การคัดเลือกและพัฒนาวิธีการเลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรีย (white muscardine fungus); *Beauveria bassiana* (Balsamo) เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช

Selection and development on techniques for mass production of white muscadine fungus, *Beauveria bassiana* (Balsamo) to control insect pests

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ อิศเรส เทียนทัด วิไลวรรณ เวชยันต์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การคัดเลือกและพัฒนาวิธีการเลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรีย ทำการวิจัยในช่วงเดือนตุลาคม 2553 - กันยายน 2554 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จากการเก็บตัวอย่างแมลงเป็นโรคในธรรมชาติ จำนวนทั้งหมด 12 ตัวอย่าง ได้แก่ เชื้อราจากใบส้มโอ อ.บางขันแตก จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 1 ตัวอย่าง, เชื้อราจากเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา จำนวน 1 ตัวอย่าง, เชื้อราจากหนอนแทะเปลือกลองกอง จ.จันทบุรี จำนวน 1 ตัวอย่าง และเชื้อราจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว ที่ จ.สุพรรณบุรี จำนวน 9 ตัวอย่าง เมื่อนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์พบเป็นเชื้อราแมลงจำนวน 3 ชนิด คือ *Paecillomyces* sp., *Lecanicillium* sp. และ *Isaria* sp นอกจากนี้ได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราบิวเวอเรียจากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ซึ่งแยกเชื้อจากมอดเจาะเมล็ดกาแฟ รวมทั้งขอความอนุเคราะห์เชื้อจากกรมส่งเสริมการเกษตรซึ่งแยกเชื้อจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อนำมาใช้ทดสอบกับแมลงศัตรูพืช เนื่องจากในปีงบประมาณ 2554 ไม่สามารถเก็บเชื้อราบิวเวอเรียจากแมลงเป็นโรคในธรรมชาติได้ ดังนั้นการทดลองในปีงบประมาณ 2555 จะนำเชื้อราบิวเวอเรียที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพรมาทำการทดสอบประสิทธิภาพแทน โดยเน้นการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชได้แก่ หนอนกระทู้ผัก, หนอนกระทู้หอม, เพลี้ยแป้ง และใช้เชื้อราบิวเวอเรียจากกรมส่งเสริมการเกษตรเป็นตัวเปรียบเทียบ ส่วนเชื้อราโรคแมลงที่แยกได้ในปี 2554 ได้แก่ *Paecillomyces* sp., *Lecanicillium* sp. และ *Isaria* sp. จะเก็บรักษาสายพันธุ์ไว้ เพื่อการศึกษาต่อไปในอนาคต

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-03-01-54

คำนำ

ปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจงานด้านการป้องกันกำจัดศัตรูพืชทางชีวภาพมากขึ้น วิธีการหนึ่งที่ได้รับความสนใจคือการนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ซึ่งนอกจากมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของตัวเกษตรกรผู้ใช้รวมทั้งผู้บริโภคแล้ว ยังไม่ทำให้เกิดพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในสภาพแวดล้อม

เชื้อราขาว *Beauveria bassiana* เป็นจุลินทรีย์ ที่นำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ จัดอยู่ใน Subdivision Deuteromycotina Class Hyphomycetes ซึ่งเชื้อราในกลุ่มนี้มักจะเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรค “ muscadine” ในแมลง โดยใน *B. bassiana* มีการเรียกเชื้อราชนิดนี้ว่า “white muscadine” พบแพร่กระจายได้ทั่วไป สามารถใช้ควบคุมแมลงในกลุ่ม Diptera, Lepidoptera, Orthoptera, Coleoptera, Hemiptera, Diptera และ Hymenoptera และ (Rosa และคณะ 2000; Tanada and Kaya, 1993)

ในเมืองไทยมีการศึกษาการนำเชื้อราขาวมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชมากมาย จากรายงานผลงานค้นคว้าวิจัยตั้งแต่ปี 2525 -2539 โดยมลิวัลย์ ปันยารชุน กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา ได้ทำการศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราดังกล่าวกับแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ พบว่าสามารถนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดได้แก่ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และหนอนเจาะขั้วผลเงาะ เป็นต้น

ในปัจจุบันเชื้อราขาว (*Beauveria bassiana*) ได้รับความสนใจจากเกษตรกรกลุ่มผู้ทำการเกษตรปลอดสารพิษเป็นจำนวนมาก เนื่องจากสามารถใช้ได้กับแมลงหลายประเภททั้งกลุ่มแมลงปากกัด ได้แก่ หนอนผีเสื้อศัตรูพืชชนิดต่างๆ และกลุ่มแมลงปากดูดได้แก่ เพลี้ยกระโดด, เพลี้ยไฟ, เพลี้ยแป้ง ฯลฯ ซึ่งศัตรูพืชเหล่านี้ทำความเสียหายให้กับพืชผลเกษตรเป็นจำนวนมาก งานวิจัยในปีงบประมาณ 2554 – 2558 งานวิจัยเชื้อราโรคแมลงจะได้ทำการเก็บรวบรวมและการคัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยเน้นการควบคุมแมลงศัตรูพืชชนิดปากดูด ตลอดจนการพัฒนาเทคนิควิธีการเลี้ยงขยายเชื้อราชนิดนี้เพื่อเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกร และผู้บริโภคต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้

- เพื่อหาสายพันธุ์เชื้อราบิวเวอเรียที่มีประสิทธิภาพดี ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช
- เพื่อศึกษาวิธีการเลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรียให้ได้ในปริมาณมาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราบิวเวอเรีย (*Beauveria bassiana*) จากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร และกรมส่งเสริมการเกษตร
2. แมลงศัตรูพืชที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ หนอนกระทู้ผัก, หนอนกระทู้หอม, เพลี้ยแป้ง ฯลฯ

3. เมล็ดธัญพืชต่างๆ ได้แก่ ข้าวเปลือก, ปลายข้าว, ข้าวโพดบดหยาบ และข้าวฟ่าง
4. กากน้ำตาล (โมลาส)
5. ยูเรีย
6. Potato Dextrose Agar (PDA)
7. Potato Dextrose Broth (PDB)
8. กล่องเลี้ยงแมลง
9. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
10. เครื่องนับสปอร์ (Hemacytometer)
11. ตู้เขี่ยเชื้อ
12. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
13. กล้องจุลทรรศน์
14. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)
15. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.
16. กระบอกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.
17. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.

วิธีการ

1. คัดเลือกและแยกเชื้อราบิวเวอเรีย (*Beauveria bassiana*) ให้บริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ

สำรวจหาแหล่งที่คาดว่าจะมีเชื้อราบิวเวอเรียระบาดในธรรมชาติ เก็บตัวอย่างแมลงเป็นโรคนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้อาหารสำเร็จรูป PDA เมื่อแยกได้เชื้อบริสุทธิ์แล้ว ส่วนหนึ่งส่งให้นักอนุกรมวิธานเชื้อเพื่อการจำแนกชนิด อีกส่วนนำมาเลี้ยงขยายใน PDA เพื่อเก็บเป็น stock และเลี้ยงขยายปริมาณใน PDB เพื่อทำเป็นหัวเชื้อสำหรับเลี้ยงขยายต่อในเมล็ดธัญพืช เชื้อราบิวเวอเรียที่ได้จากการเลี้ยงขยายต่อในเมล็ดธัญพืชจะนำมาใช้สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพต่อไป

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2554

- ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

2. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรีย (*Beauveria bassiana*) กับแมลงศัตรูพืช

นำเชื้อราบิวเวอเรีย (*B. bassiana*) ที่ได้จากข้อ 1. มาทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืชได้แก่ เพลี้ยแป้ง, หนอนกระทู้ผัก, หนอนกระทู้หอม เปรียบเทียบกับเชื้อราบิวเวอเรียที่ได้รับความอนุเคราะห์จากกรมส่งเสริมการเกษตร

แผนการทดลอง: วางแผนการทดลองแบบ CRD

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรีย *B. bassiana* บนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 5 มล./ถุง คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 3 °ซ.) เป็นเวลา 14 วัน นำถุงเชื้อราบิวเวอเรียที่เลี้ยงได้มาเติมน้ำผสม tween ปริมาตร 200 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด ใช้ผ้าขาวบางกรองเศษอาหารที่ปะปนกับสารแขวนลอยโคนิเดีย จากนั้นนำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาตรวจนับความเข้มข้น ปรับกำลังโคนิเดียตามต้องการ ก่อนนำมาทดสอบกับแมลงศัตรูพืช ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคทุกๆ 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

การบันทึกข้อมูล

: เก็บรวบรวมข้อมูล และจดบันทึกความผิดปกติทั้งหมดที่เกิดขึ้นในระหว่างทำการทดลอง ได้แก่

- อาการและการเกิดโรคของแมลงที่ใช้ทดสอบ
- ระยะเวลาที่ทำให้เกิดโรคของเชื้อแต่ละ isolate ที่ใช้ในการทดลอง
- จำนวนแมลงที่เป็นโรคของเชื้อในแต่ละ isolate

: วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2556

- ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

3 ศึกษาวิธีการเลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรีย (*Beauveria bassiana*) ที่เหมาะสม

นำเชื้อราบิวเวอเรีย (*B. bassiana*) ที่ได้จากข้อ 1. และผ่านการทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชแล้ว มาศึกษาวิธีการเลี้ยงขยายเพื่อให้ได้โคนิเดียเชื้อในปริมาณมากดังนี้

<u>ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาชนิดธัญพืชที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรีย (*B. bassiana*)</u>

แผนการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธี โดยใช้เมล็ดธัญพืชในการเพาะเลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรีย 4 ชนิด ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ข้าวเปลือก

กรรมวิธีที่ 2 ปลายข้าว

กรรมวิธีที่ 3 ข้าวโพดบดหยาบ

กรรมวิธีที่ 4 ข้าวฟ่าง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ชั่งเมล็ดธัญพืชต่าง ๆ 4 ชนิด ได้แก่ ข้าวเปลือก, ปลายข้าว, ข้าวโพดบดหยาบ และข้าวฟ่าง ใส่ในถุงพลาสติกทนความร้อน ชนิดละ 4 ถุง ถุงละ 50 กรัม แต่ละถุงเติมน้ำในปริมาตร 50 มล. ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำหัวเชื้อที่เตรียมไว้ถ่ายใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกเชื้อให้กระจายทั่วทั้งถุงอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 3 °ซ.) เป็นเวลา 7-14 วัน จึงนำเชื้อที่ขึ้นมาตรวจนับจำนวนโคนิเดีย โดยนับซ้ำละ 10 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย และคำนวนหาเปอร์เซ็นต์การงอกของเชื้อ (cfu/ม.ล.) บันทึกข้อมูลเพื่อนำไปวิเคราะห์และเปรียบเทียบความเหมาะสมของธัญพืชในการเป็นอาหารเพาะเลี้ยง โดยนับจำนวนโคนิเดีย และเปอร์เซ็นต์การงอกของเชื้อ

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาความชื้นที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรีย(*B. bassiana*)บนเมล็ดธัญพืช

แผนการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธี โดยเลือกเมล็ดธัญพืชที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 1 ชั่งใส่ถุงปริมาตร 50 กรัม เติมน้ำในอัตราต่างๆ 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 น้ำ 25 มิลลิลิตร (1: 0.5)

กรรมวิธีที่ 2 น้ำ 50 มิลลิลิตร (1: 1.0)

กรรมวิธีที่ 3 น้ำ 75 มิลลิลิตร (1: 1.5)

กรรมวิธีที่ 4 น้ำ 100 มิลลิลิตร (1: 2.0)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เลือกเมล็ดธัญพืชที่ดีที่สุดจากขั้นตอนที่ 1 นำมาชั่งปริมาตร 50 กรัม เติมน้ำในอัตราต่างๆ 4 กรรมวิธี ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ตามแผนการทดลอง โดยเตรียมอาหารใส่ถุงพลาสติกทนความร้อนวิธีการละ 8 ถุง ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำอาหาร 4 ถุงแรกของแต่ละวิธีการไปวัดความชื้นหลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ส่วนอีก 4 ถุง ที่เหลือของแต่ละวิธีการนำหัวเชื้อบิวเวอเรีย มาถ่ายใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 3 °ซ.) เป็นเวลา 7-14 วัน แล้วนำมาตรวจนับปริมาณโคนิเดียเพื่อเปรียบเทียบหาความชื้นที่เหมาะสม

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาความเข้มข้นโมลาสที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรีย(*B. bassiana*)

แผนการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 6 วิธีการ โดยใช้โมลาสที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 โมลาส 0%

กรรมวิธีที่ 2 โมลาส 2%

กรรมวิธีที่ 3 โมลาส 4%

กรรมวิธีที่ 4 โมลาส 6%

กรรมวิธีที่ 5 โมลาส 8%

กรรมวิธีที่ 6 โมลาส 10%

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองโดยเลือกวิธีการที่ดีที่สุดจากขั้นตอนที่ 2 คือการเตรียมอาหารธัญพืช 50 กรัม ต่อน้ำอัตราที่เหมาะสม และเติมโมลาสในอัตราความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ดังกล่าว 6 กรรมวิธี ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คลุกให้โมลาส กระจายทั่วเมล็ดธัญพืช ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 °ซ.) เป็นเวลา 7-14 วัน จึงนำเชื้อที่ได้มานับปริมาณโคนิเดีย และเปอร์เซ็นต์การงอก (cfu/มล.) จากนั้น บันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์ผลต่อไป

<u>ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาปริมาณยูเรียที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรีย (*B. bassiana*)</u>

แผนการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ มี 5 วิธีการ คือความเข้มข้นยูเรียในระดับต่างๆ กัน ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ยูเรีย 0%

กรรมวิธีที่ 2 ยูเรีย 0.5%

กรรมวิธีที่ 3 ยูเรีย 1.0%

กรรมวิธีที่ 4 ยูเรีย 1.5%

กรรมวิธีที่ 5 ยูเรีย 2.0%

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เลือกวิธีการที่ดีที่สุดจากขั้นตอนที่ 3 มาศึกษาต่อเนื่อง คือการเตรียมอาหารธัญพืช 50 กรัม ต่ออัตราน้ำและโมลาสที่เหมาะสม จากนั้นเติมยูเรียตามกรรมวิธีต่างๆ คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0% เตรียมอาหารใส่ถุงพลาสติกทนร้อนปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°ซ. ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 °ซ.) เป็นเวลา 7-14 วัน จึงทำการตรวจนับปริมาณโคนิเดีย และเปอร์เซ็นต์การงอกของเชื้อ บันทึกข้อมูลเพื่อนำไปวิเคราะห์

การบันทึกข้อมูล

- เก็บข้อมูลโดยการนับจำนวนโคนิเดียของเชื้อที่ผลิตได้ในอาหารแต่ละสูตรเพื่อเปรียบเทียบปริมาณโคนิเดีย
- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2556 สิ้นสุด กันยายน 2558

- ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างแมลงเป็นโรคในธรรมชาติ นำมาแยกเชื้อราบริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ ในช่วงเดือนตุลาคม 2553 - กันยายน 2554 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ ได้ตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 12 ตัวอย่าง ได้แก่ เชื้อราจากเพลี้ยหอยบนใบส้มโอ อ.บางขันแตก จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 1 ตัวอย่าง, เชื้อราจากเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา จำนวน 1 ตัวอย่าง, เชื้อราจากหนอนแทะเปลือกลองกอง จ.จันทบุรี จำนวน 1 ตัวอย่าง **และ**เชื้อราจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวที่ จ.สุพรรณบุรี จำนวน 9 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

นำตัวอย่างแมลงเป็นโรคที่ได้มาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA จากการตรวจสอบ พบเป็นเชื้อราโรคแมลงจำนวน 3 ชนิด คือ *Paecillomyces* sp., *Lecanicillium* sp. และ *Isaria* sp. โดยพบว่าเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเพลี้ยหอยบนใบส้มโอ อ.บางขันแตก จังหวัดสมุทรสงคราม เป็นเชื้อ *Paecillomyces* sp. เชื้อราที่แยกจากเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา เป็นเชื้อ *Lecanicillium* sp. เชื้อราที่แยกจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวที่ จ.สุพรรณบุรี จำนวน 9 ตัวอย่าง พบว่าเป็นเชื้อรา *Lecanicillium* sp. จำนวน 5 ตัวอย่าง, เชื้อ *Paecilomyces* sp. จำนวน 2 ตัวอย่าง และเชื้อ *Isaria* sp. จำนวน 2 ตัวอย่าง ส่วนเชื้อราจากหนอนแทะเปลือกลองกองไม่สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อภายหลัง นอกจากนี้ได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราบิวเวอเรีย จากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ซึ่งทำการแยกเชื้อจากมอดเจาะเมล็ดกาแฟพันธุ์อาราบิก้า ต.เทพเสด็จ อ. ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ รวมทั้งขอความอนุเคราะห์เชื้อจากกรมส่งเสริมการเกษตร ซึ่งทำการแยกเชื้อจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อนำมาเลี้ยงขยายทดสอบกับแมลงศัตรูพืช

เนื่องจากปี 2554 ไม่สามารถเก็บเชื้อราบิวเวอเรียจากแมลงที่เป็นโรคในธรรมชาติได้ ดังนั้นการทดลองในปีงบประมาณ 2555 จะนำเชื้อราบิวเวอเรียที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพรมาทำการทดสอบแทน โดยใช้เชื้อราบิวเวอเรียจากกรมส่งเสริมการเกษตรเป็นตัวเปรียบเทียบ ส่วนเชื้อราโรคแมลงที่แยกได้ ได้แก่ *Paecillomyces* sp., *Lecanicillium* sp. และ *Isaria* sp. จะเก็บรักษาสายพันธุ์เพื่อการศึกษาต่อไปในอนาคต

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการเก็บตัวอย่างแมลงเป็นโรคในธรรมชาติ นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ในช่วงเดือนตุลาคม 2553 - กันยายน 2554 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ ได้จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 12 ตัวอย่าง พบเป็นเชื้อราแมลงจำนวน 3 ชนิด คือ *Paecillomyces* sp., *Lecanicillium* sp. และ *Isaria* sp เนื่องจากไม่สามารถเก็บเชื้อราบิวเวอเรียจากแมลงเป็นโรคในธรรมชาติได้ ดังนั้นการทดลองในปีงบประมาณ 2555 จะนำเชื้อราบิวเวอเรียที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพรมาทำการทดสอบแทน โดยใช้เชื้อราบิวเวอเรียจากกรมส่งเสริมการเกษตรเป็นตัวเปรียบเทียบ และจะเก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อราโรคแมลงที่แยกได้ในปี 2554 เพื่อการศึกษาต่อไปในอนาคต

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผศ. ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจวิเคราะห์เชื้อราแมลง โดยใช้เทคนิคทาง molecular

ขอขอบคุณนางสาวประภาพร ฉันทานุมัติ นักวิชาการเกษตรชำนาญการ ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราบิวเวอเรีย ซึ่งทำการแยกเชื้อจากมอดเจาะเมล็ดกาแฟพันธุ์อาราบิก้า ต. เทพเสด็จ อ. ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่

ขอขอบคุณส่วนบริหารศัตรูพืช กลุ่มงานชีววิธี สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราบิวเวอเรีย ซึ่งทำการแยกเชื้อจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพื่อใช้เป็นเชื้อเปรียบเทียบในงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Rosa, W. DE LA, R. Alatorre, J.F. Barrera and C. Toriello. 2000. Effect of Beauveria bassiana and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) upon the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) under field conditions. J. Econ. Entomol. 93: 1409-1414

Tanada, Y and H.K. Kaya. 1993. Insect pathology. Academic press, Inc. 666 p.

ตารางที่ 1 แหล่งที่มาของเชื้อราโรคแมลงที่เก็บจากตัวอย่างแมลงเป็นโรคในธรรมชาติ ในปี 2554

ไอโซเลท	เชื้อราแมลง	แมลงอาศัย	สถานที่เก็บ	หมายเหตุ
1.	*Paecillomyces* sp.	เพลี้ยหอยบนใบส้มโอ	อ.บางขันแตก จ.สมุทรสงคราม	
2.	*Lecanicillium* sp.	เพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง	อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา	
3.	-	หนอนแทะเปลือกลองกอง	จ.จันทบุรี	เกิดการปนเปื้อนเชื้ออื่น
4.	*Lecanicillium* sp.	เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว	อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี	
5.	*Lecanicillium* sp.	เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว	อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี	
6.	*Lecanicillium* sp.	เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว	อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี	
7.	*Isaria* sp.	เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว	อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี	
8.	*Paecillomyces* sp.	เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว	อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี	
9.	*Lecanicillium* sp.	เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว	อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี	
10.	*Lecanicillium* sp.	เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว	อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี	
11.	*Paecillomyces* sp.	เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว	อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี	
12.	*Isaria* sp.	เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว	อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี	