

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
2. โครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี
กิจกรรมที่ 2 : การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช
กิจกรรมย่อยที่ 2.3 : การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืช
3. ชื่อการทดลอง : ประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงบางชนิดในการควบคุมแมลงหมีขาว (white fly)
: Efficacy test of some Entomopathogenic fungi to control white fly
4. คณะผู้ดำเนินงาน
ชื่อหัวหน้าโครงการ : สาทิพย์ มาลี : สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ชื่อหัวหน้าการทดลอง : เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ : สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ชื่อผู้ร่วมงาน : เมธาสิทธิ์ คนการ : สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงบางชนิดในการควบคุมแมลงหมีขาว (white fly) ได้ส่งเชื้อราไอโซเลท *Paecilomyces* sp., *Lecanicillium* sp. และ *Isaria* sp. ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ เพื่อไปจำแนกชนิดที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมตามมติในที่ประชุมคณะกรรมการพิจารณาทะเบียนวิจัยปี 2557 ผลการจำแนกพบว่าได้เชื้อราสาเหตุโรคแมลง 2 สายพันธุ์คือ *Paecilomyces lilacinus* และ *Isaria javanica* ส่วน *Lecanicillium* sp. ที่ส่งไปผลการตรวจสอบพบว่าเป็นชนิดเดียวกับ *Paecilomyces lilacinus* ต่อมาได้เลี้ยงขยายเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์นี้เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพกับแมลงศัตรูพืช โดยเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีอยู่แล้วในห้องปฏิบัติการคือ *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* โดยในการทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพกับแมลงหมีขาว (white fly) ในปีที่ 1 เริ่มทำการทดสอบในช่วงหน้าฝนทำให้ไม่พบการระบาดของแมลงหมีขาว การเก็บแมลงหมีขาวมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการสามารถเก็บแมลงได้ในปริมาณไม่มากและไม่สามารถเลี้ยงขยายได้เพียงพอต่อการทดสอบในปีที่ 2 ออกสำรวจและเก็บแมลงหมีขาว โดยได้แมลงหมีขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) Gennadius จากแปลงมะเขือเปราะ ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้ง พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคแมลงทั้ง 4 ชนิด สามารถทำให้แมลงหมีขาวมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อใกล้เคียงกันไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ เปอร์เซ็นต์แมลงหมีขาวที่ตายเนื่องจากการติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงส่วนใหญ่จะเริ่มพบหลังทดสอบเมื่อวันที่ 3 และ 4

Abstract

The isolation of some Entomopathogenic fungi, *Paecilomyces* sp., *Lecanicillium* sp. and *Isaria* sp. from biological control section of Plant Protection Research and Development Office (PPRDO) culture collection were sent to identify at National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC) follow the committee in 2014. The result showed only 2 species such as *Paecilomyces lilacinus* and *Isaria javanica*. However *Lecanicillium* sp. was the same species of *Paecilomyces lilacinus* and following of the efficacy test of these species to control white fly were set to compare with *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in laboratory. The objective was to study the efficacy test of some insect fungus to control white fly. In the first year, the experiment started in rainy season and no outbreak of white fly, only a few collection which were not be able to produced the mass production of white fly for bioassay test. In second year, the survey was conducted in *Bemisia tabaci* Gennadius from thai-eggplant. Three experimental were set to study efficacy test of insect fungus in laboratory to control white fly. The results revealed the pathogenicity was not significantly in different among 4 isolates of this fungus. The process of mortality observed at 3 or 4 days after treated.

6. คำนำ

ประเทศไทยส่งสินค้าทางการเกษตรจำพวกพืชผักเพื่อการส่งออกเป็นจำนวนมาก และมักจะประสบปัญหาแมลงศัตรูพืชติดไปอยู่เสมอ แมลงศัตรูพืชที่มักพบเป็นปัญหาสำคัญต่อการส่งออกคือ แมลงหวี่ขาวยาสูบ; *Bemisia tabaci* Gennadius การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชส่วนใหญ่เกษตรกรมักนิยมใช้สารฆ่าแมลง ซึ่งเห็นผลเร็วแต่ก็มีข้อเสียในด้านพิษตกค้างของสารเคมีซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้รวมทั้งผู้บริโภคด้วย

ปัจจุบันจึงมีผู้ให้ความสนใจงานด้านการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชทางชีวภาพมากขึ้น วิธีการหนึ่งที่ได้รับความสะดวกคือการนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ซึ่งนอกจากมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของตัวเกษตรกรผู้ใช้รวมทั้งผู้บริโภคแล้ว ยังไม่ทำให้เกิดพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในสภาพแวดล้อม เชื้อราจัดอยู่ในกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็ก มีผู้คาดการณ์ว่ามีเชื้อราประมาณ 1.5 ล้านชนิด (species) ซึ่งในจำนวนนี้มีเพียง 70,000 ชนิด ที่สามารถแยกแยะชนิดได้ ในทางการเกษตรเชื้อราส่วนใหญ่ที่กล่าวถึงมักจะเป็นเชื้อราสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรครากับพืช แต่ในทางกลับกันยังมีเชื้อราอีกกลุ่มหนึ่งที่เป็นสาเหตุการเกิดโรคในแมลง ซึ่งถือเป็นเชื้อราที่มีประโยชน์ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร เชื้อราสาเหตุโรคแมลงต่างๆ เหล่านี้ ได้แก่ *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin, *Beauveria bassiana* (Balsamo), *Hirsutella thompsonii* (Fisher), *Paecilomyces* sp., *Lecanicillium*

lecanii (Zimmerman) Zare & Gams, *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, *Isaria* sp., *Aschersonia aleyrodidis* Webber ฯลฯ เชื้อราเหล่านี้ถือเป็นเชื้อราที่มีประโยชน์ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร เชื้อราบางชนิดมีการศึกษาและผลิตใช้ในเชิงการค้า ได้แก่ *Metarhizium*, *Beauveria*, *Nomuraea*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, เป็นต้น โดยประเทศที่มีการใช้เชื้อราต่าง ๆ เหล่านี้ ได้แก่ อเมริกา, เม็กซิโก, ออสเตรเลีย, โคลัมเบีย เป็นต้น (Wraight et al., 2001)

ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลงมีเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เก็บรักษาไว้ ได้แก่ *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *Paecilomyces* sp., *Lecanicillium* sp. และ *Isaria* sp. ในจำนวนนี้มีเพียงเชื้อ *M. anisopliae* และ *B. bassiana* เท่านั้นที่เคยถูกนำมาใช้ในงานวิจัย ส่วนเชื้อรา *Paecilomyces* sp., *Lecanicillium* sp. และ *Isaria* sp. เป็นเชื้อที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ที่ จ.สุพรรณบุรี ในปี พ.ศ. 2554 และยังไม่เคยใช้ทดสอบประสิทธิภาพกับแมลงศัตรูพืชชนิดใดมาก่อน ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจึงส่งเชื้อราดังกล่าวไปจำแนกสายพันธุ์ให้ชัดเจนที่ศูนย์พันธุ์วิศวกรรมตามมติในที่ประชุมคณะกรรมการพิจารณาทะเบียนวิจัยปี 2557 ผลการจำแนกพบว่าได้เชื้อราสาเหตุโรคแมลง 2 สายพันธุ์คือ *Paecilomyces lilacinus* และ *Isaria javanica* ส่วน *Lecanicillium* sp. ที่ส่งไปผลการตรวจสอบพบว่าเป็นชนิดเดียวกับ *Paecilomyces lilacinus* ดังนั้นงานวิจัยในปีงบประมาณ 2557 – 2558 จะได้ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ในห้องปฏิบัติการได้แก่ *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *Paecilomyces lilacinus* และ *Isaria javanica* ในการควบคุมแมลงหวี่ขาว (white fly) ซึ่งจะทำให้ทราบประสิทธิภาพของเชื้อราแต่ละชนิด และในอนาคตจะได้นำมาใช้ทดสอบกับแมลงศัตรูพืชที่สำคัญตัวอื่นๆ ผลที่ได้รับจะนำมาใช้เผยแพร่ต่อเกษตรกรผู้ปลูกผักอินทรีย์ต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

1. เชื้อราสาเหตุโรคแมลงต่างๆ ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ *Metarhizium anisopliae* (isolate M3), *Beauveria bassiana* (สายพันธุ์ชุมพร), *Paecilomyces lilacinus* และ *Isaria javanica*
2. แมลงหวี่ขาว (white fly)
3. ข้าวโพดบดหยาบ
4. Potato Dextrose Agar (PDA)
5. Potato Dextrose Broth (PDB)
6. เครื่องนับสเปอร์ (Hemocytometer)
7. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)
8. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
9. ตู้แช่เยือกแข็ง
10. กล้องจุลทรรศน์

11. ปีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.
12. กระบอกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.
13. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.
14. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
15. กล้องเลี้ยงแมลง
16. กรงเลี้ยงแมลง หรือ มุ้งตาข่าย
17. กระจกปลูกต้นไม้
18. เมล็ดพันธุ์มะเขือ, ต้นฝรั่ง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. การเตรียมเชื้อเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคแมลงต่างๆ ที่ได้ผ่านการจำแนกชนิดเชื้อแล้ว จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin, *Beauveria bassiana* (Balsamo), *Paecilomyces lilacinus* และ *Isaria javanica* บนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปลดทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 °C) เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำถุงเชื้อราสาเหตุโรคแมลงชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงได้มาเติมน้ำผสม tween 80 (0.5%) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด แล้วปรับกำลังโคนิเดีย ให้เท่ากันทุกกรรมวิธีที่ 1×10^8 โคนิเดีย/มล.

2. วิธีการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

แบบและวิธีการทดลอง: วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

ใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในห้องปฏิบัติการ โดยปรับความเข้มข้นให้เท่ากันที่ 1×10^8 โคนิเดีย/มล. ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 *Beauveria bassiana*
- กรรมวิธีที่ 2 *Isaria javanica*
- กรรมวิธีที่ 3 *Metarhizium anisopliae*
- กรรมวิธีที่ 4 *Paecilomyces lilacinus*
- กรรมวิธีที่ 5 น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

วิธีการ

1. เตรียมจานเลี้ยงเชื้อ จำนวน 25 จานเลี้ยงเชื้อ (5 ซ้ำ 5 กรรมวิธี) ใส่กระดาษกรอง จำนวน 1 แผ่น/จานเลี้ยงเชื้อ หยคน้ำลงบนกระดาษกรองเพื่อให้ความชื้น
2. นำสำลีจุ่มน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อพันที่ปลายก้านใบมะเขือ วางลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้
3. นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เตรียมไว้ในแต่ละกรรมวิธีพ่นลงบนใบมะเขือ
4. ปลอຍแมลงหมีขาวลงในจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ในอัตรา 20 ตัว/จานเลี้ยงเชื้อ (100 ตัว/กรรมวิธี) จากนั้นปิดจานเลี้ยงเชื้อและพันทับด้วยพาราฟิน
5. สังเกตการเป็นโรคของแมลง ทำการตรวจนับจำนวนแมลงทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 1 สัปดาห์ หรือจนกว่าแมลงหมีขาวจะตายหมด โดยนำมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อสังเกตเส้นใยและโคนิเดียเชื้อที่เกิดขึ้น นอกจากนี้ให้นำเชื้อที่เกิดขึ้นบนตัวแมลงมาแยกเลี้ยงลงบนอาหารเทียมเพื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ใช้ทดลอง จัดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

การบันทึกข้อมูล

- เก็บข้อมูลโดยการตรวจนับจำนวนแมลงที่เป็นโรค
- วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เวลาและสถานที่ : เริ่มต้น ตุลาคม 2556 สิ้นสุด กันยายน 2558

ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ดำเนินการส่งตัวอย่างเชื้อราไอโซเลท *Paecilomyces* sp., *Lecanicillium* sp. และ *Isaria* sp. ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ ไปจำแนกชนิดที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมตามมติในที่ประชุมคณะกรรมการพิจารณาทะเบียนวิจัยปี 2557 ผลการวิเคราะห์ได้เชื้อราสาเหตุโรคแมลง 2 สายพันธุ์คือ *Paecilomyces lilacinus* และ *Isaria javanica* ส่วน *Lecanicillium* sp. พบว่าเป็นชนิดเดียวกับ *Paecilomyces lilacinus* จากนั้นได้ดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงสายพันธุ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ

ปีที่ 1 เริ่มทำงานทดสอบในช่วงหน้าฝน ทำให้ไม่พบการระบาดของแมลงหมีขาว การเก็บแมลงหมีขาวมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการสามารถเก็บแมลงได้ในปริมาณไม่มาก การเตรียมพีชอาศัยของ

แมลงหิวข้าว ได้แก่ ต้นมะเขือ และต้นฝรั่ง ในกรงเลี้ยงแมลง แล้วปล่อยแมลงหิวข้าวที่เก็บได้บนพืชอาหารที่เตรียม พบว่ายังไม่สามารถเลี้ยงขยายได้ จำเป็นต้องรอให้ผ่านช่วงฤดูฝน เพื่อให้เกิดการระบาดของแมลงตามธรรมชาติจึงจะสามารถเก็บมาทดสอบประสิทธิภาพเชื้อได้

ปีที่ 2 เริ่มทำงานทดสอบ โดยออกสำรวจและเก็บแมลงหิวข้าว ซึ่งในครั้งนี้ได้แมลงหิวข้าวจากแปลงมะเขือเปราะ *Bemisia tabaci* Gennadius ทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลง โดยใช้เชื้อที่มีในห้องปฏิบัติการได้แก่ *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces lilacinus* และ *Isaria javanica* โดยได้ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้ง

ผลการทดสอบครั้งที่ 1 พบว่า ในวันที่ 2 ของการทดลองเริ่มพบแมลงหิวข้าวติดเชื้อรา *B. bassiana* โดยพบที่ 6% แตกต่างจากเชื้อราชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปอร์เซ็นต์แมลงหิวข้าวที่ตายเนื่องจากการติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงส่วนใหญ่จะเริ่มพบหลังทดสอบเชื้อวันที่ 3 และ 4 ตามลำดับ โดยพบว่าแต่ละไอโซเลท สามารถทำให้แมลงหิวข้าวติดเชื้อได้ใกล้เคียงกันไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ โดยในวันที่ 4 ของการทดลองพบการติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละชนิดอยู่ระหว่าง 54 – 65% (Table 1)

ผลการทดสอบครั้งที่ 2 พบการติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงส่วนใหญ่หลังการทดสอบในวันที่ 3 และ 4 ของการทดลอง โดยในวันที่ 3 พบว่าแมลงหิวข้าวติดเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* มากที่สุด 61% แตกต่างจากเชื้อราชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเชื้อ *Beauveria bassiana*, *Isaria javanica* และ *Metarhizium anisopliae* พบการติดเชื้อราที่ 21, 31 และ 24% ตามลำดับ แต่ในวันที่ 4 ของการทดลองพบว่า แต่ละไอโซเลทสามารถทำให้แมลงหิวข้าวติดเชื้อได้ใกล้เคียงกันไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ โดยพบการติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละชนิดอยู่ระหว่าง 62 – 72% (Table 2)

ผลการทดสอบครั้งที่ 3 พบว่า แต่ละไอโซเลทสามารถทำให้แมลงหิวข้าวติดเชื้อได้ใกล้เคียงกันไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ โดยเริ่มพบการติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในวันที่ 2 ของการทดลอง พบการติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละชนิดอยู่ระหว่าง 13 – 16% เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเริ่มพบมากขึ้นหลังทดสอบเชื้อในวันที่ 3 และ 4 โดยหลังทดสอบวันที่ 3 พบการติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลง 25 – 39% และหลังทดสอบวันที่ 4 พบการติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลง 60 – 68% ตามลำดับ โดยยังคงพบในอัตราใกล้เคียงกันไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (Table 3)

จากผลการทดลองทั้ง 3 ครั้ง ให้ผลไปในทิศทางเดียวกันคือเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ใช้ทำการทดสอบได้แก่ *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces lilacinus* และ *Isaria javanica* สามารถทำให้แมลงหิวข้าว *Bemisia tabaci* Gennadius มีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อได้ใกล้เคียงกัน โดยพบว่าเชื้อรา *Isaria javanica* ทำให้เกิดการติดเชื้อสูงสุดที่ 72% แต่อย่างไรก็ดีค่าเฉลี่ยการติดเชื้อของแมลงหิวข้าว *Bemisia tabaci* Gennadius ในห้องปฏิบัติการครั้งนี้โดยเฉลี่ยไม่สูงมากนัก ซึ่งอาจเป็นเพราะแมลงหิวข้าวที่ใช้ทำการทดสอบไม่ได้เป็นแมลงศัตรูเป้าหมายของเชื้อแต่ละชนิดที่นำมาทดลอง โดย *Metarhizium anisopliae* เป็นเชื้อไอโซเลทที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติซึ่งแยกเชื้อบริสุทธิ์จากด้วงหนวดยาวอ้อย *Beauveria bassiana* เป็นเชื้อที่ได้รับความอนุเคราะห์

จากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพรซึ่งแยกเชื้อบริสุทธิ์จากมอดเจาะเมล็ดกาแฟ ส่วน *Paecilomyces lilacinus* และ *Isaria javanica* เป็นเชื้อราของห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ที่ จ.สุพรรณบุรี ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดโรคในแมลงขึ้นอยู่กับแมลงอาศัย ความเฉพาะเจาะจงในการเข้าทำลายแมลง เช่น ในระยะตัวหนอน ดักแด้ หรือตัวเต็มวัย และสภาพแวดล้อม ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ แสง และความชื้น (Boucias, D.G. and Pendland, 1998) ในการทดลองนี้ใช้แมลงหิวข้าวยาสูบ: *Bemisia tabaci* Gennadius ซึ่งไม่ได้เป็นแมลงศัตรูเป้าหมายของเชื้อแต่ละชนิดที่นำมาทดสอบ จึงอาจเป็นเหตุให้ประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงไม่สูงมากนักในห้องปฏิบัติการ

จากรายงานในปี ค.ศ. 1979 ได้เริ่มนำเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson ซึ่งเป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมและป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย สามารถเข้าทำลายระยะไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม นอกจากนี้ *P. lilacinus* ยังได้รับการพิจารณาให้ผลิตในเชิงการค้าเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในดินในเขตร้อน และเขตกึ่งร้อน ส่วนเชื้อ *P. fumosoroseus* (Wize) เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมแมลงหิวข้าว ที่เป็นสาเหตุของโรค มีการเรียกเชื้อราชนิดนี้ว่า “yellow Muscardine” มีรายงานการใช้เชื้อชนิดนี้ในการควบคุมแมลงหิวข้าว; *Bemisia tabaci* และ *Trialeurodes* spp. ทั้งในโรงเรือนทดลองและในสภาพไร่ โดยใช้ควบคุมตัวอ่อนแมลงหิวข้าว เส้นใยเชื้อชนิดนี้จะเจริญปกคลุมบนตัวแมลงหิวข้าว เชื้อจะแทงเข้าไปเข้าไปในใบพืชและจะตรึงเหยื่อไว้กับใบพืช ตัวอ่อนแมลงหิวข้าวจะถูกปกคลุมด้วยเส้นใยและโคนิเดียของเชื้อมีลักษณะฟูและเบา (Sandhu *et al.*, 2012) *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown & Smith เป็นเชื้อราที่ใช้กำจัดศัตรูพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งใช้ในการควบคุมแมลงหิวข้าวทั้งในสหรัฐอเมริกา ยุโรป และจีน ซึ่งสามารถใช้ได้ดีทั้งในเรือนกระจกและพื้นที่เปิดโล่ง (Huang *et al.*, 2010) นอกจากนี้ยังพบว่า *I. fumosorosea* สามารถใช้ควบคุมตัวอ่อนแมลงหิวข้าว; *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) ระยะที่ 4 ได้ผลดี (D’Alessandro *et al.*, 2011) ส่วน *Isaria tenuipes* Peck พบเป็น parasite ในระยะดักแด้และตัวหนอนของหนอนผีเสื้อหลายชนิด ส่วนใหญ่มักพบในป่า โดยจะเห็นเป็นเส้นใย synnemata สีเหลืองเจริญงอกออกมาจากตัวแมลง ซึ่งเป็นระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Vega-Aquino *et al.*, 2010)

จากข้อมูลที่รายงานดังกล่าว จะเห็นได้ว่าเชื้อราสาเหตุโรคแมลงมีความเฉพาะเจาะจงต่อแมลงศัตรูเป้าหมาย ดังนั้นการนำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไปใช้ให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด ควรมีการทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นกับแมลงศัตรูพืชหลายๆ กลุ่ม/ชนิด เพื่อเป็นข้อมูลในการคัดเลือกเชื้อราไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อไป

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การส่งตัวอย่างเชื้อราไปจำแนกชนิดที่ศูนย์พันธุวิศวกรรม ได้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงเพิ่ม 2 สายพันธุ์คือ *Paecilomyces lilacinus* และ *Isaria javanica* ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลงทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *P. lilacinus* และ *I. javanica* กับแมลงหิวข้าวยาสูบ:

Bemisia tabaci Gennadius พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคแมลงทั้ง 4 ชนิด สามารถทำให้แมลงหวีขาวมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อใกล้เคียงกันไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ เปอร์เซ็นต์แมลงหวีขาวที่ตายเนื่องจากการติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงส่วนใหญ่จะเริ่มพบหลังทดสอบเชื้อวันที่ 3 และ 4

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

10.1 เพื่อพัฒนาต่อ

11. คำขอขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวประภาพร ฉันทานุมัติ นักวิชาการเกษตรชำนาญการ ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราบิวเวอเรีย ซึ่งทำการแยกเชื้อจากมอดเจาะเมล็ดกาแฟพันธุ์อาราบิก้า ต.เทพเสด็จ อ. ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราเมตาไรเซียม (isolate M3) ซึ่งแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จากด้วงหนวดยาวอ้อย

12. เอกสารอ้างอิง

- Boucias, D.G. and J.C. Pendland. 1998. Principles of Insect Pathology. Kluwer Academic Publishers. 537 p.
- D'Alessandro, C. P., S. Padin, M.I. Urrutia and C.C. Lopez Lastra. 2011. Interaction of fungicides with the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea*. *Biocontrol Science and Technology*. Vol.21, Nos. 1-2, January-February. pp. 189 – 197.
- Huang, Z., F. Sahar, S. Ren and S. Ali. 2010. Effect of *Isaria fumosoroseus* on *Eretmocerus* sp. nr. *Furuhashii* (Hymenoptera: Aphelinidae), a Parasitoid of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pakistan J. Zool.*, vol. 42(2), pp. 121 – 127.
- Sandhu, S.S., A.K. Sharma, V. Beniwal, G. Goel, P. Batra, A. Kumar, S. Jaglan, A.K. Sharma and S. Malhotra. 2012. Myco-Biocontrol of Insect Pests: Factors Involved, Mechanism, and Regulation. Hindawi Publishing Corporation. *Journal of Pathogens*. Vol. 2012, Article ID 126819, 10 pp.
- Vega-Aquino, P., S. Sanchez-Pena and C.A.Blanco. 2010. Activity of oil-formulated conidia of the fungal entomopathogens *Nomuraea rileyi* and *Isaria tenuipes* against lepidopterous larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 103: 145 – 149.

Wraight, S.P., M.A. Jackson and S.L. de Kock. 2001. Production, stabilization and formation of fungal biocontrol agents. Pages 253-287. In: T.M. Butt, C. Jackson and N. Magan (eds.). Fungi an biocontrol agents progress, problems and potential. CABI publishing. 390 pp.

Table 1 The average percent mortality of *Bemisia tabaci* Gennadius at the first experiment treated with 4 different of fungus isolates incubated at ambient temperature and observed for 4 days.

Insect fungi	percent mortality of <i>B. tabaci</i> ^{1/} after treated			
	day 1	day 2	day 3	day 4
<i>Beauveria bassiana</i>	0.00 a ^{2/}	6.00 a	36.00 a	55.00 a
<i>Isaria javanica</i>	0.00 a	0.00 b	27.00 a	54.00 a
<i>Metarhizium anisopliae</i>	0.00 a	0.00 b	31.00 a	60.00 a
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	0.00 a	0.00 b	25.00 a	65.00 a
Control (distilled water)	0.00 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b
CV (%)	223.6	305.8	62.5	26.9

^{1/} Average of 5 replications, 20 adults/ replication

^{2/} In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 2 The average percent mortality of *Bemisia tabaci* Gennadius at the second experiment treated with 4 different of fungus isolates incubated at ambient temperature and observed for 4 days.

Insect fungi	percent mortality of <i>B. tabaci</i> ^{1/} after treated			
	day 1	day 2	day 3	day 4
<i>Beauveria bassiana</i>	0.00 a ^{2/}	0.00 a ^{2/}	21.00 b	63.00 a
<i>Isaria javanica</i>	0.00 a	0.00 a	31.00 b	72.00 a
<i>Metarhizium anisopliae</i>	0.00 a	0.00 a	24.00 b	62.00 a
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	0.00 a	0.00 a	61.00 a	69.00 a
Control (distilled water)	0.00 a	0.00 a	0.00 c	0.00 b
CV (%)	223.6	223.6	34.4	26.4

^{1/} Average of 5 replications, 20 adults/ replication

^{2/} In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 3 The average percent mortality of *Bemisia tabaci* Gennadius at the third experiment treated with 4 different of fungus isolates incubated at ambient temperature and observed for 4 days.

Insect fungi	percent mortality of <i>B. tabaci</i> ^{1/} after treated			
	day 1	day 2	day 3	day 4
<i>Beauveria bassiana</i>	0.00 a ^{2/}	14.00 a	39.00 a	67.00 a
<i>Isaria javanica</i>	0.00 a	13.00 a	29.00 a	64.00 a
<i>Metarhizium anisopliae</i>	0.00 a	16.00 a	25.00 a	60.00 a
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	0.00 a	16.00 a	34.00 a	68.00 a
Control (distilled water)	0.00 a	0.00 a	0.00 b	0.00 b
CV (%)	223.6	137.2	47.5	20.6

^{1/} Average of 5 replications, 20 adults/ replication

^{2/} In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.