

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์(ปีที่ 3)

พ.ศ. 2554

การพัฒนาสูตรสำเร็จเชื้อราควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพริก

Development of Fungal Formulations to Control Aphids in Chilli.

โดย

ผศ.ดร.ศิรินันท์ เอี่ยมประภา

นายทรงพล จำดิษฐ์

นายสุริยสิทธิ์ สมนึก

นางสาวปวีณา ธีรเดช

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

คำนำ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของผลการดำเนินงานวิจัยในปีที่ 3 จากการดำเนินงาน 3 ปีของโครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาสูตรสำเร็จเชื้อราควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพริก ซึ่งเป็นส่วนการศึกษารองประกอบที่จะใช้เป็นส่วนผสมในการพัฒนาสูตรสำเร็จเชื้อรา ที่เกษตรกรสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ในอนาคต

ผศ.ดร.ศรินทร์ เี่ยมประภา

หัวหน้าโครงการวิจัย

บทนำ

ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

จากการที่ประเทศไทยมีการปลูกพืชต่อเนื่องกันตลอดปีและในการปลูกพืชแต่ละครั้งจะมีแมลงศัตรูพืชทำลายเริ่มตั้งแต่งอกจนถึงระยะเก็บเกี่ยวหลายชนิดเกษตรกรจึงต้องมีการป้องกันกำจัดวิธีที่เกษตรกรนิยมใช้ คือการใช้สารเคมีฆ่าแมลงเนื่องจากเห็นผลได้รวดเร็วและแก้ปัญหาเฉพาะหน้าได้ทันทีที่โดยเกษตรกรจะใช้สารเคมีฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดพื้นที่เมื่อพบตัวแมลง(กองกัญญา, 2540) โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศไทยมีการนำเข้าสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก และมีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี โดยเรานำเข้าสารเคมีดังกล่าวเป็นจำนวน 30,048 ตัน คิดเป็นมูลค่า 3,214 ล้านบาท ในปี 2537 จำนวน 32,344 ตัน คิดเป็นมูลค่า 3,626 ล้านบาท ในปี 2538 และ 42,605 ตัน คิดเป็นมูลค่า 5,102 ล้านบาท ในปี 2540 (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, 2541) การนำเข้าของปัจจัยดังกล่าวทำให้เกษตรกรในประเทศ ต้องเป็นฝ่ายพึ่งพาเทคโนโลยีจากต่างประเทศโดยสิ้นเชิง การใช้สารเคมีฆ่าแมลงจึงเกิดขึ้นบ่อยครั้ง อันเป็นผลให้แมลงสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงได้รวดเร็ว การใช้สารเคมีฆ่าแมลงในอัตราที่แนะนำใช้ไม่ได้ผลในการป้องกันกำจัด เกษตรกรจึงต้องเพิ่มจำนวนครั้งและอัตราการใช้สารเคมีฆ่าแมลงให้สูงขึ้น ตลอดจนหาสารเคมีฆ่าแมลงใหม่ที่มีฤทธิ์และอันตรายสูงขึ้นมาใช้ทดแทนหรือแม้แต่การพ่นสารเคมีหลายชนิดในเวลาเดียวกัน จึงทำให้เกิดผลเสียตามมา กล่าวคือ เกิดอันตรายต่อผู้ใช้ เกิดพิษตกค้างในผลิตผลทางการเกษตร เป็นอันตรายกับผู้บริโภคตลอดจนเกิดมลภาวะในสภาพแวดล้อมอันส่งผลกระทบต่อวงจรชีวิตของสิ่งมีชีวิตอื่นทั้งโดยทางตรงและทางอ้อม เกิดการระบาดของแมลงศัตรูพืชชนิดใหม่ ๆ ซึ่งไม่เคยเป็นปัญหามาก่อน (resurgence) ทำให้ปริมาณแมลงศัตรูพืชบางชนิดแทนที่จะลดลง กลับมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ที่เป็นเช่นนี้เพราะ ตัวห้ำ ตัวเบียน ซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติที่คอยกำจัดหรือควบคุมแมลงศัตรูให้อยู่ในสมดุลธรรมชาติได้ถูกกำจัดไปด้วย ตัวอย่างเช่น เพลี้ยอ่อน

จากแผนพัฒนาทางเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 9 (2545-2549) ในส่วนของแผนงานวิจัยเพื่อพัฒนาประเทศต่อเนื่องจนถึงแผนปัจจุบัน รัฐได้ให้ความสำคัญกับการลดปริมาณการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช นอกจากนี้แนวทางเศรษฐกิจพอเพียงตามรอยพระยุคลบาทก็เน้นการพึ่งตนเอง ซึ่งการที่ลดการใช้สารเคมีลงได้นั้นจะเป็นการช่วยลดการนำเข้าสารเคมี ดังนั้นจำเป็นต้องมีวิธีการอื่นที่มีประสิทธิภาพเทียบเท่าหรือดีกว่าแต่มีความปลอดภัยมากกว่ามาทดแทน การใช้วิธีทางชีววิธีจึงเป็นทางเลือกหนึ่ง และการที่สามารถพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์ที่ได้จากเชื้อราแมลงที่เกิดจากการศึกษาภายในประเทศก็เป็นการพึ่งพาตนเองนำไปสู่แนวทางเกษตรยั่งยืนต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อผลิตสูตรสำเร็จของเชื้อราและประยุกต์ใช้ในการควบคุมเพลี้ยอ่อน

ขอบเขตของโครงการ

- พัฒนาสูตรสำเร็จเชื้อราในการควบคุมเพลี้ยอ่อนและทดสอบประสิทธิภาพและการใช้ที่เหมาะสมในแปลง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับและหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

ประโยชน์ :

1. ได้สิ่งประดิษฐ์ใหม่คือสูตรสำเร็จเชื้อราและวิธีการประยุกต์ใช้ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อน

หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ :

- เกษตรกรผู้ปลูกพริก
- เจ้าหน้าที่เกษตร นักวิชาการ และประชาชนผู้สนใจทั่วไป

บทที่ 2

บททวนเอกสาร

1. ชีวประวัติเพลี้ยอ่อน

เพลี้ยอ่อน (Aphids) เป็นแมลงใน อันดับ Homoptera วงศ์ Aphidida และ Pemphigidae เป็นแมลงปากดูดที่มีขนาดเล็ก ลำตัวอ่อนนุ่ม ส่วนหัวและปลายหางเรียวเล็ก บริเวณท้องกลมโต ด้านท้ายของลำตัวมีท่อน้ำหวานยื่นออกมา 2 ท่อ (cornicle) มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะภูมิอากาศ กล่าวคือ 1) alternation of generation เกิดขึ้นในบริเวณเขตอบอุ่น มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในฤดูใบไม้ร่วง เพื่อจะได้วางไข่ไว้ตามต้นพืชและอยู่ข้ามฤดูหนาว (overwintering) บน primary host สลับกับการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศบน secondary host ในฤดูร้อน 2) Parthenogenesis เกิดขึ้นแถบประเทศเขตร้อน ซึ่งประเทศไทยพบมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเพียงอย่างเดียวตลอดปีบนพืชอาหาร (สุทธิชัย, 2532) สามารถทำลายพืชได้ในวงกว้างทั้ง ข้าว พืชไร่ พืชผัก ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับหรือแม้แต่พืช เช่น *Myzus persicae* นอกจากพบทำลายยาสูบแล้วยังมีพืชอาหารอื่นๆ อีก ได้แก่ พืชตระกูลกะหล่ำ เช่น กะหล่ำปลี คะน้า ผักกาดขาวปลี ผักกาดเขียวปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปลม กวางตุ้ง พืชตระกูลแตง เช่น แตงไทย แตงโม พืชตระกูลถั่ว พืชตระกูลมะเขือตระกูลพริก กระเจี๊ยบ งา มันฝรั่ง ผัก ไม้ดอกไม้ประดับ เช่น บานชื่น ยี่โถ ดอกผีเสื้อ การ์เนชั่น California poppy เป็นต้น สำหรับพืชอาหารของ *Macrosiphum euphorbiae* ได้แก่ พืชตระกูลพริก ตระกูลมะเขือ ตระกูลแตง ตระกูลกะหล่ำ เป็นต้น *Aphis gossypii* นอกจากทำลายฝ้ายแล้วยังมีพืชอาศัยอื่นๆ เช่น ตระกูลแตง ตระกูลกะหล่ำ ปอแก้ว กระเจี๊ยบ ชบา กุหลาบ ดาวเรือง เขอร์บีร่า เดซี่ เข็ม ส้ม เป็นต้น *Aphis craccivora* นอกจากจะทำลายถั่วฝักยาวแล้วยังทำลาย ผักกาด กะหล่ำ พริก มะเขือ พืชตระกูลส้ม มันฝรั่ง เป็นต้น (พิศิษฐ์, 2524; สุทธิชัย, 2532; วาลูลีและอังศุมาลย์, 2538; มาลีและศิริพันธ์, 2544 และ 2547)

เพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* มีขนาดประมาณ 1.2 – 2.6 มิลลิเมตร มีหนวดสั้นกว่าลำตัว ส่วนของ cornicle ยาวและบริเวณปลายท้องโป่งออกเล็กน้อย มีทั้งชนิดที่มีปีกและไม่มีปีก ลำตัวมีสีตั้งแต่สีเขียวอ่อนไปจนถึงสีดำเข้ม ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก ต่างกันที่ขนาดและสี ตัวเต็มวัยที่มีปีกจะมีลักษณะที่สังเกตได้ง่าย คือ ที่บริเวณปล้องท้อง ด้านสันหลังจะมีแถบสีดำขนาดใหญ่ ตัวเต็มวัยที่ไม่มีปีกมีหนวด 6 ปล้องสีเหลืองอ่อน การเจริญเติบโตลอกคราบไม่เกิน 4 ครั้ง (ถ้ามีครั้งที่ 5 จะเป็นพวกมีปีก) ระยะตัวอ่อนประมาณ 6 - 13 วัน ใช้เวลาพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยในระยะเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ เมื่ออายุได้ 5 วัน ก็สามารถออกลูกได้ เพลี้ยอ่อนตัวหนึ่งๆ จะให้ลูกได้ประมาณ 1 -

6 ตัวต่อวัน คิดเป็นปริมาณเพลี้ยอ่อน 10 – 67 ตัวต่อช่วงชีวิตของแม่เพลี้ยอ่อน 1 ตัว วงจรชีวิตเพลี้ยอ่อนประมาณ 21 วัน

ความเสียหายที่เกิดจากเพลี้ยอ่อนจะทำให้ผลผลิตเสียหายอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเพลี้ยอ่อนมีการขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว สามารถทำลายพืชได้ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยโดยลักษณะการทำลายจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืชเป็นสาเหตุทำให้พืชขาดน้ำเลี้ยงเซลล์ ถ้าทำลายที่ใบๆ จะหงิกงอเสียรูปร่าง ทำให้การเจริญเติบโตหยุดชะงัก พืชจึงแคระแกร็น ถ้าไม่มีการควบคุมปริมาณจะทำให้พืชเหี่ยวแห้งตายไป ถ้าทำลายที่ยอดจะทำให้พืชไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ ถ้าทำลายช่อดอกจะทำให้ดอกร่วงไม่สามารถติดเมล็ดได้ซึ่งเป็นปัญหามากสำหรับการผลิตเมล็ดพันธุ์ นอกจากนี้เพลี้ยอ่อนยังถ่ายน้ำหวาน (honey dew) ออกมาทาง cornicle หยดน้ำหวานที่เพลี้ยอ่อนขับถ่ายออกมาจึงเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคราดำ (sooty mold) ขึ้น ส่วนของพืชนั้นก็จะเห็นเป็นสีดำแปดปกคลุมอยู่ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้การสังเคราะห์แสงของใบพืชลดลงอย่างมาก และถ้าหากปากใบถูกปกคลุมอย่างหนาแน่นมากก็จะไปสกัดกั้นระบบหายใจของพืชทำให้ผลผลิตลดลงและผลผลิตที่ได้ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด อีกทั้งยังดึงดูดมดให้มากินและมดก็ยังเป็นตัวนำพาเพลี้ยอ่อนให้ระบาดต่อไปยังที่อื่นๆ เช่น ในพืชตระกูลถั่ว ทำให้ฝักร่วง หรือหงิกงอไม่สมบูรณ์ ดอกร่วงไม่ติดฝัก ทำให้ผลผลิตลดน้อยลงราคาตกต่ำ (อรุณี, 2510) ในข้าวโพดราดำทำให้ช่อดอกไม่คลี่ การติดเมล็ดจะน้อย ทำให้เมล็ดติดไม่เต็มฝัก ขนาดฝักเล็กลง ฝักลีบ และเสียหายจนขายไม่ได้และน้ำหวานยังดึงดูดหนอนเจาะฝักมาวางไข่ที่ไหมอีกด้วย (อรุณีและคณะ, 2539; อรณุชและวัชร, 2540) ในฝ้ายราดำเป็นเหตุทำให้เส้นใยฝ้ายสกปรก คุณภาพต่ำราคาจึงตก (กองกัญและสัตววิทยา, 2540)

นอกจากเพลี้ยอ่อนจะทำลายพืชโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงแล้ว ที่สำคัญอีกประการหนึ่งก็คือเพลี้ยอ่อนเป็นพาหะนำโรคไวรัสที่สำคัญหลายชนิดไปสู่พืช มาลีและศิรินันท์ (2544) กล่าวว่า เพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* สามารถนำเชื้อไวรัสได้มากกว่า 60 ชนิด พริกที่ปลูกในประเทศไทยมีเพลี้ยอ่อนเป็นพาหะนำโรคไวรัสได้หลายชนิด และพริกที่เป็นโรคไวรัสทำให้ผลผลิตลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เพลี้ยอ่อนเพียงตัวเดียวอาจทำให้พริกอ่อนแอในแปลงเป็นโรคได้ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ เช่น เชื้อไวรัส Potato virus (PVY), TEV, Pea enation mosaic virus (PeMOV), PeVeMOV, CMV, Potato leaf roll virus (PLRV), Beet western yellow virus, Tobacco necrotic dwarf virus, Tomato yellow net virus, Papaya ringspot virus, Citrus vein enation virus ฯลฯ (สุทธิชัย, 2532) ซึ่งสุทธิชัย (2532) กล่าวว่าโรคใบม้วนมันฝรั่งสามารถถ่ายทอดได้โดยเพลี้ยอ่อนมากกว่า 10 ชนิด อาทิเช่น *Myzus persicae*, *M. ascalonicus*, *M. circumflexus*, *M. ornatus*, *M. convolvuli*,

M. portulacae, *Dysulacorthum pseudosolani*, *Myzotoxoptera tulipaella*, *Rhopalosiphonicus latysiphon*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Aphis rhamni* ฯลฯ แต่ชนิดที่มีประสิทธิภาพในการถ่ายทอดสูงสุด ได้แก่ *Myzus persicae* และที่ความสัมพันธ์กับเชื้อ PLRV เป็นแบบ persistent กล่าวคือไวรัสซึ่งอยู่ในท่ออาหารของพืชถูกเพลี้ยอ่อนดูดกินไปพร้อมกับน้ำเลี้ยงพืชเข้าในกระเพาะอาหาร จากนั้นไวรัสจะเคลื่อนผ่านผนังกระเพาะไปยัง haemocoel และเคลื่อนย้ายต่อไปยังต่อมน้ำลาย โดยติดไปกับ haemolymph ไวรัสจะถูกถ่ายทอดกลับไปยังพืชอีกครั้งหนึ่งเมื่อเพลี้ยอ่อนกลืนน้ำลายออกมาในขณะที่ดูดกินพืชอาหาร และได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการถ่ายทอดโรคใบม้วนมันฝรั่งโดยเพลี้ยอ่อนชนิด *Myzus persicae* (Sulzer) พบว่า เมื่อปล่อยให้เพลี้ยรับเชื้อไวรัส PLRV และถ่ายทอดเชื้อมานานกว่า 24 ชั่วโมง จะทำให้เกิดการถ่ายทอดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับวิธีการทาบกิ่งพืชที่เป็นโรคไวรัส PLRV แบบเสียบข้างกับกิ่งที่ไม่เป็นโรคสามารถถ่ายทอดโรคได้สูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Corral(2001) ได้ทำการศึกษาเพลี้ยอ่อนที่ก่อโรคในมันฝรั่ง โดยเฉพาะเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* และ *Macrosiphum euphorbiae* พบว่า *Myzus persicae* มีประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อไวรัส Potato leaf roll virus (PLRV) และ Mosaic virus หรือ Potato virus (PVA, PVM, PVS, PVX และ PVY) ได้ดี เมื่อเพลี้ยอ่อนดูดกินน้ำเลี้ยงในต้นที่ติดเชื้อสัมผัสกับเชื้อโรคในพืชที่ติดเชื้อจะมีการส่งต่อไปยังพืชต้นอื่นๆ ที่เพลี้ยอ่อนตัวนั้นๆ ไปอาศัยอยู่ ทำให้พืชที่ได้รับเชื้อไวรัสเป็นโรคแคระแกรน ใบหยิกงอ สีซีดขาว เหี่ยว และตายในที่สุด และเมื่อเวลาผ่านไปนานเชื้อจะแฝงตัวอยู่กับเพลี้ยอ่อนอย่างถาวร เมื่อเพลี้ยอ่อนใช้ปากดูดน้ำเลี้ยงลงบนพืชจะทำให้พืชติดเชื้อโรคได้อย่างมากมาย

2. ปัญหาจากการใช้สารเคมีฆ่าแมลง

กองวัตถุมีพิษการเกษตร (2529) ได้มีการตรวจวัดระดับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส (cholinesterase) ในเลือดของเกษตรกรผู้ปลูกผักในประเทศไทยในระหว่างปี พ.ศ.2528-2529 ในจังหวัดต่างๆ คือ กรุงเทพมหานคร ฉะเชิงเทรา และปราจีนบุรี พบว่าร้อยละ 7.4 มีระดับเอนไซม์ผิดปกติเป็นผลมาจากการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตร จึงเสนอแนะให้มีการลดหรืองดใช้สารเคมีป้องกันหรือกำจัดแมลง เพื่อลดความเสี่ยงในเรื่องความปลอดภัยต่อสุขภาพของเกษตรกร ผู้บริโภค รวมทั้งเป็นผลดีต่อสิ่งแวดล้อม

ไพศาล (2536) ศึกษาปัญหาในการใช้สารเคมีของเกษตรกรพบว่ามีการใช้อย่างไม่ถูกต้องและขาดความระมัดระวังในการใช้ เช่น มีการปนสารเกินความจำเป็นและสรุปผลการวิเคราะห์ได้ว่าการปนสารเคมีแต่ละครั้งมีสารเคมีเพียงร้อยละ 45 ค้างอยู่บนพืช ร้อยละ 30 ปลิวไปในอากาศ

ร้อยละ 10 ระเหยตัว ร้อยละ 15 พลาดพืชเป้าหมาย และในการพ่นนี้ร้อยละ 41 ไม่ถูกตัวแมลงและตกค้างอยู่บนต้นพืช ร้อยละ 3 ถูกตัวแมลงบางส่วนแต่ไม่ใช่จุดสำคัญและมีเพียงร้อยละ 1 ที่ทำให้แมลงตาย

ศิริพันธ์ (2540) ทำการศึกษาศัตรูพืชตกค้างในผลผลิตและผลิตภัณฑ์การเกษตรใน พ.ศ. 2539 โดยสุ่มพืชผักตระกูลกะหล่ำ 4 ชนิด ได้แก่ ผักคะน้า กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก และผักกาดขาวจากแหล่งจำหน่ายในภาคกลาง 65 ตัวอย่าง ภาคตะวันออก 18 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 35 ตัวอย่าง และภาคใต้ 37 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 155 ตัวอย่าง พบว่ามีสารเคมีสำคัญ 3 กลุ่ม คือ pyrethroids กลุ่ม organophosphates และกลุ่ม organochlorines เกินกว่ามาตรฐานร้อยละ 48 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดโดยค่าปริมาณสูงสุดที่พบสูงถึง 5.07 ppm (ค่ามาตรฐานคือ 1 ppm) แสดงให้เห็นถึงปัญหาสารพิษตกค้างจากการใช้สารเคมี

IPM Thailand (2006) กล่าวว่า ปัญหาที่เกี่ยวข้องของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ แม้ว่าการใช้สารเคมีกำจัดแมลงจะมีข้อดีมากมาย แต่ก็ยังมีปัญหาอีกมากที่เกิดจากการใช้สารเคมีได้แก่

1. การมีประชากรศัตรูพืชกลับมาอีกหลังจากสารเคมีทำลายศัตรูธรรมชาติ

ปรากฏการณ์ที่รู้จักกันดีคือ เมื่อศัตรูธรรมชาติถูกฆ่าโดยการใช้กำจัดศัตรูพืชแมลงศัตรูพืช (ซึ่งมักมีอัตราการขยายพันธุ์สูง) ก็จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ในที่สุดก็ส่งผลให้เกิดการสูญเสียผลผลิตและคุณภาพของพืช แม้แต่ศัตรูพืชซึ่งไม่ต้องใช้ยาหรือใช้ในปริมาณน้อย และไม่เป็นปัญหา (ซึ่งประชากรศัตรูพืชเหล่านี้ถูกควบคุมโดยศัตรูธรรมชาติ) จะเกิดการระบาดทำให้สูญเสียผลผลิตเมื่อศัตรูธรรมชาติถูกกำจัด โดยเฉพาะแมลงหรือไรแดง ที่ได้พัฒนาจนมีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ตัวอย่างเช่น ไรแดง ซึ่งมีศัตรูธรรมชาติมากมายแต่สามารถก่อปัญหาอย่างมาก ในแปลงที่ฉีดพ่นสารเคมีอย่างหนัก

2. การพัฒนาของประชากรแมลงให้มีความต้านทานต่อสารเคมีฆ่าแมลง

การพัฒนาความต้านทานก็เป็นปัญหาที่สำคัญในการจัดการศัตรูพืช ความต้านทานหมายถึงการที่แมลงสามารถทนต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืชโดยไม่ถูกฆ่าแมลงศัตรูพืชหลายชนิด ในปัจจุบันความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงบางชนิดหรือหลายชนิด ทำให้มีทางเลือกในการควบคุมโดยสารเคมีสำหรับศัตรูพืชพวกนี้เหลืออยู่ไม่มากนัก

แมลงที่ต้านทานสารเคมีลำดับหนึ่งได้แก่เพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* จะต้านทานสารเคมีฆ่าแมลงได้มากกว่าแมลงอื่นๆ อันดับสองและสามที่ต้านทานอย่างชัดเจนคือ ตัวเต็มวัยฝรั่งไคโลราโด

Leptinotarsa decemlineata และหนอนใยผัก *Plutella xylostella* ในบางพื้นที่หนอนใยผักถึงกับมีความต้านทานต่อสารควบคุมทางชีวภาพ เช่น Bt (*Bacillus thuringiensis*)

4. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยจุลินทรีย์

การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยจุลินทรีย์ หมายถึง การใช้เชื้อจุลินทรีย์หรือผลผลิตของเชื้อจุลินทรีย์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เนื่องจากเป็นวิธีการที่มีข้อได้เปรียบหลายด้าน เช่น มีความจำเพาะสูง ปลอดภัยต่อแมลงที่มีประโยชน์ คน สัตว์ และสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ เสื่อมสภาพไปตามธรรมชาติ ไม่มีพิษตกค้างหรือก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ไม่ทำให้แมลงเกิดความต้านทาน ใช้ได้ง่ายและใช้ร่วมกับวิธีอื่นๆ ได้ดี เป็นต้น ทั้งนี้เพราะการใช้เชื้อจุลินทรีย์กำจัดแมลงศัตรูพืชนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้อง (ทิพย์วดี, 2535)

Entomopathogenic fungi หมายถึง เชื้อราที่อยู่ร่วมกับแมลงและทำให้เกิดอันตรายต่อแมลงโดยเมื่อแมลงกินเชื้อราหรือถูกเชื้อราเข้าทำลาย เชื้อราจะปล่อยสารพิษออกมาทำลายแมลงให้ตายได้ การนำจุลินทรีย์มาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชให้ได้รับความสำเร็จ ขึ้นอยู่กับชีววิทยาและลักษณะของแมลงอาศัย จุลินทรีย์ รวมถึงสภาพแวดล้อมด้วย แมลงอาศัยควรจะอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมเพื่อจะให้ เกิดโรคได้ดี การเกิดโรคของแมลงขึ้นกับปัจจัยกับความหนาแน่น (**density-dependent factor**) ดังนั้นแมลงที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มก็จะทำให้เกิดผลในการควบคุมดีกว่าแมลงที่อยู่แบบกระจัดกระจาย (ทิพย์วดี, 2535) จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในแมลงแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ตามวิธีที่จะเข้าไปในแมลงอาศัย กลุ่มแรกแมลงเข้าอาศัยโดยการสัมผัสเข้าทำลายผ่านผนังลำตัว (**integument**) ได้แก่ เชื้อราชนิดต่างๆ และไส้เดือนฝอยบางชนิด กลุ่มที่สอง ได้แก่ แบคทีเรีย ไวรัส โปรโตซัว ริคเกตเซีย และไส้เดือนฝอยจะต้องถูกกลืนเข้าไปในลำตัวแมลงเพื่อให้เกิดโรค (บรรพต, 2525) การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้จุลินทรีย์มีข้อดีคือมีความปลอดภัยสูง ไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ไม่มีพิษตกค้างสามารถนำมาใช้ร่วมกับสารเคมีฆ่าแมลงได้ ขยายจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตได้ง่ายและมีราคาถูก และความเข้มข้นในการใช้ต่ำ แมลงสร้างความต้านทานได้ช้า ส่วนข้อเสียคือ จำเป็นต้องกำหนดเวลาการใช้ให้ถูกต้องสำหรับระยะเวลาเพาะเชื้อ มีความยากลำบากในการรักษาความรุนแรง และให้มีชีวิตรอดจนกว่า จะเกิดการสัมผัสกับแมลง และสภาพแวดล้อมต้องมีความเหมาะสม (ทิพย์วดี, 2535)

การใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมแมลงโดยชีววิธี

1. การควบคุมระยะสั้นหรือชั่วคราว (**temporary control**) เป็นการใช้ที่เหมือนกับการใช้ ยาปราบศัตรูพืชทั่วไปและจำเป็นต้องมีการใช้ซ้ำเพื่อให้เกิดผลในการควบคุม จึงได้มีการแยกการใช้จุลินทรีย์ในรูปแบบนี้ออกไปจากการควบคุมโดยชีววิธีทั่วไป สูตรสำเร็จของเชื้อราต่างๆ ที่

นำมาใช้ในรูปแบบนี้เรียกว่า ยาเชื้อ (microbial insecticides) แต่เมื่อมีการนำมาใช้เพื่อการควบคุมระยะยาวและถาวร จุลินทรีย์เหล่านี้จะทำหน้าที่เป็นศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืช วิธีการใช้สารปราบศัตรูพืชทั่วไปจะนำมาใช้กับเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งสิ้น และจะได้ผลดีเมื่อปริมาณของแมลงสูง ยาเชื้อเหล่านี้อาจนำมาใช้ปนกับอาหารสัตว์ให้สัตว์กินเพื่อการควบคุมแมลงวันต่างๆที่เจริญเติบโตในมูลสัตว์ได้ การใช้เชื้อรายังมีปัญหาอยู่บ้างเพราะมักจะใช้กันในรูปของสปอร์ที่อยู่ในธรรมชาติโดยมีปัจจัยที่สำคัญคือสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุณหภูมิและความชื้น เป็นต้น การใช้จุลินทรีย์ ในการควบคุมระยะสั้นหรือชั่วคราว ได้แก่

- 1.1 การนำเข้าไปหรือตั้งหลักแหล่งอยู่ในกลุ่มประชากรของแมลงศัตรูพืช
- 1.2 การใช้ฉีด พ่น หรือทำเป็นเหยื่อล่อ
- 1.3 ใช้ร่วมกับสารปราบศัตรูพืชที่สามารถใช้ร่วมกันได้ หรือเมื่อใช้แล้ว จะทำให้เกิดผลดีเพิ่มขึ้นอีก
- 1.4 ใช้ร่วมกับตัวห้ำ ตัวเบียน และจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ

2. การควบคุมระยะยาวหรือถาวร (permanent control) การใช้จุลินทรีย์เพื่อการควบคุมระยะยาวหรือถาวรจะให้ผลดีถ้าระดับประชากรของแมลงศัตรูพืชสูง ปัจจัยเหล่านี้ต้องอยู่ในสภาพที่เหมาะสมพร้อมกันไป เพื่อมิให้เกิดการระบาดของโรคในหมู่ประชากรแมลง ปัจจัยเพื่อการควบคุมระยะยาวได้แก่ (บรรพต, 2525)

- 2.1 คุณสมบัติของประชากรจุลินทรีย์
- 2.2 คุณสมบัติของประชากรของแมลงศัตรูพืช
- 2.3 การแพร่เชื้อที่มีประสิทธิภาพ
- 2.4 ปัจจัยทางกายภาพและชีววิทยาในสภาพแวดล้อม
- 2.5 ระดับเศรษฐกิจ (economic threshold) ของแมลงศัตรูพืช

การใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืชทางชีววิธี

เนื่องจากเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคแก่แมลง มีลักษณะการเข้าทำลายแมลงอาศัยแตกต่างกันไปจากเชื้อโรคอื่นของแมลง เชื้อโรคอื่นๆ เช่น ไวรัส และแบคทีเรีย เป็นต้น จะทำให้เกิดโรคแก่แมลงโดยการกิน แต่เชื้อราพบว่าส่วนใหญ่การเข้าของเชื้อเป็นไปโดยทางผิวหนังตัวโดยตรงสปอร์ของเชื้อราต้องงอกออกจากภายนอกแมลงอาศัยก่อนจะแทงทะลุผิวหนังดังนั้นความแตกต่างอันนี้ทำให้เกิดความยากลำบากในการทำให้เกิดโรคแก่แมลง เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อโรคอื่นๆ เพราะว่า การที่ จะชักนำให้เกิดการงอกของสปอร์ที่ผิวหนังตัวแมลง ขึ้นกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งมนุษย์ไม่สามารถควบคุมได้ อีกทั้งผิวหนังตัวของแมลงก็มีส่วนที่จะชักนำหรือยับยั้งการงอกของสปอร์ได้เช่นกัน แต่ก็มีข้อได้เปรียบคือ เชื้อราสามารถผลิตได้เป็น

จำนวนมากในอาหารเทียม และโดยวิธีประหยัดกว่าเชื้อโรคอื่นๆ การใช้เชื้อราในการควบคุมแมลงทางชีววิธีนั้น ได้ทดลองใช้กันมานานแล้วผลของความสำเร็จแตกต่างกัน แต่ส่วนใหญ่ใช้วิธี **introduction** และ **colonization** คือ การนำเชื้อราเข้ามาปลดปล่อยสู่พื้นที่ที่มีประชากรแมลงอาศัยอ่อนแอต่อโรค หรือการนำเชื้อรามาปลดปล่อย เพื่อเพิ่มระดับเชื้อราซึ่งควบคุมประชากรแมลงอยู่แล้วแต่อยู่ในระดับต่ำ (มาลินี, 2536)

3. สันฐานวิทยาของเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae*

ยูพาและพิพัฒน์พงษ์ (2533) พบว่าเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จัดอยู่ในชั้น Deuteromyces (Imperfect fungi) วงศ์ Moniliaceae ลักษณะเชื้อราเส้นใยมีผนังกันเป็นปล้องไม่มีสี เส้นใยจะแผ่กระจายเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างรวดเร็วเมื่อเจริญเต็มที่สร้างโคนิเดียฟอร (conidiophore) โดยแยกเป็นกิ่งๆ และอัดแน่นเป็นแท่งตรงปลาย โคนิเดียฟอร จะสร้าง phialide ซึ่งเป็นเซลล์ที่ผลิตโคนิเดีย (conidia) ที่มีรูปยาวรี ขนาดประมาณ $3 \times 10-12$ ไมครอน ถูกสร้างติดต่อกันเป็นลูกโซ่มีรอยคอดระหว่างโคนิเดีย โคนิเดียเกิดใหม่จะมีสีขาว ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวคล้ำและหลุดไปเมื่อแก่จัดตรงรอยคอด เชื้อ *M. anisopliae* ที่พบบ่งบอกจากดินมี 3 สายพันธุ์ เชื้อ *M. anisopliae* ส่วนมากสร้างสปอร์สีเขียวเป็นรูปทรงกระบอก ทุกสายพันธุ์มีขนาดของสปอร์ 2 แบบ คือ แบบสปอร์เล็กมีความยาว 5-7 ไมครอน ความกว้าง 2.5-3 ไมครอน และแบบสปอร์ใหญ่มีความยาว 10-14 ไมครอน ความกว้าง 3-4 ไมครอน การเจริญเติบโตมีรายงานว่า *M. anisopliae* ต้องการความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 92.5 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิระหว่าง 15 - 35 องศาเซลเซียส สำหรับการงอกของสปอร์ และการเจริญของเส้นใยภาวะที่เหมาะสมสำหรับการงอก และการเจริญเติบโตของสปอร์ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่สปอร์ทนได้มีค่าใกล้เคียง 50 องศาเซลเซียส ถ้าเก็บสปอร์ไว้ที่ 21 องศาเซลเซียส จะสูญเสียการทำให้เกิดโรคเพียงไม่กี่เดือน และถ้าเก็บสปอร์ไว้ที่ 8 องศาเซลเซียส จะทำให้สปอร์มีความสามารถทำให้เกิดโรคน้อยกว่า 1 ปี

มณจันทร์และสุดาภรณ์ (2544) ศึกษาสารพิษของเชื้อรา *Metarhizium* spp. ได้แก่ Destruxin ประกอบด้วย cyclodepsipeptides 6 ตัว ซึ่งมี aminoacid 5 ตัว เป็นแกนเหมือนกัน คือ p-alanine, alanin, valine, isoleucine และ praline ที่ได้จาก filtrate culture ของ *M. anisopliae* สารพิษในกลุ่ม destruxin มี destruxin A (AD), destruxin B (DB), destruxin C (CD), destruxin D (DD), desmethyldestruxin B (DMDB) และ protodestruxin (PD) สาร Destruxin มีความเป็นพิษต่อแมลงชนิดต่างๆ แสดงอาการถูกทำลายแตกต่างกันแต่อาการส่วนใหญ่เป็น immediate tetanus คือ

มีอาการเกร็งอย่างฉับพลันของกล้ามเนื้อในส่วนที่ถูกทำลาย รวมทั้งขากรรไกรค้ำ ซึ่งพบมากในหนอนผีเสื้อถ้าได้รับสารพิษน้อยจะมีอาการเกร็งเพียง 3 นาที แต่ถ้าได้รับสารพิษมากอาจจะเกิดอาการ titanic paralyze ได้ในระยะสั้นหรือบางครั้งอาจไม่เกิดก็ได้แต่จะเกิด flaccid paralyze แทน

สาร cytochalasins เป็นสารพิษที่ผลิตได้จาก phenylalanine หรือ tryptophan เกี่ยวข้องกับ C₁₆ หรือ C₁₈ polypeptide chain พบ cytochalasins C และ D ที่แยกได้จาก *M. anisopliae* สารพิษนี้จะยับยั้งการแตกตัวของไซโทพลาสซึมในเซลล์สัตว์เลือดอุ่นที่สร้างเซลล์ที่มีหลายนิวเคลียส โดยยับยั้งการเคลื่อนไหวของเซลล์อาจไปลดกิจกรรมการทำลายสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวและความต้านทานโรคโดยการสร้างปมหุ้มเชื้อโรคได้ และยับยั้งการยึดตัวของนิวเคลียสสารนี้ยังใช้เป็นส่วนประกอบในการศึกษาชีววิทยาของเซลล์ และยารักษาโรคด้วย ซึ่งมี cytochalasins 10 ชนิด ที่ผลิตโดยเชื้อราชนิดต่างๆ เช่นพบ cytochalasins C และ D ที่แยกได้จากเชื้อของ *M. anisopliae* เมื่อ cytochalasin ถูกผลิตออกมาจากแมลงที่ถูกเชื้อ *M. anisopliae* เข้าทำลายมากพอสารนี้อาจช่วยให้อาการของโรคขยายตัวอย่างรวดเร็วเพราะไปยับยั้งการเคลื่อนไหวของเซลล์ และอาจไปลดกิจกรรมการทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยเม็ดเลือดขาว และความต้านทานโรคโดยการสร้างปมหุ้มเชื้อโรคได้

4. เชื้อราสาเหตุโรคแมลง (Entomopathogenic fungi)

ดวงเนตร (2537) กล่าวว่าเอนไซม์ที่สามารถย่อยผนังลำตัวแมลง (cuticle degrading enzyme) ที่ผลิตขึ้นโดย entomopathogenic fungi และสรุปความสามารถของเชื้อในการแทงทะลุผ่านผนังลำตัวของแมลง คือเป็นผลที่เกิดจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ในกลุ่มของเอนไซม์ไคติเนส เอนไซม์โปรติเอส และเอนไซม์ไลเปส รวมทั้งลักษณะที่เป็น mechanical pressure

มาลีและศิรินันท์ (2544) กล่าวว่าเชื้อรา (fungi) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กลักษณะการออกฤทธิ์ถูกจัดเป็น พวก contact biopesticides ไม่เหมือนกับเชื้อแบคทีเรีย และไวรัส ที่แมลงต้องกินเข้าไปจึงจะออกฤทธิ์ สำหรับเชื้อราแล้วถ้าแมลงกินสปอร์เข้าไปก็จะถูกขับถ่ายทางอุจจาระ ดังนั้นการติดเชื้อราในแมลงจะเกิดเมื่อสปอร์ของเชื้อราไปตกบนผิวหนังนอกของแมลง แล้วเจริญผ่านผนังลำตัว (cuticle) ของแมลงเข้าไปในช่องว่างของลำตัวแล้วจึงมีการเจริญภายในลำตัวแมลง โดยกลไกการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรา มีดังนี้

1. ระยะประชิดกับผิวหนังลำตัวแมลง (cuticle) อาจเกิดจากสปอร์ของเชื้อรามาติดเองหรือเกิดจากการที่สปอร์ลงไปตกที่ตัวแมลงก็ได้ เชื่อกันว่าสปอร์ติดกับผิวหนังลำตัวของแมลงได้นั้นเกิดจากแรงทางเคมีและแรงทางไฟฟ้าสถิตย์ ร่วมด้วยปฏิกิริยาร่วม (Interaction) ระหว่าง

lipolytic compound บนผิวของสปอร์และไขมันบนผิวลำตัวแมลงอาศัย ซึ่งมีส่วนสำคัญในการออกของสปอร์

2. ระยะงอก โดยทั่วไปสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจะพักตัวอยู่ในสิ่งแวดล้อมถึงแม้สิ่งแวดล้อมจะมีความอุดมสมบูรณ์สปอร์ก็จะไม่งอก แต่เมื่อสปอร์ไปสัมผัสติดอยู่บนตัวแมลงอาศัย สปอร์จะงอกขึ้นมาทันทีซึ่งการงอกนั้นอาจเกิดจากการกระตุ้นทางเคมีของสารบนผิวลำตัวแมลงซึ่งสัมพันธ์กับขบวนการประชิดตัวแมลง ทำให้เกิดการงอกของสปอร์ที่จะปรากฏเป็นท่อเล็กๆ เรียกว่า germ tube
3. ระยะแทงทะลุผิว ส่วนของ germ tube จะเป็นส่วนที่แทงทะลุผิวลำตัวแมลงเข้าไปภายในโดยมี appressoria เป็นส่วนที่ช่วยยึดผิวลำตัวแมลงไว้และมีปัจจัยทางเคมีและฟิสิกส์เข้ามาเกี่ยวข้อง โดยเฉพาะเอนไซม์ที่ช่วยย่อยสลายผนังลำตัวที่ประกอบด้วยไคติน (chitin) ทำให้ germ tube แทะทะลุผ่านผนังลำตัวไปได้ อย่างไรก็ตามก็ยังมีช่วงที่ติดเชื่อไ้ได้ง่ายคือ หลังจากแมลงลอกคราบเนื่องจากในระยะนี้แมลงจะมีเปลือกผิวลำตัวที่บาง บางครั้งพบว่าสายใย mycelium สามารถเข้าไปทางปากท่อหายใจและช่องว่างต่างๆ (haemocoel)
4. ระยะการพัฒนาในตัวแมลง เมื่อเชื้อราเข้าไปภายในตัวแมลงสำเร็จ เชื้อราจะสร้าง mycelium เข้าไปตามระบบหมุนเวียนเลือดและขยายจำนวนในเลือดอย่างรวดเร็ว mycelium จะหักออกเป็นท่อนสั้นๆ และเข้าทำลายอวัยวะต่างๆ ภายในตัวแมลง หลังจากตัวแมลงตายลงหรือก่อนตาย mycelium จะขยายไปทั่วทั้งตัวแมลง ซึ่งจะหนาแน่นและแข็ง ต่อมาเชื้อราจะสร้าง conidiophores และแทงทะลุออกมาภายนอก ลำตัวของแมลงแล้วสร้าง conidia ตรงปลาย นอกจากนี้ในเชื้อราบางชนิดยังสามารถสร้างสารพิษที่ทำให้แมลงตายเร็วขึ้น มีความเฉพาะเจาะจงกับแมลงอาศัยแตกต่างกัน ทำให้ไม่เป็นอันตรายกับสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย และไม่เกิดสารตกค้างในสิ่งแวดล้อมเหมือนกับสารเคมี อีกทั้งยังย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ตัวอย่างของเชื้อราที่สร้างสารพิษ เช่น destruxins จากเชื้อรา *Metarhizium*, hirsutellin จากเชื้อรา *Hirsutella* และ beauvericin จากเชื้อรา *Beauveria* เป็นต้น

Leger *et al.* (1986) ทำการศึกษาการสังเคราะห์เอนไซม์ที่ย่อยสลายผนังลำตัวแมลง (cuticle degrading enzyme) ในเชื้อรา 3 ชนิด ที่มีคุณสมบัติเป็น entomopathogenic fungi คือ *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* และ *Verticillium lecanii* พบว่าเชื้อราทั้ง 3 ชนิด

เมื่อเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มี ground locust cuticle 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน เชื้อจะผลิต extra cellular enzymes หลายชนิดที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายผนังลำตัวแมลง คือ endoproteases, aminopeptidase, carboxypeptidase A, lipase และ esterase

Leger *et al.* (1986a.) พบว่าการสังเคราะห์เอนไซม์ของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* จะถูกควบคุมโดยผลผลิตจากระบบการย่อยสลายไคติน โดยกระบวนการ inducer-repressor mechanism ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ขาดแหล่งคาร์บอนและมีอัตราการเติมน้ำตาลหรือ alanine อย่างช้าๆ (ประมาณ $20 \mu\text{g ml}^{-1}\text{h}^{-1}$) เพื่อป้องกันการเกิด catabolite repression พบว่า inducer ที่มีความสำคัญต่อการผลิตเอนไซม์ไคตินเนส คือ N-acetylglucosamine (NAG) ในอาหารที่มี (NAG) ความเข้มข้นต่ำๆ (0.2 เปอร์เซ็นต์) จะพบกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสสูง และเมื่อปริมาณ (NAG) เพิ่มขึ้นในอาหาร จะเกิดการลดการสังเคราะห์เอนไซม์ไคตินเนสลงถึง 87 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบพบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสสูงแต่ถ้ามีไคตินสูงเกิน 3 เปอร์เซ็นต์ จะเป็นการกีดขวางการสร้างเอนไซม์ไคตินเนส พบว่าการเติมคาร์โบไฮเดรต (pectin, xylan และ cellulose) ไขมันและโปรตีนลงในอาหารที่มีไคติน repression เช่นเดียวกัน ส่วนในอาหารที่ไม่มี inducer จะผลิตเอนไซม์ไคตินเนสได้บ้างในระดับหนึ่ง พบว่าเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* สามารถผลิตเอนไซม์ไคโตไบเอสได้ในทุกสูตรอาหาร และคาดว่าเอนไซม์ไคโตไบเอสทำงานไปพร้อมๆ กับเอนไซม์ไคตินเนสเพื่อเป็นการปลดปล่อย inducer (NAG) สำหรับการทำงานของเอนไซม์ไคตินเนส การที่มี amino sugar ในอาหารจะเป็นตัวส่งเสริม การผลิตเอนไซม์ไคโตไบเอสและพบว่าเอนไซม์ไคโตไบเอสได้รับผลกระทบจากระบบการ catabolite repression น้อยกว่าเอนไซม์ไคตินเนส

5. ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคอันเกิดจากเชื้อรา

การที่เชื้อราจะสามารถทำให้เกิดโรครุนแรงมากน้อยกับแมลงนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยดังต่อไปนี้

1. ความสามารถในการเข้าทำลายและความรุนแรงของเชื้อรา เชื้อราต่างชนิดกันความสามารถในการเข้าทำลายแมลงต่างกัน เชื้อราบางชนิดสร้างสารที่มีความเป็นพิษและฆ่าแมลงได้รวดเร็ว บางชนิดเพียงเข้าไปเจริญแย่งแร่ธาตุอาหารในแมลง ถ้าแมลงแข็งแรงก็อาจทนอยู่ได้นานหรืออาจกำจัดเชื้อราออกจากตัวได้ในที่สุด เชื้อราจะเข้าทำลายเนื้อเยื่อหรืออวัยวะของแมลงต่างกัน บางชนิดก็เข้าทำลายเนื้อเยื่ออวัยวะหลายๆ อย่างพร้อมๆ กัน บางชนิดก็เฉพาะเจาะจงกับเนื้อเยื่อเฉพาะอย่าง ซึ่งจะมีผลต่อการเกิดโรคในแมลง
2. ตำแหน่งและวิธีการเข้าสู่ตัวแมลง เชื้อราต่างจากเชื้อโรคชนิดอื่นคือเข้าสู่ตัวแมลง

ทางผนังลำตัว ดังนั้นเชื้อราที่มีความสามารถทะลุผ่านผนังลำตัวแมลง ก็ทำให้สามารถเกิดโรคได้ เช่น เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายชั้นต่างๆ ของผนังลำตัวแมลง เพื่อให้ germ tube ที่งอกจากสปอร์ผ่านเข้าไปได้ แมลงที่มีชั้นของ wax หนา ก็อาจป้องกันตัวเองจากการเข้าทำลายของเชื้อราได้ นอกจากนี้เชื้อรายังเข้าสู่ตัวแมลงได้ทางท่อหายใจ มักพบในแมลงที่มีรูหายใจข้างลำตัวใหญ่เป็นทางให้เชื้อราเข้าไปได้ เช่น ตั๊กแตน และอาจเข้าทางบาดแผลซึ่งพบในแมลงที่กัดกันเองหรือเป็นแผลจากการถูกแตนเบียนวางไข่

3. สภาพแวดล้อม การระบาดของโรคอันเกิดจากเชื้อราขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่สำคัญ ได้แก่ แสงอาทิตย์ อุณหภูมิ ความชื้น น้ำ สารอาหาร สารเคมี และ pH ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราและเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้สปอร์อยู่รอดบนแมลงอาศัย รวมทั้งการงอกของสปอร์ และกระบวนการเข้าทำลายแมลงเป็นไปด้วยดี ปัจจัยเหล่านี้อาจเกิดขึ้นเดี่ยวหรือร่วมกัน ซึ่งมีผลต่อเชื้อที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ หรือเชื้อที่ผลิตเป็นยาเชื้อใช้ในการกำจัดแมลงและปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อการเจริญ และการอยู่รอดของเชื้อราทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยมีผลกระทบที่แตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อราเช่นกัน ปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ มีดังนี้

แสงสว่าง อาจมีผลชักนำและยับยั้งการสร้างโครงสร้างต่างๆ เช่น มีอิทธิพลต่ออัตราหรือทิศทางการเคลื่อนที่ หรือการเจริญเติบโตของโครงสร้าง แสงสว่างยังชักนำให้ conidia มีการติดตัวและงอกโดย *Metarhizium* spp. แสงสว่างเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ความมีชีวิตของ conidia ตื้นลง

อุณหภูมิ มีผลต่อกิจกรรมของเซลล์ทุกชนิด ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เซลล์ส่วนใหญ่จะหยุดการเจริญและตายในไม่ช้าช่วงอุณหภูมิดังกล่าว กิจกรรมของเชื้อราจะเพิ่มหรือลดลงขึ้นกับชนิดและระดับอุณหภูมิขณะนั้น เชื้อราเจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การทำให้เกิดโรค รวมทั้งการอยู่รอดของเชื้อราด้วย คือ 20-30 องศาเซลเซียส *Metarhizium* spp. เจริญเติบโตได้ดีที่ 25-30 องศาเซลเซียส และจะไม่เจริญเติบโตถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่สูงถึง 50 องศาเซลเซียส จะทำให้เชื้อราตายได้

ความชื้น ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำ มีความจำเป็นต่อการงอกของเชื้อรา และโครงสร้างสืบพันธุ์ออกมาภายนอกแมลงอาศัย ความชื้นมีผลต่อความคงที่ และการอยู่รอดของแมลงในเรื่องอื่นๆ อีกด้วย *Metarhizium* spp. สามารถแพร่ระบาดได้ดี ถ้าความชื้นสัมพัทธ์สูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ นานถึง 8-10 ชั่วโมง ซึ่งมักจะเป็นระยะที่มีน้ำค้างหรือหมอกเกิดขึ้นนาน 2-3 วัน จะทำให้เชื้อรามีการอยู่รอดดีที่สุด

วัสดุที่เชื้อเจริญอยู่ ผิวหน้าที่สปอร์หรือเส้นใยของเชื้อราเกาะติดอยู่ เช่น อากาศ ดิน น้ำ ใบพืช เปลือกไม้ อินทรีย์สาร และแมลงอาศัย มีอิทธิพลต่อความสามารถในการอยู่รอดจนถึงชักนำให้เกิดโรคกับแมลงได้

ดิน ในดินมีสารยับยั้งการเจริญเติบโตของ conidia ของ *Metarhizium* spp. อยู่ด้วย ในบางกรณีการออกของ conidia จะลดลงเพราะจุลินทรีย์ที่อยู่ในดินปล่อยสารยับยั้งออกมาถูกความร้อนในระหว่างการฆ่าเชื้อหรือการงอก อย่างไรก็ตามสารยับยั้งที่อยู่ในดินนี้เป็นประโยชน์กับเชื้อรา เพราะทำหน้าที่เป็นตัวเก็บรักษา conidia ของเชื้อราให้มีอายุยืนนานในดินถึง 2 ปี

น้ำ ความเค็ม มลพิษ และ pH ของน้ำ มีส่วนสำคัญต่อการงอกและการอยู่รอดของ conidia โดย *Metarhizium* spp. เมื่ออยู่ในน้ำที่สะอาด conidia จะแข็งแรงมากกว่าอยู่ในดินเลนและพบว่าระดับ pH ในกระเพาะอาหารของหนอนไหมมีผลต่อการงอก conidia ของ *Metarhizium* spp.

6. การใช้เชื้อรากำจัดแมลง

ยูพาและพิพัฒน์พงษ์ (2533) ทำการทดลองศึกษาศักยภาพของเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ต่อการเกิดโรคของปลวกได้ดินชนิด *Microcerotermes crassus* พบว่าเชื้อราเขียวสามารถทำให้ปลวกเกิดโรคได้โดยระยะแรกปลวกแสดงอาการตัวสั้น ลดการกินอาหาร เคลื่อนไหวช้าลง ระยะสุดท้ายมีอาการเป็นอัมพาตและตายในที่สุด ซากปลวกที่ตายลำตัวหดและเหี่ยวแห้ง หลังจากนั้นสร้างเส้นใยสีขาวมาปกคลุมลำตัว ต่อมาเส้นใยจะสร้างสปอร์สีเขียวปริมาณสปอร์ที่เชื่อมีประสิทธิภาพในการเกิดโรค คือ $LC_{50} = 2.27 \times 10^7$ สปอร์ต่อตารางเซนติเมตรต่อมิลลิกรัม

ศิริชัยและคณะ (2539) ทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ที่มีต่อแมลงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ที่ใช้ คือ ไอโซเลต TISTR-3185 ไอโซเลต B1 และ S1 พบว่าเชื้อราเขียวทั้ง 3 ไอโซเลตสามารถทำลายแมลงศัตรูพืช คือ หนอนผีเสื้อกินใบฝ้าย (*Galleria mellonella*) และทำลายแมลงอุตสาหกรรม เช่น ไหมบ้าน (*Bombyx mori*) ได้ โดยพบว่าไอโซเลต S1 มีประสิทธิภาพสูงกว่า ไอโซเลต B1 และไอโซเลต TISTR-3185 ตามลำดับ ส่วนหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* มีเฉพาะไอโซเลต S1 เท่านั้นที่ทำลายได้ สำหรับหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* และหนอนไหมป่าอีรื่อนั้นยังไม่พบการทำลายเกิดขึ้น

วัฒนา (2541) ทำการทดสอบเชื้อราสาเหตุโรคแมลง *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ที่มีต่อหนอนกินใบสัก (*Hyblaea puera* Cramer) โดยการทดลองใช้เชื้อราทั้ง 2 ชนิด ในอัตราความเข้มข้นของสปอร์ 5 ระดับ คือ 2×10^8 , 2×10^7 , 2×10^6 , 2×10^5 และ

0 สปอร์ตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ หยดเชื้อราในแต่ละความเข้มข้นของสปอร์เชื้อราในอัตรา 1 มิลลิลิตร ลงบนตัวหนอนกินใบสักตัวอ่อนวัยที่ 3 ได้ทำการทดลองโดยใช้เชื้อราทั้ง 2 ชนิด ตั้งแต่ได้เชื้อรา จากหลอดเลี้ยงเชื้อจนถึง 4 รุ่น ผลการทดลองปรากฏว่า เชื้อราทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถทำให้เกิดโรค แก่หนอนกินใบสักได้ โดยเชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* สามารถทำให้หนอนกินใบสัก ในการทดลอง 4 รุ่น ตายเฉลี่ย 60.24 และ 37.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การตายของหนอน กินใบสักขึ้นอยู่กับอัตราความเข้มข้นของสปอร์เชื้อราและชนิดของเชื้อรา

อัตราความเข้มข้นของสปอร์เชื้อราที่ทำให้หนอนกินใบสักตายได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของเชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* เท่ากับ 1.40×10^6 และ 2.19×10^8 สปอร์ตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การศึกษานี้ทำให้ทราบว่า *B. bassiana* มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกินใบสักได้ดีกว่า *M. anisopliae* ดังนั้นเชื้อรา *B. bassiana* จึงมีความเหมาะสมในการนำมาใช้ควบคุมหนอนกิน ใบสักโดยชีววิธีต่อไป

ทิพย์วดีและคณะ (2544) นำเชื้อรา 23 สายพันธุ์ มาทดสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อประเมิน ประสิทธิภาพในการควบคุมกำจัดเพลี้ยไฟ *Ceratothripoides claratris* (Shumsher) ซึ่งเป็นแมลง ศัตรูสำคัญของมะเขือเทศ พบว่า *Paecilomyces fumosoroseus* มีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมา คือ *Beauveria bassiana* ส่วนเชื้อราที่มีประสิทธิภาพรุนแรงกับแมลงปากเจาะดูดทั่วไป คือ *Metarhizium anisopliae* และ *Verticillium lecanii* กลับมีประสิทธิภาพต่ำ เชื้อราเหล่านี้ เจริญเติบโตได้ปานกลางถึงเร็วซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีในการพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลง

มณจันท์และสุดาภรณ์ (2544) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Metarhizium* spp. ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้เชื้อรา *Metarhizium* spp. จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *M. flavoviridae* BCC1380, *M. flavoviridae* BCC1707, *Metarhizium* sp. AP4358 และ *Metarhizium* sp. AP4359 ที่ระดับความเข้มข้น 2×10^6 , 2×10^7 และ 2×10^8 สปอร์ตต่อมิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น ตัวเปรียบเทียบ ได้เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยโดยเฉลี่ยจากสามความเข้มข้นคือ 72.22, 45.56, 50.00 และ 69.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากนั้นทดสอบความรุนแรงและประสิทธิภาพของเชื้อราเดี่ยวและร่วมกัน โดยใช้เชื้อราที่มี ประสิทธิภาพสูงที่สุด 2 ชนิด คือ BCC1380 และ AP4359 โดยเปรียบเทียบความรุนแรงของเชื้อ ารกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 5 ช่วง พบว่าความรุนแรงของเชื้อในทุกการทดลองเฉลี่ยจากความ เข้มข้นทั้ง 3 เพิ่มขึ้นจากรุ่นที่ 1-5 โดยเชื้อรา BCC1380 มีค่าจาก 78.33 เปอร์เซ็นต์ เป็น 92.22 เปอร์เซ็นต์ และ AP4359 จาก 76.66 เปอร์เซ็นต์ เป็น 84.44 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้เชื้อราทั้งสองชนิดร่วมกันเพิ่ม จาก 75.56 เปอร์เซ็นต์ เป็น 95.56 เปอร์เซ็นต์ สำหรับผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา

B C C 1 3 8 0 , A P 4 3 5 9 และการใช้ B C C 1 3 8 0 และ A P 4 3 5 9 ร่วมกันที่ 3 ความเข้มข้นเฉลี่ยมีค่าเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยเท่ากับ 84.89, 79.00 และ 87.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลขึ้นกับชนิดของเชื้อราและความเข้มข้นของสปอร์ การใช้ B C C 1 3 8 0 และ A P 4 3 5 9 ร่วมกันมีประสิทธิภาพในการก่อให้เกิดโรคสูงกว่าการใช้เชื้อราชนิดเดียวแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นเชื้อรา *Metarhizium* sp. จึงสามารถที่จะพัฒนาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวได้

สิรินันท์และมาลี (2547) ทำการศึกษาคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคของแมลง 3 ชนิดคือ *Metarhizium* spp., *Paecilomyces* spp. และ *Hirsutella citriformis* เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อน โดยการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ใช้สปอร์แขวนลอยความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นิดพ่นกับเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* และ *Macrosiphum euphorbiae* โดยใช้น้ำกลั่นนิ่งมาเชื่อมผสม tween 80 0.1 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวเปรียบเทียบ ผลคือเชื้อทั้ง 3 ชนิด มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* และ *Macrosiphum euphorbiae* แต่ *Paecilomyces* spp. และ *Hirsutella citriformis* จะต้องใช้ความเข้มข้นของสปอร์ที่สูง นอกจากนี้เชื้อราทั้ง 2 กลุ่มยังยากในการเลี้ยงและเพิ่มปริมาณของสปอร์ในอาหารเทียมเมื่อเทียบกับ *Metarhizium* sp. ดังนั้นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* และ *Macrosiphum euphorbiae* คือ *Metarhizium* sp. ไอโซเลต 7965 ซึ่งเป็นเชื้อราที่ยังไม่ได้จำแนกถึงชนิด และเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาเพื่อใช้ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนต่อไป อีกทั้งยังเลี้ยงง่ายมีการเจริญเติบโตและสร้างสปอร์ได้รวดเร็ว

7. การพัฒนาสูตรน้ำมันของเชื้อรา

Roberto *et al.* (2002) ทำการศึกษาทดสอบความสามารถในการเจริญและการเก็บรักษา Medium-Term Storage ของเชื้อ *Metarhizium anisopliae* ในสูตรที่แตกต่างกัน โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 มีทั้งหมด 22 สูตร ดังนี้ Emulsifiable adjuvant oil (EAO) 8 สูตร สูตรน้ำ 7 สูตร น้ำมันจากพืช 3 สูตร และ น้ำมันจากแร่ 4 สูตร ทุกสูตรจะมีสปอร์ของเชื้อ *M. anisopliae* ผสมอยู่ โดยนึ่งพ่นบนผิวหน้าของอาหาร SDA พบว่าเมื่อครบ 24 ชั่วโมง ในสูตร EAO Actipron® Ashlade® และ Codacide® อัตราการงอกของสปอร์อยู่ในระดับเดียวกับสูตรน้ำมันจากพืชและสูตรน้ำมันจากแร่มีเพียง Ethoken® C12 สปอร์ไม่มีการงอก เมื่อครบ 48 ชั่วโมง ในทุกสูตรสปอร์มีการงอกหมด ในการทดลองที่ 2 ทดสอบการเก็บ Medium-Term Storage (40 สัปดาห์)

โดยทดสอบกับ EAO 5 สูตร สูตรน้ำมันถั่วลิสง น้ำมันจากแร่ (Shellsol+Ondina) และ สปอร์เชื้อบริสุทธิ์ พบว่าในอุณหภูมิที่ต่ำ 10 องศาเซลเซียส สปอร์มีการงอกและเก็บได้ดีกว่า 27 องศาเซลเซียส ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์

Kass *et al.* (2003) ทำการศึกษาทดลองใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* ทดสอบประสิทธิภาพในการทำให้เกิดโรคในตั๊กแตน 2 ชนิด *Locusta migratoria* และ *Cryptocatantops haenorrhoidalis* (krauss) โดยทำการเปรียบเทียบสูตรน้ำมัน oil flowalea concentrate (OFC) กับสารอิมัลชัน พบว่า OFC2 ซึ่งมีส่วนประกอบ freeze dried submerged spores 4.02 เปอร์เซ็นต์ Benton 38 0.98 เปอร์เซ็นต์ propylene carbonate 0.32 เปอร์เซ็นต์ และ diesel oil มีประสิทธิภาพในการทำให้เกิดโรคในตั๊กแตนดีที่สุดทั้งในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดลอง

Vandergheynst *et al.* (2007) ทำการศึกษาทดลองพัฒนาสูตรเชื้อรา *Lagenidium giganteum* ในการกำจัดยุงโดยใช้ไขมันจากพืชเป็นส่วนประกอบในสูตร น้ำมันที่นำมาใช้คือ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันข้าวโพด และ น้ำมันจากเมล็ดฝ้าย เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดยุง พบว่าน้ำมันที่นำมาใช้ทุกชนิดมีความสามารถในการกำจัดยุงได้ใกล้เคียงกันหรือไม่มีความแตกต่าง

การทดลองของ Cheng and Long (1995) พบว่า เชื้อรา *Entomophthora virulenta* ที่อยู่ในรูปแบบ (formulation) EB-82 เจือจางด้วยน้ำ 200 เท่า ใช้ควบคุมเพลี้ยอ่อนที่ทำลายมันฝรั่ง แดง ถั่วลิสง และแอปเปิ้ล ในสภาพแปลงได้โดยสามารถทำให้เพลี้ยอ่อนตายร้อยละ 90 ในเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับในประเทศไทยการศึกษาของจริยาและคณะ (2533) พบว่า กลุ่มเชื้อราที่คาดว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนได้คือ *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Fusarium* และจากการศึกษาของ Thungrabeab และ Aemprapa (2002) พบว่าเชื้อ *Beauveria* spp. มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* และ *Macrosiphum euphorbiae* ในสภาพห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *Metarhizium* spp. และ *Paecilomyces* spp. มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในสภาพห้องปฏิบัติการได้เช่นกัน (Aemprapa และ Thungrabeab, 2004) Dun และคณะ (2003) ได้ทดลองสูตรเชื้อรา *Beauveria bassiana* กับเพลี้ยอ่อนโดยผสมออกมาในรูปแบบ Emulsifiable formulation ซึ่งประกอบด้วย โคโคนีเดียแห้งของเชื้อราในสารละลายน้ำมัน (mineral oil-based) สาร emulsifier สารทำให้อยู่ตัว (stabilizer) และสารป้องกันรังสียูวี พบว่า LC50 ในการฉีดพ่นคือ 9 โคโคนีเดียต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ส่วน Polar และคณะ (2005) ทดลองสูตรน้ำมัน (oil-based formulation) ของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในการควบคุมเห็บวัว พบว่า เชื้อราใน 10% พาราฟินเหลวใน emulsifiable adjuvant oil (EAO) ให้ผลดีที่สุด

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

1. การเพิ่มปริมาณของเชื้อ

นำเชื้อรา *Metarhizium* สายพันธุ์ 7965 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งปรับ pH เป็น 5.6 ในจานเลี้ยงเชื้อแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 7-10 วัน ให้เส้นใยขึ้นเต็มจานแล้วนำมาทำสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อที่เติม Tween 80 0.05% โดยใช้แผ่นสไลด์ชุบสปอร์ของเชื้อราบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ นำสปอร์ที่ได้ไปใส่ในน้ำกลั่นที่ผสม Tween 80 0.05% ที่เตรียมไว้ ใช้แท่งแก้วคนให้สปอร์แขวนลอยในน้ำ กรองสปอร์แขวนลอยของเชื้อราด้วยผ้าขาวบาง นำสปอร์แขวนลอยที่ได้ไปตรวจนับปริมาณสปอร์ต่อปริมาตรด้วย Hemacytometer.

2. การเตรียมเพลี้ยอ่อนเพื่อใช้ในการทดลอง

ใช้เพลี้ยอ่อน *Myssus persicae* เป็นแมลงทดสอบ

2.1 การเลี้ยงเพลี้ยอ่อน

ปลูกต้นพริกในกระถางขนาด 12 นิ้ว ในกระถางชำขนาด 1 2 2 เมตร ที่บุด้วยผ้าขาว โดยรอบโดยไปเก็บเพลี้ยอ่อนสายพันธุ์ *Myzus persicae* จากธรรมชาติมาปล่อยเพื่อเลี้ยงขยายพันธุ์ เมื่อต้นพริกโตมจะทำการเปลี่ยนพริกกระถางใหม่เข้าไปแทนที่ ซึ่งเพลี้ยอ่อนเป็นแมลงที่ขยายพันธุ์ได้โดยไม่ต้องผสมพันธุ์ (Parthenogenesis) ออกลูกเป็นตัว มีเพศเมียเพียงเพศเดียว นำเพลี้ยอ่อนหลังจากออกมาจากท้องได้ 4-5 วัน มาเป็นแมลงทดสอบ ในช่วงที่ต้องการแมลงมากจะมีการจ้างเหมาเลี้ยงแมลงเพิ่มเติมจากปกติ

3. การเตรียมสูตรเชื้อรา

นำเชื้อราในข้อ 1. มาจัดทำส่วนผสม โดยให้มีความเข้มข้นของเชื้อราสุดท้ายที่ 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยจะมี สูตรเชื้อรา 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เป็นพวก Emulsifier formulation (สูตรน้ำมัน) ส่วนกลุ่มที่ 2 เป็นสูตรน้ำ โดยน้ำมันที่ใช้จะเป็นน้ำมันพืชที่หาได้ในท้องตลาดและราคาไม่แพง เช่น น้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันทานตะวัน และน้ำมันงาเป็นต้น และจากบริษัทสารเคมี

4. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Bioassay)

4.1. ทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จเชื้อราในการควบคุมเพลี้ยอ่อน เพื่อดูประสิทธิภาพหลังการผลิตเสร็จใหม่ๆ โดยการทดลองส่วนที่ 1 พ่นสารละลายของสูตรเชื้อราลงบนเพลี้ยอ่อนในห้องทดลอง ส่วนที่ 2 ทดลองกับเพลี้ยอ่อนที่อยู่บนต้นพริกในกระถางทดลอง ใช้สูตรที่ไม่มีเชื้อราควบคุมศัตรูพืชผสมอยู่และน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเป็น control วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้

เพลี้ยอ่อน 20 ตัว นับจำนวนแมลงที่ตายหลังจากฉีดพ่นสารแขวนลอยเชื้อไปแล้ว 3 วัน และนับต่อไปอีกทุกๆวันจนครบ 2 สัปดาห์ คำนวณเปอร์เซ็นต์ตายที่ถูกต้องโดยใช้ Abbott's formula (Finney, 1971)

5. การทดสอบในแปลงปลูก

5.1 ทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จเชื้อราในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรโดยทดลองในสภาพธรรมชาติ โดยนำสูตรที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดของแต่ละกลุ่ม มาทำการพ่นสารละลายของสูตรเชื้อราลงบนเพลี้ยอ่อนที่อยู่บนต้นพริกในแปลงปลูก ใช้สูตรที่ไม่มีเชื้อราควบคุมศัตรูพืชผสมอยู่และน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเป็นcontrol ใช้ความเข้มข้นสปอร์ 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร วางแผนการทดลองแบบ RCBD 3 ซ้ำ โดยมีการสำรวจปริมาณแมลงก่อนและหลังการพ่น สุ่มสำรวจจำนวนแมลงโดยนับจากต้นพริก 10 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนต้นที่ปลูกทดลอง นับจำนวนแมลงที่ตายหลังจากฉีดพ่นสารแขวนลอยเชื้อไปแล้ว 3 วัน และนับต่อไปอีกทุกๆวันจนครบ 2 สัปดาห์ คำนวณเปอร์เซ็นต์ตายที่ถูกต้องโดยใช้ Abbott's formula (Finney, 1971)

ผลการดำเนินงานวิจัย

1. การทดสอบน้ำมันกับเพลี้ยอ่อน *M. persicae*

จากการนำน้ำมัน 4 ชนิด คือ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว และ น้ำมันมะพร้าว ไปทดสอบกับเพลี้ยอ่อน *M. persicae* เพื่อดูว่าน้ำมันชนิดใดมีผลต่อการตายของเพลี้ยอ่อนหรือไม่ที่ความเข้มข้น 3, 5, 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้เพลี้ยอ่อน 10 ตัว ผลการทดลองพบว่าน้ำมันแต่ละชนิดให้ผลการตายของเพลี้ยอ่อนได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยที่น้ำมันที่ทำให้เพลี้ยอ่อนตายได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ คือ น้ำมันรำข้าว 10 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมันมะพร้าว 7 เปอร์เซ็นต์ 10 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมันที่ทำให้เพลี้ยอ่อนตายได้ต่ำสุด คือไม่มีการตายเลย 0.00เปอร์เซ็นต์คือ น้ำมันถั่วเหลือง 3 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* ด้วยน้ำมันชนิดต่างๆ

ความเข้มข้น	ชุดควบคุม	ถั่วเหลือง	ปาล์ม	รำข้าว	มะพร้าว
0 %	0.00 ^A	-	-	-	-
3 %	-	0.00 ^A	36.76 ^B	46.67 ^C	66.67 ^D

5 %	-	30.00 ^B	53.33 ^C	70.00 ^{DE}	83.33 ^{FG}
7 %	-	46.67 ^C	66.67 ^D	76.67 ^{EF}	100.00 ^H
10 %	-	73.33 ^{DE}	86.67 ^G	100.00 ^H	100.00 ^H

หมายเหตุ อักษร A, B, C, D, E, F, G และ H ในแนวดิ่งเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

2. การศึกษาผลของน้ำมันถั่วเหลืองต่อการมีชีวิตของสปอร์

จากการทดสอบการมีชีวิตของสปอร์ที่แช่น้ำมันถั่วเหลืองเป็นเวลา 7 วัน พบว่าสปอร์ของเชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต 7965 ที่ความเข้มข้น 5×10^2 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มีความสามารถเจริญได้เฉลี่ย 44 โคโลนี ซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ถึง 88 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 2 การรอดชีวิตของสปอร์ที่แช่น้ำมันถั่วเหลือง 7 วัน

ความเข้มข้น	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย
5×10^2	48 โคโลนี	37 โคโลนี	47 โคโลนี	44 โคโลนี

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารจับใบ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารจับใบ 3 ชนิด คือ สบู่ สบู่เหลว ผงซักฟอก นำมาทดสอบกับเพลี้ยอ่อนที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.3 และ 0.1 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ที่มีประสิทธิภาพสูง ในการช่วยให้เชื้อราสามารถจับกับใบพริกได้ดียิ่งขึ้นแล้วคัดเลือก 1 ชนิดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด พบว่าเมื่อฉีดพ่นสารจับใบทั้ง 3 ชนิด บนเพลี้ยอ่อนและตรวจผลหลังฉีดพ่น 2 วัน เปอร์เซนต์ของเพลี้ยอ่อนเนื่องจากสารจับใบที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.3 และ 0.1 เปอร์เซนต์ เป็นดังนี้ สบู่ เท่ากับ 26.6 10 และ 3.3 เปอร์เซนต์ตามลำดับ สบู่เหลว เท่ากับ 20 6.6 และ 0 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ผงซักฟอก เท่ากับ 23.3 6.6 และ 0 เปอร์เซนต์ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบผลของสารจับใบชนิดต่างๆ

ระดับความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย		
	ผงซักฟอก	สบู่	สบู่เหลว

Control	0	0	0
0.5 %	23.3	26.6	20
0.3 %	6.6	10	6.6
0.1 %	0 ^A	3.3 ^B	0 ^A

จากการนำเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยอ่อน มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของสารจับใบเฉลี่ยด้วย Duncan's พบว่ามีความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารจับใบอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยที่ระดับความเข้มข้นของสารจับใบสูง จะทำให้เพลี้ยอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การตายสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ส่วนชนิดของสารจับใบพบว่ามีค่าแตกต่างระหว่างชนิดของสารจับใบอย่างมีนัยสำคัญยิ่งโดยสรุปมีผลทำให้เพลี้ยอ่อนตาย มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงกว่าผงซักฟอก และสมุนไพร

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารช่วยแพร่กระจายเชื้อรา

จากการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันถั่วเหลือง นำมาทดสอบกับเพลี้ยอ่อน ที่ระดับความเข้มข้น 10 , 7, 5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่มีประสิทธิภาพสูงในการช่วยแพร่กระจายเชื้อราแล้ว คัดเลือกความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพสูงสุด พบว่าเมื่อนิฉนสารช่วยแพร่กระจายเชื้อราบนเพลี้ยอ่อน และตรวจผลหลังฉีดพ่น 2 วัน เปอร์เซนต์ของเพลี้ยอ่อนเนื่องจากสารช่วยแพร่กระจายเชื้อรา ที่ระดับความเข้มข้น 10 , 7, 5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เป็นดังนี้ 63.4, 43.4, 30 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันถั่วเหลือง

ระดับความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์การตาย
Control	0 ^A
10 %	63.4 ^B
7 %	43.4 ^B
5 %	30 ^B
3 %	0 ^A

หมายเหตุ ตัวอักษร A หรือ B ในแนวดิ่งเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการนำเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยอ่อน มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของสารช่วยแพร่กระจายเฉลี่ยด้วย Duncan's พบว่ามีความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารช่วยแพร่กระจายเชื้อราอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยที่ระดับความเข้มข้นของสารช่วยแพร่กระจายเชื้อราสูง จะทำให้เพลี้ยอ่อน มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ

5. ทดสอบผลของส่วนผสมที่มีต่อความมีชีวิตของเชื้อราในการเก็บรักษา

จากการนำสปอร์ของเชื้อราเก็บในน้ำมัน 4 ชนิด คือ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว และ น้ำมันมะพร้าว ที่อุณหภูมิต่างกันคือ อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น (ประมาณ 10 องศาเซลเซียส) พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 1 เดือนเชื้อราผลิตเมือกออกมาหุ้มสปอร์และทำให้ยากแก่การกระจายสปอร์ เมื่อทดสอบการมีชีวิตพบว่าเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตต่ำมาก ทำให้ต้องมาพิจารณาการผสมสูตรใหม่ในปีต่อไปดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การเกิดเมือกของสปอร์ที่แช่ในน้ำมันถั่วเหลือง

6. ทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จเชื้อราในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรโดยทดลองในสภาพธรรมชาติ

จากข้อมูลในข้อ 3 จึงมีการทดสอบโดยนำเชื้อในรูปเชื้อผงแห้งที่ได้จากการปลูกเชื้อบนเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อ ผึ่งแห้งและบดให้เป็นผงละเอียด และทดลองไปทดสอบประสิทธิภาพในแปลงปลูกของเกษตรกร

โดยนำสูตรน้ำ และสปอร์ผงผสมน้ำ มาทำการพ่นสารละลายของสูตรเชื้อราลงบนเพลี้ยอ่อนที่อยู่บนต้นพริกในแปลงปลูก ใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อเป็น control ใช้ความเข้มข้นสปอร์ 1×10^8 สปอร์ต่อ

มิลลิลิตร วางแผนการทดลองแบบ RCBD 3 ซ้ำ โดยมีการสำรวจปริมาณแมลงก่อนและหลังการพ่น สุ่มสำรวจจำนวนแมลงโดยนับจากต้นพริก 10 เปอร์เซนต์ของจำนวนต้นที่ปลูกทดลอง นับจำนวนแมลงที่ตายหลังจากฉีดพ่นสารแขวนลอยเชื้อไปแล้ว 3 วัน

พบว่า หลังการฉีดพ่นเพียง 1 วัน แมลงแสดงอาการเป็นโรคตาย และมีเส้นใยเชื้อรางอก และวันรุ่งขึ้นฝนตกชะแมลงออกไปบางส่วน จึงต้องทำการตัดต้นพริกเก็บกลับไปห้องปฏิบัติการในมหาวิทยาลัยเพื่อตรวจเช็คจำนวนแมลงที่ตายเนื่องจากเชื้อรา โดยเก็บจำนวน 10 ต้นต่อวิธีทดลอง

ตารางที่ 5 จำนวนการตายของเพลี้ยอ่อนในสภาพแปลงปลูก

วิธีทดลอง	เปอร์เซ็นต์การตาย
Control	16.87 ^A
สูตรน้ำ	79.24 ^B
ผสมน้ำ	74.87 ^B

ซึ่งจะเห็นได้ว่าสูตรเชืวดังกล่าวมีประสิทธิภาพเพียงพอในการลดปริมาณเพลี้ยอ่อนได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับแปลงควบคุม ส่วนในแปลงควบคุมมีปริมาณการตายค่อนข้างสูงมีสาเหตุจากเชื้อราเมตาไรเซียมที่คาดว่าปลิวมาขณะฉีดพ่นเนื่องจากมีกระแสลมพัดแรงเป็นระยะๆ

ในช่วงการปลูกครั้งที่ 2 อากาศในเดือนมีนาคมถึงพฤษภาคม 2553 ร้อนจัดทำให้ต้นพืชแคระแกรน และมีการระบาดของเพลี้ยอ่อนและแมลงหิวข้าวอย่างมากก่อนที่จะเริ่มจะได้ปริมาณเพียงพอ ทำให้ต้องรีบแปลงทิ้ง ส่วนสาเหตุที่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อในเวลาอันรวดเร็วคือห้องเย็นและเพาะเลี้ยงเชื้อราของภาควิชาชีววิทยามีการทดลองของนักศึกษาโครงการปี 4 ด้วย ซึ่งมีการเขียนเชื้อและทดสอบเชื้อราปฏิปักษ์กับเชื้อราชนิดอื่น อีกทั้งการทำงานของนักศึกษาปีที่ 4 ยังขาดความชำนาญและระมัดระวัง ทำให้มีการฟุ้งกระจายและเป็นเหตุให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อราปฏิปักษ์ดังกล่าว ทำให้ระยะหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อราแมลงมีความล่าช้าเพราะไม่ได้ปริมาณเชื้อตามต้องการในการดำเนินการทดลองเพาะเชื้อแบบผงในเมล็ดพืช รวมทั้งการเพิ่มปริมาณเชื้อเพื่อทดสอบครั้งที่ 2 ในแปลงเกษตรกรในช่วงเดือน พฤษภาคม

เนื่องจากสูตรผงเกิดจากการเพาะเชื้อบนเมล็ดข้าวฟ่างแล้วนำมาบด ซึ่งลักษณะผงนี้ต้องกรองก่อนใช้เพื่อไม่ให้อุดตันท่อฉีดพ่น ทางผู้วิจัยจึงคิดวิธีการให้ที่น่าจะได้ผลดีกว่า

7. ทดสอบขนาดของฟองน้ำและปริมาณของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่

ตัดฟองน้ำ ขนาด 1×1 ซม. และ 2×2 ซม. ถุงละ 4 กรัม ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ 50 ,100 ,150 ml. อย่างละ 3 ถุง พบว่า ฟองน้ำขนาด 1×1 ซม. อาหารเลี้ยงเชื้อซึมเข้าได้ดีกว่า ขนาด 2×2 ซม. เพราะฟองน้ำมีขนาดเล็กกว่า ใช้เวลาในการแข็งตัวของอาหารเมื่อใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ 50 ,100 ,150 ml. ที่ 3 6 และ 9 นาที ตามลำดับ ส่วนฟองน้ำขนาด 2×2 ซม. ฟองน้ำมีขนาดใหญ่ อาหารซึมได้ช้า ใช้เวลาในการแข็งตัวของอาหารที่ 5 10 และ 15 นาที ตามลำดับ

ปริมาณของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่ พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ 50 ml. มีอาหารเกาะขึ้นฟองน้ำในปริมาณน้อย เมื่อเทียบกับ อาหารเลี้ยงเชื้อ 100 และ 150 ml. โดย อาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 150 ml. มีปริมาณอาหารที่เกาะขึ้นฟองน้ำมากที่สุด



ภาพที่ 2 การศึกษาขนาดฟองน้ำและปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อในถุงเพาะเห็ด

8. ทดสอบวิธีการฆ่าเชื้อฟองน้ำและอาหาร

นำ ฟองน้ำ ขนาด 1×1 ซม. ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ 50,100,150 ml. อย่างละ 3 ถุง นำไปฆ่าเชื้อ

โดยวิธีที่ 1 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วมาเทใส่ใน ขึ้นฟองน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้ว เช่นกัน เขย่าจนอาหารเลี้ยงเชื้อซึมเข้าไปในฟองน้ำจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว

วิธีที่ 2 นำอาหารเลี้ยงเชื้อ เทใส่ขึ้นฟองน้ำ แล้วจึงค่อยนำไปฆ่าเชื้อ จากนั้น นำมาเขย่าให้อาหารเลี้ยงเชื้อซึมเข้าไปในฟองน้ำจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว

พบว่า วิธีที่ 1 จะสามารถทำได้ทีละถุง รองจนกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจะแข็งตัว ถึงจะทำถุงต่อไปได้

ข้อดี สามารถทำคนเดียวได้

ข้อเสีย ใช้เวลาในการทำนาน และเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย (ปนเปื้อน 1 ถุงจาก 3 ถุง)

แต่วิธีที่ 2 ทำได้ทีละหลายๆ ถุง

ข้อดี ใช้เวลาในการทำน้อย เขย่าพร้อมกันหลายๆ ถุงได้ ไม่เกิดการปนเปื้อน

ข้อเสีย ในกรณีทำมากๆ จะต้องใช้คนเขย่า หลายคน

ซึ่งวิธีที่ 2 สามารถพัฒนาเครื่องมือเพื่อทำระดับอุตสาหกรรมได้

9. ทดสอบวิธีการปลูกเชื้อ

เลือกวิธีการที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 7 และ 8 คือ ฟองน้ำขนาด 1×1 ซม. ถูละ 4 กรัม ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ 50,100,150 ml. ที่เท่าใส่ชั้นฟองน้ำแล้วจึงค่อยนำไปมาเชื้อ จากนั้น นำมาเขย่าให้อาหารเลี้ยงเชื้อซึมเข้าไปในฟองน้ำจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว มาทำการปลูกเชื้อ โดยใส่ชั้นวัน 1 3 และ 5 ชั้น อย่างละ 10 ถู บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 27 ° c เป็นเวลา 1 เดือน แล้วจึงนำมาเช็กความเข้มข้นสปอร์

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นสปอร์ที่ได้เมื่อใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ 50 ml.

จำนวนชั้นของ เชื้อราตั้งต้น	ซ้ำที่			รวม	เฉลี่ย
	1	2	3		
1	2.02×10^4	3.05×10^4	1.77×10^4	6.84×10^4	2.28×10^{4A}
3	1.35×10^4	1.40×10^4	1.65×10^4	4.39×10^4	1.46×10^{4A}
5	1.60×10^4	1.30×10^4	2.42×10^4	5.31×10^4	1.77×10^{4A}

ตารางที่ 7 ความเข้มข้นสปอร์ที่ได้เมื่อใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ 100 ml.

จำนวนชั้นของ เชื้อราตั้งต้น	ซ้ำที่			รวม	เฉลี่ย
	1	2	3		
1	1.40×10^6	1.45×10^6	2.17×10^6	5.02×10^6	1.67×10^{6A}
3	1.45×10^6	1.47×10^6	3.15×10^6	6.07×10^6	2.02×10^{6A}
5	2.02×10^6	1.80×10^6	2.17×10^6	5.99×10^6	1.99×10^{6A}

ตารางที่ 8 ความเข้มข้นสปอร์ที่ได้เมื่อใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ 150 ml.

จำนวนชั้นของ เชื้อราตั้งต้น	ซ้ำที่			รวม	เฉลี่ย
	1	2	3		
1	2.20×10^6	2.25×10^6	3.05×10^6	7.50×10^6	2.50×10^{6A}
3	2.55×10^6	2.52×10^6	2.62×10^6	5.99×10^6	1.99×10^{6A}
5	2.72×10^6	1.30×10^6	2.65×10^6	6.66×10^6	2.22×10^{6A}

หมายเหตุ ตัวอักษร A ในแนวดังเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบความเข้มข้นสปอร์ที่ได้เมื่อใส่อาหารปริมาณต่างๆ

ปริมาณอาหาร เลี้ยงเชื้อ/ถุง	ซ้ำที่			รวม	เฉลี่ย
	1	2	3		
50 ml.	1.60×10^4	1.30×10^4	2.42×10^4	5.31×10^4	1.77×10^{4B}
100 ml.	2.02×10^6	1.80×10^6	2.17×10^6	7.68×10^6	2.56×10^{6A}
150 ml.	2.72×10^6	1.30×10^6	2.65×10^6	6.66×10^6	2.22×10^{6A}

หมายเหตุ ตัวอักษรหมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สรุปและวิจารณ์ผล

จากผลการทดลองพบว่าในเบื้องต้นสูตรผสมสูตรน้ำมันมีความเป็นไปได้ในการควบคุมเพลี้ยอ่อน เนื่องจากส่วนผสมต่างๆในระดับความเข้มข้นพอเหมาะไม่มีผลในการทำลายเพลี้ยอ่อน และน้ำมันถั่วเหลืองซึ่งไม่ทำลายเพลี้ยอ่อนไม่มีผลต่อเชื้อในการผสมสด อย่างไรก็ตามสำหรับสูตรน้ำมันที่คาดว่าจะเก็บเชื้อในน้ำมันเพื่อยืดอายุการเก็บ เมื่อนำมาใช้จึงค่อนข้างมาผสมน้ำและสารจับใบเมื่อใช้พ่นพบว่าเมื่อนำเชื้อราไปเก็บในน้ำมันต่างๆเป็นเวลานานมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพของเชื้อราทำให้ไม่เหมาะสม จากผลการทดลองประสิทธิภาพของเชื้อรา 2 สูตร คือ สูตรน้ำและผงผสมน้ำ พบว่าสูตรเชื้อทั้ง 2 สูตรดังกล่าวมีประสิทธิภาพเพียงพอในการลดปริมาณเพลี้ยอ่อนได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับแปลงควบคุม การทดลองของ Cheng and Long (1995) พบว่า เชื้อรา *Entomophthora virulenta* ที่อยู่ในรูปแบบ (formulation) EB-82 เจือจางด้วยน้ำ 200 เท่า ใช้ควบคุมเพลี้ยอ่อนที่ทำลายมันฝรั่ง แดง ถั่วลิสง และแอปเปิ้ล ในสภาพแปลงได้โดยสามารถทำให้เพลี้ยอ่อนตายร้อยละ 90 ในเวลา 24 ชั่วโมง Dun และคณะ (2003) ได้ทดลองสูตรเชื้อรา *Beauveria bassiana* กับเพลี้ยอ่อนโดยผสมออกมาในรูปแบบ Emulsifiable formulation ซึ่งประกอบด้วย โคโคนิลแห่งของเชื้อราในสารละลายน้ำมัน (mineral oil-based) สาร emulsifier สารทำให้อยู่ตัว (stabilizer) และสารป้องกันรังสียูวี พบว่า LC50 ในการฉีดพ่นคือ 9 โคโคนิลต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ส่วน Polar และคณะ (2005) ทดลองสูตรน้ำมัน (oil-based formulation) ของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในการควบคุมเห็บวัว พบว่า เชื้อราใน 10% พาราฟินเหลวใน emulsifiable adjuvant oil (EAO) ให้ผลดีที่สุด ในขณะที่ Angel-Sahagún และคณะ (2010)

พบว่า สูตรเชื้อราที่ผสมกับสาร Celite และรำข้าวสาลีให้อัตราการลดจำนวนประชากรได้คิดเป็น 67.8 และ 94.2 เปอร์เซ็นต์ และสารพา(carriers) และสารจับใบ (emulsifiers) มีผลกระทบสูงต่อประสิทธิภาพของสูตรเชื้อรา

ศูนย์สารสนเทศการเกษตร. 2541. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปีเพาะปลูก 2539/40. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 309 หน้า.

Angel-Sahagún CA, Lezama-Gutiérrez R, Molina-Ochoa J, Pescador-Rubio A, Skoda SR, Cruz-Vázquez C, Lorenzoni AG, Galindo-Velasco E, Fragoso-Sánchez H, Foster JE.2010. Virulence of Mexican isolates of entomopathogenic fungi (Hypocreales: Clavicipitaceae) upon Rhipicephalus=Boophilus microplus (Acari: Ixodidae) larvae and the efficacy of conidia formulations to reduce larval tick density under field conditions. Vet Parasitol. 170(3-4):278-86.

Cheng Su-Qin and Long Hou-Ru. 1995. EB-82 Aphid Killing strain. Chinese Journal of Biological Control. 11 (1): 27.

Dun,Y. Feng,M.,and S. Ying.2003. Evaluation for enhanced aphidicidal activity of a novel emulsifiable formulation of *Beauveria bassiana* conidia. Wei Sheng Wu Xue Bao. 43(6): 781-7. Available in WWW.pubmed.gov.

Polar, Perry, Kairo, Moses, Moore, Dave, Pegram, Rupert, John, Sally-Ann. 2005. Comparison of water, oil and emulsifiable adjuvant oils as formulating agents for *Metarrhizium anisopliae* for use in control of *Boophilus microplus*. Mycoathologia. 16(2):151-7.

Thungrabeab, M. and S. Aemprapa. 2002. Screening of Entomopathogenic fungi, *Beauveria* spp. against the aphids, *Myzus persicae* and *Macrosiphum euphorbiae*. 3rd International Conference on Biopesticides. 22-26 April 2002, Kuala Lumpur, Malaysia. p.66.

