รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย: วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ประโยชน์ของชีวินทรีย์สู่เชิงพาณิชย์

2. โครงการวิจัย: สำรวจและศึกษาศักยภาพชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตร

3. **ชื่อการทดลอง(ภาษาไทย):** ศักยภาพของเชื้อราโรคแมลง (entomopathogenic fungi) ในการควบคุมแมลงวันผลไม้ (*Bactrocera dorsalis*)

ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ): Potential of Entomopathogenic fungi to control fruit fly (*Bactrocera dorsalis*)

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง : เมธาสิทธิ์ คนการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผู้ร่วมงาน **:** 1. ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5.บทคัดย่อ

ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราแมลงจำนวน 9 กลุ่มเพื่อควบคุมแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ในตัวเต็มวัย พบว่าแมลงวันผลไม้ติดเชื้อตาย 100 % ในวันที่ 6 หลังจากการปลูกเชื้อราโรคแมลง เชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ DOA-B4 มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 96.60 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือเชื้อรา *M.anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M22 เท่ากับ 77.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในดักแด้ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA- M42 ดีที่สุดคือ 42.40 เปอร์เซ็นต์ และ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M25 และ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M42 เท่ากับ 40.60 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบความรุนแรงของเชื้อราโรคแมลงในระดับความเข้มข้นของโคนิเดียต่างกันวางแผนการทดลองแบบ CRD พบว่า ในระยะดักแด้แมลงวันผลไม้เชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M42 มีความรุนแรงมากที่สุด โดยเริ่มตายที่ความเข้มข้น $1x10^3$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตายมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ และเฉลี่ยรวมที่ความเข้มข้น $1X10^9$ สูงถึง 65 เปอร์เซ็นต์ และ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M25 ที่ 55 เปอร์เซ็นต์ และในตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ พบว่า *B. bassianna* สายพันธุ์ DOA-B4 สามารถเข้าทำลาย 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น $1x10^3$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร และเฉลี่ยรวมที่ความเข้มข้น

$1X10^8$ และ$1X10^9$ สูงถึง 74.75 และ 40.66 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA M-22 ที่ความเข้มข้น $1X10^8$ และ$1X10^9$ เท่ากับ 80.73 และ 55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นเชื้อราโรคแมลงที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ฉีดพ่นแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยในสภาพแปลงปลูกคือ *B. bassianna* สายพันธุ์ DOA-B4 หรือ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M22 และ ฉีดพ่นดักแด้ในดิน คือ *M.anisopliae* สายพันธุ์ DOA M-42 และ *M.anisopliae* สายพันธุ์ DOA M-25

Abstract

The efficacy of entomopathogenic fungi in 9 groups to control fruit fly were investigated in laboratory condition by using a completely randomized design within conidia concentration 1×10^8 conidia/ml. The results revealed the completed infection process in adult fruit fly were found 100 % of insect mortality in 6 days after inoculation. *B.bassiana* strain DOA-B4 was average in the highly mortality rate 96.60 % following *M.anisopliae* strain DOA-M22 77.20 % of insect mortality respectively. In fruit fly pupae, *M. anisopliae* strain DOA- M42 was 42.40 % following *M. anisopliae* DOA-M25 and *M. anisopliae* strain DOA-M22 about 40.60 %. The evaluate of the virulence in entomopathogenic fungi were conducted in a completely randomized design showed in pupa stage, *M. anisopliae* strain DOA-M42 was highly virulence more than 90 % of insect mortality at $1x10^3$ conidia/ml and the average of the concentration $1X10^9$ was 65 % of insect mortality and *M. anisopliae* strain DOA-M25 at 55 % of insect mortality . In adult fruit fly, *B.bassiana* strain DOA-B4 was highly virulence to infected insects 100% of insect mortality which initialed at 1×10^3 conidia/ml and the average of the concentration at $1X10^8$ and $1X10^9$ about 74.75 and 40.66 % of insect mortality including *M. anisopliae* strain DOA M-22 at the conidia concentration at $1X10^8$ และ$1X10^9$ about 80.73 and 55 % of insect mortality

Therefore, the entomopathogenic fungi *B.bassiana* strain DOA-B4 or *M.anisopliae* strain DOA-M22 will be applied in the field especially for control adult fruit fly on the tree and *M.anisopliae* strain DOA M-25 and *M.anisopliae* strain DOA M-42 was effective to be applied in soil to control pupae stage.

6. คำนำ

การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้นั้นมีหลากหลายวิธี การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมกันมากแต่เนื่องจากมีพิษตกต้าง ไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคที่สำคัญทำให้แมลงดังกล่าวดื้อยาและยังมีอันตรายต่อแมลงที่เป็นประโยนช์อีกด้วย ดังนั้นในปัจจุบันจึงทำให้เกษตรกรมีความสนใจงานทางด้านการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชทางชีวภาพมากขึ้น

แมลงวันผลไม้ (Diptera : Tephrilidae) มีมากกว่า 4,000 species และได้มีรายงานการค้นพบในประเทศไทยได้แก่ *Bactrocera dorsalis* (Hendel), *B. carambolae* (Drew and Hancock), *B. papayae* (Drew and Hancock) และ *B. pyrifoliae* (Drew, 2001) เป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางด้านการเกษตรสามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด ทำให้ผลผลิตไม่เป็นที่ต้องการของตลาด และคุณภาพของผลผลิตไม่ได้ตามที่ผู้บริโภคต้องการและที่สำคัญยังเป็นเครื่องหมายกีดกันทางการค้าซึ่งเป็นปัญหาสำคัญทางด้านกักกันพืชอีกด้วยแมลงวันทองหรือแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) เป็นแมลงศัตรูพืชสำคัญในระบบการผลิตผลไม้สู่ตลาดส่งออกของประเทศไทย นอกจากจะทำให้ผลผลิตไม่มีคุณภาพแล้ว ยังทำให้เกิดปัญหาเรื่องมาตรการกีดกันทางการค้า เนื่องจากประเทศผู้สั่งซื้อผลไม้ได้นำเอาปัญหาการระบาดมาเป็นเหตุผลทางด้านการกักกันพืชในประเทศนั้นๆ ที่ผ่านมาการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้มีหลากหลายวิธีเช่นในมะม่วงการทำความสะอาดแปลง การตัดแต่งกิ่ง การใช้กับดักเมทธิลยูจีนอล การพ่นไฮโดรไลซีสโปรตีน การห่อผลและการคัดแยกในระบบปิด ตามคำแนะนำของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เป็นวิธีที่ค่อนข้างได้ผลแต่บางวิธีการยุ่งยากต่อการปฏิบัติงาน (สายชล และคณะ2557) ดังนั้นการใช้เชื้อราโรคแมลง (entomopathogenic fungi หรือ EPF) เช่น Beauveria, Metarhizium, Tolypocladium, Hirsutella และ Verticillium ที่พบในธรรมชาติในแปลงเกษตร เข้ามาเสริมประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันผลไม้จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้ในการควบคุมประชากรแมลงวันผลไม้ให้อยู่ในระดับที่ต่ำกว่าระดับความเสียหายทางเศรษฐกิจ และที่สำคัญเชื้อราโรคแมลงยังสามารถใช้ร่วมกับวิธีเขตกรรมอื่นๆได้อย่างมีประสิทธิภาพในสภาพสวนผลไม้ของเกษตรกร ให้เป็นไปตามนโยบายการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับพืชอาหาร (Good Agriculture Practice : GAP) ของกรมวิชาการเกษตร

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ราสาเหตุโรคแมลงต่างๆ ทีแยกได้จากแปลงปลูกเกษตรกร

2. ข้าวโพดบดหยาบ

3. Potato Dextrose Agar (PDA)

4. Potato Dextrose Broth (PDB)

5. เครื่องนับสปอร์ (Hemacytometer)

6. MEA (Malt extract agar)

7. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)

8. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)

9. ตู้เขี่ยเชื้อ

10. กล้องจุลทรรศน์

11. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.

12. กระบอกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.

13. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.

14. ที่ดูดสปอร์ (Micropipette)

15. กล่องเลี้ยงแมลง

16. กรงเลี้ยงแมลง หรือ มุ้งตาข่าย

วิธีการ

การทดลองที่ 1.1. การเก็บตัวอย่างและแยกเชื้อราโรคแมลง

1.1.1.เก็บตัวอย่างแมลงที่เป็นโรคจากปลูกผลไม้ของเกษตรกรในเขตจังหวัดภาคเหนือ (จังหวัดเชียงรายเชียงใหม่ ลำปาง และอุตรดิตถ์) ภาคอีสาน (เลย หนองคาย และ อุบลราชธานี) ภาคกลาง (เพชรบูรณ์ กำเพชร นครปฐม) ภาคตะวันตก (ราชบุรี เพชรบุรี และกาญจนบุรี) ภาคตะวันออก (ตราด ระยอง และจันทร์บุรี) และภาคใต้ (นครศรีธรรมราช สงขลา และชุมพร) และ นำตัวอย่างแมลงที่ติดเชื้อโรคจากสภาพธรรมชาติ มาแยกเชื้อราดังกล่าวในอาหารเลี้ยงเชื้อรา MEA (malt extract agar) ผสมสารปฏิชีวนะเพื่อป้องกันการปนเปื้อนแบคทีเรีย จากนั้นแยกเชื้อราจากตัวอย่างแมลง บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องในสภาพปลอดแสงประมาณ 2-3 วัน หลังจากนั้นแยกเชื้อราบริสุทธิ์ โดยวิธี hypal trip isolation ลงในอาหาร MEA และตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดอื่นๆอย่างละเอียด ก่อนเก็บเชื้อราไว้เป็น stock culture และเพื่อจัดจำแนกทางด้านสัณฐานวิทยา

1.1.2. เก็บตัวอย่างดินที่ได้จากแหล่งปลูกผลไม้ของเกษตรโดยวิธีการสุ่มเก็บ แปลงล่ะ 30 จุด จุดล่ะ 300 กรัมเก็บในถุงพลาสติก จากนั้นนำดินจากแปลงปลูกบรรจุลงในกล่องพลาสติก เพื่อแยกเชื้อราโรคแมลงจากดินโดยวิธี bait method (Zimmerman, 1998) คือ การนำเอาตัวหนอนหรือตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ที่ผ่านการฆ่าเชื้อบริเวณลำตัวภายนอก จำนวน 10 ตัว วางบนตัวอย่างดิน ตัวอย่างดิน 5 ซ้ำ ให้ความชื้นในปริมาณที่พอเหมาะ เก็บกล่องไว้ในห้องปลอดแสง ที่อุณหภูมิประมาณ 21-22 องศาเซลเซียส จากนั้นเขย่ากล่องดังกล่าวทุกวันในสัปดาห์แรก และตรวจสอบการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จากนั้นแยกเชื้อราโรคแมลงให้บริสุทธิ์แล้วเก็บเชื้อราไว้เป็น stock culture เพื่อจัดจำแนกเชื้อรา (identification) ทางด้านสัณฐานวิทยา

การทดลองที่ 1.2 การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงสายพันธุ์ในประเทศไทยที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลงวันผลไม้

1.2.1. การเตรียมเชื้อรา

นำเชื้อราที่ได้จากจัดจำแนกเบื้องต้นโดยวิธีสัณฐานวิทยา จากนั้นเพิ่มปริมาณเชื้อดังกล่าวจาก stock culture โดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร MEA ประมาณ 10-15 วัน จากนั้นล้างโคนิเดียของเชื้อราด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อผสม 0.05 Tween 80 กรองด้วยผ้าขาวบาง ปรับความความเข้มข้นและตรวจนับโคนิเดียต่อปริมาตรด้วย Hemocytometer เพื่อคำนวนหาความเข้มข้นของโคนิเดียแขวนลอยและปรับความเข้มข้นโคนิเดียก่อนนำไปทดสอบต่อไป

1.2.2 การทดสอบศักยภาพในการทำเกิดโรค และหาความรุนแรงของเชื้อรา

นำเชื้อราโรคแมลงที่แยกได้แต่ละชนิดมาเลี้ยงตามกรรมวิธีในข้อ 1.2.2. โดยปรับความเข้มข้นโคนิเดียของแต่ละไอโซเลทให้มีกำลังเท่ากับ $1x10^8$ cfu/ml และ พ่น spore suspension ของเชื้อราโรคแมลงลงบนแมลงวันผลไม้ในข้อ 1.2.1 ในกล่องพลาสติก 7 x 10 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบ CRD มี จำนวน 10 กรรมวิธี (9 ไอโซเลต) โดยมีจำนวน 4 ซ้ำ (แมลง 10 ตัวต่อซ้ำ)

ไอโซเลต 1. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น 1 $x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

ไอโซเลต 2. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น 1 $x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

ไอโซเลต 3. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น 1 $x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

ไอโซเลต 4. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น 1 $x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

ไอโซเลต 5. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น 1 $x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

ไอโซเลต 6. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น 1 $x10^8$โคนิเดีย/มิลลิลิตร

ไอโซเลต 7. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น 1 $x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

ไอโซเลต 8. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น 1 $x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

ไอโซเลต 9. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น 1 $x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

Control 10. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

การบันทึกข้อมูล บันทึกการตายของแมลงดังกล่าวทุกวันเป็นเวลา 7-10 วัน นำแมลงที่ได้มาตรวจสอบภายใต้กล้องเตอริโอและทำการแยกเชื้อราจากแมลงเป็นโรคยืนยันการเกิดโรค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของแมลงวันผลไม้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ และเก็บเชื้อราโรคแมลงเป็น stock culture เพื่อที่จะนำไปขยายผลต่อไป

1.2.4.นำดักแด้แมลงวันผลไม้มาทดสอบการเกิดโรคและหาความรุนแรงของเชื้อราโรคแมลงที่ผ่านการทดสอบศักยภาพการเกิดโรคในแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการแล้ว พ่นโคนิเดียความเข้มข้นที่แตกต่างกันลงดินที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อซึ่งโรยอยู่บนดักแด้ประมาณ 20 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบ CRD มีจำนวน 5 ซ้ำ จำนวน 6 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น$1x10^3$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 2. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น$1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น$1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น$1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 5. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น$1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 6. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื่อ

การบันทึกข้อมูล บันทึกการตายของแมลงดังกล่าวทุกวันเป็นเวลา 7-10 วัน นำแมลงที่ได้มาตรวจสอบภายใต้กล้องเอตริโอและทำการแยกเชื้อราจากแมลงเป็นโรคยืนยันการเกิดโรค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของแมลงวันผลไม้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ และเก็บเชื้อราโรคแมลงเป็น stock culture เพื่อที่จะนำไปขยายผลต่อไป

1.2.5. นำแมลงวันตัวเต็มวัยมาทดสอบการเกิดโรคและหาความรุนแรงของเชื้อราโรคแมลงที่ผ่านการทดสอบศักยภาพการเกิดโรคในแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการแล้ว โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มีจำนวน 5 ซ้ำ จำนวน 6 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่1. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น$1x10^3$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 2. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น$1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น$1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น$1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 5. พ่นโคนิเดียที่ความเข้มข้น$1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 6. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื่อ

การบันทึกข้อมูล บันทึกการตายของแมลงดังกล่าวทุกวันเป็นเวลา 7-10 วัน นำแมลงที่ได้มาตรวจสภายใต้กล้องสเตอริโอและทำการแยกเชื้อราจากแมลงเป็นโรคยืนยันการเกิดโรค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของแมลงวันผลไม้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ และเก็บเชื้อราโรคแมลงเป็น stock culture เพื่อที่จะนำไปขยายผลต่อไป

เวลาและสถานที่ : เริ่มต้น ตุลาคม 2560 ถึง มกราคม 2561 โรงเรือนทดลอง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

9. ผลการทดลองและวิจารณ์

แยกเชื้อราโรคแมลงจากแปลงปลูกผลไม้ของเกษตรโดยวิธี bait method (Fig.1) ได้เชื้อรา จำนวน 166 ไอโซเลต ซึ่งเก็บไว้ในธนาคารเชื้อราแมลงของกรมวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากนั้นเลือกตัวแทนเชื้อราดังกล่าว จัดจำแนกเบื้องต้นโดยใช้สัญฐานวิทยาและได้ 9 กลุ่ม เพื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการ ผลการคัดเลือกเชื้อราโรคแมลงที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการ จำนวน 5 ครั้ง พบว่าเชื้อราทุกไอโซเลทมีศักยภาพในการควบคุมแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยแต่มีเปอร์เซ็นต์เข้าทำลายที่ต่างกัน พบว่าเชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ DOA-B4 ในวันที่ 6 หลังจากการพ่นเชื้อรา พบการติดเชื้อราโรคแมลง 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 การทดลองมีประสิทธิภาพสูงสุดเฉลี่ย 99.60 เปอร์เซ็นต์รองลงมาคือเชื้อรา *M.anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M22 เท่ากับ 77.20 เปอร์เซ็นต์และ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA- M25 เท่ากับ 72.60 เปอร์เซ็นต์ (Table1) ตามลำดับ ไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบในเชื้อราแมลงทั้ง 3 ไอโซเลทนี้ จากตารางพบว่าในแต่ล่ะการทดลองตัวเลขจะมีความแปรปรวนเนื่องมาจากความแตกต่างของ อายุ และความแข็งแรงของแมลงวันผลไม้ที่นำมาทดสอบ โดยทั่วไปแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยจะเริ่มติดเชื้อราตายในวันที่ 3 และสามารถมองเห็นโคนิเดียบนตัวแมลงอย่างชัดเจนในวันที่ 4-5 หลังจากการปลูกเชื้อรา

ในดักแด้แมลงวันผลไม้ พบว่าอัตราเปอร์เซนต์การติดเชื้อราโรคแมลงต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวเต็มวัย โดยจะเริ่มติดเชื้อราในวันที่ 5 หลังจากการปลูกเชื้อ และสามารถมองเห็นโคนิเดียบนตัวแมลงอย่างชัดเจนในวันที่ 6-8 หลังจากการปลูกเชื้อรา (fig.3) การทดลองนี้โคนิเดียของเชื้อราโรคแมลงไม่ได้สัมผัสกับดักแด้หรือตัวแมลงที่เพิ่งฟักออกมาโดยตรง ดังนั้นความชื้นสัมพัทธ์ในกล่องควบคุมความชื้นค่อนข้างต่ำ โดยเฉพาะการทดลองที่1-3 เนื่องมาจากการใช้ทรายฆ่าเชื้อโรยบนดักแด้ทำให้เกิดการสูญเสียความชื้นได้เร็วกว่า จากนั้นใช้ดินเหนียวฆ่าเชื้อในการทดลองแทนทรายซึ่งซับน้ำได้ดีกว่าจะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราสูงขึ้นถึง 20 ± เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเชื้อราโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M42 เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเฉลี่ย 42.40 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M25 และ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M22 เฉลี่ย 40.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (table2) จากผลการทดลองสามารถได้เชื้อรามากกว่า 2 ชนิดที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลงวันผลไม้ทั้งตัวเต็มวัยและดักแด้ เพื่อจะนำไปทดสอบความรุนแรงของเชื้อราต่อไป

ในดักแด้แมลงวันผลไม้พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M42 มีความรุนแรงมากที่สุด โดยเริ่มตายที่ความเข้มข้น $1x10^3$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เฉลี่ยติดเชื้อราตายมากกว่า 82- 90 เปอร์เซ็นต์ และสูงถึง 98 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองที่ 3 เฉลี่ยรวม 65 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองครั้งที่ 2 จะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราแมลงค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับการทดลองอื่นๆ เนื่องจากได้เปลี่ยนวัสดุจากดินเหนียวมาเป็นทราย จึงทำให้ความชื้นระเหยได้ง่าย ซึ่งส่งผลต่อการติดเชื้อราในดักแด้โดยตรง และในตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ พบว่า *B. bassiana* สายพันธุ์ DOA-B4 ในการทดลองมีการติดเชื้อราแมลงสูง 100 เปอร์เซ็นต์ เริ่มที่ความเข้มข้น $1x10^3$ โคนิเดีย/มิลลิลิตรตามลำดับ เฉลี่ยที่ความแข้มข้นทั้งสอง คือ $1x10^8$ และ $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร มีการติดเชื้อราแมลง 74.75 และ 70.66 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ เชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA M-22 มากกว่า 55- 80.73 ที่ความเข้มข้น ความเข้มข้น $1x10^8$ และ $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA M-14 ที่ 49.33 เปอร์เซ็นต์ และ (table3,4) จากการทำวิจัยดังกล่าว สาเหตุสำคัญที่ทำให้ ผลการทดลองแปรปรวนในแต่ละการทดลอง เนื่องจากไม่สามารถควบคุม ปัจจัยความแข็งแรง และอายุของแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการได้

จากผลการทำงานวิจัยเบื้องต้นพบว่าเชื้อราโรคแมลงที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ฉีดพ่นแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยในสภาพแปลงปลูกคือ *B. bassiana* สายพันธุ์ DOA-B4 หรือ *M.anisopliae* สายพันธุ์ DOA M-22 และ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M25 หรือ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M42 เหมาะฉีดพ่นดักแด้ในดิน นอกจากนั้นในการทดลองของ Sookar *et al.,* (2014) พบว่าเชื้อรา *M.anisopliae* มีศักยภาพทำให้แมลงวันผลไม้ *B. zonata* และ*B. cucurbitae* เป็นหมัน (sterile insect technique) โดยทำให้จำนวนไข่ของแมลงวันผลไม้ลดลงได้อีกด้วย

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

เชื้อราโรคแมลงที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ฉีดพ่นแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยในสภาพแปลงปลูกคือ *B. bassiana* สายพันธุ์ DOA-B4 หรือ *M.anisopliae* สายพันธุ์ DOA M-22 แต่ต้องขึ้นกับลักษณะของเชื้อราดังกล่าวว่าไอโซเลทไหนจะสามารถคงอยู่ในธรรมชาติมากที่สุด ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวอยู่แค่ในห้องปฏิบัติการ และ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M22, DOA-M25, DOA-M42 สำหรับฉีดพ่นดักแด้ในดินเนื่องจากสามารถปรับสภาพได้ดี เหมาะแก่การฉีดพ่นกองเศษผลไม้ในกองปุ๋ยหมักของเกษตรกร ในการประยุกต์ใช้เชื้อราแมลงทุกครั้งควรคำนึงถึง ระยะเวลาการฉีดพ่น ช่วงเวลา และปริมาณความชื้นในอากาศเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

จากผลงานวิจัยนี้สามารถนำเอาเชื้อราแมลงไอโซเลทดังกล่าวไปประยุกต์ในการควบคุมแลงผลไม้ทั้งทั้งระยะดักแด้และตัวเต็มวัยได้

11. **คำของคุณ** : ขอขอบคุณนางสาวอุทุมพร จันสีทา ตำแหน่งนักวิชาการเกษตร และ นางสาวอาภรณ์รัตน์ ศรีสว่าง ตำแหน่งพนักงานประจำห้องทดลอง ที่ช่วยเก็บข้อมูลและทำให้งานวิจัยครั้งนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

12. เอกสารอ้างอิง

สายชล แสงแก้ว, รัชดา ปรัชเจริญวนิชย์, ชุลาวัน ศรีตะบุตร, ไชยศิลป์ ภูจำเนียร และ จำลอง กกรัมย์. 2557. การใช้เทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อควบคุมแมลงวันผลไม้มะม่วงในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา. แก่นเกษตร 42. ฉบับพิเศษ 2.

Drew, R.A.I, 2001. Fruit Flies-Lessons in Research and Politics. Professorial Lecture. Tropical Fruit Fly Research Group, Australian School of Environmental Studies. Griffith University.

Sookar P, S. Bhagwant and M.N, Allymamod. Effect of *Metarhizium anisopliae* on the fertility and fecundity of two species of fruit flies and horizontal transmission of mycotic infection. J Insect Sci. 2014;14:100.

Zimmermann, G. 1986.The Galleriabait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. J. Appl. Entomol. 102:213–215.

13. ภาคผนวก

table

Table 1. The potential of entomopathogenic fungi to control adult Fruit fly in 5 experiments during October 2560 - January 2561

Isolate	The percentage of fruit fly mortality					Average of the percentage of fruit fly mortality
	Experiment1	Experiment2	Experiment3	Experiment4	Experiment 5	
B4	100 a	98a	100a	100a	100a	99.60
M2	0e	60b	55bc	15de	63bc	38.60
M5	5e	33c	55bc	18de	90a	40.20
M13	88 ab	88a	63bc	3de	38c	56.00
M14	73cd	90a	73abc	28d-e	73ab	67.40
M17	78c	85a	85ab	23cde	80ab	70.20
M22	68c	100a	100a	30bcd	88ab	77.20
M25	55d	100a	85ab	50bc	73ab	72.60
M42	37d	78ab	40c	55b	95ab	60.00
Control	0e	0e	0e	0e	0	
CV (%)	37.70	19	35.40	56.70	32.10	

Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

(B4= *B. bassiana* M 2-M42= *M. anisopliae* strain DOA)

Table 2. The potential of entomopathogenic fungi to control fruit fly pupae during October 2560 - January 2561

Isolate	The percentage of fruit fly mortality					Average of the percentage of fruit fly mortality
	Experiment1	Experiment2	Experiment3	Experiment4	Experiment 5	
B4	15bc	31.25a	27.5a	55bc	63a	38.35
M2	0e	12.5abc	5cd	48bcd	28bcd	18.70
M5	2.5e	2.5c	5cd	23de	23cd	11.20
M13	35ba	5bc	21.25ab	30cd	43abc	26.85
M14	23.25cd	12.5abc	7.5dcd	50bc	58ab	30.25
M17	53cd	15abc	20abc	43cd	30bcd	32.20
M22	30c	23ab	23ab	83a	53abc	42.40
M25	17d	28a	15a-d	73ab	70a	40.60
M42	20d	28a	10ccd	80a	65a	40.60
Control	0e	0c	0d	0e	0e	
CV (%)	37.7	76.3	72.1	34%	46.4	

Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

(B4= *B. bassiana* , M2-M42= *M. anisopliae* strain DOA)

Table 3. The efficacy and virulence of entomopathogenic fungi to control fruit fly pupae during October 2560 - January 2561

The concentration of conidia	The percentage of fruit fly mortality			Average of the percentage of fruit fly mortality
	Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3	
M22 (1 x10^3)	65a	8 bc	62.5abc	45.16
M22(1x10^5)	55a	5bc	52.5abc	37.50
M22(1 x 10^7)	58a	0c	55abc	56.50
M22(1x 10^8)	78a	0c	60.abc	69.00
M22(1 x 10^9)	75a	5bc	25cd	35.00
M25(1 x10^3)	68a	25a	80ab	57.66
M25(1 x10^5)	58a	12.75abc	35bcd	35.25
M25(1x 10^7)	52a	4.25bc	63abc	39.75
M25(1x 10^8)	58a	8bc	85a	50.33
M25(1 x 10^9)	55a	25a	85a	55.00
M42(1 x10^3)	82a	5b	90a	59.00
M42 (1x10^5)	70a	0c	52abc	40.66
M42 (1x 10^7)	72a	15abc	78ab	55.00
M42(1 x 10^8)	43a	20ab	90a	51.00
M42 (1x 10^9)	77a	20ab	98a	65.00
Control	0b	0c	0c	
CV (%)	43.3%	105.6%	47.7	

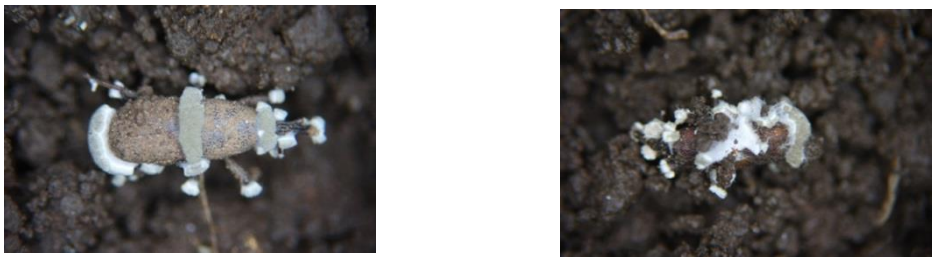
Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 4. The efficacy and virulence of entomopathogenic fungi to control adult fruit fly during October 2560 - January 2561

The concentration of conidia	The percentage of adult fruit fly mortality			Average of the percentage of fruit fly mortality
	Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3	
B4 (1 x10^3)	100a	60ab	45bc	68.33
B4(1 x10^5)	80abc	53abc	55bc	62.66
B4 (1x 10^7)	95ab	53abc	47bc	65
B4 (1x 10^8)	99.25a	82a	43c	74.75
B4 (1x 10^9)	100a	67a	45bc	70.66
M14 (1x10^3)	75abc	23bcd	55bc	51.00
M14 (1x10^5)	73abc	7.5d	78abc	52.83
M14 (1x 10^7)	65abc	17.5cd	68abc	50.16
M14 (1x 10^8)	5d	53abc	48bc	35.33
M14 (1x 10^9)	0d	50abc	98a	49.33
M22 (1x10^3)	60bc	60ab	80abc	66.66
M22 (1x10^5)	58c	85a	52.5bc	65.16
M22 (1x 10^7)	70abc	80a	82.5ab	77.50
M22 (1x 10^8)	90abc	87a	62.5abc	80.73
M22 (1x 10^9)	83abc	40b	42bc	55
Control	0d	0d	0d	
CV(%)	33	50.2	39.8%	

Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Figure



A B

Fig1. (A,B) *Sitophilus oryzae* infected by *Metarhizium* spp. which using bait method.

Fig 2 (A,B). Mass production of Fruit fly *Bactrocera dorsalis*

Fig.3 (1a-10j) the infection of fruit fly during the experiment in laboratory condition.

Fig 1a. The adult fruit fly infected by *B. bassiana* strain DOA-B4

Fig 2b. The adult fruit fly infected by *M.anisopliae* strain DOA-M2

Fig 3c. The adult fruit fly infected by *M.anisopliae* strain DOA-M5

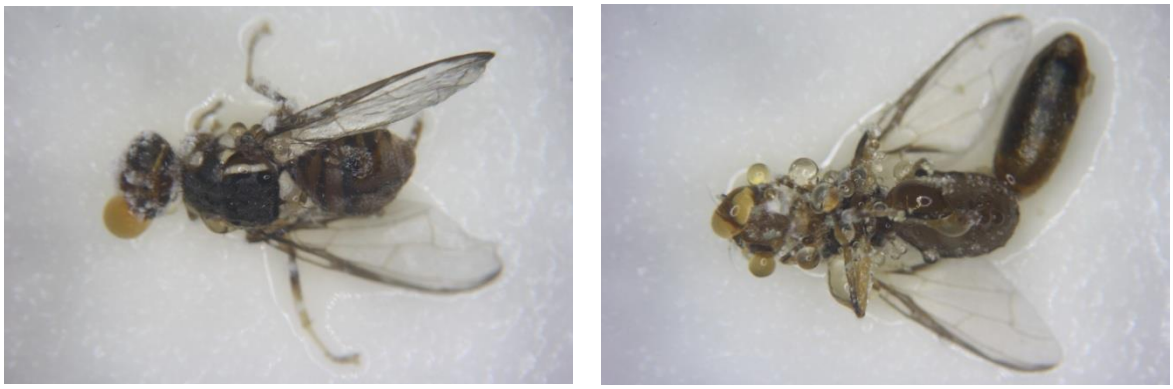


Fig 4d. The fruit fly pupae infected by *M.anisopliae* strain DOA-M13

Fig 5e. The fruit fly pupae infected by *M.anisopliae* strain DOA-M14

Fig 6f. The fruit fly infected by *M.anisopliae* strain DOA-M17

Fig 7g. The fruit fly pupae infected by *M.anisopliae* strain DOA-M22

Fig 8h. The fruit fly pupae infected by *M.anisopliae* strain DOA-M25

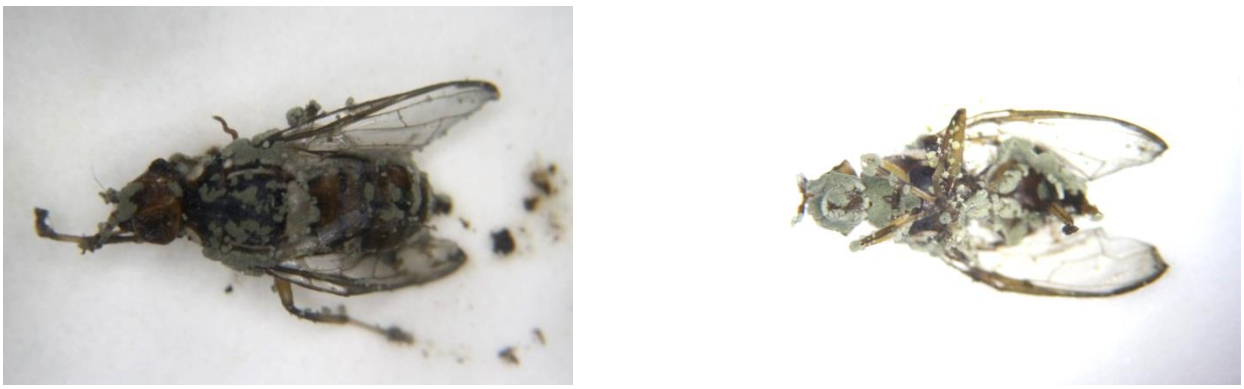


Fig 9i. The fruit fly infected by *M.anisopliae* strain DOA-M42

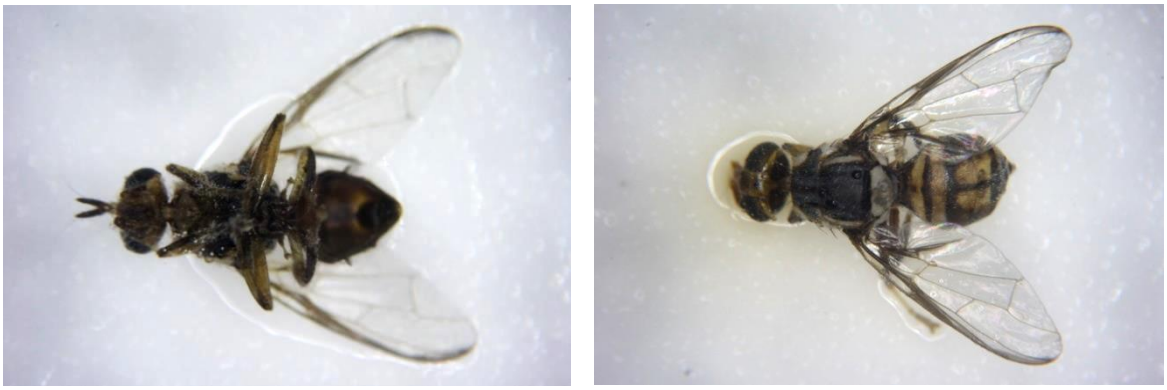


Fig.10j. Control