ประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) พาหะนำโรคใบขาวอ้อย

โดย

นางสาวจุฑามาส ฮวดประสิทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร)
สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ปีการศึกษา 2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Ref. code: 25605809032583JBQ

ประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) พาหะนำโรคใบขาวอ้อย

โดย

นางสาวจุฑามาส ฮวดประสิทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร)
สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ปีการศึกษา 2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Ref. code: 25605809032583JBQ

EFFICIENCY OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI TO CONTROL THE LEAFHOPPER VECTOR, *Matsumuratettix hiroglyphicus*, (Matsumura) OF SUGARCANE WHITE LEAF DISEASE

BY

MISS JUTAMAS HUADPRASIT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (AGRICULTURAL TECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
FACULTY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
THAMMASAT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2017

COPYRIGHT OF THAMMASAT UNIVERSITY

Ref. code: 25605809032583JBQ

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

วิทยานิพนธ์

ของ

นางสาวจุฑามาส ฮวดประสิทธิ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยจักจั่น
Matsumuratettix hiroglyphicus (Matsumura) พาหะนำโรคใบขาวอ้อย

ได้รับการตรวจสอบและอนุมัติ ให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร)

เมื่อ วันที่ 1 มิถุนายน พ.ศ. 2561

ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ _____
(อาจารย์ ดร. พรชัย หาระโคตร)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก _____
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จุรีมาศ วังคีรี)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม _____
(ดร. บุญเฮียง พรมดอนกอย)

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ _____
(รองศาสตราจารย์ ดร. ยุพา หาญบุญทรง)

คณบดี _____
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมชาย ชคตระการ)

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) พาหะนำโรคใบขาวอ้อย
ชื่อผู้เขียน	นางสาวจุฑามาส ฮวดประสิทธิ์
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร)
สาขาวิชา/คณะ/มหาวิทยาลัย	เทคโนโลยีการเกษตร วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุรีมาศ วังคีรี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร.บุญเฮียง พรมดอนกอย
ปีการศึกษา	2560

บทคัดย่อ

โรคใบขาวของอ้อยเป็นโรคที่สำคัญของการปลูกอ้อย ที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา (phytoplasma) และมีเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) เป็นแมลงพาหะที่สำคัญในการแพร่กระจายและถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมา งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมแมลงพาหะและลดการระบาดของโรคใบขาว

การศึกษาในส่วนแรกเป็นการคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพจากจำนวน 24 ไอโซเลต ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่นระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยจักจั่นระยะตัวเต็มวัยสูงที่สุดเท่ากับ 55% เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000 และเชื้อรา *Beauveria bassiana* ไอโซเลต BCC20196 ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การตายของระยะตัวอ่อนสูงที่สุดเท่ากับ 30% และเชื้อรา *M. anisoliae* ไอโซเลต BCC16762 ทำให้มีเปอร์เซ็นต์ไข่ไม่ฟักสูงที่สุดเท่ากับ 35% และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม จากผลการศึกษาได้เลือกเชื้อราสกุล *Metarhizium* จำนวน 3 ไอโซเลต คือ เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455, *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 และ *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC16000 มาศึกษาต่อโดยเจาะจงที่ประสิทธิภาพในการเข้าทำลายระยะไข่ของเพลี้ยจักจั่น โดยนำเชื้อราที่เพิ่มปริมาณได้มาทำให้อยู่ในรูปแบบไม่ผ่าน (เชื้อราที่เพิ่มปริมาณได้บนเมล็ดข้าว) และผ่านการแปรสภาพ

Ref. code: 25605809032583JBQ

(เชื้อราที่เพิ่มปริมาณได้ นำมาบดแล้วอัดเป็นแท่ง) ก่อนนำไปศึกษาประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเฉพาะเพลี้ยจักจั่นระยะไข่ภายใต้ห้องปฏิบัติการ ศึกษาความมีชีวิตและประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเฉพาะเพลี้ยจักจั่นระยะไข่ภายในสภาพโรงเรือนของเชื้อราภายหลังการเก็บรักษา พบว่าประสิทธิภาพภายใต้ห้องปฏิบัติการของเชื้อราที่ไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพทั้ง 3 ไอโซเลต ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่เท่ากับ 24-28 และ 22-28% ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม เมื่อนำไปเก็บรักษาด้วยการบรรจุลงในถุงที่ไม่มีและมีสารดูดความชื้น (Revolutionary Preservation-3A; RP-3A) เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าสปอร์เชื้อราส่วนใหญ่มีแนวโน้มความมีชีวิตลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ส่วนการศึกษาประสิทธิภาพในสภาพโรงเรือน พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษามีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายไข่ โดยเชื้อราแบบไม่ผ่านการแปรสภาพที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0 และ 1 เดือน ทำให้การฟักไข่ลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม เท่ากับ 26-34 และ 32-40% ของเชื้อราที่ไม่ใส่และใส่ RP-3A ตามลำดับ และที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2 เดือนเป็นต้นไป เชื้อรามีแนวโน้มการเข้าทำลายไข่ลดลงโดยทำให้การฟักไข่เท่ากับ 30-58 และ 30-56% ของเชื้อราที่ไม่ใส่และใส่ RP-3A ตามลำดับ ส่วนเชื้อราแบบผ่านการแปรสภาพที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0 1 2 และ 3 เดือน ทำให้การฟักไข่ลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม เท่ากับ 24-26% และ 20-26% ของเชื้อราที่ไม่ใส่และใส่ RP-3A ตามลำดับ และที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 4 เดือนเป็นต้นไป เชื้อรามีแนวโน้มการเข้าทำลายไข่ลดลงโดยทำให้เปอร์เซ็นต์การฟักไข่เท่ากับ 30-48 และ 28-48% ของเชื้อราที่ไม่ใส่และใส่ RP-3A ตามลำดับ

จากการศึกษาเชื้อราทั้งไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพ พบว่าเชื้อราแบบผ่านการแปรสภาพให้ผลความมีชีวิตและประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่นระยะไข่ได้ไม่แตกต่างกัน จึงเลือกเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลต แบบผ่านการแปรสภาพที่มีลักษณะการกระจายของสปอร์เชื้อราน้อยและง่ายต่อการนำไปประยุกต์ใช้ มาทดสอบประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่นระยะไข่แบบการจับคู่ผสมภายในสภาพโรงเรือน พบว่าเชื้อราที่ผ่านการแปรสภาพทำให้ไข่มีอัตราการฟักเท่ากับ 34.35-37.40 ฟอง/คู่ ลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม และเมื่อนำเชื้อราที่ผ่านการแปรสภาพทั้ง 3 ไอโซเลต ที่ไม่ใส่และใส่ RP-3A มาทดสอบความมีชีวิตเมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในดินเพื่อทำลายเพลี้ยจักจั่นระยะไข่ พบว่าเชื้อราสามารถคงความมีชีวิตในดินได้เป็นระยะเวลานาน 1 สัปดาห์ และเริ่มมีแนวโน้มความมีชีวิตลดลงที่ 2 สัปดาห์ โดยขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่เชื้อราถูกเก็บรักษาก่อนนำมาทดสอบ ซึ่งระยะเวลาการเก็บรักษาและการทดสอบในดินนานขึ้น เชื้อราส่วนใหญ่จะมีแนวโน้มความมีชีวิตในดินลดลง

Ref. code: 25605809032583JBQ

จากผลการวิจัยสามารถนำเชื้อราสกุล *Metarhizium* 3 ไอโซเลตที่คัดเลือกได้ ในแบบผ่านการแปรสภาพ ที่สามารถเก็บรักษาด้วยการไม่ต้องใส่สารดูดความชื้นไว้ได้นาน 1-2 เดือน แล้วยังคงมีความมีชีวิตของสปอร์และประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่นระยะไข่ ไปประยุกต์ใช้ด้วยการโรยบนดินบริเวณโคนต้นอ้อยเพื่อควบคุมปริมาณเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* แมลงพาหะนำโรคใบขาวอ้อยได้

คำสำคัญ: เชื้อราสาเหตุโรคแมลง, เชื้อราสกุล *Metarhizium*, โรคใบขาวอ้อย, เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus*

Ref. code: 25605809032583JBQ

Thesis Title	EFFICIENCY OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI TO CONTROL THE LEAFHOPPER VECTOR, *Matsumuratettix hiroglyphicus*, (Matsumura) OF SUGARCANE WHITE LEAF DISEASE
Author	Miss Jutamas Huadprasit
Degree	Master of Science (Agricultural Technology)
Department/Faculty/University	Agricultural Technology Science and Technology Thammasat University
Thesis Advisor	Assistant Professor Jureemart Wangkeeree, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Boonhiang Promdonkoy, Ph.D.
Academic Year	2017

ABSTRACT

The sugarcane white leaf disease is important disease of crop sugarcane. It is caused the phytoplasma and the main vector is the leafhopper *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) . The objective of this research was to screen the entomopathogenic fungi for controlling this leafhopper vector and decrease the distribution of sugarcane white leaf disease.

The first experiment was tested the efficacy of entomopathogenic fungus 24 isolates to against different life stage of *M. hiroglyphicus* including adult nymph and egg stages under laboratory conditions. The results of adults testing revealed that *Metarhizium* sp. BCC30455 showed the highest pathogenicity which was 55% of mortality. For the nymphs stage, the *M. anisoliae* BCC16000 and the *B. bassiana* BCC20196 were show the highest death at 30%, while the eggs stage, the *M. anisoliae* BCC16762 cause 35% of unhatched. These results were significantly different ($P<0.05$) with control treatment. Consequently, the three fungal isolates included *Metarhizium* sp. BCC30455, *M. anisopliae* BCC16762 and *Metarhizium* sp. BCC16000 were selected to test their efficacy, particularly eggs stage of the leafhoppers. Those three insolates

Ref. code: 25605809032583JBQ

were mass production then performed into non-transformation (fungi grown on rice grains) and transformation (fungi grown on rice grain, grind and packed into a rod shape) fungi before study their efficient to against the eggs under laboratory condition. Also, the viability after storage and the efficacy under greenhouse condition were examined. The results found that leafhopper's eggs treated under laboratory condition with non-transformation and transformation fungi were hatch at 24-28 and 22-28%, respectively, it was significantly different ($P<0.05$) with control treatment. Then, the fungi were packed and stored for 6 months with non RP-3A (Revolutionary Preservation-3A) and with RP-3A in the packages. The result of viability found that almost of spore trend to be decreased along with length of storage period. Moreover, the storage period had affect to their efficacy to against the eggs under greenhouse conditions. The eggs trated with non-transformation fungi that after storage 0 and 1 month had hatching at 26-34 and 32-40% for non RP-3A and with RP-3A, respectively, it was decreased significantly different ($P<0.05$) with control treatment. However, after 2 months storage, all fungi isolates were trend to decrease the efficacy, hatching egg were 30-58 and 30-56% for non RP-3A and with RP-3A, respectively. The eggs treated with transformation fungi thatafter storage 0, 1, 2 and 3 month had hatching at 24-26 and 20-26% for non RP-3A and with RP-3A, respectively, it was decreased significantly different ($P<0.05$) with control treatment. After 4 months storage, all fungi isolates were trend to decrease the efficacy, hatching egg were 30-48 and 28-48% for non RP-3A and with RP-3A, respectively.

From these result revealed that the both non-transformation and transformation fungi had no difference for viability of spore and efficiency, so the transformation fungi were selected for further experiments since it was more comfortable for application use in the fields. The transformation fungi were test for efficacy to against the eggs that laid from mating male and female under greenhouse conditions. The result found that the fungi cause number of eggs hatching 34.35-37.40 eggs/pair, this was decrease significantly different ($P<0.05$) with control treatment. Moreover, the storage transformation fungi were tested for the viability when apply to

Ref. code: 25605809032583JBQ

the soil. The results showed that the viability of fungi had decrease after two weeks of application and it also depend on period of storage.

In conclusion, the results from this study could obtain the three isolates of *Metarhizium*, these fungi had viability and capacity to against the leafhopper's eggs after proceed to transformation form and stored 1-2 months. In future, these fungi could be used in the fields by applying to the soil around the sugarcane plants to control the population of the leafhopper vector *M. hiroglyphicus.*

Keywords: entomopathogenic fungi, *Metarhizium*, sugarcane white leaf disease, *Matsumuratettix hiroglyphicus*

Ref. code: 25605809032583JBQ

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ทางผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณกรรมาธิการวิทยานิพนธ์ทุกท่านดังต่อไปนี้ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุรีมาศ วังคีรี กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่เป็นผู้ให้ความช่วยเหลือด้วยกำลังกายและกำลังความคิด โดยการมอบความรู้ทางด้านวิชาการและหลักการปฏิบัติงานสำหรับเป็นเครื่องมือในการแก้ไขปัญหา ช่วยจัดหาอุปกรณ์สำหรับการทำวิจัย ส่งเสริมทางด้านทุนทรัพย์และในกรณีที่เกิดปัญหา อาจารย์เป็นผู้แนะนำแนวทางและร่วมกับผู้วิจัยในการแก้ไขปัญหาเพื่อให้งานวิจัยนี้สำเร็จไปได้

ดร.บุญเฮียง พรมดอนกอย กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ช่วยชี้นำแนวทางเพื่อให้งานวิจัยบรรลุวัตถุประสงค์ โดยให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์มาประกอบการทำวิจัยและในกรณีที่เกิดปัญหาระหว่างการปฏิบัติงาน ดร.บุญเฮียง เป็นผู้สามารถแนะนำวิธีการที่เหมาะสมต่อการแก้ไขปัญหาได้เป็นอย่างดี

อาจารย์ ดร.พรชัย หาระโคตร ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.ยุพา หาญบุญทรง กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้เกียรติเป็นอย่างยิ่งในการสละเวลา ตลอดจนให้คำแนะนำสำหรับการแก้ไขข้อบกพร่องและช่วยเพิ่มเติมส่วนที่เห็นสมควรเพื่อให้งานวิจัยและเล่มวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

คุณ พิสมัย โพธิ์ศรี ที่ช่วยดำเนินงานด้านเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการจัดทำเล่มวิทยานิพนธ์ พ่อ แม่ ที่มอบทุนสนับสนุนในระหว่างการใช้ชีวิตในมหาวิทยาลัย พี่และเพื่อนๆ ที่อยู่เคียงข้างและให้คำปรึกษาดีๆ

ห้องปฏิบัติการอารักขาพืชและโรงเรือนของสาขาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ที่เป็นสถานที่ในการปฏิบัติงานและแปลงเกษตรกร อ. เขาสวนกวาง จ. ขอนแก่น ที่เป็นสถานที่ในการจับแมลงและนำพันธุ์อ้อยมาใช้ทำงานวิจัย

โครงการทุนบัณฑิตเรียนดีเพื่อศึกษาต่อคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่มอบเงินทุนสนับสนุนค่าลงทะเบียนเรียนสำหรับการศึกษาต่อระดับปริญญาโท รวมถึงทุนสนับสนุนในการนำเสนอผลงานวิทยานิพนธ์ ท้ายที่สุดงานวิจัยนี้ไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้หากขาดเงินทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) เครือข่ายองค์กรบริหารงานวิจัยแห่งชาติ

นางสาวจุฑามาส ฮวดประสิทธิ์

Ref. code: 25605809032583JBQ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(1)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญตาราง	(12)
สารบัญภาพ	(14)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.3 ขอบเขตการวิจัย	4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของอ้อยและความเสียหายจากโรคใบขาวอ้อย	5
2.2 โรคใบขาวอ้อย	6
2.3 เพลี้ยจักจั่นแมลงพาหะนำโรคใบขาวอ้อย	8
2.4 แนวทางการควบคุมโรคใบขาวอ้อยและแมลงพาหะ	11
2.5 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง	13
2.5.1 เชื้อราสกุล *Metarhizium*	15
2.5.2 เชื้อราสกุล *Beauveria*	16
2.6 กลไกการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง	19

Ref. code: 25605809032583JBQ

2.7 การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรู 20
2.8 การผลิตให้ได้ปริมาณมากและการปรับรูปแบบของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง 22
2.8.1 รูปแบบผง (dust formulation) 24
2.8.2 รูปแบบเม็ด (granule formulation) 25
2.8.3 รูปแบบผสมน้ำมัน (oil-base formulation) 26

บทที่ 3 วิธีการวิจัย 30

3.1 การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ในระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ 30
3.1.1 การเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงพาหะเพื่อใช้ในการทดสอบ 30
3.1.2 เชื้อราที่นำมาทดสอบ 30
3.1.3 การเตรียมแขวนลอยสปอร์เชื้อรา 32
3.1.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัยและตัวอ่อน 33
3.1.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ 34
3.2 การศึกษาประสิทธิภาพและความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่เก็บรักษาโดยไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพ 35
3.2.1 เชื้อราที่นำมาทดสอบ 35
3.2.2 การเพิ่มปริมาณเชื้อรา 36
3.2.3 การแปรสภาพเชื้อรา 36
3.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเบื้องต้นในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพห้องปฏิบติการ 38
3.2.5 การบรรจุชีวภัณฑ์และการเก็บรักษาเชื้อรา 38
3.2.6 การทดสอบความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา 40
3.2.7 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน 40
3.2.8 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเบื้องต้นต่ออัตราการฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ภายใต้ห้องปฏิบัติการ 41

Ref. code: 25605809032583JBQ

3.3 การศึกษาความมีชีวิตในดินของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่เก็บรักษาโดยผ่านการแปรสภาพ 41

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 43

4.1 การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ 43

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพและความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่เก็บรักษาโดยไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพ 49

4.2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเบื้องต้นในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ 50

4.2.2 ผลการทดสอบความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา 52

4.2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน 56

4.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน (แบบจับคู่ผสม) 60

4.3 การศึกษาความมีชีวิตในดินของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่เก็บรักษาโดยผ่านการแปรสภาพ 62

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 66

5.1 สรุปผลการวิจัย 66

5.2 ข้อเสนอแนะ 67

รายการอ้างอิง 68

ภาคผนวก 78

ก การคำนวณปริมาณสปอร์เชื้อราก่อนการนำไปใช้ทดสอบ 79

Ref. code: 25605809032583JBQ

ข เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ 80

ค เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ 83

ง ความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่เก็บรักษาโดยผ่านการแปรสภาพทั้งไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน 90

ประวัติผู้เขียน 93

Ref. code: 25605809032583JBQ

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่พบบ่อย 18

2.2 เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่พัฒนาเป็นรูปแบบต่างๆ ให้สอดคล้องกับอายุการเก็บรักษาในเชิงการค้า 29

3.1 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง 24 ไอโซเลต ที่นำมาศึกษาจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ 31

4.1 ประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ 46

4.2 ประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ทั้งไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพเบื้องต้นในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ 51

4.3 ความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน 55

4.4 ความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน 55

4.5 ประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน 57

4.6 ประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน 58

4.7 ประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน (แบบจับคู่ผสม) 61

4.8 ความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ในดินที่ผ่านการแปรสภาพทั้งไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน 65

ตารางภาคผนวกที่

ข1 เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ภายใต้ห้องปฏิบัติการ 80

ข2 เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวอ่อน ภายใต้ห้องปฏิบัติการ 81

Ref. code: 25605809032583JBQ

ข3 เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ 82
ค1 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพเบื้องต้น ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ ครั้งที่ 1 83
ค2 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพเบื้องต้น ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ ครั้งที่ 2 83
ค3 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพเบื้องต้น ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ ครั้งที่ 1 84
ค4 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพเบื้องต้น ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ ครั้งที่ 2 84
ค5 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น*M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน 85
ค6 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน 87
ค7 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพต่อจำนวนการฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน 89
ง1 จำนวนสปอร์ของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน 90
ง2 จำนวนสปอร์ของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน 90
ง3 จำนวนโคโลนีของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน 91
ง4 จำนวนโคโลนีของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน 91
ง5 จำนวนโคโลนีเฉลี่ยของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ในดิน ที่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน 92

Ref. code: 25605809032583JBQ

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ต้นอ้อย (A) และแปลงอ้อย (B) ที่แสดงอาการโรคใบขาวอ้อย	7
2.2	แมลงพาหะนำเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย เพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) (A) เพลี้ยจักจั่น *Yamatotettix flavovittatus* Matsumura (B)	9
2.3	วงจรชีวิตของเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) (A) และเพลี้ยจักจั่น *Yamatotettix flavovittatus* Matsumura (B)	10
2.4	ลักษณะแมลงในสภาพธรรมชาติที่ถูกเชื้อราสกุล *Metarhizium* (A) และ *Beauveria* (B) เข้าทำลาย	14
2.5	ลักษณะการเจริญเติบโตเป็นเส้นใยสีขาว (A) และการสร้างสปอร์สีเขียว เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่ของเชื้อราสกุล *Metarhizium* (B)	16
2.6	ลักษณะการเจริญเติบโตเป็นเส้นใยสีขาว (A) และการสร้างสปอร์สีขาว เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่ของเชื้อราสกุล *Beauveria* (B)	17
2.7	กลไกการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง	20
3.1	การติดตั้งกับดักแสงไฟ (A) และการใช้อุปกรณ์หลอดดูดแมลง (B)	30
3.2	การเตรียมแขวนลอยสปอร์เชื้อรา (A) การปรับระดับความเข้มข้นแขวนลอยสปอร์เชื้อราให้ได้ $1x10^8$ สปอร์/มล. (B)	32
3.3	การพ่นแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น 1x108 สปอร์/มล. ลงบนตัวแมลง (A) นำเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ที่ผ่านการพ่นแขวนลอยสปอร์เชื้อราแล้ว ไปเลี้ยงในกรงพลาสติกที่มีต้นอ้อยอยู่ (B)	33
3.4	การคัดเลือกไข่เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ที่มีลักษณะที่ต้องการ (A) หยดแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ลงบนไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* (B)	34
3.5	การเพาะเลี้ยงเชื้อราในถุงข้าวด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ 25 ºC (A) เชื้อราสกุล *Metarhizium* เจริญปกคลุมเมล็ดข้าวในถุงทั้งหมด (B)	36
3.6	การผสมเชื้อราที่บดแล้วกับน้ำ (A) การบดเชื้อราด้วยเครื่องบด (grinder) (B) ลักษณะเชื้อราที่ออกมาจากเครื่องบด (C) ลักษณะเชื้อราที่แห้งภายหลังผ่านการอบ (D)	37

Ref. code: 25605809032583JBQ

3.7 การใส่เชื้อราที่ต้องการทดสอบกับทรายและโรยบริเวณโคนต้นอ้อย (A) การทำเครื่องหมายบริเวณที่ต้องการวางไข่เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* (B) 38

3.8 เชื้อราที่ไม่ใส่ RP-3A (Revolutionary Preservation-3A) (A) เชื้อราที่ใส่ RP-3A (B) ตัวอย่าง RP-3A (C) การบรรจุเชื้อราลงในถุงฟอยด์ (D) 39

3.9 การเจือจางแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มล. (A) การดูดแขวนลอยสปอร์เชื้อราไปกระจาย (spread) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (B) 40

3.10 ต้นอ้อยที่ทดสอบภายใต้สภาพโรงเรือน (A) สภาพภายนอกโรงเรือนที่ทำการทดลอง (B) 41

3.11 การใส่เชื้อราที่ผ่านการแปรสภาพลงบนผิวหน้าดิน (A) ตักหน้าดินที่มีเชื้อรามาทำเป็นแขวนลอยสปอร์เชื้อราเจือจางระดับความเข้มข้น $1x10^3$ สปอร์/มล. (B) 42

4.1 เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัยที่เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 (A) และเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต BCC26682 (B) เข้าทำลายและปรากฏเชื้อราขึ้นภายหลังแมลงตายที่ระยะเวลา 1, 3, 5 และ 9 วัน 47

4.2 เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัยที่เชื้อรา *V. hemipregenum* ไอโซเลต BCC19964 (A) และเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวอ่อนที่เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000 (B) เข้าทำลาย และปรากฏเชื้อราขึ้นภายหลังแมลงตายที่ระยะเวลา 1, 3, 5 และ 9 วัน 48

4.3 ไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ภายหลังได้รับแขวนลอยสปอร์เชื้อรา ไข่มีลักษณะผิดปกติ สีเหลืองส้ม (A) พบเส้นใยเชื้อราขึ้นปกคลุม (B) และพบเชื้อราเข้าทำลายตัวอ่อนที่ฟักระยะในแรก (C) 49

4.4 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่าน (A) และผ่านการแปรสภาพ (B) 50

4.5 ลักษณะไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ภายหลังถูกเชื้อราเข้าทำลาย ที่ระยะเวลา 3 (A) 5 (B) 7 (C) และ 10 วัน (D) โดยไข่ผิดปกติมีสีเหลืองส้ม พบเส้นใยเชื้อราปกคลุมและปรากฏสปอร์เชื้อราสีเขียว 52

4.6 ไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ที่กำลังจะฟักเป็นตัวอ่อน แต่ถูกเชื้อราเข้าทำลาย 52

4.7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 (A) เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 (B) และ เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000 (C) ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน และนำมาทดสอบความมีชีวิตของสปอร์โดยนับจำนวนสปอร์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 54

4.8 ลักษณะของไข่เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ภายหลังถูกเชื้อราเข้าทำลาย (A) ทำให้ไม่สามารถฟักเป็นตัวอ่อน (B) และมีสีเหลืองส้มแตกต่างจากไข่ปกติ (C) 57

Ref. code: 25605809032583JBQ

4.9 สภาพภายในกรงพลาสติก (A) และลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* (B) ระหว่างการทดสอบอัตราการฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น 61

4.10 ลักษณะของโคโลนีเชื้อราสกุล *Metarhizium* หลังเก็บรักษาที่จำแนกได้จากดิน 64

Ref. code: 25605809032583JBQ

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถสร้างรายได้จากการส่งออกน้ำตาลและผลิตภัณฑ์จากน้ำตาลได้ปีละหลายหมื่นล้านบาท ซึ่งประเทศไทยได้รับการจัดอันดับให้เป็นประเทศผู้ผลิตน้ำตาลอันดับสามของโลกรองจากประเทศบราซิลและอินเดีย นอกจากนี้ผลพลอยได้จากการผลิตน้ำตาลยังสามารถนำไปเป็นวัตถุดิบผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทนและนำกากอ้อยไปเป็นเชื้อเพลิงผลิตกระแสไฟฟ้าได้ จากรายงานการสำรวจเขตพื้นที่ปลูกอ้อยทั้วประเทศครอบคลุม 47 จังหวัด โดยอาศัยข้อมูลจากภาพถ่ายดาวเทียมและการสำรวจภาคสนาม ปีการผลิต 2559/60 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกอ้อย 10,988,489 ไร่ และปริมาณผลผลิตอ้อย 92,950,098 ตัน ซึ่งพบว่ามีแนวโน้มลดลงจากปีการผลิต 2558/59 ที่มีพื้นที่เพาะปลูกอ้อย 11,012,839 ไร่ และปริมาณผลผลิตอ้อย 94,047,041 ตัน (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล, 2560) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสาเหตุหลายประการ อย่างไรก็ตามปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งนอกเหนือจากปัญหาภัยแล้งที่สร้างความเสียหายและส่งผลให้อ้อยสูญเสียผลผลิตไปเป็นมูลค่าสูง คือ ปัญหาโรคใบขาวอ้อย (sugarcane white leaf disease; SCWL) ที่จัดเป็นโรคที่สำคัญของการปลูกอ้อยในประเทศไทยและทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เนื่องจากทำให้อ้อยที่เป็นโรคไม่ให้ผลผลิตหรือให้ผลผลิตที่มีความหวานลดลง ไม่สามารถไว้ตออ้อยได้และทำให้ต้นทุนการผลิตสูง ในเขตการเพาะปลูกอ้อยภาคตะวันออกเฉียงเหนือในหลายจังหวัดที่เป็นแหล่งปลูกที่สำคัญ เช่น ขอนแก่น อุดรธานี บุรีรัมย์และนครราชสีมา เป็นต้น

โรคใบขาวอ้อยมีสาเหตุมาจากเชื้อไฟโตพลาสมา (phytoplasma) ซึ่งสามารถแพร่ระบาดผ่านทางท่อนพันธุ์อ้อยที่มีเชื้อไฟโตพลาสมาอยู่และมีเพลี้ยจักจั่น 2 ชนิด คือ เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) และเพลี้ยจักจั่นหลังขาว *Yamatotettix flavovittatus* (Matsumura) เป็นแมลงพาหะที่สำคัญ ทั้งนี้พฤติกรรมการเคลื่อนที่และการดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นอ้อยของแมลงพาหะดังกล่าว มีผลโดยตรงต่อการแพร่ระบาดของโรค เนื่องจากเพลี้ยจักจั่นที่ดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นอ้อยที่เป็นโรคจะได้รับเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวอ้อยและส่งผ่านเชื้อไปตามท่อทางเดินอาหาร ฮีโมลิมท์ (heamolymph) และอวัยวะสืบพันธุ์ แล้วเกิดการเพิ่มปริมาณเชื้อโรคภายในตัวแมลงได้ โดยพบการถ่ายทอดเชื้อสาเหตุโรคสู่ต้นอ้อยได้ทั้งในแมลงระยะตัวเต็มวัยและตัวอ่อน ขณะที่เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* สามารถถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาจาก

Ref. code: 25605809032583JBQ

รุ่นพ่อแม่สู่รุ่นลูกผ่านทางไข่ได้ด้วย ซึ่งเพลี้ยจักจั่นชนิดนี้จัดเป็นแมลงพาหะหลักของโรคใบขาวอ้อย เนื่องจากมีจำนวนประชากรมากในระยะอ้อยอยู่ในช่วงเจริญเติบโตและมีประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยได้ดีกว่าเพลี้ยจักจั่นหลังขาว (Hanboonsong et al., 2002)

การควบคุมแมลงศัตรูด้วยสารเคมีส่งผลกระทบต่อสมดุลทางระบบนิเวศ โดยทำให้แมลงศัตรูธรรมชาติ ได้รับผลกระทบและกระตุ้นวิวัฒนาการการสร้างความต้านทานสารเคมีของแมลงศัตรูพืช ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มการแพร่ระบาดในวงกว้างและการปรับระดับความเข้มข้นหรือการเลือกใช้ชนิดสารเคมีที่รุนแรงขึ้นของเกษตรกร ทั้งนี้นำไปสู่การสะสมในห่วงโซ่อาหารและการตกค้างบนผลผลิตซึ่งส่งผลโดยตรงต่อตัวเกษตรในระหว่างกระบวนการผลิตและเป็นผลพวงที่ส่งต่อมาสู่ผู้บริโภค ดังนั้นการเลือกใช้วิธีการควบคุมแมลงโดยชีววิธี (biological control) จึงเป็นการจัดการเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วย แมลงศัตรูธรรมชาติ สารทางชีวภาพ (biopesticide) และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganisms) ได้แก่ เชื้อรา ไวรัส แบคทีเรียหรือไส้เดือนฝอย เพื่อลดการใช้สารเคมี สร้างความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและอยู่บนพื้นฐานของการคำนึงถึงความปลอดภัยของมนุษย์และสัตว์เป็นสำคัญ

เชื้อราสาเหตุโรคแมลง (entomopathogenic fungi) เป็นหนึ่งในวิธีการควบคุมแมลงโดยชีววิธีด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถเข้าทำลายแมลงที่อาศัยอยู่ได้ โดยเชื้อราจะผลิตสปอร์ที่เมื่อเข้าสัมผัสบริเวณผิวของตัวแมลงที่มีความชื้นและได้รับอุณหภูมิเหมาะสม สปอร์จะงอกแล้วแทงทะลุผ่านผิวชั้นคิวติเคิล (cuticle) หรือเข้าทางช่องเปิด เช่น รูหายใจหรือบาดแผล เป็นต้น ไปยังภายในตัวแมลงแล้วดูดซึมสารอาหาร ทำลายเนื้อเยื่อและระบบอวัยวะต่างๆ หรือบางชนิดอาจปลดปล่อยสารพิษ เมื่อเชื้อราขยายเพิ่มจำนวนจนทั่วตัวแมลง จะปรากฏเห็นเส้นใยหรือไฮฟ่า (hypha) เจริญปกคลุมที่ผิวภายนอกของตัวแมลงและทำให้แมลงตายในที่สุด (Abrol, 2014) ในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาได้มีการนำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูและพบว่ามีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน จากรายงานการศึกษาถึงแนวทางการนำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงมาใช้ในกระบวนการทางการเกษตรเพื่อควบคุมแมลงศัตรู เช่น การทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสกุล *Beauveria* และเชื้อราสกุล *Metarhizium* จำนวน 12 ไอโซเลต กับระยะตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*) (Li et al., 2012) การใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ในการควบคุมแมลงวันผลไม้ (*Drosophila melanogaster*) (นริศ และ อนุชิต, 2551) การใช้เชื้อรา *B. bassiana* และ *Purpureocillium lilacinum* ที่อาศัยอยู่ในต้นพืชมาใช้ควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa zea*) (Lopez and Sword, 2015) การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต PPRI 5339 และเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต F52 ต่อการควบคุมแมลงนูน (*Polyphylla fullo*) ระยะตัวอ่อนวัยที่ 1, 2 และ 3 (Erler and Ates, 2015) การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา

Ref. code: 25605809032583JBQ

M. anisopliae ที่แยกได้จากด้วงแรดมะพร้าว (*Oryctes rhinoceros*) ต่อการเข้าทำลายระยะตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*N. lugens*) ภายใต้ห้องปฏิบัติการ (เพชรหทัย และ อัจฉราพร, 2550) การใช้เชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ในการเข้าทำลายด้วงเจาะลำต้นกล้วย (*Odoiporus longicollis*) ภายใต้ห้องปฏิบัติการ (แสงแข และคณะ, 2557) การประเมินประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต Bb1801 ในการควบคุมระยะตัวอ่อนของเต่าทอง (*Dendroctonus valens*) (Zhang et al., 2011) การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ในการเข้าทำลายด้วงงวงมะพร้าวระยะไข่ (*Rhynchophorus ferrugineus*) (Dembilio et al., 2010) และการศึกษาความอ่อนแอของเห็บระยะไข่ (*Ornithodoros lahorensis*) ต่อการได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* และเชื้อรา *B. bassiana* (Tavassoli et al., 2012) การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต GHA และเชื้อรา *M. brunneum* ไอโซเลต F52 ในการเข้าทำลายด้วงงวงมันเทศ (*Cylas formicarius*) ภายใต้ห้องปฏิบัติการและแปลง (Reddy et al., 2014) การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีศักยภาพเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำ (*Lipaphis erysimi*) (แก้วบัวสอน และ สุกัญญา, 2558)

แต่อย่างไรก็ตามสำหรับเพลี้ยจักจั่นแมลงพาหะนำโรคใบขาวอ้อย ยังไม่เคยมีการศึกษาถึงการนำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงมาใช้ในการควบคุมจำนวนประชากรของแมลงพาหะชนิดนี้มาก่อน จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ คือ คัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงพาหะเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ซึ่งเป็นแมลงพาหะหลัก เพื่อลดจำนวนประชากรแมลงและลดการระบาดของโรคใบขาวอ้อย

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ภายใต้ห้องปฏิบัติการ
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่เก็บรักษาโดยไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพ
3. เพื่อศึกษาความมีชีวิตในดินของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่เก็บรักษาโดยผ่านการแปรสภาพ

Ref. code: 25605809032583JBQ

1.3 ขอบเขตการวิจัย

คัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจากจำนวน 24 ไอโซเลต ที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ภายใต้ห้องปฏิบัติการ แล้วนำเชื้อราที่คัดเลือกได้มาเพิ่มปริมาณ แบ่งเชื้อราออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 เชื้อราไม่ผ่านการแปรสภาพ ส่วนที่ 2 เชื้อราผ่านการแปรสภาพ นำมาทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ภายใต้ห้องปฏิบัติการ ก่อนที่จะนำเชื้อราไปบรรจุชีวภัณฑ์และเก็บรักษา โดยระหว่างการเก็บรักษาจะนำเชื้อราออกมานับจำนวนสปอร์ ตรวจสอบความมีชีวิตและทดสอบประสิทธิภาพภายใต้สภาพโรงเรือน ทุกเดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน รวมถึงศึกษาความมีชีวิตในดินของเชื้อราที่เก็บรักษาโดยผ่านการแปรสภาพ ทุกเดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ไอโซเลตของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการและสามารถนำไปพัฒนาต่อเพื่อประโยชน์ในการควบคุมประชากรของแมลงพาหะในสภาพแปลงอ้อยได้ โดยลดการระบาดของแมลงพาหะและโรคใบขาวอ้อย

Ref. code: 25605809032583JBQ

บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของอ้อยและความเสียหายจากโรคใบขาวอ้อย

อ้อย (Sugarcane) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Saccharum officinarum* อยู่ในวงศ์ Poaceae ลำต้นประกอบด้วยข้อและปล้องเรียงติดต่อกัน มีตาเกิดบริเวณข้อ สีของลำต้นแตกต่างกันตามสายพันธุ์และอาจเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม ใบมีลักษณะเป็นกาบใบ ปลายใบแหลม ดอกออกเป็นช่อที่ปลายยอด เมล็ดคล้ายเมล็ดข้าวแต่มีขนาดเล็กกว่ามาก ติดแน่นอยู่กับดอก มีระบบรากฝอย (fibrous root system) แผ่กระจายรอบลำต้น (สมศรี และ รังสิมันต์, 2551) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย โดยนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำตาลเพื่อการบริโภค เนื่องจากลำต้นมีน้ำตาลซูโคสประมาณ 17-35% มีประโยชน์ในด้านการผลิตเชื้อเพลิง แอลกอฮอล์และสารเคมีหลายชนิด เช่น ผงชักฟอก สารเคลือบผิว และนอกจากนี้ยังให้ผลิตผลพลอยได้หลายอย่าง เช่น ชานอ้อย ใช้ผลิตเยื่อกระดาษ พลาสติก หมึกพิมพ์ และปุ๋ย กากน้ำตาล ใช้เป็นอาหารสัตว์และยีสต์ เป็นต้น (พลังงานเกษตร, 2558) ประเทศไทยจัดเป็นประเทศผู้ผลิตน้ำตาลอันดับสามของโลกรองจากประเทศบราซิลและอินเดียและจัดเป็นผู้ส่งออกรายใหญ่อันดับสองของโลกรองจากประเทศบราซิล (สุภาวดี, 2559) จากรายงานการสำรวจเขตพื้นที่ปลูกอ้อยทั่วประเทศครอบคลุม 47 จังหวัด โดยอาศัยข้อมูลจากภาพถ่ายดาวเทียมและการสำรวจภาคสนาม ปีการผลิต 2559/60 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกอ้อย 10,988,489 ไร่ และปริมาณผลผลิตอ้อย 92,950,098 ตัน ซึ่งพบว่ามีแนวโน้มลดลงจากปีการผลิต 2558/59 ที่มีพื้นที่เพาะปลูกอ้อย 11,012,839 ไร่ และปริมาณผลผลิตอ้อย 94,047,041 ตัน (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล, 2560) สาเหตุของการลดต่ำลงของผลผลิตอ้อยมีหลายประการ ทั้งนี้สาเหตุหนึ่งเกิดจากปัญหาโรคใบขาวอ้อย โรคที่สำคัญอันดับหนึ่งของการปลูกอ้อยในประเทศไทยที่พบการแพร่ระบาดมาเป็นเวลานาน ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2495 ในอ้อยสายพันธุ์ NCo. 421 ที่อำเภอเกาะคา จังหวัดลำปาง และเพิ่มมากขึ้นถึง 10 เท่า จนทำให้ผลผลิตลดลงมากกว่า 50% ในช่วงปี พ.ศ. 2505-2506 ต่อมาปี พ.ศ. 2532 ปัญหาจากโรคใบขาวอ้อยได้สร้างความเสียหายไปยังจังหวัดอุดรธานีและพบว่ามีแนวโน้มขยายเป็นบริเวณกว้างเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง กระทั่งปี พ.ศ. 2550 พบการแพร่ระบาดของโรคไปยังพื้นที่ปลูกอ้อยทุกภาคของประเทศไทย ส่งผลให้ผลผลิตอ้อยได้รับความเสียหาย 30-100% โดยพบมากที่สุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งจังหวัดขอนแก่นพบพื้นที่การระบาดของโรคครอบคลุม 6 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเวียงเก่า อำเภอเมือง อำเภอหนองนาคา อำเภอโนนศิลา อำเภอเขาสวนกวางและอำเภอน้ำพอง (แฉล้มและสุพัตรา, 2551) ในขณะที่

Ref. code: 25605809032583JBQ

ต่างประเทศก็พบการแพร่ระบาดของโรคใบขาวอ้อยขึ้นที่ประเทศอินเดีย ศรีลังกา บังคลาเทศและซูดาน จนส่งผลกระทบทำให้อ้อยเกิดความเสียหาย 20% ในอ้อยปลูก และ 100% ในอ้อยตอ ประเทศญี่ปุ่นพบการแพร่ระบาดที่ทาเนกาชิมะ แต่ต่อมาประเทศญี่ปุ่นเป็นเพียงประเทศเดียวที่สามารถควบคุมโรคใบขาวอ้อยได้ (Marcone, 2002) ในขณะที่ประเทศสาธารณรัฐจีน (ไต้หวัน) พบการแพร่ระบาดรุนแรงที่เมืองไทซานและเกาสู ลุกลามไปยังจังหวัดใกล้เคียงและขยายไปยังพื้นที่อื่นๆ ทั่วประเทศ จนมีการเลิกปลูกอ้อยในประเทศไต้หวัน ซึ่งปัจจุบันพบว่าโรคใบขาวอ้อยยังคงเป็นปัญหาทางการเกษตรเกือบทุกแหล่งการเพาะปลูกอ้อยของประเทศไทย เนื่องจากเป็นโรคที่แฝงอยู่ในท่อนพันธุ์ หากเกษตรกรนำท่อนพันธุ์ที่มีโรคไปปลูกก็จะเกิดการแพร่ระบาดอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้ยากต่อการป้องกันและกำจัด โดยพบว่าอ้อยปลูกใหม่มีการระบาดของโรคอยู่มากกว่า 25% ทั้งนี้อ้อยที่เป็นโรคจะมีค่าความหวานของอ้อยลดลง ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ก่อให้เกิดปัญหาไม่มีอ้อยส่งเข้าโรงงาน ทำให้ส่งผลกระทบต่อระบบอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลและสร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดอย่างรุนแรง ต้องรื้อถอนแปลงไม่สามารถไว้ตอได้ตามปกติ ทำให้สูญเสียผลผลิตและต้นทุนเป็นมูลค่าสูง (แฉล้มและสุพัตรา, 2551)

2.2 โรคใบขาวอ้อย

โรคใบขาวอ้อยมีสาเหตุมาจากเชื้อไฟโตพลาสมา กลุ่มย่อย 16 SrX-B ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่อาศัยอยู่ในท่อลำเลียงอาหาร (phloem) ของอ้อยที่เป็นโรค สามารถแพร่ระบาดโดยผ่านทางท่อนพันธุ์อ้อยที่มีเชื้อ และมีแมลงปากดูด 2 ชนิด คือ เพลี้ยจักจั่น *M.hiroglyphicus* และเพลี้ยจักจั่น *Y. flavovittatus* เป็นแมลงพาหะที่สำคัญ โดยภายหลังแมลงดูดกินน้ำเลี้ยงจากอ้อยที่เป็นโรคใบขาวผ่านเข้าไปในทางเดินอาหาร เชื้อไฟโตพลาสมาจะเพิ่มขยายจำนวนภายในลำตัว เมื่อแมลงเข้าดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นอ้อยปกติ เชื้อจะถูกปล่อยจากต่อมน้ำลายของแมลงและเกิดการถ่ายทอดไปยังต้นอ้อยปกติอีกครั้ง (ยุพา, 2552) เชื้อไฟโตพลาสมากลุ่มนี้จะทำให้อ้อยแสดงอาการใบเป็นสีเขียวซีดจางลงกลายเป็นสีขาวปนเหลือง กระทั่งมีสีขาวทั้งใบตั้งแต่ยอดจนทั่วทั้งต้น เนื่องจากการสูญเสียคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) ทำให้ใบมีลักษณะเรียวเล็ก สั้นลง จนถึงเป็นฝอย บริเวณโคนต้นปรากฏหน่อที่เจริญขึ้นมาพร้อมกับใบเล็กฝอยสีขาว โดยสามารถเริ่มแสดงอาการให้เห็นตั้งแต่อ้อยเริ่มงอกพ้นดินและพบว่ามีอาการรุนแรงมากในต้นอ่อนที่งอกจากอ้อยตอ ในขณะที่อ้อยที่เจริญเติบโตเต็มที่ภายหลังได้รับเชื้อ ส่วนยอดและตาข้างที่แตกออกมาใหม่จะเป็นสีขาว ลำต้นแคระแกร็นและตายในที่สุด หรืออาจมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีเขียวเหมือนปกติได้ แต่ยังมีอาการของโรคใบขาวอ้อยแฝงอยู่และสามารถแสดงออกได้ตลอดเวลา (พรทิพย์, 2542) (ภาพที่ 2.1)

Ref. code: 25605809032583JBQ

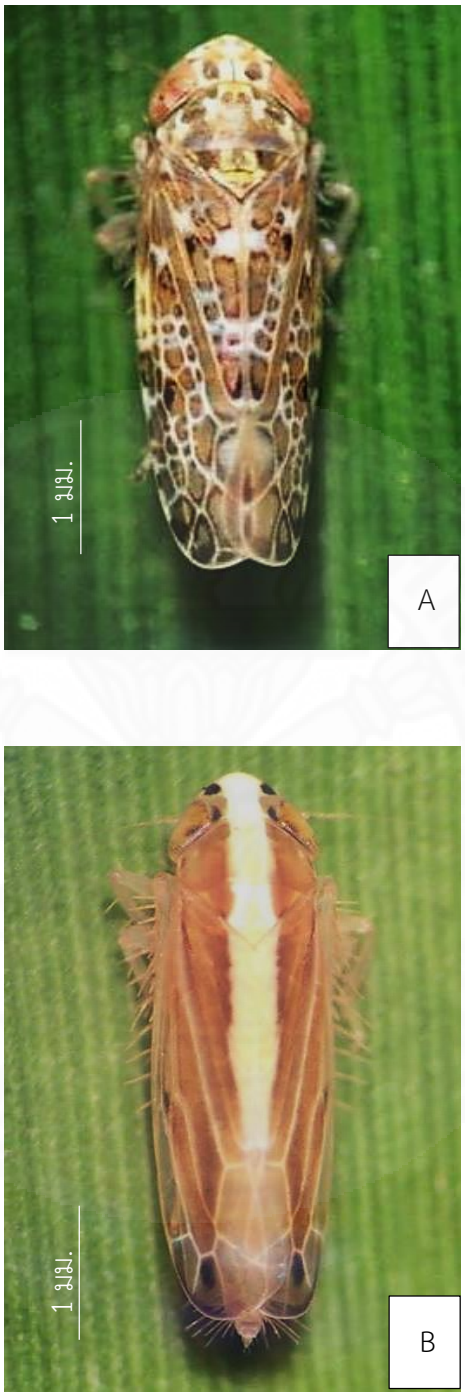
ภาพที่ 2.1 ต้นอ้อย (A) และแปลงอ้อย (B) ที่แสดงอาการโรคใบขาวอ้อย

Ref. code: 25605809032583JBQ

2.3 เพลี้ยจักจั่นแมลงพาหะนำโรคใบขาวอ้อย

เพลี้ยจักจั่นแมลงพาหะนำโรคใบขาวอ้อยที่สำคัญพบมี 2 ชนิด คือ เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* และเพลี้ยจักจั่น *Y. flavovittatus* (ภาพที่ 2.2) จัดอยู่ในอันดับ Hemiptera วงศ์ Cicadellidae วงศ์ย่อย Deltocephalinae เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* เป็นแมลงที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบง่าย (simple metamorphosis) มีระยะการเจริญเติบโตแบ่งออกเป็น 3 ระยะ เริ่มจากระยะไข่ พบภายในดินทรายที่มีอุณหภูมิ 30-35 ºC และความชื้นในดินประมาณ 10% ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการวางไข่ของเพลี้ยจักจั่น ไข่จะมีรูปร่างเรียวยาว สีขาวใสและจะเปลี่ยนเป็นสีขาวขุ่นและสีเหลืองในเวลาต่อมา ไข่ในดินจะฟักเป็นตัวอ่อนที่มีลักษณะคล้ายกับตัวเต็มวัยแต่มีขนาดตัวเล็กกว่าและมีปีกที่ยังไม่เจริญ พบเห็นตามพื้นดินและโคนต้นอ้อย (ยุพา, 2559) โดยตัวอ่อนประกอบไปด้วย 5 วัย ตัวอ่อนวัยที่ 1 ใช้เวลาประมาณ 3-4 วัน จากตัวอ่อนวัยที่ 1 เป็นตัวอ่อนวัยที่ 2 ใช้เวลาประมาณ 4-5 วัน จากตัวอ่อนวัยที่ 2 เป็นตัวอ่อนวัยที่ 3 ใช้เวลาประมาณ 3 วัน จากตัวอ่อนวัยที่ 3 เป็นตัวอ่อนวัยที่ 4 ใช้เวลาประมาณ 3 วัน และจากตัวอ่อนวัยที่ 4 เป็นตัวอ่อนวัยที่ 5 ใช้เวลาประมาณ 3 วัน โดยตัวอ่อนวัยที่ 5 จะเจริญเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 4-5 วัน (ยุพา, 2552) ซึ่งพบอาศัยบริเวณซอกกาบใบอ้อย เพลี้ยจักจั่นตัวเต็มวัยจะมีลักษณะลำตัวสีน้ำตาล บนปีกมีลวดลายสีน้ำตาลเข้ม เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะคล้ายคลึงกัน แต่เพศผู้มีขนาดลำตัวเล็กและส่วนปลายท้องยาวแหลมกว่าเพศเมีย โดยเพศผู้มีวงจรชีวิต 31-40 วัน และเพศเมีย 36-44 วันในสภาพแปลงอ้อยปกติ การผสมพันธุ์เกิดขึ้นบริเวณใบอ้อย หลังจากนั้นประมาณ 3-5 วัน จะวางไข่กระจายอยู่ทั่วไปที่ผิวหน้าดินทรายลึก 0.5 ซม. แต่จะพบไข่ได้จำนวนมากรอบโคนต้นอ้อย โดยเพศเมียวางไข่เฉลี่ยประมาณ 40-50 ฟอง/ตัว ได้ตลอดทั้งปี แต่พบว่าไม่ได้มีการเพิ่มปริมาณประชากรแมลงสูงขึ้นเนื่องจากมีปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมเป็นตัวควบคุมการเพิ่มปริมาณ (ยุพา, 2559) ในขณะที่พฤติกรรมการเคลื่อนที่และการดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นอ้อย ส่งผลโดยตรงต่อการแพร่ระบาดของโรค เนื่องจากแมลงที่ดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นอ้อยที่เป็นโรคจะได้รับเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวอ้อยและส่งผ่านเชื้อไปตามต่อมน้ำลาย ท่อทางเดินอาหาร ฮีโมลิมท์ (heamolymph) และอวัยวะสืบพันธุ์ แล้วเกิดการเพิ่มปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาภายในตัวแมลง โดยพบการถ่ายทอดเชื้อสู่ต้นอ้อยได้ทั้งในแมลงระยะตัวเต็มวัยและตัวอ่อนและยังสามารถถ่ายทอดเชื้อจากรุ่นพ่อแม่สู่รุ่นลูกผ่านทางไข่ได้ (Hanboonsong et al., 2002) เพลี้ยจักจั่น *Y. flavovittatus* มีระยะการเจริญเติบโตแบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ ระยะไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย เพศเมียวางไข่บนใบอ้อยใช้ระยะเวลา 7-9 วัน จะกลายเป็นระยะตัวอ่อนที่แบ่งออกเป็น 5 วัย และใช้ระยะเวลา 15-17 วัน จะเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย โดยตัวเต็มวัยจะมีอายุเฉลี่ย 35-45 วัน (ยุพา, 2552)

Ref. code: 25605809032583JBQ



ภาพที่ 2.2 แมลงพาหะนำเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยตัวเต็มวัย เพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) (A) เพลี้ยจักจั่น *Yamatotettix flavovittatus* Matsumura (B)

Ref. code: 25605809032583JBQ

(A)

(B)

ภาพที่ 2.3 วงจรชีวิตของเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) (A) และเพลี้ยจักจั่น *Yamatotettix flavovittatus* Matsumura (B)

ที่มา: ยุพา, 2559

Ref. code: 25605809032583JBQ

2.4 แนวทางการควบคุมโรคใบขาวอ้อยและแมลงพาหะ

การจัดการโรคใบขาวอ้อยสามารถจัดการตามวิธีการที่เหมาะสมเพื่อลดความรุนแรงและการแพร่ระบาดของโรค ในกรณีที่พบการแพร่ระบาดไม่รุนแรงสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การควบคุมโดยวิธีกลเป็นการช่วยลดปริมาณการแพร่กระจายของประชากรแมลงพาหะและลดการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชด้วยการใช้กับดักโดยอาศัยหลักการของพฤติกรรมของแมลงพาหะในการมองเห็นแสงสีต่างๆ เพื่อหาพืชอาหารในการดูดกินและวางไข่ที่ช่วยดึงดูดหรือขับไล่แมลงพาหะ การใช้ตาข่ายหรือมุ้งกันแมลง แต่วิธีการนี้ไม่สามารถใช้ในแปลงปลูกที่มีพื้นที่ขนาดใหญ่ได้และการใช้พลาสติกดูดซับแสงยูวี (UV) (ยุพา, 2559) ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลงพาหะมาทำเป็นโรงเรือนเพาะปลูก การควบคุมโดยวิธีการเขตกรรมที่ช่วยป้องกันการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคและแมลงพาหะ ซึ่งถ้าปฏิบัติอย่างเคร่งครัดและถูกวิธีสามารถลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคได้เป็นอย่างดี มีทั้งการปฏิบัติด้านการสุขอนามัยด้วยการคัดเลือกใช้ท่อนพันธุ์ที่ปราศจากโรค การขุดและเผาต้นที่เป็นโรคทิ้งและการกำจัดวัชพืชบริเวณภายในและรอบแปลงปลูกเพื่อทำลายแหล่งอาศัยของแมลงพาหะ ส่วนการปฏิบัติด้านการจัดการเกษตรกรรมพืชเพื่อเป็นการป้องกันและขจัดเชื้อออกจากแปลงและการทำเขตกรรมพืชต่างๆ เพื่อลดการเกิดโรคและแมลงพาหะ ด้วยการปลูกพืชในเขตปลอดโรค ควบคุมความหนาแน่นของพืช มีการจัดการช่วงระยะเวลาในการปลูกและเก็บเกี่ยว การปลูกพืชอื่นเป็นตัวกั้นหรือขัดขวางการระบาด การเลือกใช้พันธุ์ต้านทานและการปลูกพืชหมุนเวียน นอกจากนี้ยังมีวิธีการฉีดพ่นสารเคมีกำจัดวัชพืชเฉพาะกออ้อยที่เป็นโรค ฉีดสารเคมีฆ่าแมลงเพื่อกำจัดแมลงพาหะ วิธีการแช่ท่อนพันธุ์ในน้ำร้อนก่อนการนำท่อนพันธุ์ไปขยายปลูกในปีต่อไปด้วยการแช่ท่อนพันธุ์ลงในน้ำร้อนอุณหภูมิ 52 ºC เป็นเวลา 2 ชั่วโมงหรือน้ำร้อนอุณหภูมิ 54 ºC เป็นเวลา 40 นาที แต่วิธีการนี้สามารถกำจัดเชื้อในท่อนพันธุ์ได้เพียงบางส่วน พบการสูญเสียความงอกของตาที่ท่อนพันธุ์ไม่เหมาะสมต่อการปลูกอ้อยที่ต้องการใช้ท่อนพันธุ์จำนวนมาก เสียเวลาและค่าใช้จ่ายสูง (ยุพา, 2552) ท่อนพันธุ์ไม่เพียงพอต่อช่วงเวลาที่ต้องการปลูก อีกทั้งพบว่าการแช่ท่อนพันธุ์ด้วยยาปฏิชีวนะในกลุ่มเตตราไซคลีน (tetracycline) หรือยาปฏิชีวนะการมิซิดีน (gramicidin) ร่วมด้วย ก็สามารถช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อและระงับอาการของโรคได้ชั่วคราว วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) ด้วยเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) การควบคุมโดยวิธีการซิมไบโอติกด้วยการอาศัยจุลินทรีย์ร่วมอาศัยที่เรียกว่า ซิมไบออน (symbionts) ที่แยกออกมาจากภายในลำตัวแมลง ก่อนนำมาดัดแปลงลักษณะทางพันธุกรรมเพื่อให้แสดงออกของยีนที่สามารถทำลายเชื้อโรคและนำกลับเข้าสู่แมลงพาหะให้ยีนนั้นแสดงออกอยู่ในตัวแมลงพาหะได้ (ยุพา, 2559) ส่วนกรณีพบการแพร่ระบาดรุนแรงจนคาดการณ์ว่าจะประสบปัญหากับการสูญสียผลผลิตจำนวนมาก จำเป็นต้อง

Ref. code: 25605809032583JBQ

รื้อถอนแปลง สำรวจตอเก่าที่งอกแล้วขุดทำลายหรือใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชฉีดพ่นกอที่พบโรค เพื่อป้องกันเชื้อแพร่ระบาดไปยังแปลงอื่น การปลูกพืชเศรษฐกิจอื่น เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง เป็นต้น สลับกับการปลูกอ้อยหรือการปลูกพืชตระกูลถั่วเป็นปุ๋ยพืชสดหมุนเวียน เช่น ถั่วพร้า ปอเทือง โสนแอฟริกัน ถั่วมะแฮะ เป็นต้น เพื่อทำลายแหล่งอาศัยหรือตัดวงจรชีวิตของแมลงพาหะ ช่วยปรับปรุงบำรุงดินและช่วยเพิ่มผลผลิตอ้อย นอกจากนี้การปรับเปลี่ยนช่วงเวลาการปลูกมาเป็นในช่วงที่ไม่ใช่ฤดูฝน โดยภาคตะวันออกเฉียงเหนือปลูกในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม ภาคตะวันตกปลูกในช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนสิงหาคม เพื่อหยุดการเจริญพันธุ์หรือลดจำนวนประชากรของแมลง และภายหลังการปลูกมีการดูแลและสำรวจพื้นที่ปลูกอ้อยเป็นประจำทุก 7–15 วัน หากพบอ้อยที่คาดว่าเป็นโรค ไม่ควรปล่อยไว้ให้เป็นแหล่งสะสมเชื้อโรคและที่อยู่อาศัยของแมลงพาหะ แต่อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวสามารถช่วยควบคุมแมลงพาหะได้เพียงบางส่วนเท่านั้น (พรทิพย์, 2542; ยุพา, 2559)

ปัจจุบันยังไม่มีวิธีการในการจัดการโรคใบขาวอ้อยให้หมดไปได้และยังไม่มีพันธุ์อ้อยต้านทานที่สามารถทนต่อการเกิดโรค ดังนั้นการลดการระบาดและควบคุมโรคใบขาวอ้อยจำเป็นต้องอาศัยวิธีการผสมผสานในการป้องกันกำจัดแมลงพาหะและควบคุมการเกิดโรคต่อต้นอ้อย โดยจัดการดูแลให้มีการป้องกันและกำจัดโรคและแมลงพาหะตั้งแต่ระยะก่อนปลูก ระยะการเจริญเติบโตไปจนถึงระยะการเก็บเกี่ยวและหลังการเก็บเกี่ยวของการปลูกและเจริญเติบโตของอ้อย อย่างไรก็ตามสามารถประเมินการเกิดโรคใบขาวในแปลงอ้อยได้ หากต้นอ้อยแสดงอาการโรคใบขาว สามารถประเมินอย่างละเอียด โดยการเดินสำรวจนับจำนวนต้นอ้อยทั้งหมดที่แสดงอาการโรคใบขาวต่อพื้นที่และนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ หรือการประเมินแบบประมาณ โดยใช้ในกรณีที่มีพื้นที่ขนาดใหญ่ หากต้นอ้อยไม่แสดงอาการโรคใบขาว ควรมีการตรวจสอบการติดเชื้อโรคใบขาวในแปลง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างส่วนตาที่ลำต้นมาวิเคราะห์หาเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยในห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้การประเมินการเกิดโรคก็มีประโยชน์ต่อการป้องกันกำจัด รวมถึงการใช้ประเมินเพื่อนำอ้อยในแปลงไปใช้ทำพันธุ์ต่อไป (ยุพา, 2559)

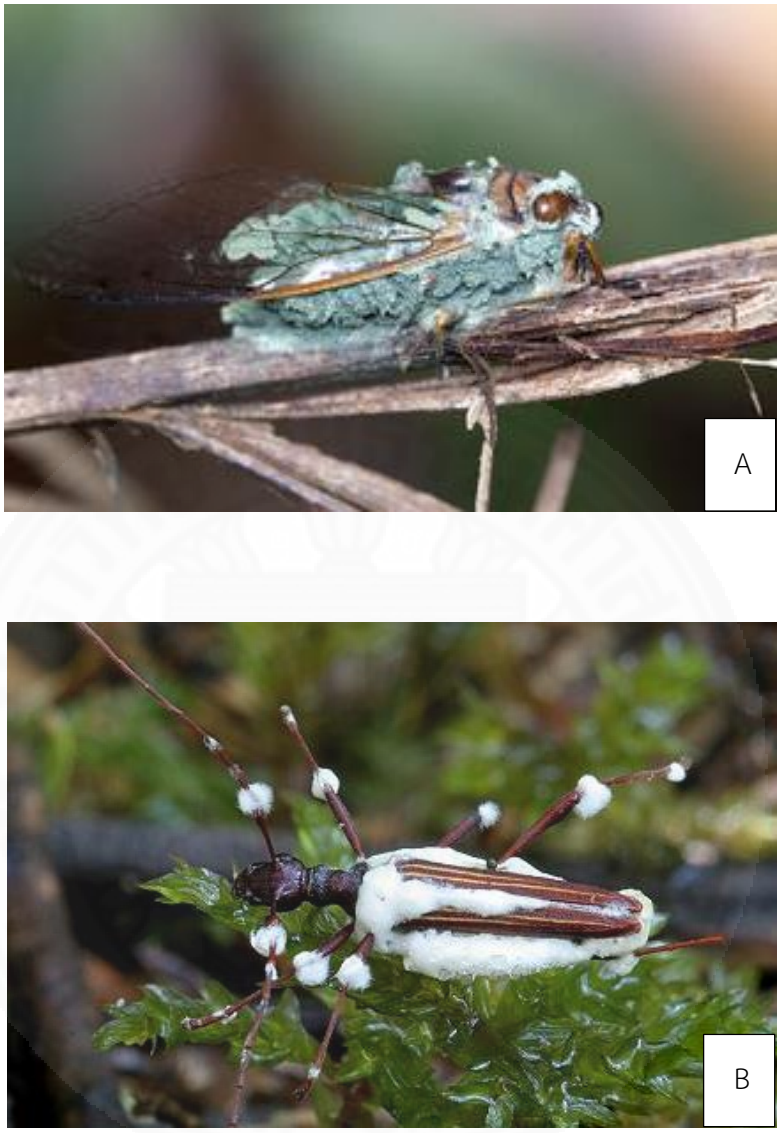
Ref. code: 25605809032583JBQ

2.5 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เชื้อรา (fungi; เอกพจน์ คือ fungus) เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีอยู่ประมาณ 1.5-5.1 ล้านสปีชีส์ (Hibbett et al., 2011) เซลล์เป็นแบบยูคาริโอต (eukaryotes) มีโครโมโซม 1 ชุด (haploid) ไม่สามารถสร้างอาหารเองได้ เนื่องจากไม่มีรงควัตถุในการสังเคราะห์แสง แต่ดำรงชีวิตแบบเฮเทโรทรอพ (heterotroph) โดยเป็นผู้ย่อยสลายซากสิ่งมีชีวิต (saprophyte) ปรสิต (parasite) หรือดำรงชีวิตแบบร่วมอาศัย (symbionts) เซลล์มีทั้งชนิดเซลล์เดียว (yeast) และเส้นใย (hyphal) ซึ่งโดยทั่วไปปรากฏเห็นเป็นเส้นใยบางๆ ฟูกระจายบนผิวหน้าวัตถุที่เชื้อราไปเจริญอยู่ เส้นใยมีทั้งแบบมีผนังกั้น (septate hypha) และไม่มีผนังกั้น (nonseptate hypha) เชื้อราสืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ (spore) มีทั้งแบบไม่อาศัยเพศ (asexual spore) และอาศัยเพศ (sexual spore) สามารถดำรงชีวิตได้ทั้งแบบอิสระ (saprophyte) อาศัยภายในต้นพืช (endophyte) และก่อให้เกิดโรคกับพืชหรือสัตว์ สปอร์เชื้อราที่ไปตกอยู่จะงอกและสร้างท่อเจริญ (germ tube) แล้วแตกแขนงเป็นเส้นใยที่มีลักษณะเป็นท่อที่หุ้มส่วนที่เป็นของเหลวและองค์ประกอบภายในเซลล์ด้วยผนังเซลล์อยู่และจะเจริญยืดยาวออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อราและสภาพแวดล้อมที่เชื้อราไปเจริญเติบโตด้วย (ชุลี, 2546; นุกูล, 2551)

เชื้อราสาเหตุโรคแมลงเป็นกลุ่มเชื้อราที่มีความเฉพาะเจาะจงและเป็นปรสิตกับแมลง สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติที่มีสภาวะเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต โดยเชื้อรามีส่วนช่วยในการสร้างความสมดุลในระบบนิเวศด้วยการเข้าทำลายแมลง (ภาพที่ 2.3) และเมื่อนำมาจัดกลุ่มตามหลักอนุกรมวิธานของเชื้อรา พบว่ามีเชื้อราประมาณ 750-1,000 ชนิด ที่ถูกจัดจำแนกไว้ได้มากกว่า 100 สกุล (Mora et al., 2016) โดยเชื้อรากลุ่มที่สำคัญในการเข้าทำลายแมลงมี 5 กลุ่ม คือ Oomycetes, Chytridiomycetes, Zygomycotes, Trichomycetes และ Deuteromycetes ซึ่งเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงพบมากที่สุดในกลุ่ม Zygomycetes แต่จากการค้นคว้าวิจัยในปัจจุบันพบว่า เชื้อราที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมแมลงได้มาจากกลุ่ม Deuteromycetes (imperfect fungi) เนื่องจากเชื้อราสาเหตุโรคแมลงส่วนใหญ่สามารถเข้าทำลายแมลงได้บางชนิด แต่เชื้อราในกลุ่ม Deuteromycetes มีขอบเขตในการเข้าทำลายแมลงได้หลากหลายชนิด (แมลงในอันดับ Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera Heteroptera, Homoptera, Diptera) หรือมีความเฉพาะเจาะจงค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราในกลุ่มอื่นๆ (ชาญณรงค์, 2549) ซึ่งเชื้อราบางชนิดถูกนำมาใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการควบคุมแมลงศัตรูด้วยชีววิธีมาเป็นเวลานานและได้รับความนิยมในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพ ได้แก่ เชื้อราสกุล *Metarhizium* สกุล *Beauveria* สกุล *Verticillium* และสกุล *Paecilomyces* เป็นต้น

Ref. code: 25605809032583JBQ



ภาพที่ 2.4 ลักษณะแมลงในสภาพธรรมชาติที่ถูกเชื้อราสกุล *Metarhizium* (A) และ *Beauveria* (B) เข้าทำลาย

ที่มา: http://zipcodezoo.com/index.php/Metarhizium_anisopliae

http://www.hiddenforest.co.nz/fungi/family/clavicipitaceae/clavi10.htm

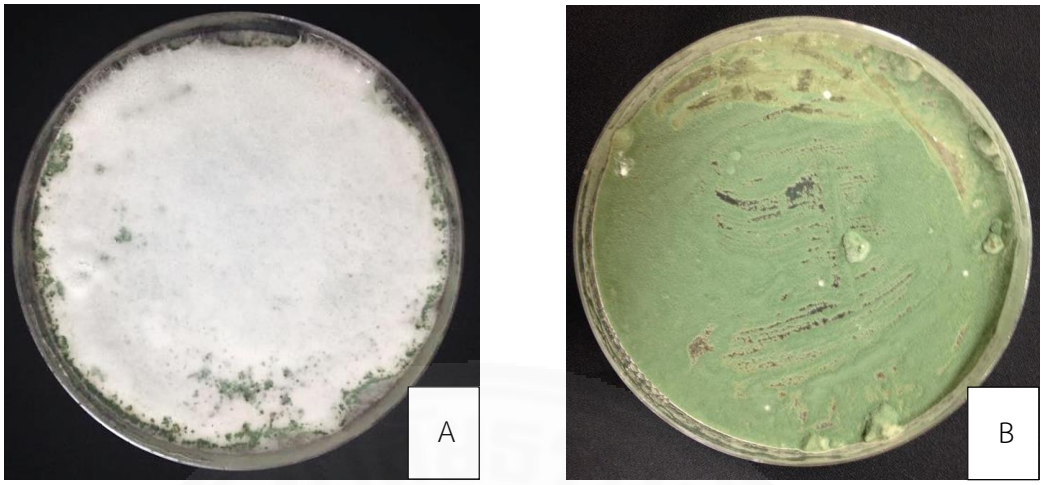
Ref. code: 25605809032583JBQ

2.5.1 เชื้อราสกุล *Metarhizium*

เชื้อราสกุล *Metarhizium* หรือเชื้อราเขียว (green muscardine fungi) เป็นเชื้อราที่สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ด้วยการสร้างเส้นใยสีขาวที่ไม่มีผนังกั้นและเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่จะสร้างสปอร์ขนาด 3.5-9.0 ไมโครเมตร รูปร่างกลม กลมรีหรือทรงกระบอกที่มีสีเหลือง สีเขียวจนถึงเทา (ภาพที่ 2.4) สามารถดำรงชีวิตได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมทั้งภายในต้นพืช อาศัยบนซากพืช ซากสัตว์ พบในดินและเป็นปรสิตที่ทำให้ตัวแมลงตายหลายชนิด เดิมสามารถจำแนกเชื้อราสกุลนี้ ตามหลักอนุกรมวิธานออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ *M. anisopliae*, *M. taii, M. pingshaense* และ *M. guizhouense* ต่อมาจำแนกใหม่ออกเป็น 9 ชนิด คือ *M. anisopliae*, *M. acridum*, *M. guizhouense*, *M. pingshaense*, *M. lepidiotae*, *M. majus, M. robertsii*, *M. brunneum* และ *M. globosum* (Kimberly and Seow, 2017) อย่างไรก็ตาม เชื้อราในสกุลเดียวกันในแต่ละสปีชีส์จะมีความเฉพาะเจาะจงต่อการเข้าทำลายแมลงแตกต่างกัน โดยบางสปีส์ชีส์สามารถเข้าทำลายแมลงได้หลากหลายชนิด (generalist) แต่บางสปีชีส์สามารถเข้าทำลายแมลงได้บางชนิด เช่น เชื้อรา *M. anisopliae* มีผลต่อการเข้าทำลายแมลงมากกว่า 7 อันดับ ในขณะที่เชื้อรา *M. acridum* สามารถเข้าทำลายแมลงในสกุล *Acrididae* ได้เพียงสกุลเดียว (Hua et al., 2014) ทั้งนี้เชื้อรามีการสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่เป็นสารพิษ (mycotoxin) ต่อแมลงแตกต่างกัน เช่น เชื้อรา *M. anisopliae* จะผลิตสารเดสทรูซิน (destruxins) และไซโตชาลาซิน (cytochalasin) ที่มีผลยับยั้งต่อระบบภูมิคุ้มกันและทำลายระบบกล้ามเนื้อของแมลง เป็นต้น (สุพัตรา และคณะ, 2555)

มีการจำแนกเชื้อราจากสภาพธรรมชาติ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูและพัฒนามาเป็นผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพในปัจจุบัน โดยเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ได้รับความนิยมในการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ เชื้อรา *M. anisopliae* (Li et al., 2012) *M. guizhouense*, (กนกกาญจน์ และ นริศ, 2559) *M. brunneum* (Behle et al., 2013) และ *M. pingshaense* (Martínez-Hernández et al., 2015) ทั้งนี้เชื้อราในสกุลนี้ยังพบว่าได้รับความนิยมมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราในสกุลอื่น เนื่องจากสามารถคงความมีชีวิตในดินได้นาน มีความไวต่อสิ่งกระตุ้นที่เกิดจากจุลินทรีย์ภายในดินช้า ต้านทานต่อการถูกรบกวนจากกระบวนการทำการเกษตรได้ (Asensio et al., 2003) และในเชิงพาณิชย์ของการนำมาพัฒนาเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพบว่าสามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารเทียมและวัสดุเพาะได้ โดย Damir (2006) ทำการศึกษาผลของวัสดุเพาะเลี้ยงต่อการผลิตสปอร์ของเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต 500B พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* มีแนวโน้มในการสร้างปริมาณสปอร์บนวัสดุเพาะข้าวโพด ข้าวสาลีและข้าวฟ่างได้ดี อีกทั้งยังเจริญเติบโตดี เป็นเชื้อราที่มีความคงทน ผลิตสปอร์ได้ปริมาณมากและสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อประโยชน์ทางการเกษตรได้ง่าย

Ref. code: 25605809032583JBQ

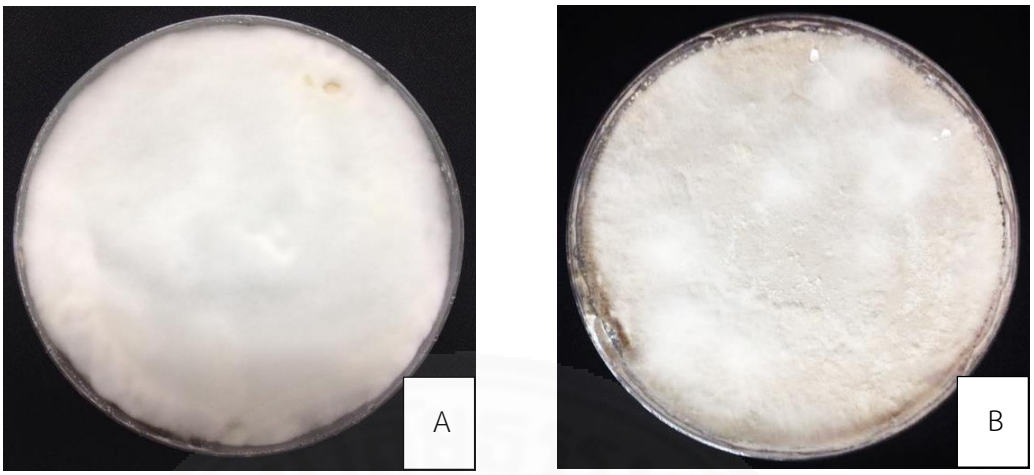


ภาพที่ 2.5 ลักษณะการเจริญเติบโตเป็นเส้นใยสีขาว (A) และการสร้างสปอร์สีเขียวเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่ของเชื้อราสกุล *Metarhizium* (B)

2.5.2 เชื้อราสกุล *Beauveria*

เชื้อราสกุล *Beauveria* หรือ เชื้อราขาว (white muscardine fungi) เป็นเชื้อราที่สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยการสร้างเส้นใยสีขาวที่ไม่มีผนังกั้นและเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่จะสร้างสปอร์รูปร่างกลม กลมรีหรือทรงกระบอก ที่ไม่มีรงควัตถุ (hyaline) จึงทำให้เห็นเป็นสปอร์สีขาว (ภาพที่ 2.5) ดำรงชีวิตภายในต้นพืช อาศัยบนซากพืช พบได้ในดินและเป็นปรสิตที่ทำให้แมลงตายหลายชนิด เชื้อราสกุลนี้จำแนกตามหลักอนุกรมวิธานออกเป็น 13 ชนิด ได้แก่ *B. velata*, *B. amorpha*, *B. caledonica*, *B. vermiconia, B. malawiensis*, *B. brongniartii*, *B. varroae*, *B. kipukae*, *B. bassiana*, *B. sungii*, *B. feline* และ *B. globulifera* (Rehner et al., 2011) โดยเชื้อราแต่ละชนิดจะมีการสร้างสารทุติยภูมิที่มีผลต่อการเข้าทำลายแมลงแตกต่างกัน เช่น เชื้อรา *B. bassiana* สร้างสารบาสเซียนิน (bassianin) บิวเวอริซิน (beauvericin) บาสเซียโนไลด์ (bassianolide), บิวเวอโอไลด์ (beauverolide) และเทอเนลลิน (tenellin) และเชื้อรา *B. brongnairt* สร้างสารโอโอสปอร์รีน (oosporein) เป็นต้น (สุพัตรา และคณะ, 2555) ซึ่งมีผลทำลายระบบประสาทในแต่ละตำแหน่งของแมลง เชื้อราสกุลนี้พบว่าได้รับความนิยมในการนำมาใช้เพื่อควบคุมแมลงศัตรูน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสกุล *Metarhizium* อย่างไรก็ตามก็มีการนำเชื้อราสกุล *Beauveria* 2 ชนิด มาใช้และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อควบคุมแมลงศัตรู ได้แก่ เชื้อรา *B. bassiana* และ *B. brongniartii* เนื่องจากพบได้ในดินตามสภาพธรรมชาติและเมื่อนำมาขยายเพิ่มปริมาณก็สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย

Ref. code: 25605809032583JBQ



ภาพที่ 2.6 ลักษณะการเจริญเติบโตเป็นเส้นใยสีขาว (A) และการสร้างสปอร์สีขาวเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่ของเชื้อราสกุล *Beauveria* (B)

ทั้งนี้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงได้หลากหลายชนิด สามารถพบแพร่กระจายในหลายพื้นที่และถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อควบคุมแมลงศัตรูทางการเกษตรมีดังนี้ (ตารางที่ 2.1)

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เชื้อรา	แมลงอาศัย (host)	การแพร่กระจาย
Metarhizium anisopliae (Deuteromycota)	แมลงอาศัยหลายชนิด (Lepidoptera, Hymenoptera)	แพร่หลายทั่วโลก
Beauveria bassiana (Deuteromycota)	แมลงอาศัยทุกชนิด	แพร่หลายทั่วโลก
Hirsutella thompsonii (Deuteromycota)	แมง เห็บ ไร	แพร่หลายทั่วโลก
Cordyceps militaris (Ascomycota)	ตัวอ่อนและดักแด้ของ Lepidoptera, Coleopteran บางชนิด และ Hymenoptera	แพร่หลายทั่วโลก
Nomuraea rileyi (Deuteromycota)	ตัวอ่อนและดักแด้ของ Lepdioptera, Coleoptera	แพร่หลายทั่วโลก
Paecilomyces farinosus (Deuteromycota)	แมลงอาศัยหลายชนิด (Lepidoptera, Diptera, Homoptera, Coleopteran, Hymenoptera)	แพร่หลายทั่วโลก
Verticillium lecanii (Deuteromycota)	แมลงทั่วๆ ไป โดยเฉพาะเพลี้ยอ่อน	แพร่กระจายทั่วไป, เขตร้อน และเขตกึ่งร้อน
Entomophthora, Erynia และจุลินทรีย์ที่คล้ายเชื้อรา (Zygomycota)	แมลงหลายชนิด แต่พบมากในแมลงอาศัยที่เฉพาะเจาะจงกับเชื้อรา เช่น *Entomophthora muscae* บนแมลงวัน, *Erynia neoaphidis* บนเพลี้ยอ่อน	แพร่หลายทั่วโลก
Coelomomyces sp.	ยุง และ ริ้น; เฉพาะเจาะจงกับแมลงอาศัย	แพร่กระจายทั่วไป

ที่มา: Deacon, 1997

Ref. code: 25605809032583JBQ

2.6 กลไกการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เชื้อราสาเหตุโรคแมลงเป็นจุลินทรีย์ที่มีลักษณะการก่อให้เกิดโรคกับแมลงแตกต่างจากไวรัส แบคทีเรียและไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคแมลง เนื่องจากไวรัส แบคทีเรียและไส้เดือนฝอยต้องเข้าไปภายในลำตัวแมลงศัตรูแล้วจึงก่อให้เกิดโรคได้ ในขณะที่เชื้อราสามารถเข้าทำลายแมลงได้ด้วยการสัมผัสโดยตรง โดยมีกลไกการเข้าทำลายดังนี้ (ภาพที่ 2.6)

1) การสัมผัสและการงอกของสปอร์ (adhesion and germination) การก่อให้เกิดโรคกับแมลง เริ่มต้นจากบลาสโตสปอร์ (blastospores) ที่แพร่กระจายจากกลุ่มของเชื้อรามาสัมผัสกับชั้นผิวที่มีองค์ประกอบของลิพิด (lipid) ไคทิน (chitin) และโปรตีน (protein) ที่เป็นโครงร่างแข็งภายนอกของลำตัวแมลง (insect exoskeleton) และถูกยึดติดไว้ด้วยความชื้นหรือสารเมือก (mucilage) บนชั้นผิว รวมกับการได้รับสภาพแวดล้อม (ความชื้น อุณหภูมิ และรังสี UV) และเชื้อราที่มีความรุนแรง บลาสโตสปอร์จะสร้างท่อเจริญ แทงทะลุผ่านชั้นผิวของแมลง และมีเอนไซม์ไลเพส (lipase) ไคติเนส (chitinases) และโปรติเอส (protease) ที่เชื้อราสร้างขึ้น ช่วยส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตทำให้เกิดช่องว่างที่เชื้อราสามารถแทรกเข้าสู่ชั้นผิวของแมลงได้ อย่างไรก็ตามระยะการลอกคราบของแมลงก็สัมพันธ์ต่อความสามารถในการยึดติดของบลาสโตสปอร์

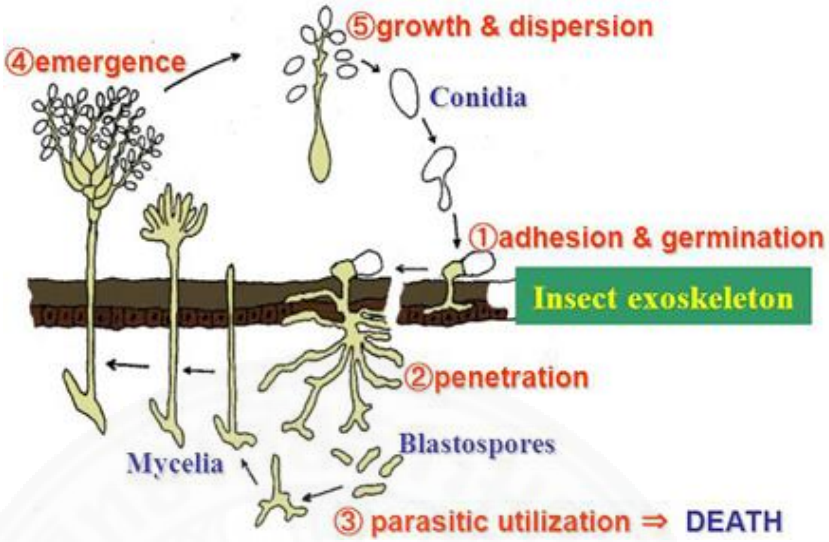
2) การแทรกผ่านชั้นผิวของแมลง (penetration) เชื้อราจะแทรกผ่านชั้นผิวและ/หรือช่องเปิดของแมลง เช่น รูหายใจ (spiracle) ช่องรับความรู้สึก (sensory pore) บาดแผล เป็นต้น เข้าไปยังระบบการไหลเวียนของเลือดและขัดขวางการทำงานของอวัยวะต่างๆ ภายในตัวแมลง ซึ่งเชื้อราบางชนิดอาจมีการปลดปล่อยสารพิษร่วมด้วย

3) การเข้าทำลายภายในลำตัวแมลง (parasitic utilization) ในกระบวนการเข้าทำลายแมลงที่เกิดขึ้น จะเป็นการแข่งขันกันระหว่างบลาสโตสปอร์กับระบบภูมิคุ้มกันของแมลง หากระบบภูมิคุ้มกันของแมลงไม่สามารถต้านทานได้ แมลงจะอ่อนแอ ความสามารถในการเคลื่อนที่ลดลง กินอาหารไม่ได้ และตายในที่สุด ซึ่งเชื้อราจะอาศัยร่างกายแมลงเป็นแหล่งที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการเจริญเติบโต

4) การเจริญออกมาจากซากของแมลง (emergence) เชื้อราจะเจริญเติบโตภายในร่างกายแมลงโดยการสร้างเส้นใย จนทั่วลำตัวแมลงและเจริญออกมาปกคลุมซากของแมลง

5) การเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของเชื้อรา (growth and dispersion) บลาสโตสปอร์ที่เจริญบนปลายเส้นใยบนซากของแมลงสามารถแพร่กระจายต่อไปได้โดยอาศัยน้ำ ลม หรือแมลงปกติตัวอื่นๆ ที่มาสัมผัสโดยตรงกับซากแมลงที่ตายแล้ว (ชาญณรงค์, 2549; Almudena and Nemat, 2013; Abrol, 2014)

Ref. code: 25605809032583JBQ



ภาพที่ 2.7 กลไกการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง
ที่มา: http://www.idemitsu.com/products/agri/product/microbe/insecticide/vaiorisa.html

2.7 การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรู

การนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมจำนวนประชากรของแมลงถือเป็นวิธีการที่ได้มีการศึกษามาเป็นเวลานาน โดยเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเป็นหนึ่งในเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะการเข้าทำลายแมลงที่แตกต่างกับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นและค่อนข้างมีความน่าสนใจต่อการนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารจุลินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรู ด้วยเหตุนี้จึงมีนักวิทยาศาสตร์พยายามค้นคว้าและวิจัยเพื่อพัฒนาศักยภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง เช่น Li et al. (2012) ทำการทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสกุล *Beauveria* และเชื้อราสกุล *Metarhizium* จำนวน 12 ไอโซเลต กับระยะตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*N. lugens*) พบว่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีเปอร์เซ็นต์การตาย 17.2–82.1% ภายหลังการให้เชื้อรา 10 วัน ความรุนแรงระหว่างเชื้อราของไอโซเลตที่ทำการทดสอบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยเชื้อรา *M. flavoviride* ไอโซเลต Mf82 และเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต Ma20 มีความรุนแรงมากที่สุดและมีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของแมลง 82.1 และ 65.4% ตามลำดับ Ravindran et al. (2015) ทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต Tk4 ต่อการเข้าทำลายปลวก (*Coptotermes formosanus*) พบว่าภายหลังการให้แขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับ

Ref. code: 25605809032583JBQ

ความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์/มล. 2-4 วัน ทำให้ปลวกมีอัตราการตายระหว่าง 23.3-86.6% และภายหลังการตาย 4-7 วัน พบเส้นใยสีขาวขึ้นปกคลุมและปรากฏสปอร์สีเขียวของเชื้อราบนซากของปลวก Erler and Ates (2015) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ต่อการควบคุมแมลงนูน (*P. fullo*) ระยะตัวอ่อนวัยที่ 1, 2 และ 3 พบว่าแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $4x10^9$ สปอร์/มล. ทำให้ตัวอ่อนวัยที่ 1 และ 2 มีอัตราการตายระหว่าง 27.2-79.8% และวัยที่ 3 มีอัตราการตายระหว่าง 17.5-71.6% Mohammadbeigi and Port (2015) ทำการศึกษาผลของเชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* กับระยะตัวอ่อนของตั๊กแตนหนวดยาว (*Uvarovistia zebra*) พบว่าแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ระดับความเข้มข้น $5x10^8$ สปอร์/มล. ทำให้แมลงมีอัตราการตาย 57.7 และ 55.5% ตามลำดับ Zhang et al. (2011) ทำการประเมินประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต Bb1801 ในการควบคุมระยะตัวอ่อนของเต่าทอง (*D. valens*) พบว่าแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์/มล. ใช้ระยะเวลาที่ทำให้แมลงตาย 50% (Lethal Time; LT_{50}) เท่ากับ 4.60 วัน Tavassoli et al. (2012) ทำการศึกษาความอ่อนแอของเห็บ (*O. lahorensis*) ระยะไข่ต่อการได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* และเชื้อรา *B. bassiana* พบว่าภายหลังไข่ของเห็บได้รับแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์/มล. ไข่มีลักษณะหด เปลี่ยนเป็นสีแดง มีการสร้างสปอร์ที่ผิวของไข่และมีอัตราไข่ไม่ฟัก 85.5% อัญชลี และคณะ (2553) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล *Metarhizium* spp. ไอโซเลตภาคตะวันออกเฉียงเหนือในการควบคุมแมลงศัตรูที่สำคัญทางเศรษฐกิจ พบว่าการทดสอบกับตัวเต็มวัยยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*) ด้วยแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $6x10^8$ สปอร์/มล. ให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 6.00-80.67% ในขณะที่การทดสอบกับหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua*) ให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 3.33-40.00% กนกกาญจน์ และ นริศ (2557) ทำการทดสอบการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต PSUM04 เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) พบว่าแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1×10^9$ และ $1×10^8$ สปอร์/มล. ส่งผลให้เพลี้ยอ่อนผักตายเท่ากับ 100 และ 98% ตามลำดับ อารยา และคณะ (2558) ทำการคัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* ที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*N. lugens*) ในนาข้าว พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 4 ไอโซเลต คือ MRT-PCH-01-03, MRT-PCH-01-08, MRT-PCH-0138 และ MRT-PCH-01-48 สามารถทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายทั้งหมดได้ภายใน 6 วัน ภายหลังสัมผัสเชื้อรา โดยระยะเวลาที่ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% (LT_{50}) คือ 3.38, 3.24, 3.31 และ 3.12 วัน ตามลำดับ เอกรัฐ และคณะ (2555) ทำการศึกษาความเข้มข้นของเชื้อรา *B. bassiana* ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*N. lugens*) ในกล้าข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ภายใต้ห้องปฏิบัติการ พบว่าระดับความเข้มข้นของเชื้อรา

Ref. code: 25605809032583JBQ

B. bassiana มีผลต่ออัตราการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยแมลงที่ได้รับเชื้อราระดับความเข้มข้น 1×10^8 สปอร์/มล. มีอัตราการตายมากที่สุด เท่ากับ 86.25% ในระยะเวลา 5 วัน และเพิ่มขึ้นเป็น 96.25% ในระยะเวลา 7 วัน ในขณะที่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ได้รับเชื้อราระดับความเข้มข้น 1×10^7 และ 1×10^6 สปอร์/มล. มีอัตราการตายลดลง ตามลำดับ หงส์ฟ้า และนริศ (2557) ทำการศึกษาผลของเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต PSUM02 ต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันพริก (*Bactrocera latifrons*) ภายใต้ห้องปฏิบัติการ พบว่าที่แขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์/มล. อัตราการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันพริกเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีอัตราการจับคู่ผสมพันธุ์ลดลงเหลือ 0.43% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีอัตราการจับคู่ผสมพันธุ์เท่ากับ 8.86% ภายหลังการถูกเชื้อราเข้าทำลาย 4 วัน นอกจากนี้ไม่พบการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันพริกเพศผู้ที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายในวันที่ 5 และ 6 ด้วย Dimbi et al. (2009) ทำการศึกษาผลของการให้เชื้อรา *M. anisopliae* ต่อพฤติกรรมการจับคู่ของแมลงวันผลไม้ 3 ชนิด (*Ceratitis capitata, C. cosyra* และ *C. fasciventris*) พบว่าตัวผู้ที่ให้เชื้อรามีความล่าช้าในการเกี้ยวพาราสีและการจับคู่กับเพศเมียที่ไม่ได้ให้เชื้อราโดยใช้เวลา 70-80 นาที ในขณะที่การเกี้ยวพาราสีและการจับคู่กับเพศเมียที่ให้เชื้อราใช้เวลา 15-16 นาที และช่วยลดอัตราการเกิดตัวอ่อนได้มากกว่าการให้เชื้อรากับเพศผู้เพียงอย่างเดียว

2.8 การผลิตให้ได้ปริมาณมาก การปรับรูปแบบและการเก็บรักษาเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

การผลิตเชื้อราสาเหตุโรคแมลงให้ได้ปริมาณมากที่สุด ภายใต้ต้นทุนต่ำที่สุด วิธีการขึ้นอยู่กับความต้องการโดยทั่วไปของการเพาะเลี้ยงเชื้อราและชนิดของเชื้อรานั้นๆ โดยอาจจะมีลักษณะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันบนอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน ทั้งนี้อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ปริมาณอากาศที่เชื้อราได้รับและองค์ประกอบของวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อราล้วนแต่มีอิทธิพลต่อปริมาณการเกิดสปอร์ของเชื้อรา ความมีชีวิต อายุการเก็บรักษา และความรุนแรงของเชื้อราทั้งสิ้น ดังนั้นกระบวนการผลิตเชื้อราที่ออกแบบขึ้น จึงมีเป้าหมายแรกเพื่อให้ได้สปอร์ของเชื้อราจำนวนมาก แต่อย่างไรก็ตามปัจจัยสำคัญที่ต้องพิจารณาระหว่างกระบวนการพัฒนาเชื้อราได้แก่ สภาพของอาหารหรือวัสดุที่นำมาเพาะเลี้ยงเชื้อรา ความคงทนระหว่างการทำให้แห้งและการเก็บรักษาเชื้อรา Prasad and Pal (2014) ทำการศึกษาการผลิตเชื้อรา *B. bassiana M. anisopliae* และ *Verticilium lecanii* จากของเสียที่ได้จากภาคการเกษตรและอุตสาหกรรม ได้แก่ ปุ๋ยมูลสัตว์, กากตะกอนจากโรงงานน้ำตาล กากข้าวโพด และชานอ้อย พบว่าเชื้อราที่เลี้ยงในปุ๋ยมูลสัตว์ให้จำนวนสปอร์เชื้อรามากที่สุด โดยเชื้อรา *B. bassiana* มีจำนวนสปอร์ 278.75×10^6 สปอร์/มล.

Ref. code: 25605809032583JBQ

M. anisopliae มีจำนวนสปอร์ 171.75x10^6 สปอร์/มล. และ *V. lecanii* มีจำนวนสปอร์ 185x10^6 สปอร์/มล. อีกทั้งปุ๋ยมูลสัตว์ยังเป็นวัตถุดิบที่ใช้ต้นทุนต่ำที่สุดในการผลิตเชื้อราที่ระดับความเข้มข้น 1x10^6 สปอร์/มล. เมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบชนิดอื่น

Banik *et al*. (2014) ได้ทำการศึกษาการผลิตเชื้อรา *B. bassiana* ให้ได้สปอร์อย่างรวดเร็ว ด้วยต้นทุนต่ำและง่ายต่อการผลิต โดยการนำโพลียูริเทนโฟม (polyurethane foams) กลับมาใช้ใหม่ ซึ่งพบว่าโพลียูริเทนโฟมช่วยส่งเสริมการผลิตสปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* ที่ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูของชาได้ โดยการผลิตสปอร์ของเชื้อราด้วยโพลียูริเทนโฟม เมื่อระยะเวลาผ่านไป 10 วัน พบจำนวนสปอร์เชื้อราเฉลี่ย 8.3x10^9 สปอร์/ก. ซึ่งเพิ่มขึ้นจากวันแรก โดยสังเกตจากการเกิดไมซีเลียมของเชื้อราขึ้นปกคลุมโพลียูริเทนโฟม

Amala *et al*. (2012) ได้ทำการศึกษาการผลิตเชื้อรา *P. lilacinus* ให้ได้ปริมาณมากด้วยวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อราที่เป็นของแข็ง โดยใช้รำข้าวจ้าว รำข้าวสาลี กากน้ำมันงา กากมะพร้าว และกากสะเดา มาเพาะเลี้ยงเชื้อรา ผลการทดลองพบว่ารำข้าวช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของสปอร์เชื้อรามากที่สุด มีจำนวนสปอร์ 4.32x10^8 สปอร์/มล. ตามด้วยข้าวสาลี มีจำนวนสปอร์ 3.19x10^8 สปอร์/มล. ในขณะที่กากสะเดาทำให้การเจริญเติบโตของสปอร์เชื้อราต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อราที่เป็นของแข็งชนิดอื่น มีจำนวสปอร์ 2.16x10^8 สปอร์/มล. ภายหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อรา 28 วัน โดยปริมาณสปอร์ของเชื้อราลดลงทีละน้อยภายหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อรา 4 สัปดาห์ เชื้อราที่เพาะเลี้ยงบนรำข้าวเจ้าเป็นเวลา 1 เดือน มีประสิทธิภาพในการทำลายแมลง อาจกล่าวได้ว่ารำข้าวเป็นวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อราที่เป็นของแข็งที่มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ให้ได้ปริมาณมาก

นิภา และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อและเมล็ดธัญพืชต่างชนิดต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสปอรเชื้อราขาว *B. bassiana* ที่จำแนกได้จากดินในพื้นที่ทางการเกษตรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเพาะเลี้ยงดวยอาหารเลี้ยงเชื้อ ภายหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อรา 14 วัน พบว่าเชื้อราเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร Sabouraud dextrose agar + yeast extract (SDAY) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 51.17 มม. ส่วนการเพาะเลี้ยงเชื้อราบนเมล็ดธัญพืชชนิดต่างๆ พบว่าข้าวเสาไห้หักสร้างสปอร์เฉลี่ยได้มากที่สุดเท่ากับ 6.37x10^9 สปอร์/ก. รองลงมา คือ ข้าวเสาไห้ ข้าวโพดหัก ข้าวโพดและข้าวฟาง ตามลำดับ

การปรับรูปแบบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในปัจจุบัน ช่วยให้เชื้อรามีประสิทธิภาพคงที่ลดความอ่อนแอที่จะเกิดจากสิ่งแวดล้อมและสามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย อีกทั้งการปรับรูปแบบของเชื้อรายังเป็นการช่วยแก้ไขลักษณะและความปลอดภัยของเชื้อรา (เช่น การขจัดผงสปอร์เชื้อราที่ทำให้เกิดการแพ้ระหว่างการเตรียมเพื่อผสมเป็นสารละลายสำหรับพ่น) ทำให้เกิด

Ref. code: 25605809032583JBQ

ความคงที่ของเชื้อราก่อนและภายหลังการนำไปประยุกต์ใช้ แก้ไขปัญหาการต้านทานของแมลง เป็นการส่งเสริมประสิทธิภาพการทำงานของเชื้อราและง่ายต่อการเข้าทำลายแมลงศัตรูเป้าหมาย แต่อย่างไรก็ตามจุดประสงค์ของการปรับรูปแบบเชื้อราก็เพื่อคงความมีชีวิตของเชื้อรา เมื่อเก็บรักษาภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (Lacey et al., 2015) ดังนั้นการเพิ่มเทคนิคในการผลิตและการปรับรูปแบบของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเพื่อใช้ในการกำจัดแมลงศัตรู จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อราและเป็นการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางชีววิธีที่สามารถเทียบเท่าในเชิงการพานิชย์กับผลิตภัณฑ์ทางเคมีได้ (Behle et al., 2013)

เชื้อราที่ได้รับการปรับรูปแบบให้มีประสิทธิภาพแล้ว ถูกนำไปใช้ประโยชน์โดยนำมาเป็นสารจุลินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูในระบบการเกษตรกันอย่างแพร่หลาย ดังนั้นระบบการเกษตรจะเกิดความเสียหาย ถ้าเชื้อราที่ได้รับการปรับรูปแบบแล้วไม่มีประสิทธิภาพหรือมีประสิทธิภาพต่ำ การปรับรูปแบบเชื้อราจึงเป็นการปรับปรุงให้เชื้อราสามารถอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่จะนำเชื้อราไปใช้ได้ โดยในปัจจุบันพบการปรับรูปแบบเชื้อราให้อยู่ในรูปแบบต่างๆ ดังนี้

2.8.1 รูปแบบผง (dust formulation)

การทดลองภายใต้ห้องปฏิบัติการโดยการประยุกต์ใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลง พบว่าการประยุกต์ใช้เชื้อราในรูปแบบแห้งเป็นรูปแบบที่มีประสิทธิภาพมากกว่าเชื้อราในรูปแบบอื่นๆ อย่างไรก็ตาม การประยุกต์ใช้เชื้อรารูปแบบแห้งภายใต้สภาพแปลง ประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราอาจถูกจำกัดด้วยสภาพแวดล้อม ซึ่งโดยธรรมชาติแล้วสปอร์ของเชื้อราจะชอบน้ำ (hydrophilic) ดังนั้นเมื่อนำเชื้อราไปประยุกต์ใช้ในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นเพียงพอ สปอร์เชื้อราจะรวมตัวกันเป็นก้อน เกิดมวลของสปอร์เชื้อราที่มีความสามารถในการปกคลุมตัวแมลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดย Sharififard et al. (2014) ได้ทำการทดสอบผลของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงรูปแบบผง ด้วยการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต IRAN437C ควบคุมแมลงสาบ (*Supella longipalpa*) พบว่าอัตราการตายของแมลงสาบระยะตัวเต็มวัยภายหลังการให้เชื้อรา 7 วัน คิดเป็น 100% และเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าปริมาณของแขวนลอยสปอร์เชื้อราที่ทำให้แมลงตายได้ 50% (Lethal Dose; LD_{50}) ภายหลังการให้เชื้อรา 30 วัน พบว่าค่าปริมาณของแขวนลอยสปอร์เชื้อราที่ทำให้แมลงสาบระยะตัวเต็มวัยตายได้ 50% คิดเป็น $1.7x10^6$ สปอร์/ตร.ซม. ส่วนตัวอ่อนวัยที่ 3 และ 4 คิดเป็น $4.5x10^6$ และ $2.9x10^7$ สปอร์/ตร.ซม. ตามลำดับ ดังนั้นการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต IRAN437C ในรูปแบบผง จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการควบคุมแมลงสาบ

Batta (2004) ทำการศึกษาการควบคุมด้วงงวงข้าว (*Sitophilus oryzae*) ด้วยเชื้อรา *M. anisopliae* ในรูปแบบต่างๆ ดังนี้ เชื้อรารูปแบบผสมเถ้า ผงชอล์ค ผงถ่านและแป้งข้าว

Ref. code: 25605809032583JBQ

สาลี ในอัตราส่วน 1:4 (W:W) โดยเชื้อราที่ผสมผงถ่านและเถ้า เชื้อราสามารถคงความมีชีวิตได้นาน 4.1-4.3 เดือน ที่อุณหภูมิ 20±1 °C ในขณะที่เชื้อราที่ไม่ได้ผสมกับวัสดุอื่น สามารถคงความมีชีวิตอยู่ได้เพียง 27 วัน ที่ภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกัน เมื่อนำเชื้อราที่ผสมผงถ่านและเถ้าไปใช้ในอัตรา 2.8 มก./ตร.ซม. ของพื้นที่ที่ทำการทดลอง ผลการทดลองพบว่าภายหลังการทดลอง 7 วัน ด้วงงวงข้าวมีอัตราการตาย 73.3-86.7%

2.8.2 รูปแบบเม็ด (granule formulation)

การปรับรูปแบบเชื้อราให้อยู่ในรูปแบบเม็ดเป็นการประยุกต์ใช้เชื้อราโดยเพิ่มโอกาสในการเข้าทำลายแมลงบางชนิดที่มีระยะการเจริญเติบโตอาศัยอยู่ในดินและได้รับการป้องกันจากถูกสปอร์เชื้อราเข้าทำลายโดยตรง จึงมีงานวิจัยจำนวนมากมุ่งที่จะศึกษาเพื่อทำให้เชื้อราอยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมในเชิงการค้าจากเดิมที่เป็นผงโรยลงในดิน ทั้งนี้การปรับปรุงเชื้อราให้อยู่ในรูปแบบเม็ดสามารถเติมสารอาหารไปยังเม็ดที่เพาะเลี้ยงเชื้อราได้ ซึ่งเป็นการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา เป็นการเพิ่มอายุการเก็บรักษา สะดวกต่อการนำไปประยุกต์ใช้ กระจายไปยังพื้นที่เป้าหมายได้ง่าย มีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสัตว์ (Skinner et al., 2012) โดยเชื้อราในรูปแบบเม็ดเป็นการทำให้เชื้อราจับตัวกันด้วยการใช้ดินเหนียว หรือใช้เมล็ดพืช โดยสายพันธุ์ของธัญพืชที่จะนำมาใช้เป็นส่วนประกอบ ทั่วไปแล้วจะเลือกใช้เมล็ดที่สามารถทำให้แห้งภายหลังการผลิตได้ มีรูปร่างที่มีพื้นที่ผิวสัมผัสมากในการยอมให้เชื้อราเข้าไปเจริญเติบโตและเป็นเมล็ดที่มีอนุภาคเล็กสามารถผ่านเข้าไปตามโพรงไม้หรือรอยแยกดินที่พบแมลงศัตรูได้ดี (Abrol, 2014) โดย Behle et al., (2013) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. brunneum* ไอโซเลต F52 รูปแบบเม็ดในการเข้าทำลายระยะตัวอ่อนของเห็บ (*Ixodes scapularis*) พบว่าเชื้อราที่นำมาประยุกต์ใช้ในกระถางที่มีความชื้นเหมาะสม มีเส้นใยเชื้อราเกิดขึ้นภายใน 2 สัปดาห์ และเชื้อราเหล่านี้ยังคงความมีชีวิตอยู่ได้ 8 สัปดาห์ภายหลังการประยุกต์ใช้ โดยผลิตเชื้อราตั้งแต่ 3.05×10^{9}–1.24×10^{10} สปอร์/ก. ในขณะที่นำเชื้อรามาทดสอบกับเห็บก็ทำให้เห็บตายได้ 74%

Skinner et al. (2012) ได้ทำการศึกษาการจัดการเพลี้ยไฟ (*Frankliniella occidentalis*) ด้วยเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต ARS7060 และเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต ERL1171 รูปแบบเม็ดบนต้นดาวเรือง โดยนำผลการทดลองมาเปรียบเทียบกับเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต GHA ซึ่งเป็นเชื้อราเชิงการค้าของ BotaniGard® กับกรรมวิธีควบคุม (ไม่ได้ให้เชื้อรา) พบว่าเมื่อนำเชื้อราในรูปแบบเม็ดไปวางบนผิวหน้าดินของกระถางที่ปลูกดาวเรือง ภายหลังการทดลอง 8 สัปดาห์เพลี้ยไฟมีจำนวนรวมเฉลี่ยลดลง 81 และ 90% ในกระถางที่ให้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต ERL1171 และ *B. bassiana* ไอโซเลต ARS7060 ตามลำดับ ในขณะที่จำนวนรวมเฉลี่ยของเพลี้ยไฟในกระถางที่เป็นกรรมวิธีควบคุมและได้รับเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต GHA ให้ผลไม่

Ref. code: 25605809032583JBQ

แตกต่างกันทางสถิติ อีกทั้งต้นดาวเรืองยังถูกทำลายน้อยกว่า 60% เมื่อเปรียบเทียบกับต้นดาวเรืองที่เป็นกรรมวิธีควบคุมและได้รับเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต GHA ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการประยุกต์ใช้เชื้อราในดินที่อยู่ในรูปแบบเม็ด สามารถลดจำนวนประชากรเพลี้ยไฟและป้องกันพืชจากการถูกเพลี้ยไฟเข้าทำลายได้

Geden and Steinkraus (2003) ทำการประเมินเชื้อรา *B. bassiana* 3 รูปแบบในการควบคุมด้วงดำ (*Alphitobius diaperinus*) และด้วงหนังสัตว์ (*Dermestes maculatus*) ภายใต้สภาพโรงเรือนเลี้ยงสัตว์ปีกประเทศจอร์เจีย โดยแต่ละรูปแบบประกอบด้วยรูปแบบผสมน้ำมัน รูปแบบเม็ดและรูปแบบกาก ซึ่งแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ การทดลองในโรงเรือนที่ 1 เป็นการประยุกต์ใช้เชื้อรา *B. bassiana* ในรูปแบบผสมน้ำมันและรูปแบบเม็ด ระดับความเข้มข้น $1x10^9$ สปอร์/ตร.ม. และรูปแบบกากของเสีย $1x10^8$ สปอร์/ตร.ม. ส่วนการทดลองในโรงเรือนที่ 2 ทำการทดลองเช่นกันแต่เพิ่มอัตราความเข้มข้นของเชื้อราเป็น 6 เท่าของความเข้มข้นของเชื้อราในการทดลองในโรงเรือนที่ 1 พบว่าเชื้อรามีอายุสั้นโดยอยู่ได้เพียง 2 สัปดาห์ อย่างไรก็ตาม ก็ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมของพื้นที่ที่นำเชื้อราไปประยุกต์ใช้ โดยเชื้อรารูปแบบเม็ดของเชื้อรา *B. bassiana* สามารถทำลายตัวอ่อนของด้วงได้ดีที่สุดคิดเป็น 60-90%

2.8.3 รูปแบบผสมน้ำมัน (oil-base formulation)

เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่อยู่ในรูปแบบผสมน้ำมัน เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรา โดยเข้าไปเพิ่มโอกาสการจับของสปอร์กับผิวชั้นคิวติเคิลของแมลง อย่างไรก็ตาม ความสำเร็จในการเข้าจับที่ผิวของแมลงก็ขึ้นอยู่กับมิวซิเลจ พันธะไฮโดรโฟบิก (hydrophobic bond) และแรงไฟฟ้าสถิตย์ (electrostatic force) ด้วย ทำให้เชื้อราสามารถเข้าทำลายแมลงได้ที่ความชื้นต่ำและอุณหภูมิสูง นอกจากนี้น้ำมันที่ผสมลงไปจะช่วยป้องกันสปอร์ของเชื้อราจากการถูกรังสียูวี เข้าทำลาย (Ummidi and Vadlamani, 2014) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Luz et al. (2004) ที่ทำการศึกษาเชื้อรา *B. bassiana* สูตรผสมน้ำมันในการเข้าทำลายมวนเพชฌฆาต (*Triatoma sordida*) ในประเทศบราซิล โดยเพาะเลี้ยงเชื้อราในถุงที่บรรจุข้าวนึ่งจำนวน 500 ก. และเติมน้ำกลั่น 300 มล. บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C ให้แสง 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 วัน ก่อนนำสปอร์ของเชื้อรามาประยุกต์ใช้ มีการปรับแขวนลอยสปอร์เชื้อราด้วยการเติม 10% Aqueous emulsifier ร่วมกับน้ำมันพืช (vegetable oil) ให้มีระดับความเข้มข้นสุดท้ายเป็น $1x10^6$ สปอร์/ตร.ซม. แล้วนำไปทดสอบกับมวนเพชฌฆาตในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ภายใต้สภาพโรงเรือนเลี้ยงไก่จำนวน 4 ฟาร์ม พบว่าจำนวนของมวนเพชฌฆาตลดลงมากกว่า 80% ภายหลัง 25 วันต่อมา ทั้งในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยและพบเชื้อรา *B. bassiana* เจริญเติบโตขึ้นบนตัวแมลงที่ตาย

Ref. code: 25605809032583JBQ

Batta and Mansfield (2010) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต BG1 ต่อการทำลายระยะตัวอ่อนของหนอนนก (*Tenebrio molitor*) โดยเปรียบเทียบแขวนลอยเชื้อราที่ผสมน้ำมันคาโนลา (canola) กับที่ไม่ผสมน้ำมัน พบว่าค่าระดับความเข้มข้นของแขวนลอยสปอร์เชื้อราที่ทำให้หนอนนกตายได้ 50% (Lethal concentration; LC_{50}) เป็นแขวนลอยสปอร์เชื้อราที่ผสมน้ำมันระดับความเข้มข้น $8.1x10^5$ สปอร์/มล. ในขณะที่แขวนลอยสปอร์เชื้อราที่ไม่ผสมน้ำมันต้องใช้ระดับความเข้มข้น $5.1x10^8$ สปอร์/มล. จะเห็นว่าการผสมน้ำมันลงในแขวนลอยสปอร์เชื้อรา ช่วยเพิ่มความเหนียวข้นและประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายหนอนนกได้และเป็นการเพิ่มศักยภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเมื่อนำไปพัฒนาเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์

Prior et al. (1988) ทำการศึกษาการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *B. bassiana* ในรูปแบบผสมน้ำมันกับระยะตัวเต็มวัยของด้วงงวง (*P. plutus*) ด้วยเชื้อรา *B. bassiana* ที่จำแนกได้จากด้วงภายใต้สภาพแปลง ผลการทดลองพบว่าค่าระดับความเข้มข้นของแขวนลอยสปอร์เชื้อราที่ทำให้ด้วงงวงตัวเต็มวัยตายได้ 50% (LC_{50}) เป็นเชื้อราในรูปแบบผสมน้ำมันมะพร้าวระดับความเข้มข้น $1.18x10^3$ และ $4.29x10^4$ สปอร์/มล. ทั้งนี้แขวนลอยน้ำมันยังคงก่อให้เกิดโรคได้ เมื่อประยุกต์ใช้กับเครื่องฉีดพ่นสารและสามารถเก็บรักษาเพื่อไว้ใช้ได้เป็นเวลา 40 วัน ภายใต้อุณหภูมิ 4 °C

การแปรสภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลงให้อยู่ในรูปแบบต่างๆ ได้แก่ รูปแบบผง รูปแบบผสมน้ำมันและรูปแบบเม็ด ทั้งนี้เพื่อความเป็นประโยชน์ต่อประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรู คำนึงถึงความสะดวกและปลอดภัยของเกษตรกรผู้นำไปประยุกต์ใช้และสามารถเก็บรักษาโดยคงความมีชีวิตได้นานตามช่วงชีวิตของเชื้อรา อย่างไรก็ตามขั้นตอนระหว่างกระบวนการแปรสภาพให้เชื้อราอยู่ในแต่ละรูปแบบอาจส่งผลต่อการสูญเสียความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราได้ ซึ่งปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการแปรสภาพจะต้องสอดคล้องกับการเจริญเติบโตของเชื้อรา สิ่งสำคัญของการแปรสภาพเชื้อราให้อยู่ในรูปแบบเม็ด คือ ปริมาณน้ำที่ทำให้เกิดสภาพความชื้นที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตบนวัสดุแต่ละชนิดที่เพาะเลี้ยงเชื้อรา โดยที่ปริมาณความชื้นบนวัสดุเพาะรำข้าวสาลีปริมาณความชื้น 66% ทำให้เกิดการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* $1.18x10^{10}$ สปอร์/ก. (Gaona et al., 2010) Damir (2006) ศึกษาผลของวัสดุเพาะเลี้ยงและปริมาณน้ำต่อการผลิตสปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* พบว่าเชื้อราที่เพาะเลี้ยงบนข้าวสาลีที่มีอัตราส่วนของวัสดุเพาะต่อปริมาณน้ำ 1:1 มีการผลิตสปอร์ปริมาณมากกว่า เมื่อเปรียบทียบกับการเพาะเลี้ยงที่อัตราส่วนของวัสดุเพาะต่อปริมาณน้ำ 1:1.5 และ 1:0.5 ดังนั้นการนำวัสดุเพาะเลี้ยงที่มีเชื้อราเจริญเติบโตอยู่ไปลดปริมาณความชื้นเพื่อนำไปบรรจุชีวภัณฑ์สำหรับเก็บรักษาจึงเสี่ยงต่อการสูญเสียความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา ซึ่งต้องมีการคัดแยกสปอร์เชื้อราออกจากวัสดุเพาะเพื่อทำเป็นเชื้อรารูปแบบผง โดยมีการศึกษาผล

Ref. code: 25605809032583JBQ

ของระดับอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาสปอร์ของเชื้อรา *M. flavoviride* ในช่วงระยะเวลา 3-4 เดือน พบว่าเชื้อราที่เก็บรักษาในรูปแบบผงที่อุณหภูมิ 10-14 ºC มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา 95% ในขณะที่อุณหภูมิ 28-32 ºC มีเปอร์เซ็นต์การงอก 27% (Moore et al., 2010) อีกทั้งเชื้อรา *M. anisopliae* รูปแบบผง ภายหลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 เดือน ที่อุณหภูมิห้องเย็น (6 ºC) อุณหภูมิตู้เย็น (12 ºC) และอุณหภูมิห้อง (27 ºC) พบว่าเชื้อราที่เก็บรักษาภายใต้สภาพอุณหภูมิห้องเย็นมีประสิทธิภาพการงอกสูงสุดที่ $6.19x10^5$ ค่าเฉลี่ยของโคโลนีต่อหน่วยน้ำหนักสปอร์ (CFU/g) เมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิตู้เย็น (เสาวนิตย์ และคณะ 2551) และวนิดา (2559) ได้รายงานการมีชีวิตรอดของสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* ภายใต้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกัน พบว่าเชื้อราที่เก็บรักษาเป็นเวลา 90 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ºC มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ลดลงจากเริ่มต้นเฉลี่ย 0.46% ต่อวัน ในขณะที่อุณหภูมิ 30 ºC มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ลดลงเฉลี่ย 0.53% อย่างไรก็ตาม เชื้อรารูปแบบผงก็มีโอกาสสูญเสียความมีชีวิตของสปอร์ได้ จำเป็นต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ทั้งนี้อาจเนื่องจากเชื้อรารูปแบบผงขาดปัจจัยในการเจริญเติบโตจากสารอาหารบนวัสดุเพาะ ส่วนเชื้อรารูปแบบผสมน้ำมันหรือรูปแบบน้ำ จะเป็นเชื้อราในรูปของเหลวที่มีการเติมสารประกอบที่ไม่มีคุณสมบัติเข้าทำลายแมลง แต่เป็นสารที่ช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราลงไป Camargo et al. (2012) ทำการศึกษาผลของเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต Ma959 และเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต Ba986 รูปแบบผสมน้ำมัน Mineral ต่อการเข้าทำลายเห็บ (*Rhipicephalus microplus*) ภายใต้ห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรารูปแบบผสมน้ำมันทำให้ตัวอ่อนของเห็บมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่าเชื้อรารูปแบบไม่ผสมน้ำมัน โดยเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต Ma959 และเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต Ba986 รูปแบบผสมน้ำมันทำให้มีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 93.69 และ 21.67% ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อรา *M. anisopliae* และเชื้อรา *B. bassiana* รูปแบบไม่ผสมน้ำมันทำให้มีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 18.70 และ 1.72% ตามลำดับ เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต Ma959 และเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต Ba986 รูปแบบผสมน้ำมันทำให้ไข่ของเห็บมีอัตราการฟักลดลง 102.5 และ 3.65 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ทั้งนี้เชื้อราทั้งสามรูปแบบถูกพัฒนาขึ้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลง ความสะดวกต่อการนำไปประยุกต์ใช้ ความปลอดภัยของเกษตรกรและให้สอดคล้องกับวิธีการเก็บรักษาเพื่อคงความมีชีวิตของเชื้อรา

เชื้อราที่ผ่านการแปรสภาพแต่ละรูปแบบจะนำมาเก็บรักษาด้วยชีวภัณฑ์ที่ช่วยส่งเสริมการยืดอายุตามช่วงชีวิตของเชื้อรา โดยเชื้อรารูปแบบผงและรูปแบบเม็ดถูกนำมาเก็บรักษาในชีวภัณฑ์สุญญากาศ (vacuum packaging) เพื่อช่วยชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อราในระหว่างการเก็บรักษา ด้วยการบรรจุเชื้อรารูปแบบผงหรือรูปแบบเม็ดในชีวภัณฑ์แบบแอคทีฟ (active

Ref. code: 25605809032583JBQ

packaging) ที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของปริมาณความชื้นและการเก็บรักษาภายในชีวภัณฑ์ด้วยการลดปริมาณแก๊สออกซิเจนให้ต่ำกว่า 0.01% ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำกว่าแก๊สออกซิเจนนอกชีวภัณฑ์ (0.3-3%) โดยการใช้สารที่มีส่วนประกอบของสารประกอบอินทรีย์ไม่อิ่มตัว (unsaturated organic compounds) 5-15% แคลเซียมออกไซด์ (calcium oxide) 10-45% มอร์ดีไนต์ (mordenite) 10-50% ถ่านกัมมันต์ (activated carbon) 5-15% และโพลิเอทิลีน (polyethylene) 10-30% เช่น สาร RP (Revolutionary Preservation) -3A และ RP-5A เป็นต้น ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการดูดซับความชื้นและแก๊สออกซิเจน (Faria et al., 2012) ส่วนเชื้อรารูปแบบผสมน้ำมันถูกนำมาบรรจุในชีวภัณฑ์ที่มีลักษณะขุ่นหรือทึบแสงเพื่อป้องกันสปอร์เชื้อราจากการถูกรังยูวีเข้าทำลายและเป็นการรักษาอุณหภูมิภายในชีวภัณฑ์ไม่ให้เปลี่ยนแปลงรวดเร็วตามสภาพอากาศในระหว่างการเก็บรักษา (ตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.2 เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่พัฒนาเป็นรูปแบบต่างๆ ให้สอดคล้องกับอายุการเก็บรักษาในเชิงการค้า

เชื้อรา	ชื่อทางการค้า	รูปแบบ	อายุการเก็บรักษา (ตามอุณหภูมิที่กำหนด)
Beauveria bassiana	BotaniGard, Naturalis-L, Mycotrol, Bio-Power, Beauverin, Boverol	ผง	1 ปี (≤20°C)
Beauveria brongniartii	Betal, Schweizer Beauveria	ผง	1 ปี (≤2°C)
Lecanicillium lecanii	Mycotal, Bio-Catah, Vertalec	ผง	0.5 ปี (≤4°C)
Metarhizium anisopliae	Bio-Catch-M	เม็ด	1 ปี (≤4°C)
	Green Muscle, BioCane		
Metarhizium flavoviride	BioGreen	ผง	0.5 ปี (≤4°C)
Isaria fumosorosea	Preferal, Priority, Futureco, NoFly	ผง	0.5 ปี (≤4°C)
Metarhizium anisopliae	Green meta, Devastra, OKBio	ผสมน้ำมัน	1 ปี (≤20°C)
Beauveria bassiana	Daman-L, BotaniGard	ผสมน้ำมัน	1 ปี (≤20°C)

ที่มา: Abrol, 2014

Ref. code: 25605809032583JBQ

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

3.1 การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

3.1.1 การเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงพาหะเพื่อใช้ในการทดสอบ

ดักจับแมลงเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ใน อ.เขาสวนกวาง จ.ขอนแก่น ในช่วงที่มีการระบาด คือ เดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม 2558 โดยใช้กับดักแสงไฟและอุปกรณ์หลอดดูดแมลง (ภาพที่ 3.1) ตั้งแต่เวลา 18.30-20.30 น. นำแมลงที่ได้มาเลี้ยงบนต้นอ้อยที่มีกรงพลาสติกครอบและมีทรายโรยรอบโคนต้นเพื่อสำหรับเป็นที่วางไข่และเพิ่มปริมาณ โดยเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ภาพที่ 3.1 การติดตั้งกับดักแสงไฟ (A) และการใช้อุปกรณ์หลอดดูดแมลง (B)

3.1.2 เชื้อราที่นำมาทดสอบ

เชื้อราที่นำมาทดสอบเป็นเชื้อราที่ได้รับจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (National Center for Genetic Engineering and Biotechnology) ประกอบด้วยเชื้อรา 4 สกุล 6 ชนิด 24 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อรา *Metarhizium* sp. (3 ไอโซเลต),

Ref. code: 25605809032583JBQ

เชื้อรา *M. anisopliae* (7 ไอโซเลต), เชื้อรา *B. bassiana* (7 ไอโซเลต), เชื้อรา *P. lilacinus* (1 ไอโซเลต), เชื้อรา *V. hemipterigenum* (5 ไอโซเลต), เชื้อรา *Aschersonia marginata* (1 ไอโซเลต) ซึ่งคัดเลือกมาจากเชื้อราที่พบจากตัวแมลงในอันดับ Hemiptera Orthoptera Coleoptera และ Dictyoptera (ตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง 24 ไอโซเลต ที่นำมาศึกษาจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

ลำดับ	ไอโซเลต	ชื่อวิทยาศาสตร์	อันดับของแมลงอาศัยที่พบ
1	BCC27998	*Metarhizium anisopliae*	Hemiptera
2	BCC16000	*Metarhizium anisopliae*	Hemiptera
3	BCC16762	*Metarhizium anisopliae*	Hemiptera
4	BCC12817	*Metarhizium anisopliae*	Orthoptera
5	BCC22353	*Metarhizium anisopliae*	Coleoptera
6	BCC35992	*Metarhizium anisopliae*	Coleoptera
7	BCC32164	*Metarhizium anisopliae*	Dictyoptera
8	BCC30455	*Metarhizium* sp.	Hemiptera
9	BCC22046	*Metarhizium* sp.	Hemiptera
10	BCC29224	*Metarhizium* sp.	Hemiptera
11	BCC22355	*Beauveria bassiana*	Hemiptera
12	BCC20196	*Beauveria bassiana*	Hemiptera
13	BCC26682	*Beauveria bassiana*	Hemiptera
14	BCC25948	*Beauveria bassiana*	Hemiptera
15	BCC19930	*Beauveria bassiana*	Coleoptera
16	BCC19012	*Beauveria bassiana*	Coleoptera
17	BCC14482	*Beauveria bassiana*	Coleoptera
18	BCC28607	*Paecilomyces lilacinus*	Hemiptera
19	BCC27990	*Verticillium hemipterigenum*	Hemiptera
20	BCC16024	*Verticillium hemipterigenum*	Hemiptera

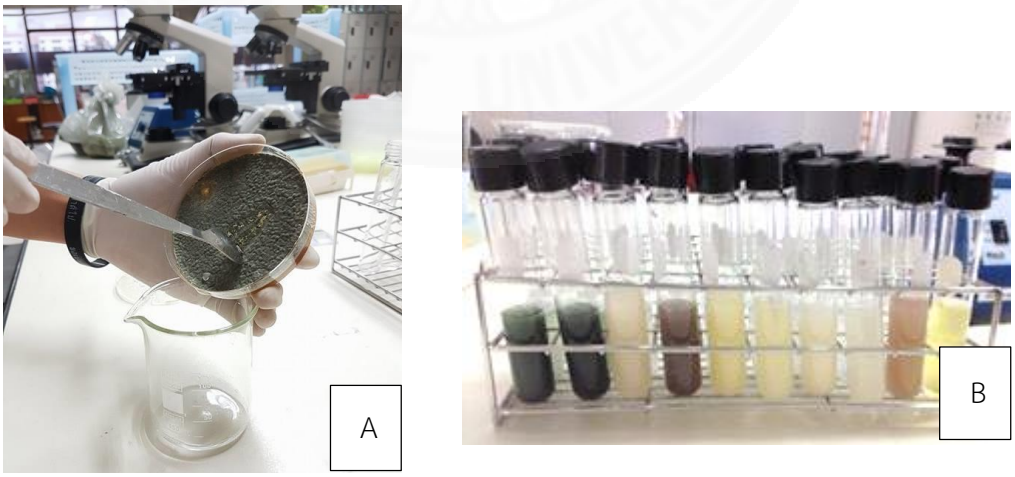
Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางที่ 3.1 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง 24 ไอโซเลต ที่นำมาศึกษาจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ต่อ)

ลำดับ	ไอโซเลต	ชื่อวิทยาศาสตร์	อันดับของแมลงอาศัยที่พบ
21	BCC19964	*Verticillium hemipterigenum*	Hemiptera
22	BCC18660	*Verticillium hemipterigenum*	Hemiptera
23	BCC28240	*Verticillium hemipterigenum*	Hemiptera
24	BCC28721	*Aschersonia marginata*	Hemiptera

3.1.3 การเตรียมแขวนลอยสปอร์เชื้อรา

เพิ่มปริมาณเชื้อราแต่ละไอโซเลตด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้อาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) สำหรับเชื้อราสกุล *Metarhizium* และ *Beauveria* หรือ Malt Extract Agar Base (MEA) สำหรับเชื้อราสกุล *Paecilomyces*, *Verticillium* และ *Aschersonia* แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นเตรียมแขวนลอยสปอร์เชื้อราแต่ละไอโซเลตในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 15 มล. ที่ผสมสาร Tween 80 ระดับความเข้มข้น 0.1% ด้วยการขูดสปอร์เชื้อราจากผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อลงในน้ำ ผสมให้เข้ากัน แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อให้ได้สปอร์ของเชื้อราแขวนลอยในน้ำ จากนั้นเจือจางแขวนลอยสปอร์เชื้อรา นำไปตรวจนับจำนวนสปอร์ต่อปริมาตรด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemacytometer) แล้วนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของสปอร์และปรับระดับความเข้มข้นให้ได้ $1x10^8$ สปอร์/มล. (ภาพที่ 3.2)

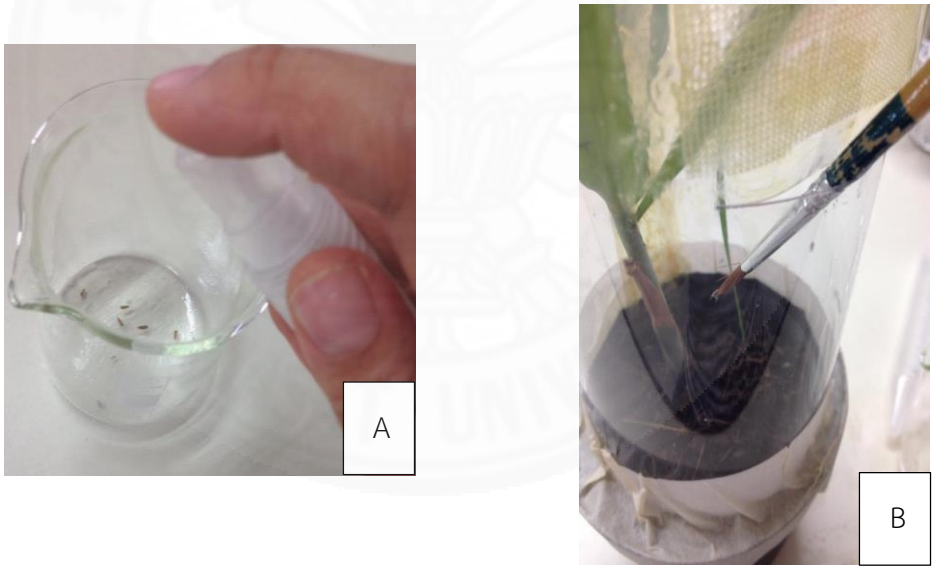


ภาพที่ 3.2 การเตรียมแขวนลอยสปอร์เชื้อรา (A) การปรับระดับความเข้มข้นแขวนลอยสปอร์เชื้อราให้ได้ $1x10^8$ สปอร์/มล. (B)

Ref. code: 25605809032583JBQ

3.1.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัยและตัวอ่อน

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราบนตัวเต็มวัยและตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* วัยที่ 3 โดยพ่นแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ลงบนตัวของแมลง แล้วนำไปเลี้ยงในกรงพลาสติกที่มีต้นอ้อยอยู่ (ภาพที่ 3.3) วางกรงเลี้ยงแมลงบนถาดที่ใส่น้ำเพื่อรักษาความชื้น นำไปเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิ 27 °C วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design; CRD โดยแต่ละไอโซเลตมี 4 ซ้ำ ใช้เพลี้ยจักจั่นซ้ำละ 5 ตัว และใช้น้ำกลั่นผสม Tween 80 ระดับความเข้มข้น 0.1% เป็นกรรมวิธีควบคุม บันทึกจำนวนเพลี้ยจักจั่นที่ตายทุกวัน เป็นเวลา 12 วัน นำซากแมลงที่ตายมาวางบนกระดาษกรองที่ชื้น เพื่อตรวจสอบว่ามีสปอร์เชื้อราบนตัวแมลงหรือไม่ เมื่อมีสปอร์เชื้อราเกิดขึ้น นำมาตรวจดูด้วยกล้องสเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscopes) และนำห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) แตะสปอร์เชื้อรามาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเป็นการยืนยันว่าแมลงดังกล่าวตายด้วยเชื้อราที่ทดสอบ

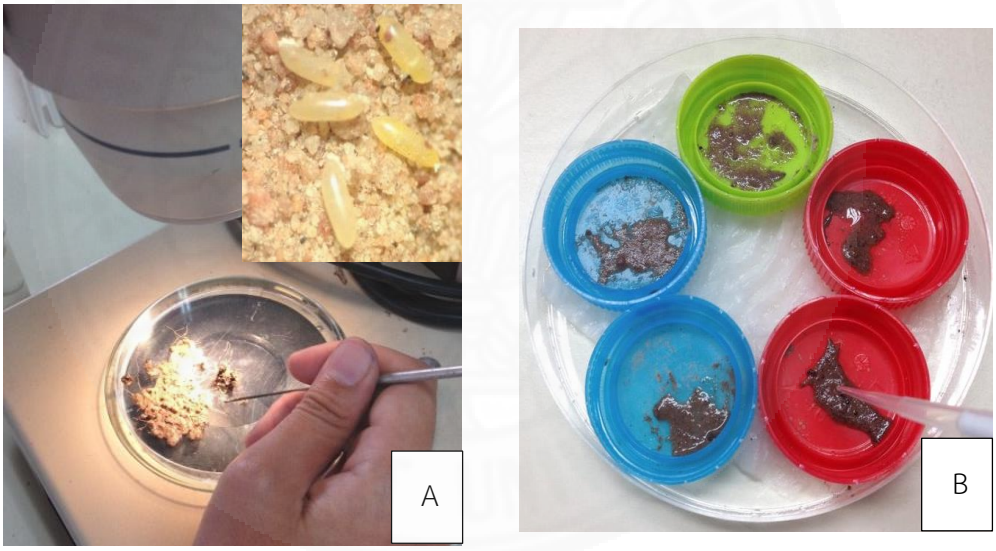


ภาพที่ 3.3 การพ่นแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ลงบนตัวแมลง (A) นำเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ที่ผ่านการพ่นแขวนลอยสปอร์เชื้อราแล้ว ไปเลี้ยงในกรงพลาสติกที่มีต้นอ้อยอยู่ (B)

Ref. code: 25605809032583JBQ

3.1.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราแต่ละไอโซเลตกับระยะไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* โดยคัดเลือกไข่ที่มีลักษณะเต่ง ผิวเรียบ มีสีเหลืองอ่อน ปรากฏตาสีแดงของตัวแมลง มาใส่ในภาชนะพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 ซม. ที่มีทรายอยู่ หยดแขวนลอยสปอร์เชื้อราความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ลงไปปริมาตร 10 ไมโครลิตร (ภาพที่ 3.4) แล้วนำไปวางบนกระดาษกรองที่ชุ่มน้ำซึ่งอยู่ในจานเพาะเลี้ยง (petri dish) ปิดฝาและหุ้มรอบจานเพาะเลี้ยงด้วยพาราฟิล์ม (parafilm) เพื่อเป็นการรักษาความชื้น วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยแต่ละไอโซเลตมี 4 ซ้ำการทดลอง ใช้ไข่ซ้ำละ 5 ฟอง และใช้น้ำกลั่นผสม Tween 80 ระดับความเข้มข้น 0.1% เป็นกรรมวิธีควบคุม บันทึกจำนวนไข่ที่ไม่ฟักทุก 2 วัน เป็นเวลา 12 วัน นำซากไข่ที่ไม่ฟักมาตรวจดูเส้นใยของเชื้อราและความผิดปกติด้วยกล้องสเตอริโอไมโครสโคป



ภาพที่ 3.4 การคัดเลือกไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ที่มีลักษณะที่ต้องการ (A) หยดแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ลงบนไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* (B)

Ref. code: 25605809032583JBQ

3.2 การศึกษาประสิทธิภาพและความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่เก็บรักษาโดยไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพ

3.2.1 เชื้อราที่นำมาทดสอบ

เชื้อราสกุล *Metarhizium* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ได้รับความนิยมในการนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพเพื่อควบคุมแมลงศัตรู เนื่องจากมีศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูได้ทุกระยะและหลากหลายชนิด โดยมีรายงานถึงความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับแมลงได้มากกว่า 300 ชนิด (Alice et al., 2014) ประกอบกับเจริญเติบโตได้ง่ายบนวัสดุเพาะเลี้ยงทางธรรมชาติทั้งที่อยู่ในรูปของแข็ง เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง เป็นต้น (Latifian et al., 2013; Hasan, 2015) และของเหลว เช่น น้ำมะพร้าว น้ำซาวข้าว เป็นต้น (Sahayaraj and Namasivayam, 2008) จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้ง่าย

จากการศึกษาพบว่าวงจรชีวิตของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* มีการเจริญเติบโตในระยะไข่ภายใต้สภาพดินทรายที่มีอุณหภูมิและความชื้นเหมาะสมและไข่สามารถฟักเป็นตัวอ่อนวัยที่ 1 ใช้เวลาเฉลี่ย 7-8 วัน (ยุพา, 2552) โดยตัวอ่อนที่ยังไม่มีติ่งปีก (วัยที่ 1-3) จะอาศัยหลบซ่อนบริเวณโคนต้นหรือกาบใบอ้อย ในขณะที่ตัวเต็มวัยชอบเกาะอาศัยบริเวณส่วนยอดของอ้อย (ยุพา และ ทนุธรรม, 2559) ประกอบกับการประยุกต์ใช้เชื้อรารูปแบบเม็ดด้วยการโรยลงบนผิวหน้าดิน นอกจากสะดวกต่อการนำไปประยุกต์ใช้ กระจายไปยังพื้นที่เป้าหมายได้ง่าย มีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสัตว์แล้ว (Skinner et al., 2012) สามารถเพิ่มโอกาสการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ในระยะไข่ได้ อีกทั้งตัวอ่อนแรกเกิดที่ฟักออกมาสามารถสัมผัสกับสปอร์เชื้อราบนเยื่อหุ้มไข่ชั้นนอก (egg chorion) ในระหว่างการฟักหรือสัมผัสกับเชื้อราในสภาพแวดล้อมภายนอกบริเวณที่ไข่อยู่ได้ (Mochi et al., 2010; Pereira et al., 2011) ในขณะที่การประยุกต์ใช้เชื้อราด้วยการฉีดพ่นทางใบ ประสิทธิภาพการทำงานของเชื้อราอาจขึ้นอยู่กับความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมแล้ว ยังไม่สอดคล้องกับพฤติกรรมการเคลื่อนที่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ในระยะตัวเต็มวัยที่มีความคล่องแคล่วว่องไวและระยะตัวอ่อนที่มีการลอกคราบเปลี่ยนวัย ทำให้สปอร์เชื้อราหลุดออกจากตัวแมลงได้ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการต้านทานของแมลงต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา (El-Sharabasy, 2015)

ดังนั้นในงานวิจัยจึงคัดเลือกเชื้อราสกุล *Metarhizium* ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงจากการทดลองในข้อ 3.1 ได้แก่ เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455, เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 และเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000 ที่เจริญเติบโตง่ายบนวัสดุเพาะ สามารถคงความมีชีวิตในดินได้และมีประสิทธิภาพในการ

Ref. code: 25605809032583JBQ

เข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ครอบคลุมระยะการเจริญเติบโตทั้ง 3 ระยะ มาผ่านการเข้าทำลายบนเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* เพื่อฟื้นฟูประสิทธิภาพ แล้วจึงแยกเชื้อราจากตัวแมลงที่ตายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

3.2.2 การเพิ่มปริมาณเชื้อรา

เพิ่มปริมาณเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลต ให้ได้สปอร์จำนวนมาก โดยเลือกใช้ข้าวสารเป็นอาหารเพาะเลี้ยง ย้ายเชื้อราที่เพาะเลี้ยงได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในถุงที่บรรจุข้าวสารจำนวน 80 ก. เติมน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 28 มล. (เพื่อปรับระดับความชื้นภายในถุงให้ได้ 35%) และผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 psi อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 30 นาที นำถุงข้าวที่เพาะเลี้ยงเชื้อราไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 15-20 วัน (เชื้อราเจริญปกคลุมเมล็ดข้าวในถุงทั้งหมด) จากนั้นจึงเปิดปากถุงเป็นเวลา 7 วัน เพื่อลดปริมาณความชื้นและส่งเสริมการสร้างสปอร์ของเชื้อรา (ภาพที่ 3.5) จะได้เชื้อรา (ไม่ผ่านการแปรสภาพ) สำหรับใช้ในการทดสอบต่อไป

ภาพที่ 3.5 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในถุงข้าวด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C (A) เชื้อราสกุล *Metarhizium* เจริญปกคลุมเมล็ดข้าวในถุงทั้งหมด (B)

3.2.3 การแปรสภาพเชื้อรา

จากการทดลองเพื่อประยุกต์ใช้เชื้อราที่ไม่ผ่านการแปรสภาพ พบว่าสปอร์เชื้อรามีโอกาสฟุ้งกระจายได้ง่าย ทำให้สูญเสียสปอร์เชื้อราที่เป็นประโยชน์ ประกอบกับฝุ่นละอองของสปอร์อาจสร้างอันตรายให้กับเกษตรกรผู้นำเชื้อราไปประยุกต์ใช้ ถ้ากรณีที่สูดดมเป็นระยะเวลานาน

Ref. code: 25605809032583JBQ

อาจก่อให้เกิดปัญหาโรคภูมิแพ้ได้ ดังนั้นงานวิจัยในขั้นตอนต่อจากนี้จึงเป็นการแปรสภาพเชื้อราเพื่อลดสภาวะการฟุ้งกระจายของสปอร์เชื้อราลง

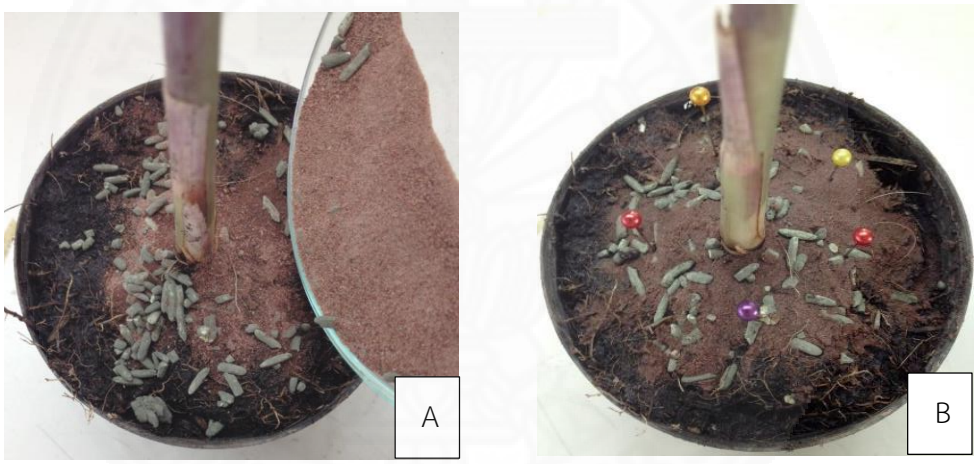
นำเชื้อราที่เพิ่มปริมาณได้ไอโซเลตเดียวกันทั้งหมด มาผสมรวมให้เป็นเนื้อเดียว เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่ผสม Tween 80 ระดับความเข้มข้น 0.1% ในอัตราส่วนเชื้อรา 1 กก. ต่อน้ำ 500 มล. บดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (blender) แล้วนำมาอัดเป็นรูปแท่งด้วยเครื่องบด (grinder) (ภาพที่ 3.6) นำใส่ถาดและอบที่อุณหภูมิ 33 ºC เป็นเวลา 3 วัน นำมาหักให้เป็นแท่งสั้นๆ จะได้เชื้อราที่ผ่านการแปรสภาพ

ภาพที่ 3.6 การผสมเชื้อราที่บดแล้วกับน้ำ (A) การบดเชื้อราด้วยเครื่องบด (grinder) (B) ลักษณะเชื้อราที่ออกมาจากเครื่องบด (C) ลักษณะเชื้อราที่แห้งภายหลังผ่านการอบ (D)

Ref. code: 25605809032583JBQ

3.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเบื้องต้นในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

การทดสอบเบื้องต้นภายใต้ห้องปฏิบัติการนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อยืนยันความมีประสิทธิภาพของเชื้อราที่ไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพต่อการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ก่อนการทดสอบในสภาพโรงเรือน โดยเตรียมต้นอ้อยในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว นำเชื้อราทั้งไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพจำนวน 2.5 ก. มาคลุกกับทราย นำไปโรยรอบโคนต้นอ้อย ทำเครื่องหมายบริเวณที่ต้องการวางไข่เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* (ภาพที่ 3.7) คัดเลือกไข่ ที่มีลักษณะเต่ง ผิวเรียบ มีสีเหลืองอ่อน ปรากฏตาสีแดงของตัวแมลง มาวางบริเวณดังกล่าวและครอบต้นอ้อยด้วยกรงพลาสติก ทำการทดลองกับเชื้อรา 3 ไอโซเลต ไอโซเลตละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ฟอง บันทึกจำนวนตัวอ่อนที่ฟักและสังเกตไข่ที่วางไว้ภายใต้กล้องสเตอริโอไมโครสโคป



ภาพที่ 3.7 การใส่เชื้อราที่ต้องการทดสอบกับทรายและโรยบริเวณโคนต้นอ้อย (A) การทำเครื่องหมายบริเวณที่ต้องการวางไข่เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* (B)

3.2.5 การบรรจุชีวภัณฑ์และการเก็บรักษาเชื้อรา

นำเชื้อราทั้งไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพไอโซเลตเดียวกันทั้งหมดมาผสมรวมให้เป็นเนื้อเดียว (homogeneous) โดยก่อนการบรรจุเพื่อเก็บรักษาจะลดความชื้นของเชื้อราให้น้อยกว่า 15% ด้วยการชั่งตัวอย่างเชื้อราแต่ละไอโซเลตจำนวน 10 ก. ไปตรวจสอบหาปริมาณความชื้นโดยการอบภายใต้อุณหภูมิ 85 °C จนพบว่าปริมาณความชื้นคงที่ ซึ่งกรณีที่ตัวอย่างเชื้อรามีปริมาณความชื้นน้อยกว่า 15% จะนำเชื้อราทั้งหมดไปเก็บรักษาได้เลย แต่ในกรณีที่ตัวอย่างเชื้อรามีปริมาณ

Ref. code: 25605809032583JBQ

ความชื้นสูงกว่า 15% จะนำไปเชื้อราทั้งหมดไปลดความชื้นด้วยการอบภายใต้อุณหภูมิ 32 °C เป็นเวลา 3 วันก่อน

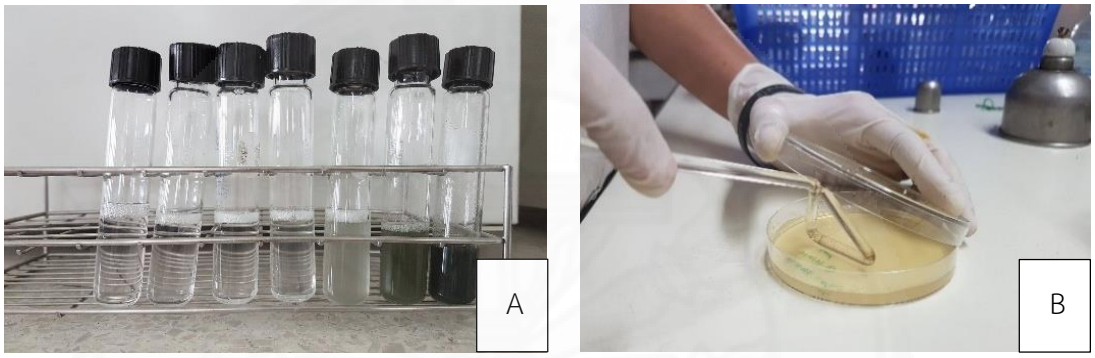
ภายหลังได้เชื้อราทั้งไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพที่มีปริมาณความชื้นต่ำกว่า 15% และบรรจุลงในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ที่ไม่มีและมี RP-3A (บริษัท Mitsubishi Gas Chemical, Japan) แล้วปิดปากถุงให้สนิทด้วยความร้อน (ภาพที่ 3.8) ทำการบรรจุเชื้อราจำนวน 30 ถุง ถุงละ 10 ก. นำเชื้อราที่บรรจุชีวภัณฑ์มาทดสอบความมีชีวิตและประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ทุกเดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน

ภาพที่ 3.8 เชื้อราที่ไม่ใส่ RP-3A (Revolutionary Preservation-3A) (A) เชื้อราที่ใส่ RP-3A (B) ตัวอย่าง RP-3A (C) การบรรจุเชื้อราลงในถุงฟอยด์ (D)

Ref. code: 25605809032583JBQ

3.2.6 การทดสอบความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา

ตรวจนับจำนวนสปอร์เชื้อราที่บรรจุชีวภัณฑ์ไว้แต่ละเดือนด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ และทดสอบความมีชีวิตของเชื้อรา โดยนำเชื้อรามาเจือจางเป็นแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มล. ดูดแขวนลอยสปอร์เชื้อรา 0.1 มล. ไปกระจาย (spread) บนอาหาร PDA (ภาพที่ 3.9) บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 3 วัน และตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อราที่ปรากฏบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ วางแผนการทดลองแบบ CRD กระจายเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ไอโซเลต ไอโซเลตละ 5 ซ้ำ

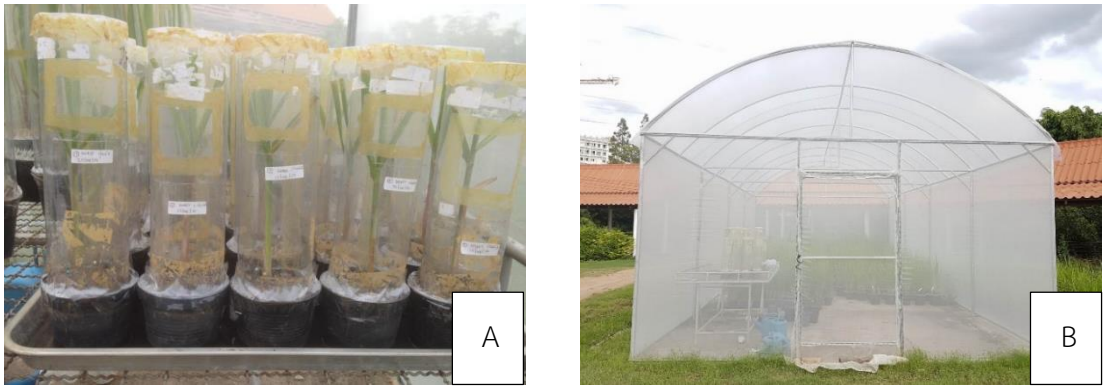


ภาพที่ 3.9 การเจือจางแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มล. (A) การดูดแขวนลอยสปอร์เชื้อราไปกระจาย (spread) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (B)

3.2.7 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน

ชั่งเชื้อราที่เก็บรักษาทั้งไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพจำนวน 2.5 ก. คลุกผสมรวมกับทราย แล้วนำไปโรยรอบโคนต้นอ้อยที่ปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว คัดเลือกไข่เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ที่มีลักษณะเต่ง ผิวเรียบ มีสีเหลืองอ่อน ปรากฏตาสีแดงของตัวแมลง มาวางบริเวณโคนต้นอ้อย ทำเครื่องหมายบริเวณที่วางไข่ และครอบต้นอ้อยด้วยกรงพลาสติก แล้วนำไปไว้ในสภาพโรงเรือน (ภาพที่ 3.10) ทดลองกับเชื้อรา 3 ไอโซเลต ไอโซเลตละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ฟอง บันทึกจำนวนตัวอ่อนที่ฟักและสังเกตไข่ที่วางไว้ภายใต้กล้องสเตอริโอไมโครสโคป ภายหลังทำการทดลอง 12 วัน

Ref. code: 25605809032583JBQ



ภาพที่ 3.10 ต้นอ้อยที่ทดสอบภายใต้สภาพโรงเรือน (A) สภาพภายนอกโรงเรือนที่ทำการทดลอง (B)

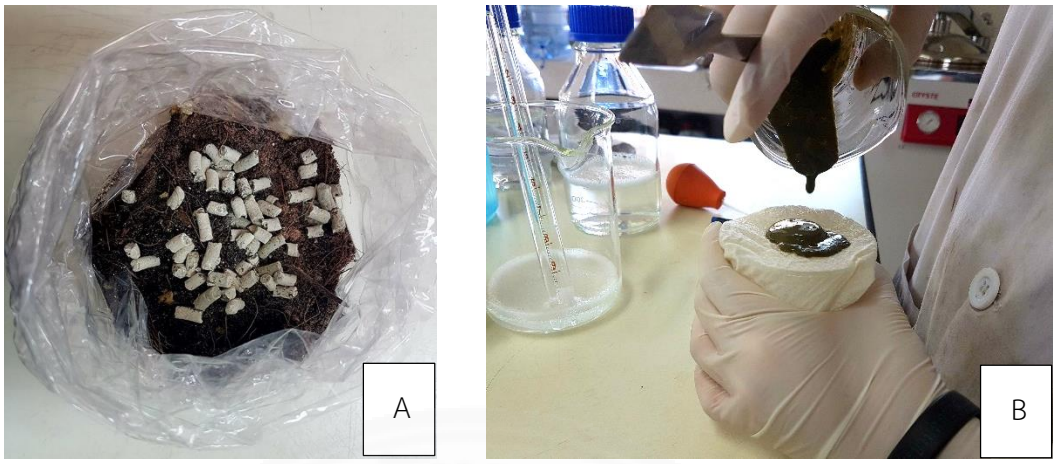
3.2.8 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน (แบบจับคู่ผสม)

ชั่งเชื้อราที่ผ่านการแปรสภาพจำนวน 2.5 ก. แล้วนำไปโรยรอบโคนต้นอ้อยที่ปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว และครอบต้นอ้อยด้วยกรงพลาสติก จับคู่เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย โดยคัดเลือกแมลงเพศผู้และเพศเมียที่มีอายุใกล้เคียงกัน ใส่ลงในกระบอกที่เตรียมไว้ ทดลองกับเชื้อรา 3 ไอโซเลต ไอโซเลตละ 20 ซ้ำ ซ้ำละ 1 คู่ บันทึกจำนวนตัวอ่อนที่ฟักทุกวัน จนกว่าเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ที่ทำการจับคู่ตาย

3.3 การศึกษาความมีชีวิตในดินของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่เก็บรักษาโดยผ่านการแปรสภาพ

นำเชื้อราที่เก็บรักษาโดยผ่านการแปรสภาพจากข้อ 3.2.5 มาทดสอบ โดยนำเชื้อราไปโรยที่ผิวหน้าดินและรดน้ำ เมื่อระยะเวลาผ่านไป 1 และ 2 สัปดาห์ ตักหน้าดินที่มีเชื้อราจำนวน 5 ก. มาทำให้เป็นแขวนลอยสปอร์เชื้อราเจือจางระดับความเข้มข้น $1x10^3$ สปอร์/มล. แล้วดูดแขวนลอยสปอร์เชื้อรา 0.1 มล. ไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 25ºC เป็นเวลา 3 วัน ทดลองกับเชื้อรา 3 ไอโซเลต ไอโซเลตละ 5 ซ้ำ และตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อราที่ปรากฏบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ

Ref. code: 25605809032583JBQ



ภาพที่ 3.11 การใส่เชื้อราที่ผ่านการแปรสภาพลงบนผิวหน้าดิน (A) ตักหน้าดินที่มีเชื้อรามาทำเป็นแขวนลอยสปอร์เชื้อราเจือจางระดับความเข้มข้น $1x10^3$ สปอร์/มล. (B)

Ref. code: 25605809032583JBQ

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

ผลการวิจัยพบว่าเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่นำมาทดสอบส่วนใหญ่สามารถทำให้เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ตายได้ เนื่องจากเป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงได้หลายชนิดและเข้าทำลายแมลงได้ตั้งแต่ระยะการพัฒนาเป็นไข่ หนอน ตัวอ่อน ดักแด้ หรือตัวเต็มวัย (Abrol, 2014) โดยพบเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัยเท่ากับ 0-55% และระยะตัวอ่อนวัยที่ 3 เท่ากับ 0-30% ส่วนระยะไข่พบเปอร์เซ็นต์ไข่ไม่ฟักเท่ากับ 0-35% (ตารางที่ 4.1) โดยเชื้อรา 2 ไอโซเลตแรกที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัยสูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม ได้แก่ แขวนลอยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ทำให้ตัวเต็มวัยตายเท่ากับ 55% ภายหลังการพ่นเชื้อรา 12 วัน รองลงมา คือ แขวนลอยสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต BCC26682 ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ทำให้ตัวเต็มวัยตายเท่ากับ 45% ภายหลังการพ่นเชื้อรา 12 วัน จากการทดลองพบว่าเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* เริ่มตายหลังจากพ่นแขวนลอยสปอร์เชื้อราในวันที่ 3 โดยยังไม่มีเส้นใยเชื้อราขึ้นปกคลุมลำตัว แต่จะเห็นเส้นใยที่ผิวภายนอกของแมลงชัดเจนภายหลังการตาย 9 วัน (ภาพที่ 4.1A-B) (ภาพที่ 4.2A) นำซากแมลงที่ตายด้วยเชื้อราไปสังเกตภายใต้กล้องสเตอริโอไมโครสโคปและนำสปอร์เชื้อราที่ปรากฏบนตัวแมลงไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าเมื่อสังเกตภายใต้กล้องจะปรากฏลักษณะเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราบนตัวแมลงและเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA มีลักษณะโคโลนีเหมือนกับเชื้อราชนิดที่นำมาทดสอบ จากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงกับแมลงระยะตัวเต็มวัยชนิดอื่น ๆ เช่น การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต Tk4 ต่อการเข้าทำลายปลวก (*Coptotermes formosanus*) พบว่าภายหลังการให้แขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์/มล. ระยะเวลา 2-4 วัน ทำให้ปลวกมีอัตราการตายระหว่าง 23.3-86.6% และภายหลังการตาย 4-7 วัน พบเส้นใยสีขาวขึ้นปกคลุมและปรากฏสปอร์สีเขียวของเชื้อราบนซากของปลวก (Ravindran et al., 2015) การทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสกุล *Beauveria* และ *Metarhizium* จำนวน 12 ไอโซเลต กับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*) ระยะตัวเต็มวัย พบเปอร์เซ็นต์การตายสะสมอยู่ในช่วง 17.2-82.1% ภายหลังการให้เชื้อรา 10 วัน ความรุนแรงระหว่างเชื้อราแต่ละไอโซเลตที่

Ref. code: 25605809032583JBQ

ทดสอบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยเชื้อรา *M. flavoviride*ไอโซเลต Mf82 และ *M. anisopliae* ไอโซเลต Ma20 ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมเท่ากับ 82.1% และ 65.4% ตามลำดับ (Li et al., 2012) การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Metarhizium* spp. ที่จำแนกจากเขตพื้นที่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือต่อการควบคุมแมลงศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจ พบว่าการทดสอบแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $6x10^8$ สปอร์/มล. กับยุงรำคาญระยะตัวเต็มวัย (*Culex quinquefasciatus*) ทำให้ค่าเฉลี่ยอัตราการตายอยู่ระหว่าง 6.00-80.67% (อัญชลี และคณะ, 2553) การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* และเชื้อรา *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระยะตัวเต็มวัยตาย 75% และ 58.75% ตามลำดับ (เพชรหทัย และ อัจฉราพร, 2550) ดังนั้นประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงที่แสดงออกมาแตกต่างกัน จึงมีความสัมพันธ์กับความรุนแรง ชนิดและไอโซเลตของเชื้อรา รวมถึงชนิดและระยะการเจริญเติบโตของแมลงที่ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพ ซึ่งอาจเป็นปัจจัยในการขัดขวางการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรา

ส่วนเชื้อราที่ทำให้เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวอ่อนวัยที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม คือ แขวนลอยสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000 (ภาพที่ 4.2B) และเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต BCC20196 ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ทำให้ตัวอ่อนตายเท่ากับ 30% ภายหลังการพ่นเชื้อรา 12 วัน รองลงมา คือ เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 ทำให้ตัวอ่อนตายเท่ากับ 25% ภายหลังการพ่นเชื้อรา 12 วัน อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การตายกับเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย พบว่าระยะตัวอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การตายน้อยกว่า ทั้งนี้เนื่องจากระยะตัวอ่อนของเพลี้ยจักจั่นมีการลอกคราบเปลี่ยนวัยและทำให้สปอร์เชื้อราหลุดออกจากตัว ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการต้านทานการถูกเข้าทำลายของแมลง (El-Sharabasy, 2015) สอดคล้องกับประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายแมลงในระยะตัวเต็มวัย โดยความรุนแรงของเชื้อราขึ้นอยู่กับชนิดและไอโซเลต รวมถึงชนิดของแมลงที่ส่งผลต่อลักษณะการแสดงออกทางกายภาพ เช่น การศึกษาผลของเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* กับตั๊กแตนหนวดยาว (*Uvarovistia zebra*) ระยะตัวอ่อน พบว่าแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ระดับความเข้มข้น $5x10^8$ สปอร์/มล. ทำให้ตัวอ่อนมีอัตราการตาย 57.7% และ 55.5% ตามลำดับ (Mohammadbeigi and Port, 2015) การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ต่อการควบคุมตัวอ่อนแมลงนูน (*Polyphylla fullo*) ระยะตัวอ่อนวัยที่ 1, 2 และ 3 พบว่าแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $4x10^9$ สปอร์/มล. ทำให้ตัวอ่อนวัยที่ 1 และ 2 มีอัตราการตายระหว่าง 27.2-79.8% และวัยที่ 3 มีอัตราการตายระหว่าง 17.5-71.6% (Erler and Ates, 2015) การประเมินประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลต Bb1801 ต่อการควบคุมตัวอ่อนเต่าทอง (*Dendroctonus valens*) พบว่า

Ref. code: 25605809032583JBQ

แขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์/มล. ใช้ระยะเวลาที่ทำให้แมลงตาย 50% (lethal time, LT_{50}) เท่ากับ 4.60 วัน (Zhang et al., 2011)

ในขณะที่เชื้อราที่ทำให้ระยะไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* มีเปอร์เซ็นต์ไข่ไม่ฟักสูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม ได้แก่ แขวนลอยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC16762 ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ทำให้ไข่ไม่ฟักเท่ากับ 35% รองลงมา คือ แขวนลอยสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC22353 ทำให้ไข่ไม่ฟักเท่ากับ 20% โดยไข่ที่ไม่ฟักจะมีลักษณะผิดปกติ เปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีเหลืองส้ม (ภาพที่ 4.3A) และปรากฏเส้นใยเชื้อราขึ้นที่ผิวของไข่ (ภาพที่ 4.3B) ทั้งนี้ปัจจัยที่ขัดขวางการเข้าทำลายของเชื้อราในระยะไข่ อาจเนื่องจากไข่มีการป้องกันทางสรีรวิทยาด้วยเยื่อหุ้มไข่ชั้นนอก (egg chorion) (Verde et al, 2015) และที่ผิวของไข่ถูกเคลือบด้วยไข (waxy coating) ซึ่งป้องกันน้ำและยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อรา (Gindin et al, 2009) อย่างไรก็ตามไข่ที่ฟักออกเป็นตัวอ่อนในระยะแรกสามารถสัมผัสกับสปอร์เชื้อราบนเยื่อหุ้มไข่ชั้นนอกในระหว่างการฟักหรือสัมผัสกับเชื้อราในสภาพแวดล้อมภายนอกบริเวณที่ไข่อยู่ได้ (Mochi et al, 2010; Pereira et al, 2011) (ภาพ ที่ 4.3C) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้เชื้อราไม่เป็นผลทำให้เกิดการตาย จนกระทั่งภายหลังการฟักไข่ โดยงานวิจัยที่ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรากับแมลงในระยะไข่ เช่น การทดสอบความรุนแรงของเชื้อรา *B. bassiana* ต่อเปอร์เซ็นต์การตายของไข่ไรแมงมุม (*Tetranychus cinnabarinus*) พบว่าภายหลังการพ่นแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $5x10^7$ สปอร์/มล. ลงบนไข่ ระยะเวลา 12 วัน ทำให้ไข่ไม่ฟัก 65.4% ไข่มีเจริญเติบโตของเชื้อรา ลักษณะหดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลส้ม (Shi and Feng, 2004) การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ในการเข้าทำลายไข่ด้วงงวงมะพร้าว (*R. ferrugineus*) พบว่าแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์/มล. ทำให้ไข่ไม่ฟัก 61.1% ภายหลังการให้เชื้อรา 4 วัน (Dembilio et al., 2010) การศึกษาความอ่อนแอของไข่เห็บ (*Ornithodoros lahorensis*) ต่อการได้รับเชื้ออรา *M. anisopliae* และเชื้อรา *B. bassiana* พบว่าภายหลังไข่ได้รับแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์/มล. ไข่มีลักษณะหดเปลี่ยนเป็นสีแดง มีการสร้างสปอร์ที่ผิวของไข่และมีอัตราการไม่ฟักไข่ 85.5% (Tavassoli et al., 2012) ทั้งนี้ระยะการพัฒนาของแมลงประกอบกับความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา (morphological diversity) ช่วยส่งเสริมหรือขัดขวางการเข้าทำลายของเชื้อรา

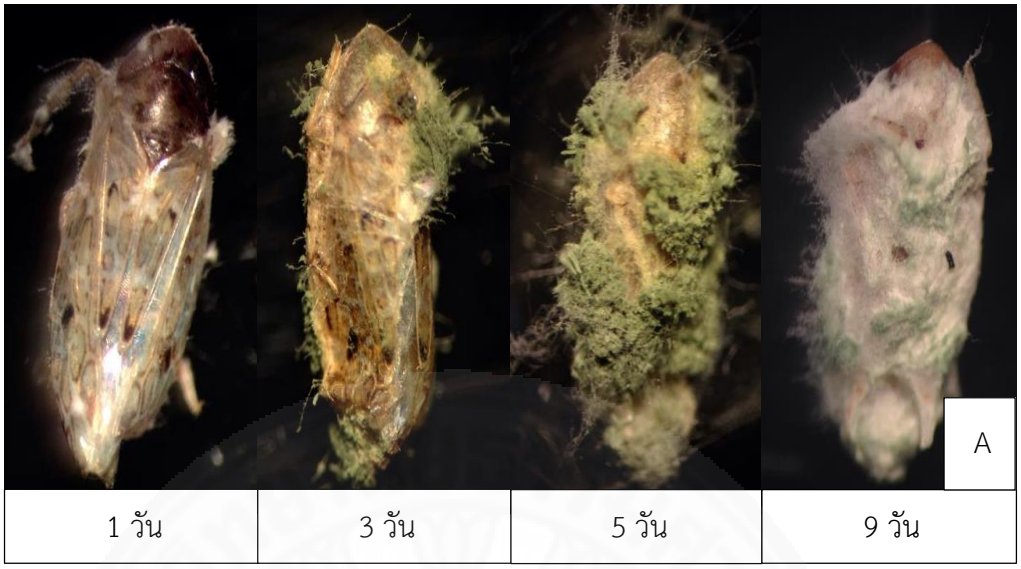
Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางที่ 4.1 ประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

ลำดับ	ไอโซเลต	ชื่อวิทยาศาสตร์	การตายของแมลง (%)/ไข่ที่ไม่ฟัก (%)		
			ตัวเต็มวัย	ตัวอ่อน	ไข่
-	กรรมวิธีควบคุม	-	0.00 ± 0.00^{d}	0.00 ± 0.00^{b}	0.00 ± 00.00^{c}
1	BCC27998	*Metarhizium anisopliae*	10.00 ± 11.55^{cd}[1/]	5.00 ± 10.00^{ab}	15.00 ± 19.15^{bc}
2	BCC16000	*Metarhizium anisopliae*	15.00 ± 19.15^{bcd}	30.00 ± 25.82^{a}	5.00 ± 10.00^{bc}
3	BCC16762	*Metarhizium anisopliae*	20.00 ± 0.00^{bcd}	25.00 ± 30.00^{ab}	35.00 ± 25.17^{a}
4	BCC12817	*Metarhizium anisopliae*	15.00 ± 10.00^{bcd}	10.00 ± 20.00^{ab}	10.00 ± 11.55^{bc}
5	BCC22353	*Metarhizium anisopliae*	10.00 ± 11.55^{cd}	5.00 ± 10.00^{ab}	20.00 ± 16.33^{ab}
6	BCC35992	*Metarhizium anisopliae*	5.00 ± 10.00^{cd}	20.00 ± 0.00^{ab}	10.00 ± 11.55^{bc}
7	BCC32164	*Metarhizium anisopliae*	15.00 ± 19.15^{bcd}	0.00 ± 0.00^{b}	10.00 ± 11.55^{bc}
8	BCC30455	*Metarhizium* sp.	55.00 ± 34.16^{a}	5.00 ± 10.00^{ab}	5.00 ± 10.00^{bc}
9	BCC22046	*Metarhizium* sp.	15.00 ± 10.00^{bcd}	5.00 ± 10.00^{ab}	5.00 ± 10.00^{bc}
10	BCC29224	*Metarhizium* sp.	5.00 ± 10.00^{cd}	0.00 ± 0.00^{b}	5.00 ± 10.00^{bc}
11	BCC22355	*Beauveria bassiana*	20.00 ± 23.09^{bcd}	20.00 ± 0.00^{ab}	0.00 ± 0.00^{c}
12	BCC20196	*Beauveria bassiana*	20.00 ± 23.09^{bcd}	30.00 ± 47.61^{a}	0.00 ± 0.00^{c}
13	BCC26682	*Beauveria bassiana*	45.00 ± 37.86^{ab}	10.00 ± 11.55^{ab}	0.00 ± 0.00^{c}
14	BCC25948	*Beauveria bassiana*	10.00 ± 11.55^{cd}	10.00 ± 11.55^{ab}	10.00 ± 20.00^{bc}
15	BCC19930	*Beauveria bassiana*	30.00 ± 20.00^{abcd}	10.00 ± 11.55^{ab}	10.00 ± 11.55^{bc}
16	BCC19012	*Beauveria bassiana*	25.00 ± 19.15^{abcd}	20.00 ± 16.33^{ab}	0.00 ± 0.00^{c}
17	BCC14482	*Beauveria bassiana*	30.00 ± 25.82^{abcd}	15.00 ± 10.00^{ab}	0.00 ± 0.00^{c}
18	BCC28607	*Paecilomyces lilacinus*	30.00 ± 25.82^{abcd}	5.00 ± 10.00^{ab}	0.00 ± 0.00^{c}
19	BCC27990	*Verticillium hemipregenum*	25.00 ± 25.17^{abcd}	0.00 ± 00.00^{b}	5.00 ± 10.00^{bc}
20	BCC16024	*Verticillium hemipregenum*	25.00 ± 10.00^{abcd}	5.00 ± 10.00^{ab}	0.00 ± 0.00^{c}
21	BCC19964	*Verticillium hemipregenum*	35.00 ± 19.15^{abc}	0.00 ± 00.00^{b}	10.00 ± 20.00^{bc}
22	BCC18660	*Verticillium hemipregenum*	15.00 ± 30.00^{bcd}	0.00 ± 00.00^{b}	0.00 ± 0.00^{c}
23	BCC28240	*Verticillium hemipregenum*	0.00 ± 0.00^{d}	0.00 ± 00.00^{b}	0.00 ± 0.00^{c}
24	BCC28721	*Aschersonia marginata*	5.00 ± 10.00^{cd}	5.00 ± 10.00^{ab}	5.00 ± 10.00^{bc}

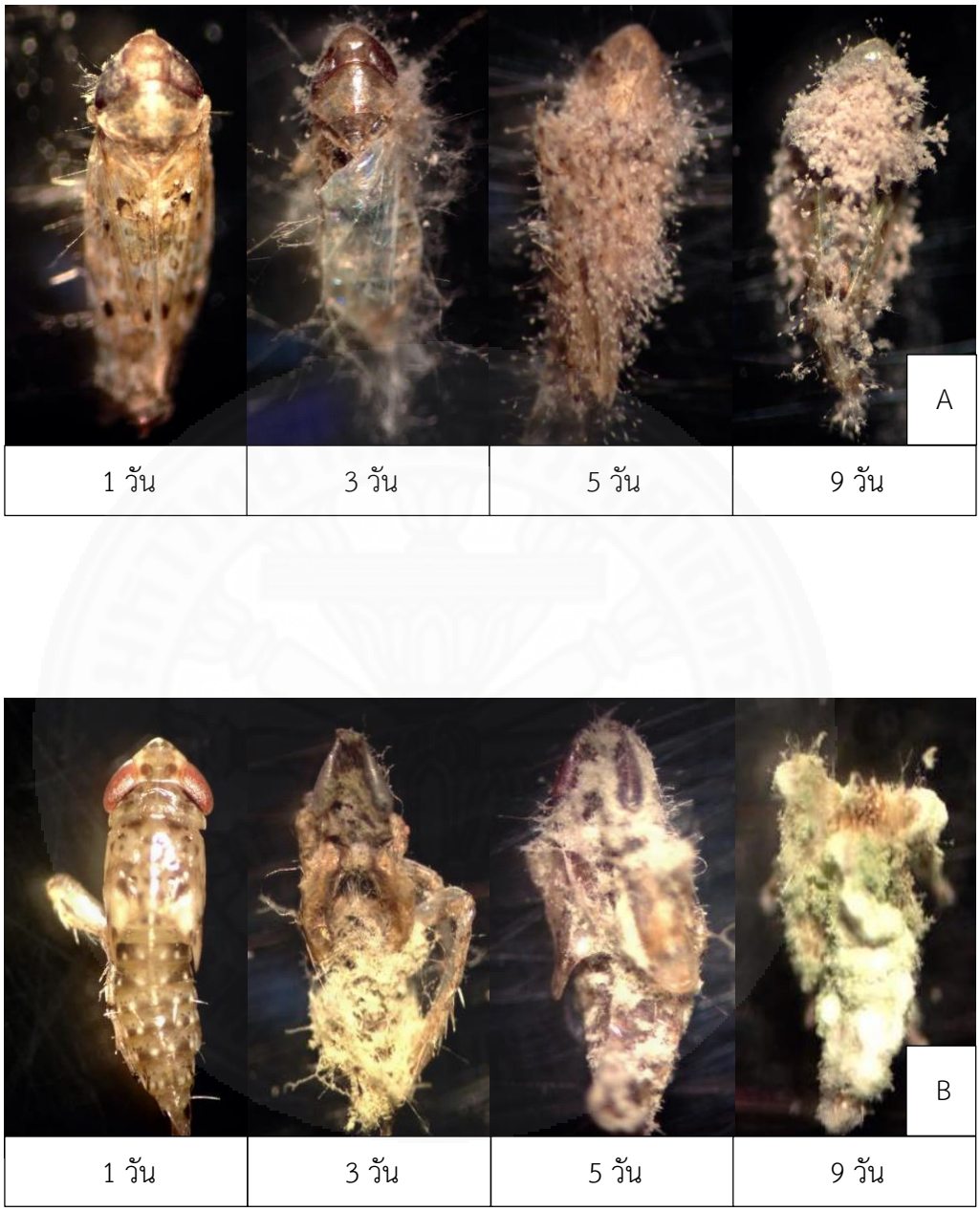
[1/]ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$)

Ref. code: 25605809032583JBQ



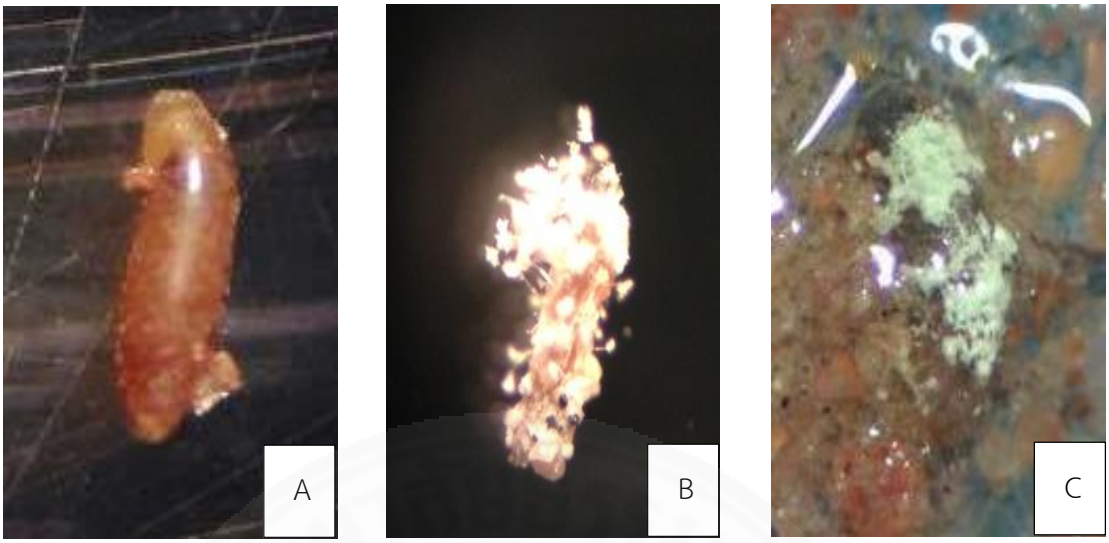
ภาพที่ 4.1 เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัยที่เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 (A) และเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลตBCC26682 (B) เข้าทำลาย และปรากฏเชื้อราขึ้นภายหลังแมลงตายที่ระยะเวลา 1, 3, 5 และ 9 วัน

Ref. code: 25605809032583JBQ



ภาพที่ 4.2 เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัยที่เชื้อรา*V. hemipregenum* ไอโซเลต BCC19964 (A) และเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวอ่อนที่เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000 (B) เข้าทำลาย และปรากฏเชื้อราขึ้นภายหลังแมลงตายที่ระยะเวลา 1, 3, 5 และ 9 วัน

Ref. code: 25605809032583JBQ

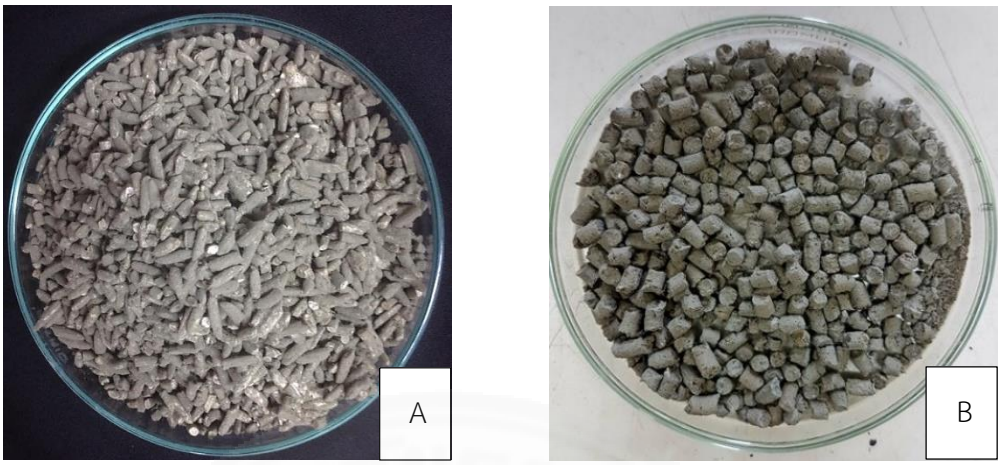


ภาพที่ 4.3 ไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ภายหลังได้รับแขวนลอยสปอร์เชื้อรา ไข่มีลักษณะผิดปกติ สีเหลืองส้ม (A) พบเส้นใยเชื้อราขึ้นปกคลุมระยะไข่ (B) และพบเชื้อราเข้าทำลายตัวอ่อนที่ฟักระยะในแรก (C)

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพและความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizum* ที่เก็บรักษาโดยไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพ

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจำนวน 24 ไอโซเลต ในข้อ 4.1 จากนั้นเลือกเชื้อราสกุล *Metarhizium* จำนวน 3 ไอโซเลต คือ เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 และเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000 ที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ครอบคลุมทั้ง 3 ระยะ เพื่อนำไปศึกษาต่อโดยการเพิ่มปริมาณและปรับรูปแบบ ซึ่งมี 2 รูปแบบ คือ เชื้อราไม่ผ่านการแปรสภาพเป็นสปอร์เชื้อราที่เจริญบนวัสดุเพาะ และเชื้อราที่ผ่านการแปรสภาพให้มีลักษณะรูปร่างเป็นทรงกระบอกสั้นๆ (shot rod) โดยการนำข้าวที่มีเชื้อราเจริญอยู่มาบดให้ละเอียดก่อนอัดเป็นแท่งที่มีการกระจายของสปอร์เชื้อราน้อยลงและง่ายต่อการนำไปประยุกต์ใช้ (ภาพที่ 4.4)

Ref. code: 25605809032583JBQ



ภาพที่ 4.4 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่าน (A) และผ่านการแปรสภาพ (B)

4.2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเบื้องต้นในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

เชื้อราสกุล *Metarhizum* จำนวน 3 ไอโซเลตทั้งไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพก่อนการนำไปเก็บรักษา มีการนำมาทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นภายใต้ห้องปฏิบัติการก่อนการทดสอบในสภาพโรงเรือน เพื่อยืนยันความมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ โดยจะทำให้ทราบว่าภายหลังการนำเชื้อราไปเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนวัสดุเพาะหรือการนำเข้าสู่กระบวนการแปรสภาพจะไม่ส่งผลเสียต่อความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราและยังคงความมีประสิทธิภาพต่อการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ไว้

ผลการวิจัยพบว่าเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ จำนวน 2 ครั้ง ทั้ง 3 ไอโซเลต (เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 และเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000) ทำให้ไข่มีลักษณะผิดปกติและมีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม โดยเชื้อราที่ไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* เท่ากับ 24-28 และ 22-28% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่เท่ากับ 54-66% อย่างไรก็ตามเชื้อราที่ไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4.2) โดยไข่ที่ไม่ฟักจากการถูกเชื้อราเข้าทำลายมีลักษณะผิดปกติ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองส้ม พบเส้นใยเชื้อราขึ้นปกคลุม (ภาพที่ 4.5A-D) ส่วนไข่ที่กำลังฟักเป็นตัวอ่อนก็เกิดการฟักไม่สมบูรณ์เนื่องจากถูกขัดขวางจากเชื้อรา (ภาพที่ 4.6)

Ref. code: 25605809032583JBQ

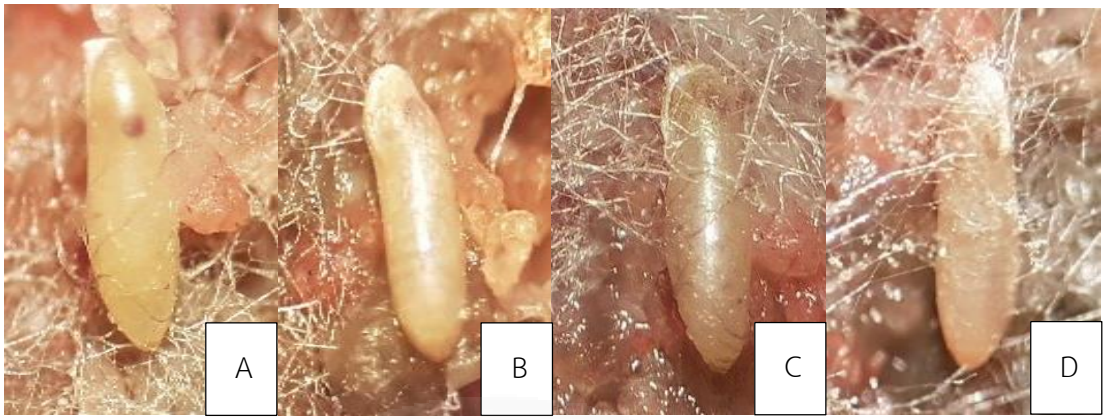
ทั้งนี้ประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงขึ้นอยู่กับไข่ของแมลงและชนิดของเชื้อราที่มีความเฉพาะเจาะจง เช่น Dembilio et al. (2010) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ในการเข้าทำลายไข่ด้วงงวงมะพร้าว (*R. ferrugineus*) พบว่าแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์/มล. ทำให้ไข่มีเปอร์เซ็นต์การฟักเท่ากับ 32.8% เป็นต้น ซึ่งเชื้อราแต่ละชนิดจะผลิตเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติย่อยสลายผนังเปลือกไข่ในปริมาณแตกต่างกัน ภารตี และคณะ (2556) ทำการทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อราต่อกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) และกิจกรรมเอนไซม์ย่อยสลาย พบว่าไข่ที่ทดสอบด้วยเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต 222 มีการเจริญของเส้นใยเชื้อราและมีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสสูงสุดเท่ากับ 36.77 หน่วย เอนไซม์ไคติเนสเท่ากับ 57.94 หน่วย ทั้งนี้ลักษณะโครงสร้างของเปลือกไข่แมลงมีอิทธิพลต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา Maketon et al. (2009) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. lilacinus* ในการกำจัดไขหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) พบวาเชื้อรา *P. lilacinus* ทำให้ไข่หอยเชอรี่มีเปอรเซ็นตการฟกเท่ากับ 14.36% ในขณะที่ มณจันทร์และศศิเทพ (2549) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. lilacinus* ต่อการควบคุมไข่ของหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hub.) พบว่าเชื้อรา *P. lilacinus* ทำให้ไข่หนอนกระทู้หอมมีเปอร์เซ็นต์การฟักเท่ากับ 56.95% ซึ่งความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ที่ปรากฏขึ้นอาจเป็นผลมาจากลักษณะโครงสร้างของเปลือกไข่หอยเชอรี่ที่ไม่มีขนปกคลุมจึงอ่อนแอต่อการถูกเชื้อราเข้าทำลายมากกว่าเปลือกไข่หนอนกระทู้หอมที่มีขนปกคลุม

ตารางที่ 4.2 ประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ทั้งไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพเบื้องต้นในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	การฟักไข่ (%)			
	ไม่ผ่านการแปรสภาพ		ผ่านการแปรสภาพ	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
กรรมวิธีควบคุม	66.00 ± 11.40[a1/]	54.00 ± 8.94[a]	58.00 ± 8.37[a]	56.00 ± 8.94[a]
Metarhizium sp. BCC30455	24.00 ± 5.48[b]	24.00 ± 8.94[b]	26.00 ± 11.40[b]	22.00 ± 8.37[b]
M. anisopliae BCC16762	28.00 ± 10.95[b]	26.00 ± 11.40[b]	28.00 ± 8.37[b]	24.00 ± 8.94[b]
M. anisopliae BCC16000	26.00 ± 8.94[b]	24.00 ± 16.73[b]	28.00 ± 14.83[b]	26.00 ± 11.40[b]

[1/]ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$)

Ref. code: 25605809032583JBQ



ภาพที่ 4.5 ลักษณะไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ภายหลังถูกเชื้อราเข้าทำลายที่ระยะเวลา 3 วัน (A) 5 วัน (B) 7 วัน (C) และ 10 วัน (D) โดยไข่ผิดปกติมีสีเหลืองส้ม พบเส้นใยเชื้อราปกคลุม

ภาพที่ 4.6 ไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ที่กำลังจะฟักเป็นตัวอ่อน แต่ถูกเชื้อราเข้าทำลาย

4.2.2 การทดสอบความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา

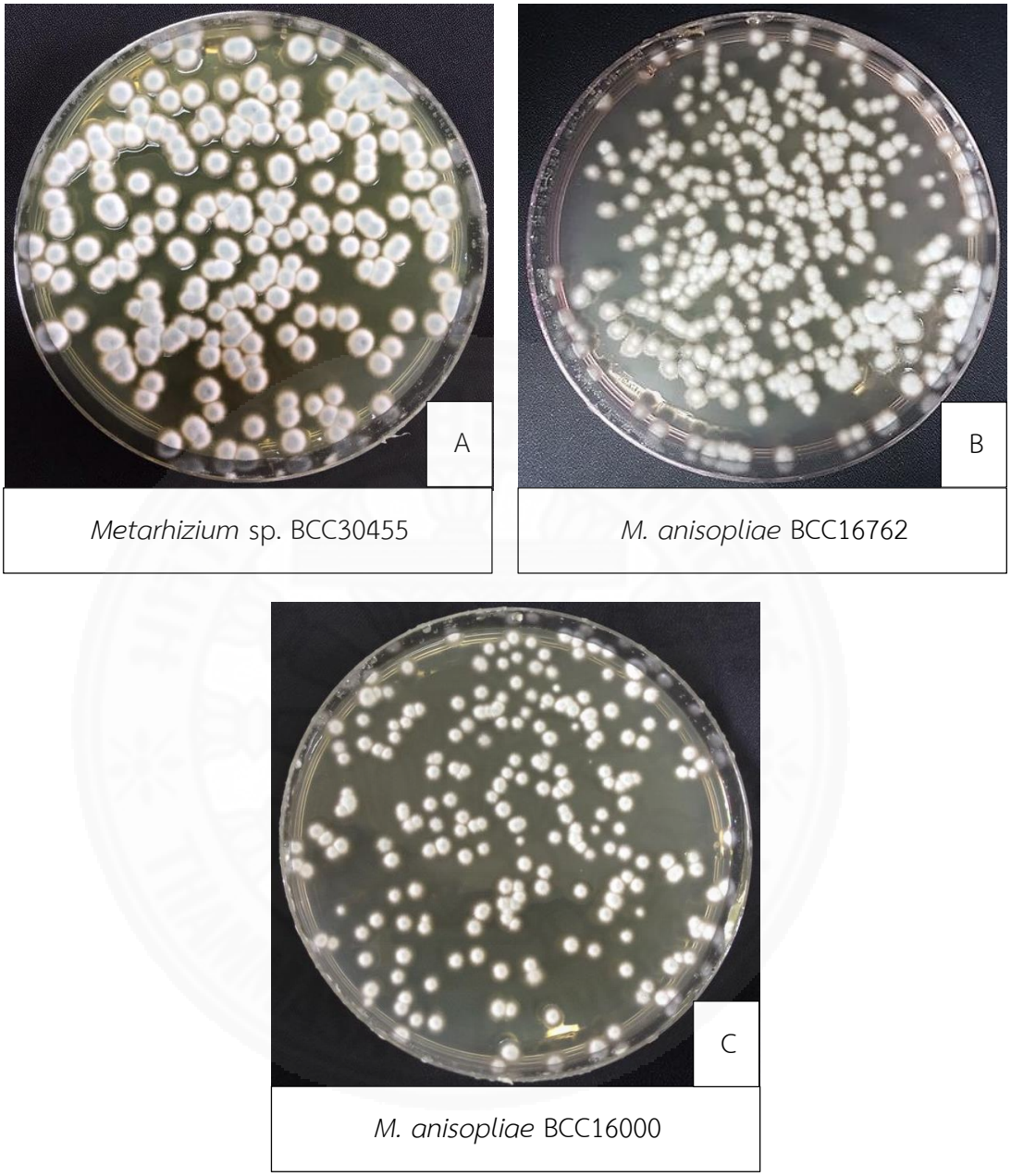
เชื้อราสกุล *Metarhizum* จำนวน 3 ไอโซเลต ทั้งไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพภายหลังการทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นภายใต้ห้องปฏิบัติการ จะนำมาเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยระหว่างการเก็บรักษาแต่ละเดือนจะนำมาทดสอบความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราและประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ภายใต้สภาพโรงเรือน

Ref. code: 25605809032583JBQ

เพื่อศึกษาว่าการเก็บรักษาส่งผลอย่างไรต่อความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราและประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ภายใต้สภาพโรงเรือน

ผลการวิจัยความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราสกุล *Metarhizium* จำนวน 3 ไอโซเลต (เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 และเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000) ที่เก็บรักษาโดยไม่ผ่านการแปรสภาพเป็นระยะเวลา 6 เดือน จากการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาพที่ 4.7A-C) ส่วนใหญ่มีแนวโน้มความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ทั้งนี้แนวโน้มความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราลดลงปรากฏชัดเจนขึ้นที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2 เดือน โดยระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1, และ 2 เดือน พบปริมาณโคโลนีที่มีชีวิตต่อกรัมของวัสดุเพาะอยู่ในช่วง 2.84-100 และ 3.68-100% ของเชื้อราที่ไม่ใส่และใส่ RP-3A ตามลำดับ และระยะเวลาการเก็บรักษา 3, 4, 5 และ 6 เดือน พบปริมาณโคโลนีที่มีชีวิตต่อกรัมของวัสดุเพาะอยู่ในช่วง 1.53-52.27 และ 4.60-76.64% ของเชื้อราที่ไม่ใส่และใส่ RP-3A ตามลำดับ ทั้งนี้เชื้อราที่ไม่ใส่หรือใส่ RP-3A ส่วนใหญ่มีผลต่อการลดลงของความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราได้ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.3) โดยเชื้อราที่บรรจุลงในชีวภัณฑ์ที่ใส่สารดูดซับความชื้นและแก๊สออกซิเจน RP-3A (Faria et al., 2012) อาจมีความชื้นต่ำอยู่ในระดับหนึ่งแล้วจึงมีผลต่อการหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อราในระหว่างการเก็บรักษาไม่แตกต่างกัน ในขณะที่เชื้อราที่เก็บรักษาโดยผ่านการแปรสภาพเป็นระยะเวลา 6 เดือน ส่วนใหญ่มีแนวโน้มความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นเช่นกัน โดยระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1 และ 2 เดือน พบปริมาณโคโลนีที่มีชีวิตต่อกรัมของวัสดุเพาะอยู่ในช่วง 7.26-100 และ 42.69-100% ของเชื้อราที่ไม่ใส่และใส่ RP-3A ตามลำดับ และระยะเวลาการเก็บรักษา 3, 4, 5 และ 6 เดือน ปริมาณโคโลนีที่มีชีวิตต่อกรัมของวัสดุเพาะอยู่ในช่วง 3.10-49.39 และ 2.31-68.90% ของเชื้อราที่ไม่ใส่และใส่ RP-3A ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) อย่างไรก็ตามระยะเวลาการเก็บรักษาจะแปรผกผันกับความมีชีวิตซึ่งเป็นไปตามอายุของเชื้อราที่ถูกเก็บรักษาภายใต้สภาพแวดล้อมจำกัด วนิดา (2559) ทำการศึกษาความมีชีวิตรอดของสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* ภายใต้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 °C ระยะเวลา 90 วัน พบว่าสปอร์เชื้อรามีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงจาก 76.20% เหลือ 32% Mola and Afkari (2012) ทำการศึกษาความคงทนของสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* ในระหว่างการเก็บรักษารูปแบบต่างๆ พบว่าเชื้อราที่ผสมน้ำมันมะพร้าวและเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ จำนวนสปอร์เชื้อราที่มีชีวิตลดลงเหลือ 43.7% Alves et al. (2002) ทำการศึกษารูปแบบของเชื้อรา *M. anisopliae* ต่อความมีชีวิตและระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่าเชื้อรารูปแบบผสมน้ำมันพืชทำให้ความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราลดลงที่ระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดยเชื้อรารูปแบบผสมน้ำมันพืชที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 27 °C ระยะเวลาเริ่มต้น พบความมีชีวิตของสปอร์เท่ากับ 99% แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผ่านไป 40 สัปดาห์ พบความมีชีวิตของสปอร์เท่ากับ 58%

Ref. code: 25605809032583JBQ



ภาพที่ 4.7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 (A) เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 (B) และเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000 (C) ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน และนำมาทดสอบความมีชีวิตของสปอร์ โดยนับจำนวนสปอร์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางที่ 4.3 ความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพ ทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน

สูตร	ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์โคโลนีของเชื้อราที่มีชีวิตต่อกรัมของวัสดุเพาะ						
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
ไม่ใส่ RP-3A	Met BCC30455	100[1/]	99.08	61.66	1.53	7.98	11.04	9.51
	Met BCC16762	100	150.00	2.84	48.86	52.27	4.55	16.48
	Met BCC16000	100	52.96	12.15	10.90	18.69	8.10	10.90
ใส่ RP-3A	Met BCC30455	100	99.39	3.68	9.20	11.66	4.60	11.66
	Met BCC16762	100	13.07	19.89	6.82	34.66	15.34	22.16
	Met BCC16000	100	81.31	24.92	76.64	25.86	8.41	11.84

[1/] กำหนดให้เปอร์เซ็นต์โคโลนีของเชื้อราที่มีชีวิตในระยะเริ่มต้น (0 เดือน) เป็น 100%

ตารางที่ 4.4 ความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพ ทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน

สูตร	ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์โคโลนีของเชื้อราที่มีชีวิตต่อกรัมของวัสดุเพาะ						
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
ไม่ใส่ RP-3A	Met BCC30455	100[1/]	7.26	34.62	28.85	9.23	15.38	10.38
	Met BCC16762	100	34.15	59.76	49.39	5.49	19.51	10.98
	Met BCC16000	100	40.00	41.38	27.59	6.21	6.90	3.10
ใส่ RP-3A	Met BCC30455	100	50.38	58.85	42.69	2.31	7.69	6.54
	Met BCC16762	100	72.56	85.98	68.90	15.85	8.54	9.15
	Met BCC16000	100	44.48	56.90	44.14	7.24	5.17	5.86

[1/] กำหนดให้เปอร์เซ็นต์โคโลนีของเชื้อราที่มีชีวิตในระยะเริ่มต้น (0 เดือน) เป็น 100%

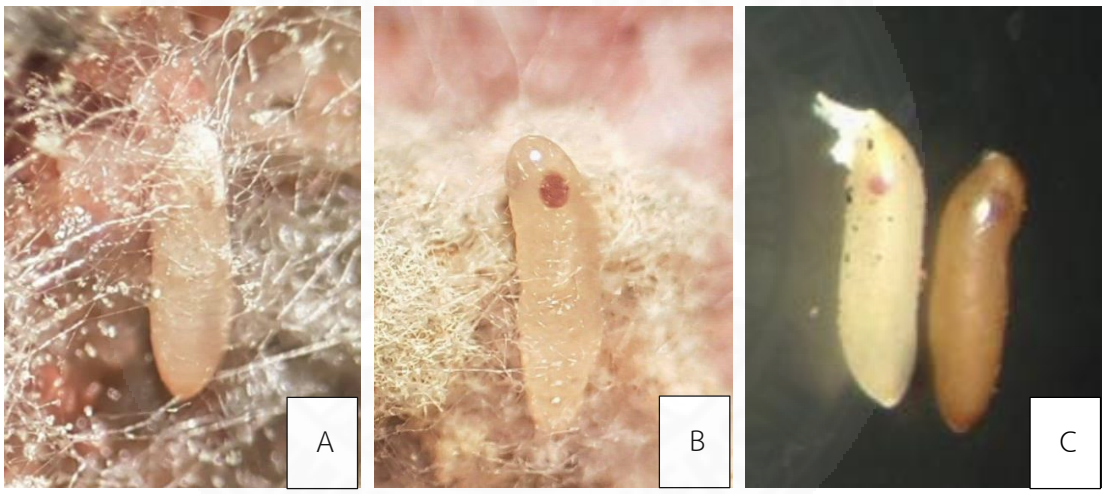
Ref. code: 25605809032583JBQ

4.2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน

ผลการวิจัยประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล *Metarhizium* จำนวน 3 ไอโซเลต (เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 และ *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000) ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นระยะเวลา 6 เดือน ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ภายใต้สภาพโรงเรือน พบว่าเชื้อราเข้าทำลายไข่และทำให้ไข่มีลักษณะผิดปกติ (ภาพที่ 4.8A-C) และมีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม เช่น เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 ทั้งไม่ใส่และใส่ RP-3A ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่เท่ากับ 26-50 และ 30-56% ตามลำดับ เป็นต้น ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่เท่ากับ 50-62% ทั้งนี้ระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ประสิทธิภาพของเชื้อราต่อเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายไข่มีแนวโน้มลดลง ซึ่งที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2 เดือนเป็นต้นไป เชื้อราทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ลดลงได้แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม ส่วนเชื้อราแต่ละไอโซเลตก็ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามเชื้อราไม่ผ่านการแปรสภาพที่ไม่มีและมี RP-3A ทั้ง 3 ไอโซเลต ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ลดลงเท่ากับ 26-58 และ 30-56% ตามลำดับ ซึ่งการเก็บรักษาเชื้อราด้วยการไม่ใส่หรือใส่ RP-3A ทำให้เปอร์เซ็นต์การฟักไข่ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.5) ส่วนประสิทธิภาพของเชื้อราที่ผ่านการแปรสภาพ ทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นระยะเวลา 6 เดือน ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ภายใต้สภาพโรงเรือน ให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกันกับเชื้อราที่ไม่ผ่านการแปรสภาพ กล่าวคือพบไข่ที่มีลักษณะผิดปกติจากการถูกเชื้อราเข้าทำลายและมีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม เช่น เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 ทั้งไม่ใส่และใส่ RP-3A ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่เท่ากับ 26-48 และ 20-48% ตามลำดับ เป็นต้น ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่เท่ากับ 50-62% โดยที่ระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ประสิทธิภาพของเชื้อราต่อเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายไข่มีแนวโน้มลดลง ซึ่งที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 3 เดือน เชื้อราทำให้เปอร์เซ็นต์การฟักไข่ลดลงได้แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม ส่วนเชื้อราแต่ละไอโซเลตก็ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ไม่แตกต่างกัน โดยเชื้อราผ่านการแปรสภาพที่ไม่มีและมี RP-3A ทั้ง 3 ไอโซเลต ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ลดลงเท่ากับ 24-48 และ 20-48% ตามลำดับ ซึ่งการเก็บรักษาเชื้อราด้วยการไม่ใส่หรือใส่ RP-3A ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ลดลงไม่แตกต่างกันเช่นเดียวกับเชื้อราที่ไม่ผ่านการแปรสภาพ (ตารางที่ 4.6) อย่างไรก็ตามการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือนของเชื้อราทั้งไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพยังคงทำให้เปอร์เซ็นต์การฟักไข่ลดลงได้และอาจเก็บรักษาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้อีก ทั้งนี้

Ref. code: 25605809032583JBQ

ควรมีการจัดการสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมตามข้อจำกัดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Abrol, 2014) Blanford et al. (2012) ทำการศึกษาการเก็บรักษาและความคงทนของสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต I93-825 ต่อการเข้าทำลายยุงระยะตัวเต็มวัย (*Anopheles stephensi*) พบว่าเชื้อราที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ทำให้มีค่าปริมาณของแขวนลอยสปอร์เชื้อราที่ทำให้ยุงตายได้ 95% (LD_{95}) เท่ากับ 4 สปอร์/มล. และที่การเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 5 เดือน ทำให้มีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ 11 สปอร์/มล. Prakash et al. (2015) ทำการศึกษาการพัฒนารูปแบบของเชื้อรา *M. anisopliae* ต่ออายุการเก็บรักษาและประสิทธิภาพในการเข้าทำลายตัวอ่อนหนอนกระทู้ผัก (*S. litura*) วัยที่ 3 ในสภาพแปลง พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* รูปแบบเม็ด ที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 15 วัน ทำให้ตัวอ่อนหนอนกระทู้ผักตายเท่ากับ 86.67% และที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 6 เดือน ทำให้ตัวอ่อนหนอนกระทู้ผักตายลดลงเท่ากับ 40%



ภาพที่ 4.8 ลักษณะของไข่เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ภายหลังถูกเชื้อราเข้าทำลาย (A) ทำให้ไม่สามารถฟักเป็นตัวอ่อน (B) และมีสีเหลืองส้มแตกต่างจากไข่ปกติ (C)

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางที่ 4.5 ประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน ต่อเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน

สูตร	ไอโซเลต	ระยะเวลาที่เก็บรักษาเชื้อรา/เปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น						
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
กรรมวิธีควบคุม		62.00 ± 8.37[a1/]	58.00 ± 8.37[a]	50.00 ± 7.07	58.00 ± 8.37	58.00 ± 4.47	60.00 ± 7.07	62.00 ± 4.47
ไม่ใส่ RP-3A	Met BCC30455	32.00 ± 21.68[b]	26.00 ± 11.40[b]	34.00 ± 16.73	38.00 ± 8.37	46.00 ± 5.48	54.00 ± 5.48	50.00 ± 10.00
	Met BCC16762	26.00 ± 8.94[b]	34.00 ± 11.40[b]	34.00 ± 5.48	30.00 ± 12.25	40.00 ± 10.00	56.00 ± 5.48	52.00 ± 8.37
	Met BCC16000	26.00 ± 8.94[b]	28.00 ± 17.89[b]	30.00 ± 15.81	34.00 ± 15.17	40.00 ± 10.00	58.00 ± 8.37	56.00 ± 11.40
ใส่ RP-3A	Met BCC30455	-	32.00 ± 21.68[b]	30.00 ± 7.07	36.00 ± 11.40	46.00 ± 5.48	56.00 ± 8.94	50.00 ± 10.00
	Met BCC16762	-	32.00 ± 14.83[b]	32.00 ± 19.24	30.00 ± 18.71	42.00 ± 13.04	56.00 ± 8.94	54.00 ± 11.40
	Met BCC16000	-	40.00 ± 15.81[ab]	40.00 ± 15.81	34.00 ± 20.74	40.00 ± 10.00	52.00 ± 14.83	52.00 ± 13.04

[1/]ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$)

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางที่ 4.6 ประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน ต่อเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน

สูตร	ไอโซเลต	ระยะเวลาที่เก็บรักษาเชื้อรา/เปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น						
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
กรรมวิธีควบคุม		58.00 ± 8.37[a1/]	54.00 ± 11.40[a]	58.00 ± 8.37[a]	52.00 ± 8.37[a]	50.00 ± 23.45	54.00 ± 5.48	62.00 ± 8.37
ไม่ใส่ RP-3A	Met BCC30455	26.00 ± 11.40[b]	26.00 ± 15.17[b]	26.00 ± 11.40[b]	26.00 ± 13.42[b]	32.00 ± 17.89	40.00 ± 12.25	48.00 ± 4.47
	Met BCC16762	24.00 ± 11.40[b]	22.00 ± 8.37[b]	22.00 ± 8.37[b]	26.00 ± 8.94[b]	34.00 ± 11.40	40.00 ± 7.07	48.00 ± 8.37
	Met BCC16000	26.00 ± 8.94[b]	22.00 ± 8.37[b]	26.00 ± 8.94[b]	24.00 ± 11.40[b]	30.00 ± 14.14	34.00 ± 16.73	46.00 ± 8.94
ใส่ RP-3A	Met BCC30455	-	20.00 ± 7.07[b]	26.00 ± 11.40[b]	24.00 ± 11.40[b]	32.00 ± 13.04	36.00 ± 13.41	48.00 ± 8.37
	Met BCC16762	-	24.00 ± 11.40[b]	24.00 ± 16.73[b]	26.00 ± 5.48[b]	28.00 ± 8.37	36.00 ± 5.48	44.00 ± 11.40
	Met BCC16000	-	24.00 ± 16.73[b]	24.00 ± 11.40[b]	24.00 ± 11.40[b]	28.00 ± 16.43	32.00 ± 8.37	46.00 ± 8.94

[1/]ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$)

Ref. code: 25605809032583JBQ

4.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน (แบบจับคู่ผสม)

จากการศึกษาในข้อ 4.2.1-4.2.3 เชื้อราที่ผ่านการแปรสภาพพบความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราและประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ไม่แตกต่างกับเชื้อราที่ไม่ผ่านการแปรสภาพ ดังนั้นการศึกษาในส่วนนี้จึงนำเชื้อราที่ผ่านการแปรสภาพซึ่งอยู่ในรูปแบบที่สะดวกกับการใช้งานในสภาพแปลงมาทดสอบประสิทธิภาพโดยการจับคู่ผสมพันธุ์เพื่อให้แมลงวางไข่ภายในกระบอกพลาสติกที่มีต้นอ้อยอยู่ แล้วจึงโรยเชื้อราลงไปบริเวณโคนต้นอ้อย ก่อนนำไปวางไว้ในสภาพโรงเรือนเพื่อเป็นการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราต่ออัตราการฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* โดยเลียนแบบสภาพธรรมชาติ

ผลการวิจัยพบว่าเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพ ทั้ง 3 ไอโซเลต (เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 และ *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000) เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพต่ออัตราการฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* พบว่าเชื้อราทำให้ไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* จากการจับคู่ผสมพันธุ์แต่ละคู่มีอัตราการฟักไข่ลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม โดยเชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 ทำให้มีอัตราการฟักไข่เท่ากับ 37.40 ฟอง/คู่ เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 ทำให้มีอัตราการฟักไข่เท่ากับ 34.35 ฟอง/คู่ และเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000 ทำให้มีอัตราการฟักไข่เท่ากับ 35.35 ฟอง/คู่ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมทำให้มีอัตราการฟักไข่เท่ากับ 67.50 ฟอง/คู่ ซึ่งม อย่างไรก็ตามไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* จากคู่ผสมพันธุ์ที่ได้รับเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลต มีอัตราการฟักไข่ลดลงไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.7) ทั้งนี้เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* เพศเมียจากคู่ผสมพันธุ์ อาจสัมผัสกับเชื้อราที่ทำการทดสอบจนส่งผลให้อ่อนแอและตายก่อนครบอายุขัย จำนวนการวางไข่จึงมีปริมาณน้อยกว่าแมลงเพศเมียที่ไม่ได้สัมผัสกับเชื้อรา Wekesa et al. (2006) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ต่อการวางไข่ของไรแมงมุมแดงระยะตัวเต็มวัย (*Tetranychus evansi*) พบว่าไรแมงมุมแดงที่ได้รับเชื้อราจะมีอัตราการวางไข่น้อยกว่าที่ไม่ได้รับเชื้อรา แต่ไรแมงมุมแดงที่ได้รับเชื้อราแต่ละไอโซเลตทำให้มีอัตราการวางไข่ไม่แตกต่างกัน Angelo et al. (2010) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *L. lecanii* ต่อการเข้าทำลายเห็บ (*R. microplus*) พบว่าเห็บเพศเมียจากคู่ผสมพันธุ์ เมื่อได้รับแขวนลอยสปอร์เชื้อราระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มล. ทำให้มีพฤติกรรมการวางไข่น้อยลงและพบเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่ากรรมวิธีควบคุม ในขณะที่การตายก่อนครบอายุขัยขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ที่แตกต่างกันของแมลงแต่ละตัวและปริมาณการวางไข่ขึ้นอยู่กับแมลงเพศผู้และเพศเมียที่มีความเหมาะสมต่อกันนอกจากนี้เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* มีพฤติกรรมการวางไข่รอบโคน

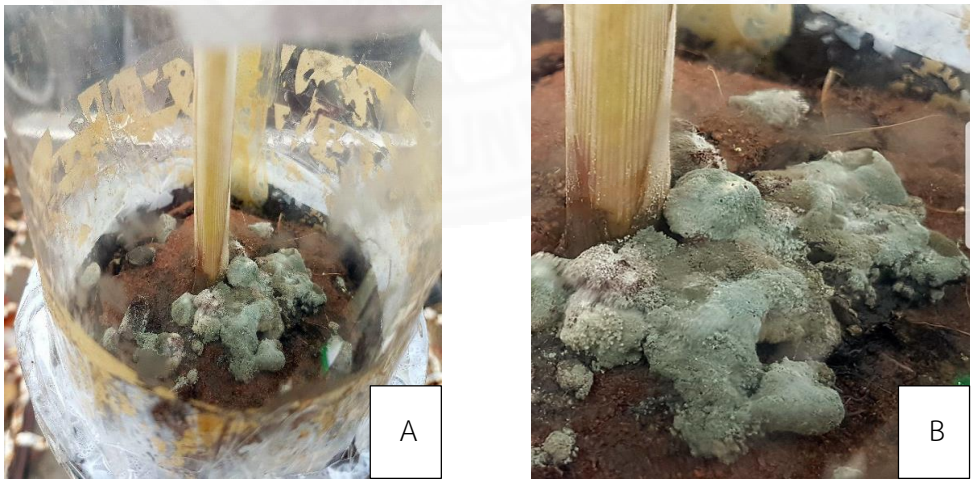
Ref. code: 25605809032583JBQ

ต้นอ้อยหรือพบกระจายอยู่ทั่วไปที่ผิวหน้าดินหรือในดินลึกประมาณ 0.5 ซม. โอกาสการเข้าสัมผัสโดยตรงของเชื้อรากับไข่ที่อยู่ใต้ดินอาจลดลงน้อยกว่าไข่ของเพลี้ยจักจั่นที่อยู่บนผิวดิน ทั้งนี้ผลการทดลองมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ด้วยเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่คัดเลือกได้ในข้อ 4.2 กล่าวคือ เชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลต ทำให้จำนวนการฟักไข่ลดลงได้แตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมและสามารถลดปริมาณการเพิ่มจำนวนประชากรของแมลงพาหะได้

ตารางที่ 4.7 ประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน (แบบจับคู่ผสม)

กรรมวิธี	อัตราการฟักไข่ (ฟอง/คู่)
กรรมวิธีควบคุม	67.50 ± 21.11[a1/]
Metarhizium sp. BCC30455	37.40 ± 8.82[b]
M. anisopliae BCC16762	34.35 ± 9.68[b]
M. anisopliae BCC16000	35.35 ± 7.13[b]

[1/]ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.9 สภาพภายในกรงพลาสติก (A) และลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* (B) ระหว่างการทดสอบอัตราการฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น

Ref. code: 25605809032583JBQ

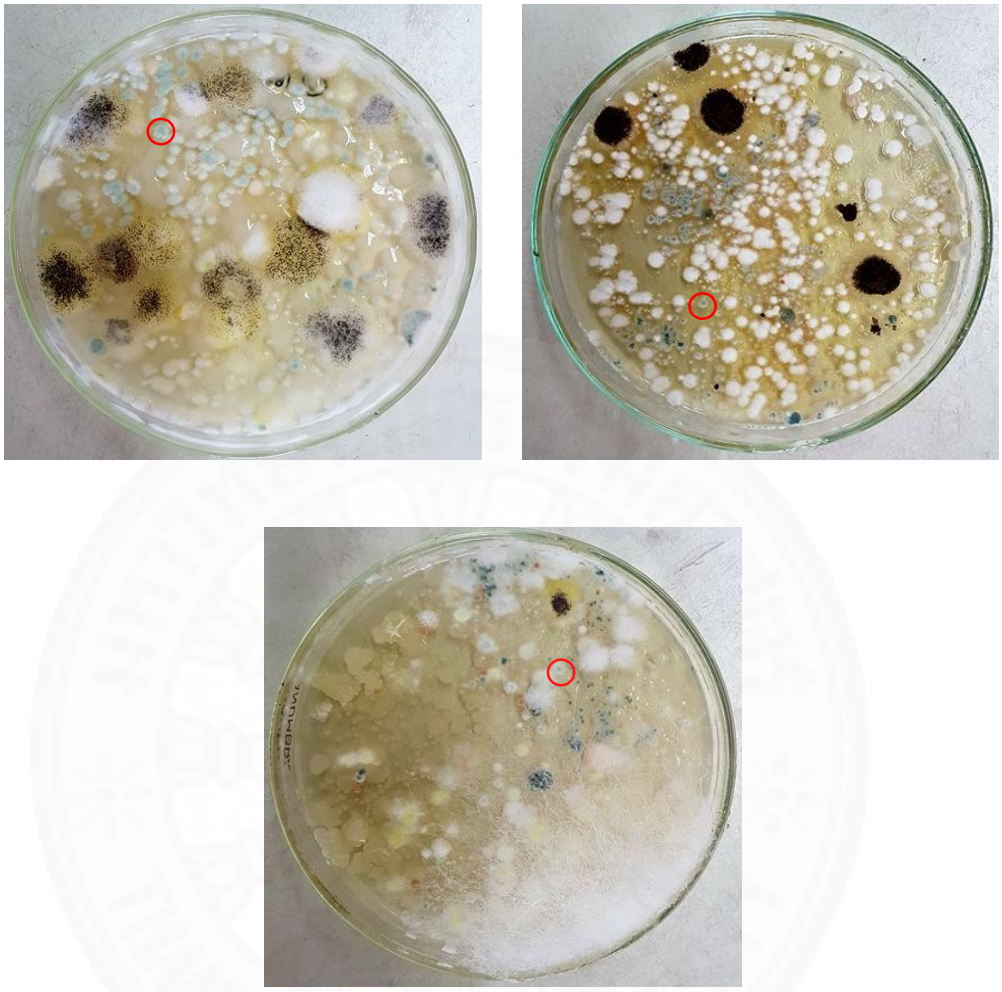
4.3 การศึกษาความมีชีวิตในดินของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่เก็บรักษาโดยผ่านการแปรสภาพ

ผลการวิจัยความมีชีวิตในดินของเชื้อราสกุล *Metarhizium* จำนวน 3 ไอโซเลต (เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 และ *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000) ที่เก็บรักษาโดยผ่านการแปรสภาพเป็นระยะเวลา 6 เดือน จากการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อยังคงพบความมชีวิตของเชื้อราเมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในดินได้ (ภาพที่ 4.9) อย่างไรก็ตามเชื้อราที่ระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ส่วนใหญ่มีแนวโน้มความมีชีวิตในดินลดลง เช่น เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 ก่อนการเก็บรักษา (เริ่มต้น) เมื่อนำไปทดสอบความมีชีวิตในดินเป็นระยะเวลา 1 และ 2 สัปดาห์ พบค่าเฉลี่ยโคโลนีที่มีชีวิตต่อกรัมของดินเท่ากับ 7.20 และ 5.13 CFU/g ($x10^5$) ตามลำดับ แต่ภายหลังที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 6 เดือน เมื่อนำไปทดสอบความมีชีวิตในดินเป็นระยะเวลา 1 และ 2 สัปดาห์ พบค่าเฉลี่ยโคโลนีที่มีชีวิตต่อกรัมของดินลดลงเท่ากับ 0.30 (ไม่ใส่ RP-3A)-0.33 (ใส่ RP-3A) และ 0.24 (ใส่ RP-3A)-0.57 (ไม่ใส่ RP-3A) CFU/g ($x10^5$) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8) เชื้อราพบความมีชีวิตตั้งแต่ 2 สัปดาห์เป็นต้นไป โดยการทดสอบความมีชีวิตในดินเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบความมีชีวิตในดินมากกว่าระยะเวลา 2 สัปดาห์ อย่างไรก็ตาม ทั้งนี้มีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อความมีชีวิตของเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดิน (Asensio et al., 2003) ซึ่งรังสียูวีจากแสงอาทิตย์เป็นปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่ทำอันตรายให้กับเชื้อราบริเวณผิวหน้าดิน เมื่อนำไปประยุกต์ใช้ควบคุมแมลงศัตรูในสภาพแปลง (Fernandes et al., 2015) Rodrigues et al. (2016) ทำการศึกษาผลของรังสียูวีต่อความมีชีวิตของเชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *M. anisopliae* รูปแบบผง โดยภายหลังการฉายรังสียูวี 5 นาที พบว่ารังสียูวีทำให้เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* ลดลงจาก 94% เหลือ 52% และทำให้ความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* ลดลงจาก 96% เหลือ 54% ในขณะเดียวกันเชื้อราหรือจุลินทรีย์สาเหตุโรคแมลงที่อยู่ในชั้นดินตามสภาพธรรมชาติก็สามารถได้รับการป้องกันรังสียูวีและลดความแปรปรวนของสภาพกรด-เบส (pH) ที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิตได้ (Sergio et al., 2011) ทั้งนี้เชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพความเป็นกรด-เบสในช่วง 2.5-10.5 แต่พบว่าเจริญเติบโตได้ดีในช่วง 7.5 (Namasivayam et al., 2015) ส่วนอุณหภูมิก็ยังเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อกิจกรรมของเชื้อราแต่ละรูปแบบ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตเพื่อสร้างสปอร์ที่มีความรุนแรงต่อการเข้าทำลายแมลงศัตรูอยู่ระหว่าง 20-30 °C (Yeo et al., 2003) ดังนั้นความหลากหลายของอุณหภูมิที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมจึงส่งผลต่อความ

Ref. code: 25605809032583JBQ

คงทนของสปอร์เชื้อราที่อาศัยในดิน Hsia et al. (2014) ทำการประเมินความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* เชื้อรา *P. fumosoroseus* และเชื้อรา *B. bassiana* พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* มีความคงทนต่ออุณหภูมิต่างๆ ได้ดีกว่าเชื้อรา *P. fumosoroseus* และเชื้อรา *B. bassiana* โดยภายหลังได้รับอิทธิพลจากอุณหภูมิ โดยเชื้อรา *M. anisopliae*ไอโซเลต PfPx1 มีความงอกของสปอร์ 78.7% ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นระยะเวลา 15 นาที และมีเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ลดลงเท่ากับ 74% ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นระยะเวลา 30 นาที ในขณะที่ปริมาณความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราประมาณ 80% จากการศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความมีชีวิตของเชื้อรา *M. anisopliae* เมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในดินที่มีปริมาณความชื้น 80% พบจำนวนโคโลนีต่อกรัมของดินมากที่สุดเท่ากับ $15x10^9$ CFU/g (Namasivayam et al. 2015) ทั้งนี้ความมีชีวิตของสปอร์ยังขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic) ที่มีบทบาทในการแข่งขัน (competition) ระหว่างเชื้อราในพื้นที่กับเชื้อราที่นำไปประยุกต์ใช้ โดยจุลินทรีย์ในพื้นที่อาจเป็นเชื้อราที่เจริญเติบโตได้รวดเร็วเข้าครอบครองพื้นที่ได้มากกว่า สามารถผลิตสารทุติยภูมิออกมายังยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดอื่นข้างเคียงได้หรือเป็นปรสิตโดยการอาศัยเจริญเติบโตบนจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง (พรทิพย์, 2557) ความอ่อนแอต่อสภาพแวดล้อมของเชื้อราที่มีเฉพาะเจาะจงในแต่ละไอโซเลต โดยความสามารถของการคงทนต่ออุณหภูมิสูง (thermotolerance) หรือลักษณะการต้านทานความร้อนของสปอร์เชื้อรามีความสัมพันธ์ร่วมกับจุดเริ่มต้นทางสภาพภูมิศาตร์ที่จำแนกเชื้อรามา ซึ่งมีผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงศัตรู ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมพบสปอร์เชื้อราสีเขียวคล้ายกันกับสปอร์เช่นกัน

Ref. code: 25605809032583JBQ



ภาพที่ 4.10 ลักษณะของโคโลนีเชื้อราสกุล *Metarhizium* หลังเก็บรักษาที่จำแนกได้จากดิน

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางที่ 4.8 ความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ในดินที่ผ่านการแปรสภาพทั้งไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน

ระยะเวลา	ไอโซเลต	ค่าเฉลี่ยโคโลนีที่มีชีวิตต่อกรัมของดิน (CFU/g) ($x10^5$)			
		1 สัปดาห์		2 สัปดาห์	
		ไม่ใส่ RP-3A	ใส่ RP-3A	ไม่ใส่ RP-3A	ใส่ RP-3A
	กรรมวิธีควบคุม	2.07		0.96	
เดือนที่ 0	Met BCC30455	7.20		5.13	
	Met BCC16762	3.33		6.39	
	Met BCC16000	4.62		1.65	
	กรรมวิธีควบคุม	2.07		0.60	
เดือนที่ 1	Met BCC30455	6.96	3.36	4.44	4.14
	Met BCC16762	3.60	5.46	0.93	1.56
	Met BCC16000	2.22	3.51	2.16	0.93
	กรรมวิธีควบคุม	0.78		1.05	
เดือนที่ 2	Met BCC30455	5.22	2.55	3.63	1.32
	Met BCC16762	2.82	1.77	2.91	2.94
	Met BCC16000	4.35	3.87	1.53	2.49
	กรรมวิธีควบคุม	0.63		0.21	
เดือนที่ 3	Met BCC30455	2.46	0.42	1.89	0.54
	Met BCC16762	1.74	0.87	2.04	0.57
	Met BCC16000	2.73	0.63	1.86	0.27
	กรรมวิธีควบคุม	1.14		0.33	
เดือนที่ 4	Met BCC30455	1.89	1.29	1.08	0.75
	Met BCC16762	1.29	1.29	0.90	0.84
	Met BCC16000	0.75	0.51	0.48	0.84
	กรรมวิธีควบคุม	0.51		0.33	
เดือนที่ 5	Met BCC30455	0.36	0.63	0.45	0.66
	Met BCC16762	0.75	0.75	0.54	0.57
	Met BCC16000	0.30	0.81	0.42	0.33
	กรรมวิธีควบคุม	0.75		0.42	
เดือนที่ 6	Met BCC30455	0.30	0.33	0.57	0.24
	Met BCC16762	0.30	0.72	0.87	0.57
	Met BCC16000	0.45	0.42	0.39	0.33

Ref. code: 25605809032583JBQ

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

1. การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ภายใต้ห้องปฏิบัติการจากเชื้อราจำนวน 24 ไอโซเลต ได้เชื้อราสกุล *Metarhizium* 3 ไอโซเลต คือ เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลต BCC30455 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16000 และเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC16762 ที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ครอบคลุมทั้ง 3 ระยะ นำไปศึกษาต่อด้วยการไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพโดยเจาะจงไปที่ประสิทธิภาพการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่

2. เชื้อราสกุล *Metarhizium* จำนวน 3 ไอโซเลต ที่ไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ จำนวน 2 ครั้ง ทำให้ไข่มีลักษณะผิดปกติและมีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ลดลงได้ โดยเชื้อราทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* เท่ากับ 24-28% และ 22-28% ของเชื้อราที่ไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพ ตามลำดับ

เมื่อนำเชื้อราทั้งไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพไปบรรจุชีวภัณฑ์และเก็บรักษาด้วยการบรรจุลงในถุงที่ไม่มีและมีสารดูดความชื้น (RP-3A) เป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยระหว่างการเก็บรักษาจะนำเชื้อราออกมานับจำนวนสปอร์และตรวจสอบความมีชีวิต ทำให้ทราบว่าสปอร์เชื้อราส่วนใหญ่มีแนวโน้มความมีชีวิตลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งแนวโน้มความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราลดลงปรากฏชัดเจนขึ้นที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2-3 เดือน ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ด้วยเชื้อราที่เก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน ทำให้เปอร์เซ็นต์การฟักไข่ลดลงได้เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

ในขณะที่เมื่อนำเชื้อราสกุล *Metarhizium* จำนวน 3 ไอโซเลต ที่ผ่านการแปรสภาพมาทดสอบประสิทธิภาพต่ออัตราการฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M..hiroglyphicus* แบบจับคู่ผสม ก็ทำให้ไข่ของเพลี้ยจักจั่น แต่ละคู่มีอัตราการฟักลดลง

3. เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพทั้ง 3 ไอโซเลต ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน แบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เมื่อนำมาทดสอบความมีชีวิตก่อนการนำไปประยุกต์ใช้ในดินเพื่อ

Ref. code: 25605809032583JBQ

ทำลายเพลี้ยจักจั่นระยะไข่ พบว่าเชื้อราสามารถคงความมีชีวิตในดินได้เป็นระยะเวลานาน 1 สัปดาห์ และเริ่มมีแนวโน้มความมีชีวิตลดลงที่ 2 สัปดาห์ ซึ่งขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่เชื้อราถูกเก็บรักษาก่อนนำมาทดสอบ ซึ่งระยะเวลาการเก็บรักษาและการทดสอบในดินนานขึ้น เชื้อราส่วนใหญ่จะมีแนวโน้มความมีชีวิตในดินลดลง

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. เพิ่มจำนวนไอโซเลตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ในขั้นตอนการคัดเลือกให้มากขึ้น เพื่อหาเชื้อราไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพเพียง 1 ไอโซเลตที่สามารถเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ได้ครอบคลุมทั้ง 3 ระยะการเจริญเติบโต

2. การปรับเปลี่ยนรูปแบบของเชื้อราที่คัดเลือกให้สอดคล้องกับการนำไปใช้และการเก็บรักษา โดยการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณบนเมล็ดข้าว (เชื้อราไม่ผ่านการแปรสภาพ) และนำไปบด (เชื้อราผ่านการแปรสภาพ) ทำให้ทราบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นเชื้อรามีแนวโน้มความมีชีวิตและประสิทธิภาพลดลง ซึ่งอาจเป็นผลมาการได้รับปัจจัยที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตนานเกินไป จนทำให้เชื้อราเสื่อมสภาพและเมื่อนำมาใช้งานก็ไม่สามารถฟื้นฟูกลับมามีชีวิตใหม่ได้ ในการศึกษาต่อไปอาจมีการนำสารมาเคลือบเม็ดเชื้อราหรือทำในรูปแบบแคปซูล (capsule) เพื่อกักเก็บความชื้น

3. เชื้อรารูปแบบเม็ดที่ผลิตขึ้นมีเป้าหมายในการนำไปประยุกต์ใช้ควบคุมเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ในดิน ซึ่งมีความแปรปรวนของสภาพอากาศค่อนข้างสูง จึงควรมีการนำเชื้อราไปทดสอบความคงทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง เนื่องจากอุณหภูมิถือเป็นปัจจัยที่ทำการควบคุมได้ยาก ระดับความเป็นกรด-เบสของดินที่สปอร์เชื้อราสามารถอยู่ได้ ก่อนการนำไปประยุกต์ใช้

4. การทดสอบความมีชีวิตของเชื้อรามีหลายปัจจัยที่อาจลดความมีชีวิตของเชื้อราในดิน ดังนั้นการนำเชื้อรารูปแบบเม็ดไปประยุกต์ใช้ควบคุมเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ในดิน ควรนำไปโรยในแปลงรอบโคนต้นอ้อยช่วงเวลาฤดูฝน (เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* วางไข่และสภาพดินมีความชื้น) ตอนเย็น (อุณหภูมิต่ำและลดการเข้าทำลายจากแสงยูวี) ซึ่งเหมาะสมต่อการทำให้เชื้อรามีประสิทธิภาพในการควบคุมประชากรของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus*

Ref. code: 25605809032583JBQ

รายการอ้างอิง

กนกกาญจน์ ตลึงผล และ นริศ ท้าวจันทร์. 2557. การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM04 ควบคุมเพลี้ยอ่อนผัก *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Homoptera: Aphididae) ในผักคะน้าระบบไฮโดรโปนิกส์. แก่นเกษตร. 42: 634-638.

แก้วบัวสอน ราชขันติ และ สุกัญญา คลังสินศิริกุล. 2558. การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีศักยภาพเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำ (*Lipaphis erysimi*). ว. เกษตรพระจอมเกล้า. 35(2): 65-75.

แฉล้ม มาศวรรณา และ สุพัตรา ดลโสภณ. 2551. โรคใบขาวอ้อย การระบาดที่เรื้อรังและรุนแรง. กสิกร. 81: 45-54.

ชาญณรงค์ ดวงสะอาด. 2549. การจัดการแมลงศัตรูพืช. หจก. ดีพริ้นท์, กรุงเทพมหานคร. 231 หน้า

ชุลี ชัยศรีสุข. 2546. พันธุศาสตร์ของเชื้อรา. สำนักพิมพ์มหวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 244 หน้า.

นริศ ท้าวจันทร์ และ อนุชิต ชินาจริยวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพการควบคุมของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). ว.วิทย์. กษ. 39(3)(พิเศษ): 22-25.

นิภา แถนสีแสง, ศิวิลัย สิริมังคารัตน และวีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน. 2014. ผลของอาหารเลี้ยงเชื้อและเมล็ดธัญพืชต่างชนิดต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสปอร์ของเชื้อราขาว *Beauveria bassiana*. วารสารวิจัย มข. 19: 860-874.

นุกูล อินทรสังขา. 2551. วิทยาเชื้อรา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา. 280 หน้า.

นุชรีย์ ศิริ และ จันทร์เพ็ญ ชาดาเม็ก. 2560. การควบคุมเพลี้ยไฟและไรขาวในพริกสองพันธุ์. แก่นเกษตร. 45(1)(พิเศษ): 461-467.

พรทิพย์ วงศ์แก้ว. 2542. โรคใบขาวของอ้อยและยุทธการป้องกันกำจัด. พิมพ์ครั้งที่ 1. T&R CELECA PRODUCTS LTD., PART, ขอนแก่น. 80 หน้า.

พลังงานเกษตร. 2558. พืชพลังงาน ประโยชน์ของอ้อย. แหล่งที่มา: http://www.palangkaset.com. ค้นเมื่อ 4 สิงหาคม 2559.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. ม.ป.ป. รา. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0831/mold-%E0%B8%A3%E0%B8%B2. ค้นเมื่อ 24 ธันวาคม 2558.

Ref. code: 25605809032583JBQ

เพชรหทัย ปฏิรูปานุสร และ อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ. 2550. ประสิทธิภาพของเชื้อราทำลายแมลงต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยจักจั่นสีเขียว. การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2550. ปทุมธานี.

ภารตี ศรีลาศักดิ์ วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และ ศิวิลัย สิริมังคารัตน์. 2556. การทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อราต่อกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* Chitwood และกิจกรรมเอนไซม์ย่อยสลาย. แก่นเกษตร. 41(1)(พิเศษ): 227-231.

มณจันทร์ เมฆธน และ ศศิเทพ ปิติพรเทพิน. 2549. การใช้เชื้อราศัตรูแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hub.), น. 753-761. *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพฯ.

ยุพา หาญบุญทรง และ ทนุธรรม บุญฉิม. 2559. พฤติกรรมการเคลื่อนที่ของเพลี้ยจักจั่นพาหะนำโรคใบขาวอ้อย. แก่นเกษตร. 1: 73-79.

ยุพา หาญบุญทรง. 2552. การศึกษาสภาพนิเวศวิทยา พฤติกรรม ประสิทธิภาพการถ่ายทอดโรคของแมลงพาหะชนิดใหม่นำโรคใบขาวอ้อยและแนวทางการป้องกันกำจัด, สาขาวิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ยุพา หาญบุญทรง. 2559. แมลงพาหะนำเชื้อโรคใบขาวอ้อยและการจัดการ. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 249 หน้า.

วนิดา เพ็ชร์ลมุล. 2559. การมีชีวิตรอดของสปอร์เชื้อรา *Beauveria bassiana* ที่ผลิตได้จากกากตะกอนดีแคนเตอร์และน้ำทิ้งหลังผลิตไฮโดรเจน ภายใต้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกัน. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 21(1): 14-25.

สมศรี บุญเรือง และ รังสิมันต์ สัมฤทธิ์. 2551. คู่มือนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร: อ้อย. กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพ. 38 หน้า.

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล. 2560. รายงานพื้นที่ปลูกอ้อยปีการผลิต 2559/60. แหล่งข้อมูล http://www.ocsb.go.th/upload/journal/fileupload/923-9999.pdf. ค้นเมื่อ 17 พฤศจิกายน 2560.

สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม อินทิรา เพชรทับทิม และ เกษม สร้อยทอง. 2555. ความเป็นพิษต่อเซลล์ของ Beauvericin และสารสกัดหยาบที่ได้จากเชื้อราสกุล *Beauveria* sp. วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร. 7(1): 35-43.

สุภาวดี โพธิยะราช. 2559. บริหารงานวิจัยแบบมุ่งเป้า. จดหมายข่าวประชาคมวิจัย. 21: 1-114.

Ref. code: 25605809032583JBQ

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ วัชรี สมสุข และ สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต. 2551. การเก็บรักษาเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ในรูปผง. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพมหานคร.

แสงแข น้าวานิช วิบูลย์ จงรัตนเมธีกุล โสภณ อุไรชื่น วราภรณ์ บุญเกิด กัลยาณี สุวิทวัส และ สมชาย ธนสินชยกุล. 2557. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ที่มีต่อด้วงเจาะลำต้นกล้วยในสภาพห้องปฏิบัติการ. แก่นเกษตร. 42(3)(พิเศษ): 707-711.

หงส์ฟ้า แซ่เตี้ยง และ นริศ ท้าวจันทร์. 2557. ผลของเชื้อรา *Metarhizium anisopliac* PSUM02 ต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันพริก *Bactrocera latifrons* (Hendel)(Diptera: Tephritidae) ในห้องปฏิบัติการ. แก่นเกษตร. 42(3): 624-628.

อัญชลี นาทองคำ ศิวิลัย สิริมังครารัตน์ วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ หทัยรัตน์ อุไรรงค์ และ เบญจมาศ แก้วรัตน์. 2553. ประสิทธิภาพของเชื้อราเขียว *Metarhizium* spp. ไอโซเลตภาคตะวันออกเฉียงเหนือในการควบคุมแมลงศัตรูที่สำคัญทางเศรษฐกิจ. วารสารวิจัย มข. 15: 930-940.

อารยา บุญศักดิ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บูรณพานิชพันธุ์ และ จิราพร กุลสาริน. 2558. การคัดเลือกเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) ที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว. วารสารเกษตร. 31(3): 291-299.

เอกรัฐ ปั่นกำจร สมเกียรติ ปั้นแตง และ กฤษณา บุญศิริ. 2555. ความเข้มข้นของเชื้อราบิวเวอเรียในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในกล้าข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1. ว. วิทยาศาสตร์เกษตร. 43(2)(พิเศษ): 273-276.

Abrol, D. P. 2014. Integrated pest management. Academic Press is an imprint of Elsevier, USA. 561 p.

Alice, J., Sujeetha, R. P. and Sahayaraj, K. 2014. Role of Entomopathogenic Fungus in Pest Management. pp. 31-46. *In* K. Sahayaraj. Basic and Applied Aspects of Biopesticides. Springer Science+Business Media, India.

Almudena, O. and Nemat O. Keyhani. 2013. Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. insect. 4(3): 257-374.

Alves, R. T., Bateman, R. P., Gunn, J., Prior, C. and Leather, S. R. 2002. Effects of different formulations on viability and medium-term storage of *Metarhizium anisopliae* conidia. Neotrop. Entomol. 31(1): 91-99.

Ref. code: 25605809032583JBQ

Amala, U., Jiji, T. and Naseema, A. 2012. Mass multiplication of entomopathogenic fungus, *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson with solid substrates. Biopest. 5: 168-170.

Angelo, I. C., Éverton, K. K., Fernandes, T. C., Bahiense, W. M. S., Perinotto, A. P. R., MoraesAndréia, L. M., Terra, V., Rita, E. P. 2010. Efficiency of *Lecanicillium lecanii* to control the tick *Rhipicephalus microplus*. 172(4): 317-322.

Asensio, L., Carbonell, T., Lopez-Jimennez and Lopez-Llorca, L. 2003. Entomophatogenic fungi in soil from Alicante province. Span. J. Agric. Res. 1(3): 37-45.

Banik, A., Ganguly, S., Mukhopadhyay, B. B. and Mukhopadhyay, S. K. I. 2014. A new report on rapid, cheap and easily extractable mass spore production of *Beauveria bassiana* using recyclable polyurethane foams as support medium. J Microbiol Biotechnol. 4: 1-6.

Batta, Y. A. 2004. Control of rice weevil (*Sitophilus oryzae* L., Coleoptera: Curculionidae) with various formulations of *Metarhizium anisopliae*. Crop Prot. 23: 103-108.

Batta, Y., Murdoch, G. and Mansfield, S. 2010. Investigations the formulation and efficacy of entomopathogenic fungi against larvae of yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L., coleopteran: tenebrionidae). Gen. Appl. Ent. 39: 5-8. *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against *Spodoptera litura* larvae. Afr. J. Microbiol. Res. 8: 1638-1644.

Behle, R. W., Jackson, M. A. and Flor-Weiler, B. 2013. Efficacy of a granular formulation containing *Metarhizium brunneum* F52 (Hypocreales: Clavicipitaceae) microsclerotia against nymphs of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixoididae). J Econ Entomol. 106: 57-66.

Blanford, S., Jenkins, N. E., Christian, R. Chan, B. Nardini, H. K., Osae, L., Koekemoer, M., Coetzee L., Read, M. A. F. and Thomas, M. B. 2012. Storage and persistence of a candidate fungal biopesticide for use against adult malaria vectors. Malar. J. 11: 1-14.

Ref. code: 25605809032583JBQ

Camargo, M. G., Golo, P. S., Angelo, I. C., Perinotto, W. M. S., S., Fillipe, A. S., Quinelato, S., Bittencourta, R. E. P. 2012. Effect of oil-based formulations of acaripathogenic fungi to control *Rhipicephalus microplus* ticks under laboratory conditions. Vet Parasitol. 188(1): 140-147.

Damir, M. E. 2006. Effect of growing media and water volume on conidial production of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Biocontrol Sci. 6(2): 269-274.

Deacon, J. W. 1997. Modern mycology. 3 rd ed. Cambridge university press. UK.

Dembilio, O., Moraga, E. Q., Alvarez, C. S. and Jacas, J. A. 2010. Potential of an indigenous strain of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* as a biological control agent against the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*. J Invertebr Pathol. 104: 214–221.

Dimbi, S., Maniania, N. K. and Ekesi, S. 2009. Effect of *Metarhizium anisopliae* inoculation on the mating behavior of three species of African Tephritid fruit flies, *Ceratitis capitata*, *Certitis cosyra* and *Ceratitis fasciventris*. Biol. Control 50: 111-116.

El-Sharabasy, H. M. 2015. Laboratory evaluation of the effect of the entomopathogenic fungi, *Hirsutella thompsonii* and *Paecilomyces fumosoroseus*, against the citrus brown mite, *Eutetranychus orientalis* (Acari:Tetranychidae). Plant Protect Sci. 51: 39–45.

Erler, F. and Ates, A. O. 2015. Potential of two entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Coleoptera: Scarabaeidae), as biological control agents against the June beetle. J. Insect Sci. 15: 44-49.

Faria, M., Joseph, H. H. and Stephen, W. P. 2012. Application o modified atmosphere packaging (gas flushing and active packaging) for extending the shelf life *Beauveria bassiana* conidia at high temperatures. Biol. Control. 61: 78-88.

Fernandes É. K, Rangel D. E, Braga, G. U. and Roberts, D. W. 2015. Tolerance of entomopathogenic fungi to ultraviolet radiation: a review on screening of strains and their formulation. Curr. Genet. 61(3): 427-440.

Ref. code: 25605809032583JBQ

Gaona, N., Castañeda, G. S., Rosas, R. A. and Octavio, L. 2010. Effect of moisture content and inoculum on the growth and conidia production by *Beauveria bassiana* on wheat Bran Oscar. Braz. Arch. Biol. Technol. 53(4): 771-777.

Geden, C. J. and Steinkraus, D. C. 2003. Evaluation of three formulations of *Beauveria bassiana* for control of lesser mealworm and hide beetle in Georgia poultry houses. Med. Vet. Entomol. 96: 1602-1607.

Gindin, G., Ment, D., Rot, A., Glazer, I. and Samish, M. 2009. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) to tick eggs and the effect of egg cuticular lipids on conidia development. J. Med. Entomol. 46: 531-538.

Hanboonsong, Y., Choosai, C., Panyimand, S. and Damak, S. 2002. Transovarial transmission of sugarcane white leaf phytoplasma in vector *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura). Insect Mol. Biol. 11: 97-103.

Hasan, S. 2015. Optimal mass production technology for sporulation of *Verticillium lecanii* and *Trichoderma harzianum*. J. of advances in Agric. 4: 296-302.

Hibbett, D. S., Ohman, A., Glotzer, D., Nuhn, M., Kirk, P. and Nilsson, R. H. 2011. Progress in molecular and morphological taxon discovery in Fungi and options for formal classification of environmental sequences. Fungal Biol Rev. 25: 38-47.

Hsia, I. C. C., Islam, M. T., Yusof I., Tan, Y. H. and Dzolkhifli, O. 2014. Evaluation of conidial viability of entomopathogenic fungi as iInfluenced by temperature and additive. Int. J. Agric. Biol. 16(1): 146-152.

Hua, X., Xiaoa, G., Zhenga, P., Shanga Y., Sub, Y., Zhangb, X., Liub, X., Zhana, S., Raymond, J., Legerc, S. and Wanga, C. 2014. Trajectory and genomic determinants of fungal-pathogen speciation and host adaptation. Proc Natl Acad Sci U S A. 111(47): 16796–16801.

Kimberly, M. S. A. and Seow, M. H. 2017. Mode of Infection of *Metarhizium* spp. fungus and their potential as biological control agents. J. Fungi. 3(2): 1-20.

Ref. code: 25605809032583JBQ

Lacey, L. A., Grazywacz, D., Shapiro-Ilan, D. I., Frotos, R., Brownbridge, M. and Goettel, M. S. 2015. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. J. Invertebr. Pathol. 132: 1-41.

Latifian, M., Rad, B., Amani, M. and Rahkhodaei, E. 2013. Mass production of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) by using agricultural products based on liquid-solid diphasic method for date palm pest control. Intl. J. Agri. Crop Sci. 5: 2337-2341.

Li, M., Lin, H., Li, S., Chen, P. Jin, L. and Yang, J. 2012. Virulence of entomopathogenic fungi to adults and eggs of *Nilaparvata lugens* Stal (Homopera: Delphacidae). Afr. J. Agric. Res. 7: 2183-2190.

Lopez, D. C. and Sword, G. A. 2015. The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana Purpureocillium lilacium* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). Biol Control. 89: 53-60.

Luz, C., Rocha, L. F., Nery, G. V. and Magalhaes, B. P. 2004. Activity of oil-formulation *Beauveria bassiana* against *Triatoma sordida* in Peridomestic areas in central Brazil. Intl. J. Agri. Crop Sci. 99: 211-218.

Maketon, M., Suttichart, K. and Domhom, J. 2009. Efficacy of *Paecilomyces lilacinus* in controlling egg stage of golden apple snail (*Pomacea canaliculata*). BioThailand. 51(1): 181-190.

Marcone, C. 2002. Phytoplasma Diseases of Sugarcane Sugar Tech. 4(3&4): 79-85.

Martínez-Hernández, A., Alatorre-Rosas, R., Guzmán-Franco, A. W. and Rodríguez-Leyva, E. 2015. Effect of dual inoculation with nematodes and fungal pathogens on the survival of *Phyllophaga polyphylla* larvae (Coleoptera: Scarabaeidae). Bio. Control Sci. Technol. (25)11: 1221–1232.

Mochi, D. A., Monteiro, A. C., Machado, A. C. R. and Yoshida, L. 2010. Efficiency of entomopathogenic fungi in the control of eggs and larvae of the horn fly *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). J. Vet Parasitol. 167: 62–66.

Ref. code: 25605809032583JBQ

Mohammadbeigi, A. and Port, G. 2015. Effect of Infection by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the feeding of *Uvarovistia zebra*. J Insect Sci. 15: 88-91.

Mola, F. L. and Afkari, R. 2012. Effects of different vegetable oils formulations on temperature tolerance and storage duration of *Beauveria bassiana* conidia. Afr. J. Microbiol. Res. 6(22): 4707-4711.

Moore, D., Douro-Kpindou, O. K., Enkins, N. E. J and Lomer, C. J. 2010. Effects of moisture content and temperature on storage of *Metarhizium flavoviride* conidia. Biocontrol Sci. Technol. 6: 51-62

Mora, M. A. E., Rouw, J. R. C. and Fraga, M. E. 2016. Occurrence of entomopathogenic fungi in Atlantic forest soils. Microbiol Discovery. 4(1): 1-7.

Namasivayam, S. K. R., Aarthi, R. and Anbazhahan, P. 2015. Studies on factors influencing the viability of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* in soil adapting culture dependent method. J Bio pest 8(1): 23-27.

Pereira, A., Casals, P., Salazar, A. M. and Gerding, M. 2011. Virulence and pre-lethal reproductive effects of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* on *Pseudococcus viburni* (Hemiptera: Pseudococcidae). Chilean JAR. 71: 554-559.

Prakash, B. GVS., Sankar, U. R. and Padmaja, V. 2015. Development and testing of mycopesticide formulation of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) for shelf life and field application againt *Spodoptera litura* (FEB) larvae. Int. J. Bioassays. 4.9: 4284-4289.

Prasad, C. S. and Pal, R. 2014. Mass production and economics of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Verticillium lecanii* on agricultural and industrial waste. Scholars. J. Agric. Vet. Sci. 1: 28-32.

Prior, C., Jollands, P. and Patourel, G. L. 1988. Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). J Invertebr Pathol. 52: 66-72.

Ref. code: 25605809032583JBQ

Ravindran, K., Qiu, D. and Sivaramakrishnan, S. 2015. Sporulation characteristics and virulence of *Metarhizium anisopliae* against subterranean termites (*Coptotermes formosanus*). Int J Microbiol Re. 6: 01-04.

Reddy, G. V. P., Zhao, Z. and Humber, R. A. 2014. Laboratory and field efficacy of entomopathogenic fungi for the management of the sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (Coleoptera: Brentidae). J. Invertebr. Pathol. 122: 10-15.

Rehner, S. A., Minnis, A. M., Sung, G.-H., Luangsa-ard, J. J., Devotto, L., and Humber, R. A. 2011. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic Genus *Beauveria*. Mycologia, 103(5): 1055–1073.

Rodrigues, I. M. W, Forim, M. R., Silva, M. F. G. F., Fernandes, J. Filho, B. B., A. 2016. Effect of ultraviolet radiation on fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, pure and encapsulated, and bio-insecticide action on diatraea saccharalis. J. Entermol. 4: 151-162.

Sahayaraj, K. and Namasivayam, S. K. R. 2008. Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products and by products. Afr. J. Biotechnol. 7: 1907-1910.

Sergio R. S., Jorge S. L., Medina, R. F. 2011. Occurrence of entomopathogenic fungi from agricultural and natural ecosystems in Saltillo, Mexico, and their virulence towards thrips and whiteflies. J Insect Sci. 11(1): 1-10.

Sharififard, M., Mossadegh, M. S., Vazirianzadeh, B. and Latifi, S. M. 2014. Evaluation of conidia-dust formulation of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* to biocontrol the brown-banded cockroach, *Supella longipalpa*. Jundishapur J Microbiol. 7: 1-6.

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

Ref. code: 25605809032583JBQ

Skinner, M., Gouli, S., Frank, C. E., Parker, B. L. and Kim, J. S. 2012. Management of *Frankiniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) with granule formulations of entomopathogenic fungi. Biol Control. 63: 246-252.

Tavassoli, M., Malekifard, F., Soleimanzadeh, A., Pourseyed, S. H., Bernousi, I. and Mardani, K. 2012. Susceptibility of different life stages of *Ornithodoros lahorensis* to entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. Parasitol Res. 111: 1779–1783.

Ummidi, V. R. S. and Vadlamani, P. 2014. Preparation and use of oil formulations of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against *Spodoptera litura* larvae. Afr. J. Microbiol. Res. 8(15): 1638-1644.

Verde, G. L., Torta, L., Momdello V., Caldarella, C. G., Burruano, S. and Caleca, V. 2015. Pathogenicity bioassays of isolates of *Beauveria bassiana* on *Rhynchophorus ferrugineus*, Pest Manag Sci. 71: 323-328.

Wekesa, V. W. Knapp, M. N. Maniania, K. and Boga, H. I. 2006. Effects of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* onmortality, fecundity and egg fertility of *Tetranychus evansi*. J. Appl. Entomol. 130(3): 155-159.

Yeo, H., Judith, K. Pell, P. G., Alderson, S. J., Clark, B. J. P. 2003. Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and on their pathogenicity to two aphid species. Intl. J. Agri. Crop Sci. 59(2): 156-165.

Zhang, L. W., Liu, Y. J., Yao, J., Wang, B., Huang, B., Li, Z. Z., Fan, M. Z. and Sun, J. H. 2011. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) isolatesas potential agents for control of *Dendroctonus valens*. Insect Sci. 18: 209–216.

Ref. code: 25605809032583JBQ

ภาคผนวก

Ref. code: 25605809032583JBQ

ภาคผนวก ก
การคำนวณปริมาณสปอร์เชื้อราก่อนการนำไปใช้ทดสอบ

วิธีตรวจนับจำนวนสปอร์เชื้อราด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์แบบ Neubauer Chamber

ยกตัวอย่าง เชื้อรา A นับสปอร์เชื้อราได้ 6, 7, 13, 10, 16, 10, 15, 26

$$\text{สูตร Cell concentration} = \frac{\text{จำนวนสปอร์เชื้อราที่นับได้ทั้งหมด}}{\mathbf{10}} \times 1.6\text{x}10^{5}\text{x}10^{2}$$

$$\text{จะได้ Cell concentration} = \frac{\mathbf{103}}{\mathbf{10}} \times 1.6\text{x}10^{5}\text{x}10^{2} = 1.65\text{x}\ 10^{8} \text{ สปอร์/มล. (stock เชื้อรา)}$$

คำนวณความเข้มข้นของแขวนลอยสปอร์เชื้อรา

สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

C_1 = ความเข้มข้นของเชื้อราที่นับได้ (stock เชื้อรา)

V_1 = ปริมาตรเชื้อราที่จะต้องนำไปใช้

C_2 = ความเข้มข้นของเชื้อราที่ต้องการเตรียม (สมมติต้องการเตรียม $1\text{x}10^{8}$ สปอร์/มล.)

V_2 = ปริมาตรเชื้อราที่ต้องการเตรียม (สมมติต้องการเตรียมเชื้อราปริมาตร 10 มล.)

จะได้ $(1.65\text{x}10^{8})(V_1) = (1\text{x}10^{8})(10)$

$V_1 = 6.06$ มล.

Ref. code: 25605809032583JBQ

ภาคผนวก ข
เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อนและไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

ตารางภาคผนวกที่ ข 1 เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวเต็มวัย ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

ลำดับ	ไอโซเลต	ชื่อวิทยาศาสตร์	จำนวนตัวเต็มวัยที่ตาย (ตัว)				สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)
			1	2	3	4		
-	กรรมวิธีควบคุม	-	0	0	0	0	0	0
1	BCC27998	*Metarhizium anisopliae*	1	1	0	0	2	10
2	BCC16000	*Metarhizium anisopliae*	0	1	2	0	3	15
3	BCC16762	*Metarhizium anisopliae*	1	1	1	1	4	20
4	BCC12817	*Metarhizium anisopliae*	1	1	0	4	5	25
5	BCC22353	*Metarhizium anisopliae*	1	0	0	1	2	10
6	BCC35992	*Metarhizium anisopliae*	0	1	0	0	1	5
7	BCC32164	*Metarhizium anisopliae*	1	0	2	0	3	15
8	BCC30455	*Metarhizium* sp.	1	3	5	2	11	55
9	BCC22046	*Metarhizium* sp.	1	1	0	1	3	15
10	BCC29224	*Metarhizium* sp.	0	0	1	0	1	5
11	BCC22355	*Beauveria bassiana*	0	0	2	2	4	20
12	BCC20196	*Beauveria bassiana*	2	2	0	0	4	20
13	BCC26682	*Beauveria bassiana*	2	1	5	1	9	45
14	BCC25948	*Beauveria bassiana*	1	0	0	1	2	10
15	BCC19930	*Beauveria bassiana*	1	3	1	1	6	30
16	BCC19012	*Beauveria bassiana*	1	2	2	0	5	25
17	BCC14482	*Beauveria bassiana*	3	2	0	1	6	30
18	BCC28607	*Paecilomyces lilacinus*	3	2	0	1	6	30
19	BCC27990	*Verticillium hemipregenum*	1	3	1	0	5	25
20	BCC16024	*Verticillium hemipregenum*	1	2	1	1	5	25
21	BCC19964	*Verticillium hemipregenum*	1	2	3	1	7	35
22	BCC18660	*Verticillium hemipregenum*	3	0	0	0	3	15
23	BCC28240	*Verticillium hemipregenum*	0	0	0	0	0	0
24	BCC28721	*Aschersonia marginata*	1	0	0	0	1	5

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางภาคผนวกที่ ข 2 เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะตัวอ่อน ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

ลำดับ	ไอโซเลต	ชื่อวิทยาศาสตร์	จำนวนตัวอ่อนที่ตาย (ตัว)				สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)
			1	2	3	4		
-	กรรมวิธีควบคุม	-	0	0	0	0	0	0
1	BCC27998	*Metarhizium anisopliae*	0	0	0	1	1	5
2	BCC16000	*Metarhizium anisopliae*	3	1	0	2	6	30
3	BCC16762	*Metarhizium anisopliae*	2	3	0	0	5	25
4	BCC12817	*Metarhizium anisopliae*	0	0	2	0	2	10
5	BCC22353	*Metarhizium anisopliae*	1	0	0	0	1	5
6	BCC35992	*Metarhizium anisopliae*	1	1	1	1	4	20
7	BCC32164	*Metarhizium anisopliae*	0	0	0	0	0	0
8	BCC30455	*Metarhizium* sp.	1	0	0	0	1	5
9	BCC22046	*Metarhizium* sp.	0	1	0	0	1	5
10	BCC29224	*Metarhizium* sp.	0	0	0	0	0	0
11	BCC22355	*Beauveria bassiana*	1	1	1	1	4	20
12	BCC20196	*Beauveria bassiana*	0	5	1	0	6	30
13	BCC26682	*Beauveria bassiana*	0	1	1	0	2	10
14	BCC25948	*Beauveria bassiana*	0	0	1	1	2	10
15	BCC19930	*Beauveria bassiana*	1	0	1	0	2	10
16	BCC19012	*Beauveria bassiana*	2	1	0	1	4	20
17	BCC14482	*Beauveria bassiana*	0	1	1	1	3	15
18	BCC28607	*Paecilomyces lilacinus*	0	1	0	0	1	5
19	BCC27990	*Verticillium hemipregenum*	0	0	0	0	0	0
20	BCC16024	*Verticillium hemipregenum*	0	0	0	1	1	5
21	BCC19964	*Verticillium hemipregenum*	0	0	0	0	0	0
22	BCC18660	*Verticillium hemipregenum*	0	0	0	0	0	0
23	BCC28240	*Verticillium hemipregenum*	0	0	0	0	0	0
24	BCC28721	*Aschersonia marginata*	1	0	0	0	1	5

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางภาคผนวกที่ ข 3 เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

ลำดับ	ไอโซเลต	ชื่อวิทยาศาสตร์	จำนวนไข่ที่ไม่ฟัก (ฟอง)				สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)
			1	2	3	4		
-	กรรมวิธีควบคุม	-	0	0	0	0	0	0
1	BCC27998	*Metarhizium anisopliae*	1	0	2	0	3	15
2	BCC16000	*Metarhizium anisopliae*	0	0	0	1	1	5
3	BCC16762	*Metarhizium anisopliae*	2	0	3	2	7	35
4	BCC12817	*Metarhizium anisopliae*	0	1	1	0	2	10
5	BCC22353	*Metarhizium anisopliae*	2	1	0	1	4	20
6	BCC35992	*Metarhizium anisopliae*	0	1	0	1	2	10
7	BCC32164	*Metarhizium anisopliae*	1	0	0	1	2	10
8	BCC30455	*Metarhizium* sp.	0	0	1	0	1	5
9	BCC22046	*Metarhizium* sp.	1	0	0	0	1	5
10	BCC29224	*Metarhizium* sp.	0	0	1	0	1	5
11	BCC22355	*Beauveria bassiana*	0	0	0	0	0	0
12	BCC20196	*Beauveria bassiana*	0	0	0	0	0	0
13	BCC26682	*Beauveria bassiana*	0	0	0	0	0	0
14	BCC25948	*Beauveria bassiana*	0	2	0	0	2	10
15	BCC19930	*Beauveria bassiana*	1	0	1	0	2	10
16	BCC19012	*Beauveria bassiana*	0	0	0	0	0	0
17	BCC14482	*Beauveria bassiana*	0	0	0	0	0	0
18	BCC28607	*Paecilomyces lilacinus*	0	0	0	0	0	0
19	BCC27990	*Verticillium hemipregenum*	1	0	0	0	1	5
20	BCC16024	*Verticillium hemipregenum*	0	0	0	0	0	0
21	BCC19964	*Verticillium hemipregenum*	0	2	0	0	2	10
22	BCC18660	*Verticillium hemipregenum*	0	0	0	0	0	0
23	BCC28240	*Verticillium hemipregenum*	0	0	0	0	0	0
24	BCC28721	*Aschersonia marginata*	0	0	1	0	1	5

Ref. code: 25605809032583JBQ

ภาคผนวก ค
เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านและผ่านการแปรสภาพในการเข้าทำลาย เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่

ตารางภาคผนวกที่ ค 1 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพเบื้องต้นในการเข้าทำลาย เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ ครั้งที่ 1

ไอโซเลต	จำนวนไข่ที่ฟัก (ฟอง)					สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)
	1	2	3	4	5		
กรรมวิธีควบคุม	6	7	7	5	8	33	66
Met BCC30455	3	2	2	3	2	12	24
Met BCC16762	1	3	4	3	3	14	28
Met BCC16000	2	2	2	3	4	13	26

ตารางภาคผนวกที่ ค 2 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพเบื้องต้นในการเข้าทำลาย เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ ครั้งที่ 2

ไอโซเลต	จำนวนไข่ที่ฟัก (ฟอง)					สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)
	1	2	3	4	5		
กรรมวิธีควบคุม	6	6	4	5	6	27	54
Met BCC30455	3	1	2	3	3	12	24
Met BCC16762	3	1	3	4	2	13	26
Met BCC16000	1	2	1	5	3	12	24

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางภาคผนวกที่ ค 3 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพเบื้องต้นในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ ครั้งที่ 1

ไอโซเลต	จำนวนไข่ที่ฟัก (ฟอง)					สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)
	1	2	3	4	5		
กรรมวิธีควบคุม	5	6	6	7	5	29	58
Met BCC30455	3	4	2	3	1	13	26
Met BCC16762	2	2	3	3	4	14	28
Met BCC16000	5	2	3	1	3	14	28

ตารางภาคผนวกที่ ค 4 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพเบื้องต้นในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้ห้องปฏิบัติการ ครั้งที่ 2

ไอโซเลต	จำนวนไข่ที่ฟัก (ฟอง)					สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)
	1	2	3	4	5		
กรรมวิธีควบคุม	7	6	5	5	5	28	56
Met BCC30455	1	3	3	2	2	11	22
Met BCC16762	1	3	2	3	3	12	24
Met BCC16000	3	3	4	1	2	13	26

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางภาคผนวกที่ ค 5 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน

สูตร	ไอโซเลต	ระยะเวลา																							
		จำนวนไข่ที่ฟัก (ฟอง)																							
		เดือนที่ 0							เดือนที่ 1							เดือนที่ 2							เดือนที่ 3						
		1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)	1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)	1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)	1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)
กรรมวิธีควบคุม		7	5	7	6	6	31	62	5	6	6	7	5	29	58	5	6	4	5	5	25	50	6	5	5	6	7	29	58
ไม่ใส่ RP-3A	Met BCC30455	6	1	4	1	4	16	32	3	3	4	2	1	13	26	5	5	3	1	3	17	34	4	3	5	3	4	19	38
	Met BCC16762	2	2	4	2	3	13	26	5	4	3	2	3	17	34	4	3	3	4	3	17	34	2	5	3	3	2	15	30
	Met BCC16000	2	2	4	3	2	13	26	1	3	4	1	5	14	28	3	2	4	5	1	15	30	4	1	5	4	3	17	34
ใส่ RP-3A	Met BCC30455	-	-	-	-	-	-	-	6	1	4	1	4	16	32	3	2	4	3	3	15	30	5	4	3	2	4	18	36
	Met BCC16762	-	-	-	-	-	-	-	1	3	4	3	5	16	32	1	4	6	2	3	16	32	5	4	3	0	3	15	30
	Met BCC16000	-	-	-	-	-	-	-	3	5	2	4	6	20	40	4	3	2	6	5	20	40	5	1	3	2	6	17	34

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางภาคผนวกที่ ค 5 (ต่อ) เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพ ทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน

สูตร	ไอโซเลต	ระยะเวลา																					
		จำนวนไข่ที่ฟัก (ฟอง)																					
		เดือนที่ 4							เดือนที่ 5							เดือนที่ 6							
		1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)	1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)	1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)
กรรมวิธีควบคุม		6	6	6	6	5	29	58	5	6	6	6	7	30	60	6	6	7	6	6	31	62
ไม่ใส่ RP-3A	Met BCC30455	4	4	5	5	5	23	46	5	5	5	6	6	27	54	6	4	6	4	5	25	50
	Met BCC16762	4	5	5	3	3	20	40	5	5	6	6	6	28	56	5	4	6	6	5	26	52
	Met BCC16000	3	5	3	5	4	20	40	6	5	7	5	6	29	58	5	4	6	7	6	28	56
ใส่ RP-3A	Met BCC30455	4	4	5	5	5	23	46	5	5	7	6	5	28	56	5	4	6	6	4	25	50
	Met BCC16762	4	5	3	6	3	21	42	5	6	7	5	5	28	56	5	5	6	4	7	27	54
	Met BCC16000	4	5	3	3	5	20	40	5	6	7	3	5	26	52	7	4	5	6	4	26	52

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางภาคผนวกที่ ค 6 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพ ทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน

สูตร	ไอโซเลต	ระยะเวลา																											
		จำนวนไข่ที่ฟัก (ฟอง)																											
		เดือนที่ 0							เดือนที่ 1							เดือนที่ 2							เดือนที่ 3						
		1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)	1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)	1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)	1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)
กรรมวิธีควบคุม		5	6	6	7	5	29	58	5	7	5	6	4	27	54	6	5	5	6	7	29	58	5	6	6	5	4	26	52
ไม่ใส่ RP-3A	Met BCC30455	3	4	2	3	1	13	26	2	2	1	3	5	13	26	1	3	4	2	3	13	26	4	2	4	1	2	13	26
	Met BCC16762	4	2	2	3	2	13	26	1	2	3	2	3	11	22	2	2	4	3	2	13	26	3	2	4	2	2	13	26
	Met BCC16000	1	2	2	3	4	12	24	2	2	3	1	3	11	22	2	3	3	2	1	11	22	2	1	4	2	3	12	24
ใส่ RP-3A	Met BCC30455	-	-	-	-	-	-	-	2	2	3	1	2	10	20	4	3	2	1	3	13	26	3	2	4	2	1	12	24
	Met BCC16762	-	-	-	-	-	-	-	3	5	1	1	2	12	24	2	2	1	4	3	12	24	2	3	4	2	1	12	24
	Met BCC16000	-	-	-	-	-	-	-	4	2	3	2	1	12	24	5	3	1	1	2	12	24	2	2	3	3	3	13	26

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางภาคผนวกที่ ค 6 (ต่อ) เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพ ทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน ในการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ ภายใต้สภาพโรงเรือน

สูตร	ไอโซเลต	ระยะเวลา																			
		จำนวนไข่ที่ฟัก (ฟอง)																			
		เดือนที่ 4							เดือนที่ 5							เดือนที่ 6						
		1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)	1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)	1	2	3	4	5	สรุป	เปอร์เซ็นต์ (%)
กรรมวิธีควบคุม		4	5	3	4	9	25	50	5	5	6	6	5	27	54	5	7	7	6	6	31	62
ไม่ใส่ RP-3A	Met BCC30455	4	2	2	6	2	16	32	5	2	4	4	5	20	40	5	4	5	5	5	24	48
	Met BCC16762	5	4	2	3	3	17	34	5	4	4	4	3	20	40	4	5	6	5	4	24	48
	Met BCC16000	2	2	5	2	4	15	30	2	3	6	2	4	17	34	4	4	6	4	5	23	46
ใส่ RP-3A	Met BCC30455	4	2	2	5	3	16	32	5	3	5	2	3	18	36	5	4	6	5	4	24	48
	Met BCC16762	2	3	3	2	4	14	28	3	4	4	4	3	18	36	4	4	5	6	3	22	44
	Met BCC16000	2	5	1	2	4	14	28	2	3	4	4	3	16	32	6	4	5	4	4	23	46

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางภาคผนวกที่ ค 7 เชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพต่อจำนวนการฟักไข่ของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ระยะไข่ภายใต้สภาพโรงเรือน

ไอโซเลต	จำนวนตัวอ่อนที่ฟัก (ตัว)																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
กรรมวิธีควบคุม	70	40	80	43	40	84	74	113	49	66	91	81	54	52	40	65	69	80	103	56
Met BCC30455	38	38	33	22	54	39	34	36	47	56	35	35	41	35	40	24	39	21	37	39
Met BCC16762	22	46	25	59	32	37	20	21	31	36	26	41	38	29	40	31	32	39	35	47
Met BCC16000	48	23	27	40	35	52	35	38	37	32	25	35	40	35	28	38	35	34	29	41

Ref. code: 25605809032583JBQ

ภาคผนวก ง
ความมีชีวิตของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่เก็บรักษาโดยผ่านการแปรสภาพ ทั้งไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน

ตารางภาคผนวกที่ ง 1 จำนวนสปอร์ของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพ ทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน

สูตร	ไอโซเลต	จำนวนสปอร์ (สปอร์/ก.)						
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
ไม่ใส่ RP-3A	Met BCC30455	$1.38x10^9$	$1.72x10^9$	$1.38x10^9$	$0.73x10^9$	$0.89x10^9$	$0.21x10^9$	$0.34x10^9$
	Met BCC16762	$1.39x10^9$	$2.19x10^9$	$1.57x10^9$	$1.43x10^9$	$0.53x10^9$	$0.87x10^9$	$1.73x10^9$
	Met BCC16000	$0.96x10^9$	$1.09x10^9$	$0.76x10^9$	$0.67x10^9$	$0.53x10^9$	$2.28x10^9$	$0.75x10^9$
ใส่ RP-3A	Met BCC30455	$1.38x10^9$	$1.88x10^9$	$2.02x10^9$	$2.09x10^9$	$0.86x10^9$	$2.93x10^9$	$1.89x10^9$
	Met BCC16762	$1.39x10^9$	$0.72x10^9$	$1.43x10^9$	$3.03x10^9$	$0.84x10^9$	$2.77x10^9$	$1.59x10^9$
	Met BCC16000	$0.96x10^9$	$1.57x10^9$	$0.37x10^9$	$2.81x10^9$	$0.70x10^9$	$0.10x10^9$	$1.21x10^9$

ตารางภาคผนวกที่ ง 2 จำนวนสปอร์ของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพ ทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน

สูตร	ไอโซเลต	จำนวนสปอร์ (สปอร์/ก.)						
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
ไม่ใส่ RP-3A	Met BCC30455	$2.42x10^9$	$1.35x10^9$	$1.33x10^9$	$2.21x10^9$	$1.18x10^9$	$0.48x10^9$	$0.45x10^9$
	Met BCC16762	$3.73x10^9$	$1.58x10^9$	$2.11x10^9$	$2.09x10^9$	$0.98x10^9$	$0.29x10^9$	$0.42x10^9$
	Met BCC16000	$3.27x10^9$	$1.95x10^9$	$2.01x10^9$	$2.06x10^9$	$1.37x10^9$	$0.32x10^9$	$0.36x10^9$
ใส่ RP-3A	Met BCC30455	$2.42x10^9$	$1.28x10^9$	$1.67x10^9$	$2.89x10^9$	$1.13x10^9$	$0.40x10^9$	$0.54x10^9$
	Met BCC16762	$3.73x10^9$	$1.03x10^9$	$1.99x10^9$	$1.78x10^9$	$1.27x10^9$	$0.32x10^9$	$0.48x10^9$
	Met BCC16000	$3.27x10^9$	$1.28x10^9$	$2.01x10^9$	$2.22x10^9$	$1.03x10^9$	$0.85x10^9$	$0.01x10^9$

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางภาคผนวกที่ ง 3 จำนวนโคโลนีของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ไม่ผ่านการแปรสภาพ ทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน

สูตร	ไอโซเลต	จำนวนโคโลนี (โคโลนี/จานเพาะเชื้อ)						
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
ไม่ใส่ RP-3A	Met BCC30455	217	215	134	3	17	24	21
	Met BCC16762	117	176	3	57	61	5	19
	Met BCC16000	214	113	26	23	40	17	23
ใส่ RP-3A	Met BCC30455	217	216	8	20	25	10	25
	Met BCC16762	117	15	23	8	40	18	26
	Met BCC16000	214	174	53	164	55	18	25

ตารางภาคผนวกที่ ง 4 จำนวนโคโลนีของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ที่ผ่านการแปรสภาพ ทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน

สูตร	ไอโซเลต	จำนวนโคโลนี (โคโลนี/จานเพาะเชื้อ)						
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
ไม่ใส่ RP-3A	Met BCC30455	173	14	60	50	16	27	18
	Met BCC16762	109	37	65	54	6	21	12
	Met BCC16000	193	77	80	53	12	13	6
ใส่ RP-3A	Met BCC30455	173	87	102	74	4	13	11
	Met BCC16762	109	79	94	75	17	9	10
	Met BCC16000	193	86	110	85	14	10	11

Ref. code: 25605809032583JBQ

ตารางภาคผนวกที่ ง 5 จำนวนโคโลนีเฉลี่ยของเชื้อราสกุล *Metarhizium* ในดิน ที่ผ่านการแปรสภาพ ทั้งเก็บรักษาแบบไม่ใส่และใส่ RP-3A เป็นเวลา 6 เดือน

อายุการเก็บรักษา	ไอโซเลต	จำนวนโคโลนีเฉลี่ยของเชื้อราในดิน (โคโลนี/จานเพาะเชื้อ)			
		1 สัปดาห์		2 สัปดาห์	
		ไม่ใส่ RP-3A	ใส่ RP-3A	ไม่ใส่ RP-3A	ใส่ RP-3A
เริ่มต้น	กรรมวิธีควบคุม	13.8		6.4	
	Met BCC30455	48	-	34.2	-
	Met BCC16762	22.2	-	42.6	-
	Met BCC16000	30.8	-	11	-
1 เดือน	กรรมวิธีควบคุม	13.8		4	
	Met BCC30455	46.4	22.4	29.6	27.6
	Met BCC16762	24	36.4	6.2	10.4
	Met BCC16000	14.8	23.4	14.4	6.2
2 เดือน	กรรมวิธีควบคุม	5.2		7	
	Met BCC30455	34.8	17	24.2	8.8
	Met BCC16762	18.8	11.8	19.4	19.6
	Met BCC16000	29	25.8	10.2	16.6
3 เดือน	กรรมวิธีควบคุม	4.2		1.4	
	Met BCC30455	16.4	2.8	12.6	3.6
	Met BCC16762	11.6	5.8	13.6	3.8
	Met BCC16000	18.2	4.2	12.4	1.8
4 เดือน	กรรมวิธีควบคุม	7.6		2.2	
	Met BCC30455	12.6	8.6	7.2	5
	Met BCC16762	8.6	8.6	6	5.6
	Met BCC16000	5	3.4	3.2	5.6
5 เดือน	กรรมวิธีควบคุม	3.4		2.2	
	Met BCC30455	2.4	4.2	3	4.4
	Met BCC16762	5	5	3.6	3.8
	Met BCC16000	2	5.4	2.8	2.2
6 เดือน	กรรมวิธีควบคุม	3.2		2.8	
	Met BCC30455	3.4	2.2	3.8	1.6
	Met BCC16762	3.2	4.8	5.8	3.8
	Met BCC16000	2	2.8	2.6	2.2

Ref. code: 25605809032583JBQ

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวจุฑามาส ฮวดประสิทธิ์
วันเดือนปีเกิด	14 สิงหาคม 2535
วุฒิการศึกษา	ปีการศึกษา 2557: วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ทุนการศึกษา	พ.ศ. 2558-2559: ทุนบัณฑิตเรียนดีเพื่อศึกษาต่อ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ผลงานทางวิชาการ

จุฑามาส ฮวดประสิทธิ์ จุรีมาศ วังคีรี และยุพา หาญบุญทรง. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยจักจั่นแมลงพาหะนำโรคใบขาวอ้อย. หน้า 1815-1823. *ใน*: การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้ง ที่ 12. วันที่ 8-9 ธันวาคม 2558. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

จุฑามาส ฮวดประสิทธิ์ จุรีมาศ วังคีรี และยุพา หาญบุญทรง. 2560. ประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล *Metarhizium* และ *Beauveria* ในการควบคุมเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* พาหะนำโรคใบขาวอ้อย. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 25(3): 467-478.

จุฑามาส ฮวดประสิทธิ์ จุรีมาศ วังคีรี และยุพา หาญบุญทรง. ประสิทธิภาพของเชื้อราสกุล Metarhizium ในการควบคุมไข่ของเพลี้ยจักจั่น (*Matsumuratettix hiroglyphicus*) พาหะนำโรคใบขาวอ้อย. หน้า 20-28. *ใน*: การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้ง ที่ 14. วันที่ 7-8 ธันวาคม 2560. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

จุฑามาส ฮวดประสิทธิ์ จุรีมาศ วังคีรี และยุพา หาญบุญทรง. ความรุนแรงของสปอร์เชื้อราสกุล *Metarhizium* ภายหลังผ่านการเข้าทำลายเพลี้ยจักจั่น (*Matsumuratettix hiroglyphicus*) (Hemiptera: Cicadellidae) หน้า 2534-2541. *ใน*: การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้ง ที่ 14. วันที่ 7-8 ธันวาคม 2560. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

Ref. code: 25605809032583JBQ