 14 (2) : 146–148.

Sengonca, C., Thungrabeab, M. and Blaeser, P. 2006. Potential of the different isolates of entomopathogenic fungi from Thailand as biological control agents against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (PERGANDE) (Thys ; Thripidae). Journal of Plant Disease and Protection. 113(2) : 74-80.

Tanda, Y. and Kaya, H.K. 1993. Insect pathology. Academic Press, San Diego, USA. 666 pp.

Tefera, T. and Pringle, K. 2003. Germination, radial growth, and sporulation of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates and their virulence to *Chilo partellus* (Lep; Pyralidae) at different temperatures. Biocontrol Science and Technology. 13 : 699-704.

Thomas, M.B. and Jenkins N.E. 1997. Effects of temperature on growth of *Metarhizium flavoviride* and virulence to the variegated grasshopper, *Zonocerus variegatus*. Mycology Research. 101 : 1469-1474.

Thungrabeab, M. 2006. Efficiency of different entomopathogenic fungi isolates from Thailand as biological control agents against *Frankliniella occidentalis* (Pergande) and *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera : Thripidae) Cuvillier Verlag, Goettingen, 110 pp.

Thungrabeab, M., Blaeser, P. and Sengonca, C. 2006a. Effect of temperature and host plant on efficacy of different entomopathogenic fungi from Thailand used against *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thys ; Thripidae) and *Thrips tabaci* Lindeman (Thys ; Thripidae) in the laboratory. Journal Plant Disease and Protection. 113 (4) : 181-187.

Thungrabeab, M., Blaeser, P. and Sengonca, C. 2006b. Possibilities for biocontrol of the onion thrips *Thrips tabaci* Lindeman (Thys ; Thripidae) using different entomopathogenic fungi from Thailand. Mitt. Dtsch. Ges. allg. angew. Entomol. 15 : 299-304.

Todd, A.U., Wraight, S.P. and Sanderson, J.P. 2005. Differential susceptibility of the western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) to *Beauveria bassiana*, as a function of host plant species. IOBC/WPRS Bull. 28 : 271-274.

Vestergaard, S., Gilliespie, A.T., Butt, T.M., Schreiter, G. and Eilenberg, J. 1995. Pathogenicity of the hyphomycetes fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. Biocontrol Science and Technology. 5 : 185-192.

Vidal, C., Fargues, J., Rougier, M. and Smits, N. 2003. Effect of air humidity on the infection potential of Hyphomycetous fungi as Mycoinsecticides for *Trialeurodes vaporariorum*. Biocontrol Science and Technology. 13 : 183-198.

Vimala, D.P.S., Prasad, Y.G., Anitha Chowdary, Mallikarjuna Rao and Balakrishnan, K. 2003. Identification of virulent isolates of the entomopathogenic fungus *Nomuraea Rileyi* (F) Samson for the management of *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. Mycopathologia. 156(4) : 365-373.

Wraight, S.P., Carruthers, R.I., Jaronski, S.T., Bradley, C.A., Garza, C.J. and Galaini, W.S., 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. Biological Control. 17 : 203-217.

บทที่ 4 การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลง

(Development Formulation of Entomopathogenic Fungi)

จากจุดเริ่มต้นที่มีความพยายามในการเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ใน malt ที่ใช้ทำเบียร์ (beer mash) ในการควบคุม beet weevil *Cleonus punctiventris* ในรัสเซียมาตั้งแต่ปี 1888 (Lord, 2005) ในปี 1965 สารชีวภัณฑ์ (mycoinsecticide) ตัวแรก ชื่อ Boverin พัฒนาจากเชื้อรา *Beauveria bassiana* เพื่อใช้ควบคุม Colorado potato beetle และ codling moth ในสาธารณรัฐโซเวียต สารชีวภัณฑ์เชื้อรา Mycar ซึ่งพัฒนามาจาก *Hirsutella thompsonii* เป็นชีวภัณฑ์ตัวแรกที่ขึ้นทะเบียนตามกฎหมาย โดย US environmental Protection Agency ในปี 1981 สำหรับการควบคุมไรสนิมส้ม *Phyllocoptruta oleivora* และได้มีการพัฒนาชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงเป็นสูตรสำเร็จต่างๆ ทั้งรูปแบบ WP (Wettable powder) Granule Suspension concentrate Emulsion Bait เรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน

ขั้นตอนการพัฒนาสารชีวภัณฑ์ เริ่มจากการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราที่มีความรุนแรงสูง มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงนั้น ๆ และเชื้อราที่มีความรุนแรงสูงนั้นต้องสามารถขยายเพิ่มปริมาณเชื้อราได้ปริมาณมากด้วยวิธีการที่ไม่ยุ่งยาก ในเวลาอันรวดเร็ว ในวัสดุที่หาได้ง่ายและต้นทุนต่ำ (Kleespies and Zimmermann, 1992) สูตรสำเร็จ (formulation) เป็นปัจจัยหลักอย่างหนึ่งที่ทำให้การใช้เชื้อรากำจัดแมลงประสบผลสำเร็จ ซึ่งสูตรสำเร็จที่พัฒนาต้องเหมาะสมกับแมลงแต่ละชนิด เนื่องจากแมลงมีวงจรชีวิต พฤติกรรมและที่อยู่อาศัยแตกต่างกัน ทั้งที่ต้นพืช ในดิน ในน้ำ บนผิวน้ำ ในตัวสัตว์ หรือแม้แต่บนร่างกายมนุษย์ และบนต้นพืชต้นหนึ่งยังสามารถพบแมลงได้ทุกส่วน ตั้งแต่ใบ ดอก ผล เมล็ด ลำต้น กิ่ง และราก เป็นต้น ดังนั้น จึงต้องมีการพัฒนาสูตรสำเร็จให้เหมาะสม กับถิ่นที่อยู่อาศัยของแมลงนั้น เนื่องจากเชื้อราทำลายแมลงได้ สปอร์เชื้อราต้องติดที่ผนังลำตัวแมลง อีกทั้งชนิดและส่วนผสมของสารที่ใส่ลงไปในสูตรสำเร็จควรมีผลต่อความเสถียรภาพ ความมีชีวิต และส่งเสริมประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จเชื้อราและสูตรสำเร็จที่ผลิตได้ต้องที่สามารถเก็บรักษาได้นาน สะดวกในการใช้ Faria and Wraight (2007) รายงานว่า ตั้งแต่ปี 1960 เป็นต้นมา มีชีวภัณฑ์เชื้อรามาใช้ในการควบคุมแมลง มากกว่า 171 ชีวภัณฑ์ เป็นเชื้อรา *Beauveria bassiana* ร้อยละ 33.9 *Beauveria brongniartii* ร้อยละ 4.1 *Metarhizium anisopliae* ร้อยละ 33.9 *Isaria fumosorosea* ร้อยละ 5.8 ที่เหลือเป็นชีวภัณฑ์ที่ผลิต

จากเชื้อราชนิดอื่น เช่น *Metarhizium acridum Hirsutella thompsonii Lecanicillum* spp. *Nomuraea rileyi* เป็นต้น

ขั้นตอนในการพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์กำจัดแมลง

1. การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อรากำจัดแมลงพบมีหลายสกุลและชนิดที่เป็นสาเหตุทำให้แมลงเกิดโรคตายได้ แต่ประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงได้ต่างกัน ขึ้นกับสกุล ชนิด และไอโซเลตของเชื้อรา (Poprawski, *et al*. 1985; Moorhouse *et al.* 1993) และ ไม่ใช่เชื้อราทุกไอโซเลตจะมีศักยภาพในการนำมาควบคุมแมลงได้ ดังนั้นขั้นตอนที่สำคัญอันดับแรกในการพัฒนาสารชีวภัณฑ์ คือการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราที่มีความรุนแรงสูง มีรายงานความแตกต่างของประสิทธิภาพของเชื้อรากำจัดแมลงดังนี้ Chandler *et al*. (2005) รายงานว่า เชื้อรากำจัดแมลง 40 ไอโซเลต จาก 9 ชนิด พบว่า มีจำนวน 6 ไอโซเลตที่ทำให้ ไรแดง *Tetranychus urticae* ตายได้สูง Slavimira and Spaska (2010) รายงานว่า เชื้อรา *B. bassiana* 5 ไอโซเลต มีเพียงเชื้อราไอโซเลต *B. bassiana* isolate 444 Bb และ 445 Bb ที่ทำให้ ไร 2 จุด *T. urticae* ตายได้ 100% ในระยะเวลา 4 วัน Brownbridge (1995) รายงานว่าเชื้อรา *B. bassiana*, *M. anisopliae* และ *Lecanicillum lecanii* มีความสามารถในการควบคุมเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* มากกว่า เชื้อรา *Isaria fumosoroseus* และ *Isaria farinosus* Hall *et al.* (1994) และ Saito (1991) พบว่า *Hirsutella* sp., *I. fumosoroseus* และ *B. bassiana* มีความสามารถในการควบคุม *Thrips palmi* ในขณะที่ Ekesi *et al.* (1998) ได้รายงานว่า *B. bassiana* และ *M. anisopliae* มีความสามารถในการทำให้ *Megalurothrips sjostedti* เกิดโรคตายสูง ส่วน Vacante *et al.* (1994) ได้รายงานว่า *Neozygites parvispora* สามารถลดจำนวนความหนาแน่นของประชากรของ *F. occidentalis* ในแต่ละวัยได้ถึง 60% และจากการศึกษาความอ่อนแอของเพลี้ยไฟ 5 ชนิด ได้แก่ *Frankliniella intonsa*, *F. occidentalis*, *Thrips coloratus*, *T. hawaiiensis* และ *T. tabaci* ที่มีต่อเชื้อ *B. bassiana* 3 ไอโซเลต พบว่า ไอโซเลต KOG02 มีความสามารถในการทำให้เพลี้ยไฟทั้ง 3 ชนิด ตายได้มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับไอโซเลตอื่นๆ โดย *T. tabaci* จะอ่อนแอต่อการเกิดโรคมากที่สุด (Makoto และ Takatomi 2005) นอกจากนี้จากเชื้อราทั้งหมด 41 ไอโซเลต จาก 25 ชนิด (species) 11 สกุล (genus) พบว่า มีเชื้อราจำนวน 36 ไอโซเลตที่ทำให้ *T. tabaci* ตาย และจำนวน 37 ไอโซเลตทำให้ *F. occidentalis* ตาย โดยที่เปอร์เซ็นต์การตายจะแตกต่างกันไปในแต่ละสกุล ชนิด และไอโซเลตของเชื้อรา (Sengonca *et al*., 2006 Thungrabeab *et al*., 2006) สำหรับประสิทธิภาพของเชื้อราในการการควบคุมหนอนผีเสื้อนั้น Vimala *et al.* (2003) รายงานว่า เชื้อรา *Nomuraea rileyi* มีประสิทธิภาพทำให้หนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa armigera* และหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* เกิดโรคและ

ตายได้ 100% เช่นเดียวกันเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium muscarium* และ *Cordyceps cardinalis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก (Rajesh *et al.*, 2009) รายงานว่า เชื้อรา *I. fumosoroseus* มีความสามารถในการทำให้หนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) เกิดโรคตายได้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีเชื้อราอีกหลายชนิด ได้แก่ *Zoophthor radicans*, *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผัก ได้ดี (Altre *et al,* 1999, Maketon *et al*., 2008, มาลี 2553) ดังนั้นในการจะนำเชื้อราไปพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์จึงต้องมีการคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงกับแมลงนั้น ๆ ก่อนเสมอ

2. การเพิ่มปริมาณเชื้อรา

ขั้นตอนต่อมาของการพัฒนาสารชีวภัณฑ์หลังจากการคัดเลือกสายพันธุ์ได้แล้วคือต้องสามารถเพิ่มปริมาณเชื้อราให้ได้ปริมาณมากด้วยวิธีการที่ไม่ยุ่งยาก แต่ยังคงความรุนแรงเช่นเดียวกับการเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ (Hegedus *et al.,* 1990; Jackson and Bothast, 1990; Jenkins and Thomus, 1996 and Jenkins *et al*., 1998) เพื่อการนำเชื้อรากำจัดแมลงมาใช้ในการควบคุมแมลงอย่างเป็นรูปธรรม เพราะถึงแม้เชื้อราจะมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมแมลงได้หลายชนิด แต่หากไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้ เชื้อราสายพันธุ์นั้น ๆ ก็ไม่มีประโยชน์ หากไม่สามารถนำไปใช้ในการควบคุมแมลงในสภาพแปลงได้ Kleespies and Zimmermann (1992) รายงานว่าการผลิตเชื้อราให้ได้จำนวนมากจะต้องมีการปรับแหล่งของคาร์บอน และไนโตรเจน และระดับความเป็นกรด ด่าง (pH) ที่เหมาะสม การเพิ่มปริมาณเชื้อราได้ปริมาณมากสามารถที่จะผลิตได้ทั้งในรูปโคนิเดีย (conidia) ที่ผลิตในอาหารแข็ง และ บลาสโตสปอร์ (blastopores) ที่ผลิตในอาหารเหลว (submerged culture) (Deshpande, 1999; Ibrahim and Low, 1993; Jenkins and Thomas, 1996) โดยเชื้อราแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการสร้างบลาสโตสปอร์ และโคนิเดียที่แตกต่างกัน

2.1 การเพิ่มปริมาณโคนิเดีย (conidia)

โคนิเดียเชื้อรากำจัดแมลงผลิตได้ด้วยอาหารแข็ง โดยใช้วัสดุเลี้ยงเชื้อจำพวกเมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว (ข้าวจ้าวและข้าวเหนียว) ข้าวสาลี ข้าวฟ่าง ข้าวโพด ข้าวบาเลย์ ผลิตภัณฑ์แป้งต่าง ๆ ทั้งจากส่วนเมล็ด เช่น แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวสาลี แป้งข้าวโพด และแป้งจากส่วนหัวของพืช เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง และ แป้งท้าวยายม่อม รวมถึง ผลพลอยได้จากการเกษตร เช่น รำข้าว สาคู เกล็ดขนมปัง เป็นต้น (Sahayaraj *et al.*, 2008; Bharati, *et al*., 2007; Babu *et al*., 2008; มาลี และคณะ 2551; มาลี 2554; มาลี และคณะ 2556ab) ซึ่ง Jaronski (2016) ได้สรุปวัสดุเลี้ยงเชื้อราที่นำมาเลี้ยงเชื้อรากำจัดแมลงเพื่อผลิตโคนิเดียดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 Solid Substrates Evaluated for Production of the Principal Entomopathogenic Ascomycetes

Substrate	Fungus
Agricultural byproducts	*Metarhizium*
Bagasse±2% dextrose	*Beauveria*
Barley	*Beauveria*
Beetroot	*Beauveria*
Broken rice	*Metarhizium*
Broken rice+$CaCl_2$	*Beauveria, Metarhizium*
Carrot tubers	*Beauveria*
Chickpea	*Metarhizium*
Cassava chips	*Metarhizium*
Coconut cake	*Beauveria*
Cottonseed cake	*Beauveria*
Finger millet	*Beauveria*
Grade 3 unpolished rice	*Metarhizium*
Groundnut cake	*Beauveria*
Kodo millet	*Metarhizium*
Maize	*Beauveria, Metarhizium*
Maize bran±2% dextrose	*Beauveria*
Mijo grains+organic nitrogen	*Nomuraea*
Millet	*Beauveria, Metarhizium*
Neem cake	*Beauveria*
Pearl millet	*Beauveria*
Potato tubers	*Beauveria*
Prawn waste	*Beauveria*
Press mud±2% dextrose	*Beauveria*

ตารางที่ 4.1 Solid Substrates Evaluated for Production of the Principal Entomopathogenic Ascomycetes (ต่อ)

Substrate	Fungus
Rice	*Metarhizium*
Rice+saccharomyces	*Beauveria, Metarhizium*
Rice bran+2% dextrose	*Beauveria, Metarhizium*
Rice flour	*Metarhizium*
Rice hulls, sawdust : rice bran±2% dextrose	*Beauveria*
Rice husk+2% dextrose	*Beauveria*
Sesame cake	*Beauveria*
Sorghum	*Beauveria, Metarhizium*
Soybean	*Beauveria, Metarhizium*
Sugarcane bagasse (molasses)+yeast,	*Beauveria, Metarhizium*
Sugarcane press mud	*Beauveria*
Tapioca rind	*Beauveria*
Wheat	*Beauveria, Metarhizium*
Wheat bran+$Al(SO_4)_3$	*Beauveria*
Wheat bran+organic nitrogen	*Nomuraea*
Wheat bran+2% dextrose	*Beauveria*

ที่มา : Jaronski (2016)

ปริมาณการสร้างโคนิเดีย (ความเข้มข้นของโคนิเดีย) แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับวัสดุที่นำมาเลี้ยงและสายพันธุ์เชื้อรานั้น (Soundrapandian and Chandra, 2007; มาลี และคณะ 2551; มาลี 2554; มาลี 2556; พัชรินทร์ และมาลี 2560) นอกจากนี้ มาลีและคณะ (2551, 2554, 2555) พบว่า ความเข้มข้นของโคนิเดียสูงสุด เมื่อใช้ในเมล็ดข้าวสารเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อและความเข้มข้นของโคนิเดียต่ำสุดเมื่อใช้ข้าวเปลือกเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อ ส่วนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบเชื้อรามีอายุอยู่ได้นานที่สุด (ตารางที่ 4.2 ภาพที่ 4.1 และ 4.2)

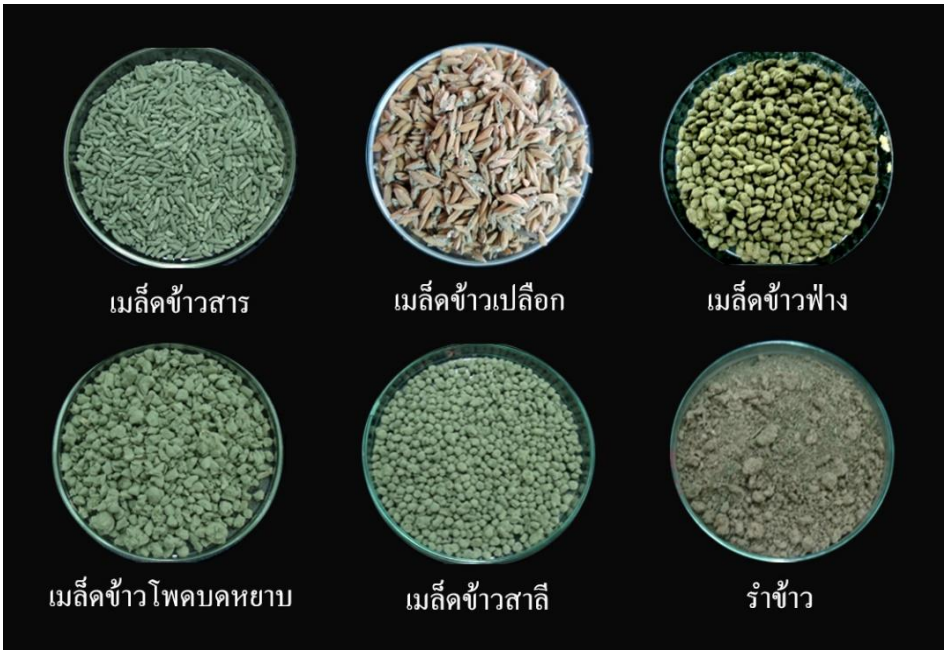
ตารางที่ 4.2 ระดับความเข้มข้นของสปอร์ของเชื้อรากำจัดที่เลี้ยงบนเมล็ดธัญพืชต่างชนิดกัน

วัสดุเลี้ยงเชื้อรา	ความเข้มข้นของสปอร์ของเชื้อราต่อกรัมวัสดุเลี้ยงเชื้อ (โคนิเดีย/มล.)	
	Beauveria bassiana	*Metarhizium anisopliae*
ข้าวจ้าว	9.52×10^{10}	9.32×10^{9}
ข้าวเหนียว	1.22×10^{11}	6.67×10^{7}
ข้าวฟ่าง	7.28×10^{10}	8.85×10^{9}
ข้าวโพดบด	4.64×10^{10}	9.00×10^{9}
ข้าวสาลี	5.43×10^{10}	3.14×10^{9}
ข้าวเปลือก	2.57×10^{8}	1.12×10^{6}
รำข้าว	7.51×10^{8}	2.59×10^{8}

ที่มา : ดัดแปลงมาจากมาลี และคณะ (2551) ; มาลี (2554)



ภาพที่ 4.1 ลักษณะของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ที่เลี้ยงในวัสดุเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ

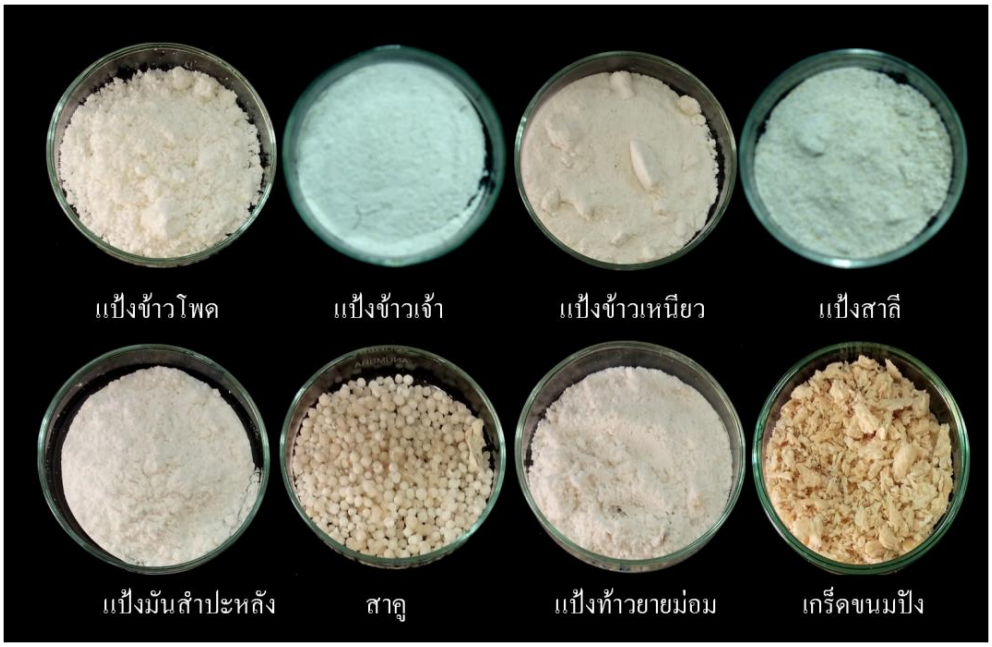


ภาพที่ 4.2 ลักษณะของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ที่เลี้ยงในวัสดุเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ

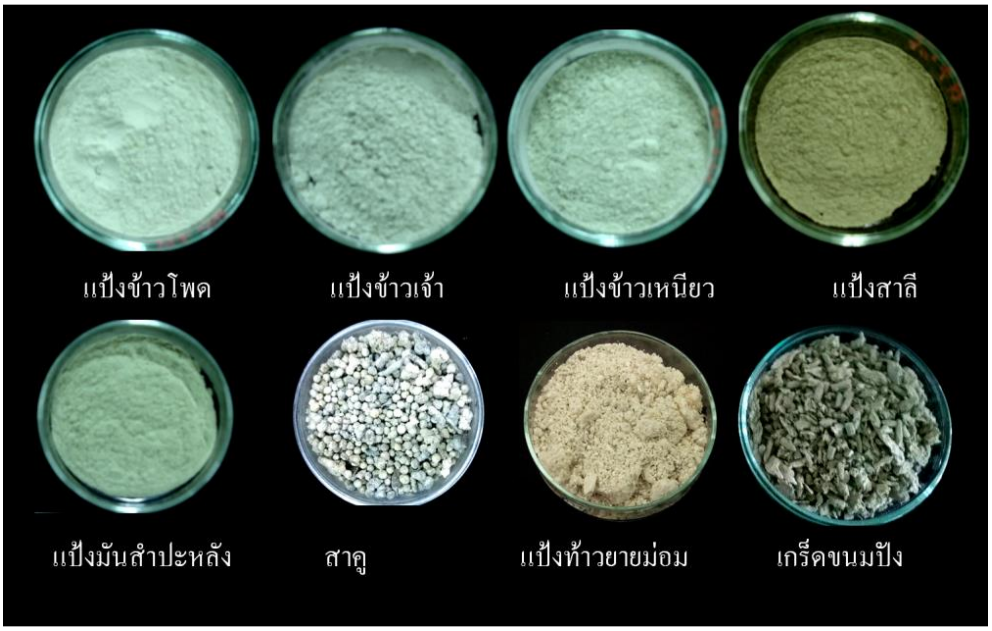
สำหรับการผลิตโคนิเดียโดยใช้ผลิตภัณฑ์แป้งชนิดต่าง ๆ ทั้งจากเมล็ดธัญพืช และพืชหัว พบว่าการเจริญของเชื้อราขึ้นอยู่กับชนิดของแป้ง (Sharififard *et al*., 2013; สิทธินันท์ 2556; กรกช 2556; พัชรินทร์ และมาลี 2560) โดยผลิตภัณฑ์แป้งจากเมล็ดธัญพืชเชื้อรามีการเจริญได้ดีกว่าผลิตภัณฑ์แป้งจากพืชหัว และระหว่างผลิตภัณฑ์แป้งจากเมล็ดธัญพืชด้วยกัน พบมีความแตกต่างกันของระดับความเข้มข้นเช่นกัน (ตารางที่ 4.3 ภาพที่ 4.3) การที่แต่ละผลิตภัณฑ์แป้งมีการเจริญของเชื้อราที่แตกต่างกันเนื่องมาจากองค์ประกอบของแป้งแตกต่างกัน Deshpande (1999) รายงานว่า เชื้อราจะเจริญได้ดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน แหล่งคาร์บอนที่สำคัญในการผลิตโคนิเดียเชื้อราได้มาจากแป้ง ส่วนแหล่งไนโตรเจนส่วนใหญ่มาจากยีสต์ เป็นต้น เชื้อราที่ผลิตจากผลิตภัณฑ์แป้งจากเมล็ดธัญพืชให้ปริมาณสปอร์ที่สูงกว่าเชื้อราที่ผลิตจากผลิตภัณฑ์แป้งพืชหัว ทั้งนี้อาจเพราะองค์ประกอบของแป้งจากเมล็ด และจากพืชหัวไม่เหมือนกัน ซึ่งกล้าณรงค์ และเกื้อกูล (2543) กล่าวว่า โดยทั่วไปแป้งจากธัญพืช เช่น แป้งข้าวโพด แป้งสาลี แป้งข้าวฟ่าง มีปริมาณอะไมโลสสูงประมาณร้อยละ 22-30 ส่วนแป้งจากรากและหัว เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง แป้งสาคูจะมีปริมาณ อะไมโลสต่ำกว่าคืออยู่ในช่วงร้อยละ 18-24 อีกทั้งแป้งแต่ละชนิดมีปริมาณโปรตีนแตกต่างกัน แป้งสาลีพบมีโปรตีน ร้อยละ 13 ส่วนแป้งข้าวโพดพบร้อยละ 9 สำหรับแป้งข้าวจ้าวและข้าวเหนียวมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 7-8 ตามลำดับ (กองโภชนาการ กระทรวงสาธารณสุข, 2532) ส่วนในสาคู พบมีปริมาณโปรตีนเพียงร้อยละ 1

ตารางที่ 4.3 ระดับความเข้มข้นของสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงที่เลี้ยงบนผลิตภัณฑ์แป้งต่างชนิดกัน

วัสดุเลี้ยงเชื้อรา	**ความเข้มข้นของสปอร์ของเชื้อราต่อกรัมวัสดุเลี้ยงเชื้อ (สปอร์/มล.)**	
	Beauveria bassiana	*Metarhizium anisopliae*
แป้งข้าวโพด	9.03×10^8	4.63×10^8
แป้งข้าวจ้าว	4.77×10^9	2.22×10^9
แป้งข้าวเหนียว	6.73×10^8	2.14×10^9
แป้งสาลี	2.95×10^9	8.22×10^9
แป้งมันสำปะหลัง	4.32×10^8	4.88×10^8
สาคู	1.36×10^8	3.13×10^9
แป้งท้าวยายม่อม	2.32×10^8	1.82×10^9
เกล็ดขนมปัง	1.07×10^{10}	2.77×10^9



ภาพที่ 4.3 ลักษณะเชื้อรา *Beauveria bassiana* ที่เจริญบนผลิตภัณฑ์แป้งต่างชนิดกัน



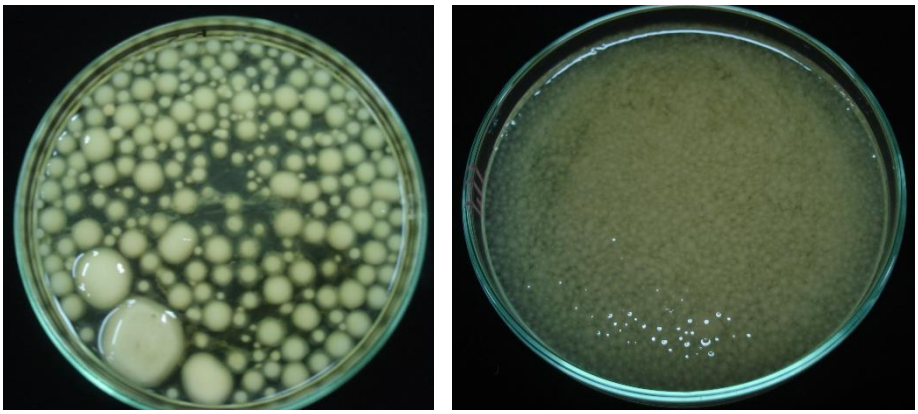
ภาพที่ 4.4 ลักษณะเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ที่เจริญบนผลิตภัณฑ์แป้งต่างชนิดกัน

นอกจากคาร์บอนและโปรตีนที่จำเป็นสำหรับการเจริญของเชื้อราแล้ว ความชื้นเป็นปัจจัยหลักที่สำคัญอีกอย่างสำหรับการเจริญของเชื้อรา วัสดุที่นำมาเลี้ยงเชื้อรามีคาร์บอนและไนโตรเจนเหมาะสม แต่

หากความชื้นไม่เหมาะสม เช่น ความชื้นมากไป นอกจากเชื้อราไม่จริญแล้วมักพบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียสูง แต่หากความชื้นน้อยไปเชื้อราไม่เจริญ จึงไม่พบมีการสร้างโคนิเดีย (El Damir, 2006)

2.2 การเพิ่มปริมาณบลาสโตสปอร์ (blastospores)

บลาสโตสปอร์สามารถผลิตได้จากอาหารเหลว (Feng *et al.*,1994) สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เลี้ยงเชื้อราได้แก่ Adamek, Catroux, Jenkins- Prior และ Samsinakova เป็นต้น นอกจากนี้ น้ำมะพร้าว กากน้ำตาล น้ำซาวข้าว น้ำข้าวโพด ยังสามารถนำมาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณบลาสโตสปอร์ได้เช่นกัน (Sahayaraj *et al*., 2008) เชื้อราจะเจริญเติบโตดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (Deshpande, 1999; Sun, 2006) มาลี (2554 2556ab, 2559, 2560) พบว่าเชื้อรา *Beauveria bassiana* สามารถสร้างบลาสโตสปอร์ได้เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนที่มาจากกากน้ำตาล น้ำต้มข้าวเหนียว น้ำต้มข้าวจ้าว น้ำต้มข้าวสาลี โดยมียีสต์สกัด (yeast extract) เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยต้องมีการเขย่าเพื่อเพิ่มอากาศ Pham *et al*.(2009) รายงานว่าสูตรอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่แตกต่างกันสร้าง blastospores ได้แตกต่างกันโดย อาหารเหลวบางชนิดไม่มีการสร้างบลาสโตสปอร์แต่สร้างเฉพาะ mycelium pellet (ภาพที่ 4.5) ซึ่งไม่มีผลในการควบคุมแมลง จากการศึกษาพบว่า ถ้ามีการเติม 5% polyethylene หรือ 1-2% Tween 80 จะเพิ่มปริมาณการสร้าง blastospores ให้สูงขึ้น (Feng *et al*.,1994) แต่อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของบลาสโตสปอร์ที่ได้แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อราและสายพันธุ์ของเชื้อรานั้น ๆ (ตารางที่ 4.4)



ภาพที่ 4.5 ลักษณะ mycelium pellet ของเชื้อรากำจัดแมลง ที่เลี้ยงด้วยอัตราส่วน คาร์บอน : ไนโตรเจน ไม่เหมาะสม

ตารางที่ 4.4 ความเข้มข้นของบลาสโตสปอร์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อราต่างชนิดกัน

อาหารเลี้ยงเชื้อ	ความเข้มข้นของบลาสโตสปอร์ (สปอร์/มล.)	
	Beauveria bassiana	*Metarhizium anisopliae*
½ Ademex	4.24×10^8	9.53×10^8
Catroux	2.56×10^9	2.37×10^8
Jenkins-prior	5.62×10^9	2.10×10^8
Samsinakova	3.73×10^8	3.77×10^8
Molasses +Yeast extract	5.62×10^8	2.02×10^8
Molasses +Yeast extract +SoyPeptone	2.40×10^8	2.31×10^8
Glucose +Yeast extract	2.87×10^8	3.80×10^8
Glucose +Malt extract	4.99×10^8	2.50×10^8
น้ำต้มข้าวจ้าว	6.84×10^7	0
น้ำต้มข้าวเหนียว	2.41×10^7	0
น้ำต้มข้าวสาลี	4.16×10^6	0
ข้าวจ้าวต้มปั่นละเอียด	$1.21.\times 10^8$	$3.50.\times 10^6$
ข้าวเหนียวต้มปั่นละเอียด	3.41×10^8	2.27×10^6
ข้าวสาลีต้มและปั่นละเอียด	2.73×10^9	9.54×10^7
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บดละเอียด	6.05×10^8	3.57×10^8
น้ำต้มข้าวจ้าวผสมยีสต์สกัด 1%	8.69×10^8	2.11×10^7
น้ำต้มข้าวเหนียวผสมยีสต์สกัด 1%	6.37×10^9	1.15×10^7
น้ำต้มข้าวสาลีผสมยีสต์สกัด 1%	1.23×10^7	0
ข้าวจ้าวต้มปั่นละเอียดผสมยีสต์สกัด 1%	3.36×10^8	2.52×10^7
ข้าวเหนียวต้มปั่นละเอียดผสมยีสต์สกัด 1%	5.15×10^8	9.33×10^5
ข้าวสาลีต้มปั่นละเอียดผสมยีสต์สกัด 1%	9.05×10^7	2.80×10^7
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บดละเอียดผสมยีสต์สกัด 1%	5.75×10^7	4.37×10^8

ที่มา : ดัดแปลงมาจากมาลี (2554, 2560) มาลี และคณะ (2556a 2556b)

สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลง (Formulation of Myco biopesticide)

การทำสูตรสำเร็จ (formulation) หมายถึง การผสมสารออกฤทธิ์ (active ingredient) กับสารผสมอื่นๆ (inert ingredients) ที่มีผลต่อสมบัติทางชีววิทยา ทางเคมี ทางกายภาพกับสารออกฤทธิ์ สำหรับการผสมสูตรสำเร็จเชื้อรากำจัดแมลง มีวัตถุประสงค์หลัก

1) เพื่อรักษาประสิทธิภาพของเชื้อราให้คงเดิมจนถึงเวลาการนำไปใช้ในการควบคุมแมลง
2) เพื่อปรับปรุงสมบัติทางกายภาพของเชื้อราให้ดีขึ้น ทำให้เชื้อราอยู่ได้นาน (stability) ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ระหว่างการขนส่ง ระหว่างการที่เมื่อฉีดพ่นไปบนต้นพืชแล้วรอให้แมลงมาสัมผัส
3) ป้องกันการเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่อาจปนเปื้อนมาในระหว่างการเก็บรักษา
4) ช่วยทำให้ชีวภัณฑ์อยู่ในรูปแบบที่สะดวกในการขนส่งและการเก็บรักษาได้ง่าย สามารถใช้ได้กับเครื่องพ่นสารในปัจจุบัน
5) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้เชื้อราควบคุมแมลง โดยการผสมสารเสริมประสิทธิภาพต่าง ๆ เช่นสารลดแรงตึงผิว สารช่วยในการแพร่กระจาย สารช่วยในการละลาย และสารช่วยป้องกันแสงอัลตราไวโอเลต เป็นต้น

การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์

แม้เชื้อรามีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงทำให้แมลงเกิดโรคตายอย่างรุนแรง แต่เมื่อนำไปใช้ในแปลงพืชตามลำพัง โดยไม่ผสมสารผสมใด ๆ มักไม่ประสบผลสำเร็จหากไม่มีการพ่นอย่างถูกวิธี อีกทั้งแมลงมีวงจรชีวิตที่สลับซับซ้อน มีแหล่งอาศัยที่หลากหลาย จึงควรมีการทำสูตรสำเร็จให้สอดคล้องกับการนำไปใช้ การทำสูตรสำเร็จสามารถทำได้ 2 ขั้นตอน (Burges, 1998)

1) Basic formulation เป็นการผสมสูตรสำเร็จที่มีรูปแบบต่าง ๆ กัน เพื่อให้สามารถเลือกใช้ให้เหมาะสม กับสภาพที่จะใช้และเครื่องมือที่มีอยู่

รูปแบบของสูตรสำเร็จ ที่นิยมใช้มีดังนี้

(1) Granule, (G) รูปแบบชนิดเม็ด
(2) Suspension concentrate (SC) รูปแบบสารแขวนลอยเข้มข้น
(3) Wettable powder, (WP) รูปแบบชนิดผงต้องผสมน้ำก่อนพ่น
(4) Emulfisifiable concentrate (EC) รูปแบบสารผสมเมื่อละลายน้ำจะเป็น Emulsion ในสภาพของละอองน้ำมันกระจายตัว
(5) Dust (DS) รูปแบบชนิดผงใช้คลุกเมล็ด

2) Tank mixture เป็นขั้นที่สองที่กระทำโดยผู้ใช้ ที่จะนำสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์มาผสมกับสารต่าง ๆ เช่น สารจับใบ น้ำมันพืช เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

การพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จเป็นปัจจัยหลักอย่างหนึ่งที่ทำให้การใช้สารชีวภัณฑ์เชื้อราประสบผลสำเร็จ แมลงศัตรูพืชมีความหลากหลาย มีพฤติกรรมที่อยู่อาศัยที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาสูตรสำเร็จเป็นรูปแบบให้เหมาะสมสำหรับการควบคุมแมลงแต่ละชนิด เพราะสูตรสำเร็จนอกจากทำให้สะดวกในการใช้ในแต่ละถิ่นที่อยู่อาศัยของแมลงแล้ว ยังมีผลทำให้เชื้อราคงทนอยู่ได้นานขึ้นเมื่อใช้ไปแล้ว หรือการมีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น (Mazumdar *et al*., 1995; Pandey *et al*., 2005; Sivasundaram, *et al.,* 2008) มีการใช้น้ำมันชนิดต่าง ๆ ในสูตรสำเร็จเพื่อเพิ่มความคงทนให้กับเชื้อรา (Hong *et al*., 2005; Vega *et al*., 2010, Kim *et al*., 2011; Jin *et al*., 2011; Hedimbi *et al*., 2011) และจากการศึกษาของ Luz and Batagin (2005) ที่มีการทดสอบสารผสมเพื่อเป็น surfactants 10 ชนิด กับเชื้อรา *Beauveria bassiana* พบว่า Tween 80 มีผลต่อความงอกของสปอร์น้อยที่สุด และจากน้ำมัน 10 ชนิด พบว่า น้ำมันข้าวโพดมีผลต่อความงอกของสปอร์น้อยที่สุด ในขณะที่น้ำมันถั่วเหลืองมีผลต่อการมีชีวิตของเชื้อราได้ยาวนานกว่า Kassa *et al.* (2004) ได้มีการทดสอบรูปแบบต่าง ๆ ของ เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* var. acridium ในการควบคุมตั๊กแตนในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพแปลง ส่วนการพัฒนารูปแบบสูตรสำเร็จสำหรับการควบคุมจิ้งหรีดใหญ่ศัตรูพืชที่เป็นแมลงที่มีการเคลื่อนไหวตลอดเวลาด้วยสูตรสำเร็จชนิดเจลและครีม พบว่าการใช้ guar gum และ carbopol เป็นสารตั้งต้นผลิตเจลทำให้จิ้งหรีดใหญ่ตายได้ร้อยละ 100 เช่นเดียวกันกับการใช้ Glycerin, Bee wax, AB wax Tween 80 และน้ำมันพืช เป็นส่วนผสมผลิตครีมตั้งต้น ทำให้จิ้งหรีดใหญ่ตายได้ร้อยละ 100 (มาลี และสุมาพี 2557)

สำหรับการศึกษารูปแบบบรรจุภัณฑ์ เงื่อนไขและสภาพการเก็บรักษาซึ่งส่งผลต่อความมีชีวิตของเชื้อรา เป็นอีกขั้นตอนหนึ่งของการพัฒนาสารชีวภัณฑ์ (Bradley *et al*., 1992; Feng *et al*., 1994) Hong *et al*. (2005) รายงานว่า อุณหภูมิมีผลต่ออายุการเก็บรักษาเชื้อรา *B. bassiana* ส่วน Lui and Lui (2009) ได้ทำสูตรสำเร็จด้วยการใช้สารต่าง ๆ เคลือบ พบว่า hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) เป็นสารที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ sodium alginate, dextrin, chitosan ส่วน Derakhshan *et al.* (2008) รายงานว่า อาหารเลี้ยงเชื้อรา อุณหภูมิและความชื้นที่เก็บรักษา ล้วนมีผลต่อความมีชีวิตต่อการเก็บรักษาสูตรสำเร็จเชื้อรารูปแบบต่าง ๆ การเลือกส่วนประกอบเพื่อผสมเป็นรูปแบบต่าง ๆ เช่น น้ำมัน น้ำ หรือสารอื่นใดเป็นสารพา มีผลต่อความสะดวกในการใช้ แมลงเป้าหมายและแหล่งที่ใช้ เช่น จะใช้ในแปลง ในโรงเก็บ หรือ การใช้ ultra-low droplet application Sharififard

et al. (2014) ได้พัฒนาเชื้อรา *M. anisopliae* รูปแบบผงโดยการเลี้ยงเชื้อราในอาหาร SDAY แล้วนำมาผสมกับแป้งสาลี ควบคุมแมลงสาบ *Supella longipalpa* มีการใช้ clay ในการพัฒนาเป็นรูปแบบผงละลายน้ำ เพื่อการควบคุมหนอนด้วงมันฝรั่ง ในสภาพความชื้นต่ำ (Wraight and Ramos, 2017) Batta (2008) ใช้ diatomaceous earth ในการทำเป็นรูปแบบผงควบคุมแมลงในโรงเก็บ สำหรับการศึกษาของ Ritu *et al*. (2012) พบว่า ระหว่าง สารพา (carrier) ที่นำมาทดสอบ การใช้ bentonite มีศักยภาพดีที่สุด Ali (2016) รายงานว่า ระหว่างสูตรสำเร็จ 3 รูปแบบของเชื้อรา ได้แก่ แบบผง (dust) แบบผงละลายน้ำ (wettable powder) และแบบน้ำมันเข้มข้น (emulsion) รูปแบบผง เชื้อราสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานที่สุด และมีประสิทธิภาพในการควบคุม *Spodoptera littoralis* (Boisd) ได้มากกว่า ส่วนการใช้ในรูปแบบน้ำมันมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ในรูปแบบน้ำ (Milner and Rowland, 1998) สูตรสำเร็จรูปแบบน้ำมันให้ผลในการควบคุมตั๊กแตนได้ดีในที่ ๆ มีความชื้นต่ำเช่นในทะเลทราย (Baternan *et al.,* 1996; Kooyman and Godonou, 1997)

ในการผลิตเชื้อรามีการใช้วัสดุในการผลิตเชื้อรากำจัดแมลงที่แตกต่างกัน Machado *et al.* (2010) ได้มีการผลิตโคนิเดียเชื้อ *Lecanicillium lecanii* ด้วยการผสมอาหารเหลวและอาหารแข็งเข้าด้วยกัน ได้แก่ น้ำจากการแปรรูปมันสำปะหลัง (cassava press water) กากน้ำตาล และโปรตีนน้ำนมจากชีส โดยผสมกับข้าวฟ่าง และถั่ว lentils ที่อัตราส่วนต่าง ๆ กัน พบว่า cassava press water (85%) หรือ wheat bran ผสมกับ lentils (70:30%) ให้ความเข้มข้นของโคนิเดียของเชื้อรา *Lecanicillium lecanii* สูงที่สุด Latifian *et al.* (2013) พบว่าอาหารเหลวที่ผลิตจากแป้งมันฝรั่ง แป้งสาลี แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวโพด และกากน้ำตาล ที่เลี้ยงเชื้อ *B. bassiana* กากน้ำตาลสามารถผลิตบลาสโตสปอร์ได้สูงที่สุด ส่วนข้าวผลิตโคนิเดียได้สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตโคนิเดียจากอ้อย ข้าวโพด ข้าวบาเลย์ ลูกเดือย และข้าวฟ่าง Sharififard *et al.* (2014) ได้ผลิตเชื้อ *M. anisopliae* รูปแบบผง (dust) โดยการใช้แป้งสาลีผสมกับโคนิเดีย พบมีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าแมลงสาบได้ดี ตั้งแต่อัตราส่วนผสมระหว่างแป้งและเชื้อราที่ร้อยละ 25 ขึ้นไป Tabrizi *et al.* (2009) ได้พัฒนาเชื้อรา *B. bassiana* แบบผงละลายน้ำ (wettable powder) เพื่อการควบคุมเพลี้ยไฟ โดยใช้ carrier หลายตัว ได้แก่ Sucrose monohydrate, Sodium glutamate, Sodium alginate, Cereal flour, Starch, Casein, Skimmed milk Powder, Kaolin powder พบว่า ให้ผลการทดลองไม่แตกต่างกัน ทั้งระยะเวลาการเก็บรักษาและประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยไฟ

สารเสริมประสิทธิภาพสำหรับการทำสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลง

การผลิตเชื้อรากำจัดแมลงเป็นสูตรสำเร็จจะมีการผสมสารต่าง ๆ ลงไปเพื่อเสริมประสิทธิภาพเชื้อราให้มีสมบัติในการกำจัดแมลงให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น เช่น สารช่วยลดแรงตึงผิวของสารละลาย

ทำให้หยดของสารสัมผัสกับพืชได้มากขึ้น และทำให้การแผ่กระจายบนใบพืชได้สม่ำเสมอมากยิ่งขึ้น ด้วยการช่วยลดมุมสัมผัส (contact angle) กับน้ำให้ลดลง ทำให้เพิ่มเนื้อที่ผิวสัมผัสและทำให้สารดูดซึมเข้าไปในใบพืชได้มากขึ้น สารที่ช่วยทำให้เชื้อราติดแน่นบนใบพืชทำให้โอกาสที่แมลงบินมาเกาะแล้วได้รับเชื้อมีมากกว่า

ชนิดและประเภทของสารเสริมประสิทธิภาพ

ก. Surfactant หรือ **surface active agents** เป็นสารที่มีผลต่อผิวสัมผัสระหว่างหยดของสารและผิวใบ ซึ่งแบ่งย่อยได้ดังนี้

1.1 สารเปียกใบ (wetting agents) เป็นสารที่ช่วยลดแรงตึงผิวของสารละลายจึงมีผลทำให้หยดของสารแผ่กระจายแบนราบไปกับผิวใบดังนั้นโอกาสที่สารจะถูกดูดซึมเข้าไปภายในใบจึงมีมากขึ้น เนื่องจากพื้นที่ที่หยดสารสัมผัสกับใบมีมากขึ้น

1.2 สารจับใบ (sticking agents) เป็นสารที่ทำหน้าที่คล้ายกาว เมื่อผสมลงไปในสารละลายพ่นให้พืช จะทำให้หยดของสารเกาะติดแน่นอยู่บนพืช จึงป้องกันการชะล้างเนื่องจากน้ำฝนได้พอสมควร สารจับใบบางชนิดมีสมบัติเป็นสารเปียกใบด้วยในตัว จึงทำให้หยดสารแผ่กระจายแบนราบและติดแน่นบนผิวใบ ทำให้การดูดสารดีขึ้น

1.3 สารลดแรงตึงผิว (detergents) เป็นสารที่มีสมบัติลดแรงตึงผิวของสารละลาย เช่นเดียวกับสารเปียกใบ และยังมีสมบัติในการละลายหรือทำลายไขมันได้ดี จึงทำให้หยดสารแผ่แบนราบบนใบและยังทำลายไข (wax) บนใบอีกด้วย สารจึงผ่านเข้าทางเนื้อใบได้ง่ายขึ้น

ตาม Wikipedia, the free encyclopedia สารลดแรงตึงผิว แบ่งได้ 3 กลุ่ม ดังนี้

1. สารสังเคราะห์หรือกึ่งสังเคราะห์ (Synthetic or semisynthetic agents) แบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม ตามการแตกตัวในสารละลายน้ำ (ionization)

ประจุลบ (Anionic surfactants)	**ประจุบวก (Cationic surfactants)**	**ไม่มีประจุ (Non-ionic surfactants)**	**มีทั้งประจุลบและบวก (Amphoteric surfactants)**
Sodium stearate	Cetyl trimethyl ammonium bromide	Sorbitan esters (Span®)	Lecithin
Calcium oleate		Polysorbates (Tween®)	Amphoacetate
Triethanolamine		Poloxalkols	Betaine
Stearate, Sodium lauryl sulfate			

2. สารสกัดจากธรรมชาติ (Natural surfactant agents)

เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ได้มาจากธรรมชาติ เช่น acacia gum, gelatin, methyl cellulose, beeswax ส้มป่อย มะคำดีควาย ใบหมี่ เป็นต้น

3. ของแข็งที่มีอนุภาคละเอียด (Finely divided solids) ซึ่งเป็นของแข็งที่ไม่ละลายน้ำแต่เปียกน้ำได้ เช่น montmorillonite clays จำพวก bentonite, aluminium magnesium silicate, colloidal silicon dioxide เป็นต้น

ข. Emulsifiers เป็นสารที่ช่วยทำให้น้ำกับน้ำมันผสมกัน

เป็นสารที่มีสมบัติในการละลายได้ดีทั้งในน้ำหรือน้ำมัน จึงใช้เป็นตัวกลางในการผสมน้ำกับน้ำมันให้รวมเป็นเนื้อเดียวกันโดยไม่แยกชั้น ซึ่งเรียกว่าอิมัลชัน (emulsion) การขุ่นของสารผสมเกิดจากหยดน้ำมันขนาดเล็กมากแตกตัวกระจายแทรกอยู่ในน้ำ โดยมี emulsifiers เป็นตัวกลาง ซึ่งพยุงหยดน้ำมันเหล่านี้ให้แขวนลอยอยู่ได้ในน้ำ และในหยดน้ำมันเหล่านี้จะมีเนื้อสารออกฤทธิ์ผสมอยู่ ดังนั้นเมื่อพ่นสารผสมดังกล่าวบนใบพืช จะมีผลทำให้หยดน้ำมันกระจายอย่างสม่ำเสมอบนใบพืชและค่อย ๆ ปลดปล่อยสารออกฤทธิ์เข้าสู่ใบพืช ใบพืชมีไขมันเคลือบอยู่ซึ่งสามารถเข้ากันได้ดีกับหยดน้ำมัน ดังนั้นจึงทำให้สารออกฤทธิ์ซึมผ่านเข้าไปในเนื้อใบได้ดี สารที่เป็น emulsifier เช่น polysorbates lecithin casein ที่เป็นสารธรรมชาติ เช่น ไข่ นม เป็นต้น

ค. dispersing agents หรือ dispersants เป็นสารที่มีสมบัติผลักดันอนุภาคของแข็งชนิดเดียวกันให้แยกออกจากกัน ดังนั้นจึงใช้ผสมในสารเคมีเกษตรที่อยู่ในรูปผงเปียกน้ำ (wettable powder หรือ w.p.) หรือสารแขวนลอยเข้มข้น (suspension concentrate) เมื่อนำสารเคมีเกษตรเหล่านี้มาผสมน้ำจะได้สารผสมซึ่งมีลักษณะขุ่นคล้ายแป้งผสมน้ำ แต่ไม่ตกตะกอน เนื่องจากมีสารพวก dispersants ผสมอยู่ซึ่งจะผลักดันไม่ให้อนุภาคของแข็งซึ่งผสมสารออกฤทธิ์ เข้ามารวมกันเป็นอนุภาคใหญ่ จึงทำให้อนุภาคเล็ก ๆ เหล่านี้แขวนลอยอยู่ได้นานโดยไม่ตกตะกอน

ง. Ultraviolet protectant เป็นที่ทราบดีว่า รังสี UV ที่มีในแสงแดดเป็นอันตรายต่อเชื้อรา การหลีกเลี่ยงแสงแดดในปัจจุบันคือการแนะนำให้ใช้ในตอนเย็น ซึ่งไม่สะดวกสำหรับผู้ใช้เท่าที่ควร ดังนั้นในการพัฒนาสูตรสำเร็จ จึงควรมีการผสมสาร UV protectant ลงไปในส่วนผสมด้วย สาร UV protectant เช่น metallic aluminium, aluminium oxide, Indian ink, naphthalene black methyl green, ethyl green, acriflavin rhodamine (Cohen *et al.,* 1991) นอกจากสารที่กล่าวข้างต้นแล้วยังมีสารจากธรรมชาติที่สามารถนำมาปกป้องแสง UV ได้เช่น egg albumin, yeast, molasses และนมผง เป็นต้น (Jaques, 1971) แต่อย่างไรก็ตามสูตรสำเร็จสารชีวภัณฑ์ที่มีการเติมสารเสริมประสิทธิภาพต้องคำนึงถึงหากมีการนำไปใช้ในเกษตรอินทรีย์

วิธีการพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลง

1. การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบเม็ด (Granule, G)

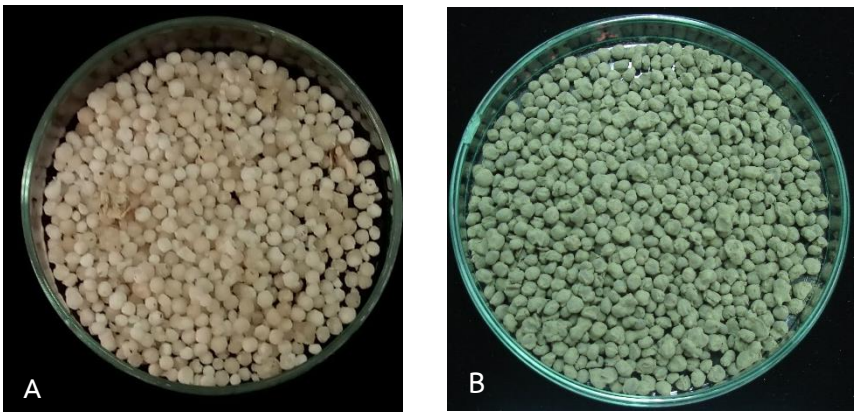
1.1 การเตรียมหัวเชื้อตั้งต้น

เลี้ยงเชื้อรากำจัดแมลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Malt Extract Peptone Agar (MEA, 3% malt extract, 0.5% soybean peptone 1.5% agar) ในจานเลี้ยงเชื้อ ให้มีอายุ 14 วัน จากนั้นนำมาใช้ในการผลิตหัวเชื้อราตั้งต้น โดยนำปลายข้าวเหนียวที่เป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อแช่น้ำนาน 2 ชั่วโมงถึง 1 คืน แล้วทำให้สะเด็ดน้ำ จากนั้นนำมาบรรจุลงถุงพลาสติกทนร้อน (ถุงพลาสติก ขนาด 6.5 x 14 นิ้ว) ถุงละ150 กรัม ใส่คอขวดพลาสติก ใช้สำลีใส่คอขวด แล้วหุ้มด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลาปล่อยให้เย็นลงเท่าอุณหภูมิห้อง นำเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร Malt Extract Peptone Agar ในจานเลี้ยงเชื้อ มาเลี้ยงลงในถุงที่บรรจุวัสดุเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ cork boror ตัดเชื้อราให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.9 เซนติเมตร ใช้เข็มเขี่ย เขี่ยใส่ลงในถุงวัสดุเลี้ยงเชื้อ ถุงละ 5 ชิ้น บ่มเชื้อราให้เจริญเติบโตไว้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน แล้วขยำวัสดุเลี้ยงเชื้อเพื่อเป็นการตัดเส้นใยทำให้เชื้อราสร้างโคนิเดียได้มากและเพื่อให้สปอร์เชื้อรากระจายทั่วถุง เมื่อครบ 7 วัน จึงใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้น สำหรับการผลิตเชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบเม็ดโดยใช้เมล็ดข้าวโพดบดหยาบ เป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อ

1.2 การผลิตเชื้อรารูปแบบเม็ด

ในการผลิตเชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบเม็ด ใช้เมล็ดธัญพืชเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อในการผลิต ซึ่งส่วนใหญ่ใช้ข้าวแต่ในยุโรปและอเมริกาเหนือใช้เมล็ดข้าวบาร์เลย์ การใช้เมล็ดธัญพืชเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อเนื่องจากพบเชื้อรามีการเจริญดีได้ปริมาณโคนิเดียสูง และต้นทุนต่ำ (Kirchmair *et al*., 2007; Skinner *et al*., 2012; Jaronski and Jackson, 2012) มาลี (2554) ได้มีการผลิตเชื้อรูปแบบเม็ดโดย นำเมล็ดข้าวโพดบดหยาบใส่ถุงพลาสติก (ถุงพลาสติกทนร้อน ขนาด 6.5 x 14 นิ้ว) ถุงละ 300 กรัม เติมน้ำใส่ลงในถุง ถุงละ 150 มิลลิลิตร (อัตราข้าวโพดบดหยาบ : น้ำ 2 : 1) ใส่คอขวดพลาสติก ใช้สำลีอุดคอขวด แล้วหุ้มด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 30 นาที เมื่อครบเวลา ปล่อยให้ถุงพลาสติกที่บรรจุวัสดุเลี้ยงเชื้อเย็นลงเท่าอุณหภูมิห้อง นำหัวเชื้อตั้งต้นที่เลี้ยงไว้ปลูกเชื้อลงถุงวัสดุเลี้ยงเชื้อถุงละ 5 กรัม ทำให้สปอร์เชื้อรากระจายทั่วถุง บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน แล้วขยำวัสดุเลี้ยงเชื้ออีกครั้งเพื่อตัดเส้นใย บ่มต่อไปอีกจนครบ 10 วัน แล้วนำไปใส่ถาด ผึ่งให้แห้งในที่ร่มที่สภาพอุณหภูมิห้อง ประมาณ 5-7 วัน ขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศ ให้มีความชื้นเหลือประมาณ 15% (ภาพที่ 4.6) สุ่มเชื้อราที่แห้งนำไปคำนวณหาความเข้มข้น

ด้วยการนับสปอร์ด้วย Heamacytometer แล้วนำมาคำนวณหาความเข้มข้นของเชื้อราต่อกรัมวัสดุเลี้ยงเชื้อ

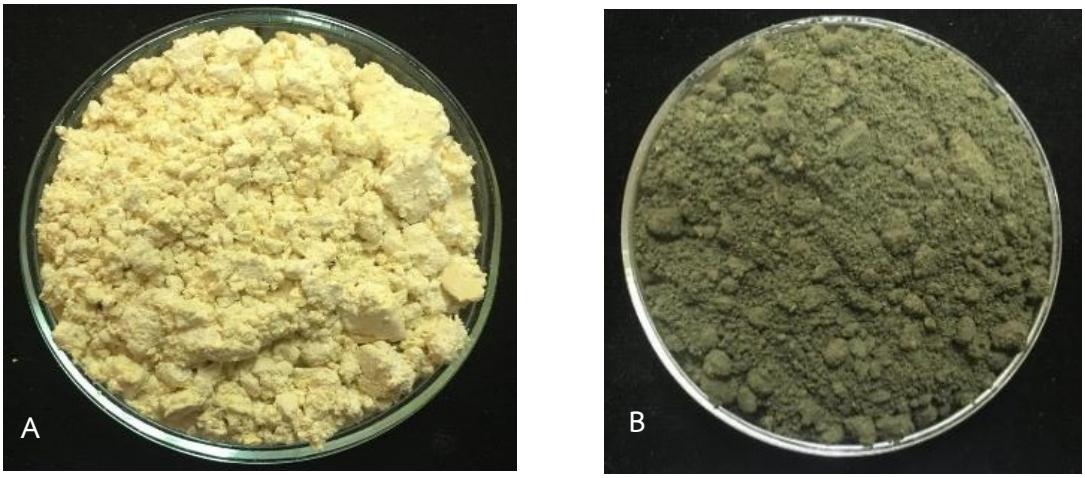


ภาพที่ 4.6 เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบเม็ด *Beauveria bassiana* (A) และ *Metarhizium anisopliae* (B)

2. การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบผงละลายน้ำ (Wettable powder, WP)

ในการพัฒนาสูตรสำเร็จแบบผงละลายน้ำ สามารถผลิตโคนิเดียจากอาหารแข็งโดยตรงหรือผลิตจากบลาสโตสปอร์แล้วให้บลาสโตสปอร์สร้างโคนิเดีย Faria and Wraight (2007) รายงานว่าการพัฒนาสูตรสำเร็จรูปแบบผงละลายน้ำ มีประมาณร้อยละ 26.5 ของสูตรสำเร็จเชื้อรากำจัดแมลงทั้งหมด Seema *et al.* (2013) ได้มีการผลิตโคนิเดียเชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ที่ใช้การปลูกเชื้อจากอาหารเหลว การพัฒนาเชื้อรากำจัดแมลงแบบผงละลายน้ำด้วยการใช้สารที่ช่วยให้การละลายแตกต่างกัน ได้แก่ ทัลคัม Starch และ Carboxy Methyl Cellulose (CMC) ในอัตราส่วนเชื้อราต่อสารพาเท่ากับ 1:1โดยน้ำหนักโดยศึกษาความสามารถของสารพาในการละลายเข้ากับน้ำและระยะเวลาในการตกตะกอน โดยการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 293 นาโนเมตร พบว่า CMC มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีกว่า ทัลคัม และ starch แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้ทัลคัมจะมีการตกตะกอนได้เร็วที่สุด (มาลี 2554; พัชรินทร์ และมาลี 2560) ดังนั้นในการพัฒนาสูตรสำเร็จแบบผงละลายน้ำ ควรใช้ CMC เป็นสารพา นอกจากนี้การผลิตเชื้อผงละลายน้ำ สามารถผลิตได้โดยเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Beauveria bassiana* ด้วยข้าวเหนียว 100 กรัมต้มในน้ำเดือด 1,000 มิลลิลิตร ปั่นละเอียดผสมยีสต์สกัด ส่วนเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เพิ่มปริมาณด้วยข้าวโพดลี้ยงสัตว์บดละเอียดอัตรา ร้อยละ 10 หลังเขย่าด้วยเครื่องเขย่า 3 วัน นำมาตั้งบ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จนพบมีโคนิเดียขึ้นบนผิวหน้าของอาหาร นำแป้งสาลีที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วมาผสมลงใน

สารแขวนลอยโคนิเดีย *B. bassiana* ในอัตราสารแขวนลอยโคนิเดีย : แป้งสาลี 20 : 40 ผสมให้ส่วนผสมเข้ากันได้ดี แล้วนำไปเกลี่ยให้บางเพื่อให้เชื้อราสร้างโคนิเดีย เป็นเวลา 10 วันหลังจากนั้นนำไปอบด้วยลมเย็นให้แห้งที่อุณหภูมิไม่เกิน 38 องศสเซลเซียส ทำเช่นเดียวกันกับเชื้อรา *M. anisopliae* แต่ใช้เมล็ดข้าวโพดบดละเอียด แทนแป้งสาลี (ภาพที่ 4.7)



ภาพที่ 4.7 สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อราแบบผงละลายน้ำ
(A) *Beauveria bassiana* (B) *Metarhizium anisopliae*

3. การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบผงสำหรับคลุกเมล็ด (Dust, DS)

Hidalgo *et al*. (1998) รายงานว่า สูตรสำเร็จของเชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 3 สูตร ได้แก่ dustable powder (DP) oil suspensions (OS) และ oil pellet ในการควบคุม *Sitophilus zeamais* พบว่า รูปแบบ DP ทำให้แมลงตายมากที่สุด มากกว่า 90% Akbar (2004) พบว่า ดินเบาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ในการควบคุมหนอน *Tribolium castaneum* และเพิ่มประสิทธิภาพในการติดกับผนังลำตัว นอกจากนี้ยังพบว่า สูตรสำเร็จ *B. bassiana* กับดินเบา สามารถควบคุม *Sitophilus granarius* (Athanassiou and Steenberg, 2007) และ *Rhyzopertha dominica* (Arthur, 2004) Batta (2008) ได้พัฒนาสูตรสำเร็จ *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ด้วยดินเบา (diatomaceous earth dusts) ใน 2 รูปแบบ ได้แก่ fossil shield and Silico-Sec ในการควบคุม *Sitophilus oryzae* L., *Rhyzopertha dominica* Fab. และ *Tribolium castaneum* Herbs. พบว่า สูตรสำเร็จมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงได้มากกว่าไม่ได้ทำสูตรสำเร็จ สุมน (2557) ได้พัฒนาสูตรสำเร็จแบบผงสำหรับคลุกเมล็ด เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูในโรงเก็บ โดยการใช้ดินเบา และทัลคัมเป็นสารพา ดินเบาช่วยดูดซับไขมันที่ผนังลำตัวชั้นนอกของแมลงทำให้แมลงมีการสูญเสียน้ำ และผลพลอยได้ที่ดินเบาอาจขีดข่วนมีผลทำให้แมลงสูญเสียน้ำ (Korunic, 1998; Chanbang

et al., 2007) ส่วนทัลคัมหรือแมกนีเซียมซิลิเกต (magnesium silicate) ลักษณะเป็นผงสีขาวละเอียด เมื่อนำไปใช้ร่วมกับเชื้อราช่วยใช้เพิ่มประสิทธิภาพโดยไปอุดรูหายใจของแมลง ทำให้แมลงตายได้เร็วขึ้น

วิธีการผลิต เพิ่มปริมาณผงเชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ด้วยการใช้ผลิตภัณฑ์แป้งสาลี จากนั้นนำมาผลิตสูตรสำเร็จชนิดผง ด้วยการใช้สารพา 2 ชนิด ได้แก่ ดินเบา และทัลคัมที่อัตราผสม เชื้อรา : สารพา 3 ระดับ ที่ 1 : 1, 1 : 2 และ 1 : 3 (ภาพที่ 4.8 และ 4.9)

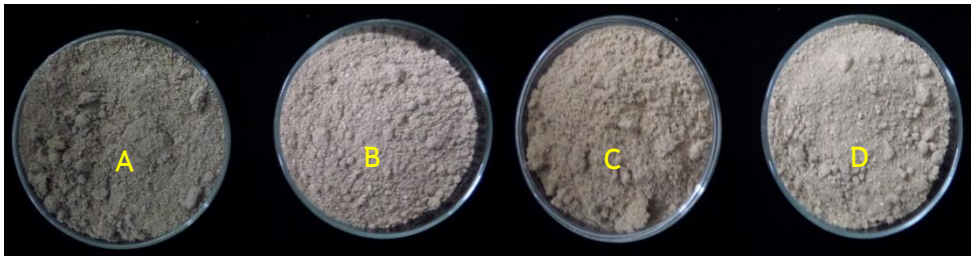


(A) เชื้อรา *Beauveria bassiana* (B) ผสมดินเบา 1 : 1 (C) 1 : 2 (D) 1 : 3



(A) เชื้อรา *Beauveria bassiana* (B) ผสมทัลคัม 1 : 1 (C) 1 : 2 (D) 1 : 3

ภาพที่ 4.8 สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรา *Beauveria bassiana* รูปแบบผงคลุกเมล็ดที่ผสมกับทัลคัมและดินเบาที่อัตราส่วนต่าง ๆ กัน



(A) เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (B) ผสมดินเบา 1 : 1 (C) 1 : 2 (D) 1 : 3



(A) *Metarhizium anisopliae* (B) ผสมทัลคัม 1 : 1 (C) 1 : 2 (D) 1 : 3

ภาพที่ 4.9 สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* รูปแบบผงคลุกเมล็ดที่ผสมกับทัลคัมและดินเบาที่อัตราส่วนต่าง ๆ กัน

ในแต่ละสูตรสำเร็จที่ผลิตได้ได้ความเข้มข้นของเชื้อรา ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ความเข้มข้นของเชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบผงคลุกเมล็ดที่มีอัตราส่วนของสารพา (ทัลคัมและดินเบา) อัตราส่วนต่าง ๆ กัน

อัตราส่วนสารพา : เชื้อรา	**ความเข้มข้นของเชื้อรา (โคนิเดีย/มิลลิลิตร)**	
	Beauveria bassiana	*Metarhizium anisopliae*
0 : 1	2.0×10^{11}	7.4×10^{9}
ทัลคัม		
1 : 1	7.3×10^{9}	4.3×10^{8}
1 : 2	3.1×10^{9}	4.2×10^{8}
1 : 3	2.6×10^{8}	2.9×10^{8}
ดินเบา		
1 : 1	5.0×10^{8}	6.5×10^{8}
1 : 2	3.5×10^{8}	2.0×10^{8}
1 : 3	2.6×10^{8}	2.1×10^{8}

ที่มา : สุมน (2557)

4. การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบสารแขวนลอยเข้มข้น (Suspension concentrate; SC)

การพัฒนาสารชีวภัณฑ์รูปแบบสารแขวนลอยเข้มข้น ต้องเป็นการเพิ่มปริมาณเชื้อราโดยใช้อาหารเหลว ซึ่งจะได้เชื้อราในรูปบลาสโตสปอร์ ซึ่งจากการศึกษาพบว่า เชื้อรา *Beauveria bassiana* สามารถเพิ่มปริมาณบลาสโตสปอร์ได้สูงที่สุดจากการใช้กากน้ำตาลร้อยละ 3 และ ยีสต์สกัดร้อยละ 1 หลังการเขย่าที่ 7,000 รอบ/นาทีด้วยเครื่องเขย่า เป็นเวลา 5 วัน สำหรับ เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* สูตรอาหารที่สามารถสร้างโคนิเดียได้สูงที่สุด คือ ½ Ademex แต่อย่างไรก็ตามพบว่าหากนำเชื้อราที่เพิ่มปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวบ่มเชื้อไว้ เชื้อรายังคงการเจริญบลาสโตสปอร์จะงอกเส้นใยและเจริญบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น ส่งผลให้ความเข้มข้นของบลาสโตสปอร์ลดลง และในสภาพธรรมชาติบลาสโตสปอร์จะสูญเสียความมีชีวิตเร็วกว่าโคนิเดีย (มาลี 2555)

5. การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรารูปแบบน้ำมันเข้มข้น (emulsifier concentration; EC)

Asghar (2012) รายงานว่าสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงที่แขวนลอยในน้ำมันมีประสิทธิภาพในการกำจัด *Uvarovistia zebra* และ *Eurygaster integriceps* ได้ดีกว่าสปอร์เชื้อราที่แขวนลอยในน้ำ มีรายงานการใช้น้ำมันชนิดต่างๆ ในสูตรสำเร็จเพื่อเพิ่มความคงทนให้กับเชื้อรา และจากน้ำมัน 10 ชนิด พบว่าน้ำมันข้าวโพดมีผลต่อความงอกของสปอร์น้อยที่สุด ในขณะที่น้ำมันถั่วเหลืองมีผลต่อการมีชีวิตได้ยาวนานกว่า (Hong *et al.,* 2005; Vega *et al*., 2010, Kim *et al*., 2011; Jin *et al*., 2011; Hedimbi *et al*., 2011) และจากการศึกษาของ Luz and Batagin (2005) ที่มีการทดสอบสารผสมเพื่อเป็น surfactants 10 ชนิด กับเชื้อรา *Beauveria bassiana* พบว่า Tween 80 มีผลต่อความงอกของสปอร์น้อยที่สุด

การพัฒนาสารชีวภัณฑ์เชื้อรารูปแบบน้ำมันเข้มข้นมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ใช้ได้สะดวก ผสมกับน้ำได้ง่าย สามารถเกาะติดแมลงและใบพืชได้ดี โดยใช้ปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ชนิดของน้ำมัน ชนิดของสารช่วยแขวนลอย สารควบคุมความชื้น สารก่ออิมัลชัน สารต้านออกซิเดชัน และการควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของสูตรสำเร็จ น้ำมันที่มีศักยภาพในการเพิ่มอัตราการงอกของเชื้อรา ได้แก่ น้ำมันข้าวโพด น้ำมันงา น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันทานตะวัน ส่วนสารก่ออิมัลชัน ได้แก่ Tween 80 (Luz and Batagin, 2005) นอกจากนี้มีรายงานว่าพบเชื้อรา *Beauveria bassiana* ในน้ำมันถั่วเหลือง และbentonite มีความสามารถในการทำลายหนอนแมลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Ritu *et al.,* 2012) จากการศึกษาของวัชรี และคณะ (2560) พบว่า ปัจจัยที่สามารถนำไปพัฒนาสูตรสำเร็จ Emulsion Concentration (EC) ของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ได้แก่ mineral oil, soybean oil Betonite และ BHT ส่วนเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* มีสูตรที่แตกต่างกันไป ได้แก่ Mineral oil BHT Tween80 Sucrose และ Na_2HPO_4 buffer

6. การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบเจลและครีม

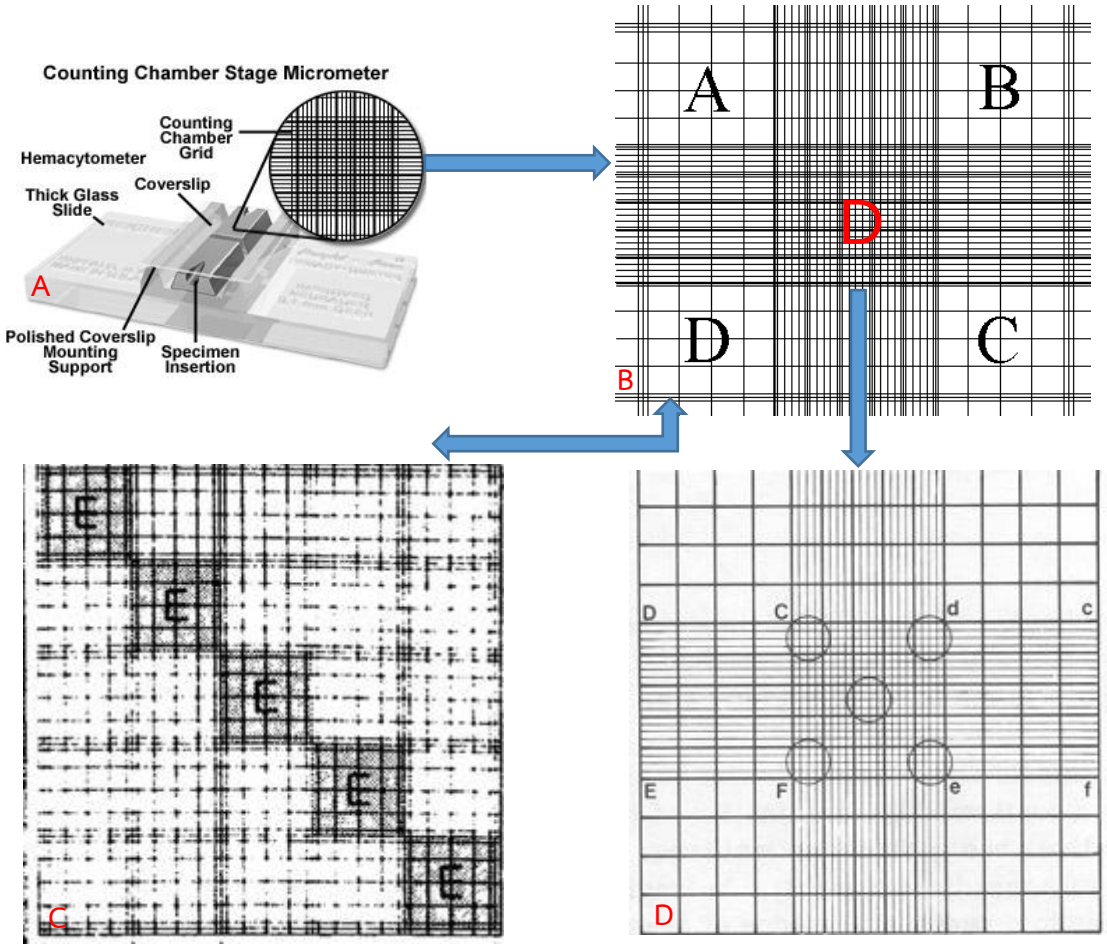
เป็นที่ทราบกันแล้วว่าสูตรสำเร็จมีผลต่อประสิทธิภาพของเชื้อรากำจัดแมลง และการใช้เชื้อรากำจัดแมลงให้ได้ผลนั้น ควรรู้วงจรชีวิต พฤติกรรมของแมลง รวมถึงจังหวะเวลาการใช้ให้ตรงกับช่วงที่แมลงอ่อนแอ หรือกำจัดได้ง่าย เช่น จิ้งหรีดใหญ่เพศเมียจะวางไข่เป็นกลุ่มอยู่ในดิน และจะแยกย้ายไปออกจากรู ไปอยู่ในรูเดี่ยวๆเมื่อเข้าระยะตัวอ่อนวัยที่ 2 ประมาณเดือนกุมภาพันธ์ซึ่งจะมีฝนแรกของปี พฤติกรรมของแมลงที่ชอบกระโดด ดีดขา ขุดดิน จึงทำให้เมื่อได้รับเชื้อราจะหลุดได้ง่าย จึงได้มีการพัฒนาสูตรสำเร็จรูปแบบเจล ที่มีส่วนผสมของ Carbopol 940 ผสมกับ Triethanolamin และชีวภัณฑ์รูปแบบครีมที่มีส่วนผสมของ Bee wax AB wax glycerin และน้ำมันพืช (มาลี และสุมาพี 2557) ที่ทำให้จิ้งหรีดใหญ่ตายได้มากที่สุดโดยชีวภัณฑ์เชื้อราติดตัวจิ้งหรีดใหญ่ได้ดี ไม่หลุดออกง่ายจากพฤติกรรมของแมลง

การกำหนดมาตรฐานชีวภัณฑ์ (Standardization)

ในการผลิตชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงที่มีหลากหลายรูปแบบมีการผสมสารเสริมประสิทธิภาพต่างๆ จึงจำเป็นต้องมีการกำหนดมาตรฐานของสารชีวภัณฑ์เชื้อรานั้น ซึ่งโดยปกติความเข้มข้นที่แนะนำสำหรับการพ่นชีวภัณฑ์ลงบนใบพืช ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^7$ - $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิตร เพื่อว่าเมื่อพ่นไปแล้วหลังการสูญเสียไปเนื่องจากสภาพแวดล้อมจะมีปริมาณสปอร์ที่มากพอที่จะตกลงสู่เป้าหมาย ดังนั้นในการผลิตสารชีวภัณฑ์ความเข้มข้นตั้งต้นต้องไม่น้อยกว่า $1x10^9$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร เพราะในการพ่นชีวภัณฑ์เชื้อราจะต้องมีการเจือจาง เพื่อให้สามารถใช้กับเครื่องพ่นสารได้การกำหนดมาตรฐานชีวภัณฑ์ของเชื้อราจะกำหนดอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ ปริมาณสารออกฤทธิ์ และความมีชีวิต

1. ปริมาณสารออกฤทธิ์ (Active ingredients)

สารชีวภัณฑ์เชื้อราควรมีการบ่งบอกปริมาณสารออกฤทธิ์เพื่อให้สามารถนำไปใช้ควบคุมแมลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ สารออกฤทธิ์ที่อยู่ในชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลง ได้แก่ สปอร์ (โคนิเดีย) โดยทั่วไปจะระบุเป็นจำนวนสปอร์/มิลลิลิตร ทั้งนี้เพราะส่วนของสปอร์เป็นส่วนที่ใช้ในการฆ่าแมลง ในการคำนวณสารออกฤทธิ์ใช้วิธีการนับสปอร์ด้วย hemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ กำลังขยาย 40x ซึ่ง Lacey (1997) อธิบายการนับสปอร์ของเชื้อรากำลัดแมลงด้วย hemocytometer ดังภาพที่ 4.10 โดยการนับสปอร์ของเชื้อรากำจัดแมลงให้นับที่ตำแหน่ง D (ภาพที่ 4.10 B) โดยการนับจะนับจำนวน 5 ช่องใหญ่ (แต่ละช่องใหญ่ประกอบด้วย 16 ช่องเล็ก) ซึ่งจะนับในแนวทแยงมุมตามภาพที่ 4.10 C หรือนับจากมุม 4 มุมและตรงกลางอีกหนึ่งช่องตามภาพที่ 4.10 D ก็ได้ โดยในการนับจะนับทั้ง 2 ด้านของ hemacytometer



ภาพที่ 4.10 การนับสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงด้วย hemocytometer
(A) ส่วนประกอบ hemocytometer (B) ตำแหน่งบน hemocytometer ที่นับ
(C) และ (D) ตำแหน่งการสุ่มนับ

การคำนวณความเข้มข้น

นำจำนวนสปอร์ที่นับได้จากทั้งหมด 10 ช่อง (ด้านละ 5 ช่อง) มาหาค่าเฉลี่ย และคูณด้วยค่าคงที่ คือ 2.5×10^5 จะได้ความเข้มข้นของสปอร์ ในชีวภัณฑ์นั้น ๆ มีหน่วยเป็น สปอร์/มิลลิลิตร แต่อย่างไรก็ตาม ในการนับจำนวนสปอร์ในแต่ละช่องใหญ่ จำนวนสปอร์ที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วง 10-50 สปอร์ หากสปอร์หนาแน่นเกินไปให้เจือจางก่อนนำไปนับ (หากมีการเจือจาง ในคำนวณความเข้มข้นต้องคูณจำนวนที่เจือจางด้วย) หรือหากสปอร์ที่ได้มีปริมาณน้อยเกินไป ให้เพิ่มอัตราเชื้อราที่แขวนลอยในน้ำ ครั้งแรกให้มากขึ้น น้ำหนักและปริมาตรที่ผสมครั้งแรกจำเป็นต้องทราบ เพื่อให้สามารถนำมาคำนวณ ปริมาณเชื้อต่อกรัมวัสดุเลี้ยงเชื้อได้ถูกต้อง เพื่อจะได้ผสมให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำไปใช้ต่อไป

2. ความมีชีวิตของเชื้อรากำจัดแมลง

ปริมาณความเข้มข้นของเชื้อราในสูตรสำเร็จไม่ได้บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของเชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมแมลง ความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงเป็นสิ่งที่สำคัญในการควบคุมแมลง เพราะเมื่อมีการเก็บรักษาไว้ จำนวนสปอร์ยังคงเท่าเดิมแต่ความมีชีวิตลดลงได้ การหาความมีชีวิตของเชื้อรากำจัดแมลงจะทำโดยการหาความงอกของสปอร์เชื้อรา เชื้อราที่ยังงอกได้แสดงว่าเชื้อรายังมีชีวิตอยู่ ส่วนการหาความมีชีวิตด้วยวิธี colony forming unit (CFU) ไม่เหมาะสมสำหรับการหาความมีชีวิตของชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลง ทั้งนี้ในการกระบวนการผลิตชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลง นอกจากได้ส่วนของสปอร์แล้วยังมีส่วนของเส้นใยรวมอยู่ด้วย เมื่อมีการหาความมีชีวิตด้วยวิธี CFU กลุ่มโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเกิดได้ทั้งจากเส้นใยและสปอร์ ดังนั้นเมื่อมีการหาความมีชีวิตด้วยการหา CFU อาจมีผลทำให้ได้ความเข้มข้นของสปอร์คลาดเคลื่อนจากความป็นจริง เมื่อนำไปใช้ปริมาณสปอร์น้อยส่งผลต่อประสิทธิภาพในการควบคุมแมลง

สรุป

สูตรสำเร็จ (formulation) เป็นปัจจัยหลักอย่างหนึ่งที่ทำให้การใช้เชื้อรากำจัดแมลงประสบผลสำเร็จ การที่แมลงมีที่อยู่อาศัย พฤติกรรมที่แตกต่างกัน จึงควรมีการพัฒนาสูตรสำเร็จ (Formulation) ให้เหมาะสม เพราะสูตรสำเร็จมีผลต่อประสิทธิภาพของเชื้อรา ความคงทนของเชื้อรา และอายุการเก็บรักษา สูตรสำเร็จที่ดีต้องประกอบด้วยหลักสำคัญ ได้แก่ 1) การรักษาสมบัติทางชีวภาพ (biological activity) คือความรุนแรงของเชื้อราในการทำให้เกิดโรคให้คงเดิมได้เป็นเวลานาน 2) ปรับปรุงสมบัติทางกายภาพ (Physical property) ของเชื้อราให้ดีขึ้น 3) จัดให้อยู่ในรูปแบบที่สะดวกในการใช้กับเครื่องพ่นสารกำจัดแมลงที่มีใช้กันอยู่ทั่วไป รวมทั้งอยู่ในรูปแบบที่สะดวกในการเก็บรักษาและขนส่งเคลื่อนย้าย 4) สามารถผสมกับน้ำได้เป็นอย่างดีและฉีดพ่นไปยังเป้าหมายได้ครอบคลุมพื้นที่ตามต้องการ 5) ใช้ได้ในทุกสถานที่ ที่มีแมลงอาศัยอยู่ ถึงมีสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน 6) สามารถใช้ผสมผสานกับวิธีการควบคุมแมลงศัตรูพืชแบบอื่นได้เป็นอย่างดี หากเป็นชีวภัณฑ์ภัณฑ์ฉีดพ่นที่ใบการผสมสูตรสำเร็จต้องคำนึงถึง แสงแดด แต่หากเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทางดิน ควรคำนึงถึงคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของดิน อินทรียวัตถุและจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ในดิน เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

กรกฎ คำสม. 2556. การพัฒนาเทคนิคการผลิตผงหัวเชื้อราเมตาไรเซี่ยม. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชศาสตร์) สาขาพืชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง. 37 หน้า.

กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2543. เทคโนโลยีแป้ง. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 295 หน้า.

กองโภชนาการ กระทรวงสาธารณสุข. 2532. ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการ. สืบค้นจาก http://nutrition.anamai.moph.go.th/images/file/nutritive_values_of_thai_foods.pdf (25 June 2017)

พัชรินทร์ ครุฑเมือง และมาลี ตั้งระเบียบ. 2560. การพัฒนาสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลงศัตรูผักสายพันธุ์ไทยสำหรับการผลิตพืชผักปลอดสารเคมีอย่างยั่งยืน. รายงานฉบับสมบูรณ์. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). 49 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2553. การวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์กำจัดแมลงจากเชื้อราสาเหตุโรคแมลงสำหรับควบคุมแมลงในการปลูกพืชตระกูลกะหล่ำและมะเขือเทศบนพื้นที่สูง. ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 3 วันที่ 9 กันยายน พ.ศ. 2553 โรงแรมอิมพิเรียล แม่ปิง อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2554. การพัฒนาประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำและมะเขือเทศบนพื้นที่สูง. ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 4 วันที่ 25 กันยายน พ.ศ. 2554 โรงแรมอิมพิเรียล แม่ปิง อ.เมือง เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2555. การทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำและมะเขือเทศในสภาพแปลง หน้า 130-134. ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 5 วันที่ 19 ธันวาคม พ.ศ. 2555 โรงแรมดิเอ็มเพลส อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ และสุมาฬี พรหมรุกขชาติ. 2557. การศึกษาหาวิธีการควบคุมจิ้งหรีด วงศ์ Gryllidae โดยชีววิธีสำหรับการเพาะปลูกพืชบนพื้นที่สูง. หน้า 139-145. ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 7 วันที่ 3 กันยายน พ.ศ. 2557 อุทยานหลวงราชพฤกษ์ อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2559. การวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและสารไล่แมลงเพื่อควบคุมหนอนแมลงวันเจาะลำต้นถั่วแขก.ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 9 วันที่ 6 กันยายน พ.ศ. 2559. อุทยานหลวงราชพฤกษ์ อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2560. การวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดไรแดงกุหลาบ. 182-185. ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 10 วันที่ 12 กันยายน พ.ศ. 2560 อุทยานหลวงราชพฤกษ์ อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ สุมาฬี พรหมรุกขชาติ และวัลลภ พงษ์ยืน. 2556a. เทคโนโลยีอย่างง่ายในการผลิตเชื้อรากำจัดมอดเจาะผลกาแฟและประสิทธิภาพในการควบคุมในสภาพแปลง. รายงานฉบับสมบูรณ์. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ เครือข่ายภาคเหนือ. 49 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ สุมาฬี พรหมรุกขชาติ และวัลลภ พงษ์ยืน. 2556b. เทคโนโลยีอย่างง่ายในการผลิตเชื้อรากำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพควบคุมแมลง. รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 70 หน้า

มาลี ตั้งระเบียบ สุมาฬี พรหมรุกขชาติ วัลลภ พงษ์ยืน และสุเทพ ทองมา. 2551. ศักยภาพของกลุ่มเกษตรกรในการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงเพื่อการควบคุมแมลงวันผลไม้แบบยั่งยืน. 180-191. ในรายงานการนำเสนอผลงานวิจัย เครือข่ายบริหารการวิจัยภาคเหนือตอนบน สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา.

วัชรี คุณกิตติ มาลี ตั้งระเบียบ และชิราวุธ ปทุมธนทรัพย์. 2560. การพัฒนาสารชีวภัณฑ์จากราขาว เพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูทางการเกษตร. รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 94 หน้า

สิทธินันท์ มณีทอง. 2556. การพัฒนาหัวเชื้อราบิวเวอร์เรีย บาเซียน่า กำจัดแมลงชนิดผง. ปัญหาพิเศษ. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชศาสตร์) สาขาพืชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง. 46 หน้า.

สุมน กะเจ. 2557. ผลของสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบผงควบคุมด้วงงวงข้าวโพด. ปัญหาพิเศษ. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชศาสตร์) สาขาพืชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง. 60 หน้า

Akbar, W., Lord, J.C., Nechols, J.R. and Howard, R.W. 2004. Diatomaceous earth increases the efficacy of *Beauveria bassiana* against *Tribolium castaneum* larvae and increases conidia attachment. Journal of Economic Entomology. 97(2) : 273-280.

Ali, S.S. 2016. Preparation and evaluation of three laboratory formulations of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Egyptian Journal of Biological Pest Control. 26(1) : 107-110.

Altre, J.A., Vandenberg, J.D. and Cantone, F.A., 1999. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates to diamondback moth, *Plutella xylostella* : correlation with spore size, germination speed, and attachment to cuticle. Journal of Invertebrate Pathology. 73 : 322-338.

Athanassiou, C.G. and Steenberg, T. 2007. Insecticidal effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota : Hypocreales) in combination with three diatomaceous earth formulations against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Biological Control. 40 : 411–416.

Babu J.C.S, Venkatachalapathy, C.M. and Anitha, C.N. 2008. Evaluation of locally available substrate for mass production of entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin. Journal of Biopesticides. 1(2) : 146-147.

Bateman, R.P., Carey, M., Batt, D., Prior, C., Abraham, Y., Moore, D., Jenkins, N. and Fenlon, J. 1996. Screening for virulent isolates of entomopathogenic fungi against the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål). Biocontrol Science and Technology. 6 : 549 - 560.

Batta, Y.A. 2008. Control of main stored-grain insects with new formulations of entomopathogenic fungi in diatomaceous earth dusts. International journal food engineering. 4 : 1-18.

Bharati, T, Kulkarni, J.H., Krishnaraj, P.U., Alagawadi, A.R. 2007. Evaluation of food grains and agro wastes for sporulation of *Metarhizium anisopliae* (Ma2). Karnataka Journal of Agricultural Sciences. 20(2) : 424-425.

Bradley, C.A., W.E. Black, R. Kearns and Wood, P. 1992. Role of production technology in mycoinsecticide development, pp. 160-173. In : Leatham, G.F. (*ed*) Frontiers in industrial mycology. London; Chapman and Hall.

Brownbridge, M., 1995. Prospect for mycopathogens in thrips management, pp. 281-295. In : Parker, B., Skinner, L.M. and Lewis, T. (eds.) : Thrips biological and management, Plenum Press, New York, USA.

Burges, H.D. 1998. Formulation of microbial biopesticides. Springer Netherlands. 412 pp.

Chanbang. Y, Arthur, F.H., Wilde, G.E. and Throne, J.E. 2007. Efficacy of diatomaceous earth to control *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera : Bostrichidae) in rough rice : Impacts of temperature and relative humidity. Crop Protection. 26: 923-929.

Chandler, D., Davidson, G. and Jacobson, R.J. 2005. Laboratory and glasshouse evaluation of entomopathogenic fungi against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari; Tetranychidae) on tomato*, Lycopersicon esculentum*. Biocontrol Science and Technology.15 : 37-54.

Cohen, E. Rozen, H., Joseph, T., Braun, S. and Margulies, L. 1991. Photoprotection of *Bacillus thiringensis* kurstaki from ultraviolet irradiation. Journal of Invertebrate Pathology. 57: 343-351.

Deshpande, M.V. 1999. Mycopesticide production by fermentation : potential and challenges. Critical Reviews in Microbiology. 25(3) : 229-43.

Derakhshan, A, Rabindra, R.J., Ramanujam, B. and Rahmi, M. 2008. Evaluation of different media and methods of cultivation on the production and viability of entomopathogenic fungi, *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas. Pakistan Journal of Biological Science. 11 : 1506-1509.

Ekesi, S., Maniania, N.K., Onu, I. and Löhr, B. 1998. Pathogenicity of entomopathogenic fungi (Hyphomycetes) to the legume flower thrips, *Megalurothrips sjostedti* (Trybom) (Thys; Thripidae). Journal of Applied Entomology. 122 : 629-634.

El Damir, M. 2006. Effect of growing media and water volume on conidial production of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Journal of Biological Sciences. 6(2) : 269-274.

Faria, M. and Wraight, S.P. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. Crop Protection. 20 :767-778.

Faria M. and Wraight, S.P. 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides : a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. Biological Control. 43 : 237-256.

Feng, M.G., Poprawski, T.J. and Khachatourians, G.G. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: Current Status. Biocontrol Science and Technology. 4 : 3-34.

Guillon, M. 1997. Production of biopesticides : scale up and quality assurance, p. 151-162. In : British Crop Production Council Symposium, 68., 1997, Farnham. Insecticides: novelty or necessity : proceedings. Farnham : The British Crop Protection Council.

Hall, R.A., Peterkin, D. and Ali, B. 1994. Fungal control of whitefly, *Thrips palmi* and sugarcane froghopper in Trinidad and Tobago, pp. 277-282. In : Proceeding 6th international colloquium on invertebrate pathology and microbial control. Society for invertebrate pathology, Montpellier, France.

Hallsworth J.E. and Magan, N. 1996. Culture age, temperature and pH affect the polyol and trehalose contents of fungal propagules. Applied Environmental Microbiology. 62 : 2435-2442.

Hedimbi, M., Kaaya, P.G. and Chinsembu, K.C. 2011. Mortalities induced by entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* to different ticks of economic importance using two formulations. Journal of Microbiology. 2(4) : 141-145.

Hegedus, D.D., Bidochka, M.J. and Khachatourians, G.G. 1990. *Beauveria bassiana* submerged conidia production in a defined medium containing chitin, two hexosamines or glucose. Applied Microbiology and Biotechnology. 33 : 641-647.

Hidalgo, E., Moore, D and Patoure, G. 1998. The effect of different formulations of *Beauveria* bassiana on *Sitophilus zeamais* in stored maize. Journal of Stored Products Research 34(2) : 171-179

Hong, T.D., Edgington, S., Ellis, R.H., de Muro, M.E. and Moore, D. 2005**.** Saturated salt solution of humidity control and survival of dry powder and oil formulations of *Beauveria bassiana* conidia. Journal of Invertebrate Pathology. 89(2) : 136–143.

Ibrahim, Y.B and Low, W. 1993. Potential of Mass production and field efficacy of isolates of the entomopathoghenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* on *Plutella xylostella*. Journal of Invertebrate Pathology. 39 : 222-232.

Inglis, G.D.; Goettel, T.M. and Strasser, B. 2001. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pest, pp. 23-69. In : Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N. (Eds.). Fungi as biocontrol agents. Wallingford : CAB International.

Jackson, M.A. and Bothast, R.J. 1990. Carbon concentration and carbon to nitrogen ratio influence submerged-culture condition by the potential bio herbicide *Colletotrichum truncatum* NRRL 13737. Applied and Environmental Microbiology. 56 : 3435-3438.

Jaronski, S.T. 2016. Mass production of entomopathogenic fungi : state of the art. 357- In Microbial Agents for Control of Insect Pests : from theory to practice. Elsevier Academic Press.

Jenkins, N.E. and Thomas, M.B. 1996. Effect of formulation and application method on the efficacy of aerial and submerged conidia of *Metarhizium flavoviride* for locust and grasshopper control. Pesticide Science. 46 : 229-306.

Jenkins, N.E.; Heviefo, G., Langewald, J.; Cherry, A.J. and Lomer, C.J. 1998. Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides. Biocontrol News and Information. 19 : 21-31.

Jin, S.F, Feng, M.G., Ying, S.H., Mu, W.J. and Chen, J.Q. 2011. Evaluation of alternative rice plant hopper control by the combined action of oil-formulated *Metarhizium anisopliae* and low-rate buprofezin. Pest Management Science. 67 : 36–43

Kassa, A., Stephan, D., Vidal, S. and Zimmermann, G. 2004. Laboratory and field evaluation of different formulations of *Metarhizium anisopliae* var. acridum submerged spores and aerial conidia for the control of locusts and grasshoppers. Biological Control. 49 : 63–81.

Kassa, A.; Brownbridge, M., Parker, B.L., Skinner, M., Gouli, V.; Gouli, S., Guo, M., Lee, F.; and Hata, T. 2008. Whey for mass production of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Mycological Research. 112 : 583-591.

Kim, J.S., Yeon, H.J., Woo, E.O. •and Park, J.S. 2011. Persistence of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales : Cordycipitaceae) SFP-198 conidia in corn oil-based suspension. Mycopathologia. 171 : 67–75.

Kleespies, R.G. and Zimmermann, G. 1992. Production of blastospores by three strains of *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok. in submerged culture. Biocontrol Science and Technology. 2 : 127-135.

Kooyman, C. and Godonou, I. 1997. Infection of *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae) hoppers by *Metarhizium flavoviride* (Deuteromycotina : Hyphomycetes) conidia in an oil formulation applied under desert conditions. Bulletin of Entomological Research. 87 : 105 - 107.

Korunic, Z. 1998. Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. Journal of Stored Products Research. 34 : 87-97.

Lacey, L. 1997. Manual of techniques in insect pathology. Academic press, USA. 395 pp.

Latifian, M.,B. Rad, M. A. and Rahkhodaei, E. 2013. Mass production of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) by using agricultural products based on liquid-solid diphasic method for date palm pest control. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 5 (19) : 2337-2341.

Liu, C.P. and Liu, S.D. 2009. Formulation and characterization of microencapsulated entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* MA 126. Journal of Microencapsul. 26(5) : 377-384.

Lord, J.C. 2005. From Metchnikoff to Monsanto and beyond: the path of microbial control. Journal of Invertebrate Pathology 89 : 19–29.

Luz, C. and Batagin, I. 2005. Potential of oil – based formulation of *Beauveria bassiana* to control *Triatoma infestans*. Mycopathologia 160(1) : 51-62.

Machado, A.C., Monteiro A.C., Almeida A.M. B. and Martins, M.I.E.G. 2010. Production technology for entomopathogenic fungus using a biphasic culture system. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 45(10) : 1157-1163.

Maketon, M., Orosz-Coghlan, P. and Jaengarun, J. 2008. Field evaluation *of lsaria fumosorosea* in controlling the diamondback Moth *(Plutella xylostella)* in chinese kale. Phytoparasitica. 36(3) : 260-263.

Makoto, A. and Takatumi, I. 2005. Susceptibility of five species of thrips to different strain of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. Applied Entomology and Zoology. 40 (4) : 667-674.

Mazumdar D., Hallsworth, M., Puzari, K.C. and Hazarika, L.K. 1995. Mass production of *Beauveria bassiana* and its potentiality on rice hispa. Indian Phytopathology. 48 : 275-278.

Milner, R.J. and Rowland, M. 1998. Efficacy of *Metarhizium anisopliae* for control of Black Field Crickets, *Teleogryllus commodus* (Walker) (Orthoptera : Gryllidae) in Pastures. Journal Orthoptera Research. 7 : 125-128.

Mohammadbeigi, A. 2012. Efficacy of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against *Uvarovistia zebra* (Orthoptera: Tettigoniidae) and Eurygaster integriceps (Heteroptera: Scutellaridae). A thesis submitted for the degree of Doctor Philosophy of Newcastle University (UK). 104 pp.

Moorhouse, E.R., Gillespie, A.T. and Charnley, A.K., 1993. Laboratory selection of *Metarhizium* spp. isolates for control of Vine weevil larvae (*Otiorhynchus sulcatus*). Journal of Invertebrate Pathology. 62 : 15-21.

Pandey, A.K. and Kanaujia, K.R. 2005. Effect of different grain media on sporulation, germination and virulence of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin against *Spodoptera litura* Fabricius larvae. Journal of Biological Control. 19 : 129-133.

Pham, T.A., Kim, J.J., Kim, S.G. and Kim, K. 2009. Production of blastospore of entomopathogenic *Beauveria bassiana* in a submerged batch culture. Mycobiology. 37(3) : 218-224.

Poprawski, T.J., Marchal, M. and Robert, P.H., 1985. Comparative susceptibility of *Otiorhynchus sulcatus* and *Sitona lineatus* (Col., Curculionidae) early stages to five entomopathogenic hyphomycetes. Environmental Entomology 14 : 247-253.

Purwar J.P and Sachan G.C. 2006. Evaluation of media for growth and sporulation of entomogenous fungi. Annals of Plant Protection Sciences. 14 : 484-485.

Rajesh Anand, Birendra Prasad, Bhupendra and Nath Tiwar. 2009. Relative susceptibility of *Spodoptera litura* pupae to selected entomopathogenic fungi. BioControl. 54 : 85–92.

Ritu, A., Anjali, C., Nidhi, T., Sheetal, P. and Deepak, B. 2012. Biopesticidal formulation of *Beauveria bassiana* effective against Larvae of *Helicoverpa armigera.* Journal Bio fertilizer Biopesticides. 3(3) : 120-123.

Sahayaraj, S. and Mamasivayam, S.K.R. 2008. Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products and by products. African Journal of Biotechnology. 7(12) : 1907-1910.

Saito, T. 1991. A field trial of an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, for the control of *Thrips pami* karny (Thysanoptera: Thripidae) Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology. 35 : 80-81.

Seema, Y., T. Neeraj, and K. Krishan. 2013. Mass production of entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* using rice as a substrate by diphasic liquid-solid fermentation technique. International Journal of Advanced Biological Research 3 : 331-335.

Sengonca, C., Thungrabeab, M. and Blaeser, P., 2006. Potential of the different isolates of entomopathogenic fungi from Thailand as biological control agents against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (PERGANDE) (Thys; Thripidae). Journal of Plant Disease and Protection. 113(2) : 74-80.

Sharififard, M.; Mossadegh, M.S., Vazirianzadeh, B. and Latifi, S.M. 2013. Evaluation of conidia-dust formulation of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* to biocontrol the Brown-Banded Cockroach, *Supella longipalpa* F. Journal Microbiology. 7(6) : 125-131.

Sivasundaram V., Rajendran, L., Muthumeena, K., Suresh, S. Raguchander, T. and Samiyappan, R. 2008. Effect of talc-formulated entomopathogenic fungus *Beauveria* against leaffolder (*Cnaphalocrosis medinalis*) in rice. World Journal Microbiology and Biotechnology 24 : 1123–1132.

Slavimira A.D. and Spaska, A.S., 2010. Susceptibility of *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae) to Isolates of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*.

Soundrapandian, P. and Chandra, R. 2007. Mass production of entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin. Research Journal of Microbiology. 2(9) : 690-695.

Sun, M.H and Liu, X.Z. 2006. Carbon requirements of some nematophagous, entomopathogenic and mycoparasitic Hyphomycetes as fungal bio-control agents. Mycopathologia, 162(2) : 295-305.

Tabriz, R.E., Hassanloui R.T. and Pourian, H.R. 2009. Effect of formulating of *Beauveria bassiana* conidia on their viability and pathogenicity to the Thrips, *Thrips tabaci* Lin. (Thysanoptera: Thripidae) Journal of Plant Protection Research. 49(1) : 97-104.

Thungrabeab, M., Blaeser, P. and Sengonca, C. 2006. Possibilities for biocontrol of the onion thrips *Thrips tabaci* Lindeman (Thys; Thripidae) using different entomopathogenic fungi from Thailand. Mitt. Dtsch. Ges. allg. angew. Entomol 15 : 299-304.

Vacante, V., Cacciola, S.O. and Pennisi, A.M. 1994. Epizootiological study of *Neozygites parvispora* (Zygomycota : Entomophthoraceae) in a population of *Frankliniella occidentalis* (Thys., Thripidae) on pepper in Sicily. Entomophaga. 39 : 123-130.

Vega, P.A., Sanchez, S.P. and Blanco, C.A. 2010. Activity of oil-formulated conidia of the fungal entomopathogens *Nomuraea rileyi* and *Isaria tenuipes* against lepidopterous larvae. Journal of Invertebrate Pathology. 103 : 145–149.

Vimala, D., Prasad Y.G., Anitha Chowdary, D., Mallikarjuna, L.R. and Balakrishnan, K. .2003. Identification of vIsolates of the entomopathogenic fungus *Nomuraea Rileyi* (F) Samson for the management of *Helicoverpa Armigera* and *Spodoptera Litura*. Mycopathologia. 156(4) : 365-373.

Wraight, S.P. and Ramos. E.M. 2017. Effects of inoculation method on efficacy of wettable powder and oil dispersion formulations of *Beauveria bassiana* against Colorado potato beetle larvae under low-humidity conditions. Journal Biocontrol Science and Technology 27(3) : 348-363.

.

บทที่ 5 เทคนิคการใช้เชื้อรากำจัดแมลงศัตรูพืชให้ได้ผล

(Application Technique of Entomopathogenic Fungi for Insect Pest Control)

เชื้อรากำจัดแมลงถึงแม้ผ่านกระบวนการตามขั้นตอนของการพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ที่ได้คัดเลือกเชื้อราสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูง ทำลายแมลงได้กว้าง ทนทานต่อสภาพแวดล้อม สามารถเพิ่มปริมาณได้จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว มีการพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ที่มีการเติมสารเติมแต่งให้เพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อเพิ่มขึ้น เหมาะสมกับแมลงแต่ละชนิด แต่หากใช้ไม่ถูกวิธีก็ไม่ให้ผลในการควบคุมแมลง วิธีการฉีดพ่น การเลือกใช้หัวฉีด และระยะเวลาการพ่นที่เหมาะสมช่วยทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการใช้เชื้อรากำจัดแมลงเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืชให้ได้ผลดีจึงต้องรู้ข้อดี-ข้อจำกัดของชีวภัณฑ์เชื้อราที่ใช้ ต้องการกำจัดแมลงอะไรและที่ไหน คำว่าแมลงอะไรจำเป็นต้องรู้ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา วงจรชีวิตและพฤติกรรมของแมลง เพื่อหาจังหวะการควบคุมแมลงช่วงที่แมลงอ่อนแอ หรือช่วงที่ตัดวงจรชีวิต ซึ่งในพืชแต่ละชนิดมีแมลงศัตรูพืชที่แตกต่างกัน การทำลายของแมลงแต่ละส่วนก็แตกต่างกัน อีกทั้งพืชแต่ละชนิดมีโครงสร้างของพืชแตกต่างกัน เทคนิคการใช้ให้ได้ผลจึงแตกต่างกันไปในแต่ละพืช ดังนั้นจึงสรุปปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการใช้เชื้อราควบคุมศัตรูพืชได้แก่ ระยะการเจริญเติบโตของแมลง พืชอาศัย ดิน และสภาพแวดล้อม พืชต่างชนิดกันมีระบบนิเวศเกษตรแตกต่างกัน มีศัตรูพืชสำคัญ (key pest) แตกต่างกัน เทคนิคการควบคุมแมลงศัตรูพืชย่อมแตกต่างกัน จึงต้องหาจังหวะการควบคุมให้เหมาะสมกับพืชและแมลงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ

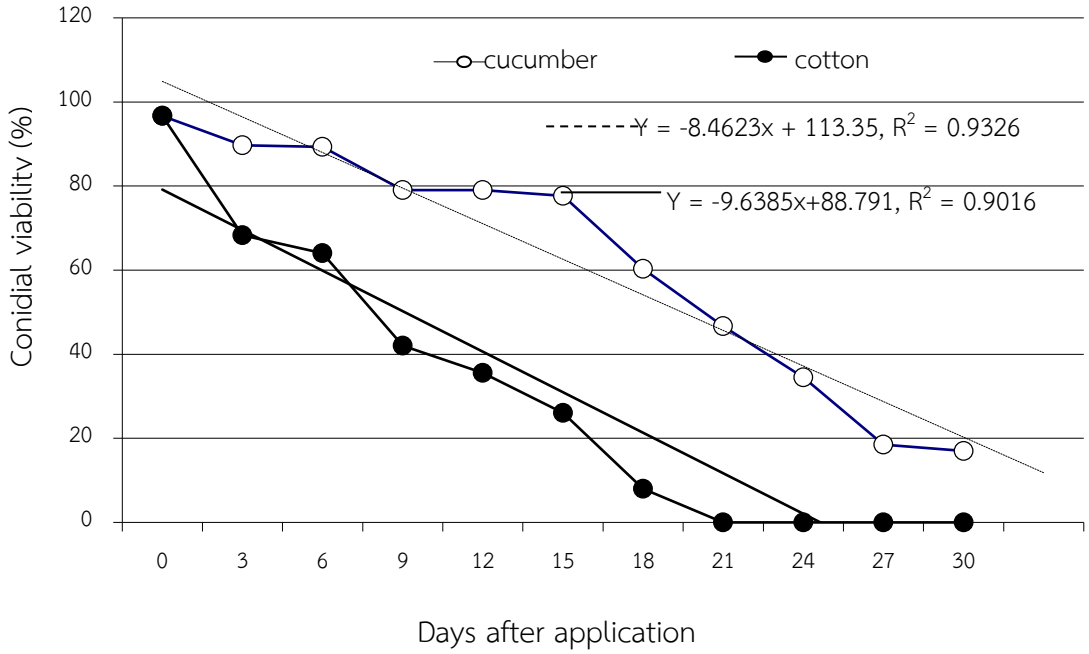
ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการใช้เชื้อราควบคุมศัตรูพืช

1. ระยะการเจริญเติบโตของแมลง แมลงแต่ละระยะมีการตอบสนองต่อการเข้าทำลายของเชื้อรากำจัดแมลงได้แตกต่างกัน ซึ่งได้อธิบายแล้วในบทที่ 3

2. พืชอาศัย พืชอาศัยของแมลงมีผลต่อประสิทธิภาพของการใช้เชื้อรากำจัดแมลง เชื้อราตัวเดียวกันแต่ใช้บนพืชต่างชนิดกันมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงได้แตกต่างกัน (Meekes *et al*., 2000) อันเนื่องจากลักษณะทางสรีรวิทยา สัณฐานวิทยา และองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันของพืชแต่ละชนิด (Liu *et al*. 1999; Wraigit *et al*. 2000; Kouassi *et al.* 2003) นอกจากนี้ Fransen (1995) พบว่า เชื้อรา *Aschersonia aleyrodis* มีความคงทนอยู่ได้บนใบแตงกวา ได้อย่างน้อย 3 สัปดาห์ในสภาพโรงเรือนและยังคงมีประสิทธิภาพในการทำลายแมลงหวี่ขาว เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* สามารถคงทนอยู่บนใบหอมได้อย่างน้อย 2 สัปดาห์ในสภาพแปลง (Maniania *et al*., 2003) เชื้อรา

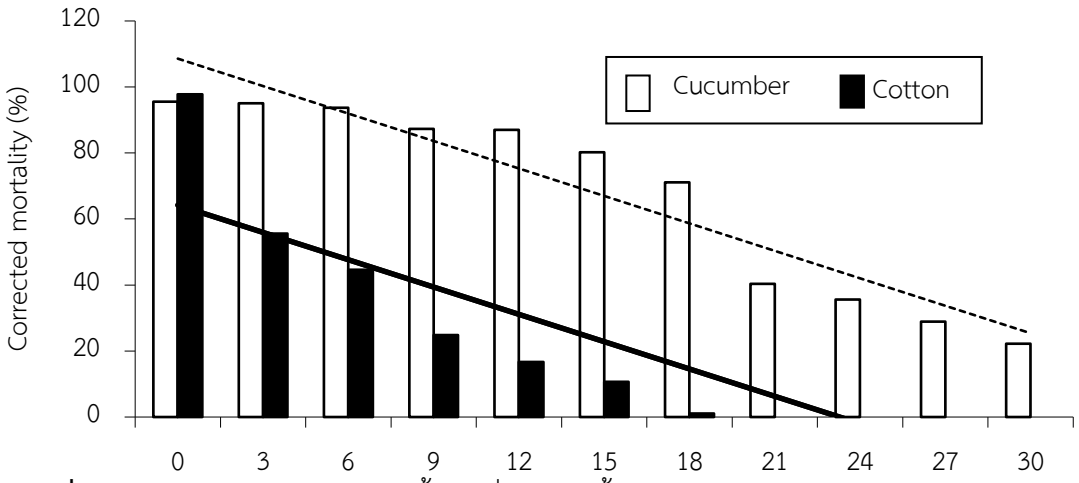
Beauveria bassiana มีความคงทนอยู่ได้บนใบผักกาดหอม ได้นานถึง 26 วันและยังคงประสิทธิภาพในการควบคุม *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemip; Miridae) Inglis *et al*. (1993) พบว่าโคนิเดียของ *Beauveria bassiana* บนใบหญ้าอาหารสัตว์ มีชีวิตได้ยาวนานกว่าบนใบข้าวสาลี ส่วน *Beauveria bassiana* ที่พ่นบนใบผักกาดหอม มีชีวิตได้นานกว่าที่พ่นบนใบเซอราริ่ (Kouassi *et al.* 2003) ซึ่งอธิบายได้ว่า เนื่องมาจากสัณฐานวิทยาของพืช เช่น รูปทรง เนื้อใบ ขนาดและรูปร่าง ทรงพุ่ม รวมทั้งสารเคมีภายในพืช (Elad *et al.* 1996; Vega *et al.* 1997; Poprawski and Jones, 2000)

การศึกษาของมาลี (2550) พบว่า เมื่อพ่นเชื้อรา *B. bassiana* ไปแล้ว 3 วัน พบความแตกต่างของการมีชีวิตของเชื้อรา โดยบนใบแตงกวาพบโคนิเดียที่มีชีวิต 86.33% ในขณะที่ พบเพียง 68.33% บนใบฝ้าย และเมื่อเวลาภายหลังที่พ่นเชื้อราไปแล้วเพิ่มขึ้นการมีชีวิตของโคนิเดียก็จะลดลงตามลำดับ โดยบนใบฝ้ายจะมีการลดลงของโคนิเดียที่มีชีวิตอย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับโคนิเดียที่อยู่บนใบแตงกวาที่ยังคงมีชีวิตอยู่บนใบแตงกวาได้นานถึง 30 วันหลังการพ่นสารแขวนลอยเชื้อรา ส่วนบนใบฝ้ายเมื่อเวลาผ่านไป 21 วันไม่พบโคนิเดียที่รอดชีวิต (ภาพที่ 5.1) การที่แตงกวามีใบที่ใหญ่และมีขนปกคลุมจึงอาจป้องกันแสงอัลตราไวโอเลตได้ดีกว่าใบฝ้ายที่เล็กกว่าและไขเคลือบ อีกทั้งฝ้ายมีสาร terpenoid gossypol ที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (Vega *et al.*, 1997) สำหรับประสิทธิภาพในการควบคุมแมลง พบว่าเพลี้ยไฟที่เลี้ยงบนใบแตงกวามีเปอร์เซ็นต์การตายสูงกว่าเพลี้ยไฟที่เลี้ยงบนใบฝ้ายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 5.2) ประสิทธิภาพของเชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมแมลงมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดพืช ชนิดแมลง และชนิดของเชื้อ (Poprawski and Walker, 2000) Rosalind *et al.* (1995) ได้ศึกษาหาความคงทนของเชื้อรา *Beauveria bassiana* และประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในสภาพแปลง พบว่า เชื้อรา *B. bassiana* สามารถคงทนอยู่ได้นาน 28 วัน โดยพบมีชีวิตอยู่ประมาณ 10% Thungrabeab *et al.* (2006) พบว่า พืชต่างชนิดกันมีผลต่อประสิทธิภาพของเชื้อราในการทำให้เพลี้ยไฟตายได้ต่างกัน (ตารางที่ 5.1)



ภาพที่ 5.1 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของโคนิเดีย เชื้อรา *Beauveria bassiana* บนใบแตงกวาและฝ้ายที่ระยะเวลาต่างๆกันภายหลังการพ่น

ที่มา : มาลี (2550)



ภาพที่ 5.2 เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟเนื่องจาก เชื้อรา *Beauveria bassiana* บนใบแตงกวาและฝ้ายที่ระยะเวลาต่างๆกันภายหลังการพ่น

ที่มา : มาลี (2550)

ตารางที่ 5.1 ค่า LC_{50} ของเชื้อรา *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* ต่อตัวอ่อนเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* และ *Thrips tabaci* บนพืชอาศัยต่างๆกัน

พืชอาศัย	LC_{50} (conidia/ml)			
	Beauveria bassiana		*Metarhizium anisopliae*	
	F. occidentalis	*Thrips tabaci*	*F. occidentalis*	*Thrips tabaci*
Bean	1.50×10^{4}	1.65×10^{4}	9.90×10^{3}	1.19×10^{4}
Leek	2.79×10^{4}	1.86×10^{4}	2.09×10^{4}	1.42×10^{4}
Cucumber	7.84×10^{3}	1.76×10^{4}	5.69×10^{3}	6.08×10^{3}
Cotton	7.15×10^{4}	3.89×10^{5}	3.70×10^{4}	1.68×10^{5}
Swan river daisy	8.95×10^{3}	1.06×10^{4}	6.68×10^{3}	1.46×10^{3}
Saintpaulia	7.29×10^{4}	5.71×10^{5}	4.18×10^{4}	3.88×10^{5}

ที่มา : Thungrabeab (2006)

3. ดิน

แมลงศัตรูพืชสำคัญหลายชนิด มีวงจรชีวิตช่วงใดช่วงหนึ่งอยู่ในดิน จึงควรใช้เชื้อราเมื่อช่วงระยะเวลาแมลงอยู่ในดิน เพื่อเป็นการตัดวงจรชีวิตหรือลดปัญหาจากแสงอัลตราไวโอเลต การใช้เชื้อรากำจัดแมลงให้ได้ผล ควรใช้ให้ถูกจังหวะกับวงจรชีวิตและพฤติกรรมของแมลง เช่น ด้วงหมัดผักวงจรชีวิตตั้งแต่ระยะไข่ถึงดักแด้ (ประมาณ 35 วัน) อยู่ในดิน ส่วนแมลงวันผลไม้ แมลงวันพริก แมลงวันแตง หนอนระยะสุดท้ายก่อนการเปลี่ยนคราบจะเข้าดักแด้ในดิน การใช้เชื้อราควบคุมแมลงเหล่านี้ จึงควรใช้ในดินเป็นการตัดวงจรชีวิตก่อนที่จะออกมาเป็นตัวเต็มวัย ความคงทนของเชื้อราในดินจึงมีส่วนสำคัญในการควบคุมแมลงให้ได้ผล ซึ่งพบว่า ความคงทนของเชื้อราในดินขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ชนิดของดิน (Storey and Gardner, 1987, 1988; Studdert *et al*., 1990) ความชื้นในดิน (Studdert *et al*., 1990) อุณหภูมิ (Lingg and Donaldson, 1981; Studdert *et al*., 1990) ความเป็นกรด-ด่างของดิน อินทรียวัตถุในดิน (Lingg and Donaldson, 1981) และจุลินทรีย์ในดิน (antagonistic organisms) (Fargues *et al*., 1983). เป็นต้น จากการรายงานของ Milner *et al*. (2003) พบว่า สปอร์ของเชื้อรากำจัดแมลงสามารถคงทนอยู่ในดินได้อย่างน้อย 3 ปี ส่วน Enkerli *et al*. (2004) ได้มีการศึกษาหาความคงทนของเชื้อรา *Beauveria brongniartii* ในดิน เพื่อการควบคุม European cockchafer larvae พบว่า เชื้อราสามารถ established ได้ในพื้นที่ และคงทนอยู่ในดิน ได้นาน 7-14 ปี หลังจากการใช้ และความสำเร็จของการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่อยู่ในดินนั้น นอกจากนี้ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเชื้อราแล้วยังขึ้นอยู่กับการเตรียมดิน Gomez

and Oscardi (1994) พบว่า การไถพรวน และไม่ไถพรวน มีผลต่อความมีชีวิตของเชื้อรากำจัดแมลงด้วยเช่นกัน Vaenninen *et al*. (2000) พบว่าลักษณะของดิน มีผลต่อความคงทนของเชื้อรา โดยเชื้อราสามารถคงทนได้ในดินเหนียวดีที่สุด และ Hu *et al.* (2003) รายงานว่า rhizosphere มีผลต่อความคงทนของเชื้อราในดิน Lingg and Donaldson (1981) และมาลี (2555) พบว่า ดินที่มีอินทรียวัตถุสูง มีความมีชีวิตของเชื้อราน้อยกว่าดินที่มีอินทรียวัตถุต่ำ

4. สภาพแวดล้อม

ปัจจัยสภาพแวดล้อม ได้แก่ แสงแดด อุณหภูมิและความชื้น มีส่วนสำคัญอย่างมากที่จะสนับสนุนหรือยับยั้งเชื้อราในการเข้าทำลายแมลง (Benz, 1987)

1. แสงแดด แสงแดดจัดเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดต่อการคงอยู่ของเชื้อราที่พ่นในแปลงปลูกพืช รังสีอัลตราไวโอเลตในช่วงความยาวคลื่น 280-320 นาโนเมตร (UV –B) และ 320-400 นาโนเมตร (UV –A) เป็นช่วงที่ทำลายเชื้อราได้มาก แต่อย่างไรก็ตามความทนต่อแสงแดดนั้นผันแปรไปตามชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อรา โดยเชื้อรา *Beauveria* จะมีความคงทนต่อแสงอัลตราไวโอเลตมากกว่าเชื้อรา *Metarhizium* (มาลี 2555)

2. อุณหภูมิ อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีส่วนสำคัญ เพราะมีผลต่ออัตราการงอก การเจริญและการอยู่รอดของเชื้อรา รวมถึงแมลงอาศัยด้วย ความทนทานต่ออุณหภูมิแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์เชื้อรา เชื้อราสายพันธุ์เดียวกันแต่พบในเขตร้อนย่อมทนทานต่ออุณหภูมิสูงได้ดีกว่าเชื้อที่พบในเขตหนาวหรืออบอุ่น (Fargues *et al*., 2004; Ekesi *et al*., 1999)

3. ความชื้น เชื้อราส่วนใหญ่คงตัวอยู่ในที่เย็นและแห้ง ความชื้นจะมีผลต่อการงอกของสปอร์เชื้อราและทำให้ละอองของเชื้อราที่พ่นลงบนใบพืช ระเหยช้าลงหรือเร็วขึ้น ความชื้นสูงละอองน้ำระเหยช้า โอกาสที่แมลงจะมาสัมผัสกับละอองน้ำผสมเชื้อราก็มีมากกว่า เป็นต้น

Wraight *et al.* (2001) รายงานว่า เทคนิควิธีการใช้เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การใช้เชื้อราประสบผลสำเร็จ

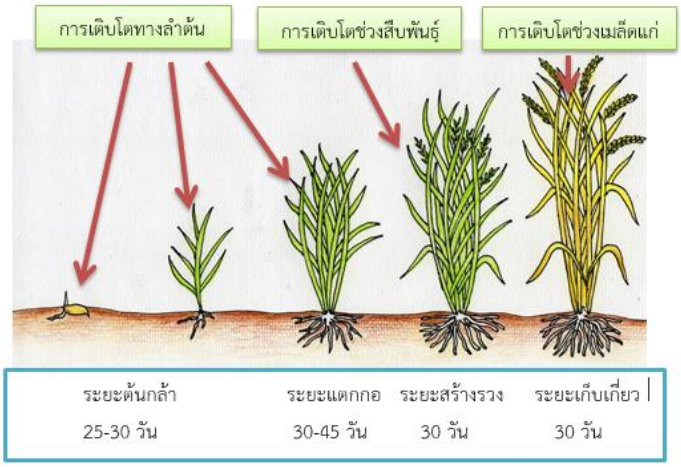
เทคนิคการใช้เชื้อรากำจัดแมลงในพืชชนิดต่าง ๆ

1. นาข้าว

การใช้เชื้อราเพื่อควบคุมแมลงศัตรูข้าว สามารถใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae Hirsutella citriformis* กับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยกระโดดหลังขาว เพลี้ยจักจั่นสีเขียว หนอนห่อใบข้าว แมลงหล่า และแมลงดำหนาม เป็นต้น โดยใช้ความเข้มข้น 10^6 – 10^8 สปอร์/ มล. ได้ผล

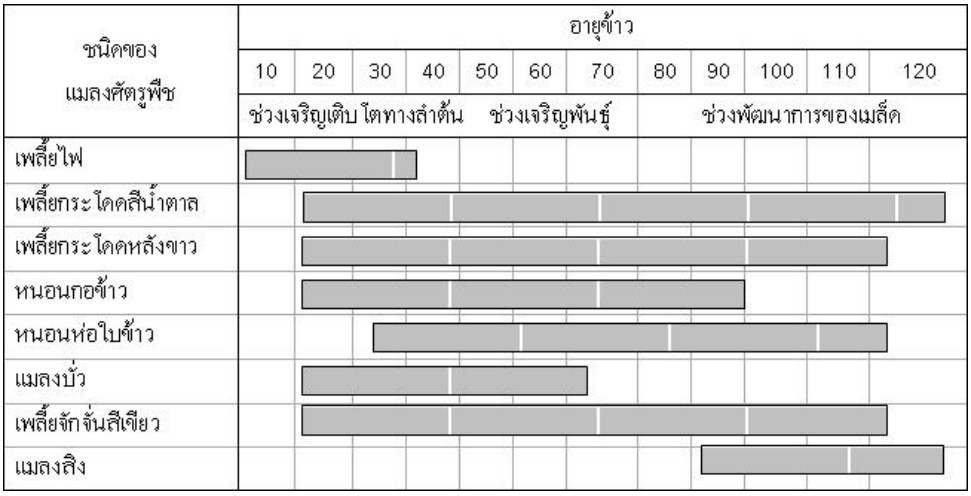
ในการป้องกันกำจัดแมลงประมาณ 30 – 90 % ขึ้นอยู่กับชนิดของแมลงและสภาพแวดล้อม (Hazarika and Puzari, 1990 ; Bandara and Ahangama, 1994; Thuy *et al*., 1994) ในประเทศไทยได้มีการทดสอบการใช้เชื้อรา *B. bassiana , M. anisopliae, M. flavoviridae H. citriformis* ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียว เพลี้ยจักจั่นปีกลายหยัก แมลงสิงและตั๊กแตนข้าว (จริยา และคณะ 2529; สุดาพร 2544; อารยา และคณะ 2558; Sarayut *et al*., 2017)

ประเทศไทยมีการปลูกข้าวที่แตกต่างกัน มีทั้งข้าวนาหว่าน ข้าวปักดำ ข้าวนาน้ำตม รวมถึงข้าวไร่ แมลงศัตรูข้าวจึงมีความแตกต่างกันในแต่ละระยะของการเจริญเติบโต ซึ่งแบ่งการเจริญเติบโตของข้าวได้เป็น 4 ระยะ (ภาพที่ 5.3) ในแต่ระยะของการเจริญเติบโต พบแมลงที่สำคัญ ดังนี้



ภาพที่ 5.3 ระยะการเจริญเติบโตของข้าว

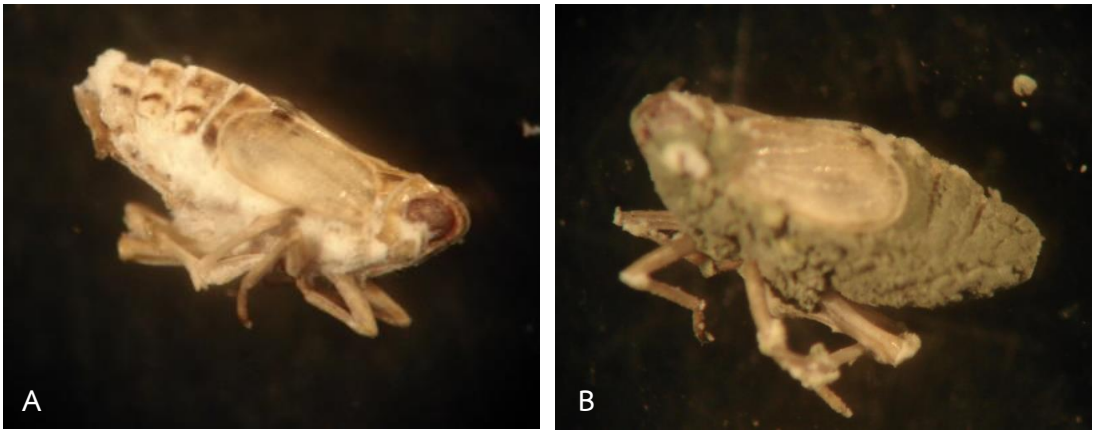
ที่มา : กรมการข้าว (2547)



ภาพที่ 5.4 ชนิดของแมลงศัตรูข้าวในแต่ละช่วงอายุ

ที่มา : กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว (2559)

จากภาพที่ 5.4 เห็นได้ว่าตั้งแต่เริ่มปลูกข้าวระยะกล้าหรือหลังปักดำ จนถึงระยะเก็บเกี่ยวข้าวมีแมลงศัตรูข้าวทำลายตลอดเวลา ดังนั้นจึงต้องมีการพ่นเชื้อราทุกสัปดาห์โดยระยะกล้าพ่นให้ทั่วบริเวณใบและกาบใบ พอข้าวถึงระยะแตกกอให้พ่นบริเวณโคนต้นเพราะทั้งเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและหนอนกอข้าวพบทำลายบริเวณกอข้าว หรือหากเป็นข้าวนาดำ สามารถนำเชื้อราผสมกับน้ำมัน ซึ่งน้ำมันจะช่วยให้สปอร์เชื้อราลอยน้ำไปติดที่กอข้าวได้ พบมีเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายได้ทั้งจากเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae*



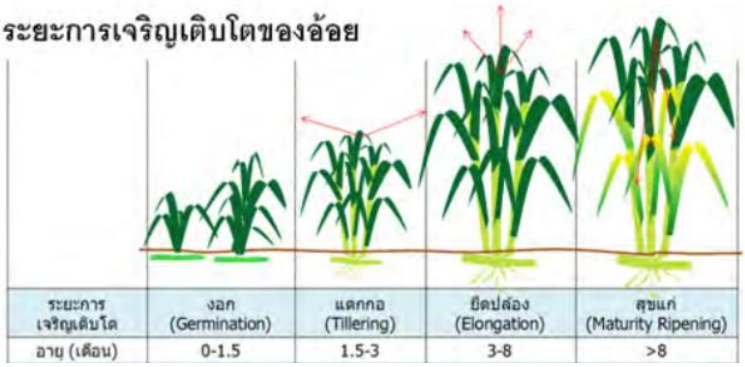
ภาพที่ 5.5 เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ถูกทำลายด้วยเชื้อรา

(A) *Metarhizium anisopliae* (B) *Beauveria bassiana*

2. พืชไร่

พืชไร่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ ข้าวโพด อ้อย มันสำปะหลัง และถั่วเหลือง เป็นต้น

2.1 อ้อย เป็นพืชไร่เศรษฐกิจสำคัญชนิดหนึ่ง เป็นวัตถุดิบของอุตสาหกรรมน้ำตาลของประเทศ และยังจัดเป็นพืชพลังงานทดแทนอีกชนิดหนึ่งที่มีแนวโน้มว่าจะมีอนาคตและการตลาดที่ดี แต่การปลูกอ้อยมักได้ผลผลิตต่ำ เนื่องจากการระบาดของโรคและแมลง ซึ่งในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตของอ้อย (ภาพที่ 5.6) พบมีแมลงระบาดทำลาย มีทั้งที่ทำลายลำต้นที่อยู่ในดิน เช่น หนอนกอต่าง ๆ ด้วงหนวดยาว แมลงนูนหลวง ปลวก และเพลี้ยหอย เป็นต้น นอกจากนี้มีแมลงที่ทำลายใบ เช่น เพลี้ยอ่อนสำลี เพลี้ยแป้ง เพลี้ยกระโดด แมลงหวี่ขาว และโดยเฉพาะเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาล *Matsumuratettix hiroglyphicus* ที่เป็นพาหะนำโรคใบขาวอ้อยที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา ดังนั้นในการป้องกันกำจัดจึงต้องกระทำให้ถูกจุด แมลงที่ทำลายลำต้นอ้อยควรมีการควบคุมในดิน เช่น มีรายงานการใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* กำจัดด้วงหนวดยาวอ้อย ได้ตั้งแต่ระยะที่เป็นไข่จนถึงตัวเต็มวัย สามารถทำลายระยะที่เป็นหนอนได้ถึง 100% เนื่องจากด้วงหนวดยาวอาศัยอยู่ในดิน ดังนั้น จึงต้องมีการโรยเชื้อพร้อมกับการปลูกอ้อย โดยการวางท่อนพันธุ์แล้วใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* โรยบนท่อนพันธุ์ ในอัตรา 10 กิโลกรัม/ไร่ แล้วรีบกลบฝังทันทีเพื่อไม่ให้แสงแดดเผาทำลายเชื้อรา หากในพื้นที่ที่สะดวกในการใช้น้ำ ให้ผสมน้ำราดโดยใช้เชื้อรา *Metarhizium* 10 กิโลกรัมผสมน้ำ 200 ลิตร ผสมสารจับใบ หรือน้ำยาล้างจานอัตรา 1 ช้อนแกง/น้ำ 20 ลิตร เพื่อลดแรงตึงผิวทำให้สปอร์เชื้อราเข้ากับน้ำได้ดี หรืออาจใช้วิธีราดหรือกรองเอาเฉพาะน้ำใส่เครื่องพ่นสารฉีดพ่นบนท่อนพันธุ์พร้อมปลูกแล้วรีบกลบตามทันทีเช่นเดียวกัน (วิวัฒน์ และคณะ 2547) จุฑามาส และคณะ (2560) พบเชื้อรา *Metarhizium* และ *Beauveria* มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาลได้ทุกระยะการเจริญเติบโตในสภาพห้องปฏิบัติการ ดังนั้นหากมีการนำไปใช้ในสภาพแปลงควรมีการพ่นเชื้อรา ตั้งแต่อ้อยเริ่มแตกใบทั้งนี้เพราะอาการโรคใบขาวจะรุนแรงที่ระยะอ้อยยังอายุน้อย และควรมีการพ่นทั้งบนดินและที่ใบอ้อย เพราะจากรายงานของธวัช (ม.ป.ป.) พบว่า เพลี้ยจักจั่นวางไข่ในดิน โดยชอบวางไข่ในดินทราย หรือดินร่วนทรายมากกว่าดินชนิดอื่น การพ่นเชื้อราลงดินจะทำให้เชื้อราไปทำลายไข่ของเพลี้ยจักจั่นได้ ซึ่งจากรายงานของ จุฑามาส และคณะ (2560) พบว่า ทั้ง *Beauveria* และ *Metarhizium* มีผลทำให้ไข่ของเพลี้ยจักจั่นไม่ฟัก 25 และ 35% ตามลำดับ ส่วนการพ่นทางใบเพื่อการควบคุมในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ซึ่งควรพ่นจนถึงระยะอ้อยแตกกอ เพราะหลังจากนั้นการระบาดของเพลี้ยจักจั่นจะไม่มีผลกระทบต่ออ้อยแล้ว (ธวัช ม.ป.ป.)



ภาพที่ 5.6 ระยะการเจริญเติบโตของอ้อย

ที่มา : สยามคูโบต้า (2016)



ภาพที่ 5.7 ด้วงหนวดยาวอ้อยถูกทำลายด้วยเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*

ที่มา : วิวัฒน์ และคณะ (2548)

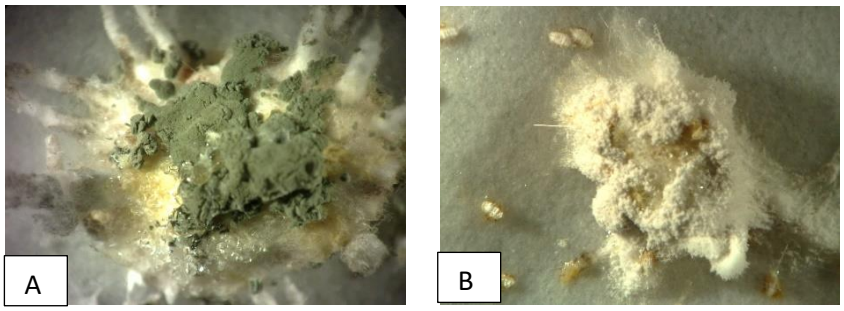
2.2 มันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชที่เศรษฐกิจและกำลังทวีความสำคัญขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากมีประโยชน์ใช้สอยอย่างกว้างขวางและสามารถปลูกได้ในดินดอนทั่วไป มันสำปะหลังเป็นพืชที่มีศักยในการให้ผลผลิตสูงมากพืชหนึ่งและประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกรายใหญ่ที่สุด (สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร 2560) แต่อย่างไรก็ตาม แม้มันสำปะหลังจะเป็นพืชที่ปลูกง่ายตายยากและให้ผลผลิตโดยง่าย แต่ก็เหมือนกับพืชอื่น ๆ ที่มีแมลงศัตรูพืชระบาดทำความเสียหายให้กับผลผลิต ศัตรูพืชที่สำคัญของมันสำปะหลัง มีทั้งแมลงปากดูดที่คอยดูดกินน้ำเลี้ยงได้แก่ เพลี้ยแป้ง แมลงหวี่ขาว เพลี้ยหอยและไรแดง ซึ่งดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนต่าง ๆ ของใบ กิ่ง ยอด ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างหัว ส่วนแมลงปากกัด ได้แก่ ปลวก แมลงนูนหลวง

ด้วงหนวดยาว ทำลายโดยการกัดกิน รากลำต้นหัว ส่งผลกระทบต่อการงอก การสร้างหัว และหัวมันถูกทำลาย

Amutha and Banu (2017) รายงานว่า ระหว่าง เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* *Beauveria bassiana* และ *Lecanicillium leccanii* เชื้อรา *M. anisopliae* มีความสามารถทำให้เพลี้ยแป้ง *Paracoccus marginatus* เกิดโรคตายได้เร็วที่สุด ในประเทศไทยมีการแนะนำให้เกษตรกรใช้เชื้อรา *B. bassiana* ร่วมกับการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติ โดยแนะนำให้ในพื้นที่ที่มีการระบาดของเพลี้ยแป้งอย่างรุนแรง ให้ใช้เชื้อ *B. bassiana* พ่นกำจัดเพลี้ยแป้งก่อน 3 ครั้ง ระยะห่างครั้งละ 7 วัน หลังจากนั้น 10 วัน จึงปล่อยแมลงช้างปีกใสเพื่อกำจัดเพลี้ยแป้งที่หลงเหลืออยู่ในแปลง (กรมส่งเสริมการเกษตร 2554) ภัทรภา (2556) ได้มีการคัดเลือกเชื้อรากำจัดเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งพบว่า เชื้อราที่นำมาคัดเลือกทั้งหมด จำนวน 30 ไอโซเลต ทำการทดสอบหาประสิทธิภาพในการทำให้เกิดโรคกับเพลี้ยแป้งสีชมพูในแต่ละวัยเปรียบเทียบกับ Buverin ที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า พบว่าค่า LC_{50} ของเชื้อรา *B bassiana* LARTC2 มีค่าต่ำที่สุด คือ 1.27×10^{4} สปอร์/มิลลิลิตร ส่วน Buverin ซึ่งมีค่า LC_{50} เท่ากับ 5.05×10^{5} สปอร์/มิลลิลิตร และเมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพกับเพลี้ยแป้งสีชมพูในโรงเรือน พบว่าเชื้อรา *B. bassiana* LARTC2 สามารถลดจำนวนประชากรเพลี้ยแป้งสีชมพู, *Phenacoccus manihoti* ลงจากระดับ 2.80 เป็นระดับ 1.50 หรือลดลง 1.30 ระดับ

เชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* มีความสามารถในการทำให้เพลี้ยแป้งเกิดโรคตายได้ (ภาพที่ 5.8) กรมส่งเสริมการเกษตร (2554) มีคำแนะนำให้ใช้เชื้อรา *Beauveria* แช่ท่อนพันธุ์ เนื่องจากมักพบเพลี้ยแป้งติดไปกับท่อนพันธุ์เสมอและควรมีการพ่นเชื้อราที่ใบที่ระยะการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังระยะที่ 1 และระยะที่ 2 ติดต่อกันต่อเนื่อง เพื่อควบคุมแมลงไม่ให้ทำลายที่ใบ ซึ่งหากแมลงทำลายใบจะส่งผลต่อการสร้างหัว และตั้งแต่ระยะที่ 3 เป็นต้นไป ควรมีการใช้เชื้อราใส่ลงดินเมื่อมีการใส่ปุ๋ยเพื่อป้องกันแมลงลงทำลายหัว เป็นต้น



ภาพที่ 5.8 เพลี้ยแป้งถูกทำลายด้วยเชื้อรา

(A) *Beauveria bassiana* (B) *Metarhizium anisopliae*

3. พืชผัก

พืชผักมีหลายตระกูล เช่น พืชตระกูลกะหล่ำ ตระกูลพริก-มะเขือ ตระกูลแตง เป็นต้น ซึ่งแมลงที่สำคัญในการทำลายพืชในแต่ละตระกูลก็แตกต่างกันไป

3.1 พืชตระกูลกะหล่ำ (Family cruciferaceae)

พืชตระกูลกะหล่ำเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจสูง เนื่องจากเป็นพืชอายุสั้น สามารถทำรายได้ให้แก่เกษตรกรในระยะเวลาอันรวดเร็วและให้ผลตอบแทนสูง นอกจากนี้ยังเป็นพืชที่ตลาดมีความต้องการสูงทั้งการใช้สำหรับบริโภคภายในประเทศและส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศ ตลอดระยะการเจริญเติบโตของกะหล่ำ (ภาพที่ 5.9) พบมีแมลงศัตรูที่ทำลายผลผลิตให้เกิดความเสียหาย ได้แก่ เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ ด้วงหมัดผัก มวนกะหล่ำ และหนอนกินใบได้แก่ หนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนคืบกะหล่ำ หนอนเจาะยอดกะหล่ำ และหนอนกะหล่ำ เป็นต้น ซึ่งการทำลายของแมลงศัตรูพืชเหล่านี้เกิดอย่างรวดเร็วและรุนแรงจนไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ มีรายงานการใช้เชื้อราในการควบคุมหนอนผีเสื้อ Vimala *et al.* (2003) รายงานว่า เชื้อรา *Nomuraea rileyi* มีประสิทธิภาพทำให้หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* และหนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa armigera* เกิดโรคและตายได้ 100% เช่นเดียวกันเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium muscarium* และ *Cordyceps cardinalis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก (Rajesh *et al*., 2009) มีรายงานพบว่าเชื้อ *I. fumosoroseus* มีความสามารถในการทำให้หนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) เกิดโรคตายได้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีเชื้อราอีกหลายชนิดได้แก่ *Zoophthor radicans*, *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผัก ได้ดี (Altre *et al.*, 1999, Maketon *et al*., 2008)



ภาพที่ 5.9 ระยะการเจริญเติบโตและแมลงที่พบในพืชตระกูลกะหล่ำ

ที่มา : Bayer crop science Thailand (2016)

มาลี (2553) พบว่า เชื้อราจำนวน 6 สกุล 14 ชนิด 17 ไอโซเลตที่คัดแยกมาจากสิ่งอาศัย (host) ที่แตกต่างกัน มีความสามารถทำให้หนอนใยผัก หนอนเจาะยอดกะหล่ำ หนอนคืบกะหล่ำเกิดโรคและตายได้ทุกสกุล แต่ความสามารถในการทำให้เกิดโรคตายแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสกุล ชนิดและไอโซเลตของเชื้อรา และชนิดของหนอน (ตารางที่ 5.2 และภาพที่ 5.10)

ตารางที่ 5.2 เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงของศัตรูกะหล่ำจากเชื้อรากำจัดแมลง

ชนิดของเชื้อรา	ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง		
		หนอนใยผัก	หนอนเจาะยอดกะหล่ำ	หนอนคืบกะหล่ำ
Aschersonia badia	BCC 20305	64.65	56.67	6.67
Aschersonia samoensis	BCC 19756	60.00	66.67	42.22
Aschersonia tamarai	At. 5673	68.89	67.78	77.78
Beauveria bassiana	Bb. 6241	77.78	100.00	100
Beauveria amorpha	BCC 19337	77.78	88.89	68.89
Metarhizium anisopliae	Ma. 4849	97.78	95.55	84.44
Metarhizim flavoviride	Mfl. 5744	93.33	91.11 [c]	75.55
Nonuraea rileyi	BCC 16000	91.11	80.00	77.78
Isaria tenuipes	BCC 28245	73.33	87.67	84.45
Isaria fumosoroseus	Pfu. 2507	95.00	86.67	93.33
Isaria farinosus	Pfa. 5317	30.00	48.33	82.22
Lecanicillium lecanii	Vl. 2321	86.67	76.67	75.55

ที่มา : ดัดแปลงจากมาลี (2553)



ภาพที่ 5.10 หนอนผีเสื้อศัตรูกะหล่ำ และเพลี้ยอ่อนถูกทำลายด้วยเชื้อรากำจัดแมลง

เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ *Lipaphis erysimi* Kalt. มีความอ่อนแอของต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด เชื้อรา *Beauveria bassiana* ทั้ง 2 ไอโซเลตสามารถทำให้เพลี้ยอ่อนตายได้ 100% ในขณะที่ *Nomuraea rileyi* LARTCNr1 ไม่พบการตายของเพลี้ยอ่อน (ตารางที่ 5.3) (พัชรินทร์ และมาลี 2560)

ตารางที่ 5.3 เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงของเพลี้ยอ่อนกะหล่ำจากเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ระดับความเข้มข้น1x10^8 สปอร์/มิลลิลิตร

ชนิดของเชื้อรา	ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง
Beauveria bassiana	LARTCBb9	100±0.0
	LARTCBb15	100±0.0
Metarhizium anisopliae	LARTCMa7	84.33 ± 5.50
	LARTCMa4	86.20 ± 3.06
Metarhizim flavoviride	LARTCMf1	53.08 ± 3.29
	LARTCMf3	52.26 ± 5.38
Nomuraea rileyi	LARTCNr1	0.00
	LARTCNr2	0.00
Isaria fumosoroseus	LARTCIf2	42.22± 2.87
	LARTCIf5	73.33 ± 3.84

ที่มา : พัชรินทร์ และมาลี (2560)

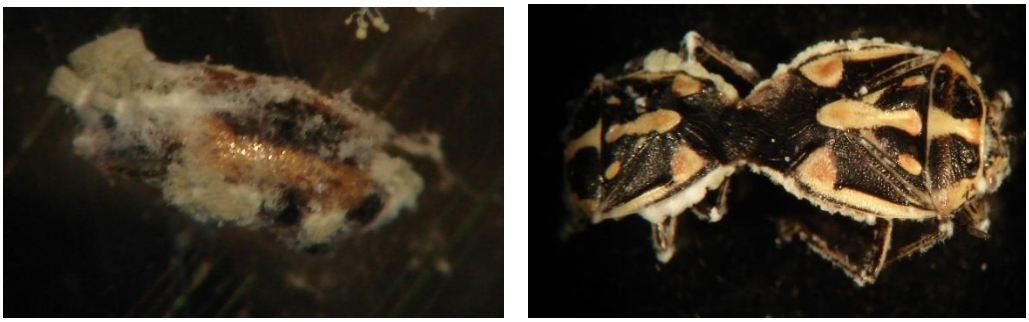
สำหรับด้วงหมัดผัก พบเชื้อรามีศักยภาพในการควบคุมด้วงหมัดผัก โดยจากการคัดเลือกเชื้อรา จำนวน 3 สกุล จำนวน 15 ไอโซเลต พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายของตัวหนอนด้วงหมัดผักสูงที่สุด ใกล้เคียงกันระหว่างเชื้อ *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* แต่เชื้อรา *M. anisopliae* มีความรุนแรงสูงกว่า *B. bassiana* นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักที่ได้รับเชื้อราที่ sub lethal dose เชื้อราไม่มีผลต่อจำนวนการวางไข่ของด้วงหมัดผัก แต่มีผลต่อการฟักไข่และหนอนที่ฟักออกมาจากไข่ ด้วงหมัดผักที่ได้รับเชื้อราพบมีเปอร์เซ็นต์การตายในระยะหนอนสูงถึง 80.08% (มาลี และคณะ 2552) และเมื่อนำไปใช้ในแปลงสามารถลดความเสียหายของกวางตุ้งจากการทำลายของด้วงหมัดผักได้แต่ขึ้นกับวิธีการใช้ (ตารางที่ 5.4) การใช้เชื้อรากำจัดแมลงในแปลงมีผลต่อประสิทธิภาพของเชื้อราในการควบคุมด้วงหมัดผัก การใส่เชื้อราลงดินให้ผลในการควบคุมด้วงหมัดผักมากกว่าการพ่นลงที่ใบ พบมีด้วงหมัดผักตายจากเชื้อรากำจัดแมลงและยังพบการตายของมวนผักกาดแมลงศัตรูผักกาดกวางตุ้งอีกด้วย (ภาพที่ 5.11) ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการแนะนำการควบคุมด้วงหมัดผักให้กับเกษตรกรได้ นอกจากนี้มีมีรายงานการใช้เชื้อรากำจัดแมลงควบคุมด้วงในกลุ่ม Chrysomelidae ได้ผลดี แต่

ประสิทธิภาพในการควบคุมขึ้นอยู่กับชนิดและไอโซเลตของเชื้อรานั้นๆ (Butt *et al.,* 1992, 1994; Pliz *et al.,* 2007)

ตารางที่ 5.4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความหนาแน่นของตัวเต็มวัยด้วงหมัดผัก และความเสียหายที่เกิดบนใบผักกาดกวางตุ้งจากการทดสอบในสภาพแปลงเมื่อมีการใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae*

กรรมวิธี	จำนวนด้วงหมัดผักต่อสวิงโฉบ	จำนวนรู/ใบ
โรยเชื้อราอัตรา 10 กรัมต่อแถวยาว 1 เมตร ก่อนโรยเมล็ดลงปลูก	4.6	4.2
หลังจากโรยเมล็ดลงปลูกแล้ว 5 วัน ทำการราดสารแขวนลอยเชื้อที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มล. ปริมาตร 10 มล.ต่อแถวยาว 1 เมตร	4.8	4.8
หลังจากโรยเมล็ดลงปลูกแล้ว 5 วัน ทำการพ่นสารแขวนลอยเชื้อที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มล. ปริมาตร 75 มล.ต่อแปลงย่อย	6.2	6.4
กรรมวิธีควบคุม	10.9	7.8

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Thungrabeab and Tongma (2009)



ภาพที่ 5.11 ด้วงหมัดผัก (A) มวนผักกาด (B) ถูกทำลายด้วยเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*

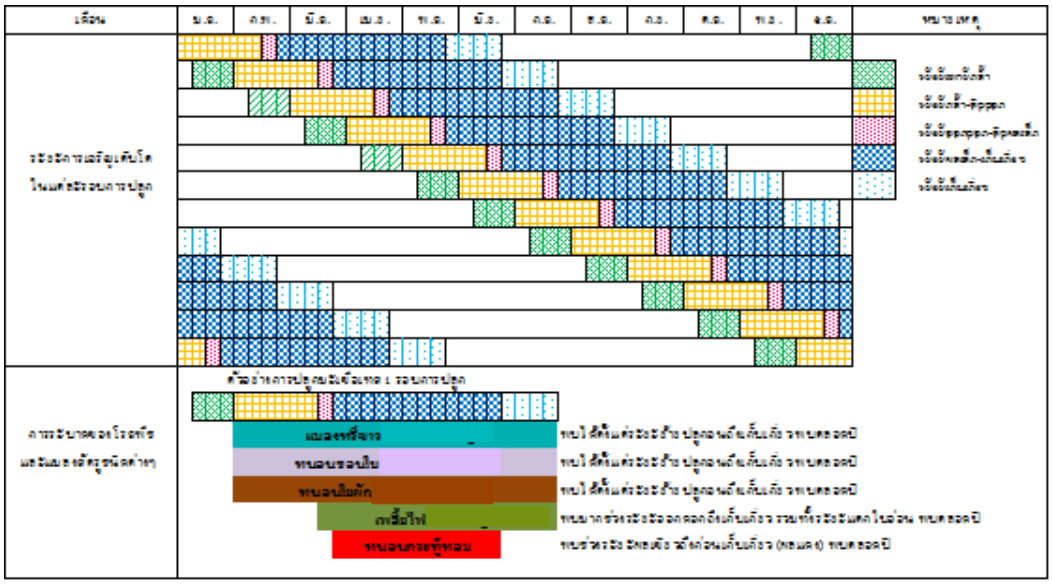
ดังนั้นการใช้เชื้อรากำจัดแมลงเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูกะหล่ำ ควรเริ่มตั้งแต่หลังการเตรียมดินเรียบร้อยแล้วให้โรยเชื้อรา *Metarhizium* แบบเม็ดเพื่อกำจัดหนอนและดักแด้ของด้วงหมัดผักแล้วจึงปลูกผัก หลังปลูกแล้วให้พ่นเชื้อรา *Beauveria* สลับกับ *Metarhizium* ลงที่บริเวณใบกะหล่ำทุกๆ 7-10 วัน

เพื่อควบคุมหนอนกินใบและเพลี้ยอ่อนตลอดช่วงระยะการเจริญเติบโตโดยการพ่น ให้พ่นให้ทั่ว โดยเน้นบริเวณใต้ใบเนื่องจากแมลงศัตรูกะหล่ำมักอาศัยอยู่บริเวณใต้ใบ และใต้ใบยังช่วยในการพรางแสงอาทิตย์ทำให้เชื้อรามีชีวิตอยู่ได้นานขึ้นได้อีกด้วย

3.2 ตระกูลพริก- มะเขือ (Family Solanaceae)

มะเขือเทศ

มะเขือเทศเป็นพืชชนิดหนึ่งที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหารมากมายหลากหลาย ได้แก่ วิตามินซี วิตามินเอ โปรแทสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แร่ธาตุอื่นๆ และไลโคปิน สารช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ แต่การปลูกมะเขือเทศมักพบมีแมลงศัตรูทำลายเริ่มตั้งแต่ระยะกล้าโดยมีแมลงศัตรูที่สำคัญได้แก่แมลงหวี่ขาว หนอนชอนใบ เพลี้ยไฟ และ หนอนเจาะฝัก (ภาพที่ 5.12)



ภาพที่ 5.12 แมลงศัตรูในแต่ละระยะของการปลูกมะเขือเทศ

มีรายงานการใช้เชื้อรากำจัดแมลงควบคุมแมลงหวี่ขาว สิริญา และคณะ (2554) ได้มีการคัดเลือกเชื้อราเพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาวโรงเรือน *Trialeurodes vaporariorum* พบว่าเชื้อรา 4 สกุลจำนวน 25 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อราสกุล *Aschersonia* จำนวน 5 ไอโซเลต เชื้อราสกุล *Beauveria* จำนวน 9 ไอโซเลต เชื้อราสกุล *Lecanicillium* จำนวน 4 ไอโซเลต และเชื้อราสกุล *Isaria* จำนวน 7 ไอโซเลต พบว่า เชื้อราสกุล *Isaria* ไอโซเลต 6073 มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวโรงเรือนตายจากเชื้อราได้มากที่สุด (ภาพที่ 5.13) ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการ ส่วน เยาวลักษณ์ และคณะ (2553) พบว่า เชื้อราไอโซเลท

เดียวกันนนั้นมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในโรงเรือนและสามารถเพิ่มปริมาณได้มากด้วยวิธีการที่ไม่ยุ่งยาก



ภาพที่ 5.13 แมลงหวี่ขาว ถูกทำลายด้วยเชื้อรา *Isaria*

ที่มา : สิริญา และคณะ (2554)

ส่วน Richter *et al.* (2007) รายงานถึงประสิทธิภาพของการใช้เชื้อราควบคุมหนอนชอนใบ *Camereria ohridella* ส่วน Chandler *et al*. (2005) ได้ศึกษา เชื้อรา 41 ไอโซเลต จาก 25 สกุล ในการควบคุมไรสองจุด *Tetranychus urticae* ในมะเขือเทศ พบว่า มี เชื้อ 3 ไอโซเลต จากสกุล *Metarhizium*, H*irtsutella* และ *Lecanicillium* มีความสามารถในการควบคุมไรสองจุด สำหรับในสหรัฐอเมริกาได้มีการพัฒนาเชื้อ *B. bassiana* เป็นรูปการค้าเพื่อใช้ในการควบคุมไรสองจุด และไรในมะละกอ นอกจากนี้ *B. bassiana* ยังมีประสิทธิภาพในการ ควบคุมไรส้ม *Phyllocoptruta oleivora* ทิพย์วดี และคณะ (2553) รายงานว่าเชื้อรากำจัดแมลงมีศักยภาพในการควบคุมกำจัดเพลี้ยไฟ แมลงศัตรูสำคัญของมะขือเทศ เป็นแมลงที่ดูดน้ำเลี้ยงที่ใบ ทำให้ใบหงิกงอ เหลืองซีด ทำให้มะเขือเทศ แคระแกรน ไม่ได้ผลผลิต จึงควรมีการพ่นเชื้อรากำจัดแมลงบริเวณใต้ใบตั้งแต่ย้ายกล้าปลูกจนกระทั่งเก็บเกี่ยว โดยระยะเวลาการพ่นทุก ๆ 7-10 วัน เพื่อควบคุมแมลงไม่ให้มีปริมาณมากจนเกิดความเสียหายกับมะเขือเทศได้ตลอดระยะเวลาการปลูก

พริก

พริกนอกจากเป็นพืชผักที่มีความสำคัญในทางเศรษฐกิจพืชหนึ่งของประเทศไทยแล้วยังสำคัญกับวิถีชีวิตของคนไทย แต่การปลูกพริกมักประสบปัญหาการเก็บผลผลิตได้ไม่เต็มที่ เนื่องจากมีปัญหาในเรื่องของแมลงศัตรูพริกรบกวนตลอดเวลาตั้งแต่ระยะเพาะกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยว แมลงศัตรูพริกที่พบบ่อยและเป็นปัญหาหลักได้แก่ เพลี้ยไฟ ไรขาว แมลงวันพริก และเพลี้ยอ่อนได้ มาลี และคณะ (2551, 2552) มีการนำเชื้อรากำจัดแมลง จำนวน 5 สกุล 8 ชนิด 46 ไอโซเลต ได้แก่ *Ascesersonia samoensis*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium flavoviride*, *Isaria farinosus*, *I.*

fumosoroseus, *I. tenuipes* และ *Lecanicillium lacanaii* ที่เก็บรวบรวมและคัดแยกเชื้อจากสิ่งอาศัย (host) ต่าง ๆ ในประเทศไทย นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยไฟ *Scirtothrips dorsalis* Hood ไรขาว *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) และแมลงวันพริก *Bactocera latifrons* Hendel พบว่าเชื้อราทั้งหมดมีความสามารถในการทำให้เพลี้ยไฟพริกตายได้ทุกไอโซเลต โดยพบจำนวน 6 ไอโซเลตที่มีความรุนแรงสูงในการทำให้เพลี้ยไฟตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5.5) ส่วนความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับไรขาว พบว่า ไม่ทุกไอโซเลตของเชื้อราที่ทำให้ไรขาวเกิดโรคโดยพบเพียงเชื้อรา *M. flavoviride* ไอโซเลต 5744 มีความรุนแรงสูงที่สุดในการทำให้ไรขาวเกิดโรคตาย (ตารางที่ 5.6) ส่วนแมลงวันพริก เชื้อ *Beauveria bassiana* มีความสามารถในการทำให้แมลงวันพริกเกิดโรคตายได้มากที่สุด 93.34% เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราไอโซเลตอื่น ๆ (ตารางที่ 5.7)

ตารางที่ 5.5 ค่า LC_{50} และ LT_{50} ของเชื้อรากำจัดแมลงต่อเพลี้ยไฟ *Scirtothrips dorsalis*

Species	Isolate no.	LC_{50}±SE	LT_{50}
Beauveria bassiana	Bb.5335	2.57 ± 1.38 x10^4	3.63± 0.5
	Bb.6241	3.55 ± 0.24x10^4	3.63± 0.4
Metarhizium anisopliae	Ma.4849	4.37 ± 1.82x10^4	4.50± 0.1
	Ma.7965	2.63 ± 0.09 x10^4	3.76± 0.1
	Ma.6171	4.27 ± 1.35x10^4	3.93± 0.4
Isaria fumosoroseus,	Pfu.5338	3.89 ±1.47 x10^4	4.04± 0.2

ที่มา : มาลี และคณะ (2551)

ตารางที่ 5.6 ค่า LC_{50} และ LT_{50} ของเชื้อรากำจัดแมลงต่อไรขาว *Polyphagotarsonemus latus*

Species	Isolate no.	LC_{50}±SE	LT_{50}±SE
Metarhizim flavoviride	Mfl.5744	7.47 ± 1.26x10^4	4.04 ± 0.4
	Mfl.1164	1.78 ±1.30 x10^7	4.25 ± 0.5
Metarhizium anisopliae	Ma.6171	2.63 ± 0.67 x10^5	3.63 ± 0.1
Beauveria bassiana	Bb.2637	2.16 ± 0.28 x10^5	5.15 ± 0.2
	Bb.6988	4.82 ± 0.31x10^6	3.76± 0.5

ที่มา : มาลี และคณะ (2551)

ตารางที่ 5.7 ค่า LC_{50} ของเชื้อรากำจัดแมลงต่อหนอนระยะสุดท้ายแมลงวันพริก *Bactocera latifrons*

Species	Isolate no.	LC_{50}±SE
	Bb.5335	$(2.39\pm0.09)x10^4$
Beauveria bassiana	Bb.6241	$(3.89\pm0.24)x10^4$
	Bb.6988	$(8.91\pm2.39)\ x10^4$
Isaria fumosoroseus	Pfu.2507	$(6.61\pm1.35)x10^4$
Metarhizium anisopliae	Ma.7965	$(1.15\pm0.09)X10^5$
Isaria tenuipes	Pt.8003	$(1.00\pm1.82)\ x10^5$

ที่มา : มาลี และคณะ (2552)

ผลของการให้หนอนวัยสุดท้ายได้รับเชื้อรา Bb.5335 ที่ระดับความเข้มข้น $2.40x10^4$ โคนิเดียต่อ มล.พบว่า เชื้อรามีผลต่อการลดการวางไข่ของแมลงวันพริก 65% และหนอนแมลงวันพริกมีเปอร์เซ็นต์การตายสูงถึง 80.03% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม สำหรับการควบคุมเพลี้ยไฟ *S. dorsalis* จำนวน 3 ไอโซเลต ไรขาวจำนวน 1 ไอโซเลต แมลงวันพริก จำนวน 3 ไอโซเลต ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีความแตกต่างกัน การนำเชื้อรามาใช้ในการควบคุมเพลี้ยไฟและไรขาวได้ผลดีเมื่อมีการพ่นลงบนใบพืชที่เพลี้ยไฟและไรขาวอาศัยอยู่ แต่สำหรับการคบคุมแมลงวันพริกควรมีการใช้ทางดินเพื่อเป็นการตัดวงจรชีวิตของแมลงวันพริก

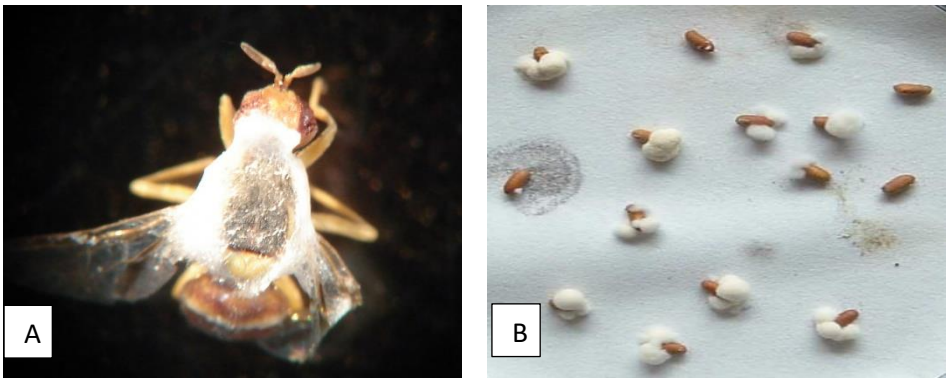
เชื้อรากำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพในสภาพห้องปฏิบัติการแต่เมื่อนำไปใช้จริงในสภาพแปลงที่สภาพแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาอาจมีผลต่อประสิทธิภาพของเชื้อรา ดังนั้นจึงได้มี การหาวิธีการใช้เชื้อรากำจัดแมลงและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการควบคุมศัตรูพริกที่สำคัญที่ระบาดเป็นประจำ ได้แก่ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ ไรขาว และแมลงวันพริกในสภาพแปลง โดยการศึกษาหาวิธีการใช้ในสภาพแปลงที่สามารถลดความเสียหายจากศัตรูพริกได้ ผลการทดลองพบว่า ในกรรมวิธีที่มีการพ่นเชื้อราเมื่อศัตรูพริกตัวใดตัวหนึ่งถึงค่าระดับเศรษฐกิจ ระดับความเสียหายของแมลงอยู่ในระดับ 1 คือ ความเสียหายน้อยกว่า 25% ต่ำกว่าการพ่นเชื้อราทุก ๆ 2 สัปดาห์ ที่มีระดับความเสียหายที่ระดับ 2 คือ ความเสียหายที่ 25 - 50% ซึ่งมีความเสียหายไม่แตกต่างจากกกรรมวิธีควบคุม ส่วนการควบคุมแมลงวันพริกนั้น มีการใส่เชื้อราก่อนปลูกพริก และใส่ซ้ำทุก ๆ เดือน สามารถลดความเสียหายจากแมลงวันพริกได้ แต่ต้องใช้ร่วมกับวิธีกล คือ ต้องมีการเก็บเมล็ดพริกที่ร่วงจากการทำลายของแมลงวันพริกออกจากแปลง (มาลี 2560a) แต่อย่างไรก็ตามการพ่นตามระดับเศรษฐกิจ เป็นวิธีการที่ไม่เหมาะสมสำหรับเกษตรกรโดยทั่วไปที่จะทำได้ จึงได้ปรับมาเป็นการพ่นเชื้อรากำจัดแมลงทุก ๆ สัปดาห์หลังการย้ายกล้าพริกได้ 2

สัปดาห์จนถึงระยะเก็บเกี่ยว พบสามารถลดความเสียหายจากการทำลายของแมลงศัตรูพริกได้กว่ากรรมวิธีควบคุม

4. ไม้ผล

แมลงวันผลไม้ หรือแมลงวันทอง *(Bactocera dorsalis* Hendel) เป็นศัตรูสำคัญของไม้ผลเกือบทุกชนิดในประเทศไทย มีรายงานว่าแมลงวันผลไม้มีพืชอาหารต่าง ๆ ประมาณ 150 ชนิด (กองกีฏและสัตววิทยา 2544) จึงทำให้แมลงวันผลไม้มีอาหารอุดมสมบูรณ์สามารถขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณได้ตลอดเวลา แมลงวันผลไม้จึงระบาดรุนแรงอย่างต่อเนื่องได้ตลอดทั้งปี การทำลายของแมลงวันผลไม้เป็นการทำลายผลผลิตโดยตรงจึงไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ หรือเก็บได้แต่ผลผลิตคุณภาพต่ำขายไม่ได้หรือขายได้แต่ไม่ได้ราคา ความเสียหายที่เกิดขึ้นไม่เพียงแต่เกิดก่อนเก็บเกี่ยวในแปลงเท่านั้น แต่มีผลต่อเนื่องมาจนถึงภายหลังการเก็บเกี่ยวอีกด้วย ความเสียหายที่เกิดขึ้นกับผลผลิตมีได้ถึง 100% เกษตรกรมีความพยายามที่จะป้องกันกำจัดแต่ไม่สามารถลดความเสียหายจากแมลงวันผลไม้ลงได้ ยังคงเป็นปัญหาตั้งแต่ระดับชุมชนจนถึงประเทศ ถึงแม้จะใช้สารเคมีสังเคราะห์ แต่การใช้สารเคมีสังเคราะห์ มีข้อจำกัดหลายประการ กล่าวคือ สารเคมีประเภทถูกตัวตาย หรือกินตายไม่ได้ผลในการป้องกันกำจัด เพราะตัวหนอนที่เป็นตัวการทำลายผลผลิตนั้นเจริญอยู่ภายในผลไม้ และการที่แมลงวันผลไม้ทำลายผลผลิตในระยะให้ผล สารเคมีฆ่าแมลงที่ใช้ต้องมีฤทธิ์ตกค้างสั้น ทำให้ต้องมีการพ่นสารฆ่าแมลงอย่างน้อยทุกสัปดาห์ จึงทำให้เกิดผลเสียตามมามากมาย ทั้งเกิดพิษตกค้างในสภาพแวดล้อม แมลงต้านทานสารฆ่าแมลง และยังมีผลเสียต่อผู้ผลิต ผู้บริโภค และสภาพแวดล้อม ที่ไม่สามารถประเมินค่าได้อีกด้วย นอกจากนี้ ยังทำให้ในแต่ละปีประเทศต้องสูญเสียเงินตราออกนอกประเทศเป็นจำนวนมาก เนื่องจากการนำเข้าสารเคมีสังเคราะห์จากต่างประเทศคิดเป็นมูลค่านับหมื่นล้านบาทต่อปี และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุก ๆ ปี ตลอดจนการใช้สารเคมีฆ่าแมลงในไม้ผลยังเป็นอุปสรรคอย่างสำคัญยิ่งต่อการส่งออกผลไม้ไทยตามมาตรการด้านสุขอนามัยพืช ที่ประเทศต่าง ๆ ของสมาชิกองค์การค้าโลก (WTO) ได้ยึดเป็นมาตรฐานและระเบียบปฏิบัติสากล แต่หากพิจารณาชีววิทยาของแมลงวันผลไม้และสภาพแวดล้อมที่แมลงวันผลไม้อาศัยเป็นผลดีต่อการใช้เชื้อรากำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดเป็นอย่างมาก กล่าวคือ ตัวหนอนที่อาศัยอยู่ในผลไม้เมื่อถึงระยะสุดท้ายจะทิ้งตัวลงมาบริเวณโคนต้นไม้ผลเพื่อเปลี่ยนคราบเป็นดักแด้อยู่ในดินในระยะนี้ตัวหนอนจะอยู่นิ่ง ๆ แล้วค่อย ๆ เปลี่ยนคราบเป็นดักแด้ ช่วงระยะเวลาดังกล่าวเพียงพอที่ทำให้เชื้อราเข้าทำลาย และระยะที่แมลงมีการลอกคราบจะเป็นระยะที่แมลงอ่อนแอที่สุด จึงทำให้เกิดการติดเชื้อได้ง่าย ประกอบกับบริเวณโคนต้นไม้ผลจะมีร่มเงาที่ช่วยป้องกันแสงอัลตราไวโอเลตให้กับเชื้อราได้เป็นอย่างดีและยังมีความชื้นที่เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เชื้อราคงทนอยู่ได้ มะม่วงก็เป็นผลไม้ที่พบมีแมลงวันผลไม้ทำลายมากที่สุดชนิดหนึ่ง ผลจากการศึกษาของมาลีและคณะ (2550) ได้ทำการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อรากำจัดแมลงสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทยจาก 4 สกุล 6

ชนิด 50 ไอโซเลต พบว่าเชื้อรา *Beauveria bassiana* ไอโซเลต 6241 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมแมลงวันผลไม้ ชนิด *Bactocera dorsalis* Hendel ได้ดี โดยเมื่อหนอนระยะสุดท้ายก่อนเปลี่ยนคราบลงในดินได้รับเชื้อราที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร เชื้อรานั้นสามารถทำให้ดักแด้ตายได้ 100 % และเมื่อหนอนระยะสุดท้ายได้รับเชื้อราที่ระดับความเข้มข้น $1x10^4$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาณไม่มากพอที่ทำให้ดักแด้ตาย แต่ดักแด้ที่ได้รับเชื้อนั้นเหล่านั้น ไม่สามารถลอกคราบออกเป็นตัวเต็มวัยได้หรือเมื่อลอกคราบเป็นตัวเต็มวัยได้ ตัวเต็มวัยนั้นไม่สมบูรณ์ จึงลดปริมาณการวางไข่ ได้มีการนำเชื้อราไอโซเลทดังกล่าวมาศึกษาหาวิธีการเพิ่มปริมาณอย่างง่ายเพื่อให้ได้เชื้อราปริมาณได้มาก ต้นทุนต่ำ และยังคงประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันผลไม้ พบว่าเชื้อราสามารถเจริญเพิ่มปริมาณได้ดีในเมล็ดธัญพืชเกือบทุกชนิด (มาลี และคณะ 2550) และจากการนำผลการทดลองที่ได้จากห้องปฏิบัติการไปทดสอบในแปลงมะม่วง ที่อัตรา 100 กรัมต่อตารางเมตร พบว่าสามารถลดจำนวนแมลงวันผลไม้ลงได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ไม่ได้มีการใช้เชื้อรา และจากการหาความมีชีวิตของเชื้อราหลังจากใส่ลงในดิน พบว่าเชื้อราสามารถคงทนอยู่ได้ในดินส่วนปริมาณและระยะเวลาในการคงทนนั้นขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมของสวนและองค์ประกอบของดิน (มาลี และคณะ 2551) นอกจากนี้ เมื่อมีการขยายผลการใช้เชื้อรา เพื่อไปควบคุมแมลงวันผลไม้ของพืชอื่น ๆ ได้แก่ ฝรั่ง และชมพู่ พบว่า กรรมวิธีที่มีการใส่เชื้อรามีปริมาณแมลงวันผลไม้น้อยกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่อย่างเห็นได้ชัดเจน และในสภาพสวนที่มีการจัดการที่ดีพบปริมาณแมลงวันผลไม้ น้อยกว่าแปลงที่ไม่มีการจัดการ สำหรับความคงทนของเชื้อราในดิน พบว่าปริมาณของเชื้อราในดินเพิ่มขึ้นตามปริมาณเชื้อราที่ใส่ลงไปในดินที่เพิ่มขึ้น สวนที่มีการจัดการที่ดี มีการกำจัดวัชพืช ให้น้ำอย่างสม่ำเสมอมีปริมาณเชื้อราคงทนในดินน้อยกว่าสวนที่ไม่มีการจัดการ นอกจากนี้จากผลการทดลองยังพบว่าแปลงที่มีการปลูกไม้ผลชนิดเดียวในพื้นที่เดียวกันได้แก่ เมื่อหมดฤดูที่ไม้ผลให้ผลผลิต ปริมาณแมลงวันผลไม้ลดลงเป็นศูนย์ เปรียบเทียบกับ แปลงที่มีการปลูกไม้ผลหลายชนิดที่ให้ผลผลิตตลอดปี พบปริมาณแมลงวันผลไม้สูงตลอดปี (มาลี และคณะ 2553 2554) อีกทั้งเชื้อราสามารถคงทนอยู่ได้ในสภาพธรรมชาติ เห็นได้จากความหนาแน่นของเชื้อราจากการหาความมีชีวิตของเชื้อราในดิน (CFU) เพิ่มขึ้นในทุก ๆ เดือน โดยแปลงที่ทรงพุ่มกว้างและหนาแน่นจะมีความคงทนของเชื้อราได้มากกว่าแปลงที่ทรงพุ่มแคบ (มาลี และคณะ 2555)



ภาพที่ 5.14 (A) ลักษณะตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ที่ถูกทำลายด้วยเชื้อรา

(B) ดักแด้แมลงวันผลไม้ถูกทำลายด้วยเชื้อรา

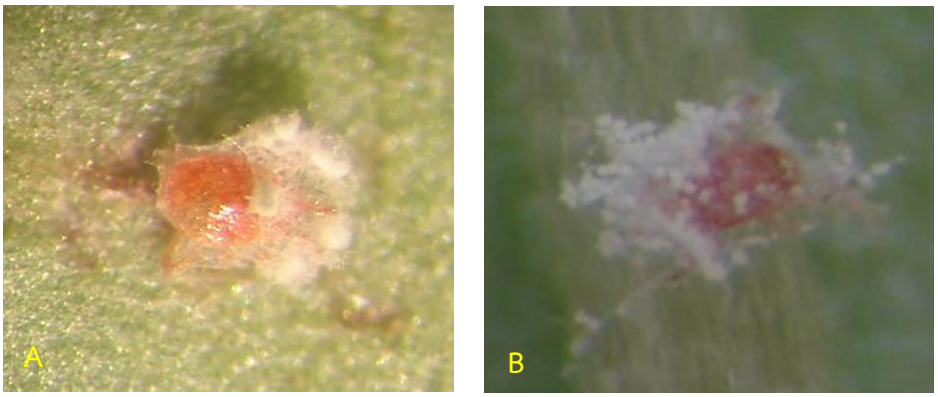
5. ไม้ดอก ไม้ประดับ

กุหลาบเป็นไม้ตัดดอกที่มีการปลูกเป็นการค้ากันแพร่หลายมานานแล้ว และมีการซื้อขายเป็นอันดับหนึ่งในตลาดประมูลไม้ดอกปัจจุบัน ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกุหลาบตัดดอกประมาณ 5,500 ไร่ กระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ แหล่งปลูกที่สำคัญ ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย ตาก นครปฐม สมุทรสาคร ราชบุรี และกาญจนบุรี การผลิตกุหลาบในประเทศไทยแบ่งได้เป็น 2 ลักษณะ คือ การผลิตกุหลาบในเชิงปริมาณ ที่ปลูกในพื้นที่ขนาดใหญ่ ซึ่งให้ผลผลิตมีปริมาณมาก แต่ผลผลิตไม่ได้คุณภาพ เช่น ดอกและก้านมีขนาดเล็ก มีตำหนิจากโรคและแมลง หรือการขนส่ง อายุการปักแจกันสั้น ทำให้ราคาต่ำ ส่วนการผลิตกุหลาบเชิงคุณภาพ นิยมปลูกในเขตภาคเหนือ และบนที่สูง โดยปลูกกุหลาบภายใต้โรงเรือนพลาสติกในพื้นที่จำกัด มีการจัดการการผลิตและการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวที่ดี ใช้แรงงานที่ชำนาญ ทำให้กุหลาบที่ได้มีคุณภาพดี และปักแจกันได้นาน ผลผลิตในประเทศยังไม่เพียงพอ และขาดความต่อเนื่องทำให้ยังต้องนำเข้าดอกกุหลาบจากต่างประเทศ เช่น เนเธอร์แลนด์ และมาเลเซีย เป็นต้น กุหลาบจัดว่าเป็นไม้ดอกที่ดูแลรักษายากชนิดหนึ่งเนื่องจากมีศัตรูพืชหลายชนิด ได้แก่ ไรแดง (Spider mite) เพลี้ยไฟ (Thrips) หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Heliothis armigera*) หนอนกระทู้หอม (Onion cutworm : *Spodoptera exigua*) ด้วงกุหลาบ (Rose beetle : *Adoretus compressus*) เพลี้ยหอย (scale insect : *Aulucaspis rosae*) และเพลี้ยอ่อน (Aphids : *Macrosiphum rosae* และ *Myzaphis rosarum* เป็นต้น ซึ่งไรแดงหรือไรแมงมุม *Eutetranychus oirentalis* (Klein), *Tetranychus piercei* Mcgregor, *Tetranychus hydrageae* Pritchard and Baker และ *Tetranychus truncates* Ehara เป็นศัตรูพืชสำคัญชนิดหนึ่งในพื้นที่ปลูกกุหลาบขนาดใหญ่ พบมีไรแดงทำลายอย่างรุนแรง เกษตรกรเลือกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดไรแดงเป็นวิธีแรกและฉีดพ่นติดต่อกันหลายครั้งจนไรแดงดื้อสารเคมีเป็นผลให้การใช้สารเคมี

ไม่สามารถลดความเสียหายที่เกิดกับต้นกุหลาบได้ ดังนั้นการใช้เชื้อรากำจัดแมลงจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัย เพราะสามารถใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชได้ทั้งแมลงกลุ่มปากกัดและปากดูด แมลงขนาดเล็กและขนาดใหญ่ในทุกระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนถึงตัวเต็มวัย และเมื่อแมลงตายเชื้อรากำจัดแมลงสามารถแพร่กระจายได้ในธรรมชาติและสปอร์มีความคงทนในสภาพแวดล้อม ดิน หรือวัสดุปลูก จึงสามารถเข้าทำลายแมลงได้ต่อเนื่อง มาลี (2560b) พบว่า เชื้อรากำจัดแมลง จำนวน 9 ไอโซเลต ที่ประกอบด้วยเชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ทุกไอโซเลตมีความสามารถทำให้ไรแดงกุหลาบตายได้ ร้อยละ 75.56-100 (ตารางที่ 5.8 ภาพที่ 5.15) ซึ่งหากมีการนำไปใช้ควรพ่นบริเวณใต้ใบกุหลาบเพราะไรแดงอาศัยอยู่ใต้ใบและควรพุ่น ทุก ๆ 7-10 วัน เพื่อการควบคุมปริมาณไรแดงกุหลาบไม่ให้ถึงระดับเศรษฐกิจ

ตารางที่ 5.8 เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงของไรแดงกุหลาบเนื่องจากเชื้อราสาเหตุโรคแมลง ระยะ 3 วัน หลังการพ่นเชื้อรา

ชนิดเชื้อรา	ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง[1/]
Beauveria bassiana	HL 1	98.89
	HL 2	87.78
	HL 3	86.67
	HL 4	75.56
	HL 5	84.44
	HL 6	88.89
	HL 7	91.11
	HL 8	93.33
	HL 9	100
	HL 10	94.44
Metarhizium anisopliae	HL 11	87.78
	HL 12	97.78



ภาพที่ 5.15 ไรแดงถูกทำลายด้วยเชื้อรากำจัดแมลง

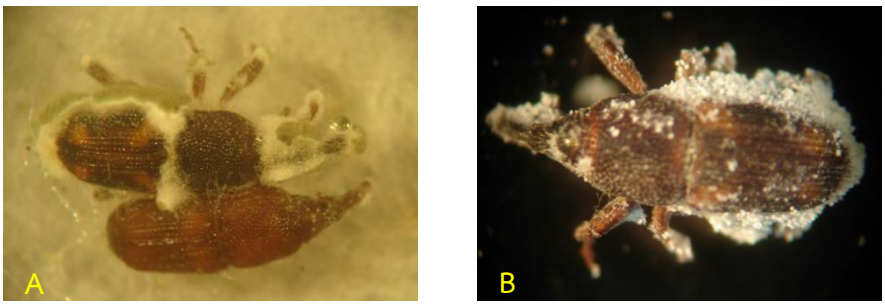
(A) *Metarhizium anisopliae* (B) *Beauveria bassiana*

6. แมลงศัตรูในโรงเก็บ

ในต่างประเทศมีรายงานการใช้เชื้อรากำจัดแมลงควบคุมแมลงศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยวอย่างกว้างขวาง เช่น Khashaveh *et al.* (2011) พบว่าเชื้อรา *Beauveria bassiana* รูปแบบผง อัตรา 1,000 mg kg^{-1} มีประสิทธิภาพในการควบคุม *Tribolium castaneum*, *Sitophilus granarius* และ *Oryzaephilus surinamensis* ได้ 88.33±3.96, 78.31±2.15 and 64.99±4.4% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อ *B. bassiana* มีผลในการควบคุม *Rhyzopertha dominica* ได้เช่นกัน Sebal (2011) พบว่าการตายของ *R. dominica* เพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราส่วนเชื้อราในการคลุกเมล็ดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรายังมีผลต่อการวางไข่และฟักไข่ของ *R. dominica* โดยทำให้ไข่ไม่ฟักได้ถึง 100% เช่นเดียวกัน Lord (2005) รายงานว่า เชื้อ *B. bassiana* ทำให้ *R. dominica* ตายได้เช่นกัน และยังพบว่าความชื้นในอากาศไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การตาย Hafez (2011) ทดลองเชื้อ *B. bassiana* ต่อ *Tribolium confusum* (Duval) บนแป้งข้าวสาลี พบว่า เชื้อราดังกล่าวสามารถควบคุม *T. confusum* ที่ทำลายแป้งข้าวสาลีได้จากรายงาน ของ Wakefield (2006) พบว่า ทั้ง *O. surinamensis* และ *T. confusum* สามารถควบคุมได้ด้วยเชื้อรา *B. bassiana* แต่ *O. surinamensis* จะมีความอ่อนแอมากกว่า ส่วน Maria *et al*. (2006) รายงานว่า เชื้อรา *M. anisopliae* มีประสิทธิภาพในการควบคุม *T. confusum* ได้ นอกจากนี้ Kavallieratos *et al.* (2006) ได้ศึกษาการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ควบคุมแมลงศัตรูข้าว 3 ชนิด ได้แก่ *R. dominica*, *S. oryzae* และ *T. confusum* และจากงานวิจัยของ Ahmed (2010) พบว่า ทั้งเชื้อรา *M. anisopliae, Lecaniicillium lecanii* และ *Isaria lilacinus* มีศักยภาพในการนำมาใช้ควบคุม *Sitophilus zeamais* ได้แต่ขึ้นอยู่กับไอโซเลตของเชื้อราที่นำมาทดสอบ

นอกจากนี้มีนักวิจัยอีกหลายท่านได้ศึกษาการใช้เชื้อราเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูในโรงเก็บ (Athanassiou และ Steenberg, 2007; Akbar *et al*., 2004; Cox *et al*. 2003; Rice และ Cogburn, 1999; Lord, 2005, 2007; Mahdneshin *et al*. 2009; Kavallieratos *et al.,* 2006) ส่วน Steenberg (2005) ศึกษาถึงความปลอดภัยของการใช้เชื้อรากำจัดแมลงในโรงเก็บ พบว่าเมื่อมีการใช้เชื้อรากำจัดแมลงในโรงเก็บไม่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย

ส่วนในประเทศไทยพบการศึกษาของประวิทย์ (2555) รายงานว่า เชื้อรากำจัดแมลงมีศักยภาพในการควบคุมด้วงงวงข้าวโพดได้ สุมน (2557) ได้มีการพัฒนาสูตรสำเร็จเชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* เพื่อการใช้ควบคุมด้วงงวงข้าวโพดแมลงศัตรูในโรงเก็บ โดยการทำเป็นสูตรสำเร็จชนิดผงที่มีการใช้ทัลคัมและดินเบาเป็นสารพา ผลการทดลองพบว่า ทั้งเชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* อัตราส่วนต่อสารพาที่เหมาะสม คือ 1 : 2 โดยที่ระยะ 5 เดือนแรก ทัลคัมและดินเบาไม่มีผลต่อความมีชีวิตของเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* แต่อัตราส่วนเชื้อรา : ดินเบาที่มากกว่า 1 : 1 ขึ้นไป มีผลต่อความงอกของเชื้อราหลังการเก็บรักษาผ่านไป 5 เดือน สำหรับประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงงวงข้าวโพดพบว่า เชื้อราทั้งสองชนิดที่ทุกสารพาและทุกอัตราส่วน ที่ 1 : 1 1 : 2 และ 1 : 3 ทำให้ด้วงงวงข้าวโพดตาย (ภาพที่ 5.16) ได้ไม่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามที่อัตราส่วน เชื้อรา : สารพาที่ 1 : 2 ให้เปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุดที่ 95% สำหรับอัตราการใช้สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมในสภาพโรงเก็บคือ สูตรสำเร็จเชื้อรา : เมล็ดข้าวโพดที่ 1 : 100 โดยน้ำหนัก คลุกให้เมล็ดกับสูตรสำเร็จเชื้อราเข้ากันให้ดี สูตรสำเร็จที่เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ผสมดินเบาอัตรา 1 : 2 พบเมล็ดข้าวโพดมีเปอร์เซ็นต์ความเสียหายน้อยที่สุดที่ 1.51% แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่พบความเสียหายของเมล็ดข้าวโพดที่ 43.37% เมื่อเก็บเมล็ดข้าวโพดไว้ 5 เดือน โดยที่เชื้อราและสารพาไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ดข้าวโพด



ภาพที่ 5.16 การตายของด้วงงวงข้าวโพดจากเชื้อรา

(A) *Metarhizium anisopliae* (B) *Beauveria bassiana*

7. ป่าไม้

ไม้สัก เป็นไม้ที่นิยมนำมาปลูกสร้างสวนป่าเพื่อหวังผลทางเศรษฐกิจ แต่ปัจจุบันสวนป่าสักยังประสบปัญหาแมลงศัตรูพืชป่าไม้เข้าทำลายถึง 72 ชนิด แมลงศัตรูต้นสักที่สำคัญที่สุดคือ หนอนผีเสื้อเจาะลำต้นสัก (*Xyleutes ceramicus* Walker) เป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดใหญ่ ยาวประมาณ 6 เซนติเมตร ลอกคราบออกเป็นตัวเต็มวัยในช่วงปลายเดือนกุมภาพันธุ์ถึงกลางเดือนมีนาคม สามารถผสมพันธุ์ได้ตั้งแต่คืนแรกหลังออกมาจากดักแด้ จับคู่ผสมพันธุ์กันนาน 5-20 ชั่วโมง หลังจากนั้นประมาณ 5-7 ชั่วโมง จึงวางไข่ ลักษณะการวางไข่เป็นกลุ่ม สามารถวางได้ไข่นาน 4-5 วัน ไข่มีสีเหลืองสด ไข่แต่ละฟองติดกันแน่นเคลือบด้วยสารเหนียว ตัวเต็มวัยมีชีวิตอยู่ได้ประมาณ 7 วัน ไข่มีอายุประมาณ 14-20 วันจะฟักออกเป็นตัวหนอน หลังจากนั้นตัวหนอนจะเจาะเข้าไปอยู่กินภายในต้นสักเป็นเวลา 8-10 เดือน และเข้าดักแด้อยู่ในต้นสัก 3-4 สัปดาห์ แล้วลอกคราบออกมาเป็นผีเสื้อกลางคืน ลักษณะการทำลายของหนอนผีเสื้อเจาะลำต้นสักนี้ทำให้ต้นสักเกิดรูตำหนิทำให้คุณภาพไม้สักลดลงไป ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากสภาพแวดล้อมของป่าไม้สักแล้ว เชื้อรากำจัดแมลงมีแนวโน้มมีศักยภาพ เนื่องจากในป่ามีสภาพร้อนชื้นเหมะสมกับดำรงอยู่การเจริญของเชื้อรา อีกทั้งป่ามีร่มเงาที่ช่วยบังแสงอาทิตย์ให้กับเชื้อราอีกด้วย Krisana (2013) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ในการทำให้เกิดโรคกับผีเสื้อหนอนเจาะต้นสัก โดยการใช้เครื่องพ่นหมอกควันพ่นเชื้อรา *B. bassiana* ไปที่ต้นสักในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงกลางเดือนมีนาคม พบมีผีเสื้อสักเกิดโรคตายเนื่องจากเชื้อรา (ภาพที่ 5.17)

ในการควบคุมผีเสื้อหนอนเจาะต้นสัก ควรพ่นเชื้อราตั้งแต่ต้นเดือนกุมภาพันธ์ ถึงสิ้นเดือนมีนาคมเป็นต้นไปด้วยเครื่องพ่นหมอกให้ละอองเชื้อราติดตามลำต้นเพื่อฆ่าไข่และฟุ้งกระจายไปในอากาศเพื่อกำจัดตัวเต็มวัย



ภาพที่ 5.17 ลักษณะผีเสื้อสักที่ถูกทำลายด้วยเชื้อรา *Beauveria bassiana*

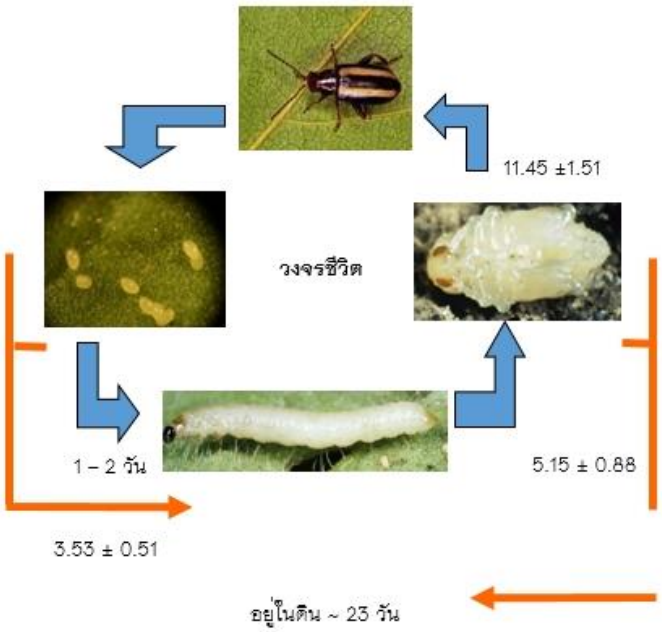
เทคนิคการใช้เชื้อรากำจัดแมลงในแต่ละกลุ่มแมลง

ในที่นี้จะไม่กล่าวถึงแมลงที่ทำลายใบ ดอก ที่มีช่วงชีวิตอยู่บนใบหรือดอกของพืช เพราะการควบคุมแมลงเหล่านั้น ควรพ่นเชื้อราต่อเนื่องให้เชื้อราคงอยู่บริเวณใต้ใบ

1. แมลงที่มีวงจรชีวิตส่วนหนึ่งอยู่ในดิน เช่น ด้วงหมัดผัก แมลงวันผลไม้ และจิ้งหรีด

ด้วงหมัดผัก (flea beetle; *Phyllotreta* spp.)

วงจรชีวิตของด้วงหมัดผัก (ภาพที่ 5.18) ตั้งแต่ระยะไข่จนถึงระยะดักแด้อยู่ในดิน ประมาณ 35 วัน ซึ่งมีระยะเวลาเพียงพอที่สามารถใช้เชื้อรากำจัดแมลงกำจัดได้ เนื่องจากการเจริญเติบโตของแมลงในแต่ละระยะมีการลอกคราบ และช่วงเวลาที่แมลงลอกคราบเป็นช่วงที่แมลงอ่อนแอที่สุด ดังนั้นเมื่อมีการใช้เชื้อรากำจัดแมลงลงไปในดินจึงทำให้เชื้อราสามารถเข้าทำลายด้วงหมัดผักได้ตั้งแต่ระยะไข่ หนอน ดักแด้ อันเป็นการตัดวงจรชีวิตซึ่งจะส่งผลให้ลอกคราบเป็นตัวเต็มวัยได้ เมื่อไม่มีตัวเต็มวัย ไม่มีมีการวางไข่ ด้วงหมัดผักก็จะลดลงในที่สุดอันเป็นการแก้ปัญหาที่ต้นเหตุอย่างแท้จริง อีกทั้งเมื่อตัวเต็มวัยลอกคราบออกมาจากดินก็สามารถมีสปอร์ของเชื้อราติดมาด้วยซึ่งส่งผลต่อการวางไข่และต่อรุ่นลูกต่อไปได้ อีกทั้งสภาพแวดล้อมบริเวณแปลงผักยังช่วยส่งเสริมการเข้าทำลายของเชื้อราได้ดี กล่าวคือความชื้นที่อยู่ในแปลงผักจะช่วยให้สปอร์ของเชื้อรางอกและแทงทะลุเข้าไปในตัวแมลงได้ดี ส่วนร่มเงาของพืชผักก็จะช่วยป้องกันแสงอัลตราไวโอเลตที่เป็นจุดอ่อนของการใช้เชื้อราได้ มาลี และสุเทพ (2552) ได้ทดสอบหาประสิทธิภาพของเชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผัก พบว่าเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* มีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผักทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพแปลง อีกทั้ง Milner *et al.* (2003) รายงานว่า เชื้อรากำจัดแมลงสามารถคงทนอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมนานเป็นปี ๆ เมื่อใดที่สภาพแวดล้อมเหมาะสมจะกลับมาระบาดทำลายแมลงได้อีก จึงเป็นการควบคุมด้วงหมัดผักได้อย่างยั่งยืนหากมีการใช้อย่างต่อเนื่องในระยะแรก อีกทั้งยังช่วยแก้ปัญหาด้วงหมัดผักต้านทานสารเคมีกำจัดแมลง (จอมสุรางค์ และคณะ 2551) ได้ด้วย



ภาพที่ 5.18 วงจรชีวิตของด้วงหมัดผัก

จิ้งหรีดใหญ่ *Brachytrupes portentosus*

ในการปลูกพืชช่วงเดือนกรกฎาคมเป็นต้นไปมักพบว่าระหว่างเพาะกล้าและหลังย้ายกล้ามีจิ้งหรีดมากัดลำต้นพืชสร้างความเสียหายมากแก่ต้นพืชอย่างมาก โดยเฉพาะจิ้งหรีดโกร่ง บางแห่งเรียก จิ้งหรีดโป่ง หรือที่เกษตรกรภาคเหนือนิยมเรียกว่า จี้กุ่ง ซึ่งมีชื่อสามัญ คือ จิ้งหรีดใหญ่ short tailed cricket หรือ large brown cricket ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brachytrupes portentosus* Lichtenstein เป็นแมลงที่จัดอยู่ในวงศ์ Gryllidae อันดับ Orthoptera จัดเป็นจิ้งหรีดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดที่พบในประเทศไทย มีขนาดยาว 10-30 มิลลิเมตร มีสีน้ำตาลตลอดตัว อาศัยอยู่ในดิน โดยขุดรูอยู่ รูที่พบจะลึก ประมาณ 30-60 เซนติเมตร เป็นแมลงกินพืช ออกหากินในเวลากลางคืน นับเป็นแมลงศัตรูพืชสำคัญของการปลูกพืช การป้องกันกำจัดที่ใช้กับดักแสงไฟล่อ การใช้สารเคมี ไม่สามารถลดจำนวนจิ้งหรีดใหญ่ได้ และเป็นการกำจัดในระยะตัวเต็มวัยซึ่งเป็นปลายเหตุของปัญหา แนวคิดการตัดวงจรชีวิตเพื่อลดประชากรจิ้งหรีดใหญ่ที่เริ่มตั้งแต่ระยะไข่ ระยะตัวอ่อนจนถึงระยะตัวเต็มวัยจะช่วยลดความเสียหายให้กับต้นพืชได้มากที่สุด การที่จิ้งหรีดใหญ่เป็นแมลงที่มีกิจกรรมต่าง ๆ ในตอนกลางคืน (noctural behavior) ในช่วงเวลากลางวันจิ้งหรีดใหญ่จะหลบอาศัยอยู่ในรู จะขึ้นมาจากรูเพื่อกินอาหารในช่วงกลางคืน การควบคุมจึงทำได้ยาก การใช้เชื้อรากำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพสูงเป็นวิธีการหนึ่งที่ให้ผลอย่างยั่งยืนในการป้องกันกำจัด

แมลงหากใช้อย่างถูกวิธีและตรงกับช่วงเวลา การที่ทุกระยะของจิ้งหรีดใหญ่มีวงจรชีวิตอยู่ในดิน อาศัยอยู่ในรู จึงเหมาะสมกับการใช้เชื้อรากำจัดอย่างมากเพราะเมื่อใส่เชื้อราลงไปในรู หรือรอบ ๆ บริเวณรู เมื่อจิ้งหรีดขึ้นมาจากรูเพื่อกินอาหารจะเดินผ่านเชื้อราทำให้ได้รับเชื้อราติดไปด้วย เมื่อเข้าไปในรังจึงทำให้เกิดการติดเชื้อกับไข่และจิ้งหรีดตัวอื่น ๆ ได้ และมีเชื้อราอยู่ในรูจิ้งหรีด ด้วยชีววิทยาของจิ้งหรีดเมื่อฟักออกจากไข่เป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 จะอยู่รวมกันในรูเดียวกัน จึงจะทำให้เกิดการติดโรคได้ง่าย เนื่องจากการเกิดโรคจากเชื้อราในแมลงนั้นเกิดเมื่อมีสปอร์ติดที่ผนังของตัวแมลงแล้วงอกส่วนของ germ tube แทงทะลุผ่านผนังตัวแมลงเข้าไปข้างใน เส้นใยจะเจริญงอกผ่านเข้าไปในช่องว่างของลำตัวและเจริญเติบโตภายในตัวแมลงแล้วทำให้แมลงตายในที่สุด ถึงแม้เมื่อแมลงได้รับเชื้อราในปริมาณที่ไม่มากพอทำให้แมลงตาย เชื้อราเหล่านั้นจะมีผลต่อการเจริญ ความสมบูรณ์ของแมลง การวางไข่ ได้ (Hornbostel *et al*., 2004) อีกทั้ง เชื้อราสามารถคงทนอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน (Milner *et al*., 2003) จากหลักการเดียวกันนี้จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับแมลงชนิดอื่น ๆ ที่มีวงจรชีวิตส่วนใหญ่อยู่ในดิน ได้แก่ ด้วงงวง ด้วงหนวดยาว แมลงนูน เป็นต้น

2. แมลงที่มีวงจรชีวิตส่วนใหญ่อยู่ในผล

แมลงวันผลไม้ แมลงวันพริก หรือแมลงวันแตง แมลงเหล่านี้ ตัวเมียจะใช้อวัยวะวางไข่แทงเข้าไปในเนื่อเยื่อพืชเพื่อวางไข่ จากนั้นจึงฟักออกมาเป็นตัวหนอน หนอนจะกินอาหารและชอนไชเข้าไปข้างในเรื่อยๆ จนถึงระยะที่จะเข้าดักแด้ หนอนระยะสุดท้ายจะดีดตัวออกมาจากผลที่มันอาศัยอยู่มาเข้าดักแด้ในดิน ซึ่งจากวงจรชีวิตของแมลงเหล่านี้จะเห็นได้ว่า การใช้สารเคมีกำจัดได้ยากมาก เพราะถ้าเป็นสารเคมีประเภทถูกตัวตาย โอกาสที่จะถูกตัวแมลงยาก ส่วนสารเคมีประเภทกินตาย แมลงก็ไม่ได้รับ เนื่องจากหนอนกัดกินอยู่ข้างใน สารเคมีที่น่าจะมีผลในการควบคุม คงเป็นประเภทสารดูดซึม ซึ่งการจะนำมาใช้เป็นเรื่องยาก เนื่องจากแมลงวันเหล่านี้ทำลายในระยะให้ผลผลิตที่กำลังจะเก็บเกี่ยว การใช้สารดูดซึมเป็นอันตรายเกิดสารพิษตกค้าง การใช้เชื้อรากำจัดแมลงมีศักยภาพอย่างมากในการใช้ในลักษณะการตัดวงจรชีวิต กล่าวคือ ให้แมลงวันเหล่านี้ได้รับเชื้อราในหนอนระยะสุดท้าย ตอนที่ดีดตัวมาเพื่อเข้าดักแด้ วิธีการใช้เชื้อราคือ หว่านหรือฉีดพ่นเชื้อราบริเวณดินรอบ ๆ ทรงพุ่มต้น เพื่อให้หนอนที่ดีดออกมาได้รับเชื้อราซึ่งเชื้อราที่ได้รับอาจไม่ทำให้หนอนตายในทันที แต่จะติดไปกับเลือดแมลงมีผลให้ไปตายได้ในระยะดักแด้และตัวเต็มวัย หรือหากตัวเต็มวัยไม่ตายเชื้อยังมีผลต่อการวางไข่ การฟักไข่ ซึ่งหากมีการใช้อย่างต่อเนื่องครอบคลุมพื้นที่ จะทำให้ปัญหาแมลงวันเหล่านี้ลดลงในที่สุด

มอดเจาะผลกาแฟ *Hypothenemus hampei* เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของกาแฟ โดยระบาดทั่วไปในพื้นที่ปลูกกาแฟทั่วโลก เช่น ในเขตทะเลแคริเบียน มลรัฐฮาวาย ประเทศเม็กซิโก หลายประเทศใน อเมริกากลาง อเมริกาใต้ และ เอเชีย ปัจจุบันพบการเข้าทำลายกาแฟอาราบิก้าและโรบัสต้าใน

ประเทศไทย มอดเจาะผลกาแฟมีขนาดลำตัวประมาณ 1.2-1.5 มิลลิเมตร สามารถเข้าทำลายผลกาแฟที่ยังเป็นผลอ่อน สีเขียว จนกระทั่งผลแดง และยังสามารถเข้าทำลายเมล็ดกาแฟจนถึงโรงเก็บ (กรรณิการ์ 2543) จากการสำรวจพบว่ากาแฟผลอ่อนในพื้นที่ปลูกกาแฟบ้านกิ่วต่ำ ต.เทพเสด็จ อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ พบผลกาแฟที่มีขนาดเล็กมากที่สุดที่แมลงสามารถเจาะเข้าทำลายได้คือขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.3 มิลลิเมตร แมลงชนิดนี้ระบาดในหลายพื้นที่ทางภาคเหนือ จากการสำรวจพื้นที่พบความเสียหายของผลผลิตกาแฟใน อ. ดอยสะเก็ด ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ (บัณฑูรย์ และคณะ, 2551) อีกสาเหตุหนึ่ง พบความเสียหายของผลผลิตกาแฟที่ถูกมอดเจาะกาแฟเข้าทำลายอย่างรุนแรง เนื่องจากแมลงมีขนาดเล็กมาก ประกอบกับเกษตรกรบางรายยังขาดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับมอดเจาะผลกาแฟ และลักษณะการเข้าทำลายของมอดเจาะผลกาแฟ โดยแมลงจะเจาะตรงบริเวณปลายสุดของผล หรืออาจเรียกว่า สะดือผล ซึ่งสังเกตได้ยากด้วยตาเปล่าเชื้อรา *Beauveria bassiana* มีศักภาพในการควบคุมมอดเจาะผลกาแฟได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากตลอดวงจรชีวิตมอดเจาะผลกาแฟจะอาศัยอยู่ภายในเมล็ด ซึ่งในแต่ละเมล็ดมีมอดเจาะผลกาแฟเข้าทำลายเป็นจำนวนมาก เมื่อมอดเจาะผลกาแฟระยะใดระยะหนึ่งหรือตัวหนึ่งตัวใดเป็นโรคตาย ทำให้มีโอกาสแพร่เชื้อไปยังตัวอื่น ๆ ได้ทำให้ลดปริมาณการระบาดของมอดเจาะผลกาแฟลงได้ ในต่างประเทศมีการใช้เชื้อราชนิดนี้ในการควบคุมมอดเจาะผลกาแฟซึ่งได้ผลดี (Samuels *et al.* 2002; Bustillo *et al*. 1999; Posada *et al.* 2007) โดยแนะนำให้ใช้หลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตกาแฟให้หว่านเชื้อรากำจัดมอดเจาะผลกาแฟลงดินติดต่อกันทุกเดือนจนถึงเดือนมิถุนายนเพื่อกำจัดมอดเจาะผลกาแฟที่อยู่ในผลกาแฟที่ล่วงลงดิน แล้วเปลี่ยนมาพ่นบนใบหลังจากเดือนมิถุนายน จนกระทั่งเก็บเกี่ยว ช่วยลดการทำลายของมอดเจาะผลกาแฟลงได้ (มาลี และเยาวลักษณ์ 2560) อีกทั้งยังช่วยกำจัดแมลงศัตรูอื่นๆ ของกาแฟด้วย เช่น หนอนเจาะกิ่งกาแฟ หรือเพลี้ยหอย เป็นต้น

ข้อดีข้อจำกัดของการใช้เชื้อรากำจัดแมลง

ข้อดีของการใช้เชื้อรากำจัดแมลง

1. สามารถเข้าทำลายแมลงให้ตายได้ทั้งแมลงปากกัด ปากดูด ตัวเล็ก ตัวใหญ่ เพราะเชื้อราเข้าทางผนังลำตัวแมลง

2. ใช้ควบคุมแมลงได้ตั้งแต่ระยะไข่ ตัวอ่อน ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย เพราะสปอร์เชื้อราสามารถแทง germ tube เข้าไปพิ่มปริมาณได้

3. สามารถใช้ควบคุมแมลงได้ทุกแหล่งอาศัย บนใบพืช ดอก ต้น ผล กิ่ง ราก เมล็ด

4. ปลอดภัยต่อแมลงนอกเป้าหมาย ได้แก่ แมลงศัตรูธรรมชาติ ผึ้ง แมลงที่ช่วยในเรื่องความอุดมสมบูรณ์ของดิน

5. ปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตอื่นนอกเป้าหมาย Fetter and Washino (1983) รายงานว่า เชื้อราสาเหตุโรคแมลงสายพันธุ์ *Beauveria bassiana* จะไม่เจริญในร่างกายของสัตว์เลือดอุ่นที่เลี้ยงลูกด้วยนมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ เช่นเดียวกับ Zhao *et al.* (1987) รายงานว่าโคนิเดียของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ไม่ทำให้อวัยวะภายในร่างกายของหนูทดลองเกิดการติดเชื้อแต่อย่างใดเมื่อทดสอบโดยการฉีดสปอร์เข้าไปในอวัยวะของหนูทดลอง เป็นระยะเวลา 1-9 วัน Costa *et al.* (2010) ได้ทำการทดสอบเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ *Unioeste 4* กับไก่พื้นเมือง *Gallus domesticus* โดยผสมเชื้อราลงในอาหารไก่ จากนั้นเก็บอุจจาระไก่เป็นเวลา 28 วัน เพื่อหาความเป็นพิษและสภาพการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิ เมื่อตรวจตัวอย่างเนื้อเยื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์ Microscope ไม่พบการงอกสปอร์ของเชื้อราในระบบทางเดินอาหารแต่อย่างใด ซึ่งแสดงว่า *B. bassiana* มีความปลอดภัยต่อไก่พื้นเมือง *Gallus domesticus* Toriello *et al.* (2006) ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* กับหนูทดลองโดยการให้หนูทดลองกินสปอร์ของเชื้อราเข้าไป ผลการทดลองไม่พบอาการป่วยของหนูทดลองที่เกิดจากเชื้อราแต่อย่างใด

6. ไม่มีพิษตกค้างในพืชผล ไม่ก่อให้เกิดมลพิษกับสิ่งแวดล้อม

7. มีวิธีการผลิตที่ง่ายสามารถผลิตไว้ใช้เองได้ ประหยัดต้นทุนการผลิต

8. สามารถใช้ร่วมกับวิธีการป้องกันกำจัดอื่น ๆ หรือร่วมกับการควบคุมศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ ได้

9. สามารถนำมาพ่นสลับกับสารเคมีกำจัดแมลงเพื่อลดการเกิดความต้านทานสารเคมีกำจัดแมลง

ข้อจำกัดของการใช้เชื้อรากำจัดแมลง

1. เชื้อราเป็นสิ่งที่มีชีวิตไม่คงทนต่อแสงอัลตราไวโอเลต จึงแนะนำให้พ่นในเวลาเย็น ซึ่งบางรายถือเป็นข้อจำกัดในการใช้

2. แมลงไม่ตายทันทีเมื่อมีการพ่นถูกตัว ด้วยเชื้อราต้องใช้ระยะเวลาหนึ่งในการเพิ่มปริมาณในตัวแมลง ทำให้ไม่เห็นผลการใช้ในทันทีเหมือนกับการใช้สารเคมีกำจัดแมลง

3. การคงประสิทธิภาพของเชื้อราในระหว่างการเก็บรักษา สภาพแวดล้อมมีอิทธิพลมากต่อการอยู่รอดของเชื้อรากำจัดแมลง

4. ผู้ใช้จะต้องมีความเข้าใจถึงวิธีการใช้ ระยะเวลาการใช้ จึงจะสามารถใช้ได้ผลดี

สรุป

เชื้อรากำจัดแมลงถึงแม้มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงดีอย่างไรแต่หากใช้ไม่ถูกวิธีก็ไม่ให้ผลในการควบคุมแมลง มีปัจจัยหลายอย่างที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของเชื้อรา เริ่มตั้งแต่ ชนิดของแมลง พืชอาหาร สภาพแวดล้อมการจะนำเชื้อราไปใช้จึงควรที่จะรู้วงจรชีวิต พฤติกรรมและจังหวะของการใช้ ตัวอย่างเช่นหากต้องการควบคุมหนอนผีเสื้อ ควรเริ่มใช้ตั้งแต่เห็นผีเสื้อบินในแปลง หากเริ่มควบคุมเมื่อเห็นหนอนทำลายผลผลิตแล้ว เป็นการสายเกินไป แมลงที่มีวงจรชีวิตส่วนใหญ่อยู่ในดินก็ควรใช้เชื้อราควบคุมตั้งแต่อยู่ในดิน ไม่ต้องคอยให้ออกมาเป็นตัวเต็มวัยทำลายพืชแล้วถึงควบคุม ซึ่งมักสายเกินไป เพราะหากแมลงถึงระยะตัวเต็มวัยแล้วก็แสดงว่าแมลงสามารถขยายพันธุ์ต่อไปได้ อีกทั้งการควบคุมแมลงควรใช้ให้ถูกจุด เช่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทำลายบริเวณกอข้าว การพ่นเชื้อราก็ควรพ่นบริเวณกอข้าว ไม่ใช่พ่นที่ใบ แมลงที่ดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช เช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น มักพบบริเวณใต้ใบ การพ่นเชื้อราจึงควรพ่นบริเวณใต้ใบ ไม่ใช่พ่นบนใบพืช เพราะหากพ่นบนใบ โอกาสที่เชื้อรากับแมลงจะมาสัมผัสกันน้อย ผลในการควบคุมก็น้อยตามไปด้วย แมลงที่เข้าทำลายอยู่ในผล ต้องหาช่วงจังหวะเวลาที่จะควบคุมที่จะไปช่วยลดปริมาณ เช่น แมลงวันผลไม้ แมลงวันพริก แมลงวันแตง การทำลายระยะตัวหนอนทำได้ยาก เพราะหนอนอยู่ภายในผล หรือระยะตัวเต็มวัยแมลงบินได้ว่องไว จึงควรในทำลายระยะดักแด้ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2547. เอกสารวิชาการ ข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ลำดับที่ 18/2547 แหล่งที่มา : http://www.brrd.in.th/rkb/ Manual. 09 ตุลาคม 2559.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2554. คำแนะนำเรื่อง การจัดการเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, นนทบุรี. 43 หน้า.

กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม. 2543. มอดเจาะผลกาแฟ: ศัตรูกาแฟอราบิก้าในภาคเหนือ. วารสารกีฏและสัตววิทยา 22 (3): 247-249.

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 244 หน้า

กองวิจัยและพัฒนาข้าว. 2559. องค์ความรู้เรื่องข้าว. แหล่งที่มา : http://www.brrd.in.th/rkb/. 09 ตุลาคม 2559.

จริยา จันทร์แสง ทิพย์วดี อรรถธรรม และวาลุลี โรจนวงค์. 2529. การสำรวจโรคเชื้อราของเพลี้ยจักจั่นบางชนิดที่เป็นศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจ. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2529. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จอมสุรางค์ ดวงธิสาร วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บูรณพานิชพันธุ์ และจิราพร ตยุติวุฒิกุล. 2551. ความต้านทานฤทธิ์สารฆ่าแมลงบางชนิดของด้วงหมัดผักแถบลายในเขตภาคเหนือตอนล่าง.วิทยาสารกำแพงแสน. 6 (2): 15-26.

จุฑามาส ฮวดประสิทธิ์ จุรีมาศ วังคีรี และยุพา หาญบุญทรง. 2560. ประสิทธิภาพของราสกุล *Metarhizium* และ *Beauveria* ในการควบคุมเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* พาหะนำโรคใบขาวอ้อยวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 25 (3) : 467-478.

ทิพย์วดี อรรถธรรม กรรณิการ์ สีนวลมาก และจีรภา ปัญญาศิร. 2553. เชื้อราของแมลงและศักยภาพในการใช้ควบคุมกำจัดเพลี้ยไฟ, http://www.plantpro.doae.go.th/insectpestresearch/P-14.pdf. ธันวาคม, 2559.

ธวัช หะหมาน. ม.ป.ป. โรคและแมลงศัตรูอ้อยที่สำคัญ. สืบค้นจาก http://www.ocsb.go.th/upload/learning/fileupload/4086-9002.pdf (30 June 2017)

บัณฑูรย์ วาฤทธิ์ ชวลิต กอสัมพันธ์ วราพงษ์ บุญมา ประเสริฐ คำออน นิธิ ไทยสันทัด ถาวร สุภาวงค์ เยาวลักษณ์ จันทร์บาง, และสมบัติ ศรีชูวงศ์. 2551. การศึกษาการระบาดและป้องกันกำจัดมอดเจาะผลกาแฟอราบิก้าแบบผสมผสาน รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ เครือข่ายภาคเหนือ. 40 หน้า.

ประวิทย์ ยั่งสันติวงศ์. 2555. ประสิทธิภาพเชื้อรากำจัดแมลง บิวเวอร์เรีย บาเซียน่า 5335 และเมตาไรเซี่ยม เอนิโซเพล่ 4849 ในการควบคุมด้วงงวงข้าวโพด. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง. 38 หน้า

เพชรหทัย ปฏิรูปานุสร และอัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ. 2547. การควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้เชื้อราทำลายแมลงและสารสกัดจากพืช : รายงานความก้าวหน้าประจำปี 2547 ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร.

ภัทรภา พิมพ์พันธ์. 2556. การคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยแป้งสีชมพู (*Phenacoccus manihoti*) ในมันสำปะหลัง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 95 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2553. การวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์กำจัดแมลงจากเชื้อราสาเหตุโรคแมลงสำหรับควบคุมแมลงในการปลูกพืชตระกูลกะหล่ำและมะเขือเทศบนพื้นที่สูง.หน้า 146-149ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 4 วันที่ 9 กันยายน พ.ศ. 2553 โรงแรมอิมพิเรียลแม่ปิง อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2554. การพัฒนาประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำและมะเขือเทศบนพื้นที่สูง. หน้า 139-141 ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 4 วันที่ 25 กันยายน พ.ศ. 2554 โรงแรมอิมพิเรียลแม่ปิง อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ 2555. การทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำและมะเขือเทศในสภาพแปลง หน้า 130-134 ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 5 วันที่ 19 ธันวาคม พ.ศ. 2555 โรงแรม ดิเอ็มเพลส อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2560a. การควบคุมศัตรูสำคัญของพริกด้วยเชื้อราสาเหตุโรคแมลง *Beauveria bassiana*. รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 86 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2560b. การวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดไรแดงของกุหลาบ หน้า 182-185 ในรายงานการสัมมนาผลงานวิจัย มูลนิธิโครงการหลวง สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ประจำปีงบประมาณ 2560. วันที่ 12 กันยายน 2560 ณ.อุทยานหลวงราชพฤกษ์ จังหวัดเชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ และศิรินันท์ เอี่ยมประภา. 2544. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria* spp. ควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูสำคัญพืชผัก. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 5: อารักขาพืช: ผลิตอาหารเพื่อประชากรโลก 21-23 พฤศจิกายน 2544 กาญจนบุรี. หน้า 63-70.

มาลี ตั้งระเบียบ และเยาวลักษณ์ จันทร์บาง. 2560. การจัดการมอดเจาะผลกาแฟโดยไม่ใช้สารเคมีเพื่อการผลิตกาแฟปลอดภัย รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ มูลนิธิโครงการหลวง. 60 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ และสุเทพ ทองมา. 2552. การควบคุมด้วงหมัดผักโดยวิธีผสมผสานด้วยการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงร่วมกับสารสกัดหางไหล รายงานฉบับสมบูรณ์ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติเครือข่ายภาคเหนือ. 29 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ และสุมาพี พรหมรุกขชาติ. 2556. การศึกษาหาวิธีการควบคุมจิ้งหรีด วงศ์ Gryllidae โดยชีววิธีสำหรับการเพาะปลูกพืชบนพื้นที่สูง. หน้า 130-134 ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 6 วันที่ 25 กันยายน พ.ศ.2556 อุทยานหลวงราชพฤกษ์ อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ จริยา วิสิทธ์พาณิชย์ และจันทร์เพ็ญ วิวัฒน์. 2551. การประเมินความสามารถของเชื้อสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยไฟพริก (*Scirtothrips dorsalis* Hood) (Thysanoptera: Thripidae) และไรขาวพริก (*Polyphagotarsonemus latus* Banks) (Acaridae: Tarsonemidae) ในพริก การประชุมวิชาการ นักวิจัยรุ่นใหม่ พบเมธีวิจัยอาวุโส สกว. ครั้งที่ 8 16-18 ตุลาคม 2551โรงแรมฮอลิเดย์อินน์ รีสอร์ท รีเจนท์ บีช ชะอำ จ. เพชรบุรี.

มาลี ตั้งระเบียบ จริยา วิสิทธ์พาณิชย์ และจันทร์เพ็ญ วิวัฒน์. 2552. การประเมินความสามารถของเชื้อสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงวันพริก (*Bactrocera latifrons* (Hendel), Diptera: Tephritidae) ในพริก. การประชุมวิชาการ นักวิจัยรุ่นใหม่ พบเมธีวิจัยอาวุโส สกว. ครั้งที่ 9 15-17 ตุลาคม 2552โรงแรมฮอลิเดย์อินน์ รีสอร์ท รีเจนท์ บีช ชะอำ จ. เพชรบุรี.

มาลี ตั้งระเบียบ ศิรินันท์ เอี่ยมประภา และจินันทนา จอมดวง. 2550. ศักยภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงวันผลไม้. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา. 50 หน้า

พัชรินทร์ ครุฑเมือง และมาลี ตั้งระเบียบ. 2560. การพัฒนาสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลงศัตรูผักสายพันธุ์ไทยสำหรับการผลิตพืชผักปลอดสารเคมีอย่างยั่งยืน. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). 49 หน้า.

เยาวลักษณ์ จันทร์บาง จิราพร ตยุติวุฒิกุล และมาลี ตั้งระเบียบ. 2552. การคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพควบคุมแมลงหวี่ขาวในการปลูกมะเขือเทศและพริกกะเหรี่ยงบนพื้นที่สูง. หน้า 89-92. ในรายงานการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 2 วันที่ 29-30 กันยายน พ.ศ. 2552 โรงแรมอิมพีเรียลแม่ปิง อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

วิวัฒน์ เสือสะอาด พิมพรรณ สมมาตย์ ปวีณา บูชาเทียน อาภรณ์ ปั้นทองคำ และรัตติรส เชียงสิน. 2547. ประสิทธิภาพเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในการเข้าทำลายหนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย *Dorysthenes buqueti* Guerin (Coleoptera: Cerambycediae) ในห้องปฏิบัติการ Kasetsart Journal (Natural Science) (Thailand). 51(46) : 115-160.

วิวัฒน์ เสือสะอาด พิมพรรณ สมมาตย์ ศิติภา นักขัตระ วิมลมาศ โอสถเสน และอาภรณ์ ปั้นทองคำ. 2548. การเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* และการนำไปใช้ควบคุมหนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย *Dorysthenes buqueti* Guerin (Coleoptera : Cerambycediae) ในสภาพไร่ หน้า 1-13 ในการประชุมวิชาการประจำปี 2548 ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติและมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 28-30 มิถุนายน 2548 ณ โรงแรม เฟลิกซ์ริเวอร์แคว รีสอร์ท กาญจนบุรี.

ศิรินันท์ เอี่ยมประภา และมาลี ตั้งระเบียบ. 2549. การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราในการควบคุมเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* and *Macrosiphum euphorbiae* ว.วิจัยและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล 9 (2) : 9-16.

สยามคูโบต้า. 2016. ปลูกอ้อยอย่างไรให้ได้กำไรสูงสุด. http://www.kubotasolutions.com/knowledge/sugar_cane/detail/38 สืบค้น 17 May 2560

สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร. 2560. มันสำปะหลัง. http://www.oae.go.th

สิริญา คัมภิโร จิราพร กุลสาริน เยาวลักษณ์ จันทร์บาง และมาลี ตั้งระเบียบ. 2554. ประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในโรงเรือน. วารสารเกษตร 27(1) : 49-57.

สุดาพร ใจชื่น. 2544. การควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* Stal. ในข้าวโดยชีววิธีด้วยเชื้อรา *Metarhizium* spp. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. วิทยาลัยสิ่งแวดล้อม.

สุมน กะเจ. 2557. ผลของสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงรูปแบบผงควบคุมด้วงงวงข้าวโพด. ปัญหาพิเศษ. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชศาสตร์)สาขาพืชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง. 60 หน้า

อารยา บุญศักดิ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บูรณพานิชพันธุ์ และจิราพร กุลสาริน. 2558. การคัดเลือกเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin ที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว. วารสารเกษตรใ 31 (3) : 291-299.

Athanassiou, C.G, Steenberg, T. 2007. Insecticidal effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota : Hypocreales) in combination with three diatomaceous earth formulations against *Sitophilus granaries* (L.) (Coleoptera : Curculionidae). Biological Control. 40 : 411–416.

Ahmed, B.I. 2010. Potential of entomopathogenic fungi in controlling the menace of maize weevil *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera : Curculinidae) on stored maize grain. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 43(2) : 107-115.

Akbar, W., J.C. Lord, Nechols J.R., and Howard, R.W. 2004. Diatomaceous Earth Increases the Efficacy of *Beauveria bassiana* against *Tribolium castaneum* Larvae and increases conidia attachment. Journal of Economic Entomology. 97(2) : 273-280.

Altre, J.A., Vandenberg, J.D. and Cantone, F.A. 1999. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates to Diamondback Moth, *Plutella xylostella*: Correlation with spore size, germination speed, and attachment to cuticle. Journal of Invertebrate Pathology. 73 : 322-338.

Amutha, M. and Banu, J.G. 2017. Variation in Mycosis of Entomopathogenic Fungi on Mealybug, *Paracoccus marginatus* (Homoptera: Pseudococcidae). The Proceedings of the National Academy of Sciences, India. 87(2) : 343–349.

Arthur, F. 2004. Evaluation of methoprene alone and in combination with diatomaceous earth to control *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) on stored wheat. Journal of Stored Products Research. 40 : 485-498.

Athanassiou, C.G. and Steenberg T. 2007. Insecticidal effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) in combination with three diatomaceous earth formulations against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Biological Control. 40 : 411–416.

Azaizeh, H., Gindin, G., Said, O. and Barash, I., 2002. Biological control of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* in cucumber using the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Phytoparasitica 30 : 18-24.

Bayer crop science Thailand 2016. Cabbage. http://www.bayer.co.th/cropscience/th/cropcalendar_detail/Cabbage สืบค้น 17 May 2560

Bandara, J.M. R.S. and Ahangama, D. 1994. *Metarhizium* sp. : a new biocontrol agent for brown planthopper management in rice fields. International Rice Research Notes. 19 (4) : 19.

Benz, G. 1987. Environment, pp. 177-214. In: Fuxa, J.R. and Tanada, Y. (eds) Epizootiology of fungal disease. John Wiley, New York, USA.

Brownbridge, M. 1995. Prospect for mycopathogens in thrips management, pp. 281-295. In: Parker, B., Skinner, L. M. and Lewis, T. (eds.): Thrips biological and management, Plenum Press, New York, USA.

Bruck, D.J., and Lewis, L.C. 2001. Adult *Diabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) infection at emergence with indigenous *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Journal of Invertebrate Pathology. 77 : 288–289.

Burges, H.D. 1981. Microbial control of pest and plant disease, Academic press New York. 435 p.

Bustillo, A.E., Bernal, M.G., Benavides, P. and Chaves, B. 1999. Dynamics of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae infecting Hypothenemus hampei (Coleoptera : Scolytidae) populations emerging from fallen coffee berries. Florida Entomologist. 82 : 491–498.

Butt, T., Ibrahim, I., Ball, B. and Clark, S. 1994. Pathogenicity of the entomogenous fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against crucifer pests and the honey bee. Biocontrol Science and Technology. 4: 207–214.

Butt, T.M., Barrisever, M., Drummond J., Schuler T.H., Tillemans F.T. and Wilding, N. 1992. Pathogenicity of the entomogenous hyphomycete fungus, *Metarhizium anisopliae* against the chrysomelid beetles *Psylliodes chrysocephala* and *Phaedon cochleariae*. Biocontrol Science and Technology. 2: 327–334.

Chandler, D., Davidson, G. and Jacobson, R.J. 2005. Laboratory and glasshouse evaluation of entomopathogenic fungi against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari; Tetranychidae) on tomato*, Lycopersicon esculentum*. Biocontrol Science and Technology. 15 : 37-54.

Costa, U H., Alves, L.A. and Daros, A. A. 2010. Safety of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. to *Gallus domesticus* L. Brazilian Archives of Biology and Technology. 53 (2) : 465-471.

Cox, P.D., Wakefield, M.E., Price, N.R., Wildey, K.B, Moore, D., Aquino de Muro, M., and Bell, B.A. 2003. Entomopathogenic fungi for the control of invertebrate pests in storage structures: advances in stored product protection, pp. 87-94. In Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored Product Protection, 22-26 July 2002, York, UK.

Ekesi, S., Maniania, N.K., and Ampong, N.K. 1999. Effect of temperature on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Megalurothrips sjostedti*. Biocontrol Science and Technology. 9 : 177-185.

Elad, Y., Malathrakis N.E., and Dik, A.J. 1996. Biological control of Botrytis incited diseases and powdery mildews in greenhouse crops. Crop Protection. 15 : 229-240.

Enkerli, J., Widmer, F. and Keller, S. 2004**.** Long-term field persistence of *Beauveria brongniartii* strains applied as biocontrol agents against European cockchafer in Switzerland. BioControl 29 : 115-123.

Fargues, J. and Robert, P.H. 1983. Effects of passaging through scarabeid host on virulence and host specificity of stains of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae.* Canadian Journal of Microbiology. 29 : 576-583.

Fargues, J. and Bonb, M.C. 2004. Influence of temperature preferences of two *Paecilomyces fumosoroseus* lineages on their co-infection pattern. Journal of Invertebrate Pathology. 87 : 94–104.

Fetter, L.J.L, Washino, R.K. 1983. In situ studies on seasonality and recycling pattern in California of *Coelomomyces giganteum* Couch, an aquatic fungal pathogen of mosquitoes. Environmental Entomology. 12 : 635–640.

Fransen, J.J. 1995. Survival of spores of the entomopathogenic fungus *Aschersonia aleyrodis* (Deuteromycotina: Coelomycetes) on leaf surface. Journal of Invertebrate Pathology. 65 : 73-75.

Furlong, M.J and Pell, J.K.. 1997. The influence of environmental factors on the persistence of Zoophthora radicans conidia. Journal of Invertebrate Pathology. 69 : 223-233.

Gelernter, W.D and Lomer, C.J. 2000. Success in biological control of above-ground insects by pathogens, pp 297–322. : Gurr G, Wratten S (eds) Biological control: measures of success. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands.

Gomez, D.R.S. and Oscardi, F.M. 1994. Effect of till and no- till soybean cultivation on dynamics of entomopathogenic fungi in the soy. Florida Entomologist 77(2) : 284-287.

Gullan, P.J. and Cranston, P.S. 2004. The Insects: an outline of entomology. 3rd ed.UK: Backwell publishing. 559 p.

Hafez, S.F. 2011. Efficacy of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) against *Tribolium confusum* (Duval) on stored wheat flour Journal of Plant Protection and Pathology. 2 (2) : 203 – 211.

Hazarika, L.K. and Puzari, K.C. 1990. *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. for biological control of rice hispa (RH) in Assam. India. International Rice Research Notes. 15 (1): 31.

Hornbostel, V. Ostefeld, R.S., Zhioua, E. and Benjamin, M.A. 2004. Sublethal effects of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) on engorged larval, nymphal, and adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). Journal of Medical Entomology. 41 (5) : 922 - 929.

Hu, Z.Y.S., Wang, S.P., Xu C.K., Cao Z.H., Schnug, E. 2003. Comparison of mineralization and distribution of soil sulfur fractions in the rhizosphere of oilseed rape and of rice. Comm Soil Sci Plant Anal 34 : 2243-2257.

Inglis, G. D., M. S, Goettel and Johnson, D.L. 1993. Persistence of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on phylloplanes of crested wheatgrass and alfalfa. Biological Control 3 : 258-270.

Jaronski, S. 2016. Mass production of Entomopathogenic fungi state of the art. 357-413 In Mass production of beneficial of organisms. Published by Elsevier Inc.

Kavallieratos, N.G., Athanassiou C.G., Pashalidou F.G., Andris N.S., and Tomanovic Z. 2005. Influence of grain type on the insecticidal efficacy of two diatomaceous earth formulations against *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). Pest Management Science. 61 : 660–666.

Khashaveh, A., Ghosta, Y., Safaralizadeh, M.H. and Ziaee, M. 2011. The Use of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in assays with storage grain beetles. Journal of Agricultural Science and Technology. 13 : 35-43.

Kim, J.S., Yeon, H.J., Woo, E.O. and Park, J.S. 2011. Persistence of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) SFP-198 conidia in corn oil-based suspension. Mycopathologia. 171 : 67–75.

Korunic, Z. 1998. Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. Journal of Stored Products Research. 34 : 87–97.

Kouassi, M., Coderre D. and Todorova S. I. 2003. Effect of plant type on the persistence of *Beauveria bassiana*. Biocontrol Science and Technology. 13 : 415-427.

Krisana Chaikuad. 2013. A study on efficiency of entomophathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Balsamo) against Teak Beehole Borer (*Xyleutes ceramicus* Walker). World Teak Conference 2013. 25th -30th March 2013. Bangkok Thailand.

Lingg, A.J. and Donaldson, M.D. 1981. Biotic and abiotic factors affecting stability of *Beauveria bassiana* conidia in soil. Journal of Invertebrate Pathology. 38 : 191–200.

Liu, T-X, P.A. Stansly, Sparks, A.N., Knowles, T.C., Chu. C.C. 1999. Application of Mycotrol and Naturlis-L (*Beauveria bassiana*) for management of *Bemisia argentifolii* (Hom., Aleyrodidae) on vegetables, cotton and ornamentals in southern United States. Subtropical plant science. 51 : 41-48.

Lord, J.C. 2005. Efficacy of *Beauveria bassiana* for the Lesser Grain Borer, *Rhyzopertha dominica* (Col.: Bruchidae). Biological Control. 34 : 180- 186.

Lord, J.C. 2007. Desiccation increases the efficacy of *Beauveria bassiana* for stored grain pest insect control. Journal of Stored Products Research. 43(4) : 535-539.

Magalhaaes, B.P., Lecoq, M. de Faria, M.R., Schmidt, F.G.V. and Guerra, W.D. 2000. Field Trial with the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* against bands of the Grasshopper *Rhammatocerus schistocercoides* in Brazil. Biocontrol Science and Technology. 10 : 427-441.

Mahdneshin, Z., Safaralizadah, M.H. and Ghosta, Y. 2009. Study on the efficacy of Iranian isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin against *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae). J. BioSciences. 9(2) : 170-174.

Maketon, M., Orosz-Coghlan, P. and Jaengarun, J. 2008. Field evaluation *of lsaria fumosorosea* in controlling the diamondback Moth *(Plutella xylostella)* in chinese kale. Phytoparasitica. 36(3) : 260-263.

Malee Thungrabeab and Suthep Tongma. 2009. Entomopathogenic fungus in combination with derris extracts as an Integrated Pest Management strategy for the flea beetle, *Phyllotreta* spp (Col., Chrysomelidae), pp. 60-69 In Proceeding the 3rd International Meeting for development of IPM in Asia and Africa, December 7-9, Lumpung, Indonesia.

Maniania, N.K., Ekesi, S., Loehr, B. and Mwangi, F. 2001. Prospects for biological control of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, with the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*, on chrysanthemum. Mycopathologia. 155 : 229-235.

Maniania, N.K., Sithanantham, S., Ekesi, S., Ampong-Nyarko, K., Baumgärtner, J., Löhr, B. and Matoka, C.M. 2003. A field trial of the entomopathogenous fungus *Metarhizium anisopliae* for control of onion thrips, *Thrips tabaci*. Crop Protection. 22 : 553-559.

Maria P., Michalakia C., Athanassioua G., Kavallieratosb G.N., Battac Y.A., Balotisd G.N. 2006. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin applied alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum*. Crop Protection 25 : 418–425.

Meekes, E.T.M., Van Voorst, S. and Fransen, J.J. 2000. Persistence of the fungal whitely pathogen, *Aschersonia aleyrodis,* on three different plant species. Mycology Research. 104 : 1234-1240.

Milner, R.J., Peter S. and Richard, M. 2003. Persistence of conidia of *Metarhizium aniospliae* in sugarcane field: Effect of isolate and formulation on persistence over 3.5 years. Biocontrol Science and Technology. 13(5) : 507-516.

Pilz, C. Enkerli, J., Wegensteiner, R., Keller, S. 2007. Establishment and persistence of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in maize fields. Journal of Applied Entomology. 135(6) : 393 – 403.

Poprawski, T.J. and Walker, J.J. 2000. Host plant effects on activity of the mitosporic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* against two populations of *Bemisia* whiteflies (Hom ; Aleyrodidae). Mycopathologia. 151 : 11-20.

Posada, F., Aime, M.C., Peterson, S.W., Rehner, S.A. and Vega, F.E. 2007. Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). Mycological Research 111 : 748–757.

Rajesh, A., Birendra, P. and Bhupendra, N.T. 2009. Relative susceptibility of *Spodoptera litura* pupae to selected entomopathogenic fungi. BioControl 54 : 85–92.

Rice, W.C. and Cogburn, R.R. 1999. Activity of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Deuteromycota: Hyphomycetes) against three coleopteran pests of stored grains. Journal of Economic Entomology. 92 : 691–694.

Richter D, Sermann, H. Jäckel, B. and Büttner, C. 2007. Pathogenicity of entomopathogenic fungi on hibernating pupae of *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic 1986 (Lepidoptera, Gracillariidae). Part 2: Efficacy of entomopathogenic fungi against pupa in her pupal cell. Communications in agricultural and applied biological sciences. 72(3) : 411-421.

Rosalind R., Brenda, J., Shaffer, T., Croft, B. and Lighthart, B. 1995. Field evaluation of *Beauveria bassiana*: Its persistence and effects on the pea Aphid and a non-target coccinellid in alfalfa. Biocontrol Science and Technology. 5(4) : 425-438.

Samuels, R.I., Pereira, R.C. and Gava, C.A.T. 2002. Infection of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) by Brazilian isolates of the

entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina : Hyphomycetes). Biocontrol Science and Technology 12 : 631–635.

Sarayut Pittarate, Malee Thungrabeab and Patcharin Krutmuang. 2017. Effect of fungicide resistances on *Beauveria bassiana* induced mortality of the brown plant hopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). Journal of Science and Technology. Special edition. 62-65.

Sebal, E.l. 2011. Laboratory Assessment of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) to control the lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* (F.) on wheat kernels. Journal of Plant Protection and Pathology. 2 (2) : 227 – 237.

Sengonca, C., Thungrabeab, M., and Blaeser, P. 2006. Potential of the different isolates of entomopathogenic fungi from Thailand as biological control agents against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (PERGANDE) (Thys ; Thripidae). Journal of Plant Diseases and Protection. 113 (2) : 74-80.

Shah, P.A. and Pell, J.K. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents Applied Microbiology Biotechnology. 61 : 413–423.

Steenberg, T. 2005. Safety aspects related to the use of entomopathogenic fungi in stored products. In Proceedings of the 6thmeeting of COST Action 842 Working Group IV Biocontrol of Arthropod Pests in Stored Products. 10-11 June, 2005, Locorotondo, Italy.

Storey, G.K. and Gardner, W.A. 1987. Vertical movement of commercially formulated *Beauveria bassiana* conidia through four Georgia soil types. Environmental Entomology. 16 : 178–181.

Storey, G.K. and Gardner, W.A. 1988. Movement of an aqueous spray of *Beauveria bassiana* into the profile on four Georgia soils. Environmental Entomology. 17 : 135–139.

Studdert, J.P., Kaya, H.K. and Duniway, J.M. 1990. Effect of water potential, temperature and clay coating on survival of *Beauveria bassiana* conidia in a loam and peat soil. Journal of Invertebrate Pathology. 55 : 417–427.

Subramanyam, B.H. and Roesli, R. 2000. Inert dusts, pp. 321–380. In : Subramanyam, B.H., Hagstrum, D.W. (Eds.), alternatives to pesticides in stored-product IPM. Kluwer Academic Publishers, Dordreecht.

Thungrabeab, M. and Tongma, S. 2007. Effect of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Balsam) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch*)* on non target insects. KMITL Sci. Tech. J. 7(S1) : 8-12.

Thungrabeab, M. and Tongma, S. 2009 **.** Entomopathogenic fungus in combination with derris extracts as an integrated pest management strategy for the flea beetle, *Phyllotreta* spp (Col., Chrysomelidae). In Proceeding the 3st International Meeting for development of IPM in Asia and Africa, December 7-9, 2009 in Bandar Lampung, Indonesia.

Thungrabeab, M., 2006. Efficiency of different entomopathogenic fungi isolates from Thailand as biological control agents against *Frankliniella occidentalis* (PERGANDE) and *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) Cuvillier Verlag, Goettingen, 110 : 961-963.

Thungrabeab, M., Blaeser, P. and Sengonca, C. 2006a. Effect of temperature and host plant on efficacy of different entomopathogenic fungi from Thailand used against *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thys ; Thripidae) and *Thrips tabaci* Lindeman (Thys ; Thripidae) in the laboratory. Journal of Plant Diseases and Protection. 113 (4) : 181-187.

Thungrabeab, M., P. Blaeser, and C. Sengonca. 2006B. Possibilities for biocontrol of the onion thrips *Thrips tabaci* LINDEMAN (Thys ; Thripidae) using different entomopathogenic fungi from Thailand. Mitt. Dtsch. Ges. allg. angew. Entomol 15 : 299-304.

Thuy, P.T., Bac, N.T., Thanh, D. and Thap, T.T. 1994. Effect of *Beauveria bassiana* Vuil and *Metarhizium anisopliae* Sorok on brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal) in Vietnam. International Rice Research Notes. 19 (13) : 29.

Todd, A.U., Wraight, S.P. and Sanderson, J.P. 2005. Differential susceptibility of the western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) to *Beauveria bassiana*, as a function of host plant species. IOBC/WPRS Bull. 28 : 271-274.

Torielloa, C., Torresb A. P., Burciaga-Dı´azc, A., Navarro-Barrancoa, H., Pe´rez-Mejı´aa, A., Lorenzana-Jime´nezd, M., Mierc, T. 2006. Lack of acute pathogenicity and toxicity in mice of an isolate of *Metarhizium anisopliae* var. anisopliae from spittlebugs. Ecotoxicology and Environmental Safety. 65 : 278–287.

Vacante, V., Cacciola, S.O. and Pennisik, A.M. 1994. Epizootiological study of *Neozygites parvispora* (Zygomycota: Entomophthoraceae) in a population of *Frankliniella occidentalis* (Thys ; Thripidae) on pepper in Sicily. Entomophaga. 39 : 123-130.

Vänninen, I., Tyni-Juslin, J. and Hokkanen, H. 2000. Persistence of augmented *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Finnish agricultural soils. BioControl. 45 : 201–222.

Vayias, B.J. and Athanassiou., C.G. 2004. Factors affecting efficacy of the diatomaceous earth formulation SilicoSec against adults and larvae of the confused beetle *Tribolium confusum* Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae). Crop Protection. 23 : 565–573.

Vega, F.E., Dowd, P.F., McGuire, M.R., Jackson, M.A. and Nelsen, T.C. 1997. In vitro effects of secondary plant compounds on germination of blastospores of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Journal of Invertebrate Pathology. 70 : 209-213.

Vestergaard, S., Gilliespie, A.T., Butt,T.M., Schreiter, G. and Eilenberg, J. 1995. Pathogenicity of the hyphomycetes fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. Biocontrol Science and Technology. 5 : 185-192.

Vimala Devi, Prasad, Y.G., Anitha Chowdary D, L. Mallikarjuna Rao and Balakrishnan, K. 2003. Identification of Virulent Isolates of the Entomopathogenic Fungus *Nomuraea rileyi* (F) Samson for the management of *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. Mycopathologia. 156(4) : 365-373.

Wakefield, M.E. 2006. Factors affecting storage insect susceptibility to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. 9th International Working Conference on Stored Product Protection, Alternative Methods to Chemical Control. 855-862.

Wraight, S.P., Carruthers, R.I., Jaronski, S.T., Bradley, C.A.C., Garza, J. and Galaini, W.S. 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. Biological Control. 17 : 203-217.

Wraight S.P, Jackson, M.A. and de Kock, S.L. 2001. Production, stabilization and formulation of fungal biological agents, pp. 253- 287. In : Butt T.M., Jackson, C. and Magan, N. (eds.), Fungi as Biocontrol Agents, CABI, Wallingford,

Zhao Zichen, Xie Kequn, Leng Xingzhi, Zhao Guilan and Xu Qingfeng Song Yiliang. 1987. Test of Acute Toxicity of *Beauveria bassiana* Conidia to Mammalian Animals. Chinese Journal. 3 : 10

บทที่ 6 การใช้เชื้อรากำจัดแมลงควบคุมศัตรูอื่นๆ

(Entomopathogenic Fungi in Controlling Other Pests)

เชื้อรากำจัดแมลง นอกจากใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชในแปลง หลังการเก็บเกี่ยว และในโรงเก็บแล้ว ยังพบสามารถใช้ควบคุมแมลงทางการเพทย์และสาธารณสุข เช่น แมลงวันบ้าน แมลงวันหัวเขียว และอาร์โทปอดอื่น ๆ ได้แก่ เห็บ และสัตว์ในไฟลัม Mollusca ได้แก่ หอยแว่น และหอยเชอรี่ เป็นต้น

เชื้อรากำจัดควบคุมแมลงทางการเพทย์และสาธารณสุข

แมลงวันที่พบเห็นตามบ้านเรือนส่วนใหญ่นั้นเป็นแมลงวันบ้าน (Housefly *Musca domestica* L.) แมลงวันหัวเขียว (Blow fly หรือ Metallic fly) และแมลงวันหลังลาย (Flesh fly) (Wanna *et al*. 2010) โดยที่แมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (F.) เป็นพาหะนำพาเชื้อโรคได้ดีกว่าแมลงวันบ้าน (Monzon *et al*., 1991) แมลงวันหัวเขียววางไข่ตามแหล่งที่มีสิ่งเน่าเปื่อยตามกองขยะ สิ่งสกปรกเน่าเหม็น เช่น ซากสัตว์ จึงทำให้สัมผัสเชื้อโรคได้มากถึง 3.5 ล้านตัวต่อแมลงวันหัวเขียวหนึ่งตัว และสามารถนำโรคมาสู่คนได้มากกว่าถึง 60 ชนิด (Monzon *et al*., 1991) เมื่อแมลงวันหัวเขียวอาศัยซากสัตว์เป็นอาหารโดยการกินและวางไข่เป็นตัวหนอนดูดกินของเน่าเสียจากซากสัตว์ที่ถูกย่อยสลายด้วยเชื้อแบคทีเรีย ตัวเต็มวัยและตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวก็รับเอาเชื้อแบคทีเรียเข้าไปโดย เชื้อโรคจะติดตามลำตัว ขาและ ปีก ดังนั้นเมื่อแมลงวันหัวเขียวบินไปก็จะพาเชื้อโรคเหล่านี้ไปด้วย ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อโรค หรือแม้ในโรงฆ่าสัตว์ช่วงการฆ่าชำแหละซากสัตว์มักมีแมลงวันหัวเขียวมาเกาะตอมดูดเลือดจากซากสัตว์ เมื่อนำเนื้อสัตว์นั้นไปประกอบอาหารที่ไม่สุกหรือไม่ได้ใช้ความร้อนสูงเพียงพอมีผลทำให้คนติดโรคต่าง ๆ ที่สำคัญในภาวะที่มีการระบาดของเชื้อไข้หวัดนก (Virus H5N1) ในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ปีกประเภท ไก่ เป็ด แมลงวันหัวเขียวในบริเวณดังกล่าวอาจไปตอมมูลสัตว์ และซากสัตว์ที่ตาย เชื้อโรคอาจติดตามตัวแล้วนำเชื้อแพร่กระจายออกมาสู่บริเวณชุมชนรอบ ๆ ได้ (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 2551) มีรายงานการใช้เชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมแมลงวันชนิดต่างๆได้แก่ Roberto *et al*. (2005) รายงานว่า มีเชื้อรากำจัดแมลงกว่า 19 สายพันธุ์ ใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงวันบ้านได้ทั้งระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Streenberg and Humber (1999) และ Darwish and Zayed (2002) พบว่าเชื้อราสกุล *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae*

และ *Beauveria bassiana* สามารถควบคุมแมลงวันบ้านได้ โดยเมื่อเชื้อราแทงผ่านทะลุผนังลำตัวเข้าสู่ช่องว่างภายในลำตัวเข้าแล้วจะเจริญเส้นใย เพิ่มจำนวนในตัวแมลงภายใน 28 ชั่วโมงเต็มช่องว่างภายในลำตัวและชั้นไขมันทำให้แมลงวันตายภายในระยะเวลา 5-8 วัน หลังการติดเชื้อ เช่นเดียวกับ Streenberg and Humber (1999) ได้ทดสอบเชื้อรา *Verticillium fusisporum, Verticillium psalliotae, Verticillium lamellicol* และ *Acremonium* sp. ในการควบคุมแมลงวันบ้าน *Musca domestica* ผลการทดลองพบว่ามีเฉพาะเชื้อราสกุล *Verticillium lamellicol* ที่ไม่สามารถทำให้แมลงวันเกิดโรคตายได้ ส่วน Roberto *et al*. (2005) พบว่า การผสมสปอร์ของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ลงในอาหารของแมลงวันบ้านคือกากน้ำตาลผสมข้าวใส่ลงในภาชนะบรรจุที่มีขนาดเล็กให้กับแมลงวันบ้านในสภาพห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลา 15 วัน พบอัตราการตายของแมลงวันบ้านสูงถึง 90% เชื้อราต่างไอโซเลตกัน พบเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงวันบ้าน *Musca domestica* L. ต่างกัน พบเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 28-100% (Sharififard *et al*., 2011) นอกจากนี้ Watson *et al*. (1996) รายงานว่าเชื้อรา *Beauveria bassiana* มีความสามารถในการป้องกันกำจัดแมลงวันที่ฟาร์มโคนมในรัฐนิวยอร์ก Mythili *et al*. (2008) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria bassiana* กับแมลงวันหัวเขียวสกุล *Chrysomya megacephala* ระยะตัวหนอน พบว่า เมื่อใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* ในรูปแบบน้ำมันทำให้มีเชื้อรามีความรุนแรงของโรคทำให้แมลงวันหัวเขียวตายที่ 100% ซึ่งมากกว่าการใช้เชื้อราในรูปแบบสารแขวนลอย (SL) Wright (2004) พบว่าสารพิษที่เกิดจากเชื้อรากำจัดแมลงสายพันธุ์ *Metarhizium anisopliae* สามารถควบคุมแมลงวันหัวเขียวสกุล *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียได้โดยเมื่อใช้ในรูปแบบสารแขวนลอยน้ำมันซิลิโคน พบการติดเชื้อของแมลงวันที่ระดับ 50-70% และ เมื่อใช้สารแขวนลอยสปอร์ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^{7} โคนิเดีย/มิลลิลิตรทำให้แมลงวันหัวเขียว *L. sericata* ตายที่ในอัตรา 64%

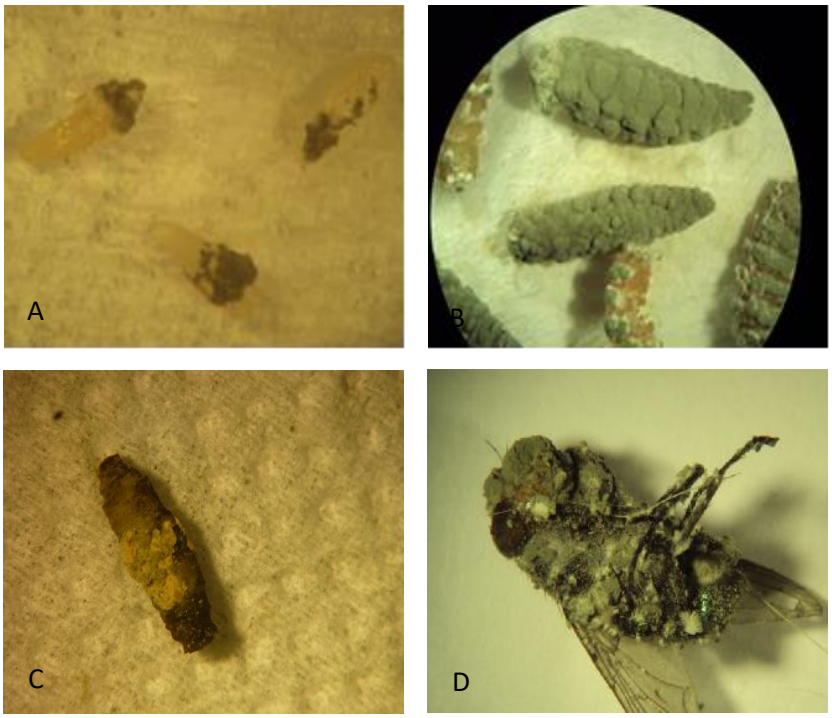
สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรากำจัดแมลงกับแมลงวันชนิดต่าง ๆ ในประเทศไทย ศิริพร (2541) พบว่า เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* และ *Metarhizium anisopliae* var. *majus* ในการป้องกันกำจัดแมลงวันบ้านที่ความเข้มข้น 4 ระดับ ได้แก่ $2x10^{8}$ $2x10^{7}$ $2x10^{6}$ และ $2x10^{5}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร พบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* var. *anisopliae* พบจำนวนการตายของแมลงวันบ้านเท่ากับ 65.36% ส่วน *M. anisopliae var. majus* พบจำนวนการตายของแมลงวัน เท่ากับ 43.92% ซึ่งพบค่า LC_{50} ของ *M. anisopliae var. anisopliae* เท่ากับ $5.58x10^{5}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ส่วนค่า LC_{50}

ของ *M. anisopliae* var. *majus* เท่ากับ 2.74x10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ภัทรินทร์ และคณะ (2555) ได้คัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 4 สกุล 10 ชนิด รวม 20 ไอโซเลต ได้แก่ *Beauveria bassiana*, *Beauveria amopha*, *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium flavoviride*, *Isaria farinosus*, *Isaria fumosoroseus*, *Isaria tenuipes*, *Isaria liacinus*, *Verticillium lecanaii* และ *Verticillium hemiptergenum* ที่เก็บรวบรวมและคัดแยกเชื้อจากสิ่งอาศัย (host) ต่างๆในประเทศไทย นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันหัวเขียว Blow fly, *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera : Calliphoridae) พบว่า เชื้อราทุกไอโซเลตมีความสามารถในการทำให้หนอนแมลงวันหัวเขียวเกิดโรคตายได้ทุกไอโซเลต ที่เปอร์เซ็นต์การตายระหว่าง 28.33-86.67 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลต Ma.6171 มีความรุนแรงสูงที่สุดโดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 5.57x10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ค่า LT_{50} เท่ากับ 2.77 วัน (ตารางที่ 6.1) เชื้อรามีประสิทธิภาพในการทำให้แมลงวันหัวเขียวตายได้ทุกระยะการเจริญเติบโต (ภาพที่ 6.1) แต่เปอร์เซ็นต์การตายขึ้นอยู่กับระยะการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว โดยระยะหนอนจะเป็นระยะที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อรามากที่สุด รองลงมาได้แก่ ระยะตัวเต็มวัย และระยะไข่ ส่วนระยะดักแด้ จะเป็นระยะที่มีความทนทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรามากที่สุด (ตารางที่ 6.2) นอกจากนี้พบว่าเมื่อนำเชื้อราไปทดสอบในโรงฆ่าสัตว์ พบว่าเชื้อราสามารถทำให้แมลงวันหัวเขียวเกิดโรคและตายได้ในอัตราที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ภัทรินทร์ 2555)

ตารางที่ 6.1 ค่า LC_{50} และ LT_{50} ของเชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae* และ *Metarhizium flavoviride* ต่อหนอนแมลงวันหัวเขียว (*Chrysomya megacephala*) ระยะที่ 2

Species	Isolate no.	LC_{50} ± SE (conidia/ml.)	LT_{50} ± SE (วัน)
Metarhizium anisopliae	Ma.6171	(5.57±1.58) x10^5	2.77±0.21
Beauveria bassiana	Bb.6241	(5.07±1.78) x10^6	3.27±0.17
Metarhizium flavoviride	Mfl.5744	(1.37±1.88) x10^7	3.87±0.75

ที่มา : ดัดแปลงมาจากภัทรินทร์ และคณะ (2555)



ภาพที่ 6.1 แมลงวันหัวเขียวถูกทำลายด้วยเชื้อรากำจัดแมลง

(A) ระยะไข่ (B) ระยะตัวหนอน (C) ระยะดักแด้ (D) ระยะตัวเต็มวัย

ที่มา : ภัทรินทร์ และคณะ (2555)

ตารางที่ 6.2 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* isolate 6171 ต่อระยะการเจริญเติบโตต่างๆ ของแมลงวันหัวเขียว (*Chrysomya megacephala*)

ระยะการเจริญเติบโต	LC_{50}+ SE (conidia/ml.)
ระยะไข่	$(2.56 \pm 1.18) \times 10^{6}$
ระยะตัวหนอน	$(5.57 \pm 1.58) \times 10^{5}$
ระยะดักแด้	$(1.73 \pm 0.86) \times 10^{7}$
ระยะตัวเต็มวัย	$(1.76 \pm 0.44) \times 10^{6}$

ที่มา : ภัทรินทร์ และคณะ (2555)

เชื้อรากำจัดแมลงควบคุมเห็บโค

โคเป็นสัตว์เศรษฐกิจคู่ประเทศไทยมาช้านาน แต่มักมีปัญหาเห็บ (*Boophilus microplus* Canestrini) ซึ่งเป็นพยาธิภายนอกที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการเลี้ยงโคมากที่สุด เห็บโคมีแพร่กระจายอยู่ทั่วโลกที่มีการเลี้ยงโค และยังสามารถพบเห็บในแพะ แกะสุกร และสุนัข (ณรงค์, 2549) อันตรายจากเห็บที่มีต่อสัตว์เลี้ยง คือ ดูดกินเลือดทำให้เกิดภาวะโลหิตจาง (anemia) และยังทำให้ผลผลิตทางด้านน้ำนมเสียหาย เห็บโค 1 ตัวสามารถดูดกินเลือดได้ถึง 0.50-2.00 มิลลิลิตร (อาคม, 2538) น้ำนมโค 10 ลิตร ผลิตจากเลือด 1,500-5,000 ลิตร (พิเชษ, 2540) ดังนั้นโคนม 1 ตัว ที่มีเห็บจำนวน 1,000 ตัว ในเวลา 1 เดือนสูญเสียเลือดทั้งสิ้น 60,000 มิลลิลิตร หรือสูญเสียน้ำนม 18.46 ลิตร สอดคล้องกับ Jonsson *et al.* (1998) ที่พบว่ากลุ่มโคที่ไม่มีเห็บสามารถผลิตน้ำนมได้มากกว่ากลุ่มโคที่มีเห็บถึง 2.86% และมีน้ำหนักตัวมากกว่า 10.6 กิโลกรัม นอกจากนั้นเห็บโคยังสร้างความรำคาญ ทำให้เกิดการแพ้ (allergy) ผิวหนังมีแผล ขนไม่สวย และเป็นพาหะของโรคต่าง ๆ เช่น โรคบาบีซิโอซิส (babesiosis) โรคอะนาพลาสโมซิส (anaplasmosis) (นุชา, 2545) จากการศึกษาของนิดารัตน์ และคณะ (2543) หากมีการระบาดของเห็บมากการเกิดโรคบาบีซิโอซิสก็จะมากขึ้นตามไปด้วย เมื่อเป็นโรคนี้แล้วโคมีอัตราการตาย 50-90% (กรมปศุสัตว์, มปป) การควบคุมและกำจัดเห็บโคนิยมใช้สารเคมี เพราะหาซื้อง่าย ใช้สะดวก และเห็บที่อยู่บนตัวโคจะตายทันที แม้ว่าการใช้สารเคมีจะเห็นผลได้รวดเร็วและทันท่วงที แต่ทำให้เกิดผลเสียตามมา คือ เห็บต้านทานสารเคมีที่ใช้และที่สำคัญมีสารตกค้างในผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มในประเทศไทย จันทร์ทิพย์ (2538) พบสารตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนคิดเป็นร้อยละ 95.5 เห็บโคมีการเจริญจากตัวอ่อน (larvae) เป็นตัวกลางวัย (nymph) และตัวเต็มวัย (adult) อยู่บนโคตัวเดียว เห็บโคเพศเมียกินเลือดจนอิ่มตัว (engorge) ก่อนที่จะปล่อยตัวลงพื้นเพื่อไปวางไข่ เห็บเพศเมียจะเริ่มวางไข่ภายใน 2-3 วัน หลังจากหล่นลงพื้น และจะวางไข่หมดภายใน 10-20 วัน เห็บเพศเมียหนึ่งตัวสามารถวางไข่ได้ 728-4,316 ฟอง (เฉลี่ย 2,445 ฟอง) เมื่อวางไข่หมดเห็บเพศเมียก็จะตาย ไข่จึงจะฟักเป็นเห็บตัวอ่อนเมื่อครบ 15-23 วัน (เฉลี่ย 17 วัน) โดยตัวอ่อนมีขนาด 1-2 มิลลิเมตร ประกอบด้วยขาจำนวน 6 ขา จากนั้นเห็บตัวอ่อนจะขึ้นสู่ตัวโค พบว่าเห็บตัวอ่อนสามารถมีชีวิตอยู่ได้นาน 30-150 วัน (เฉลี่ย 60 วัน) หรือสามารถอยู่ได้นานถึง 6 เดือน ถ้าในสภาพแวดล้อมนั้นมีความชื้นสูง หลังจากขึ้นบนตัวโคแล้วเห็บตัวอ่อนจะกินเลือดโคเป็นเวลา 5-7 วัน แล้วจึงลอกคราบเป็นเห็บตัวกลางวัยมีขา 8 ขา และกินเลือดโคต่ออีก 1 สัปดาห์แล้วจึงลอกคราบเป็นตัวเต็มวัย เห็บเพศเมียกินเลือดโคจนอิ่มตัวซึ่งใช้เวลาประมาณ 1 สัปดาห์ ในระยะนี้เห็บเพศเมียที่อิ่มตัวพร้อมจะลงสู่พื้นเพื่อหาที่วางไข่ โดยรวมเวลาที่เห็บกินเลือดอยู่บนตัวโค

ประมาณ 3-4 สัปดาห์ ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงสภาพแวดล้อมและวงจรชีวิตของเห็บเห็นได้ว่ามีผลต่อการเพิ่มศักยภาพของเชื้อราในการควบคุมเห็บได้เป็นอย่างมาก กล่าวคือ การที่เห็บเพศเมียเมื่อกินเลือดจนอิ่มตัวแล้ว ต้องมีการปล่อยตัวลงพื้นเพื่อไปวางไข่ และจะอาศัยอยู่ในบริเวณดังกล่าว อย่างน้อย 5-7 วัน ซึ่งระยะดังกล่าวเป็นระยะที่พอเพียงสำหรับเชื้อราเข้าทำลายเห็บเพศเมียได้ เมื่อเห็บเพศเมียตายก็ไม่สามารถวางไข่ได้ซึ่งเป็นการตัดวงจรชีวิตของเห็บ หรือถ้าเห็บไม่ตาย เชื้อรายังมีผลในการลดปริมาณการวางไข่ของเห็บได้ หรือทำลายไข่เห็บที่วางไว้แล้วซึ่งจะส่งผลทำให้ประชากรของเห็บลดลงในที่สุด นอกจากนี้จากวงจรการทำลายเห็บโดยเชื้อรา เมื่อเห็บตายเชื้อราเจริญภายในตัวเห็บและสร้าง สปอร์ขึ้นมาใหม่สามารถแพร่กระจาย ไปเข้าทำลายตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่ในบริเวณดังกล่าวได้อีกทางหนึ่งด้วย อีกทั้งสปอร์ของเชื้อรามีความคงทน สามารถอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้นาน และเมื่อสภาพแวดล้อมกลับมาเหมาะสมอีกครั้งทำให้สปอร์สามารถเจริญและเข้าทำลายเห็บได้ ซึ่งจะเป็นการควบคุมเห็บได้อย่างยั่งยืน เชื้อรากำจัดแมลงมีศักยภาพในการควบคุมเห็บโคได้ (มาลี 2554) มีรายงานเชื้อรากำจัดแมลง *Aspergillus*, *Beauveria*, *Fusarium, Isaria*, *Lecanicillium* และ *Metarhizium* เข้าทำลายเห็บได้ (Barci, 1997; Gindin *et al.*, 2001; Garcia *et al.*, 2005; มาลี 2554) โดยเชื้อรามีผลต่อ *Boophilus annulatus* (Ixodidae) ทั้งระยะไข่ ระยะตัวอ่อน และระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม เชื้อราที่นิยมใช้เพื่อควบคุมเห็บ คือ เชื้อราในสกุล *B. bassiana* และ *M. anisopliae* เนื่องจากเชื้อราทั้งสองกลุ่มนี้สามารถแพร่กระจายได้ในหลายภูมิประเทศแม้แต่ในสภาพที่มีความชื้นต่ำ และมีผลต่อเห็บหลายชนิด รวมทั้งสามารถทำลายไข่ของเห็บได้ (Camposs *et al.*, 2005; Garcia *et al.*, 2005; Hall and Papierok, 1982) และจากการศึกษาของ Mwangi *et al*. (1994) ได้นำเชื้อรา *Beauveria bassiana* และเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* มาควบคุมเห็บ *Rhipicephalus appendiculatus* ระยะตัวเต็มวัย พบว่า เชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ทำให้เห็บมีอัตราการตายสูงกว่ากลุ่มควบคุมคิดเป็นร้อยละ 73, 35 และ 0 ตามลำดับ ส่วนในเห็บเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม พบว่าเห็บที่ได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* มีอัตราการตายของเห็บสูงกว่าเชื้อรา *B. bassiana* คิดเป็นร้อยละ 81 และ 74 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kaaya *et al.* (1996) ที่ได้ทำการพ่นเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ความเข้มข้น $1x10^{10}$ สปอร์/มล. ลงบนไข่เห็บ *R. appendiculatus* พบว่า อัตราการฟักไข่ลดเหลือร้อยละ 48 และ 17.5 ตามลำดับ ส่วน Gindin *et al.* (2001) พบว่าเชื้อรา *B. bassiana* ทำให้ไข่เห็บฝ่อมีความแตกต่างกัน โดยเชื้อราทำให้ไข่เห็บฝ่อ สูงถึงร้อยละ 98 ส่วน *M. anisopliae* พบไข่เห็บฝ่อ ร้อยละ 70 แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่พบมีการฝ่อของไข่เห็บเลย โดยเชื้อรา *B. bassiana* ทำให้ไข่เห็บสามารถฟักออกได้เพียงร้อยละ 1.8-6.2 ของไข่เห็บที่ใช้ในการทดสอบ

และเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้ไข่เห็บสามารถฟักออกได้เพียงร้อยละ 19.5-30.6 ของไข่เห็บที่ใช้ในการทดสอบเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนเชื้อรา *M. flavoviride*, *I. fumosoroseus* และ *Verticillium* spp. พบว่าอัตราการฝ่อของไข่เห็บ *B. annulatus* ไม่แตกต่างกับกลุ่มความคุม ส่วนเห็บ *B. annulatus* ระยะตัวอ่อนพบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* และเชื้อรา *M. flavoviride* ทำให้เห็บระยะตัวอ่อนตายสูงกว่ากลุ่มควบคุม และเชื้อรากำจัดแมลงสายพันธุ์อื่น ๆ (ร้อยละ 90.6 100 และ 0) และเห็บ *B. annulatus* ระยะตัวเต็มวัย พบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้เห็บตายได้สูงที่สุดคิดเป็นร้อยละ 90-100 ส่วนเชื้อรา *M. flavoviride*, *B. bassiana*, *I. fumosoroseus* และ *Verticillium* spp. ทำให้เห็บมีอัตราการตายอยู่ในช่วงร้อยละ 25-60 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และอัตราการฟักออกของไข่เห็บ *B. annulatus* จากเห็บเพศเมียที่ได้รับเชื้อพบว่าเห็บที่ได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้ไข่เห็บฟักออกต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับ Lui *et al.* (1989) ที่ได้ทำการทดสอบการเกิดโรคของเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต 7 และ *M. anisopliae* ไอโซเลต 43 ต่อเห็บ *B. annulatus* ระยะไข่ ระยะตัวอ่อน และระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม ผลการทดสอบการเกิดโรค พบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต 7 ทำให้เห็บทุกระยะตายสูงกว่ากลุ่มควบคุม คิดเป็นร้อยละ 80-100 และ 0 ตามลำดับ โดยเฉพาะเห็บ *B. annulatus* ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มที่กำลังวางไข่ ซึ่งเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต 7 จะทำให้อัตราการวางไข่ของเห็บที่ได้รับเชื้อราลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Gindin *et al.* (2001) ได้ทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการทำเกิดโรคเชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ในรูปสารแขวนลอยน้ำกลั่น และในรูปสารแขวนลอยน้ำมันต่อเห็บ *Rhipicephalus appendiculatus* และเห็บ *Amblyomma variegatum* ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^9$ สปอร์/มล. จากผลการทดลองพบว่าทั้งเชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ในรูปสารแขวนลอยน้ำมัน ทำให้เห็บระยะตัวอ่อน *R. appendiculatus* และเห็บ *A. variegatum* ตายได้ถึงร้อยละ 100 ในเห็บในระยะตัวกลางวัย และระยะตัวเต็มวัย *R. appendiculatus* และเห็บ *A. variegatum* ที่พ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์ในน้ำมันตายได้สูงกว่าเห็บในระยะตัวกลางวัยและระยะตัวเต็มวัยที่พ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์ในน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญ (ร้อยละ 100 และ 80 ตามลำดับ) ซึ่งสอดคล้องกับ Maranga *et al.* (2005) ได้เปรียบเทียบการเกิดโรคของเห็บ *A. variegatum* โดยใช้สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงในน้ำกลั่น และสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงในน้ำมัน พบว่า เห็บ *A. variegatum* ที่พ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงในน้ำมันมีอัตราการตายสูงกว่าเห็บที่พ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงในน้ำกลั่น คิดเป็นร้อยละ 94 และ 49 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่า เชื้อรากำจัดแมลงมีผลต่อไข่เห็บ

Bittencourt *et al.* (1994 a b) ได้ทำการศึกษาการจุ่มไข่เห็บ *R. appendiculatus* ลงในสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *M. anisophiae* ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. พบว่ามีไข่เห็บฝ่อไม่สามารถฟักออกได้ถึงร้อยละ 96 และเมื่อจุ่มเห็บเพศเมียที่กินเลือดจนอิ่มลงในสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* ที่ความเข้มข้น $2.7x10^8$ สปอร์/มล. พบว่าเห็บเพศเมียมีอัตราการตายถึงร้อยละ 100 Frazzon *et al.* (2002) ได้ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 12 ไอโซเลตต่อเห็บ *B. microplus* ระยะตัวต็มวัยที่ดูดเลือดจนเป่งที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ผลการศึกษาพบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 10 ไอโซเลต สามารถทำให้เห็บเกิดโรคและตายได้ถึงร้อยละ 100 จากนั้นยังได้ศึกษาต่อถึงค่า LC_{50} โดยได้นำเชื้อรา เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต E6S1 ซึ่งให้ผลการเกิดโรคดีที่สุด มาทดสอบหาค่า LC_{50} โดยเจือจางระดับความเข้มข้นออกเป็น 10^9, 10^8, 10^7, 10^6 และ 10^5 สปอร์/มล. ผลการศึกษาพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 10^6 และ 10^5 สปอร์/มล. ทำให้เห็บตายได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ได้ดีกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ คิดเป็นร้อยละ 93 และ 53 ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10^9 สปอร์/มล. พบว่าเห็บเกิดความล้มเหลวในการวางไข่ได้มากที่สุด และ Zhioua *et al.* (1997) ได้นำเชื้อรา *M. anisopliae* มาทดสอบกับเห็บ *Ixodes scapularis* ระยะตัวเต็มวัยที่ดูดเลือดจนตัวเป่ง พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* สามารถทำให้เห็บ *I. scapularis* ระยะตัวเต็มวัยที่ดูดเลือดจนตัวเป่ง ตายได้ถึงร้อยละ 100 ภายในระยะเวลาเพียง 2 วัน Polar *et al.* (2005) ได้ศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต ARSEF3297 และ IMI386697 ต่อเห็บ *B. microplus* บนตัวโค โดยใช้ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ผลการศึกษาพบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต ARSEF3297 สามารถทำให้เห็บ *B. microplus* เกิดโรคตายได้สูงกว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต IMI386697 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คิดเป็นร้อยละ 89 และ 29 ตามลำดับ Kheirabadi *et al.* (2006) ได้นำเชื้อรา *M. anisopliae*, *B. bassiana* และ *L. psalliotae* ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. ต่อการควบคุมเห็บ *R. annulatus* ตัวเต็มวัยที่ดูดเลือดจนเป่ง ระยะตัวอ่อน และการติดเชื้อผ่านไข่ พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้เห็บระยะตัวเต็มวัยตายได้สูงที่สุดคิดเป็นร้อยละ 90-100 รองลงมา คือ เชื้อรา *B. bassiana* คิดเป็นร้อยละ 70 ส่วนเชื้อรา *L. psalliotae* ให้อัตราการตายของเห็บตัวเต็มวัยที่ดูดเลือดจนอิ่มตายได้ต่ำที่สุด (ร้อยละ 56.60) และความล้มเหลวในการวางไข่พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้อัตราการวางไข่ของเห็บลดลงมากที่สุด (ร้อยละ 89.10) รองลงมาคือเชื้อรา *L.* (ร้อยละ 56.30) และเชื้อรา *B. bassiana* มีผลต่อการวางไข่ของเห็บต่ำที่สุด (ร้อยละ 35.50) อัตราการฟักออกพบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* มีผลต่อการฟักออกของไข่เห็บมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 88.69 รองลงมา คือ เชื้อรา *B. bassiana* (ร้อยละ 78.15) และเชื้อรา

L. psalliotae มีผลต่อการฟักออกของไข่เห็บต่ำที่สุดคิดเป็นร้อยละ 59.74 และ Monteiro *et al.* (1998) ได้ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ต่อระยะตัวกลางวัยของเห็บ *Rhipicephalus sanguineus* พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* สามารถทำให้เกิดโรคกับเห็บ *R. sanguineus* ทั้ง 3 ระยะ โดยเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้เห็บ *R. sanguineus* ตายอยู่ในช่วงร้อยละ 13.30 -96.00 และเชื้อรา *B. bassiana* ตายอยู่ในช่วงร้อยละ 60-90 ส่วนค่า LC_{50} ของเชื้อรา *M. anisopliae* อยู่ในช่วง $1.3x10^4$-$4.3x10^6$ สปอร์/มล. และค่า LC_{50} ของเชื้อรา *B. bassiana* อยู่ในช่วง $2.2x10^5$-$1.2x10^6$ สปอร์/มล.ส่วน Bittencourt *et al*. (1996) ได้ค่า LD_{50} ของเชื้อรา *B. bassiana* เป็น $6.83x10^6$ สปอร์ต่อมล. ส่วน Hartelt *et al.* (2007) ได้ทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ต่อเห็บ *Ixodes ricinus* ระยะตัวเต็มวัยที่ดูดเลือดจนอิ่ม ระยะตัวอ่อน และระยะตัวกลางวัย พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้เห็บ *I. ricinus* ทั้ง 3 ระยะมีอัตราการตายสูงกว่าเชื้อรา *B. bassiana* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากนั้นได้นำเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลต คือ ไอโซเลต 97 ไอโซเลต X-1c และไอโซเลต 43 มาหาค่า LC_{50} พบว่าไอโซเลต 97 มีความรุนแรงของการเกิดโรคมากกว่าไอโซเลตอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ $1.4X10^6$ สปอร์/มล. และมีค่า LT_{50} เท่ากับ 14 วัน Posdas and Lecuona (2008) ได้ศึกษาไอโซเลตของเชื้อรา *B. bassiana* ต่อการควบคุมเห็บ *Rhipicephalus* microplus พบว่า เชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต 259 และ ไอโซเลต 98 สามารถทำให้จำนวนไข่ จำนวนตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบค่า LC_{50} ในไข่เป็น $1x10^7$ สปอร์/มล.และตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่เป็น $1.15x10^7$ สปอร์/มล.

สำหรับการควบคุมเห็บด้วยเชื้อรากำจัดแมลงในประเทศไทย ไพลิน และคณะ (2551) ได้ทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับเห็บ *B. microplus* เพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มของเชื้อรา *B. bassiana M. anisopliae M. flavoriride I. fumosoroseus I. farinosus* และ *L. lecanii* โดยทำการจุ่มเห็บลงในสารแขวนลอยสปอร์ความเข้มข้น $5x10^8$ สปอร์/มล. จากการทดสอบพบว่า เชื้อรา *B. bassiana, M. anisopliae* และ *I. fumosoroseus* ทำให้เห็บตายได้ ร้อยละ 100 และผลจากการศึกษาความสามารถของเชื้อรา *M. anisopliae* ในการทำให้เกิดโรคกับโค พบว่ามีเชื้อรา 4 ไอโซเลต คือ Ma. 6071, Ma. 6079, Ma. 6171 และ Ma. 7965 มีความสามารถในการทำให้เห็บโคเกิดโรคและตายร้อยละ 70, 100, 95 และ 100 ตามลำดับ ในขณะที่ไอโซเลต Ma. 7527 ไม่มีความสามารถทำให้เห็บโคตายได้เลย (ตารางที่ 6.3) (มาลี และกรกฎ 2552) จากการศึกษาผลของเชื้อราที่มีต่อร่างกายของโค

พบว่าเชื้อราไม่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีเลือดของโค นอกจากนั้นจากการศึกษานี้ยังไม่พบว่ามีการงอกของเชื้อราที่ผิวหนังโค มาลี (2554) รายงานว่า เชื้อรากำจัดแมลงมีศักยภาพในการทำให้เห็บโคเกิดโรคตายได้

ตารางที่ 6.3 เปอร์เซ็นต์การตายของเห็บโคเพศเมียระยะกินเลือดจนอิ่มตัว (engorge) ด้วยเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลตต่าง ๆ

ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง ± SD
Ma. 6071	70.00 ±11.00
Ma. 6079	100.00 ± 0.00
Ma.6171	95.00 ± 3.00
Ma. 7527	0.00 ± 0.00
Ma. 7965	100.00 ± 0.00

ที่มา : มาลี และกรกฎ (2552)

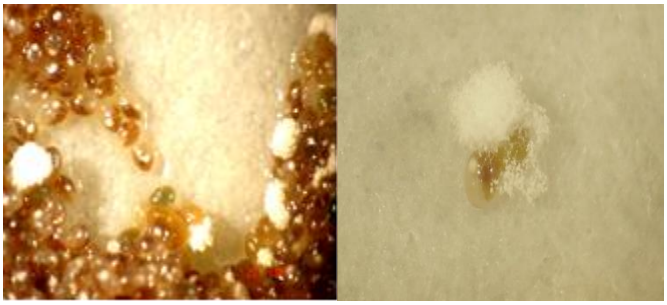
Parichart *et al.* (2009) รายงานว่า เชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 12 ไอโซเลต ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. มีความสามารถในการทำให้เห็บโคเกิดโรคและตายได้ แต่เปอร์เซ็นต์การตายแตกต่างกัน โดยไอโซเลต 5082 และ 5335 มีความสามารถทำให้เห็บโคเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มระยะตัวอ่อน และไข่เห็บตายสูงกว่าไอโซเลตอื่น ๆ คิดเป็นร้อยละ 90-100 (ตารางที่ 6.4) ความสามารถของเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต 5082 และ 5335 ต่อการยับยั้งการฟักออกของไข่เห็บ ในการใช้เชื้อราควบคุมเห็บโคเลียนแบบสภาพจริง พบว่า ไอโซเลต 5335 มีผลต่อการยับยั้งการฟักออกได้สูงกว่าไอโซเลต 5082 คิดเป็นร้อยละ 94.00 และ 75.67 ตามลำดับ แต่การติดเชื้อของเห็บระยะตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่ที่ได้รับเชื้อจากทั้ง 2 ไอโซเลตให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการทดลองบนตัวโคพบว่า เห็บที่ติดเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลต มีอัตราการตายแตกต่างกับกลุ่มควมคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไอโซเลต 5335 มีอัตราการตายร้อยละ 99.55 ไอโซเลต 5082 ร้อยละ 93.74 และกลุ่มควบคุม ร้อยละ 11.60 ตามลำดับ

ตารางที่ 6.4 อัตราการตายของเห็บเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มเนื่องจากเชื้อรา *Beauveria bassiana*

ไอโซเลตเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (%) ±SD
Bb. 2637	63.33±6.01
Bb. 4591	76.67±4.41
Bb. 5082	100.00±0.00
Bb. 5335	98.33±1.67
Bb. 5436	56.67±8.33
Bb. 5736	65.00±2.87
Bb. 6241	76.67±1.67
Bb. 6243	61.67±4.41
Bb. 6966	58.33±4.41
Bb. 6988	45.00±5.00
Bb. 7683	70.00±2.87
Bb. 7757	75.00±2.87

ที่มา : Parichart *et al.* (2009)

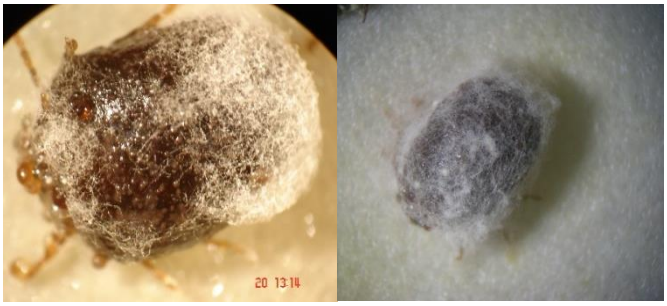
เช่นเดียวกันกับที่ Thoetthai *et al*. (2009) พบว่าเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* จำนวน 6 ไอโซเลต *Metarhizium flavoviride* จำนวน 2 ไอโซเลต และ *Isaria fumosoroseus* 1 ไอโซเลต มีความสามารถในการทำให้เห็บโคตายได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของเห็บ (ภาพที่ 6.2) โดยเปอร์เซ็นต์การตายแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสกุล ชนิด และไอโซเลต มีเปอร์เซ็นต์การตาย 86.68-100 อีกทั้งพบว่าเชื้อรามีผลต่อการวางไข่ของเห็บโค (ตารางที่ 6.5)



ระยะไข่



ระยะตัวอ่อน



ระยะตัวเต็มวัย

ภาพที่ 6.2 เห็บในแต่ละระยะการเจริญเติบโตถูกทำลายด้วยเชื้อรากำจัดแมลง

ที่มา : Parichart *et al.* (2009); Thoetthai *et al.* (2009)

นอกจากนี้ได้มีการศึกษาถึงประสิทธิภาพของเชื้อรากำจัดแมลง ในการควบคุมเห็บบนตัวโค โดยใช้โคพันธุ์ Zebu จำนวน 5 ตัว ผูกถุงไนลอนที่บรรจุเห็บ *R. appendiculatus* จำนวน 50 ตัวต่อถุง โดยมัดทั้งหูซ้ายและหูขวา ทิ้งไว้ 2 วัน เพื่อให้เห็บเกาะติดกับหู พ่นสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ที่ระดับความเข้มข้น 10^9 สปอร์/มล. ในปริมาณ 10 มิลลิตรต่อหู 1 ข้าง กลุ่มควบคุมใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วพ่นในปริมาณ 10 มิลลิลิตร พบว่าเชื้อรา

M. anisopliae และเชื้อรา *B. bassiana* ทำให้อัตราการตายของเห็บสูงกว่ากลุ่มควบคุม คิดเป็นร้อยละ 83 และ 77.5 และ 17 ตามลำดับ

ตารางที่ 6.5 การวางไข่ของเห็บโครยะตัวเป่ง (engorged female) เมื่อทดสอบกับเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride* และ *Isaria fumosoroseus* ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล.

เชื้อรา	ไอโซเลต	จำนวนไข่ (ฟอง) $\overline{X} \pm SD$
M. anisopliae	Ma.6071	20,935.90 ± 2702.00
	Ma.7965	20,076.21 ± 2323.88
	Ma.6171I	23,690.88 ± 880.17
	Ma.5799	20,394.59 ± 1957.81
	Ma.4849	16,908.38 ± 4204.44
	Ma.1964	20,227.92 ± 2232.15
M. flavoviride	M.fl5744	17,415.94 ± 6736.33
	M.fl1164	17,312.68 ± 5039.71
I. fumosoroseus	P.fu	13,975.78 ± 1668.10

ที่มา : Thoetthai *et al.* (2009)

ส่วน engorgement weight ของเห็บในกลุ่มควบคุมสูงกว่าเห็บที่ได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* และเชื้อรา *B. bassiana* และจำนวนไข่ของเห็บที่ได้รับเชื้อรา *B. bassiana* น้อยกว่าเห็บที่ได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* และเห็บในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากการศึกษาในโคแล้ว Kaaya *et al.* (1996) ยังได้ศึกษาเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ควบคุมเห็บ *A. variegatum* ในกระต่าย โดยผูกถุงที่บรรจุเห็บ จำนวน 30 ตัวต่อถุง โดยมัดทั้งหูซ้ายและหูขวา ทิ้งไว้ 2 วัน เพื่อให้เห็บเกาะติดกับหูของกระต่าย จากนั้นพ่นด้วยสารละลายเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ความเข้มข้น 10^8 สปอร์/มล. พ่นในปริมาณ 5 มล.ต่อหู 1 ข้าง กลุ่มควบคุมใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วพ่นในปริมาณ 5 มล.ต่อหู 1 ข้าง พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้อัตราการตายของเห็บ *A. variegatum* สูงกว่าเชื้อรา *B. bassiana* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ engorgement weight ของเห็บในกลุ่มควบคุมสูงกว่าเห็บที่ได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* และเชื้อรา *B. bassiana* ส่วนอัตราการฟักออกของไข่ พบว่าเห็บในกลุ่มควบคุมและเห็บที่ได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* มีอัตราการฟักออกจากไข่สูงกว่าเห็บในกลุ่มที่ได้รับ

เชื้อรา *B. bassiana* และเห็บที่ได้รับเชื้อรา *B. bassiana* ไม่สามารถวางไข่ได้สูงกว่าเห็บในกลุ่มควบคุม และเห็บที่ได้รับเชื้อรา *M. anisopliae*

ดังนั้นในการควบคุมเห็บโค จึงสามารถใช้เชื้อรากำจัดแมลง พ่นในโรงเรือน ตามพื้นที่โคอยู่ เพื่อกำจัดเห็บตั้งแต่ระยะไข่และตัวอ่อนก่อนที่จะขึ้นบนตัวโค และยังสามารถใช้ในแปลงหญ้าอาหารสัตว์ได้ ทั้งเพื่อกำจัดแมลงที่มาทำลายหญ้าอาหารสัตว์ และกำจัดเห็บโคที่อยู่ตามแปลงหญ้าได้อีกทางหนึ่งด้วย

เชื้อรากำจัดแมลงควบคุมหอย

1.1 หอยเชอรี่

หอยเชอรี่ (Golden Apple Snail) หรือหอยโข่งอเมริกาใต้ หรือหอยเป๋าฮื้อน้ำจืด ที่มีรูปร่างและลักษณะคล้ายกับหอยโข่งไทยแต่ตัวโตกว่า ได้ถูกนำเข้ามาในประเทศไทยครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2525 เพื่อเลี้ยงขายเป็นหอยสวยงามในตู้ปลาและเลี้ยงเป็นฟาร์มเพื่อส่งออกเป็นอาหาร แต่เนื่องจากประสบปัญหาเรื่องการตลาด ประกอบกับหอยเชอรี่สามารถเจริญเติบโตและสืบพันธุ์ได้รวดเร็ว ไม่มีศัตรูธรรมชาติคอยควบคุม จึงเพิ่มปริมาณมากและแพร่กระจายไปสู่แหล่งน้ำลำคลองและเกิดการระบาดลงสู่นาข้าวของเกษตรกร ปัจจุบันหอยเชอรี่ได้ระบาดแพร่กระจายไปทั่วประเทศ ซึ่งมีอยู่ 3 ชนิด ได้แก่ *Pomacea canaliculata*, *P. inslarus* และ *Pomacea* sp. ซึ่งยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ หอยเชอรี่เป็นศัตรูสำคัญที่สร้างความเสียหายให้กับข้าวและพืชน้ำ หอยเชอรี่ตัวเต็มวัยที่มีอายุประมาณ 3 เดือน สามารถผสมพันธุ์วางไข่ได้ตลอดทั้งปี โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนหอยเชอรี่สามารถวางไข่ได้ 10 -14 ครั้งต่อเดือน ไข่หอยมีสีชมพูเกาะติดกันเป็นกลุ่ม กลุ่มละ 388 –3,000 ฟอง ระยะไข่ 7 -12 วัน ลูกหอยตัวเล็ก ๆ จะกินสิ่งอ่อนนิ่ม เช่น สาหร่ายเป็นอาหารและเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เมื่อหอยเชอรี่มีขนาด 1.6 เซนติเมตร ก็เริ่มกัดกินต้นข้าวได้ (ชมพูนุช และคณะ, 2539) ถ้ามีหอยเชอรี่ 8 ตัวต่อตารางเมตร จะสามารถกัดกินต้นข้าวที่ปักดำใหม่ ๆ ถึงระดับช่วงแตกกอให้หมดได้ภายในหนึ่งคืน (โศรดา 2548) หอยเชอรี่ชอบกินต้นข้าวในระยะกล้าที่มีอายุประมาณ 10 วันมากที่สุดโดยเฉลี่ยวันละประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวหอย และสามารถกินได้ตลอด 24 ชั่วโมง ในปัจจุบันมีการใช้เชื้อรากำจัดแมลงเพื่อการควบคุมแมลงในแปลงนา เช่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หนอนกอข้าวและแมลงอื่น ๆ ในนาข้าวอย่างกว้างขวาง ในขณะที่หอยเชอรี่ก็เป็นปัญหาหนึ่งในการปลูกข้าวเช่นกัน การใส่เชื้อรากำจัดแมลงควบคุมหอยเชอรี่ เพื่อให้สามารถควบคุมศัตรูพืชในนาข้าวได้อย่างเบ็ดเสร็จ ทั้งเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูข้าวและหอยเชอรี่ในเวลาเดียวกัน วุฒิชัย (2557) พบว่า หอยเชอรี่ตัวเต็มวัยที่ขนาดความยาวเปลือกเฉลี่ย 35.20 มิลลิเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 13.5

กรัม อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของ *Beauveria bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 และไม่มีหอยตายเนื่องจากเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (ตารางที่ 6.6) แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเชื้อรา *M. anisopliae* เป็นร้อยละ 5 พบการตายของหอยเชอรี่ร้อยละ 40 ลูกหอยเชอรี่ที่อายุ 2 เดือน มีความต้านทานต่อเชื้อรา *B. bassiana* มากกว่าตัวเต็มวัย นอกจากนี้การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราที่ตกค้างอยู่ในน้ำพบว่า เชื้อรา *B. bassiana* หลังใส่ลงไปไว้ในน้ำ 7 วันยังคงประสิทธิภาพในการควบคุมหอยเชอรี่ได้เท่ากับการใส่เชื้อราทันที และเชื้อรายังคงประสิทธิภาพอยู่ในน้ำได้อย่างน้อย 1 เดือน แต่เปอร์เซ็นต์การตายของหอยเชอรี่จะลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 6.7) (วุฒิชัย 2557) โดยพฤติกรรมของหอยเชอรี่เมื่อสัมผัสกับเชื้อรา จะปิดฝาเปลือกและปล่อยตัวให้ลอยสู่ผิวน้ำ จากนั้นจะค่อย ๆ เปิดฝาเปลือกแล้วยื่นเท้าออกมาเพื่อเคลื่อนที่ เมื่อเวลาผ่านไปหอยจะเริ่มคลานขึ้นสู่ผิวน้ำเพื่อหนีจากน้ำแล้วจะมีการขับสารเมือกออกมา บริเวณเท้ามีลักษณะหดเกร็ง จนไม่สามารถปิดฝาเปลือกได้และตายในที่สุด

ตารางที่ 6.6 เปอร์เซ็นต์การตายของหอยเชอรี่ตัวเต็มวัยจากเชื้อรากำจัดแมลงที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อราร้อยละ 1

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การตาย	
	วันที่ 3	วันที่ 6
1 *Beauveria bassiana*	60.00	100.0
2 *Metarhizium anisopliae*	0.00	0.00
3 กรรมวิธีควบคุม	0.00	0.00

ที่มา : วุฒิชัย (2557)

ตารางที่ 6.7 เปอร์เซ็นต์การตายของหอยเชอรี่จากเชื้อรา *Beauveria bassiana* ที่อยู่ในน้ำที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การตายของหอยเชอรี่		
	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 10
น้ำผสมเชื้อราไว้ 3 วัน	100.0	100.0	100.0
น้ำผสมเชื้อราไว้ 7 วัน	100.0	100.0	100.0
น้ำผสมเชื้อราไว้ 14 วัน	26.67	73.33	100
น้ำผสมเชื้อราไว้ 1 เดือน	6.00	53.33	80.00
กรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า)	0.00	0.00	0.00

ที่มา : วุฒิชัย (2557)

หอยสาริกา หรือหอยแว่น

หอยสาริกา หรือหอยแว่น (*Sarika* spp.) มีสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2531 เป็นต้นมา มักพบหอยแว่นระบาดในสภาพพื้นที่ที่มีความชื้นสูง หรือมีน้ำขังแฉะ เช่น ในแปลงกล้วยไม้ พบระบาดมากในช่วงหน้าฝน หอยแว่นเข้าทำลายพืชโดยการกัดกินใบอ่อน หน่อ ดอก ราก และลำต้น ปัจจุบันมีการระบาดทำลายพืชหลายชนิดครอบคลุมพื้นที่เกือบ 60 จังหวัด และเป็นปัญหาสำคัญของการปลูกพืชทุกชนิดหอยแว่นมักจะออกหากินในเวลากลางคืน ส่วนตอนกลางวันจะหลบซ่อนตัวอยู่ในซอกที่ชื้นและเย็น ดังนั้นการกำจัดในตอนเย็น หรือช่วงที่มีความชื้นสูง เช่น หลังฝนตก หรือหลังรดน้ำ จะได้ผลดีกว่าซึ่งสาเหตุสำคัญของการระบาดอย่างรวดเร็ว คือความทนทานของหอยแว่นต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้อย่างดี นอกจากนี้ หอยแว่นยังผลิตลูกหลานได้มาก จึงทำให้แพร่กระจายได้อย่างกว้างขวาง

ในการปลูกพืชในปัจจุบันได้มีการรณรงค์ให้มีการปลูกพืชปลอดภัย ที่ลดการใช้สารเคมีฆ่าแมลง จึงต้องหาวิธีการลดการใช้สารเคมีฆ่าหอยด้วย เชื้อรากำจัดแมลงนอกจากใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชต่าง ๆ ในแปลงได้แล้ว ยังพบมีความสามารถในการทำให้หอยแว่นเกิดโรคตายได้ด้วย โดยเชื้อรา *Beauveria bassiana* มีความสามารถในการทำให้หอยแว่น ตายได้ร้อยละ 100 ในระยะเวลา 3 วันหลังการได้รับเชื้อ (ตารางที่ 6.8) และที่อัตราการใช้ 15 กรัมต่อตารางเมตรสามารถลดปริมาณหอยแว่นลงได้ร้อยละ 41.26 ในวันที่ 3 หลังการใช้ และลดได้ร้อยละ 100 หลังการใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* 7 วัน (โสภณวิทย์ 2557) ดังนั้นในการใช้เชื้อรากำจัดแมลงกำจัดหอยแว่น จึงควรมีการหว่านเชื้อราลงในบริเวณแปลงปลูกพืชที่พบมีหอยทำลาย และใส่อย่างต่อเนื่อง

ตารางที่ 6.8 เปอร์เซ็นต์การตายของหอยแว่นจากเชื้อรากำจัดแมลงที่ระดับความเข้มข้นของร้อยละ 1

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การตาย		
	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Beauveria bassiana	99.99	100.0	100.0
Metarhizium anisopliae	15.82	66.65	100.0
กรรมวิธีควบคุม	2.49	4.99	14.16

ที่มา : ดัดแปลงจากโสภณวิทย์ (2557)

สรุป

เชื้อรากำจัดแมลงนอกจากมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชแล้ว ยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูอื่นได้เช่น แมลงวันบ้าน แมลงวันหัวเขียว เห็บ และหอยเป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการควบคุมขึ้นอยู่กับเทคนิคการใช้ และสูตรสำเร็จที่เหมาะสมกับสิ่งมีชีวิตนั้นๆ

เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์ สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. มปป. บาบีซิโอซิส. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.nanoi-dld.com/daig/cowdisease/disease/Babesiosis.htm. (7 ตุลาคม 2560).

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2551. การจัดการความปลอดภัยอาหารสำหรับ SME โดยระบบ Pre-ACCP, กรุงเทพมหานคร. 86 หน้า.

จันทร์ทิพย์ ธำรงศรีสกุล. 2538. สถานการณ์สารพิษตกค้างในผลิตภัณฑ์นมในประเทศไทย. ข่าวสารวัตถุมีพิษ. 22 : 26-31.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ศิริพร ซึงสนธิพร และทักษิณ อาชวาคม. 2539. ทดสอบสารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัด หอยเชอรี่และผลกระทบต่อสัตว์น้ำ. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ณรงค์ จึงสมาน, ธเนศร ทิพยรักษ์ และทวีวัฒน์ ทัศนวัฒน์. 2549. การผลิตสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ฆ่าเห็บโค. วารสารการสัตว์. 32 (2) : 35-38.

นิดารัตน์ ไพรคณะฮก เชาวฤทธิ์ บุณมาทิต และนพพร ศราธพันธุ์. 2543. สภาวะของโรคและการทำนายความเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคไข้เห็บโคของโคนมในบางจังหวัดของประเทศไทย. วารสารสัตวแพทย์. 10(1) : 14-15.

นุชา สิมะสาธิตกุล. 2545. โรคติดเชื้อ และโรคพยาธิในสัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 254 หน้า.

พิเชษ ประจงทัศน์. 2540. เห็บโค! ปัญหาที่แก้ไขได้โดยไม่ต้องใช้ยา. วารสารโคนม 16(2) : 17-20.

ไพลิน หินสนิท, วสันต์ จี๋ดอกแก้ว และอาทิตยา ธรสัตย์เมธี. 2551. ศักยภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเห็บโค. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สาขาวิชาสัตวศาสตร์และประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง. ลำปาง. 36 หน้า

ภัทรินทร์ ขัดเรือง พัชรินทร์ ครุฑเมือง และมาลี ตั้งระเบียบ. 2555. การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงเพื่อการควบคุมแมลงวันหัวเขียว. วารสารกีฏและสัตววิทยา 30(2) : 3-13.

ภัทรินทร์ ขัดเรือง. 2555. การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงเพื่อการควบคุมแมลงวันหัวเขียว Blow fly, *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันวิจัยเทคโนโ ลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง 91 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ และกรกฎ งานวงศ์พาณิชย์. 2552. ผลของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ต่อเห็บโค (*Boophilus microplus*). เชียงใหม่สัตวแพทยสาร. 7(1) : 7-17.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2554. ศักยภาพเชื้อราแมลงในการควบคุมเห็บ.เชียงใหม่สัตวแพทย์สาร 9(3) : 223-234.

วุฒิชัย นิรันดร์พร. 2557. การจัดการหอยเชอรี่ที่ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยราชมงคลล้านนา ลำปาง. 42 หน้า

ศิริพร ยงชัยตระกูล. 2541. ศึกษาประสิทธิภาพการใช้เชื้อรา *Metarhizium* sp. ในการป้องกันกำจัดแมลงวันบ้าน (*Musca domestica* L.) วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน. 64 หน้า.

โศรดา จินาพันธ์. 2549. ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากใบสาบเสือ ใบกระดุมทองเลื้อย และใบผักแครดเพื่อใช้ในการกำจัดหอยเชอรี่. วารสารวิจัย มข.ฉบับบัณฑิตศึกษา 6(1) : 75-87.

โสภณวิชญ์ ก๊อคือ. 2557. การประเมินของสารธรรมชาติบางชนิดเพื่อการควบคุมหอยแว่น. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยราชมงคลล้านนา ลำปาง. 40 หน้า.

อาคม สังข์วรานนท์. 2538. กีฏวิทยาทางการแพทย์ และสัตวแพทย์. หมวดวิชาปรสิตวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 253-326.

Barci, L.A.G. 1997. Biological control or the tick *Boophilus microplus* (Acari,Ixodidae) in Brazil. Argentina Institute Biology. 64 : 95-101.

Bittencourt, V.R.E.P., Massard C.L. and Lima de A.F. 1994a. Action of the fungus *Metarhizium anisopliae* on eggs and larvae of the tick *Boophilus microplus*. Revisto da Universidade Rural Serie Ciencias da Vida. 16 : 41-47.

Bittencourt, V.R.E.P., Massard C.L. and Lima de A.F. 1994b. Action of the fungus *Metarhizium anisopliae* on the free living phase of the life cycle of *Boophilus microplus*. Revisto da Universidade Rural Serie Ciencias da Vida. 16 : 49-55.

Bittencourt, V.R.E.P., Massard C.L. and Lima de A.F. 1996. Evaluation of the effect of contract with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. on egg and larvae of *Boophilus microplus* (Carnestrini). Revisto da Universidade Rural Serie Ciencias da Vida. 5 : 81-84.

Camposs, R.A., Arruda W. and Boldo J.T. 2005.Boophilus microplus infection by *Beauveria amorpha* and *Beauveria Bassiana*: SEM analysis and regulation of subtilisin-like proteases and chitinases. Current Micrology. 50 : 257-261.

Darwish, E. and Zayed, A. 2002. Pathogenicity of two Entomopathogenic Hyphomycetes, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to the Housefly *Musca domestica*. Journal of the Egyptian Society of Parasitology. 32 (3) : 786-796.

Frazzon, A.N.G., Junior, I.S, Masuda, A., Schrank, A. and Vainstein, M.H. 2000. In vitro assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. Veterinary Parasitology. 94 : 117-125.

Garcia, M.V., Monteiro A.C., Szabo M.J.P., Prette N. and Bechara G.H. 2005. Mechanism of infection and colonization of *Rhipicephalus sanguineus* eggs by *Metarhizium anisopliae* as revealed by scanning electron microscopy and histopathology. Brazilian Journal of Microbiology. 36 : 368-372.

Gindin, G., Samish, M., Alekseev, E. and Giazer, I. 2001. The susceptibity of *Boophilus annulatus* (Ixodidae) tick to entomopathogenic fungi. Biological Science and Technology. 11 : 111-118.

Hall, R.A. and Papierok B. 1982. Fungi as biological control and medical importance. Parasitol. 84 : 220-240.

Hartelt, K., Wurst, E., Collatz, J., Zimmermann, G., Kleespies, R.G., Oehme, R.M., Kimmig, P., Steidle, J.L.M. and Mackenstudt, U. 2007. Biological control of the tick *Ixosides ricinus* with entomopathogenic fungi and nematode: preliminary results from laboratory experiments. International Journal of Medical Microbiology. 298 : 214-320.

Jonsson, N.N., Mayer, D.G., Matschoss., A.L. Green, P.E. and Ansell, J. 1998. Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. Veterinary Parasitology. 78(1) : 65-77.

Kaaya, G.P., Mwangi E.N. and Ouna E.A. 1996. Prospects for biological control of livestick ticks, *Rhipicephalus appendiculatus* and *Amblyomma variegatom*, using the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology. 67 : 15-20.

Kheirabadi, K.P., Haddadzadeh, H., Abyaneh, M.R., Bokaie, S., Zare, R., Ghazavi, M. and Ghahfarokhi, M.S. 2006. Biological control of *Rhipicephalus annulatus* by different strains of *Metarhizium anisopliae, Beauveria bassiana* and *Lecanicillium psalliotae* fungi. Parasitology Research. 100 : 1297-1302.

Lui, S.D., Lin S.C. and Shiau J.F. 1989. Microbial control of coconut leaf beetle (*Brontispa longissima*) with green muscarding fungus, *Metarhizium anisopliae var. anisopliae.* Journal of Invertebrate Pathology. 53 : 307-314.

Maranga, R.O., Kaaya, G.P., Mueke, J.M. and Hassanail, A. 2005. Effect of combining the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the mortality of the tick *Amblyomma variegatum* in relation to seasonal changes. Mycopathologia. 159 : 527-532.

Monteiro, S.G., Bittencourt, V.P.E.P., Daemon, E. and Faccini, J.L.H. 1998. Pathogenicity under laboratory conditions of the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on larvae of the tick *Rhipicephalus sangguineus* (Acari: Ixodidae). Brazilian Journal of Veterinary Parasitology. 7(2) : 113-116.

MonZon, R.B., Sanechez, A.R., Tadiaman, B.M., Najos, O.A, Valencia, E.G, De Rueda. R.R. and Ventura, J.V. 1991. A Comparison of the role of *Musca domestica* (L.) and *Chrysomya megacephala.* (F.) as mechanical vector of helminthic parasites in a slum area of metropolitan Manila. The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. 22 (2) : 222-228.

Mwangi, E.N., Kaaya, G.P., Eeeuman, S., Kimondo, M.G. and Ouna, E. 1994. Experimental and natural infections of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* with entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Journal of African Zoology. 109 : 151-160.

Mythili, P., Gomathinayagam, S.D. and Lalitha, J. 2008. Biological control of larvae of *Chrysomyia megacephala* by entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Journal of Veterinary Parasitology. 21 (2) : 187-188.

Parichart Kaeng – In, Nucha Simasatitkul, Korakot Nganvongpanit and Malee Thungrabeab. 2009. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* to engorged female, eggs and larvae cattle tick (*Boophilus microplus,* Canestrini). pp. 376-381. In Proceeding of the International Conference on the Role of Universities in Hands-On Education ISBN : 978-974-625-503-5 © Rajamangala University of Technology Lanna, Chiang-Mai, Thailand.

Polar, P., Kairo M.T.K., Peterkin D., Moore D., Pegram R. and John S.A. 2005. Assessment of fungal isolates for development of a Myco-Acaricide for cattle tick control. Research. 39(6) : 341-355.

Posadas, J.U. and Lecuona R.E. 2008. Selection of native isolate of *Beauveria bassiana* for the microbial control of *Rhipicephalus microplus*. Journal of Medical Entomology. 46(2) : 284-291.

Roberto, E., Turica, M., Tarocco, F. and Crespo, C.D. 2005. Microbial control of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) with selected strain of *Beauveria bassiana*. Journal of Medical Entomology 42 (3) : 332-336.

Sharififard, M., Mossadegh, M., Vazirianzadeh, B. and Mahmousabadi, A.Z. 2011. Laboratory evaluation of pathogenicity of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana.* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok. to larvae and adults of the house fly, *Musca domestica* L. (Diptera : Muscidae) Asian Journal of Biological Sciences. 4 : 128-137.

Steenberg, T. and Humber, R.H. 1999. Entomopathogenic potential of *Verticillium* and *Acremonium* species (Deuteromycotina : Haphomycetes). Journal of Invertebrate Pathology. 73 (3) : 309-314.

Thoetthai Porsongnern, Tasanee Jamjanya and Malee Thangrabeab. 2009. Pathogenicity of Metarhizium spp. and *Paecilomyces fumosoroseus* to Cattle Tick (*Boophilus microplus* Canestrini). pp. 299 -303 In International Conference on the Role of

Universities in Hands-On Education Rajamangala University of Technology Lanna, Chiang-Mai, Thailand 23-29 August 2009.

Wanna Maipanich, Surapol Sa-nguankiate, Somchit Pubampen, Teera Kusolsuk and Amorn lekka. 2010. Intestinal parasites isolated from houseflies in the tourist attraction areas in Thailand. Journal of Tropical Medicine and Parasitology. 33 : 17-28.

Watson, D. W., Rutz, D.A. and Long, S.J. 1996. *Beauveria bassiana* and sawdust bedding for the management of the house fly, *Musca domestica* (Diptera : Muscidae) in Calf Hutches. Biological Control. 7 : 221-22.

Wright, C., Brooks, A. and Wall, R. 2004. Toxicity of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to adult females of the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). Pest Management Science. 60 : 639-644.

Zhioua, E., Browning, M., Johnson, P.W., Ginsberg, H.S. and Lebrun, R.A. 1997. Pathogenicity of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) to *Ixodes scapularis* (Acari; Ixodidae). Journal of Parasitology. 83 : 815-818.

บทที่ 7 เชื้อรากำจัดแมลงในระบบการควบคุมศัตรูพืชแบบบูรณาการ

(Integration of Entomopathogenic Fungi into Pest Management)

ในช่วงปี พ.ศ.1940-1960 ซึ่งเป็นช่วงยุคมืดของการควบคุมศัตรูพืช เพราะได้ให้ความสนใจแต่การใช้สารเคมีฆ่าแมลง แต่พอในปี 1950 เกิดแมลงสร้างความต้านทานสารเคมีฆ่าแมลง การกลับมาระบาดของศัตรูพืชหลัก การเพิ่มขึ้นของศัตรูพืชรองและการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ต่อมาในปี 1962 Rachal Carson ได้เขียนหนังสือ Silent Spring บรรยายถึง อันตรายของสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ต่อสภาพแวดล้อม จึงเริ่มมีการตระหนักถึงอันตรายของสารเคมีกำจัดแมลง เกิดแนวคิดของการใช้การควบคุมแบบบูรณาการและทำให้มองเห็นความสำคัญของศัตรูธรรมชาติที่มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมแมลงศัตรูพืชให้อยู่ในระดับสมดุลตามธรรมชาติ และการใช้ประโยชน์จากศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ แมลงห้ำ แมลงเบียน และเชื้อโรคในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

ในช่วงปี ค.ศ. 1961-1980 เป็นช่วงของการควบคุมศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Intergrated Pest Management, IPM) โดยในช่วงแรกเป็นการใช้วิธีการควบคุมโดยใช้สารเคมีร่วมกับการควบคุมโดยชีววิธี และตั้งแต่ปี 1980 ถึงปัจจุบัน การจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการ จะหมายถึง การใช้วิธีการควบคุมศัตรูพืชหลาย ๆ วิธีร่วมกัน ที่คำนึงถึงระบบนิเวศวิทยาเป็นหลักโดยให้แมลงศัตรูพืชอยู่ในระดับสมดุลไม่ใช่กำจัดให้หมดสิ้นไป ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชนอกจากการควบคุมโดยชีววิธีแล้ว ยังมีการควบคุมโดยวิธีการอื่น ๆ เช่น วิธีการเขตกรรม การใช้พืชต้านทาน การทำให้แมลงเป็นหมัน การใช้สารสกัดจากพืช การควบคุมโดยวิธีกล การใช้กับดัก หรือการใช้สารสกัดจากพืช เป็นต้น

การใช้เชื้อราร่วมกับผลิตภัณฑ์หางไหล

เชื้อรากำจัดแมลงพบมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด เช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาว หนอนผีเสื้อกินใบพืช ด้วงหมัดผัก แมลงวันผลไม้ แมลงวันพริก แมลงวันเจาะลำต้นถั่ว มอดกาแฟ จิ้งหรีดใหญ่และ ไรแดง เป็นต้น (มาลี และศิรินันท์ 2544 ; ศิรินันท์ และมาลี 2549 Malee and Sirinun 2002; Sengonca *et al.* 2006; Thungrabeab *et al*. 2006; มาลี และคณะ 2551 2552 2556 2557 ; มาลี 2550 2554 2555a b 2556 2558 2559 2560a b ; สิริญา และคณะ 2554)) เช่นเดียวกันกับการใช้สารสกัดจากพืชธรรมชาติ เช่น สะเดา ขมิ้นชัน โล่ติ้น สาบเสือ หนอนตายหยาก

และ หางไหล ให้ผลดีในการป้องกันศัตรูพืช โดยเฉพาะสารสกัดจาก รากหางไหลให้ผลดีในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายประเภทในระยะเวลารวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากพืชชนิดอื่น (อรุณและคณะ 2540, อรุณ 2544, อรุณและคณะ 2549) กลไกการเข้าทำลายของเชื้อราเกิดจากสปอร์งอกแทงผ่านผนังลำตัวแมลง มาลี (2552) จึงได้ศึกษาผลิตภัณฑ์หางไหลที่แตกต่างกัน 3 สูตร (อรุณ 2544) ได้แก่ สูตรที่ 1 สำหรับควบคุมหนอน สารสกัดหางไหล ผสมกับสารสกัดยาสูบ สูตรที่ 2 สำหรับควบคุมเพลี้ย สารสกัดหางไหล ผสมกับสารสกัดดีปลี สูตรที่ 3 สำหรับควบคุมด้วงหมัดกระโดด เฉพาะสารสกัดหางไหล ที่อัตราความเข้มข้น ร้อยละ 1 ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรากำจัดแมลง โดยการแช่สารสปอร์เชื้อราในสารสกัดหางไหลเป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วนำมาหาความมีชีวิตโดยดูที่เปอร์เซ็นต์การงอก ผลการทดลองพบว่า อัตราการงอกของสปอร์เชื้อราขึ้นอยู่กับสกุล ชนิด ไอโซเลตของเชื้อรา และสูตรของผลิตภัณฑ์หางไหล เชื้อรา *Beauveria bassiana* ผลิตภัณฑ์หางไหลสูตรที่ 1 และ 3 พบว่าการงอกของสปอร์เชื้อราไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมในทุกไอโซเลตที่ทดสอบ แต่ในผลิตภัณฑ์หางไหลสูตรที่ 2 พบเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ลดลง (ตารางที่ 7.1)

ตารางที่ 7.1 ผลของผลิตภัณฑ์หางไหลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกสปอร์เชื้อรา *Beauveria bassiana*

Isolate	Concentration	Germination (% ± SE)		
		Formulation 1	Formulation 2	Formulation 3
Bb. 2637	control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	89.96 ± 3.12	86.65 ± 3.14	100 ± 0.00
Bb. 4591	control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	93.48 ± 3.84	71.98 ± 3.68	97.38 ± 1.35
Bb. 5335	control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	98.02 ± 1.98	84.27 ± 4.80	100 ± 0.00
Bb. 5736	control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	100 ± 0.00	81.54 ± 2.15	97.88 ± 2.12
Bb. 6241	control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	100 ± 0.00	94.59± 2.74	100 ± 0.00

ที่มา : ดัดแปลงมาจากมาลี (2552)

สำหรับผลิตภัณฑ์หางไหลทั้ง 3 สูตรกับเชื้อรา *Metarhizium* พบว่า *M. flavoviride* มีความทนทานต่อผลิตภัณพ์หางไหลได้ดีกว่า *M. anisopliae* (ตารางที่ 7.2) ผลิตภัณฑ์ที่มีเฉพาะหางไหล มีผลต่อความงอกของเชื้อรา *Metarhizium* น้อยกว่าที่มีดีปลี และยาสูบ เป็นส่วนผสม

ตารางที่ 7.2 ผลของผลิตภัณฑ์หางไหลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา *Metarhizium* spp.

Isolate	Concentration	germination(% ± SE)		
		Formulation 1	Formulation 2	Formulation 3
Metarhizium anisopliae				
Ma. 1964	Control	100.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00
	1.0%	81.64 ± 0.83	72.21 ± 2.81	80.53 ± 3.84
Ma. 5797	Control	100.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00
	1.0%	84.20 ± 1.75	86.99 ± 5.22	87.34 ± 3.04
Ma. 6071	Control	100.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00
	1.0%	80.95 ± 5.40	75.86 ± 5.25	85.08 ± 9.40
Ma. 6171	Control	100.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00
	1.0%	96.78 ± 5.23	96.78 ± 3.73	100.0 ± 0.00
Ma. 7965	Control	100.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00
	1.0%	100.0 ± 0.00	95.28 ± 4.68	100.0 ± 0.00
Metarhizium flavoviride				
Mfl. 1164	Control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
Mfl. 5744	Control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	81.67 ±2.15	64.74 ± 6.27	87.24 ± 1.80
Mfl. 6079	Control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
Mfl. 6327	Control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	72.00 ± 2.81	76.99 ±3.77	98.67 ± 4.13
Mfl. 7527	Control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	75.45 ± 0.95	64.74 ±6.27	82.39 ± 4.06

ที่มา : ดัดแปลงมาจากมาลี (2552)

ส่วนเชื้อรา *Isaria* พบว่าเชื้อมีความทนทานต่อสารสกัดหางไหล มากกว่า เชื้อ *Beauveria* และ *Metarhizium* (ตารางที่ 7.3)

ตารางที่ 7.3 ผลของผลิตภัณฑ์หางไหลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา *Isaria* spp.

Isolate	Concentration	Germination (% ± SE)		
		Formulation 1	Formulation 1	Formulation 1
Isaria farinoseus				
Pfa. 3517S1	Control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
Pfa. 6196S2	Control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
Isaria fumosoroseus				
Pfu. 2507	Control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
Isaria tenuipes				
Pt. 7962	Control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
Pt. 7968	Control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
Pt. 7996	Control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
Pt. 8003	Control	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
	1.0%	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00

ที่มา : ดัดแปลงมาจากมาลี (2552)

สารสกัดหางไหลเพียงอย่างเดียวไม่มีผลต่อการมีชีวิตของเชื้อราแต่สูตรสำเร็จหางไหลในผลิตภัณฑ์ที่ 2 ที่มีส่วนผสมของดีปลี มีผลในการยับยั้งการงอกของสปอร์มากที่สุด รองลงมา ได้แก่ หางไหลที่มียาสูบเป็นส่วนผสม ดีปลีมีรายงานว่ามีสาร piperine ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (เนตรนภา 2541; วนัสนันท์ 2548; กัทลีวัลย์ 2549) ผลิตภัณฑ์หางไหลสูตรที่ 3 เป็นสารสกัดหางไหลที่ไม่ได้มีส่วนผสมของสารสกัดจากพืชอื่น ๆ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราและการงอกของสปอร์เชื้อราโดยทั่วไปไม่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุม ส่วนรากของหางไหลประกอบด้วยสารโรติโนน ซึ่งมีรายงานไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Collectotrichum* และ

Phytophthora ได้ (วนัสนันท์ 2548; กัทลีวัลย์ 2548 2549) ผลจากการทดลองครั้งนี้พบว่า ผลิตภัณฑ์หางไหลมีผลต่อการงอกของเชื้อรากำจัดแมลงแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสกุล ชนิด และไอโซเลต ของเชื้อรา เมื่อมีการทดสอบในห้องปฏิบัติการที่มีการผสมผลิตภัณฑ์หางไหลลงในอาหารเลี้ยงเชื้อรา อย่างไรก็ตาม มีรายงานของ Depieri *et al.* (2005) ว่า สารที่มีการยับยั้งการงอกของสปอร์ในห้องปฏิบัติการก็ไม่ได้หมายถึงว่าสารนั้นจะยับยั้งเชื้อราเมื่อมีการใช้ไปในแปลง เพราะเมื่อมีการใช้ในแปลง ความเข้มข้นที่ตกลงไปที่เป้าหมายย่อมแตกต่างไปจากที่มีการใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่นเดียวกันกับจากผลการทดลองครั้งนี้ อัตราหางไหลที่แนะนำในการใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช คือ 1% ดังนั้นเมื่อมีการพ่นหางไหลไปในแปลง ความเข้มข้นที่ตกลงสู่เป้าหมายย่อมลดลง และผลจากการทดลองผลิตภัณฑ์หางไหลสูตร 1 และ 3 ไม่มีผลต่อการงอกของโคนิเดีย ดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้ในการควบคุมศัตรูพืชร่วมกับหางไหลได้แต่อย่างไรก็ตาม สามารถใช้ผลิตภัณฑ์หางไหลสูตร 2 ร่วมกับการใช้เชื้อราเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้เช่นกัน แต่ควรเป็นการพ่นสลับกัน ไม่ผสมสาร 2 ชนิดไปในการพ่นครั้งเดียวกันเหมือนกับการใช้สูตรที่ 1 และ 3

Thungrabeab and Tongma (2009) ได้ศึกษาหาวิธีการใช้ร่วมกันอย่างเหมาะสมระหว่างเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* กับสารสกัดหางไหลในการควบคุมด้วงหมัดผักในแปลงผักกวางตุ้งด้วยวิธีการต่าง ๆ กัน พบว่า การใช้เชื้อราในรูปเม็ดใส่ลงดินก่อนการปลูกและพ่นสารสกัดหางไหล ทุก ๆ 2 สัปดาห์ให้ผลดีที่สุดในการลดปริมาณตัวเต็มวัยและความเสียหายที่เกิดกับใบผักกวางตุ้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบกับวิธีการใช้หางไหลเพียงอย่างเดียว ส่วนการใช้สารแขวนลอยเชื้อราพ่นร่วมกับการใช้สารสกัดหางไหล ให้ผลในการควบคุมประชากรตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักเท่ากับการใช้หางไหลเพียงอย่างเดียว ดังนั้นวิธีการบูรณาการการใช้เชื้อรากำจัดแมลงร่วมกับสารสกัดหางไหลขึ้นอยู่กับใช้กำจัดแมลงประเภทใดและควรใช้ในลักษณะเสริมกันประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงให้มากขึ้น

การใช้เชื้อราร่วมกับสารล่อแมลง

สารล่อแมลง (Insect attractant) เป็นสารที่ไปกระตุ้นให้แมลงที่ได้รับกลิ่นของสารนั้น ๆ เคลื่อนที่เข้าไปหาแหล่งที่มาของสารนั้น ๆ สารล่อมีสมบัติที่จะดึงดูดแมลงเฉพาะชนิด อาจใช้ล่อมาเพื่อติดกับดัก ซึ่งมีสารพิษหรือสารที่ทำให้แมลงเป็นหมัน หรือเชื้อโรคที่แมลงสัมผัสแล้วตาย หรือกรงที่แมลงออกไม่ได้ จิ้งหรีดใหญ่มีวงจรชีวิตเฉลี่ย 333.30 วันมีระยะตัวอ่อน 7 ระยะ (ภาพที่ 7.1) ด้วยพฤติกรรมของจิ้งหรีดใหญ่ที่อาศัยอยู่ในรู และมีพฤติกรรมการการกระโดดเพื่อการเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลา การพ่นเชื้อราไปที่ผนังลำตัวมีโอกาสที่เชื้อราจะหลุดได้ง่าย มาลี และสุมาฬี (2557) จึงได้พัฒนาสูตรเชื้อรากำจัดแมลงแบบครีมและเจลที่ให้สามารถติดกับตัวจิ้งหรีดได้นานขึ้น แต่ด้วยกลไกการออกฤทธิ์ของเชื้อราที่เชื้อราต้อง

สัมผัสกับแมลง ดังนั้นจึงต้องมีการล่อให้จิ้งหรีดใหญ่มาติดกับสูตรสำเร็จเชื้อราที่ล่อไว้ การที่ Plimmer *et al.* (1982) กล่าวว่า สารล่อไม่จำเป็นต้องเป็นสารแต่อาจเป็นสิ่งกระตุ้นใดๆที่ทำให้แมลงเคลื่อนที่เข้าไปหาแหล่งกำเนิดของสิ่งกระตุ้นนั้น ดังนั้นในการล่อจิ้งหรีดใหญ่จึงได้ใช้อาหารเป็นตัวล่อ



ภาพที่ 7.1 วงจรชีวิตจิ้งหรีดใหญ่

ที่มา : มาลี และสุมาฬี (2557)

ผลการทดลองพบว่า การเข้าหาอาหารของจิ้งหรีดใหญ่ระยะตัวเต็มวัย เข้าหาอาหารแมวมากที่สุด ส่วนระยะตัวอ่อนวัยที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์การเข้าหา อาหารไก่ ขนมปัง อาหารแมวและเมล็ดข้าวโพดบดสูงไม่แตกต่างกัน โดยที่ข้าวคั่วจิ้งหรีดใหญ่มีเปอร์เซ็นต์การเข้าหาต่ำสุด ในระยะตัวอ่อนเปอร์เซ็นต์การเข้าหาส่วนที่มาจากพืชจะมากกว่าส่วนระยะตัวเต็มวัยจิ้งหรีดใหญ่จะเข้าหาส่วนที่เป็นโปรตีนมากกว่า (ตารางที่ 7.4) ดังนั้นในการที่จะลดความเสียหายจากจิ้งหรีดใหญ่สามารถนำผลการศึกษาไปบริหารจัดการจิ้งหรีดใหญ่เนื่องจากไม่สามารถเปลี่ยนวงจรชีวิตของจิ้งหรีดใหญ่ได้ จึงต้องมีการวางแผนปลูกพืชที่ไม่ให้ระยะกล้าตรงกับระยะตัวอ่อนจิ้งหรีดใหญ่วัยที่ 7 – ระยะก่อนตัวเต็มวัยผสมพันธุ์ เพราะระยะนี้จิ้งหรีดใหญ่มี

การทำลายพืชมากที่สุด การใช้วิธีเขตกรรมคือการวางแผนการปลูกจะช่วยลดความเสียหายได้ในระดับหนึ่ง ต่อมาให้ใช้เชื้อรา *Metarhizium* กำจัดจิ้งหรีดใหญ่รูปแบบเม็ดหว่านลงในแปลงปลูกพืชก่อนการปลูกพืช ซึ่งนอกจากช่วยกำจัดจิ้งหรีดใหญ่แล้วยังสามารถช่วยกำจัดแมลงศัตรูอื่น ๆ ได้ด้วย ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ หรือช่วงฝนตกครั้งแรกของปี ควรมีการใช้อาหารล่อ และสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์รูปแบบครีมหรือแบบเจลที่หาวัตถุดิบได้ง่ายในท้องถิ่น ล่อที่บริเวณปากหลุมจิ้งหรีดใหญ่ เมื่อจิ้งหรีดใหญ่วัยที่ 1 ออกจากหลุมเพื่อย้ายไปอยู่ในหลุมเดี่ยวจะทำให้สามารถได้รับเชื้อราไปด้วย จิ้งหรีดใหญ่ที่ได้รับปริมาณเชื้อรามากตายได้ทันทีและทำให้แพร่เชื้อไปยังตัวอื่นๆได้ต่อไปไปส่วนที่ได้รับน้อยไม่ถึงปริมาณที่ทำให้จิ้งหรีดใหญ่ตายทันทีแต่เชื้อรามีผลต่อการเจริญเติบโตและลูกหลาน ทำให้จิ้งหรีดใหญ่ไม่เจริญเติบโตเท่าที่ควร มีผลต่อเนื่องไปถึงรุ่นลูก อีกทั้งจิ้งหรีดใหญ่ที่ตายจะเป็นแหล่งสะสมและแพร่กระจายเชื้อราให้กับพื้นที่บริเวณนั้นซึ่งหากมีการใช้อย่างต่อเนื่องจะทำให้ลดปัญหาจิ้งหรีดใหญ่ทำลายพืชผลทางการเกษตรได้ในที่สุด นอกจากนี้ Inglis *et al*. (1996) ได้ศึกษาการใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* ร่วมกับสารล่อในการควบคุมตั๊กแตน

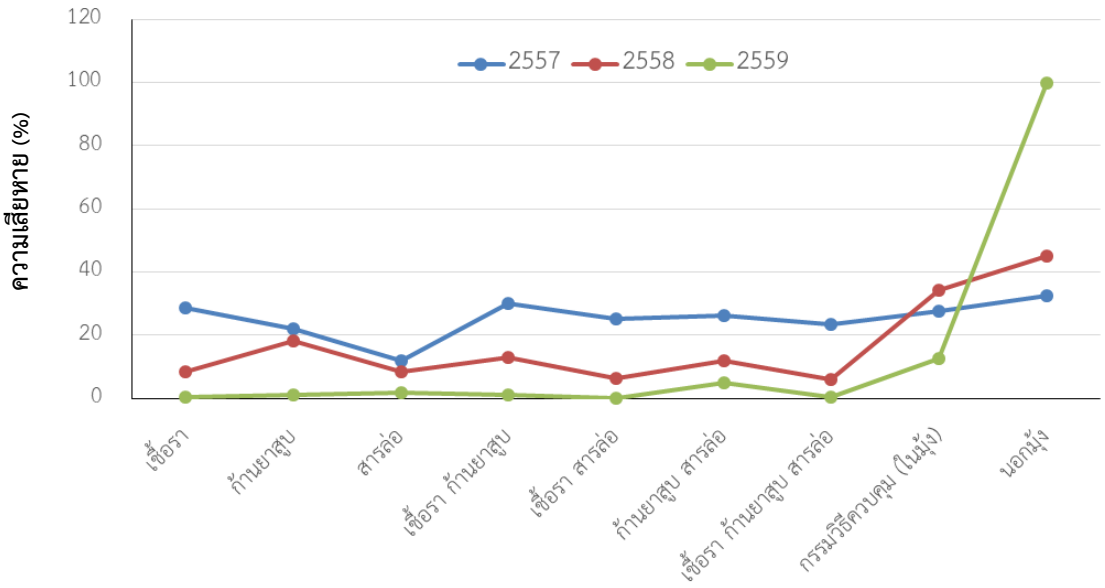
ตารางที่ 7.4 เปอร์เซ็นต์การเข้าหาอาหารล่อของจิ้งหรีดใหญ่

ชนิดอาหาร	เปอร์เซ็นต์การเข้าหาอาหารล่อ	
	ระยะตัวอ่อน	ระยะตัวเต็มวัย
รำข้าว	39.33	49.00
ปลาป่น	40.33	40.33
ข้าวคั่ว	38.00	31.67
อาหารปลา	61.67	68.67
อาหารไก่	85.67	75.33
ขนมปัง	84.67	75.33
อาหารแมว	83.00	93.33
เมล็ดข้าวโพดบด	78.33	39.67

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก มาลี และสุมาฬี (2557)

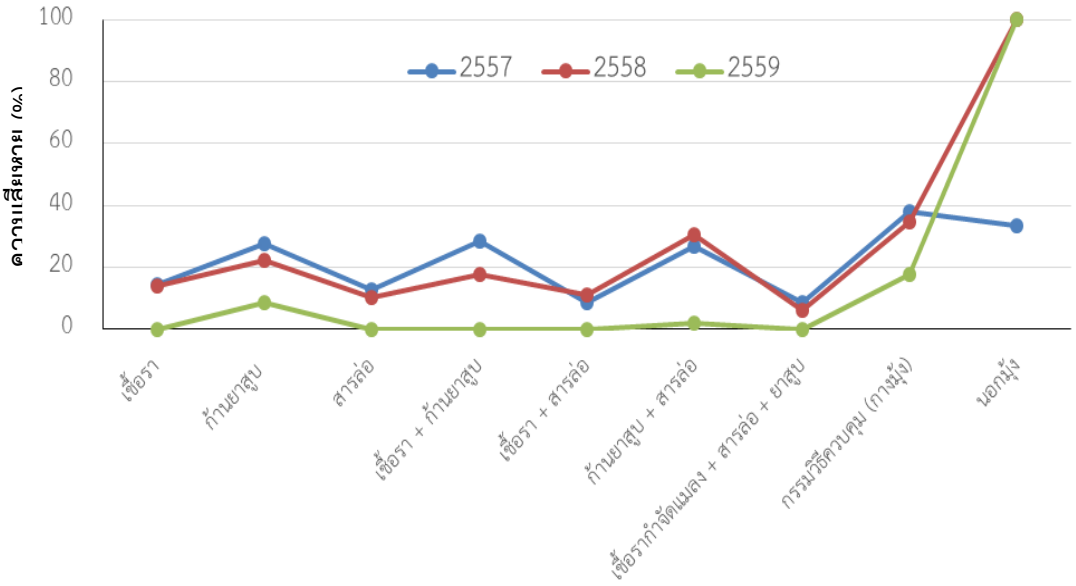
การบูรณาการการใช้เชื้อรากำจัดแมลงร่วมกับเศษก้านยาสูบและสารล่อมอดเจาะผลกาแฟ

การบูรณาการวิธีการควบคุมมอดเจาะผลกาแฟ ได้แก่ การใช้สารล่อมอดเจาะผลกาแฟ ซีเอ็มยู ซีวัน การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและการใช้เศษก้านยาสูบ ในการกำจัดมอดเจาะผลกาแฟโดยเริ่มจากการศึกษาการเข้ากันได้ของเชื้อรา *Beauveria bassiana* กำจัดมอดกาแฟ กับเศษก้านยาสูบ การศึกษาความมีชีวิตของเชื้อราในสภาพจำลองที่มีมอดเจาะผลกาแฟในผลกาแฟและหล่นลงดิน ในห้องปฏิบัติการและการบูรณาการวิธีการควบคุมมอดกาแฟต่างๆ เข้าด้วยกันในการควบคุมมอดเจาะผลกาแฟในสภาพแปลง ผลการทดลองพบว่า น้ำคั้นของเศษก้านยาสูบที่ร้อยละ 25 ไม่มีผลต่อความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา แต่ที่ความเข้มข้นของน้ำคั้นเศษก้านยาสูบตั้งแต่ร้อยละ 5 ขึ้นไปมีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา สำหรับการทดสอบผลของเชื้อรา เศษก้านยาสูบ ต่อมอดเจาะผลกาแฟในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า การโรยเชื้อรา *Beauveria bassiana* บนผลกาแฟที่มีมอดเจาะผลกาแฟเข้าทำลาย มีผลทำให้มอดเจาะผลกาแฟตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 3 เดือน โดยมอดเจาะผลกาแฟไม่มีการเพิ่มปริมาณ ส่วนการใช้เศษก้านยาสูบพบว่า ทำให้ปริมาณมอดเจาะผลกาแฟไม่แตกต่างกับชุดควบคุม (ไม่มีการใช้สารเศษก้านยาสูบ) ในการทดลองความคงทนของเชื้อรา *B. bassiana* เมื่อนำไปใช้ร่วมกับเศษก้านยาสูบในการกำจัดมอดเจาะผลกาแฟในดิน ในสภาพจำลองที่มีมอดเจาะผลกาแฟในผลกาแฟและหล่นลงดิน พบว่า เชื้อรามีค่า Colony forming Unit เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใส่เชื้อราลงดิน สำหรับผลการทดสอบการบูรณาการ การใช้สารล่อมอดเจาะผลกาแฟ ซีเอ็มยู ซีวัน การใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* และการใช้เศษก้านยาสูบในสภาพแปลงปลูก พบว่า *B. bassiana* พบปริมาณมอดเจาะผลกาแฟแตกต่างจากชุดควบคุม การใช้เชื้อราร่วมกับสารล่อมอดเจาะผลกาแฟพบมีเปอร์เซ็นต์ความเสียหายและปริมาณมอดเจาะผลกาแฟน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ โดยความเสียหายของเมล็ดกาแฟลดลงเห็นได้ชัดเจน ทั้งจากการสุ่มเมล็ดกาแฟดิบบนต้น (ภาพที่ 7.2) และเมล็ดกาแฟที่สุกแก่แล้ว (ภาพที่ 7.3)



ภาพที่ 7.2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของเมล็ดกาแฟดิบที่สุ่มนับบนต้นกาแฟ

ที่มา : มาลี และเยาวลักษณ์ (2560)



ภาพที่ 7.3 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของเมล็ดกาแฟสุกแก่

ที่มา : มาลี และเยาวลักษณ์ (2560)

การใช้เชื้อราร่วมกับสารไล่

สารไล่แมลง (repellent) คือ สารที่ไปกระตุ้นแมลงที่ได้รับกลิ่นของสารแล้วเคลื่อนที่ออกห่างจากแหล่งที่มาของสารเคมีนั้นๆ มีรายงานว่า สารหลายชนิดทำให้แมลงเกิดความสับสนไล่แมลงไม่ให้เข้าหาเป้าหมายได้ (Barasa *et al*., 2002; Ditzen *et al*., 2008; Kwon *et al*., 2010; Moore *et al*., 2006; Zhu *et al*., 2009) ดังการรายงานของ Maia and Moore (2011) ที่ว่า มีพืชหลายชนิดที่สามารถนำมาเป็นสารไล่แมลงได้ สารประกอบในพืชที่มีผลในการไล่แมลง ได้แก่ nitrogen compounds (primarily alkaloids), terpenoids, phenolics and volatile โดย volatiles ประกอบด้วย geranyl acetate และ citronellal , 6-methyl-5- hepten-2-one และ geranylacetone และ essential oil ที่สกัดจากพืชวงศ์ Lamiaceae, Poaceae and Pinaceae เป็นต้น

สารเคมีที่มีสมบัติไล่แมลง

1. สารเคมีที่มีสมบัติเป็นสารไล่ (Debboun, 2006) ได้แก่

IR 3535 : 3-[N-Butyl-N-acetyl]-aminopropionic acid
DEET : *N*,*N*-diethyl-*m*-toluamide,
Citriodio : PMD : p-menthane-3,8-diol,
Icaridin
p-menthane-3,8-diol (PMD)

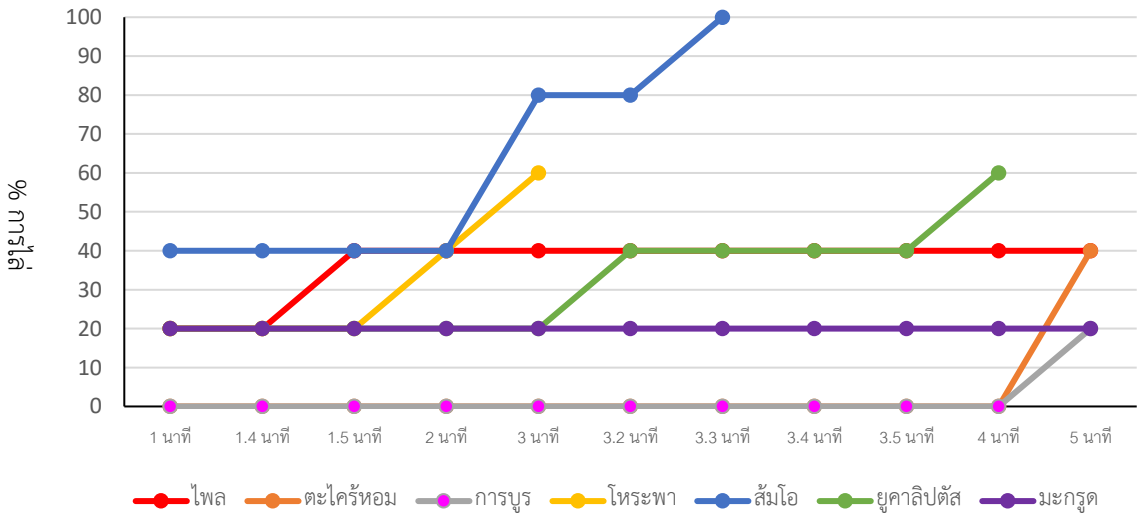
2. พืชที่มีสมบัติไล่แมลง

พืชที่มีสมบัติไล่แมลง แบ่งได้ 2 ประเภท คือ

1. กลุ่มที่ไม่มีน้ำมันหอมระเหย (not volatile) ได้แก่
   1.1 กลุ่ม แอลคาลอยด์ (Alkaloids) เช่น นิโคติน (nicotine) anabasine veratrin และ ryanodine สารในกลุ่มนี้ต้องมีการเผาไหม้จึงจะมีฤทธิ์เป็นสารไล่
   1.2 กลุ่มฟีนอล (Phenols) ได้แก่ สาร flavonoids ซึ่ง มี 3 กลุ่ม ดังนี้
      1.2.1 flavones พบในพืช Labatiae Unbelliferae และ Compositae เป็นต้น
      1.2.2 isoflavonoids ส่วนมากพบในพืชตระกูล Leguminosae เช่น สารประกอบ rotinone
      1.2.3 tannins
2. กลุ่มที่มีน้ำมันหอมระเหย (volatile)

เป็นกลุ่ม เทอพีนอยด์ (Terpenoids) ได้แก่ สาร terpenes ซึ่งมีหลายโครงสร้าง เช่น hemipterpenes, monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, sesterterpenes, triterpenes และ tetraterpenes สารในกลุ่มนี้ มีสมบัติในการไล่แมลง โดยเฉพาะในกลุ่ม monoterpenes เนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหย (essential oil) น้ำมันหอมระเหยที่สำคัญที่มีสมบัติในการไล่แมลง เช่น Citronella, Limonene, Myrcene, Pinene, Citronellol, Linalool, Geraniol, Citral เป็นต้น

น้ำมันหอมระเหย จากเหง้าไพล เปลือกส้มโอ ยูคาลิปตัส ตะไคร้หอม การบูร ผิวมะกรูด โหระพา พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเปลือกส้มโอมีประสิทธิภาพไล่ตัวเต็มวัยแมลงวันเจาะลำต้นถั่วได้ 100% ในระยะเวลา 3.3 นาที รองลงมา ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัสและใบโหระพา ตามลำดับ โดยที่น้ำมันหอมระเหยจากใบการบูรให้ประสิทธิภาพในการไล่ได้ 20 % น้อยที่สุด น้ำมันหอมระเหยที่นำมาทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 0.1% ไม่มีผลต่อความงอกของสปอร์ของเชื้อรา แต่เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น น้ำมันตะไคร้หอมและไพลมีผลต่อการงอกของเชื้อรา *Beauveria bassiana* แต่ไม่มีผลต่อเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (มาลี 2558)



ภาพที่ 7.4 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่าง ๆ ในการไล่ตัวเต็มวัยแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว ภายในระยะเวลา 5 นาที หลังการได้รับน้ำมันหอมระเหย

และเมื่อมีการพัฒนาสารไล่เป็นสูตรสำเร็จและนำไปใช้ในสภาพแปลงร่วมกับเชื้อรากำจัดแมลงพบมีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 7.5)

ตารางที่ 7.5 เปอร์เซ็นต์ความเสียหายของต้นถั่วจากการทำลายของแมลงวันเจาะลำต้นถั่วหลังการใช้สารชีวภัณฑ์เชื้อราและสารไล่แมลง

กรรมวิธี	ความเสียหาย (%)
กรรมวิธีที่ 1 ชีวภัณฑ์เชื้อรา	7.78
กรรมวิธีที่ 2 สารไล่	21.57
กรรมวิธีที่ 3 ชีวภัณฑ์เชื้อรา ร่วมกับสารไล่	8.25
กรรมวิธีที่ 4 สารเคมี	3.41b
กรรมวิธีที่ 5 ควบคุม	33.50

ที่มา : มาลี (2559)

การใช้เชื้อราร่วมกับสารเคมี

ในการปลูกพืชสารเคมียังมีความจำเป็นสำหรับแปลงปลูกพืชที่ไม่มีการดูแลแปลงอย่างสม่ำเสมอต่อเนื่อง การใช้สารเคมีเป็นครั้งคราวเพื่อการควบคุมแมลงไม่ทำให้พืชเกิดความเสียหายถึงระดับความเสียหายทางเศรษฐกิจ ลดปริมาณแมลงให้อยู่ในระดับสมดุล ส่งเสริมให้มีการใช้อย่างชาญฉลาด ที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายทั้งต่อผู้ผลิต ผู้บริโภคและสภาพแวดล้อม

มาลี (2554) พบว่า สารเคมีกำจัดแมลง คาร์บาริล คาร์โบซัลแฟน อะบาเม็กติน มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใย *M. anisopliae* แต่ไม่ยับยั้งการงอกของสปอร์ ส่วนสารกำจัดวัชพืช อะลาคลอร์สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้สูง 62.88% พาราควอต 36% ในขณะที่สารเคมีกำจัดวัชพืชชนิดอื่นยับยั้งไม่ถึง 10% สำหรับสารเคมีควบคุมโรคพืช เบนโนมิลมีผลในการยับยั้งสูง ถึง 82.44% รองลงมา ได้แก่ ควินโทซีน 44.45% สารเคมีกำจัดโรคพืชอื่นที่เหลือยับยั้งได้ไม่ถึง 10% (ตารางที่ 7.5) ส่วนเชื้อรา *Beauveria bassiana* ให้ผลเช่นเดียวกัน แต่มีความอ่อนแอต่อสารเคมีมากกว่าเชื้อรา *M. anisopliae* แต่อย่างไรก็ตามส่วนโคนิเดียหรือบลาสโตสปอร์ของเชื้อรากำจัดแมลงที่มีผลในการควบคุมแมลง หากสารเคมีมีผลต่อเส้นใย แต่ไม่มีผลต่อโคนิเดียหรือบลาสโตสปอร์สารเคมีนั้น ๆ สามารถนำมาใช้ร่วมกันได้ ซึ่งสารที่นำมาทดสอบ จำนวน 13 ชนิดพบ สารกำจัดวัชพืชฟลูอะซิฟอบ บิวทิล และสารกำจัดโรคพืชชนิดแมนโคแซบที่ยับยั้งการงอกของเชื้อรา *M. anisopliae* 100 % ในขณะที่สารเคมีตัวอื่นไม่มีผลในการยับยั้ง ส่วนกับเชื้อ *B. bassiana* นอกจากสารเคมีฟลูอะซิฟอบ บิวทิล และแมนโคแซบ แล้วแคปแทนก็มีผลในการยับยั้งการงอกของโคนิเดียได้ 100% (ตารางที่ 7.6) มีการใช้เชื้อราร่วมกับสารเคมี เช่น

Thompson *et al.* (2006) ใช้ imidacloprid ร่วมกับ *Beauveria bassiana* ในการควบคุม mole cricket (Orthoptera: Gryllotalpidae)

ตารางที่ 7.6 ผลของสารเคมีต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae*

สารเคมี	การยับยั้งการเจริญของเส้นใย (%)	
	Beauveria bassiana	*Metarhizium anisopliae*
สารกำจัดแมลง		
คาร์บาริล	1.21	24.03
คาร์โบซัลแฟน	10.71	23.11
อะบาแมกติน	9.75	6.11
สารกำจัดวัชพืช		
2-4 ดี	26.45	12.07
พาราควอต	33.50	36.98
โฟมีแซน	7.11	1.61
ฟลูอะซิฟอบ บิวทิล	0	9.58
อะลาคลอร์	31.60	62.88
สารกำจัดโรคพืช		
แคปแทน	39.74	32.78
เบนโนมิล	53.85	82.44
ควินโทซีน	51.96	44.45
แมนโคแซบ	38.56	19.05
คาร์บอกซิล	9.75	8.59
บอร์โดมิกซ์เจอร์	26.44	9.09

ที่มา : มาลี (2554)

ตารางที่ 7.7 ผลของสารเคมีตามอัตราแนะนำต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Beauveria bassiana* และเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*

สารเคมี	% germination	
	Beauveria bassiana	*Metarhizium anisopliae*
สารกำจัดแมลง		
คาร์บาริล	100	100
คาร์โบซัลแฟน	100	100
สารกำจัดวัชพืช		
2-4 ดี	100	
พาราควอต	100	92.41
อะลาคลอร์	54.57	100
โฟมีแซน	100	100
ฟลูอะซิฟอบ บิวทิล	0	0
สารกำจัดโรคพืช		
แคปแทน		100
เบนโนมิล	100	100
ควินโทซีน	100	100
แมนโคแซบ	0	0
คาร์บอกซิน	100	100
บอร์โดมิกซเจอร์	100	100

ที่มา : มาลี (2554)

สรุป

เป็นที่ทราบกันดีว่าการควบคุมแมลงที่ดีที่สุด คือการควบคุมโดยวิธีการบูรณาการวิธีการควบคุมแมลงต่าง ๆ อย่างน้อย 2 วิธีเข้าด้วยกัน การใช้เชื้อราควบคู่ไปกับการควบคุมแมลงศัตรูพืช วิธีอื่น ๆ เช่น การเขตกรรม การใช้กับดัก การใช้แมลงศัตรูธรรมชาติ การใช้สารชีวภัณฑ์ชนิดอื่น การใช้ฮอร์โมน การใช้ฟีโรโมน สารสกัดจากพืช รวมถึงการใช้ร่วมกับสารเคมีกำจัดแมลง วิธีการนี้จะช่วยลดการใช้สารเคมีหรือเป็นการใช้เชื้อราทดแทนสารเคมีไปเลย ซึ่งนอกจากจะช่วยลดประชากรของแมลงศัตรูพืชแล้ว ยังทำให้แมลงห้ำและแมลงเบียนดำรงชีวิตอยู่ได้ การใช้สารสกัดจากพืชถึงแม้มีผลต่อเส้นใยแต่ไม่มีผลต่อการงอกของสปอร์สามารถนำมาใช้ได้ การใช้ควบคู่กับสารเคมีกำจัดแมลงมีความเป็นไปได้ แต่อย่างไรก็ตามมีสารเคมีกำจัดแมลงหลายชนิดและผลิตออกมาใหม่ตลอดเวลา ดังนั้นจึงควรมีการทดสอบถึงผลต่อความงอกของสปอร์ก่อนการใช้ผสมกัน ตัวอย่างเช่น และ Lui (2010) ได้มีการศึกษาการเข้ากันได้ของน้ำมันหอมระเหยกับเชื้อรา *Beauveria bassiana* การที่น้ำมันหอมระเหยมีประสิทธิภาพในการไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่ว มีการพัฒนาสูตรสำเร็จน้ำมันหอมระเหยเป็นทั้งรูปแบบครีมและน้ำ ให้มีประสิทธิภาพในการไล่แมลงได้นานขึ้น (Hanan, 2010; Adeniran and Fabiyi, 2012) การที่แมลงวันเจาะลำต้นถั่ว มีการวางไข่ลงไปในเซลล์พืชตั้งแต่ระยะถั่วงอกใหม่ ๆ การใช้สารไล่ให้แมลงเกิดความสับสนไม่มาวางไข่ที่ต้นถั่ว จะเป็นการลดความสียหายลงได้ หรือแม้มีบางส่วนมาวางไข่ได้ แต่จะทำให้ไข่ ระยะตัวหนอน ดักแด้ ได้รับเชื้อราที่ฉีดพ่นส่งผลทำให้แมลงตายได้ หรือแม้ไม่ตายเชื้อรามีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตลูกหลาน หรือแม้แต่ตัวเต็มวัยก็สามารถได้รับเชื้อราได้ในขณะฉีดพ่น หรือวางไข่ ซึ่งจะส่งผลทำให้แมลงวันตายก่อนที่จะมีการผลิตลูกหลานเป็นการตัดวงจรชีวิตของแมลงวันเจาะลำต้นถั่วไม่ให้มีการขยายพันธุ์ต่อไปได้จะทำให้สามารถลดปริมาณแมลงวันเจาะลำต้นถั่วได้อย่างยั่งยืนในที่สุดหากมีการใช้อย่างต่อเนื่อง

เอกสารอ้างอิง

กัทลีวัลย์ สุขช่วย ณัฐชัย เที่ยงบูรณธรรม และจุฑารัตน์ ทิพย์ชู. 2549. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชต่อการควบคุมโรคพืชที่สำคัญในสภาพห้องปฏิบัติการและโรงเรือน. รายงานผลการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2549. สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราช-มงคลล้านนา. 25 หน้า

กัทลีวัลย์ สุขช่วย และณัฐชัย เที่ยงบูรณธรรม. 2548. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 10 ชนิดในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช 5 ชนิด ในห้องปฏิบัติการ, หน้า 1393. ใน การประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 21 : 28-30 มีนาคม เชียงใหม่

เนตรนภา พรหมสวรรค์. 2541. การศึกษาสารต้านเชื้อราจากผลดีปลี. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 41 หน้า

มาลี ตั้งระเบียบ. 2552. ผลของผลิตภัณฑ์หางไหลต่อการมีชีวิตของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคดนโลยีราชมงคลล้านนา. 34 หน้า

มาลี ตั้งระเบียบ. 2553. การวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์กำจัดแมลงจากเชื้อราสาเหตุโรคแมลงสำหรับควบคุมแมลงในการปลูกพืชตระกูลกะหล่ำและมะเขือเทศบนพื้นที่สูง.หน้า 146-149 ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 4 วันที่ 9 กันยายน พ.ศ. 2553 โรงแรมอิมพิเรียลแม่ปิง อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2554. การพัฒนาประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำและมะเขือเทศบนพื้นที่สูง. ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 4 วันที่ 25 กันยายน พ.ศ.2554 โรงแรมอิมพิเรียล แม่ปิง อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2555a. การทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำและมะเขือเทศในสภาพแปลง หน้า 130-134 ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 5 วันที่ 19 ธันวาคม พ.ศ. 2555 โรงแรม ดิเอ็มเพลส อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2555b การใช้เชื้อราควบคุมแมลงวันผลไม้. ว.กีฏและสัตววิทยา 30 (1) : 58-60.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2558. การพัฒนาชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและสารไล่แมลงเพื่อควบคุมหนอนแมลงวันเจาะลำต้นถั่วแขก. รายงานฉบับสมบูรณ์ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน). 127 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2559. การวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและสารไล่แมลงเพื่อควบคุมหนอนแมลงวันเจาะลำต้นถั่วแขก. รายงานการสัมมนาผลงานวิจัย มูลนิธิโครงการหลวง สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ประจำปีงบประมาณ 2560. วันที่ 7 กันยายน 2559. ณ.อุทยานหลวงราชพฤกษ์ จังหวัดเชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2560a. การควบคุมศัตรูสำคัญของพริกด้วยเชื้อราสาเหตุโรคแมลง *Beauveria bassiana* รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 86 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2560b. การวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดไรแดงของกุหลาบ หน้า 182-185 ในรายงานการสัมมนาผลงานวิจัย มูลนิธิโครงการหลวง สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ประจำปีงบประมาณ 2560. วันที่ 12 กันยายน 2560 ณ.อุทยานหลวงราชพฤกษ์ จังหวัดเชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ และเยาวลักษณ์ จันทร์บาง. 2560. การจัดการมอดเจาะผลกาแฟโดยไม่ใช้สารเคมีเพื่อการผลิตกาแฟปลอดภัย รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ มูลนิธิโครงการหลวง. 60 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ และศิรินันท์ เอี่ยมประภา. 2544. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria* spp. ควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูสำคัญพืชผัก. หน้า 63-70. ในการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 5: อารักขาพืช: ผลิตอาหารเพื่อประชากรโลก 21-23 พฤศจิกายน 2544 กาญจนบุรี.

มาลี ตั้งระเบียบ และสุมาพี พรหมรุกขชาติ. 2557. การศึกษาหาวิธีการควบคุมจิ้งหรีด วงศ์ Gryllidae โดยชีววิธีสำหรับการเพาะปลูกพืชบนพื้นที่สูง. หน้า 130-134 ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ มูลนิธิโครงการหลวง สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ประจำปีงบประมาณ 2557. วันที่ 3 กันยายน 2557. ณ. อุทยานหลวงราชพฤกษ์ จังหวัดเชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ จริยา วิสิทธ์พาณิชย์ และจันทร์เพ็ญ วิวัฒน์. 2552. การประเมินความสามารถของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง (*entomopathogenic fungi*). ในการควบคุมแมลงศัตรูสำคัญของพริก. รายงนวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 31 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ ศิรินันท์ เอี่ยมประภา และ จินันทนา จอมดวง. 2550. ศักยภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงวันผลไม้. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา. 50 หน้า

มาลี ตั้งระเบียบ สุมาฬี พรหมรุกขชาติ และวัลลภ พงษ์ยืน. 2556. เทคโนโลยีอย่างง่ายในการผลิตเชื้อรากำจัดมอดเจาะผลกาแฟและประสิทธิภาพในการควบคุมในสภาพแปลง.รายงานฉบับสมบูรณ์. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติเครือข่ายภาคเหนือ. 49 หน้า.

วนัสนันท์ สะอาดล้วน. 2548. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากดีปลีเพื่อการควบคุมโรคแอนแทรกโนสในผลมะม่วง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 90 หน้า

ศิรินันท์ เอี่ยมประภา และ มาลี ตั้งระเบียบ. 2549. การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราในการควบคุมเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* and *Macrosiphum euphorbiae* วารสารวิจัยและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล 9 (2) : 9-16.

สิริญา คัมภิโร จิราพร กุลสาริน เยาวลักษณ์ จันทร์บาง และมาลี ตั้งระเบียบ. 2554. ประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในโรงเรือน. วารสารเกษตร 27(1) : 49-57.

อรุณ โสตถิกุล 2544. ศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นมะม่วงในสภาพแปลง, 47-54. หน้า ในการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 5: อารักขาพืช: ผลิตอาหารเพื่อประชากรโลก 21-23 พฤศจิกายน กาญจนบุรี

อรุณ โสตถิกุล พิทยา สรวมศิริ และปรัชวาล สุกุมลนันท์. 2549. การพัฒนาสูตรสารสกัดหางไหลควบคุมเพลี้ยอ่อนผักกาด การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 6: 7-10 พฤศจิกายน 2549 เชียงใหม่ 130 หน้า.

อรุณ โสตถิกุล มาลี ตั้งระเบียบ ศิรินันท์ เอี่ยมประภา และสุธีกานต์ โสตถิกุล. 2540. ศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นมะม่วงในสภาพแปลง หน้า 326-329. ในการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 3 : 18-20 พฤศจิกายน กรุงเทพฯ.

Adeniran, O. I.; Fabiyi, E. 2012. A cream formulation of an effective mosquito repellent: a topical product from lemongrass oil (*Cymbopogon citratus*) Stapf. Journal of Natural Product & Plant Resources. 2 (2) : 322.

Barasa S.S, Ndiege I.O, Lwande W and Hassanali, A. 2002. Repellent activities of stereoisomers of p-menthane-3, 8-diols against *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). Journal of Medical Entomology. 39 : 736-741.

Debboun, M. Frances, S.P. and Strickman, D. 2006. Insect repellents : Principle Method and Uses. CRC Press Boca Raton. 495 pp.

Depieri R.A., Martinez, S. and Menezes, A.O. 2005. Compatibility of fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes with extracts of neem seeds and leaves and the emulsible oil, Neotropical Entomology. 34(4) : 601-606.

Ditzen M, Pellegrino, M. and Vosshall, L.B. 2008. Insect odorant receptors are molecular targets of the insect repellent deet. Science. 319 : 1838-1842.

Hanan E. 2010. Insect-repellent formulations. U.S. Patent Appl. Publ. No. US 20100196520 A1.

Inglis, G.D., Johnson D.L. and Goettel M.S. 1996. Effect of bait substrate and formulation on infection of grasshopper nymphs by *Beauveria bassiana*. Biocontrol Science and Technology. 6 : 35-50.

Kwon, Y., Kim, S.H, Ronderos, D.S., Lee, Y, Akitake, B, Woodward, O.M, Guggino, W.B, Smith D.P and Montell, C. 2010. Drosophila TRPA1 channel is required to avoid the naturally occurring insect repellent citronellal. Current Biology. 20 : 1672-1678.

Liu, W. 2012. Compatibility of essential oils with the biocontrol fungus, *Beauveria bassiana* "Master's Thesis, University of Tennessee. 83 pp.

Maia, M.F. and Moore S.J. 2011. Plant-based insect repellents : a review of their efficacy, development and testing. Malaria Journal. 10 : 1-15.

Malee Thungrabeab and Sirinun Aemprapa. 2002. Screening of entomopathogenic fungi *Beauveria* spp. against the aphid, *Myzus spersicae* and *Macrosiphum euphorbiae* pp. 157-160 In Proceeding 3rd International conference on Biopesticides 22-26 April 2002 Kuala Lumper, Malaysia,

Moore S.J., Lenglet, A. and Hill, N. 2006: Plant-based insect repellents. In insect repellents: principles methods, and use. Boca Raton Florida: CRC Press.

Plimmer, J.R., Inscoe and Govern, M.C. 1982. Insect attractants. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 22 : 297-320.

Sengonca, C., Thungrabeab M., and Blaeser P. 2006. Potential of the different isolates of entomopathogenic fungi from Thailand as biological control agents against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thys ; Thripidae). Journal of Plant Diseases and Protection. 113 (2) : 74-80.

Thompson S.R. and Brandenburg, R.L. 2006. Effect of combining imidacloprid and diatomaceous earth with *Beauveria bassiana* on mole cricket (Orthoptera: Gryllotalpidae) mortality. Journal Economic Entomology. 99 (6) : 1948-1954.

Thungrabeab, M. and Tongma, S. 2009**.** Entomopathogenic fungus in combination with derris extracts as an integrated pest management strategy for the flea beetle, *Phyllotreta* spp (Col., Chrysomelidae). In Proceeding the 3st International Meeting for development of IPM in Asia and Africa, December 7-9, 2009 in Bandar Lampung, Indonesia.

Thungrabeab, M. 2006. Efficiency of different entomopathogenic fungi isolates from Thailand as biological control agents against *Frankliniella occidentalis* (Pergande) and *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) Cuvillier Verlag, Goettingen, 110 : 961-963.

Zhu, J.J., Zeng, X.P, Berkebile, D, Du, H.J, Tong, Y, and Qian, K. 2009. Efficacy and safety of catnip (*Nepeta cataria*) as a novel filth fly repellent. Medical and Veterinary Entomology. 23 : 209-216.

บทที่ 8 เทคโนโลยีการผลิตเชื้อรากำจัดแมลงแบบง่าย

(A Simple Technology for the Mass Production of Entomopathogenic Fungi)

กระแสนิยมการบริโภคผลผลิตปลอดภัยจากสารเคมี จึงต้องมีการหาวิธีการที่จะมาทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช การใช้สารชีวภัณฑ์ทดแทนการใช้สารเคมีเป็นวิธีการหนึ่งที่ได้รับการยอมรับแล้วทั่วโลกว่าปลอดภัยต่อเกษตรกร ไม่มีสารตกค้างในผลผลิตไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ผลผลิตเป็นที่ต้องการของตลาดและผู้บริโภค ที่ผ่านมาเกษตรกรได้เริ่มให้ความสนใจผลิตเชื้อรากำจัดแมลงขึ้นใช้เอง จึงได้มีการหาวิธีการที่หลากหลายแตกต่างกันไปเพื่อผลิตเชื้อราขึ้นมาใช้เอง แต่มักไม่ค่อยประสบความสำเร็จเท่าที่ควร เนื่องจากผู้ผลิตยังขาดความเข้าใจ ขาดการระมัดระวังในขั้นตอนการผลิต และขาดหัวเชื้อราที่มีคุณภาพ จึงได้มีการพัฒนากระบวนการผลิตเชื้อรากำจัดแมลงด้วยเทคโนโลยีอย่างง่าย โดยใช้วัสดุเลี้ยงเชื้อราที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น เทคโนโลยีการฆ่าเชื้อที่ต้นทุนไม่สูง และวิธีการเก็บรักษาง่าย ที่จะเป็นวิธีการที่สะดวกและเหมาะสมกับเกษตรกรและผู้สนใจทั่วไป และเชื้อราที่ลิตได้ยังคงประสิทธิภาพมีปริมาณสปอร์มากเพียงพอสำหรับการควบคุมแมลงซึ่งจะเป็นทางเลือกใหม่ที่จะช่วยแก้ปัญหาแมลงศัตรูพืชได้อีกทางหนึ่ง

เทคโนโลยีอย่างง่ายในการผลิตโคนิเดีย

จากที่กล่าวมาแล้วโคนิเดียได้จากการผลิตเชื้อราในอาหารแข็งซึ่งเป็นสปอร์ที่มีความทนทานในสภาพธรรมชาติ เข้าทำลายแมลงได้ดี เป็นตัวการที่ทำให้เชื้อราแพร่กระจายไปในธรรมชาติ มาลี และคณะ (2556) ได้ศึกษาหาเทคโนโลยีการผลิตโคนิเดียด้วยวิธีการผลิตที่ไม่ยุ่งยาก ไม่ต้องใช้เครื่องมือขั้นสูง ซึ่งสามารถผลิตโคนิเดียโดยตรงที่ใช้เมล็ดธัญพืชเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อ และการผลิตโคนิเดียจากบลาสโตสปอร์

การผลิตโคนิเดียโดยตรงที่ใช้เมล็ดธัญพืชเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อ ซึ่งแบ่งเป็นหัวข้อได้ดังนี้

1) การเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อราใช้เมล็ดธัญพืช ได้แก่ ข้าวสารจ้าว ข้าวสารเหนียว (ทั้งข้าวนา และข้าวไร่ ทั้งเต็มเมล็ดและปลายข้าว) ข้าวเปลือก ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี ข้าวโพด (ข้าวโพดทั้งเม็ดและข้าวโพดบดหยาบ) โดยที่วัสดุเลี้ยงเชื้อเหล่านี้ได้หาวิธีการเตรียมต่าง ๆ กัน ดังนี้

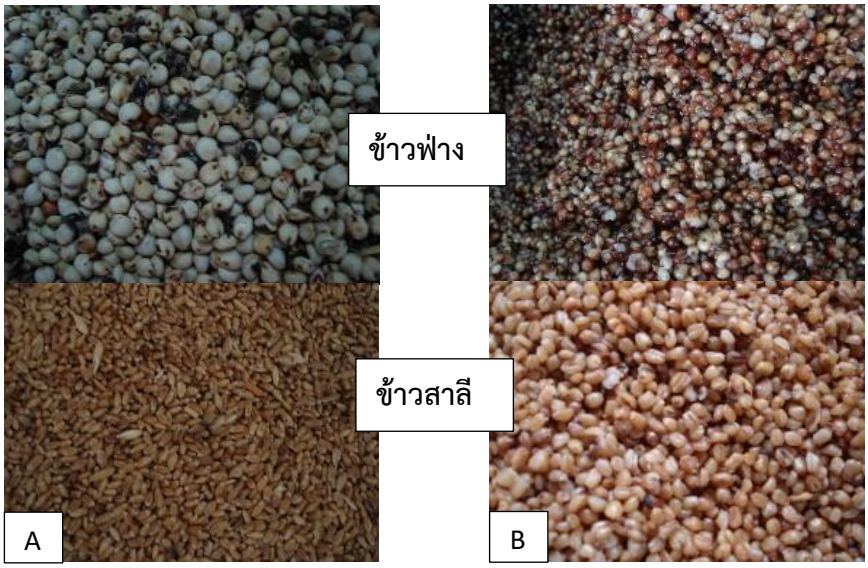
   ก. การต้ม

ข. การแช่น้ำที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันที่ 30 นาที 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง 3 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง และข้ามคืน

ค. การใส่วัสดุเลี้ยงเชื้อลงในถุงแล้วใส่น้ำลงไปผสมตามอัตราส่วนต่าง ๆ ที่วัสดุเลี้ยงเชื้อ : น้ำ ดังนี้ 1 : 1, 1 : 2, 1 : 0.5, 2 : 1, 3 : 1 แล้วนำไปนึ่ง

ง. การหุงด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า

ก. การต้ม เหมาะสำหรับข้าวฟ่าง ข้าวสาลี การเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อที่ดีขึ้นอยู่กับระยะเวลาการต้ม เพราะหากการต้มเร็วเกินไป เมล็ดข้าวแข็ง เชื้อราเจริญเข้าไปในเมล็ดไม่ได้ เส้นใยจะเดินรอบ ๆ เมล็ด ไม่สามารถนำแป้งที่อยู่ในเมล็ดมาใช้เพื่อการเจริญสร้างสปอร์ได้ แต่หากต้มนานเกินไป เมล็ดข้าวเละ ความชื้นสูง เชื้อราไม่เจริญไม่และมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียค่อนข้างสูง



ภาพที่ 8.1 (A) ลักษณะของเมล็ดก่อนต้ม (B) ลักษณะของเมล็ดหลังต้มที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อรา

ข. การแช่น้ำ เมื่อนำวัสดุเลี้ยงเชื้อมาแช่น้ำที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน ได้แก่ ที่ระยะเวลา 30 นาที 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง และค้างคืน พบว่า สำหรับข้าวฟ่าง และข้าวสาลี ที่ระยะเวลาการแช่น้ำที่ระยะเวลา 30 นาที 1 2 3 และ 6 ชั่วโมงหลังจากทำให้สะเด็ดน้ำและนำไปนึ่งให้สุกเมล็ดพืชยังแข็ง เชื้อราเจริญไม่ดี แต่เมื่อแช่ไว้ข้ามคืน เชื้อราเจริญได้แต่พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียสูง สำหรับข้าวจ้าว ข้าวเหนียว ทั้งเต็มเมล็ดและปลายข้าว รวมถึงข้าวเปลือกระยะเวลาการแช่ข้าวที่ไม่มีผลต่อการ

เจริญของเชื้อรา แต่การทำให้สะเด็ดน้ำ มีผลต่อการเจริญและปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย เพราะหากสะเด็ดน้ำไม่ดี เมื่อใส่ถุงน้ำจะไปรวมอยู่ที่ก้นถุงทำให้ก้นถุงแฉะ เชื้อราเจริญได้เฉพาะด้านบน แต่อย่างไรก็ตาม ข้าวเหนียวที่แช่น้ำน้อยกว่า 2 ชั่วโมง เชื้อราเจริญเติบโตได้แต่ข้าวเหนียวยังดูดน้ำเข้าเมล็ดไม่เต็มที่ ส่งผลต่อปริมาณเชื้อที่ได้ต่อวัสดุเลี้ยงเชื้อ สำหรับข้าวโพด ข้าวโพดเต็มเมล็ดทุกระยะเวลาของการแช่เชื้อราเจริญได้เพียงเส้นใย (ภาพที่ 8.2) เนื่องจากเชื้อราไม่สามารถแทงเข้าไปในเมล็ดข้าวโพดเพื่อใช้แป้งที่อยู่ข้างในได้ ส่วนข้าวโพดที่บดหยาบ เมื่อมีการแช่น้ำ แป้งของข้าวโพดที่อยู่ในเมล็ดจะสูญเสียไปกับน้ำ ทำให้เชื้อเจริญได้ไม่ดีเช่นกัน ดังนั้นวิธีการแช่น้ำจึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับข้าวมากกว่าวัสดุเลี้ยงเชื้ออื่น ๆ



ภาพที่ 8.2 การเจริญของเชื้อราในเมล็ดข้าวโพด (A) บดหยาบ (B) เต็มเมล็ด

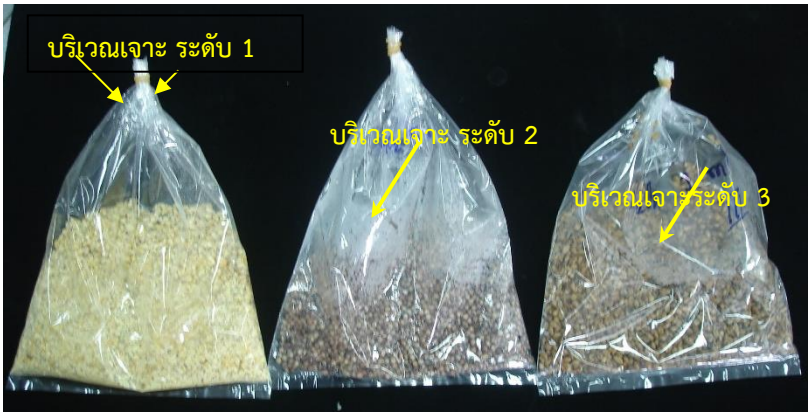
ค. การผสมน้ำลงในถุงวัสดุเลี้ยงเชื้อ วิธีการนี้โดยการนำวัสดุเลี้ยงเชื้อใส่ลงในถุงพลาสติกแล้วเติมน้ำลงไปตามอัตราส่วนต่าง ๆ กัน ดังนี้ วัสดุเลี้ยงเชื้อ : น้ำที่ 1 : 1, 1 : 2, 2 : 1 และ 3 : 1 พบว่าสำหรับข้าวสาลี ข้าวฟ่าง ข้าวเปลือก และข้าวเหนียวที่อัตราส่วน 1 : 1 ที่ด้านบนของวัสดุเลี้ยงเชื้อยังคงแข็งเป็นเม็ด ส่วนด้านล่างแฉะ เมื่อนำไปเลี้ยงเชื้อรา เชื้อราเจริญได้ไม่ดี ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงอัตราส่วนอื่น ๆ ก็ไม่เหมาะสม สำหรับการเตรียมข้าวสาลีและข้าวฟ่าง ข้าวเปลือกเพราะหากใส่น้ำเพิ่มขึ้นด้านบนสุก แต่ทำให้ก้นถุงแฉะมากขึ้น หากลดน้ำลงก้นถุงไม่แฉะ แต่ด้านบนไม่สุก สำหรับข้าวจ้าวและเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ อัตราส่วนของน้ำต่อวัสดุเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม คือ วัสดุเลี้ยงเชื้อ : น้ำ ที่อัตรา 2 : 1 ดังนั้นวิธีการเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อวิธีนี้เหมาะสมสำหรับข้าวโพดบดหยาบ และข้าวจ้าว

ง. การหุงด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า วิธีการนี้สามารถใช้ได้กับทุกวัสดุเลี้ยงเชื้อ แต่วัสดุเลี้ยงเชื้อที่เตรียมโดยวิธีนี้ไม่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเชื้อรากำจัดแมลงเพราะเมื่อนำไปเลี้ยงเชื้อรา พบมีการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดอื่นและแบคทีเรียค่อนข้างสูง

จากผลการทดลองหาวิธีการเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อราทั้งหมด สรุปการเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อได้ดังนี้ ข้าวฟ่างและข้าวสาลี เตรียมโดยการต้มให้เมล็ดพอแตก แล้วทำให้สะเด็ดน้ำก่อนใส่ถุง ส่วนข้าวจ้าวและข้าวโพดบดหยาบ เตรียมโดยการใส่วัสดุเลี้ยงเชื้อลงไปในถุงแล้วเติมน้ำลงไป ที่อัตรา วัสดุเลี้ยงเชื้อ : น้ำ ที่ 2 : 1 สำหรับข้าวเหนียว ให้แช่น้ำไว้อย่างน้อย 2 ชั่วโมง แล้วนำมาให้สะเด็ดน้ำ ก่อนใส่ถุง สำหรับข้าวโพดทั้งเมล็ด และข้าวเปลือกไม่แนะนำให้นำมาเลี้ยงเชื้อรากำจัดแมลง เพราะได้ปริมาณเชื้อน้อย หากจะให้ได้ความเข้มข้นตามอัตราที่แนะนำให้ใช้ ต้องใช้ปริมาณมาก สำหรับการทำให้วัสดุเลี้ยงเชื้อสุกหลังจากใส่ถุงพลาสติกมัดปากให้แน่นแล้ว ให้ใช้วิธีการนึ่งด้วยหม้อนึ่งที่ไม่มีแรงดัน ไม่แนะนำให้ใช้หม้อหุงข้าวไฟฟ้า เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราอื่น ๆ ค่อนข้างสูง

2) ปริมาตรการบรรจุวัสดุเลี้ยงเชื้อลงถุง

ปริมาตรการบรรจุลงในถุง เกี่ยวข้องกับการเจริญของเชื้อรา เนื่องจากเชื้อราต้องใช้อากาศในการเจริญเพื่อสร้างสปอร์ ผลการบรรจุลงถุงที่อัตราส่วนของถุงที่ 1/3 1/2 และ 2/3 ของถุง พบว่า การบรรจุที่อัตราส่วน ที่ 1/3 ของถุงเชื้อรามีการเจริญ สร้างสปอร์ได้ดีและเร็วที่สุด (มาลี และคณะ 2556) ตามที่กล่าวข้างต้นเชื้อราจำเป็นต้องใช้อากาศในการเจริญ ดังนั้นการมัดปากถุง ควรมัดให้ปลายถุงที่สุดและเพื่อให้มีอากาศถ่ายเทได้ จึงต้องมีการเจาะรูที่ถุง โดยเจาะบริเวณที่ต่ำกว่ายางมัด ดังภาพที่ 8.3 ที่ระดับ 1 การเจาะจะเจาะรูด้วยเข็มหมุดทั้งก่อนนึ่งและหลังการปลูกเชื้อ หลังเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อเสร็จก่อนการนำไปนึ่ง เจาะรู 5-10 รู เพื่อให้มีการระบายอากาศ หากไม่เช่นนั้นถุงจะพอง แต่ถ้าเจาะมากไปมีการระบายอากาศดี แรงดันในถุงน้อยโอกาสที่วัสดุเลี้ยงเชื้อมีการปนเปื้อนเชื้ออื่นสูง แต่หลังจากปลูกเชื้อแล้ว ควรมีการเจาะรูมากกว่าก่อนนึ่ง เพราะเชื้อราต้องการอากาศในการเจริญ ถ้าอากาศน้อยการเจริญของเชื้อราช้า แต่ถ้าเจาะรูมากเกินไป โอกาสเกิดการปนเปื้อนจากอากาศภายนอกมีสูง จำนวนรูที่เจาะที่เหมาะสม ประมาณ 20 รู รอบ ๆ ยางรัด ตำแหน่งการเจาะรู มีผลต่อการปนเปื้อน การเจาะที่ตรงกับวัสดุเลี้ยงเชื้อ (ภาพที่ 8.2 B และ C) มีผลทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย เนื่องจากอากาศพาเชื้อโรคมาด้วยจึงมาสัมผัสกับอาหารที่ทำให้เชื้อราเจริญได้ดี



ภาพที่ 8.3 ตำแหน่งการใช้เข็มหมุดเจาะถุงที่ตำแหน่งแตกต่างกัน 3 ระดับ

สำหรับระยะการมัดจากปากถุงพบว่ามีผลต่อการเจริญของเชื้อรา เนื่องจากเชื้อราเป็นสิ่งที่มีชีวิตต้องการอากาศหายใจ การมัดปากถุงที่ต่างกัน 2 ระยะ (ภาพที่ 8.4 A, B) พบว่า การมัดปากถุงที่ภาพที่ 8.4 A เชื้อราเจริญไม่ดีเท่ากับการมัดปากถุงแบบ ภาพที่ 8.4 B



ภาพที่ 8.4 ระยะการมัดปากถุง

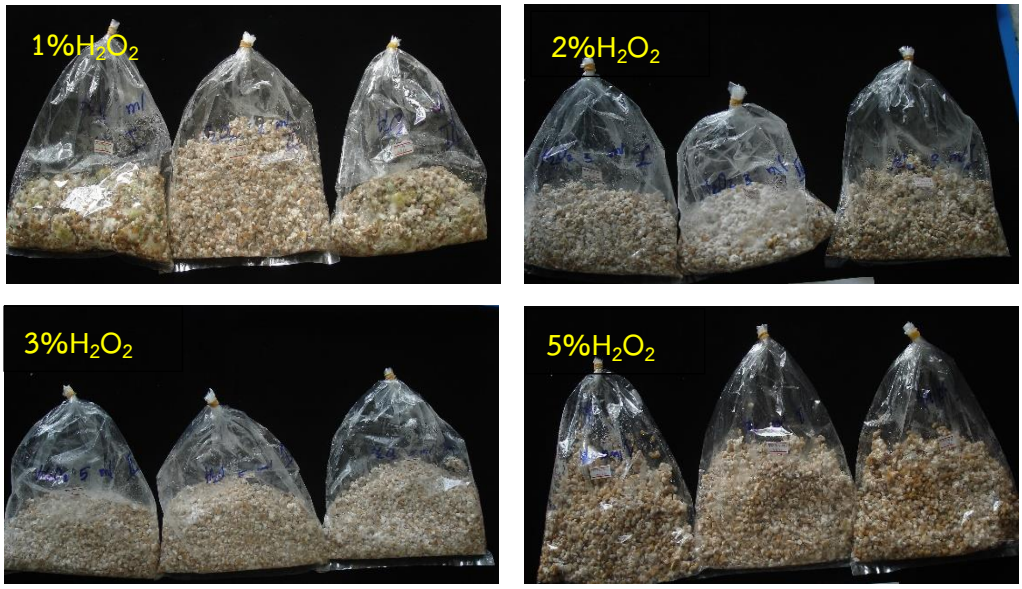
วัสดุเลี้ยงเชื้อที่นำมาใช้เลี้ยงเชื้อราทุกชนิด ทุกประเภทสามารถเลี้ยงเชื้อรากำจัดแมลงให้เจริญได้ แต่ความเข้มข้นของเชื้อราที่ได้แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของวัสดุเลี้ยงเชื้อ (ตารางที่ 8.1)

ตารางที่ 8.1 ความเข้มข้นของเชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana* ในวัสดุเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน ที่ระยะเวลาการบ่มเชื้อ 7 วัน

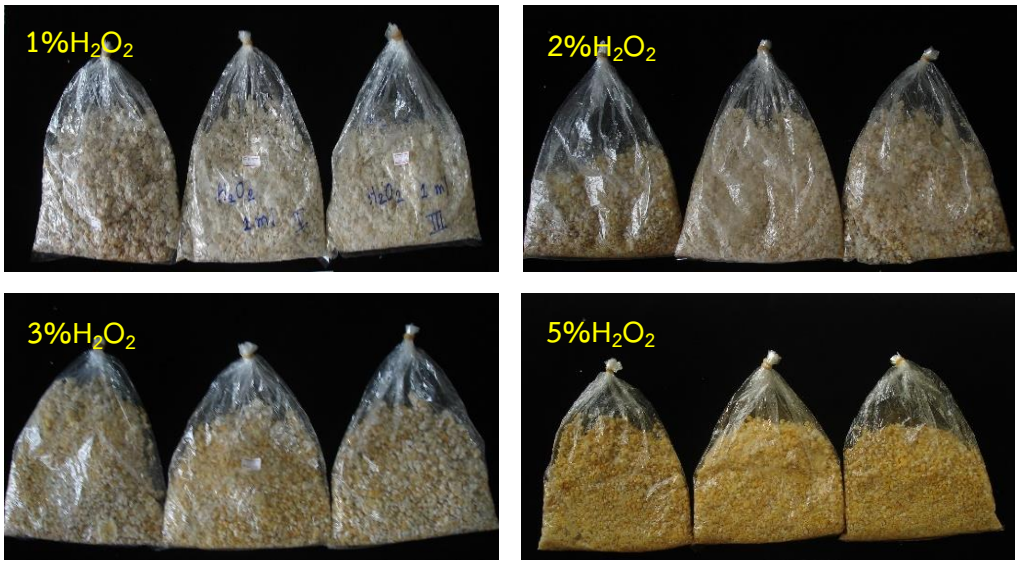
วัสดุเลี้ยงเชื้อรา	ความเข้มข้นของสปอร์ของเชื้อรา ต่อกรัมวัสดุเลี้ยงเชื้อ (สปอร์/มิลลิลิตร)
ข้าวสาลี	$3.59x10^9$
ข้าวฟ่าง	$8.85x10^8$
ข้าวโพดเต็มเมล็ด	$5.53x10^6$
ข้าวโพดบด	$9.85x10^9$
ข้าวจ้าวเต็มเมล็ด	$3.19x10^{10}$
ปลายข้าวจ้าว	$3.45x10^{10}$
ข้าวเหนียวเต็มเมล็ด	$3.93x10^{10}$
ปลายข้าวเหนียว	$3.65x10^{10}$
ข้าวไร่จ้าวเต็มเมล็ด	$3.10x10^{10}$
ข้าวเปลือก	$1.10x10^6$

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก มาลี (2551) และ (2554)

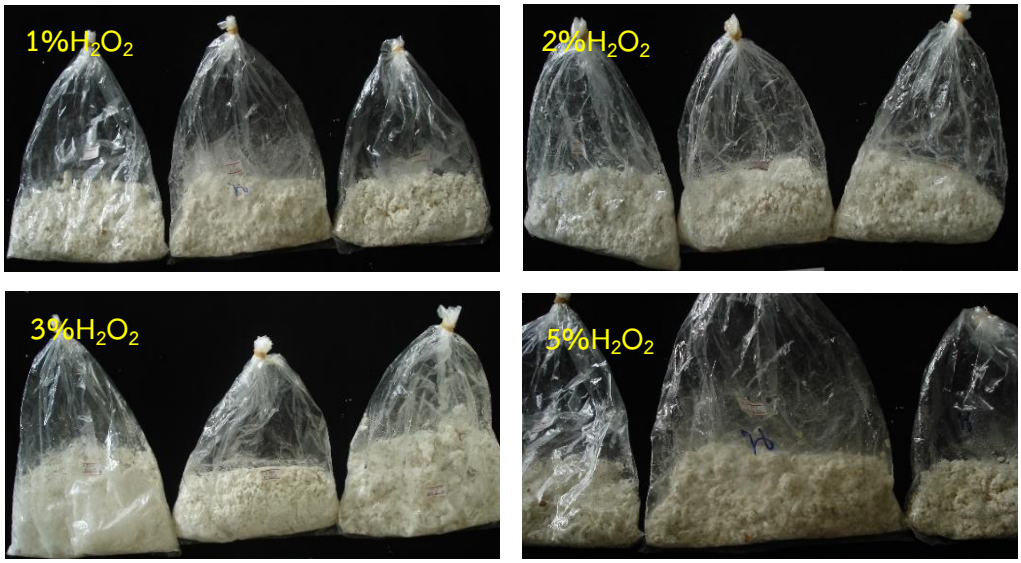
ในการผลิตเชื้อราแบบง่ายนอกจากการใช้ไอน้ำเดือดช่วยในการฆ่าเชื้อวัสดุเลี้ยงเชื้อแล้ว การใช้สารเคมี อย่างเช่น ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ก็สามารถนำมาฆ่าเชื้อในวัสดุเลี้ยงเชื้อได้ มาลี (2556) ทดลองใช้ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่อัตราความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 5% ปริมาตรต่อน้ำหนักวัสดุเลี้ยงเชื้อ ผลการทดลองพบว่า ความสามารถในการฆ่าเชื้อของ H_2O_2 ขึ้นอยู่กับวิธีการเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อ การเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อราด้วยวิธีการต้มและใช้ H_2O_2 ที่อัตรา 1 และ 2% พบมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียและเชื้อราชนิดอื่น ส่วนที่อัตรา 3 และ 5% ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อชนิดอื่น (ตารางที่ 8.2) การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ขึ้นอยู่กับวัสดุที่นำมาเลี้ยงเชื้อและอัตราความเข้มข้นของ H_2O_2 เชื้อราที่ใช้ข้าวสาลีเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อ เชื้อรามีการเจริญได้ดีที่ อัตราความเข้มข้นของ H_2O_2 3% (ภาพที่ 8.4) ส่วนเมื่อใช้ข้าวโพดบดเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อ ที่ระดับความเข้มข้นของ H_2O_2 1% เชื้อราเจริญได้ดีที่สุด ส่วนที่ระดับความเข้มข้นร้อยละของ H_2O_2 5% ไม่พบการเจริญของเชื้อใด ๆ รวมทั้งเชื้อรากำจัดแมลงที่ปลูกเชื้อลงไป (ภาพที่ 8.5) สำหรับการใช้ข้าวเหนียวเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อ เชื้อราเจริญได้ดีทุกกรรมวิธี (ภาพที่ 8.6)



ภาพที่ 8.5 การเจริญของเชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana* ในข้าวสาลีที่ทำให้ปราศจากเชื้อ ด้วย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน



ภาพที่ 8.6 การเจริญของเชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana* ในข้าวโพดบดที่ทำให้ปราศจากเชื้อ ด้วย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน



ภาพที่ 8.7 การเจริญของเชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana* ในข้าวเหนียวที่ทำให้ปราศจากเชื้อด้วย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน



ภาพที่ 8.8 การเจริญของเชื้อรากำจัดแมลง *Beauveria bassiana* ในข้าวจ้าวที่ทำให้ปราศจากเชื้อ ด้วย H_2O_2 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ตารางที่ 8.2 ผลของความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ต่อการปนเปื้อนของวัสดุเลี้ยงเชื้อ

ความเข้มข้น H_2O_2	วิธีการเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อ	วัสดุเลี้ยงเชื้อ	ความเข้มข้น (โคนิเดีย/มล.)x10^8	การปนเปื้อน (%)
1%	การต้ม	ข้าวฟ่าง	-	100
		ข้าวสาลี	-	100
	ผสมวัสดุเลี้ยงเชื้อกับน้ำในถุง	ข้าวสาลี	2.54	20
		ข้าวฟ่าง	2.23	40
		ข้าวโพดบด	51.12	20
		ข้าวจ้าว	187.34	0
		ข้าวเหนียว	231.98	0
	แช่น้ำ 1 คืน	ข้าวสาลี	3.89	40
		ข้าวฟ่าง	2.45	20
		ข้าวโพดบด	88.19	20
		ข้าวจ้าว	261.67	0
		ข้าวเหนียว	277.89	0

ตารางที่ 8.2 ผลของเชื้อ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ต่อการปนเปื้อนของวัสดุเลี้ยง (ต่อ)

ความเข้มข้น H_2O_2	การเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อ	วัสดุเลี้ยงเชื้อ	ความเข้มข้น (โคนิเดีย/มล.)x10^8	การปนเปื้อน (%)
2%	การต้ม	ข้าวฟ่าง	-	100
		ข้าวสาลี	-	100
	ผสมวัสดุเลี้ยงเชื้อกับน้ำในถุง	ข้าวสาลี	4.54	20
		ข้าวฟ่าง	3.23	40
		ข้าวโพดบด	91.92	20
		ข้าวจ้าว	287.34	0
		ข้าวเหนียว	341.98	0
	แช่น้ำ 1 คืน	ข้าวสาลี	19.89	40
		ข้าวฟ่าง	8.45	20
		ข้าวโพดบด	198.32	20
		ข้าวจ้าว	281.97	0
		ข้าวเหนียว	377.89	0

ตารางที่ 8.2 ผลของเชื้อ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ต่อการปนเปื้อนของวัสดุเลี้ยง (ต่อ)

ความเข้มข้น H_2O_2	การเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อ	วัสดุเลี้ยงเชื้อ	ความเข้มข้น (โคนิเดีย/มล.)x10^8	การปนเปื้อน (%)
3%	การต้ม	ข้าวฟ่าง	-	100
		ข้าวสาลี	-	100
	ผสมวัสดุเลี้ยงเชื้อกับน้ำในถุง	ข้าวสาลี	1.54	20
		ข้าวฟ่าง	2.35	40
		ข้าวโพดบด	81.27	20
		ข้าวจ้าว	187.34	0
		ข้าวเหนียว	241.98	0
	แช่น้ำ 1 คืน	ข้าวสาลี	9.89	40
		ข้าวฟ่าง	4.45	20
		ข้าวโพดบด	98.32	20
		ข้าวจ้าว	181.97	0
		ข้าวเหนียว	177.89	0

ตารางที่ 8.2 ผลของเชื้อ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ต่อการปนเปื้อนของวัสดุเลี้ยง (ต่อ)

ความเข้มข้น H_2O_2	การเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อ	วัสดุเลี้ยงเชื้อ	ความเข้มข้น (โคนิเดีย/มล.)x10^8	การปนเปื้อน (%)
5%	การต้ม	ข้าวฟ่าง	-	20
		ข้าวสาลี	-	20
	ผสมวัสดุเลี้ยงเชื้อกับน้ำในถุง	ข้าวสาลี	0.89	20
		ข้าวฟ่าง	0.45	40
		ข้าวโพดบด	18.32	20
		ข้าวจ้าว	85.57	0
		ข้าวเหนียว	77.29	0
	แช่น้ำ 1 คืน	ข้าวสาลี	-	0
		ข้าวฟ่าง	0.29	0
		ข้าวโพดบด	0.25	0
		ข้าวจ้าว	28.32	0
		ข้าวเหนียว	55.57	0

ที่มา : มาลีและคณะ (2556 a b)

2. การผลิตโคนิเดียจากอาหารเหลว

การผลิตเชื้อรากำจัดแมลงด้วยเทคนิคอย่างง่ายที่เกษตรกรสามารถผลิตเองได้ จะเป็นการผลิตด้วยวัสดุเลี้ยงเชื้อที่เป็นข้าว หรือข้าวโพด และใช้วิธีการนึ่งด้วยไอน้ำร้อนหรือหม้อหุงข้าว เพื่อให้วัสดุเลี้ยงเชื้อสุก และเป็นการฆ่าเชื้อได้ในระดับหนึ่ง แต่การผลิตด้วยวิธีการดังกล่าวเกษตรกรเห็นว่ามีข้อจำกัดในการนำไปใช้ หากใช้โดยวิธีการฉีดพ่นต้องมีการล้างสปอร์ออกจากวัสดุเลี้ยงเชื้อรา เป็นการเพิ่มขั้นตอนไม่สะดวกกับการนำไปใช้ มาลี (2560) จึงได้มีการผลิตโคนิเดียในอาหารเหลวโดยนำเมล็ดธัญพืชชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ข้าวเหนียว ข้าวจ้าว ข้าวสาลี ในอัตราส่วนข้าว 100 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร โดยการแช่ข้าวในน้ำที่ผสม H_2O_2 1 มิลลิลิตรและน้ำส้มสายชู 1.5 มิลลิลิตร นาน 30 นาที แล้วนำไปต้ม ต้มให้เมล็ดแตกกรองเอาเฉพาะน้ำ ต้มให้ข้าวเละเป็นโจ๊ก และการปั่นข้าวที่ต้มแล้วด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียด บรรจุลงในขวดแก้วที่หาได้ทั่วไป อัตรา 1/3 ของขวด (ต้องไม่ใส่มากเกินไป ไม่เช่นนั้นจะได้ปริมาณโคนิเดียน้อย) ใช้สำลีปิดคอขวด และปิดทับด้วยกระดาษอีกครั้ง แล้วนำมาต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลาปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อเย็นเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วปลูกเชื้อลงไป เขย่าให้เชื้อราเข้ากันดีกับอาหารเลี้ยงเชื้อเอนขวดให้มีพื้นที่มากที่สุด เพื่อให้เชื้อราสร้างโคนิเดียบนผิวหน้าอาหาร (ภาพที่ 8.8) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน จะได้โคนิเดียเจริญที่ผิวหน้าอาหาร ความเข้มข้นของโคนิเดียที่ได้ขึ้นกับอาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม (ตารางที่ 8.3) นำไปใช้ในการควบคุมแมลงได้ โดยอัตราการใช้ 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (ความเข้มข้นของเชื้อราอยู่ระหว่าง 10^7-10^8 สปอร์/มิลลิลิตร)

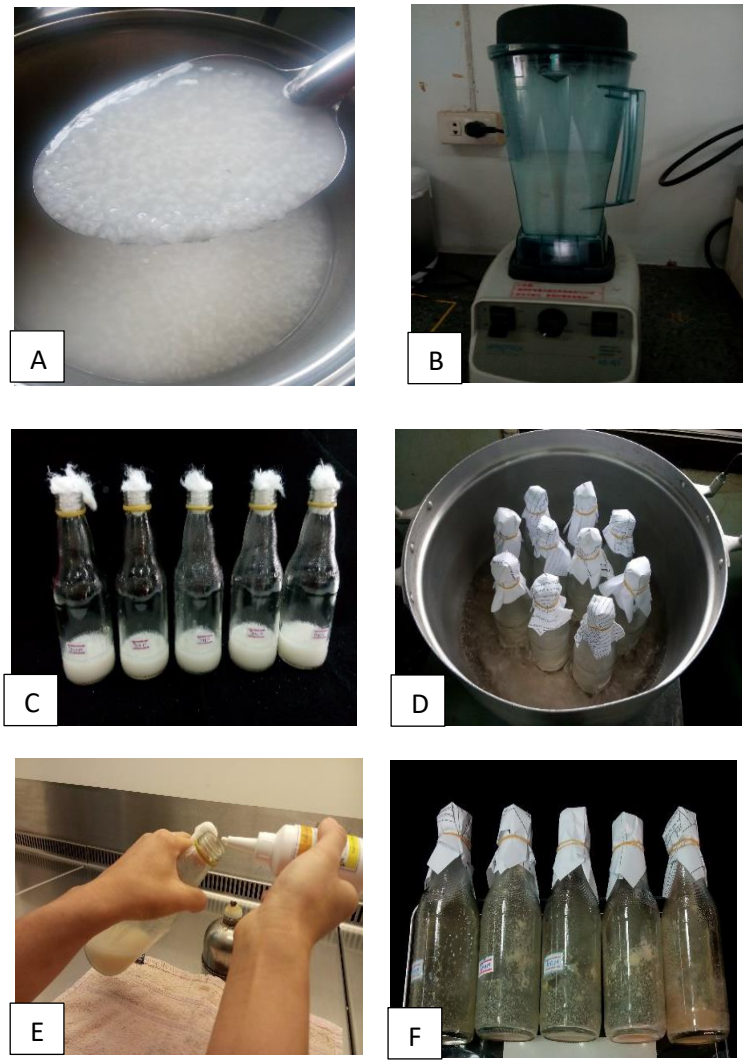
เทคโนโลยีอย่างง่ายในการผลิตบลาสโตสปอร์

ดังได้กล่าวมาแล้วเชื้อรากำจัดแมลงสามารถผลิตเพื่อใช้ในการกำจัดแมลงได้ทั้งในรูปของโคนิเดียและบลาสโตสปอร์ ซึ่งการผลิตบลาสโตสปอร์ผลิตได้ในอาหารเหลว อาหารเหลวโดยทั่วไปที่ใช้ในการผลิตบลาสโตสปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* ได้ดี ได้แก่ catroux ส่วนเชื้อรา *M. anisopliae* ได้แก่ ½ Ademex ซึ่งหากไม่ได้อยู่ในห้องปฏิบัติการจะมีข้อจำกัดในการจัดหา ซึ่งการเจริญของเชื้อรากำจัดแมลงขึ้นอยู่กับสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน จึงได้มีการทดลองหาแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่หาได้สะดวกและต้นทุนไม่สูง และวิธีที่เกษตรกรผลิต ผลการทดลองพบว่า มีเฉพาะที่ใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนที่พบเชื้อรา *B. bassiana* สร้างบลาสโตสปอร์ สำหรับเชื้อรา *M. anisopliae* ไม่พบมีการสร้างบลาสโตสปอร์ (ตารางที่ 8.4)

ตารางที่ 8.3 ความเข้มข้นของโคนิเดียเชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ที่ผลิตได้จากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน หลังการบ่มเชื้อรา 10 วัน

กรรมวิธี	ความเข้มข้นของบลาสโตปอร์/มล.	
	B. bassiana	*M. anisopliae*
น้ำต้มข้าวจ้าว	6.84×10^{8}	0
น้ำต้มข้าวเหนียว	2.41×10^{8}	0
น้ำต้มข้าวสาลี	4.16×10^{7}	0
ข้าวจ้าวต้มเละ	6.84×10^{9}	$3.5 \times \times 10^{8}$
ข้าวเหนียวต้มเละ	4.16×10^{9}	2.3×10^{9}
ข้าวสาลีต้มเละ	2.41×10^{9}	9.6×10^{8}
ข้าวจ้าวต้มและปั่นละเอียด	$7.50. \times 10^{10}$	5.50×10^{9}
ข้าวเหนียวต้มและปั่นละเอียด	7.27×10^{10}	4.27×10^{10}
ข้าวสาลีต้มและปั่นละเอียด	9.54×10^{10}	9.54×10^{9}

ที่มา : ดัดแปลงจากมาลี (2560)



ภาพที่ 8.9 ขั้นตอนการผลิตโคนิเดียจากอาหารเหลว

(A) ต้มข้าวให้เมล็ดเละ (B) ปั่นให้ละเอียด (C) ใส่ปิดด้วยสำลี

(D) ต้มฆ่าเชื้อในน้ำเดือด (E) ใส่เชื้อ (F) วางนอนให้เชื้อราเจริญบนหน้าอาหาร

ตารางที่ 8.4 ความเข้มข้นของบลาสโตสปอร์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกันที่ระยะเวลาในการเขย่าให้มีการแลกเปลี่ยนออกซิเจน 5 วัน

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ความเข้มข้นของบลาสโตสปอร์ ($x10^7$)	
	B. bassiana	*M. anisopliae*
กากน้ำตาล 3% ยีสต์ออโตไลเสต 1%	1.02	
กากน้ำตาล 3% ยีสต์ออโตไลเสต 2%	2.4	
กากน้ำตาล 3% ยีสต์ออโตไลเสต 3%	10.2	
กากน้ำตาล 3% นมผงถั่วเหลือง 1%	0.78	
กากน้ำตาล 3% นมผงถั่วเหลือง 2%	0.98	
กากน้ำตาล 3% นมผงถั่วเหลือง 3%	0.88	
น้ำตาลทราย 3% ยีสต์ออโตไลเสต 1%	-	-
น้ำตาลทราย 3% ยีสต์ออโตไลเสต 2%	-	-
น้ำตาลทราย 3% ยีสต์ออโตไลเสต 3%	-	-
น้ำตาลทราย 3% นมผงถั่วเหลือง 1%	-	-
น้ำตาลทราย 3% นมผงถั่วเหลือง 2%	-	-
น้ำตาลทราย 3% นมผงถั่วเหลือง 3%	-	-
น้ำตาลทราย 3.75% นมข้นหวาน 3.85%	-	-
น้ำต้มข้าวโพด 3% ยีสต์ออโตไลเสต 1%	-	-
น้ำต้มข้าวโพด 3% ยีสต์ออโตไลเสต 2%	-	-
น้ำต้มข้าวโพด 3% ยีสต์ออโตไลเสต 3%	-	-
น้ำต้มข้าวโพด 3% นมผงถั่วเหลือง 1%	-	-
น้ำต้มข้าวโพด 3% นมผงถั่วเหลือง 2%	-	-
น้ำต้มข้าวโพด 3% นมผงถั่วเหลือง 3%	-	-
น้ำมะพร้าวสด 100 มล. น้ำตาลทราย 5%	-	-
กากน้ำตาล 3% ยีสต์สกัด 1%	100.2	20.24
1/2 Ademex (Control)	1.37	121.56
Catroux (Control)	334.3	23.7

ที่มา : ดัดแปลงจาก สุเทพ (2557) และสมชาย (2557)

การผลิตเชื้อราด้วยอาหารเหลวสะดวกกับการนำไปใช้ เพราะสามารถผสมน้ำแล้วฉีดพ่นได้ทันที แต่สำหรับเกษตรกรจะมีข้อจำกัดที่ไม่สามารถเขย่าให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีการแลกเปลี่ยนออกซิเจนได้ ได้มีการใช้ปั๊มเติมอากาศในวิธีการผลิตในอาหารเหลวของเกษตรกรแต่วิธีการดังกล่าว นอกจากไม่ได้ส่วนขอ

งบลาสโตสปอร์แล้วยังพบมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียสูงมาก (มาลี 2556) อีกทั้งบลาสโตสปอร์ไม่ทนทานในสภาพแวดล้อม (มาลี 2555)

สรุป

การผลิตเชื้อรากำจัดแมลงผลิตได้ด้วยวัสดุเลี้ยงเชื้อหลายชนิดและมีวิธีการผลิตที่แตกต่างกันไป แต่หัวใจสำคัญของการผลิตคือการได้ส่วนของสปอร์ที่มีความเข้มข้นมากพอที่จะนำไปใช้กำจัดแมลงได้ เพราะหากเชื้อราที่ผลิตได้ ได้ความเข้มข้นไม่สูงการนำไปใช้ต้องใช้ในปริมาณมากถึงจะได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการ คือ 10^7-10^8 สปอร์/มิลลิลิตร ในขั้นตอนการผลิตแบบง่ายที่ไม่ได้ใช้เครื่องมือขั้นสูง จะต้องคำนึงถึงการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดอื่นและเชื้อแบคทีเรียด้วย เพราะอาจส่งผลต่อความรุนแรงของเชื้อรากำจัดแมลง ทำให้เชื้อราที่ผลิตได้ไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลง การควบคุมแมลงจึงไม่ได้ผล

เอกสารอ้างอิง

มาลี ตั้งระเบียบ. 2554. การพัฒนาประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำและมะเขือเทศบนพื้นที่สูง. หน้า 139-141 ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 4 วันที่ 25 กันยายน พ.ศ.2554 โรงแรมอิมพิเรียลแม่ปิง อ.เมือง จ. เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2555. การทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำและมะเขือเทศในสภาพแปลง รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน). จ. เชียงใหม่. 109 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2560. การวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดไรแดงกุหลาบ. 182-185. ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ครั้งที่ 10 วันที่ 12 กันยายน พ.ศ. 2560 อุทยานหลวงราชพฤกษ์ อ.เมือง จ.เชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ สุมาฬี พรหมรุกขชาติ วัลลภ พงษ์ยืน และสุเทพ ทองมา. 2551. ศักยภาพของกลุ่มเกษตรกรในการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงเพื่อการควบคุมแมลงวันผลไม้แบบยั่งยืน. 180-191. ในรายงานการนำเสนอผลงานวิจัย เครือข่ายบริหารการวิจัยภาคเหนือตอนบน สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา.

มาลี ตั้งระเบียบ สุมาฬี พรหมรุกขชาติ และวัลลภ พงษ์ยืน. 2556a. เทคโนโลยีอย่างง่ายในการผลิตเชื้อรากำจัดมอดเจาะผลกาแฟและประสิทธิภาพในการควบคุมในสภาพแปลง. รายงานฉบับสมบูรณ์. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติเครือข่ายภาคเหนือ. 49 หน้า

มาลี ตั้งระเบียบ สุมาฬี พรหมรุกขชาติและ วัลลภ พงษ์ยืน. 2556b. เทคโนโลยีอย่างง่ายในการผลิตเชื้อรากำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพควบคุมแมลง. รายงานฉบับสมบูรณ์ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 70 หน้า

สมชาย บัณฑิตมนตรา. 2557. การพัฒนาสูตรอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อรา *Beauveria bassiana* ด้วยเทคโนโลยีอย่างง่ายในการผลิตเชื้อรากำจัดแมลง.ปัญหาพิเศษ. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชศาสตร์) สาขาพืชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง. 49 หน้า

สุเทพ ฉัตรสุริยพันธ์. 2557. การพัฒนาสูตรอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ด้วยเทคโนโลยีอย่างง่ายในการผลิตเชื้อรากำจัดแมลง.ปัญหาพิเศษ. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชศาสตร์) สาขาพืชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง. 47 หน้า

Index

A

Acrasiomycota, 22
Active ingredients, 101
Adamek, 86
½ Ademex, 87, 99, 227, 228
aerial mycelium, 18
Akanthomyces aranearum, 28
Akanthomyces cinereus, 29
Akanthomyces pistillariiformis, 29
Akanthomyces sp., 37
Amoebiales, 33
Amoebidiales, 33
amoeboid, 23
anamorphs, 4, 28, 30, 49
Ancylistaceae, 32
Aphanomycopsis, 32
appessorium, 54
Arthropoda, 27
arthrospore, 19
Aschersonia, 29, 34, 37, 60, 63, 65, 71, 117, 128, 133, 156, 160
Aschersonia calendulina, 29
Aschersonia coffeae, 29
Aschersonia luteola, 29
Aschersonia oxystoma, 29
Aschersonia placenta, 29
Aschersonia samoensis, 29, 60, 63
ascomycetes, 20
Ascomycota, 21, 22, 25, 28, 33, 34, 35, 49, 106, 154
Ascomycotina, 22
Ascosphaerales, 33
ascospore, 20, 25
asexual spore, 19
asexual state, 28
Aspergillus, 25, 34, 174
Atkinsiella, 32

B

Bacillaceae, 2
Bacillus, 8, 2, 3, 4, 15, 107
Bacteria, 2
Baculoviridae, 4
Basidiobolus, 32
basidiocarp, 26
Basidiomycota, 22, 25, 26, 28, 33, 36
Basidiomycotina, 22
basidiospore, 20

Beauveria bassiana, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 7, 9, 15, 27, 29, 44, 45, 46, 47, 48, 54, 59, 60, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 81, 83, 84, 85, 87, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 105, 106, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 117, 118, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 134, 135, 136, 138, 140, 141, 142, 143, 145, 148, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 169, 170, 171, 174, 178, 183, 184, 185, 187, 188, 189, 190, 191, 193, 199, 201, 202, 203, 205, 208, 209, 210, 217, 218, 219, 225, 230
Beauveria brongniartii, 44, 77, 120, 156
bio insecticides, 14
biological activity, 150
Blastocladiales, 32
Blastospore, 20, 112
blastospores, 79, 86, 87, 110, 165
Blastospores, 19
Blow fly, 168, 170, 186
Brachytrupes portentosus, 4, 65, 66, 146
Budding, 19

C

Catenaria, 32
Catroux, 86, 228
chinch bug, 28, 161
chlamydospore, 20
Chrysomya megacephala, 6, 168, 170, 171, 172, 186, 190
Chytridiales, 32
Chytridiomycetes, 32
Chytridiomycota, 22, 24, 32, 36
Clavicipitaceae, 33, 34, 49
Clavicipitales, 33, 34
Coelomomyces, 32, 36
Coelomomycetaceae, 32
Coelomycidium, 32
Coenocytic hypha, 17
colony forming unit, 103
commensalism, 12
condiospore, 19
conidia, 7, 19, 25, 40, 41, 42, 52, 72, 79, 105, 109, 110, 111, 113, 114, 119, 154, 157, 158, 159, 160, 163, 166, 171, 172
Conidiobolus, 32, 59
conidiophores, 7
Conoideocrella luteorostrata, 29
Cordyceps cylindrical, 30
Cordyceps ninchukispora, 30
Cordyceps pseudomilitalis, 37
Cordyceps staphylinidicola, 29
Cordyceps takaomontana, 30
Cordyceps thaxteri, 28

Cordyceps tuberculate, 29
Cordycipitaceae, 35, 110, 158
Couchia, 32
cup fungi, 25
cuticle, 53, 54

D

Deuteromycetes, 21, 158, 192, 208
Deuteromycota, 25, 28, 161
Deuteromycotina, 22, 71, 110, 153, 155, 156, 166, 191
diatomaceous earth dusts, 97, 106
dispersing agents, 93
Dust, 89, 97, 113

E

EC, 89, 99, 100
engorge, 7, 173, 178
Emulfisifiable concentrate, 89
emulsifier concentration, 99
emulsifiers, 93
emulsion, 91, 93
Entomopathogen, 1
Entomopathogenic fungi, 7, 27, 76, 156, 162, 168, 212
Entomophaga, 32, 114, 165
Entomophthora, 27, 32, 36
Entomophthoraceae, 32, 114, 165
Entomophthorales, 32
Erynia, 32
Eryniopsis, 32
Eumycota, 22

F

Facultative parasite, 20
fission, 19
flagella, 24
formulation, 48, 49, 72, 76, 88, 89, 103, 107, 108, 109, 111, 113, 149, 161, 165, 194, 195, 208, 209
Fragmentation, 19
Frankliniella occidentalis, 4, 6, 59, 60, 63, 67, 68, 73, 74, 75, 77, 113, 114, 119, 154, 160, 162, 164, 165, 166, 210
fruiting bodies, 25, 26
Fungi, 7, 17, 21, 22, 23, 24, 25, 49, 71, 72, 109, 154, 158, 162, 188, 191
Furia, 33
Fusarium, 34, 174

G

germ tube, 4, 1, 52, 53, 54, 55, 59, 67, 147, 148
germination, 53, 70, 71, 105, 112, 154, 165, 194, 204
Gibellula, 30, 34

Gibellula dimorpha, 30
Gibellula pulchra, 30
Granule, 76, 89, 94
Granulosis, 5

H

Harpographium, 33
Heamacytomete, 95
hemocytometer, 101, 102
Heterorhabditidae, 9, 10
Hirsutella, 34
Hirsutella formicarum, 30, 60
Hirsutella saussurei, 30
Hirsutella sp., 37
Hirsutella versicolor, 30
Hymenostilbe aurantiaca, 31
Hymenostilbe dipterigena, 31
Hymenostilbe nutans, 31
Hymenostilbe sphecophila, 31
Hymenostilbe ventricosa, 31
hypha, 9, 17, 18, 23
Hypocreaceae, 33
Hypocreales, 33, 34, 49, 106, 110, 154, 158
Hypocrella, 29, 33, 36, 38, 49, 60
Hypocrella calendulina, 29
Hypocrella discoidea, 29, 60
Hypocrella luteola, 29

I

insect fungi, 17, 48
Isaria, 34
Isaria farinosa, 39
Isaria farinosus, 77, 134, 170
Isaria fumosorosea, 7, 44, 45, 47, 72, 77, 110, 158
Isaria fumosoroseus, 58, 61, 63, 65, 77, 131, 135, 136, 170, 179, 196
Isaria sp., 30
Isaria tenuipes, 30, 39, 61, 114, 170, 196
Isolate, 62, 135, 136, 171, 190, 193, 194, 195

J

Jenkins- Prior, 86

K

key pest, 116
kingdom, 18, 21, 22, 23, 24

L

Lagenidiales, 32
Lagenidium, 32, 35, 156
LC_{50}:, 62
LD_{50}, 61, 177

Lecanicillium, 35, 38, 55, 59, 61, 63, 64, 65, 78, 91, 95, 127, 129, 133, 134, 169, 174, 189
Lecanicillium lecanii, 61, 64, 77, 91, 95, 129, 142, 169
Lecanicillium sp., 38
Leptolegnia, 32
LT_{50}, 6, 62, 135, 136, 170, 171, 177

M

Malt extract peptone agar, 48
Massospora, 33
Mastigomycotina, 22
Metacordyceps brittlebankisoides, 31
Metarhizium acridum, 44
Metarhizium anisopliae, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 7, 8, 9, 15, 27, 31, 43, 44, 45, 47, 50, 54, 59, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 70, 71, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 81, 84, 86, 87, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 105, 106, 108, 110, 111, 112, 113, 114, 117, 119, 121, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 130, 131, 132, 134, 135, 136, 140, 141, 142, 143, 145, 148, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 159, 160, 161, 163, 165, 166, 169, 170, 171, 172, 174, 179, 181, 183, 185, 186, 187, 188, 189, 191, 194, 197, 201, 202, 203, 205, 225, 230
Metarhizium cicadinum, 43
Metarhizium cylindrosporum, 43
Metarhizium frigidum, 44
Metarhizium glutinosum, 43
Metarhizium iadini, 43
Metarhizium taii, 44
Metarhizium viridicolumnare, 44
microbial control, 1, 75, 108, 111, 165, 166
Mode of action, 52
Moelleriella javanica, 29
Moelleriella oxystoma, 29
Moelleriella raciborskii, 29
moritai, 3
Morphology, 36
Mucoraceae, 33
Mucorales, 33
multicellular, 23
mutualism, 12, 24, 26
mycelium pellet, 10, 87
Myceteae, 21
mycopesticide, 48
Mycorrhiza, 24, 27
Myriophagus, 32
Myxomycota, 22, 23

N

nematode, 9, 11, 15, 188

Neozygitaceae, 33

Neozygites, 33, 59, 77, 114, 165

Nomuraea, 34

Nomuraea atypicola, 30

Nomuraea sp., 38

non target, 48, 163

Non-septate hypha, 17

Nosema bombycis, 14

NPV, 5

Nuclear Polyhedrosis Virus, 5

nucleocapsid, 4

O

obligate parasite, 4, 7,20

oidia, 19

oomycetes, 20,32

Oomycota, 21, 22, 23, 32, 35

Ophiocordyceps blattae, 31, 36

Ophiocordyceps brunneipunctata, 30

Ophiocordyceps dipterigena, 31

Ophiocordyceps humbertii, 30

Ophiocordyceps myrmecophila, 31

Ophiocordyceps nutans, 31

Ophiocordyceps sphecocephala, 31

Ophiocordyceps unilateralis, 30

Ophiocordycipitaceae, 35

Orthomyces, 33

ovipositor, 14

P

Paecilomyces, 34

Paecilomyces cinnamomeus, 29, 39

Pandora, 33

parasite, 20, 24, 26

parasitism, 12, 13

pathogen, 27, 48, 125, 156, 160, 167

penetration peg, 54, 55

Phragmobasidiomycetes, 33

Phycomycetes, 22

Plectomycetes, 33

Polyhedra, 4

popilliae, 3

Protista, 22, 23

Protists, 22

Protocooperation, 27

pseudoplasmodium, 23

R

rod-shaped, 4

S

sabouraud yeast agar, 48

Samsinakova, 86

Saprolegniales, 32

saprophyte, 20, 24

semi- parasite, 7

septa, 24
Septate hypha, 17
Septobasidiales, 33
Septobasidium, 33, 36
sexual state, 28
slime mold, 23
snow ball, 45
Sordariomycetes, 33
sphaericus, 3
Spodoptera exigue, 4
Spodoptera litura, 4, 63, 73, 78, 112, 113, 127, 161, 166
sporangiospore, 19
Sporodiniella, 33
sporulation, 19, 70, 73, 112, 113
Steinemema carpocapse, 15
Steinernema siamkayai, 15
Steinernematidae, 9
Steinernematode, 10
sterigma, 19
Stramenopila, 22, 23
Strongwellsea, 33
surfactants, 90, 92, 100
Suspension concentrate, 76, 89, 99
symbiosis, 26

T

Tarichium, 33
teleomorphs, 4, 28, 30
Thaxterosporium, 33
thermophilic fungi, 18
Thrips tabaci, 4, 6, 59, 60, 61, 63, 74, 114, 119, 157, 160, 164, 210
thuringiensis, 2
thuringiensis var. aizawai, 2
thuringiensis var. israelensis, 3
thuringiensis var. kurstaki, 2
thuringiensis var. tenebrionis, 2
Torrubiella arachnophila, 30
Torrubiella dimorpha, 30
Torrubiella hemipterigena, 31
Torrubiella pruinosa, 30
Torrubiella sp., 29, 38
Trialeurodes vaporariorum, 65, 69, 71, 73, 75, 133
Tribolium confusum, 142
Trichomycetes, 33
Trithrophic, 59
True fungi, 22

U

Ultraviolet protectant, 93
Uredinella, 33

V

vegetative mycelium, 18

Verticillium hemipterigenum, 31

Virus, 4

W

wettable powder, 91, 93, 95, 115

Wettable powder, 76, 89, 95

white muscadine, 27

Z

Zoophthora, 33, 157

zoospore, 23, 24

zygomycetes, 20

Zygomycetes, 32

Zygomycota, 21, 22, 24, 32, 114, 165

Zygomycotina, 22

zygospore, 20

ดัชนี

ก

กระเพาะอาหารแมลง, 1
กระเพาะอาหารส่วนกลาง, 5
กรัมวัสดุเลี้ยงเชื้อ, 81
กรานูโรซีสไวรัส, 5
กลไกการเข้าทำลาย, 3, 5, 7, 10, 69
กลไกการเข้าทำลายแมลง, 8
กลไกการออกฤทธิ์ของเชื้อรา, 52
กะหล่ำ, 6, 11, 103, 104, 127, 128, 130, 132, 152, 186, 206, 207, 229
กากน้ำตาล, 86, 91, 95, 99, 169, 227, 228
ก้านชูสปอร์, 7, 45, 57
การควบคุมโดยชีววิธี, 192
การควบคุมศัตรูพืชแบบบูรณาการ, 192
การควบคุมศัตรูพืชแบบผสมผสาน, 192
การคัดเลือกสายพันธุ์, 78
การคำนวณความเข้มข้น, 102
การใช้เชื้อราร่วมกับสารเคมี, 202
การเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อรา, 213
การผลิตโคนิเดีย, 212
การผลิตบลาสโตสปอร์, 227
การเพิ่มปริมาณเชื้อรา, 78
การสร้างสปอร์, 19
การสืบพันธุแบบไม่อาศัยเพศ, 19
การสืบพันธุ์ของเชื้อรา, 19
การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ, 7
การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ, 20

ค

ความเข้มข้นของสปอร์, 81
ความคงทน, 117, 120
ความคงทนของเชื้อรา, 149
ความมีชีวิต, 90, 102
คาร์บอน, 18, 47, 78, 84, 86, 227
โคนิเดีย, 7, 45, 48, 57, 59, 79, 99
โคโลนี, 20, 36, 37, 39, 44, 103
ไคติน, 17

ง

บลาสโตสปอร์, 57

จ

จิ้งหรีดใหญ่, 65, 66, 193
จุลินทรีย์, 1, 4, 7, 14, 15, 17, 20, 27, 89, 120, 150

ฉ

เฉพาะเจาะจง, 4, 14, 27, 59

ช

ช่องว่างของลำตัวแมลง, 1
ชีวภัณฑ์เชื้อรา, 44
เชื้อจุลินทรีย์, 1, 2, 7, 15, 52
เชื้อแบคทีเรีย, 1, 2
เชื้อรา, 1, 7, 17
เชื้อราก่อโรค, 27
เชื้อราก่อโรคแมลง, 7
เชื้อรากำจัดควบคุมแมลงทางการเพทย์และสาธารณสุข, 168
เชื้อรากำจัดแมลง, 7, 27, 28, 32, 39, 69, 91, 95, 102, 174
เชื้อรากำจัดแมลงควบคุมหอย, 182
เชื้อราแมลง, 17
เชื้อราสาเหตุโรคแมลง, 7, 27, 28
เชื้อไวรัส, 4
เชื้อสาเหตุโรคแมลง, 1

ด

ด้วง, 1
ด้วงกุหลาบ, 140
ด้วงงวงข้าวโพด, 143
ด้วงเต่าแตง, 2
ด้วงหนวดยาว, 124
ด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย, 65
ด้วงหมัดผัก, 2, 127, 131, 193
ดินเบา, 97, 98

ต

ตั๊กแตน, 1

ถ

ถั่วเหลือง, 123

ท

ทัลคัม, 5, 98, 97, 99, 143
เทคนิคการใช้เชื้อรากำจัดแมลง, 145
เทคนิคการใช้เชื้อรากำจัดแมลงศัตรูพืชให้ได้ผล, 116
เทคโนโลยีการผลิตเชื้อรากำจัดแมลงแบบง่าย, 212

น

น้ำมันหอมระเหย, 201
นิวเคลียร์โพลี่ฮีโดรซีส ไวรัส, 5
ไนโตรเจน, 18, 47, 78, 84, 86, 227

บ

บลาสโตสปอร์, 78, 86, 95, 99
บาคูโลไวรัส, 4
บาซิลัส, 2
บาซิลาซิอี้, 2

แบคทีเรีย, 1, 8, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 15, 23, 86, 168, 213, 214, 215, 217, 224, 229

ป

ประสิทธิภาพ, 63
ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ, 77
ปริมาณสารออกฤทธิ์, 101
ปลวก, 2, 125
ปากกัดกิน, 1
ป่าไม้, 144
โปรโตซัว, 1, 12, 13
โปรทอกซิน, 3

ผ

ผงละลายน้ำ, 90, 91
ผงสำหรับคลุกเมล็ด, 97
ผนังลำตัว, 1, 7, 52, 59
ผนังลำตัวแมลง, 52, 65, 67
ผลิตภัณฑ์ของแป้ง, 47
ผลิตภัณฑ์แป้ง, 84
ผลึกโปรตีน, 4, 5

พ

พึ่งพาอาศัยกัน, 12
เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล, 1, 122, 123
เพลี้ยจักจั่น, 124
เพลี้ยจักจั่นสีเขียว, 122
เพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาล, 123
เพลี้ยแป้ง, 125
เพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง, 126
เพลี้ยไฟ, 1, 56, 59, 64, 68, 77, 133, 134
เพลี้ยหอย, 140
เพลี้ยอ่อน, 1, 62
เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ, 127
โพลีแซคคาไรด์, 17

ฟ

ไฟลัม, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 35

ม

มวนผักกาด, 131
มอดกาแฟ, 193
มอดเจาะผลกาแฟ, 2
มะเขือเทศ, 133
มันสำปะหลัง, 123
เมล็ดธัญพืช, 47, 84, 139
แมลงที่ดูดกินน้ำเลี้ยง, 1
แมลงวันเจาะลำต้นถั่ว, 193
แมลงวันทอง, 137
แมลงวันบ้าน, 168
แมลงวันผลไม้, 2, 137, 193
แมลงวันพริก, 2, 193
แมลงวันหัวเขียว, 168
แมลงศัตรูในโรงเก็บ, 142
แมลงสิง, 122

แมลงหวี่ขาว, 133, 134
ไมซีเลียม, 18
ไม่อาศัยเพศ, 47

ย

ยีสต์สกัด, 99

ร

ระดับเศรษฐกิจ, 141
ระยะการเจริญเติบโตของแมลง, 116
ระยะตัวเต็มวัยที่ดูดเลือดจนเป่ง, 176
ระยะตัวหนอน, 1
ราชั้นต่ำ, 22
ราเมือก, 23
ริคเคทเซีย, 1
รูปแบบน้ำมันเข้มข้น, 99
รูปแบบผงละลายน้ำ, 95
รูปแบบเม็ด, 94
ไรขาว, 134
ไรแดง, 141, 193
ไรสองจุด, 134

ล

ลักษณะการตายของแมลง, 4, 7, 10
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา, 43
ลักษณะสัณฐานวิทยา, 46
เลือดของแมลง, 1
ไลเคน, 25

ว

วงจรชีวิต, 147, 198
วัสดุเลี้ยงเชื้อ, 83, 84, 213
ไวริออน, 5

ส

สปอร์, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 1, 7, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 28, 35, 36, 37, 39, 45, 47, 48, 52, 53, 54, 56, 57, 59, 65, 68, 69, 76, 78, 81, 84, 86, 87, 90, 91, 94, 95, 99, 100, 101, 102, 120, 121, 123, 126, 130, 140, 145, 147, 148, 169, 174, 177, 178, 180, 181, 193, 194, 195, 196, 201, 202, 203, 204, 212, 213, 215, 217, 224, 225, 226, 227, 228
สปอร์เชื้อรา, 7
สัณฐานวิทยา, 21, 36, 116
สัณฐานวิทยาของเชื้อรา, 40
สัณฐานวิทยาของเชื้อรากำจัดแมลง, 39
สัณฐานวิทยาของพืช, 117
สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง, 13
สายพันธุ์ของเชื้อรา, 87
สารจับใบ, 92
สารชีวภัณฑ์, 76, 77
สารชีวภัณฑ์กำจัดแมลง, 77

สารเปียกใบ, 92
สารพา, 98, 143
สารพิษ, 1, 2, 3, 54, 57, 58, 147, 169, 185, 197
สารลดแรงตึงผิว, 92
สารล่อ, 197
สารล่อแมลง, 197
สารไล่, 199
สารเสริมประสิทธิภาพ, 92
สารออกฤทธิ์, 93
สิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย, 48, 142
สูตรสำเร็จ, 76, 90, 149
สูตรสำเร็จเชื้อรา, 97, 143
สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์, 89
สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรา, 88
สูสูตรสำเร็จเชื้อรากำจัด, 97
เส้นใย, 7, 17
เส้นใยที่มีผนังกั้น, 17
เส้นใยที่ไม่มีผนังกั้น, 17
เสี้ยนดิน, 2
แสงอัลตราไวโอเลต, 117
ไส้เดือนฝอย, 1, 9, 10

ห

หนอนกระทู้ผัก, 4, 5, 10, 63, 128
หนอนกระทู้หอม, 4, 5, 10
หนอนกะหล่ำ, 5
หนอนกินใต้ผิวเปลือกลำไย, 10
หนอนคืบกะหล่ำ, 5
หนอนเจาะดอกกะหล่ำ, 5
หนอนเจาะสมอฝ้าย, 63, 64, 140
หนอนชอนใบ, 133
หนอนผีเสื้อเจาะลำต้นสัก, 144
หนอนใยผัก, 5, 63, 127
หอยเชอรี่, 182, 183
หอยแว่น, 184, 185
หางไหล, 193
เห็บ, 3, 7, 11, 27, 151, 168, 172, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 185, 186, 205

อ

อนุภาคไวรัส, 4
อวัยวะวางไข่, 14
อ้อย, 11, 70, 91, 123, 124, 125, 152, 153
อาการแบบ Systemic, 14
อาหารแข็ง, 79
อาหารวุ้น, 47
อิมัลชัน, 93
เอ็น พี วี, 5
เอนไซม์, 24, 54
ไอโซเลต, 78

ฮ

ไฮฟา, 17

ประวัติผู้เขียน

ดร. มาลี ตั้งระเบียบ



การศึกษา :

ปริญญา	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
Doctor of Agricultural	เกษตรศาสตร์	Microbial control	University of Bonn	เยอรมนี
วท.ม.	เกษตรศาสตร์	กีฏวิทยา	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ไทย
วท.บ.	เกษตรศาสตร์	กีฏวิทยาและโรคพืช	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ไทย

ตำแหน่งวิชาการ : ผู้ช่วยศาสตราจารย์

ที่ทำงาน : สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร (สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง เดิม)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

หนังสือเชื้อรากำจัดแมลง : ทางเลือกใหม่ของการควบคุมแมลงศัตรูพืช เล่มนี้ มีเนื้อหาเชื้อจุลินทรีย์กำจัดแมลง รายละเอียดของเชื้อรากำจัดแมลง กลไกการเกิดโรคของแมลงจากเชื้อรา การพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์ควบคุมแมลงศัตรูพืชรูปแบบต่าง ๆ เทคนิคการใช้ให้ได้ผลในแมลงศัตรูพืชแต่ละชนิด การใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราในระบบการบูรณาการบริหารจัดการศัตรูพืช รวมถึงวิธีการผลิตเชื้อราแบบง่ายที่ยังคงประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เพื่อเป็นทางเลือกอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่อไป ผู้เขียนหวังว่าหนังสือเล่มนี้จะครอบคลุมเนื้อหาทุกด้านของเชื้อรากำจัดแมลง (entomopathogenic fungi) เพื่อให้ผู้อ่านทั่วไป นิสิต นักศึกษา นักวิจัยและนักส่งเสริมได้มีความรู้ ความเข้าใจเกี่ยวกับเชื้อรากำจัดแมลงและสามารถนำไปใช้ได้อย่างเหมาะสม เพื่อเป็นทางเลือกของการควบคุมแมลงศัตรูพืช ช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลง

Entomopathogenic Fungi as Alternatives for Insect Pest Control

เชื้อรากำจัดแมลง :
ทางเลือกใหม่ของการควบคุมแมลงศัตรูพืช
ISBN 978-616-445-908-3
9 786164 459083
750 บาท