Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

ศักยภาพในการควบคุมแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae) โดยไส้เดือนฝอยและเชื้อราก่อโรคแก่แมลง

Control potential of the melon fruit fly *Zeugodacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae) by entomopathogenic nematodes and entomopathogenic fungi

จุรีพร สุคติภูมิ[1], นริศ ท้าวจันทร์[2] และ ประกายจันทร์ นิ่มกิ่งรัตน์[1]*

Jureeporn Sukhatiphum[1], Narit Thaochan[2] and Prakaijan Nimkingrat[1]*

[1] *ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[1] *Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University*
[2] *สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์*
[2] *Division of Agricultural Innovation and Management, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University*

บทคัดย่อ: การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงวันแตง (*Zeugodacus cucurbitae* Coquillett) เป็นแนวทางปฏิบัติที่เกษตรกรนิยมใช้ แต่เนื่องจากหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้อาศัยอยู่ในดิน ทำให้ละอองสารเคมีไม่สามารถสัมผัสทำให้แมลงตายได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการผสมผสานการใช้ศัตรูธรรมชาติ 2 ชนิด คือ ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Steinernema carpocapsae* Weiser, *Steinernema siamkayai* Stock, Somsook and Reid, *Heterorhabditis indica* Poinar, Karunakar and David, *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar และเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin ไอโซเลต PSUM02 ที่ระดับความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง 7 ระดับ คือ น้ำกลั่น (ควบคุม), 1,000, 5,000, 10,000, 15,000, 20,000 และ 25,000 ตัว/แมลงอาศัย ขณะที่ความเข้มข้นของสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราเขียว คือ น้ำกลั่น (ควบคุม), $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์/มล. ผลการศึกษาพบว่าไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ที่อัตราพ่น 25,000 ตัว/แมลงอาศัย ทำให้หนอนวัยสุดท้ายและดักแด้ของแมลงวันแตงตายดีที่สุด เท่ากับ 97.50 และ 95.00% ตามลำดับ การตายของหนอนวัยสุดท้าย (61.25%) และดักแด้ (59.38%) ลดลงหลังพ่นด้วยเชื้อราเขียว *M. anisopliae* PSUM02 (1×10^8 สปอร์/มล.) เมื่อทดสอบการผสมร่วมกันระหว่างไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงและเชื้อราเขียว ส่งผลให้หนอนวัยสุดท้ายและดักแด้ตายสูงถึง 100.00 และ 85.00% ตามลำดับ ซึ่งให้ผลดีเทียบเท่ากับการใช้ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียวที่ 87.50 และ 80.00% ตามลำดับ ผลจากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการเลือกชนิดและอัตราพ่นที่เหมาะสมของไส้เดือนฝอยเพื่อควบคุมแมลงวันแตงได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

คำสำคัญ: แมลงวันแตง; *Zeugodacus cucurbitae*; ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง; *Metarhizium anisopliae*; การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

ABSTRACT: The use of synthetic insecticides against melon fruit fly (*Zeugodacus cucurbitae* Coquillett) has been the most popular practice among farmers. However, these insecticides cannot reach and kill all potential threats, as the last instar larvae and pupae live underground, resulting in less mortality effectiveness. The purpose of this study, therefore, was to investigate the possibility of combining the use of two natural enemies entomopathogenic nematodes (EPNs) 4 species: *Steinernema carpocapsae* Weiser, *Steinernema siamkayai* Stock, Somsook and Reid, *Heterorhabditis indica* Poinar, Karunakar and David, *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar and entomopathogenic fungi (EPF) *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin isolate PSUM02. We tested seven EPNs concentrations:

* Corresponding author: npraka@kku.ac.th

Received: date; December 20, 2021 Accepted: date; January 26, 2022 Published: date; June 30, 2022

distilled water (control), 1,000, 5,000, 10,000, 15,000, 20,000 and 25,000 dauer juveniles (DJs)/host and five EPF concentrations: distilled water (control), $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$ and $1x10^8$ spores/ml. The effects of each EPN species and concentrations showed that *S. carpocapsae* at 25,000 DJs/host presented the highest mortality rate among all species; last instar larvae (97.50%) and pupae (95.00%). *M. anisopliae* PSUM02 (1×10^8 spores/ml) produced relatively low mortalities in both the last instar larvae and pupae at the rates of 61.25% and 59.38%, respectively. The combined efforts of EPNs and EPF terminated both the last instar larvae and pupae up to 100.00 and 85.00%, respectively; whereas the nematode alone recorded death rates of 87.50% and 80.00%, respectively. We anticipate that the results of this study can be used as a guideline for the selection of the most appropriate EPNs species and concentration for more effective control of the melon fruit fly.
Keywords: melon fruit fly; *Zeugodacus cucurbitae*; entomopathogenic nematodes; *Metarhizium anisopliae*; biological control

บทนำ

แมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* Couqillett เป็นแมลงศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจของพืชตระกูลแตง มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชียแต่พบแพร่กระจายไปทั่วทุกภูมิภาคของโลก โดยเฉพาะพื้นที่เขตร้อนและกึ่งร้อนของแอฟริกา หมู่เกาะในมหาสมุทรอินเดีย และหมู่เกาะออสเตรเลีย เป็นต้น (ปาณิศา และ นริศ, 2557; EPPO, 2018) ในประเทศไทยมีรายงานการแพร่กระจายและสร้างความเสียหายครอบคลุมทั่วทุกภูมิภาค (อรัญ และคณะ, 2558) โดยสามารถเข้าทำลายผลผลิตทางการเกษตร ได้มากกว่า 81 ชนิด อาทิเช่น แตงกวา แตงโม แคนตาลูป บวบ มะระ ฟักทอง แตงร้าน แตงไทย ตำลึง และฟักเขียว เป็นต้น (Dhillon et al., 2005) ความเสียหายของผลผลิตเริ่มจากตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ใต้ผนังชั้นนอกของผลแตงกวา รอยที่เกิดจากการแทงอวัยวะวางไข่สามารถทำให้เกิดรอยแผลเป็นสีน้ำตาล หนอนที่ฟักออกจากไข่จะอาศัยกัดกินอยู่ภายในผลและพัฒนาเข้าสู่ระยะดักแด้ในดิน ผลที่ตัวหนอนเข้าทำลายจะมีลักษณะภายในกลวง เน่าเละ และร่วงหล่นในที่สุด ในพื้นที่ที่พบการระบาดรุนแรงสามารถพบความเสียหายของผลผลิตสูงถึง 100% (ปาณิศา และ นริศ, 2557; Dhillon et al., 2005) ปัจจุบันวิธีการป้องกันกำจัดแมลงวันแตงที่เกษตรกรนิยมใช้ คือ การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลง ที่ผ่านมาพบว่าวิธีการนี้มีข้อจำกัดในการใช้เนื่องจากระยะหนอนของแมลงวันแตงกัดกินอาศัยภายในผลแตงและดีดตัวเข้าดักแด้ภายในดินส่งผลให้ละอองของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงไม่สามารถสัมผัสและออกฤทธิ์ต่อแมลงวันแตงได้โดยตรง นอกจากนี้ยังส่งผลเสียต่อสุขภาพผู้ใช้ ผู้บริโภค แมลงที่มีประโยชน์ อีกทั้งยังก่อให้เกิดสารพิษตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย (สำนักงานเกษตรจังหวัดตราด กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562; อรัญ และคณะ, 2558; Haniotakis et al., 1998) ดังนั้นแนวทางการป้องกันกำจัดโดยชีววิธีจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่เหมาะสมเพื่อลดอันตรายที่อาจเกิดจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงและยังคงประสิทธิภาพในการควบคุมได้เป็นอย่างดี (กฤษฎา และคณะ, 2552) ศัตรูธรรมชาติแต่ละชนิดนั้นมีความเฉพาะเจาะจงต่อกลุ่มของแมลงวันผลไม้แตกต่างกันออกไป (วัชระ, 2557) ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง (Entomopathogenic nematodes) ถูกนำมาใช้ในการควบคุมแมลงที่มีแหล่งอาศัยอยู่ในที่ซ่อนเร้น เช่น กลีบดอก ใต้เปลือกไม้ โพรงไม้ และในดิน (ประกายจันทร์ และ ทิพย์สุคนธ์, 2560; รัตนพล, 2560; ภานุพงศ์, 2560) แต่ชนิดและอัตราการใช้ไส้เดือนฝอยนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของแมลงวันผลไม้เป็นหลัก Cristhiane et al. (2012) รายงานว่าไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* sp. และ *Steinernema carpocapsae* Weiser ที่อัตราพ่น 125 ตัว/หนอน ให้ผลในการควบคุมหนอนวัยสุดท้ายแมลงวันผลไม้เมดิเตอร์เรเนียน *Ceratitis capitata* Wiedemann ได้สูงถึง 80 และ 90% ตามลำดับ ขณะที่ไส้เดือนฝอย *Steinernema siamkayai* Stock, Somsook and Reid มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันพริก *Bactrocera latifrons* Hendel ในระยะหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้สูงถึง 94 และ 86.66% ที่อัตราพ่น 3,000 และ 4,000 ตัว/แมลงอาศัย ตามลำดับ (ภานุพงศ์, 2560) นอกจากนี้ยังพบรายงานการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (*Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin) ไอโซเลต PSUM02 ที่ส่งผลให้แมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ลดลงและหลังจากการติดเชื้อตัวเต็มวัยของแมลงวันแตงเพศผู้สามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่แมลงวันแตงเพศเมียปกติได้ ขณะที่แมลงวันแตงเพศเมียที่ติดเชื้อจะมีการตายสูงถึง 80% และยังส่งผลต่อพฤติกรรมการวางไข่และการพัฒนาของระยะตัวหนอนที่ลดลง (ปาณิศา และ นริศ, 2557; หงส์ฟ้า และ นริศ, 2557; Thaochan and Ngampongsai, 2015) ซึ่งจากรายงานการศึกษาที่ผ่านมายังไม่พบการศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงหรือการผสมผสานการใช้ร่วมกับเชื้อราเขียวเพื่อเสริมประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงใน

แมลงวันแตงมาก่อน การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดและอัตราการพ่นของไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง และความเข้มข้นของสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราเขียว *M. anisopliae* PSUM02 ที่เหมาะสม รวมถึงการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงร่วมกับเชื้อราเขียว *M. anisopliae* PSUM02 เพื่อควบคุมแมลงวันแตงในระยะหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้

วิธีการศึกษา

1. การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

1.1 แมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae*

ปลูกแตงกวาสายพันธุ์เขียวมาลัย ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่เกษตรกรผู้ปลูกแตงในพื้นที่จังหวัดขอนแก่นนิยมปลูกในแปลงปลูกขนาด 1×2 ม. แถวคู่ ระยะปลูก 0.2×0.5 ม. ณ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปล่อยให้แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ระบาดตามสภาพธรรมชาติ เมื่อแตงกวาเจริญเข้าสู่ระยะติดผล (อายุ 28 วันหลังปลูก) นำผลแตงกวาที่ถูกแมลงวันแตงเข้าทำลายบรรจุลงในกล่องพลาสติกขนาด 20×20×8 ซม. รองพื้นกล่องด้วยแกลบเผาหนาประมาณ 2 ซม. และวางแผ่นตะแกรงพลาสติกบนแกลบเผา เจาะรูระบายอากาศบนฝากล่องขนาด 10×10×4 ซม. แล้วจึงปิดด้วยผ้าขาวบาง นำไปวางในห้องควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25±2 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 65±5%RH จากนั้นคัดแยกดักแด้แมลงวันแตงออกจากแกลบเผาด้วยวิธีการร่อน ดักแด้ที่ได้จะถูกย้ายไปเลี้ยงในกรงผ้าตาข่ายขนาด 60×90×60 ซม. เพื่อรอฟักเป็นตัวเต็มวัย ให้น้ำผึ้งผสมบริวเวอร์ยีสต์ที่อัตรา 2 มล.: 60 ก. และน้ำเป็นอาหาร หลังผสมพันธุ์ปล่อยตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 15-20 วัน (อรัญ และคณะ, 2558) ให้วางไข่ที่ผลแตงกวา นำผลแตงกวาที่มีไข่แมลงวันแตงไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณตามกระบวนการข้างต้น ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยในรุ่น F2 เป็นต้นไปจะถูกนำไปใช้ในการทดสอบและอีกส่วนหนึ่งจะถูกนำไปใช้ในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณรุ่นถัดไป

1.2 ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง (Entomopathogenic nematodes)

เลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยบนหนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella* Linnaeus) ด้วยวิธี Paper assay เริ่มจากนำหนอนกินรังผึ้งวัย 4-5 จำนวน 10 ตัว/Petri dish ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 ซม. ที่รองพื้นด้วยกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 ซม. พ่นหัวเชื้อไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* และ *S. carpocapsae* ซึ่งผลิตและจำหน่ายโดยกรมวิชาการเกษตร ขณะที่ไส้เดือนฝอย *H. indica* และ *H. bacteriophora* จำหน่ายโดยบริษัท ARBICO Organic มาผสมในน้ำกลั่นและพ่นลงบนตัวหนอนที่อัตรา 100 ตัว/หนอน (ไส้เดือนฝอย 1,000 ตัว/หนอน 10 ตัว/Petri dish) ปิดฝา Petri dish ด้วยพาราฟิล์ม บ่มไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 65±5%RH นาน 5 วัน จากนั้นนำฝา Petri dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ซม. ที่มีกระดาษกรองขนาด 5 ซม. บรรจุอยู่ภายใน Petri dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 ซม. โดยหล่อน้ำด้านนอก นำหนอนกินรังผึ้งที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยวางบนกระดาษกรอง เติมน้ำให้กระดาษกรองชุ่ม จากนั้นนำไปบ่มในห้องควบคุมอุณหภูมิเพื่อให้ไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายวัย 3 เคลื่อนที่ออกจากซากหนอนลงสู่น้ำ วิธีการนี้เรียกว่า White trap (White, 1927) ซึ่งเป็นวิธีการแยกไส้เดือนฝอยออกจากซากแมลง หลังจากนั้นนำไส้เดือนฝอยไปล้างในน้ำกลั่นปริมาตร 10 มล. แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8-12 °C ไส้เดือนฝอยจะถูกนำมาใช้ในการทดลองภายใน 1-2 สัปดาห์

1.3 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *Metarhizium anisopliae*

นำหัวเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ไอโซเลต PSUM02 ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติภาคใต้ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มาเพิ่มปริมาณบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Malt agar (MA) ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 ซม. บ่มเชื้อนาน 7-14 วัน ภายใต้ห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 80%RH จากนั้นย้ายเชื้อไปเลี้ยงบนข้าวสารจ้าว (subculture) โดยใช้ข้าวสารจ้าว 375 ก. บรรจุในถุงพลาสติกขนาด 8×12 นิ้ว เติมน้ำ 150 มล. หลังปิดปากถุงแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 30 นาที ด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HA-300M ผลิตโดยประเทศญี่ปุ่น) ย้ายหัวเชื้อราเขียวปริมาณ 1 ช้อนโต๊ะ (10 ก.) ต่อถุง ภายในตู้เขี่ยเชื้อ (ยี่ห้อ Haier รุ่น HR1200-IIA2 ผลิตโดยประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน) ปิดปากถุง และคลุกหัวเชื้อให้กระจายทั่วทั้งถุง นำถุงเพาะเชื้อไปบ่มในห้องมืดควบคุมอุณหภูมิ 25±2 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 80%RH นาน 7-14 วัน จากนั้นจึงเตรียมสารแขวนลอยของเชื้อรา โดยการนำเชื้อราเขียว 10 ก. ผสมร่วมกับสารละลาย 0.05% (v/v) Tween 80 (Sigma, St. Louis, MO, USA) ปริมาณ 50 มล. ให้เข้ากันในหลอดทดลอง เขย่าสาร

ด้วยเครื่องเขย่าสาร (ยี่ห้อ Velp Scientifica รุ่น ZX4 ผลิตโดยประเทศอิตาลี) แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง 4 ชั้น โดยดำเนินการภายใต้สภาพปลอดเชื้อ (aseptic technique) ตรวจนับปริมาณสปอร์ด้วย haemacytometer ปรับความเข้มข้นของสารแขวนลอยสปอร์ตามระดับความเข้มข้นที่ต้องการใช้ในการทดสอบ

2. ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงต่อหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 7 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว เริ่มจากอบฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในทรายละเอียดที่อุณหภูมิประมาณ 90 °C นาน 6 ชั่วโมง จากนั้นบรรจุทรายที่มีความชื้น 10% V/W ลงใน Petri dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ซม. ฝังตัวหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* อายุประมาณ 3-5 วัน แยก Petri dish ที่ระดับความลึก 2 ซม. ซึ่งเป็นระดับความลึกที่หนอนวัยสุดท้ายเข้าดักแด้ได้มากที่สุด (สัญญาณี และคณะ, 2555) พ่นไส้เดือนฝอยในน้ำกลั่นปริมาณ 1 มล. จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *S. siamkayai*, *S. carpocapsae*, *H. indica* และ *H. bacteriophora* ลงใน Petri dish ที่มีหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้บรรจุอยู่ ตามแผนผังการทดลอง ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 น้ำกลั่น (ควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง อัตรา 1,000 ตัว/แมลงอาศัย

กรรมวิธีที่ 3 ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง อัตรา 5,000 ตัว/แมลงอาศัย

กรรมวิธีที่ 4 ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง อัตรา 10,000 ตัว/แมลงอาศัย

กรรมวิธีที่ 5 ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง อัตรา 15,000 ตัว/แมลงอาศัย

กรรมวิธีที่ 6 ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง อัตรา 20,000 ตัว/แมลงอาศัย

กรรมวิธีที่ 7 ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง อัตรา 25,000 ตัว/แมลงอาศัย

นำ Petri dish วางบ่มในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2 ^{O}C ความชื้นสัมพัทธ์ 65±5%RH นาน 5 วัน ตรวจนับจำนวนตัวหนอนและดักแด้แมลงวันแตงที่ตายและรอดชีวิต โดยใช้กล้องสเตอริโอเพื่อตรวจสอบลักษณะการตาย ซึ่งจะมีลักษณะสีผิวหนังที่เข้มขึ้นและสามารถมองทะลุผ่านผิวหนังเห็นไส้เดือนฝอยอาศัยอยู่ภายในซากหรือทำการผ่าพิสูจน์ซากเพื่อตรวจดูไส้เดือนฝอย

3. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวต่อหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 5 กรรมวิธีๆละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว นำทรายบรรจุลงใน Petri dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ซม. ร่วมกับแมลงทดสอบเหมือนดังข้อก่อนหน้า ปรับความเข้มข้นและพ่นสารแขวนลอยสปอร์ต่อ มล. ของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* PSUM02 ที่ปริมาณ 1 มล./Petri dish ตามแผนผังการทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 น้ำกลั่น (ควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 ที่ความเข้มข้น $1x10^5$ สปอร์/มล.

กรรมวิธีที่ 3 สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มล.

กรรมวิธีที่ 4 สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 ที่ความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์/มล.

กรรมวิธีที่ 5 สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล.

นำ Petri dish วางบ่มในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2 ^{O}C ความชื้นสัมพัทธ์ 80%RH นาน 14 วัน บันทึกจำนวนตัวหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตงที่ตายและรอดชีวิต นาน 7-14 วัน โดยสังเกตจากเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราที่อยู่บริเวณผิวหนังของแมลงทดสอบ

4. ทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงร่วมกับเชื้อราเขียวต่อหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 6 กรรมวิธีๆละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว ทำการเตรียมทรายใน Petri dish และแมลงทดสอบเหมือนการทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยและเชื้อราเขียว ในการทดลองนี้จะใช้ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* และ *S. carpocapsae* ที่อัตราพ่น 25,000 ตัว/หนอนหรือดักแด้ (ชนิดและอัตราที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองในข้อ 2) และใช้เชื้อราเขียว *M. anisopliae* PSUM02 ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. (ความเข้มข้นที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองในข้อ 3) พ่นลงบนหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้ที่อายุ 3-5 วัน ดังแผนผังการทดลอง ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 น้ำกลั่น (ควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae*

กรรมวิธีที่ 3 ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai*

กรรมวิธีที่ 4 ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae*

กรรมวิธีที่ 5 ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* ผสมร่วมกับสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae*

กรรมวิธีที่ 6 ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ผสมร่วมกับสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae*

ทำการตรวจนับจำนวนหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตงที่ตายและรอดชีวิตหลังการทดสอบ 14 วัน

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลจำนวนตัวตายและรอดชีวิตของหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตงมาวิเคราะห์ค่าเปอร์เซ็นต์การตาย (Mean±SD) และนำมาหาค่า LD_{50} - LD_{90} โดยใช้โปรแกรม Probit analysis วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรม Statistix 10 software (Analytical Software, Tallahassee, FL) และเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละกรรมวิธีด้วย Tukey's HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงต่อหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตง

ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงทั้ง 4 ชนิดให้ผลในการควบคุมทั้งระยะหนอนวัยสุดท้ายและระยะดักแด้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยในระยะหนอนวัยสุดท้ายไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* และ *S. siamkayai* สามารถทำให้หนอนวัยสุดท้ายตายสูงสุด 97.50 และ 90.00% ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) กับไส้เดือนฝอย *H. bacteriophora* และ *H. indica* มีการตายอยู่ที่ 75.00 และ 67.50% ตามลำดับ เมื่อพ่นที่อัตรา 25,000 ตัว/หนอน นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราพ่นที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การตายที่เพิ่มสูงขึ้น Saleh et al. (2018) รายงานเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงวันทองลูกพีช *B. zonata* ที่เพิ่มสูงขึ้น จาก 45.00 และ 35.00% เป็น 78.00 และ 75.00% เมื่อเพิ่มอัตราความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยจาก 5 เป็น 15 ตัว/ตร.ซม. หลังพ่นด้วยไส้เดือนฝอย *H. marelatus* และ *H. bacteriophora* ตามลำดับ ซึ่งในการทดลองนี้อัตราพ่นที่ดีที่สุดอยู่ที่ 25,000 ตัว/หนอน (**Table 1**) ผลการทดสอบในระยะดักแด้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับในระยะหนอนวัยสุดท้าย ไส้เดือนฝอยในกลุ่ม *Steinernema* spp. อันได้แก่ *S. carpocapsae* และ *S. siamkayai* มีประสิทธิภาพทำให้ดักแด้ตายได้สูงกว่าในไส้เดือนฝอยสกุล *Heterorhabditis* spp. เมื่อพ่นที่อัตรา 25,000 ตัว/ดักแด้ โดยพบว่า *S. carpocapsae* และ *S. siamkayai* ทำให้ดักแด้ตาย 95.00 และ 90.00% ตามลำดับ ขณะที่การตายหลังพ่นด้วย *H. indica* และ *H. bacteriophora* มีค่าอยู่ที่ 75.00 และ 42.50% ตามลำดับ (**Table 2**) คล้ายคลึงกับงานทดลองที่ผ่านมาที่พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายหลังพ่นด้วยไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* หรือ *S. siamkayai* ให้ค่าที่สูงกว่า 80.00% ในการควบคุมหนอนวัยสุดท้ายแมลงวันผลไม้เมดิเตอร์เรเนียน *C. capitata* แมลงวันผลไม้ของอินเดียตะวันตก *Anastrepha obliqua* แมลงวันผลไม้อเมริกาใต้ *A. fraterculus* และหนอนแมลงวันพริก *B. latifrons* (ภานุพงศ์, 2560; Cristhiane et al., 2012; Toledo et al., 2006; Foelkell et al., 2016) เมื่อวิเคราะห์ค่า LD_{50} และ LD_{90} ของไส้เดือนฝอยที่มีต่อระยะหนอนวัยสุดท้าย พบว่า ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ให้ค่าต่ำสุดอยู่ที่ 4,234 และ 16,285 ตัว/หนอน ตามลำดับ รองลงมาคือไส้เดือนฝอย *S. siamkayai, H. indica* และ *H. bacteriophora* ให้ค่า LD_{50} อยู่ที่ 9,987, 10,722 และ 16,756 ตัว/หนอน ตามลำดับ และค่า LD_{90} อยู่ที่ 22,316, 53,113 และ 71,926 ตัว/หนอน ตามลำดับ ขณะที่ค่า LD_{50} และ LD_{90} ของระยะดักแด้มีค่าที่สูงกว่าระยะหนอน กล่าวคือระยะดักแด้มีความทนทานต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยมากกว่าระยะหนอนวัยสุดท้าย โดยที่ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ยังคงให้ค่า LD_{50} และ LD_{90} ต่ำที่สุด 8,357 และ 24,565 ตัว/ดักแด้ ตามลำดับ (**Table 3**) หนึ่งในความเป็นไปได้ที่ไส้เดือนฝอยในสกุล *Steinernema* spp. สามารถเข้าทำลายทั้งในระยะหนอนและดักแด้ได้ดีกว่า *Heterorhabditis* spp. อาจสืบเนื่องมาจากขนาดความยาวลำตัวของไส้เดือนฝอย (Barberchecek and Kaya, 1990) Adams and Nguyen (2002) รายงานว่าขนาดของ *S. carpocapsae* มีขนาด 438 μm ขนาดของ *S. siamkayai* มีขนาด 446 μm ส่วน *H. bacteriophora* มีขนาด 570 μm (Stock et al., 1998) และ *H. indica* มีขนาด

528 μm (Poinar, 1992) ซึ่งไส้เดือนฝอยในสกุล *Steinernema* spp มีขนาดลำตัวที่เล็กกว่าไส้เดือนฝอยในสกุล *Heterorhabditis* spp. จึงทำให้สามารถชอนไชเข้าสู่ช่องเปิดทางธรรมชาติของแมลงอาศัยได้ดีกว่า นอกจากนี้ความทนทานต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยนั้นอาจเกิดจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงอาศัย อาทิเช่น ขนาดของช่องเปิดทางธรรมชาติ หรือความหนาของผนังลำตัว โดยแมลงที่มีขนาดช่องเปิดทางธรรมชาติขนาดใหญ่นั้นจะง่ายต่อการชอนไชเข้าสู่ภายในลำตัวแมลงอาศัย ของไส้เดือนฝอย (Bedding and Molyneux, 1982) จึงเป็นเหตุให้ระยะหนอนมีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยสูงกว่าระยะดักแด้

Table 1 Efficacy of different species of entomopathogenic nematodes (EPNs) at various concentrations on the last instar larvae of melon fruit fly

EPNs concentration (Dauer juveniles/larva)	Mortality rate of last instar larvae of melon fruit fly (%±SD)				F-test	CV (%)
	Ss	Sc	Hi	Hb		
Control (distilled water)	0.00 Fa	0.00 Da	0.00 Ca	0.00 Da	ns	-
1,000	20.00±0.82 Eb	55.00±1.29 Ca	37.50±0.50 Bab	40.00±0.82 Cab	**	25.95
5,000	40.00±0.82 Db	62.50±0.96 Ca	57.50±0.50 Aa	22.50±0.96 Cc	**	18.17
10,000	52.50±0.50 Cb	70.00±1.63 BCa	62.50±0.96 Aab	60.00±0.82 Bab	**	17.32
15,000	70.00±0.82 Bb	92.50±0.50 ABa	65.00±1.29 Ab	57.50±0.50 ABb	**	11.81
20,000	87.50±0.96 Aab	92.50±0.50 ABa	65.00±0.58 Ac	72.50±0.96 ABbc	**	9.79
25,000	90.00±0.00 Aa	97.50±0.50 Aa	67.50±0.96 Ab	75.00±0.58 Ab	**	7.42
F-test	**	**	**	**		
CV (%)	13.49	14.74	16.96	18		

Means followed by different capital letters in the same column and small letters in the same row indicate significant differences at P<0.05 (Tukey's HSD test)

Ss= *Steinernema siamkayai*, Sc= *Steinernema carpocapsae*, Hi= *Heterorhabditis indica*, Hb= *Heterorhabditis bacteriophora*

Table 2 Efficacy of different species of entomopathogenic nematodes (EPNs) at various concentrations on pupae of melon fruit fly

EPNs concentration (Dauer juveniles/pupa)	Mortality rate of pupae of melon fruit fly (%±SD)				F-test	CV (%)
	Ss	Sc	Hi	Hb		
Control (distilled water)	0.00 Da	0.00 Ea	0.00 Da	0.00 Ba	ns	-
1,000	25.00±1.00 Cb	40.00±0.82 Da	40.00±0.50 Ca	2.50±0.50 Bc	**	29.90
5,000	27.50±0.96 Cab	52.50±1.26 CDa	45.00±1.71 Cab	22.50±1.71 ABb	*	39.34
10,000	67.50±0.50 Ba	65.00±1.29 BCa	52.50±0.96 BCa	27.50±0.96 Ab	**	16.90
15,000	72.50±1.50 Ba	72.50±1.50 Ba	57.50±1.41 ABCa	30.00±1.41 Ab	**	22.07
20,000	77.50±0.96 Aa	75.00±1.29 Aa	72.50±0.96 Aa	32.50±0.96 Ab	**	16.32
25,000	90.00±0.82 Aab	95.00±0.58 Aa	75.00±0.96 Ab	42.50±0.96 Ac	**	9.92
F-test	**	**	**	**	**	
CV (%)	18	17.96	19.30	47.26		

Means followed by different capital letters in the same column and small letters in the same row indicate significant differences at P<0.05 (Tukey's HSD test)

Ss= *Steinernema siamkayai*, Sc= *Steinernema carpocapsae*, Hi= *Heterorhabditis indica*, Hb= *Heterorhabditis bacteriophora*

Table 3 Median lethal dose of entomopathogenic nematodes (EPNs) on the last instar larvae and pupae of melon fruit fly

Species of EPNs	Developmental stage of melon fruit fly					
	Last instar larvae		Slope	Pupae		Slope
	LD_{50}	LD_{90}	(R^2)	LD_{50}	LD_{90}	(R^2)
Steinernema siamkayai	9,987	22,316	0.981	10,011	23,187	0.961
Steinernema carpocapsae	4,234	16,285	0.944	8,357	24,565	0.918
Heterorhabditis indica	10,722	53,113	0.942	14,283	70,300	0.947
Heterorhabditis bacteriophora	16,756	71,926	0.926	36,696	81,244	0.926

2. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวต่อหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตง

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* PSUM02 ในหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตง พบว่าการตายของหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้เพิ่มสูงขึ้น แปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยที่เพิ่มสูงขึ้น ที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด $1x10^8$ สปอร์/มล. การตายของหนอนเท่ากับ 61.25% ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับความเข้มข้นอื่น ที่ระดับความเข้มข้นที่ $1x10^7$, $1x10^6$ และ $1x10^5$ สปอร์/มล. การตายลดต่ำลงเท่ากับ 45.63, 23.75 และ 8.13% ตามลำดับ เช่นเดียวกับในระยะดักแด้ ความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยที่ $1x10^8$ สปอร์/มล. ยังคงทำให้ดักแด้ตายได้ถึง 59.38% รองลงมาคือ $1x10^7$, $1x10^6$ และ $1x10^5$ สปอร์/มล. มีค่าการตายอยู่ที่ 50.00, 37.50 และ 18.75% ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวในสองระยะการเจริญเติบโตพบว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า $1x10^7$ สปอร์/มล. สามารถทำให้หนอนและดักแด้ตายได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อลดความเข้มข้นลงกลับพบว่าดักแด้มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายสูงกว่าหนอนวัยสุดท้าย (**Table 4**) ซึ่งผลการทดลองที่ได้คล้ายคลึงกับการศึกษาของ Ekesi et al. (2003) และ Moraga et al. (2006) ที่ทำการทดสอบเชื้อรา *M. anisopliae* ICIPE 20 และ *M. anisopliae* EAMa 01/58-Su ที่ระดับความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอย $1x10^8$ สปอร์/มล. และ $3.3 x 10^6$ สปอร์/มล. ในการควบคุมแมลงวันผลไม้แอฟริกา *C. Rosa, C. cosyra* และ *C. capitata* ในระยะดักแด้ ส่งผลให้มีการตายเท่ากับ 48.8, 68.8 และ 52.5% ตามลำดับ นอกจากนี้ Khlaywi et al. (2014) ยังได้อธิบายเพิ่มเติมว่าความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยที่สูงขึ้นสามารถมีผลทำให้การตายของแมลงเพิ่มขึ้น หลังทำการพ่นเชื้อรา *M. anisopliae* กับระยะหนอนวัยสุดท้ายของแมลงวันผลไม้ *C. capitata* ที่ความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยที่ $1x10^9$ สปอร์/มล. ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ที่ 73.80% เมื่อเทียบกับการตายที่ 48.10% หลังพ่นที่ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มล.

Table 4 Efficacy of *Metarhizium anisopliae* PSUM02 at different concentrations on the last instar larvae and pupae of melon fruit fly

Concentration (spore/ml.)	Mortality of melon fruit fly (%±SD)		T-test
	Last instar larvae	Pupae	
Control (distilled water)	4.38±3.15 Da	3.75±4.33 Da	ns
$1x10^5$	8.13±6.25 Db	18.75±8.54 Ca	**
$1x10^6$	23.75±5.95 Cb	37.50±6.12 Ba	*
$1x10^7$	45.63±10.28 Ba	50.00±3.54 ABa	ns
$1x10^8$	61.25±4.33 Aa	59.38±9.44 Aa	ns
F-Test	**	**	
CV (%)	22.83	20.05	

Means followed by different capital letters in the same column and small letters in the same row indicate significant differences at $P<0.05$ (Tukey's HSD test)

3. ทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงร่วมกับเชื้อราเขียวต่อหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตง

ผลการศึกษาประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง *S. carpocapsae, S. siamkayai* และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* PSUM02 แบบเดี่ยวและแบบผสมร่วมต่อการตายของหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตง พบว่าการผสมร่วมระหว่าง *S. carpocapsae* กับเชื้อราเขียว *M. anisopliae* PSUM02 มีประสิทธิภาพทำให้หนอนวัยสุดท้ายตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ *S. siamkayai* ผสมร่วมกับเชื้อราเขียว, *S. carpocapsae*, *S. siamkayai* และ เชื้อราเขียว *M. anisopliae* PSUM02 มีการตายเท่ากับ 90.00, 87.50, 82.50 และ 55.00% ตามลำดับ ขณะที่ในระยะดักแด้พบการตายลดลง โดยมีการตายอยู่ตั้งแต่ 45.00-82.50% ซึ่งจะเห็นว่าถึงแม้การตายของหนอนและดักแด้จะเพิ่มสูงขึ้นหลังการผสมร่วมกันระหว่างไส้เดือนฝอยและเชื้อรา แต่กลับพบว่าการผสมร่วมกัน

นั้นทำให้การตายของหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* เพียงอย่างเดียว (**Table 5**) หากพิจารณาถึงความเป็นไปได้ในการผสมผสานการใช้ศัตรูธรรมชาติต่อความเป็นพิษของแมลง พบว่าจากรายงานการผสมผสานการใช้เชื้อราเขียว *M. brunneum* ร่วมกับไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ส่งผลต่อการฟักเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันแอปเปิ้ล *Rhagoletis pomonella* ที่ 5.89% (Muhammad et al., 2020) และมีผลต่อแมลงที่มีลักษณะโครงสร้างภายนอกหนาและแข็งแรง เช่น ด้วงงวงต้นสน *Hylobius abietis* ทำให้ไม่สามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้กว่า 93% หลังพ่นเชื้อราเขียว *M. brunneum* ร่วมกับไส้เดือนฝอย *H. downesi* (Namara et al., 2018) การผสมผสานการใช้ศัตรูธรรมชาติส่วนใหญ่จะช่วยเพิ่มขีดความสามารถในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ดียิ่งขึ้นเมื่อเทียบกับใช้ศัตรูธรรมชาติชนิดเดียว ซึ่งการควบคุมที่ดีเกิดจากการทำงานร่วมกันเป็นลำดับก่อนหลังของศัตรูธรรมชาติ (Jaques and Morris, 1981; Tanada, 1985; Morris et al., 1996) นอกจากนี้ถึงแม้ว่าการตายของหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตงจะลดลงหลังพ่นด้วยไส้เดือนฝอยชนิดเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบจากสองการทดลอง ก่อนหน้าก็ตาม (**Table 1, 2 และ 5**) ที่เป็นเช่นนี้อาจเพราะสมรรถนะของไส้เดือนฝอยในการก่อโรคที่ลดลงสืบเนื่องจากสภาพการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในห้องปฏิบัติการหลายชั่วรุ่น ซึ่งโดยปกติแล้วประสิทธิภาพในการก่อโรคของไส้เดือนฝอยจะลดลงหากมีการเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการมากกว่า 4 ชั่วรุ่นขึ้นไป (ภานุพงศ์ และคณะ, 2559; Nimkingrat et al., 2013) Anbesse et al. (2012a,b) เสนอแนวทางแก้ไขปัญหาโดยการเลี้ยง *H. bacteriophora* ในอาหารเทียมเหลว (liquid culture) ซึ่งผลลัพธ์จากกระบวนการเลี้ยงนี้จะช่วยให้ได้สายพันธุ์แท้ (inbred lines) เนื่องจากเป็นตัวเต็มวัยเพศรวม (hermaphrodites) ในรุ่นแรก แต่กระบวนการนี้จะไม่สามารถทำได้กับไส้เดือนฝอย *Steinernema* spp. เนื่องจากตัวเต็มวัยเป็นแบบเพศผู้และเมียแยกกัน (amphimictic adults) จะไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ในอาหารเทียมเหลว (Ehlers, 2001).

Table 5 The combination use of entomopathogenic nematodes and entomopathogenic fungi against the last instar larvae and pupae of melon fruit fly

Treatment	Mortality of melon fruit fly (%±SD)		T-test
	Last instar larvae	Pupae	
Control (distilled water)	0.00 C	0.00 C	ns
Metarhizium anisopliae PSUM02	55.00±0.58 Ca	45.00±1.00 Ba	ns
Steinernema siamkayai	82.50±0.50 Ba	75.00±0.58 Aa	ns
Steinernema carpocapsae	87.50±0.96 ABa	80.00±0.82 Aa	ns
Steinernema siamkayai ผสมร่วมกับ *Metarhizium anisopliae*	90.00±0.82 ABa	70.00±0.00 Ab	**
Steinernema carpocapsae ผสมร่วมกับ *Metarhizium anisopliae*	100.00±0.00 Aa	82.50±0.50 Ab	**
F-test	**	**	
CV (%)	8.69	10.42	

Means followed by different capital letters in the same column and small letters in the same row indicate significant differences at P<0.05 (Tukey's HSD test)

สรุป

S. carpocapsae และ *S. siamkayai* ที่อัตราพ่น 25,000 ตัว/แมลงอาศัย สามารถทำให้หนอนวัยสุดท้ายและดักแด้แมลงวันแตงตายได้สูงกว่า 90% เมื่อเทียบกับ *H. indica* และ *H. bacteriophora* ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า *M. anisopliae* PSUM02 ที่ความเข้มข้นของสปอร์สูงสุด ($1x10^8$ สปอร์/มล.) ให้ผลในการควบคุมแมลงวันแตงทั้งในระยะหนอนวัยสุดท้ายและดักแด้ได้เพียง

61 และ 59% ตามลำดับ เมื่อทำการผสมร่วมกันระหว่างไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* PSUM02 ทำให้การควบคุมแมลงวันแตงในระยะหนอนวัยสุดท้ายเพิ่มสูงขึ้นถึง 100% และ 83% ในระยะดักแด้ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับการพ่นไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* เพียงอย่างเดียว งานวิจัยนี้เป็นผลการศึกษาในสภาพห้องปฏิบัติการเพียงอย่างเดียว ดังนั้นจึงควรจะมีการทดสอบในสภาพไร่เพื่อยืนยันผลการทดสอบก่อนนำไปส่งเสริมให้ใช้จริงกับเกษตรกรต่อไปในอนาคต

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่สนับสนุนทุนพัฒนาบัณฑิตศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2563 โครงการ Participatory and Integrative Support for Agricultural Initiative (PISAI) Project ภายใต้การสนับสนุนจาก ERASMUS + Capacity Building in Higher Education Programme ที่สนับสนุนทุนวิจัย ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุน อุปกรณ์ สถานที่สำหรับทำงานวิจัย และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ของทางศูนย์ฯ ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงและประสบผลสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา หมื่นหนู, สนั่น ศุภธีรสกุล, และสุนทร พิพิธแสงจันทร์. 2552. การขับไล่แมลงวันแตง (*Bactrocera cucurbitae* Coq Diptera: Tephritidae) ของเมล็ดสะเดาช้างและตะไคร้หอม. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ. 12(1): 27–37.

ประกายจันทร์ นิ่มกิ่งรัตน์ และทิพย์สุคนธ์ อนุภาพ. 2560. ประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงสายพันธุ์ไทย *Steinernema siamkayai* ร่วมกับสารป้องกันกำจัดแมลงกำจัดแมลง. แก่นเกษตร. 45(ฉบับพิเศษ 1): 475–480.

ปาณิศา ธรรมเสวตร และนริศ ท้าวจันทร์. 2557. ผลของระยะเวลาการติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* PSUM02 ต่อการวางไข่ และระยะตัวอ่อนแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae*. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์. 1(1): 54–58.

ภานุพงศ์ แสนบุดดา. 2560. ประสิทธิภาพการใช้ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงในการควบคุมแมลงวันพริก (*Bactrocera latifrons* Hendel). วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ภานุพงศ์ แสนบุดดา, ทิพย์สุคนธ์ อนุภาพ, นุชรีย์ ศิริ และประกายจันทร์ นิ่มกิ่งรัตน์. 2559. ผลของอาหารที่มีต่อศักยภาพในการสืบพันธุ์และความรุนแรงในการเข้าทำลายเหยื่อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง. แก่นเกษตร. 44(4): 669-676.

รัตนพล ศรีสุขสร้อย. 2560. ไส้เดือนฝอย: ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง. แหล่งข้อมูล: http://www.baansanrakorganic.com/catpic/97_ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลง.pdf. ค้นเมื่อ 7 ธันวาคม 2561.

วัชระ ลุ้งใส้. 2557. ผลของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม และสารสกัดเมล็ด สะเดาช้างต่อการเข้าทำลายของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) ในบวบเหลี่ยม. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

สัญญาณี ศรีคชา, วิภาดา ปลอดครบุรี, ยุวรินทร์ บุญทบ และเกรียงไกร จำเริญมา. 2555. ชีววิทยา การเข้าทำลาย ฤดูกาลระบาดของแมลงวันทองชนิด *Bactrocera cucurbitae* (Coquillet). รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2196–2200.

สำนักงานเกษตรจังหวัดตราด กรมส่งเสริมการเกษตร. 2562. แตงกวา: ข่าวพยากรณ์และเตือนภัยการระบาดศัตรูพืช “ลดต้นทุนและปลอดภัย หากเกษตรกรใช้การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน”. แหล่งข้อมูล: http://www.trat.doae.go.th. ค้นเมื่อ 17 กุมภาพันธ์ 2564.

หงส์ฟ้า แซ่เตื้อง และนริศ ท้าวจันทร์. 2557. ผลของเชื้อรา *Metarhizium anisopliac* PSUM02 ต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ขอแมลงวันพริก *Bactrocera latifrons* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) ในห้องปฏิบัติการ. แก่นเกษตร. 42(ฉบับพิเศษ 3): 625–528.

อรัญ งามผ่องใส, นริศ ท้าวจันทร์ และวัชลี โสพิน. 2558. การประยุกต์ใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียมและผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างควบคุมแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera:

Tephritidae) ในบวบเหลี่ยม. รายงายวิจัยภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ศูนย์บริหารศัตรูพืชสงขลา จังหวัดสงขลา.

Adams, B.J., and K.B. Nguyen. 2002. Taxonomy and systematics. In: Gaugler, R. (Ed.) Entomopathogenic Nematology. CABI, New York, New York.

Anbesse, S., N.H. Sumaya, A.V. Doerfler, O. Strauch, and R.-U. Ehlers. 2012a. Selective breeding for desiccation tolerance in liquid culture provides genetically stable inbred lines of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. Applied Microbiology and Biotechnology. 97: 731–739.

Anbesse, S., N.H. Sumaya, A.V. Doerfler, O. Strauch, and R.-U. Ehlers. 2012b. Stabilisation of heat tolerance traits in *Heterorhabditis bacteriophora* through selective breeding and creation of inbred lines in liquid culture. BioControl. 58: 85–93.

Barbercheck, M.E., and H.K. Kaya. 1990. Interactions between *Beauveria bassiana* and the entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis heliothidis*. Journal of Invertebrate Pathology. 55: 225–234.

Bedding, R.A., and A. S. Molyneux. 1982. Penetration of insect cuticle by infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. (Heterorhabditidae: Nematoda). Nematologica. 28: 254–259.

Cristhiane, R., M. Alcides, M. Junior, T. Aurelio, S. Da, and C. Fabiano. 2012. Effect of *Heterorhabditis* sp. and *Steinernema carpocapsae* applied in different periods of soil infestation with larvae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia. 5(3): 79–84.

Dhillon, M. K., R. Singh, J. S. Naresh, and N. K. Sharma. 2005. Influence of physico-chemical traits of bitter gourd, *Momordica charantia* L. on larval density and resistance to melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett). Journal of Applied Entomology. 129(7): 393–399.

Ehlers, R.-U., 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. Applied Microbiology and Biotechnology. 56: 623-633.

Ekesi, S., N. K. Maniania, and S. A. Lux. 2003. Mortality in three African tephritid fruit fly puparia and adults caused by the entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. Biocontrol Science and Technology. 12: 7–17.

EPPO. 2018. PM 7/135 (1) *Zeugodacus cucurbitae*. EPPO Bulletin. 48(3): 432–437.

Foelkell, E., B. L. Monteiroi, and M. Vossi. 2016. Virulence of nematodes against larvae of the south-American fruit fly in laboratory using soil from Porto Amazonas, Paraná, Brazil, as substrate. Ciencia Rural, Santa Maria. Crop Protection. 46(3): 405–410.

Haniotakis, G.E., T. Broumas, and C. Liaropoulos. 1998. Comparative field studies of various traps and attractants for the olive fruit fly, *Bactrocera oleae*. Entomologia Hellenica. 12: 71–79.

Jaques, R.P., and O.N. Morris. 1981. Compatibility of phathogenes with other methods of pest control and with different crops. pp. 695-715. In “Microbial Control of Pest and Plant Diseases 1970-1980” (H. D. Burges, Ed.), Academic Press, London.

Khlaywi, S.A., M.W. Khudhair, H.F. Alrubeai, A.K. Shbar, and S.A. Hadi. 2014. Efficacy of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to control Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. International Journal of Entomological Research. 02(03): 169–173.

Moraga, E.Q., A. Ruiz-Garci, and C. Santiago-alvarez. 2006. Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against puparia and adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Journal of Economic Entomology. 99(6): 1955–1966.

Morris, O.N., M. Trottier, V. Converse, and P. Kanagaratnam. 1996. Toxicity of Bacillus thuringiensis sub sp. Aizawai for Mamestra configurata (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Economic Entomology. 89: 359-365.

Muhammad, U., S. Gulzar, W. Waqas, S. Wu, C. Jaime Pinero, C.L. Tracy, J.N. Laura, O.H. Camila, D.T. Michael, and D. Shapiro-Ilan. 2020. Virulence of entomopathogenic fungi to *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) and interactions with entomopathogenic nematodes. Journal of Economic Entomology. 113(6): 2627–2633.

Namara, L.M., A. Kapranas, C.D. Williams, P.O. Tuama, K. Kavanagh, and C.T. Griffin. 2018. Efficacy of entomopathogenic fungi against large pine weevil, *Hylobius abietis*, and their additive effects when combined with entomopathogenic nematodes. Journal of Pest Science. 91: 1407–1419.

Nimkingrat P., O. Strauch, and R.-U. Ehlers. 2013. Hybridisation and genetic selection for improving desiccation tolerance of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. Biocontrol Science and Technology, 23(3): 348-361.

Poinar, G.J. 1992. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. pp. 23-61. In: Gaugler R, Kaya HK (eds). Entomopathogenic nematode in biological control. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Saleh, M. M. E., H. M. S. Metwally, and Y. A. Mahmoud. 2018. Potential of the entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis marelatus*, isolate in controlling the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tiphritidae). Egyptian Journal of Biological Pest Control. 22(28): 1-6.

Stock, S.P., V. Somsook, and A.P. Reid. 1998. *Steinernema siamkayai* n. sp. (Rhabditida: Steinemematidae), an entornopathogenic nematode from Thailand. Systematic Parasitology. 4l: 105–113.

Tanada, Y. 1985. Asynopsis of studies of the synergistic property of an insect baculovirus: A tribute to Edward A. Steinhaus. Journal of Invertebrate Pathology. 45: 125-138.

Toledo, J., P. Liedo, S. Flores, S.E. Campos, A. Villasensor, and P. Montoya. 2006. Use of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for fruit fly control: A novel approach. pp. 127–132. Proceedings of the 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance.

Thaochan, N., and A. Ngampongsai. 2015. Effects of autodisseminated *Metarhizium guizhouense* PSUM02 on mating propensity and mating competitiveness of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). Biocontrol Science and Technology. 25(6): 629-644.

White, G.F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. Science. 66: 302–303.