บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาความสามารถของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ต่อเห็บโครยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม เห็บระยะตัวอ่อน และไข่เห็บในห้องปฏิบัติการ

4.1.1 การศึกษาไอโซเลทของเชื้อรา *B. bassiana* ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทำลายเห็บตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม ในห้องปฏิบัติการ

เห็บโคเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม ที่ทำการทดสอบโดยการจุ่มเห็บโคลงในสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 12 ไอโซเลทที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. พบว่า เชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5082 และ 5335 มีความสามารถทำให้เห็บเพศเมียตายได้สูงกว่าทุกกลุ่ม ($p<0.05$) คิดเป็นร้อยละ 100.00 และ 98.33±1.67 ตามลำดับ รองลงมา คือ ไอโซเลท 2637, 4591, 5736, 6241, 7683 และ 7757 ส่วนไอโซเลท 6988 ทำให้เห็บเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มมีอัตราการตายต่ำที่สุด (ร้อยละ 45.00±5.00) แต่ไม่แตกต่างกับในไอโซเลท 5436 และ 6966 ($p>0.05$) (ตาราง 4-1) (ภาพ 4-1)

นอกจากนี้จากการศึกษายังพบว่า เห็บเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม หลังจากสัมผัสกับเชื้อรา *B. bassiana* ไปแล้ว 15-21 วัน มีการวางไข่ และไข่เห็บจากเห็บที่ติดเชื้อราไอโซเลท 5082 และ 5335 เกิดการติดเชื้อราตามไปด้วย (ภาพ 4-2) ส่วนไข่เห็บจากเห็บเพศเมียที่สัมผัสเชื้อราไอโซเลทอื่นๆ ไม่พบการติดเชื้อรา ซึ่งสอดคล้องกับ เทอดไทย (2552) ที่พบว่า เมื่อใช้เชื้อรากำจัดแมลง จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *M. anisopliae*, *M. flavoviride* และ *P. fumosoroseus* สามารถลดจำนวนไข่ของเห็บโคได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยเชื้อรา *P. fumosoroseus* ลดจำนวนไข่ได้มากที่สุด (ร้อยละ 52.28) รองลงมา คือ *M. anisopliae*ไอโซเลท 4849 (ร้อยละ 42.27) และยังพบว่า *M. anisopliae* ไอโซเลท 5799 สามารถ เข้าทำลายไข่เห็บโคได้ สอดคล้องกับ Samsinako *et al.*(1974) ซึ่งรายงาน ว่าเห็บ (*I. ricinus*) ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มที่ติดเชื้อรา *B. tenella* จากธรรมชาติมี

สำนักงานคณะกรรมการ... ห้องสมุดงานวิจัย

ความล้มเหลวในการวางไข่ โดยจำนวนไข่ และอัตราการฟักออกของไข่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

นอกจากเชื้อรา *B. bassiana* แล้ว ได้มีการศึกษาเชื้อราก่อโรคแมลงสายพันธุ์ต่างๆ ในการทำลายเห็บโค โดยไพลิน และคณะ (2551) ได้ทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับเห็บโคเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม ของเชื้อราก่อโรคแมลงจำนวน 6 สายพันธุ์ คือ *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *M. flavoviride*, *P. farinosus*, *P. fumosoroseus* และ *V. lacanii* ที่ระดับความเข้มข้น $5x10^8$ สปอร์ต่อมล. พบว่า มีเชื้อราก่อโรคแมลง 3 สายพันธุ์ คือ เชื้อรา *B. bassiana*, *M. anisopliae* และ *P. fumosoroseus* ทำให้เห็บสามารถเกิดโรคและตายได้ร้อยละ 100 เชื้อรา *M. flavoviride* และ *V. lacanii* ทำให้เห็บสามารถเกิดโรคและตายได้ร้อยละ 45 และ 81 ตามลำดับ ($p<0.05$) ส่วนเชื้อรา *P. farinosus* ไม่สามารถทำให้เห็บตายได้ สอดคล้องกับทดลองของเทอดไทย (2552) ซึ่งใช้เชื้อราก่อโรคแมลง จำนวน 3 สายพันธุ์ 9 ไอโซเลท คือ *M. anisopliae* จำนวน 6 ไอโซเลท, *M. flavoviride* จำนวน 2 ไอโซเลท และ *P. fumosoroseus* จำนวน 1 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับเห็บโค ระยะตัวเต็มวัยที่ดูดเลือดจนอิ่ม ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. พบว่า เชื้อราก่อโรคแมลงทั้ง 3 สายพันธุ์ 9 ไอโซเลท มีความสามารถในการทำให้เห็บ เกิดโรค แต่การตายของเห็บโคแตกต่างกัน ($p<0.05$) โดยเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท 4849 ทำให้เห็บเกิดโรคและตายได้ถึงร้อยละ 100 แต่ *M. flavoviride* ไอโซเลท 1164 ทำให้เห็บโคเกิดโรคและตายได้น้อยที่สุด (ร้อยละ 13.33) ส่วน Gindin *et al.* (2001) ทดสอบโดยใช้เชื้อราก่อโรคแมลง 5 สายพันธุ์ได้แก่ *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *M. flavoviride*, *P. fumosoroseus* และ *V. lecanaii* ในการควบคุมเห็บ *B. annulatus* ระยะต่างๆ พบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* มีความรุนแรงในการทำให้เห็บโคเกิดโรคได้มากที่สุด ($p<0.05$) โดยอัตราการตายของเห็บเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มเป็นร้อยละ 85-100 ภายในระยะเวลาเพียง 7-10 วันหลังได้รับเชื้อรา และเชื้อราทั้ง 5 สายพันธุ์ มีผลทำให้เห็บ *B. annulatus* วางไข่ลดลง และ Mwangi *et al.* (1994) ได้นำเชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ควบคุมเห็บ *R. appendiculatus* ระยะตัวเต็มวัย พบว่าเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ทำให้เห็บมีอัตราการตายสูงกว่ากลุ่มควบคุม (ร้อยละ 73, 35 และ 0 ตามลำดับ) ($p<0.05$) ส่วนเห็บเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม พบว่า เห็บที่ได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* มีอัตราการตายสูงกว่าเชื้อรา *B. bassiana* คิดเป็นร้อยละ 81 และ 74 ตามลำดับ ($p<0.05$) ส่วน Nune *et al.* (2001) ได้ศึกษาเชื้อรา *S. insectorume* และ *P. fumosoroseus* ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. ในการควบคุมเห็บ *R. appendiculatus* ผลการศึกษาพบว่า เชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ทำให้เห็บโคตายร้อยละ 30.19 และ

49.34 ตามลำดับ ($p<0.05$) และยังทำให้อัตราการฟักออกของไข่ลดลงร้อยละ 37.92 และ 79.04 ตามลำดับ ($p<0.05$) เป็นต้น

ตาราง 4-1 อัตราการตายของเห็บเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มเนื่องจากเชื้อรา *B. bassiana* แต่ละไอโซเลท

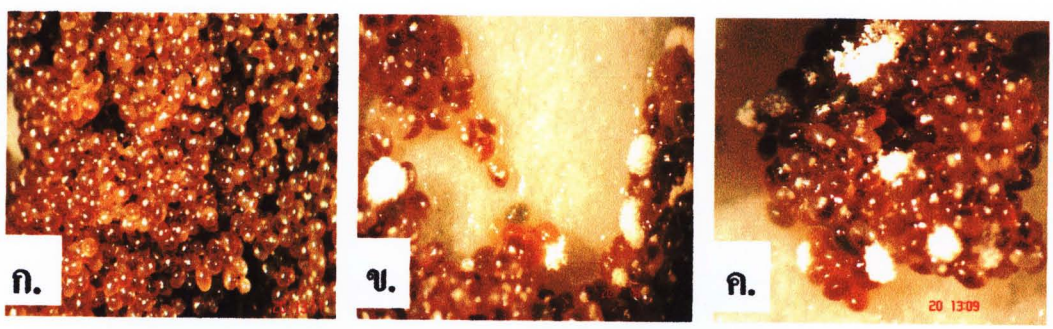
เชื้อรา *Beauveria bassiana* (ไอโซเลท)	**อัตราการตาย (%)** $\overline{X} \pm SD$
Bb. 2637	63.33 ± 6.01^{bcd}
Bb. 4591	76.67 ± 4.41^{b}
Bb. 5082	100.00 ± 0.00^{a}
Bb. 5335	98.33 ± 1.67^{a}
Bb. 5436	56.67 ± 8.33^{dea}
Bb. 5736	65.00 ± 2.87^{bcd}
Bb. 6241	76.67 ± 1.67^{b}
Bb. 6243	61.67 ± 4.41^{cd}
Bb. 6966	58.33 ± 4.41^{dea}
Bb. 6988	45.00 ± 5.00^{e}
Bb. 7683	70.00 ± 2.87^{bcd}
Bb. 7757	75.00 ± 2.87^{bca}

$^{a, b, c, d, e}$ อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$)

ภาพ 4-1 ก. เห็บโคเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มในกลุ่มควบคุม (20X)

ข. เห็บโคเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มที่ถูกเชื้อราไอโซเลท 5082 เข้าทำลายหลังจากการสัมผัสเชื้อรานาน 10 วัน (20X)

ค. เห็บโคเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มที่ถูกเชื้อราไอโซเลท 5335 เข้าทำลายหลังจากการสัมผัสเชื้อรานาน 10 วัน (20X)



ภาพ 4-2 ก. ไข่เห็บที่ถูกวางจากเห็บในกลุ่มควบคุม

ข. ไข่เห็บจากเห็บที่ติดเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5335 หลังจากการสัมผัสด้วยเชื้อรานาน 10 วัน (20X)

ค. ไข่เห็บจากเห็บที่ติดเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5082 หลังจากการสัมผัสด้วยเชื้อรานาน 10 วัน (20X)

4.1.2 การศึกษาไอโซเลทของเชื้อรา *B. bassiana* ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทำลายเห็บระยะตัวอ่อน ในห้องปฏิบัติการ

จากการพ่นเชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 12 ไอโซเลท ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. บนเห็บโครระยะตัวอ่อน พบว่า ไอโซเลท 5335 และ 5082 ทำให้อัตราการตายของเห็บระยะตัวอ่อนสูงที่สุดคิดเป็น ร้อยละ 92.22± 4.84 และ 91.11±2.94 ตามลำดับ และมีความแตกต่างจากไอโซเลทอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วนอัตราการตายของเห็บระยะตัวอ่อนเนื่องจากเชื้อราไอโซเลท 7683 ต่ำที่สุด (ร้อยละ 20.00±1.92) แต่ไม่แตกต่างกับการตายเนื่องจากเชื้อราไอโซเลท 4591, 5436, 6241, 6243, 6966 และ 6988 ($p>0.05$) (ตาราง 4-2) (ภาพ 4-3)

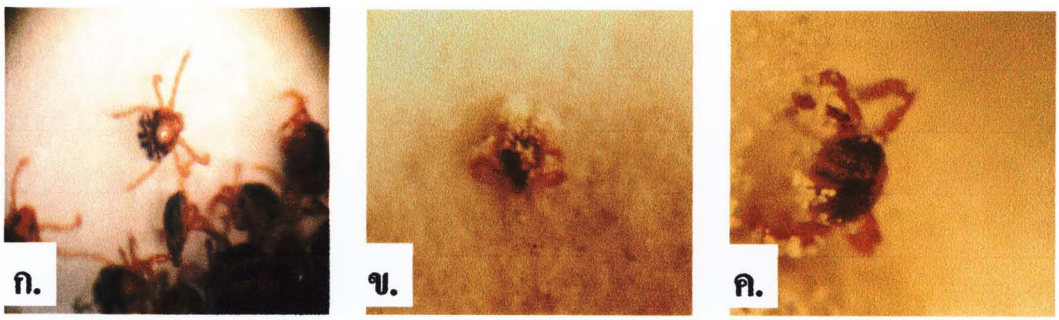
นอกจากเชื้อรา *B. bassiana* แล้วยังได้มีการศึกษาเชื้อรา *Metarhizium* spp. ต่อการเข้าทำลายเห็บระยะตัวอ่อนโดย Gindin *et al.* (2001) ได้ศึกษาผลของเชื้อรา *M. anisopliae* และ *M. flavoviride* ต่อการทำให้เกิดโรคและตายของเห็บระยะตัวอ่อน พบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* และ *M. flavoviride* ทำให้เห็บระยะตัวอ่อนตายสูงกว่ากลุ่มควบคุม (ร้อยละ 90.6 100 และ 0 ตามลำดับ) ($p<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ Lui *et al.* (1989) ได้ทำการทดสอบการเกิดโรคของเห็บ *B. annulatus* ระยะตัวอ่อนเนื่องจาก เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท 7 และ 43 ผลการทดสอบ พบว่า ไอโซเลท 7 ทำให้เห็บตายสูงกว่าไอโซเลท 43 คิดเป็นร้อยละ 100 และ 80 ตามลำดับ ($p<0.05$) นอกจากเห็บ *Boophilus* spp. แล้วยังได้มีการศึกษาเห็บ *Ixodes* spp. โดย Hartelt *et al.* (2007) ได้ทำการทดสอบการเกิดโรคของเห็บ *I. ricinus* ระยะตัวเต็มวัยที่ดูดเลือดจนอิ่ม ระยะตัวอ่อน และระยะตัวกลางวัย จากเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้เห็บ *I. ricinus* ทั้ง 3 ระยะมีอัตราการตายสูงกว่าเชื้อรา *B. bassiana* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน Brett *et al.* (2004) ได้ศึกษาการเกิดโรคของเห็บ *R. sanguineus*, เห็บ *D. variabilis* และเห็บ *I. scapularis* ระยะตัวอ่อนเนื่องจากเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. พบว่า ทั้งเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ทำให้ระยะตัวอ่อนของเห็บ *R. sanguineus* มีอัตราการตายที่สูงกว่าเห็บ *D. variabilis* และเห็บ *I. scapularis* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ทำให้อัตราการตายของเห็บ *R. sanguineus* สูงกว่าร้อยละ 60 ภายใน 14 วัน และสูงกว่าร้อยละ 90 ภายใน 21-28 วัน

นอกจากสกุล สายพันธุ์ และไอโซเลทของเชื้อรามีผลต่อการตายของเห็บแล้ว ยังพบว่าชนิดของสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราก็มีผลต่อการตายของเห็บ เช่นการศึกษาของ Gindin *et al.* (2001) ที่ได้ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการทำเกิดโรคเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ในรูปสารแขวนลอยน้ำกลั่นและสารแขวนลอยน้ำมันความเข้มข้น $1x10^9$ สปอร์ต่อมล. ต่อตัวอ่อนของเห็บ *R. appendiculatus* และเห็บ *A. variegatum* ผลการทดลองพบว่า เชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ในรูปสารแขวนลอยน้ำมันทำให้ตัวอ่อนของเห็บ *R. appendiculatus* และ *A. variegatum* ตายได้ร้อยละ 100 ส่วนเชื้อราในรูปสารแขวนลอยน้ำกลั่น ทำให้ทั้งสองสายพันธุ์ตายได้เพียงร้อยละ 80 ($p<0.05$)

ตาราง 4-2 อัตราการตายของเห็บตัวอ่อนเนื่องจากเชื้อรา *B. bassiana* แต่ละไอโซเลท

เชื้อรา *Beauveria bassiana* (ไอโซเลท)	**อัตราการตาย (%)** $\overline{X} \pm SD$
Bb. 2637	53.33 ± 5.09^{b}
Bb. 4591	35.55 ± 4.01^{bcd}
Bb. 5082	91.11 ± 2.94^{a}
Bb. 5335	92.22 ± 4.84^{a}
Bb. 5436	33.34 ± 3.33^{cd}
Bb. 5736	42.22 ± 11.60^{bc}
Bb. 6241	37.78 ± 4.45^{bcd}
Bb. 6243	34.45 ± 7.78^{cd}
Bb. 6966	28.89 ± 2.94^{cd}
Bb. 6988	45.56 ± 2.94^{cd}
Bb. 7683	20.00 ± 1.92^{d}
Bb. 7757	41.11 ± 5.88^{bc}

$^{a, b, c, d}$ อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



ภาพ 4-3 ก. เห็บระยะตัวอ่อน ในกลุ่มควบคุม (10X)

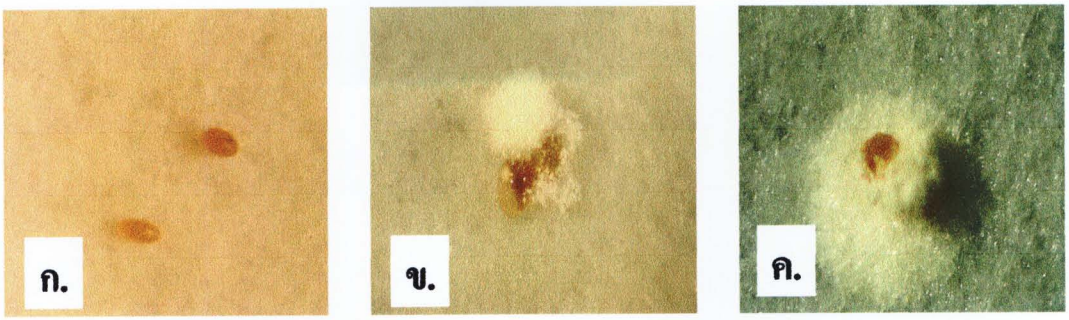
ข. เห็บระยะตัวอ่อนที่ถูกเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5082 เข้าทำลายหลังสัมผัสเชื้อรา นาน 10 วัน (10X)

ค. เห็บระยะตัวอ่อนที่ถูกเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5335 เข้าทำลายหลังสัมผัสเชื้อรา นาน 10 วัน (20X)

4.1.3 การศึกษาไอโซเลทของเชื้อรา *B. bassiana* ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทำลายไข่เห็บ ในห้องปฏิบัติการ

จากการพ่นเชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 12 ไอโซเลท ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. บนไข่เห็บ เพื่อศึกษาอัตราการฝ่อของไข่เห็บ(ไข่เห็บไม่สามารถฟักออกเป็นตัวอ่อนได้) ผลการศึกษาพบว่า ไอโซเลท 5082 และ 5335 ทำให้ไข่เห็บฝ่อร้อยละ 98.89±1.11 และ 97.78±1.11 ตามลำดับ ($p<0.05$) และเชื้อรา *B. bassiana* เจริญเติบโตคลุมฟองไข่หลังจากพ่นเชื้อรา 7-10 วัน (ภาพ 4-4) รองลงมา คือ ไอโซเลท 2637, 4591, 5436, 5736, 6243, 6988 และ 7683 ส่วนไอโซเลท 6241 ทำให้ไข่เห็บฝ่อต่ำที่สุด (ร้อยละ 27.77±2.22) (ตาราง 4-3) Kheirabadi *et al.* (2006) ได้ศึกษาผลของเชื้อรา *M. anisopliae, B. bassiana* และ *L. psalliotae* ต่ออัตราการฝ่อของไข่เห็บ *R. annulatus* ผลการศึกษาพบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้ไข่เห็บไม่สามารถฟักออกเป็นตัวอ่อนได้มากที่สุด (ร้อยละ 88.69) รองลงมาคือ *B. bassiana* (ร้อยละ 78.15) และ *L. psalliotae* มีผลต่อการฟักออกของไข่เห็บต่ำที่สุด (ร้อยละ 59.74) ซึ่งสอดคล้องกับ Gindin *et al.* (2001) ที่ศึกษาเชื้อรา *B. bassiana, M. anisopliae, M. flavoviride, M. fumosoroseus* และ *Verticillium* spp. ต่ออัตราการฝ่อของไข่เห็บ *B. annulatus* ผลการทดสอบพบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ทำให้ไข่ฝ่อสูงกว่ากลุ่มควบคุม คิดเป็นร้อยละ 70, 98 และ 0 ตามลำดับ ($p<0.05$) โดยเชื้อรา *B. bassiana* ทำให้ไข่เห็บสามารถฟักออกได้เพียง

ร้อยละ 1.8-6.2 ของไข่เห็บที่ใช้ในการทดสอบ และเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้ไข่เห็บสามารถฟักออกได้เพียงร้อยละ 19.5-30.6 ของไข่เห็บที่ใช้ในการทดสอบ ส่วนเชื้อรา *M. flavoviride*, *M. fumosoroseus* และ *Verticillium* spp. ทำให้อัตราการฝ่อของไข่เห็บไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ($p>0.05$) และจากการศึกษาของ Kaaya *et al.* (1996) ที่ศึกษาการฟักออกของไข่เห็บ *Amblyomma variegatum* ในกระต่ายโดยใช้เชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. พบว่า อัตราการฟักออกของไข่เห็บในกลุ่มควบคุมและเห็บที่ได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* สูงกว่าเห็บที่ได้รับเชื้อรา *B. bassiana* ($p<0.05$) และอัตราการวางไข่ในเห็บที่ได้รับเชื้อรา *B. bassiana* ต่ำกว่าเห็บในกลุ่มควบคุมและเห็บที่ได้รับเชื้อ รา *M. anisopliae* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) นอกจากไข่เห็บแล้ว Lekimme *et al.* (2006) ได้รายงานว่า เชื้อรา *B. bassiana* สามารถทำให้การฟักออกของไข่ไร (*Psoroptes* spp.) ลดลงร้อยละ 90.2 จากการรายงานยังทำให้ทราบว่าเชื้อรากำจัดแมลงสามารถควบคุมไรที่เป็นสาเหตุของโรคขี้เรื้อนได้ ส่วน Smith *et al.* (2000) ได้ทดสอบการเกิดโรคและตายของไร (*Psoroptes* spp.) ระยะตัวเต็มวัยเนื่องจากเชื้อรา *H. thompsonii* และ *M. anisopliae* ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์ต่อมล. พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้ไรระยะตัวเต็มวัยตายได้ ร้อยละ 71 ขณะที่เชื้อรา *H. thompsonii* ไม่สามารถทำให้ไรตายได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wall *et al.* (1999) ซึ่งทดสอบไร (*P. ovis*) ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียด้วยการพ่นสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรากำจัดแมลง *M. anisopliae* ความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์ต่อมล. พบว่า สามารถทำให้ไรติดเชื้อและเกิดโรคตายได้ถึงร้อยละ 70 และยังสามารถทำให้ไรตายได้ถึงร้อยละ 50 ภายในระยะเวลาเพียง 2-3 วัน และ Brook and Wall (2001) ทดสอบการเกิดโรคของไร (*P. ovis*) เนื่องจากเชื้อรา *M. anisopliae* ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. พบว่า เชื้อราทำให้ไรมีอัตราการตายร้อยละ 50 ภายในระยะเวลา 3 วัน หลังการพ่นเชื้อ เช่นเดียวกัน



ภาพ 4-4 ก. ไข่เห็บในกลุ่มควบคุม (20X)

ข. ไข่เห็บที่ถูกเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5335 เข้าทำลายหลังการสัมผัสเชื้อรา นาน 10 วัน (20X)

ค. ไข่เห็บที่ถูกเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5082 เข้าทำลายหลังการสัมผัสเชื้อรา นาน 10 วัน (20X)

ตาราง 4-3 ไข่เห็บที่ไม่ฟักหรือไข่เห็บฝ่อเนื่องจากเชื้อรา *B. bassiana* แต่ละไอโซเลท

เชื้อรา *Beauveria bassiana* (ไอโซเลท)	ไข่เห็บที่ไม่ฟักหรือไข่เห็บฝ่อ (%) $\overline{X} \pm SD$
Bb. 2637	47.78 ± 1.11^{bc}
Bb. 4591	51.11 ± 1.11^{bc}
Bb. 5082	98.89 ± 1.11^{a}
Bb. 5335	97.78 ± 1.11^{a}
Bb. 5436	54.44 ± 2.94^{bc}
Bb. 5736	43.33 ± 12.02^{bc}
Bb. 6241	27.77 ± 2.22^{d}
Bb. 6243	42.22 ± 4.84^{bc}
Bb. 6966	45.56 ± 2.94^{bc}
Bb. 6988	56.67 ± 1.93^{b}
Bb. 7683	44.44 ± 2.94^{bc}
Bb. 7757	41.11 ± 5.87^{c}

^{a,b,c,d} อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

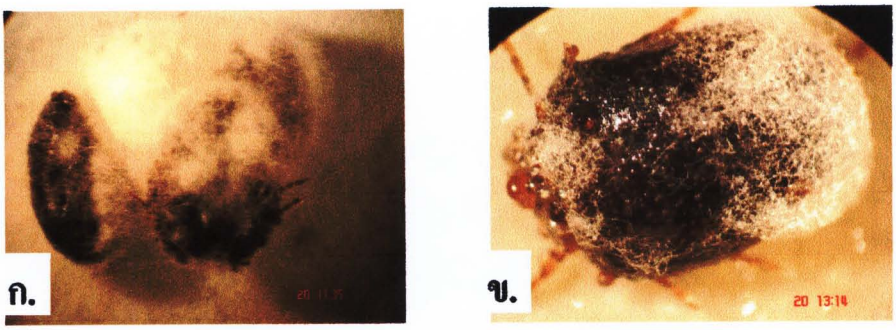
4.2 การทดสอบความรุนแรงของเชื้อ *B. bassiana* ที่ใช้ควบคุมเห็บในโครยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม (ค่า LC_{50} ; median lethal concentration และ LT_{50} ; median lethal time)

ผลจากการศึกษาความสามารถของเชื้อรา *B. bassiana* ในการทำให้เห็บโคเกิดโรคตาย จาก 12 ไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท 5082 และ 5335 มีความสามารถในการทำให้เห็บเกิดโรคตายสูงที่สุด (ร้อยละ 90-100) จึงได้นำมาศึกษาหาความรุนแรงของเชื้อรา ซึ่งความรุนแรงของเชื้อรานั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ทำให้เห็บตายได้ร้อยละ 50 (LC_{50}; median lethal concentration) และและความช้าเร็วของการตาย (LT_{50}; median lethal time) ที่ระดับความเข้มข้นของสปอร์แตกต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ $1x10^4$, $1x10^6$, $1x10^8$, $1x10^9$ และ $1x10^{10}$ สปอร์ต่อมล. นับจำนวนเห็บที่ตาย และมีเชื้อราขึ้นปกคลุมไปคำนวณค่า LC_{50} และค่า LT_{50} ผลการทดลองพบว่า ค่า LC_{50} (ตาราง 4-4) (ภาพ 4-5) ของเชื้อรา *B. bassiana* ทั้ง 2 ไอโซเลทแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยเชื้อราที่มีความรุนแรงสูงจะมีค่า LC_{50} ต่ำ ซึ่งได้แก่ เชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5335 มีค่า LC_{50} เท่ากับ $4.71x10^4$ สปอร์ต่อมล. และเมื่อพิจารณาถึงค่า LT_{50} (ตาราง 4-5) จะเห็นได้ว่าค่า LT_{50} ของเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งเชื้อราที่มีค่า LT_{50} ต่ำจะเป็นเชื้อราที่มีความรุนแรงในการทำให้เห็บเกิดโรคสูง จากผลการทดลองพบว่า ไอโซเลท 5335 ใช้ระยะเวลาในการทำให้เห็บโคตายร้อยละ 50 เพียง 9.98 วัน ในขณะที่ไอโซเลท 5082 ต้องใช้ระยะเวลาถึง 13.39 วัน

ตาราง 4-4 ค่า LC_{50} (median lethal concentration) ของเชื้อรา *B. bassiana* ที่ใช้ควบคุมเห็บโครยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม

เชื้อรา *B. bassiana*	**LC_{50} (spore/ml)** $\overline{X}$ ± **SE**	**Slope** $\overline{X}$ ± **SE**	**Intercept**	**χ^2**
ไอโซเลท 5335	$4.71x10^4 \pm 0.85^a$	1.80 ± 0.04^a	4.09	7.05
ไอโซเลท 5082	$3.06x10^5 \pm 1.44^b$	1.78 ± 0.08^b	4.01	8.51

[a,b]ในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$)



ภาพ 4-5 ก. เห็บโคที่ถูกเชื้อราไอโซเลท 5335 เข้าทำลาย 10 วันหลังจากการสัมผัสเชื้อรา (10X)
ข. เห็บโคที่ถูกเชื้อราไอโซเลท 5082 เข้าทำลาย10 วัน หลังจากการสัมผัสเชื้อรา (20X)

ตาราง 4-5 ค่า LT_{50} (median lethal time) ของเชื้อรา *B. bassiana* ที่ใช้ควบคุมเห็บโค ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม

เชื้อรา *B. bassiana*	LT_{50} (วัน) $\bar{X} \pm SE$	Slope $\bar{X} \pm SE$	Intercept	χ^2
ไอโซเลท 5335	9.98±2.38[a]	1.61±1.58[a]	6.48	4.57
ไอโซเลท 5082	13.39±3.86[b]	1.29±0.58[b]	6.52	6.29

[a,b]ในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$)

และจากการศึกษาของ ไพลิน และคณะ (2550) ได้คำนวณหาค่า LC_{50} และค่า LT_{50} ของเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 6241, *M. anisopliae* ไอโซเลท 6079 และ *P. fumosoroseus* ไอโซเลท 2507 พบว่า *P. fumosoroseus* ไอโซเลท 2507 เป็นเชื้อราที่มีความรุนแรงในการทำให้เห็บโคเกิดโรคและตายสูงกว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท 6079 และเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 6241 โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ $3.4x10^3$, $2.4x10^4$ และ $1.7x10^6$ สปอร์ต่อมล. ตามลำดับ ($p<0.05$) และ ค่า LT_{50} เท่ากับ 5.53±0.09, 9.25±0.68 และ 11.90±2.90 วัน ตามลำดับ ส่วน มาลี และกรกฎ (2552) ได้นำเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท คือ 6079 6171 และ 7965 มาหาค่าความรุนแรง (LC_{50}) ในการทำให้เห็บโคระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มเกิดโรคและตาย พบว่า ไอโซเลท 6079 เป็นเชื้อราที่มีความรุนแรงในการทำให้เห็บเกิดโรคและตายสูง

กว่าไอโซเลท 7965 และ 6171 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน Hartelt *et al.* (2007) ได้นำเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท 97, ไอโซเลท X-1c และไอโซเลท 43 มาหาค่า LC_{50} พบว่า ไอโซเลท 97 มีค่า LC_{50} ต่ำที่สุด คิดเป็น $1.4x10^6$ สปอร์ต่อมล. แสดงว่ามีความรุนแรงของการเกิดโรคมากกว่าเชื้อราไอโซเลทอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) นอกจากการศึกษาความรุนแรง (LC_{50}) ในเห็บเพศเมียแล้วยังได้มีการหาค่าความรุนแรงในไข่เห็บด้วย โดยเทอดไทย (2552) ได้นำเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท คือ 4849, 5799 และ 7965 มาคำนวณค่า LC_{50} ในไข่เห็บ ผลการคำนวณพบว่า ไอโซเลท 4849 มีค่า LC_{50} ต่ำที่สุด ($8.51x10^0$ สปอร์ต่อมล.) แสดงว่าเป็นไอโซเลทที่มีความรุนแรงสูงในการทำให้ไข่เห็บเกิดโรคและฟ่อรองลงมา คือ ไอโซเลท 7965 ($3.7x10^1$ สปอร์ต่อมล.) และไอโซเลท 5799 มีความรุนแรงในการทำให้ไข่เห็บเกิดโรคและฟ่อต่ำสุด ($1.7X10^2$ สปอร์ต่อมล.) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Monteiro *et al.* (1998) ได้ทดสอบความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *M. anisopliae* และเชื้อรา *B. bassiana* ต่อระยะตัวกลางวัยของเห็บ *Rhipicephalus sanguineus* พบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* มีค่า LC_{50} อยู่ในช่วง $1.3x10^4$-$4.3x10^6$ สปอร์ต่อมล. และค่า LC_{50} ของเชื้อรา *B. bassiana* อยู่ในช่วง $2.2x10^5$-$1.2x10^6$ สปอร์ต่อมล. ส่วน Bittencourt *et al.* (1996) ได้รายงานว่าค่า LC_{50} ของเชื้อรา *B. bassiana* เป็น $6.83x10^6$ สปอร์ต่อมล. (ตาราง 4-6)

ตาราง 4-6 ค่า LC_{50} (median lethal concentration) และค่า LT_{50} (median lethal time) ของเชื้อรากำจัดแมลงแต่ละสายพันธุ์ที่ใช้ในการควบคุมเห็บในโค

เชื้อรากำจัดแมลง (สายพันธุ์)	ค่า LC_{50} (สปอร์ต่อมล.)	ค่า LT_{50} (วัน)	อ้างอิง
Beauveria spp.			
B. bassiana	$2.20x10^5$-$1.20x10^6$		Monteiro *et al.* (1998)
B. bassiana	$6.38x10^6$		Bittencourt *et al.* (1996)
B. bassiana 6241	$1.70x10^6$	11.90±2.90	ไพลิน และคณะ (2550)
Metarhizium spp.			
M. anisopliae	$1.30x10^4$-$4.30x10^6$		Monteiro *et al.* (1998)

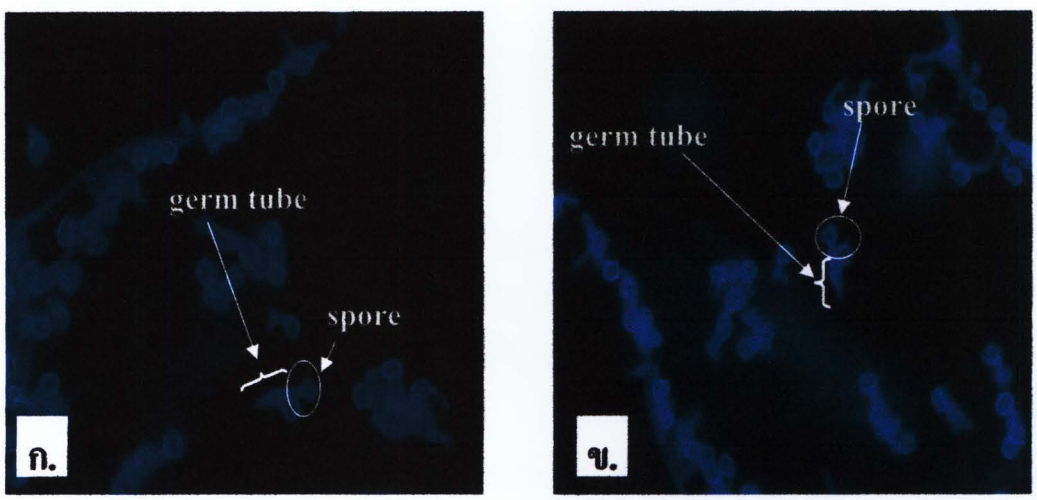
ตาราง 4-6 (ต่อ) ค่า LC_{50} (median lethal concentration) และค่า LT_{50} (median lethal time) ของเชื้อรากำจัดแมลงแต่ละสายพันธุ์ที่ใช้ในการควบคุมเห็บในโค

เชื้อรากำจัดแมลง (สายพันธุ์)	ค่า LC_{50} (สปอร์ต่อมล.)	ค่า LT_{50} (วัน)	อ้างอิง
M. anisopliae 4849	$1.73x10^{2}$		เทอดไทย (2552)
M. anisopliae 6079	$2.4x10^{4}$	11.90±2.90	มาลี และกรกฎ (2552)
	$2.4x10^{4}$	9.25±0.68	ไพลิน และคณะ (2550)
M. anisopliae 6171	$5.0x10^{5}$	6.31±1.94	มาลี และกรกฎ (2552)
M. anisopliae 7965	$3.40x10^{4}$	5.53±0.09	มาลี และกรกฎ (2552)
M. anisopliae 97	$1.40x10^{6}$	14	Hartelt *et al.* (2007)
Paecilomyces spp.			
P. fumosoroseus 2507	$3.4x10^{3}$	11.90±2.90	ไพลิน และคณะ (2550)

4.3 การศึกษากลไกการเข้าทำลายของเชื้อรา *B. bassiana* ในเห็บระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม

การเข้าทำลาย และการเจริญเติบโตของสปอร์เชื้อรา *B.bassiana* ในตัวเห็บ จะเริ่มจากสปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* สัมผัสกับผนังลำตัว จากนั้นสปอร์จะงอกส่วนที่เป็นท่อสั้นๆ (germ tube) แทงทะลุผนังลำตัวเข้าไปโดยมี appressoria เป็นส่วนที่ยึดผนังลำตัวแมลงไว้ (Madelin *et al.*, 1967) ลักษณะของ germ tube ในช่วงแรกจะสั้นมาก เมื่อระยะเวลานานขึ้น germ tube เจริญเป็นสายที่ยาวกว่าขึ้น ภายในลำตัวแมลง และจะสร้างเส้นใย (mycelium) เข้าไปตามกระแสเลือด และเพิ่มปริมาณในเลือดอย่างรวดเร็ว โดยที่เส้นใยจะหักออกเป็นท่อนสั้นๆ เข้าทำลายอวัยวะต่างๆ ของเห็บ ภายหลังที่เห็บตายหรือก่อนตายเล็กน้อย พบว่า เส้นใยขยายไปจนทั่วลำตัวเห็บ จากนั้นเชื้อราสร้าง conidiphores แทงทะลุออกมานอกลำตัวแมลง และสร้าง conidia ตรงปลายเส้นใย

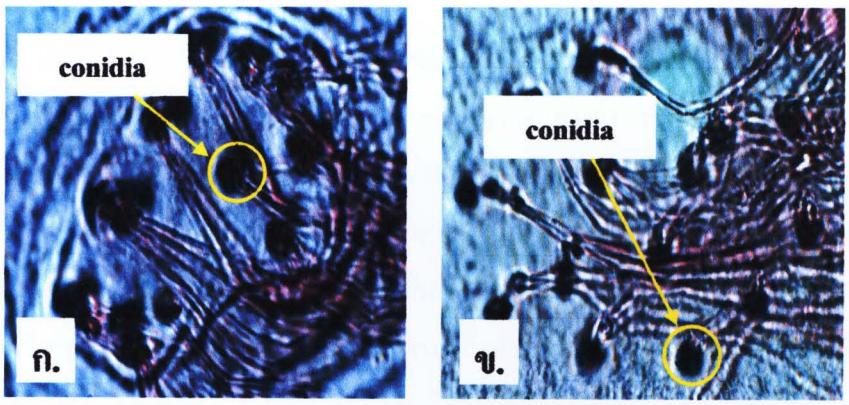
เก็บตัวอย่างเห็บที่ผ่านการพ่นด้วยเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5082 และ 5335 ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. แช่ลงใน chloral hydrate จนตัวเห็บใส แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ระยะ คือ ระยะที่ 1 เก็บตัวอย่างเห็บทุกๆ 6 ชั่วโมง จนถึง 72 ชั่วโมง ตัวอย่างเห็บในระยะนี้จะย้อมด้วย calcofluor เป็นสีย้อมที่มีลักษณะเป็นเรืองแสงสีฟ้า ระยะที่ 2 เก็บตัวอย่างเห็บทุกวัน นาน 5 วัน โดยเก็บตัวอย่างเห็บต่อจาก 72 ชั่วโมง ตัวอย่างเห็บในระยะนี้จะย้อมด้วย fuchsin acid 0.5% ซึ่งมีสีชมพูเข้ม จากการผลการศึกษา พบว่า เชื้อรา *B. bassiana* ทั้ง 2 ไอโซเลทมีความสามารถในการเข้าทำลายเห็บได้ภายในระยะเวลาใกล้เคียงกัน คือ ในชั่วโมงที่ 6 ของการศึกษา พบว่า สปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5082 และ 5335 เริ่มงอกส่วนที่เป็น germ tube (ภาพ 4-6) ระยะนี้ germ tube มีลักษณะเป็นท่อหรือเส้นสั้นๆ กระจายอยู่ทั่วไป และชั่วโมง 12 เริ่มเห็น germ tube พัฒนาเป็นสายที่ยาวขึ้น และเริ่มพันทับกัน และสร้างเส้นใยแพร่กระจายไปทั่วตัวแมลง และเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว (ภาพ 4-7)



ภาพ 4-6 ผนังลำตัวของเห็บโคถูกย้อมด้วย calcofluor ในชั่วโมงที่ 6

ก. ลักษณะสปอร์ และ germ tube ของไอโซเลท 5082 ในตัวเห็บ (100X)

ข. ลักษณะสปอร์ และ germ tube ของไอโซเลท 5335 ในตัวเห็บ (100X)



ภาพ 4-9 ผนังลำตัวของเห็บโค ในวันที่ 5 ถูกย้อมด้วย fuchsin acid 0.5%

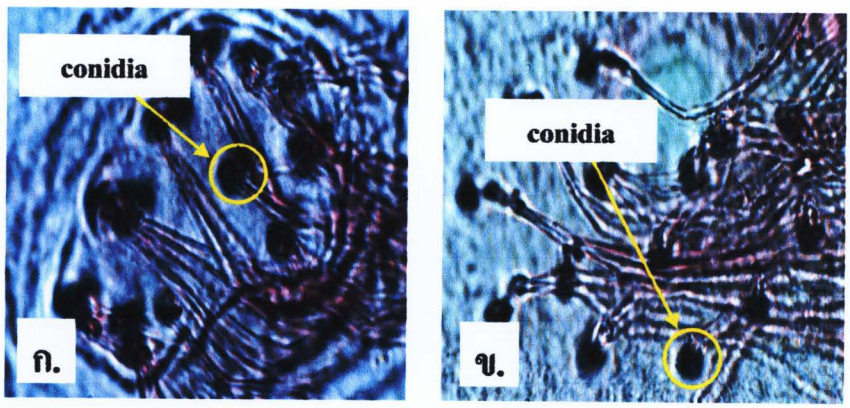
ก. conidia ของไอโซเลท 5082 หลังจาก conidiphores แทงทะลุออกมานอกลำตัวเห็บ (100X)

ข. conidia ของ ไอโซเลท 5335 หลังจาก conidiphores แทงทะลุออกมานอกลำตัวเห็บ (100X)

4.4 การศึกษาความสามารถเชื้อรา *B. bassiana* ต่อการฟักออกของไข่เห็บในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ

จากการศึกษาเชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 2 ไอโซเลทที่เลี้ยงไว้ในข้าวฟ่าง ต่อการฟักออกของไข่เห็บ (*Boophilus microplus*) ในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ โดยทำให้ไข่เห็บสัมผัสกับเชื้อรา *B. bassiana* ที่เลี้ยงไว้บนวัสดุเลี้ยงเชื้อรา จากนั้นบันทึกอัตราการฟักออกของไข่เห็บหลังจากใส่เชื้อราไปแล้ว 15 วัน (ช่วงระยะเวลาไข่ฟักออกเป็นเห็บระยะตัวอ่อนประมาณ 15-23 วัน) หรือนานจนกว่าไข่เห็บไม่มีการฟักออกเป็นตัวอ่อนเพิ่ม ผลการศึกษาพบว่า เชื้อรา *B. bassiana* ทั้ง 2 ไอโซเลทมีผลต่อการฟักออกของไข่เห็บ (ภาพ 4-10) แต่อัตราการฟักออกของไข่เห็บแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยไอโซเลท 5335 ทำให้ไข่เห็บไม่ฟักออกเป็นตัวอ่อน (ไข่เห็บฝ่อ) ได้สูงกว่าไอโซเลท 5082 และ กลุ่มควบคุม คิดเป็นร้อยละ 94.00, 76.72 และ 0 ตามลำดับ ($p<0.05$) (ตาราง 4-7)

และเมื่อศึกษาอัตราการตายของเห็บโคระยะตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่เห็บที่ทดสอบด้วยเชื้อรา *B. bassiana* พบว่า เห็บระยะตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่เห็บที่ติดเชื้อราในไอโซเลท 5082 และ 5335 มีอัตราการตายสูงกว่ากลุ่มควบคุม คิดเป็นร้อยละ 99.32, 94.22 และ 0 ตามลำดับ ($p<0.05$)



ภาพ 4-9 ผนังลำตัวของเห็บโค ในวันที่ 5 ถูกย้อมด้วย fuchsin acid 0.5%

ก. conidia ของไอโซเลท 5082 หลังจาก conidiphores แทงทะลุออกมานอกลำตัวเห็บ (100X)

ข. conidia ของ ไอโซเลท 5335 หลังจาก conidiphores แทงทะลุออกมานอกลำตัวเห็บ (100X)

4.4 การศึกษาความสามารถเชื้อรา *B. bassiana* ต่อการฟักออกของไข่เห็บในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ

จากการศึกษาเชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 2 ไอโซเลทที่เลี้ยงไว้ในข้าวฟ่าง ต่อการฟักออกของไข่เห็บ (*Boophilus microplus*) ในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ โดยทำให้ไข่เห็บสัมผัสกับเชื้อรา *B. bassiana* ที่เลี้ยงไว้บนวัสดุเลี้ยงเชื้อรา จากนั้นบันทึกอัตราการฟักออกของไข่เห็บหลังจากใส่เชื้อราไปแล้ว 15 วัน (ช่วงระยะเวลาไข่ฟักออกเป็นเห็บระยะตัวอ่อนประมาณ 15-23 วัน) หรือนานจนกว่าไข่เห็บไม่มีการฟักออกเป็นตัวอ่อนเพิ่ม ผลการศึกษาพบว่า เชื้อรา *B. bassiana* ทั้ง 2 ไอโซเลทมีผลต่อการฟักออกของไข่เห็บ (ภาพ 4-10) แต่อัตราการฟักออกของไข่เห็บแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยไอโซเลท 5335 ทำให้ไข่เห็บไม่ฟักออกเป็นตัวอ่อน (ไข่เห็บฝ่อ) ได้สูงกว่าไอโซเลท 5082 และ กลุ่มควบคุม คิดเป็นร้อยละ 94.00, 76.72 และ 0 ตามลำดับ ($p<0.05$) (ตาราง 4-7)

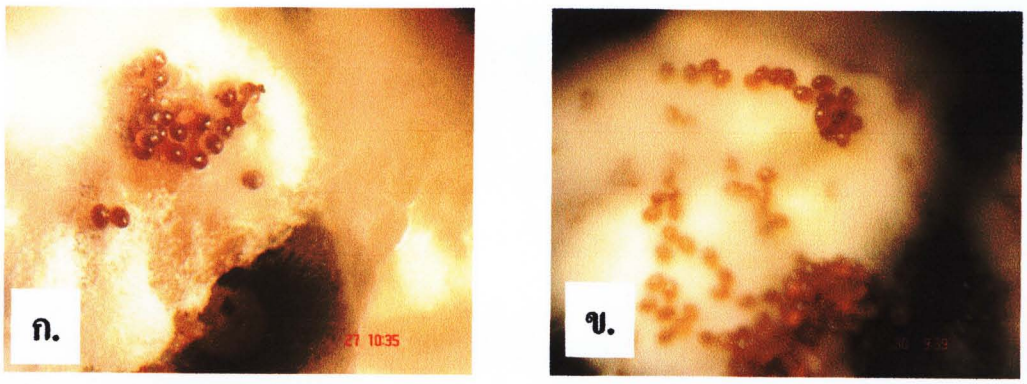
และเมื่อศึกษาอัตราการตายของเห็บโครระยะตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่เห็บที่ทดสอบด้วยเชื้อรา *B. bassiana* พบว่า เห็บระยะตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่เห็บที่ติดเชื้อราในไอโซเลท 5082 และ 5335 มีอัตราการตายสูงกว่ากลุ่มควบคุม คิดเป็นร้อยละ 99.32, 94.22 และ 0 ตามลำดับ ($p<0.05$)

(ตาราง 4-7) (ภาพ 4-11) ซึ่งสอดคล้องกับ Posdas and Lecuona (2008) ที่ได้ศึกษาไอโซเลทของเชื้อรา *B. bassiana* ต่อการควบคุมเห็บ *R. microplus* พบว่า เชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 259 และ ไอโซเลท 98 สามารถทำให้จำนวนไข่และจำนวนตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่จากเห็บที่ติดเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน Kaaya *et al.* (1996) ได้นำเชื้อรา *M. anisopliae* ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมล. ทดสอบกับเห็บ *A. variegatum* ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่ม เพื่อศึกษาถึงจำนวนไข่ที่วาง และอัตราการฟักออกของไข่ พบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้จำนวนไข่ที่วางลดลงร้อยละ 4 ($p<0.05$) ส่วนอัตราการฟักออกของไข่ พบว่า การฟักออกของไข่ในกลุ่มควบคุมสูงกว่าไข่ที่เกิดจากเห็บที่ได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* คิดเป็นร้อยละ 100 และ 68 ตามลำดับ และ Kheirabadi *et al.* (2006) ได้ศึกษาเชื้อรา *M anisopliae, B. bassiana* และ *L. psalliotae* ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. ต่อการฟักออกของไข่เห็บ *R. annulatus* พบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้ไข่เห็บ *R. annulatus* ไม่สามารถฟักออกเป็นตัวอ่อนได้มากที่สุด (ร้อยละ 88.69) รองลงมา คือ เชื้อรา *B. bassiana* (ร้อยละ78.15) และเชื้อรา *L. psalliotae* ทำให้ไข่เห็บไม่สามารถฟักออกเป็นตัวอ่อนต่ำที่สุด (ร้อยละ 59.74)

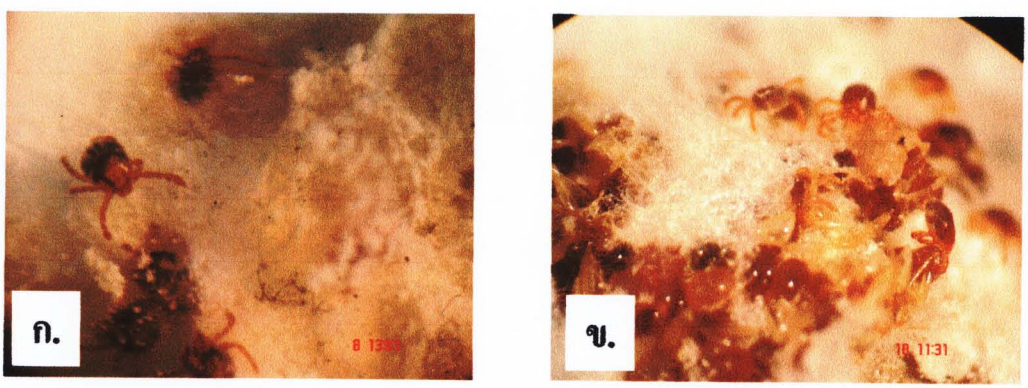
ตาราง 4-7 ไข่เห็บที่ไม่ฟัก(ไข่เห็บฝ่อ) และอัตราการตายของเห็บระยะตัวอ่อน

กลุ่มทดลอง	ไข่เห็บที่ไม่ฟัก (%)	อัตราการตายของเห็บระยะตัวอ่อน (%)
	$\overline{X} \pm SD$	$\overline{X} \pm SD$
กลุ่มควบคุม	00.00±0.00[c]	00.00±0.00[b]
Bb. 5082	75.67±2.84[b]	94.22±2.23[a]
Bb. 5335	94.00±4.58[a]	99.32±0.68[a]

[a,b,c] ในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$)



ภาพ 4-10 ก. ไข่เห็บ และการเจริญเติบโตของเชื้อรา *B. bassiana* วันที่ 6 ของการทดสอบ (10X)
ข. ไข่เห็บ และการเจริญเติบโตของเชื้อรา *B. bassiana* วันที่ 10 ของการทดสอบ (10X)



ภาพ 4-11 ก. ตัวอ่อนเห็บโคที่ถูกเชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท 5335 เข้าทำลายวันที่ 3 ของการฟักออก (20X)
ข. ตัวอ่อนเห็บโคที่ถูกเชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท 5082 เข้าทำลายวันที่ 3 ของการฟักออก (20X)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

4.5 การศึกษาเชื้อรา *B. bassiana* ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทำลายเห็บตัวเต็มวัยบนตัวโค

จากการศึกษาเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5082 และ 5335 ในการทำลายเห็บตัวเต็มวัยบนตัวโค โดยพ่นสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. ปริมาณ 10 มล. ลงใบหูโคที่มีเห็บตัวเต็มวัยเพศเมีย เกาะอยู่ โดยหูอีกข้างพ่นด้วยน้ำกลั่น ปริมาณ 10 มล. และติดตามดูการตายของเห็บนาน 14 วัน พบว่า เห็บเพศเมียเริ่มตายหลังจากพ่นด้วยเชื้อรา *B. bassiana* ไปแล้ว 4-13 วัน จากนั้นนำเห็บที่ตายใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีกระดาษกรองรองอยู่ทั้ง 2 ด้าน และนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ เพื่อดูว่ามีเชื้อราเจริญขึ้นปกคลุมตัวเห็บหรือไม่ เพื่อยืนยันว่าเป็นการตายจากเชื้อราที่ใช้ทดสอบจริง (เชื้อรา *B. bassiana* จะเป็นเส้นใยสีขาว) ซึ่งจะเห็นเชื้อราขึ้นปกคลุมลำตัวเห็บหลังจากเห็บตายไปแล้ว 10 วัน (ภาพ 4-12) และอัตราการตายของเห็บเนื่องจากเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตาราง 4-8) โดยอัตราการตายของเห็บตัวเต็มวัยเนื่องจากไอโซเลท 5335 สูงกว่าไอโซเลท 5082 และกลุ่มควบคุม คิดเป็นร้อยละ 99.55±0.30, 93.74±1.18 และ 11.60±0.60 ตามลำดับ ($p<0.05$) ได้มีการศึกษา พบว่า เชื้อราที่นิยมใช้เพื่อควบคุมเห็บ คือ เชื้อราในสกุล *B. bassiana* และ *M. anisopliae* เนื่องจากเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์นี้สามารถแพร่กระจายได้ในหลายภูมิประเทศแม้แต่ในสภาพที่มีความชื้นต่ำ และมีผลต่อเห็บหลายชนิด รวมทั้งสามารถทำลายไข่ของเห็บได้ (Garcia *et al.*, 2005) Camposs *et al.* (2005) ได้รายงานว่า เชื้อรา *B. bassiana* เป็นเชื้อรากำจัดแมลงในวงกว้างที่สามารถนำมาควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด โดยในเชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *B. amorphas* มีเอนไซน์ Proteases และเอนไซม์ Chitinases ที่ช่วยย่อยผนังลำตัวของแมลงศัตรูพืช ทำให้เชื้อราทั้ง 2 ชนิดเข้าทำลายแมลงเป้าหมายและเกิดโรคกับแมลงเป้าหมายได้เร็วขึ้น นอกจากนี้ Kaaya *et al.* (1996) ได้ศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* กับเห็บโค โดยใช้โคพันธุ์ Zebu จำนวน 5 ตัว ผูกถุงไนลอนที่บรรจุเห็บ *R. appendiculatus* จำนวน 50 ตัวต่อถุง โดยมัดทั้งหูซ้ายและหูขวา จากนั้นพ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราความเข้มข้น 10^9 สปอร์ต่อมล. พบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ทำให้อัตราการตายของเห็บสูงกว่ากลุ่มควบคุม คิดเป็นร้อยละ 83.0, 77.5 และ 17.0 ตามลำดับ ($p<0.05$) และ Samsinako *et al.* (1974) ยังได้ทำการทดสอบ โดยพ่นสารแขวนลอยเชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. บนเห็บ *R. appendiculatus* ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มที่เกาะบนตัวโค และเห็บ *R. appendiculatus* ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มที่เกาะบนตัวกระต่าย พบว่า เห็บที่เกาะบนตัวโคหลังจากการพ่นสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ มีอัตราการตายสูงกว่าเห็บที่เกาะ

บนกระต่ายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน Polar *et al.* (2005) ได้ศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท ARSEF3297 และ IMI386697 ต่อเห็บ *B. microplus* บนตัวโค โดยใช้ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. ผลการศึกษา พบว่า ไอโซเลท ARSEF3297 และ IMI386697 ทำให้เห็บ *B. microplus* เกิดโรคและตายได้สูงกว่ากลุ่มควบคุม คิดเป็นร้อยละ 89, 29 และ 0 ตามลำดับ($p<0.05$) ส่วน Gindin *et al.* (2001) ได้ทดสอบความสามารถในการเกิดโรคในเห็บ *B. decoloratus* บนตัวโค พบว่า ทั้งเชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้อัตราการตายของเห็บสูงกว่ากลุ่มควบคุม (ร้อยละ 40, 50 และ 0 ตามลำดับ) ($p<0.05$) และในไข่พบว่าเชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้ไข่เห็บลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ร้อยละ 30, 50 และ 98 ตามลำดับ) ($p<0.05$) นอกจากนั้น Gindin *et al.* (2001) ยังได้ทดลองในทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ โดยการพ่นสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมล. พบว่าหลังจากพ่นเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ไปแล้ว 6 เดือน จำนวนเห็บ *R. appendiculatus* บนตัวโคลดลงร้อยละ 80 และ 92 ตามลำดับ ($p<0.05$) และ Leemon and Jonsson (2008) ได้รายงานว่าการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท BN101C-2 ความเข้มข้น $3x10^8$ สปอร์ต่อมล. ในส่วนผสมของน้ำมันเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น พบว่าการใช้น้ำมันมีผลทำให้เห็บโคตายได้ร้อยละ 100 ภายใน 2 วัน ส่วนการใช้น้ำกลั่นทำให้เห็บโคตายได้ร้อยละ 100 ภายใน 5 วัน น้ำมันมีข้อดีคือ สามารถยึดเกาะลำตัวเห็บ และยืดอายุสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงได้ดีกว่าน้ำกลั่น ซึ่งสอดคล้องกับ Maranga *et al.* (2005) ได้เปรียบเทียบเกิดโรคของเห็บ *A. variegatum* พบว่า เห็บที่พ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงในน้ำมันมีอัตราการตายสูงกว่าเห็บที่พ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงในน้ำกลั่น คิดเป็นร้อยละ 94 และ 49 ตามลำดับ นอกจากนี้ Rath *et al.* (1990b) ได้ศึกษาถึงการคงอยู่ของสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* และ เชื้อรา *M. anisopliae* ในทราย โดยเก็บสปอร์ของเชื้อราทั้งสองไว้ในอุณหภูมิห้อง พบว่า สปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* สามารถอยู่ได้นานถึง 12 เดือน ส่วนสปอร์ของเชื้อรา *M. anisopliae* สามารถอยู่ได้เพียง 8 -9 เดือนเท่านั้น

ตาราง 4-8 อัตราการตายของเห็บเพศเมียที่ดูดเลือดจนอิ่มบนตัวโคเนื่องจากเชื้อรา *Beauveria bassiana*

กลุ่มทดลอง	อัตราการตาย (%) $\overline{X} \pm SD$
น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม)	11.60 ± 0.60^{c}
เชื้อรา *Beauveria bassiana* 5082	93.74 ± 1.18^{b}
เชื้อรา *Beauveria bassiana* 5335	99.55 ± 0.30^{a}

^{a,b,c} ในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ก.

ข.

ค.

ภาพ 4-12 ก. เห็บโคในกลุ่มควบคุม (10X)

ข. เห็บโคหลังจากทดสอบด้วยเชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท 5082 นาน 10 วัน (20X)

ค. เห็บโคหลังจากทดสอบด้วยเชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท 5335นาน 10 วัน(20X)

นอกจากการศึกษาการทำให้เกิดโรคของเชื้อรากำจัดแมลงในเห็บโคแล้ว มาลี และกรกฎ (2552) ได้ทำการศึกษาสุขภาพโคหลังการพ่นด้วยเชื้อรา *M. anisopliae* ความเข้มข้น $5x10^8$ สปอร์ต่อมล. ที่บริเวณสวาปด้านซ้ายของโคจำนวน 3 ตัว เก็บตัวอย่างเลือด และตัวอย่างผิวหนังตรงบริเวณที่พ่นเชื้อรา ผลการศึกษาพบว่า ไม่มีความเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยา หลังจากการพ่นเชื้อรานาน 3 สัปดาห์ และเมื่อศึกษาผลที่มีต่อลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของผิวหนังก็ไม่พบความผิดปกติของผิวหนังโคแต่อย่างใด