

การคัดเลือกเชื้อราก่อโรคแมลงไอโซเลตในจังหวัดนครราชสีมาที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนและดักแด้แมลงวันบ้าน (*Musca domestica* L.)

Screening for effective Nakhon Ratchasima province isolates of entomopathogenic fungi for controlling larvae and pupae of housefly (*Musca domestica* L.)

เดือนเพ็ญ วงศ์สอน^{1*} และ ศุภปริญา รสกระโทก¹

Duanpen Wongsorn^{1*}, and Supaparinya Roskrathok¹

¹ โครงการจัดตั้งคณะนวัตกรรมเกษตรและเทคโนโลยี สถาบันสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน นครราชสีมา 77 หมู่ 7 ตำบลหนองระเวียง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

¹ Established Faculty of Innovative Agriculture and Technology, Institute of Interdisciplinary Studies, Rajamangala University of Technology Isan, 77 Moo 7, Nong Rawiang sub district, Mueang district, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

บทคัดย่อ แมลงวันบ้าน (*Musca domestica* L.) เป็นแมลงพาหะนำโรคและสร้างความรำคาญสู่คนและสัตว์เลี้ยง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกหาเชื้อราก่อโรคในแมลงไอโซเลตท้องถิ่นที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันบ้านในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยการแยกหาเชื้อราก่อโรคในแมลงจากตัวอย่างดินที่เก็บรวบรวมในเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา ด้วยวิธี baiting technique ใช้หนอนนก (*Tenebrio molitor* L.) เป็นตัวล่อเชื้อ ได้เชื้อราก่อโรคในแมลง จำนวน 45 ไอโซเลต (เชื้อรา *Metarhizium* spp. จำนวน 41 ไอโซเลต และเชื้อรา *Beauveria bassiana* จำนวน 4 ไอโซเลต) เชื้อราที่รวบรวมได้นำมาทดสอบการก่อโรคให้กับแมลงวันบ้านในระยะหนอน (วัย 2) และดักแด้ พบเชื้อราจำนวน 34 ไอโซเลต และจำนวน 13 ไอโซเลตที่สามารถเข้าทำลายหนอน (4.44 – 97.78%) และดักแด้ (2.22 – 97.78%) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราแต่ละไอโซเลตในการเข้าทำลายแมลงวันบ้าน ที่ความเข้มข้นของเชื้อรา 1×10^8 โคนิเดียม/มล. เชื้อรา *Metarhizium* spp. ไอโซเลต NM_SS 9/2 มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนแมลงวันมากที่สุด โดยมีการติดเชื้อ เท่ากับ 86.67% ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับไอโซเลต NM_BAL 7/1 (71.11%) และ NM_NS 7/2 (68.89%) ส่วนไอโซเลต NM_CLPK 4/1 สามารถเข้าทำลายดักแด้ได้สูงที่สุด (60.00%) รองลงมาคือ NM_SN 2/1 (57.78%) จากผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อราก่อโรคแมลงไอโซเลตของจังหวัดนครราชสีมาที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันบ้านได้ และเหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้ป้องกันและกำจัดแมลงวันบ้านในสภาพโรงเรือนต่อไป

คำสำคัญ : แมลงวันบ้าน; เชื้อราก่อโรคในแมลง; การควบคุมโดยชีววิธี

ABSTRACT The housefly, *Musca domestica* L. is an insect pest that acts as a vector for many pathogenic diseases and cause nuisance in both people and animals. The present study was conducted to evaluate the virulence and efficiency of different local isolates of entomopathogenic fungi to control housefly in laboratory conditions. Entomopathogenic fungi were collected and isolated from soil in Nakhon Ratchasima province by baiting technique using yellow mealworm larvae, *Tenebrio molitor* L., as bait. Total of 45 isolates of entomopathogenic fungi with the 41 isolates of *Metarhizium* spp. and 4 isolates of *Beauveria bassiana* were found. The entomopathogenic fungal bioassay comparison was carried out to examine the virulence effecting of housefly (2nd instar of larvae and pupae). Total of 34 and 13 isolates out of 45 isolates had effective infection of larvae (4.44 – 97.78%) and pupae (2.22 – 97.78%), respectively. When compared at conidial concentrations of 1×10^8 conidia/ ml, *Metarhizium* spp. isolates NM_SS 9/2 had the highest infection with 86.67% on housefly larvae, which was non-significantly difference ($P > 0.05$)

* Corresponding author: duanpen.wo@muti.ac.th

from *Metarhizium* spp., isolate NM_BAL 7/1 (71.11%) and NM_NS 7/2 (68.89%). Meanwhile, *Metarhizium* spp. isolate NM_CLPK 4/1 had ability of infection to pupae 60.00%, followed by NM_SN 2/1 with 57.78%. This present study suggested that entomopathogenic fungi isolated from Nakhon Ratchasima province had the efficiency to control housefly and can be applied in controlling and preventing housefly in animal farm conditions.

Keywords: housefly; entomopathogenic fungi; biological control

บทนำ

แมลงวันบ้าน (housefly, *Musca domestica* L.) เป็นแมลงที่ก่อความรำคาญและความเสียหายให้กับคนและสัตว์อย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเป็นพาหะนำโรคที่สำคัญมาสู่คนและสัตว์ เช่น โรคบิด (Shigellosis) ใช้รากสาต (Salmonellosis) อาหารเป็นพิษ (Food poisoning) อหิวาตกโรค (Cholera) รวมทั้งเป็นพาหะของพยาธิตัวตืด (Trichuris trichiura) พยาธิปากขอ (*Ancylostoma duodenale*) เชื้อแบคทีเรีย รา และ โปรโตซัวที่ติดกับลำตัวปนเปื้อนในอาหารทำให้เกิดโรคท้องเสีย ติดเชื้อในทางเดินอาหาร (อาคม, 2538; คม และ กาบแก้ว, 2548; Acevedo et al., 2009; Iqbal et al., 2014) ในการป้องกันและกำจัดแมลงวันบ้านเกษตรกรรมใช้สารเคมี เนื่องจากให้ผลรวดเร็วและมีวิธีการใช้ไม่ยุ่งยาก อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีกำจัดแมลงส่งผลเสียต่อสัตว์ ผู้บริโภค และสภาพแวดล้อม อีกทั้งสารเคมีในกลุ่ม organophosphates, organochlorines, carbamates และ pyrethroids เหล่านี้แมลงวันบ้านสามารถสร้างความต้านทานได้ (Mostafa and Zayed, 1999; Azzam and Hussein, 2002) เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดและลดการใช้สารเคมีจึงมีการใช้หลาย ๆ วิธี ทั้งการกำจัดแหล่งเพาะพันธุ์ของแมลงวันบ้านตามบ้านเรือน โรงฆ่าสัตว์ มูลสัตว์ตามฟาร์มปศุสัตว์ การใช้วิธีกล เช่น การใช้ไม้ตีแมลงวัน การใช้กับดักกาวเหนียว การทำกับดักแมลงวัน การใช้วิธีทางกายภาพ เช่น การใช้กับดักไฟฟ้า และแสงไฟ การใช้สารสกัดจากพืช เช่น การใช้สารสกัดจากหนอนตายอยาก สารสกัดจากเมล็ดตะขุ รวมทั้งสารสกัดจากเมล็ดสะเดาเพื่อควบคุมตัวเต็มวัยของแมลงวันบ้าน (Khan and Ahmed, 2000) และการควบคุมด้วยชีววิธีด้วยการใช้แมลงตัวห้ำ (predators) เช่น แมลงหางหนีบ มด และต่อ การใช้แมลงตัวเบียน (parasitoids) เช่น แตนเบียนในสกุล *Spalangia* และ *Muscidifurax* เป็นต้น (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และสาธารณสุข, 2553) การใช้ไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคแมลง เช่น *Steinernema* spp. และ *Heterorhabditis* spp. (Archana et al., 2017) และ การใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Merdan, 2012) รวมทั้งการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลง เช่น เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* และเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* เป็นต้น ซึ่งการใช้เชื้อรากลุ่มนี้กำจัดแมลงมาใช้ในการกำจัดหนอนแมลงวันเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่ง เนื่องจากหนอนและดักแด้แมลงวันบ้านอาศัยอยู่ในสิ่งปฏิกูลที่มีความชื้นสูง ซึ่งจะส่งผลดีต่อการเข้าทำลายของเชื้อราได้เป็นอย่างดี อีกทั้งเมื่อเชื้อราเข้าทำลายแมลง ทางเส้นใยและผลิตภัณฑ์ออกมาจากตัวแมลงแล้ว สปอร์ยังสามารถแพร่ไปยังแมลงวันตัวอื่นได้ ดังนั้นการคัดเลือกหาเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันบ้านนั้นนับว่ามีความสำคัญ และหากเป็นเชื้อราไอโซเลตที่รวบรวมได้ในท้องถิ่นนั้น ๆ ยิ่งจะเป็นการดีในการนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูปศุสัตว์ในสภาพโรงเรือนหรือแมลงพาหะทางการแพทย์ต่อไป

วิธีการศึกษา

1. การแยกเชื้อรากลุ่มในแมลงให้บริสุทธิ์และการทดสอบการก่อโรคในแมลงวันบ้าน

1.1 การรวบรวมตัวอย่างดินและการแยกเชื้อรากลุ่มในแมลง สุ่มเก็บตัวอย่างดินในเขตอำเภอต่าง ๆ ในจังหวัดนครราชสีมา นำมาแยกหาเชื้อรากลุ่มในแมลง (เชื้อรา *Metarhizium* spp. และเชื้อรา *B. bassiana*) วิธีการแยกหาเชื้อราประยุกต์ตามวิธีของ Bidochka et al. (1998) ด้วยวิธีใช้เหยื่อล่อ (baiting technique) โดยใช้หนอนนก (yellow mealworm; *Tenebrio molitor* L.) วัย 3 – 5 เป็นตัวล่อเชื้อจากดิน นำหนอนนกตายที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรามานำมาเชื้อที่ผิวด้วยการแช่ในสารละลาย sodium hypochlorite ความเข้มข้น 0.5% นาน 5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง แต่ละครั้งนาน 5 นาที จากนั้นนำไปไว้ในจานชื้น (moist chamber) ปล่อยให้จานกระทั่งเชื้อราสร้างสปอร์ออกมาจนมองเห็นลำตัวแมลง จึงนำไปแยกให้ได้เชื้อราที่บริสุทธิ์ ด้วยการขีดเชื้อ (streak plate) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (potato dextrose agar) เพื่อแยกเชื้อราให้ได้โคโลนีเดี่ยว ๆ (single colony) และทำ slide culture เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ทั้งลักษณะการเจริญของโคโลนี ก้านชูสปอร์ และลักษณะของสปอร์ เปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรากลุ่มในแมลงกับเอกสารอ้างอิงของ Samson et al. (1998) และ Humber (2005)

1.2 การเพิ่มปริมาณเชื้อราก่อโรคในแมลง นำเชื้อราก่อโรคในแมลงที่แยกได้บริสุทธิ์แล้วจากข้อ 1.1 มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส (°ซ.) นาน 21 วัน ขูดสปอร์ของเชื้อรา โดยใช้สารจับใบ Tween® 20 ความเข้มข้น 0.05% ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เจือจางเชื้อราในจานแก้วแล้วใช้เข็มเขี่ยปลายมน (loop) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วขูดเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา จนกระทั่งอยู่ในรูปของสารแขวนลอยสปอร์ แล้วนำไปทำการทดสอบต่อไป

1.3 การเตรียมแมลงทดสอบ เก็บรวบรวมตัวเต็มวัยแมลงวันบ้านจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์ในพื้นที่ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จังหวัดนครราชสีมา บริเวณรอบ ๆ โรงเรือนเลี้ยงหมูและโรงเรือนเลี้ยงไก่ ตัวเต็มวัยแมลงวันที่ได้นำมาจำแนกชนิดและคัดเฉพาะแมลงวันบ้าน นำมาเลี้ยงในกรงตาข่ายลวด ขนาด 30 x 30 x 30 เซนติเมตร ให้อาหารเทียมที่มีส่วนผสมของนมผงและน้ำตาลสำหรับตัวเต็มวัย และให้อาหารสำหรับตัวเต็มวัยวางไข่รวมทั้งเป็นอาหารของหนอนแรกฟัก โดยอาหารประกอบด้วยรำหยาบ 5 กรัม + รำละเอียด 1 กรัม + ผลไม้สุก 1 กรัม การเพาะเลี้ยงหนอนแมลงวันบ้านประยุกต์ตามวิธีของ คม และ กาบแก้ว (2548); Mishra et al. (2011) เมื่อแมลงวันบ้านเข้าสู่ช่วงรุ่นที่ 2 วางไข่และฟักออกเป็นหนอน วัย 2 (ระยะที่ไม่แข็งแรงและอ่อนแอเกินไป) และเข้าสู่ระยะดักแด้ อายุ 1 วัน (ระยะดักแด้จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 8-12 วัน ซึ่งการเข้าทำลายดักแด้ของเชื้อราใช้เวลาตั้งแต่การปลูกเชื้อราจนกระทั่งปรากฏเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราออกมาออกผนังลำตัวแมลงใช้เวลาประมาณ 5-6 วัน หากใช้ดักแด้ที่อายุมากอาจส่งผลให้ดักแด้ฟักออกเป็นตัวเต็มวัยก่อน) เตรียมสำหรับการทดสอบต่อไป

1.4 การทดสอบเชื้อราก่อโรคในแมลงในการเข้าทำลายแมลงวันบ้าน นำอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนแมลงวันบ้าน ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °ซ. ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว จำนวน 30 กรัม ใส่ลงในแก้วพลาสติก ขนาด 22 ออนซ์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติมน้ำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราก่อโรคแมลงแต่ละไอโซเลตลงในอาหารเลี้ยงแมลงวันบ้าน ปริมาณ 3,000 ไมโครลิตร/แก้ว ผสมให้เข้ากันแล้วนำหนอนวัย 2 หรือดักแด้แมลงวันบ้าน (อายุ 1 วัน) ใส่ลงไปพร้อมกับปิดปากแก้วพลาสติกด้วยถุงพลาสติกแล้วเจาะรูระบายอากาศ การทดลองประกอบด้วยเชื้อรา 45 ไอโซเลต (กรรมวิธี) โดยแต่ละกรรมวิธี ประกอบด้วย 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้หนอนและดักแด้ จำนวน 30 ตัว โดยวิธีการทดสอบประยุกต์ตามวิธีของ Farooq and Freed (2016)

การตรวจสอบผล: หลังการปลูกเชื้อ ตรวจสอบการตายของหนอนแมลงวันบ้านทุกวัน เมื่อพบหนอนที่ตายนำมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยการแช่ในสารละลาย sodium hypochlorite (ความเข้มข้น 0.5%) นาน 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 5 นาที จำนวน 2 ครั้ง จึงย้ายไปไว้ใน moist chamber นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28-30 °ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 60-80% ในที่มืด บันทึกผลการติดเชื้อทุก 7 วัน (วันที่ 7, 14 และ 21 หลังการปลูกเชื้อ) ส่วนดักแด้ตรวจสอบผลหลังการปลูกเชื้อ 7 วัน โดยนำดักแด้ที่ไม่ฟักเป็นตัวเต็มวัย รวมทั้งตัวเต็มวัยที่ฟักออกจากดักแด้แล้วตาย นำมาฆ่าเชื้อที่ผิวและปฏิบัติเช่นเดียวกับหนอน นำมาคำนวณการตายที่แท้จริงโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) และคำนวณการติดเชื้อจากสูตร

$$\text{การติดเชื้อ} = \frac{\text{จำนวนแมลงวันบ้าน (หนอน/ดักแด้) ที่ติดเชื้อ} \times 100}{\text{จำนวนแมลงวันบ้าน (หนอน/ดักแด้) ที่ทดลอง}}$$

2. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราก่อโรคในการเข้าทำลายหนอนและดักแด้แมลงวันบ้าน

นำเชื้อราที่สามารถก่อโรคให้กับแมลงวันบ้านที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 1 โดยมีการเข้าทำลายแมลงวันบ้านมากกว่า 50% มาทดสอบควบคุมหนอนและดักแด้แมลงวันบ้าน โดยนำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราแต่ละไอโซเลตมาผสมลงในอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนแมลงวัน ให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อรา เท่ากับ 1x10⁸ โคเนเดีย/กรัม จากนั้นปล่อยหนอนแมลงวันบ้านวัย 2 และดักแด้แมลงวันบ้าน (อายุ 1 วัน) จำนวน 30 ตัวต่อซ้ำ (ไอโซเลตละ 3 ซ้ำ) เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีเฉพาะอาหารเทียม กรรมวิธีที่ผสมอาหารเทียมน้ำกับสารจับใบ Tween® 20 ความเข้มข้น 0.05 % และกรรมวิธีที่ผสมอาหารเทียมน้ำกับสารเคมีกำจัดแมลง Cypas® (อัตราการใช้ 100 มล./น้ำ 20 ลิตร) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD, Completely Randomized Design) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของแมลงวันบ้านด้วย DMRT (Duncan New Multiple Rang Test) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สถิติสำเร็จรูป SAS (Statistical Analytical System) V 9.0

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

1. การแยกเชื้อราก่อโรคในแมลงให้บริสุทธิ์และการทดสอบการก่อโรคในแมลงวันบ้าน

จากการรวบรวมเชื้อราก่อโรคในแมลงในเขตจังหวัดนครราชสีมา ได้เชื้อราก่อโรคในแมลง จำนวน 45 ไอโซเลต (เชื้อรา *Metarhizium* spp. จำนวน 41 ไอโซเลต และเชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 4 ไอโซเลต) และเมื่อนำเชื้อราทั้ง 45 ไอโซเลต มาทดสอบการก่อโรคมักในแมลงวันบ้านในระยะหนอนวัย 2 และดักแด้ (Table 1) พบว่าเชื้อราจำนวน 34 ไอโซเลต สามารถก่อโรคมักในแมลงวันบ้านได้ โดยมีการติดเชื้อของหนอนแมลงวันบ้านอยู่ระหว่าง 4.44 – 97.78% และเชื้อรา *Metarhizium* spp. ไอโซเลต NM_SS 9/2 เข้าทำลายหนอนแมลงวันบ้านได้ดีที่สุด (97.78%) รองลงมาคือไอโซเลต NM_KTLS 7/1 (93.33%) และ NM_NS 7/3 (86.67%) ตามลำดับ ในขณะที่การก่อโรคในดักแด้มีเชื้อราเพียง 13 ไอโซเลตเท่านั้น ที่สามารถเข้าทำลายดักแด้ได้ ซึ่งมีการติดเชื้อของดักแด้อยู่ระหว่าง 2.22 – 97.78% โดยไอโซเลต NM_CLPK4/1 มีการติดเชื้อสูงสุดถึง 97.78% รองลงมาคือ ไอโซเลต NM_NBM10/4, NM_SN 2/1 และ NM_SS 10/3 ที่มีการติดเชื้อเท่ากัน (86.67%)

จากการทดสอบการก่อโรคในหนอนและดักแด้แมลงวันบ้านของเชื้อราก่อโรคในแมลงที่แยกได้จากตัวอย่างดินที่เก็บรวบรวมได้จากเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา จะเห็นว่าเชื้อราก่อโรคในแมลงทั้ง 45 ไอโซเลตเข้าทำลายแมลงวันบ้านได้แตกต่างกัน เชื้อราสามารถเข้าทำลายแมลงวันบ้านได้ทั้งในระยะหนอนและดักแด้ โดยเชื้อราส่วนใหญ่เข้าทำลายหนอนแมลงวันบ้านได้ดีกว่าดักแด้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหนอนแมลงวันบ้านมีผนังลำตัว (Integument) ที่บางกว่าผนังลำตัวของดักแด้ที่มีลักษณะหนา (Cantwell et al., 1976) อย่างไรก็ตามเชื้อราบางไอโซเลตกลับสามารถเข้าทำลายระยะดักแด้ได้ดีกว่าระยะหนอน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อราบางไอโซเลตมีความไว (sensitivity) ในการยึดเกาะบนผนังลำตัวแมลง การสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยผนังลำตัวแมลง และการสร้าง appressorium หรือ germ tube เพื่อแทงเข้าไปในตัวแมลงได้แตกต่างกัน ในขณะที่บางไอโซเลตต้องใช้เวลาบางไอโซเลตใช้เวลาน้อยทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถของเชื้อราเอง ประกอบกับการลอกคราบเปลี่ยนวัยหนอนจากวัย 2 เป็นวัย 3 ใช้ระยะเวลาเพียง 24 – 36 ชั่วโมง และจากวัย 3 เป็นดักแด้ ใช้เวลาเพียง 3 – 4 วัน อาจเป็นไปได้ว่าเชื้อราบางไอโซเลตยังไม่มีการสร้างเอนไซม์หรือการงอกของ appressorium เพียงแค่เกาะบนผนังลำตัวหนอนเท่านั้น เมื่อหนอนลอกคราบจึงทำให้สปอร์ของเชื้อราหลุดออกจากตัวแมลง ในขณะที่ผนังลำตัวดักแด้ถึงแม้จะหนากว่าแต่ระยะดักแด้มีอายุ 8-12 วัน จึงทำให้เชื้อราสัมผัสกับดักแด้ได้นานกว่าหนอน เชื้อรา *B. bassiana* บางไอโซเลต ใช้เวลาเพียง 6 ชั่วโมงในการงอก germ tube เข้าไปยังลำตัวแมลง แต่บางไอโซเลตใช้เวลามากถึง 48 ชั่วโมง (Mwamburi et al., 2019) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราต่างไอโซเลตกันสามารถเข้าทำลายแมลงวันบ้านได้ต่างกัน ทั้งนี้เพราะเชื้อราก่อโรคในแมลงมีความเฉพาะเจาะจงต่อแมลงเป้าหมายและมีความรุนแรงในการเข้าทำลายแมลงได้ต่างกัน (Uma Devi et al., 2008) อีกทั้งความสามารถในการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ ชนิดและความรุนแรงของเชื้อรา ความเข้มข้นของเชื้อ ชนิดของแมลงเป้าหมาย ระยะเวลาที่เชื้อสัมผัสกับตัวแมลง รวมทั้งปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ความเข้มข้นของรังสีจากดวงอาทิตย์ และปริมาณน้ำฝน เป็นต้น (Jaronski, 2009) โดยความชื้นสัมพัทธ์เป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการส่งเสริมให้เชื้อราสามารถเจริญในตัวแมลงและแทงเส้นใยออกมาจกตัวแมลงได้ (Watson et al., 1995; Bugti et al., 2020) ซึ่ง Sharififard et al. (2012) รายงานว่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์เป็นปัจจัยสำคัญในการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรา โดยเชื้อราสามารถเข้าทำลายแมลงวันบ้านได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 15–35 °ซ. โดยการติดเชื้อจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น แต่หากอุณหภูมิมากกว่า 35 °ซ. การเข้าทำลายแมลงจะลดลง และระยะการเจริญของแมลงเป้าหมายที่แตกต่างกันมีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อราก่อโรคในแมลงได้ เช่น Ibrahim et al. (2016) รายงานว่าตัวเต็มวัยของแมลงวันบ้านอ่อนแอต่อเชื้อราก่อโรคแมลง (*B. bassiana*, *M. anisopliae* และ *P. fumosoroseus*) มากกว่าระยะดักแด้และระยะหนอนตามลำดับ อย่างไรก็ตามการทดลองนี้เป็นเพียงการคัดเลือกหาเชื้อราก่อโรคในแมลงจากจำนวน 45 ไอโซเลต ที่สามารถเข้าทำลายดักแด้และหนอนแมลงวันบ้านเท่านั้น ซึ่งเชื้อราที่นำมาทดสอบไม่ได้ปรับความเข้มข้น (ความหนาแน่น) ให้เท่ากัน เป็นเพียงการใช้เชื้อราที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกัน อายุเชื้อเท่ากัน และแมลงทดสอบรุ่นเดียวกันเท่านั้น เมื่อได้เชื้อราไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงวันได้มากกว่า 50% จึงนำมาปรับความหนาแน่นของสปอร์ให้เท่ากัน (1×10^8 โคนิเดีย/มล.) แล้วจึงนำมาทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนและดักแด้แมลงวันบ้านอีกครั้ง

Table 1 The entomopathogenic fungi isolation and biodiversity of different location

| No. | Isolates | Data of soil collection | | | % Infection ± SD | |
|-----|-------------|-------------------------|-------------------|--|-------------------|-------------|
| | | Entomopathogenic fungi | Source (Habitat) | Location (Village, sub-district, district) | Larvae | Pupae |
| 1 | NM_NBM 4/3 | <i>Metarhizium</i> spp. | Eucalyptus field | Ban YayTeam, Nong Boonnark, Nong Boonmark | 77.78±10.18 | 0.00±0.00 |
| 2 | NM_NBM 10/4 | <i>Metarhizium</i> spp. | Papaya field | Ban Pracha Nimitr, Nong Takai, Nong Boonmark | 8.89±3.85 | 86.67±13.33 |
| 3 | NM_KBR 5/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Eucalyptus field | Ban Oraphim, Oraphim, Khon Buri | 64.44±10.18 | 0.00±0.00 |
| 4 | NM_KBR 8/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Eucalyptus field | Ban Chae, Ban Mai, Khon Buri | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 5 | NM_SS 2/2 | <i>Metarhizium</i> spp. | Para rubber field | Ban Non Somboon, Non Somboon, Soeng Sang | 31.11±10.18 | 0.00±0.00 |
| 6 | NM_SS 9/2 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Nong Phaiyai, Soeng Sang, Soeng Sang | 97.78±3.85 | 0.00±0.00 |
| 7 | NM_SS 10/3 | <i>Metarhizium</i> spp. | Sugar cane field | Ban Sub, Soeng Sang, Soeng Sang | 6.67±6.67 | 86.67±13.33 |
| 8 | NM_SD 5/3 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban Tan, Phon Tong, Si Da | 44.44±10.18 | 2.22±3.85 |
| 9 | NM_PM 5/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban Dongyai, Dongyai, Phi Mai | 46.67±13.33 | 0.00±0.00 |
| 10 | NM_PM 7/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban Nikhom, Nikhom, Phi Mai | 44.44±3.85 | 0.00±0.00 |
| 11 | NM_DKT 5/2 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban Khao, Bankhao, Dan Khun Thot | 77.78±16.78 | 0.00±0.00 |
| 12 | NM_DKT 9/1 | <i>B. bassiana</i> | Forest soil | Ban HuayMai, Nongbua Takiat, Dan Khun Thot | 0.00±0.00 | 68.89±25.24 |
| 13 | NM_TPR 3/3 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban Tamnop Tewada, Samnuktakhor, The Pa Rak | 48.89±10.18 | 2.22±3.88 |
| 14 | NM_TPR 7/2 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban NongPho, Samnuktakhor, The Pa Rak | 0.00±0.00 | 84.44±13.88 |
| 15 | NM_TPR 10/2 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban BuengPrue, Bueng Prue, The Pa Rak | 35.56±13.18 | 4.44±3.85 |
| 16 | NM_NS 2/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban NongWeang, Ma kha, Non Sung | 24.44±3.85 | 0.00±0.00 |
| 17 | NM_NS 4/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Don Chomphu, Don Chomphu, Non Sung | 35.56±3.85 | 0.00±0.00 |
| 18 | NM_NS 7/2 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Donree, Don Chomphu, Non Sung | 86.67±6.67 | 0.00±0.00 |

Table 1 The entomopathogenic fungi isolation and biodiversity of different location (cont.)

| No. | Isolate | Data of soil collection | | | % Infection \pm SD | |
|-----|-------------|-------------------------|------------------|---|----------------------|-------------------|
| | | Entomopathogenic fungi | Source (Habitat) | Location (Village, sub-district, district) | Larvae | Pupae |
| 19 | NM_SN 2/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban Mamuang, Bung Khilek, Sung Noen | 8.89 \pm 3.85 | 86.67 \pm 11.55 |
| 20 | NM_SN 3/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Naklang, Nakang, Sung Noen | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 |
| 21 | NM_SN 4/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Cassava field | Ban Bhuyai, Sung Noen, Sung Noen | 42.22 \pm 10.18 | 0.00 \pm 0.00 |
| 22 | NM_SN 8/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Makluae Mai, Makluae Mai, Sung Noen | 20.00 \pm 6.67 | 0.00 \pm 0.00 |
| 23 | NM_CC 1/1 | <i>B. bassiana</i> | Forest soil | Ban Dan Kwian, Dan Kwian, Chok Chai | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 |
| 24 | NM_CC 2/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Dan Kwian, Dan Kwian, Chok Chai | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 |
| 25 | NM_CC 7/2 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Phlapphla, Phlapphla, Chok Chai | 26.67 \pm 6.67 | 0.00 \pm 0.00 |
| 26 | NM_WNK 5/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Butako, Wang Nam Khiao, Wang Nam Khiao | 42.22 \pm 3.85 | 0.00 \pm 0.00 |
| 27 | NM_BUL 6/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban NongWang, NongWa, Bua Lai | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 |
| 28 | NM_BUL 8/2 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban NonJan, NonJan, Bua Lai | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 |
| 29 | NM_BUL 9/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban NongHai, BuaLai, Bua Lai | 15.56 \pm 3.85 | 0.00 \pm 0.00 |
| 30 | NM_LTMC 3/3 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban NongPhong, Khui, Lam Thamenchai | 24.44 \pm 10.18 | 0.00 \pm 0.00 |
| 31 | NM_LTMC 5/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban NonChumphuang, Khui, Lam Thamenchai | 0.00 \pm 0.00 | 77.78 \pm 10.18 |
| 32 | NM_LTMC 7/2 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban PoDang, Chong Maeo, Lam Thamenchai | 62.22 \pm 10.18 | 0.00 \pm 0.00 |
| 33 | NM_CLPK 1/3 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Muang Kao, Phra Phut, Chaloem Phra Kiat | 31.11 \pm 7.70 | 0.00 \pm 0.00 |
| 34 | NM_CLPK_4/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban NongKrathing, Nong Ngu Lueam, Chaloem Phra Kiat | 68.89 \pm 10.18 | 97.78 \pm 3.85 |
| 35 | NM_KTLS 7/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban Nong Khu, Kham Thale So, Kham Thale So | 93.33 \pm 11.55 | 2.22 \pm 3.85 |

Table 1 The entomopathogenic fungi isolation and biodiversity of different location (cont.)

| No. | Isolates | Data of soil collection | | | % Infection ± SD | |
|-----|-------------|-------------------------|------------------|--|------------------|-------------|
| | | Entomopathogenic fungi | Source (Habitat) | Location (Village, sub-district, district) | Larvae | Pupae |
| 36 | NM_KTLS 7/3 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban Nong Kok, Nong Suang, Kham Thale So | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 37 | NM_BY 9/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Ban Donkhonta, Khun Thong, Bua Yai | 42.22±10.18 | 0.00±0.00 |
| 38 | NM_BAL 7/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Bom, chaoraka, Ban Lueam | 82.22±10.18 | 0.00±0.00 |
| 39 | NM_MY 9/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Rice field | Non Sung, Krabueang Nok, Krabueang Nok | 0.00±0.00 | 80.00±13.33 |
| 40 | NM_SK 3/2 | <i>B. bassiana</i> | Forest soil | Ban Kudnoi, Kudnoi, Sikhio | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 41 | NM_SK 6/1 | <i>B. bassiana</i> | Forest soil | Ban NonKum, Mittaphap, Sikhio | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 42 | NM_ND 2/2 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Wai, Sam Phaniang, Non Dang | 37.98±7.70 | 0.00±0.00 |
| 43 | NM_ND 8/3 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Nontathen, Nontathen, Non Dang | 4.44±3.85 | 0.00±0.00 |
| 44 | NM_M 1/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Sugar cane field | Ban Nong Chai, Chai Mongkhon, Mueang | 6.67±6.67 | 2.22±7.70 |
| 45 | NM_M 10/1 | <i>Metarhizium</i> spp. | Forest soil | Ban Pukhoalad, Ban Mai, Mueang | 8.89±3.85 | 0.00±0.00 |

2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราก่อโรคแมลงต่อการเข้าทำลายแมลงวันบ้าน

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราที่สามารถเข้าทำลายหนอนและดักแด้แมลงวันบ้านที่ผ่านการคัดเลือกจาก ข้อ 1 โดยพิจารณาจากการก่อโรคมกกว่า 50% ได้เชื้อรา จำนวน 10 ไอโซเลต ได้แก่ NM_DKT 9/1, NM_SN 2/1, NM_CLPK 4/1, NM_NBM 10/4, NM_LTMC 7/2, NM_KTLS 7/3, NM_BAL 7/1, NM_NS 7/2, NM_SS 9/2 และ NM_SS 10/3 นำเชื้อราที่ได้มาปรับความเข้มข้น เท่ากับ 1×10^8 โคโคนิดี/มล. แล้วนำมาเปรียบเทียบการเข้าทำลายหนอนแมลงวันบ้าน วัย 2 (Table 2) พบว่าหลังการปลูกเชื้อ 7 วัน เชื้อรา *Metarhizium* spp. ไอโซเลต NM_NS 7/2 สามารถเข้าทำลายหนอนแมลงวันได้มากที่สุด (44.44%) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับ NM_SS 9/2 (40.00%) หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน ไอโซเลต NM_SS 9/2 มีการติดเชื้อสูงสุด (46.67%) โดยไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับไอโซเลต NM_BAL 7/1 (37.78%) ส่วนการติดเชื้อสะสมของวันที่ 7 และ 14 พบว่าไอโซเลต NM_SS 9/2 มีการติดเชื้อสะสมสูงสุด (86.67%) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับไอโซเลต NM_BAL 7/1 (71.11%) และ NM_NS 7/2 (68.89%) แต่แตกต่างทางสถิติ ($P < 0.01$) กับเชื้อไอโซเลตอื่น ๆ ในขณะที่ไอโซเลต NM_NBM 10/4 ไม่พบการติดเชื้อของหนอนแมลงวันบ้าน (0.00%) ส่วนการพ่นด้วยสารเคมี Cypas® พบการตายของหนอนแมลงวันบ้าน 100% ในเวลา 24 ชั่วโมง แต่ไม่พบการเจริญของเชื้อราบนซากแมลงวัน และในกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใช้สารใด ๆ และการใช้สารจับใบ Tween 20® ไม่พบการติดเชื้อของหนอนแมลงวันบ้าน โดยหนอนแมลงวันสามารถเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้และตัวเต็มวัยได้

Table 2 The effective of the entomopathogenic fungi against the larvae stage of housefly (*Musca domestica* L.)

| Treatments/Isolates | Days after inoculation / Infection (% \pm SD) ^{1/} | | |
|--|---|----------------------|------------------------------------|
| | 7 days | 14 days | Cumulative infection |
| Water (Control) | 0.00 \pm 0.00c | 0.00 \pm 0.00d | 0.00 \pm 0.00d |
| Tween 20®; 0.05% (Control) | 0.00 \pm 0.00c | 0.00 \pm 0.00d | 0.00 \pm 0.00d |
| Insecticide Cypas® ^{2/} (Control) | 0.00 \pm 0.00c | 0.00 \pm 0.00d | 0.00 \pm 0.00d |
| NM_DKT 9/1 | 2.22 \pm 3.85c | 0.00 \pm 0.00d | 2.22 \pm 3.85d |
| NM_SN 2/1 | 6.67 \pm 11.54c | 4.44 \pm 7.70cd | 11.11 \pm 19.24d |
| NM_CLPK 4/1 | 2.22 \pm 3.85c | 0.00 \pm 0.00d | 2.22 \pm 3.85d |
| NM_NBM 10/4 | 0.00 \pm 0.00c | 0.00 \pm 0.00d | 0.00 \pm 0.00d |
| NM_LTMC 7/2 | 17.78 \pm 20.37bc | 15.56 \pm 13.87cd | 33.33 \pm 33.33cd |
| NM_KTLS 7/3 | 17.78 \pm 10.18bc | 17.78 \pm 20.37bcd | 35.56 \pm 26.94cd |
| NM_BAL 7/1 | 33.33 \pm 17.64ab | 37.78 \pm 3.85ab | 71.11 \pm 20.37ab |
| NM_NS 7/2 | 44.44 \pm 16.78a | 24.44 \pm 7.69bc | 68.89 \pm 19.24abc |
| NM_SS 9/2 | 40.00 \pm 13.33a | 46.67 \pm 17.63a | 86.67\pm11.55a |
| NM_SS 10/3 | 15.56 \pm 21.43bc | 17.78 \pm 25.24bcd | 33.33 \pm 46.67cd |
| P-value | <0.0002 | <0.0001 | <0.0001 |

Means \pm SD in the column followed by the same common letter were not significantly different ($P > 0.05$) according to DMRT

^{1/} SD = Standard Deviation; ^{2/} Insecticide (Cypas®) 100 mL/20 L.

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราก่อโรคในแมลงที่สามารถก่อโรคให้กับดักแด้แมลงวันบ้านนั้น (Table 3) หลังการปลูกเชื้อ 7 วัน ไม่พบการติดเชื้อของดักแด้ (ข้อมูลไม่ได้แสดงในตาราง) หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน เชื้อราไอโซเลต NM_CLPK 4/1 เข้าทำลายดักแด้ได้มากที่สุด (55.55%) รองลงมาและไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับไอโซเลต NM_SN 2/1 (51.11%) และหลังการปลูกเชื้อ 21 วัน เชื้อราไอโซเลต NM_CLPK 4/1 มีการติดเชื้อสะสมของดักแด้แมลงวันบ้านสูงที่สุด (60.00%) รองลงมา คือ NM_SN 2/1 (57.78%)

NM_NS 7/2 และ NM_SS 10/3 ที่มีการติดเชื้อเท่ากัน (46.67%) ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี Cypas® ดักแต่ไม่สามารถฟักออกเป็น ตัวเต็มวัยได้ (100%) โดยดักแต่มีลักษณะสีดำและเน่า และไม่มีการเจริญของเชื้อราบนซากดักแต่ ส่วนในกรรมวิธีควบคุม (ไม่ใช้สารใด ๆ และการใช้สารจับใบ Tween 20®) ดักแต่สามารถฟักออกเป็น ตัวเต็มวัยได้และไม่พบการติดเชื้อ

Table 3 The effective of the entomopathogenic fungi against the pupae stage of housefly (*Musca domestica* L.)

| Treatments/Isolates | Days after inoculation / Infection (% ± SD) ^{1/} | | |
|--|---|----------------|----------------------|
| | 14 days | 21 days | Cumulative infection |
| Water (Control) | 0.00±0.00d | 0.00±0.00d | 0.00±0.00d |
| Tween 20®; 0.05% (Control) | 0.00±0.00d | 0.00±0.00d | 0.00±0.00d |
| Insecticide Cypas® ^{2/} (Control) | 0.00±0.00d | 0.00±0.00d | 0.00±0.00d |
| NM_DKT 9/1 | 24.44±10.18c | 17.78±13.88ab | 42.22±20.37ab |
| NM_SN 2/1 | 51.11±32.89ab | 6.67±6.66bcd | 57.78±34.21a |
| NM_CLPK 4/1 | 55.55±3.85a | 4.45±3.85bcd | 60.00±6.67a |
| NM_NBM 10/4 | 28.89±3.84c | 0.00±0.00d | 28.89±3.85cd |
| NM_LTMC 7/2 | 0.00±0.00d | 15.56±10.84abc | 15.56±10.18cd |
| NM_KTLS 7/3 | 42.22±7.70abc | 4.45±3.85bcd | 46.66±11.55ab |
| NM_BAL 7/1 | 35.56±10.84abc | 2.22±3.85cd | 37.78±7.70abc |
| NM_NS 7/2 | 33.33±6.67bc | 13.33±6.66abc | 46.67±11.54ab |
| NM_SS 9/2 | 4.45±3.85d | 22.22±16.78a | 26.67±13.34bc |
| NM_SS 10/3 | 40.00±17.63abc | 6.67±6.65bcd | 46.67±13.34ab |
| P-value | <0.0001 | 0.0096 | <0.0001 |

Means ± SD in the column followed by the same common letter were not significantly different (P>0.05) according to DMRT

^{1/} SD = Standard Deviation; ^{2/} Insecticide (Cypas®) 100 mL/20 L.

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราก่อโรคแมลงจำนวน 10 ไอโซเลต ที่ความเข้มข้นของเชื้อราเท่ากัน (1x10⁸ โคนิ เดีย/มล.) เห็นว่าเชื้อราก่อโรคในแมลงสามารถเข้าทำลายแมลงวันบ้านระยะหนอนได้เร็วกว่าระยะดักแต่ โดยหลังการทดสอบ 2 วัน พบ เส้นใยของเชื้อราบนตัวหนอนแมลงวันบ้าน ในขณะที่การทดสอบในดักแต่พบเส้นใยขึ้นปกคลุมดักแต่หลังการทดสอบ 10 วัน (ข้อมูล ไม่ได้แสดงในตาราง) ซึ่งสอดคล้องกับ Farooq and Feed (2016) ที่รายงานว่าความรุนแรงในการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราขึ้นอยู่กับ ลักษณะทางสรีรวิทยาของแมลง อายุ เพศ และสารอาหารในตัวแมลง เช่นเดียวกับ Sharififard et al. (2011) ที่รายงานว่า การควบคุม หนอนแมลงวันบ้านด้วยเชื้อรา *M. anisopliae* ใช้ความเข้มข้นของเชื้อราสูงกว่าการควบคุมตัวเต็มวัย โดยในการควบคุมตัวเต็มวัยค่า LC₅₀ (Lethal Concentration 50) มีค่าอยู่ระหว่าง 1.65 – 3x10⁶ โคนิเดีย/กรัม ในขณะที่ระยะหนอนค่า LC₅₀ อยู่ระหว่าง 7.3 x 10⁴ – 2.9x10⁶ โคนิเดีย/มล. รวมทั้ง Mishra et al. (2011) ที่พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมแมลงวันบ้านใน ระยะตัวเต็มวัยได้ดีกว่าระยะหนอน ซึ่งในระยะเวลาที่เชื้อราเข้าทำลายแมลงตั้งแต่ที่สปอร์ของเชื้อราสัมผัสกับตัวแมลง การงอกของสปอร์ บนตัวแมลง การเจริญของเชื้อภายในตัวแมลง และการแทงเส้นใยออกมานอกตัวแมลงนั้น หากสภาพแวดล้อมเหมาะสม (อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์) ใช้เวลาประมาณ 96 ชั่วโมง แต่หากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมใช้เวลามากกว่านั้น (Mohammed, 2018) ในการ เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราต่อการเข้าทำลายหนอนและดักแต่แมลงวันบ้านนั้นใช้วิธีผสมเชื้อราลงในอาหารเทียมสำหรับเลี้ยง หนอนเพื่อให้เชื้อราสัมผัสกับหนอนและดักแต่ตลอดเวลา และให้ใกล้เคียงกับการนำไปใช้ในสภาพโรงเรือนหรือสภาพธรรมชาติของ แมลงวันบ้านมากที่สุด ซึ่งวิธีการปลูกเชื้อที่แตกต่างกันส่งผลให้การตายของแมลงวันบ้านแตกต่างกันเช่นกัน กลไกในการทำให้แมลงตาย

หรือการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรา นั้น เชื้อราบางชนิดสร้างสารพิษที่มีฤทธิ์รุนแรงสามารถทำให้แมลงตายได้อย่างรวดเร็ว เชื้อราบางชนิดเพียงเข้าไปเจริญแย่งแร่ธาตุอาหารภายในตัวแมลงเพื่อคงชีวิต (ศิริลัย, 2557) อย่างไรก็ตามในการทดสอบเชื้อราก่อโรคในแมลงต่อหนอนแมลงวันบ้านนั้นจะเห็นว่าในบางไอโซเลตเชื้อไม่สามารถทำให้หนอนตายได้ ซึ่งเชื้ออาจจะไปส่งผลกระทบต่อกรดของจำนวนและน้ำหนักของดักแด้ การฟักของตัวเต็มวัย และความสมบูรณ์ของตัวเต็มวัยด้วย (Acherya et al., 2014; Abdel-Raheem and Eldafrawy, 2016) รวมทั้งไปมีผลต่อการวางไข่ การเจริญเติบโต และการเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยของแมลง (Genden, 2012) แต่หากการศึกษาค้นคว้าตรวจสอบเฉพาะการเข้าทำลายของเชื้อราก่อโรคเท่านั้น นอกจากนั้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จะเห็นว่าเชื้อรา *Metarhizium* spp. สามารถก่อโรคกับแมลงวันบ้านได้ดีกว่าเชื้อ *B. bassiana* ซึ่งหลังจากปลูกเชื้อให้กับหนอนแมลงวันบ้าน สามารถพบการเจริญของเส้นใยของเชื้อที่แทงผ่านผนังลำตัวหนอนแมลงวันภายใน 3 วัน (ข้อมูลไม่ได้แสดงในตาราง) สอดคล้องกับ Barson et al. (1994) ที่รายงานว่าเชื้อรา *M. anisopliae* สามารถเข้าทำลายหนอนแมลงวันบ้านได้เร็วกว่าเชื้อราก่อโรคแมลงชนิดอื่น โดยเชื้อ *M. anisopliae* สามารถเข้าทำลายหนอนแมลงวันบ้าน 100% หลังการปลูกเชื้อ 6 วัน การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เป็นการคัดเลือกหาเชื้อราก่อโรคในแมลงที่สามารถเข้าทำลายแมลงวันบ้านได้ดีที่สุด โดยเชื้อราก่อโรคในแมลงที่ได้จะนำไปสู่การหาลำดับดีเอ็นเอเพื่อบ่งชี้ชนิดของเชื้อรา รวมทั้งการนำไปทดสอบใช้ในสภาพโรงเรือนเลี้ยงสัตว์ต่อไป

สรุปผล

เชื้อราก่อโรคในแมลงจำนวน 45 ไอโซเลตที่รวบรวมได้ สามารถเข้าทำลายหนอนแมลงวันบ้านได้จำนวน 34 ไอโซเลต และเข้าทำลายดักแด้แมลงวันบ้านได้ 13 ไอโซเลต โดยที่ความเข้มข้นของเชื้อเท่ากัน (1×10^8 โคนิเดีย/มล.) เชื้อรา *Metarhizium* spp. ไอโซเลต NM_SS 9/2 สามารถเข้าทำลายหนอนแมลงวันบ้านได้มากที่สุด ในขณะที่เชื้อรา *Metarhizium* spp. ไอโซเลต NM_CLPK 4/2 มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันบ้านได้ดีที่สุด

คำขอบคุณ

ผลงานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ประจำปีงบประมาณ 2562 ตามสัญญาทุนเลขที่ NKR2562REV023 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณแหล่งทุนที่ให้การสนับสนุนสำหรับการดำเนินการวิจัย ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ศูนย์กลาง นครราชสีมา ที่เอื้ออำนวยความสะดวกสถานที่สำหรับการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- คม สุคนธสรณ์ และกานแก้ว สุคนธสรณ์. 2548. แมลงที่มีความสำคัญทางการแพทย์ในประเทศไทย เล่มที่ 1. บริษัท เชียงใหม่ดิจิตอล เวิร์คส จำกัด: เชียงใหม่.
- ศิริลัย สิริมังครารัตน์. 2557. โรควิทยาของแมลงและการประยุกต์ใช้. สาขากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และสาธารณสุข. 2553. ชีววิทยาและการควบคุมแมลงที่เป็นปัญหาสาธารณสุข. บริษัทหนังสือดีวันจำกัด: นนทบุรี.
- อาคม สังข์วรานนท์. 2538. กีฏวิทยาทางการแพทย์. โรงพิมพ์สหมิตรพรินติ้ง, นนทบุรี.
- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18: 265-267.
- Abdel-Raheem, A.M., and B.M. Eldafrawy. 2016. Effect of entomopathogenic fungi as biocides against house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Journal of Plant Protection and Pathology*. 7: 633-636.
- Acevedo, G.R., M. Zapater, and A.C. Toloza. 2009. Insecticide resistance of house fly, *Musca domestica* (L.) from Argentina. *Journal of Parasitology Research*. 105: 489-493.

- Acharya, N., E.G. Rajotte, N.E. Jenkins, and M.B. Thomas. 2014. Potential for biocontrol of house flies, *Musca domestica*, using fungal biopesticides. *Biocontrol Science and Technology*. 25: 513-524.
- Archana, M., P.E. D'Souza, and J. Patil. 2017. Efficacy of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) on developmental stages of house fly, *Musca domestica*. *Journal of Parasitic Diseases*. 41(3): 782-794.
- Azzam, S, and E. Hussein. 2002. Toxicities of several insecticides to the house fly *Musca domestica* from different regions in Jordon. *Sarhad Journal of Agriculture*. 18: 69-75.
- Barson, G., N. Renn, and A.F. Bywater. 1994. Laboratory evaluation of six species of entomopathogenic fungi for the control of the house fly (*Musca domestica* L.), a pest of intensive animal units. *Journal of Invertebrate Pathology*. 64: 107-113.
- Bidochka, M.J., J.E. Kasperskl, and G.A.M. Wild. 1998. Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soil from temperate and near northern habitats. *Canadian Journal of Botany*. 76: 1198-1204.
- Bugti, G.A., W. Bin, S.A. Memon, G.K., and M.A. Jaffar. 2020. Entomopathogenic fungi: factors involved in successful microbial control of insect pests. *Journal of Entomology*. 17: 74-83.
- Cantwell. G.E., A.J. Noppi, and J.G. Stoffolano. 1976. Embryonic and postembryonic development of the house fly. Agricultural Research Service. United State Department of Agricultural. Washington D.C.
- Farooq, M., and S. Freed. 2016. Infectivity of housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) to different entomopathogenic fungi. *Brazilian Journal of Microbiology*. 47: 807-816.
- Geden, C.J. 2012. Status of biopesticides for control of house flies. *Journal of Biopesticides*. 5: 1-11.
- Humber, R.A. 2005. Entomopathogenic fungal identification. Plant Protection Research Unit US Plant, Soil & Nutrition Laboratory. Las Vegas, America.
- Ibrahim, A.A., M.I. Hassan, A.I. Hasaballah, M.A. Fouda, and G.M. Omar. 2016. Evaluation of some entomopathogenic fungi against larvae, pupae and adults of house fly, *Musca domestica* L. *Journal of Nuclear Technology in Applied Science*. 4: 103-112.
- Iqbal, W., M.F. Malik, M.K. Sarwar, I. Azam, N. Iram, and A. Rashda. 2014. Role of house fly (*Musca domestica*, Diptera : Muscidae) as a disease vector; a review. *Journal of Entomology and Zoology*. 2: 159-163.
- Jaronski, S.T. 2009. Ecology factors in the inundate use of fungal entomopathogens. *Biocontrol*. 5: 159-185.
- Khan, M.F., and S.M. Ahmed. 2000. Toxicity of crude neem leaf extract against housefly (*Musca domestica* L.) adults as compared with DDVP. *Turkish Journal of Zoology*. 24: 219-223.
- Merdan, B.A. 2012. *Bacillus thuringiensis* as a feed additive to control *Musca domestica* associated with poultry house. *Journal of Basic and Applied Zoology*. 65: 83-87.
- Mishra, S., and A. Malik. 2012. Comparative evaluation of five *Beauveria* isolates for housefly (*Musca domestica* L.) control and growth optimization of selected strain. *Parasitology Research*. 111: 1937-1945.
- Mishra, S., P. Kumar, and A. Malik. 2011. Adulticidal and larvicidal activity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against house fly, *Musca domestica* (Diptera : Muscidae), in laboratory and simulated field bioassays. *Parasitology Research*. 108: 1483-1492.

- Mohammed, A.A. 2018. Evaluation the efficacy of *Metarhizium anisopliae* and some plant extracts in controlling the housefly, *Musca domestica* in laboratory conditions. Kufa Journal for Agricultural Science. 10: 1-17.
- Mostafa, A.A., and A.B. Zayed. 1999. Resistance of *Musca domestica* (L) (Diptera: Muscidae) from Gamsa City to some insecticides. Egyptian Society of Parasitology. 29: 193–201.
- Mwamburi, L.A., M.D. Laing, and R.M. Miller. 2019. External development of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the Housefly (*Musca domestica*). The Proceedings of the National Academy of Sciences, India, Section B: Biological Sciences. 89(3): 833–839.
- Samson, R.A., H.A. Evans, and J.P. Latge. 1998. Atlas of entomopathogenic fungi, Springer, Berlin.
- Shariffard, M, M.S. Mossadegh, and B. Vazirianzadhe. 2012. Effects of temperature and humidity on the pathogenicity of the entomopathogenic fungi in control of the house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) under laboratory conditions. Journal of Entomology. 9: 282–288.
- Shariffard, M, M.S. Mossadegh, B. Vazirianzadhe, and A.Z. Mahmoudabadi. 2011. Laboratory pathogenicity of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisoplae* (Metch.) Sorok. to larvae and adult of house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). Asian Journal of Biological Sciences. 4: 128–137.
- Uma Devi, K., J. Padmavathi, U.M. Rao, C. Khan, A.P. Akbar, and C.M. Murali. 2008. A study of host specificity in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Hypocreales, Clavicipitaceae). Biocontrol Science and Technology. 18: 975-989.
- Watson, D.W., C.J. Geden, S.J. Long, and D.A. Rutz. 1995. Efficacy of *Beauveria bassiana* for controlling the house fly and stable fly (Diptera: Musciadae). Biological control. 5: 405–411.