รายงานการวิจัย

การคัดกรองเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นในเขตจังหวัดภาคใต้ตอนกลาง เพื่อการควบคุมแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae)

Screening of Entomopathogenic Fungi in the Middle-south Provinces for Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) Control

โดย

นริศ ท้าวจันทร์

สมอ
SB945.F8
น46
2554

ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช
คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินรายได้ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทุนการวิจัยประเภทพัฒนานักวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2554 สัญญาเลขที่ NAT540033S

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. จิราพร เพชรรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยที่ให้ความดูแลเอาใจใส่ และให้คำปรึกษาจนกระทั่งงานวิจัยสำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ศูนย์ภาคใต้ รองศาสตราจารย์ ดร. จิราพร เพชรรัตน์ ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และสถานที่สำหรับการดำเนินการวิจัย รวมทั้งนักวิจัยและเจ้าหน้าในศูนย์วิจัยที่อำนวยความสะดวกตลอดการดำเนินการวิจัย

ขอขอบคุณภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ สำหรับสถานที่ทดลอง อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ เพื่อให้ดำเนินการวิจัยได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นริศ ท้าวจันทร์

พฤศจิกายน 2554

บทคัดย่อ

ผลจากการเก็บตัวอย่างดินและซากของแมลงที่ถูกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเข้าทำลายตามสภาพธรรมชาติเพื่อคัดกรองเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจากพื้นที่ป่าและพื้นที่เกษตรในเขตสามจังหวัดภาคใต้ตอนกลาง ได้แก่ นครศรีธรรมราช พัทลุง และสงขลา พบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงทั้งหมด 66 ไอโซเลท ประกอบด้วยเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* จำนวน 64 ไอโซเลท และเชื้อรา *Beauveria bassiana* จำนวน 2 ไอโซเลท เป็นเชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างดินจำนวน 58 ไอโซเลท พบเป็นเชื้อรา *M. anisopliae*ทั้งหมด และจากซากของแมลงจำนวน 8 ไอโซเลท ประกอบด้วยเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 6 ไอโซเลท และเชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 2 ไอโซเลท เชื้อราที่แยกจากตัวอย่างดินจังหวัดสงขลาพบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงมากที่สุด 39 ไอโซเลท รองลงมาคือจังหวัดพัทลุง 14 ไอโซเลท และจังหวัดนครศรีธรรมราชพบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงน้อยที่สุด 5 ไอโซเลท ค่า pH และเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดินของตัวอย่างดินจากจังหวัดพัทลุงและสงขลามีค่าต่ำกว่าตัวอย่างดินจากจังหวัดนครศรีธรรมราช ส่วนอุณหภูมิของตัวอย่างดินทั้งสามจังหวัดไม่มีความแตกต่างกัน ลักษณะการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมดสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1 มีการเจริญของเส้นใยแบนและสร้างสปอร์ได้เป็นจำนวนมาก จำนวน 20 ไอโซเลท กลุ่มที่ 2 มีการเจริญของเส้นใยค่อนข้างแบนและสร้างสปอร์ได้จำนวนน้อย จำนวน 33 ไอโซเลท กลุ่มที่ 3 มีการเจริญของเส้นใยฟูและสร้างค่อนข้างน้อย จำนวน 11 ไอโซเลท และกลุ่มที่ 4 มีการเจริญของเส้นใยแบบฟูละเอียดและสร้างสปอร์ได้เป็นจำนวนมาก จำนวน 2 ไอโซเลท เชื้อรากลุ่มที่ 1-3 คือเชื้อรา *M. anisopliae* (PSUM) และกลุ่มที่ 4 คือเชื้อรา *B. bassiana* (PSUB) คัดเลือกเชื้อรากลุ่มที่ 1 และ 4 มาทดสอบความสามารถในการเกิดโรคกับตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) เพราะเป็นกลุ่มเชื้อราที่สร้างสปอร์ได้เป็นจำนวนมาก พบว่าเชื้อราทั้งหมดสามารถก่อให้เกิดโรคกับตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *B. cucurbitae*ได้ แต่เชื้อราแต่ละไอโซเลทมีความรุนแรงในการเข้าทำลายแมลงต่างกัน เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท PSUM05 มีความรุนแรงในการเกิดโรคกับแมลงวันผลไม้มากที่สุด โดยใช้ระยะเวลาในการฆ่าตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศผู้ 100% ที่เวลา 5 วัน และฆ่าตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศเมีย 100% ที่เวลา 7 วัน ส่วนระยะเวลาในการฆ่าตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ทั้งสองเพศ 100% อยู่ที่ 7 วัน รองลงมาคือเชื้อราไอโซเลท PSUM02 ใช้ระยะเวลาในการฆ่าตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศผู้ เพศเมีย และทั้งสองเพศ 100% อยู่ที่ 7 วัน ส่วนเชื้อรา *B. bassiana* ทั้ง 2 ไอโซเลทเข้าทำลายตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ต่ำกว่า 100% ถึงแม้ยืดเวลาเป็นเวลา 15 วัน การทดสอบรูปแบบของสปอร์เชื้อรา PSUM05 ต่อการฆ่าตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ พบว่าสปอร์แขวนลอยในน้ำมีความรุนแรงในการเข้าทำลายแมลงมากที่สุด เพราะใช้ระยะเวลาในการฆ่าตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้และมีค่า LT_{50} และ LT_{90} น้อยกว่าสปอร์รูปแบบอื่นๆ แมลงวันผลไม้ *B. cucurbitae* ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อราแขวนลอยในน้ำใช้ระยะเวลาในการฆ่าตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศผู้ 5.20 ± 0.84 วัน เพศเมีย 5.40 ± 0.55 วัน และรวมทั้งสองเพศ 5.60 ± 0.55 วัน ตามลำดับ ส่วนสปอร์แห้งและสปอร์แขวนลอยในน้ำมันใช้ระยะเวลาในการฆ่าตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ทั้งสองเพศมากกว่า 10 วัน สำหรับการ

ตรวจสอบสปอร์บนลำตัวของตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ พบว่าที่เวลา 0 ชั่วโมงหลังจากการคลุกเชื้อรา บนลำตัวของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ที่คลุกด้วยสปอร์แห้งและสปอร์แขวนลอยในน้ำมีจำนวนสปอร์เชื้อราบนลำตัวมากกว่าตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อราแขวนลอยในน้ำมัน ส่วนที่ระยะเวลา 12-48 ชั่วโมง พบสปอร์บนลำตัวของตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้น้อยกว่า 10^4 สปอร์/ตัว

Abstract

Screening of entomopathogenic fungi from soil and insect cadaver from forest and agriculture area in three the middle-south provinces i.e. Nakhon Si Thammarat, Patthalung and Songkhla were done. A total of 66 isolates of entomopathogenic fungi were obtained comprising 64 isolates of *Metarhizium anisopliae* and two isolates of *Beauveria bassiana*. Of 66 isolates obtained, 58 were isolated from soil and gight from insect cadaver (six isolates of *M. anisopliae* and two of *B. bassiana*). The soil sample from Songkhla province gave the highest number of entomopathogenic fungi (39 isolates) followed by the soil sample from Patthalung (14 isolates). In contrast, the soil samples from Nakhon Si Thammarat had the lowest of entomopathogenic fungul isolates (5 isolates). Soil samples from Patthalung and Songkhla provinces had relatively lower pH and percentage of relative humidity in soil than those from Nakhon Si Thammarat province. However, the everage temperature in soil samples taken in the provinces investigated was relative comparable. Entomopathogenic fungal could be divided into 4 groups according to the characteristics of mycelial growth and spore production; group 1-applanate mycelia and high spore production, group II-relative applanate mycelia and low spore production, group III-fine cottony mycelia and relative low spore production and group IV-cottony mycelial and high spore production. The fungi group I-III werer *M. anisopliae* (PSUM) and group IV was *B. bassiana* (PSUB). The entomopathogenic fungi group I and IV were chosen for pathogenicity test, based on high spore production, with adult fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett). All entomopathogenic fungi showed pathogenicity when tested with adult *B. cucurbitae*. Each isolates gave different degrees of virulence, with *M. anisopliae* isolate PSUM05 the highest, giving 100% mortality of adult male and female within 5 and 7 days, and average percentage mortality of both sexes at 100% within 7 days. Isolate PSUM02 had average percentage mortality of adult male female and both sexes at 100% within 7 days. Both isolates of *B. bassiana* gave the average percentage mortality of adult flies lower 100%, extending observation period up to 15 days. The testing o fungal spore formulation on adult fruit flies showed that spore in water gave the highest mortality of adult flies with the shortest time of killing and the lowest LT50 and LT90 as compare to spore formulations (dry spore and spore in oil). Spore in water showed killing time of adult male 5.20 ± 0.84 days, adult female 5.40 ± 0.55 days and both sexes 5.60 ± 0.55 days, respectively. Dry spore and spore in oil had killing time of each sex of adult flies more than 10 days. Spore attachment on insect body at 0 hr after treated showed that adult flies treated with dry spore and spore in water had higher spore attachment than adult flies treated with spore in oil. The spore attachment on adult flies body at 12-48 hr could not be detected.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
หลักการละเหตุผล	1
วัตถุประสงค์	2
ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
ทฤษฎี สมมุติฐานและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	3
ตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	11
ผลและวิจารณ์ผลกาทดลอง	16
สรุปผลการทดลอง	39
เอกสารอ้างอิง	41
ประวัตินักวิจัยหัวหน้าโครงการ	47

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สถานที่และพิกัดเก็บตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงในสวนลองกองสามจังหวัดภาคใต้	18
2	ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และความชื้นของดินและจำนวนเชื้อราโรคแมลงที่แยกได้ในแต่ละพื้นที่	19
3	รหัสและแหล่งที่มาของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria brassiana*	21
4	รหัสและแหล่งที่มาของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงที่แยกได้จากซากของแมลง (PSUM = *Metarhizium anisopliae*; PSUB = *Beauveria bassiana*)	23
5	การแบ่งกลุ่มลักษณะการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (PSUM01-PSUM64) และ *Beauveria bassiana* (PSUB01-PSUB02)	25
6	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายและค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน (mean ± S.D.) ของตัวเต็มวัยเพศผู้แมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยเชื้อราไอโซเลทต่างๆ	30
7	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± S.D.) ของตัวเต็มวัยเพศเมียแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยเชื้อราไอโซเลทต่างๆ	31
8	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± S.D.) ของตัวเต็มวัยทั้งสองเพศของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยเชื้อราไอโซเลทต่างๆ	32
9	ระยะเวลาการตายของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 รูปแบบต่างๆ	34
10	ค่า LT_{50} และ LT_{90} (วัน) ของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 รูปแบบต่างๆ	38
11	จำนวนสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* บนลำตัวตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อราที่ช่วงเวลาต่างๆ (ชั่วโมง)	39

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เขตพื้นที่สามจังหวัดภาคใต้ตอนกลางที่เก็บตัวอย่างดินและซากของแมลงเพื่อแยกเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง	17
2	ลักษณะพื้นที่เก็บตัวอย่างดิน	19
3	เชื้อราที่แยกจากตัวอย่างดินบนอาหาร selective media	20
4	ลักษณะของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (ลูกศรสีแดง) ที่เจริญบนจานอาหาร selective media (SDAY + fungicide + antibiotic)	20
5	เชื้อราสาเหตุโรคของแมลงที่แยกได้จากซากของแมลงที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายตามสภาพธรรมชาติ	23
6	เชื้อรากลุ่มที่ 1 *Metarhizium anisopliae* เส้นใยแบน สร้างสปอร์อัดแน่นและสร้างเป็นจำนวนมาก	26
7	เชื้อรากลุ่มที่ 2 *Metarhizium anisopliae* เส้นใยแบนและค่อนข้างแบน สร้างสปอร์จำนวนน้อย	27
8	เชื้อรากลุ่มที่ 3 *Metarhizium anisopliae* เส้นใยฟู สร้างสปอร์แบบหลวม ไม่อัดแน่น และสปอร์จำนวนน้อยถึงปานกลาง	28
9	เชื้อรากลุ่มที่ 4 *Beauveria bassiana* เส้นใยฟูสีขาวละเอียด	28
10	ตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่ถูกเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เข้าทำลาย	33
11	ตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่ถูกเชื้อรา *Beauveria bassiana* เข้าทำลาย	33
12	อัตราการตายสะสมตัวเต็มวัยทั้งสองเพศของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 รูปแบบต่างๆ	35
13	อัตราการตายสะสมตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์ เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 แบบแห้ง (dry spore)	36

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
14	อัตราการตายสะสมตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์ เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 แบบเปียก (wet spore)	36
15	อัตราการตายสะสมตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 แบบน้ำมัน (oil spore)	37

การคัดกรองเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นในเขตจังหวัดภาคใต้ตอนกลางเพื่อการควบคุมแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae)

Screening of Entomopathogenic Fungi in the Middle-south Provinces for Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) Control

หลักการและเหตุผล

แมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางการเกษตร สามารถเข้าทำลายพืชผักและผลไม้ได้หลากหลายชนิด มีแมลงวันผลไม้ไม่ต่ำกว่า1,000 ชนิดแพร่กระจายทั่วโลก บางชนิดมีพืชอาหารเฉพาะเจาะจง แต่ส่วนมากเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีพืชอาหารกว้าง แมลงวันผลไม้แต่ละชนิดสามารถเข้าทำลายพืชผลจนเกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก (White and Elson-Harris, 1992; Drew, 2001; Carroll *et al.*, 2002) โดยเฉพาะผลไม้ที่มีผิวเปลือกบางถูกเข้าทำลายมากที่สุด เช่น ฝรั่ง มะม่วง กระท้อน ชมพู่ เชอร์รี่ ส้ม และแอปเปิ้ล รวมทั้งพืชตระกูลแตง เช่น แตงกวา บวบ ฟักทองและมะระ (White and Elson-Harris, 1992; Allwood *et al.*, 1999; Drew, 2001; Norrbom, 2004 และ Sauers-Muller, 2005) ในพื้นที่ที่ไม่มีการควบคุมแมลงวันผลไม้ความเสียหายอาจเกิดขึ้น 80 – 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากเกิดความเสียหายโดยตรงที่เกิดขึ้นกับผลผลิต ค่าใช้จ่ายที่ใช้ในการดูแลจัดการแมลงวันผลไม้ยังมีค่าใช้จ่ายที่สูงอีกด้วย (Norrbom, 2004)

ในประเทศไทยได้มีรายงานการแพร่ระบาดของแมลงวันผลไม้หลายชนิด ได้แก่ *Bactrocera dorsalis* (Hendel), *B. carambolae* (Drew and Hancock), *B. cucurbitae* (Coquillett), *B. papayae* Drew and Hancock, *B. pyrifoliae* (Drew and Hancock), *B. tau* (Walker) และ *B. latifrons* (Hendel) (White and Elson-Harris, 1992; Allwood *et al.*, 1999; Drew, 2001 และ Carroll *et al.*, 2002) สำหรับภาคใต้ชนิดของแมลงวันผลไม้ที่มีการระบาด ได้แก่ *B. papayae*, *B. carambolae*, *B. cucurbitae* และ *B. umbrosa* (Fabicius) (Clarke *et al.*, 2001) สำหรับเปอร์เซ็นต์ความเสียหายที่เกิดขึ้นกับผลไม้ในประเทศไทยที่ถูกแมลงวันผลไม้เข้าทำลายได้มีรายงานไว้ ได้แก่ ชมพู่ มะม่วงและแตงแคนตาลูป โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเสียหายเท่ากับ 100, 94 และ 65 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Drew, 2001)

การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้นั้นมีหลากหลายวิธี เช่น การใช้แมลงตัวผู้ที่เป็นหมันโดยการฉายรังสี (sterile insect technique, SIT program) การรมด้วยสารเคมี การใช้กับดักแบบเหยื่อล่อ และการใช้สารดึงดูดเพศ (วิสุทธิ์ และคณะ, 2539; White and Elson-Harris, 1992; Economopoulos

and Haniotakis, 1994 และ Jang and Light, 1996) ซึ่งวิธีการต่างๆ เหล่านี้ยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร นอกจากนี้การใช้สารเคมียังเป็นอันตรายต่อแมลงที่เป็นประโยชน์ มีผลตกค้างของสารเคมีในผลิตผลและบางชนิดเป็นสารก่อมะเร็ง (Messing, 1999) ดังนั้นวิธีการป้องกันกำจัดที่ดีควรพิจารณาถึงผลกระทบที่จะเกิดขึ้นกับสิ่งแวดล้อมและสุขภาพด้วย การควบคุมแมลงวันผลไม้โดยชีววิธีโดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงหลายชนิดน่าจะเป็นวิธีการที่สามารถลดการเข้าทำลายพืชผลของแมลงวันผลไม้และลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายลงได้

ดังนั้นการใช้เชื้อราสาเหตุโรคของแมลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นที่คัดแยกได้จากแหล่งเดิมของเชื้อราเอง อาจจะมีประสิทธิภาพสูงและสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ในการนำไปใช้ในพื้นที่เขตจังหวัดภาคใต้ตอนกลาง ซึ่งมีสภาพบรรยากาศที่เหมาะสมต่อเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นและเป็นวิธีทางเลือกหนึ่งของชีววิธีสำหรับนำมาใช้ในการควบคุมแมลงวันผลไม้ เพื่อลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายที่อาจมีผลกระทบด้านลบต่อแมลงและสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ชนิดอื่นๆ รวมทั้งเกษตรกรและตลอดจนผู้บริโภค นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรในการลดผลิตผลที่จะถูกเข้าทำลายโดยแมลงวันผลไม้

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อคัดกรองเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลงวันผลไม้ในเขตจังหวัดภาคใต้ตอนกลาง
2. เพื่อศึกษาการกระจายตัวของเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นในเขตพื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง
3. เพื่อศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับแมลงวันผลไม้และประเมินความรุนแรงของเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่น
4. เพื่อศึกษาวิธีการปลูกเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นสู่แมลงวันผลไม้อย่างเหมาะสม

ขอบเขตของโครงการวิจัย

เป็นการวิจัยเพื่อคัดกรองเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นในเขตจังหวัดภาคใต้ตอนกลาง (นครศรีธรรมราช พัทลุง และสงขลา) ที่มีศักยภาพสูงมาใช้ในการควบคุมแมลงวันผลไม้ ตลอดจนการทดสอบศักยภาพและความรุนแรงของโรคของเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่น ดำเนินการ ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หลังจากนั้นจึงนำเชื้อราโรคแมลงที่คัดกรองได้ใหม่และมีศักยภาพสูงไปใช้ในการควบคุมแมลงวันผลไม้อย่างเหมาะสม

ทฤษฎี สมมุติฐานและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

จากปัญหาทางสังคมและสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการใช้สารฆ่าแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ในการควบคุมแมลงวันผลไม้ ไม่ว่าจะเป็นการฉีดพ่นลงบนต้นพืชเพื่อควบคุมแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยหรือการใช้สารเคมีฆ่าแมลงราดลงดินเพื่อควบคุมตัวหนอนระยะสุดท้ายของแมลงวันผลไม้ที่เข้าดักแด้ในดิน รวมถึงแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยที่กำลังลอกคราบออกมาใหม่ ด้วยวิธีการดังกล่าวว่ามีการตกค้างของสารเคมีในสภาพแวดล้อมเป็นจำนวนมาก จึงมีการเสาะหาวิธีการควบคุมแมลงวันผลไม้วิธีการใหม่ๆ ที่เป็นการควบคุมแบบชีววิธี ซึ่งรวมถึงการใช้จุลินทรีย์โรคแมลง เช่น แบคทีเรีย ไส้เดือนฝอยและเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง

ในประเทศไทยการศึกษาการใช้เชื้อราควบคุมแมลงวันผลไม้ยังมีน้อยและชนิดของเชื้อราที่นำมาใช้ยังไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร ดังนั้นทำการศึกษาเพื่อคัดกรองเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่น เช่น *M. anisopliae* มาควบคุมแมลงวันผลไม้ เพื่อเป็นแนวทางในการลดการใช้หรือทดแทนการใช้สารฆ่าแมลงสังเคราะห์ ลดการปนเปื้อนของสารเคมีสู่สิ่งแวดล้อมและยังเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรในการลดการเข้าทำลายผลิตผลของแมลงวันผลไม้

ตรวจเอกสาร

โรคราของแมลงเป็นองค์ประกอบสำคัญอย่างหนึ่งในการควบคุมประชากรของแมลงทางธรรมชาติโดยปกติโรคราของแมลงเกิดขึ้นเองในธรรมชาติเป็นประจำแต่ไม่รุนแรงมากนัก การระบาดของโรคราแมลงอาจเกิดขึ้นเป็นครั้งคราว เมื่อมีการระบาดขึ้นเชื้อราจะทำลายประชากรแมลงอย่างกว้างขวาง ลดจำนวนแมลงศัตรูพืชและเป็นผลในการลดระดับความเสียหายของพืชลงด้วย จากการระบาดในธรรมชาติ จึงได้นำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลง สำหรับเชื้อราโรคแมลงนั้นมีรายงานไว้ถึง 700 ชนิด แต่มีอยู่เพียง 10 ชนิดเท่านั้นที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี ได้ (มลิวัลย์, 2534 และ Lacey *et. al.*, 2001)

ลักษณะทางชีววิทยาของเชื้อราโรคแมลง

เชื้อรามีอยู่มากมายหลายชนิด มีทั้งที่ประกอบด้วยเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ มีขนาดต่างๆ กันตั้งแต่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่กี่ไมครอนเช่น ยีสต์เซลล์เดียว จนถึงพวกเห็ดที่มีโครงสร้างขนาดใหญ่เห็นชัดเจนด้วยตาเปล่า เชื้อราไม่มีคลอโรฟิลล์จึงไม่สามารถสร้างคาร์โบไฮเดรตในที่ที่มี

แสงแดดเช่นพืชที่มีคลอโรฟิลล์ได้ เชื้อราไม่มีราก ลำต้น และใบที่แท้จริงรวมทั้งไม่มีเมล็ดด้วย เชื้อราบางชนิดขยายพันธุ์โดยการแบ่งตัวของเส้นใย (mycelium) แต่เชื้อราส่วนมากขยายพันธุ์ด้วยหน่วยเล็กที่เรียกว่าสปอร์ (spores) ซึ่งสร้างมาจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual) และไม่อาศัยเพศ (asexual) ในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเชื้อราสร้างสปอร์ทั้งแบบ nonmotile spores และแบบ motile spores หรือ zoospores ส่วนการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเชื้อราสร้างสปอร์ที่เรียกว่า conidia ซึ่งมีผนังบาง ขนาดเล็กและสร้างบนก้านชูสปอร์ที่เรียกว่า conodiophores สปอร์ชนิดนี้สามารถแพร่กระจายไปได้ไกลและเป็นตัวการที่สำคัญในการแพร่กระจายของเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคของแมลง (ทิพย์วดี, 2533)

เชื้อรามีความสัมพันธ์กับแมลงหลายรูปแบบ คือลักษณะที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคที่แท้จริง เจริญเติบโตเฉพาะในตัวแมลง เรียกว่า obligate parasite นอกจากนี้ยังมีเชื้อราอีกเป็นจำนวนมากมีความสัมพันธ์กับแมลงแบบ semiparasite คือเจริญเติบโตได้ทั้งในตัวแมลงและบนอาหารสังเคราะห์ (synthetic medium) นอกจากนี้เชื้อราบางชนิดเป็นพวก saprophyte ที่สามารถเจริญได้ทั้งซากพืชและซากแมลง

วงจรชีวิตของเชื้อราโรคแมลงส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กับระยะการเจริญของแมลงอาศัย (insect host) และสภาพแวดล้อมภายนอก โดยเฉพาะสภาพแวดล้อมรอบตัวเชื้อ (microclimate) มีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้อเป็นอย่างมาก เช่น อุณหภูมิ ความชื้นและแสงสว่าง (Shan and Pell, 2003)

การเข้าทำลายแมลงของเชื้อราโรคแมลง

เชื้อราเข้าทำลายแมลงโดยผ่านเข้าทางผนังลำตัว นอกจากนี้ยังสามารถเข้าทางรูหายใจและบาดแผลบนผนังลำตัว การเริ่มเข้าทำลายเริ่มต้นจากสปอร์ของเชื้อราที่ตกลงบนผนังลำตัวแมลง เมื่อมีความชื้นที่เหมาะสมสปอร์เริ่มงอก โดยสร้างเป็น germ tube แทงทะลุผนังลำตัวแมลงเข้าไป โดยปกติจะเข้าตรงบริเวณผนังบางๆ เช่น รอยต่อระหว่างปล้องหรือข้อต่อของรยางค์ต่างๆ การผ่านเข้าไปในตัวแมลงของเชื้อราต้องอาศัยเอนไซม์ต่างๆ เช่น Lipase เพื่อย่อยสลาย wax layer ซึ่งเป็นส่วนบนสุดของผนังลำตัวแมลง เอนไซม์ proteinase และ chitinase เพื่อช่วยย่อยสลายส่วนของเนื้อเยื่อ epidermis (ทิพย์วดี, 2533; Hegedus and Khachatourians, 1995 และ Clarkson and Chamley, 1996) ทำให้ germ tube สามารถแทงทะลุผ่านเข้าไปถึง basement membrane และผ่านเข้าทะลุต่อเข้าไปในช่องว่างในตัวแมลงได้ ในลำตัวแมลงเชื้อราเจริญเติบโตและสร้างเส้นใยมากมาย บางชนิดก็สร้างเส้นใยเป็นท่อนสั้นๆ เรียกว่า hyphal bodies ถ้าอุณหภูมิและความชื้นไม่เหมาะสม hyphal bodies

เริ่มสร้างผนังหนาล้อมรอบตัวเองเปลี่ยนเป็น chlamydospores ซึ่งสามารถทนทานต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมนี้ได้เป็นเวลานาน ถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสมเชื้อราเจริญสร้างเส้นใยในตัวแมลงจนเต็ม เมื่อแมลงตายเส้นใยเจริญผ่านผนังลำตัวแมลงออกมาภายนอก ส่วนของเส้นใย hyphae ที่สามารถเจริญผ่านผนังลำตัวออกมานี้เรียกว่าก้านชูสปอร์ หรือ conidiophore ซึ่งอาจเป็นสายเดี่ยวหรือแตกแขนง ที่ปลายของ conidiophore โป่งออก มีผนังกั้นและแยกตัวออกมาเป็นสปอร์ สปอร์เหล่านี้ถูกดีดออกมาจากก้านชูสปอร์ เมื่อตกลงบนผนังลำตัวแมลงตัวอื่นจะงอกผ่านผนังลำตัวแมลงและเริ่มวงจรชีวิตใหม่อีก (ทิพย์วดี, 2533)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคของราโรคแมลง

เชื้อราที่พบในแมลงมีมากมายหลายชนิดและมีความสัมพันธ์กับแมลงในลักษณะที่ต่างกัน การที่เชื้อราทำให้เกิดโรครุนแรงมากน้อยกับแมลงนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยดังต่อไปนี้ (ทิพย์วดี, 2533)

1. ความสามารถในการเข้าทำลายและความรุนแรงของเชื้อ

เชื้อราต่างชนิดกันจะมีความสามารถในการเข้าทำลายแมลงแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีความรุนแรงและความเฉพาะเจาะจงกับชนิดของแมลงอาศัยที่แตกต่างกันด้วย (Shan and Pell, 2003) เชื้อราบางชนิดสามารถสร้างสารพิษ (toxin) ที่มีฤทธิ์รุนแรงฆ่าแมลงได้รวดเร็ว บางชนิดก็เพียงเข้าไปเจริญแย่งแร่ธาตุอาหารในแมลง ซึ่งถ้าแมลงแข็งแรงก็อาจทนอยู่ได้นานหรืออาจกำจัดเชื้อราออกจากตัวได้ในที่สุด เชื้อราจะเข้าทำลายเนื้อเยื่อหรืออวัยวะของแมลงต่างกัน บางชนิดก็ทำลายเนื้อเยื่ออวัยวะหลายๆ อย่างพร้อมๆ กัน บางชนิดก็เฉพาะเจาะจงกับเนื้อเยื่อเฉพาะอย่าง ซึ่งมีผลต่อการเกิดโรคในแมลง

2. ตำแหน่งและวิธีการเข้าสู่ตัวแมลง

เชื้อราต่างจากเชื้อโรคชนิดอื่นคือเข้าสู่แมลงทางผนังลำตัว ดังนั้นเชื้อราที่มีความสามารถในการทะลุผ่านผนังลำตัวของแมลง ก็สามารถทำให้เกิดโรคได้ เช่น เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายชั้นต่างๆ ของผนังลำตัวแมลง เพื่อให้ germ tube ที่งอกจากสปอร์ผ่านเข้าไปได้ นอกจากนี้เชื้อรายังเข้าสู่ตัวแมลงได้ทางท่อหายใจ มักพบในแมลงที่มีรูหายใจข้างลำตัวใหญ่เป็นทางให้เชื้อราเข้าไปได้ เช่น ตั๊กแตน และอาจเข้าบาดแผลซึ่งพบในแมลงที่กัดกันเองหรือเป็นแผลที่ถูกแตนเบียนวางไข่

3. สภาพแวดล้อม

การระบาดของโรคที่เกิดจากเชื้อราขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมมาก ที่สำคัญได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นและแสงสว่าง อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญของเชื้อรา เช่น เชื้อรา *Entomophthora sphaerosperma* เจริญเติบโตได้ดีที่ 18-21 องศาเซลเซียส สปอร์จะงอกได้ถึง 91-95% ที่ 16 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ *Metarhizium anisopliae* คือ 25-30 องศาเซลเซียส และจะไม่เจริญเติบโตถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส สำหรับความชื้นนั้นเป็นสิ่งจำเป็นมาก สำหรับการงอกของสปอร์ เชื้อราหลายชนิดต้องการความชื้นสูงถึง 95-100% สปอร์จึงงอกได้เช่น *Spicaria rileyi* ทำให้แมลงตายได้ถึง 100% ถ้าความชื้นในบรรยากาศสูงถึง 100% ส่วนแสงแดดนั้นมีผลต่อเชื้อราทั้งทางตรงและทางอ้อม คือแสงอุลตราไวโอเล็ทที่มีในแสงแดดมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา อาจยับยั้งการเจริญเติบโต ทำให้ตายหรือทำให้กลายพันธุ์ได้ ในทางอ้อมแสงแดดทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นและความชื้นลดต่ำลง ซึ่งมีผลต่อการงอกของสปอร์และการเจริญเติบโตของเชื้อรา นอกจากนี้ความมืดและความสว่างมีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อราชนิดต่างๆ ด้วย เช่น ถ้าเลี้ยงในที่มืดจะสร้าง azygospores เป็นต้น เชื้อราต่างสายพันธุ์กันต้องการอุณหภูมิ ความชื้นและแสงสว่างต่อการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน (Shan and Pell, 2003)

การแบ่งชั้นอนุกรมวิธานของเชื้อราโรคแมลง

เชื้อราที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคแก่แมลง พบในราที่จัดตามอนุกรมวิธาน ดังนี้

1. Phycomycetes ได้แก่ *Coelomomyces, Entomophthora* และ *Massospora*
2. Ascomycetes ได้แก่ *Cordyceps*
3. Basidiomycetes ได้แก่ *Septobasidium*
4. Fungi imperfecti หรือ Deuteromycetes ได้แก่ *Acrostalagmus, Aegerita, Aschersonia, Aspergillus, Beauveria, Cephalosporium, Hirsutella, Isaria, Metarhizium, Paecilomyces, Penicillium, Spicaria* และ *Verticillium*

เชื้อราบางชนิดมีแมลงอาศัยกว้าง เช่น *Metarhizium anisopliae* เชื้อราดังกล่าวสามารถเข้าทำลายหรือเป็นแมลงอาศัยของเชื้อรามากกว่า 200 ชนิด นอกจากนี้ขอบเขตของแมลงอาศัยที่พบในเชื้อราบางชนิดอาจมีแมลงอาศัยเฉพาะและราบางชนิดอาจมีแมลงอาศัยในขอบเขตที่กว้างขวางมาก อันดับของแมลงที่พบว่าเป็นแมลงอาศัยประจำของเชื้อราโรคแมลง ได้แก่แมลงในอันดับ Lepidoptera, Homoptera, Hymenoptera, Coleoptera, Diplura และ Orthoptera (ทิพย์วดี, 2533)

ความสำคัญของแมลงวันผลไม้

แมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางการเกษตร มีอยู่หลายชนิดพบได้โดยทั่วไป แมลงวันผลไม้แต่ละชนิดสามารถเข้าทำลายพืชผลจนเกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมาก ทั้งผลไม้ พืชผักและดอกไม้ (Carroll *et al.*, 2002) ได้มีการหาวิธีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูเหล่านี้หลายวิธี แต่วิธีการส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร วิธีการที่นิยมในสมัยก่อน คือ การใช้สารเคมี ซึ่งมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมาก เช่น เป็นอันตรายต่อแมลงที่เป็นประโยชน์ มีผลตกค้างของสารเคมีในผลิตผล และบางชนิดเป็นสารก่อมะเร็ง (Messing, 1999) ซึ่งอาจทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับในผลผลิตนั้นได้ ดังนั้นวิธีการป้องกันกำจัดที่ดีควรพิจารณาถึงผลกระทบที่เกิดขึ้นกับสิ่งแวดล้อมด้วย (วิสุทธิ์ และคณะ, 2539)

แมลงวันผลไม้มีมากกว่า 4,000 ชนิด แต่มีอยู่ประมาณ 500 ชนิดที่ได้มีการจัดจำแนกไว้ จัดเป็นวงศ์ของแมลงที่มีสมาชิกมากที่สุดในอันดับ Diptera และเป็นแมลงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก เพราะเป็นแมลงศัตรูพืชที่สามารถเข้าทำลายผลไม้และพืชผักได้หลายชนิด ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายทางตรงและทางอ้อมแก่ผลผลิต (วิสุทธิ์ และคณะ, 2539 และ White and Elson-Harris, 1992) มีแมลงวันผลไม้ประมาณ 200 ชนิดที่ได้มีการจัดไว้เป็นแมลงศัตรูที่เข้าทำลายพืชผลทางเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด และอาจมีชนิดใหม่ที่กำลังจะกลายเป็นแมลงศัตรูพืชตามมาอีก (Carroll *et al.*, 2002)

ความสำคัญของแมลงวันผลไม้อยู่ที่ตัวหนอนของมันที่เข้าไปเจริญหรือพัฒนาตัวเองอยู่ภายในผลไม้โดยมีอยู่ประมาณ 70 ชนิดที่เป็นแมลงศัตรูที่เข้าทำลายผลไม้ ผลไม้ที่ถูกเข้าทำลายส่วนใหญ่เป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเกือบทั้งสิ้น เช่น แอปเปิ้ล มะม่วง มะละกอและส้ม เป็นต้น นอกจากเข้าทำลายผลแล้วตัวหนอนของแมลงวันผลไม้อีกประมาณ 80 ชนิดสามารถเข้าทำลายส่วนของดอก ใบ ลำต้นและรากได้อีกด้วย (White and Elson-Harris, 1992) การที่แมลงวันผลไม้เข้าทำลายพืชผลนั้นเกิดจากสารกระตุ้นเช่น กลิ่นของผลไม้ หรือสารบางชนิดที่อยู่ในผักและผลไม้เป็นตัวดึงดูดแมลงวันผลไม้ให้เข้ามาวางไข่ในพืชผลนั้น

ชนิดและการแพร่กระจาย

แมลงในวงศ์นี้ได้มีการจัดจำแนกแบ่งออกเป็น 4 วงศ์ย่อย ได้แก่ Dacinae, Trypetinae, Tephritinae และ Schistopterinae แต่มีอยู่ 2 วงศ์ย่อยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในการเข้าทำลายพืชผักและผลไม้ คือ Dacinae และ Trypetinae (Landolt and Quilici, 1996)

White และ Elson-Harris (1992) ได้แบ่งชนิดของแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่พบตามแหล่งต่างๆ ทั่วโลก มีประมาณ 150 ชนิดที่ได้จัดจำแนกไว้ที่มีความสัมพันธ์กับพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ แมลงวันผลไม้ศัตรูที่เข้าทำลายผลไม้ส่วนใหญ่ ได้แก่ ชนิดที่อยู่ในสกุล *Anastepha, Ceratitis, Bactrocera, Dacus* และ *Rhogoletis* แมลงเหล่านี้มีพืชอาศัยหรือพืชอาหารอยู่หลายชนิดรวมทั้งพืชผลที่สำคัญทางการเกษตรด้วย สำหรับในแถบเอเชียนั้นพบอยู่ 2 สกุลด้วยกัน คือ *Bactrocera* และ *Dacus*

นอกจากนี้ยังพบว่ามีแมลงวันผลไม้ชนิดอื่นๆ ที่มีการเข้าทำลายทางใบ หรือลำต้น ได้แก่ สกุล *Carpomya, Euphranta, Monacrostichus, Neoceratitis, Toxotrypana* และ *Zonosemata* ส่วนชนิดที่อยู่ในสกุล *Euleia, Plioreocepta, Zacerata* และ *Strauzia* เข้าทำลายเมล็ดของดอกทานตะวันและดอกคำฝอย ซึ่งพบได้น้อย (White and Elson-Harris, 1992)

แมลงวันผลไม้ในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

ในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และแถบใกล้เคียงเป็นบริเวณที่มีการปลูกพืชผลที่เป็นสินค้าสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด รวมทั้งประเทศที่มีรายได้จากการส่งออกสินค้าทางการเกษตร เช่น ไต้หวัน อินเดีย ไทย สิงคโปร์ ฟิลิปปินส์ และมาเลเซีย เป็นต้น ต่างประสบปัญหาเกี่ยวกับแมลงวันผลไม้ แมลงวันผลไม้ที่พบได้ในแถบนี้มีประกอบด้วยชนิดที่อยู่ในสกุล *Bactrocera* ซึ่งมีอยู่ประมาณ 180 ชนิด และในสกุล *Dacus* อีก 30 ชนิด ในแต่ละพื้นที่มีชนิดของแมลงที่พบแตกต่างกันออกไป ชนิดที่สำคัญที่เข้าทำลายพืชผลในแถบนี้ เช่น *B. papayae, B. caramborae, B. cucurbitae, B. zonata, B. correcta, B. latifrons, B. philippinensis, B. umbosa, B. tau, B. albistrigata* และชนิดอื่นใน *Bactrocera dorsalis* complex สำหรับพืชผลที่ถูกแมลงเหล่านี้เข้าทำลายมีอยู่หลายชนิดด้วยกัน แต่ละชนิดล้วนมีความสำคัญทางเศรษฐกิจทั้งสิ้น เช่น ฝรั่ง พืชตระกูลแตง มะม่วง พริกและขนุน (White and Elson-Harris 1992; Vijaysegaran, 1994; Iwahashi, 1999 และ Clarke *et al.*, 2001)

แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย

ประเทศไทยพบแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น *B. dorsalis, B. correcta, B. pylifoliae, B. papayae, B. carmbolae, B. cucurbitae* และ*B. umbrosa* เป็นต้น *B. dorsalis* และ *B. correcta* พบในพื้นที่บริเวณภาคกลางและภาคเหนือของประเทศไทย ส่วน *B. pylifoliae* พบทางภาคเหนือแห่งเดียว *B. papayae, B. carmbolae* และ *B. umbrosa* พบทางภาคใต้ของประเทศไทย ส่วน *B. cucurbitae* พบได้ทั่วทุกแห่งของประเทศ โดยพบการแพร่ระบาดมากที่สุดในเขตภาคเหนือ แมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* เป็นชนิดที่ทำความเสียหายได้มากที่สุด เพราะสามารถทำลายพืชได้หลายชนิด (Clarke *et al.*, 2001 และ Drew, 2001) นอกจากนี้ยังมีอีกสองชนิดที่เข้าทำลายพืชผัก ได้แก่ *B. tau* และ *B. latifrons* ชนิดสุดท้ายนี้พบว่าเข้าทำลายพืชพวกมะเขือและพริก (วิสุทธิ์ และคณะ, 2539)

การป้องกันกำจัด

การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ไม่ให้เข้าทำลายผลผลิตนั้นมีอยู่หลายวิธี เช่น การใช้ถุงกระดาษหรือพลาสติกห่อผลไม้ การเก็บผลไม้สุกที่ตกอยู่ในสวนออกจากพื้นที่ไปทำลาย การปลูกพืชหมุนเวียนหรือปลูกพืชชนิดอื่นล้อมรอบพืชหลักที่ปลูกไว้ การเก็บเกี่ยวผลผลิตก่อนที่แมลงวันผลไม้จะเข้าทำลาย การใช้พันธุ์พืชต้านทาน เช่น การปรับปรุงพันธุ์ให้เปลือกของผลส้มมีน้ำมันมาก ซึ่งจะเป็นพิษต่อตัวหนอนของแมลงวันผลไม้ เป็นต้น การใช้รังสีทำให้แมลงเป็นหมันในการควบคุมประชากร การใช้ความร้อน ความเย็น การใช้สารเคมีในการกำจัดแมลง เช่น malathion, naled และ permithrin เป็นต้น หรือใช้สารเคมีในการรมผลไม้ เช่น ethylene dibromide โดยเฉพาะสารชนิดหลังนี้ได้ถูกยกเลิกไปแล้วเพราะเป็นสารก่อมะเร็ง นอกจากนี้สารเคมีที่ใช้ยังเป็นอันตรายต่อแมลงที่เป็นประโยชน์ต่างๆ เช่น ผึ้ง ต่อเบียนและแตนเบียน เป็นต้น จากวิธีการในการกำจัดแมลงข้างต้นนั้นยังให้ผลในการควบคุมที่ไม่ดีเท่าที่ควร เพราะวิธีการบางอย่างต้องอาศัยแรงงานและสารเคมีที่มากทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มและการใช้วิธีการดังกล่าวยังต้องคำนึงถึงผลตอบแทนที่จะได้รับจากผลผลิตอีกด้วยว่าคุ้มค่าหรือไม่ อีกทางเลือกหนึ่งคือ ป้องกันไม่ให้แมลงวันผลไม้เข้ามาวางไข่ในผลไม้ ซึ่งน่าจะเป็นวิธีการที่ดีที่สุด (วิสุทธิ์ และคณะ, 2539; Klassen *et al.*, 1994; Alcantara-Licudine *et al.*, 1999 และ Messing, 1999) นอกจากนี้การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีนั้นเป็นวิธีการทางเลือกที่นิยมนำมาใช้มากที่สุด เพราะเป็นวิธีการที่ปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม ไม่มีผลเสียของการตกค้างของสารเคมีที่เป็นอันตรายและปลอดภัยต่อเกษตรกร ตลอดจนผู้บริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้เชื้อราโรคแมลงมาควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะแมลงวันผลไม้ น่าจะเป็นวิธีการทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายผลผลิตได้

การควบคุมแมลงวันผลไม้โดยการใช้เชื้อราโรคแมลง

เชื้อราสาเหตุของโรคแมลงได้ถูกนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด ในแมลงหลายอันดับ เช่น แมลงสาบ (Quesada-Moraga *et al.*, 2004) ตั๊กแตน (Peng *et al.*, 2008) ผีเสื้อ (Furlong and Pell, 2001) ด้วง (Klein and Lacey, 1999) และแมลงวัน (Ekesi *et al.*, 2007) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* เป็นเชื้อราที่สามารถเข้าทำลายแมลงได้หลายชนิดและหลายระยะของการเจริญของแมลง ไม่ว่าจะเป็นระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย (Castillo *et al.*, 2000; Lezama-Gutierrez *et al.*, 2000 และ Ekesi *et al.*, 2002)

จากการศึกษาของนริศ และอนุชิต (2551) ทดสอบเชื้อรา *M. anisopliae* กับแมลงวันผลไม้สกุล *B. papayae* Drew and Hancock พบว่าสามารถทำให้เกิดโรคกับแมลงวันผลไม้ได้ เมื่อทำการศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อราในประชากรแมลงวันผลไม้ที่ติดเชื้อต่อประชากรแมลงวันผลไม้ปกติ แมลงวันผลไม้ที่ติดเชื้อสามารถแพร่กระจายเชื้อราไปสู่แมลงวันผลไม้ปกติได้ โดยเฉพาะในช่วงที่แมลงมีการเข้าไปผสมพันธุ์กัน (Hedstrom and Monge-Najera, 1998) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ นริศและคณะ (2554) ทดสอบการแพร่กระจายเชื้อรา *M. anisopliae* ในแมลงวันผลไม้ *B. papayae* โดยพบว่าแมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ได้รับเชื้อราสามารถแพร่เชื้อราไปสู่แมลงวันผลไม้เพศเมีย โดยการผสมพันธุ์ ขณะเดียวกันแมลงวันผลไม้เพศเมียที่ได้รับเชื้อราสามารถแพร่กระจายเชื้อราไปสู่แมลงวันผลไม้เพศผู้ตัวปกติตัวอื่นที่เข้ามาผสมพันธุ์ได้ นอกจากนี้แมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ติดเชื้อจะมีผลต่อการจับคู่ผสมพันธุ์กัน โดยตัวผู้ที่ติดเชื้อจะใช้ระยะเวลาในการผสมพันธุ์นานกว่าตัวผู้ที่ปกติ (Dimbi *et al.*, 2009) ในตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้สกุล *Ceratitis capitata* และ *C. rosa* var. *fasciventris* พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* สามารถก่อให้เกิดโรคได้เช่นกัน โดยหลังจากการปลูกเชื้อ 4 วัน แมลงทั้งสองชนิดมีอัตราการตายอยู่ที่ 7-100% และ 11.4-100% ตามลำดับ (Dimbi *et al.*, 2003) นอกจากนี้ยังมีการนำเชื้อราดังกล่าวไปประยุกต์ใช้กับระยะอื่นๆ ของแมลงวันผลไม้ เช่น ตัวหนอนระยะที่ 3 ซึ่งเป็นระยะสุดท้ายก่อนที่จะเข้าดักแด้ โดยพบว่าสามารถทำลายตัวหนอนระยะดังกล่าวรวมถึงดักแด้ได้และลดจำนวนตัวเต็มวัยที่กำลังจะลอกคราบใหม่ที่จะออกมาได้ (Ekesi *et al.*, 2002)

ในแมลงวันผลไม้สกุล *Anastrepha ludens* เชื้อรา *M. anisopliae* สามารถก่อให้เกิดโรคได้ทั้งในระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ที่ความหนาแน่นของสปอร์ 10^8 สปอร์/มิลลิลิตร โดยระยะตัวหนอนและระยะดักแด้มีอัตราการตายสะสมอยู่ในช่วง 37.9-98.75% มีค่า LT_{50} อยู่ในช่วง 1.8-6.2 วัน และมีค่า LC_{50} อยู่ที่ 3.7-4.8$\times 10^5$ สปอร์/มิลลิลิตร (Lezama-Gutierrez *et al.*, 2000) จากการศึกษาการใช้สปอร์ของเชื้อรา *M. anisopliae* ที่อยู่ในรูปแห้งกับรูปเปียก พบว่าสปอร์รูปแห้ง

สามารถทำให้อัตราการตายในแมลงวันผลไม้สกุล *C. capitata* สูงกว่าการใช้ในสปอร์รูปเปียก แต่สปอร์ทั้งสองแบบก็มีอัตราการตายของแมลงสูงถึง 95-100% และการใช้เชื้อราในสปอร์รูปแห้งทำให้แมลงมีอัตราการรอดลดลง นอกจากนี้การถ่ายทอดเชื้อจากตัวผู้ติดเชื้อไปสู่ตัวเมียปกติจะมีอัตราการถ่ายทอดเชื้อ 90% ในสปอร์เปียก และ 100% ในสปอร์แห้ง ซึ่งสูงกว่าการถ่ายทอดเชื้อจากตัวเมียติดเชื้อสู่ตัวผู้ปกติ โดยอัตราการถ่ายทอดเชื้อ 60% ในสปอร์เปียกและ 90% ในสปอร์แห้ง (Quesada-Moraga *et al.*, 2008)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เก็บตัวอย่างเชื้อราโรคแมลงจากดินและแมลงที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายตามสภาพธรรมชาติ

1.1 การแยกเชื้อราโรคแมลงจากดิน

เก็บตัวอย่างดินแบบสุ่ม (random sampling) ในพื้นที่ป่าและพื้นที่ทำการเกษตร (Klingen *et al.*, 2002) ในเขตพื้นที่ 3 จังหวัด คือ นครศรีธรรมราช พัทลุง และสงขลา โดยเก็บตัวอย่างดินลึกลงไปจากผิวหน้าดินประมาณ 10-15 เซนติเมตร จำนวน 1 กิโลกรัม พื้นที่ละ 5 จุดจุดละ 10 ตัวอย่าง แต่ละจุดเก็บห่างกัน 5-10 เมตร ตัวอย่างดินที่เก็บได้บรรจุใส่ถุงพลาสติกใสรัดด้วยยางและเก็บในกล่องโฟมเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดกลับมาที่ห้องปฏิบัติการเพื่อทำการแยกเชื้อราโรคแมลง สำหรับตัวอย่างดินที่ยังไม่ได้แยกเชื้อรานำไปเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการแยกเชื้อราจนครบ

นำตัวอย่างดินที่ได้แต่ละตัวอย่างที่อยู่ในถุงพลาสติกใสเขย่าให้ดินคลุกเคล้าเข้ากัน จากนั้นนำสุ่มตักตัวอย่างดินออกมา 10 กรัมผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตรในขวดชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex เป็นเวลา 30-60 วินาที นำสารละลายดินที่ได้มาทำ dilution plate technique ที่ความเข้มข้น 10^{0}, 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} โดยดูดสารละลายดินแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงบนจานอาหารเทียมเฉพาะ Sabouraud Dextrose Agar plus Yeast (SDAY + fungicide + antibiotic) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เกลี่ยหน้าอาหารด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยมปลอดเชื้อจนหน้าอาหารแห้ง แต่ละความเข้มข้นทำจำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นนำจานอาหารไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสในที่มืดเป็นเวลา 24-72 ชั่วโมง จากนั้นตรวจดูเชื้อราที่เจริญในจานอาหาร ทำการแยกเชื้อราที่เจริญในจานอาหารลงในจานอาหารใหม่ (SDAY) เพื่อทำให้เชื้อราที่ได้บริสุทธิ์

1.2 การเก็บตัวอย่างแมลงที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายในธรรมชาติ

เก็บตัวอย่างแมลงที่ตายตามธรรมชาติที่พบในพื้นที่สำรวจข้างต้นมาทำการบ่มเพาะเพื่อแยกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในห้องปฏิบัติการ โดยนำแมลงที่ตายแล้วมาทำการฆ่าเชื้อที่ผิวภายนอกด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 - 2 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง นำไปบ่มในจานอาหารเลี้ยงเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตรที่วางรองก้นจานด้วยกระดาษกรอง (Whatman® No. 1) ที่ชุ่มน้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (24 - 28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง แมลงที่มีสาเหตุการตายจากเชื้อราจะมีเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาปกคลุมภายนอกลำตัวแมลง

เมื่อพบเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาจากตัวแมลง ทำการย้ายเส้นใยดังกล่าวไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ Sabouraud Dextrose Agar ที่ผสม yeast extract (SDAY, Dextrose 10 g, Peptone 2.5 g, Yeast extract 2.5 g, Agar 20 g และ Water 1 L) โดยใช้ลูปที่ผ่านการลนไฟฆ่าเชื้อเขี่ยเส้นใยของเชื้อราลงบนจานอาหาร SDAY แล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (24 - 28 องศาเซลเซียส)

สำหรับตัวอย่างแมลงที่เก็บมาจากธรรมชาติที่มีเชื้อราขึ้นปกคลุมเห็นได้อย่างชัดเจน สามารถแยกส่วนของเชื้อราดังกล่าวลงบนอาหาร SDAY ได้โดยฆ่าเชื้อที่ผิวภายนอกของแมลงก่อนตามวิธีการข้างต้นแล้วใช้ลูปที่ผ่านการลนไฟฆ่าเชื้อเขี่ยเส้นใยหรือสปอร์ของเชื้อราลงบนจานอาหาร SDAY หรืออาจแยกชิ้นส่วนของแมลงที่มีเชื้อราวางลงบนจานอาหารแล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อราเจริญในจานอาหารแล้วควรทำการแยกเชื้อราดังกล่าวซ้ำอีกครั้งเพื่อให้เชื้อดังกล่าวบริสุทธิ์

จำแนกชนิดเชื้อราโรคแมลงที่แยกได้ทั้งสองวิธีโดยดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยและสปอร์ (Watanabe, 2002 และ Luangsa-ard *et al.*, 2007, 2009) จากนั้นนำเชื้อราบริสุทธิ์ที่ได้ไปเก็บไว้ในหลอดอาหารเอียง (SDAY slant) โดยบ่มไว้ที่ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสในที่มืดจนกว่าเชื้อราสร้างสปอร์ (1-2 สัปดาห์) แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับแมลงวันผลไม้และประเมินความรุนแรงของเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่น

2.1 การเตรียมแมลงวันผลไม้

เลี้ยงแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ด้วยอาหารเทียม จนกลายเป็นตัวเต็มวัยอายุประมาณ 10-15 วัน โดยเลี้ยงในกรงผ้าขนาด 30×30×30 เซนติเมตร ภายในกรงมีการให้น้ำตาลก้อน ยีสต์ผงสกัดและน้ำเป็นแหล่งอาหาร แมลงเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิห้องและสภาพแสงแดดธรรมชาติ

2.2 การเตรียมเชื้อรา

นำเชื้อราโรคแมลงมาเพาะเลี้ยงในอาหาร SDAY ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร บ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์หรือจนกว่าเชื้อราจะสร้างสปอร์

2.3 การทดสอบในแมลงวันผลไม้

นำแมลงวันผลไม้เพศผู้และเพศเมียตัวเต็มวัยอายุ 10-15 วัน อย่างละ 5 ตัว ของแต่ละชนิดมาคลุกกับสปอร์แห้งของเชื้อราที่เตรียมไว้ โดยให้แมลงคลุกอยู่ในสปอร์ของเชื้อราความหนาแน่นประมาณ 10^8 สปอร์/มิลลิลิตรเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำแมลงมาใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด 10×15×20 เซนติเมตร บริเวณฝาเจาะรูและมีผ้าขาวบางปิดเพื่อระบายอากาศ ภายในกล่องบรรจุน้ำตาลก้อน ยีสต์ผงสกัดและน้ำเป็นแหล่งอาหาร เลี้ยงแมลงภายใต้อุณหภูมิห้องและสภาพแสงแดดธรรมชาติ บันทึกอุณหภูมิและความชื้นในอากาศตลอดการทดลอง สำหรับชุดควบคุมประกอบด้วยเชื้อราโรคแมลงที่มีขายในท้องตลาด (positive control) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (negative control) โดยนำแมลงมาคลุกเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปใส่ในกล่องที่เตรียมไว้ บันทึกระยะเวลาการตายของแมลง ความรุนแรงของเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นและการตายของแมลงเป็นเวลา 15 วัน สำหรับแมลงที่ตายนำไปวางในจานอาหารขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตรที่รองด้วยกระดาษกรองชื้นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เพื่อยืนยันการตายของแมลงว่ามีสาเหตุการตายจากเชื้อรา วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (complete randomized design) โดยทำตัวอย่างละ 5 ซ้ำ

3. การศึกษาวิธีการปลูกเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นสู่แมลงวันผลไม้และการเกาะติดของสปอร์เชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นบนตัวแมลงวันผลไม้

3.1 การศึกษาวิธีการปลูกเชื้อแบบต่างๆ และระยะเวลาการเข้าทำลายแมลงวันผลไม้ของเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่น

3.1.1 การเตรียมแมลงวันผลไม้

เลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. cucurbitae* ด้วยอาหารเทียม จนกลายเป็นตัวเต็มวัยอายุประมาณ 10-15 วัน โดยเลี้ยงในกรงผ้าขนาด 30×30×30 เซนติเมตร ภายในกรงมีการให้น้ำตาลก้อน ยีสต์ผงสกัดและน้ำเป็นแหล่งอาหาร แมลงเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิห้องและสภาพแสงแดดธรรมชาติ

3.1.2 การเตรียมเชื้อรา

นำเชื้อราโรคแมลงมาเพาะเลี้ยงในอาหาร SDAY ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร บ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ หรือจนกว่าเชื้อราจะสร้างสปอร์ แบ่งสปอร์ของเชื้อราออกเป็น 3 ทรีทเมนต์ ได้แก่ (1) สปอร์แห้ง (2) สารแขวนลอยสปอร์ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อผสมสาร Tween 80 (0.01% v/v) และ (3) สารแขวนลอยสปอร์ ใน paraffin oil ผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (50:50) โดยแต่ละทรีทเมนต์มีความหนาแน่นสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

3.1.3 การทดสอบในแมลงวันผลไม้

นำแมลงวันผลไม้เพศผู้และเพศเมียตัวเต็มวัยอายุ 10-15 วัน อย่างละ 5 ตัว ของแต่ละชนิด มาคลุกกับสปอร์ของเชื้อราทั้งสามแบบที่เตรียมไว้ โดยให้แมลงคลุกอยู่ในสปอร์ของเชื้อราแต่ละแบบเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำแมลงมาใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด 10×15×20 เซนติเมตร บริเวณฝาเจาะรูและมีผ้าขาวบางปิดเพื่อระบายอากาศ ภายในกล่องบรรจุน้ำตาลก้อน ยีตส์ผงสกัดและน้ำเป็นแหล่งอาหาร เลี้ยงแมลงภายใต้อุณหภูมิห้องและสภาพแสงแดดธรรมชาติ บันทึกอุณหภูมิและความชื้นในอากาศตลอดการทดลอง สำหรับชุดควบคุมนำแมลงมาคลุกกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปใส่ในกล่องข้างต้นที่เตรียมไว้ บันทึกการตายของแมลงทุกวันจนกว่าแมลงจะตายหมด สำหรับแมลงที่ตายนำไปวางในจานอาหารขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตรที่รองด้วยกระดาษกรองชื้นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เพื่อยืนยันการตายของแมลงว่ามีสาเหตุการตายจากเชื้อรา วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (complete randomized design) โดยทำตัวอย่างละ 5 ซ้ำ

3.2 การศึกษาการเกาะติดของสปอร์ของเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นบนแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการปลูกเชื้อแบบต่างๆ

3.2.1 การเตรียมแมลงและเชื้อราทำตามวิธีการย่อยที่ 3.1.1 และ 3.1.2

3.2.2 การทดสอบในแมลงวันผลไม้

นำแมลงวันผลไม้เพศผู้และเพศเมียตัวเต็มวัยอายุ 15 วัน อย่างละ 5 ตัว มาคลุกกับสปอร์ของเชื้อราทั้งสามแบบที่เตรียมไว้ โดยให้แมลงคลุกอยู่ในสปอร์ของเชื้อราแต่ละแบบเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำแมลงมาใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด 10×15×20 เซนติเมตร บริเวณฝาเจาะรูและมีผ้าขาวบางปิดเพื่อระบายอากาศ ภายในกล่องบรรจุน้ำตาลก้อน ยีตส์ผงสกัดและน้ำเป็นแหล่งอาหาร เลี้ยงแมลงภายใต้อุณหภูมิห้องและสภาพแสงแดดธรรมชาติ สำหรับชุดควบคุมนำแมลงมาคลุกกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นสุ่มแมลงเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 2 ตัวหลังจากการปลูกเชื้อแต่ละวิธีที่ 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง มานับสปอร์ของเชื้อราที่ติดบนลำตัวของแมลงวันผลไม้ โดยนำแมลงมาใส่ในหลอดทดลองขนาด 15×150 มิลลิเมตร บรรจุน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อผสม Tween 80 (0.01% v/v) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้สปอร์หลุดออกจากตัวแมลงด้วย vortex เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนับจำนวนสปอร์ในสารแขวนลอยสปอร์ด้วย haemacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (complete randomized design) โดยทำตัวอย่างละ 10 ซ้ำ

3.2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ก่อนวิเคราะห์ข้อมูลตัวเลขที่ได้ทั้งหมดทำการวิเคราะห์หาข้อกำหนดการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบมีพารามิเตอร์ (ประชากรมีการแจกแจงแบบปกติ (normality) และมีค่าความแปรปรวนเท่ากัน (homogeneity of variance) ถ้าข้อมูลไม่เข้าข้อกำหนดของการวิเคราะห์แบบมีพารามิเตอร์ จะแปลงข้อมูลก่อนทำการวิเคราะห์ แล้วจึงวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ถ้าหากแปลงข้อมูลแล้วยังไม่เข้าข้อกำหนดข้อมูลดังกล่าวจะต้องนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีแบบไม่มีพารามิเตอร์ หากทรีทเมนต์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จะเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีที่เหมาะสม สำหรับข้อมูลการประเมินความรุนแรงของโรค ระยะเวลาการตายของแมลงและอัตราการตายของแมลงใช้วิธี Abbott's formula แล้วจึงคำนวณหาค่า Lethal Time (LT_{50} และ LT_{90})

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อราโรคแมลงจากดินและแมลงที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายในสภาพธรรมชาติ

เก็บตัวอย่างดินในสวนป่าและสวนผลไม้ของเกษตรกรในสามจังหวัดภาคใต้ตอนกลาง คือ นครศรีธรรมราช พัทลุง และสงขลา (รูปที่ 1 และ 2) จากข้อมูลทางกายภาพ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิ และความชื้นในดินของพื้นที่เก็บตัวอย่าง พบว่าค่า pH ของดินที่เก็บตัวอย่างอยู่ในช่วง 6.20 – 6.68 โดยที่จังหวัดพัทลุง (6.20) และสงขลา (6.32) มีสภาพความเป็นกรดของดินเล็กน้อย ส่วนจังหวัดนครศรีธรรมราช (6.68) มีสภาพของดินเข้าใกล้กลาง (pH = 7) (ตารางที่ 1 และ 2) ส่วนอุณหภูมิของดินทั้งสามจังหวัดพบว่าอยู่ในช่วง 25.20 – 26.67 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 2) สำหรับเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดิน พบว่าตัวอย่างดินจากจังหวัดสงขลามีเปอร์เซ็นต์ความชื้นน้อยที่สุด (3.74 ± 0.72 %) ส่วนตัวอย่างดินจังหวัดนครศรีธรรมราชมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นของดินสูงที่สุด (6.35 ± 3.70 %) (ตารางที่ 2) จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงพบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงทั้งหมด 66 ไอโซเลท ประกอบด้วยเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 64 ไอโซเลท (96.97%) และเชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 2 ไอโซเลท (3.03%) เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่แยกจากดินและซากของแมลงที่ถูกเชื้อราโรคแมลงเข้าทำลายตามสภาพธรรมชาติ พบเชื้อราที่แยกได้จากดิน 58 ไอโซเลทและแยกได้จากแมลง 8 ไอโซเลท (ตารางที่ 2)

เมื่อพิจารณาเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่แยกจากดิน พบเชื้อราทั้งหมด 58 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา *M. anisopliae* ทั้งหมด โดยพบมากที่สุดจากตัวอย่างดินจังหวัดสงขลา จำนวน 39 ไอโซเลท รองลงมาคือ พัทลุง (14 ไอโซเลท) และนครศรีธรรมราช (5 ไอโซเลท) เมื่อพิจารณาร่วมกับข้อมูลค่า pH อุณหภูมิ และเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดิน พบว่า pH และเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดินมีผลต่อการพบเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงในดิน Quesada-Moraga *et al.* (2007) รายงายว่าดินที่มีค่า pH อยู่ในสภาพกรดและมีอินทรียวัตถุสูงมีแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์การพบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงมากกว่าดินที่มีสภาพความเป็นด่างและมีอินทรียวัตถุน้อย ส่วนดินที่มีความชื้นสูงจะพบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงน้อย เพราะจะถูกรบกวนโดยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น (Ekesi *et al.*, 2003) นอกจากนี้ในสภาพดินเปียก (ความชื้นสูง) จะมีปริมาณออกซิเจนน้อยกว่าดินแห้ง (ความชื้นต่ำ) สภาพดินที่เปียกและมีค่า water potential เข้าใกล้ศูนย์ จะมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ย่อยสลายอินทรีย์วัตถุเป็นจำนวนมาก ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง (Li and Holdom, 1993)

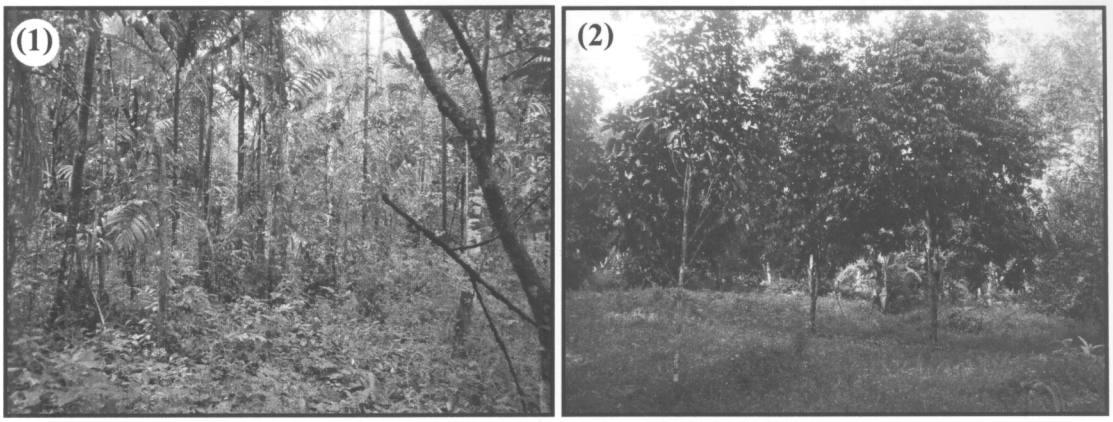
ตัวอย่างดินที่มีความเป็นกรดเล็กน้อยและมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดินต่ำ ได้แก่ตัวอย่างดินจังหวัดสงขลาและพัทลุง พบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเป็นจำนวนมาก ส่วนตัวอย่างดินที่มีค่าความเป็นกรดน้อยจนถึงกลางและมีความชื้นในดินที่สูง เช่นตัวอย่างดินจังหวัดนครศรีธรรมราช พบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจำนวนน้อย (ตารางที่ 2) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อและลักษณะของเชื้อรา *M. anisopliae* แสดงไว้ในรูปที่ 3 และ 4

ส่วนเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่แยกจากซากของแมลงที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายตามสภาพธรรมชาติ พบเชื้อราทั้งหมด 8 ไอโซเลท ประกอบด้วยเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 6 ไอโซเลทและเชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 2 ไอโซเลท (ตารางที่ 2 และ 4) สำหรับรูปแสดงตัวอย่างซากของแมลงที่ถูกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเข้าทำลายตามสภาพธรรมชาติแสดงในรูปที่ 5

รูปที่ 1 เขตพื้นที่สามจังหวัดภาคใต้ตอนกลาง (ดาวสีแดง) ที่เก็บตัวอย่างดินและซากของแมลงเพื่อแยกเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง (ที่มา: http://www.agel-center.com)

ตารางที่ 1 สถานที่และพิกัดเก็บตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงในสวนลองกองสามจังหวัดภาคใต้

จังหวัด	สถานที่	พิกัด
นครศรีธรรมราช	พรหมคีรี 1	N 08° 36' 10.89
		E 099° 46' 20.12
	พรหมคีรี 2	N 08° 35' 20.34
		E 099° 45' 09.12
	พรหมคีรี 3	N 08° 29' 38.29
		E 099° 50' 22.56
	ท่าศาลา	N 08° 42' 26.60
		E 099° 48' 25.17
	นบพิตำ 1	N 08° 39' 32.08
		E 099° 47' 23.29
	นบพิตำ 2	N 08° 41' 17.75
		E 099° 48' 13.50
พัทลุง	ป่าบอน 1	N 07° 13' 07.20
		E 100° 04' 42.32
	ป่าบอน 2	N 07° 11' 52.93
		E 100° 04' 25.54
สงขลา	เขาคอหงส์	N 07° 00' 26.94
		E 100° 30' 29.06
	โตนงาช้าง 1	N 06° 58' 34.04
		E 100° 18' 54.39
	โตนงาช้าง 2	N 06° 59' 02.59
		E 100° 17' 55.04
	โตนงาช้าง 3	N 06° 59' 04.97
		E 100° 17' 22.36
	เทพา	N 06° 47' 57.14
		E 100° 56' 52.79

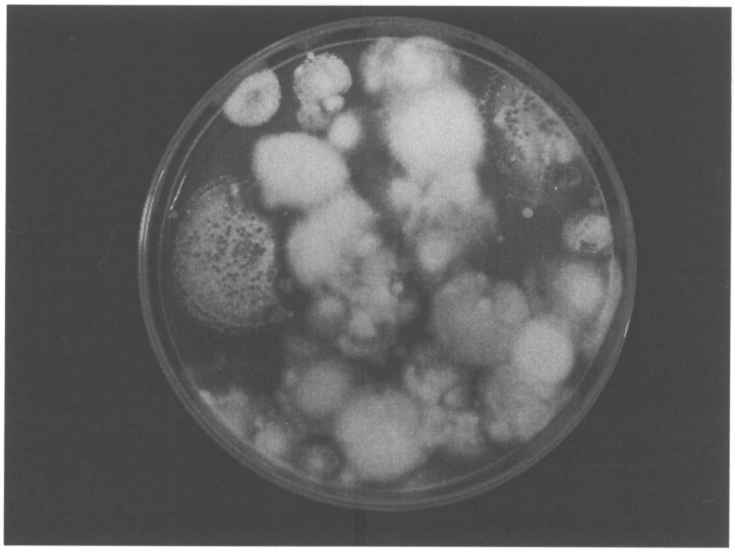


รูปที่ 2 ลักษณะพื้นที่เก็บตัวอย่างดิน (1) พื้นที่ป่า และ (2) พื้นที่เกษตร

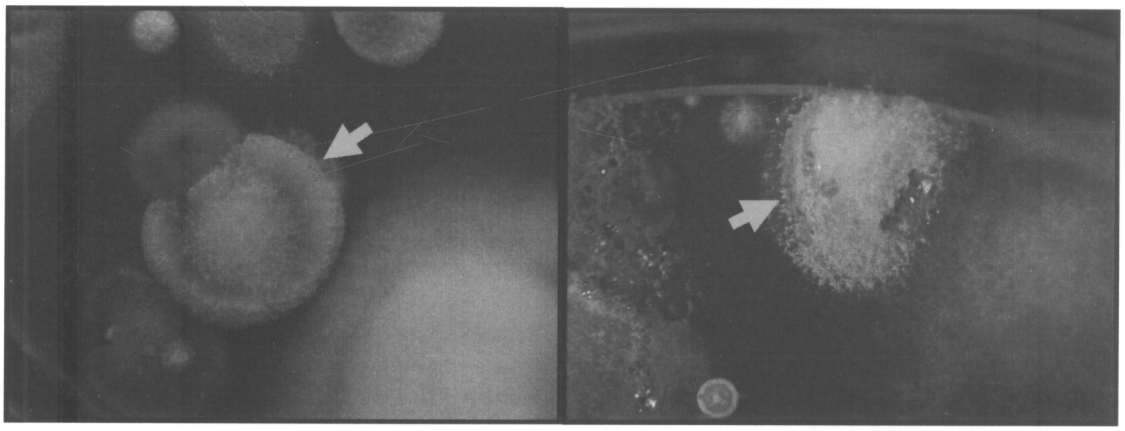
ตารางที่ 2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และความชื้นของดินและจำนวนเชื้อราโรคแมลงที่แยกได้ในแต่ละพื้นที่

จังหวัด	pH ดิน	อุณหภูมิดิน	ความชื้นดิน (%)	เชื้อราสาเหตุโรคของแมลง				รวม	% พบ
				M. anisopliae		*B. bassiana*			
				ดิน	แมลง	ดิน	แมลง		
นครศรีธรรมราช	6.68 ± 0.14	27.67 ± 0.06	6.35 ± 3.70	5	4	-	-	9	13.64
พัทลุง	6.20 ± 0.71	25.20 ± 0.42	4.58 ± 1.35	14	-	-	1	15	22.73
สงขลา	6.32 ± 0.34	27.14 ± 0.34	3.74 ± 0.72	39	2	-	1	42	63.63
รวม				58	6	0	2	66	100.00

สำนักทรัพยากรการเรียนรู้คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร



รูปที่ 3 เชื้อราที่แยกจากตัวอย่างดินบนอาหาร selective media (SDAY + fungicide + antibiotic)



รูปที่ 4 ลักษณะของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (ลูกศรสีแดง) ที่เจริญบนจานอาหาร selective media (SDAY + fungicide + antibiotic)

ตารางที่ 3 รหัสและแหล่งที่มาของเชื้อราโรคแมลง *Metarhium anisopliae* และ *Beauveria bassiana*

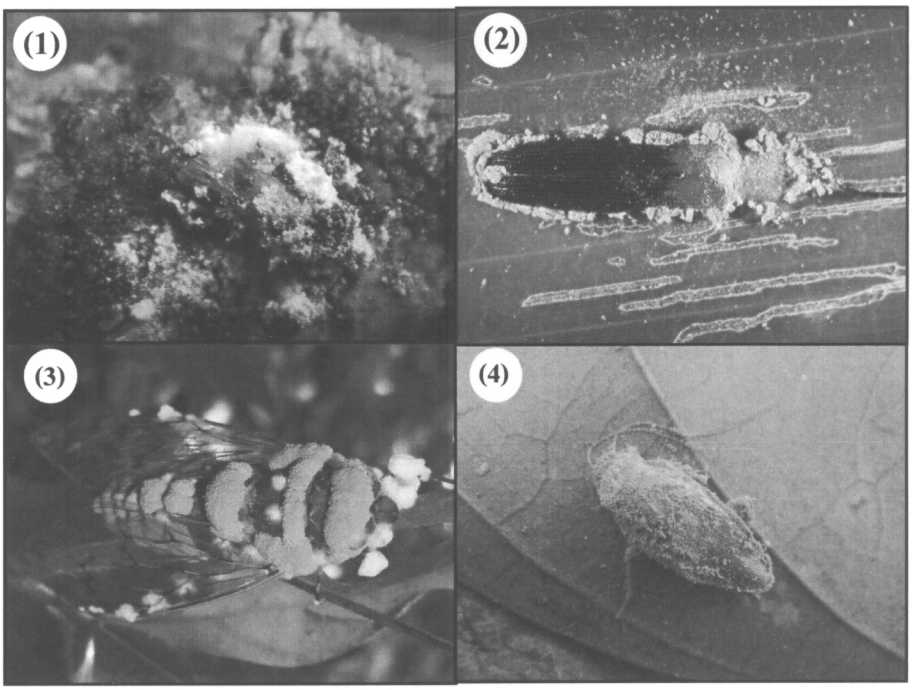
เลขที่	ไอโซเลท	แหล่งที่มา	อำเภอ	จังหวัด
1	PSUM01	*Proreus simulans* Stallen (Dermaptera)	-	สงขลา
2	PSUM02	*Tibicen* sp. (Hemiptera: Cicadidae)	ท่าศาลา	นครศรีธรรมราช
3	PSUM03	*Brontispa longissima* Gestro (Coleoptera: Chrysomelidae)	ท่าศาลา	นครศรีธรรมราช
4	PSUM04	*Brontispa longissima* Gestro (Coleoptera: Chrysomelidae)	ท่าศาลา	นครศรีธรรมราช
5	PSUM05	ดิน	ท่าศาลา	นครศรีธรรมราช
6	PSUM06	*Proreus simulans* Stallen (Dermaptera)	-	สงขลา
7	PSUM07	ดิน	พรหมคีรี	นครศรีธรรมราช
8	PSUM08	ดิน	เทพา	สงขลา
9	PSUM09	ดิน	พรหมคีรี	นครศรีธรรมราช
10	PSUM10	*Pycnoscelus surinamensis* (Linnaeus) (Blaberidae)	พรหมคีรี	นครศรีธรรมราช
11	PSUM11	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
12	PSUM12	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
13	PSUM13	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
14	PSUM14	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
15	PSUM15	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
16	PSUM16	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
17	PSUM17	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
18	PSUM18	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
19	PSUM19	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
20	PSUM20	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
21	PSUM21	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
22	PSUM22	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
23	PSUM23	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
24	PSUM24	ดิน	ป่าบอน	พัทลุง
25	PSUM25	ดิน	พรหมคีรี	นครศรีธรรมราช
26	PSUM26	ดิน	พรหมคีรี	นครศรีธรรมราช
27	PSUM27	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
28	PSUM28	ดิน	เทพา	สงขลา
29	PSUM29	ดิน	เทพา	สงขลา
30	PSUM30	ดิน	เทพา	สงขลา
31	PSUM31	ดิน	เทพา	สงขลา
32	PSUM32	ดิน	เทพา	สงขลา
35	PSUM35	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา

ตารางที่ 3 รหัสและแหล่งที่มาของเชื้อราโรคแมลง *Metarhium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* (ต่อ)

เลขที่	ไอโซเลท	แหล่งที่มา	อำเภอ	จังหวัด
36	PSUM36	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา
37	PSUM37	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา
38	PSUM38	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
39	PSUM39	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
40	PSUM40	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
41	PSUM41	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา
42	PSUM42	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา
43	PSUM43	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา
44	PSUM44	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา
45	PSUM45	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา
46	PSUM46	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา
47	PSUM47	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา
48	PSUM48	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา
49	PSUM49	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา
50	PSUM50	ดิน	เขาคอหงส์	สงขลา
51	PSUM51	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
52	PSUM52	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
53	PSUM53	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
54	PSUM54	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
55	PSUM55	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
56	PSUM56	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
57	PSUM57	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
58	PSUM58	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
59	PSUM59	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
60	PSUM60	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
61	PSUM61	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
62	PSUM62	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
63	PSUM63	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
64	PSUM64	ดิน	โตนงาช้าง	สงขลา
65	PSUB01	*Prasinosima* sp. (Lepidoptera: Pyralidae)	-	สงขลา
66	PSUB02	*Cossus chloratus* Swinhoe (Lepidoptera: Cossidae)	ป่าบอน	พัทลุง

ตารางที่ 4 รหัสและแหล่งที่มาของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงที่แยกได้จากซากของแมลง (PSUM = *Metarhizium anisopliae*; PSUB = *Beauveria bassiana*)

ไอโซเลท	ชนิดของแมลง	จังหวัด
PSUM01	*Proreus simulans* Stallen (Dermaptera)	สงขลา
PSUM02	*Tibicen* sp. (Hemiptera: Cicadidae)	นครศรีธรรมราช
PSUM03	*Brontispa longissima* Gestro (Coleoptera: Chrysomelidae)	นครศรีธรรมราช
PSUM04	*B. longissima*	นครศรีธรรมราช
PSUM06	*P. simulans*	สงขลา
PSUM10	*Pycnoscelus surinamensis* (Linnaeus) (Blaberidae)	นครศรีธรรมราช
PSUB01	*Prasinosima* sp. (Pyralidae: Lepidoptera)	สงขลา
PSUB02	*Cossus chloratus* Swinhoe (Lepidoptera: Cossidae)	พัทลุง



รูปที่ 5 เชื้อราสาเหตุโรคของแมลงที่แยกได้จากซากของแมลงที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายตามสภาพธรรมชาติ (1) *Beauveria bassiana* บนซากของแมลง *Cossus cloratus* (2) *Metarhizium anisopliae* บนซากของแมลง *Brontispa longissima* (3) *M. anisopliae* บนซากของแมลง *Tibicen* sp. และ (4) *M. anisopliae* บนซากของแมลง *Pycnoscelus surinamensis*

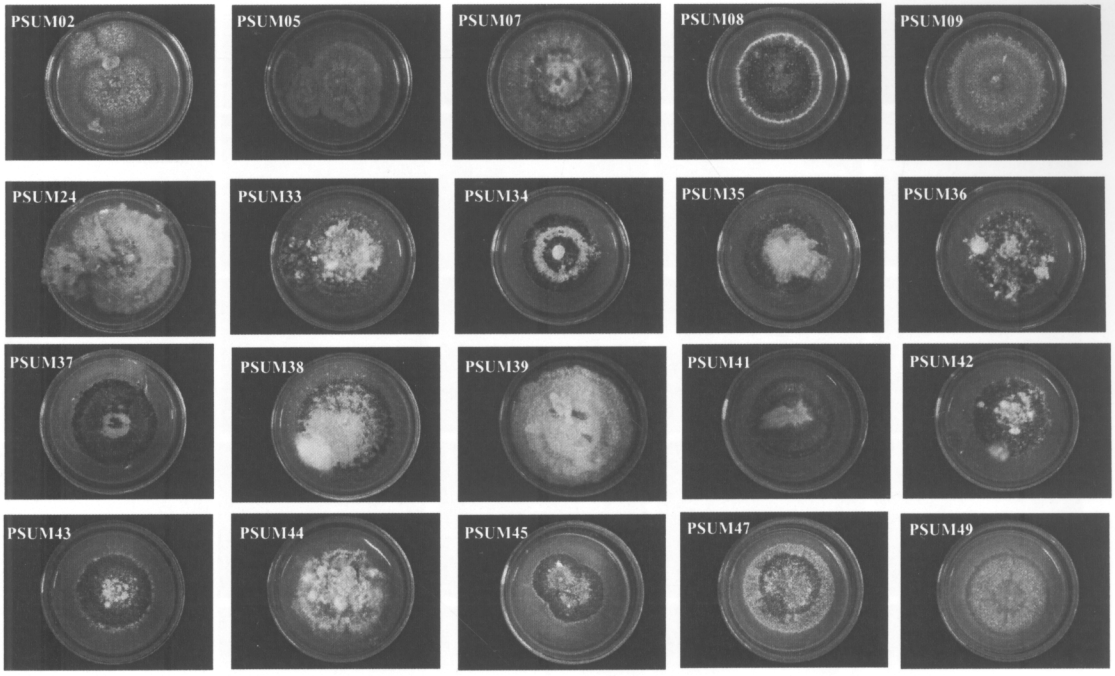
2. การศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับแมลงวันผลไม้และประเมินความรุนแรงของเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่น

เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่แยกได้ทั้งหมดจำนวน 66 ไอโซเลท สามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ตามลักษณะการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY โดยแบ่งออกเป็นกลุ่มที่ 1 คือ กลุ่มที่มีการเจริญของเส้นใยแบนและสร้างสปอร์ได้เป็นจำนวนมาก มีจำนวน 20 ไอโซเลท กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่มีการเจริญของเส้นใยค่อนข้างแบนและสร้างสปอร์ได้จำนวนน้อย มีจำนวน 33 ไอโซเลท กลุ่มที่ 3 กลุ่มที่มีการเจริญของเส้นใยฟูและสร้างสปอร์ค่อนข้างน้อย มีจำนวน 11 ไอโซเลท และกลุ่มที่ 4 คือกลุ่มที่มีการเจริญของเส้นใยแบบฟูละเอียดและสร้างสปอร์ได้เป็นจำนวนมาก มีจำนวน 2 ไอโซเลท กลุ่มที่ 1-3 คือเชื้อรา *M. anisopliae* ส่วนกลุ่มที่ 4 คือเชื้อรา *B. bassiana* (ตารางที่ 5 และรูปที่ 6-8) Tangthirasunun *et al.* (2010) ได้เก็บตัวอย่างเชื้อรา *M. anisopliae* จากพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทย และพบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ที่พบมีความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ปรากฏเป็นอย่างมาก

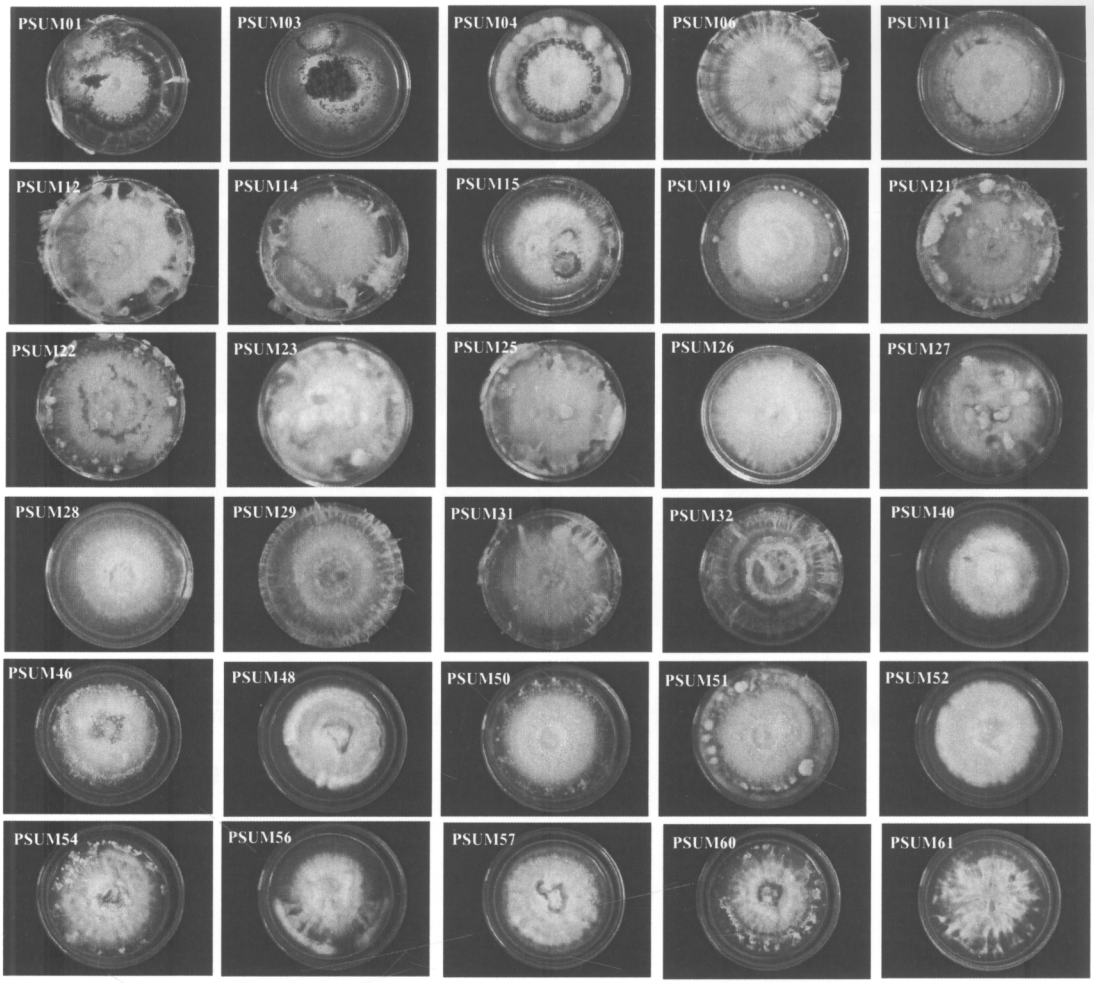
จากการแบ่งเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมดออกเป็น 4 กลุ่ม พบว่าเชื้อรากลุ่มที่ 1 และ 4 มีคุณลักษณะที่เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในการทดสอบกับแมลงวันผลไม้ เพราะมีการสร้างสปอร์บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อได้เป็นจำนวนมาก ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อราทั้งสองกลุ่มมาทดสอบความสามารถในการเกิดโรคและความรุนแรงในตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* จากผลการทดสอบเชื้อราทั้งหมด 22 ไอโซเลท พบว่าเชื้อราทุกไอโซเลทสามารถก่อให้เกิดโรคกับตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *B. cucurbitae* ได้แต่เชื้อราแต่ละไอโซเลทมีความรุนแรงในการเข้าทำลายแมลงวันผลไม้ที่แตกต่างกัน โดยมีระยะเวลาในการเข้าทำลายตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ที่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการายงานของนริศ และ อนุชิต (2551) พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท M1-M4 สามารถก่อให้เกิดโรคกับแมลงวันผลไม้สกุล *B. papaya* ได้ นอกจากนี้เชื้อราดังกล่าวสามารถเข้าทำลายแมลงวันผลไม้สกุลอื่นๆ ได้อีกด้วย เช่น *Cerratitis capitata* (Dimbi *et al.*, 2003), *Anastrepha luden* (Teledo *et al.*, 2006), *B. dorsalis* (Aemprapa, 2007) และ *Rhagoletis indifferens* (Cossentine *et al.*, 2010)

ตารางที่ 5 การแบ่งกลุ่มลักษณะการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (PSUM01-PSUM64) และ *Beauveria bassiana* (PSUB01-PSUB02)

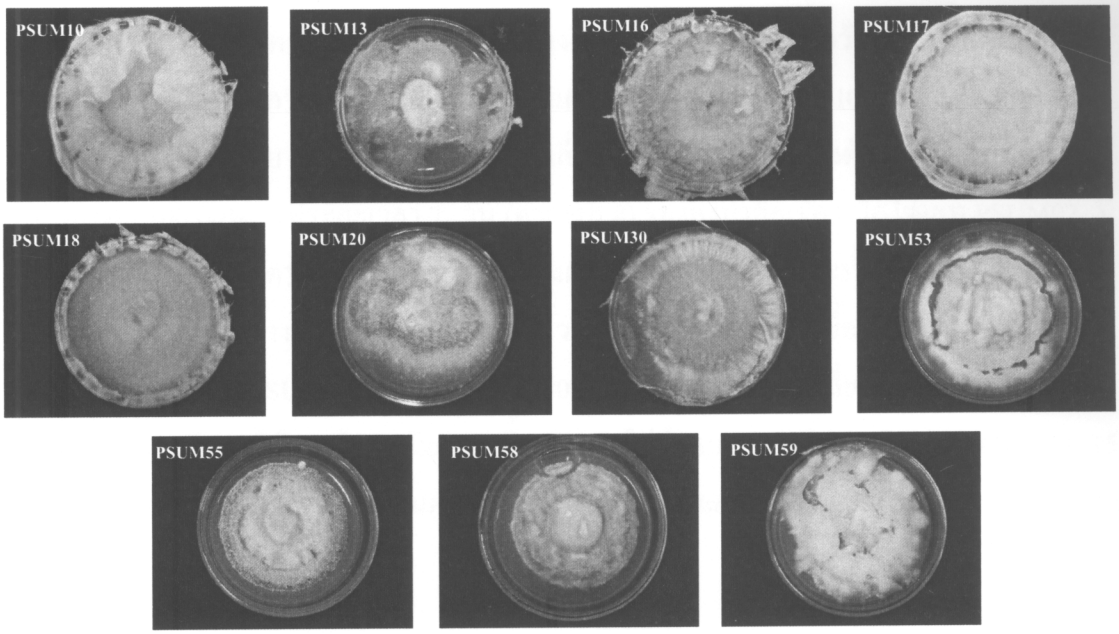
กลุ่ม	จำนวน	ไอโซเลท	ลักษณะการเจริญของเส้นใย	การสร้างสปอร์
1	20	PSUM02, PSUM05, PSUM07, PSUM08, PSUM09, PSUM24, PSUM33, PSUM34, PSUM35, PSUM36, PSUM37, PSUM38, PSUM39, PSUM41, PSUM42, PSUM43, PSUM44, PSUM45, PSUM47, PSUM49	เรียบแบน	สปอร์อัดแน่นและสร้างสปอร์เป็นจำนวนมาก
2	33	PSUM01, PSUM03, PSUM04, PSUM06, PSUM11, PSUM12, PSUM14, PSUM15, PSUM19, PSUM21, PSUM22, PSUM23, PSUM25, PSUM26, PSUM27, PSUM28, PSUM29, PSUM31, PSUM32, PSUM40, PSUM46, PSUM48, PSUM50, PSUM51, PSUM52, PSUM54, PSUM56, PSUM57, PSUM60, PSUM61, PSUM62, PSUM63, PSUM64	เรียบแบนและค่อนข้างแบน	สร้างสปอร์จำนวนน้อย
3	11	PSUM10, PSUM13, PSUM16, PSUM17, PSUM18, PSUM20, PSUM30, PSUM53, PSUM55, PSUM58, PSUM59	ฟูและค่อนข้างฟู	สปอร์ไม่อัดแน่นและสร้างสปอร์จำนวนค่อนข้างมาก
4	2	PSUB01, PSUB02	ฟูละเอียด	สปอร์กลมสีขาวขนาดเล็กและสร้างสปอร์จำนวนมาก



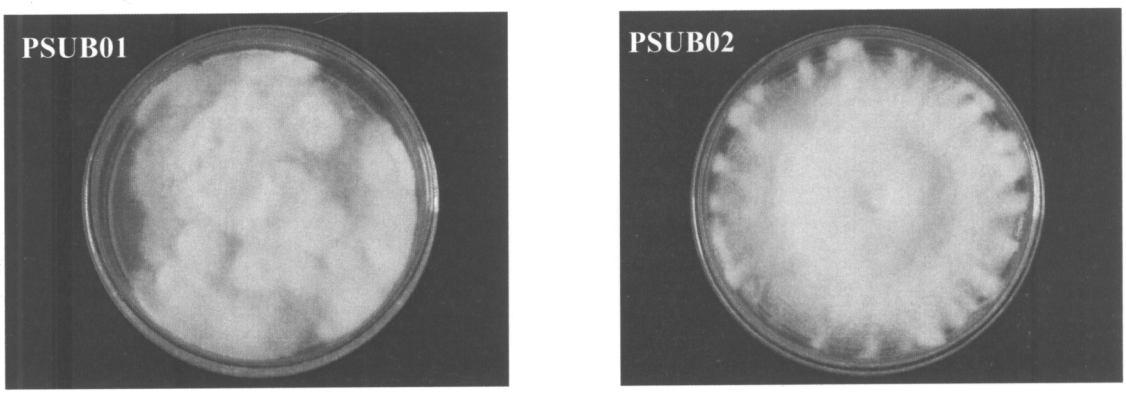
รูปที่ 6 เชื้อรากลุ่มที่ 1 *Metarhizium anisopliae* เส้นใยเรียบแบน สร้างสปอร์อัดแน่นและสร้างเป็นจำนวนมาก



รูปที่ 7 เชื้อรากลุ่มที่ 2 *Metarhizium anisopliae* เส้นใยเรียบแบนและค่อนข้างแบน สร้างสปอร์จำนวนน้อย



รูปที่ 8 เชื้อรากลุ่มที่ 3 *Metarhizium anisopliae* เส้นใยฟู สร้างสปอร์แบบหลวม ไม่อัดแน่น และสปอร์จำนวนน้อยถึงปานกลาง



รูปที่ 9 เชื้อรากลุ่มที่ 4 *Beauveria bassiana* เส้นใยฟูสีขาวละเอียด

เชื้อราไอโซเลท PSUM05 มีความรุนแรงในการเกิดโรคกับแมลงวันผลไม้มากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศผู้และเพศเมีย 100.00 % ที่ระยะเวลา 5 วัน และ 7 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 6-7) ส่วนค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ทั้งสองเพศ 100.00% ที่ระยะเวลา 7 วัน (ตารางที่ 8) รองลงมาคือเชื้อราไอโซเลท PSUM02 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศผู้ เพศเมีย และทั้งสองเพศ 100.00 % ที่ระยะเวลา 7 วัน (ตารางที่ 6-8) ส่วนเชื้อราที่มีความรุนแรงน้อย ได้แก่ เชื้อราไอโซเลท PSUM33, PSUM38, PSUM39, PSUM42, PSUM44, PSUB01 และ PSUB02 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศผู้ เพศเมีย และทั้งสองเพศไม่ถึง 100.00% ในช่วงระยะการทดสอบ 15 วัน (ตารางที่ 6-8) ตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ที่ถูกเชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* เข้าทำลายแสดงไว้ในภาพที่ 10 และ 11

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายและค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน (mean ± S.D.) ของตัวเต็มวัยเพศผู้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยเชื้อราไอโซเลทต่างๆ

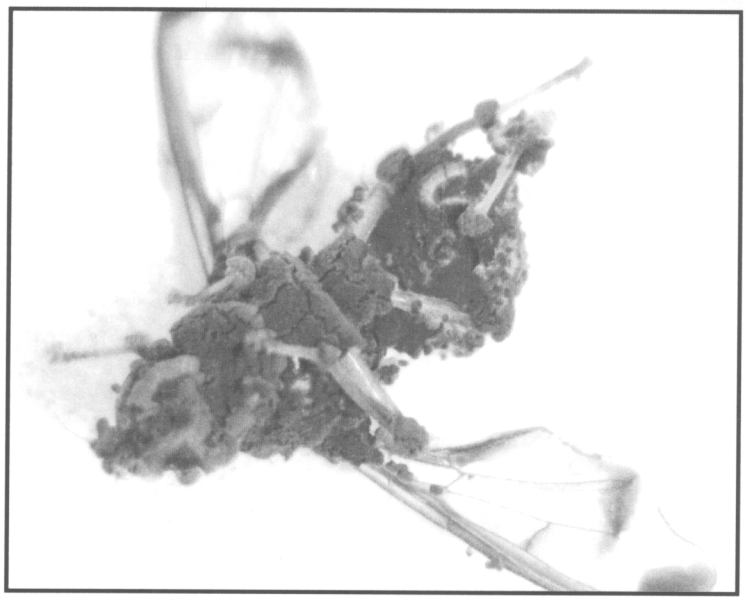
ไอโซเลท	จำนวนวันหลังจากติดเชื้อ				
	3	5	7	10	15
PSUM02	8.00 ± 10.95	92.00 ± 10.95	100.00 ± 0.00	-	-
PSUM05	68.00 ± 26.83	100.00 ± 0.00	-	-	-
PSUM07	4.00 ± 8.94	68.00 ± 22.80	88.00 ± 10.95	96.00 ± 8.94	100.00 ± 0.00
PSUM08	8.00 ± 17.89	56.00 ± 8.94	96.00 ± 8.94	96.00 ± 8.94	100.00 ± 0.00
PSUM09	8.00 ± 10.95	8.00 ± 10.95	16.00 ± 16.73	64.00 ± 21.91	100.00 ± 0.00
PSUM24	8.00 ± 17.89	64.00 ± 40.99	84.00 ± 16.73	92.00 ± 10.95	100.00 ± 0.00
PSUM33	0.00 ± 0.00	8.00 ± 10.95	28.00 ± 17.89	60.00 ± 14.14	-
PSUM34	12.00 ± 26.83	44.00 ± 43.36	64.00 ± 38.47	72.00 ± 41.47	100.00 ± 0.00
PSUM35	4.00 ± 8.94	8.00 ± 10.95	64.00 ± 38.47	100.00 ± 0.00	-
PSUM36	0.00 ± 0.00	16.00 ± 16.73	48.00 ± 17.89	80.00 ± 24.49	100.00 ± 0.00
PSUM37	0.00 ± 0.00	4.00 ± 8.94	52.00 ± 10.95	76.00 ± 8.94	100.00 ± 0.00
PSUM38	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	12.00 ± 10.95	40.00 ± 20.00	-
PSUM39	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	12.00 ± 10.95	28.00 ± 17.89	-
PSUM41	0.00 ± 0.00	44.00 ± 26.08	88.00 ± 17.89	100.00 ± 0.00	-
PSUM42	4.00 ± 8.94	20.00 ± 0.00	48.00 ± 22.80	60.00 ± 20.00	76.00 ± 16.73
PSUM43	0.00 ± 0.00	48.00 ± 10.95	88.00 ± 10.95	100.00 ± 0.00	-
PSUM44	4.00 ± 8.94	20.00 ± 24.49	36.00 ± 29.66	72.00 ± 22.80	-
PSUM45	0.00 ± 0.00	44.00 ± 16.73	80.00 ± 14.14	100.00 ± 0.00	-
PSUM47	12.00 ± 10.95	56.00 ± 26.08	96.00 ± 8.94	100.00 ± 0.00	-
PSUM49	0.00 ± 0.00	16.00 ± 8.94	52.00 ± 17.89	84.00 ± 26.08	100.00 ± 0.00
PSUB01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	20.00 ± 14.14	32.00 ± 17.89
PSUB02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	36.00 ± 26.08	56.00 ± 16.73

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± S.D.) ของตัวเต็มวัยเพศเมียแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยเชื้อราไอโซเลทต่างๆ

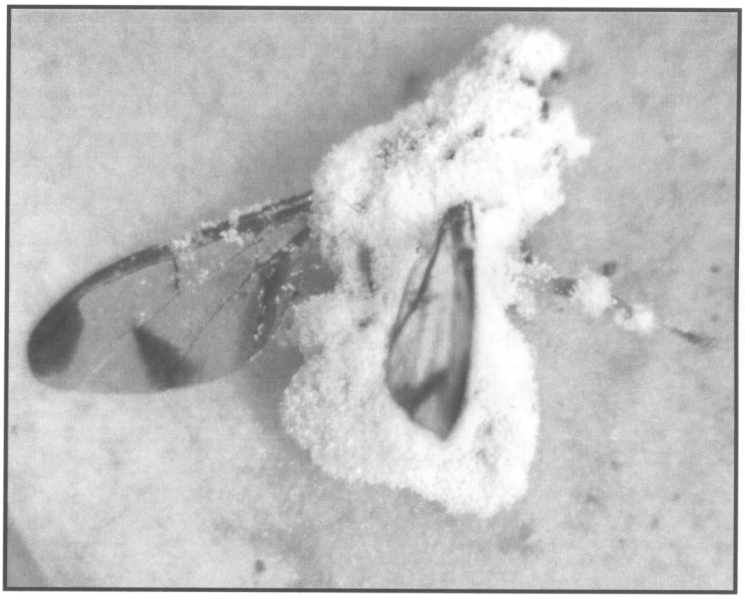
ไอโซเลท	จำนวนวันหลังจากติดเชื้อ				
	3	5	7	10	15
PSUM02	0.00 ± 0.00	92.00 ± 10.95	100.00 ± 0.00	-	-
PSUM05	16.00 ± 16.73	96.00 ± 8.94	100.00 ± 0.00	-	-
PSUM07	4.00 ± 8.94	80.00 ± 14.14	96.00 ± 8.94	100.00 ± 0.00	-
PSUM08	0.00 ± 0.00	36.00 ± 38.47	100.00 ± 0.00	-	-
PSUM09	4.00 ± 8.94	4.00 ± 8.94	4.00 ± 8.94	36.00 ± 26.08	72.00 ± 38.99
PSUM24	16.00 ± 8.94	48.00 ± 30.33	68.00 ± 26.83	80.00 ± 24.49	100.00 ± 0.00
PSUM33	0.00 ± 0.00	12.00 ± 10.95	52.00 ± 30.33	60.00 ± 31.62	-
PSUM34	16.00 ± 8.94	48.00 ± 30.33	68.00 ± 26.83	76.00 ± 21.91	100.00 ± 0.00
PSUM35	0.00 ± 0.00	8.00 ± 10.95	84.00 ± 16.73	100.00 ± 0.00	-
PSUM36	0.00 ± 0.00	20.00 ± 14.14	44.00 ± 26.08	72.00 ± 33.47	100.00 ± 0.00
PSUM37	4.00 ± 8.94	4.00 ± 8.94	40.00 ± 24.49	92.00 ± 10.95	100.00 ± 0.00
PSUM38	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	20.00 ± 24.49	72.00 ± 17.89	-
PSUM39	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	4.00 ± 8.94	40.00 ± 24.49	-
PSUM41	4.00 ± 8.94	32.00 ± 17.89	88.00 ± 17.89	100.00 ± 0.00	-
PSUM42	4.00 ± 8.94	20.00 ± 28.28	36.00 ± 35.78	68.00 ± 26.83	68.00 ± 26.83
PSUM43	0.00 ± 0.00	36.00 ± 21.91	76.00 ± 21.91	100.00 ± 0.00	-
PSUM44	4.00 ± 8.94	16.00 ± 16.73	36.00 ± 21.91	64.00 ± 33.78	-
PSUM45	0.00 ± 0.00	44.00 ± 29.66	72.00 ± 33.47	92.00 ± 10.95	100.00 ± 0.00
PSUM47	16.00 ± 16.73	48.00 ± 30.33	88.00 ± 17.89	100.00 ± 0.00	-
PSUM49	0.00 ± 0.00	24.00 ± 8.94	72.00 ± 17.89	92.00 ± 10.95	100.00 ± 0.00
PSUB01	0.00 ± 0.00	4.00 ± 8.94	12.00 ± 10.95	24.00 ± 8.94	28.00 ± 8.94
PSUB02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	28.00 ± 22.80	48.00 ± 30.33

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± S.D.) ของตัวเต็มวัยทั้งสองเพศของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยเชื้อราไอโซเลทต่างๆ

ไอโซเลท	จำนวนวันหลังจากติดเชื้อ (วัน)				
	3	5	7	10	15
PSUM02	4.00 ± 5.48	92.00 ± 8.37	100.00 ± 0.00	-	-
PSUM05	42.00 ± 21.68	98.00 ± 4.47	100.00 ± 0.00	-	-
PSUM07	4.00 ± 5.48	74.00 ± 15.17	92.00 ± 4.47	98.00 ± 4.47	100.00 ± 0.00
PSUM08	4.00 ± 8.94	46.00 ± 20.74	98.00 ± 4.47	98.00 ± 4.47	100.00 ± 0.00
PSUM09	6.00 ± 8.94	6.00 ± 8.94	10.00 ± 10.00	50.00 ± 22.36	78.00 ± 30.33
PSUM24	12.00 ± 10.95	56.00 ± 33.62	76.00 ± 16.73	86.00 ± 11.40	100.00 ± 0.00
PSUM33	0.00 ± 0.00	10.00 ± 10.00	40.00 ± 21.21	60.00 ± 22.36	-
PSUM34	14.00 ± 15.17	56.00 ± 33.62	76.00 ± 16.73	84.00 ± 8.94	100.00 ± 0.00
PSUM35	2.00 ± 4.47	10.00 ± 10.00	80.00 ± 7.07	100.00 ± 0.00	-
PSUM36	0.00 ± 0.00	18.00 ± 14.83	46.00 ± 11.40	76.00 ± 20.74	100.00 ± 0.00
PSUM37	2.00 ± 4.47	4.00 ± 5.48	46.00 ± 11.40	84.00 ± 5.48	100.00 ± 0.00
PSUM38	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	16.00 ± 16.73	56.00 ± 15.17	-
PSUM39	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	8.00 ± 8.37	34.00 ± 15.17	-
PSUM41	2.00 ± 4.47	38.00 ± 19.24	88.00 ± 13.04	100.00 ± 0.00	-
PSUM42	4.00 ± 5.48	20.00 ± 14.14	42.00 ± 25.88	64.00 ± 16.73	72.00 ± 8.37
PSUM43	0.00 ± 0.00	42.00 ± 13.04	82.00 ± 13.04	100.00 ± 0.00	-
PSUM44	4.00 ± 8.94	18.00 ± 20.49	36.00 ± 25.10	68.00 ± 27.75	-
PSUM45	0.00 ± 0.00	44.00 ± 15.17	76.00 ± 21.91	96.00 ± 5.48	100.00 ± 0.00
PSUM47	14.00 ± 13.42	52.00 ± 22.80	92.00 ± 13.04	100.00 ± 0.00	-
PSUM49	0.00 ± 0.00	20.00 ± 7.07	62.00 ± 4.47	88.00 ± 10.95	100.00 ± 0.00
PSUB01	0.00 ± 0.00	2.00 ± 4.47	6.00 ± 5.48	22.00 ± 4.47	30.00 ± 10.00
PSUB02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	32.00 ± 19.24	52.00 ± 14.83



รูปที่ 10 ตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่ถูกเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เข้าทำลาย



รูปที่ 11 ตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่ถูกเชื้อรา *Beauveria bassiana* เข้าทำลาย

3. การศึกษาวิธีการปลูกเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นสู่แมลงวันผลไม้และการเกาะติดของสปอร์เชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นบนตัวแมลงวันผลไม้

3.1 การศึกษาวิธีการปลูกเชื้อแบบต่างๆ และระยะเวลาการเข้าทำลายแมลงวันผลไม้ของเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่น

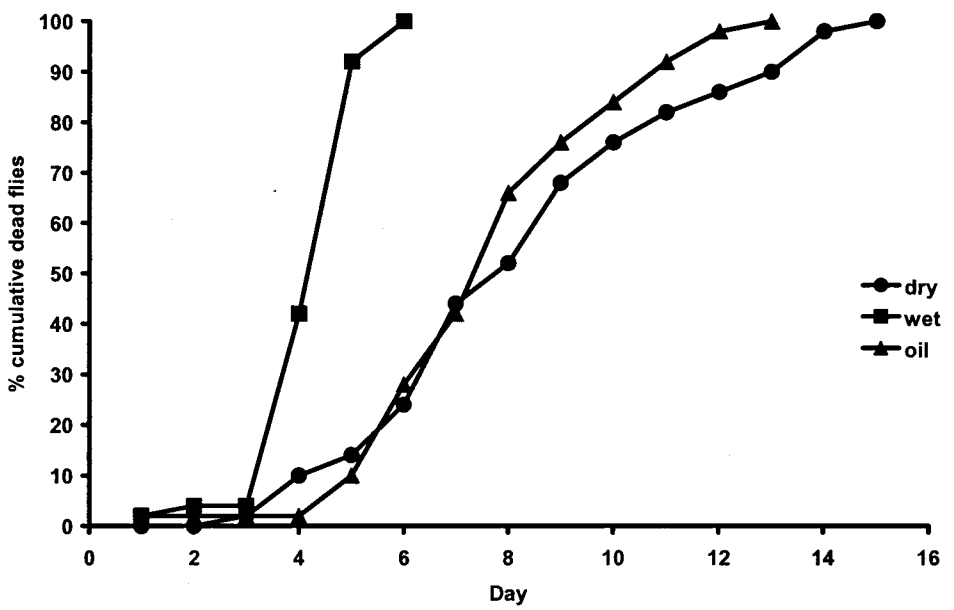
การทดสอบรูปแบบของสปอร์ 3 รูปแบบ คือ สปอร์แห้ง สปอร์แขวนลอยในน้ำ และสปอร์แขวนลอยในน้ำมัน โดยใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท PSUM05 เป็นต้นแบบในการศึกษา ต่อประสิทธิภาพการเข้าทำลายตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *B. cucurbitae* พบว่าสปอร์แขวนลอยในน้ำมีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยใช้ระยะเวลาในการเข้าทำลายตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ทั้งสองเพศน้อยที่สุด (5.60 ± 0.55 วัน) และแตกต่างจากสปอร์รูปแบบอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติยิ่ง ($P<0.01$) รองลงมคือสปอร์แขวนลอยในน้ำมัน (11.80 ± 0.84 วัน) และสปอร์แห้ง (13.80 ± 1.10 วัน) (ตารางที่ 9) จากการศึกษาของ Hernadez-Velazquez *et al.* (2000) พบว่าสปอร์แขวนลอยในน้ำมันจะไปลดประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราลง แต่น้ำมันจะช่วยคงความมีชีวิตของสปอร์เชื้อราได้ยาวนานกว่า ในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นในอากาศต่ำ (Bateman *et al.*, 1993; Bateman and Alves, 2000 และ Hernadez-Velazquez *et al.*, 2000)

ตารางที่ 9 ระยะเวลาการตายของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 รูปแบบต่างๆ

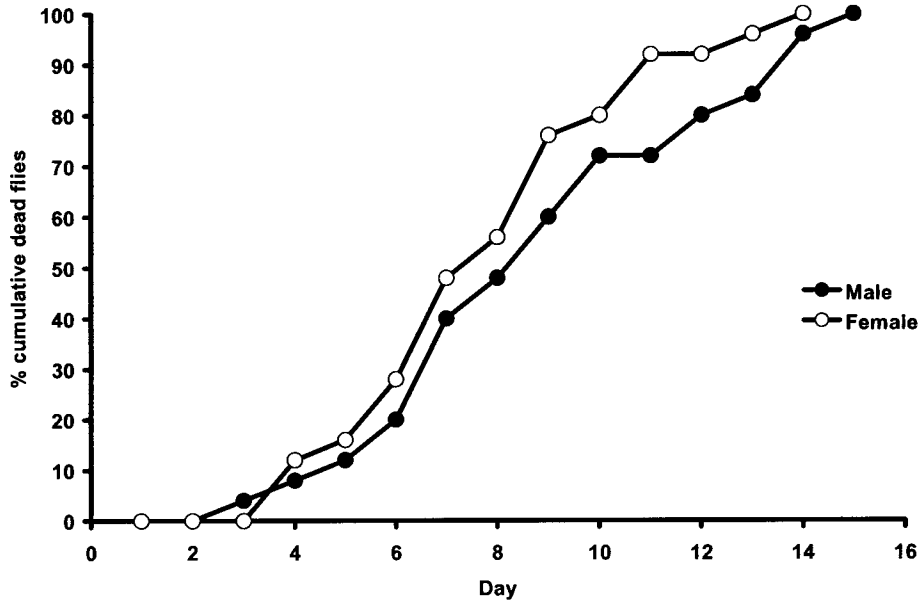
รูปแบบสปอร์	ระยะเวลาการตาย (วัน)		
	เพศผู้	เพศเมีย	รวม
สปอร์แห้ง	14.00 ± 0.71[a]	11.60 ± 1.95[a]	13.80 ± 1.10[a]
สปอร์ในน้ำ	5.20 ± 0.84[c]	5.40 ± 0.55[b]	5.60 ± 0.55[c]
สปอร์ในน้ำมัน	10.40 ± 1.52[b]	11.60 ± 1.14[a]	11.80 ± 0.84[b]
F-test	**	**	**

หมายเหตุ: ** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

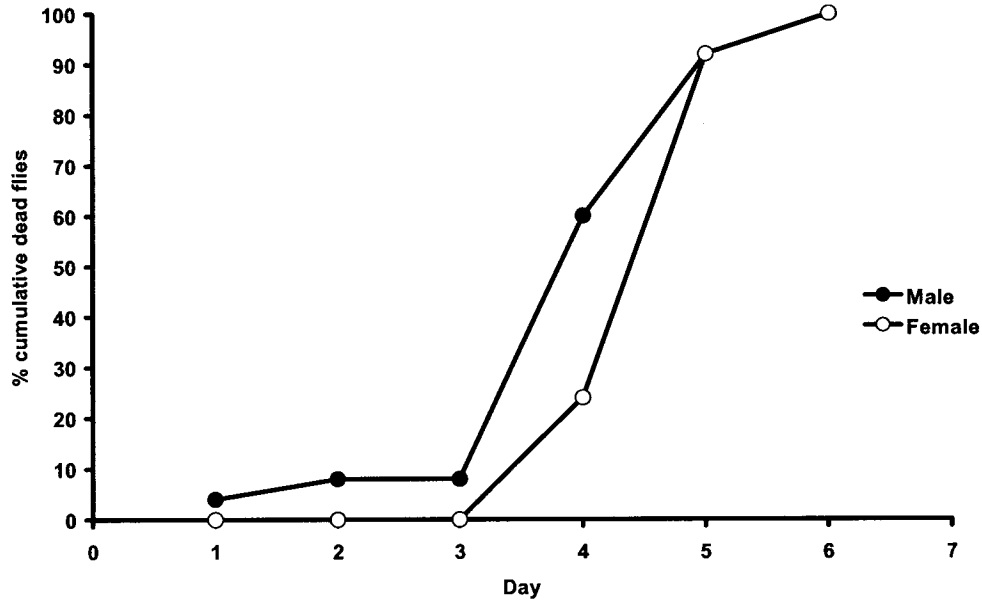
เมื่อพิจารณาอัตราการตายสะสมของแมลงวันผลไม้ *B. cucurbitae* ที่คลุกด้วยสปอร์ของเชื้อรารูปแบบต่างๆ พบว่าตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ที่คลุกด้วยสปอร์แขวนลอยในน้ำถูกเชื้อราเข้าทำลาย 100.00% ที่ระยะเวลา 6 วัน ส่วนสปอร์สปอร์แขวนลอยในน้ำมันและสปอร์แห้ง ตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ถูกเข้าทำลาย 100.00% ที่ระยะเวลา 13 และ 15 วัน ตามลำดับ (รูปที่ 12) เมื่อพิจารณาแยกเพศ (เพศผู้และเพศเมีย) ต่ออัตราการตายสะสมของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อราโรคแมลงทั้ง 3 รูปแบบ พบว่าอัตราการตายสะสมของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ทั้งสองเพศไม่แตกต่างกัน โดยมีแนวโน้มของอัตราการตายที่คล้ายคลึงกัน (รูปที่ 13-15)



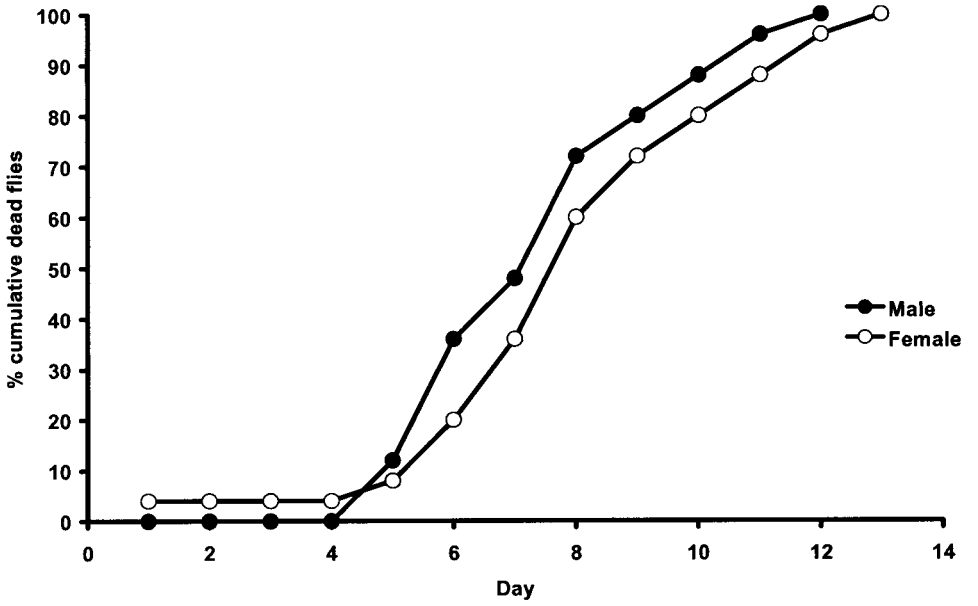
รูปที่ 12 อัตราการตายสะสมตัวเต็มวัยทั้งสองเพศของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 รูปแบบต่างๆ



รูปที่ 13 อัตราการตายสะสมตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 แบบแห้ง (dry spore)



รูปที่ 14 อัตราการตายสะสมตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 แบบเปียก (wet spore)



รูปที่ 15 อัตราการตายสะสมตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 แบบน้ำมัน (oil spore)

เมื่อคำนวณค่า LT_{50} และ LT_{90} ของสปอร์ทั้ง 3 รูปแบบ พบว่าตัวเต็มวัยทั้งสองเพศของแมลงวันผลไม้ที่คลุกด้วยสปอร์แขวนลอยในน้ำมีค่า LT_{50} (3.85 วัน) และ LT_{90} (5.62 วัน) น้อยที่สุด รองลงมาคือสปอร์แขวนลอยในน้ำมัน (LT_{50} = 6.95 วัน และ LT_{90} = 11.32 วัน) และสปอร์แห้ง (LT_{50} = 7.48 วัน และ LT_{90} = 12.44 วัน) (ตารางที่ 10) แต่จากการทดลองของ Caston (2008) รายงานว่าสปอร์แขวนลอยในน้ำมันจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเข้าทำลายด้วงดำข้าวโพด (black maize beetle, *Heteronychus licas*) ได้ดีในอุณหภูมิต่ำ (15 องศาเซลเซียส) แต่ถ้านำมาใช้ในสภาพอุณหภูมิภายนอกปกติ (28 องศาเซลเซียส) ประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงจะไม่แตกต่างจากสปอร์แขวนลอยในน้ำ นอกจากนี้สปอร์แขวนลอยในน้ำมันยังมีค่า LT_{50} ต่ำกว่าสปอร์แขวนลอยในน้ำ เนื่องจากผนังลำตัวของแมลงประกอบไปด้วยไขมันและแว็กซ์ที่มีคุณสมบัติเป็น hydrophobic ดังนั้นน้ำมันจะช่วยในการเกาะติดสปอร์เชื้อราบนผนังลำตัวของแมลงได้ดีกว่าน้ำ (Prior *et al.*, 1988) แต่ในการทดลองนี้พบว่าสปอร์แขวนลอยในน้ำมันจะใช้ระยะเวลาในการฆ่าแมลงวันผลไม้มากกว่าสปอร์แขวนลอยในน้ำ อาจจะเนื่องมาจากการงอกของสปอร์ในน้ำมันจะใช้ระยะเวลานานกว่าการงอกของสปอร์ในน้ำ จึงเป็นสาเหตุของการใช้ระยะเวลาในการเข้าทำลายแมลงวันผลไม้นาน

ตารางที่ 10 ค่า LT_{50} และ LT_{90} (วัน) ของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 รูปแบบต่างๆ

รูปแบบสปอร์	เพศผู้		เพศเมีย		รวม	
	LT_{50}	LT_{90}	LT_{50}	LT_{90}	LT_{50}	LT_{90}
สปอร์แห้ง	7.94	13.76	7.09	11.24	7.48	12.44
สปอร์ในน้ำ	3.50	5.65	4.27	5.12	3.85	5.62
สปอร์ในน้ำมัน	6.95	9.73	7.09	12.96	6.95	11.32

3.2 การศึกษาการเกาะติดของสปอร์ของเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นบนแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการปลูกเชื้อแบบต่างๆ

จำนวนสปอร์ที่ติดบนลำตัวตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้หลังจากการคลุกด้วยเชื้อรารูปแบบต่างๆ พบว่าหลังจากการคลุกเชื้อราของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้แล้วทำการตรวจนับสปอร์เชื้อราที่ติดบนลำตัวที่เวลา 0 ชั่วโมง สปอร์แห้งและสปอร์แขวนลอยในน้ำมีจำนวนสปอร์ของเชื้อราที่ติดบนลำตัวของแมลงวันผลไม้เป็นจำนวนมาก ($3.6\text{-}3.8 \times 10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร) ซึ่งแตกต่างจากสปอร์แขวนลอยในน้ำมัน (4.2×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติยิ่ง ($P<0.01$) ส่วนที่เวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ตรวจไม่พบสปอร์เชื้อราที่ติดบนลำตัวของแมลงที่นำมาแขวนลอยในน้ำ เพราะอาจมีสปอร์จำนวนน้อยกว่า 1×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร จนไม่สามารถตรวจพบได้ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 จำนวนสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM05 บนลำตัวตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อราที่ช่วงเวลาต่างๆ (ชั่วโมง)

รูปแบบสปอร์	จำนวนสปอร์บนลำตัวแมลง (10^5 spore/ml)			
	0	12	24	48
สปอร์แห้ง	38.70 ± 22.45^a	nd	nd	nd
สปอร์ในน้ำ	36.60 ± 11.73^a	nd	nd	nd
สปอร์ในน้ำมัน	0.42 ± 22.77^b	nd	nd	nd
F-test	**			

หมายเหตุ: nd = พบสปอร์เชื้อราน้อยกว่า 1×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ; ** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

สรุปผลการทดลอง

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจากดินและซากของแมลงที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายตามสภาพธรรมชาติในพื้นที่ป่าและพื้นที่เกษตรของเขตสามจังหวัดภาคใต้ตอนกลาง ได้แก่ นครศรีธรรมราช พัทลุง และสงขลา พบเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงทั้งหมด 66 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 64 ไอโซเลท และเชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 2 ไอโซเลท ค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH) และความชื้นของดิน มีผลต่อการพบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจากดิน โดยดินที่มีค่า pH และความชื้นที่ต่ำ มีแนวโน้มการพบเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงได้มากกว่าดินที่มีค่า pH และความชื้นในดินที่สูง

ลักษณะการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *M. anisopliae* ของกลุ่มที่ 1 เป็นเชื้อราที่เหมาะสมนำมาใช้ในการทดสอบต่อความสามารถในการเข้าทำลายตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ เพราะเชื้อรากลุ่มดังกล่าวสร้างสปอร์ได้เป็นจำนวนมาก และหนาแน่นกว่าเชื้อราในกลุ่มอื่นๆ

ความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ เชื้อราทุกไอโซเลท สามารถก่อให้เกิดโรคกับแมลงได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท PSUM05 มีความรุนแรงมากที่สุด ส่วนเชื้อรา *B. bassiana* ทั้งสองไอโซเลท (PSUB01 และ PSUB02) มีความรุนแรงน้อยที่สุด

รูปแบบของสปอร์ต่อประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง พบว่าสปอร์แขวนลอยในน้ำมีประสิทธิภาพการเข้าทำลายตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้มากที่สุด โดยให้ค่า LT_{50} และ LT_{90} ต่ำที่สุด แมลงวันผลไม้ที่คลุกด้วยสปอร์แห้งและสปอร์แขวนลอยในน้ำที่เวลา 0 ชั่วโมงหลังจากการคลุกเชื้อ พบสปอร์เชื้อราบนลำตัวของแมลงมากกว่าสปอร์เชื้อราแขวนลอยในน้ำมัน ส่วนที่เวลา 12-48 ชั่วโมง มีจำนวนสปอร์น้อยกว่า 1×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร

เอกสารอ้างอิง

ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2533. โรควิทยาของแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 132-160.

นริศ ท้าวจันทร์ และ อนุชิต ชินาจริยวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพการควบคุมของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (พิเศษ) 39(3): 21-25.

นริศ ท้าวจันทร์ อนุชิต ชินาจริยวงศ์ และ วิวัฒน์ เสือสะอาด. 2554. ผลของเชื้อราโรคแมลง *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ต่อพฤติกรรมการผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera papayae* (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (ฉบับพิเศษ) 42(3/1): 339-342.

มลิวัลย์ ปันยารชุน. 2534. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. เอกสารวิชาการ. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 167-181.

วิสุทธิ์ ใบไม้ แสน ติกวัฒนานนท์ รัตนา ปรมาคม และ Grote, P.J. 2539. การศึกษาพันธุศาสตร์เชิงประชากรและพฤติกรรมการผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้เพื่อการควบคุมจำนวนประชากร. รายงานการวิจัย พัฒนาและวิศวกรรมฉบับสมบูรณ์. รท. 01-35-005. 144 หน้า.

Aemprapa, S. 2007. Entomopathogenic fungi screening against fruit fly in Thailand. KMIT Science and Technology 7(S2): 122-126.

Alcantara-Licudine, J.P., Cunningham, R.T., Liquido, N.J., McQuate, G.T. and Li, Q.X. 1999. Dissipation of phloxine B and uranine in protein bait sprayed in a coffee field for the suppression of Mediterranean fruit fly. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 62: 344-351.

Allwood, A.J., Chinajariyawong, A., Drew, R.A.I., Hamacek, E.L., Hancock, D.L., Hengsawad, C., Jinapin, J.C., Jirasurat, M., Kong Krong, C., Kritsaneepaiboon, S., Leong, C.T.S., and Vijaysegaran, S. 1999. Host plant records for fruit flies (Diptera: Tephritidae) in South-East Asia. The Raffles Bulletin of Zoology 7: 1-99.

Bateman, R.P. and Alves, R.T. 2000. Delivery systems for mycoinsecticides using oil-based formulations. Aspects of Applied Biology 57: 163-170.

Bateman, R.P., Carey, M., Moore, D. and Prior, C. 1993. The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to desert locusts at low humidities. Annals of Applied Biology 122(1): 145-152.

Carroll, L.E., White, I.M., Freidberg, A., Norrbom, A.L., Dallwitz, M.L. and Thompson, F.C. 2002. Pest Fruit Flies of the World: Identification, Description, Illustrations and Information Retrieval. Version 8th. Retrieved September 12, 2005, from http://www.sl.barc.gov/Diptera/tephritidae/pest/adults/www/intrto.htm.

Castillo, M.A., Moya, P., Hernandez, E. and Primo-Yufera, E. 2000. Susceptibility of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) to entomopathogenic fungi and their extracts. Biological Control 19: 274-282.

Caston, M. 2008. The efficacy of two isolates of *Metarhizium anisopliae* (Metschin) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against the adults of the black maize beetle *Heteronychus licas* Klug (Coleoptera: Scarabidae) under laboratory conditions. African Journal of Agricultural Research 3(4): 259-265.

Clarke, A.R., Allwood, A., Chinajariyawong, A., Drew, R.A.I., Hengsawad, C., Jirasurat, M., Kong Krong, C., Kritsaneepaiboon, S. and Vijaysegaran, S. 2001. Seasonal abundance and host use patterns of seven *Bactrocera* Macquart species (Diptera; Tephritidae) in Thailand and Malaysia. The Raffles Bulletin of Zoology 49: 207-220.

Clarkson, J.M. and Charnley, A.K. 1996. New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. Trends in Microbiology 4(5): 197-203.

Cossentine, J., Thistlewood, H., Goettel, M. and Jaronski, S. 2010. Susceptibility of preimaginal western cherry fruit fly, *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) to *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin Clavicipitaceae (Hypocreales). Journal of Invertebrate Pathology 104: 105-109.

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*. Biological Control 50: 111-116.

Dimbi, S., Maniania, N.K., Luk, S.A., Ekesi, S. and Mueke, J.K. 2003. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin and *Beaveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, to three adult fruit fly species: *Ceratitis capitata* (Weidemann), *C. rosa* var. *fasciventris* Karsch and *C. cosyra* (Walker) (Diptera: Tephritidae). Mycopathologia 156: 375-382.

Drew, R.A.I. 2001. Fruit Flies-Lessons in Research and Politics. Professorial Lecture. Tropical Fruit Fly Research Group, Australian School of Environmental Studies. Griffith University.

Economopoulus, A.P. and Haniotakis, G.E. 1994. Advances in attractant and trapping technologies for Tephritids, pp. 57-66. *In*: Calkins, C.O., Klassen, W. and Liedo, P. (eds.) Fruit Flies and the Sterile Insect Technique. CRC Press, Florida. 258 pp.

Ekesi, S., Dimbi, S. and Maniania, N.K. 2007. The role of entomopathogenic fungi in the integrated management of tephritid fruit flies (Diptera: Tephritidae) with emphasis on species occurring in Africa. *In*: Ekesi, S. and Maniania, N.K. (eds.). Use of Entomopathogenic Fungi in Biological Pest Management. Research SignPost, Kerala, pp. 239-274.

Ekesi, S., Maniania, N.K. and Lux, S.A. 2002. Mortality in three African tephritid fruit fly puparia and adults caused by the entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. Biocontrol Science and Technology 12: 7-17.

Furlong, M.J. and Pell, J.K. 2001. Horizontal transmission of entomopathogenic fungi by the diamondback moth. Biological Control 22: 288-299.

Hedstrom, I. and Monge-Najera, J. 1998. Is sexually transmitted fungal infection evidence for size-related mating success in Neotropical guava fruit flies? Revista de Biological Tropical 46: 1131-1134.

Hegedus, D.D. and Khachatourians, G.G. 1995. The impact of biotechnology on hyphomycetes fungal insect biocontrol agents. Biotechnology Advances 13(9): 455-490.

Hernadez-Velazquez, V.M., Berlanga-Padilla, A.M. and Barrientos-Lozano, L. 2000. Vegetable and Mineral Oil Formulations of Metarhizium anisopliae var. acridum to Control the Central American Locust (Schistocerca piceifrons piceifrons Walker) (Orthoptera: Acrididae). Journal of Orthoptera Research 9: 223-227.

Iwahashi, O. 1999. Distinguishing between the two sympatric species *Bactrocera carambolae* and *B. papayae* (Diptera: Tephritidae) base on aedeagal length. Entomological Society of America 92(5): 639-643.

Jang, E.B. and Light, D.M. 1996. Olfactory semiochemicals of Tephritidae, pp. 73-90. *In*: McPheron, B.A. and Steak, G.J. (eds.) Fruit Fly Pests. St. Lucie Press, Florida. 586 pp.

Klassen, W., Lindquist, D. A. and Buyckx, E.J. 1994. Overview of the joint FAO/IAEA division's involvement in fruit sterile insect technique programs, pp. 3-26. *In*: Calkins, C.O., Klassen, W. and Liedo, P. (eds.) Fruit Flies and the Sterile Insect Technique: CRC Press, Florida. 258 pp.

Klein, M.G. and Lacey, L.A. 1999. An attractant trap for autodissemination of entomopathogenic fungi into populations of the Japanese beetle *Popillia laponica* (Coleoptera: Scarabaeidae). Biocontrol Science and Technology 9: 151-158.

Klingen, I., Eilenberg, J. and Meadow, R. 2002. Effects of farming system, field margins and bait insect on the occurrence of insect pathogenic fungi in soils. Agricultural Ecosystems and Environment 91: 191-198.

Lacey, L.A., Frutos, R., Kaya, H.K. and Vails, P. 2001. Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future?. Biological Control 21: 230-248.

Landolt, P.J. and Quilici, S. 1996. Overview of research on the behavior of fruit flies, pp. 19-26. *In*: McPheron, B.A. and Steak, G.J. (eds.) Fruit Fly Pests: St. Lucie Press, Florida. 586 pp.

Lezama-Gutierrez, R., Trujillo-de la Luz, A., Molina-Ochoa, J., Rebolledo-Dominguez, O., Pescador, A.R., Lopez-Edwards, M. and Aluja, M. 2000. Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae): Laboratory and field trials. Journal of Economic Entomology 93: 1080-1084.

Li, D.P. and Holdom, D.G. 1993. Efect of soil matric potential on sporulation and conidial survival of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Journal of Invertebrate Pathology 62: 273-277.

Luangsa-ard, J.J., Tasanathai, K, Mongkolsamrit, S. and Hywel-Jones, N.L. 2007. Atlas of Invertebrate-Pathogenic Fungi of Thailand, vol. 1. NSTDA publication. Themma Group Co., Ltd. Bangkok 82 p.

Luangsa-ard, J.J., Tasanathai, K, Mongkolsamrit, S. and Hywel-Jones, N.L. 2009. Atlas of Invertebrate-Pathogenic Fungi of Thailand, vol. 2. NSTDA publication. Themma Group Co., Ltd. Bangkok 88 p.

Messing, R. 1999. Managing fruit flies on farms in Hawaii. Insect Pests Series IP-4 Cooperative Extension Service. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii, Honolulu.

Norrbom, A.J. 2004. Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) Economic Importance. Retrieved September 12, 2005, from http://www.sel.barc.usda.gov/diptera/ tephriti/TephEcIm.htm.

Peng, G., Wang, Z., Yin, Y., Zeng, D. and Xia, Y. 2008. Field trial of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Ascomycota: Hypocreales) against oriental migratory locusts, *Locusta migatoria manilensis* (Meyen) in Northern China. Crop Protection 27: 1244-1250.

Prior C, Jollands P, Patourel G Le (1988). Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina:Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest *Pathorhytaplutus* (Coleoptera:Curculioidae). Journal of Invertebrate Pathology 32: 66-72.

Quesada-Moraga, E., Martin-Carballo, I., Garrido-Jurado, I. and Santiago-Alvarez, C. 2008. Horizontal transmission of *Metarhizium anisopliae* among laboratory populations of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Biological Control 47: 115-124.

Quesada-Moraga, E., Navas-Cortes, J.A., Maranhao, E.A.A., Ortiz-Urquiza, A., Santiago-Alvarez, C. 2007. Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. Mycological Research 111: 947-966.

Quesada-Moraga, E., Santos-Quiros, R., Valverde-Garcia, P. and Santiago-Alvarez, C. 2004. Viluence, horizontal transmission and sublethal reproductive effects of *Metarizium anisopliae* (Anamorphic fungi) on the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). Journal of Invertebrate Pathology 87: 51-58.

Sauers-Muller, van A.E. 2005. Host plant of the Carambola fruit fly, *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (Diptera: Tephritidae), in Suriname, South America. Neotropical Entomology. 34(2): 203-214.

Shan, P.A. and Pell, J.K. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. Applied Microbiology and Biotechnology 61: 413-423.

Tangthirasunun, N., Poeaim, S., Soytong, K., Sommartya, P. and Popoonsak, S. 2010. Variation in morphology and ribosomal DNA among isolates of *Metarhizium aniksopliae* in Thailand. Journal of Agricultural Technology 6(2): 317-329.

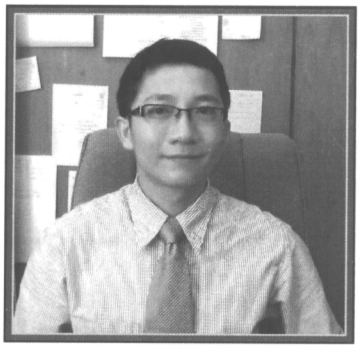
Toledo, J., Liedo, P., Flores, S., Campos, S.E., Villaseñor, A. and Montoya, P. 2006. Use of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for fruit fly control: A novel approach. Proceeding of the 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance 127-132.

Vijaysegaran, S. 1994. Fruit flies problems in Southeast Asia and effects to meet them, pp. 131-138. *In*: Calkins, C.O., Klassen, W. and Liedo, P. (eds.) Fruit Flies and the Sterile Insect Technique. CRC Press, Florida. 258 pp.

Watanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species (2^{nd} eds.). New York. 486 pp.

White, I.M. and Elson-Harris, M. 1992. Fruit Flies of Economic Significance: their Identification and Bionomics. CAB International Oxon, UK. 600 pp.

ประวัตินักวิจัยหัวหน้าโครงการ



1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นายนริศ ท้าวจันทร์
   ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Narit Thaochan

2. ตำแหน่งปัจจุบัน
   อาจารย์ประจำภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ
   มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

3. หน่วยงานที่อยู่
   ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112 โทร. 074-28-6107 โทรสาร 074-558-806,
   e-mail: narit_taochan@yahoo.com; narit.t@psu.ac.th

4. ประวัติการศึกษา

ปี พ.ศ	วุฒิปริญญา	สาขาวิชา	สถาบัน	ประเทศ
2552	ปร.ด.	วิทยาศาสตร์การเกษตร	มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์	ไทย
2545	วท.บ. (เกษตรศาสตร์)	เกษตรศาสตร์(โรคพืช) (เกียรตินิยมอันดับสอง)	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	ไทย

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ
   - การใช้เชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืช
   - การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี
   - เทคโนโลยีชีวภาพทางกีฏวิทยา
   - การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลวิจัยทางสถิติ

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

พ.ศ	ชื่อเรื่อง	แหล่งทุน	สถานภาพโครงการ
2553-2556	การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงที่มีศักยภาพเพื่อควบคุมหนอนกินใต้ผิวเปลือกลำต้นลองกอง	สภาวิจัยแห่งชาติ/ศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ	หัวหน้าโครงการ/กำลังดำเนินการ
2555-2557	การประยุกต์ใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียมและผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างควบคุมแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) ในบวบเหลี่ยม	งบประมาณแผ่นดิน	ผู้ร่วมโครงการ/กำลังดำเนินการ
2555-2556	การใช้สมุนไพรในการควบคุมตัวอ่อนแมลงวันบ้าน (*Musca domestica* Linnaeus) และยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ในการพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์น้ำพื้นบ้าน	งบประมาณแผ่นดิน	ผู้ร่วมโครงการ/กำลังดำเนินการ

7. ผลงานการวิจัย

นริศ ท้าวจันทร์ ฤทธิพร เบ็ญอาหลี อนุชิต ชินาจริยวงศ์ และ วิวัฒน์ เสือสะอาด. 2555. ความหนาแน่นสปอร์เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* ต่อความถี่การจับคู่ผสมพันธุ์และการแพร่กระจายเชื้อราในประชากรแมลงวันผลไม้ *Bactrocera papayae* (Diptera: Tephritidae). งานประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 11 วันที่ 1-3 กุมภาพันธ์ โรงแรมดิเอ็มเพลส เชียงใหม่.

วัชระ ลุ้งใส้ อรัญ งามผ่องใส และ **นริศ ท้าวจันทร์**. 2555. ผลของน้ำมันปิโตรเลียมและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างต่อการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อรา*Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. งานประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 11 วันที่ 1-3 กุมภาพันธ์ โรงแรมดิเอ็มเพลส เชียงใหม่.

นริศ ท้าวจันทร์ และ อนุชิต ชินาจริยวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพการควบคุมของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (ฉบับพิเศษ) 39(3): 21-25.

นริศ ท้าวจันทร์ อนุชิต ชินาจริยวงศ์ และ วิวัฒน์ เสือสะอาด. 2552. การเพิ่มปริมาณสปอร์เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin ด้วยวัสดุทางการเกษตรในการเกษตรอินทรีย์. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (ฉบับพิเศษ) 40(3): 555-558.

นริศ ท้าวจันทร์ อนุชิต ชินาจริยวงศ์ และ วิวัฒน์ เสือสะอาด. 2554. ผลของเชื้อราโรคแมลง *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ต่อพฤติกรรมการผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera papayae* (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (ฉบับพิเศษ) 42(3/1): 339-342.

Thaochan, N. and Chinajariyawong, A. 2008. Spore germination and mycelial growth of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin effectd by temperature regimes. The 34 th Congress on Science and Technology of Thailand (STT 34) 2008, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand: 31 October – 2 November.

Thaochan, N., Drew, R.A.I., Hughes, J.M., Vijaysegaran, S. and Chinajariyawong, A. 2010. Alimentary tract bacteria isolated and identified with API-20E and molecular cloning techniques from Australian tropical fruit flies, *Bactrocera cacuminata* and *B. tryoni*. Journal of Insect Science 10: 131. available online: insectscience.org/10.131.

Thaochan, N., Chinajariyawong, A. and Drew, R.A.I. 2010. Classical and molecular study of gut bacterial community structure in alimentary tract of *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett). Proceeding 8th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance 57-79.

Thaochan, N. and Chinajariyawong, A. 2011. Attraction of *Bactrocera cucurbitae* and *B. papayae* (Diptera: Tephritidae) to the odor of the bacterium *Enterobacter cloacae*. Philippine Agricultural Scientist 94(1): 1-6.