วิทยานิพนธ์

ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราก่อโรคในแมลง
ในการควบคุมไรแมงมุมสองจุด, *Tetranychus urticae* Koch
(Acari: Tetranychidae)

Effectiveness of Metabolites from Entomopathogenic Fungi
to Control Two-Spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae* Koch
(Acari: Tetranychidae)

นางสาวภัทรา อุปดิษฐ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. ๒๕๕๐

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (กีฏวิทยา)

ปริญญา

กีฏวิทยา	กีฏวิทยา
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง **ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราก่อโรคในแมลงในการควบคุมไรแมงมุมสองจุด, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)**

Effectiveness of Metabolites from Entomopathogenic Fungi to Control Two-Spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

นามผู้วิจัย นางสาวภัทรา อุปดิษฐ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ .....

(ศาสตราจารย์อังศุมาลย์ จันทราปัตย์, Ph.D.)

กรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์ประภารัจ หอมจันทน์, Ph.D.)

กรรมการ .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นาถ พันธุมนาวิน, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อภิชัย ดาวราย, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราก่อโรคในแมลงในการควบคุมไรแมงมุมสองจุด, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

Effectiveness of Metabolites from Entomopathogenic Fungi to Control Two-Spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

โดย
นางสาวภัทรา อุปดิษฐ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (กีฏวิทยา)
พ.ศ. 2550

ภัทรา อุปดิษฐ์: 2550: ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราก่อโรคในแมลงในการควบคุมไรแมงมุมสองจุด, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (กีฏวิทยา) สาขากีฏวิทยา ภาควิชากีฏวิทยา
ประธานกรรมการที่ปรึกษา:ศาสตราจารย์อังศุมาลย์ จันทราปัตย์, Ph.D. 117 หน้า

เชื้อรา *Metarhizium anisopliae, Hirsutella thompsonii* และ *Beauveria bassiana* เป็นเชื้อราที่มีประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช การสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราที่พบในประเทศไทย 5 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* # 2539 และ # 2481, *H. thompsonii* # 13970 และ # 13005 และ *B. bassiana* # 2119 โดยการเลี้ยงเชื้อราในปลายข้าวหรืออาหารเหลวและใช้ตัวทำละลายต่างๆ สกัดสารเมทาโบไลท์จากอาหารเลี้ยงเชื้อรวมทั้งมวลชีวภาพตากแห้ง ได้สารเมทาโบไลท์ในปริมาณที่ต่างกันและมีประสิทธิภาพแตกต่างกัน

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์ด้วยการฉีดพ่นสารเข้มข้น 3, 5 และ 10% ลงบนลำตัวไรแมงมุมสองจุด (*Tetranychus urticae* Koch) พบว่าสารเมทาโบไลท์ทั้ง 20 ชนิดสามารถฆ่าและไล่ไรแมงมุมสองจุดหลังจากฉีดพ่นเป็นเวลา 1-3 วัน ที่อุณหภูมิ 27-28 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 ± 5% และยับยั้งการวางไข่ของไรได้อีกด้วย การสกัดสารเมทาโบไลท์จากปลายข้าว พบว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 เข้มข้น 3% มีประสิทธิภาพสูงสุดโดยฆ่าและไล่ไรได้ 55 และ 31% ตามลำดับ และลดปริมาณการวางไข่ของไรได้ถึง 78.85% การสกัดสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา พบว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 เข้มข้น 3% ควบคุมประชากรไรได้ดีที่สุด โดยฆ่าและไล่ไรได้ 83 และ 10% และลดปริมาณการวางไข่ได้ 88% การใช้ dichloromethane สกัดสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพอายุ 14 วัน พบว่า สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 เข้มข้น 3% ฆ่าไรได้สูงสุด 79% และไล่ไรได้ 13% รวมทั้งลดปริมาณการวางไข่ได้ถึง 90.47% ส่วนการสกัดมวลชีวภาพโดยใช้dichloromethane และสกัดต่อเนื่อง methanol พบว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 เข้มข้น 3% มีประสิทธิภาพสูงสุดโดยฆ่าไรได้ 92% และลดปริมาณการวางไข่ได้ถึง 92.57% การสกัดสารเมทาโบไลท์จากปลายข้าวที่ใช้เลี้ยงเชื้อราจะใช้ต้นทุนต่ำที่สุด และได้ปริมาณสารที่มีประสิทธิภาพในปริมาณที่ใกล้เคียงหรือมากกว่าวิธีการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวเพื่อนำมาสกัดสารเมทาโบไลท์ ยกเว้นเชื้อรา *B. bassiana* # 2119

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่สกัดได้จากปลายข้าวและเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ซึ่งสกัดจากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา โดยการฉีดพ่นสารลงบนต้นถั่วดำซึ่งมีไรแมงมุมสองจุดเจริญอยู่เต็มใบ พบว่า สารเมทาโบไลท์ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเพิ่มปริมาณไรได้ดีมากภายใน 3 สัปดาห์หลังการฉีดพ่น โดยสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท เข้มข้น 0.5% ทำให้ไรมีอัตราอยู่รอดเพียง 0.3 ตัว/ใบ ขณะที่ชุดควบคุมยังมีไรอยู่รอดสูงถึง 142.07 ตัว/ใบ

_____ _____ ___/___/___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Pattara Opadith : 2550 : Effectiveness of Metabolites from Entomopathogenic Fungi to Control Two-Spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

Master of Science (Agriculture), Major Field: Entomology, Department of Entomology. Thesis Advisor: Professor Angsumarn Chandrapatya, Ph.D. 117 pages

Metarhizium anisopliae, Hirsutella thompsonii and *Beauveria bassiana*, are beneficial fungi used in controlling insect pests. Various solvents were used to extract metabolites from 5 fungal isolates found in Thailand namely, *M. anisopliae* # 2539 and # 2481, *H. thompsonii* # 13970 and # 13005 and *B. bassiana* # 2119. The fungal metabolites were extracted from 2 different media; rice brokens and malt extract broth. The fungal biomass filtrated from liquid media was also extracted. Thus, different amounts as well as efficacy of metabolites were acquired. The efficacy studies of 20 metabolites against *Tetranychus urticae* mite employing direct spray method at 3 concentration were performed.

After the spraying application for 1-3 days at 27-28 C and 70 ± 5% RH, it was observed that all 20 metabolites at the concentrations of 3, 5 and 10 % could kill and repel the two-spotted mite, They were also able to inhibit its egg-laying. From the rice brokens extraction, the 3% metabolite of *M .anisopliae* # 2539 had the highest percent killing of 55 and 31% repellency and 78.85% of egg-laying reduction. As for the extraction from crude filtrate, 3% metabolite of *H.thompsonii* # 13005 gave the greatest efficacy in mite control with 83% killing, 10% repellency and 88% egg-laying reduction. From the biomass extraction 14 days old, (extracted with dichloromethane) 3% metabolite of *H. thompsonii* # 13005 showed hight percent killing of 79%, 13% repellency and 90.47% of egg-laying. Finally, biomass extraction using dichloromethane and methanol as solvents revealed that 3% metabolite of *H.thompsonii* #13970 was found to have the highest efficacy with 92% killing and 92.5% egg-laying reduction. According to cost of production, the lowest cost in fungal production was shown in solid media (rice brokens) where almost the same or higher amount of efficient metabolite than the liquid media was obtained except for *B. bassiana* # 2119.

The efficacy comparison of the metabolites from *M. anisopliae* # 2539 in rice brokens and *B.bassiana* # 2119 in liquid media by spraying the metabolites on the cowpea infested with the two-spotted mites indicated that at the end of 3 weeks every concentration could inhibit the increasing of mites population. With 0.5% metabolites of the 2 selected isolates, only 0.3 alive mite/leaf was observed while there were 142.07 mites/leaf in the control.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี โดยความกรุณาจาก ศาสตราจารย์ ดร.อังศุมาลย์ จันทราปัตย์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.ประภารัจ หอมจันทน์ กรรมการสาขาวิชาเอก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นาถ พันธุมนาวิน กรรมการสาขาวิชารอง ซึ่งกรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมซึ่งเป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัยและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเป็นที่เรียบร้อย

ขอขอบคุณ คุณนุชนาถ วารีสมบูรณ์ ที่กรุณาช่วยเหลือในด้านต่างๆ และให้คำแนะนำผู้วิจัยด้วยดี และเพื่อนๆ น้องๆ ในห้องปฏิบัติการของ ศาสตราจารย์ ดร.อังศุมาลย์ จันทราปัตย์ ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจตลอดระยะเวลาการทำการวิจัย

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และขอบคุณ พี่ น้อง และเพื่อนที่ให้กำลังใจในการเรียนและสนับสนุนในการศึกษาจนประสบความสำเร็จ และผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์แก่หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง และขอมอบคุณความดีของการวิจัยในครั้งนี้ให้แก่คุณพ่อ คุณแม่ คุณครูบาอาจารย์ และขอให้เป็นวิทยาทานเพื่อการศึกษาต่อไป

ผลงานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ในโครงการงานวิจัยและพัฒนาพืชป่าบางชนิดเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศ (รหัสโครงการ RTA4880006)

ภัทรา อุปดิษฐ์

ตุลาคม 2550

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	17
ผลการทดลองและวิจารณ์	26
ผลการทดลอง	26
วิจารณ์	105
สรุปผลและข้อเสนอแนะ	112
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	114

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	น้ำหนักของสารเมทาโบไลท์ (กรัม) ซึ่งได้จากการเลี้ยงเชื้อราในปลายข้าวและอาหารเหลว เป็นเวลา 14 วัน (อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 ± 5 เปอร์เซ็นต์)	28
2	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในปลายข้าว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate และสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	31
3	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในปลายข้าว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate และสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	34
4	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในปลายข้าว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	37
5	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในปลายข้าว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	40
6	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในปลายข้าว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	43
7	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	50

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
8	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	53
9	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	56
10	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	59
11	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	62
12	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	69
13	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	72
14	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	75
15	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	78

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
16	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	81
17	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	86
18	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	89
19	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	92
20	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	95
21	ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (จะสกัดสารโดยใช้ dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด	98

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
22	จำนวนไรแมงมุมสองจุดบนต้นถั่วดำหลังจากได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ซึ่งเลี้ยงในปลายข้าวและเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ซึ่งเลี้ยงในอาหารเหลวและสกัดสารโดยใช้ ethyl acetate เข้มข้น 0.5, 1 และ 2% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 1 และ 3 สัปดาห์	103

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเพาะเลี้ยงเชื้อราในปลายข้าว	19
2	การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว (malt extract broth)	19
3	ขั้นตอนการสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา	22
4	การแยกสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารเหลว	23
5	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetateและสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	32
6	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetateและสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	32
7	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate และสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	35
8	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์สกัดจากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate และสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	35
9	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	38

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
10	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์สกัดจากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	38
11	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	41
12	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์สกัดจากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	41
13	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	44
14	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	44
15	อัตราการตายของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลตที่เลี้ยงด้วยปลายข้าว เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	47
16	อัตราการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลตที่เลี้ยงด้วยปลายข้าว เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	47
17	อัตราการรอดและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลตที่เลี้ยงด้วยปลายข้าว เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน	47

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	51
19	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	51
20	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	54
21	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	54
22	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate)เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	57
23	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	57
24	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	60
25	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	60

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
26	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	63
27	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	63
28	อัตราการตายของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	66
29	อัตราการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	66
30	อัตราการรอดและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	66
31	อัตราการตายของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	67
32	อัตราการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา3 วัน	67
33	อัตราการรอดและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	67

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
34	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	70
35	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	70
36	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	73
37	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	73
38	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	76
39	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	76
40	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	79

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
41	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	79
42	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	82
43	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	82
44	อัตราการตายของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท ซึ่งสกัดโดยใช้ dichloromethane เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	84
45	อัตราการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท ซึ่งสกัดโดยใช้ dichloromethane เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	84
46	อัตราการรอดและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท ซึ่งสกัดโดยใช้ dichloromethane เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	84
47	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	87

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
48	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	87
49	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	90
50	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	90
51	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	93
52	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	93
53	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	96

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
54	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	96
55	อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	99
56	ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	99
57	อัตราการตายของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	101
58	อัตราการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	101
59	อัตราการรอดและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน	101

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
60	ต้นถั่วดำที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ซึ่งเลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate)เป็นเวลา 3 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม	104
61	ต้นถั่วดำที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ซึ่งเลี้ยงในอาหารเหลว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม	104

ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราก่อโรคในแมลงในการควบคุมไรแมงมุมสองจุด, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

Effectiveness of Metabolites from Entomopathogenic Fungi to Control Two-Spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

คำนำ

การประกอบอาชีพเกษตรกรรมต้องประสบปัญหานานัปการ ถึงแม้ว่าจะได้รับความสนใจแก้ปัญหาจากทั้งภาครัฐและเอกชนก็ตาม แต่เกษตรกรก็ยังประสบปัญหาอยู่เช่นเคย ไม่ว่าจะเป็นปัญหาด้านการผลิต ปัญหาคุณภาพของผลผลิต ปัญหาด้านราคาผลผลิต ตลอดจนปัญหาที่เกี่ยวข้องกับด้านการตลาด ในสภาวะปัจจุบันกระแสการค้าโลกที่มีการแข่งขันกันอย่างรุนแรง ส่งผลให้หลายประเทศหันมาจับคู่เจรจาเปิดเสรีการค้าสองฝ่าย หรือเอฟทีเอกันมากขึ้น ในการนี้ประเทศคู่ค้าพยายามใช้ข้อกำหนดทางด้านคุณภาพของผลผลิต มาเป็นตัวกีดกันทางการค้าแทนการตั้งกำแพงภาษีกันมากขึ้น ประเทศไทยก็มิอาจจะหลีกหนีกระแสการแข่งขันทางการค้าของโลกได้ ดังนั้นจึงต้องปฏิบัติตามพันธะกรณีที่มีอยู่กับองค์กรนี้ ในการค้าสินค้าเกษตรระหว่างประเทศนั้น ประเทศคู่ค้าต่างก็ได้กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในผลผลิตเกษตร เพื่อเป็นการรักษาสภาพแวดล้อมและคุณภาพชีวิตของผู้บริโภค หากตรวจพบสารพิษเกินกว่าค่าที่กำหนดในสินค้าชนิดใดก็ตาม จะถูกปฏิเสธการนำเข้าสินค้าชนิดนั้นทันที นอกจากนี้ยังมีมาตรการอื่นๆ อีกหลายอย่างซึ่งล้วนแต่เป็นอุปสรรคต่อการส่งออกสินค้าทางการเกษตรทั้งสิ้น

การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี เป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดปริมาณการใช้สารพิษที่อาจตกค้างในผลผลิตเกษตร เพราะเป็นการนำตัวห้ำ ตัวเบียน และจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมศัตรูพืช เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ควบคุมแมลงและไรศัตรูพืชได้ เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับศัตรูพืชจะมีความเป็นอยู่แบบปรสิต (parasite) โดยอาศัยอยู่ภายในลำตัวของแมลงอาศัย (host) ใช้เนื้อเยื่อภายในร่างกายแมลงเพื่อการดำรงชีวิตและขยายพันธุ์ (Carner, 1976; Hajek and Leger, 1994) เชื้อราที่เป็นสาเหตุทำให้แมลงและไรศัตรูพืชตายมีหลายสกุล (Genus) เช่น *Entomophthora, Verticilium, Beauveria, Hirsutella*, *Metarhizium, Cordyceps, Culicinmyces* และ *Paecilomyces* เป็นต้น (Lewis *et al*., 1981; Samson *et al*., 1988; Ferron *et al*., 1991; Vey *et al*.,

1993; Humber, 1997; Fuka, 1998; Inglis *et al*., 2001) นอกจากนี้เชื้อราบางชนิดยังสามารถสร้างสารเมทาโบไลท์ที่มีพิษ (toxic metabolite) ซึ่งมีฤทธิ์รุนแรงและใช้ฆ่าแมลงได้ เช่น *Beauveria bassiana* (Balsamo), *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff), *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viegas และ *Hirsutella thompsonii* Fisher เป็นต้น (Roberts, 1996; Boucias and Pendland, 1998)

การนำเชื้อรามาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชนั้น มีข้อจำกัดในด้านความคงทนของเชื้อต่อสภาพแวดล้อม เชื้อราต้องอาศัยสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมทั้งความชื้น แสงและอุณหภูมิ ซึ่งเป็นตัวกำหนดประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตของเชื้อราและการควบคุมศัตรูพืช ดังนั้นการนำสารเมทาโบไลท์ที่ผลิตโดยเชื้อราเหล่านี้มาใช้ในการควบคุมศัตรูพืชโดยเฉพาะไรแมงมุมสองจุด (*Tetranychus urticae* Koch) ซึ่งเป็นศัตรูสำคัญของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด จึงเป็นหนทางในการแก้ปัญหาการนำเชื้อราไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมศัตรูพืชโดยตรง และเป็นการลดปัญหาพิษตกค้างของสารเคมีในผลผลิตและสภาพแวดล้อม ซึ่งจะยังผลให้ผู้บริโภคมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการผลิตสารเมทาโบไลท์จากการเลี้ยงเชื้อรา *Hirsutella thompsonii* Fisher, *Metarhizium anisopliae* Metchnikoff และ *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin ในอาหารแข็ง

2. เพื่อศึกษาการผลิตสารเมทาโบไลท์จากการเลี้ยงเชื้อรา *Hirsutella thompsonii* Fisher, *Metarhizium anisopliae* Metchnikoff และ *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin ในอาหารเหลว

3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทั้ง 3 ชนิด ในการควบคุมไรแมงมุมสองจุด *(Tetranychus urticae* Koch)

การตรวจเอกสาร

ไรแมงมุมสองจุด (*Tetranychus urticae* Koch)

รูปร่างลักษณะ

ไรแมงมุมสองจุดเพศเมียมีลักษณะกลมรีคล้ายรูปไข่ ความยาวของลำตัวโดยเฉลี่ย 406.25 ไมครอน กว้าง 302.30 ไมครอน ลำตัวมีสีเหลืองอ่อนหรือเหลืองอมเขียว สองข้างลำตัวมีแถบสีดำ ขาทั้ง 4 คู่ มีสีเข้มกว่าสีของลำตัวเล็กน้อย มีตาเป็นจุดสีแดงอยู่ที่บ่าทั้งสองข้าง ขนบนหลังเป็นเส้นยาวปลายแหลม ลวดลาย (striae) บนผิวลำตัวด้านสันหลังระหว่างขนกลางหลังคู่ที่ 3 และขนกลางหลังคู่ที่ 4 เรียงตัวในลักษณะเป็น diamond shape ปล้อง tarsus ของขาคู่ที่ 1 มี tactile setae อยู่เหนือ duplex setae ขึ้นมาทางโคนปล้อง จำนวน 4 เส้น empodium ที่ปลายขา มีลักษณะเป็นแผ่นขนที่มีปลายแตกออกเป็นแฉก 3 คู่ (กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม, 2544)

ไรเพศผู้มีขนาดเล็กกว่าเพศเมีย ลำตัวผอมเรียว ก้นแหลม มีตาเป็นจุดสีแดงอยู่สองข้างลำตัว อวัยวะเพศ (aedeagus) มีก้าน (shaft) ใหญ่ ส่วนคอ (stem) ของอวัยวะเพศโค้งงอขึ้น ปลายสุดของอวัยวะเพศมีลักษณะเป็นปม (knob) บริเวณตอนกลางของปุ่มนี้จะแหลมขึ้นเป็นมุมเล็กน้อยและค่อยๆ ลาดเอนลงทั้งสองข้าง (กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม, 2544)

ลักษณะการทำลาย

Cagle (1949) รายงานว่าไรแมงมุมชนิดนี้อาศัยอยู่บริเวณใต้ใบ และใช้ stylet แทงทะลุเซลล์พืชเพื่อดูดกินของเหลวในเซลล์พืช พืชที่ถูกทำลายจะมีจุดเล็กๆ สีขาวหรือเทาปรากฏอยู่ด้านหน้าใบ การดูดกินของไรแมงมุมทำให้เซลล์พาไลเซด (palisade cell) และชั้นพาเล็นไคมา (parenchymal layer) ซึ่งอยู่ทางด้านใต้ใบ รวมทั้งปากใบ (stomata) เสียหายได้ (Huffaker *et al*., 1969; Brandenburg and Kennedy, 1987) กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม (2544) รายงานว่าใบสตรอเบอรี่ที่ถูกไรแมงมุมชนิดนี้ลงทำลายจะมีผิวใบกร้าน ใต้ใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง ผิวใบด้านบนเหนือบริเวณที่ไรดูดทำลายอยู่จะเป็นจุดด่างขาวเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วไป เมื่อการทำลายรุนแรงขึ้น จุดด่างขาวเหล่านี้จะค่อยๆ แผ่ขยายติดต่อกันเป็นบริเวณกว้าง จนทำให้ทั่วทั้งใบมีลักษณะเหลืองซีด ใบร่วง และอาจตายในที่สุด Brandenburg and Kennedy (1987) กล่าวว่าหากประชากรของไรแมง

มุมสองจุดหนาแน่นมาก จะทำให้พืชแสดงอาการใบไหม้ ใบร่วงหรือตายได้ นอกจากนั้นการดูดกินของไรยังส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์แสงและการคายน้ำของพืชลดลง เมื่อประชากรไรหนาแน่นมากขึ้น ไรจะสร้างเส้นใยสานโยงไปมาระหว่างใบและยอดของต้นพืช เพื่อรอจังหวะให้ลมพัดพาตัวไรที่เกาะอยู่ตามเส้นใย ลอยไปตกยังใบหรือยอดพืชต้นอื่นๆ ที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์กว่าต่อไป (กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม, 2544)

วงจรชีวิต

ไรเพศเมียใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยเฉลี่ย 8.78 วัน ส่วนเพศผู้ใช้เวลาสั้นกว่าโดยใช้เวลาเฉลี่ย 8.57 วัน ไข่ของไรแมงมุมสองจุดใช้เวลาฟักเฉลี่ย 3.82 วัน ตัวอ่อนเมื่อฟักออกจากไข่ใช้เวลาเจริญเติบโตเฉลี่ย 1.77 วันก่อนที่จะผ่านการลอกคราบ 2 ครั้งเพื่อเจริญเติบโตเป็นไรวัยรุ่นระยะที่ 1 (protonymph) และวัยรุ่นระยะที่ 2 (deutonymph) โดยใช้เวลาในการเจริญเติบโตในแต่ละระยะเฉลี่ย 1.47 และ 1.69 วัน ตามลำดับ วัยรุ่นที่ 2 ใช้เวลา 7 วันจึงลอกคราบเป็นตัวเต็มวัย ตัวเมียสามารถวางไข่ได้นานประมาณ 15 วัน มีอัตราการวางไข่เฉลี่ย 122.3 ฟอง/ตัว โดยวางไข่ได้เฉลี่ย 8.6 ฟอง/วัน เพศเมียมีอายุขัยเฉลี่ย 15.9 วัน ส่วนไรเพศผู้มีอายุยืนกว่าไรเพศเมียคือ 17.85 วัน เพศเมียสามารถวางไข่ได้โดยไม่ต้องได้รับการผสมจากเพศผู้ แต่ลูกที่เกิดจากไข่ที่ไม่ได้รับการผสมจะเจริญเป็นไรเพศผู้ทั้งหมด (Brandenburg and Kennedy, 1987) ส่วนตัวเมียที่ได้รับการผสมจะให้ลูกที่เจริญเป็นเพศผู้และเพศเมีย ในอัตราส่วน 1:4 (กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม, 2544) ระยะเวลาการฟักของไข่ขึ้นกับอุณหภูมิเป็นหลัก เช่น ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียสไรชนิดนี้จะใช้เวลาฟักไข่ 2 วัน แต่ที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียสจะใช้เวลาฟักนานถึง 33 วัน (Shaw, 1984)

เขตแพร่กระจายและฤดูกาลระบาด

ไรแมงมุมสองจุดเป็นศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจหลายชนิดในอเมริกา ยุโรป และในแถบที่มีอากาศอบอุ่น (Jeppson *et al*., 1975) สำหรับในประเทศที่มีอากาศร้อน เช่น ประเทศไทย จะพบไรแมงมุมสองจุดได้เฉพาะในแถบที่ราบเชิงเขา หรือเทือกเขาซึ่งมีภูมิอากาศหนาวเย็น เช่น ดอยอินทนนท์ อ่างขาง โดยจะพบไรชนิดนี้ระบาดอย่างรุนแรงในแปลงสตรอเบอร์รี่ ท้อ และไม้ดอกไม้ประดับต่างๆ ที่นำพันธุ์เข้ามาจากต่างประเทศ (พิเชฐ และคณะ, 2542)

ไรแมงมุมสองจุดในประเทศไทย เป็นศัตรูสำคัญของสตรอเบอร์รี่ที่ปลูกบนดอยและในที่ราบทางภาคเหนือ ซึ่งมีอากาศค่อนข้างหนาวเย็น พบมากในจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย ไรจะเริ่มระบาดประมาณเดือนธันวาคม โดยเฉพาะในช่วงเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม หรือช่วงที่อากาศหนาวเริ่มเปลี่ยนเป็นอุ่นขึ้น สภาพอากาศที่แห้งแล้งจะเหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ของไรแมงมุมสองจุดบนสตรอเบอร์รี่มาก (กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม, 2544) ในต่างประเทศพบการระบาดของไรแมงมุมสองจุดมากในทวีปยุโรป อเมริกา และแถบเขตอบอุ่น (Jeppson *et al*., 1975; Helle and Sabelis, 1985; Kerban *et al*., 1987; Messing, 2000) การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในปริมาณมากหรือบ่อยครั้งเกินความจำเป็น จะทำให้ประชากรของไรแมงมุมสองจุดเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากศัตรูธรรมชาติของไรแมงมุมถูกทำลายไปด้วย (Bartlett, 1968; van de Vrie *et al*., 1972; Iftner and Hall, 1984; Wilson *et al*., 1991)

พืชอาหาร

ไรแมงมุมสองจุดเป็นศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด และมีพืชอาศัยกว่า 233 ชนิด เช่น กุหลาบ ฮอลลี่ฮ็อก หน้าวัว ชวนชม ลิ้นมังกร พืชตระกูลถั่ว วัชพืช และพืชแซมในแปลงสตรอเบอร์รี่ เช่น กระเทียม คื่นฉ่าย และไม้ประดับเมืองหนาวอีกหลายชนิด (กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม, 2544; Bolland *et al*., 1998)

ศัตรูธรรมชาติ

Brandenburg and Kennedy (1987) รายงานว่าสัตว์ข้อปล้องหลายชนิดเป็นศัตรูธรรมชาติที่สำคัญของไรแมงมุมสองจุด โดยเฉพาะแมลงในอันดับ Thysanoptera, Coleoptera, Heteroptera, Neuroptera และ Diptera นอกจากนั้นยังมีแมงมุมและไรอีกหลายชนิด Garcia-Mari and Gonzalez –Zamora (1999) พบว่าแมลงช้างปีกใส *Conwentzia psociformis* (Curtis) และด้วงเต่า *Stethorus punctillum* Weise สามารถควบคุมปริมาณไรแมงมุมได้ Roy *et al.* (2005) รายงานว่า ด้วงเต่า *Stethorus pauperculus* Weise เป็นตัวห้ำที่สำคัญของไรแดงหม่อน (*Tetranychus truncatus* Ehara) ในประเทศไทย Zhang and Shipp (1998) รายงานว่า *Orius insidiosus* (Say) เป็นศัตรูธรรมชาติที่สำคัญของแมลงหลายชนิดรวมทั้งไรแมงมุมสองจุด ขณะเดียวกันยังมีไรตัวห้ำหลายชนิด เช่น *Amblyseius longispinosus* (Evans), *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot และ *Typhlodromus pyri* Scheuten ซึ่งสามารถใช้ควบคุมไรแมงมุมสองจุดได้อย่างมีประสิทธิภาพ (กลุ่มงานวิจัยไรและ

แมงมุม, 2544; Zacharda and Hluchy, 1996; Prischmann *et al.,* 2002) นอกจากนี้ Brandenburg and Kennedy (1987) ยังพบเชื้อราที่สามารถควบคุมไรแมงมุมสองจุดได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น *Neozygites* spp., *Verticillium lecanii* (Zimmerman), *Entomophthora* spp., และ *Paecilomyces terricola* (Miller), Giddens, and Foster) (Helle and Sabelis, 1985)

ในปี ค.ศ. 2003 Rosas-Acevedo *et al*. พบเชื้อรา *Hirsutella thompsonii* หลายสายพันธุ์ในประเทศเม็กซิโก ซึ่งมีประสิทธิภาพในการควบคุมไรแมงมุมสองจุด และยังพบว่าสามารถยับยั้งอัตราการวางไข่ของไรแมงมุมสองจุดได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ Chandler *et al.* (2005) พบว่าเชื้อรา *Beauveria bassiana* (Balsamo) และ *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) สามารถควบคุมไรแมงมุมสองจุดได้

การป้องกันกำจัด

1. หมั่นทำความสะอาดแปลง อย่าให้มีวัชพืชในแปลงปลูก และไม่ควรปลูกพืชผักแซมในแถวปลูกสตรอเบอร์รี่ เพราะพบว่าจะเป็นการเพิ่มพืชอาศัยให้ไรแมงมุมสองจุด

2. เมื่อพบไรแมงมุมสองจุดทำลายใต้ใบสตรอเบอร์รี่ในระยะแรก (ประมาณ 1-2 ตัว/ใบย่อย) ให้ปล่อยไรตัวห้ำ *A. longispinosus* ประมาณ 2-5 ตัว/ต้น และปล่อยไรตัวห้ำซ้ำทุกๆ 2 สัปดาห์ หรือปล่อยไรตัวห้ำ *P. persimilis* ประมาณ 3-6 ตัว/ตารางเมตร และปล่อยไรตัวห้ำซ้ำทุกสัปดาห์ หรือใช้ด้วงเต่า *S. punctillum* อัตรา 100 ตัว/ตารางเมตร และปล่อยด้วงเต่าตัวห้ำทุกๆ 4 สัปดาห์ ควบคู่กันไปเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุม

3. ในกรณีที่ประชากรไรแมงมุมสองจุดยังเพิ่มมากขึ้น จำเป็นต้องใช้สารกำจัดไร ได้แก่ สาร propargite (Omite 30%WP) อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และสาร abamectin (Vertimec 1.8%EC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ควรระวังการเกิดใบและผลไหม้ ไม่ควรพ่นในขณะอุณหภูมิสูงหรือแดดจัด (กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม, 2544)

เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* Metchnikoff

อนุกรมวิธานของเชื้อรา *M. anisopliae*

เชื้อรา *M. anisopliae* จัดอยู่ใน

Kingdom Fungi

Class Sordariomycetes

Order Hypocreales

เชื้อรา *M. anisopliae* สามารถทำให้เกิดโรคกับแมลงได้ประมาณ 200 ชนิด จากมากกว่า 50 วงศ์ (Roberts and Humber, 1981) และยังพบว่าทำให้เกิดโรคกับไรแมงมุมสองจุด (*T. urticae*) ได้เช่นกัน (Chandler *et al.,* 2005) โดยพบว่าเชื้อรานี้มี 2 แบบ คือ major และ minor form แต่ละ form จะเกิดบน host ต่างชนิดกัน major form สร้างสปอร์ที่มีขนาดยาวประมาณ 10.6 ถึง 12 ไมครอน ส่วน minor form สร้างสปอร์ขนาดสั้นประมาณ 3.5 ถึง 8.2 ไมครอน (Friederichs, 1920) โคโลนีของเชื้อรา *M. anisopliae* สามารถเจริญเติบโตได้บน Sabouraud dextrose agar plus yeast extract (SDAY)

การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae*

การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* สามารถเลี้ยงได้ 3 แบบ คือ

1. การเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นแข็ง (agar media) เช่น Potato dextrose agar, modified soil fungus agar, Sabouraud dextrose agar, Potato carrot agar และ Malt extract agar

2. การเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว (liquid media) อาหารเหลวนี้จะใช้วัสดุเช่นเดียวกับอาหารวุ้นแข็งแต่จะไม่ใส่วุ้น

3. การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ได้จากธรรมชาติ (natural media) เช่น ข้าว ข้าวฟ่าง ข้าวเปลือก และข้าวโพดบดหยาบ

การผลิตสารพิษของเชื้อรา *M. anisopliae*

เชื้อรา *M. anisopliae* สามารถสร้างสารพิษที่มีชื่อว่า destruxins ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีหลายชนิดแตกต่างกันออกไปดังนี้

1. destruxins คือวงแหวน cyclodepsipeptides ได้จากการกรองเชื้อรา *M. anisopliae* ในอาหารเหลว โครงสร้างของสารประกอบด้วยกรดอะมิโน 5 ชนิด คือ p-alanine, alanine, valine, isoleucine และ praline (Suzuki and Tamura, 1970) สารพิษชนิดนี้ทำให้หนอนไหมเป็นอัมพาตและมีความหลากหลายในการเข้าทำลายแมลง โดยแมลงแต่ละชนิดจะแสดงอาการที่แตกต่างกัน

ออกไป การเพิ่มปริมาณสารพิษอย่างรวดเร็วทำให้หนอนตาย สารพิษจะถูกย่อยเมื่ออยู่ในกระเพาะอาหารและไม่มีผลต่อแมลงเมื่ออยู่ในผนังลำตัว (Tanada and Kaya, 1993)

2. cytochalasins เป็นสารพิษที่อาจจะผลิตได้จาก phenylalanine หรือ tryptophan ซึ่งเชื่อมต่อด้วย C16 หรือ C18 ของสาย polypeptide เชื้อรา *M. anisopliae* ปล่อยสารพิษ 2 cytochalasins C และ D ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อรา สารพิษชนิดนี้อาจจะเป็นสารที่ส่งเสริมให้เกิดโรค เช่น ช่วยลดปฏิกิริยา phagocytic และ granuloma (Roberts, 1981)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *M. anisopliae*

ความชื้น อุณหภูมิ แสง และการถ่ายเทของอากาศ มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *M. anisopliae* (Roberts and Cambell, 1977) อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดนี้คือ 25 องศาเซลเซียสและ 90% ตามลำดับ (Hall, 1981) นอกจากนั้น Ferron (1977) พบว่าความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงยังมีความสำคัญต่อการพัฒนาและการสร้างสปอร์บนซากแมลงที่เป็นโรคอีกด้วย แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่นสั้น 200-280 นาโนเมตร มีผลในการทำลายสปอร์ของเชื้อรา *M. anisopliae* ซึ่งมีการกระจายตัวอยู่ในอากาศ (Chelico *et al.,* 2005) การเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดนี้ขึ้นอยู่กับสารอาหารต่างๆ เช่น glucose, glucosamine, chitin, starch และ nitrogen ซึ่งก็คือส่วนประกอบของเนื้อเยื่อแมลงนั่นเอง นอกจากนั้นเชื้อราชนิดนี้ยังเจริญเติบโตได้ดีภายนอกแมลงอาศัยอีกด้วย

ลักษณะการเข้าทำลายและอาการของโรค

M. anisopliae มีกระบวนการเข้าทำลายแมลง โดยสปอร์ของเชื้อรางอกผ่านทะลุผนังลำตัวแมลงเข้าไป แต่ก็มีรายงานว่าเชื้อนี้สามารถเข้าทางปากและรูหายใจของแมลงได้ด้วย ผนังลำตัวบริเวณที่เชื้อราแทงทะลุผ่านเข้าไปจะมีสีซีดจางๆ หรือเป็นจ้ำขาวๆ โดยปกติเชื้อจะเข้าทำลายเม็ดเลือดและสร้างเส้นใยในช่องว่างของลำตัวแมลงตลอดเวลาที่แมลงมีชีวิตอยู่ แต่ก็พบเชื้อทำลายเนื้อเยื่อไขมันด้วย อาการเริ่มแรกของโรคคือ แมลงจะอ่อนแอ กระสับกระส่าย ไม่กินอาหาร ต่อมาจะไม่สามารถควบคุมการทำงานของระบบต่างๆ และเป็นอัมพาตในที่สุด บริเวณที่เชื้อราเข้าสู่ตัวแมลงอาจจะเปลี่ยนเป็นสีดำ ลำตัวแมลงมีสีคล้ำลง ไม่เห็นลวดลายชัดเจน เมื่อแมลงตายเชื้อราจะงอกเส้นใยทะลุผ่านผนังลำตัวขึ้นมาเพื่อสร้างก้านชูสปอร์ซึ่งจะอยู่รวมกันอย่างหนาแน่น ก้านชูสปอร์นี้อาจจะแตกแขนงตรงบริเวณยอดซึ่งชี้ตรงขึ้นไป และสร้างสปอร์ที่ปลายก้านเหล่านี้ สปอร์

เมื่อแรกสร้างเป็นสีขาวและจะค่อยเปลี่ยนเป็นสีเขียวเมื่อแก่ขึ้น จนถึงสีเขียวเข้มเกือบดำ ในที่สุดซากแมลงจะแห้งและมีเชื้อราคลุมเต็มตัว (Genthner *et al.*, 2004)

เชื้อรา *Hirsutella thompsonii* Fisher

อนุกรมวิธานของเชื้อรา *H. thompsonii*
เชื้อรา *H. thompsonii* จัดอยู่ใน
Kingdom Fungi
Class Deuteromycotina (Fungi Imperfecti)
Order Moniliales

เชื้อรา *H. thompsonii* อาศัยอยู่ภายในลำตัวของไรศัตรูพืชโดยเฉพาะไรสี่ขาในวงศ์ Eriophyidae และ Diptilomiopidae และไรแมงมุมในวงศ์ Tetranychidae เชื้อรา *H. thompsonii* มีอยู่ 3 สายพันธุ์ด้วยกันคือ สายพันธุ์ *thompsonii, vinacea,* และ *synnematosa* โดยสายพันธุ์ *thompsonii* มีถิ่นกำเนิดและระบาดอยู่ในแถบอบอุ่นกึ่งร้อน ส่วนสายพันธุ์ *vinacea* ซึ่งพบอยู่ในซากของไร *Acalitus vaccinii* (Keifer) แพร่ระบาดอยู่ในมลรัฐ North Carolina ประเทศสหรัฐอเมริกา และสายพันธุ์ *synnematosa* พบเฉพาะในเขตร้อนเท่านั้น (Samson *et al.*, 1988) ในปี ค.ศ. 1981 McCoy สามารถแยกเชื้อราสายพันธุ์ *synnematosa* จากไรสี่ขา 3 ชนิดคือ *Eriophyes sheldoni* (Ewing), *Eriophyes guerreronis* Keifer และ *Colomerus novahebridensis* Keifer อังศุมาลย์ (2543) แยกเชื้อราสายพันธุ์เดียวกันนี้จากซากไรสี่ขาในประเทศไทยได้มากกว่า 113 ไอโซเลท อย่างไรก็ตามมีเพียงเชื้อรา *H. thompsonii* var. *thompsonii* เท่านั้นที่ได้รับความสนใจนำมาพัฒนาเพื่อใช้เป็น mycoacaricide ในหลายประเทศ (McCoy, 1978; McCoy and Couch, 1978)

โคโลนีของเชื้อรา *H. thompsonii* สามารถเจริญเติบโตได้บน Potato dextrose agar (PDA), Malt extract agar (MEA) และ modified V-8 juice agar (V-8) โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.0-2.5 เซนติเมตร ภายใน 14 วันโคโลนีจะมีสีเขียวอมเทาเหมือนสีเขียวมะกอก (Samson *et al.*, 1988) เส้นใยมีความกว้าง 1.2-3.0 ไมครอน ผนังเรียบ ไม่มีสี ถึงสีเหลืองอ่อน ที่บริเวณด้านข้างของเส้นใยจะมีก้านชูสปอร์ (phialide) งอกตั้งฉากกับเส้นใย ส่วนฐานของ phialide ที่เจริญเต็มที่มีรูปไข่หรือทรงกระบอก บริเวณส่วนคอกว้าง 0.2-0.5 ไมครอน มักจะคดหรืออาจโค้ง สปอร์บริเวณปลาย phialide อาจอยู่เดี่ยวๆ หรือเป็นกลุ่ม 2-3 อัน ไม่มีสี จนถึงเขียวอ่อน ในระยะแรกสปอร์มีผิวเรียบ

ต่อมาผนังเริ่มขรุขระ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสปอร์ประมาณ 3-4 ไมครอน และมีสารเหนียวหุ้มอยู่ด้วย (อังศุมาลย์ และ อุไรวรรณ, 2532)

การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii*

วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* คล้ายคลึงกับการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อรา *H. thompsonii* ในอาหารเหลวพบว่า dextrose 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ sucrose 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นแหล่งของคาร์บอนที่ดีที่สุด และแหล่งของไนโตรเจน คือ yeast extract 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ peptone 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (McCoy *et al.*, 1972) ส่วนการสร้างสปอร์และเส้นใยโดยใช้โมลาสและถั่วเหลืองที่มีความเป็นกรดด่าง 7.5 พบว่าเชื้อราชนิดนี้จะไม่มีการสร้างสปอร์ (McCoy *et al.*, 1978)

ในประเทศไทย อังศุมาลย์ และอุไรวรรณ (2532) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* บนอาหารชนิดต่างๆ ทั้งในอาหารวุ้นแข็งและอาหารเหลว พบว่า Sabourand dextrose agar เป็นอาหารที่เหมาะสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อรามากที่สุด รองลงมาคือ Malt extract agar, Potato dextrose agar และ modified V-8 juice agar ตามลำดับ เชื้อราที่เลี้ยงในอาหารเหลวจะไม่สร้างสปอร์ และเมื่อเชื้อรามีอายุได้ประมาณ 20-30 วันจะเริ่มสร้าง chlamydospore การเลี้ยงเชื้อราในเมล็ดธัญพืชหลายชนิด ได้แก่ เมล็ดข้าวโพด, เมล็ดข้าวโพด+น้ำข้าว, เมล็ดข้าวโพด+วิตามิน B-complex, เมล็ดข้าวโพดบดหยาบ, เมล็ดข้าวฟ่าง และข้าวเปลือก จะกระตุ้นให้เชื้อราสร้างสปอร์มากกว่าเชื้อราที่เลี้ยงด้วยเมล็ดข้าวโพดผสมดินร่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และปริมาณสปอร์ที่ผลิตได้จากการเลี้ยงในเมล็ดธัญพืชจะสูงกว่าเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารวุ้น Malt extract, SDA หรือ modified V-8 juice agar

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา

อุณหภูมิและความชื้นเป็นปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราและปริมาณการสร้าง conidia เชื้อรา *H. thompsonii* ชอบอุณหภูมิระดับกลาง (mesothermophile) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตจึงอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิเฉลี่ย 27 องศาเซลเซียส นอกจากนั้น Kenneth *et al*. (1979) พบว่าเชื้อรา *H. thompsonii* จะเจริญเติบโตได้ในช่วง 5-37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ 90-100%

อังศุมาลย์ และ อุไรวรรณ (2532) พบว่า เชื้อรา *H. thompsonii* ใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน ในการเจริญเติบโตตั้งแต่เริ่มงอก germ tube จนถึงระยะสร้าง conidia ขึ้นมาอีกครั้งหนึ่ง เชื้อราสายพันธุ์นี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 18-35 องศาเซลเซียส และหยุดการเจริญเติบโตเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราแต่ละสายพันธุ์จะแตกต่างกัน

ลักษณะการเข้าทำลายและอาการของโรค

เชื้อรา *H. thompsonii* เข้าทำลายไรศัตรูพืชโดย conidia ของเชื้อราจะเกาะกับผนังลำตัวส่วนใดส่วนหนึ่ง และงอกเส้นใยแทงทะลุผนังลำตัวเข้าไปในช่องว่างภายในลำตัว เชื้อราจะเกิดการระบาดได้มาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากมีความชื้นในรูปของน้ำค้างประมาณ 10-12 ชั่วโมงต่อวัน จะช่วยให้เชื้อราแพร่ระบาดได้มากขึ้น (McCoy *et al*., 1972; McCoy, 1978)

McCoy and Couch (1978) กล่าวว่าผนังลำตัวของไรไม่เป็นอุปสรรคต่อการงอกของ conidia ของเชื้อรา *Hirsutella* แต่อย่างใด โดยทั่วไป conidia จะใช้เวลาประมาณ 30 นาทีตั้งแต่เริ่มเกาะที่ผนังลำตัวของไรจนกระทั่งงอก germ tube

นอกจากนั้น McCoy *et al*. (1972) รายงานว่า conidia จะใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมงหลังจากสัมผัสและแทงทะลุผ่านผนังลำตัวไร และใช้เวลาเฉลี่ย 72 ชั่วโมง นับแต่การเข้าทำลายจนกระทั่งเส้นใยสร้าง conidia ขึ้นมาอีกครั้งหนึ่ง เชื้อราจะเจริญเติบโตแตกกิ่งก้านสาขาอยู่ภายในช่องว่างของลำตัว และทำลายเนื้อเยื่อต่างๆ เชื้อราที่ทำลายไรสี่ขานั้นมักจะเข้าไปอยู่ในบริเวณส่วนกลางของลำตัวก่อน หลังจากนั้นจึงเริ่มพัฒนาจากบริเวณส่วนกลางของลำตัวไปยังส่วนหน้า คือ ขาและปาก ต่อมาจะเจริญไปทางส่วนท้ายของลำตัวจนถึงทวารหนัก เส้นใยของเชื้อราซึ่งเจริญอยู่ภายในลำตัวไรมีลักษณะเป็นข้อปล้อง ภายในเวลา 2-3 วันเส้นใยจะสร้าง chlamydospore รูปร่างกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 13-22 ไมครอนอยู่ภายในเส้นใย หลังจากที่ไรตายแล้วเชื้อราจะงอกเส้นใยออกมาสู่ภายนอกตามช่องเปิดต่างๆ หรือแทงทะลุผนังลำตัวออกมาเพื่อสร้าง conidia ต่อไป conidia ที่ติดอยู่กับซากไรจะมีเพียง primary conidia เท่านั้น (McCoy, 1981)

Primary conidia มีพื้นผิวขรุขระและมีเมือกเหนียวซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในการเกาะติดผนังลำตัวไร เมื่อสภาพแวดล้อมมีความชื้นเพียงพอ จะทำให้สภาพการยึดเกาะกับผนังลำตัว

ไรเกิดขึ้นได้ดีขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูงหรือมีน้ำอยู่บนผิวใบจะช่วยให้เชื้อราทำลายไรได้สูงสุด

การผลิตสารเมทาโบไลท์ของเชื้อรา *H. thompsonii*

เชื้อรา *H. thompsonii* สามารถผลิตสารเมทาโบไลท์ได้เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเหลว และสารพิษนี้สามารถเกิดพิษกับแมลงและไรศัตรูพืชได้ Vey *et al*. (1989) ศึกษาการสร้างสารเมทาโบไลท์ของเชื้อรา *H. thompsonii* โดยเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตรต่างๆ เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นนำ crude filtrate ที่กรองเอามวลชีวภาพออกแล้วไปทดสอบอาการเกิดพิษกับหนอนผีเสื้อไขผึ้งวัยสุดท้าย (*Galleria mellonella* Linnaeus) พบว่าใน crude filtrate มีสารเมทาโบไลท์ที่จัดเป็น toxic-exocellular metabolite ทำให้หนอนไม่สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ นอกจากนั้นยังมี cytotoxic-effect ต่อเนื้อเยื่อและเซลล์ของแมลงอีกด้วย สารเมทาโบไลท์ที่เชื้อราชนิดนี้สร้างขึ้นเป็นสารประกอบโปรตีนโมเลกุลใหญ่ ซึ่งแตกต่างจากสารเมทาโบไลท์ที่ผลิตโดย entomopathogenic fungi อื่นๆ ที่เป็นสารประกอบโปรตีนโมเลกุลเล็ก

Vey *et al.* (1989) รายงานว่าสารเมทาโบไลท์ของเชื้อรา *H. thompsonii* ทำให้หนอนผีเสื้อไขผึ้งวัยสุดท้ายตาย โดยผนังลำตัวของหนอนที่ตายจะมีจุดสีน้ำตาลเป็นจุดๆ กระจายอยู่ทั่วไป

Mazet (1992) แยกสารเมทาโบไลท์ที่ผลิตโดยเชื้อรา *H. thompsonii* สายพันธุ์ HTF-87 ได้ 2 ชนิดและตั้งชื่อว่า Hirsutellin A (HtA) และ Hirsutellin B (HtB) Mazet and Vey (1995) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสาร HtA พบว่า สามารถทำให้หนอนผีเสื้อไขผึ้งวัยสุดท้ายตาย 100% ที่ระดับความเข้มข้น 25, 50 และ 100 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร หลังจากได้รับการฉีดสารพิษเข้าภายในลำตัวหนอนเป็นเวลา 30, 25 และ 15 ชั่วโมงตามลำดับ

Liu *et al.* (1995) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารพิษ HtA โดยฉีด HtA จำนวน 50 นาโนกรัมเข้าไปภายในลำตัวของหนอนผีเสื้อไขผึ้งวัยสุดท้าย และรายงานว่า HtA ทำให้หนอนตาย 80% นอกจากนั้นยังได้รายงานว่า HtA ที่ระดับความเข้มข้น 5 ไมโครโมล จะเกิดพิษสูงกับเซลล์แมลงโดยจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์อีกด้วย ทั้งนี้ HtA ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์แมลงโดยจะยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนและควบคุมเอ็นไซม์ RNase ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ยับยั้งการสร้างโปรตีน

Omoto and McCoy (1998) พบว่าสารพิษ Hirsutellin A ที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถทำให้ไรสนิมส้มตาย 100% หลังจากได้รับการฉีดพ่นสารพิษเป็นเวลา 3 วัน และมีผลให้อัตราการวางไข่ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Aghajanzadeh *et al.* (2006) พบว่าสารพิษจากเชื้อรา *H. thompsonii* ที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถทำให้ไรแมงมุมสองจุดตาย 27.97% และ crude filtrate ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวและผ่านการกรองเอามวลชีวภาพออกหมดแล้ว มีประสิทธิภาพทำให้ไรแมงมุมสองจุดตาย 57.7% หลังจากได้รับการฉีดพ่นสารพิษเป็นเวลา 3 วัน

เชื้อรา *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin

อนุกรมวิธานของเชื้อรา *B. bassiana*
เชื้อรา *B. bassiana* จัดอยู่ใน
Kingdom Fungi
Class Sordariomycetes
Order Hyphomycetes

เชื้อรา *B. bassiana* อาศัยอยู่ภายในลำตัวของแมลงและไรศัตรูพืชได้หลายชนิด เช่นมวนหญ้า *Lygus sp*., ด้วงกินใบ *Leptinotarsa decemlineata* Say และมวนหลังแข็ง *Eurygaster integriceps* Puton (Liu *et al.,* 2003) โดยเฉพาะไรแมงมุมสองจุด *T. urticae* (Alves *et al.,* 2002) โดยเชื้อรา *B. bassiana* มีถิ่นกำเนิดและระบาดอยู่ในแถบทวีปยุโรป ในปัจจุบันพบการแพร่ระบาดทั่วโลก เช่น มลรัฐ Haute-Savoie ประเทศฝรั่งเศส, มลรัฐ Morea ประเทศตุรกี มลรัฐ Arkansas และ Maine ประเทศสหรัฐอเมริกา (Liu *et al.,* 2003) และพบการแพร่ระบาดกับไรแมงมุมสองจุดในมลรัฐ Piracicaba ประเทศบราซิล (Alves *et al.,* 2002) ในปี ค.ศ. 1834 Bassi สามารถแยกเชื้อราสายพันธุ์ *B. bassiana* จากหนอนไหมและต่อมาในปี ค.ศ. 1836 ได้ริเริ่มความคิดเรื่องการใช้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืช (ทิพย์วดี, 2535)

โคโลนีของเชื้อรา *B. bassiana* สามารถเจริญเติบโตได้บน Sabouraud dextrose agar plus yeast extract (SDAY), peptone-glucose และ glucose-peptone-yeast extract (Bidochka, *et al.,* 1987; Liu *et al.,* 2003) เส้นใยและสปอร์ของเชื้อราชนิดนี้มีสีขาว (Liu *et al.,* 2003) ทำให้เกิดโรค

กับแมลงโดยสปอร์หรือ conidia จะงอก germ tube แทงทะลุผ่านผนังลำตัวเข้าไปในช่องว่างของลำตัวแมลง (haemocoel) และเจริญเป็นเส้นใยท่อนสั้น เซลล์เม็ดเลือดถูกทำลาย หลังจากตายแล้วเชื้อราจะแทงก้านชูสปอร์ทะลุผ่านผนังลำตัวแมลงออกมาภายนอก แล้วสร้างสปอร์ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปทรงกลมหรือรูปไข่ งอกในลักษณะซิกแซกออกมาตลอดก้านชูสปอร์ จากนั้นสปอร์สีขาวจะปกคลุมเต็มลำตัวของสัตว์อาศัย (ทิพย์วดี, 2535)

การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *B. bassiana*

การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *B. bassiana* มีวิธีการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับเชื้อรา *M. anisopliae* McCoy and Kanavel (1969) รายงานว่า เชื้อรา *B. bassiana* มีการเจริญเติบโตและสร้างสปอร์ค่อนข้างช้าเมื่อเลี้ยงบน Potato dextrose agar, modified soil fungus agar และ Sabouraud dextrose agar แต่ถ้าเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่มากหรือในวุ้นที่ขาดสารอาหาร จะกระตุ้นให้มีการสร้างสปอร์มากขึ้น

การผลิตสารพิษของเชื้อรา *B. bassiana*

เชื้อรา *B. bassiana* สามารถสร้างสารพิษที่มีชื่อว่า beauvericin ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีหลายชนิดแตกต่างกันออกไปดังนี้

1. beauvericin คือ depsipeptide beauvericin ประกอบด้วยวงแหวนโมเลกุลของ N-methyl phenylalanine ต่อเชื่อมกับ hydroxyisovaleric acid 3 โมเลกุล ซึ่งพบในหนอนแมลงวันที่เกิดโรค

2. beauverolides มี 2 ชนิด คือ beauverolides H และ beauverolides I พบในเส้นใยของเชื้อราที่อยู่ในกล้ามเนื้อหัวใจของแมลงสาบและยุงที่เป็นโรคในแอฟริกาใต้ (Roberts, 1981)

3. bassianolides cyclodepeptide ประกอบด้วย L-N methylleucine 4 โมเลกุล และ D-α-hydroxyisovaleric acid พบในหนอนไหมวัย 5 ที่ได้รับเชื้อในอัตรา 133 ppm ในอาหารเหลว 5 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัวหนอนไหม 1.2 กรัม (Roberts, 1981)

4. isarokides A, B และ C ประกอบด้วยวงแหวน depsipeptides พบในเส้นใยของ *B.bassiana* แต่ไม่พบรายงานการทดสอบกับแมลง (Rao *et al.*, 2006)

5. pigments tenellin และ bassianin ได้มาจากเส้นใยของ *B. bassiana* ที่เกิดโรคบนตัวแมลง tenellin คือ 3-(4, 6-dimethyl-E, E-octa-2-4 dienoyl)-1, 4-dihydroxy-5-(p-hydroxyphenyl)-

2(1H)-pyridone ส่วน bassianin คือ 3-(6,8 dimethyl-E, E,E-deca-2,4,6 (trienoyl-1,4 dihydroxy-5 (p-hydroxy phenyl)-2 (1H)-pyridone ซึ่งยังไม่พบรายงานการทดสอบกับแมลง (Roberts, 1981)

6. oxalic acid หรือ oxalata crystals เคยพบในซากแมลงที่ถูก *B. bassiana* ทำลายและมีผลกระทบต่อ haemolymph ของหนอนไหม

ลักษณะการเข้าทำลายและอาการของโรค

เมื่อสปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* ตกลงบนผนังลำตัวของแมลงและสภาพแวดล้อมมีความชื้นที่พอเหมาะ สปอร์จะงอก germ tube แทงทะลุผ่านผนังลำตัวแมลงเข้าไปในช่องว่างภายในลำตัวแมลง (hemocoel) จากนั้นเชื้อราจะสร้างเส้นใยเป็นท่อนสั้นๆ จำนวนมากอยู่ภายในลำตัวแมลง ในขณะที่เชื้อราเจริญเพิ่มปริมาณมากขึ้นจนเต็มช่องว่างภายในลำตัวแมลง เซลล์เม็ดเลือดของแมลงจะถูกทำลายและปริมาณของเลือดในตัวแมลงจะลดน้อยลง ระยะนี้แมลงจะเริ่มเป็นอัมพาตทั่วตัวและตาย หลังจากนั้นเชื้อราจะแทงก้านชูสปอร์ (conidiophores) ทะลุผ่านผนังลำตัวออกมาภายนอก เพื่อสร้างสปอร์ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปทรงกลมหรือรูปไข่ โดยงอกในลักษณะซิกแซกตลอดก้านชูสปอร์ จากนั้นซากแมลงจะแห้งแข็ง มีก้านชูสปอร์และสปอร์สีขาวปกคลุมเต็มทั้งตัว สปอร์เหล่านี้มีอายุยาวนานและเป็นตัวแพร่กระจายเชื้อโรคอย่างดี ในสภาพธรรมชาติ *B. bassiana* สามารถทำลายตัวอ่อนของแมลงทุกระยะรวมทั้งตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายมักจะตายเร็วกว่าตัวอ่อน ถ้าตัวเต็มวัยได้รับสปอร์ของเชื้อนี้จะสามารถติดไปกับไข่ได้ด้วย เชื้อรานี้สร้างสารพิษบางชนิดซึ่งเป็นอันตรายต่อแมลงหลายชนิด เช่น *Melolontha melolontha* Lineaus, *Piesma quadrata* Fieber, *Carpocapsa pomonella* Harris และ *Pristiphora erichsonii* Hartig เป็นต้น (Lacey *et al.*, 2001)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *B. bassiana*

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *B. bassiana* คล้ายคลึงกับเชื้อรา *M. anisopliae* ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

อุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษามี 3 ชนิด ได้แก่เชื้อรา *Hirsutella thompsonii* var. *synnematosa* ไอโซเลท 13005 (H.t. # 13005) และ 13970 (H.t. # 13970) จากห้องปฏิบัติการของศาสตราจารย์ ดร.อังศุมาลย์ จันทราปัตย์ เป็นเชื้อราที่เก็บได้จากไรแมงมุมในวงศ์ Tetranychidae, เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* Metchnikoff ไอโซเลท *M. anisopliae* # 2539 (M.a. # 2539) และ *M. anisopliae* # 2481 (M.a. # 2481) และเชื้อรา *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin ไอโซเลท *B. bassiana* # 2119 (B.b. # 2119) จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

1. การสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา

1.1. การเตรียมหัวเชื้อราเพื่อใช้ในการศึกษา

ทำการเลี้ยงเชื้อราที่จะศึกษาในอาหารวุ้นแข็ง PDA (Potato dextrose agar) โดยการนำมันฝรั่งปอกเปลือกหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรจำนวน 200 กรัม ต้มในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตรจนกระทั่งสุก จากนั้นกรองน้ำมันฝรั่งต้มผ่านผ้าขาวบาง ขณะเดียวกันละลาย dextrose 20 กรัม และวุ้นผง 12 กรัมในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ต้มจนวุ้นและน้ำตาลละลายหมดจึงเทส่วนผสมทั้งสองรวมกันและเติมน้ำจนครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที เมื่อวุ้นอาหารเย็นลงจึงเทลงในจานเลี้ยงเชื้อประมาณ 15- 20 มิลลิลิตร/จาน ทำการปลูกเชื้อราโดยนำน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 5 มิลลิลิตรผสมสารละลาย tween 80 5% จำนวน 1 หยดใส่ลงในหลอดอาหารผิวลาดเอียง (PDA slant) ซึ่งมีเชื้อราอายุประมาณ 10 วัน ขูดสปอร์และเส้นใยของเชื้อราให้หลุดจากผิวอาหารและปั่นด้วย vortex mixture 1 นาที จากนั้นใช้ micropipette ดูด spore suspension จำนวน 1 มิลลิลิตร หยดบนผิวของอาหารวุ้นแข็งในจานเลี้ยงเชื้อและเกลี่ยให้ทั่ว นำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มในตู้เลี้ยงเชื้อราที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ 80% เป็นเวลา 7 วันเพื่อใช้ศึกษาต่อไป

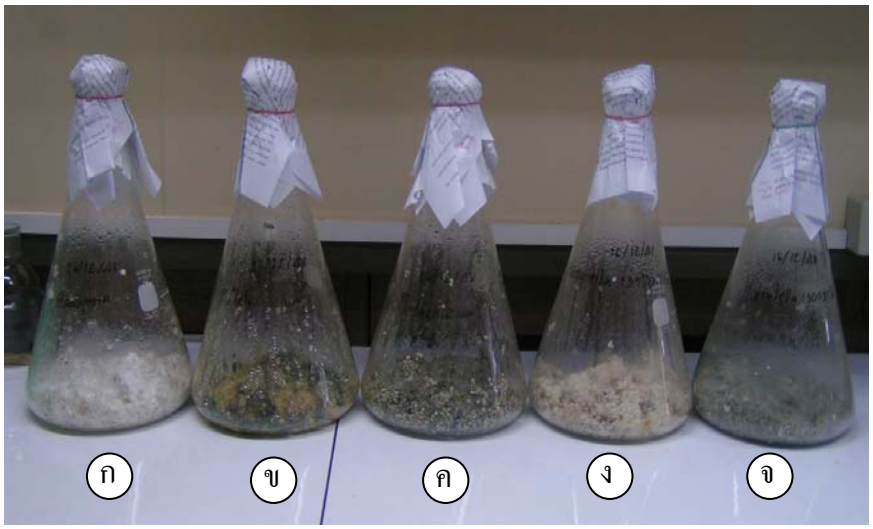
1.2. การเลี้ยงเชื้อราเพื่อนำมาสกัดสารเมทาโบไลท์

1.2.1. การขยายพันธุ์เชื้อราบนอาหารธรรมชาติ (Natural medium)

การขยายพันธุ์เชื้อราบนอาหารธรรมชาติทำโดยนำปลายข้าว 1 ส่วน และน้ำ 1 ส่วน ใส่ในหม้อหุงข้าวและหุงจนข้าวสุก เมื่อข้าวสุกแล้วจึงนำมาใส่ลงในฟลาสค์ขนาด 4 ลิตร จำนวน 800 กรัม/ฟลาสค์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาทีและทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นจึงทำการปลูกเชื้อที่ต้องการลงในอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้หัวเชื้อที่เตรียมโดยการเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 5 มิลลิลิตร ลงบนเชื้อราในหลอดอาหารผิวลาดเอียงซึ่งมีอายุ 7 วัน ขูดสปอร์และเส้นใยของเชื้อให้หลุดจากผิวอาหารและนำไปปั่นด้วย vortex mixture ประมาณ 1 นาที เพื่อให้สปอร์ของเชื้อหลุดจากเส้นใย จากนั้นเท spore suspension ลงใน ฟลาสค์ ปิดปากฟลาสค์ด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษก่อนที่จะนำฟลาสค์ไปบ่มในห้องเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (26-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน (ภาพที่ 1)

1.2.2. การขยายพันธุ์เชื้อราในอาหารเหลว (Liquid medium)

นำฟลาสค์ขนาด 4 ลิตร บรรจุ MEB (malt extract broth) จำนวน 2 ลิตรไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ทำการปลูกเชื้อราโดยเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 5 มิลลิลิตรลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีเชื้อราขึ้นอยู่เต็มจาน (อายุ 7 วัน) จากนั้นขูดสปอร์และเส้นใยของเชื้อราใส่ลงในฟลาสค์ และปิดฝาฟลาสค์ด้วยจุกยางที่มีแท่งแก้วต่อกับเครื่องปั๊มอากาศ เพื่อให้อากาศแก่เชื้อที่เพาะเลี้ยง เป็นเวลา 14 วัน (ภาพที่ 2) เมื่อครบกำหนดทำการกรองมวลชีวภาพ (fungal biomass) ออกจากอาหารเหลวโดยใช้กรวยกรองแบบ Buchner funnel ซึ่งมีกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อกรองแยกมวลชีวมวลและสปอร์ของเชื้อราออกจากอาหารเหลว สำหรับอาหารเหลวซึ่งไม่มีเส้นใยของเชื้อราแล้วเรียกว่า crude filtrate



ภาพที่ 1 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในปลายข้าว ก) *Beauveria bassiana* # 2119
ข) *Metarhizium anisopliae* # 2539 ค) *Metarhizium anisopliae* # 2481
ง) *Hirsutella thompsonii* # 13005 และ จ) *Hirsutella thompsonii* # 13970

ภาพที่ 2 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว (Malt extract broth)

1.3. การสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา

1.3.1. การสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหารธรรมชาติ

นำฟลาสค์จากข้อ 1.2.1 ซึ่งมีปลายข้าวที่ปลูกเชื้อราแล้ว 14 วัน มาเติม ethyl acetate จนท่วมและทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดจึงทำการกรอง ethyl acetate ซึ่งมีสารเมทาโบไลท์ปะปนอยู่ออกจากปลายข้าวโดยใช้กรวยกรองแบบ Buchner funnel ซึ่งมีกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อป้องกันไม่ให้เส้นใยของเชื้อราปะปนใน ethyl acetate จากนั้นนำ ethyl acetate ที่มีสารเมทาโบไลท์ผสมอยู่ไประเหย ethyl acetate ออกด้วยเครื่อง evaporator ที่ความดัน 240 ปอนด์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะเหนียวข้น สำหรับสารเมทาโบไลท์เข้มข้นที่มีลักษณะข้นมากและไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ จะถูกนำมาสกัดต่อด้วย acetone แล้วนำไประเหย acetone ออกด้วยเครื่อง evaporator ที่ความดัน 200 ปอนด์ อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะเป็นน้ำมัน เก็บสารสกัดหยาบจากเชื้อราในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 10-12 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป (ภาพที่ 3)

1.3.2. การสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารเหลว

1.3.2.1. การสกัดสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่กรองเส้นใยออกแล้ว (crude filtrate)

นำ crude filtrate ซึ่งเป็นอาหารเหลวที่ผ่านการกรองเอามวลชีวภาพออกแล้วเหลือแต่เพียงสารเมทาโบไลท์ที่ปะปนอยู่ในอาหารเหลวจากข้อ 1.2.2 มาสกัดแยกสารเมทาโบไลท์ออกโดยใช้กรวยแยก (Seperator funnel) ซึ่งกระทำโดยนำอาหารเหลวที่ผ่านการกรองมวลชีวภาพแล้วจำนวน 300 มิลลิลิตร ใส่ในกรวยแยกและเติม ethyl acetate จำนวน 300 มิลลิลิตร เขย่าแรงๆ ก่อนที่จะวางทิ้งไว้เพื่อให้สารเมทาโบไลท์เข้าไปอยู่ในชั้นของ ethyl acetate และแยกเอาชั้น ethyl acetate ผสมสารเมทาโบไลท์ออกจากชั้น crude filtrate ทำเช่นนี้จำนวน 3 ครั้ง และนำ ethyl acetate ที่มีสาร เมทาโบไลท์ผสมอยู่ไประเหย ethyl acetate ออกด้วยเครื่อง evaporator ที่ความดัน 240 ปอนด์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจนได้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น (ภาพที่ 4)

1.3.2.2. การสกัดสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพ

นำมวลชีวภาพที่ได้จากการกรองอาหารเหลวด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ในข้อ 1.2.2 มาตากให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วันก่อนที่จะนำไปแช่ใน dichloromethane เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นกรองแยกมวลชีวภาพออกจาก dichloromethane ด้วยกรวยกรองแบบ Buchner funnel ซึ่งมีกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่ชั่งน้ำหนักแล้วรองรับมวลชีวภาพ ทำเช่นนี้ 3 ครั้ง และเก็บสาร dichloromethane ที่ผ่านการกรองทั้งหมดไว้ในขวดสีชา เพื่อทำการระเหย dichloromethane ออก ด้วยเครื่อง evaporator ที่ความดัน 240 ปอนด์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจนได้สารสกัดหยาบใน dichloromethane เพื่อทดสอบต่อไป ส่วนมวลชีวภาพที่เหลือจะนำไปแช่ใน methanol เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นทำการกรองแยกมวลชีวภาพออกด้วยการใช้กรวยกรองแบบ Buchner funnel ซึ่งมีกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่ชั่งน้ำหนักแล้วรองรับมวลชีวภาพ ทำเช่นนี้ 3 ซ้ำและเก็บรวบรวมสาร methanol ที่ผ่านการกรองทั้งหมดไว้ในขวดสีชาเพื่อรอการระเหย methanol ออกด้วยเครื่อง evaporator ที่ความดัน 240 ปอนด์ ภายใต้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจนได้สารสกัดหยาบใน methanol เพื่อทดสอบต่อไป (ภาพที่ 4)

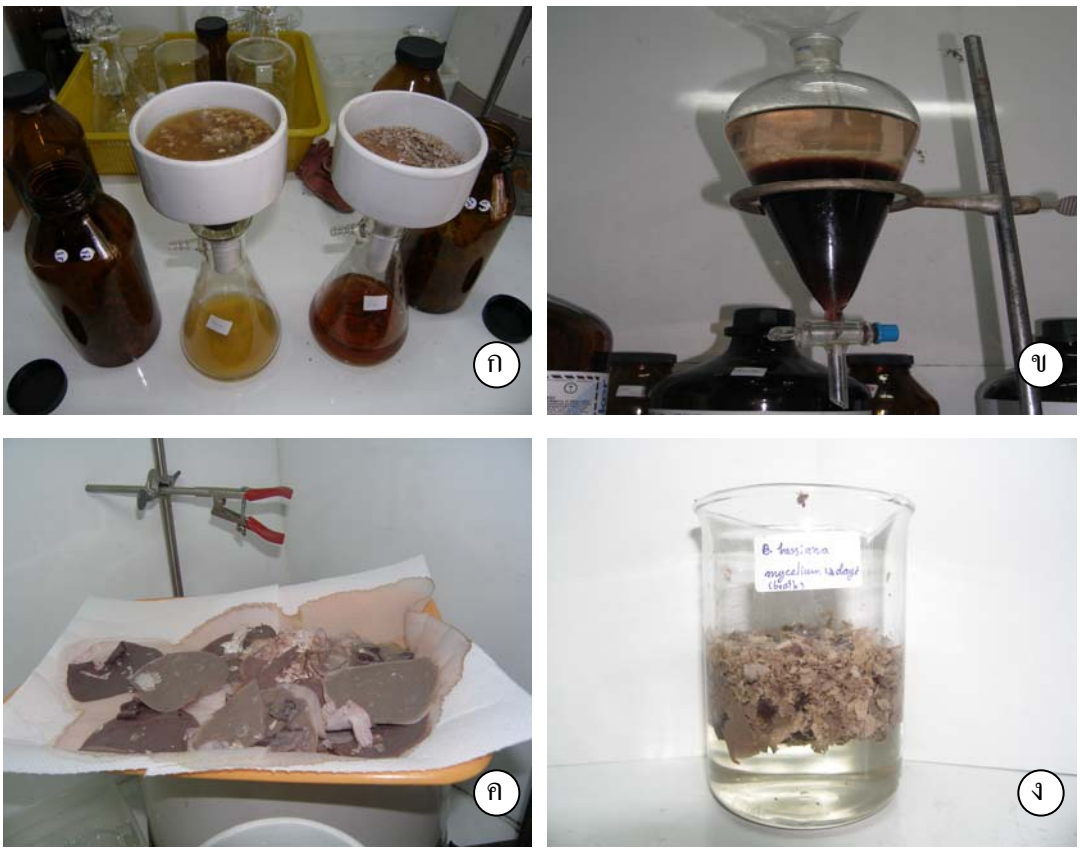
ภาพที่ 3 ขั้นตอนการสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา

ก) แช่เชื้อราที่เพาะเลี้ยงด้วยปลายข้าวใน ethyl acetate

ข) กรองสารเมทาโบไลท์ซึ่งละลายอยู่ใน ethyl acetate โดยใช้กรวยกรองแบบ Buchner funnel

ค) การลดปริมาตรของสารสกัดเมทาโบไลท์ด้วยเครื่อง evaporator

ง) สารสกัดเข้มข้น (crude extract)



ภาพที่ 4 การแยกสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารเหลว

ก) กรองอาหารเหลวโดยใช้กรวยกรองแบบ Buchner funnel

ข) การสกัดสารใน ethyl acetate โดยใช้ separator funnel

ค) มวลชีวภาพตากแห้ง

ง) การแช่มวลชีวภาพตากแห้งใน methanol

2. การศึกษาประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา

2.1. การทดสอบสารเมทาโบไลท์กับไรแมงมุมสองจุด (*Tetranychus urticae* Koch)

เตรียมไรแมงมุมสองจุดเพื่อใช้ในการทดสอบสารเมทาโบไลท์ โดยตัดใบหม่อนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร วางบนจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรซึ่งมีสำลีเพื่อรักษาความสดของใบ จากนั้นปล่อยตัวเต็มวัยของไรแมงมุมสองจุดเพศเมียที่มีอายุประมาณ 1-2 วัน จำนวน 20 ตัว/ใบ ทำการพ่นสารสกัดหยาบเข้มข้น 3%, 5% หรือ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก หรือ น้ำหนัก/ปริมาตร) ให้ถูกตัวไรโดยตรง (direct spray method) โดยใช้กระบอกฉีดน้ำหอมขนาดเล็ก พ่นสารสกัดหยาบจำนวน 200 ไมโครลิตร/ใบ สำหรับไรในชุดควบคุมได้รับการฉีดพ่นด้วย ethanol ซึ่งเป็นตัวทำละลายในปริมาณที่เท่ากัน บันทึกจำนวนไรตาย ไรที่หนีออกจากใบและไข่ของไรหลังการพ่นสาร 1, 2 และ 3 วัน นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SAS และใช้ LSD (Least significant difference) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกรรมวิธี (ทำการทดลองกรรมวิธีละ 5 ซ้ำ)

2.2. การทดสอบสารเมทาโบไลท์กับไรแมงมุมสองจุด (*Tetranychus urticae* Koch) บนต้นถั่วดำ

คัดเลือกสารเมทาโบไลท์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราในปลายข้าวและอาหารเหลวซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการทำลายไรแมงมุมสองจุดจากผลการทดลองข้อ 2.1 อย่างละ 1 ไอโซเลท มาทำการทดสอบกับไรแมงมุมสองจุดบนต้นถั่วดำ โดยการปล่อยไรจำนวน 100 ตัว/ต้นถั่วดำอายุ 2 สัปดาห์ ก่อนการทดลอง เป็นเวลา 1 สัปดาห์เพื่อให้ไรแพร่ระบาดเต็มต้น จากนั้นฉีดพ่นสารเมทาโบไลท์ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จำนวน 3 มิลลิลิตร/ต้น ไรในชุดควบคุมได้รับการฉีดพ่นด้วย ethanol จำนวน 3 มิลลิลิตร/ต้น บันทึกจำนวนไรทุกวัยที่อยู่รอดหลังการพ่นสารเมทาโบไลท์เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เมื่อครบ 3 สัปดาห์หลังการฉีดพ่น ทำการบันทึกจำนวนไรทุกวัยที่อยู่รอดและไข่ของไรอีกครั้งหนึ่ง จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SAS และใช้ LSD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (ทำการทดลองกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ)

สถานที่และระยะเวลาทำการศึกษา

3. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ระยะเวลาในการทำการทดลอง

เริ่มทดลอง เดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ.2549
สิ้นสุด เดือน มกราคม พ.ศ.2550

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลอง

1. การสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา

การเปรียบเทียบปริมาณของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราซึ่งเลี้ยงในปลายข้าวและในอาหารเหลว รวมทั้งการนำเส้นใยของเชื้อราที่ได้จากอาหารเหลว มาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ พบว่าปริมาณสารเมทาโบไลท์ที่ได้จากเชื้อราชนิดต่างๆ จะแตกต่างกัน

ผลการสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราจำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* # 2539, *M. anisopliae* # 2481, *H. thompsonii* # 13970, *H. thompsonii* # 13005 และ *B. bassiana* # 2119 พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ให้ปริมาณสารเมทาโบไลท์มากกว่าเชื้อราไอโซเลทอื่นๆในทุกวิธีการสกัด ยกเว้นการสกัดสารจากมวลชีวภาพอบแห้งของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 โดยใช้ dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol จะได้ปริมาณสารเมทาโบไลท์มากกว่าเชื้อราชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ (0.22 กรัม/มวลชีวภาพอบแห้ง 100 กรัม) ในขณะที่สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพอบแห้งของเชื้อราชนิดอื่นๆ ซึ่งได้จากการสกัดด้วยวิธีเดียวกัน ให้สารเมทาโบไลท์เพียง 0.05-0.06 กรัม เท่านั้น (ตารางที่ 1)

วิธีการสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราในปลายข้าวโดยใช้ ethyl acetate จะได้ปริมาณสารเมทาโบไลท์ใกล้เคียงกับการสกัดสารจากอาหารเหลวที่กรองแยกมวลชีวภาพออกแล้ว (crude filtrate) ยกเว้นสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 และ # 2481 ที่ได้จากปลายข้าวโดยการสกัดด้วย ethyl acetate และสกัดต่อเนื่องด้วย acetone จะมีปริมาณค่อนข้างสูงกว่าสารเมทาโบไลท์ที่ได้จากอาหารเหลว ส่วนการสกัดสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพอบแห้งส่วนใหญ่จะได้ปริมาณของสารน้อยกว่าวิธีการอื่น ยกเว้นมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119

เมื่อคำนวณต้นทุนการเลี้ยงเชื้อราพบว่า การเลี้ยงเชื้อราในปลายข้าวใช้ต้นทุนประมาณ 2.03 บาท/ปลายข้าว 100 กรัม ขณะที่การเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวใช้ต้นทุนประมาณ 9.53 บาท/อาหารเหลว 100 กรัม และต้องใช้พลังงานไฟฟ้าในการเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นการผลิตสารเมทาโบไลท์โดยการเลี้ยงเชื้อราในปลายข้าว นอกจากจะได้สารในปริมาณที่มากกว่า (*M. anisopliae* # 2539 และ # 2481)

หรือใกล้เคียงกับสารเมทาโบไลท์ที่ได้จากอาหารเหลวแล้ว ยังใช้ต้นทุนในการผลิตที่ต่ำกว่าอีกด้วย อย่างไรก็ดีการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวเพื่อสกัดสารเมทาโบไลท์ยังมีผลพลอยได้คือ มวลชีวภาพ ซึ่งปรากฏว่าเมื่อนำมาสกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol จะทำให้ได้ปริมาณสารเมทาโบไลท์เพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 น้ำหนักของสารเมทาโบไลท์ (กรัม) ซึ่งได้จากการเลี้ยงเชื้อราในปลายข้าวและอาหารเหลว เป็นเวลา 14 วัน (อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 ± 5 เปอร์เซ็นต์)

เชื้อรา	ปลายข้าว (100 กรัม)	crude filtrate (100 กรัม)	มวลชีวภาพตากแห้ง (100 กรัม)	
	ethyl acetate	ethyl acetate	dichloromethane	methanol
M. anisopliae # 2539	0.19 b*	0.11 b	0.06 b	0.05 c
M. anisopliae # 2481	0.22 a*	0.14 a	0.08 a	0.06 b
H. thompsonii # 13970	0.09 c	0.08 d	0.05 c	0.05 c
H. thompsonii # 13005	0.08 d	0.09 c	0.06 b	0.06 b
B. bassiana # 2119	0.04 e	0.06 e	0.06 b	0.22 a

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)

*สารเมทาโบไลท์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราในปลายข้าวและสกัดด้วย ethyl acetate ต่อเนื่องด้วย acetone

ผลการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า การผลิตสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539, *M. anisopliae* # 2481, *H. thompsonii* # 13970 และ *H. thompsonii* # 13005 ควรเลือกใช้วิธีเลี้ยงในปลายข้าวและสกัดด้วย ethyl acetate ส่วนเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ควรใช้วิธีเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวและนำมวลชีวภาพตากแห้งมาสกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol จึงจะได้ปริมาณสารมากที่สุด

2. การศึกษาประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา

2.1. การทดสอบสารเมทาโบไลท์กับไรแมงมุมสองจุด

2.1.1. การศึกษาประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราในปลายข้าว

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทุกไอโซเลทต่อไรแมงมุมสองจุดโดยการสัมผัส ด้วยการพ่นสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จำนวน 200 ไมโครลิตรต่อใบหม่อนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร ซึ่งมีไรแมงมุมสองจุดจำนวน 20 ตัว/ใบ ไรในชุดควบคุมได้รับสาร ethanol ในปริมาณเท่ากัน พบว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทุกไอโซเลทสามารถลดประชากรและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดได้มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2-6)

เมื่อนำสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในปลายข้าวมาฉีดพ่นให้ถูกตัวไรแมงมุมสองจุดซึ่งอยู่บนใบโดยตรง พบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรแมงมุมสองจุดตาย 48 และ 66% และไล่ไรให้ตกจากใบ 26 และ 21% ในวันแรกของการทดลอง ส่วนไรในชุดควบคุมยังคงอยู่บนใบพืชตามปกติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 นอกจากจะมีฤทธิ์ในการฆ่าไรโดยตรงแล้ว ยังมีฤทธิ์ในการไล่ไรออกจากใบ (repellant) อีกด้วย ดังนั้นในวันแรกของการทดลองจึงพบว่ามีไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 เข้มข้น 3 และ 5% อยู่รอดเพียง 26 และ 13% ตามลำดับ สำหรับการใช้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ฉีดพ่นไร ทำให้ไรตาย 100% ในวันแรกของการทดลอง

ในวันที่ 2 ของการทดลองไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะมีอัตราการตายและหนีจากใบเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จึงทำให้มีไรอยู่รอด 15% และในวันที่ 3 ของการทดลองพบว่า มีไร

หนีจากใบเพิ่มขึ้นจาก 30% เป็น 31% ในขณะที่อัตราการตายยังคงเดิมคือ 55% ส่วนไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีอัตราการตายคงที่ตลอดการทดลองและมีการหนีจากใบเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยในวันที่ 2 ของการทดลอง

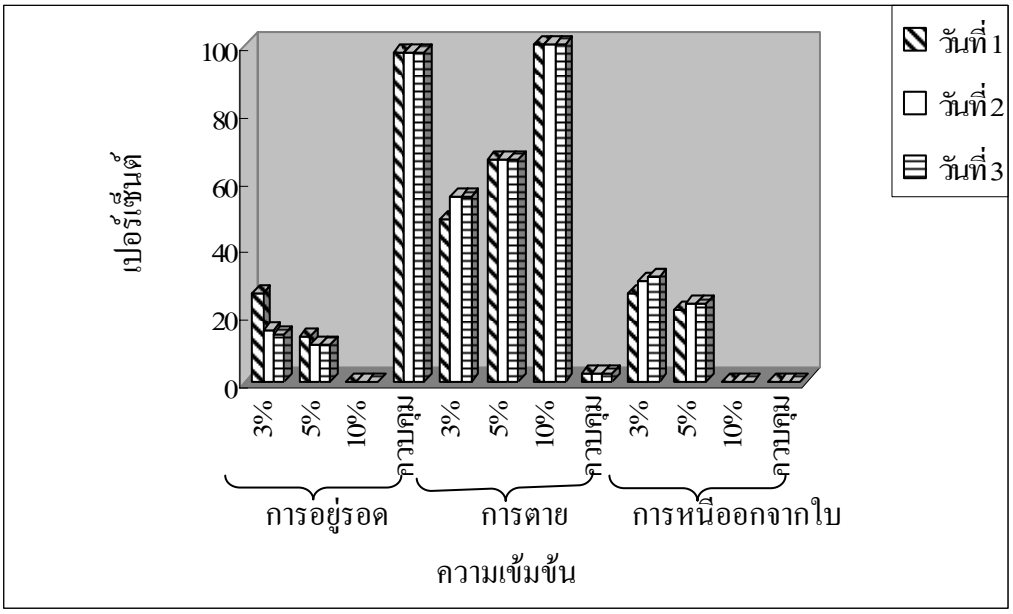
เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% มีประสิทธิภาพในการฆ่าและไล่ไรไม่แตกต่างกัน โดยฆ่าไรได้ 55 และ 66% และขับไล่ไรออกจากใบ 31 และ 23% ตามลำดับ ส่งผลให้ไรมีอัตราการอยู่รอดเพียง 11-14% เท่านั้น ส่วนการใช้สารเมทาโบไลท์ที่ระดับความเข้มข้นสูงถึง 10% จะแสดงฤทธิ์ในการฆ่าไรเพียงอย่างเดียวโดยทำให้ไรตาย 100%

เมื่อตรวจนับจำนวนไข่ไรแมงมุมสองจุดในวันแรกของการทดลองพบว่า ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% วางไข่ได้มากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% (44.6 และ 15.6 ฟองโดยเฉลี่ย) แต่น้อยกว่าปริมาณไข่ของไรในชุดควบคุมซึ่งมีจำนวนสูงถึง 100.8 ฟองโดยเฉลี่ย เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% จะผลิตไข่ได้ไม่แตกต่างกัน โดยวางไข่เฉลี่ย 102.2 และ 67.8 ฟอง ตามลำดับ ขณะที่ไรในชุดควบคุมมีจำนวนไข่มากถึง 483.2 ฟองโดยเฉลี่ย (ตารางที่ 2, ภาพที่ 5 และ 6) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไข่โดยรวมของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% กับไข่ของไรในชุดควบคุมจะเห็นว่า จำนวนไข่ของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% ลดลงถึง 78.85 และ 85.97% ตามลำดับ

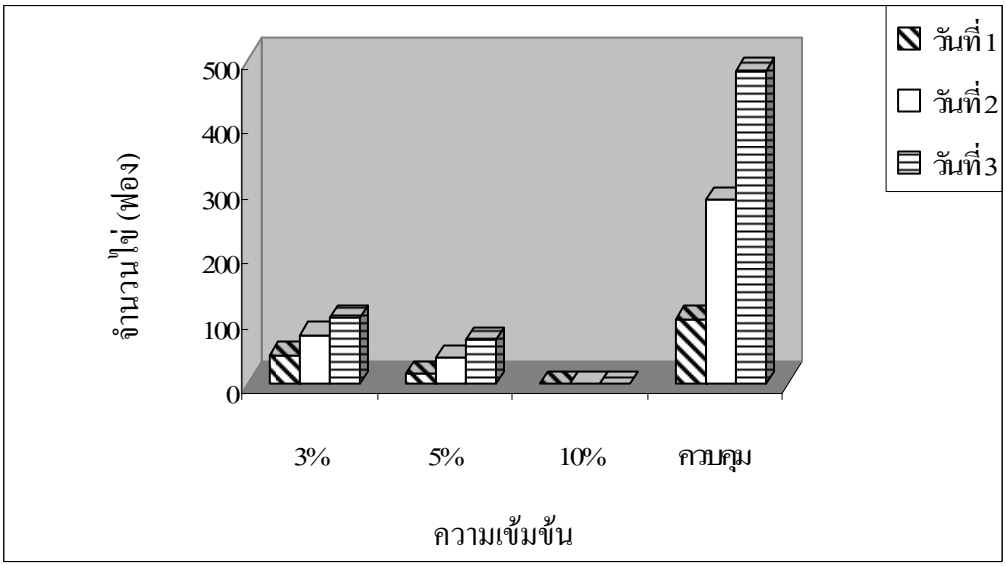
ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในปลายข้าว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate และสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	26 (14.75) b	48 (12.55) c	26 (04.18) a	44.6 (26.10) b
	5%	13 (08.37) c	66 (13.87) b	21 (06.52) a	15.6 (09.13) c
	10%	0 (00.00) d	100 (00.00) a	0 (00.00) b	0.0 (00.00) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) d	0 (00.00) b	100.8 (03.11) a
2	3%	15 (14.58) b	55 (12.75) b	30 (05.00) a	75.4 (60.24) b
	5%	11 (06.52) b	66 (13.87) b	23 (08.37) a	40.6 (23.29) bc
	10%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) b	0.0 (00.00) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) b	283.4 (45.29) a
3	3%	14 (14.75) b	55 (12.75) b	31 (06.52) a	102.2 (86.81) b
	5%	11 (06.52) b	66 (13.87) b	23 (08.37) a	67.8 (37.67) bc
	10%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) b	0.0 (00.00) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) b	483.2 (46.32) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 5 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate และสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 6 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate และสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน

สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในปลายข้าวเข้มข้น 3, 5 และ 10% ทำให้ไรแมงมุมสองจุดตายในอัตราที่แตกต่างกัน ในวันแรกของการทดลอง สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% จะออกฤทธิ์โดยทำให้ไรตายและขับไล่ไรออกจากใบพืช โดยที่สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ทำให้ไรตาย 33% และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นเป็น 5% จะพบว่าไรมีอัตราการตายมากกว่าที่ระดับความเข้มข้น 3% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยตายมากถึง 57% นอกจากนั้นไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% มีอัตราการหนีออกจากใบที่แตกต่างกัน โดยทำให้ไรหนี 20 และ 23% ตามลำดับ ขณะที่ไรในชุดควบคุมยังคงอยู่บนใบพืชตามปกติ ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ทำให้ไรตายถึง 98% และไม่พบไรหนีออกจากใบ

เมื่อพิจารณาจำนวนไรรอดชีวิตในวันแรกของการทดลองพบว่า ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีอัตราการอยู่รอดสูงถึง 47% ขณะที่ไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีอัตราการอยู่รอดเพียง 20% ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ที่มีอัตราการอยู่รอดเพียง 2% (ตารางที่ 3) ส่วนไรในชุดควบคุมมีอัตราอยู่รอดสูงถึง 98%

ในวันที่ 2 ของการทดลองกลุ่มไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีอัตราการตายเพิ่มจาก 33% เป็น 34% และมีอัตราการหนีออกจากใบเพิ่มจาก 20% เป็น 22% ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 5% ไรจะมีอัตราการตายเพิ่มจาก 57% เป็น 60% และมีอัตราการหนีออกจากใบเพิ่มจาก 23% เป็น 25% และที่ระดับความเข้มข้น 10% ไรมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (99%) และมีไรหนีออกจากใบ 1% ทำให้ไม่มีไรรอดชีวิต

ในวันที่ 3 ของการทดลองไรในทุกกรรมวิธีมีอัตราการตายและหนีออกจากใบคงที่เช่นเดียวกับวันที่ 2 ของการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีอัตราไรอยู่รอดมากที่สุดคือ 44% ส่วนไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีอัตราอยู่รอดเพียง 15% และกลุ่มไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ไม่มีไรรอดชีวิต ตั้งแต่วันที่ 2 ของการทดลอง ดังนั้นสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 เข้มข้น 10% จึงมีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมปริมาณไรแมงมุมสองจุดโดยออกฤทธิ์เป็นสารฆ่าไร ในขณะที่สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% จะออกฤทธิ์ในการฆ่าและไล่ไรไปพร้อมๆ กัน

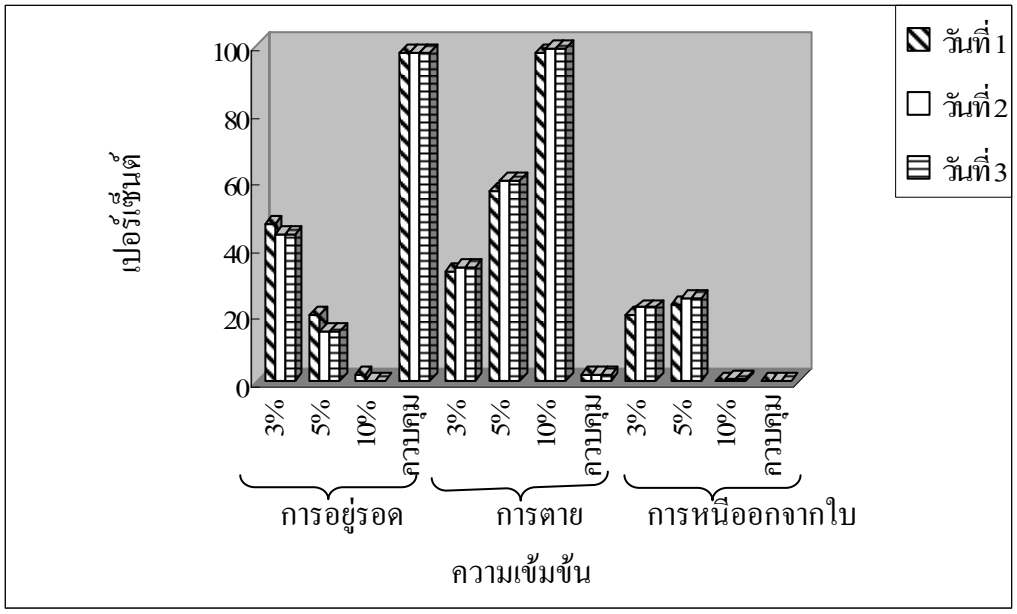
ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์ 3% จะวางไข่มากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์ 5% ตลอดการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีปริมาณไข่เฉลี่ย 90.2 ฟอง ซึ่งต่ำกว่าปริมาณไข่ของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% (189 ฟองโดยเฉลี่ย) (ตารางที่ 3, ภาพที่ 7 และ 8)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไข่ของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 เข้มข้น 3 และ 5% กับไข่ของไรในชุดควบคุม พบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีปริมาณไข่ลดลงถึง 79.65% ขณะที่ไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะวางไข่ลดลง 57.36%

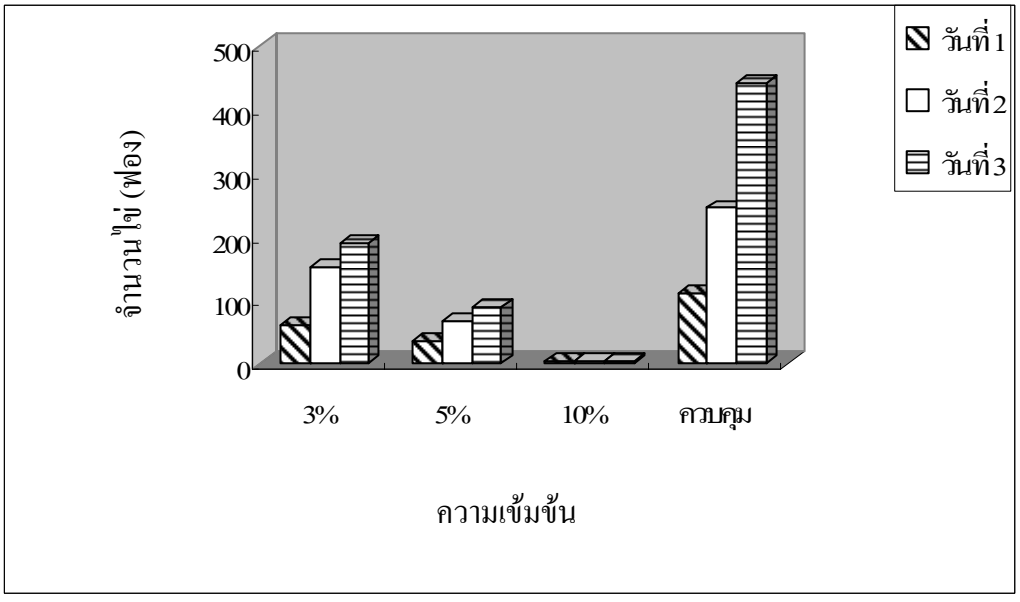
ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในปลายข้าว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate และสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	47 (10.37) b	33 (10.37) c	20 (03.54) b	59.6 (24.46) b
	5%	20 (09.35) c	57 (07.58) b	23 (02.74) a	34.8 (10.94) c
	10%	2 (04.47) d	98 (04.47) a	0 (00.00) c	5.0 (07.55) d
	ควบคุม	98 (02.24) a	2 (02.74) d	0 (00.00) c	100.8 (03.11) a
2	3%	44 (09.62) b	34 (10.25) c	22 (02.74) b	152.2 (49.04) b
	5%	15 (07.91) c	60 (07.91) b	25 (00.00) a	66.8 (28.73) c
	10%	0 (00.00) d	99 (02.24) a	1 (02.24) c	5.0 (07.55) d
	ควบคุม	98 (02.24) a	2 (02.74) d	0 (00.00) c	283.4 (45.29) a
3	3%	44 (09.62) b	34 (10.25) c	22 (02.74) b	189.0 (43.66) b
	5%	15 (07.91) c	60 (07.91) b	25 (00.00) a	90.2 (38.45) c
	10%	0 (00.00) d	99 (02.24) a	1 (02.24) c	5.0 (07.55) d
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) b	483.2 (46.32) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 7 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate และสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 8 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์สกัดจากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate และสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน

การใช้สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในปลายข้าวเข้มข้น 3, 5 และ 10% ฉีดพ่นบนไรแมงมุมสองจุด พบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% แสดงประสิทธิภาพทั้งฆ่าและไล่ไร โดยในวันแรกของการทดลองไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 เข้มข้น 3% มีอัตราการตาย 39% ซึ่งต่ำกว่าอัตราการตายของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% (57%) อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ดีสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรหนีออกจากใบในอัตราที่ไม่แตกต่างกันคือ 24 และ 21% ตามลำดับ ดังนั้นในวันแรกของการทดลองพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีอัตราการอยู่รอดสูงถึง 37% ในขณะที่กลุ่มไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีไรอยู่รอดน้อยกว่าคือ 22% สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ทำให้ไรตาย 91% และไล่ไรออกจากใบ 9% จึงไม่มีไรรอดชีวิตในวันแรกของการทดลอง

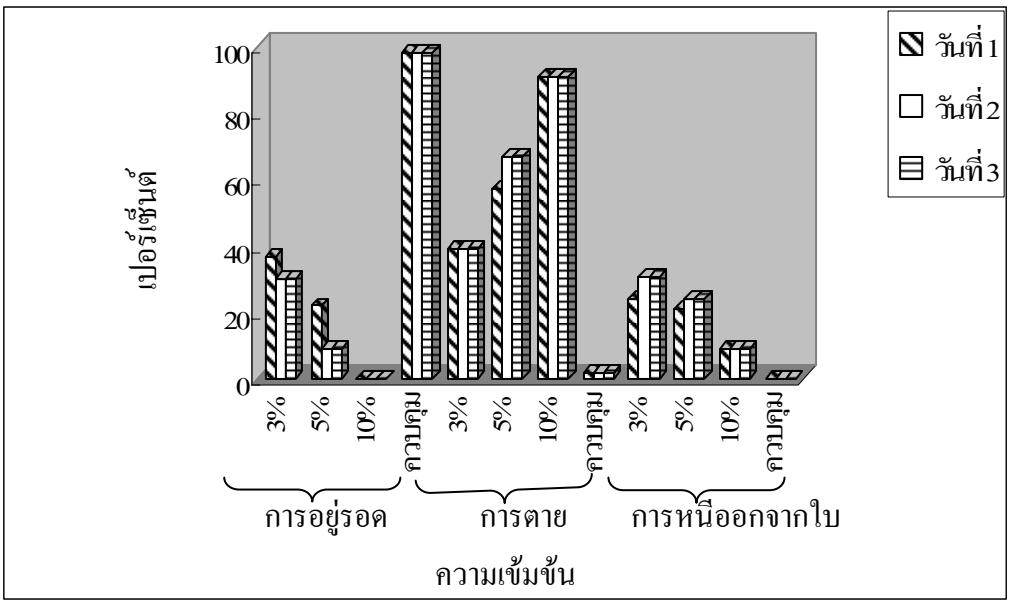
ในวันที่ 2 ของการทดลองไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ยังคงมีอัตราการตายคงที่ (39%) แต่จะมีอัตราการหนีออกจากใบเพิ่มขึ้นจาก 24% เป็น 31% ทำให้มีจำนวนไรเหลืออยู่บนใบเพียง 30% ในขณะที่ไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีจำนวนไรรอดชีวิตลดลงมาก เนื่องจากสารเมทาโบไลท์ทำให้ไรตายและหนีออกจากใบมากขึ้น (67.7 และ 24% ตามลำดับ) จึงทำให้มีไรอยู่รอดเพียง 9% และจะคงอยู่เช่นนั้นจนสิ้นสุดการทดลอง

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ทำให้ไรตายสูงสุดคือ 91% โดยไม่มีไรอยู่รอดบนใบตั้งแต่วันแรกของการทดลอง เนื่องจากไรหนีออกจากใบ 9% แต่ยังพบไข่บนใบเฉลี่ย 5.8 ฟองตั้งแต่วันแรกของการทดลอง ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีประสิทธิภาพสูงกว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบไรอยู่รอดเมื่อสิ้นสุดการทดลองเพียง 9% ขณะที่ไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะมีอัตราการอยู่รอดสูงถึง 30% อย่างไรก็ดี เมื่อพิจารณาปริมาณไข่ของไรกลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% แล้ว พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีปริมาณไข่เพียง 180 และ 81.8 ฟองโดยเฉลี่ยหรือวางไข่ลดลง 62.75 และ 83.07% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 4, ภาพที่ 9 และ 10)

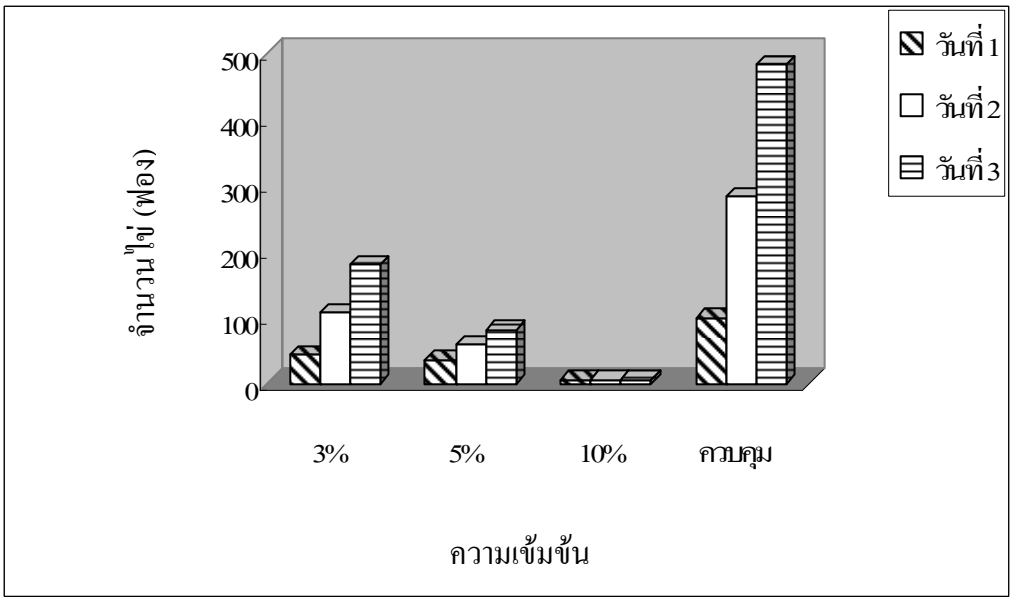
ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในปลายข้าว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	37 (19.24) b	39 (19.81) c	24 (04.18) a	44.2 (19.41) b
	5%	22 (10.37) c	57 (06.71) b	21 (04.18) a	37.6 (20.40) b
	10%	0 (00.00) d	91 (04.18) a	9 (04.18) b	5.8 (08.14) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) d	0 (00.00) c	100.8 (03.11) a
2	3%	30 (17.68) b	39 (19.81) c	31 (07.42) a	108.0 (49.89) b
	5%	9 (04.18) c	67 (05.70) b	24 (02.24) b	60.0 (28.44) b
	10%	0 (00.00) d	91 (04.18) a	9 (04.18) c	5.8 (08.14) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) d	0 (00.00) d	283.4 (45.29) a
3	3%	30 (17.68) b	39 (19.81) c	31 (07.42) a	180.0 (77.28) b
	5%	9 (04.18) c	67 (05.70) b	24 (02.24) b	81.8 (49.71) c
	10%	0 (00.00) d	91 (04.18) a	9 (04.18) c	5.8 (08.14) d
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) b	483.2 (46.32) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 9 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 10 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์สกัดจากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน

สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในปลายข้าว เข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรมีอัตราการตายแตกต่างกันคือ 23 และ 56% ตามลำดับ ในวันแรกของการทดลอง อย่างไรก็ตามสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% สามารถไล่ไรให้หนีออกจากใบได้ไม่ต่างกันคือ 30 และ 23% ตามลำดับ ดังนั้นในวันแรกของการทดลองพบว่าไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีอัตราการอยู่รอดสูงถึง 47% ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% ซึ่งมีอัตราการอยู่รอดเพียง 21% เท่านั้น ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ทำให้ไรตาย 88% และหนีออกจากใบ 9% ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง จึงมีไรอยู่รอดเพียง 3%

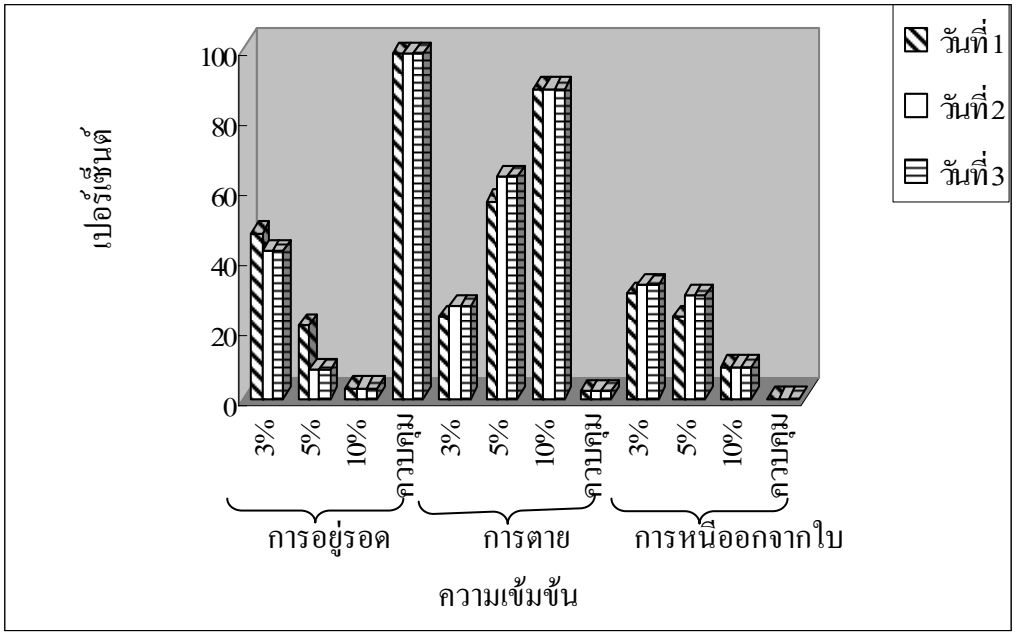
ในวันที่ 2 ของการทดลองไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% มีอัตราการตายและหนีออกจากใบเพิ่มขึ้น โดยอัตราการตายของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% (63%) ยังคงสูงกว่าที่ความเข้มข้น 3% (26%) ส่วนอัตราการหนีออกจากใบของไรทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกับทางสถิติ (32 และ 29% ตามลำดับ) ทำให้อัตราการอยู่รอดของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีเพียง 8% ซึ่งต่ำกว่าอัตราการอยู่รอดของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% (42%) อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนอัตราการตายและหนีออกจากใบของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% จะคงที่จนสิ้นสุดการทดลอง

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% ทำให้ไรมีอัตราการรอดที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีอัตราการรอด 8 และ 3% ตามลำดับ อย่างไรก็ดีสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% จะออกฤทธิ์ในการฆ่าไร 63% และไล่ไร 29% ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% จะออกฤทธิ์ในการฆ่าไรมากกว่าไล่ไรออกจากใบ ส่วนการใช้สารเมทาโบไลท์เข้มข้นเพียง 3% จะทำให้ยังมีไรอยู่รอดสูงถึง 42% และมีปริมาณไข่เฉลี่ย 240 ฟองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในขณะที่ไรในชุดควบคุมวางไข่ 483.2 ฟองโดยเฉลี่ยหรือทำให้ปริมาณไข่ลดลง 50.33% ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีผลทำให้อัตราการวางไข่ลดลงถึง 87.04% โดยพบไข่จำนวน 62.6 ฟองโดยเฉลี่ย ส่วนไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% จะวางไข่ได้เพียง 16.8 ฟองโดยเฉลี่ย หรือมีจำนวนไข่ลดลงถึง 96.52% (ตารางที่ 5, ภาพที่ 11 และ 12)

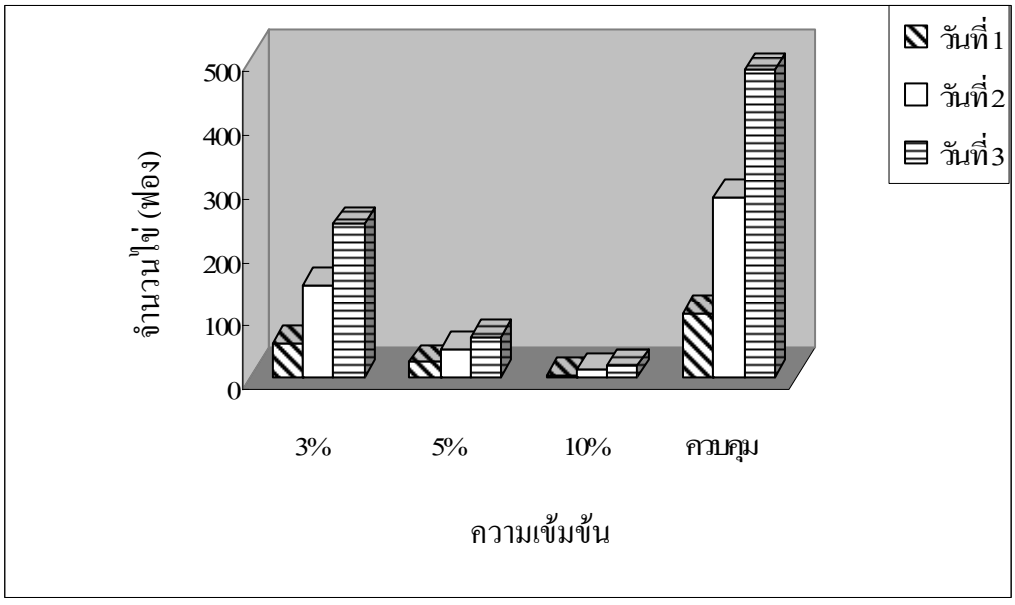
ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในปลายข้าว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	47 (09.75) b	23 (12.04) c	30 (09.35) a	52.6 (17.80) b
	5%	21 (04.18) c	56 (04.18) b	23 (02.74) a	23.4 (05.22) c
	10%	3 (04.47) d	88 (12.55) a	9 (08.94) b	3.4 (05.27) d
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) b	100.8 (03.11) a
2	3%	42 (13.04) b	26 (17.82) c	32 (11.51) a	144.4 (30.42) b
	5%	8 (07.58) c	63 (05.70) b	29 (04.18) a	43.4 (18.04) c
	10%	3 (04.47) c	88 (12.55) a	9 (08.94) b	10.4 (15.32) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) d	0 (00.00) b	283.4 (45.29) a
3	3%	42 (13.04) b	26 (17.82) c	32 (11.51) a	240.0 (59.27) b
	5%	8 (07.58) c	63 (05.70) b	29 (04.18) a	62.6 (34.22) c
	10%	3 (04.47) c	88 (12.55) a	9 (08.94) b	16.8 (24.52) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) b	483.2 (46.32) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 11 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 12 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์สกัดจากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน

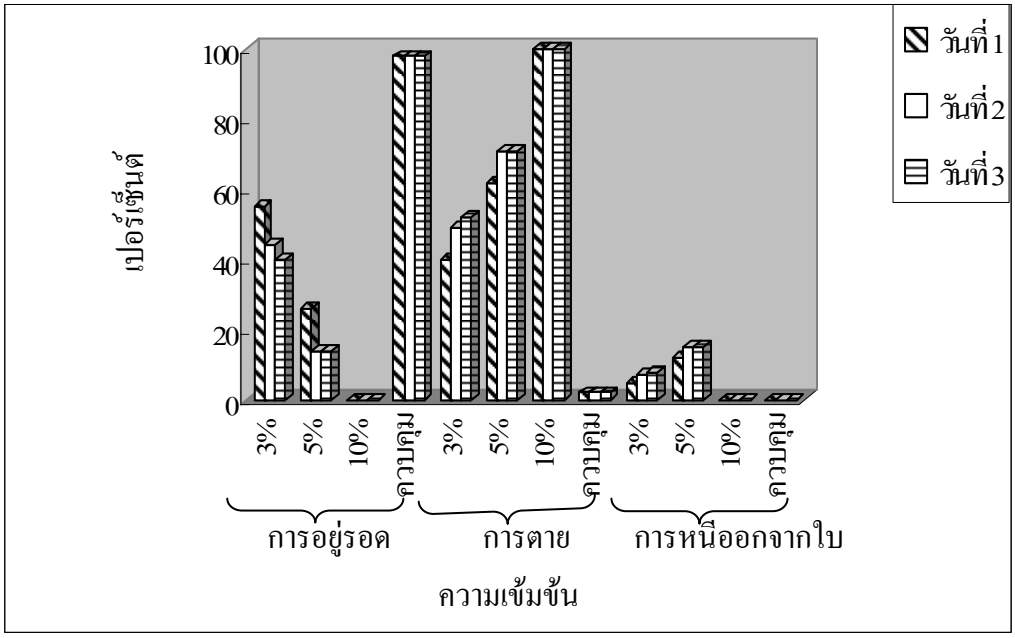
สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในปลายข้าวเข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรตายในอัตราที่แตกต่างกันตลอดการทดลอง โดยทำให้ไรมีอัตราการตายในวันแรกของการทดลอง 40 และ 62% ตามลำดับ อัตราการตายของไรจะสูงขึ้นในวันที่ 2 ของการทดลอง โดยสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ทำให้ไรตายโดยรวม 49% และสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% ทำให้ไรตายสูงขึ้นเป็น 71% เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีอัตราการตายเพิ่มขึ้นเป็น 52% ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% ซึ่งมีอัตราการตายสูงถึง 71% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารเมทาโบไลท์ที่ระดับความเข้มข้น 10% จะทำให้ไรตายในวันแรกของการทดลองเพียง 50% และเพิ่มขึ้นเป็น 66% ในวันที่ 2 ของการทดลอง จากนั้นอัตราการตายของไรจะคงที่จนสิ้นสุดการทดลอง

สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในปลายข้าวมีประสิทธิภาพในการไล่ไรค่อนข้างต่ำ โดยสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ไล่ไรได้เพียง 5-8% ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 5% จะสามารถไล่ไรได้ 12-15% และเมื่อใช้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% จะไล่ไรได้เพียง 17% ตลอดการทดลอง เมื่อพิจารณาการอยู่รอดของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในปลายข้าวพบว่าประชากรไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีอัตราการอยู่รอดสูงสุด (40%) ส่วนไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% มีไรอยู่รอดไม่แตกต่างกันคือ 14 และ 17% ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สำหรับจำนวนไข่ที่ไรแต่ละกลุ่มผลิตได้นั้นพบว่าไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% วางไข่ได้ 259.4 ฟองโดยเฉลี่ย ซึ่งเมื่อเทียบกับชุดควบคุมแล้วจะพบว่าไรวางไข่ลดลง 46.32% ส่วนไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% ผลิตไข่ได้ไม่แตกต่างกันคือ 91.4 และ 113.6 ฟองโดยเฉลี่ย หรือจะวางไข่ลดลงถึง 81.08 และ 76.49% ตามลำดับ (ตารางที่ 6, ภาพที่ 13 และ 14)

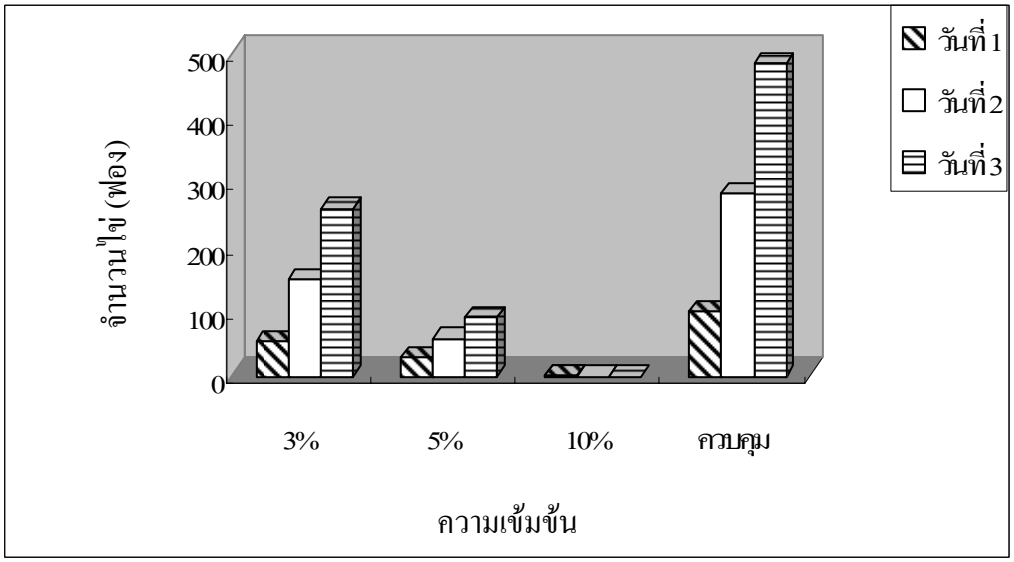
ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในปลายข้าว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	55 (03.54) b	40 (07.07) b	5 (03.54) c	53.0 (07.25) b
	5%	26 (05.48) c	62 (02.74) a	12 (02.74) ab	29.0 (06.12) c
	10%	33 (09.08) c	50 (17.68) ab	17 (10.37) a	38.4 (11.63) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	100.8 (03.11) a
2	3%	44 (08.94) b	49 (12.94) b	7 (05.70) bc	148.6 (23.56) b
	5%	14 (05.48) c	71 (06.52) a	15 (03.54) ab	58.4 (10.50) c
	10%	17 (10.37) c	66 (18.51) a	17 (10.37) a	73.3 (30.59) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	283.4 (45.29) a
3	3%	40 (07.07) b	52 (11.51) b	8 (07.58) bc	259.4 (48.30) b
	5%	14 (05.48) c	71 (06.52) a	15 (03.54) ab	91.4 (20.85) c
	10%	17 (10.37) c	66 (18.51) ab	17 (10.37) a	113.6 (52.89) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) b	483.2 (46.32) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 13 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน

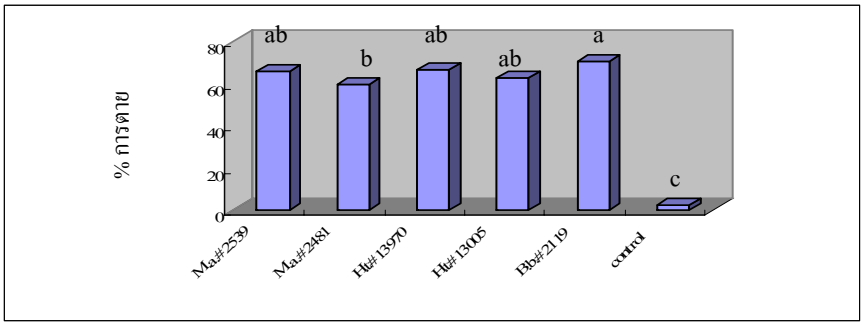


ภาพที่ 14 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน

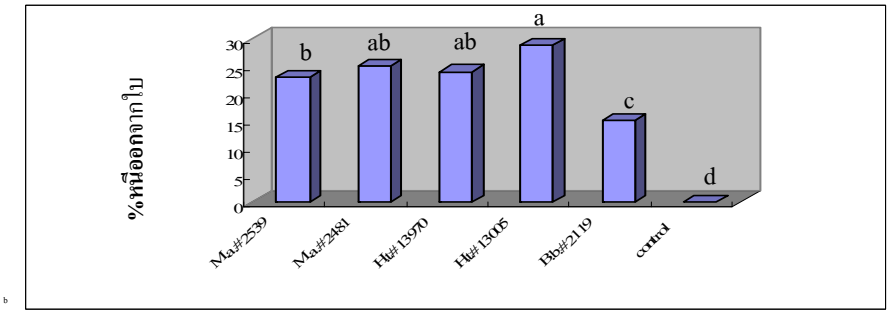
ผลการศึกษานี้สรุปได้ว่า สารเมทาโบไลท์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราด้วยปลายข้าวเป็นเวลา 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate เพียงอย่างเดียวหรือสกัดต่อเนื่องด้วย acetone) มีฤทธิ์ในการฆ่าและไล่ไรแมงมุมสองจุดแตกต่างกัน เมื่อทดสอบโดยการสัมผัส โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 10% สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ทำให้ไรตาย 100% ในวันแรกของการทดลอง ขณะที่สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481, *H. thompsonii* # 13970 และ #13005 ทำให้ไรตาย 98, 91 และ 88% ตามลำดับ ในวันแรกของการทดลอง นอกจากนั้นสารเมทาโบไลท์จาก เชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 และ # 13005 ยังไล่ไรออกจากใบได้อีก 9% ดังนั้นในวันแรกของการทดลองนี้ ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481, *H. thompsonii* # 13970 และ # 13005 เข้มข้น 10% จึงมีอัตราการอยู่รอดเพียง 2, 0 และ 3% ตามลำดับ ส่วนสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 เข้มข้น 10% มีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* และ *H. thompsonii* มาก โดยในวันแรกของการทดลอง พบว่ามีไรรอดชีวิตอยู่ถึง 33% และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ามีไรอยู่รอด 17% โดยมีอัตราการตาย 66% และหนีออกจากใบ 17% สารเมทาโบไลท์ที่ระดับความเข้มข้น 10% ออกฤทธิ์ในการฆ่าไรโดยตรงมากกว่าการไล่ไร

การใช้สารเมทาโบไลท์ที่มีความเข้มข้นสูงจะส่งผลกระทบต่อต้นทุนการผลิต จึงควรเลือกใช้สารเมทาโบไลท์ที่มีความเข้มข้นน้อยลงแต่ยังให้ผลดีเช่นกัน จากการศึกษานี้จึงสรุปได้ว่าควรเลือกใช้สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในปลายข้าวเข้มข้น 3% ส่วนสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481, *H. thompsonii* # 13970, *H. thompsonii* # 13005 และ *B. bassiana* # 2119 ควรใช้ที่ระดับความเข้มข้น 5% เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราแต่ละไอโซเลทจะทำให้ไรอยู่รอดในอัตราที่ไม่แตกต่างกัน (8-15%) โดยสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% ทำให้ไรตาย 60-71% นอกจากนั้นสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทุกไอโซเลทยกเว้นเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 จะขับไล่ไรออกจากใบในอัตราที่ใกล้เคียงกันคือ 23-29%

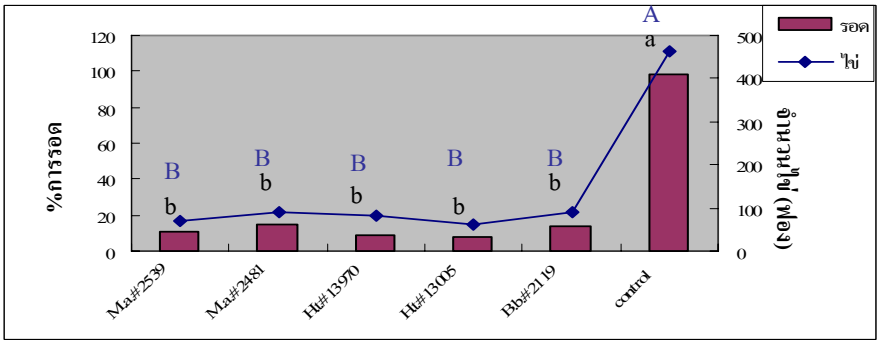
สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* และ *H. thompsonii* มีประสิทธิภาพในการฆ่าและไล่ไรส่วนสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 มีประสิทธิภาพในการไล่ไรต่ำกว่าเชื้อราไอโซเลทอื่นๆ โดยไล่ไรได้เพียง 15% แต่มีประสิทธิภาพในการฆ่าไรสูงถึง 71% จึงทำให้มีไรอยู่รอดเพียง 14% ซึ่งไม่แตกต่างจากอัตราการอยู่รอดของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราไอโซเลทอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา เมื่อพิจารณาจำนวนไข่ที่พบบนใบพืชหลังการทดลอง 3 วัน จะเห็นว่าการใช้สารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทุกไอโซเลท พบไข่บนใบพืชประมาณ 62.6-91.4 ฟองโดยเฉลี่ย ขณะที่ไรในชุดควบคุมวางไข่มากถึง 483.2 ฟองโดยเฉลี่ย ซึ่งจะเห็นได้ว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% จะลดอัตราการวางไข่ของไรถึง 81.08-87.04% ในวันสุดท้ายของการทดลอง (ภาพที่ 15-17)



ภาพที่ 15 อัตราการตายของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลทที่เลี้ยงด้วยปลายข้าว เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 16 อัตราการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลทที่เลี้ยงด้วยปลายข้าว เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 17 อัตราการรอดและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลทที่เลี้ยงด้วยปลายข้าว เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 3 วัน
(อักษรตัวใหญ่ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของไข่, อักษรตัวเล็ก เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนไรอยู่รอด)

2.1.2. การศึกษาประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์ที่ได้จากอาหารเหลว

2.1.2.1. การศึกษาประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate

การสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราซึ่งได้จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา โดยกรองแยกมวลชีวภาพของเชื้อราออกจากอาหารเหลว และนำ crude filtrate มาสกัดด้วย ethyl acetate โดยใช้ seperater funnel ก่อนนำไประเหย ethyl acetate ออกเพื่อให้ได้สารสกัดเข้มข้น 100% จากนั้นนำสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มาทดสอบประสิทธิภาพกับไรแมงมุมสองจุดโดยการสัมผัส ด้วยการพ่นสารเมทาโบไลท์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อใบหม่อนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร ซึ่งมีไรแมงมุมสองจุด 20 ตัว ไรในชุดควบคุมได้รับ ethanol ในจำนวนเท่ากัน พบว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทุกไอโซเลทสามารถลดประชากรและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดได้มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

สารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 เข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรแมงมุมสองจุดตายในอัตราที่แตกต่างกันคือ 55 และ 65% ในวันแรกของการทดลอง ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10% จะทำให้ไรตายมากที่สุดคือ 77% ในวันเดียวกันนี้พบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ไล่ไรได้เพียง 4% ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% จะไล่ไรออกจากใบได้มากกว่าคือ 11 และ 10% ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมไม่พบไรหนีออกจากใบซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 นอกจากจะมีฤทธิ์ในการฆ่าไรโดยตรงแล้ว ยังมีฤทธิ์ในการไล่ไรแต่ในอัตราที่ค่อนข้างต่ำ ดังนั้นในวันแรกของการทดลองจึงพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 เข้มข้น 3 และ 5% มีอัตราอยู่รอดที่แตกต่างกันคือ 41 และ 24% ตามลำดับ ในขณะที่ไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% มีอัตราอยู่รอดเพียง 13% เท่านั้น

ในวันที่ 2 ของการทดลองไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะมีอัตราการตายโดยรวมเพิ่มขึ้นเป็น 59% และหนีออกจากใบเพิ่มขึ้นเป็น 5% ส่วนไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีอัตราการตายโดยรวมเพิ่มขึ้นเป็น 67% แต่อัตราการหนีออกจากใบยังคงเท่าเดิม สำหรับอัตราการอยู่รอด อัตราการตาย และอัตราการหนีออกจากใบของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% จะคงเดิมตั้งแต่วันแรกจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง

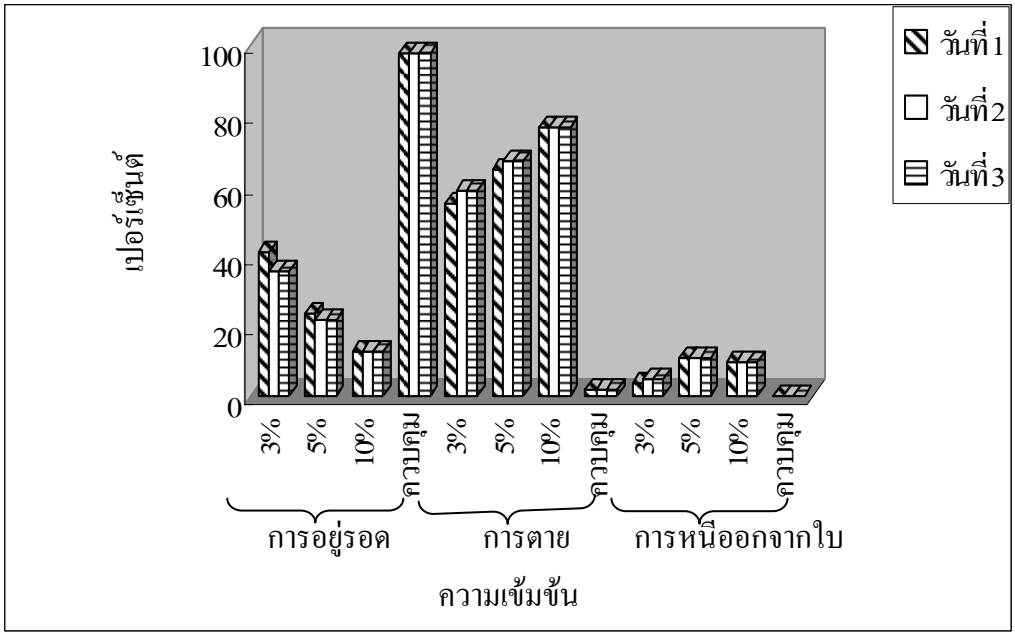
เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรตายในอัตราที่ไม่แตกต่างกัน (59 และ 67%) แต่ที่ระดับความเข้มข้น 5% จะมีไรหนีออกจากใบรวม 11% ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ซึ่งทำให้ไรหนีออกจากใบเพียง 5% เท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบอัตราการอยู่รอดของไรจะเห็นได้ว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% สามารถลดประชากรไรได้ไม่แตกต่างกันโดยมีไรอยู่รอด 22 และ 13% ตามลำดับ นอกจากนั้นสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% มีประสิทธิภาพในการไล่ไรออกจากใบไม่ต่างกัน โดยพบไรหนีออกจากใบ 11 และ 10% ตามลำดับ สาเหตุหลักที่ทำให้ไรอยู่รอดน้อยก็คือฤทธิ์ของสารเมทาโบไลท์ซึ่งสามารถฆ่าไรได้โดยตรงมากกว่าการไล่ โดยพบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% จะฆ่าไรได้ถึง 77% ซึ่งสูงกว่าอัตราการตายของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% แม้จะฆ่าไรได้ไม่แตกต่างจากที่ระดับความเข้มข้น 5% แต่สารมีประสิทธิภาพในการไล่น้อยมาก โดยไล่ไรเพียง 5% เท่านั้น จึงยังมีไรอยู่รอดเมื่อสิ้นสุดการทดลองถึง 36%

ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีจำนวนไข่ทั้งหมดโดยเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ (189.6 ฟอง) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ส่วนกลุ่มไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% มีปริมาณไข่ที่ไม่แตกต่างกันคือวางไข่ได้ 117 และ 83.8 ฟองโดยเฉลี่ย หรือวางไข่ลดลง 76.60 และ 83.25% ตามลำดับ (ตารางที่ 7, ภาพที่ 18 และ 19)

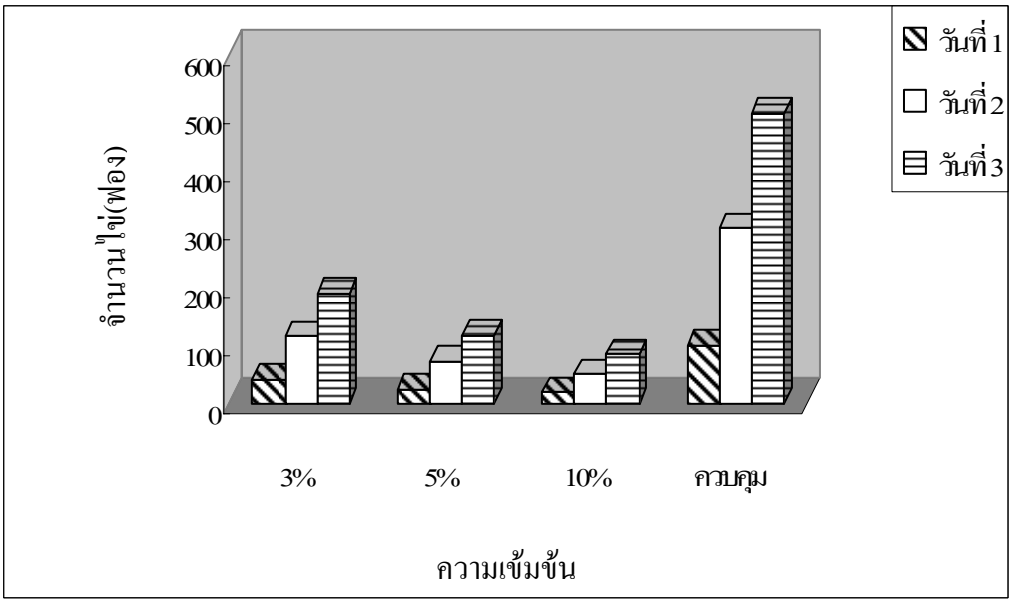
ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	41 (07.42) b	55 (07.91) c	4 (02.24) b	41.0 (08.92) b
	5%	24 (09.62) c	65 (06.12) b	11 (04.18) a	24.0 (11.00) c
	10%	13 (05.70) d	77 (05.70) a	10 (00.00) a	18.8 (07.26) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) d	0 (00.00) c	100.0 (04.64) a
2	3%	36 (11.40) b	59 (09.62) b	5 (03.54) b	114.2 (30.40) b
	5%	22 (10.37) c	67 (07.58) b	11 (04.18) a	72.2 (32.31) c
	10%	13 (05.70) c	77 (05.70) a	10 (00.00) a	50.4 (20.42) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	302.4 (09.29) a
3	3%	36 (11.40) b	59 (09.62) b	5 (03.54) b	189.6 (52.99) b
	5%	22 (10.37) c	67 (07.58) b	11 (04.18) a	117.0 (53.05) c
	10%	13 (05.70) c	77 (05.70) a	10 (00.00) a	83.8 (34.43) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	500.2 (14.58) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 18 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 19 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

สารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 เข้มข้น 3, 5 และ 10% ทำให้ไรแมงมุมสองจุดตายในอัตราที่แตกต่างกัน โดยในวันแรกของการทดลองไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% มีอัตราการตายใกล้เคียงและไม่แตกต่างกันคือ 65 และ 70% ตามลำดับ แต่สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% สามารถไล่ไรได้ 13% ซึ่งสูงกว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ซึ่งไล่ไรได้เพียง 9% เท่านั้น ในวันที่ 2 ของการทดลองพบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะฆ่าไรได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อย (66%) และคงอยู่ในอัตรานี้จนครบ 3 วัน นอกจากนั้นอัตราการหนีออกจากใบก็ยังคงอยู่ที่ระดับ 9% ตลอดการทดลองอีกด้วย ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% ทำให้ไรตายเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยแต่ไม่มีความแตกต่างกับอัตราการตายที่เกิดจากสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% และอัตรานี้จะคงที่จนสิ้นสุดการทดลองเช่นกัน

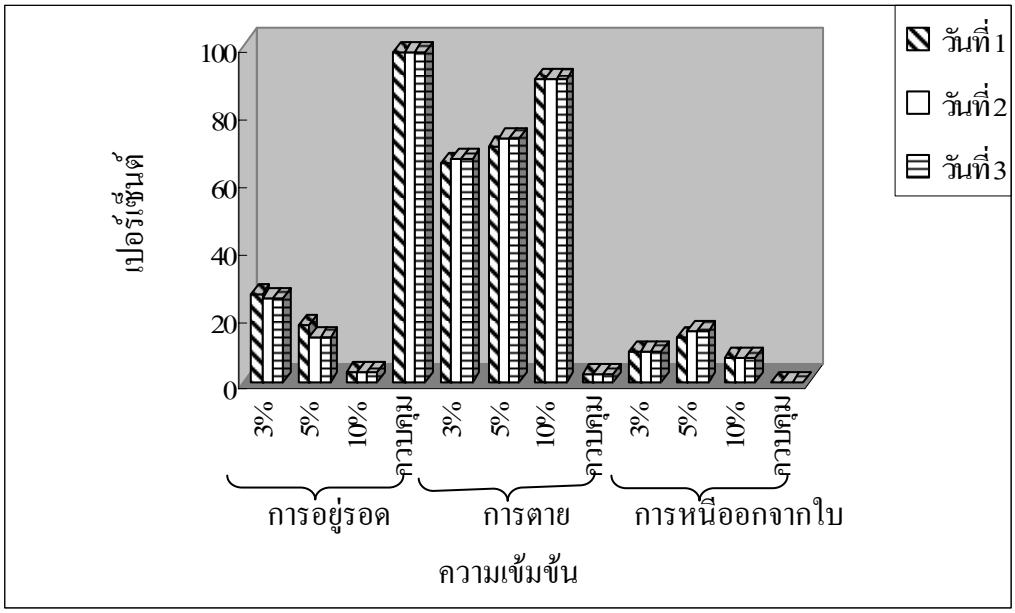
แม้ว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% จะทำให้ไรตายในวันที่ 2 และ 3 ของการทดลองไม่แตกต่างกัน (66 และ 72%) แต่ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีอัตราหนีออกจากใบสูงกว่ากลุ่มไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ดังนั้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองจึงพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีอัตราการอยู่รอดเพียง 13% ซึ่งแตกต่างจากไรกลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ที่มีไรอยู่รอดถึง 25% อย่างไรก็ดี ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 เข้มข้น 3 และ 5% จะลดปริมาณการวางไข่ได้มากถึง 73.89 และ 84.73% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ทำให้ไรตายมากที่สุดคือ 90% และหนีออกจากใบ 7% ในวันแรกของการทดลองและคงอยู่ในอัตรานี้จนสิ้นสุดการทดลอง ในขณะที่ไรชุดควบคุมยังคงอยู่บนใบพืช อัตราการอยู่รอดของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% จะคงที่จนสิ้นสุดการทดลอง (3%) โดยไรจะวางไข่ในวันแรกเฉลี่ย 3.6 ฟอง และเพิ่มขึ้นเป็น 17 ฟองโดยเฉลี่ยในวันสุดท้ายของการทดลอง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนไข่ในชุดควบคุมแล้ว (500.2 ฟองโดยเฉลี่ย) จะเห็นว่าไรมีอัตราวางไข่ลดลงถึง 96.60% ในวันสุดท้ายของการทดลอง (ตารางที่ 8, ภาพที่ 20 และ 21)

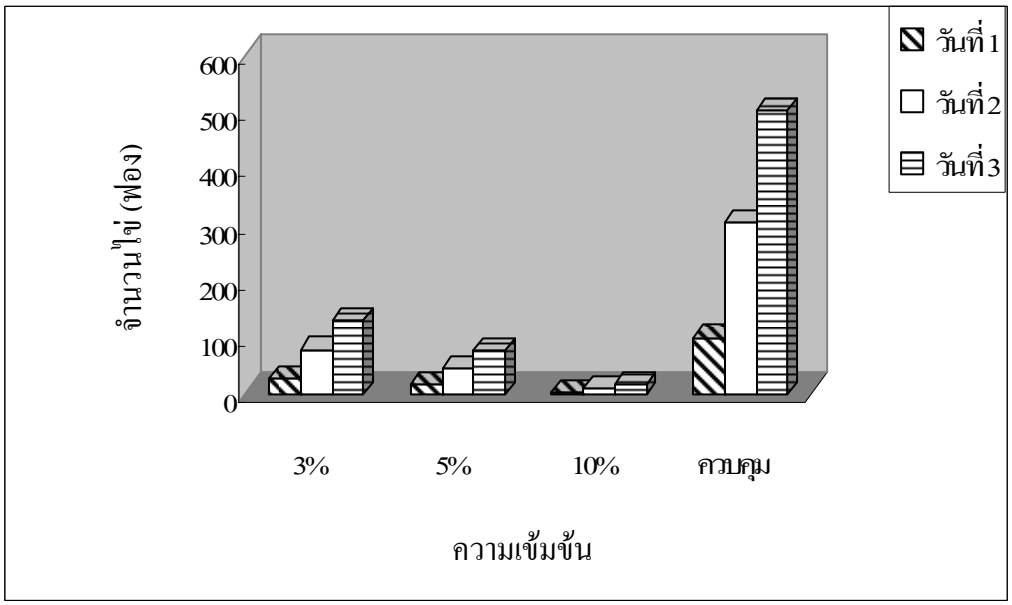
ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	26 (06.52) b	65 (07.07) b	9 (02.24) b	27.0 (07.58) b
	5%	17 (08.37) c	70 (05.00) b	13 (04.47) a	17.4 (07.27) c
	10%	3 (02.74) d	90 (03.54) a	7 (02.74) b	3.6 (03.78) d
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	100.0 (04.64) a
2	3%	25 (07.07) b	66 (08.22) b	9 (02.24) b	79.0 (22.67) b
	5%	13 (05.70) c	72 (05.70) b	15 (00.00) a	46.8 (19.03) c
	10%	3 (02.74) d	90 (03.54) a	7 (02.74) b	9.8 (09.52) d
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	302.4 (09.29) a
3	3%	25 (07.07) b	66 (08.22) b	9 (02.24) b	130.6 (38.84) b
	5%	13 (05.70) c	72 (05.70) b	15 (00.00) a	76.4 (30.14) c
	10%	3 (02.74) d	90 (03.54) a	7 (02.74) b	17.0 (16.55) d
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	500.2 (14.58) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 20 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 21 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

สารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 แสดงความเป็นพิษต่อไรแมงมุมสองจุดค่อนข้างต่ำ โดยที่ระดับความเข้มข้น 3, 5 และ 10% จะทำให้ไรตายในอัตราที่ใกล้เคียงกัน (39-49%) ในวันแรกของการทดลอง

ในวันที่ 2 ของการทดลองอัตราการตายของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3, 5 และ 10% ยังคงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% มีอัตราการตายสะสมเป็น 44 และ 46% ตามลำดับ ขณะที่ไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ยังคงมีอัตราการตายคงที่ (49%) จนสิ้นสุดการทดลอง

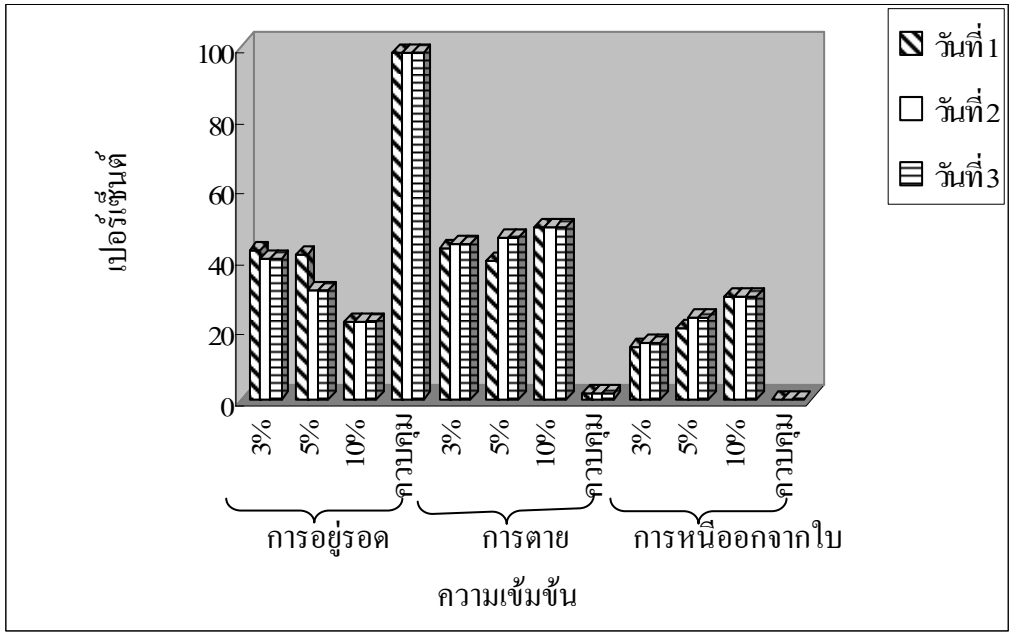
สารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 นอกจากจะมีประสิทธิภาพในการฆ่าไรแล้วยังสามารถไล่ไรได้อีกด้วย โดยพบว่าในวันแรกของการทดลองสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% ไล่ไรออกจากใบพืชได้ 15 และ 20% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% สามารถไล่ไรได้มากกว่า (29%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และอัตราการหนีออกจากใบจะคงที่จนสิ้นสุดการทดลอง ในวันที่ 2 ของการทดลองพบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรหนีออกจากใบเพิ่มขึ้นเป็น 16 และ 23% ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และยังคงอยู่ในระดับนี้จนสิ้นสุดการทดลอง

ในวันสุดท้ายของการทดลองสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 เข้มข้น 3 และ 5% มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน โดยสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ทำให้มีไรอยู่รอดถึง 40% และปริมาณไข่ลดลง 59.02% ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 5% ทำให้มีไรอยู่รอด 31% และปริมาณไข่ลดลง 66.01% นอกจากนั้นสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ทั้งในด้านการลดประชากรไรและปริมาณการวางไข่บนใบพืช นอกจากนั้นสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ยังมีประสิทธิภาพในการไล่ไรไม่แตกต่างจากสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% โดยไล่ไรออกจากใบพืชได้ 29 และ 23% ตามลำดับ (ตารางที่ 9, ภาพที่ 22 และ 23)

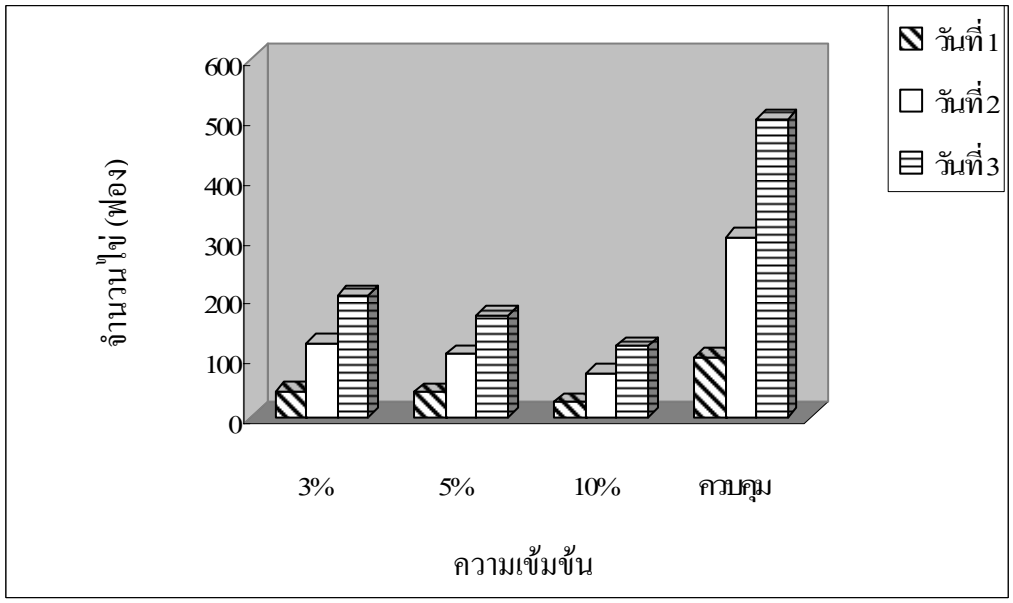
ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	42 (14.40) b	43 (05.70) ab	15 (09.35) b	42.4 (13.43) b
	5%	41 (07.42) b	39 (04.18) b	20 (08.66) b	41.4 (08.05) b
	10%	22 (07.58) c	49 (06.52) ab	29 (04.18) a	25.0 (05.61) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	100.0 (04.64) a
2	3%	40 (16.20) b	44 (07.42) a	16 (09.62) b	124.2 (46.02) b
	5%	31 (05.48) bc	46 (07.42) a	23 (09.08) ab	105.4 (16.13) bc
	10%	22 (07.58) c	49 (06.52) a	29 (04.18) a	73.4 (20.01) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) b	0 (00.00) c	302.4 (09.29) a
3	3%	40 (16.20) b	44 (07.42) a	16 (09.62) b	205.0 (77.95) b
	5%	31 (05.48) bc	46 (07.42) a	23 (09.08) ab	170.0 (27.32) bc
	10%	22 (07.58) c	49 (06.52) a	29 (04.18) a	118.6 (31.57) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) b	0 (00.00) c	500.2 (14.58) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 22 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 23 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

สารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 เข้มข้น 3, 5 และ 10% มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมประชากรไรแมงมุมสองจุด โดยพบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% มีฤทธิ์ทำให้ไรตายมากกว่าการไล่ไรหนีออกจากใบ โดยสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ทำให้ไรตาย 75% ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 5% ไรจะมีอัตราการตายสูงกว่าคือ 90% สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% สามารถไล่ไรได้เพียงเล็กน้อย (7 และ 5%) และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ดีไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีอัตราการอยู่รอด 18% ขณะที่กลุ่มซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% จะมีอัตราการอยู่รอดเพียง 5% เท่านั้น ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ทำให้ไรตาย 100% ในวันแรกของการทดลอง

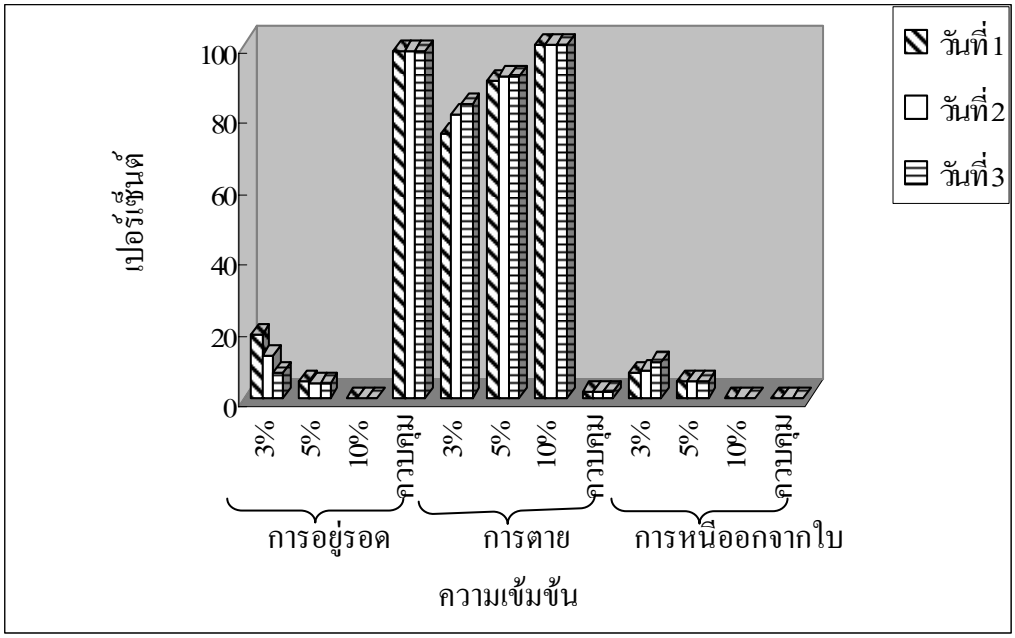
ในวันที่ 2 ของการทดลองสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรตายเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยมีอัตราการตายสะสม 80 และ 91% ตามลำดับ ส่วนการไล่ไรออกจากใบยังคงอยู่ในอัตราที่ต่ำ โดยสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ไล่ไรออกจากใบเพิ่มขึ้นจาก 7% เป็น 8% ขณะที่สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% ไม่มีไรหนีออกจากใบเพิ่มขึ้น ดังนั้นอัตราการอยู่รอดของไรในวันที่ 2 ของการทดลองจึงลดลงอีกเพียงเล็กน้อย โดยสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรอยู่รอด 12 และ 4% ตามลำดับ ซึ่งยังคงมีความแตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% มีอัตราการตายที่แตกต่างกันทางสถิติคือ 83 และ 91% ตามลำดับ แต่อัตราการหนีออกจากใบไม่แตกต่างกันโดยมีไรหนีออกจากใบ 10 และ 5% ตามลำดับ ในภาพรวมการใช้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% จะมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากที่ระดับความเข้มข้น 3% คือทำให้ไรอยู่รอดเพียง 4-7% เท่านั้น แต่สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะลดปริมาณไข่ลงได้เพียง 88% ซึ่งแตกต่างจากการใช้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% ที่ทำให้ไรวางไข่ลงได้ถึง 95.16% เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 10, ภาพที่ 24 และ 25)

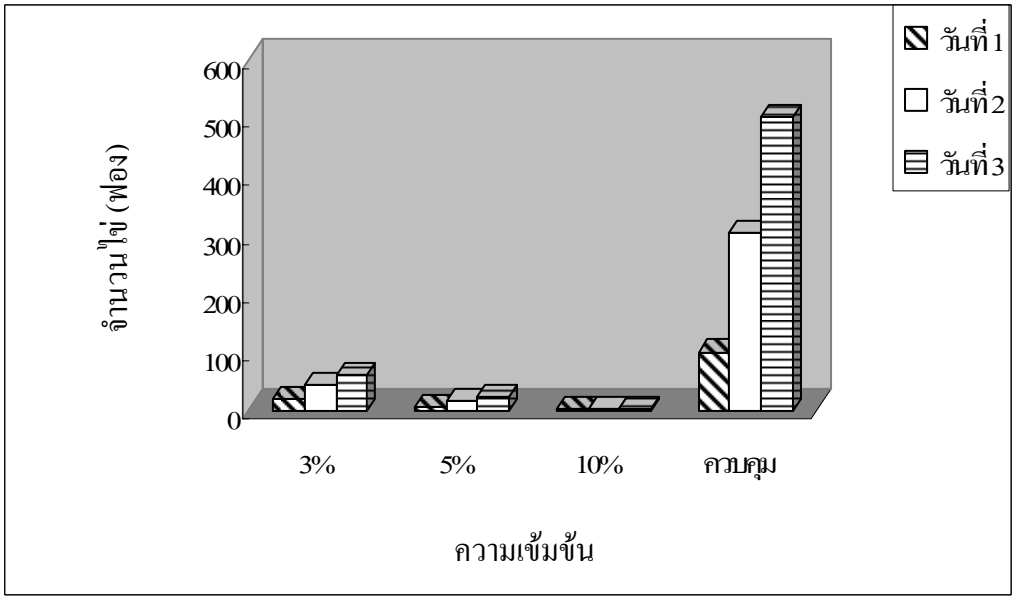
ตารางที่ 10 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	18 (04.47) b	75 (03.54) c	7 (02.74) a	18.8 (03.96) b
	5%	5 (00.00) c	90 (03.54) b	5 (03.54) a	5.8 (01.79) c
	10%	0 (00.00) d	100 (00.00) a	0 (00.00) b	1.4 (02.19) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) d	0 (00.00) b	100.0 (04.64) a
2	3%	12 (05.70) b	80 (05.00) c	8 (02.74) a	44.2 (15.74) b
	5%	4 (02.24) c	91 (04.18) b	5 (03.54) a	15.8 (06.94) c
	10%	0 (00.00) d	100 (00.00) a	0 (00.00) b	1.4 (02.19) d
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) d	0 (00.00) b	302.4 (09.29) a
3	3%	7 (04.47) b	83 (05.70) c	10 (03.54) a	60.0 (24.41) b
	5%	4 (02.24) b	91 (04.18) b	5 (03.54) a	24.2 (11.69) c
	10%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) b	1.4 (02.19) d
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) d	0 (00.00) b	500.2 (14.58) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 24 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 25 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

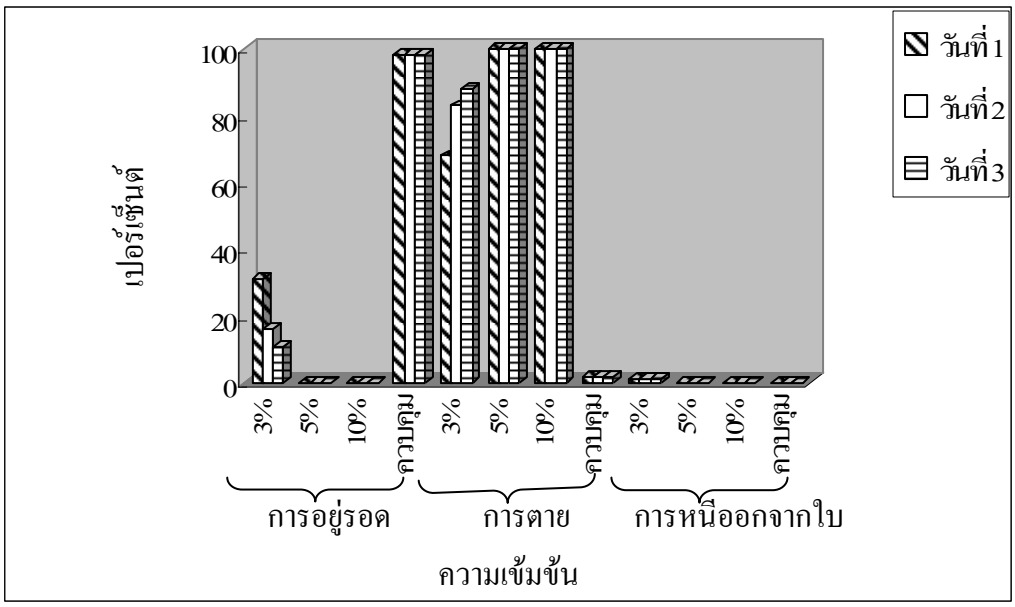
สารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าไรสูงกว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราไอโซเลทอื่นๆ โดยสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% ทำให้ไรตาย 100% ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 3% ทำให้ไรตาย 68% ในวันแรกของการทดลอง และพบไรหนีออกจากใบเพียง 1% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา ไม่มีประสิทธิภาพในการไล่ไรแต่ออกฤทธิ์ในการฆ่าไรโดยตรง ในวันแรกของการทดลองจึงพบว่ามีไรอยู่รอด 31% ในวันที่ 2 ของการทดลอง ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีอัตราการตายเพิ่มขึ้นเป็น 83% ส่วนอัตราไรหนีออกจากใบยังคงที่ ทำให้อัตราการอยู่รอดของไรลดเหลือเพียง 16%

เมื่อสิ้นสุดการทดลองไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะมีอัตราการตายถึง 88% และมีไรหนีออกจากใบ 1% จึงทำให้ไรมีอัตราการอยู่รอดเพียง 11% ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% วางไข่ในวันแรกเฉลี่ย 32.2 ฟอง จากนั้นปริมาณไข่เพิ่มขึ้นเป็น 65.8 และ 88.4 ฟองในวันที่ 2 และ 3 ของการทดลอง ในขณะที่ไรในชุดควบคุมวางไข่ได้ 100, 302.4 และ 500.2 ฟองโดยเฉลี่ย ในวันที่ 1, 2 และ 3 ของการทดลอง ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์อัตราการวางไข่ของไรพบว่าในวันที่ 3 ของการทดลองไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะมีอัตราการวางไข่ลดลงถึง 82.33% จึงสรุปได้ว่าสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 เข้มข้นเพียง 3% จะสามารถควบคุมปริมาณประชากรไรและลดปริมาณไข่ได้ดี (ตารางที่ 11, ภาพที่ 26 และ 27)

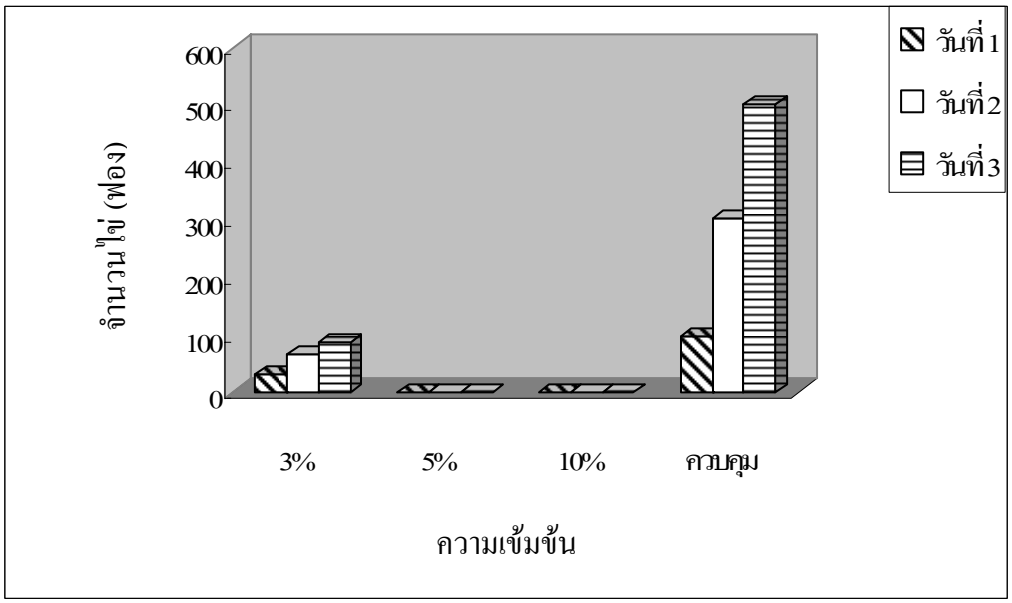
ตารางที่ 11 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	31 (07.42) b	68 (07.58) b	1 (02.24) a	32.2 (07.43) b
	5%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) a	0.0 (00.00) c
	10%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) a	1.8 (03.03) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) a	100.0 (04.64) a
2	3%	16 (05.48) b	83 (06.71) b	1 (02.24) a	65.8 (16.42) b
	5%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) a	0.0 (00.00) c
	10%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) a	1.8 (03.03) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) a	302.4 (09.29) a
3	3%	11 (08.22) b	88 (09.08) b	1 (02.24) a	88.4 (33.11) b
	5%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) a	0.0 (00.00) c
	10%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) a	1.8 (03.03) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) a	500.2 (14.58) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 26 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 27 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

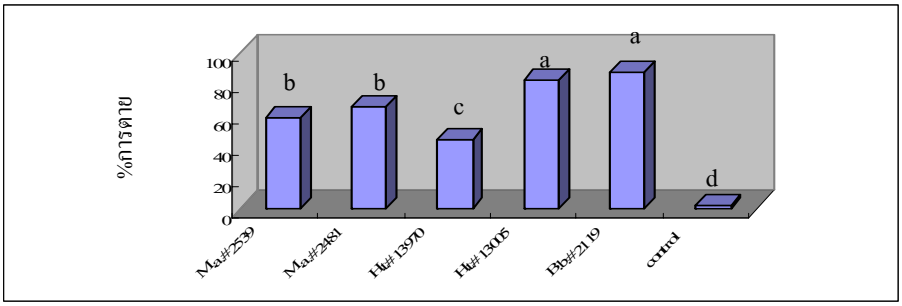
สารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่กรองแยกมวลชีวภาพออกแล้ว (crude filtrate) ส่วนใหญ่จะออกฤทธิ์ในการฆ่าไรมากกว่าไล่ไร โดยเฉพาะสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ซึ่งแสดงฤทธิ์ในการฆ่าอย่างชัดเจนตั้งแต่วันแรกของการทดลอง เมื่อนำผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลทมาเปรียบเทียบกัน พบว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 มีความเป็นพิษต่อไรสูงกว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราไอโซเลทอื่นๆ ที่ใช้ทดลอง ยกเว้นสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 โดยที่ระดับความเข้มข้น 3% พบว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 และ *H. thompsonii* # 13005 ทำให้ไรตาย 88 และ 83% นอกจากนั้นสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ยังมีฤทธิ์ในการไล่ไรออกจากใบได้ 10% ในขณะที่สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ไล่ไรได้เพียง 1% จึงส่งผลให้ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 และ *B. bassiana* # 2119 มีอัตราการอยู่รอด 7 และ 11% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 28-30)

สารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 เข้มข้น 5% ยังคงมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารอื่นๆ เนื่องจากทำให้ไรตาย 100% ในวันแรกซึ่งแตกต่างจากสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่ทำให้ไรตายในอัตรา 90% ในวันแรกของการทดลองและเพิ่มขึ้นเป็น 91% เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 31) แต่เนื่องจากสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ยังมีฤทธิ์ในการไล่ไรออกจากใบ โดยทำให้ไรหนีออกจากใบ 5% จึงส่งผลให้ไรมีอัตราการอยู่รอดไม่แตกต่างกับการใช้สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 โดยมีอัตราการอยู่รอดเพียง 4% เท่านั้น (ภาพที่ 32-33) ส่วนสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539, *M. anisopliae* # 2481 และ *H. thompsonii* # 13970 เข้มข้น 5% มีประสิทธิภาพในการควบคุมประชากรไรแมงมุมสองจุดรองลงมาจากสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 และ *H. thompsonii* # 13005 เนื่องจากไรมีอัตราการรอด 22, 13 และ 31% ตามลำดับ อย่างไรก็ดีไรซึ่งรอดชีวิตเหล่านี้สามารถวางไข่ได้เพียง 117, 76.4 และ 170 ฟองโดยเฉลี่ย หรือมีปริมาณไข่ลดลง 76.60, 84.73 และ 66.01% เมื่อเทียบกับปริมาณไข่ในชุดควบคุม (500.2 ฟองโดยเฉลี่ย) (ภาพที่ 33)

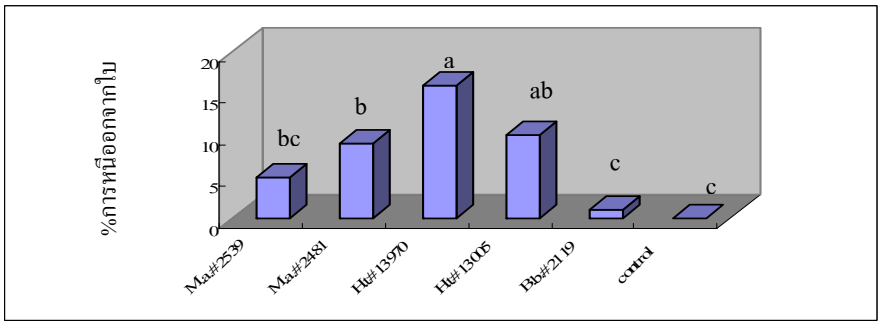
สารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 และ *H. thompsonii* # 13005 เข้มข้น 10% ทำให้ไรตาย 100% ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง ขณะที่สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 และ # 2539 เข้มข้น 10% ทำให้ไรมีอัตราการอยู่รอด 3 และ 13%

ตามลำดับ ส่วนสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 เข้มข้น 10% ทำให้ไรอยู่รอดสูงถึง 22% (ตารางที่ 7-11)

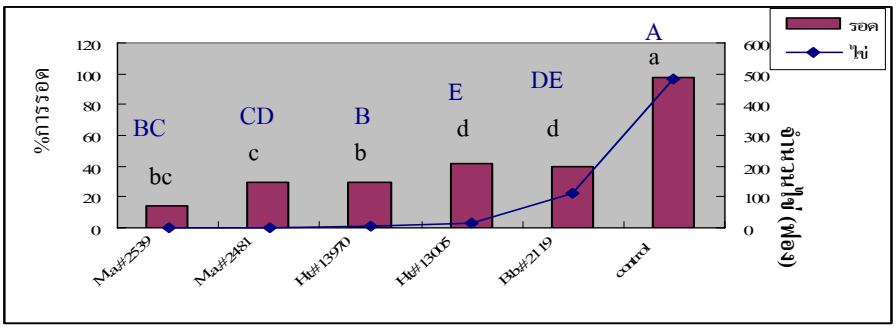
จากผลการศึกษาสรุปได้ว่าสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่เหมาะสมในการควบคุมปริมาณประชากรไรแมงมุมสองจุดคือสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 และ *B. bassiana* # 2119 เข้มข้น 3% และสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 เข้มข้น 5% ซึ่งทำให้ไรอยู่รอดเพียง 7, 11 และ 13% และมีปริมาณไข่บนใบพืช 60, 88.4 และ 76.4 โดยเฉลี่ย



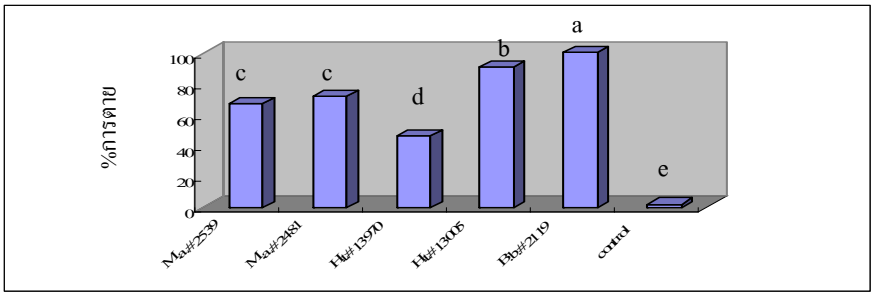
ภาพที่ 28 อัตราการตายของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



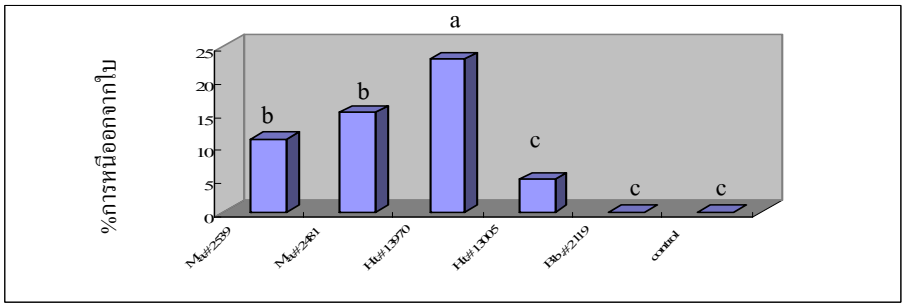
ภาพที่ 29 อัตราการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



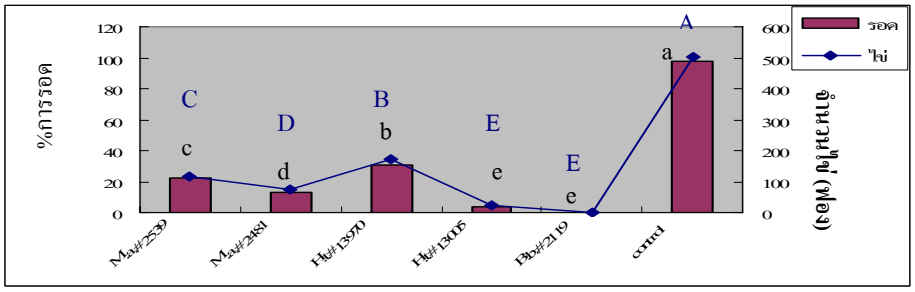
ภาพที่ 30 อัตราการรอดและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 3% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน (อักษรตัวใหญ่ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของไข่, อักษรตัวเล็ก เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนไรอยู่รอด)



ภาพที่ 31 อัตราการตายของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 32 อัตราการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 33 อัตราการรอดและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จาก crude filtrate ที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน (อักษรตัวใหญ่ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของไข่, อักษรตัวเล็ก เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนไรอยู่รอด)

2.1.2.2. การศึกษาประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพ

สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพที่สกัดด้วย dichloromethane

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์ซึ่งได้จากการสกัดมวลชีวภาพอบแห้งที่กรองแยกออกจากอาหารเหลวด้วย dichloromethane โดยการพ่นสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อใบหม่อนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร ซึ่งมีไรแมงมุมสองจุดจำนวน 20 ตัว/ใบ ไรในชุดควบคุมได้รับ ethanol ในปริมาณที่เท่ากัน พบว่าสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทุกไอโซเลทสามารถลดประชากรและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดได้มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 12-16)

สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 เข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรแมงมุมสองจุดตายในอัตราที่ไม่แตกต่างกันคือ 40 และ 45% ตามลำดับในวันแรกของการทดลอง ส่วนที่ความเข้มข้น 10% จะทำให้ไรตายมากที่สุดคือ 63% ในวันเดียวกันนี้พบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3, 5 และ 10% จะมีอัตราการหนีออกจากใบค่อนข้างน้อยและไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 5, 4 และ 5% ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมไม่พบไรหนีออกจากใบ จึงสรุปได้ว่าสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่ามากกว่าการไล่ ในวันแรกของการทดลองพบจำนวนไรรอดชีวิตค่อนข้างมาก โดยไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 เข้มข้น 3 และ 5% มีอัตราอยู่รอดไม่ต่างกันคือ 55 และ 51% ตามลำดับ ในขณะที่ไรซึ่งที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% จะมีอัตราอยู่รอด 32%

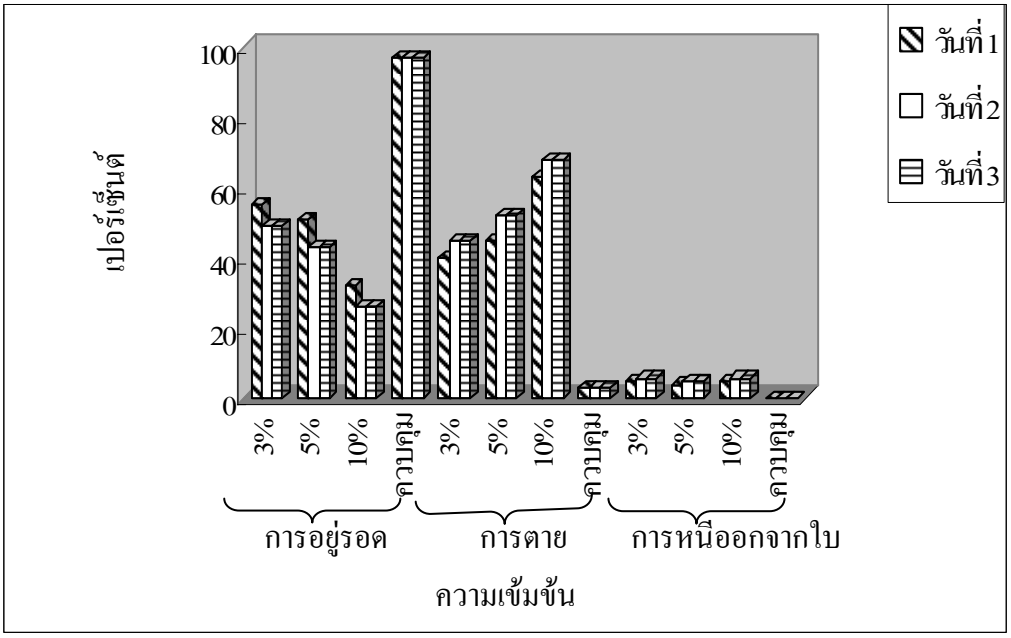
อัตราการตายและการหนีออกจากใบของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3, 5 และ 10% จะเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยในวันที่ 2 และคงที่จนสิ้นสุดการทดลอง โดยในวันที่ 2 ของการทดลองไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% จะมีอัตราการตายโดยรวม 45 และ 52% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่สกัดด้วย dichloromethane แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าไรเด่นชัดกว่าการไล่ โดยมีอัตราการทำให้ไรหนีออกจากใบต่ำมาก ดังจะเห็นได้ว่าแม้ความเข้มข้นของสารจะสูงขึ้น แต่ไรก็ยังจะมีอัตราการหนีออกจากใบที่ไม่แตกต่างกันคือ 5-6% เท่านั้น ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% มีอัตราการตายมากที่สุดคือ 68% ในวันที่ 2 ของการทดลอง (ตารางที่ 12, ภาพที่ 34 และ 35)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% สามารถลดประชากรของไรแมงมุมสองจุดได้ไม่แตกต่างกัน โดยมีไรอยู่รอดถึง 49 และ 43% ตามลำดับ และไรจำนวนนี้มีอัตราการวางไข่ 257.6 และ 230.2 ฟองโดยเฉลี่ย ซึ่งเมื่อเทียบกับปริมาณไข่ในชุดควบคุมแล้วพบว่าการวางไข่ลดลงเพียง 48 และ 53.53% ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% จะลดประชากรไรได้มากที่สุดโดยไรมีอัตราการอยู่รอด 26% และลดการวางไข่ลง 67.18% (ภาพที่ 34 และ 35)

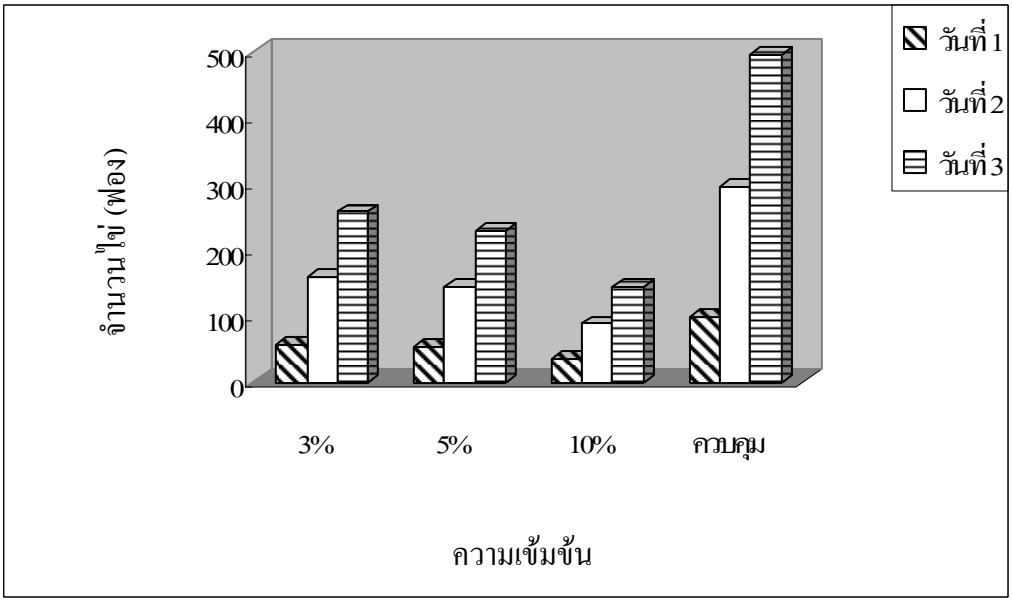
ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	55 (06.12) b	40 (05.00) b	5 (03.54) a	56.8 (06.94) b
	5%	51 (04.18) b	45 (05.00) b	4 (02.24) a	53.4 (03.36) b
	10%	32 (06.71) c	63 (06.71) a	5 (00.00) a	34.2 (06.18) c
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) c	0 (00.00) b	98.6 (03.05) a
2	3%	49 (05.48) b	45 (05.00) b	6 (04.18) a	158.6 (16.10) b
	5%	43 (05.70) b	52 (05.70) b	5 (03.54) a	144.4 (13.72) b
	10%	26 (08.22) c	68 (07.58) a	6 (02.24) a	88.0 (25.27) c
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) c	0 (00.00) b	295.0 (09.90) a
3	3%	49 (05.48) b	45 (05.00) b	6 (04.18) a	257.6 (27.12) b
	5%	43 (05.70) b	52 (05.70) b	5 (03.54) a	230.2 (26.96) b
	10%	26 (08.22) c	68 (07.58) a	6 (02.24) a	162.6 (47.90) c
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) c	0 (00.00) b	495.4 (15.36) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 34 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 35 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 เข้มข้น 3, 5 และ 10% ทำให้ไรแมงมุมสองจุดมีอัตราการตายที่แตกต่างกัน โดยทำให้ไรตาย 46, 72 และ 92% ตามลำดับ ในวันแรกของการทดลอง ในวันเดียวกันนี้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% แสดงฤทธิ์ในการไล่ไรมาก โดยทำให้ไรหนีออกจากใบถึง 25% ในขณะที่ชุดควบคุมไม่พบไรหนีออกจากใบ ส่วนไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 เข้มข้น 5 และ 10% จะมีอัตราหนีออกจากใบเพียง 8 และ 2% ตามลำดับ ดังนั้นในวันแรกของการทดลองพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 เข้มข้น 3 และ 5% มีอัตราการอยู่รอดไม่แตกต่างกันคือ 29 และ 20% ในขณะที่ไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% จะมีอัตราอยู่รอดเพียง 6% เท่านั้น

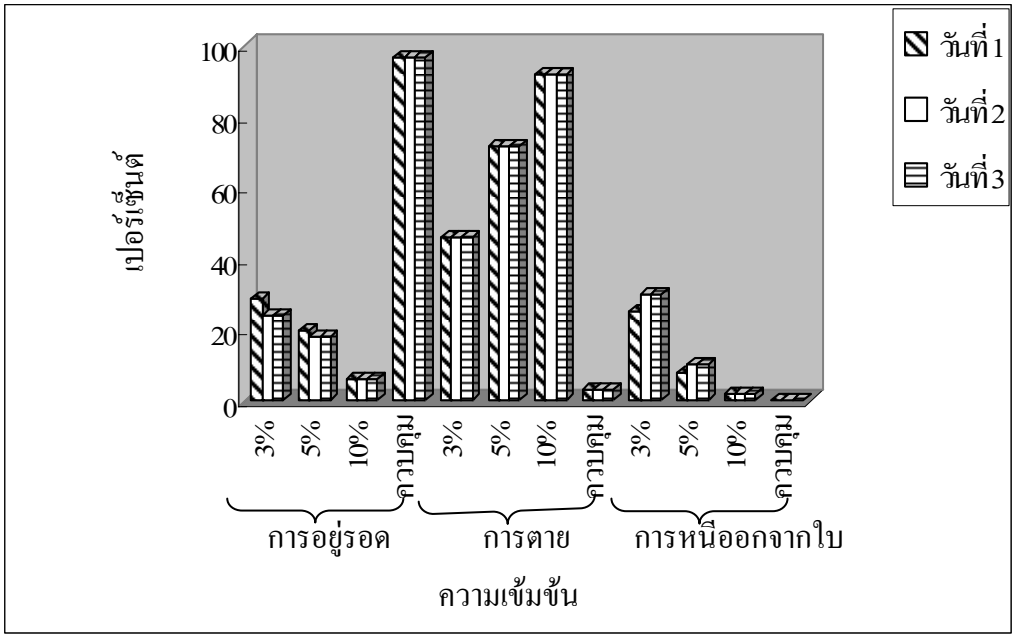
อัตราการตายของไรจะคงที่อยู่ตลอดการทดลอง ส่วนอัตราการหนีออกจากใบจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% มีอัตราการหนีออกจากใบเพิ่มขึ้นจาก 25 และ 8% เป็น 30 และ 10% ตามลำดับ ในวันที่ 2 ของการทดลอง ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10% จะไม่มีไรหนีออกจากใบเพิ่มขึ้นอีกตลอดการทดลอง เมื่อพิจารณาอัตราการอยู่รอดของไรจะเห็นได้ว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% สามารถลดประชากรไรได้ไม่แตกต่างกัน โดยมีไรอยู่รอดเพียง 18 และ 6% ตามลำดับ ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ลดประชากรไรได้น้อยกว่า โดยพบไรอยู่รอด 24% สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% แสดงฤทธิ์ในการฆ่าไรโดยการสัมผัสสูงถึง 92% ซึ่งมากกว่าอัตราการตายของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% (72%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ดีไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีอัตราการหนีออกจากใบสูงถึง 10% จึงทำให้มีจำนวนไรอยู่รอดไม่แตกต่างกับไรกลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10%

สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% แสดงผลในการยับยั้งการวางไข่ของไรน้อยกว่าที่ความเข้มข้น 10% โดยพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% วางไข่ลดลง 80.18 และ 93.14% ตามลำดับ ส่วนไรกลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% แม้จะมีอัตราการอยู่รอดสูงสุดคือ 24% แต่การผลิตไข่ของไรกลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% ไม่มีความแตกต่างกัน โดยไรจะวางไข่ เฉลี่ย 133.2 และ 98.2 ฟอง ซึ่งเมื่อเทียบกับปริมาณไข่ในชุดควบคุมแล้ว จะเห็นว่าจำนวนไข่ลดลง 73.11 และ 80.18% ตามลำดับ (ตารางที่13, ภาพที่ 36 และ 37)

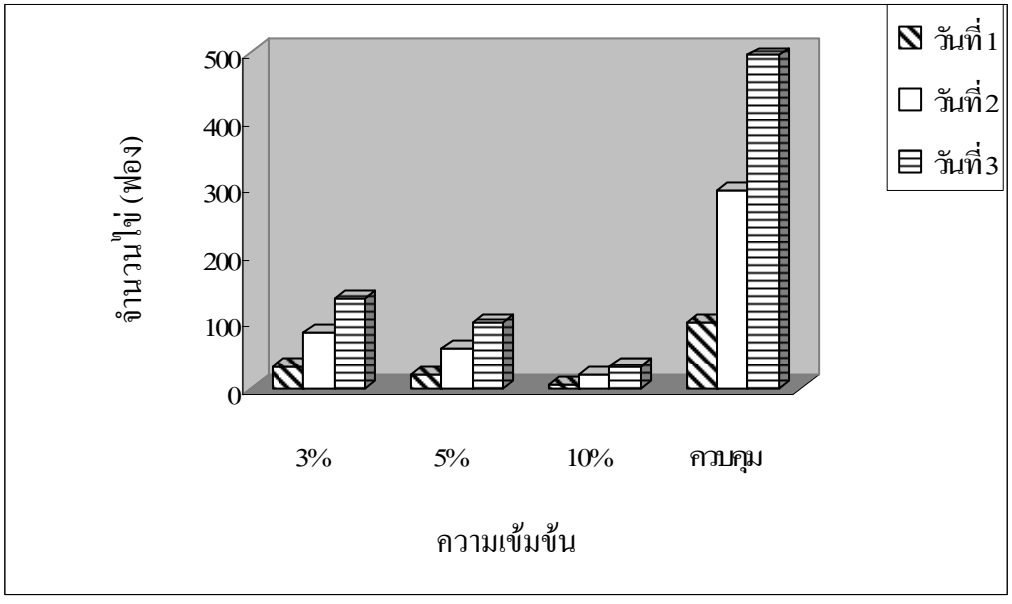
ตารางที่ 13 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	29 (09.62) b	46 (15.57) c	25 (07.91) a	32.4 (10.64) b
	5%	20 (06.12) b	72 (07.58) b	8 (02.74) b	20.8 (06.83) c
	10%	6 (08.22) c	92 (10.95) a	2 (02.74) c	6.4 (08.79) d
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) d	0 (00.00) c	98.6 (03.05) a
2	3%	24 (13.87) b	46 (15.57) c	30 (05.00) a	84.8 (38.92) b
	5%	18 (07.58) c	72 (07.58) b	10 (00.00) b	59.6 (22.98) b
	10%	6 (08.22) bc	92 (10.95) a	2 (02.74) c	20.4 (27.93) c
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) d	0 (00.00) c	295.0 (09.90) a
3	3%	24 (13.87) b	46 (15.57) c	30 (05.00) a	133.2 (67.12) b
	5%	18 (07.58) c	72 (07.58) b	10 (00.00) b	98.2 (38.79) b
	10%	6 (08.22) c	92 (10.95) a	2 (02.74) c	34.0 (46.64) c
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) d	0 (00.00) c	495.4 (15.36) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 36 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 37 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ทำให้ไรแมงมุมสองจุดตายในอัตราที่แตกต่างกันในวันแรกของการทดลอง โดยสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรตายแตกต่างกันคือ 55 และ 65% ตามลำดับ ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ทำให้ไรตายสูงสุด (75%) สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% มีประสิทธิภาพในการไล่ไรไม่แตกต่างกัน (20 และ 15%) ขณะที่สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ไล่ไรตกน้ำได้น้อยที่สุดคือ 8% การใช้สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 เข้มข้น 3, 5 และ 10% ฉีดพ่นบนไรสามารถลดประชากรไรได้โดยไรมีอัตราการรอด 25, 20 และ 17% ตามลำดับ ในวันแรกของการทดลอง

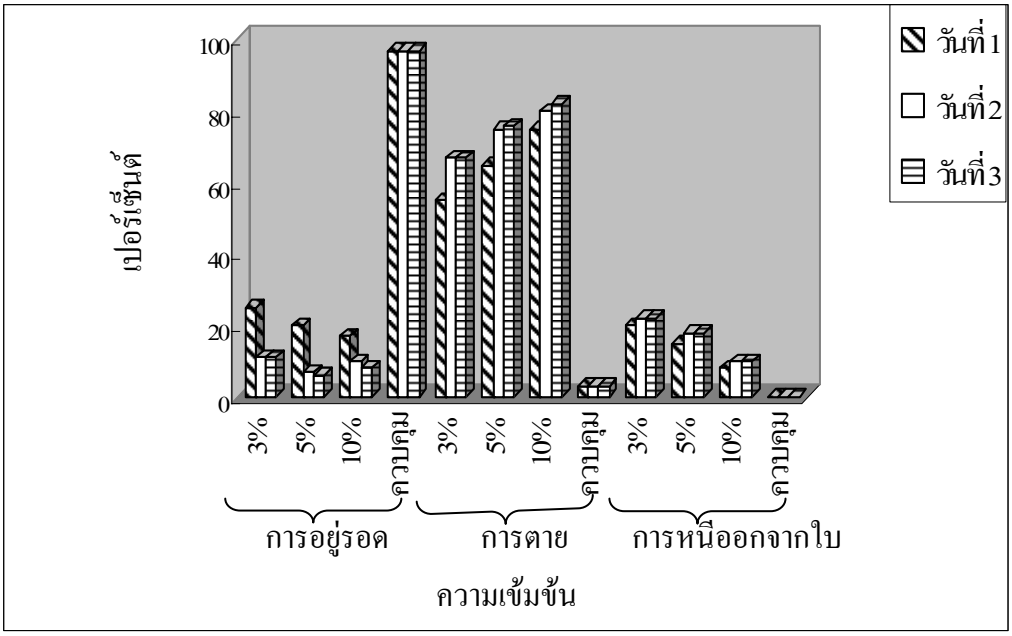
ในวันที่ 2 ของการทดลองไรจะมีอัตราการตายและหนีออกจากใบเพิ่มขึ้น โดยสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% ยังคงทำให้ไรตายในอัตราที่ไม่แตกต่างกัน (67 และ 75%) และมีอัตราการหนีออกจากใบเพิ่มขึ้นจาก 20 และ 15% เป็น 22 และ 18% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ขณะเดียวกันสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% ทำให้ไรตายไม่ต่างกัน (75 และ 80%) และอัตราการไล่ไรตกน้ำก็ไม่แตกต่างกันด้วย (18 และ 10%) ในช่วงวันที่ 2 ของการทดลองนี้ ไรทั้ง 3 กลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์ในอัตราที่แตกต่างกัน จะมีอัตราอยู่รอดต่ำและไม่แตกต่างกัน (7-11%) โดยสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีฤทธิ์ในการไล่ไรออกจากใบสูงสุดคือ 22% และไม่แตกต่างจากสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% ซึ่งสามารถไล่ไรได้ 18% ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% จะทำให้ไรตายไม่แตกต่างกันคือ 75 และ 80% ตามลำดับ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าการใช้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3, 5 และ 10% พ่นบนไรสามารถควบคุมประชากรของไรแมงมุมสองจุดได้ โดยทำให้ไรมีอัตราการอยู่รอดไม่แตกต่างกัน (6-11%) และยังมีการวางไข่ที่ไม่แตกต่างกันอีกด้วย โดยไรจะวางไข่ได้ 74.4, 49.6 และ 57.4 ฟองโดยเฉลี่ย หรือมีการวางไข่ลดลง 84.98, 89.99 และ 88.41% ตามลำดับ (ตารางที่ 14, ภาพที่ 38 และ 39)

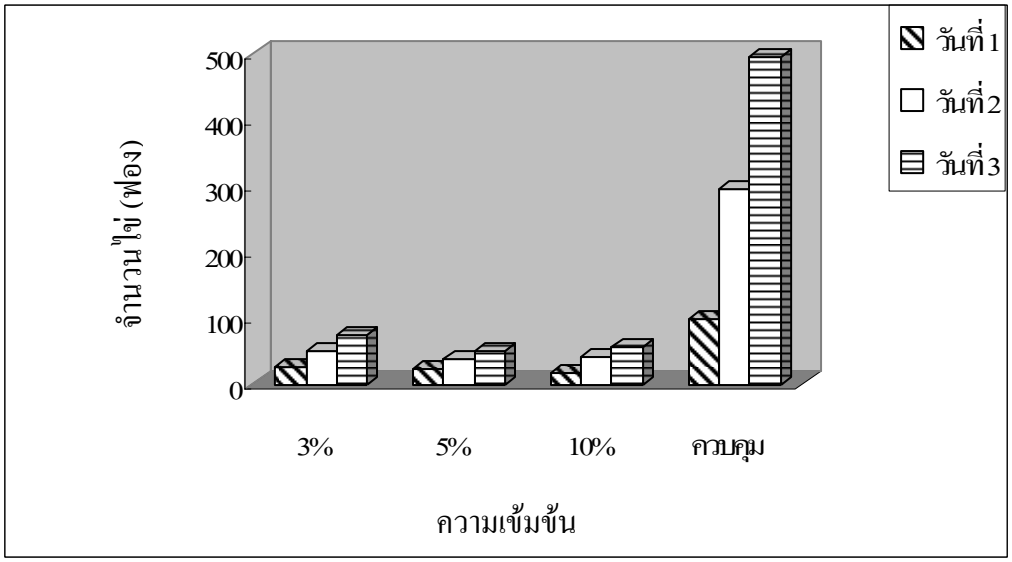
ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	25 (10.61) b	55 (10.61) c	20 (05.00) a	25.8 (08.58) b
	5%	20 (03.54) bc	65 (07.07) b	15 (07.91) a	21.8 (03.11) bc
	10%	17 (02.74) c	75 (03.54) a	8 (02.74) b	18.0 (04.18) c
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) d	0 (00.00) c	98.6 (03.05) a
2	3%	11 (06.52) b	67 (10.37) b	22 (05.70) a	49.6 (22.15) b
	5%	7 (05.70) b	75 (07.91) ab	18 (09.75) ab	37.4 (14.22) b
	10%	10 (06.12) b	80 (06.12) a	10 (05.00) b	40.6 (15.37) b
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) c	0 (00.00) c	295.0 (09.90) a
3	3%	11 (06.52) b	67 (10.37) b	22 (05.70) a	74.4 (35.46) b
	5%	6 (05.48) b	76 (06.52) ab	18 (09.75) ab	49.6 (25.51) b
	10%	8 (07.58) b	82 (07.58) a	10 (05.00) b	57.4 (29.99) b
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) c	0 (00.00) c	495.4 (15.36) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 38 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 39 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมประชากรของไรตั้งแต่วันแรกของการทดลอง โดยสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% สามารถลดประชากรของไรแมงมุมสองจุดได้ไม่แตกต่างกัน คือมีประชากรของไรเหลือเพียง 8 และ 11% ตามลำดับ สารดังกล่าวออกฤทธิ์ในการสัมผัสตายค่อนข้างเด่นชัด โดยทำให้ไรตายแตกต่างกันคือ 79 และ 84% ตามลำดับ ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% จะทำให้ไรมีอัตราการตายสูงสุดคือ 95% ในวันแรกของการทดลอง ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะหนีออกจากใบถึง 13% ในวันแรกของการทดลอง ส่วนไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% จะตกจากใบในอัตราที่ต่ำกว่า (5 และ 3%) และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ดีไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% มีอัตราการอยู่รอดในวันแรกน้อยที่สุดคือ 2% เท่านั้น

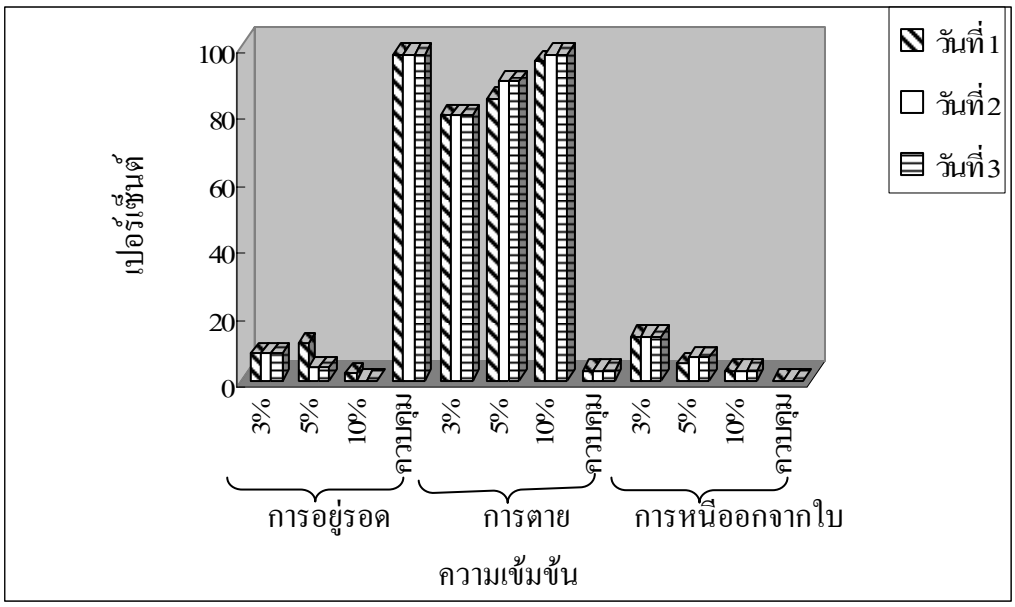
ในวันที่ 2 ของการทดลองไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์ 3% จะมีอัตราการตายและหนีออกจากใบคงที่ตั้งแต่วันแรกจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% จะมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นจากเดิมเพียงเล็กน้อย โดยมีอัตราการตายสะสม 89 และ 97% ตามลำดับ นอกจากนั้นกลุ่มไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์ 5% ยังมีอัตราการหนีออกจากใบเพิ่มจาก 5% เป็น 7% อีกด้วย ทำให้ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีอัตราการรอดชีวิตเพียง 4% ซึ่งต่ำกว่าอัตราการรอดชีวิตของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% (8%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าสารเมทาโบไลท์ที่ระดับความเข้มข้น 3, 5 และ 10% ทำให้ไรมีอัตราการตายและหนีออกจากใบไม่แตกต่างจากวันที่ 2 ของการทดลอง อย่างไรก็ดีไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% แม้จะมีอัตราการอยู่รอดแตกต่างกัน แต่ไรที่รอดชีวิตสามารถผลิตไข่ได้ไม่แตกต่างกันโดยวางไข่ได้เฉลี่ย 47.2 และ 29.6 ฟอง ซึ่งเมื่อเทียบกับปริมาณไข่ในชุดควบคุมแล้ว จะเห็นว่าการผลิตไข่ของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% จะลดลงถึง 90.47 และ 94.03% ตามลำดับ ส่วนการใช้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% จะควบคุมประชากรไรได้ 100% (ตารางที่ 15, ภาพที่ 40 และ 41)

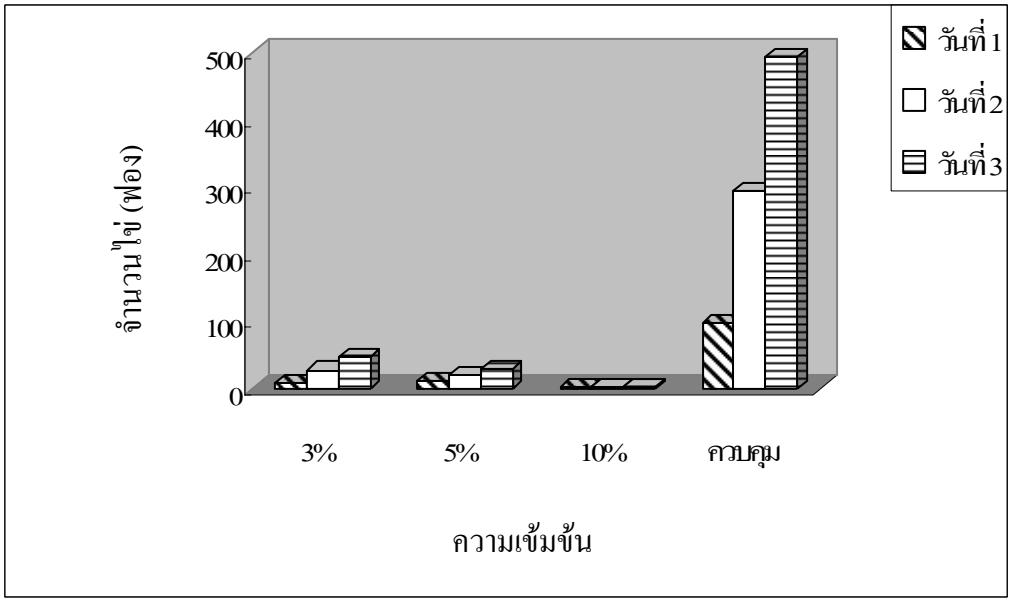
ตารางที่ 15 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	8 (02.74) b	79 (04.18) c	13 (06.71) a	9.0 (04.00) b
	5%	11 (04.18) b	84 (04.18) b	5 (05.00) b	11.6 (04.16) b
	10%	2 (02.74) c	95 (03.54) a	3 (04.47) b	2.6 (03.58) c
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) d	0 (00.00) b	98.6 (03.05) a
2	3%	8 (02.74) b	79 (04.18) c	13 (06.71) a	28.0 (08.57) b
	5%	4 (04.18) c	89 (06.52) b	7 (06.71) ab	19.4 (10.71) b
	10%	0 (00.00) d	97 (04.47) a	3 (04.47) b	2.6 (03.58) c
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) d	0 (00.00) b	295.0 (09.90) a
3	3%	8 (02.74) b	79 (04.18) c	13 (06.71) a	47.2 (14.13) b
	5%	4 (04.18) c	89 (06.52) b	7 (06.71) ab	29.6 (20.14) b
	10%	0 (00.00) d	97 (04.47) a	3 (04.47) b	2.6 (03.58) c
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) d	0 (00.00) b	495.4 (15.36) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 40 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 41 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 เข้มข้น 3% มีประสิทธิภาพต่ำในการควบคุมปริมาณของไร โดยจะเห็นว่าในวันแรกของการทดลองมีไรแมงมุมสองจุดตายเพียง 45% เท่านั้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 5 และ 10% จะทำให้อัตราการตายของไรเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่ามีไรตาย 80 และ 85% ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพในการเป็นสารไล่พบว่ามีน้อยมาก ดังจะเห็นได้จากอัตราการหนีออกจากใบของไรซึ่งมีเพียง 3-5% เท่านั้น ในวันแรกของการทดลองนี้ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 เข้มข้น 3% มีอัตราอยู่รอดสูงถึง 50% ในขณะที่ไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% มีอัตราการอยู่รอดไม่แตกต่างกันคือ 17 และ 12% ตามลำดับ

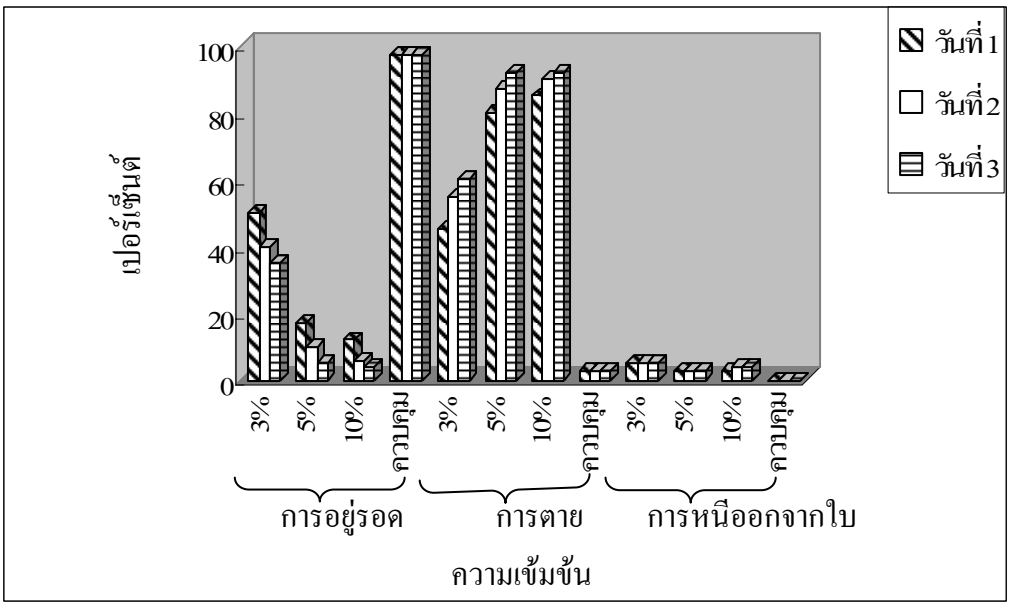
ในวันที่ 2 และ 3 ของการทดลอง พบว่าไรมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นในทุกการทดลอง ในขณะที่อัตราการหนีออกจากใบของไรไม่มีการเปลี่ยนแปลง ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 10% ซึ่งมีไรหนีออกจากใบเพิ่มขึ้นจาก 3% เป็น 4% เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% สามารถลดจำนวนประชากรไรได้มากที่สุดและไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีไรอยู่รอดเพียง 5 และ 4% ตามลำดับ และมีจำนวนไรตายมากถึง 92%

ในวันที่ 3 ของการทดลอง สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% ลดอัตราการวางไข่ได้ไม่แตกต่างกันคือ 89.66 และ 93.06% ตามลำดับ ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ควบคุมปริมาณของไรได้น้อยกว่า โดยมีไรอยู่รอดถึง 35% และวางไข่ได้ถึง 206.4 ฟองโดยเฉลี่ย เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีการวางไข่สูงถึง 495.4 ฟองโดยเฉลี่ย จึงไม่เหมาะที่จะใช้ในการควบคุมประชากรของไรแมงมุมสองจุด (ตารางที่ 16, ภาพที่ 42 และ 43)

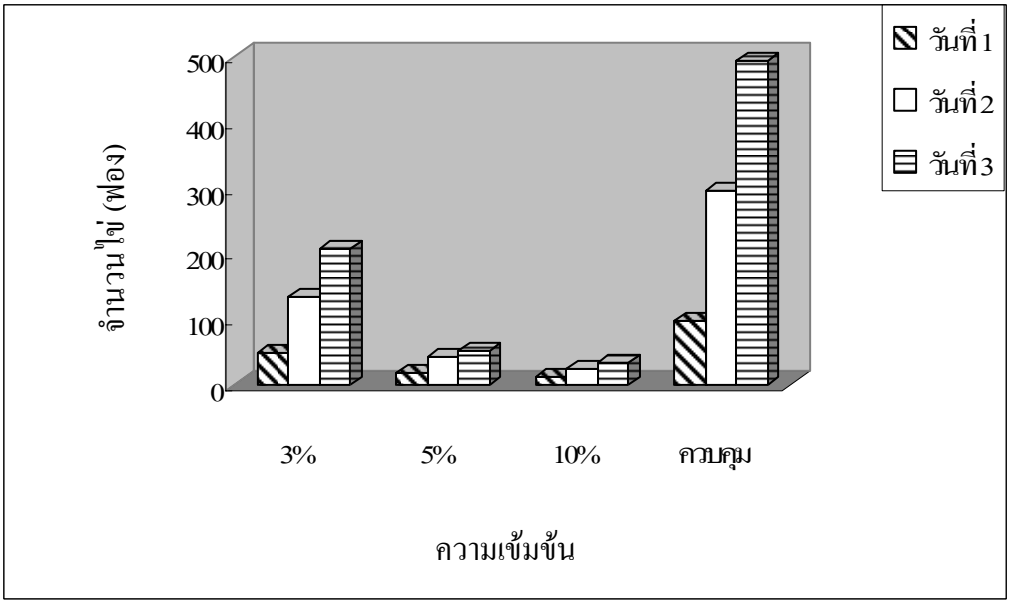
ตารางที่ 16 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1//]			จำนวนไข่[1]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	50 (12.25) b	45 (15.41) b	5 (06.12) a	50.0 (10.20) b
	5%	17 (09.08) c	80 (07.91) a	3 (02.74) a	18.0 (10.02) c
	10%	12 (05.70) c	85 (09.35) a	3 (04.47) a	12.8 (04.87) c
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) c	0 (00.00) a	98.6 (03.05) a
2	3%	40 (13.69) b	55 (17.68) b	5 (06.12) a	134.6 (35.06) b
	5%	10 (05.00) c	87 (02.74) a	3 (02.74) a	41.2 (17.31) c
	10%	6 (04.18) c	90 (10.00) a	4 (06.52) a	25.8 (13.88) c
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) c	0 (00.00) a	295.0 (09.90) a
3	3%	35 (19.04) b	60 (22.36) b	5 (06.12) a	206.4 (70.95) b
	5%	5 (03.54) c	92 (02.74) a	3 (02.74) a	51.2 (22.73) c
	10%	4 (05.48) c	92 (11.51) a	4 (06.52) a	34.4 (24.27) c
	ควบคุม	97 (02.74) a	3 (02.74) c	0 (00.00) a	495.4 (15.36) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)

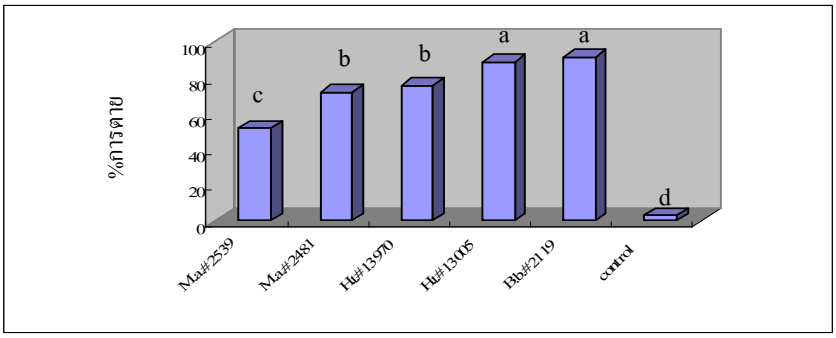


ภาพที่ 42 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

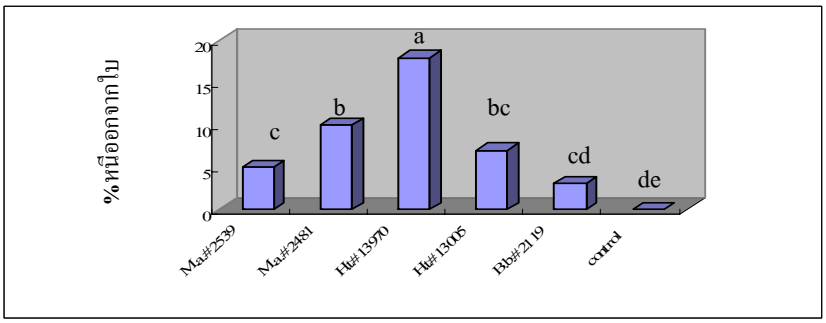


ภาพที่ 43 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

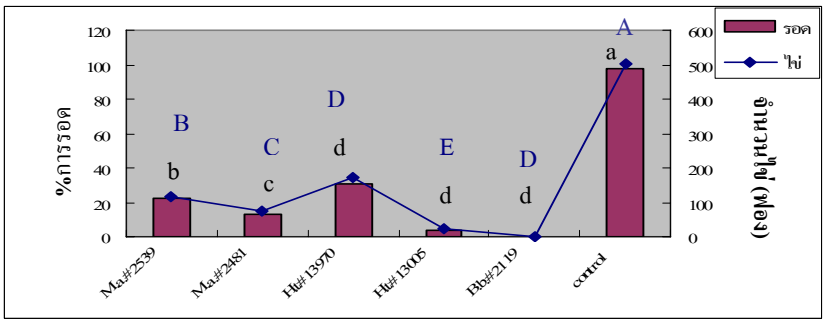
สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราที่สกัดสารโดยใช้ dichloromethane เป็นตัวทำละลาย และสามารถนำมาควบคุมประชากรของไรแมงมุมสองจุดได้ดีที่สุดคือสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 และ *H. thompsonii* # 13005 เข้มข้น 3% ซึ่งออกฤทธิ์โดยการฆ่าและไล่ไรโดยทำให้ไรตาย 67 และ 79% และไล่ไรหนีออกจากใบพืช 22% และ 13% ตามลำดับ จึงทำให้มีไรอยู่รอดได้เพียง 11 และ 8% เมื่อสิ้นสุดการทดลองและลดอัตราการวางไข่ของไรได้ 84.98และ 90.47% ตามลำดับ สารที่มีประสิทธิภาพอีกชนิดหนึ่งคือสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ซึ่งออกฤทธิ์ในการฆ่าไรโดยตรง แต่ต้องใช้ที่ระดับความเข้มข้นสูงถึง 5% ซึ่งจะลดปริมาณประชากรของไรให้เหลือเพียง 5% และลดปริมาณการวางไข่ได้ถึง 89.66% สำหรับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 และ *M. anisopliae* # 2481 ที่ได้จากการสกัดมวลชีวภาพโดยใช้ dichloromethane เป็นตัวทำละลาย ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการลดประชากรไร ถึงแม้ว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 จะลดประชากรได้ดีโดยทำให้มีไรอยู่รอดเพียง 6% เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เพราะต้องใช้ที่ระดับความเข้มข้นสูงถึง 10% (ภาพที่ 44-46)



ภาพที่ 44 อัตราการตายของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท ซึ่งสกัดโดยใช้ dichloromethane เข้มข้น 5%(น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 45 อัตราการหนีออกจากใบพืชของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท ซึ่งสกัดโดยใช้ dichloromethane เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 46 อัตราการรอดและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท ซึ่งสกัดโดยใช้ dichloromethane เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน (อักษรตัวใหญ่ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของไข่, อักษรตัวเล็ก เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนไรอยู่รอด)

สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพที่สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทุกไอโซเลทที่สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol ต่อไรแมงมุมสองจุดโดยการสัมผัส ด้วยการพ่นสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3, 5 และ 10% ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อใบหม่อนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร ซึ่งมีไรแมงมุมสองจุดจำนวน 20 ตัว/ใบ ไรในชุดควบคุมได้รับ ethanol ในปริมาณที่เท่ากัน พบว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทุกชนิดสามารถลดประชากรและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดได้มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 17-21)

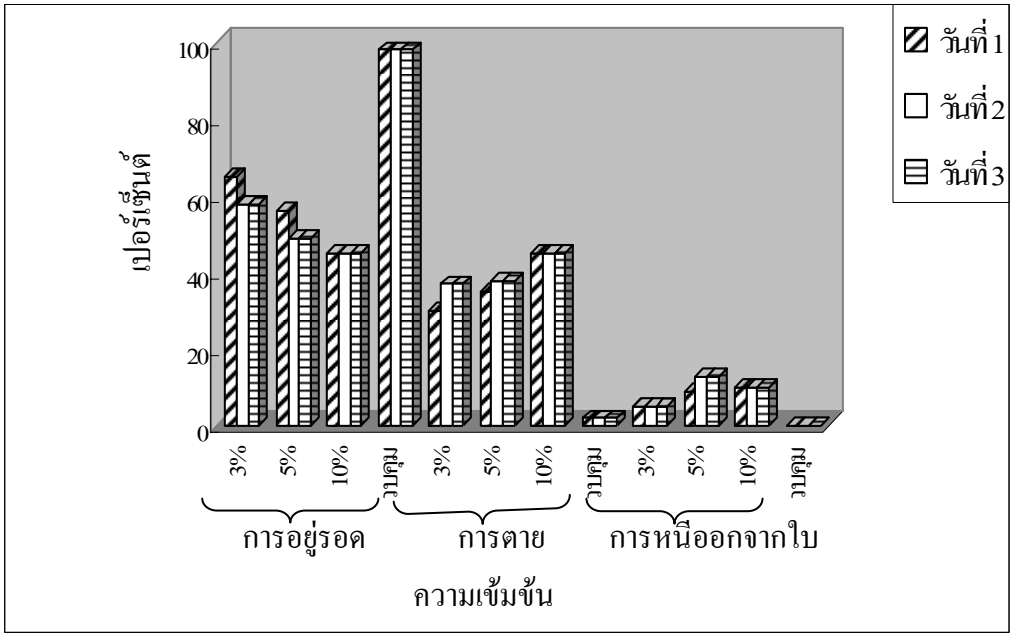
สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ซึ่งสกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol ออกฤทธิ์ในการทำให้ไรตายโดยตรงมากกว่าการไล่ โดยที่ระดับความเข้มข้น 3 และ 5% จะทำให้ไรแมงมุมสองจุดตายไม่แตกต่างกัน (30 และ 35%) ในวันแรกของการทดลอง ส่วนที่ความเข้มข้น 10% จะทำให้ไรตายมากที่สุดคือ 45% ในวันเดียวกันนี้พบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3, 5 และ 10% จะหนีออกจากใบเพียง 5, 9 และ 10% ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมไม่พบไรหนีออกจากใบ ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3, 5 และ 10% ยังคงมีชีวิตอยู่รอดสูงถึง 65, 56 และ 45% ตามลำดับ โดยไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% มีอัตราการอยู่รอดน้อยที่สุด

ในวันที่ 2 ของการทดลองไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% จะมีอัตราการตายโดยรวมเพิ่มขึ้นเป็น 37 และ 38% ขณะที่กลุ่มไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% มีอัตราการตายและหนีออกจากใบคงที่ตลอดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้น 3 และ 5% ไรจะมีอัตราการตายไม่แตกต่างกัน (37 และ 38%) แต่ที่ความเข้มข้น 5% จะมีไรหนีออกจากใบรวม 13% ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ซึ่งมีไรหนีออกจากใบเพียง 5% อย่างไรก็ตามเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3 และ 5% ยังคงทำให้ไรมีอัตราอยู่รอดใกล้เคียงกันคือ 58 และ 49% ตามลำดับ ขณะเดียวกันสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% จะลดประชากรไรได้ไม่แตกต่างกัน โดยมีไรอยู่รอด 49 และ 45% สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ลดปริมาณไข่ของไรได้ไม่แตกต่างกันโดยทำให้ปริมาณไข่ลดลง 50.76, 48.82 และ 49.66 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 17, ภาพที่ 50 และ 51)

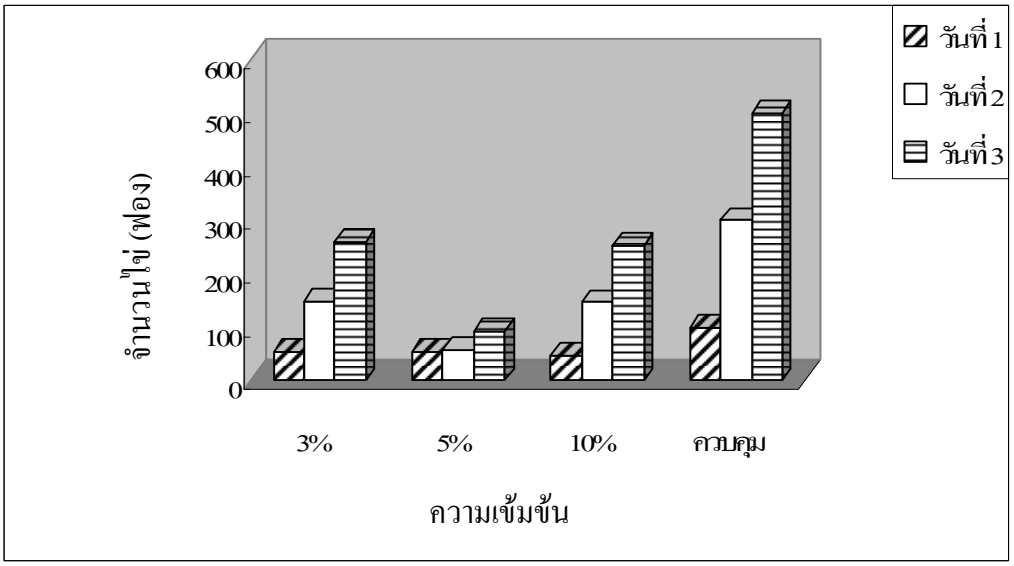
ตารางที่ 17 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	65 (07.91) b	30 (05.00) b	5 (03.54) b	53.0 (07.25) b
	5%	56 (10.84) b	35 (06.12) b	9 (05.48) ab	51.0 (12.53) b
	10%	45 (06.12) c	45 (06.12) a	10 (00.00) a	47.0 (09.35) b
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	100.8 (04.87) a
2	3%	58 (07.58) b	37 (05.70) b	5 (03.54) bc	148.6 (23.56) b
	5%	49 (11.40) bc	38 (06.71) ab	13 (07.58) a	148.4 (34.49) b
	10%	45 (06.12) c	45 (06.12) a	10 (00.00) ab	146.2 (42.26) b
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	299.6 (07.99) a
3	3%	58 (07.58) b	37 (05.70) b	5 (03.54) bc	259.4 (48.30) b
	5%	49 (11.40) bc	38 (06.71) ab	13 (07.58) a	256.4 (34.39) b
	10%	45 (06.12) c	45 (06.12) a	10 (00.00) ab	252.2 (50.92) b
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	501.0 (11.90) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 47 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 48 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ซึ่งสกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol ที่ความเข้มข้น 5 และ 10% ทำให้ไรแมงมุมสองจุดมีอัตราการตายไม่แตกต่างกันคือ 73 และ 77% ในวันแรกของการทดลอง ส่วนที่ความเข้มข้น 3% จะทำให้ไรตายน้อยที่สุดคือ 59% เท่านั้น

สารเมทาโบไลท์นี้เมื่อใช้ในระดับความเข้มข้น 5 และ 10% จะมีฤทธิ์ในการไล่ไรอยู่ในระดับกลางโดยไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% มีอัตราการหนีออกจากใบไม่แตกต่างกันคือ 17 และ 18% ตามลำดับ ในขณะไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ทำให้ไรหนีออกจากใบไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์ 5% (8 และ 17% ตามลำดับ) ส่วนไรในชุดควบคุมไม่มีไรหนีออกจากใบในวันแรกของการทดลอง สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 เข้มข้น 3% มีประสิทธิภาพต่ำกว่าที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 10% โดยมีไรอยู่รอดถึง 33% ในวันแรกของการทดลอง ขณะที่ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% มีไรรอดชีวิตอยู่เพียง 10 และ 5% เท่านั้น อัตราการตายของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์ทุกความเข้มข้น จะคงที่ตลอดการทดลอง ขณะที่อัตราการหนีออกจากใบของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จากวันแรกของการทดลอง

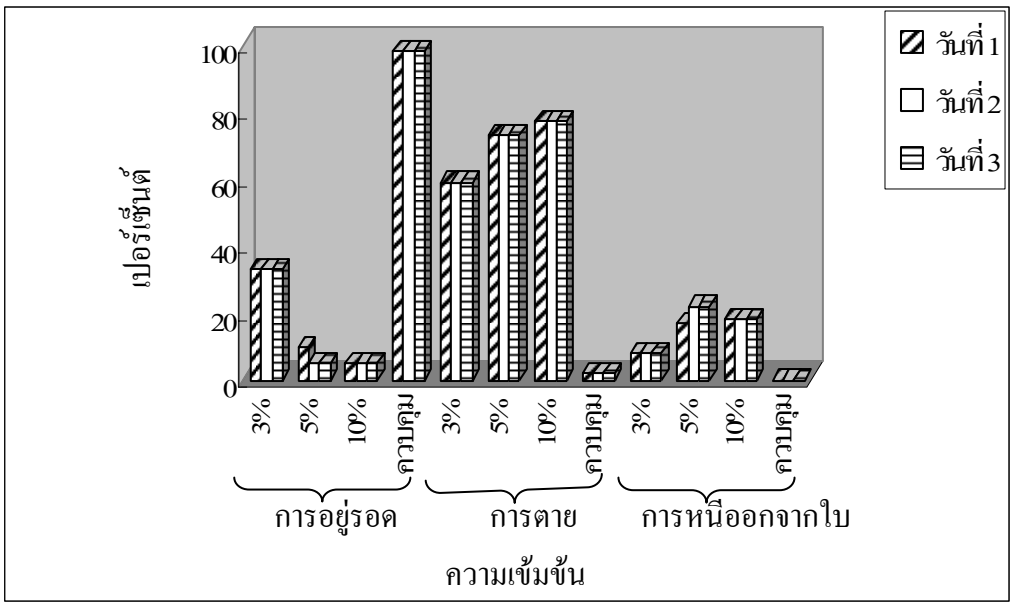
เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% จะมีอัตราอยู่รอดเพียง 5% เท่ากัน โดยทำให้ไรตาย 73 และ 77% รวมทั้งไล่ไรได้ 22 และ 18% ตามลำดับ ส่วนสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะฆ่าไรได้ 59% และไล่ไรหนีออกจากใบพืชอีก 8% จึงทำให้มีไรรอดชีวิตมากถึง 33%

ปริมาณไข่ของไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% ไม่มีความแตกต่างกันโดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองจะพบไข่เฉลี่ยเพียง 34 และ 32.2 ฟอง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณไข่ในชุดควบคุมจะเห็นได้ว่า มีปริมาณไข่ลดลงถึง 93.21 และ 93.57% ตามลำดับ ส่วนไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะวางไข่ 168.8 ฟองโดยเฉลี่ย หรือลดปริมาณไข่ได้เพียง 66.31% ขณะที่ไรในชุดควบคุมวางไข่ 501 ฟองโดยเฉลี่ย (ตารางที่ 18, ภาพที่ 52 และ 53)

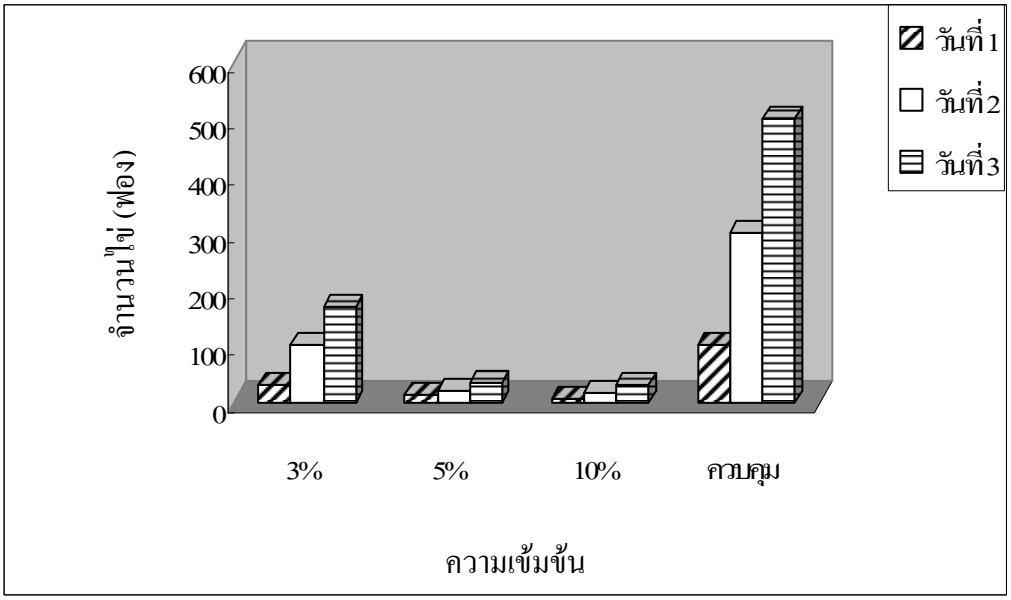
ตารางที่ 18 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	33 (14.40) b	59 (09.62) b	8 (08.37) bc	32.4 (14.84) b
	5%	10 (07.07) c	73 (05.70) a	17 (02.74) ab	13.2 (12.44) c
	10%	5 (03.54) c	77 (13.51) a	18 (10.95) a	6.4 (05.46) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	100.8 (04.87) a
2	3%	33 (14.40) b	59 (09.62) b	8 (08.37) b	101.2 (44.19) b
	5%	5 (00.00) c	73 (05.70) a	22 (05.70) a	22.2 (11.88) c
	10%	5 (03.54) c	77 (13.51) a	18 (10.95) a	17.6 (12.74) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) b	299.6 (07.99) a
3	3%	33 (14.40) b	59 (09.62) b	8 (08.37) b	168.8 (72.36) b
	5%	5 (00.00) c	73 (05.70) a	22 (05.70) a	34.0 (11.02) c
	10%	5 (03.54) c	77 (13.51) a	18 (10.95) a	32.2 (23.41) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	501.0 (11.90) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 49 อัตราการรอด ตาย และหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 50 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

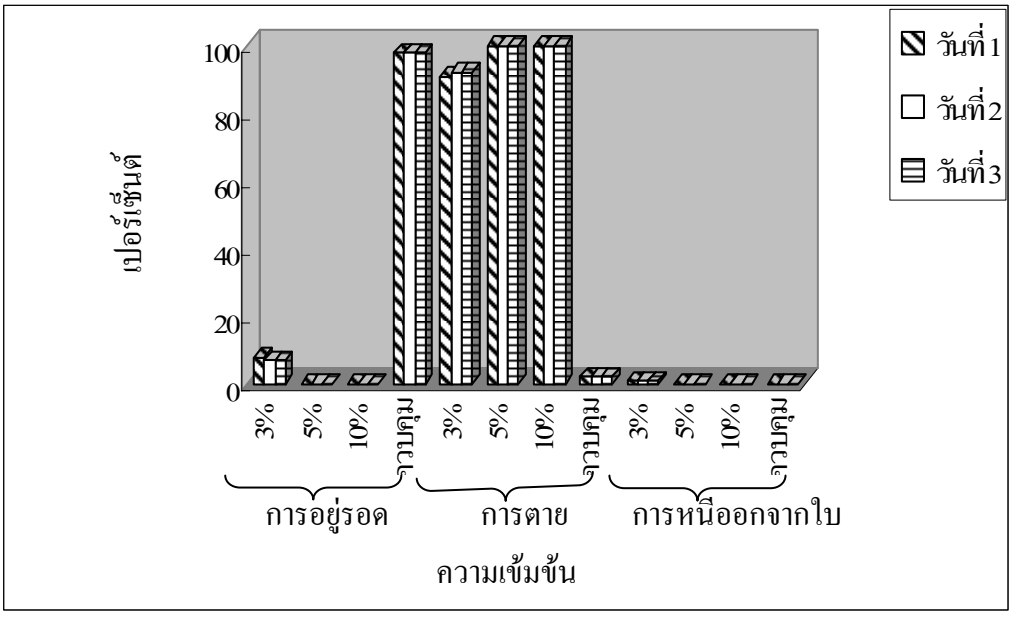
สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ซึ่งสกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol มีประสิทธิภาพสูง ดังจะเห็นได้ว่าการใช้สารเมทาโบไลท์เข้มข้นเพียง 3% ทำให้ไรแมงมุมสองจุดตาย 91% และหนีออกจากใบ 1% จึงมีไรอยู่รอดเพียง 8% ในวันแรกของการทดลอง ส่วนที่ความเข้มข้น 5 และ 10% จะทำให้ไรตายหมด 100% ในขณะที่ชุดควบคุมไม่พบไรหนีออกจากใบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 มีฤทธิ์ในการฆ่าไรโดยตรงสูงมาก ในวันที่ 2 ของการทดลอง พบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีอัตราการตายเพิ่มขึ้นอีก 1% ทำให้ไรมีอัตราการตายสะสม 92% และคงอยู่ที่อัตรานี้จนสิ้นสุดการทดลอง

เมื่อพิจารณาอัตราการอยู่รอดของไรจะเห็นได้ว่าการใช้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% จะลดประชากรไรได้ไม่แตกต่างกันโดยไม่มีไรเหลือรอดเลย และไรมีการวางไข่ก่อนที่จะตายตั้งแต่วันแรกเพียง 4.6 และ 1.4 ฟองโดยเฉลี่ย แต่การใช้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ก็ใช้ควบคุมประชากรไรได้ดี แม้ว่าจะทำให้ไรมีอัตราการอยู่รอด 7% ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% ก็ตาม ไรที่อยู่รอดนี้วางไข่ได้เพียง 37.2 ฟองโดยเฉลี่ย หรือมีปริมาณการวางไข่ลดลงถึง 92.57% เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 19, ภาพที่ 53 และ 54)

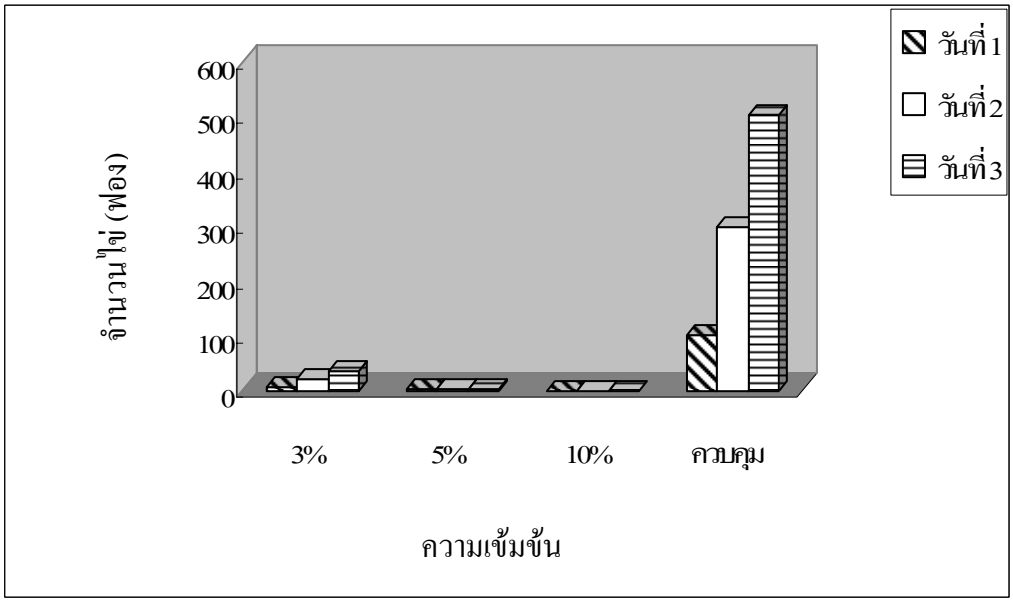
ตารางที่ 19 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1/]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	8 (04.47) b	91 (06.52) b	1 (02.24) a	7.8 (03.56) b
	5%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) a	4.6 (03.21) bc
	10%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) a	1.4 (02.19) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) a	100.8 (04.87) a
2	3%	7 (05.70) b	92 (07.58) b	1 (02.24) a	22.6 (15.26) b
	5%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) a	4.6 (03.21) bc
	10%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) a	1.4 (02.19) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) a	299.6 (07.99) a
3	3%	7 (05.70) b	92 (07.58) b	1 (02.24) a	37.2 (27.16) b
	5%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) a	4.6 (03.21) bc
	10%	0 (00.00) c	100 (00.00) a	0 (00.00) a	1.4 (02.19) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) a	501.0 (11.90) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 51 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 52 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ซึ่งสกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol เข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรแมงมุมสองจุดตายแตกต่างกัน ในวันแรกของการทดลอง (70 และ 90% ตามลำดับ) ส่วนที่ความเข้มข้น 10% จะทำให้ไรตายมากที่สุดคือ 97% ในวันเดียวกันนี้พบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3, 5 และ 10% ทำให้ไรหนีออกจากใบไม่แตกต่างกันคือ 4, 5 และ 3% ตามลำดับ ซึ่งเป็นอัตราที่ต่ำมาก ในขณะที่ชุดควบคุมไม่พบไรหนีออกจากใบ ในวันแรกของการทดลองพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 เข้มข้น 3% มีอัตราอยู่รอดสูงสุดคือ 26% ในขณะที่ไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% เหลือไรรอดชีวิต 5% และกลุ่มไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% ไม่มีไรเหลือรอดชีวิตตั้งแต่วันแรกของการทดลอง

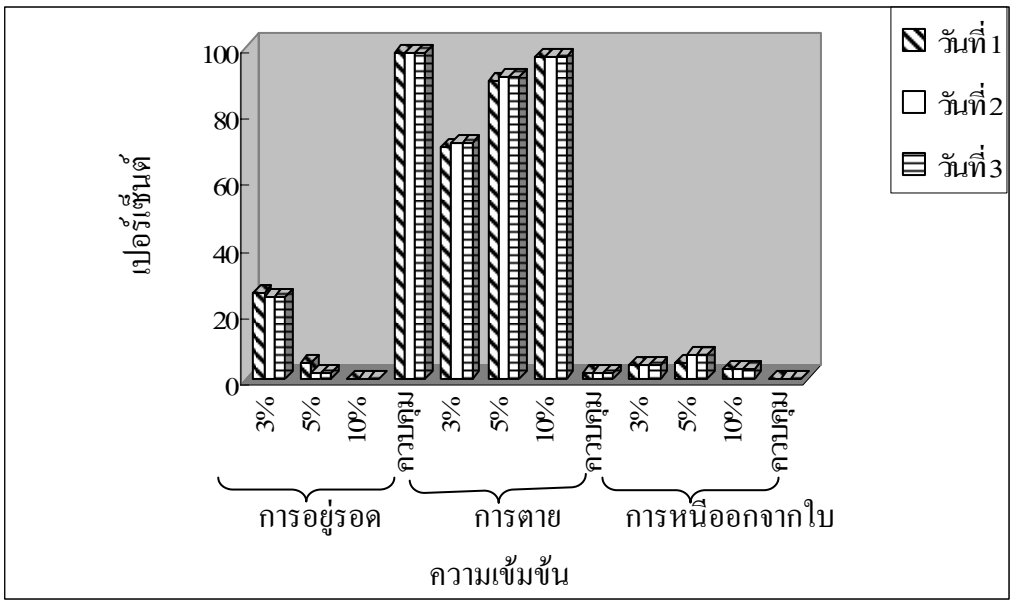
ในวันที่ 2 ของการทดลองไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะมีอัตราการตายโดยรวม 71% และหนีออกจากใบ 4% เช่นเดิม ส่วนที่ความเข้มข้น 5% นั้น ไรมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นเป็น 91% และมีไรหนีออกจากใบเพิ่มขึ้นจาก 5% เป็น 7% และในวันที่ 3 ของการทดลองพบว่าอัตราการตายและหนีออกจากใบของไรในทุกการทดลองจะคงที่เช่นเดียวกับวันที่ 2 ของการทดลอง ดังนั้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองจึงพบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ยังคงมีอัตราการอยู่รอดสูงถึง 25% ขณะที่กลุ่มของไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% มีปริมาณไรอยู่รอดน้อยกว่าคือมีเพียง 2% เท่านั้น ส่วนไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 10% นั้นตาย 100% ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง

ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จะวางไข่ได้ 62.2 ฟองโดยเฉลี่ย ในขณะที่ไรกลุ่มซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% ซึ่งมีจำนวนอยู่รอดน้อยหรือไม่มีไรรอดชีวิตเลยจะพบไข่เพียง 18.4 และ 2 ฟองโดยเฉลี่ย หรือทำให้ไรมีการวางไข่ลดลงถึง 96.28 และ 99.60% ตามลำดับ (ตารางที่ 20, ภาพที่ 55 และ 56)

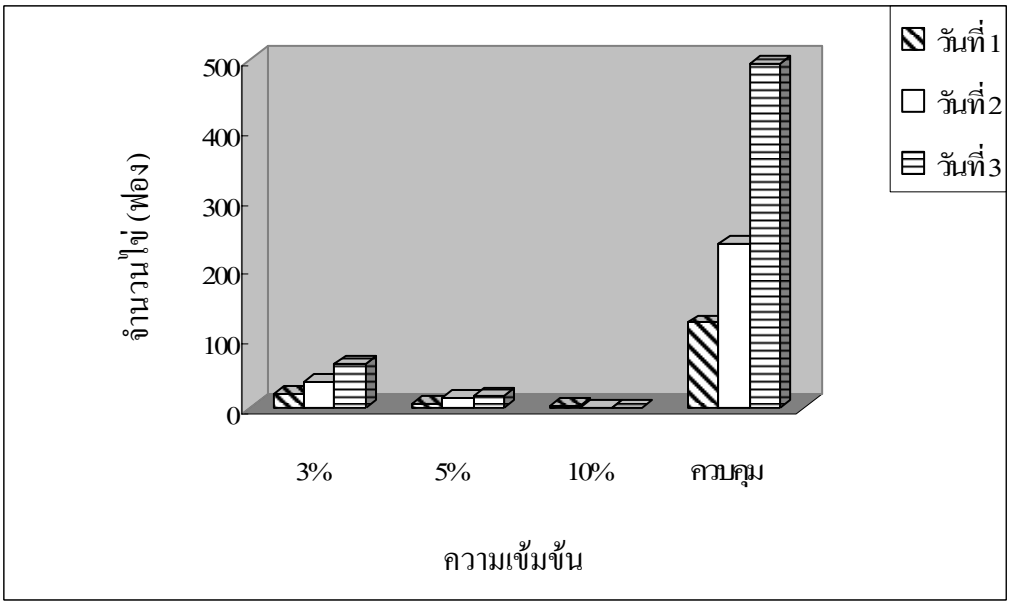
ตารางที่ 20 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (สกัดสารโดยใช้ dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	26 (04.18) b	70 (03.54) c	4 (02.24) ab	21.6 (06.54) b
	5%	5 (00.00) c	90 (03.54) b	5 (03.54) a	7.2 (04.15) c
	10%	0 (00.00) d	97 (04.47) a	3 (04.47) ab	2.0 (01.58) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) d	0 (00.00) b	100.8 (04.87) a
2	3%	25 (05.00) b	71 (04.18) c	4 (02.24) ab	36.6(14.99) b
	5%	2 (02.74) c	91 (04.18) b	7 (04.47) a	14.4 (09.07) b
	10%	0 (00.00) c	97 (04.47) a	3 (04.47) b	2.0 (01.58) b
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) d	0 (00.00) b	299.6 (07.99) a
3	3%	25 (05.00) b	71 (04.18) c	4 (02.24) ab	62.2 (18.21) b
	5%	2 (02.74) c	91 (04.18) b	7 (04.47) a	18.4 (08.41) c
	10%	0 (00.00) c	97 (04.47) a	3 (04.47) b	2.0 (01.58) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	501.0 (11.90) a

[1/]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 53 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 54 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ซึ่งสกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol เข้มข้น 3 และ 5% ทำให้ไรแมงมุมสองจุดตายไม่แตกต่างกันในวันแรกของการทดลอง (37 และ 48%) ส่วนที่ความเข้มข้น 10% จะทำให้ไรตายมากที่สุดคือ 60% ในวันเดียวกันนี้พบว่าไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3, 5 และ 10% มีอัตราการหนีออกจากใบแตกต่างกันคือ 4, 15 และ 9% ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมไม่พบไรหนีออกจากใบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 นอกจากจะมีฤทธิ์ในการฆ่าไรโดยตรงแล้ว ยังมีฤทธิ์ในการไล่ไรได้ในระดับค่อนข้างต่ำ ไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 เข้มข้น 3, 5 และ 10% มีอัตราอยู่รอดแตกต่างกันโดยกลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีอัตราการอยู่รอดสูงสุด (59%) รองลงมาคือกลุ่มไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% ซึ่งมีไรอยู่รอด 37 และ 31% ตามลำดับ

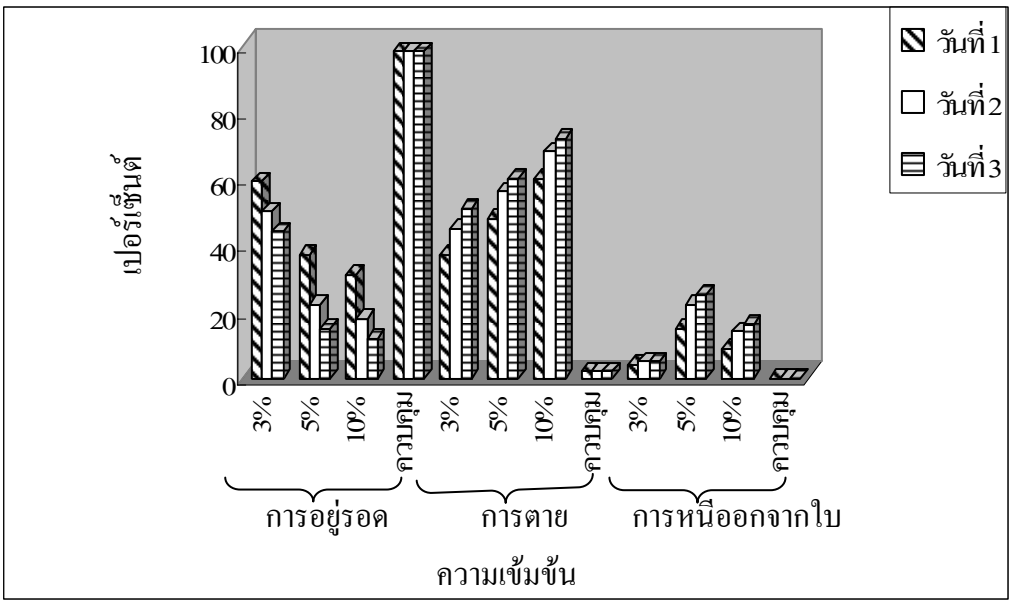
อัตราการตายและการหนีออกจากใบของไรจะค่อยๆ เพิ่มมากขึ้น ในวันที่ 2 และ 3 ของการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าอัตราการตายของไรกลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% ก็ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5% โดยมีอัตราการตาย 51 และ 60% ตามลำดับ นอกจากนั้นการใช้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% ทำให้ไรมีอัตราการตายที่ไม่แตกต่างกันคือ 60 และ 72% ตามลำดับ แต่เนื่องจากสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีประสิทธิภาพในการไล่ไรเพียง 5% ในขณะที่สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% สามารถไล่ไรได้ 25 และ 16% ตามลำดับ ดังนั้นไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% จึงยังคงมีไรอยู่รอดเมื่อสิ้นสุดการทดลองมากถึง 44% ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์ 5 และ 10% ซึ่งมีไรอยู่รอดหลังการทดลองเพียง 15 และ 12% เท่านั้น

เมื่อพิจารณาจำนวนไข่ที่ไรแมงมุมสองจุดผลิตได้ระหว่างการทดลองพบว่า ไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 3% มีอัตราการวางไข่ลดลงเพียง 49.58% ขณะที่ไรซึ่งได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 5 และ 10% มีปริมาณการวางไข่ลดลงมากกว่า (78.68 และ 78.48%) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 21, ภาพที่ 57 และ 58)

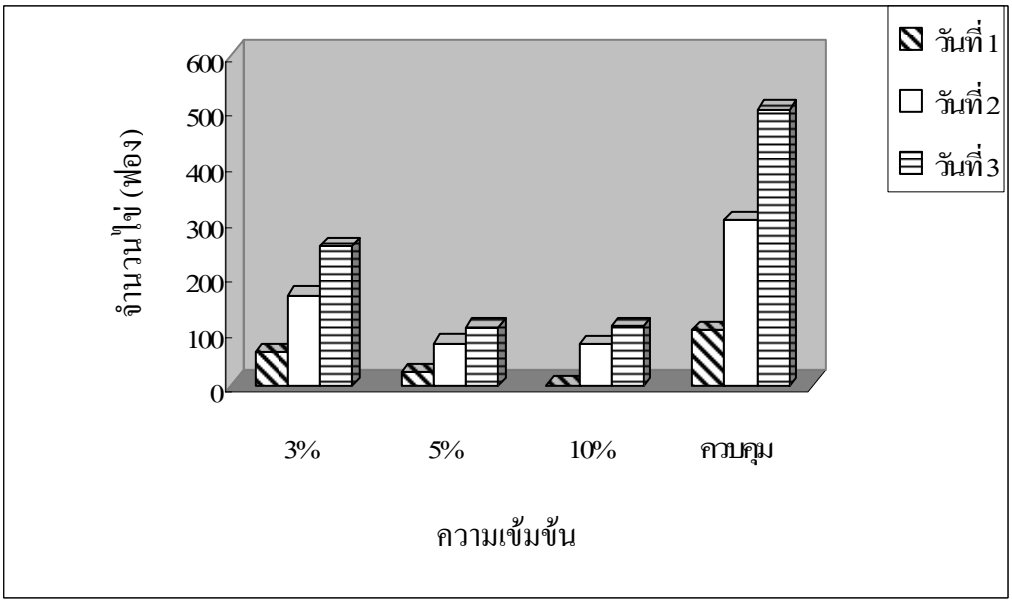
ตารางที่ 21 ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว 14 วัน (จะสกัดสารโดยใช้ dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการทำลายไรแมงมุมสองจุด

วันที่	ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]			จำนวนไข่[1]
		การอยู่รอด	การตาย	การหนีออกจากใบ	
1	3%	59 (08.94) b	37 (10.37) b	4 (02.24) b	62.0 (09.22) b
	5%	37 (05.70) c	48 (06.71) b	15 (03.54) a	25.2 (04.15) c
	10%	31 (06.52) d	60 (11.18) a	9 (06.52) c	1.8 (03.03) d
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	100.8 (04.87) a
2	3%	50 (07.91) b	45 (10.00) bc	5(03.54) c	164.0 (23.53) b
	5%	22 (05.70) c	56 (04.18) b	22 (05.70) a	77.0 (11.38) c
	10%	18 (10.37) c	68 (16.43) a	14 (08.22) b	76.4 (34.31) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	299.6 (07.99) a
3	3%	44 (04.18) b	51 (06.52) b	5 (03.54) c	252.6 (32.91) b
	5%	15 (06.12) c	60 (07.07) ab	25 (06.12) a	106.8 (21.28) c
	10%	12 (11.51) c	72 (18.23) a	16 (08.94) b	107.8 (61.50) c
	ควบคุม	98 (02.74) a	2 (02.74) c	0 (00.00) c	501.0 (11.90) a

[1]เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



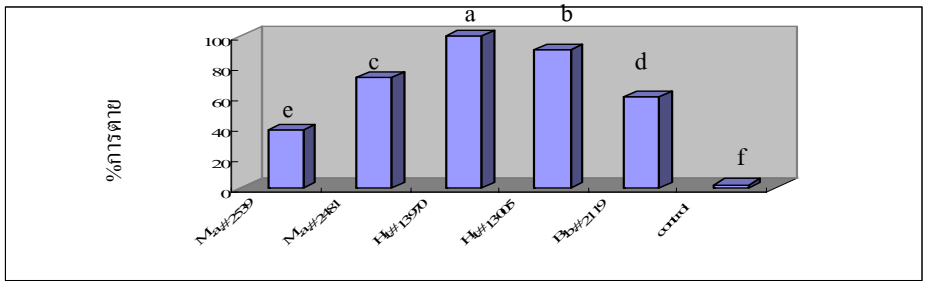
ภาพที่ 55 อัตราการรอด ตาย และการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



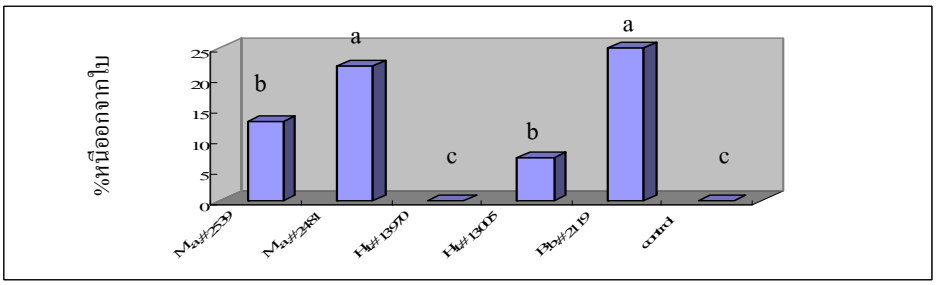
ภาพที่ 56 ปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 3, 5 และ 10% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน

เมื่อนำผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราซึ่งสกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol ทั้ง 5 ไอโซเลทมาเปรียบเทียบกัน พบว่าสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 มีความเป็นพิษต่อไรสูงกว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราไอโซเลทอื่นๆ ที่ใช้ทดลอง โดยที่ระดับความเข้มข้น 3% สามารถทำให้ไรตายถึง 92% ในวันแรกของการทดลองและเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 5 และ 10% ทำให้ไรตาย 100% ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง ส่วนสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 และ *M. anisopliae* # 2481 เข้มข้น 5% มีประสิทธิภาพรองลงมาโดยทำให้ไรมีอัตราการอยู่รอดเพียง 2 และ 5% สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481 ออกฤทธิ์โดยการฆ่าและไล่ไรไปพร้อมๆ กันคือทำให้ไรตาย 73% และไล่ไรออกจากใบพืชได้ 22% ส่วนสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ออกฤทธิ์ในการฆ่าไรสูงถึง 91% ในวันที่ 2 ของการทดลอง สำหรับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 มีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราอื่นๆ เนื่องจากมีไรรอดชีวิตหลังการทดลองถึง 49% และไรจำนวนนี้วางไข่ได้ถึง 256.4 ฟองโดยเฉลี่ย (ภาพที่ 57 ถึง 59)

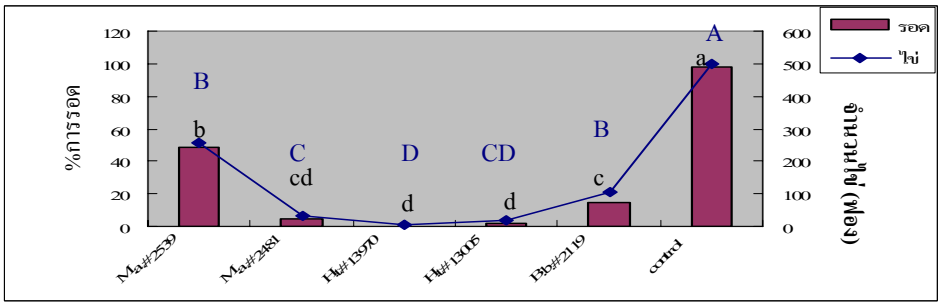
สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 3% จะออกฤทธิ์ทั้งฆ่าและไล่ไรหนีออกจากใบโดยทำให้ไรตาย 60% และไล่ไร 25%จึงมีจำนวนไรเหลือรอด 15% ในวันที่ 2 ของการทดลอง แต่ไรสามารถวางไข่บนใบได้สูงถึง 106.8 ฟองโดยเฉลี่ย เมื่อสิ้นสุดการทดลอง จึงไม่ควรนำมาใช้ในการกำจัดไรแมงมุมสองจุด



ภาพที่ 57 อัตราการตายของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 58 อัตราการหนีออกจากใบของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 59 อัตราการรอดและจำนวนไข่ของไรแมงมุมสองจุดที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในอาหารเหลว 14 วัน (สกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) เข้มข้น 5% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 3 วัน (อักษรตัวใหญ่ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของไข่, อักษรตัวเล็ก เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนไรอยู่รอด)

2.2. การทดสอบสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 และ *B. bassiana* # 2119 กับไรแมงมุมสองจุดบนต้นถั่วดำ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์ 2 ชนิด ซึ่งเป็นตัวแทนของสารเมทาโบไลท์ที่ผลิตจากปลายข้าวและอาหารเหลวได้แก่ สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในปลายข้าวและสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ซึ่งเลี้ยงในอาหารเหลว โดยการฉีดพ่นสารแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2% ลงบนต้นถั่วดำอายุ 3 สัปดาห์ พบว่า หลังการฉีดพ่นสาร 1 สัปดาห์ สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 แสดงประสิทธิภาพในการลดปริมาณไรได้ดีกว่า สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1% ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 2% พบว่าสารเมทาโบไลท์ทั้ง 2 ชนิด มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณไรแมงมุมสองจุดไม่แตกต่างกัน โดยพบไรอยู่รอด 5.20 และ 0.27 ตัว/ใบ ตามลำดับ เป็นที่น่าสังเกตว่า การใช้สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 เข้มข้นเพียง 0.5% ไม่สามารถลดปริมาณไรได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เนื่องจากพบไรบนใบพืชในปริมาณที่ใกล้เคียงกันคือ 62.67 และ 78.93% ตัว/ใบ ตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเป็น 1 และ 2% พบว่าปริมาณไรบนใบพืชลดน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณเพียง 27.93 และ 5.20 ตัว/ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 22)

สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ทุกระดับความเข้มข้นสามารถควบคุมปริมาณไรแมงมุมสองจุดได้ไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ดีสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 1% มีประสิทธิภาพดีกว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน โดยสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 เข้มข้น 1% ลดปริมาณไรลงเหลือ 2.47 ตัว/ใบ ขณะที่การใช้สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 เข้มข้น 1% ยังมีไรเหลือบนใบพืชถึง 27.93 ตัว/ใบ ส่วนสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 และ *M. anisopliae* # 2539 เข้มข้น 2% มีประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณไรแมงมุมสองจุดไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 22)

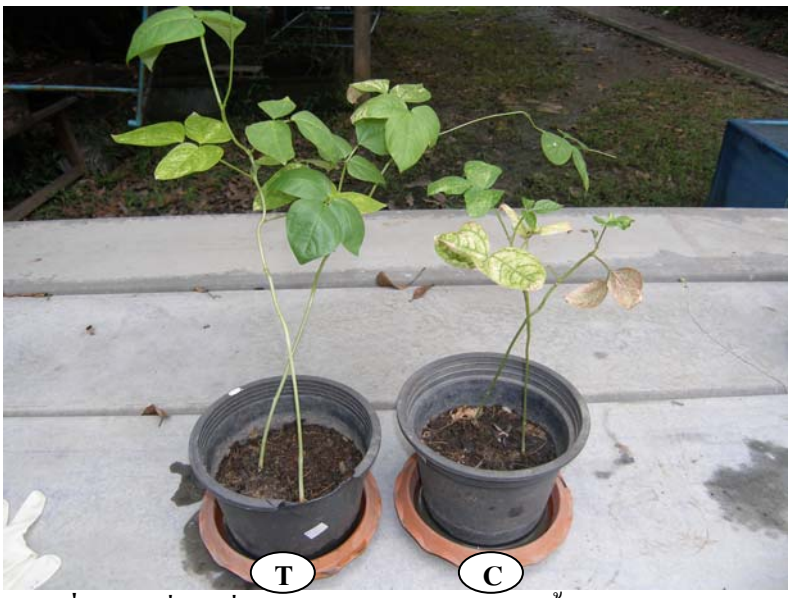
หลังการฉีดพ่นสาร 3 สัปดาห์ พบว่าไรบนต้นถั่วดำที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 และ *B. bassiana* # 2119 ทุกระดับความเข้มข้นสามารถควบคุมปริมาณไรได้ไม่แตกต่างกันโดยพบไรบนใบพืชที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 และ *B. bassiana* # 2119 เข้มข้น 0.5% เพียง 0.37 (พบไข่ไร 48.00 ฟอง โดยเฉลี่ย) และ 0.30 (พบไข่ไร 28.33 ฟอง/ใบโดยเฉลี่ย) ตัว/ใบ ส่วนที่ความเข้มข้น 1 และ 2% พบไรรอดชีวิตน้อยมากหรือไม่มีไร

รอดชีวิตแต่พบไข่ไร 2.67-18.00 ฟอง/ใบโดยเฉลี่ย ขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณไรสูงถึง 142.07 ตัว/ใบ และพบไข่ไร สูงถึง 508.33 ฟอง/ใบโดยเฉลี่ย

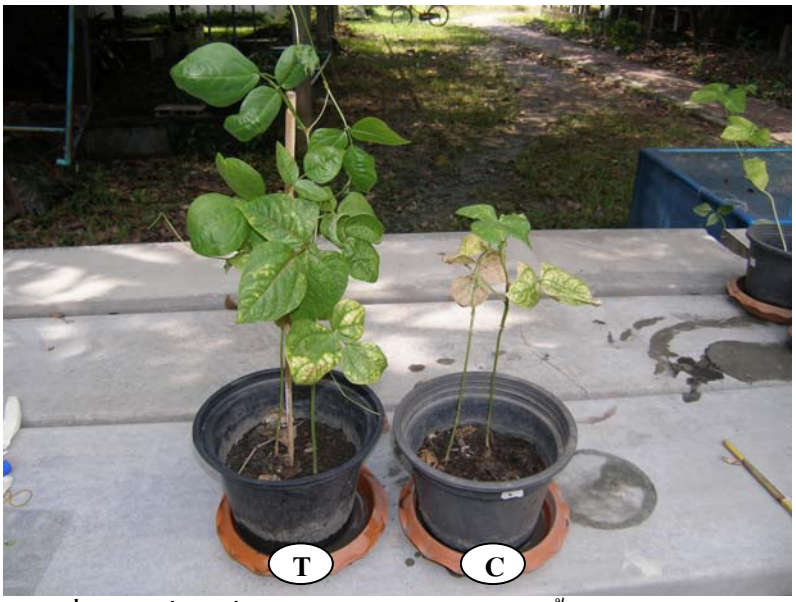
ตารางที่ 22 จำนวนไรแมงมุมสองจุดทุกวัยและไข่ไรบนต้นถั่วดำหลังได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ซึ่งเลี้ยงในปลายข้าวและเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ซึ่งเลี้ยงในอาหารเหลว (สกัดสารโดยใช้ ethyl acetate) เข้มข้น 0.5, 1 และ 2% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นเวลา 1 และ 3 สัปดาห์

		จำนวนไรอยู่รอด (ตัว/ใบ) (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]		จำนวนไข่เฉลี่ย/ใบ (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)[1/]
	ความ	1 สัปดาห์	3 สัปดาห์	3 สัปดาห์
เชื้อรา	เข้มข้น	ไร	ไร	ไข่
M. anisopliae # 2539	0.5%	62.67 (13.23) a	00.37 (00.64) b	48.00 (014.93) b
	1%	27.93 (20.04) b	00.00 (00.00) b	18.00 (009.54) b
	2%	05.20 (02.03) c	00.00 (00.00) b	08.00 (007.81) b
B. bassiana # 2119	0.5%	14.53 (03.23) bc	00.30 (00.30) b	28.33 (048.21) b
	1%	02.47 (00.99) c	00.00 (00.00) b	13.33 (008.50) b
	2%	00.27 (00.46) c	00.10 (00.17) b	02.67 (004.62) b
ชุดควบคุม		78.93 (15.77) a	142.07 (01.71) a	508.33 (122.74) a

[1]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (α=0.05)



ภาพที่ 60 ต้นถั่วดำที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ซึ่งเลี้ยงในปลายข้าวเป็นเวลา 3 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (T = Treatment, C = Control)



ภาพที่ 61 ต้นถั่วดำที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ซึ่งเลี้ยงในอาหารเหลว เป็นเวลา 3 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (T = Treatment, C = Control)

วิจารณ์

เชื้อราที่ก่อโรคกับแมลง (entomopathogenic fungi) หลายชนิดสร้างสารเมทาโบไลท์ซึ่งมีฤทธิ์ในการทำลายแมลงและไรศัตรูพืช สารเมทาโบไลท์ของเชื้อราหลายชนิดสามารถนำมาใช้แทนสปอร์หรือผลิตภัณฑ์จากเส้นใยของเชื้อราเพื่อกำจัดศัตรูพืช (Rosas-Acevedo *et al*., 2003) จึงมีผู้นำมาศึกษาถึงประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณศัตรูพืชเพื่อเป็นทางเลือกในการพัฒนาผลิตภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช และลดการใช้สารเคมีเพื่อความปลอดภัยของผู้ผลิตและผู้บริโภค

เชื้อราในสกุล *Beauveria, Metarhizium* และ *Hirsutella* สร้างสารเมทาโบไลท์หลายชนิด เช่น beauvericin, beauveriolides, oosporicin, destruxin, hirsutatin, hirsutellin A และ B ที่แสดงความเป็นพิษต่อศัตรูพืชหลายชนิด อย่างไรก็ดีปริมาณสารเมทาโบไลท์ที่เชื้อราแต่ละชนิดผลิตขึ้นภายในเซลล์นั้นมีปริมาณน้อยมาก เมื่อเทียบกับปริมาณสารเมทาโบไลท์ที่เชื้อราหลั่งลงในอาหารเหลว (Strasser *et al*., 2000) นอกจากนั้นเชื้อรายังสามารถปลดปล่อยสารเมทาโบไลท์ลงบนอาหารชนิดต่างๆ เช่น ข้าวหุง และรำข้าวสาลีอีกด้วย (Shi and Feng, 2004; Kucera, 1980) ในปี ค.ศ. 2001 Ganassi *et al*. สกัดสารพิษจากเชื้อรา *Fusarium, Paecilomyces* และ *Trichoderma* โดยเลี้ยงบนข้าว และสารพิษเหล่านี้มีพิษต่อเพลี้ยอ่อน (*Schizaphis graminum* Rondani)

การสกัดสารเมทาโบไลท์จากอาหารเลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae*, *H. thompsonii* และ *B. bassiana* หลังจากเลี้ยงเชื้อราในปลายข้าวและอาหารเหลวเป็นเวลา 14 วัน โดยใช้ ethyl acetate เป็นตัวทำละลาย รวมทั้งนำมวลชีวภาพตากแห้งมาสกัดด้วย dichloromethane และ methanol (สกัดแบบต่อเนื่อง) ได้สารเมทาโบไลท์ในปริมาณที่แตกต่างกัน และมีประสิทธิภาพในการทำลายไรแมงมุมสองจุดแตกต่างกัน จากการศึกษาพบว่าวิธีการสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราที่เลี้ยงในปลายข้าว เป็นวิธีที่สะดวก ประหยัด และได้ปริมาณสารเมทาโบไลท์ค่อนข้างมากกว่าการสกัดสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวหรือมวลชีวภาพอบแห้ง

การสกัดสารเมทาโบไลท์จากอาหารตามธรรมชาติ เช่น เมล็ดธัญพืช และรำข้าวสาลีที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา เป็นวิธีที่ใช้กันทั่วไป เช่น Kucera (1980) สกัดสารพิษจากเชื้อรา *M. anisopliae* ซึ่งเลี้ยงในรำข้าวสาลีได้เอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteolytic enzyme) ที่เป็นพิษต่อหนอนผีเสื้อไขผึ้ง (*Galleria mellonella* (L)) Hsieh *et al*. (1998) เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* บนอาหารแข็งและนำมาสกัดสารเมทาโบไลท์ พบว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราดังกล่าวเป็นพิษต่อหนอนกระทู้หอม *Spodoptera*

exigua (Hübner) โดยทำให้หนอนวัย 3 ตาย 86.7 และ 95% หลังได้รับสารเป็นเวลา 1 และ 2 วัน ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ที่พบว่าสารเมทาโบไลท์ซึ่งเชื้อรา *M. anisopliae* ปล่อยลงในปลายข้าวสามารถควบคุมปริมาณไรแมงมุมสองจุดได้

อาหารเหลวเป็นแหล่งสะสมสารเมทาโบไลท์ซึ่งเชื้อราหลายชนิดสร้างขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโต และสารเมทาโบไลท์เหล่านี้แสดงความเป็นพิษต่อศัตรูพืช เช่น Vey *et al*. (1993) พบว่าสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* มีความเป็นพิษต่อหนอนผีเสื้อไขผึ้งและตัวเต็มวัยของแมลงหวี่ *Drosophila melanogaster* (Meigen) Gupta (1994) ใช้ dichloromethane สกัดสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวซึ่งใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* var. *synnematosa* พบสารปฏิชีวนะ (+)-phomalactone, 6-(1-propenyl)-5,6-dihydro-5-hydroxypyran-2-one ซึ่งเป็นพิษต่อแมลงวัน (*Rhagoletis pomonella* Walsh) และแมลงวันทอง (*Ceratitis capitata* Wiedemann) รวมทั้งยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* อีกด้วย Mazet and Vey (1995) พบว่าสาร hirsutellin A และ B ในอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* var. *thompsonii* เป็นพิษต่อหนอนผีเสื้อไขผึ้งและลูกน้ำยุงลายวัยแรก ส่วน Omoto and McCoy (1998) สกัดสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลว Zapek-Dox broth ซึ่งใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* (CBS 556.778) และรายงานว่าสารเมทาโบไลท์ที่ได้สามารถฆ่าไรสนิมส้มและลดอัตราการวางไข่

นอกจากเชื้อรา *H. thompsonii* จะให้สารเมทาโบไลท์ที่เป็นพิษต่อแมลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองนี้ เชื้อรา *Hirsutella* บางสายพันธุ์ เช่น *Hirsutella nivea* BCC 2594, *Hirsutella* sp. BCC 1528 และ *Hirsutella kobayasii* BCC 1660 จะผลิตสาร hirsutatins A และ B, hirsutellic acid A และ hirsutellide A ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านทานเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) อีกด้วย (Palasarn *et al.,* 2005; Thongtan *et al.,* 2006; Vongvanich *et al.*, 2002)

Quesada-Moraga *et al*. (2006) เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ในอาหารเหลว Adamek's liquid medium พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ปลดปล่อยสารพิษซึ่งเป็นโปรตีนในปริมาณที่น้อยมาก ยากต่อการที่จะนำมาพัฒนาเป็นสารกำจัดศัตรูพืชในอนาคต และพบว่าสารเมทาโบไลท์ที่ปะปนอยู่ในอาหารเหลว ซึ่งใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ทำให้หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera littoralis* Boisduval ตายหรือกินอาหารได้น้อยลง

Palasarn *et al*. (2005) ใช้ ethyl acetate สกัดสารเมทาโบไลท์จากอาหารเหลวที่เลี้ยงเชื้อรา *H. nivea* BCC 2594 พบสารเมทาโบไลท์ 2 ชนิด ได้แก่ hirsutatins A (1) และ hirsutatins B (2) และพบว่าสาร hirsutatins B (2) มีฤทธิ์ในการต้านทานเชื้อมาลาเรีย (*P. falciparum*)

การศึกษาครั้งนี้พบว่ามวลชีวภาพตากแห้งที่กรองแยกจากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae*, *H. thompsonii* และ *B. bassiana* ยังมีสารเมทาโบไลท์อยู่ด้วย Vongvanich *et al*. (2002) และ Isaka *et al*. (2005) รายงานว่ามวลชีวภาพตากแห้งเป็นแหล่งสะสมของสารเมทาโบไลท์ที่มีพิษต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆ โดย Vongvanich *et al*.(2002) แยกสาร Hirsutellide A (1) ได้จากมวลชีวภาพของเชื้อรา *H. kobayasii* BCC 1660 ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านทานเชื้อแบคทีเรียและมาลาเรีย และ Isaka *et al*. (2005) ใช้ methanol สกัดสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพตากแห้งของเชื้อรา *H. nivea* BCC 2594 พบสารเมทาโบไลท์ 5 ชนิด คือ hirsutellones A-E

เชื้อรา *M. anisopliae* สร้างสารเมทาโบไลท์ในอาหารแข็งและอาหารเหลว ซึ่งมีพิษร้ายต่อแมลงบางชนิด Poprawski *et al.* (2005) พบว่าการฉีดพ่นสารพิษ destruxin E เข้มข้น 100 ppm ลงบนตัวอ่อนเพลี้ยจั๊กจั่น *Empoasca vitis* (Goethe) โดยตรง จะทำให้แมลงตาย 87.5% แต่ถ้าให้แมลงสัมผัสกับพืชที่พ่นสารพิษเอาไว้ จะพบอัตราการตายสูงถึง 98.3% สารพิษ destruxins A, B และ E ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสามารถยับยั้งการกินอาหาร (antifeedant effect) ของหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* Linnaeus) และหนอนผีเสื้อ (*Phaedon cochleariae* Fabricius) ทั้งในวิธีการทดลองแบบ choice test และ no-choice test (Amiri *et al*., 1999) นอกจากนี้ Hu *et al*. (2007) พบว่าสารพิษ destruxins A, B และ E นี้มีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้ผัก *S. litura* โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 197.98, 292.00 และ 113.99 มิลลิกรัม/ลิตร หลังการทดสอบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

จากรายงานดังกล่าวจะเห็นว่า สารพิษจากเชื้อรา *M. anisopliae* มีพิษโดยตรงต่อแมลงศัตรูพืชหลายชนิด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ที่พบว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดด้วย ethyl acetate) เข้มข้นเพียง 3% สามารถลดประชากรของไรโดยฆ่าและไล่ไรได้ ทำให้ไรเหลือรอดเมื่อสิ้นสุดการทดลองเพียง 14% และวางไข่ 102.2 ฟองโดยเฉลี่ย ขณะที่สารเมทาโบไลท์จากเชื้อราชนิดเดียวกันที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลวต้องใช้ที่ระดับความเข้มข้น 10% จึงจะได้ผลเช่นเดียวกัน คือมีไรรอดชีวิต 13% ซึ่งจะวางไข่ 83.8 ฟองโดยเฉลี่ย ส่วนสารเมทาโบไลท์ที่ได้จากมวลชีวภาพแสดงฤทธิ์ในการฆ่ามากกว่าไล่ไร แต่ลดประชากรของไรได้น้อยกว่าสารเมทาโบไลท์จากปลายข้าวและอาหารเหลว

สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่เลี้ยงในปลายข้าว (สกัดด้วย ethyl acetate) สามารถลดประชากรของไรโดยฆ่าและไล่ไรได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 5% โดยมีไรเหลือรอด 9% และวางไข่ 81.8 ฟองโดยเฉลี่ย ขณะที่สารเมทาโบไลท์จากเชื้อราชนิดเดียวกันที่ได้จากการสกัดมวลชีวภาพด้วย dichloromethane เพียงอย่างเดียว หรือสกัดด้วย dichloromethane และต่อเนื่องด้วย methanol ที่ระดับความเข้มข้นเพียง 3% สามารถลดประชากรของไรโดยฆ่าและไล่ไรได้ดีที่สุด โดยมีไรเหลือรอด 11% (วางไข่ 74.4 ฟองโดยเฉลี่ย) และ 7 % (วางไข่ 37.2 ฟองโดยเฉลี่ย) ตามลำดับ สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพซึ่งสกัดสารด้วย dichloromethane ออกฤทธิ์ทั้งฆ่าและไล่ไร ขณะที่สารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพซึ่งสกัดสารด้วย dichloromethane และต่อเนื่องด้วย methanol ทำลายไรโดยการฆ่าถึง 92-100% ส่วนสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราชนิดเดียวกันที่ได้จากการสกัดอาหารเหลวซึ่งใช้เลี้ยงเชื้อรามีฤทธิ์ฆ่าและไล่ไร แต่ประสิทธิภาพในการลดประชากรไรต่ำที่สุด โดยเหลือไรรอดชีวิตสูงถึง 22% ที่ความเข้มข้น 10%

สารเมทาโบไลท์ของ เชื้อรา *H. thompsonii* # 13005 ที่ได้จากปลายข้าว อาหารเหลว และมวลชีวภาพ (สกัดด้วย dichloromethane หรือสกัดต่อเนื่องด้วย methanol) สามารถลดประชากรของไรได้ไม่แตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้น 5% โดยมีไรเหลือรอด 2-8% ขณะที่สารเมทาโบไลท์จากเชื้อราชนิดเดียวกันที่ได้จากอาหารเหลวและจากการสกัดมวลชีวภาพด้วย dichloromethane เพียงอย่างเดียว สามารถลดประชากรของไรโดยฆ่าและไล่ไรได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นเพียง 3% โดยมีไรเหลือรอด 7% (วางไข่ 60 ฟองโดยเฉลี่ย) และ 8 % (วางไข่ 47.2 ฟองโดยเฉลี่ย) ตามลำดับ Rosas-Acevedo *et al*. (2003) พบว่าหยดน้ำตามเส้นใยบนผิวหน้าของโคโลนีเชื้อรา *H. thompsonii* มีสารเมทาโบไลท์ซึ่งเป็นพิษต่อไรแมงมุมสองจุด และเมื่อนำมาฉีดพ่นบนไรทำให้ลดปริมาณไข่ไรได้ 100% หลังการฉีดพ่น 6 วัน การใช้หยดน้ำที่ความเข้มข้นต่ำจะทำให้ไรเพิ่มปริมาณได้ภายใน 3-6 วันหลังการฉีดพ่น แต่ก็ยังวางไข่ได้น้อยลง ผลการวิเคราะห์ปริมาณ HtA ในหยดน้ำพบว่ามีอยู่น้อยกว่าในอาหารเหลว และหยดน้ำนี้ไม่มีพิษต่อหนอนกินไขผึ้ง ขณะเดียวกันสารเมทาโบไลท์ที่ได้จากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อราชนิดนี้ไม่สามารถลดปริมาณไข่ของไรแมงมุมสองจุดได้ดีเท่ากับการใช้หยดน้ำ โดยการใช้หยดน้ำที่ความเข้มข้น 50-100% จะยับยั้งการวางไข่ได้ 100% ส่วนไรยังมีการเจริญเติบโตตามปกติ และอายุยืนเท่าๆ กับไรในชุดควบคุม แต่ทำให้ลูกในรุ่นถัดไปลดลงและความเสียหายในการทำลายพืชลดลง

Omoto and McCoy (1998) พบว่าสารพิษ hirsutellin A ทำให้ไรสนิมส้มที่ได้รับสารเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร ตายถึง 100% และวางไข่ได้น้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาครั้งนี้

นอกจากนั้นยังทำให้หนอนผีเสื้อไขผึ้ง มีเปอร์เซ็นต์การตายสูง 60-100% หลังการทดสอบเป็นเวลา 25 ชั่วโมง (Lui *et al*., 1995) และมีผลทำให้ลูกน้ำยุงลายตาย 100% ที่ระดับความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร (Mazet and Vey, 1995)

McCoy *et al*. (1993) นำอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อราไปเพิ่มความเข้มข้นของสารพิษ 5 ชนิด และพบว่ามีผลทำให้แมลงหวี่ตายมากที่สุดคือ 78.8% และมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ (Sf-9) หนอนผีเสื้อ (*S. frugiperda*) อายุ 4 วัน นอกจากนี้สารพิษ Hirsutellin A จากเชื้อรา *H. kobayasii* เข้มข้น 50 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร แสดงผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเชื้อมาลาเรีย แต่ไม่มีผลต่อ Vero cell line (Vongvanich *et al.,* 2002)

Aghajanzadeh *et al*. (2006) ทำการเลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* ในอาหารเหลว (Potato dextrose broth) เป็นเวลา 14 วัน และนำอาหารเหลวมากรองเอามวลชีวภาพออก ก่อนจะนำอาหารเหลวที่กรองได้มาฉีดพ่นบนใบหม่อนที่มีไรแมงมุมสองจุด หรือฉีดพ่นบนผลส้มที่มีไรสนิมส้มจำนวนมาก พบว่าอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อราดังกล่าว ทำให้ไรสนิมส้มตายมากที่สุด 55.90% หลังการทดลอง 9 วัน ส่วนอัตราการตายของไรแมงมุมสองจุดอยู่ในระดับต่ำ (27.97%) หลังการฉีดพ่น 8 วัน ที่น่าสนใจคือเมื่อนำเส้นใยของเชื้อรามาเจือจางและฉีดพ่นบนไรแมงมุมสองจุดพบว่า ทำให้ไรตายมากกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเหลวถึง 2 เท่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทั้งเส้นใยของเชื้อราและในอาหารเหลวมีสารเมทาโบไลท์ซึ่งเป็นพิษต่อไรแมงมุมสองจุด และผลการศึกษาดังกล่าวสนับสนุนการทดลองในครั้งนี้

สารเมทาโบไลท์ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มีประสิทธิภาพสูงกว่าผลการศึกษาของ Aghajanzadeh *et al*. (2006) ซึ่งเป็นเพราะสารเมทาโบไลท์ในการทดลองนี้ ได้จากการสกัดจากอาหารเหลวหรือมวลชีวภาพตากแห้งโดยใช้ตัวทำละลายต่างกัน หลังจากนั้นได้ทำการลดปริมาตรของสารละลาย ทำให้ได้สารเมทาโบไลท์เข้มข้น 100% จึงมีประสิทธิภาพสูงกว่าการทดลองของ Aghajanzadeh *et al*. (2006) ที่ใช้อาหารเหลวหลังการกรองมวลชีวภาพออกแล้วโดยตรงซึ่งมีปริมาณสารเมทาโบไลท์ที่เจือจางมาก

Aghajanzadeh *et al*. (2006) พบว่าประสิทธิภาพของอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* ที่มีต่อไรแมงมุมสองจุดจะเพิ่มมากขึ้น ถ้าเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวนานขึ้น โดยพบว่า crude filtrate ของเชื้อราอายุ 20 วัน ทำให้ไรแมงมุมสองจุดมีเปอร์เซ็นต์การตาย 44.68%

ขณะที่ crude filtrate อายุ 14 วัน จะทำให้ไรตายเพียง 15.7% เท่านั้น ซึ่งตรงกันข้ามกับผลการทดลองครั้งนี้ที่ พบว่าประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 และ *H. thompsonii* # 13005 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 14 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 3% มีผลทำให้ไรแมงมุมสองจุดตาย 44 และ 83% ตามลำดับ

Omoto and McCoy (1998) พบว่า สารเมทาโบไลท์ของเชื้อรา *H. thompsonii* (hirsutellin A) ซึ่งสกัดจากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *H. thompsonii* แสดงฤทธิ์ในการสัมผัส (contact poison) ต่อไรสนิมส้ม โดยพบอัตราการตาย 100% เมื่อได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม ปริมาณไข่ของไรจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในวันที่ 3 หลังการฉีดพ่นซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาครั้งนี้

สารเมทาโบไลท์ของเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ที่แยกจากปลายข้าวและมวลชีวภาพตากแห้ง สามารถลดประชากรของไรโดยการฆ่าไรได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 5% โดยมีไรเหลือรอด 5-15% ขณะที่สารเมทาโบไลท์จากเชื้อราชนิดเดียวกันที่สกัดจากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อราสามารถลดประชากรของไรโดยการฆ่าได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นเพียง 3% โดยมีไรเหลือรอด 11% และวางไข่ 88.4 ฟองโดยเฉลี่ย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Zizka and Weiser (1993) ที่รายงานว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* ที่เรียกว่า beauvericin ทำให้ลูกน้ำยุง (*Culex pipiens* (L.)) มีอัตราการตาย 44% เมื่อได้รับสารเมทาโบไลท์เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ยังมีผลควบคุมแพลงก์ตอนพืช *Mysidopsis bahia* Marblehead โดยมีค่า LC50 เท่ากับ 0.56 มิลลิกรัม/ลิตร (Genther *et al*., 1994)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์ที่ผลิตจากแต่ละวิธีการพบว่า สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่ได้จากวิธีการเลี้ยงบนปลายข้าว ออกฤทธิ์โดยการฆ่าและไล่ไรไปพร้อมๆ กัน ขณะที่สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ออกฤทธิ์ในการฆ่าไรโดยตรง เมื่อนำสารทั้ง 2 มาทดสอบบนต้นพืชพบว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 มีประสิทธิภาพด้อยกว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* # 2119 ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุมาจากไรที่ได้รับสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* ในระดับความเข้มข้นต่ำและไม่ตายแต่ถูกไล่ออกจากใบยังคงอาศัยอยู่บนต้นพืชและกลับเข้ามากินอาหารและขยายพันธุ์ต่อไป จึงพบว่าที่ระดับความเข้มข้นเพียง 0.5% ไม่สามารถลดประชากรให้ต่ำกว่าชุดควบคุมได้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2% ทำให้อัตราการตายของไรเพิ่มขึ้น จึงทำให้ปริมาณไรลดน้อยลงจนต่ำกว่าชุดควบคุม

ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับ Omoto and McCoy (1998) ซึ่งทดลองพ่นสารพิษ HtA ในอัตรา 0, 10, 32, 56 และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม บนใบพืชที่มีไรสนิมส้ม และพบว่าอัตราการตายของไรสนิมส้มจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อได้รับสารเมทาโบไลท์ หรือ HtA ในอัตราที่เพิ่มขึ้น

Amiri *et al*. (1999) และ Quesada-Moraga *et al*. (2006) กล่าวว่าสารเมทาโบไลท์ที่สกัดได้จากเชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นพอเหมาะ จะทำหน้าที่ในการฆ่าแมลง แต่การใช้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำลงจะกลายเป็นสารยับยั้งการกินอาหาร ขณะที่การศึกษาครั้งนี้พบว่า สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* และ *H. thompsonii* ที่ระดับความเข้มข้นสูงเป็นสารฆ่าไรโดยตรง และหากใช้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำจะทำหน้าที่ไล่ไรออกจากใบพืชด้วย ส่วนสารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *B. bassiana* ที่ทุกระดับความเข้มข้น ไม่ว่าจะสกัดด้วยวิธีใดก็ตาม จะแสดงประสิทธิภาพในการฆ่าไรอย่างเด่นชัด

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

เชื้อรา *M. anisopliae, H. thompsonii* และ *B. bassiana* ผลิตสารพิษหลายชนิดเช่น destruxins, oosporein, beauvericin hirsutellin, hirsutellic acid และ hirsutellide A สารพิษแต่ละชนิดมีผลต่อแมลงและไรศัตรูพืชแตกต่างกันออกไป แต่ในปัจจุบันยังไม่มีการสกัดสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลทที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อนำมาทดสอบกับไรแมงมุมสองจุด ดังนั้นการทดลองครั้งนี้จึงต้องการศึกษาวิธีการสกัดสารเมทาโบไลท์ทั้งจากเชื้อราที่เลี้ยงด้วยปลายข้าวและอาหารเหลวรวมทั้งการผลิตสารพิษจากมวลชีวภาพตากแห้ง นอกจากนี้ยังศึกษาประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต่อไรแมงมุมสองจุด โดยพบว่าสารเมทาโบไลท์ทุกสารที่สกัดได้มีฤทธิ์ในการฆ่าและไล่ไร หรือมีฤทธิ์ในการฆ่าไรเพียงอย่างเดียวในอัตราที่แตกต่างกันออกไป สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *M. anisopliae* # 2539 ที่ความเข้มข้น 3% มีประสิทธิภาพสูงสุดจากวิธีการสกัดจากเชื้อราบนปลายข้าว ส่วนสารเมทาโบไลท์ของเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่ความเข้มข้น 3% มีประสิทธิภาพสูงสุดจากวิธีการสกัดด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol และสารเมทาโบไลท์ของเชื้อรา *M. anisopliae* # 2481, *H. thompsonii* # 13970 และ *B. bassiana* # 2119 ที่ความเข้มข้น 3% มีประสิทธิภาพสูงสุดจากวิธีการสกัดจากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา

การพิจารณาเลือกใช้วิธีการผลิตสารเมทาโบไลท์เพื่อผลิตเป็นการค้า ต้องคำนึงถึงต้นทุนการผลิต โดยวิธีการเลี้ยงเชื้อราจากปลายข้าวมีต้นทุนเพียง 2.03 บาท/ปลายข้าว 100 กรัม แต่ต้นทุนในการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวคือ 9.53 บาท/อาหารเหลว 100 กรัม ส่วนการสกัดสารเมทาโบไลท์จากมวลชีวภาพตากแห้งโดยใช้ dichloromethane เพียงอย่างเดียว หรือสกัดต่อเนื่องด้วย methanol จะเสียค่าใช้จ่าย 2978.13 และ 3286.20 บาท/มวลชีวภาพ 100 กรัมตามลำดับ หรือคิดเป็น 1467.06 และ 1618.82 เท่าของต้นทุนการสกัดจากข้าว (2.03 บาท) ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการสกัดสารเมทาโบไลท์จากปลายข้าวมีต้นทุนต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ ดังนั้นจึงควรเลือกวิธีการสกัดสารเมทาโบไลท์จากปลายข้าว เพราะสารเมทาโบไลท์จากวิธีนี้ที่ระดับความเข้มข้น 5% มีประสิทธิภาพในการฆ่าและไล่ไรออกจากใบได้ เช่น สารเมทาโบไลท์จากเชื้อรา *H. thompsonii* # 13970 ที่ความเข้มข้น 3% จากวิธีการสกัดมวลชีวภาพด้วย dichloromethane และสกัดต่อเนื่องด้วย methanol มีประสิทธิภาพในการฆ่าและไล่ไรออกจากใบได้ โดยทำให้มีไรเหลือรอด 7% แต่ถ้าเปลี่ยนวิธีการสกัดเป็นการสกัดสารเมทาโบไลท์จากปลายข้าว ซึ่งมีต้นทุนการผลิตต่ำ แต่เพิ่มความเข้มข้นเป็น 5% จะมีไรเหลือรอด 8% ดังนั้นจึงควรเลือกใช้ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น 5% แต่ใช้วิธีการผลิตสารเมทาโบไลท์จากปลายข้าวเพราะมีต้นทุนถูกกว่ากันมาก

จากการทดลองฉีดพ่นสารเมทาโบไลท์ลงบนต้นถั่วดำที่มีไรระบาดในสภาพโรงเรือนตามธรรมชาติ โดยเลือกสารเมทาโบไลท์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดจากวิธีการเลี้ยงในปลายข้าวและในอาหารเหลว อย่างละ 1 ไอโซเลท ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2% พบว่าในช่วงสัปดาห์แรกหลังการฉีดพ่นที่ระดับความเข้มข้น 0.5% มีไรบนต้นเฉลี่ยทั้ง 2 ไอโซเลทไม่แตกต่างจากชุดควบคุม แต่หลังการฉีดพ่น 3 สัปดาห์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.5% มีไรบนต้นถั่วดำเฉลี่ยแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างเห็นได้ชัด

จากผลการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้แก่ เชื้อรา *M. anisopliae, H. thompsonii* และ *B. bassiana* มีประสิทธิภาพในการฆ่าและไล่ไรแมงมุมสองจุดในอัตราที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ดียังมีข้อมูลพื้นฐานอื่นๆ อีกมากที่จำเป็นต้องศึกษาต่อไป ก่อนที่จะนำสารเมทาโบไลท์มาเป็นสารกำจัดแมลงหรือไรศัตรูพืช เช่น องค์ประกอบของสารที่ออกฤทธิ์ต่อศัตรูพืช ช่วงอายุของเชื้อราที่ให้สารเมทาโบไลท์ในปริมาณสูงสุด รวมทั้งรูปแบบ (formulation) ที่เหมาะสมกับการนำไปใช้ในสภาพไร่และการควบคุมคุณภาพการผลิต เป็นต้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม, 2544. **ไรศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด.** โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตร แห่งประเทศไทยจำกัด, กรุงเทพฯ.

ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2535. **โรควิทยาของแมลง.** ภาควิชากีฏวิทยา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พิเชฐ เชาวนวัฒนวงศ์, มานิตา คงชื่นสิน และวัฒนา จารณศรี. 2542. **การศึกษาความแปรปรวนในปริมาณประชากรไรศัตรูกุหลาบและศัตรูธรรมชาติ**. รายงานผลการวิจัย (ฉบับย่อ) ปี 2542. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

อังศุมาลย์ จันทราปัตย์. 2543. **รายงานการศึกษาชนิด ชีววิทยาและการแพร่กระจายของไรสี่ขาในภาคกลางและภาคตะวันออกของประเทศไทย เสนอต่อโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย.** ภาควิชากีฏวิทยา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 108 น.

อังศุมาลย์ จันทราปัตย์ และ อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. 2532. **รายงานการวิจัยการใช้เชื้อรา *Hirsutella thompsonii* (Fissher) กับไรสนิมส้ม *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) (เอกสารอัดสำเนา).** 48 น.

Aghajanzadeh, S., B. Mallik and S.C. Chandrashekar. 2006. Bioefficacy of six isolates of *Hirsutella thompsonii* Fisher against citrus rust mite, *Phyllocoptruta oleivora* ashmead (Acari: Eriophyidae) and two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidea). **Pakistan J. Biol. Sci.** 9: 871-875.

Alves, S.B., L.S. Rossi., R.B. Lopes., M.A. Tamai and R.M. Pereira. 2002. *Beauveria bassiana* yeast phase on agar medium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **J. Invertebr. Pathol.** 81: 70-77.

Amiri, B., L. Ibrahim and T.M. Butt. 1999. Antifeedant properties of destruxins and their potential
use with the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* for improved control of crucifer pests. **Biocon. Sci.Tech**. 9: 487-498.

Bartlett, B.R. 1968. Outbreaks of two-spotted spider mites and cotton aphids following pesticide treatment. I. Pest stimulation vs. natural enemy destruction as the cause of outbreaks. **J. Econ. Entomol**. 61: 29-303.

Bidochka, M.J., T.A. Pfeifer and G.G. Khachatourians. 1987. Development of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in liquid cultures. **Mycopathol**. 99: 77-83.

Bolland, H.R., J. Gutierrez and C.H.W. Flechtmann. 1998. **World Catalogue of the Spider Mites Family Acari: Tetranychidae with References to Taxonomy, Synonymy, Host Pests and Distribution.** Academic Publ. Brill. Leiden**,**

Boucias, D.G. and J.C. Pendland. 1998. **Priciples of Insect Pathology.** Kluwer Academic Publishers, USA.

Brandenburg, R.L. and G.G. Kennedy. 1987. Ecological and agricultural considerations in the management of two spotted spider mite *(Tetranychus urticae* Koch). **Agric. Zool. Rev**. 2: 185-236.

Cagle, L.R. 1949. Life history of the two-spotted spider mite. **Virginia Agric. Expt. Sta. Tech.Bull.** 113: 31 pp.

Carner, G.R. 1976. A description of the life cycle of *Entomophthora* sp. in the two-spotted spider mite**. J. Invertebr. Pathol.** 28: 245-254.

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

Chelico, L., J.L. Haughian., A.E. Woytowich and G.G. Khachatourians. 2005. Quantification of ultraviolet-C irradiation induced cyclobutane pyrimidine dimers and their removal in *Beauveria bassiana* conidiospore DNA. **Mycologia**. 97: 621-627.

Ferron, P. 1977. Influence of relative humidity on the development of fungal infection caused by *Beauveria bassiana* (fungi imperfecti, Moniliales) in imagoes of *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae). **Entomophaga**. 22: 393-396.

Ferron, P., J. Fargues and G. Riba. 1991. Fungi as microbial insecticides against pests, pp. 665-706. *In* D.K. Arora., L. Ajello and A. Mukerji., eds. **Handbook of Applied Mycology**. Marcel. Dekker, New York.

Friederichs, K. 1920. Uber Pleophagie des Insektenpilzes, *Metarrhizium anisopliae* Metsch. **Centralbl. Bakt. Parasit. Infektionskrankh**., 2: 335–356.

Fuka, J.K. 1998. Environmental manipulation for microbial control of insects**,** pp. 255-267. *In* P. Brabosa, ed. **Conservation Biological Control**. Academic Press, USA.

Ganassi, S., A. Moretti., C. Stornelli., B. Fratello., A.M. Bonvicini Pagliai., A. Logrieco and M.A. Sabatini. 2001. Effect of *Fusarium, Paecilomyces* and *Trichoderma* formulations against aphid *Schizaphis graminum***. Mycopathol.** 151:.131-138.

Garcia-Mari, F. and J. E. Gonzalez-Zamora. 1999. Biological control of *Tetranychus urticae* (Acari : Tetranychidae) with naturally occurring predators in strawberry plantings in Valencia. **Exp.Appl.Acarol.** 23(6): 487-495.

Genthner, F.J., G.M. Cripe and D.J. Crosby. 1994. Effect of *Beauveria bassiana* and its toxins on *Mysidopsis bahia* (Mysidacea). **Archives Env. Contam. Toxicol**. 26: 90-94.

Genthner, F.J., S.S. Foss and P.S. Glas. 2004. Virulence of *Metarhizium anisopliae* to embryos of the grass shrimp *Palaemonetes pugio*. Available in: http://www.isb.vt.edu/brarg/brasym95/genthner95.htm. Access on: 8 Sept. 2007.

Gupta, S. 1994. Identification of the antibiotic phomalactone from the entomopathogenic fungus *Hirsutella thompsonii* var. *synnematosa.* **J. Chem. Ecol.** 20: 293-302.

Hajek, A. E. and R. J. Leger. 1994. Interaction between fungal pathogens and insect hosts. **Annu. Rev. Entomol.** 39: 293-322.

Hall, R.A. 1981. The fungus *Verticillium lecanii* strains as a microbial insecticide against aphids and scales, pp. 438-498. *In* H.D. Burgus, ed. **Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980**. Academic Press, London.

Helle, W. and M.W. Sabelis. 1985. **Spider Mites, Their Biology: Natural Enemies and Control (World Crop Pests: 1B).** Amsterdam, Elsevier.

Hsieh, C.M., S.J. Tuan., S.C. Wang., S. S. Kao and Y.M. Tzeng. 1998. The virulence of destruxins from *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* to *Spodoptera exigua*. **J. Chinese Agric. Chem. Soc.** 36: 622-629.

Hu, Q.B., S.X. Ren, X.C. An and M.H. Qian. 2007. Insecticidal activity influence of destruxins on the pathogenicity of *Paecilomyces javanicus* against *Spodoptera litura.* **J. Appl. Entomol.** 131: 262-268.

Huffaker, C.B., M. van de Vrie and J.A. McMurty, 1969. The ecology of tetranychid mites and their natural control. **Ann. Rev. Entomol**. 14: 125-174.

Humber, R.A. 1997. Fungi: identification, pp. 153-185. *In* L.A. Lacey, ed. **Manual of Techniques in Insect Pathology.** Academic Press, London.

Iftner, D.C. and F.R. Hall. 1984. The effects of fenvalerate and permethrin residues on *Tetranychus urticae* Koch fecundity and rate of development. **J. Agric. Entomol**. 1: 191-200.

Inglis, G.D., M.S. Goettel and T.M. Butt. 2001. Use of Hyphomycetous fungi for managing insect pest, pp. 23-29. *In* T.M. Butt, C.W. Jackson and N. Magan, eds. **Fungi as Biocontrol Agents Progress, Problems and potential.** CABI Publishing, UK.

Isaka, M., S. Palasarn, K. Sriklung and K. Kocharin. 2005. Cyclohexadepsipeptides from the insect pathogenic fungus *Hirsutella nivea* BCC 2594. **J. Nat. Prod.** 68: 1680-1682.

Jeppson, L.R., H.H. Keifer and E.W. Baker. 1975. **Mites Injurious to Economic Plants**. University of California Press, Berkeley, USA.

Kenneth, R., T.I. Muttath and U. Gerson. 1979. *Hirsutella thompsonii*, a fungal pathogen of mite. I. Biology of the fungus *in* vitro. **Ann. Appl. Biol.** 91: 21-28.

Kerban, R., R. Adamchak and W.C. Schnathorst. 1987. Induced resistance and interspecific competition between spider mites and a vascular wilt fungus. **Science.** 235: 678-680.

Kucera, M. 1980. Proteases from the fungus *Metarhizium anisopliae* toxic for *Galleria mellonella* larvae. **J. Invertebr. Pathol.** 35: 304-310.

Lacey, L.A., R. Frutos and H.K. Kaya. 2001. Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future? **Biological Contr**. 21: 230-248.

Lewis, G.C., B.L. Heard and D.W. Minter. 1981. Fungal parasitism of the eriophyid mite vector of *ryegrass mosaic* virus, pp. 101-111. *In* **Proceedings 1981 British crop.**

Liu, H., M. Skinner., M. Brownbridge and B.L. Parker. 2003. Characterization of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates for management of tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). **J. Invertebr. Pathol**. 82: 139-147.

Liu, W.Z., D.G. Boucias and C.W. McCoy. 1995. Extraction and characterization of the insecticidal toxin Hirsutellin A produced by *Hirsutella thompsonii* var. *thompsonii.* **Expt. Mycol.** 19: 254-262.

Mazet, I. 1992. **Recherches sur les hirsutellines, toxins proteiques produites par *Hirsutella thompsonii* Fissher, champignon parasite d'acariens phytophages.** Doctoral dissertation, University of Montpellier, France. 135 p.

_____ and A. Vey. 1995. Hirsutellin A, a toxic protein produced in vitro by *Hirsutella thompsonii.* **Microbiol.** 141: 1343-1348.

McCoy, C.W. 1978. Entomopathogens in arthropod pest control programs for citrus, pp. 211-224. *In* G.E. Allen, C.M. Ignoffo and R.P. Jaques, eds. **Microbiobial Control of Insect Pests: Future Strategies in Pest Management Systems.** NSF-USDA, Univ. of Florida, Gainesville, USA.

McCoy, C.W. 1981. Pest control by the fungus *Hirsutella thompsonii*, pp. 499-512. *In* H.D. Burges, ed. **Microbial Control of Insects and Mites. Vol. 2.** Academic Press, London, England.

_____ and T.L. Couch. 1978. *Hirsutella thompsonii*: A potential mycoacaricide. **Develop. Industrial Microbiol.** 20: 89-96.

_____, _____ and R. Weatherwax. 1978. A simplified medium for the production of *Hirsutella thompsonii*. **J. Invertebr. Pathol.** 31: 137-139.

_____ , A.J. Hill and R.F. Kanavel. 1972. A liquid medium of the large scale production of *Hirsutella thompsonii* in submerged culture. **J. Invertbr. Pathol.** 19: 370-374.

McCoy, C.W., A. Vey and I. Mazet. 1993. Metabolic toxin of the fungus, *Hirsutella thompsonii* var. *thompsonii* . **J. Invertebr. Pathol**. 61(2): 131-137.

McCoy, C.W. and R.F. Kanavel. 1969. Isolation of *Hirsutella thompsonii* from the citrus rust mite, *Phyllocoptruta oleivora*, and its cultivation on various sythetic media. **J. Invertebr. Pathol.** 14(3): 386-390.

Messing, R.H. 2000. The impact of nontarget concerns on the practice of biological control, pp. 45-55. *In* P.A. Follett and J.J. Duan, eds. **Nontarget Effects of Biological Control.** Kluwer Academic Publishers, USA.

Omoto, C. and C.W. McCoy. 1998. Toxicity of purified fungal toxin Hirsutellin A to the citrus rust mite *Phyllocoptruta oleivora*(Ash.). **J. Invertebr. Pathol.** 72: 319-322.

Palasarn S., S. Kanlayanee and K. Kanokarn. 2005. Cyclohexadepsipeptides from the insect pathogenic fungus *Hirsutella nivea* BCC 2594. **J. Nat. Prod**. 68: 1680-1682.

Poprawski, T.J., P.H. Robert and N.K. Maniania. 2005. Contact toxicity of the mycotoxin destruxin E to *Empoasca vitis* (Goethe) (Hom, Cicadellidae). **J. Appl. Entomol.** 117: 135-143.

Prischmann, D.A., B.A. Croft and H.K. Luh. 2002. Biological control of spider mites on grape by phytoseiid mites (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae): emphasis on regional aspects. **J. Econ. Entomol.** 95: 340-347.

Quesada-Moraga, E., J.A. Carrasco-Diaz and C. Santiago-Alvarez. 2006. Insecticidal and antifeedant activities of proteins secreted by entomopathogenic fungi against *Spodoptera littoralis* (Lep., Noctuidae). **J. Appl. Entomol.** 130: 442-452.

Rao Y.K., S.C. Lu., B.L. Liu and Y.M. Tzeng. 2006. Enhanced production of an extracellular protease from *Beauveria bassiana* by optimization of cultivation processes**. J. Biochem. Eng.** 28: 57–66

Roberts, D.W. 1981. Toxins of entomophagenic fungi, pp. 441-463. *In* H. D. Burgus, ed. **Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980**. Academic Press, London.

_____ . 1996. Toxins from the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae*. II. Symptoms and detection in moribund hosts. **J. Invertebr. Pathol.** 8: 222-227.

_____and A. S. Cambell. 1977. Stability of entomopathogenic fungi. **Misc. Publ. Entomol. Soc. Am**. 10(3): 13-76.

_____ and R. A. Humber. 1981. Entomogenous fungi, pp. 201-236. *In*: **Biology of Conidial Fungi.** Academic Press, New York.

Rosas-Acevedo, J.L., D.G. Boucias., R. Lezama., K. Sims and A. Pescador. 2003. Exudate from sporulating cultures of *Hirsutella thompsonii* inhibit oviposition by the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. **Expt. Appl. Acarol**. 29: 213-225.

Roy, M., J. Brodeur and C. Cloutier. 2005. Seasonal activity of the spider mite predators *Stethorus punctillum* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Neoseiulus fallacis* (Acarina: Phytoseiidae) in raspberry, two predators of *Tetranychus mcdanieli* (Acarina: Tetranychidae). **Biological Contr.** 34:47-57.

Samson, R.A., H.C. Evans and J.P. Latge. 1988**. Atlas of Entomopathogenic Fungi.** Springer-Verlag, Berlin.

Shaw, P. 1984. Simulation model of a predator-prey system comprised of *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) and *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). I. Structure and validation of the model**. Res. Pop. Ecol.** 26: 235-259.

Shi, W.B. and M.G. Feng. 2004. Lethal effect of *Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. **Biological Contr.** 30: 165-173.

Strasser, H. and D. Abendstein. 2000. Oosporein, a fungal secondary metabolite with antimicrobial properties. **Bulletin OILB/SROP.** 23: 113-115.

Suzuki, A. and S. Tamura. 1970. Isolation and structure elucidation of three new insecticides cyclodepsipeptides, destruxins C and D and desmethyldestruxin B, produced by *Metarhizium anisopliae.* **Agri. Biol. Chem**. 34 : 813-816.

Tanada, Y. and H.K. Kaya. 1993. **Insect Pathology**. Academic Press, New York.

Thongtan J., J. Saenboonrueng, P. Rachtawee and M. Isaka. 2006. An antimalarial tetrapeptide from the entomopathogenic fungus *Hirsutella* sp. BCC 1528. **J. Nat. Prod**. 69: 713-714.

van de Vrie, M., J.A. McMurty and C.B. Huffaker. 1972. Ecology of tetranychid mites and their natural enemies: a review. III. Biology, ecology, and pest status and host plant -relations of tetranychids. **Hilgardia**. 41: 343-432.

Vey, A., J.M. Quiot. and I. Mazet. 1989. Toxicity and pathology of a macromolecule metabolite produced by *Hirsutella thomsonii*. **J. Invertebr. Pathol.** 61: 131-137.

_____, _____ and C.W. McCoy. 1993. Toxicity and pathology of crude broth filtrate produce by *Hirsutella thompsonii* var *thompsonii* in shake culture. **J. Invertebr. Pathol.** 61: 131-137.

Vongvanich, N., P. Kittakoop, M. Isaka, S. Trakulnaleamsai, S. Vimuttipong, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2002. Hirsutellide A, a new antimycobacterial cyclohexadepsipeptide from the entomopathogenic fungus *Hirsutella kobayasii*. **J. Nat. Prod.** 65: 1346-1348.

Wilson, L.T., P.J Trichilo and D. Gonzalez. 1991. Natural enemies of spider mites (Acari: Tetranychidae) on cotton: Density regulation or casual association. **Environ. Entomol**. 20(3): 849-856.

Zacharda, M and M. Hluchy. 1996. Biological control of two spotted spider mite *Tetranycus urticae* on strawberries by the predatory phytoseiid mite *Typhlodromus pyri.* **Acta Hort**. 422: 226-23.

Zhang, Y. and J.L. Shipp. 1998. Effect of temperature and vapor pressure deficit on the flight activity of *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae). **Environ. Entomol**. 27(3): 736-742.

Zizka, J. and J. Weiser. 1993. Effect of beauvericin, a toxic metabolite of *Beauveria bassiana*, on the ultrastructure of *Culex pipiens* autogenicus larvae. **Cytobios.** 75: 13-1