ผลของสารกำจัดศัตรูพืชในดินต่อการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04

Effects of Pesticides in Soil on the Infection of Pupae of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) by the Entomopathogenic Fungus, *Metarhizium guizhouense* PSUM04

ฤทธิพร เบ็ญอาหลี

Rittiporn Benarlee

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Entomology
Prince of Songkla University
2559

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของสารกำจัดศัตรูพืชในดินต่อการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04

ผู้เขียน นายฤทธิพร เบ็ญอาหลี

สาขาวิชา กีฏวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……..

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริศ ท้าวจันทร์)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อนุชิต ชินาจริยวงศ์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.จิราพร เพชรรัตน์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อรัญ งามผ่องใส)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริศ ท้าวจันทร์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา

……

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านไว้ ณ ที่นี้

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริศ ท้าวจันทร์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....
(นายฤทธิพร เบ็ญอาหลี)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นายฤทธิพร เบ็ญอาหลี)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของสารกำจัดศัตรูพืชในดินต่อการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04

ผู้เขียน นายฤทธิพร เบ็ญอาหลี
สาขาวิชา กีฏวิทยา
ปีการศึกษา 2558

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆในดินต่อการเจริญเติบโต กิจกรรมของเอนไซม์ การอยู่รอด อัตราการหายใจ และความสามารถในการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ได้ทำการศึกษากับสารกำจัดศัตรูพืชทั้งหมด 15 ชนิด สามารถแบ่งได้ 4 กลุ่ม ได้แก่ สารกำจัดแมลง 4 ชนิด (carbaryl, imidacloprid, deltamethin และ chlorpyrifos) สารกำจัดไร 3 ชนิด (sulfur, abamectin และ dicofol) สารกำจัดเชื้อรา 4 ชนิด (copper hydroxide, mancozeb, cholorothalonil และ carbendazim) และสารกำจัดวัชพืช 4 ชนิด (paraquat dichloride, glyphosate, atrazine และ diuron)

สารกำจัดศัตรูพืชที่มีผลต่อการงอกของสปอร์เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ได้แก่ carbaryl, mancozeb, chlorothalonil และ atrazine สารกำจัดศัตรูพืช ทั้ง 4 ชนิด มีผลทำให้สปอร์เชื้อราโรคแมลงไม่สามารถงอกได้บนจานอาหารที่ผสมสารดังกล่าวตลอดการทดลอง ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับชุดควบคุม ที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 96.00 ± 2.92 ส่วนการเจริญของเส้นใยเชื้อราวันที่ 30 สารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มสารกำจัดเชื้อรา มีผลต่อยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 โดยเฉพาะสาร mancozeb และ chlorothalonil ที่ส่งผลให้เชื้อราเจริญเติบโตได้ช้าที่สุด

จากการศึกษาถึงผลของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ต่อการสร้างเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 พบว่าสารกำจัดเชื้อรา มีผลยับยั้งการสร้างเอนไซม์ไคติเนสและโปรตีเอส 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ 5 วันและ 7 วัน ยกเว้นสาร chlorothalonil พบการสร้างเอนไซม์โปรตีเอสที่ 5 วัน และ 7 วัน โดยมีค่า enzymatic index เท่ากับ 2.00 ± 0.17 และ 1.93 ± 0.06 ตามลำดับ นอกจากนี้สารกำจัดไร ได้แก่ สาร sulfur, abamectin และ dicofol และสารกำจัด

วัชพืช คือสาร glyphosate ช่วยส่งเสริมการสร้างเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

การศึกษาความมีชีวิตรอดของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ในดินที่มีผสมสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ พบว่าสารในกลุ่มกำจัดเชื้อราทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ สาร copper hydroxide, mancozeb, chlorothalonil และ carbendazim มีผลต่อความมีชีวิตรอดของเชื้อรา *M. guizhouense* PSUM04 เนื่องจากไม่พบโคโลนีของเชื้อราตลอดการทดลอง ส่วนสารกำจัดไร 1 ชนิด สารกำจัดวัชพืช 3 ชนิด ได้แก่ สาร abamectin, glyphosate, atrazine และ diuron ไม่มีผลต่อความมีชีวิตรอดของเชื้อรา *M. guizhouense* PSUM04 ในดิน ที่ผสมสารดังกล่าวเป็นเวลา 90 วันที่ดำเนินการทดลอง ส่วนการทดสอบอัตราการหายใจของเชื้อรา จากการวิเคราะห์ค่า log morality ของ CO_2 ของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 พบว่าสารกำจัดศัตรูพืชทุกชนิดมีผลทำให้เชื้อรา *M. guizhouense* PSUM04 มีอัตราการหายใจต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่เชื้อราเพียงอย่างเดียว ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

การศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ในดินต่อความสามารถในการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง สำหรับการทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของดักแด้แมลงวันผลไม้ลดลง เมื่อมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ร่วมกับเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตอยู่ระหว่าง 47.00 - 79.00 ยกเว้นดักแด้ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่อยู่ในดินที่ผสมสาร chlorpyrifos มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ต่ำที่สุดอยู่ที่ 19.00 ± 3.70 และการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง ดักแด้ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่อยู่ในดินที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 กลุ่ม มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมอยู่ระหว่าง 47.00 - 58.67 ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 อย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตอยู่ที่ 50.00 ± 3.79 แต่เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใช้เชื้อราและไม่ใช่สารกำจัดศัตรูพืช ปรากฏว่าแมลงวันผลไม้ในชุดควบคุมสามารถฟักออกจากดักแด้ได้สูงถึง 76.00 ± 2.08 เปอร์เซ็นต์ ส่วนดักแด้ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่อยู่ในดินที่ปนเปื้อนสาร chlorpyrifos มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ต่ำกว่าชุดควมคุมทั้ง 2 ชนิด โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง

Thesis Title	Effects of Pesticides in Soil on the Infection of Pupae of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) by the Entomopathogenic Fungus, *Metarhizium guizhouense* PSUM04
Author	Mr. Rittiporn Benarlee
Major Program	Entomology
Academic Year	2015

Abstract

The effects of contaminated soil with pesticides on growth, enzyme activities, survival, respiration and efficiency in controlling pupae of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) by entomopathogenic fungus, *Metarhizium guizhouense* PSUM04, were investigated. 15 pesticides were tested: four insecticides (cabaryl, imidacloprid, deltametrin and chlorpyrifos), three acaricides (sulfur, abamectin and dicofol), four fungicides (copper hydroxide, mancozeb, chlorothalonil and carbendazim) and four herbicides (paraquat dichloride, glyphosate, atrazine and diuron).

Carbaryl, mancozeb, chlorothalonil and atrazine showed negative effect on spore germination of *M. guizhouense* PSUM04 with zero percentage and significantly different from the control with spore germination at 96.00 ± 2.92% ($P<0.05$). The mycelial growth of the fungus at day 30 after incubation on the culture media containing two fungicides (mancozeb and chlorothalonil) showed the lowest mycelial growth.

The effects of pesticides on enzyme activities (chitinase and protease) of *M. guizhouense* PSUM04 on culture media were investigated. The fungus on culture media containing mostly tested fungicides showed an absolutely zero enzymatic index at days 5 and 7, except chlorothalonil which showed the protease enzymatic index at days 5 and 7 with 2.00 ± 0.17 and 1.93 ± 0.06, respectively. The fungus on culture media containing three acaricides (sulfur, abamectin, dicofol) and one herbicide (glyphosate) were synergistic of both enzymatic indices and significantly different from the control ($P<0.05$).

The viability of *M. guizhouense* PSUM04 in soil contaminated with different pesticides was studied. All fungicides (copper hydroxide, mancozeb, chlorothalonil and carbendazim) showed negative effects on spore viability of *M. guizhouense* PSUM04 and there

was no detection of the fungal colony in soil sampled during all observation periods. However the viability of fungus after 90 days of incubation in soils contaminated with one acaricide (abamectin) and three herbicides (glyphosate, atrazine and diuron) was not affected. The respiration of the fungus by analysing the log morality of CO_2 after being incubated with pesticides was examined. There was a significant difference (P<0.05) between the fungus treated with all pesticides, which showed low respiration, when compared with the control containing the fungus in soil without pesticides.

The efficiency of *M. guizhouense* PSUM04 for controlling pupae of *Bactrocera dorsalis* in soil contaminated with pesticides under laboratory and greenhouse conditions was investigated. In the laboratory, the survival percentage of the pupae of *B. dorsalis* decreased in soil contaminated with pesticides and the fungus, with survival percentage between 47.00 and 79.00%. Interestingly, the pupae of *B. dorsalis* in soil contaminated with chlorpyrifos and the fungus showed the lowest survival percentage at 19.00 ± 3.70%. In the greenhouse, the pupae of *B. dorsalis* in soil contaminated with four pesticide groups showed the survival percentage of the pupae between 47.00 and 58.67%, not significantly different from the pupae in soil contaminated with the fungus only, at 50.00 ± 3.79% (P>0.05). The survival percentage of the pupae of *B. dorsalis* in the control of soil without the fungus and pesticides showed the highest of this value at 76.00 ± 2.08%. Interestingly, the pupae of *B. dorsalis* in soil contaminated with chlorpyrifos showed the lowest survival percentage when compared with the positive and negative control, and significantly different (P<0.05) from both laboratory and greenhouse conditions.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริศ ท้าวจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่กรุณาให้ความรู้ ให้คำปรึกษา แก้ไขข้อบกพร่อง ชี้แนะแนวทาง ช่วยหาทุนสนับสนุนงานวิจัย แนะนำให้ความสะดวกในการค้นคว้าวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์รองศาสตราจารย์ ดร. อนุชิต ชินาจริยวงศ์ และกรรมการสอบวิทยานิพนธ์รองศาสตราจารย์ ดร. จิราพร เพชรรัตน์ และรองศาสตราจารย์ ดร. อรัญ งามผ่องใส ที่กรุณาให้คำแนะ แก้ไขข้อบกพร่อง จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ สถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วง ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคใต้ และภาควิชาการจัดการศัตรูพืช ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ และความสะดวกในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนร่วมงานศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ นางสาวสายฝน แซ่ตัน นางสาวอรนงค์ เขียวคง นางสาวยาวารีย๊ะห์ สาเมาะ นางสาวปรารถนา อัตตะมณี นายศรายุทธ ไกรแก้ว และนายสมพงษ์ บัวตุ่ม ที่คอยให้กำลังใจและคำแนะนำที่ดีเสมอมา ขอขอบคุณนางสาวกนกอร วุฒิวงศ์ นางสาวณัฐพัชร์ ศรีหะนัลต และนางสาวจิตรา กิตติโมรากุล พี่ปริญญาเอกที่ให้คำแนะนำการเขียนงานวิจัยและขอบคุณนายปรินทร์ โกมลเสนาะ นางสาวปาณิศา ธรรมเสวตร และนางสาวกนกกาญจน์ ตลึงผล เพื่อนนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้ร่วมเรียน ร่วมฟันฝ่าอุปสรรค และเป็นกำลังใจซึ่งกันและกันมาโดยตลอด ขอมอบคุณความดี และประโยชน์ทั้งหลายที่เกิดจากการทำวิจัยครั้งนี้ แด่ทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ท้ายสุดนี้ขอขอบพระคุณ คุณแม่ ตลอดจนพี่น้อง ครอบครัวเบ็ญอาหลีทุกคน และนางสาวนัสรียา หมัดอะดัม ที่คอยให้ความรัก ความห่วงใย คำแนะนำ และเป็นกำลังใจเสมอมา

ฤทธิพร เบ็ญอาหลี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(11)
รายการภาพ	(12)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	15
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	15
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	16
3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	30
4. สรุปผลและข้อเสนอแนะ	63
เอกสารอ้างอิง	65
ภาคผนวก	72
ประวัติผู้เขียน	77

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ระยะเวลาการสลายตัวของสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละกลุ่ม	6
2	กลุ่มสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในการทดสอบ	21
3	เปอร์เซ็นต์การงอก (mean ± S.E.) ของสปอร์เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ภายใต้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ	33
4	ความมีชีวิตรอดของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ	47

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะสปอร์ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04	3
2	แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae)	10
3	เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ได้รับจากศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคใต้	19
4	อาหารสำหรับแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัย ประกอบด้วย น้ำ (ก) น้ำตาล (ข) และยีสต์ (ค)	20
5	กรงทึบสีดำ สำหรับต้อนแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยที่ฟักจากดักแด้ ให้ขึ้นมาหาแสงสว่างในส่วนปลายของกรงที่มีกล่องพลาสติกในขนาดกลางวางปิดอยู่	28
6	โรงเรือนทดลอง ขนาด กว้าง×ยาว×สูง เท่ากับ 3×6×2.5 ตารางเมตร สำหรับทำการทดลอง	29
7	ลักษณะของสปอร์เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ที่งอกมีส่วนของ germ tube (ลูกศรสีดำ) ยาวเกินครึ่งหนึ่งของความกว้างของสปอร์	31
8	ตัวอย่างลักษณะการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา SDAY ภายใต้การใช้สารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ที่อายุ 20 วัน	36
9	การเจริญของเส้นใย (mean ± S.E.) เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่ผสมสารกำจัดแมลง โดยชุดควบคุมใช้อาหาร SDAY ผสมน้ำเปล่า	36
10	การเจริญของเส้นใย (mean ± S.E.) เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่ผสมสารกำจัดไร โดยชุดควบคุมใช้อาหาร SDAY ผสมน้ำเปล่า	37

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
11	การเจริญของเส้นใย (mean ± S.E.) เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่ผสมสารกำจัดเชื้อรา โดยชุดควบคุมใช้อาหาร SDAY ผสมน้ำเปล่า	37
12	การเจริญของเส้นใย (mean ± S.E.) เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่ผสมสารกำจัดวัชพืช โดยชุดควบคุมใช้อาหาร SDAY ผสมน้ำเปล่า	38
13	ลักษณะการสร้างวงใสที่เกิดจากการย่อย substrate โดยเอนไซม์ไคติเนสของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่ผสม colloidal chitin 2.0% หลังการบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 (ก) และ 7 (ข) วันของการทดลอง	40
14	ค่า enzymatic index (mean ± S.E.) ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในการสร้างเอนไซม์ไคติเนสบนอาหารที่มีสารกำจัดศัตรูพืชที่แตกต่างกันตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P < 0.05$ โดยวิธี Tukey's Range Test ที่ 5 (ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่) และ 7 (ตัวอักษรพิมพ์เล็ก) วันของการทดลอง	41
15	ลักษณะการสร้างวงใสที่เกิดจากการย่อย substrate โดยเอนไซม์โปรตีเอสของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่ผสม skim milk 3.0 % หลังการบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 (ก) และ 7 (ข) วันของการทดลอง	42

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
16	ค่า enzymatic index (mean ± S.E.) ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในการสร้างเอนไซม์โปรตีเอส บนอาหารที่มีสารกำจัดศัตรูพืชที่แตกต่างกันตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P < 0.05$ โดยวิธี Tukey's Range Test ที่ 5 (ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่) และ 7 (ตัวอักษรพิมพ์เล็ก) วันของการทดลอง	43
17	การกำหนดเครื่องหมายลักษณะโคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่มีการผสมสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิด	46
18	ค่าโมลาริตี (molarity) ของ CO_2 ที่ละลายในน้ำของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดแมลง	49
19	ค่าโมลาริตี (molarity) ของ CO_2 ที่ละลายในน้ำของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดไร	50
20	ค่าโมลาริตี (molarity) ของ CO_2 ที่ละลายในน้ำของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดเชื้อรา	50
21	ค่าโมลาริตี (molarity) ของ CO_2 ที่ละลายในน้ำของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดวัชพืช	51
22	ค่าเฉลี่ยโมลาริตี (log molarity) (mean ± S.E.) ของ CO_2 (mean ± SE) ที่ละลายในน้ำของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ (สารกำจัดแมลง สารกำจัดไร สารกำจัดเชื้อรา และสารกำจัดวัชพืช) ในช่วงระยะเวลาต่างๆ สำหรับชุดควบคุม ประกอบด้วยชุดที่มีดินเพียงอย่างเดียวกับชุดที่มีดินผสมเชื้อราโรคแมลงเพียงอย่างเดียว ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในแต่ละช่วงเวลามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P < 0.05$ เปรียบเทียบโดยวิธี Tukey's Range Test	52

ตารางภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	โคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ที่ปรากฏบนดินที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ	53
24	ลักษณะดักแด้และตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ระหว่างการทดลอง ในสภาพห้องปฏิบัติการ	55
25	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 กลุ่มได้แก่ กลุ่มสารกำจัดแมลง กลุ่มสารกำจัดไร กลุ่มสารกำจัดเชื้อราและกลุ่มสารกำจัดวัชพืช ในสภาพห้องปฏิบัติการ	56
26	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดแมลงทั้ง 4 ชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ	56
27	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดไรทั้ง 3 ชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ	57
28	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดเชื้อราทั้ง 4 ชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ	57
29	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดวัชพืชทั้ง 4 ชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ	58
30	ลักษณะของดักแด้และตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ระหว่างการทดลองในสภาพเรือนทดลอง	60

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
31	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสม (mean ± S.E.) ของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 กลุ่ม ในสภาพเรือนทดลอง	61

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเป็นวิธีการที่นิยมในปัจจุบัน เป็นการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่หลีกเลี่ยงการใช้สารกำจัดศัตรูพืชที่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต เกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภคและสภาพแวดล้อม การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีมีหลายวิธี แต่การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชเป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพ และนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้เชื้อราโรคแมลงควบคุมแมลงศัตรูพืช สามารถควบคุมได้หลายชนิดและบางชนิดสามารถควบคุมแมลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เชื้อราโรคแมลงในสกุล *Metarhizium* เป็นเชื้อราที่นิยมนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชมากที่สุด เพราะเชื้อราดังกล่าวสามารถสร้างสารพิษและเอนไซม์ที่มีฤทธิ์เข้าทำลายแมลงได้ (Clarkson and Charnley, 1996) เชื้อราโรคแมลงสกุล *Metarhizium* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด สามารถเข้าทำลายแมลงโดยการเข้าเบียดเบียนทำลายเนื้อเยื่อต่างๆของแมลง และเป็นสาเหตุให้แมลงตายในที่สุด (ทิพย์วดี, 2533) เอนไซม์ที่เชื้อราโรคแมลงสกุล *Metarhizium* สร้างมีสองชนิดหลักๆ คือ เอนไซม์ไคติเนสและเอนไซม์โปรตีเอส ซึ่งมีบทบาทสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการเข้าทำลายแมลง อีกทั้งเอนไซม์ไคติเนสยังเป็นตัวหลักในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผนังเซลล์ของแมลง และกระตุ้นการงอกของสปอร์เชื้อราได้อีกด้วย (St Leger *et al*., 1996; Santi *et al*., 2010) ดังนั้นการใช้เชื้อราโรคแมลงจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมปลอดภัยต่อเกษตรกรและผู้บริโภค

เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* Q.T. Chen & H.L. Guo เป็นเชื้อราโรคแมลงที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับเชื้อรา *M. anisopliae* complex (Bischoff *et al*., 2009) เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติโดยเฉพาะในดิน แมลงมีโอกาสสร้างความต้านทานต่อเชื้อราโรคแมลงน้อยมากหรือเกิดขึ้นช้าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารกำจัดศัตรูพืชอีกทั้งสามารถก่อโรคกับแมลงได้หลายชนิด โดยเฉพาะกลุ่มแมลงศัตรูพืชที่อาศัยอยู่ในดิน เช่น ตัวอ่อนด้วงหนวดยาวอ้อย ตัวอ่อนแมลงนูนหลวง ปลวก และแมลงวันผลไม้ เป็นต้น (Hänel and Watson, 1983; Vestergaard, 2000; Ekesi, 2003) แมลงวันผลไม้จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ สามารถเข้าทำลายผลผลิตทางเกษตรโดยตรง โดยเฉพาะแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) เป็นชนิดที่พบแพร่ระบาดทั่วทุกภาคของ

ประเทศไทยแมลงวันผลไม้ชนิดนี้มีพืชอาหารกว้างสามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด เช่น ฝรั่ง ชมพู่ กระท้อน ละมุดและลองกอง เป็นต้น แมลงวันผลไม้เข้าดักแด้ภายในดิน ดังนั้นการควบคุมแมลงชนิดนี้ในระยะดักแด้จึงมีโอกาสที่เชื้อราโรคแมลงสามารถเข้าทำลายได้ เพื่อช่วยลดปริมาณของตัวเต็มวัยที่ออกมาวางไข่และฟักเป็นตัวหนอนเข้าทำลายผลผลิตทางการเกษตร อีกทั้งเชื้อราโรคแมลงสกุล *Metarhizium* sp. สามารถควบคุมแมลงวันผลไม้ได้ทุกระยะการเจริญเติบโต เช่น ระยะไข่ ระยะหนอน ระยะดักแด้ และตัวเต็มวัย (Lezama - Gutierrez *et al*., 2000)

การใช้เชื้อราโรคแมลงให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด นอกจากคำนึงถึงประสิทธิภาพการเข้าทำลายของเชื้อราโรคแมลงแล้ว สารกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในดินถือเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพของเชื้อราโรคแมลงในการเข้าทำลาย (Flexer and Belnavis, 2000; Inglis *et al*., 2001) ในปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่ใช้สารกำจัดศัตรูพืชเป็นจำนวนมากในการควบคุมศัตรูพืช ทั้งสารกำจัดแมลง (insecticides) สารกำจัดไร (acaricides) สารกำจัดเชื้อรา (fungicides) และสารกำจัดวัชพืช (herbicides) ซึ่งสารกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้อาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* หากมีการนำไปใช้ในพื้นที่ที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเหล่านั้น

ดังนั้นจึงสนใจศึกษาการนำเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 (Thaochan and Chandrapatya, 2016) ไปใช้ในพื้นที่ที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ และการควบคุมดักแด้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่อยู่ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชสารกำจัดศัตรูพืชอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ด้านต่างๆ เช่น การเจริญเติบโต การสร้างเอนไซม์ ความมีชีวิตรอด การหายใจ และความสามารถในการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ เพื่อให้การใช้เชื้อราโรคแมลงเกิดประโยชน์สูงสุดในการควบคุมแมลง นอกจากนี้ยังสามารถนำไปเป็นแนวทางในการใช้เชื้อราโรคแมลงสกุลอื่น ให้เหมาะสมและมีประสิทธิภาพต่อไป

การตรวจเอกสาร

1. เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense*

เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* เป็นเชื้อราโรคแมลงที่อยู่ในสกุลเดียวกับเชื้อรา *M. anisopliae* complex และมีคุณสมบัติในการเข้าทำลายเช่นเดียวกัน จัดอยู่ในชั้น Deuteromycetes ตามหลักอนุกรมวิธาน (Bischoff *et al*., 2009) เชื้อราสกุล *Metarhizium* มีวงจรชีวิตไม่สมบรูณ์ ไม่พบระยะการสืบพันธุ์โดยอาศัยเพศมีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก เส้นใยมีผนังกั้นเป็นปล้องๆ ไม่มีสี เส้นใยแผ่ขยายเจริญเติบโต สร้างสปอร์ (conidia) เป็นรูปยาวรีคล้ายเมล็ดข้าว (ภาพที่ 1) เป็นลูกโซ่ต่อกันตรงรอยคอดคอด เรียกว่า conidium แต่ละ conidium ที่เกิดใหม่มีสีขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเขียวคล้ำ จึงเป็นชื่อเรียกของราชนิดนี้ว่าเชื้อราเขียว สืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์สามารถเลี้ยงด้วยอาหารเทียมหลายชนิด วงจรชีวิตของเชื้อราที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ภายใต้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 - 100 เปอร์เซ็นต์ ในจานเลี้ยงเชื้อเชื้อราเริ่มเจริญเติบโตเห็นเป็นเส้นใยสีขาว และเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มในเวลาต่อมา (ทิพย์วดี, 2533)

ภาพที่ 1 ลักษณะสปอร์ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04

การเข้าทำลายของเชื้อราโรคแมลง

เชื้อราโรคแมลงเข้าทำลายแมลงได้โดยผ่านผิวหนังของแมลงโดยตรง และการเกิดโรคของแมลงเกิดได้ดี เมื่อแมลงอยู่ในสภาพอ่อนแอ เชื้อรามีความรุนแรง และสภาพสิ่งแวดล้อมเหมาะสม โดยเริ่มจากสปอร์ของเชื้อราตกลงบนผนังลำตัวของแมลง เมื่อมีความชื้นที่พอเหมาะ เชื้อรางอกโดยสร้างเส้นใยพิเศษ และอาศัยสารที่เชื้อราสร้างขึ้นมาที่เรียกว่า เอนไซม์ ทำให้สามารถแทงทะลุผนังลำตัวแมลงเข้าไป โดยปกติจุดที่เชื้อราสามารถแทงทะลุผ่านลำตัวของแมลงได้ดี คือ บริเวณปากทวาร และบริเวณเยื่อบางๆ ซึ่งอยู่ระหว่างกะโหลกศีรษะ ปล้องต่างๆ ส่วนท้อง ขา และหนวด เป็นต้น เมื่อเชื้อราแทงผ่านลำตัวเข้าไปเจริญสร้างเส้นใยแผ่กระจายจนเต็มตัวแมลง แย่งแร่ธาตุอาหาร เบียดเบียน และทำลายอวัยวะ และระบบกลไกลต่างๆในตัวแมลง (ทิพย์วดี, 2533)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคของเชื้อราโรคแมลง

เชื้อราในแมลงมีมากมายหลายชนิดและแต่ละชนิดมีความสัมพันธ์กับแมลงในลักษณะที่แตกต่างกัน การที่เชื้อราทำให้เกิดโรครุนแรงมากน้อยกับแมลงนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยดังต่อไปนี้

1. ความสามารถในการเข้าทำลายและความรุนแรงของเชื้อรา

เชื้อราต่างชนิดกันมีความสามารถในการเข้าทำลายแมลงแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีความรุนแรงและความเฉพาะเจาะจงกับชนิดของแมลงอาศัยที่แตกต่างกันด้วย (Shan and Pell, 2003) เชื้อราบางชนิดสามารถสร้างสารพิษ (toxins) ที่มีฤทธิ์รุนแรงฆ่าแมลงได้รวดเร็ว บางชนิดเพียงเข้าไปเจริญแย่งแร่ธาตุอาหารในแมลง ถ้าแมลงแข็งแรงอาจทนอยู่ได้นานหรืออาจกำจัดเชื้อราออกจากตัวได้ในที่สุด เชื้อราเข้าทำลายเนื้อเยื่อ หรืออวัยวะของแมลงต่างกัน บางชนิดทำลายเนื้อเยื่ออวัยวะหลายๆ อย่างพร้อมๆ กัน บางชนิดมีความเฉพาะเจาะจงกับเนื้อเยื่อเฉพาะอย่างของแมลง ซึ่งมีผลต่อการเกิดโรคในแมลง

2. ตำแหน่งและวิธีการเข้าสู่ตัวแมลง

เชื้อราต่างจากเชื้อโรคกลุ่มอื่นคือเข้าสู่แมลงทางผนังลำตัว ดังนั้นเชื้อราที่มีความสามารถในการทะลุผ่านผนังลำตัวของแมลง สามารถทำให้เกิดโรคได้ เช่น เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายชั้นต่างๆ ของผนังลำตัวแมลง เพื่อให้ germ tube ที่งอกจากสปอร์ผ่านเข้าไปได้ นอกจากนี้เชื้อรายังเข้าสู่ตัวแมลงได้ทางท่อหายใจ มักพบในแมลงที่มีรูหายใจข้างลำตัวใหญ่เป็นทางให้เชื้อราเข้าไปได้ เช่น ตั๊กแตน และอาจเข้าทางบาดแผลในแมลงที่กัดกันเอง หรือเป็นแผลที่ถูกแตนเบียนเข้าวางไข่

3. สภาพแวดล้อม

การระบาดของโรคที่เกิดจากเชื้อราขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมมาก ที่สำคัญได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญของเชื้อรา เช่น เชื้อรา *Entomophthora sphaerosperma* เจริญเติบโตได้ดีที่ 18 - 21 องศาเซลเซียส ส่วนสปอร์สามารถงอกได้ถึง 91 - 95 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียสส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเชื้อรา *Metarhizium* sp. คือ 25 - 30 องศาเซลเซียส และไม่เจริญเติบโต ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส (Thaochan and Chinajariyawong, 2008) ความชื้นนั้นเป็นสิ่งจำเป็นมากสำหรับการงอกของสปอร์ เชื้อราหลายชนิดต้องการความชื้นสูงถึง 95 - 100 เปอร์เซ็นต์ สปอร์จึงงอกได้ เช่น *Spicaria rileyi* และถ้าความชื้นในบรรยากาศสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้แมลงตายได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแสงแดดนั้น มีผลต่อเชื้อราทั้งทางตรงและทางอ้อม คือ แสงอัลตราไวโอเลต ที่มีในแสงแดดมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา อาจยับยั้งการเจริญเติบโต ทำให้ตายหรือทำให้กลายพันธุ์ได้ ในทางอ้อมแสงแดดทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นและความชื้นลดต่ำลง มีผลต่อการงอกของสปอร์และการเจริญเติบโตของเชื้อรา นอกจากนี้ความมืด และความสว่างยังมีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อราชนิดต่างๆ ด้วย เช่น ถ้าเลี้ยงในที่มืดสร้าง azygospores เป็นต้น เชื้อราต่างสายพันธุ์กันต้องการอุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่างต่อการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน (Shan and Pell, 2003)

4. สารกำจัดศัตรูพืช

นอกจากปัจจัยทางสภาพแวดล้อมอื่นๆ แล้วสารกำจัดศัตรูพืชเป็นปัจจัยภายนอกที่สำคัญต่อประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราโรคแมลง (Flexer and Belnavis, 2000; Inglis *et al*., 2006) สารกำจัดศัตรูพืชที่มีผลกระทบต่อเชื้อราโรคแมลง คือ ลดการเจริญเติบโตของเส้นใย ลดการงอกของสปอร์ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ ลดความรุนแรงและทำให้เชื้อราตาย (Alves *et al*., 1998) สารกำจัดเชื้อรา (fungicides) ที่มีการใช้อย่างมากในทางการเกษตรมีผลกระทบโดยตรงต่อเชื้อราโรคแมลง อย่างไรก็ตามเชื้อราโรคแมลงบางชนิดหรือบางไอโซเลท สามารถทนทานต่อสารเหล่านี้ได้ หรือการใช้สารกำจัดศัตรูพืชบางชนิดหรือบางกลุ่มสามารถใช้ร่วมกับเชื้อราโรคแมลงได้ เช่น สาร fosetyl-A1, propamocarb และ copper oxychloride สามารถใช้ร่วมกับเชื้อรา *Beauveria bassiana* ส่วนสาร benomyl, dimethomorph - mancozeb, chlorothalonil, propineb, mancozeb และ macozeb - cymoxanil มีผลยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใยของเชื้อราดังกล่าว (Durán *et al*., 2004) นอกจากนี้วัชระและคณะ (2555) ได้ทดสอบการใช้สารสกัดจากพืช คือ สะเดาช้างที่ใช้ร่วมกับเชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* สามารถใช้สารสกัดสะเดาช้างร่วมกับเชื้อราได้ แต่ใช้ในความเข้มข้นที่ต่ำ

การใช้สารกำจัดศัตรูพืช (pesticides) ซึ่งส่วนใหญ่แล้วมีฤทธิ์ทำลายสิ่งมีชีวิตทุกชนิดไม่ว่าเป็นชนิดที่ให้ประโยชน์หรือโทษต่อการเกษตรกรรม และยังส่งผลกระทบต่อมนุษย์ด้วย สารเคมีที่สลายตัวได้ช้ามีการตกค้างของสารในดิน เช่น สารประเภทออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) เป็นสารประกอบด้วยอะตอมคลอรีน (Cl) ได้แก่ ดีดีที (DDT) ที่ใช้ในการเพาะปลูก การควบคุมการแพร่ระบาดของโรคมาลาเรีย และการควบคุมแมลงอื่นๆ dieldrin ที่ใช้ในกำจัดแมลงในการเกษตร และกำจัดปลวก aldrin ที่ใช้ในการเพาะปลูก การสะสมของสารเคมีที่ใช้กำจัดศัตรูพืชต่างๆ ทำให้เกิดมลพิษทางดิน (สุวรรณา และ แสวง, 2538) ปัญหาความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืชต่อกิจกรรมต่างๆ ที่เกิดขึ้นในดินและสิ่งแวดล้อมนั้น เป็นผลมาจากการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในดินเป็นส่วนใหญ่ โดยมีปัจจัยที่ก่อให้เกิดการตกค้างหลายประการ เช่น คุณสมบัติของดิน และคุณสมบัติของสารกำจัดศัตรูพืช ซึ่งขึ้นอยู่กับประเภทของสารกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนลงสู่ดินและสิ่งแวดล้อม การสลายตัวของสารกำจัดศัตรูพืช แต่ละกลุ่มมีระยะเวลาที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ระยะเวลาการสลายตัวของสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละกลุ่ม

ลำดับ	กลุ่มสารกำจัดศัตรูพืช	การสลายตัวของสารกำจัดศัตรูพืช
1	กลุ่มออร์กาโนฟอรัส หรือออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphorus or organophosphate pesticides) เช่น ไดโครโตฟอสและอีพีเอ็น	ตกค้างในดินที่มีความเป็นกลางไม่กี่ชั่วโมงถึงหลายสัปดาห์แต่จะมีอายุยาวนานขึ้นหากดินมีความเป็นกรดเล็กน้อย
2	กลุ่มคาร์บาเมต (carbamate) เช่น คาร์โบฟูราน ออลดิคาร์บ และเมโทมิล	ตกค้างในดินประมาณ 50 สัปดาห์ และในน้ำประมาณ 30 สัปดาห์
3	กลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (neonicotinoid) เช่น อิมิดาคลอพริด	ประมาณ 34 วันในการสลายตัวจากแสงอาทิตย์ แต่อาจตกค้างยาวนานเกือบ 4 ปี หากไม่โดนแสงอาทิตย์
4	กลุ่มไพริทริน (pyrethrin)	ประมาณ 12 วันถึง 8 อาทิตย์ แต่มีอายุยาวนานขึ้นในพื้นที่ที่แสงส่องไม่ถึง
5	กลุ่มออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) เช่น DDT และ เอนโดซัลแฟน	ใช้เวลาย่อยสลายในดินได้ประมาณ 1 – 15 ปี

ที่มา: นิรนาม (2559)

ความคงทนของสารกำจัดศัตรูพืชในดินเป็นผลของปฏิกิริยาของสารเคมีในดิน การย่อยสลาย การเสื่อม และการพัดพาไปจากดิน ทำให้สารกำจัดศัตรูพืชแต่ละประเภทคงทนอยู่ในดินเวลาไม่เท่ากันเช่น สารกำจัดแมลงประเภทอินทรีย์คลอรีน (เช่น DDT) คงทนอยู่ในดินได้เป็นเวลานานกว่าสารเคมีอินทรีย์ฟอสฟอรัส (เช่น malation) การคงทนอยู่ในดินเกิดจากโมเลกุลของสารเคมีดูดยึดอยู่กับอนุภาคดิน โดยอาศัยกระบวนการดูดยึดต่างๆ เช่น การดูดยึดทางฟิสิกส์ ทางไฟฟ้า หรือดูดยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (สุวรรณา และ แสวง, 2538)

นอกจากนี้ยังมีการดูดยึดด้วยพันธะรวมกัน ซึ่งส่งผลต่อความคงทนในดินมากน้อยขนาดไหนขึ้นกับปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างคุณสมบัติของสารเคมี เช่น ละลายน้ำ การนำไฟฟ้า หรือปริมาณที่ใช้ตลอดจนการย่อยสลายได้เร็วหรือช้า (Hilbold, 1974) โดยกระบวนการต่างๆ เช่น การย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในดิน หรือการย่อยสลายโดยแสงแดด (Burn and Edward, 1979; Murai, 1981) ปัจจัยที่มีผลต่อการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชเกิดร่วมระหว่างคุณสมบัติของสารเคมี และคุณสมบัติของดิน ส่งผลถึงการตกค้าง และการสลายของสารกำจัดศัตรูพืชในดิน

ผลของสารกำจัดศัตรูพืชต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน

กิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินที่มีผลต่อความอุดมสมบูรณ์ของดิน และก่อประโยชน์แก่พืชนั้นมีมากมาย เช่น การใช้คาร์บอน การย่อยสลายอินทรียวัตถุ การตรึงไนโตรเจน ซึ่งกิจกรรมเหล่านี้อาจได้รับผลกระทบจากการใช้สารกำจัดศัตรูพืช

1. ผลต่อการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของจุลินทรีย์ในดิน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นผลพลอยได้ที่เกิดจากหลายกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในดิน เช่น การหายใจของเชื้อจุลลินทรีย์เพื่อนำเอาออกซิเจนไปเผาผลาญอาหารให้ได้พลังงาน และสามารถบ่งบอกถึงจำนวนสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ CO_2 บางส่วนอาจมาจากการสลายตัวของสารเคมีด้วยก็ได้

Marsh และคณะ (1977) รายงานว่าสารเคมีวัชพืชพวก metribuzin ทำให้การปลดปล่อย CO_2 ในระยะแรกมีระดับสูงสุด ลักษณะที่เกิดเช่นนี้อาจเป็นเพราะว่า จุลินทรีย์ใช้สารเคมีและอินทรียวัตถุที่อยู่ในดินเป็นแหล่งคาร์บอน และอาจมาจากการสลายตัวของสารเคมีเอง ต่อมานั้นปริมาณ CO_2 ที่ลดลง อาจเป็นเพราะสารอนุพันธ์ที่เกิดจากการสลายตัวของสารเคมีนั้นมีความเป็นพิษเพิ่มขึ้นทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลง อีกทั้งสารเคมีผ่านการสลายตัวไปมากแล้ว ทำให้เหลือปริมาณสารเคมีที่สลายเป็น CO_2 มีน้อยลง ซึ่งสาเหตุทั้งสองประการนี้อาจทำให้ปริมาณก๊าซ CO_2 ที่ปลดปล่อยออกมาลดลง แต่ Hsu and Camper (1975) กล่าวว่า การที่สารเคมีตกค้างในดินทำให้การ

ปลดปล่อย CO_2 มีทั้งเพิ่มขึ้นและลดลง ซึ่งต้องพิจารณาชนิดของสารเคมีและลักษณะของดินพร้อมกันไปด้วย

2. ผลต่อการย่อยสลายอินทรียวัตถุ เป็นกิจกรรมหลักของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในสภาพต่างๆ นั้น สารเคมีอาจยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในดิน ซึ่งส่งผลให้การย่อยสลายอินทรียวัตถุถูกยับยั้งไปด้วย เช่น สารกำจัดเชื้อรามีผลทำให้การย่อยสลายเซลลูโลสลดลง ซึ่งเกิดทั้งในสภาพดินน้ำขังและไม่มีน้ำท่วมขัง (Katayama and Kuwatsuka, 1991) ในดินที่ไม่มีน้ำท่วมขังนั้น เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญในการย่อยสลายเซลลูโลส การใช้สารกำจัดเชื้อราทำให้เชื้อรา (ทั้งก่อโรคและไม่ก่อโรค) ลดจำนวนลง ส่วนในสภาพน้ำขังนั้น สารกำจัดเชื้อรามีผลต่อแบคทีเรียพวก *Clostidium* spp. ที่ย่อยสลายเซลลูโลส โดยที่สารกำจัดเชื้อราดังกล่าวไปยับยั้งกิจกรรมของเอมไซม์ ที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ซึ่งเกิดในวิถีไกลโคไลซีสทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถดำรงชีพอยู่ได้ มีผลให้การดำเนินกิจกรรมการย่อยสลายอินทรียวัตถุลดลง รวมไปถึงมีผลต่อการตรึงไนโตรเจนด้วย

3. การตรึงไนโตรเจนเกิดขึ้นที่ปมของพืชตระกูลถั่ว การสร้างปมจะผิดปกติไปถ้ารากมีรูปร่างผิดปกติซึ่งมีผลต่อการตรึงไนโตรเจน การใช้สารกำจัดวัชพืชทำให้การสร้างปมลดลง (Mårtensson, 1992) เนื่องจากสารกำจัดวัชพืชมีผลต่อกระบวนการเมตาโบลิซึมของพืชโดยตรง ทำให้พืชไม่สามารถสร้างอาหารแล้วส่งไปที่ปมได้ หรืออาจทำให้รากมีรูปร่างผิดปกติ สารเคมีตกค้างอยู่ในดิน จึงทำให้การตรึงไนโตรเจนลดลง จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช

2. แมลงวันผลไม้หรือแมลงวันทอง (fruit flies)

แมลงวันผลไม้หรือแมลงวันทอง (fruit flies) เป็นแมลงศัตรูที่มีความสำคัญมากสำหรับผลไม้ และผักในเขตร้อนและเขตร้อนชื้น ตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้เข้าทำลายผลไม้โดยการวางไข่ลงบนผลไม้โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลไม้ที่มีเปลือกบาง หรืออ่อนนุ่ม (มนตรี, 2544) แมลงวันผลไม้อยู่ในวงศ์ Tephritidae แมลงในวงศ์นี้ประกอบด้วยแมลงวันผลไม้ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชผักและผลไม้ มากกว่า 4,000 ชนิด ซึ่งกระจัดกระจายอยู่ในเขตหนาว เขตอบอุ่น และเขตร้อน คาดว่ามี มากกว่า 800 ชนิด แมลงวันผลไม้เข้าทำลายพืช 359 ชนิด โดยเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 106 ชนิด และเป็นพืชที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 253 ชนิด ดังนั้นแมลงวันผลไม้สามารถขยายพันธุ์ และเพิ่มปริมาณได้จากพืชอาศัยชนิดต่างๆ ได้ตลอดทั้งปี จึงทำให้การควบคุมและป้องกันกำจัดทำได้ยาก ก่อให้เกิดปัญหาต่อพืชผักและผลไม้ โดยเฉพาะผลไม้ที่เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่นมะม่วง ฝรั่ง และชมพู่ การเจริญเติบโตของแมลงวันผลไม้โดยทั่วๆ ไปแบ่งออกเป็น 4 ระยะคือ ไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เป็นแมลงที่เคลื่อนไหวค่อนข้างช้า หาอาหารในเวลาเช้าชอบหลบตามร่มเงาในเวลาบ่ายหรือเวลาแดดร้อนจัด ผสมพันธุ์ในเวลาเย็นตอนพลบค่ำ วางไข่ในเวลากลางวันและวางไข่ได้ตลอดทั้งวัน (กลุ่มส่งเสริมและพัฒนาเทคโนโลยีรังสี, มปป.; White and Elson-Harris, 1992; Allwood *et al*., 1999; Clarke *et al*., 2001)

สำหรับการจัดจำแนกชนิดของแมลงวันผลไม้ 4 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera papayae* (Drew & Hancock), *B. philippinensis* (Drew & Hancock), *B. invadens* (Drew, Tsuruta & White) และ *B. carambolae* (Drew & Hancock) เป็นแมลงวันผลไม้ที่มีลักษณะสัณฐานวิทยา และพันธุกรรมใกล้เคียงกับแมลงวันผลไม้ ชนิด *B. dorsalis* (Hendel) มากที่สุด ส่วนแมลงวันผลไม้ ชนิด *B. carambolae* มีลักษณะบางประการที่แตกต่างจากแมลงวันผลไม้ชนิดอื่นๆ จากการรวบรวมข้อมูลของแมลงวันผลไม้ ทั้ง 3 ชนิดข้างต้น ทั้งข้อมูลทางสัญฐานวิทยา และชีวโมเลกุล ได้ข้อสรุปว่า แมลงวันผลไม้ ชนิด *B. papayae*, *B. philippinensis* และ *B. invadens* เป็นสายพันธุ์เดียวกันภายใต้แมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* (Mark *et al*., 2015) ดังนั้นแมลงวันผลไม้ ชนิด *B. papayae* ที่มีรายงานการระบาดในพื้นที่ทางภาคใต้ของประเทศไทย (Allowood *et al*., 1999) จึงต้องเปลี่ยนเป็น *B. dorsalis*

ในเขตภาคพื้นทวีปเอเชีย แมลงวันผลไม้ ชนิด *B. dorsalis* (ภาพที่ 2) ซึ่งมีเขตแพร่กระจายทั่วทุกภาคของประเทศไทย จัดเป็นแมลงวันผลไม้ที่สำคัญที่สุดของประเทศ ทำลายผลไม้ได้ทั่วไปมีพืชอาศัยมากมาย เช่น ฝรั่ง มะละกอ ชมพู่ ละมุด และมะม่วง เป็นต้น (กลุ่มส่งเสริมและพัฒนาเทคโนโลยีรังสี, มปป.; White and Elson - Harris, 1992; Allwood *et al*., 1999; Clarke *et al*., 2001)

ภาพที่ 2 แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae)

วงจรชีวิตของแมลงวันผลไม้

การเจริญเติบโตของแมลงวันผลไม้แบ่งเป็น 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ระยะหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย

ไข่ มีสีขาวขุ่นเหมือนน้ำนม ผิวเป็นมัน สะท้อนแสง รูปร่างคล้ายผลกล้วย มีขนาดค่อนข้างเล็ก ขนาดกว้าง ประมาณ 0.2 มิลลิเมตร ยาว 0.4 มิลลิเมตร ระยะไข่ กินเวลา 1 - 3 วัน ปกติฟักภายใน 2 วัน ที่อุณหภูมิ 28 - 32 องศาเซลเซียส ระยะไข่ อาศัยอยู่ในผลไม้ ระยะนี้การใช้สารกำจัดแมลง ประเภทดูดซึม อาจสามารถทำลายไข่ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

หนอน ปกติมีสีขาว แต่อาจมีสีใกล้เคียงกับสีของพืชอาศัยได้ เช่น แมลงวันผลไม้ที่ทำลายอยู่ในผลมะม่วง อาจมีสีเหลืองอ่อน ตามสีเนื้อมะม่วง หรือแมลงวันผลไม้ที่กินอยู่ในแตงโม อาจมีสีแดงเรื่อๆ ตามสีเนื้อแตงโมก็ได้ แต่เมื่อหนอนเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว มีสีขาวทึบแสง ลักษณะตัวหนอนเมื่อโตเต็มที่มีรูปร่างกลมยาวรี หัวแหลม ท้ายป้าน ไม่มีขา ตัวหนอนเคลื่อนที่โดยการยืดหดลำตัวซึ่งเป็นปล้องๆ ส่วนหัวเป็นตะขอแข็งสีดำหนึ่งคู่ ตัวหนอนมีความสามารถพิเศษในการงอตัวและดีดกระเด็นไปได้ไกลประมาณ 30 เซนติเมตร ลักษณะพิเศษนี้ เกิดเฉพาะหนอนที่ใกล้เจริญเต็มที่ (หนอนวัย 3) แล้วเท่านั้น การดีดตัวนี้เป็นการช่วยให้หนอนหาทำเลที่เหมาะสม เพื่อเข้าดักแด้ในดิน ที่อุณหภูมิห้องปกติระยะหนอนประมาณ 5 - 9 วัน ระยะหนอนอาศัยอยู่ในผลไม้ เป็นระยะเดียวที่ทำลายผลผลิต ระยะนี้การใช้สารกำจัดแมลง แทบไม่สามารถทำลายตัวหนอนได้เลย เนื่องจากแมลงวันผลไม้เมื่อฟักออกจากไข่เป็นตัวหนอนชอนไชกินเนื้อผลไม้ลึกลงไปในใจกลาง

ผลเรื่อยๆ ตามระยะการเจริญเติบโต หนอนในวัย 2 และ 3 อยู่ลึกลงไปในเนื้อผลไม้ ทำให้สารกำจัดแมลงไม่สามารถซึมลงไปในปริมาณที่มากพอทำลายตัวหนอนได้

ดักแด้ มีรูปร่างกลมรีคล้ายถังเบียร์ ลำตัวเป็นปล้องๆ ตามขวาง มีสีน้ำตาลอ่อน และสีเข้มขึ้นเรื่อยๆ จนเป็นตัวเต็มวัย ดักแด้มีขนาด 2 × 4 มิลลิเมตร ระยะดักแด้เป็นระยะที่แมลงอยู่เฉยๆ ไม่เคลื่อนไหวใดๆ ดักแด้อาศัยอยู่ในดินลึกประมาณ 2 - 5 เซนติเมตร ระยะดักแด้ประมาณ 10 - 12 วัน

ตัวเต็มวัย เป็นแมลงวันผลไม้ที่มีสีน้ำตาลปนดำ บางชนิดมีสีน้ำตาลปนแดง แต่มักมีแถบสีเหลืองที่ส่วนอกของแมลง ปีกบางใสสะท้อนแสง เมื่อดูโดยภาพรวมจึงถูกเรียกว่าแมลงวันทอง ระยะตัวเต็มวัยไม่ทำลายพืชผล กินน้ำหวาน โปรตีน และวิตามิน ที่มีในสิ่งขับถ่ายของแมลงอื่น นก ตลอดจนน้ำยางจากแผลต้นไม้ น้ำหวานจากพืช และเชื้อจุลินทรีย์บนพืชที่มีอยู่ในธรรมชาติเป็นอาหาร ตัวเต็มวัยหลังออกจากดักแด้แล้ว ประมาณ 10 วัน จึงเริ่มวางไข่ ในผลไม้ที่อาศัยอยู่ แมลงตัวเต็มวัยในระยะแรกจะต้องการอาหารที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบมาก เพื่อพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์และวางไข่ แมลงวันผลไม้สามารถวางไข่ได้ทุกวันนานเกือบตลอดอายุขัย โดยสามารถวางไข่ได้ทุกวัน เฉลี่ยวันละ ประมาณ 50 ฟอง ตลอดอายุจะวางไข่ได้มากถึง 3,000 ฟอง ดังนั้นแมลงวันผลไม้จึงมีอัตราการขยายพันธุ์ค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับแมลงอื่นๆ บางชนิด แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยมีอายุเฉลี่ยประมาณ 1 - 3 เดือน กินอาหารจากพืชอาศัย ระยะตัวเต็มวัยเป็นระยะเดียวของแมลงที่เกษตรกรสามารถกำจัดแมลงนี้ได้ หากทำการพ่นสารกำจัดแมลงให้ถูกตัว หรือทำการพ่นเหยื่อพิษล่อแมลงวันผลไม้ (กลุ่มส่งเสริมและพัฒนาเทคโนโลยีรังสี, มปป.)

วิธีป้องกันและกำจัดแมลงวันผลไม้

1. การเขตกรรมการเก็บผลที่ถูกทำลายเผาหรือ ขุดหลุมฝัง เพื่อเป็นการลดการ แพร่ขยายพันธุ์ในรุ่นต่อไป และตัดแต่งกิ่งทรงพุ่มให้โปร่ง รักษาแปลงปลูกให้สะอาดอยู่เสมอ มีการตัดแต่งกิ่งตามสมควร ไม่ให้เกิดร่มเงามากเกินไป เพื่อให้สัตว์และแมลงศัตรูธรรมชาติ สามารถมีส่วนช่วยในการทำลายแมลงวันผลไม้

2. การห่อผลด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ หรือถุงพลาสติก เพื่อป้องกันไม่ให้แมลงวันผลไม้มาวางไข่ในผลไม้

3. การใช้สารล่อดักทำลายแมลงวันผลไม้เพศผู้ สารที่ใช้ล่อแมลงวันผลไม้เพศผู้มีหลายชนิดทั้งที่ได้จากธรรมชาติ เช่น ดอกว่านเดหลี ใบกะเพรา และที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ เช่น สารเมทธิลยูจินอล (methyl eugenol)

4. พ่นด้วยสารกำจัดแมลง

5. พ่นด้วยเหยื่อพิษ เหยื่อพิษที่ใช้ส่วนมากคือสารโปรตีนไฮโดรไลเซท (protein hydrolysate) แมลงวันผลไม้ ทั้งเพศผู้และเพศเมีย มากินเหยื่อพิษนี้แล้วตายส่วนใหญ่มักใช้ร่วมกับการใช้สารล่อและกับดัก

6. การทำหมันแมลง วิธีนี้ทำได้โดยนำดักแด้แมลงวันผลไม้ชนิดเดียวกันในพื้นที่จำนวนมากมาฉายรังสี ทำให้แมลงเหล่านี้เป็นหมัน แล้วปล่อยแมลงที่เป็นหมันนี้เข้าไปในสวนผลไม้ เพื่อผสมพันธุ์กับแมลงในธรรมชาติ เพื่อลดการขยายพันธุ์ทำให้แมลงวันผลไม้ในธรรมชาติลดลง จนไม่ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอีกต่อไป

7. การกำจัดและควบคุมโดยชีววิธี เช่น การใช้แมลงตัวเบียน และการควบคุมแมลงผลไม้ด้วยเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ซึ่งเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีการนำมาใช้ (กรมส่งเสริมการเกษตร, มปป.)

3. การใช้เชื้อราโรคแมลง สกุล *Metarhizium* ควบคุมแมลงวันผลไม้

เชื้อราโรคแมลง สกุล *Metarhizium* ได้ถูกนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิดในแมลงหลายอันดับ เช่น ด้วง (Klein and Lacey, 1999) หนอนผีเสื้อ (Furlong and Pell, 2001) แมลงสาบ (Quesada - Moraga *et al*., 2004) แมลงวันผลไม้ (Ekesi *et al*., 2007) และตั๊กแตน (Peng *et al*., 2008) เป็นต้น

เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* สามารถเข้าทำลายแมลงวันแตง *B. cucurbitae* ได้ อีกทั้งยังสามารถลดการวางไข่ของตัวเมียที่ติดเชื้อ และเชื้อราโรคแมลงยังสามารถแพร่กระจายจากตัวที่ติดเชื้อไปยังตัวปกติได้โดยผ่านพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ (ปาณิศา, 2558; Thaochan and Ngampongsai, 2015) นอกจากนี้เชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* ซึ่งเป็นเชื้อราในกลุ่มเดียวกันเป็นเชื้อราชนิดที่สามารถเข้าทำลายแมลงได้หลายระยะของการเจริญของแมลง ไม่ว่าจะเป็นระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย (Castillo *et al*., 2000; Lezama - Gutierrez *et al*., 2000; Ekesi *et al*., 2002)

นริศ และอนุชิต (2551) ทำการทดสอบเชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* กับตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *B. papayae* Drew & Hancock สามารถทำให้เกิดโรคกับแมลงวันผลไม้ได้ เมื่อทำการศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อราในประชากรแมลงวันผลไม้ที่ติดเชื้อต่อประชากรแมลงวันผลไม้ปกติ แมลงวันผลไม้ที่ติดเชื้อสามารถแพร่กระจายเชื้อราไปสู่แมลงวันผลไม้ปกติได้ โดยเฉพาะในช่วงที่แมลงมีการเข้าไปผสมพันธุ์กัน (นริศ และคณะ, 2554; Hedstrom and Monge-Najera, 1998) นอกจากนี้แมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ติดเชื้อมีผลต่อการจับคู่ผสมพันธุ์กัน โดยตัวผู้ที่ติดเชื้อใช้ระยะเวลาในการผสมพันธุ์นานกว่าตัวผู้ที่ปกติ (Dimbi *et al*., 2009) ในตัวเต็มวัยของแมลงวัน

ผลไม้ สกุล *Ceratitis capitata* (Wiedemann) และ *C. rosa* var. *fasciventris* Karsch เชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* สามารถก่อให้เกิดโรคได้เช่นกัน โดยหลังจากการปลูกเชื้อ 4 วัน โดยมีอัตราการตายอยู่ที่ 7 – 100 เปอร์เซ็นต์ และ 11.4 – 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Dimbi *et al*., 2003)

นอกจากนี้ยังมีการนำเชื้อราดังกล่าวไปประยุกต์ใช้กับระยะการเจริญเติบโตอื่นๆ ของแมลงวันผลไม้ เช่น ตัวหนอน ระยะที่ 3 ซึ่งเป็นระยะสุดท้ายก่อนเข้าดักแด้ สามารถทำลายตัวหนอนระยะดังกล่าวรวมถึงดักแด้ได้และลดจำนวนตัวเต็มวัยที่กำลังลอกคราบ (Ekesi *et al*., 2002) เชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* สามารถก่อให้เกิดโรคได้ทั้งในระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *Anastrepha ludens* (Loew) ที่ความหนาแน่นของสปอร์ 10^8 สปอร์/มิลลิลิตร โดยระยะตัวหนอนและระยะดักแด้ มีอัตราการตายสะสมอยู่ในช่วง 37.9 - 98.75 เปอร์เซ็นต์ มีค่า LT_{50} อยู่ในช่วง 1.8 - 6.2 วัน และมีค่า LC_{50} อยู่ที่ 3.7 - 4.8×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร (Lezama-Gutierrez *et al*., 2000)

เชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* สามารถทำให้เกิดโรคกับแมลงวันผลไม้ กับตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *B. papayae* (นริศและอนุชิต, 2551) และ *B. cucurbitae* (Couqillett) (นริศ, 2554) เมื่อทำการศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อราในประชากรแมลงวันผลไม้ที่ติดเชื้อต่อประชากรแมลงวันผลไม้ปกติ แมลงวันผลไม้ที่ติดเชื้อสามารถแพร่กระจายเชื้อราไปสู่แมลงวันผลไม้ปกติได้ โดยเฉพาะในช่วงที่แมลงมีการเข้าไปผสมพันธุ์กัน (Hedstrom and Monge-Najera, 1998; นริศ และคณะ, 2554) นอกจากนี้แมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ติดเชื้อมีผลต่อการจับคู่ผสมพันธุ์กัน โดยตัวผู้ที่ติดเชื้อใช้ระยะเวลาในการผสมพันธุ์นานกว่าตัวผู้ที่ปกติ (Dimbi *et al*., 2009) และจำนวนครั้งของการจับคู่ผสมพันธุ์จะลดลงตามจำนวนที่ติดเชื้อราเพิ่มขึ้น (นริศ และคณะ, 2554) นอกจากนี้แมลงวันผลไม้ที่ติดเชื้อราโรคแมลงในความหนาแน่นที่สูงช่วยแพร่กระจายเชื้อราไปสู่ประชากรปกติได้ดีกว่าแมลงวันผลไม้ที่ติดเชื้อราในความหนาแน่นที่ต่ำ (นริศ และคณะ, 2555) นอกจากนี้ยังมีการนำเชื้อราดังกล่าวไปประยุกต์ใช้กับระยะอื่นๆ ของแมลงวันผลไม้ เช่น ตัวหนอนระยะ 3 ซึ่งเป็นระยะสุดท้ายก่อนเข้าดักแด้ สามารถทำลายตัวหนอนระยะดังกล่าวรวมถึงดักแด้ได้และลดจำนวนตัวเต็มวัยที่กำลังลอกคราบใหม่ที่ออกมาได้ (Ekesi *et al*., 2002)

ในแมลงวันผลไม้ *A. ludens* เชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* สามารถก่อให้เกิดโรคได้ทั้งในระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ที่ความหนาแน่นของสปอร์ 10^8 สปอร์/มิลลิลิตร โดยระยะตัวหนอน และระยะดักแด้มีอัตราการตายสะสมอยู่ในช่วง 37.9 - 98.75 เปอร์เซ็นต์มีค่า LT_{50} อยู่ในช่วง 1.8 - 6.2 วัน และมีค่า LC_{50} อยู่ที่ 3.7 - 4.8 × 10^5 สปอร์/มิลลิลิตร (Lezama - Gutierrez *et al*., 2000) เมื่อเปรียบเทียบการใช้สปอร์ของเชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* ที่อยู่ในแบบแห้งกับแบบเปียก สปอร์แบบแห้งสามารถทำให้อัตราการตายในแมลงวันผลไม้ *C. capitata* สูงกว่าการใช้ในสปอร์

แบบเปียก แต่สปอร์ทั้งสองแบบมีอัตราการตายของแมลงสูงถึง 95 – 100 เปอร์เซ็นต์ และการใช้เชื้อราในสปอร์แบบแห้งทำให้แมลงมีอัตราการตายสูงขึ้น นอกจากนี้การถ่ายทอดเชื้อจากตัวผู้ติดเชื้อไปสู่ตัวเมียปกติจะมีอัตราการถ่ายทอดเชื้อ 90 เปอร์เซ็นต์ ในสปอร์แบบเปียกและ 100 เปอร์เซ็นต์ในสปอร์แบบแห้ง ซึ่งสูงกว่าการถ่ายทอดเชื้อจากตัวเมียติดเชื้อสู่ตัวผู้ปกติ ซึ่งมีอัตราการถ่ายทอดเชื้อ 60 เปอร์เซ็นต์ ในสปอร์แบบเปียกและ 90 เปอร์เซ็นต์ ในสปอร์แบบแห้ง (Quesada - Moraga *et al*., 2007)

ในปัจจุบันเกษตรกรมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชหลายชนิดในพื้นที่ทำการเกษตร เช่น สารกำจัดแมลง สารกำจัดไร สารกำจัดเชื้อรา และสารกำจัดวัชพืช ซึ่งอาจเป็นปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* ในการเข้าทำลายแมลงวันผลไม้ในระยะดักแด้ ดังนั้นการนำเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมแมลงวันผลไม้ในระยะดักแด้ ซึ่งอาศัยอยู่ในดินจำเป็นต้องมีการศึกษา จึงจำเป็นต้องศึกษาถึงผลกระทบดังกล่าวเพื่อนำผลการวิจัยที่ได้ไปเผยแพร่ให้กับเกษตรกร และผู้ที่เกี่ยวข้องเมื่อต้องการใช้สารกำจัดศัตรูพืชร่วมกับเชื้อราโรคแมลงในการควบคุมแมลงวันผลไม้ในระยะดักแด้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.เพื่อศึกษาผลกระทบของสารกำจัดศัตรูพืชต่อการเจริญเติบโต กิจกรรมของเอนไซม์ อัตราการหายใจ และความมีชีวิตของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04

2. เพื่อศึกษาความสามารถของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ในการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆในสภาพห้องปฏิบัติการ และสภาพเรือนทดลอง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้แนวทางการใช้เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ในการควบคุมดักแด้แมลงวันผลไม้ *B.dorsalis* ในดินที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 และอนาคตเพื่อให้เกษตรกรลดการใช้สารกำจัดศัตรูพืชลงได้ ลดรายจ่าย เพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร และเป็นวิธีการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

1. กระดาษกรอง Whatmann#1
2. กล่องพลาสติกใสขนาด เล็ก กลาง และใหญ่
3. กล้องจุลทรรศน์ ชนิด compound และ stereo binocular
4. กล้องถ่ายรูป (camera)
5. เครื่องแก้ว ได้แก่ cover slipกระบอกตวง ขวดดูแรนขวดรูปชมพู่ ขวดโหลจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บีกเกอร์ แผ่นสไลด์แท่งแก้วสามเหลี่ยมหลอดทดลอง หลอดหยด
6. เครื่องเขย่าผสม (vortex mixture)
7. เครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียด (analytical balance)
8. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air-flow cabinet)
9. ตู้บ่มเชื้อ
10. ตู้แช่ (Freezer)
11. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
12. ถังฉีดพ่นสารเคมี
13. ไมโครเวฟ (microwave)
14. หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
15. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
16. อุปกรณ์ในการแยกเชื้อ เช่น cork borer, micropipette เข็มเขี่ย ช้อนตักสารตะเกียงแอลกอฮอล์ ปากคีบ และอื่น ๆ

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. Sabouraud Dextrose Agar plus Yeast (SDAY)
2. SDAY + Antibiotic + Fungicide

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมีทั่วไป

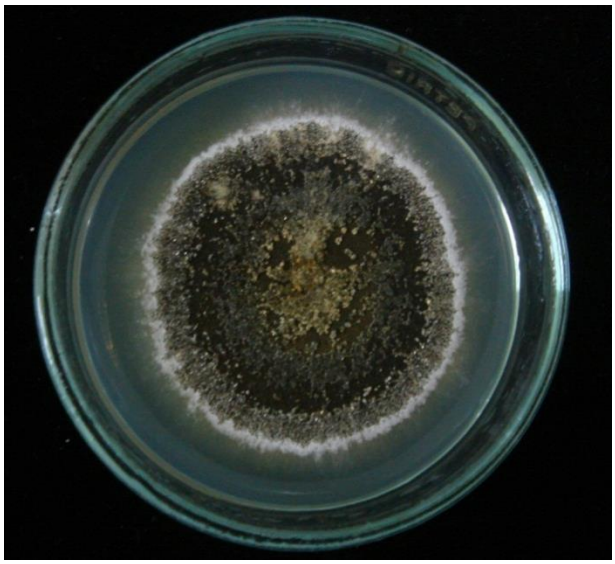
1. Agar
2. Captan
3. Chloramphenical
4. Congo red
5. Dextrose
6. Dimethyl sulfoxide
7. Ethanol
8. Ethyl acetate
9. Glucose
10. HCl
11. Hexane
12. K_2HPO_4
13. KCl
14. Lactophenol cotton blue
15. Methanol
16. $MgSO_4.7H_2O$
17. NaCl
18. NH_4NO_3

สารเคมีสำหรับการทดสอบ

1. สารกำจัดแมลง 4 ชนิด
    1.1. carbaryl
    1.2. imidacloprid
    1.3. deltamethin
    1.4. chlorpyrifos
2. สารกำจัดไร 3 ชนิด
    2.1. sulfur
    2.2. abamectin
    2.3. dicofol
3. สารกำจัดเชื้อรา 4 ชนิด
    3.1. copper hydroxide
    3.2. mancozeb
    3.3. cholorothalonil
    3.4. carbendazim
4. สารกำจัดวัชพืช 4 ชนิด
    4.1. paraquat dichloride
    4.2. glyphosate
    4.3. atrazine
    4.4. diuron

การเตรียมเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense*

เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 (นริศ, 2554) (ภาพที่ 3) ได้รับจากศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคใต้ เพาะเลี้ยงในอาหาร Sabouraud Dextrose Agar plus Yeast (SDAY) ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร บ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาพมืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์หรือจนกว่าเชื้อราสร้างสปอร์จนสมบูรณ์



ภาพที่ 3 เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ได้รับจากศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคใต้

การเตรียมสปอร์แขวนลอย ใช้น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อผสม 0.1 % Tween 80 เทลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 5 มิลลิลิตรใช้แผ่นสไลด์ขูดผิวหน้าโคโลนีเบาๆ เทสปอร์ใส่ลงในบีกเกอร์ที่ผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อ นับสปอร์ด้วย hemacytometer แล้วปรับความหนาแน่นให้ได้ 1×10^8 สปอร์/มิลลิลิตร

การเตรียมแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel)

เก็บรวบรวมผลฝรั่งที่ถูกแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เข้าทำลายจากแปลงเกษตรกรในเขตจังหวัดสงขลา ใส่ในกล่องพลาสติกใสที่ฝาเจาะรูระบายอากาศ ขนาดกว้าง × ยาว × สูง เท่ากับ 18.5 × 27 × 10 เซนติเมตร ด้านล่างของกล่องรองพื้นด้วยเวอร์มิคลูไลน์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วประมาณ 1 เซนติเมตร เพื่อให้หนอนออกมาเข้าดักแด้ บ่มทิ้งไว้ประมาณ 8 - 10 วัน จึงนำมาร่อนด้วยตะแกรงเพื่อแยกดักแด้ นำดักแด้ที่แยกได้ใส่กล่องพลาสติกใสที่ฝาเจาะรูระบายอากาศ ขนาด 10.5 × 10.5 × 6 เซนติเมตร เพื่อรอให้แมลงฟักออกจากดักแด้ เมื่อตัวเต็มวัยออกจากดักแด้ทำการ

จำแนกชนิดแล้วนำใส่กรงผ้ามุ้ง ขนาด 30 × 30 × 30 เซนติเมตร ภายในกรงมีน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำ เป็นอาหารของแมลง เลี้ยงแมลงจนตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 15 - 20 วัน หรือแมลงวันผลไม้เพศเมียผ่านการผสมพันธุ์ และพร้อมวางไข่โดยให้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เพศเมียเข้ามาวางไข่ที่กล่องพลาสติกเก็บไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร ที่เจาะรูรอบๆ กล่องเพื่อให้แมลงแทงอวัยวะวางไข่ ภายในบรรจุฟองน้ำ ขนาด 1 × 2 เซนติเมตร ที่ชุบด้วยน้ำฝรั่ง วางกล่องดักไข่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นย้ายไข่แมลงไปเลี้ยงบนอาหารเทียมตามสูตรของ Swaine และคณะ (1978 อ้างโดย แสน, 2529) ภายในกล่องเลี้ยงแมลง ขนาด 18.5 × 27 × 10 เซนติเมตร ที่รองพื้นด้วยเวอร์มิคลูไลน์อบฆ่าเชื้อ เพื่อให้หนอนเข้าดักแด้ จากนั้นเก็บรวบรวมดักแด้ใส่ในกรงเลี้ยงแมลงจนกระทั่งกลายเป็นตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมีย ให้อาหารตัวเต็มวัยด้วยน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำ (ภาพที่ 4) เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

ภาพที่ 4 อาหารสำหรับแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัย ประกอบด้วย น้ำ (ก) น้ำตาล (ข) และยีสต์ (ค)

การเตรียมสารกำจัดศัตรูพืช

เตรียมสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 ชนิดที่เกษตรกรใช้ในการกำจัดศัตรูพืช คือ สารกำจัดแมลง (insecticides) สารกำจัดไร (acaricides) สารกำจัดเชื้อรา (fungicides) และสารกำจัดวัชพืช (herbicides) ตามตารางที่ 3 โดยอัตราความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดใช้ตามอัตราการใช้ที่ฉลากแนะนำ

ตารางที่ 2 กลุ่มสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในการทดสอบ

ลำดับ	ชื่อการค้า	สารออกฤทธิ์	กลุ่มของสารเคมีออกฤทธิ์	ความเข้มข้น (ppm)	กลุ่มสารกำจัดศัตรูพืช
1.	เซฟดริน 85	carbaryl	carbamate	2,125	insecticide
2.	ซิสเกตท์ 10	imidacloprid	chloronicotinyl	75	insecticide
3.	ดีเบส	deltamethin	pyrethroid	15	insecticide
4.	แคลเทียม	chlorpyrifos	organophosphate	700	insecticide
5.	กำมะถันเมืองทอง	sulfur	sulfur	2,400	acaricide
6.	อะบาเม็กติน	abamectin	avermectin	9	acaricide
7.	ดีโอร่า	dicofol	organochlorine	277.5	acaricide
8.	โคบาคอป	copper hydroxide	copper hydroxide	770	fungicide
9.	โรแทน เอ็ม	mancozeb	ethylenebis	2,000	fungicide
10.	การานิล 75	chlorothalonil	chloronitrile	1,125	fungicide
11.	ซิลโต้ เอสซี	carbendazim	benzimidazole	250	fungicide
12.	ฟูโซน	paraquat dichloride	bipyridinium	157.7	herbicide
13.	ไกลโฟเซต 48	glyphosate	glycine derivative	274.3	herbicide
14.	อาทราซีน 80	atrazine	triazines	5,714.3	herbicide
15.	ไดยูรอน	diuron	urea	5,714.3	herbicide

วิธีการวิจัย

1. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการงอกของสปอร์เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ

สารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดในกลุ่มสารกำจัดศัตรูพืชทำการทดสอบแยกกัน คือ สารกำจัดแมลง สารกำจัดไร สารกำจัดเชื้อราและสารกำจัดวัชพืช ความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดใช้ตามคำแนะนำบนฉลากของบรรจุภัณฑ์ส่วนชุดควบคุมใช้อาหาร SDAY ที่ไม่ผสมสารกำจัดศัตรูพืช วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) รวมทั้งหมด 16 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ วิเคราะห์ ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Range Test

นำอาหารเทียม SDAY ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อในขวด duran ขนาด 200 มิลลิลิตร ไปอุ่นให้อาหารเหลวด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 10 นาที รอจนกว่าอาหารเหลวมีอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นใส่สารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิด (ตารางที่ 2) ลงไปในขวดอาหาร เขย่าเบาๆ จนสารกำจัดศัตรูพืชกระจายทั่วขวดอาหาร จากนั้นนำไปเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ petri dish ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร รอจนอาหารแข็งตัว จากนั้นนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ที่ความหนาแน่น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เทลงบนหน้าอาหารที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดเกลี่ยหน้าอาหารด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยมปลอดเชื้อเพื่อให้สปอร์เชื้อรากระจายทั่วหน้าอาหาร โดยเตรียมภายใต้ตู้ปลอดเชื้อ นำจานอาหารไปบ่มไว้ในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ในสภาพมืด บันทึกเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ที่เวลา 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง เกณฑ์การงอกของสปอร์ตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ต้องมีส่วนของ germ tube ยาวเกินครึ่งหนึ่งของความกว้างของสปอร์ สุ่มนับสปอร์จำนวน 100 สปอร์ต่อซ้ำ

2. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อราที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืช และวางแผนการทดลอง ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

จากนั้นนำเส้นใยของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ที่เลี้ยงบนจานอาหาร SDAY เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เจาะด้วย cork borer ปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร ย้ายลงตรงจุดกึ่งกลางของจานอาหารที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยเตรียมภายใต้ตู้ปลอดเชื้อ นำจานอาหารไปบ่มไว้ในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ในสภาพมืด บันทึกการเจริญของเส้นใย วันที่ 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 บนจานอาหาร

3. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อราที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืช ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ส่วนชุดควบคุมใช้อาหาร SDAY + colloidal chitin 2 % ที่ใส่น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) ทั้งหมด 16 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ วิเคราะห์ ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Range Test วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โดยใช้ค่า enzymatic index (Florencio *et al*., 2012)

3.1 การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส (chitinase)

เตรียมอาหารเทียม SDAY + colloidal chitin 2 % เพื่อทดสอบการสร้างเอนไซม์ไคติเนสผสมกับสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิด (ตารางที่ 2) นำเส้นใยของเชื้อรา *M. guizhouense* PSUM04 ที่เลี้ยงในจานอาหาร SDAY อายุ 24 ชั่วโมง เจาะด้วย cock borer ปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 มิลลิเมตรย้ายลงตรงจุดกึ่งกลางของจานอาหารที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยเตรียมภายใต้ตู้ปลอดเชื้อ นำจานอาหารไปบ่มไว้ในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ในสภาพมืด สำหรับการวัดการสร้างเอนไซม์ไคติเนสของเชื้อราบนจานอาหาร SDAY + colloidal chitin 2 % นำจานอาหารที่มีการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคแมลง ที่อายุ 5 และ 7 วัน เททับด้วย 0.1 % congo red ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเททิ้งแล้วเติมสาร 1 M NaCl ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วบ่มเป็นเวลา 30 นาที วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีและวงใสรอบโคโลนีของเชื้อรา

3.2 การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส (protease)

เตรียมอาหารเทียม SDAY + skim milk 3% เพื่อทดสอบการสร้างเอนไซม์โปรตีเอสผสมกับสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิด (ตารางที่ 2) การเตรียมเส้นใยของเชื้อราและการทดสอบดำเนินการตามวิธีการ 3.1 สำหรับการวัดการสร้างเอนไซม์โปรตีเอสของเชื้อรา สามารถสังเกตวงใสจากการย่อยของ skim milk บนจานอาหารได้ทันทีนำจานอาหารที่มีการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคแมลง ที่อายุ 5 และ 7 วัน วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีและวงใสรอบโคโลนีของเชื้อรา

จากนั้นนำค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสและโคโลนีมาคำนวนหาค่าดัชนีเอนไซม์ (enzymatic index) ตามสมการ (Florencio *et al*., 2012)

$$\text{ค่า enzymatic index} = \frac{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส}}{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี}}$$

4. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชในดินต่อความมีชีวิตรอดของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ทดสอบความมีชีวิตรอดของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ในดินที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืช 15 ชนิด (ตารางที่ 2) ส่วนชุดควบคุมมีจำนวน 2 ชุดด้วยกัน คือ ชุดที่มีดินเพียงอย่างเดียว กับชุดที่มีดินผสมเชื้อราแต่ไม่ใส่สารกำจัดศัตรูพืช วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) ทั้งหมด 17 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ

เตรียมดินร่วนที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์เป็นเวลา 15 นาที จำนวน 100 กรัม/ซ้ำ ใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด กว้าง×ยาว×สูง เท่ากับ 10×10×10 เซนติเมตร ที่ฝาด้านบนเจาะรูและบุด้วยผ้ามุ้งเพื่อให้ระบายอากาศ ใส่สารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิด (ตารางที่ 2) ลงในดิน เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาณ 20 มิลลิลิตรเพื่อให้เกิดความชื้นจากนั้นวางทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เติมสปอร์แขวนลอยของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ที่ความหนาแน่น 1×10^8 สปอร์/มิลลิลิตร โดยเทให้ทั่วหน้าดิน บ่มดินในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ในสภาพมืด จากนั้นสุ่มเก็บดินภายในกล่องแต่ละทรีทเมนต์ ปริมาณ1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองขนาด 2 × 15 เซนติเมตร เขย่าด้วย vortex เป็นเวลา 60 วินาที นำสารละลายดินที่ได้มา dilution plate technique ทั้งหมดสามครั้งจนได้ความเข้มข้น 10^{-3} ดูดสารละลายที่ความเข้มข้น 10^{-3} ปริมาณ 250 ไมโครลิตร ลงบนจานอาหารเทียมเฉพาะ (SDAY + fungicide + antibiotic) (นริศ, 2554) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เกลี่ยหน้าอาหารด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยมปลอดเชื้อจนหน้าอาหารแห้ง จำนวน 4 ซ้ำ จากนั้นนำจานอาหารไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ในสภาพมืด เป็นเวลา 15 วัน จากนั้นตรวจนับโคโลนีเชื้อราที่เจริญในจานอาหาร สุ่มดินทุกๆ 15 วัน อีก 6 ครั้ง เป็นเวลา 3 เดือน

เกณฑ์ประเมินและการกำหนดเครื่องหมายของจำนวนโคโลนีเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ที่ปรากฏบนจานอาหารที่ใช้ตรวจสอบเชื้อรา แบ่งได้ ดังนี้

ไม่ปรากฏโคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 แทนด้วยเครื่องหมาย (-)

ปรากฏโคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 จำนวน 1 - 30 โคโลนี แทนด้วยเครื่องหมาย (+)

ปรากฏโคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 จำนวน 31 - 60 โคโลนี แทนด้วยเครื่องหมาย (++)

ปรากฏโคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 จำนวน 61 โคโลนีขึ้นไป แทนด้วยเครื่องหมาย (+++)

5. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชในดินต่ออัตราการหายใจของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ

คัดเลือกสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มละ 2 ชนิดเป็นตัวแทนในการศึกษา โดยคัดเลือกจากผลการทดลองที่ 1 – 4 โดยคัดเลือกสารกำจัดศัตรูพืชที่เป็นผลในทางบวกและในทางลบของการทดลอง โดยแต่ละทรีทเมนต์ประกอบด้วยสารกำจัดแมลง 2 ชนิด สารกำจัดไร 2 ชนิด สารกำจัดเชื้อรา 2 ชนิด และสารกำจัดวัชพืช 2 ชนิด สำหรับชุดควบคุมมีจำนวน 2 ชุด คือ ชุดที่มีดินเพียงอย่างเดียว กับชุดที่มีดินผสมเชื้อราโรคแมลงแต่ไม่ใส่สารกำจัดศัตรูพืชรวมทั้งหมด 10 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD)

เตรียมดินร่วนที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ความดัน 121 เป็นเวลา 15 นาที จำนวน 100 กรัม ใส่กล่องปิด ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ใส่น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 20 มิลลิลิตร ลงในดินเพื่อให้ความชื้น หลังจากใส่น้ำวางทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ใส่เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ที่เลี้ยงบนข้าวอายุ 10 วัน ปริมาตร 1.5 กรัม โดยกระจายให้ทั่วหน้าดิน จากนั้นนำบีกเกอร์ ขนาด 40 มิลลิลิตร ที่บรรจุน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาณ 20 มิลลิลิตร วางลงบนหน้าดินเพื่อเพิ่มความชื้นภายในขวด แล้วนำบีกเกอร์อีกใบขนาด 40 มิลลิลิตร ที่บรรจุ 0.3 M NaOH ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ลงไปในขวดเดียวกัน เพื่อดักจับปริมาณ CO_2 ภายในกล่อง จากนั้นปิดปากกล่องพันด้วย parafilm เพื่อป้องกันการรั่วไหลของอากาศ นำไปบ่มไว้ที่ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ในสภาพมืด เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างออกมาวัดกิจกรรมการหายใจของเชื้อราโรคแมลง (fungal respiratory activity) ในครั้งที่ 1 โดยนำบีกเกอร์ที่บรรจุ 0.3 M NaOH ไป ไตเตรทด้วย 0.3 M HCl เพื่อวัดปริมาณ CO_2 ที่ละลายอยู่ในสารละลายดังกล่าว

แล้วนำไปคำนวณกิจกรรมการหายใจของเชื้อราตามวิธีการของ Jenkinson และ Powland (1976) อ้างอิงโดย Mochi *et al.,* (2005) จากนั้นในการวัดครั้งที่ 2 ใส่สารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิด (ตารางที่ 2) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ลงในดินที่เตรียมไว้ โดยเทลงไปให้ทั่วหน้าดิน จากนั้นนำใส่บีกเกอร์ ขนาด 40 มิลลิลิตรที่บรรจุ 0.3 M NaOH ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงไป นำไปบ่มไว้ที่ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส ในสภาพมืด บันทึกกิจกรรมการหายใจของเชื้อราทุกๆ 48 ชั่วโมงเป็นจำนวน 7 ครั้ง หลังจากนั้นวัดทุก 96 ชั่วโมง เป็นจำนวน 3 ครั้งจนครบ 26 วันของการทดลอง

6. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชในดินต่อการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ

เตรียมสารกำจัดศัตรูพืช และเตรียมดินเช่นเดียวกับการทดลองที่ 4

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) ทั้งหมด 17 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 5 ซ้ำ วิเคราะห์ ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Range Test

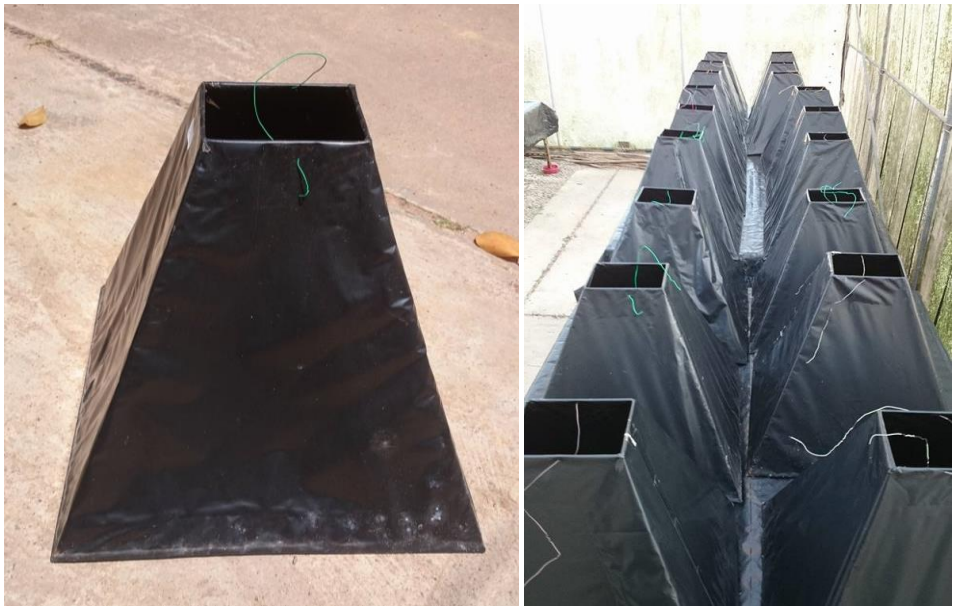
เตรียมดินร่วนที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 100 กรัม ใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด กว้าง × ยาว × สูง เท่ากับ 10 × 10 × 10 เซนติเมตร ที่ฝาด้านบนเจาะรู และบุด้วยผ้ามุ้งเพื่อให้ระบายอากาศ ใส่น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ลงในดินเพื่อให้ความชื้นหลังจากใส่น้ำวางทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง จากนั้นใส่สปอร์แขวนลอยของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ที่ความหนาแน่น 1×10^8 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร โดยเทลงให้ทั่วหน้าดิน จากนั้นนำดักแด้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* อายุ 1 - 2 วันจำนวน 20 ดักแด้ต่อซ้ำ นำไปบ่มในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิห้อง 27.0 ± 2.0 องศาเซลเซียส บันทึกจำนวนดักแด้ และตัวเต็มวัยที่ฟัก ทุกวันเป็นเวลา 10 วัน และบันทึกลักษณะของดักแด้ที่ถูกเชื้อราเข้าทำลาย นำดักแด้ที่สงสัยว่าถูกเชื้อราโรคแมลงเข้าทำลายไปฆ่าเชื้อที่ผิวภายนอกด้วย 70 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อสองครั้ง จากนั้นบ่มในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่รองด้วยกระดาษกรอง Whatmann#1 ชื้น เพื่อยืนยันการตายของแมลงวันผลไม้

7. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชในดินต่อการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพเรือนทดลอง

คัดเลือกสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มละ 2 ชนิด เป็นตัวแทนในการศึกษา โดยคัดเลือกจากผลการทดลองที่ 6 โดยคัดเลือกสารกำจัดศัตรูพืชที่เป็นผลในทางบวกและในทางลบของการทดลองโดยแต่ละทรีทเมนต์ประกอบด้วยสารกำจัดแมลง 2 ชนิด สารกำจัดไร 2 ชนิด สารกำจัดเชื้อรา 2 ชนิด และสารกำจัดวัชพืช 2 ชนิด สำหรับชุดควบคุมมีจำนวน 2 ชุด คือ ชุดที่มีดินเพียงอย่างเดียว กับชุดที่มีดินผสมเชื้อราโรคแมลงแต่ไม่ใส่สารกำจัดศัตรูพืช รวมทั้งหมด 10 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Ramdomized Complete Block Design, RCBD)

เตรียมดินที่ได้จากแปลกเกษตร เติมสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิด (ตารางที่ 2) ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ที่ความหนาแน่น 1×10^8 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เททั่วหน้าดิน แล้วนำดักแด้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* อายุ 1 - 2 วัน จำนวน 100 ดักแด้วางกระจายให้ทั่ว จากนั้นนำกรงทึบสีดำ ขนาด

กว้าง×ยาว×สูง เท่ากับ 50×50×50 เซนติเมตร (ภาพที่ 5) ส่วนปลายมีช่องเปิดสำหรับให้แสงสว่างล่อแมลงให้ขึ้นไปบนกล่องตรงปลายของกรงทึบปิดทับด้วยกล่องพลาสติกใสขนาดกลางทาภายในด้วยกาวดักแมลง เพื่อดักจับตัวเต็มวัยที่ออกมาจากดักแด้ มาวางทับลงไปในแต่ละบล็อก เพื่อป้องกันไม่ให้ตัวเต็มวัยที่ฟักออกจากดักแด้บินหนีไป ทำการทดลองในสภาพเรือนทดลอง (ภาพที่ 6) บันทึกจำนวนดักแด้และตัวเต็มวัยที่ฟักจากดักแด้ ทุกวันเป็นเวลา 10 วัน และบันทึกลักษณะของดักแด้ที่ถูกเชื้อราเข้าทำลาย นำดักแด้ที่สงสัยว่าถูกเชื้อราโรคแมลงเข้าทำลายไปฆ่าเชื้อที่ผิวภายนอกด้วย 70 เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อสองครั้ง จากนั้นบ่มในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่รองด้วยกระดาษกรอง Whatmann#1 ชื้น เพื่อยืนยันสาเหตุการตายของแมลงวันผลไม้



ภาพที่ 5 กรงทึบสีดำ สำหรับต้อนแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยที่ฟักจากดักแด้ ให้ขึ้นมาหาแสงสว่างในส่วนปลายของกรงที่มีกล่องพลาสติกในขนาดกลางวางปิดอยู่

ภาพที่ 6 โรงเรือนทดลอง ขนาด กว้าง×ยาว×สูง เท่ากับ 3×6×2.5 ตารางเมตร สำหรับทำการทดลอง

บทที่ 3

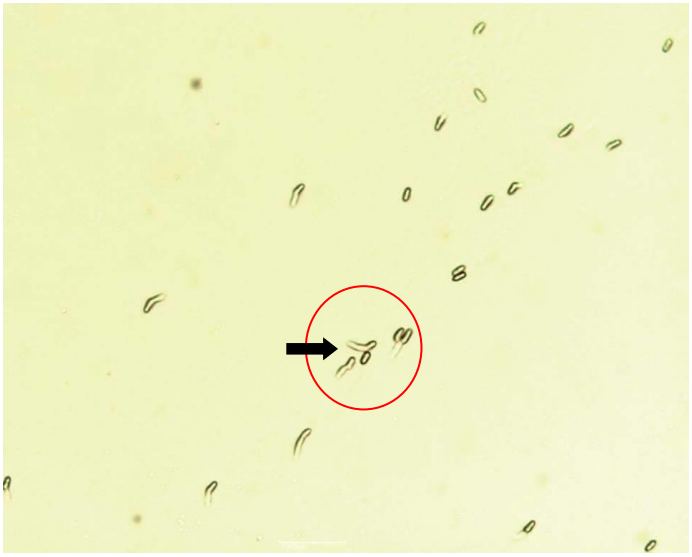
ผลและวิจารณ์ผล

1. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการงอกของสปอร์เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ผลของสารกำจัดศัตรูพืชบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการงอกของสปอร์เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 โดยสปอร์ที่ถือว่างอกต้องมีส่วนของ germ tube ยาวเกินครึ่งหนึ่งของความกว้างของสปอร์ (ภาพที่ 7) เมื่อแยกวิเคราะห์เป็นกลุ่มของสารกำจัดศัตรูพืช พบว่ากลุ่มสารกำจัดแมลง สาร carbaryl ไม่พบการงอกของสปอร์เชื้อราตลอดการทดลอง และเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง สาร chlorpyrifos ไม่พบการงอกของสปอร์เชื้อรา ส่วนสาร imidacloprid และสาร deltamethin มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา อยู่ที่ 8.00 ± 3.39 และ 17.80 ± 3.35 ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การงอก อยู่ที่ 8.00 ± 3.39

เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง สาร chlorpyrifos มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 43.60 ± 10.90 ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุม ส่วนสาร imidacloprid และสาร deltamethin มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 95.60 ± 2.30 และ 97.60 ± 1.82 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ที่มีเปอร์เซ็นต์การงอก อยู่ที่ 96.00 ± 2.92

เมื่อเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมง สาร imidacloprid สาร deltamethin และสาร chlorpyrifos มีเปอร์เซ็นต์การงอกไม่แตกต่างกับชุดควบคุมอยู่ที่ 98.60 ± 1.34, 100.00 ± 0.00 และ 96.20 ± 3.03 ตามลำดับ โดยชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 100.00 ± 0.00 และสาร imidacloprid สาร deltamethin สาร chlorpyrifos และชุดควบคุม มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดอยู่ที่ 100.00 ± 0.00 ที่เวลา 48 ชั่วโมง และเมื่อเวลาผ่านไป 60 ชั่วโมง พบว่าสารทั้งสามไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม



ภาพที่ 7 ลักษณะของสปอร์เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ที่งอกมีส่วนของ germ tube (ลูกศรสีดำ) ยาวเกินครึ่งหนึ่งของความกว้างของสปอร์

กลุ่มสารกำจัดไร สาร sulfur สาร abamectin และสาร dicofol ไม่พบการงอกของสปอร์ที่เวลา 12 ชั่วโมง และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง สารทั้งสามมีเปอร์เซ็นต์การงอกเกิดขึ้นอยู่ที่ 1.80 ± 2.05, 12.20 ± 5.89 และ 15.60 ± 6.23 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 96.00 ± 2.92 เมื่อเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมง สารทั้งสามมีเปอร์เซ็นต์ การงอกของสปอร์เชื้อราเพิ่มขึ้นอยู่ที่ 33.40 ± 4.22, 88.20 ± 2.86 และ 75.00 ± 9.35 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 100.00 ± 0.00 เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง สาร abamectin และสาร dicofol มีเปอร์เซ็นต์การงอกไม่แตกต่างกับชุดควบคุม แต่สาร sulfur มีเปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 64.00 ± 9.62 ซึ่งแตกต่างกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 100.00 ± 0.00 และเมื่อเวลาผ่านไป 60 ชั่วโมง พบว่าสารทั้งสามไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม

กลุ่มสารกำจัดเชื้อรา สาร mancozeb และสาร chlorothalonil ไม่พบการงอกของสปอร์ตลอดการทดลอง ส่วนสาร copper hydroxide มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราต่ำกว่าชุดควบคุมอยู่ที่ 1.40 ± 1.14 แต่สาร carbendazim มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราไม่แตกต่างกับชุดควบคุมอยู่ที่ 8.60 ± 3.13 ที่เวลา 12 ชั่วโมง โดยชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 8.00 ± 3.39 เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง สาร copper hydroxide และสาร carbendazim มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 64.60 ± 9.79 และ 66.00 ± 6.52 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา อยู่ที่ 96.00 ± 2.92 และเมื่อเวลาผ่านไป

36 ชั่วโมง สาร copper hydroxide และสาร carbendazim มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 89.60 ± 5.32 และ 100.00 ± 0.00 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 100.00 ± 0.00 และเมื่อเวลาผ่านไป 60 ชั่วโมง พบว่าสารทั้งสองไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม

และสารกำจัดวัชพืช สาร atrazine ไม่พบการงอกของสปอร์เชื้อราตลอดการทดลอง ส่วนสาร paraquat dichloride สปอร์เชื้อราเริ่มงอกที่เวลา 36 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 1.80 ± 1.30 เมื่อเวลาผ่านไป 48 และ 60 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 4.40 ± 2.51 และ 47.20 ± 8.35 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกับชุดความคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนสปอร์เชื้อราบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสาร diuron เริ่มงอกที่เวลา 48 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราต่ำอยู่ที่ 15.00 ± 4.12 และมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราเพิ่มขึ้นเป็น 23.60 ± 6.11 ที่เวลา 60 ชั่วโมง ซึ่งแตกต่างกับชุดความคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่สาร glyphosate มีการงอกของสปอร์เชื้อรา ตั้งแต่เวลา 12 ชั่วโมง โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 18.80 ± 2.59 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราสูงกว่าชุดควบคุมอีกด้วย และเมื่อเวลาผ่านไป 24, 36 และ 48 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราอยู่ที่ 95.80 ± 2.28, 99.00 ± 1.41 และ 100.00 ± 0.00 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกสปอร์ เชื้อรา ที่เวลา 24 และ 36 ชั่วโมงอยู่ที่ 96.00 ± 2.92 และ 100.00 ± 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การงอก (mean ± S.E.) ของสปอร์เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ภายใต้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ

กลุ่มสารกำจัดศัตรูพืช	สารออกฤทธิ์	การงอกของสปอร์เชื้อราโรคแมลง[1/]				
		12 ชม.	24 ชม.	36 ชม.	48 ชม.	60 ชม.
สารกำจัดแมลง	Carbaryl	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{d}
	Imidacloprid	8.00±3.39^{b}	95.60±2.30^{a}	98.60±1.34^{a}	100.00±0.00^{a}	100.00±0.00^{a}
	Deltamethin	17.80±3.35^{a}	97.60±1.82^{a}	100±0.00^{a}	100.00±0.00^{a}	100.00±0.00^{a}
	Chlorpyrifos	0.00±0.00^{c}	43.60±10.90^{c}	96.20±3.03^{a}	100.00±0.00^{a}	100.00±0.00^{a}
สารกำจัดไร	sulfur	0.00±0.00^{c}	1.80±2.05^{e}	33.40±4.22^{e}	64.00±9.62^{c}	96.20±3.90^{a}
	Abamectin	0.00±0.00^{c}	12.20±5.89^{d}	88.20±2.86^{b}	100.00±0.00^{a}	100.00±0.00^{a}
	Dicofol	0.00±0.00^{c}	15.60±6.23^{d}	75.00±9.35^{c}	98.20±2.05^{a}	100.00±0.00^{a}
สารกำจัดเชื้อรา	copper hydroxide	1.40±1.14^{c}	64.60±9.79^{b}	98.60±1.34^{a}	100.00±0.00^{a}	100.00±0.00^{a}
	Mancozeb	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{d}
	Chlorothalonil	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{d}
	Carbendazim	8.60±3.13^{b}	66.00±6.52^{b}	96.40±3.05^{a}	100.00±0.00^{a}	100.00±0.00^{a}
สารกำจัดวัชพืช	paraquat dichloride	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{e}	1.80±1.30^{f}	4.40±2.51^{e}	47.20±8.35^{b}
	Glyphosate	18.80±2.59^{a}	95.80±2.28^{a}	99.00±1.41^{a}	100.00±0.00^{a}	100.00±0.00^{a}
	Atrazine	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{d}
	Diuron	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{f}	15.00±4.12^{d}	23.60±6.11^{c}
ชุดควบคุม	SDAY	8.00±3.39^{b}	96.00±2.92^{a}	100.00±0.00^{a}	100.00±0.00^{a}	100.00±0.00^{a}

[1/]ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Tukey's Range Test (P<0.05)

จากตารางที่ 3 สรุปได้ว่า สารกำจัดศัตรูพืชที่มีผลโดยตรงต่อสปอร์เชื้อราโรคแมลง ได้แก่ สาร carbaryl สาร mancozeb สาร cholorothalonil และสาร atrazine ซึ่งทำให้สปอร์เชื้อราโรคแมลงไม่สามารถงอกได้บนจานอาหารที่ผสมสารดังกล่าวตลอดการทดลอง ส่วนสารกำจัดศัตรูพืชที่ไม่มีผลต่อการงอกของสปอร์เชื้อราโรคแมลง ได้แก่ สาร deltamethin และสาร glyphosate เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราสูงกว่าชุดควบคุม ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และสาร imidacloprid สาร carbendazim สารดังกล่าวไม่มีผลต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การงอกไม่แตกต่างกับชุดควบคุมตลอดการทดลอง

สารกำจัดศัตรูพืชถือได้ว่าเป็นปัจจัยภายนอกที่สำคัญต่อประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงของเชื้อราโรคแมลง (Flexer and Belnavis, 2000; Inglis *et al.,* 2001) ผลของสารกำจัดศัตรูพืชมีผลต่อเชื้อราโรคแมลงโดยตรง คือ ลดการงอกของสปอร์ ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ ลดความรุนแรงของเชื้อราและทำให้เชื้อราตาย (Alves *et al.,* 1998) โดยเฉพาะสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มสารกำจัดเชื้อรา มีผลกระทบโดยตรงต่อเชื้อราโรคแมลงมากที่สุด และการทดลองของ Saleem และคณะ (2012) รายงานว่า สารกำจัดศัตรูพืชมีค่าความเป็นพิษสูง โดยเฉพาะสารในกลุ่มสารกำจัดแมลงและสารกำจัดเชื้อรา พบว่ามีผลต่อการงอกและการสร้างสปอร์ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium* sp. ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้อีกด้วย

2. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ

การเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 เมื่อเลี้ยงเชื้อราโรคแมลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆพบว่าเชื้อราสามารถเจริญเติบโต และสร้างเส้นใยได้ (ภาพที่ 8) วิเคราะห์ที่อายุการเจริญของเส้นใยที่ 30 วัน แยกตามกลุ่มสารกำจัดศัตรูพืชดังนี้

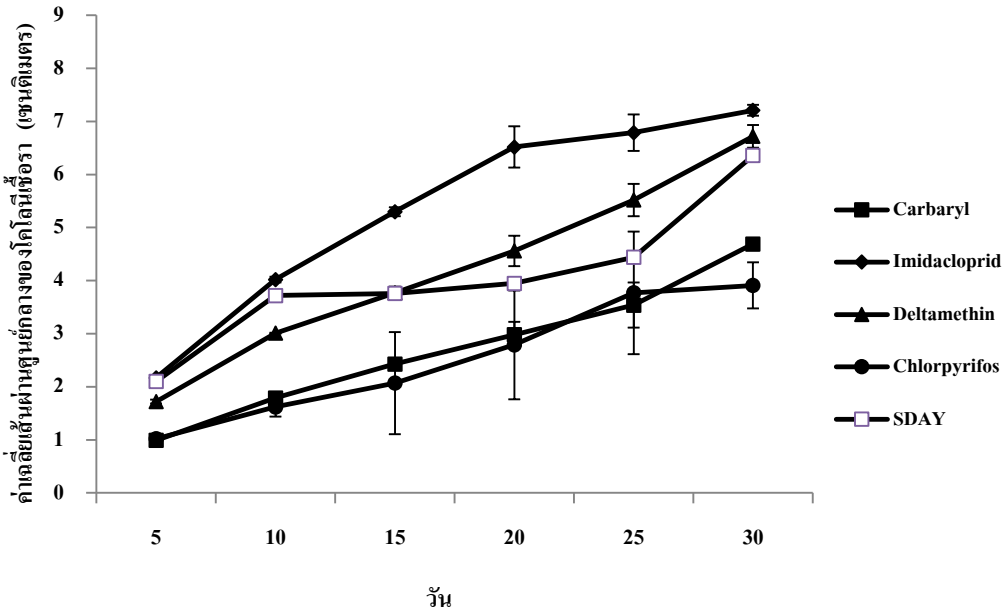
กลุ่มสารกำจัดแมลงที่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใย คือ สาร imidacloprid มีค่าการเจริญของเส้นใยสูงที่สุดอยู่ที่ 7.21 ± 0.23 เซนติเมตร ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมที่มีค่าการเจริญของเส้นใยอยู่ที่ 6.36 ± 0.97 เซนติเมตร ส่วนสาร deltamethin มีค่าการเจริญของเส้นใยไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ที่มีค่าการเจริญของเส้นใย อยู่ที่ 6.72 ± 0.48 เซนติเมตร แต่สาร carbaryl และ chlorpyrifos มีค่าการเจริญของเส้นใยต่ำกว่าชุดควบคุม อยู่ที่ 4.69 ± 0.07 และ 3.91 ± 0.61 เซนติเมตรตามลำดับ (ภาพที่ 9)

สารกำจัดไร สาร sulfur มีค่าการเจริญของเส้นใย อยู่ที่ 6.15 ± 0.22 เซนติเมตร ไม่มีความแตกต่างกับชุดควบคุม ส่วนสาร abamectin และสาร dicofol มีค่าการเจริญของเส้นใยต่ำอยู่ที่ 4.94 ± 0.17 และ 3.03 ± 0.12 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุม ที่มีค่าการเจริญของเส้นใยอยู่ที่ 6.36 ± 0.97 เซนติเมตร (ภาพที่ 10)

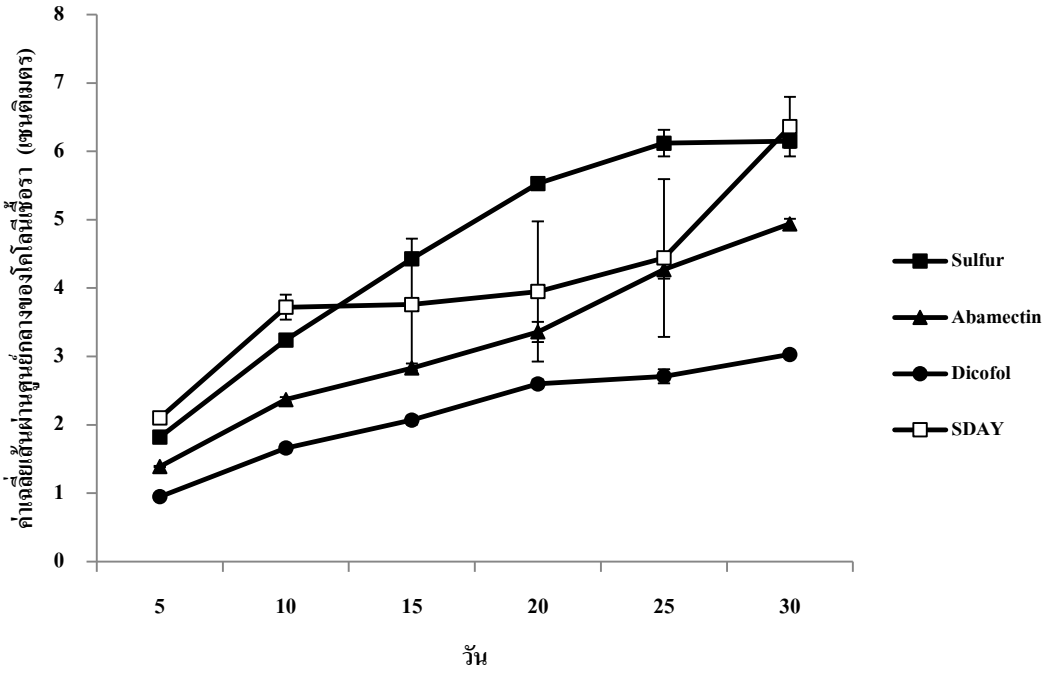
สารกำจัดเชื้อรา มีการเจริญของเส้นใยต่ำกว่าในชุดควบคุมทั้งหมด โดยสาร copper hydroxide สาร mancozeb และสาร cholorothalonil มีค่าการเจริญของเส้นใยอยู่ที่ 5.69 ± 0.21, 3.17 ± 0.20 และ 4.42 ± 0.10 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุม ที่มีค่าการเจริญของเส้นใยอยู่ที่ 6.36 ± 0.97 เซนติเมตร แต่สาร carbendazim ไม่พบการเจริญของเส้นใย (ภาพที่ 11)

และสารในกลุ่มสารกำจัดวัชพืช พบว่าสาร paraquat dichloride และสาร glyphosate มีค่าการเจริญของเส้นใยอยู่ที่ 7.22 ± 0.83 และ 8.27 ± 0.64 เซนติเมตรตามลำดับ โดยมีการเจริญของเส้นใยสูงกว่าชุดควบคุม ที่มีค่าการเจริญของเส้นใย อยู่ที่ 6.36 ± 0.97 เซนติเมตร แต่สาร atrazine และสาร diuron มีค่าการเจริญของเส้นใยอยู่ที่ 4.67 ± 0.11 และ 2.84 ± 0.75 เซนติเมตร ซึ่งมีค่าการเจริญของเส้นใยต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 12)

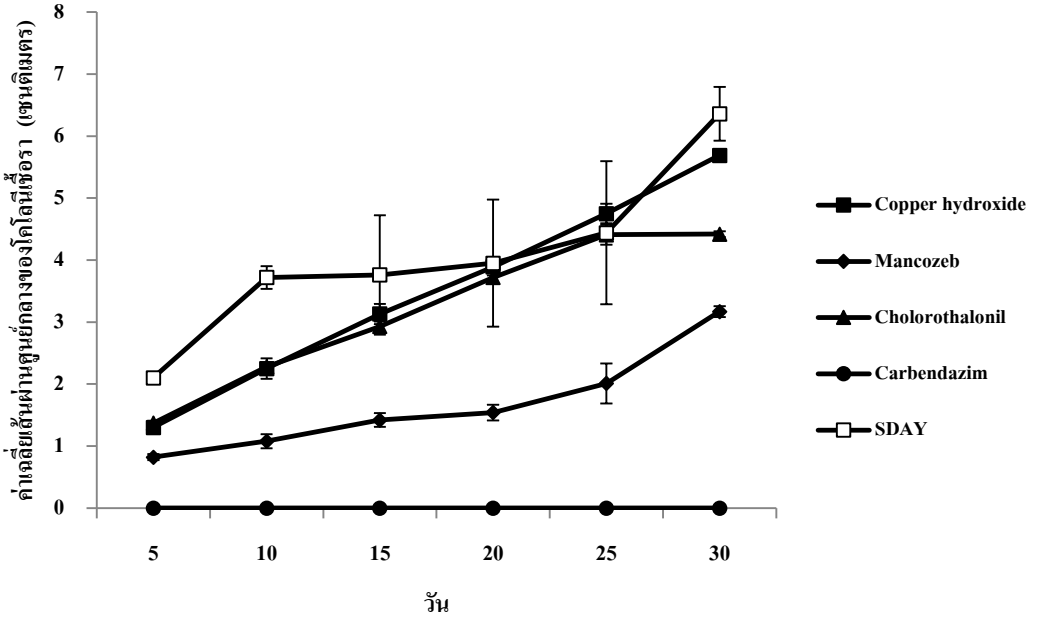
ภาพที่ 8 ตัวอย่างลักษณะการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา SDAY ภายใต้การใช้สารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ที่อายุ 20 วัน



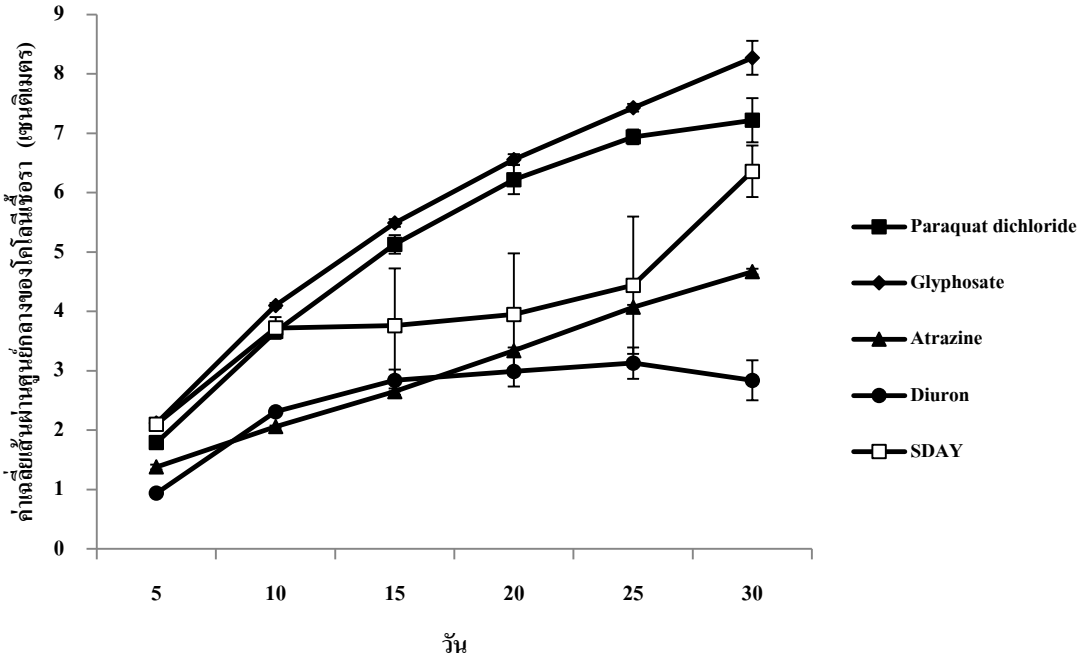
ภาพที่ 9 การเจริญของเส้นใย (mean ± S.E.) เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่ผสมสารกำจัดแมลง โดยชุดควบคุมใช้อาหาร SDAY ผสมน้ำเปล่า



ภาพที่ 10 การเจริญของเส้นใย (mean ± S.E.) เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่ผสมสารกำจัดไร โดยชุดควบคุมใช้อาหาร SDAY ผสมน้ำเปล่า



ภาพที่ 11 การเจริญของเส้นใย (mean ± S.E.) เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่ผสมสารกำจัดเชื้อรา โดยชุดควบคุมใช้อาหาร SDAY ผสมน้ำเปล่า



ภาพที่ 12 การเจริญของเส้นใย (mean ± S.E.) เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่ผสมสารกำจัดวัชพืช โดยชุดควบคุมใช้อาหาร SDAY ผสมน้ำเปล่า

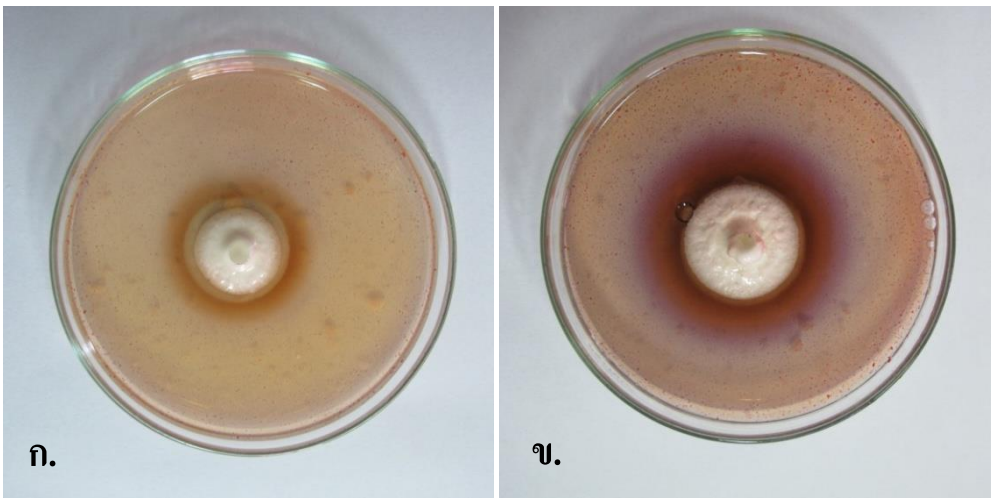
จากการทดลองเห็นได้ว่าสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มสารกำจัดเชื้อรา มีผลต่อยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 และส่งผลให้เชื้อราเจริญเติบโตได้ช้าที่สุด เมื่อเทียบกับสารกลุ่มอื่นๆ โดยสอดคล้องกับการทดลองที่ 1 การงอกของสปอร์เชื้อราโรคแมลง ที่พบว่าสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มสารกำจัดเชื้อรา คือ สาร mancozeb และสาร chlorothalonil มีผลทำให้สปอร์เชื้อราไม่สามารถงอกได้บนอาหารที่ผสมสารเหล่านี้ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Flexer and Belnavis (2000) และ Inglis และคณะ (2001) ผลของสารกำจัดศัตรูพืชมีผลต่อเชื้อราโรคแมลงโดยตรง คือ หยุดการเจริญเติบโตของเส้นใย ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ ลดความรุนแรงของเชื้อราและทำให้เชื้อราตาย อีกทั้งการทดลองของ Rachappa และคณะ (2007) ที่แสดงให้เห็นว่าสารกำจัดเชื้อราเป็นกลุ่มสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อราได้สูงที่สุด 78.18 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยสารกำจัดแมลง 44.23 เปอร์เซ็นต์ และสารกำจัดวัชพืช มีความเป็นพิษน้อยที่สุด 20.33 เปอร์เซ็นต์ แต่เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 สามารถใช้ร่วมกับสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่ม สารกำจัดแมลง สารกำจัดไร และสารกำจัดวัชพืชบางชนิดได้ และการทดลองของ Saleem และคณะ (2012) รายงานว่า สารกำจัดศัตรูพืชมีค่าความเป็นพิษสูง โดยเฉพาะสารในกลุ่มสารกำจัดแมลง และสารกำจัดเชื้อรา พบว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใย และการสร้างสปอร์

ของเชื้อรา *Metarhizium* sp. อีกด้วย นอกจากนั้นสารกำจัดศัตรูพืชทางการเกษตร ได้แก่ สาร benomyl สาร dimethomorph-mancozeb สาร chlorothalonil สาร propineb สาร mancozeb และสาร macozeb-cymoxanil สารกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้ มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใย (Durán *et al*., 2004)

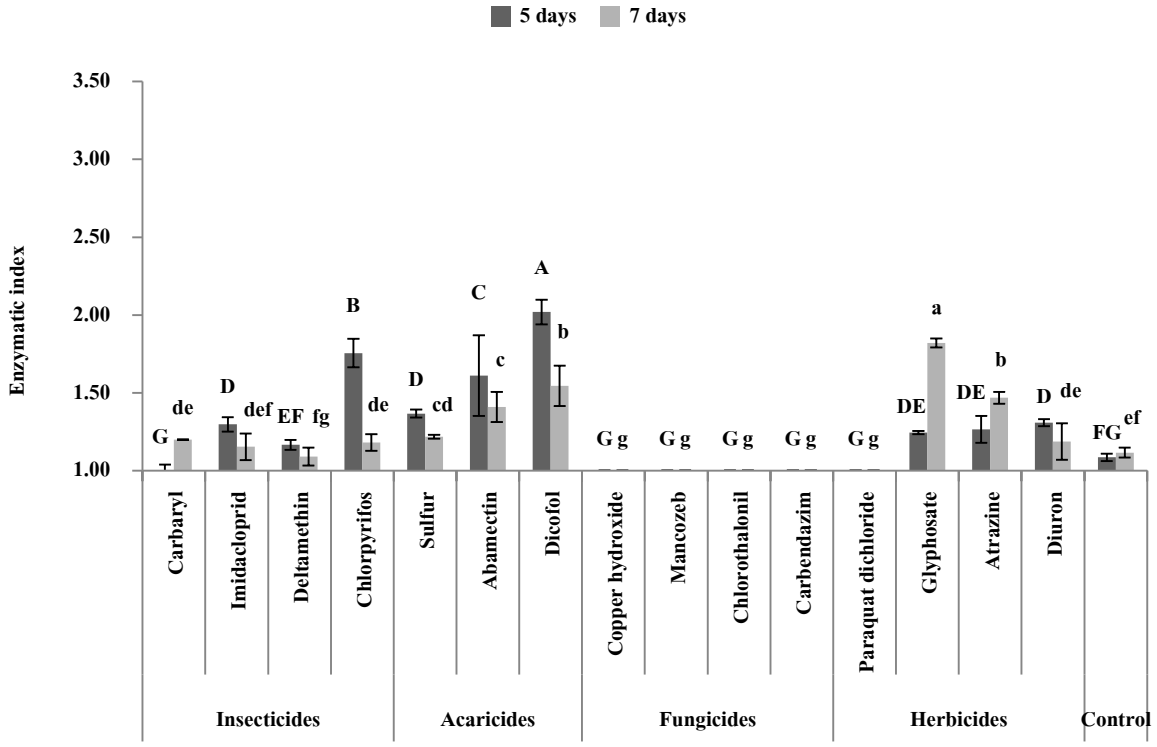
3. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ

3.1. การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส (chitinase)

ผลการทดสอบเอนไซม์ไคติเนสบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารกำจัดเชื้อรา ทั้ง 4 ชนิด และสารกำจัดวัชพืช 1 ชนิด ได้แก่ สาร copper hydroxide สาร mancozeb สาร chlorothalonil สาร carbendazim และสาร paraquat dichloride ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ ที่เชื้อราอายุ 5 และ 7 วัน (ภาพที่ 14) ส่วนอาหารที่ผสมสาร dicofol สาร chlorpyrifos และสาร abamectin เชื้อราโรคแมลงสามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสได้สูงที่สุด ที่เวลา 5 วันของการทดลอง และเมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสาร glyphosate พบว่าเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 สามารถสร้างวงใสมากที่สุด (ภาพที่ 13) โดยมีค่า enzymatic index เท่ากับ 1.82 ± 0.01 รองลงมา คือ สาร dicofol สาร atrazine และสาร abamectin มีค่า enzymatic index เท่ากับ 1.55 ± 0.08, 1.47 ± 0.09 และ 1.41 ± 0.26 ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมที่มีค่า enzymatic index เท่ากับ 1.12 ± 0.02



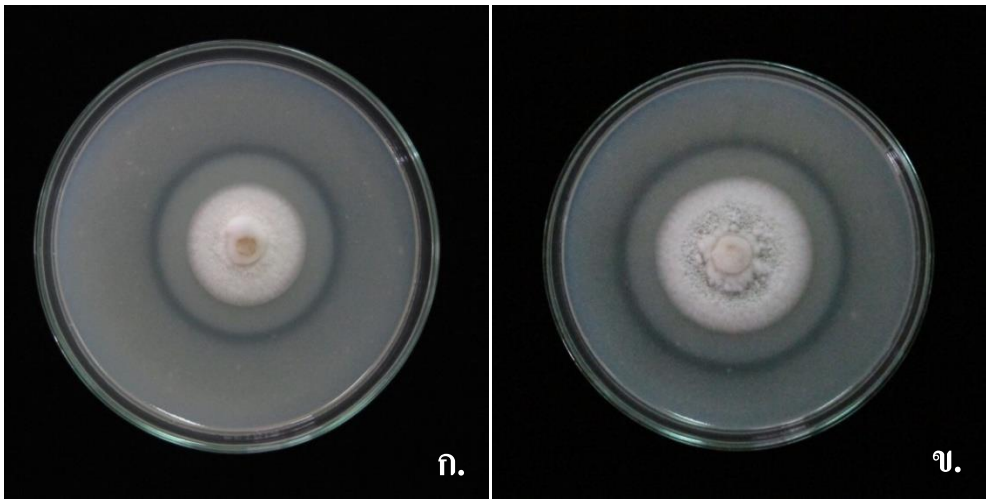
ภาพที่ 13 ลักษณะการสร้างวงใสที่เกิดจากการย่อย substrate โดยเอนไซม์ไคติเนสของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่ผสม colloidal chitin 2.0% หลังการบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 (ก) และ 7 (ข) วันของการทดลอง



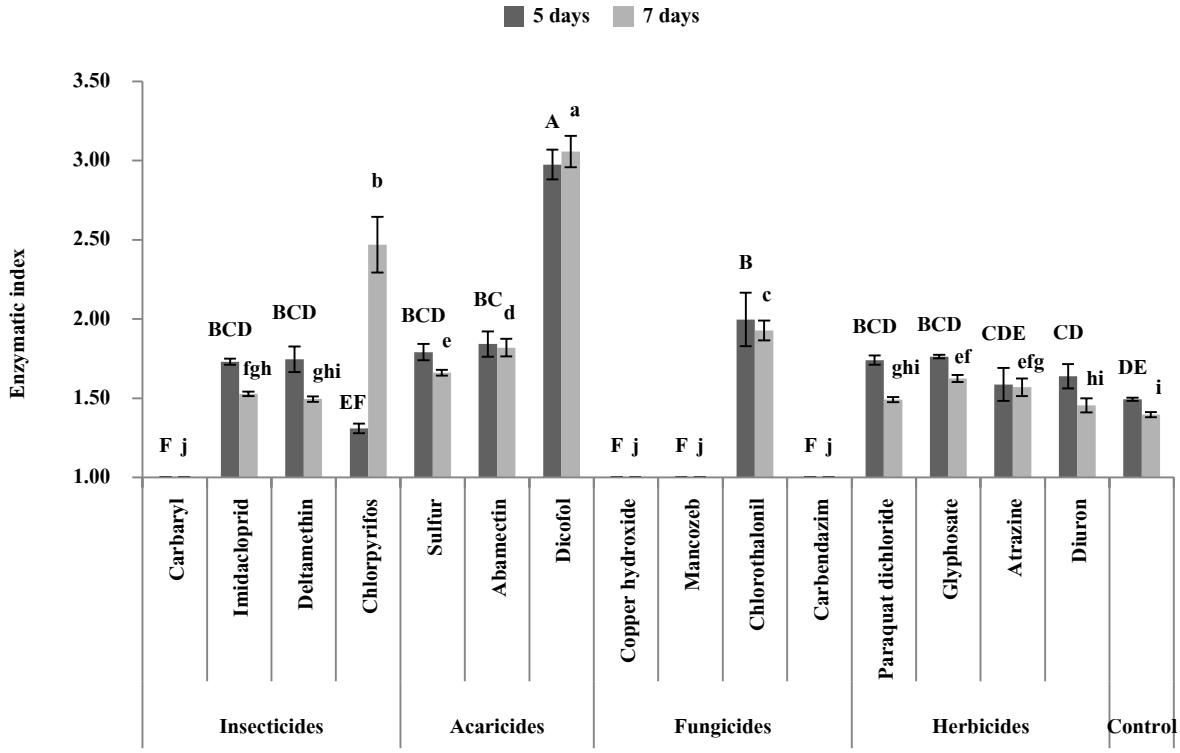
ภาพที่ 14 ค่า enzymatic index (mean ± S.E.) ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในการสร้างเอนไซม์ไคติเนสบนอาหารที่มีสารกำจัดศัตรูพืชที่แตกต่างกัน ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ โดยวิธี Tukey's Range Test ที่ 5 (ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่) และ 7 (ตัวอักษรพิมพ์เล็ก) วันของการทดลอง

3.2 การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส (protease)

การทดสอบเอนไซม์โปรตีเอสบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารกำจัดแมลงหนึ่งชนิด และสารกำจัดเชื้อราสามชนิด ได้แก่ สาร carbaryl สาร copper hydroxide สาร mancozeb และสาร carbendazim ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์เชื้อราที่อายุ 5 และ 7 วัน (ภาพที่ 16) ส่วนสาร dicofol มีค่า enzymatic index มากที่สุด ทั้งที่อายุ 5 วัน และ 7 วัน (ภาพที่ 15) โดยมีค่า enzymatic index เท่ากับ 2.98 ± 0.09 และ 3.06 ± 0.10 ตามลำดับ รองลงมา คือ สาร chlorothalonil ที่มีค่า enzymatic index เท่ากับ 2.00 ± 0.17 และ 1.93 ± 0.06 ที่อายุ 5 และ 7 วันตามลำดับ และสาร abamectin มีค่า enzymatic index เท่ากับ 1.84 ± 0.08 และ 1.84 ± 0.06 ที่อายุ 5 และ 7 วันตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่ามีค่า enzymatic index เท่ากับ 1.49 ± 0.01 และ 1.40 ± 0.02 ที่อายุ 5 และ 7 วันตามลำดับ ซึ่งสารทั้งสามชนิดมีการสร้างวงใสที่มากกว่าชุดควบคุมอีกด้วย



ภาพที่ 15 ลักษณะการสร้างวงใสที่เกิดจากการย่อย substrate โดยเอนไซม์โปรตีเอสของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่ผสม skim milk 3.0 % หลังการบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 (ก) และ 7 (ข) วันของการทดลอง



ภาพที่ 16 ค่า enzymatic index (mean ± S.E.) ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในการสร้างเอนไซม์โปรตีเอส บนอาหารที่มีสารกำจัดศัตรูพืชที่แตกต่างกัน ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ โดยวิธี Tukey's Range Test ที่ 5 (ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่) และ 7 (ตัวอักษรพิมพ์เล็ก) วันของการทดลอง

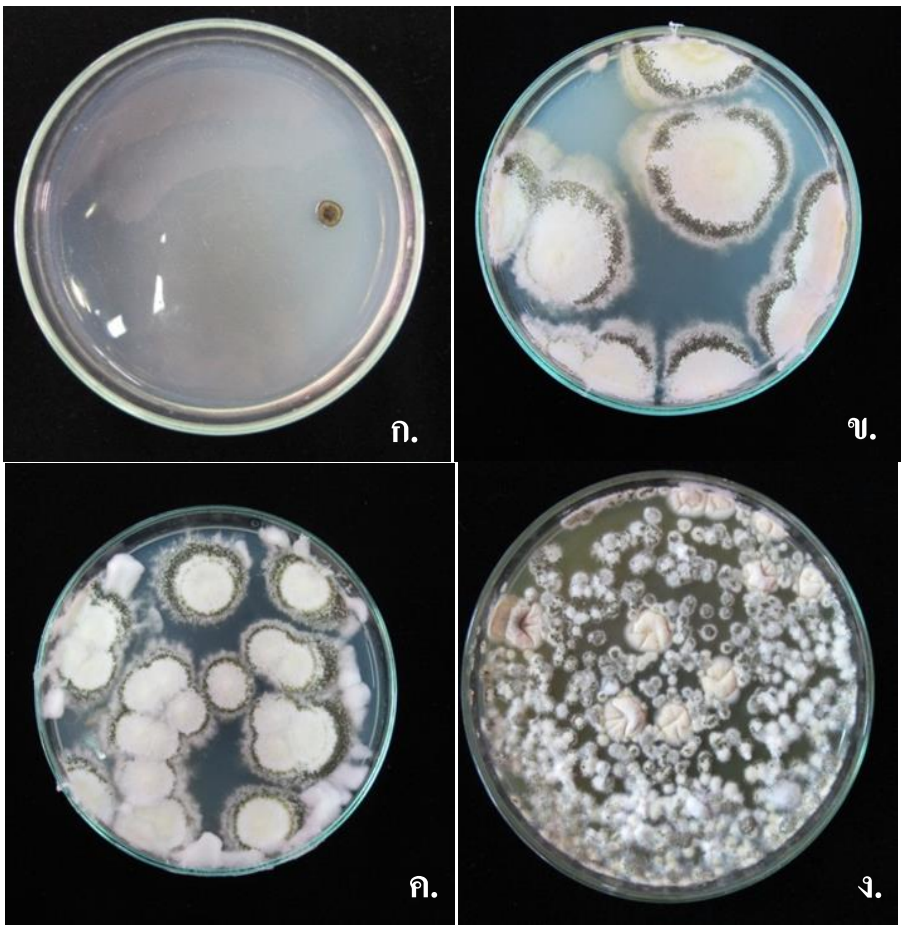
จากการทดลองผลของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆต่อการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 พบว่า สาร dicofol เป็นสารกำจัดศัตรูพืชมีผลไปช่วยส่งเสริมการเจริญของโคโลนี และยังสร้างเอนไซม์ไคติเนส และเอนไซม์โปรตีเอสได้มากที่สุด ในการใช้เชื้อราโรคแมลงร่วมกับสารกำจัดศัตรูพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารในกลุ่มสารกำจัดเชื้อรานั้นมีผลต่อเจริญของเชื้อราและไม่พบการสร้างเอนไซม์ทั้งสองชนิด ยกเว้นสาร chlorothalonil ที่พบการสร้างเอนไซม์โปรตีเอส แต่ไม่พบการสร้างเอนไซม์ไคติเนส โดยจะส่งกระทบต่อความรุนแรงในการเข้าทำลายแมลงศัตรูของเชื้อรา ซึ่งการทดลองของ Alves และคณะ (1998) แสดงให้เห็นว่าการใช้เชื้อราโรคแมลงร่วมกับสารกำจัดศัตรูพืช ในกลุ่มสารกำจัดเชื้อรามีผลไปลดความรุนแรงของเชื้อราโรคแมลง ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ และทำให้เชื้อราตายซึ่งความรุนแรงของเชื้อราโรคแมลงนั้นเกี่ยวข้อง

กับการสร้างเอนไซม์ไคติเนส และโปรตีเอส นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราโรคแมลงสามารถย่อยสลายสารกำจัดศัตรูพืชบางชนิด และสามารถใช้สารกำจัดศัตรูพืชเป็นสารตั้งต้นสำหรับการส่งเสริมการเจริญได้อีกด้วย (Haney *et al*., 2000; 2002)

4. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชในดินต่อความมีชีวิตรอดของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ผลการทดลองพบว่าสารกำจัดศัตรูพืชมีผลกระทบต่อความมีชีวิตรอดของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ในกลุ่มสารกำจัดแมลง สาร carbaryl และสาร deltamethin กลุ่มสารกำจัดไร สาร dicofol และกลุ่มสารกำจัดเชื้อราทั้งสี่ชนิด คือ สาร copper hydroxide สาร mancozeb สาร cholorothalonil และสาร carbendazim สารเหล่านี้มีผลต่อความอยู่รอดของเชื้อรา เนื่องจากไม่มีการปรากฏของโคโลนีของเชื้อราบนจานอาหารที่ใช้ตรวจสอบเชื้อรา ซึ่งแตกต่างกับชุดควบคุม (2) ที่พบว่ามีการปรากฏของโคโลนีของเชื้อราตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง 90 วัน (ภาพที่ 17)

ส่วนสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มสารกำจัดแมลง สาร imidacloprid และสาร chlorpyrifos กลุ่มสารกำจัดไร สาร abamectin และกลุ่มสารกำจัดวัชพืชทุกชนิด คือ สาร paraquat dichloride สาร glyphosate สาร atrazine และสาร diuron เชื้อราสามารถอยู่รอดได้ในดิน เพราะมีการปรากฏของโคโลนีของเชื้อรา (ตารางที่ 4)



ภาพที่ 17 การกำหนดเครื่องหมายลักษณะโคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่มีการผสมสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิด

ก. ไม่ปรากฏโคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 แทนด้วยเครื่องหมาย (-)

ข. ปรากฏโคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 จำนวน 1-30 โคโลนี แทนด้วยเครื่องหมาย (+)

ค. ปรากฏโคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 จำนวน 31-60 โคโลนี แทนด้วยเครื่องหมาย (++)

ง. ปรากฏโคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 จำนวน 61 โคโลนีขึ้นไป แทนด้วยเครื่องหมาย (+++)

ตารางที่ 4 ความมีชีวิตรอดของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ

กลุ่มสารกำจัดศัตรูพืช	สารออกฤทธิ์	ระยะเวลา(วัน)						
		0	**15**	**30**	**45**	**60**	**75**	**90**
สารกำจัดแมลง	carbaryl	-[1/]	-	-	-	-	-	-
	imidacloprid	-	+[2/]	+	+	+	-	+
	deltamethin	-	-	-	-	-	-	-
	chlorpyrifos	-	+	+	-	-	+	-
สารกำจัดไร	sulfur	-	+	+	+	+	+	+
	abamectin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	dicofol	-	-	-	-	-	-	-
สารกำจัดเชื้อรา	copper hydroxide	-	-	-	-	-	-	-
	mancozeb	-	-	-	-	-	-	-
	cholorothalonil	-	-	-	-	-	-	-
	carbendazim	-	-	-	-	-	-	-
สารกำจัดวัชพืช	paraquat dichloride	-	-	+	+	+	-	+
	glyphosate	++[3/]	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	atrazine	+++[4/]	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	diuron	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ดินไม่ผสมสารเคมีและเชื้อรา (1)		-	-	-	-	-	-	-
ดินผสมเชื้อรา *M. guizhouense* PSUM04 (2)		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

[1/] - = ไม่พบโคโลนีเชื้อรา; [2/] + = พบจำนวน 1-30 โคโลนี; [3/] ++ = พบจำนวน 31-60 โคโลนี; [4/] +++ = พบจำนวนมากกว่า 61 โคโลนี

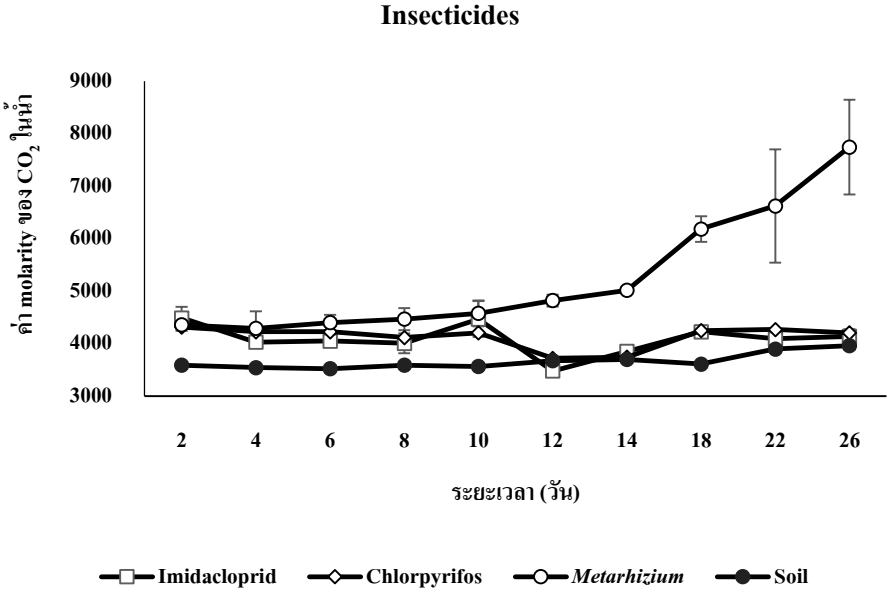
จากการทดสอบความมีชีวิตรอดของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ การใช้เชื้อราโรคแมลงร่วมกับสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มสารกำจัดเชื้อรา สารเคมีดังกล่าวมีผลต่อความมีชีวิตรอดของเชื้อรา โดยสอดคล้องกับการทดลองของ Alves และคณะ (1998) แสดงให้เห็นว่าการใช้เชื้อราโรคแมลงร่วมกับสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มสารกำจัดเชื้อรา มีผลลดความรุนแรงของเชื้อราโรคแมลง ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ และทำให้เชื้อราตายได้

สารกำจัดเชื้อราที่มีการใช้อย่างมากในทางการเกษตร มีผลกระทบโดยตรงต่อเชื้อราโรคแมลง แต่อย่างไรก็ตามเชื้อราโรคแมลงบางชนิดหรือบางไอโซเลท สามารถทนทานต่อสารกำจัดเชื้อราได้ หรือการใช้สารเคมีบางชนิดหรือบางกลุ่มสามารถใช้ร่วมกับเชื้อราโรคแมลงได้ เช่น สาร fosetyl-A1, propamocarb และ copper oxychloride สามารถใช้ร่วมกับเชื้อรา *Beauveria bassiana* ได้ ส่วนสาร benomyl, dimethomorph-mancozeb, chlorothalonil, propineb, mancozeb และ macozeb-cymoxanil สารเคมีมีผลยับยั้งการงอกของสปอร์ การเจริญของเส้นใย และความมีชีวิตรอดของเชื้อราดังกล่าวด้วย (Durán *et al*., 2004)

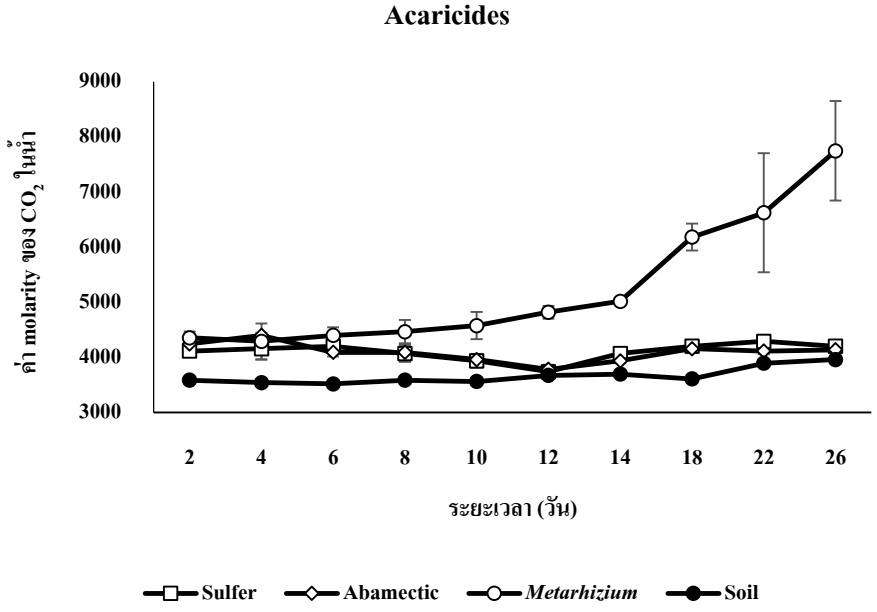
5. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชในดินต่ออัตราการหายใจของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ ทำการคัดเลือกสารกำจัดศัตรูพืช เป็นตัวอย่างสำหรับการทดลอง โดยคัดเลือกกลุ่มละ 2 ชนิด ได้แก่ สารกำจัดแมลง 2 ชนิด (สาร imidacloprid กับสาร chlorpyrifos) สารกำจัดไร 2 ชนิด (สาร sulfer กับสาร abamectin) สารกำจัดเชื้อรา 2 ชนิด (สาร mancozeb กับสาร carbendazim) และสารกำจัดวัชพืช 2 ชนิด (สาร glyhosate และสารdiuron)

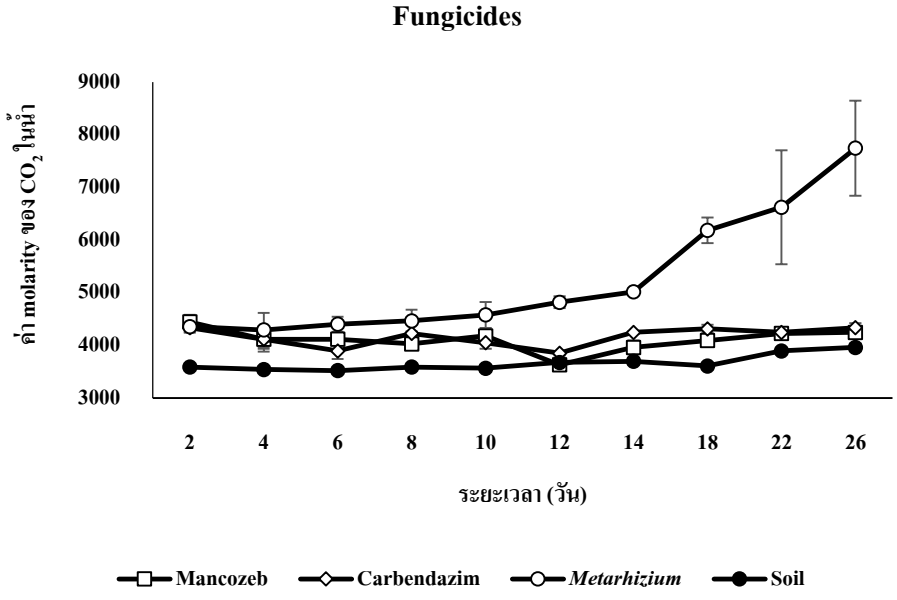
การทดสอบอัตราการหายใจของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ในดินที่มีการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ พบว่าในช่วง 10 วันแรกเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 มีอัตราการหายใจเกิดขึ้นในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชทุกชนิด ทั้งสารกำจัดแมลง (ภาพที่ 18) สารกำจัดไร (ภาพที่ 19) สารกำจัดเชื้อรา (ภาพที่ 20) และสารกำจัดวัชพืช (ภาพที่ 21) แต่หลังจากวันที่ 12 ถึงวันที่ 26 อัตราการหายใจของเชื้อรามีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบกับดินชุดควบคุมที่ไม่มีเชื้อรา ยกเว้นสารกำจัดวัชพืช glyphosate ตั้งแต่วันที่ 18 ถึงวันที่ 26 มีอัตราการหายใจที่สูงกว่าสารกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่นๆ



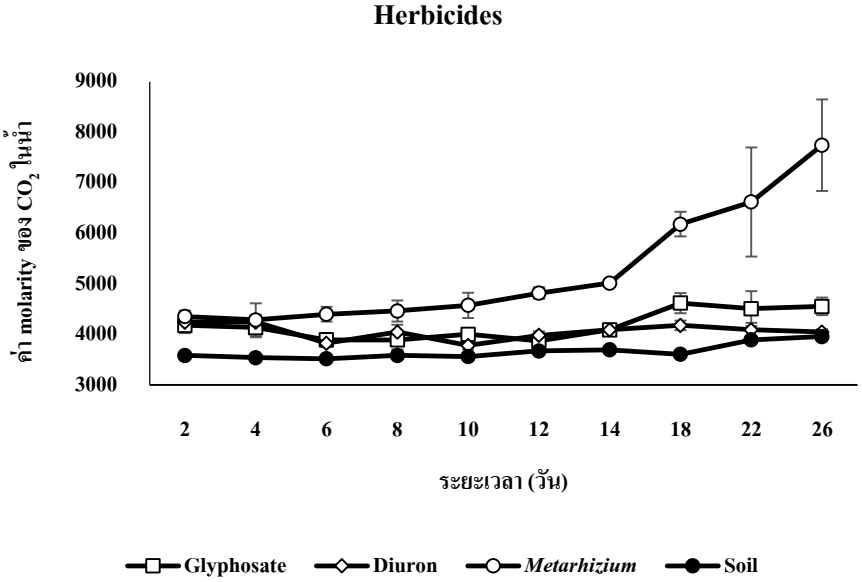
ภาพที่ 18 ค่าโมลาริตี (molarity) ของ CO_2 ที่ละลายในน้ำของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดแมลง



ภาพที่ 19 ค่าโมลาริตี (molarity) ของ CO_2 ที่ละลายในน้ำของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดไร



ภาพที่ 20 ค่าโมลาริตี (molarity) ของ CO_2 ที่ละลายในน้ำของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดเชื้อรา



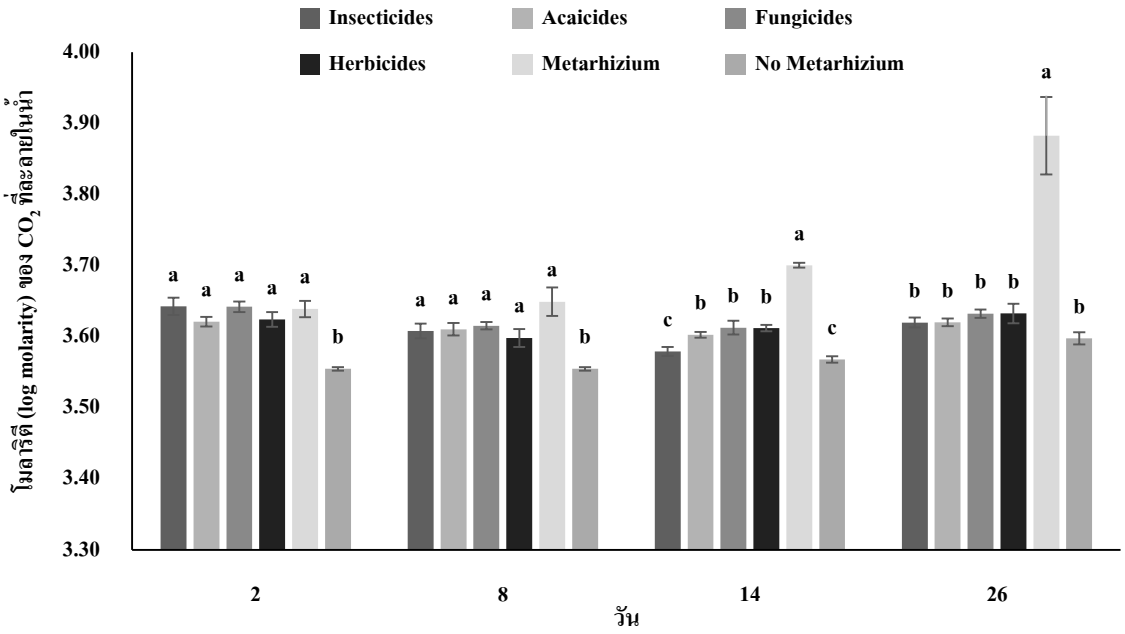
ภาพที่ 21 ค่าโมลาริตี (molarity) ของ CO_2 ที่ละลายในน้ำของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดวัชพืช

จากการวิเคราะห์ค่า log molarity ของ CO_2 ของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ภายใต้ดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืช กลุ่มสารกำจัดแมลง กลุ่มสารกำจัดไร กลุ่มสารกำจัดเชื้อรา และกลุ่มสารกำจัดวัชพืช ที่ช่วงระยะเวลาต่างๆ พบว่าในวันที่ 2 วันเริ่มต้นของการวัดอัตราการหายใจของเชื้อราในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ และชุดดินที่มีเชื้อราเพียงอย่างเดียว ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างจากชุดควบคุมที่มีดินเพียงอย่างเดียว (P<0.05)

ในวันที่ 8 อัตราการหายใจของเชื้อราเหมือนกับวันที่ 2 ส่วนในวันที่ 14 เชื้อราที่อยู่ในดินที่ไม่ปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ มีอัตราการหายใจที่สูงขึ้นแตกต่างจากชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนเชื้อราที่อยู่ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืช กลุ่มสารกำจัดไร สารกำจัดเชื้อราและสารกำจัดวัชพืชแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จากเชื้อราที่อยู่ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดแมลงและชุดควบคุมที่มีดินเพียงอย่างเดียว

ในวันที่ 26 อัตราการหายใจของเชื้อราที่อยู่ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ กับดินที่ไม่มีเชื้อรา มีอัตราการหายใจที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ส่วนเชื้อราที่อยู่ในดินที่ไม่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ มีอัตราการหายใจของเชื้อราสูงที่สุดและแตกต่างจากชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ภาพที่ 22) และระหว่าง

การทดสอบ มีการสังเกตพบ โคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ปรากฏบนดินที่ใช้ทดลองทุกชุดการทดลอง ยกเว้นชุดควบคุมที่เป็นดินเพียงอย่างเดียว (ภาพที่ 23)



ภาพที่ 22 ค่าเฉลี่ยโมลาริตี (log molarity) (mean ± S.E.) ของ CO_2 (mean ± SE) ที่ละลายในน้ำของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ (สารกำจัดแมลง สารกำจัดไร สารกำจัดเชื้อรา และสารกำจัดวัชพืช) ในช่วงระยะเวลาต่างๆ สำหรับชุดควบคุม ประกอบด้วยชุดที่มีดินเพียงอย่างเดียวกับชุดที่มีดินผสมเชื้อราโรคแมลงเพียงอย่างเดียว ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในแต่ละช่วงเวลามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P < 0.05$ เปรียบเทียบโดยวิธี Tukey's Range Test

ภาพที่ 23 โคโลนีของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ที่ปรากฏบนดินที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ

สารกำจัดศัตรูพืช ในกลุ่มสารกำจัดเชื้อราเป็นสารเคมีที่มีผลโดยตรงต่อเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ซึ่ง Tamai และคณะ (2002) จัดให้สารกำจัดเชื้อราเป็นพิษต่อเชื้อราโดยตรง และสอดคล้องกับ รายงานของ Loureiro และคณะ (2002) รายงานว่าการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium* sp. ภายใต้สารกำจัดเชื้อรา พบว่าเส้นใยของเชื้อราถูกยับยั้งการเจริญเติบโต จึงทำให้กิจกรรมบางกิจกรรมของเชื้อราเปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะกิจกรรมการหายใจของเชื้อรา Dinalva และคณะ (2005) ได้ทดสอบกิจกรรมการหายใจของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium* sp. ต่อสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ พบว่าสารกำจัดเชื้อรา มีผลต่ออัตราการหายใจของเชื้อรา ส่งผลทำให้เชื้อราโรคแมลงมีการสร้าง CO_2 ลดลง แต่การใช้เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ร่วมกับสารกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่น สามารถนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้โดยไม่สูญเสียกิจกรรมเดิมของเชื้อรา เช่นเดียวกับสารกำจัดเชื้อรายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโรคแมลง *B. bassiana* โดยเฉพาะสาร chlorothalonyl ที่ทำให้การสร้างสปอร์ของเชื้อราโรคแมลงลดลง 88 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่งผลต่อกิจกรรมการหายใจของเชื้อราด้วย (Todorova *et al*.,1998)

6. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชในดินต่อการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ

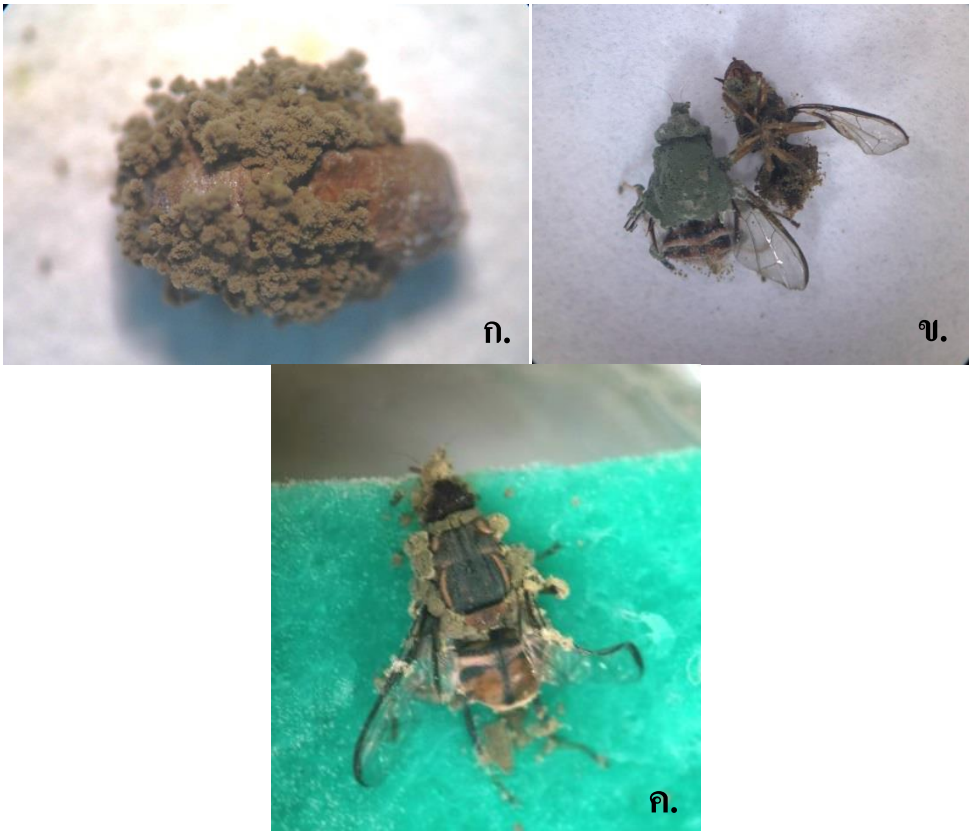
จากการทดลองผลกระทบของสารกำจัดศัตรูพืชในดินต่อการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ในห้องปฏิบัติการ สารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 กลุ่ม ที่มีการใช้เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ร่วมด้วยมีผลกระทบต่อการออกจากดักแด้เป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ โดยทำให้การรอดชีวิตลดลงเหลือ 50 - 60 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 10 ของการทดลอง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้เชื้อราโรคแมลง ที่มีการรอดชีวิตอยู่ที่ 94.00 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุมที่มีการใช้เชื้อราโรคแมลง มีการรอดชีวิต อยู่ที่ 35.00 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมทั้งสอง

ซึ่งเมื่อนำดักแด้ที่ไม่ฟัก ตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ที่ตายระหว่างการทดลอง และตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ที่ฟักออกจากดักแด้ ของสารกำจัดศัตรูพืช ในกลุ่มสารกำจัดแมลง สารกำจัดไร และสารกำจัดวัชพืช นำไปบ่มในสภาพชื้น พบว่ามีเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ขึ้นปกคลุมบนซากดักแด้ และตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ด้วย (ภาพที่ 24) ในส่วนของสารกำจัดเชื้อรา เมื่อนำไปบ่มในสภาพชื้น ไม่พบเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ขึ้นบนซากของดักแด้แมลงวันผลไม้ จึงสรุปได้ว่าแมลงวันผลไม้ไม่ได้ตายจากการเข้าทำลายของเชื้อราโรคแมลง แต่การตายของแมลงวันผลไม้มาจากสารกำจัดเชื้อราที่ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแมลงวันผลไม้ลดลง (ภาพที่ 25)

เมื่อแยกพิจารณาสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละกลุ่ม สารในกลุ่มสารกำจัดแมลง สาร carbaryl สาร imidacloprid และสาร deltamethin มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสม อยู่ระหว่าง 62.00 – 79.00 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 10 ของการทดลอง ในส่วนของสาร chlorpyrifos มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมต่ำที่สุด อยู่ที่ 19.00 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเป็นสารกำจัดแมลงโดยตรง จึงส่งผลให้แมลงวันผลไม้มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมต่ำสุด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้เชื้อราโรคแมลง ที่มีการรอดชีวิต อยู่ที่ 94.00 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุมที่มีการใช้เชื้อราโรคแมลง มีการรอดชีวิต อยู่ที่ 35.00 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมทั้งสอง (ภาพที่ 26)

ส่วนสารกำจัดไร สาร sulfur สาร abamectin และสาร dicofol มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสม อยู่ระหว่าง 51.00 – 69.00 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 10 ของการทดลอง ซึ่งสารกำจัดไรทั้ง 3 ชนิด มีผลต่อการรอดชีวิตของแมลงวันผลไม้ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมทั้งสองอีกด้วย (ภาพที่ 27) สารกำจัดเชื้อรา สาร copper hydroxide สาร mancozeb สาร chlorothalonil และสาร carbendazim มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสม อยู่ระหว่าง 47.00 – 60.00 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 10 ของการทดลอง ซึ่งสารกำจัดเชื้อราทั้ง 4 ชนิด มีผลกระทบโดยตรงต่อเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense*

PSUM04 จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพในการเข้าทำลายของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ลดลง ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมทั้งสองอีกด้วย (ภาพที่ 28) และสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มสารกำจัดวัชพืช สาร paraquat dichloride สาร glyphosate สาร atrazine และสาร diuron มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสม อยู่ระหว่าง 50.00 - 71.00 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 10 ของการทดลอง ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมทั้งสองอีกด้วย (ภาพที่ 29)

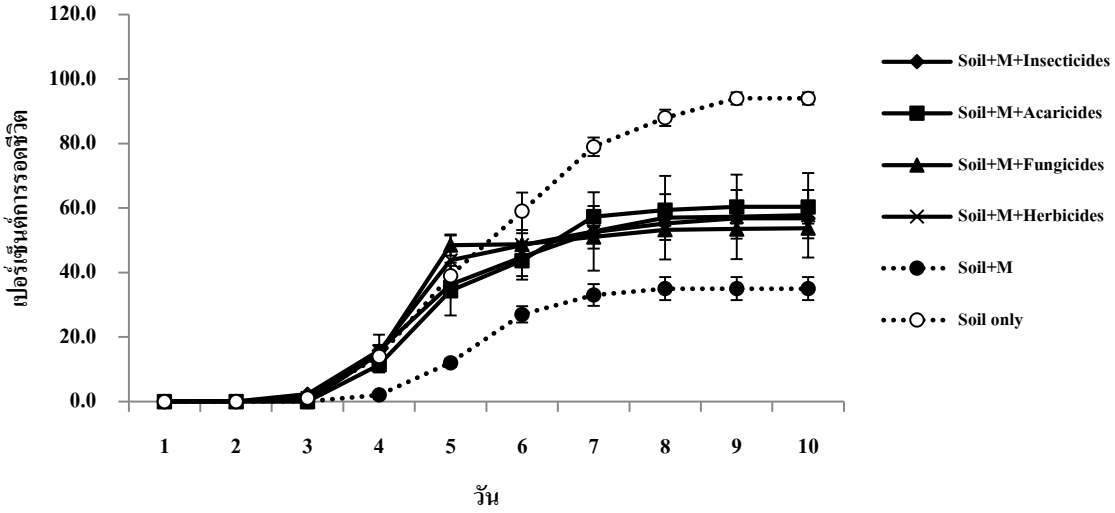


ภาพที่ 24 ลักษณะดักแด้และตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ระหว่างการทดลอง ในสภาพห้องปฏิบัติการ

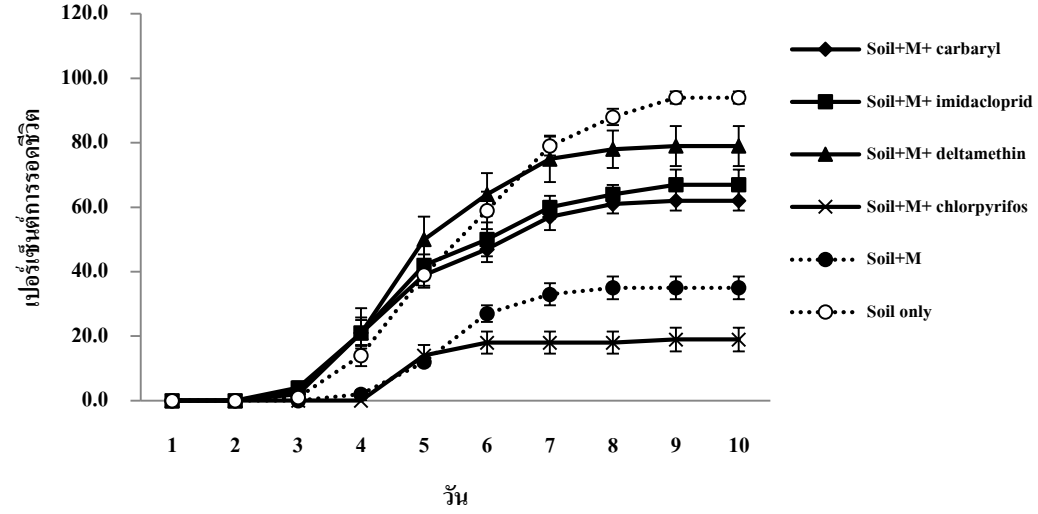
ก. ดักแด้ของแมลงวันผลไม้ที่นำมาบ่มในสภาพชื้น และปรากฏเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 เจริญขึ้นบนซากของดักแด้แมลง

ข. ตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ที่นำมาบ่มในสภาพชื้น และปรากฏเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 เจริญขึ้นบนซากของแมลงวันผลไม้

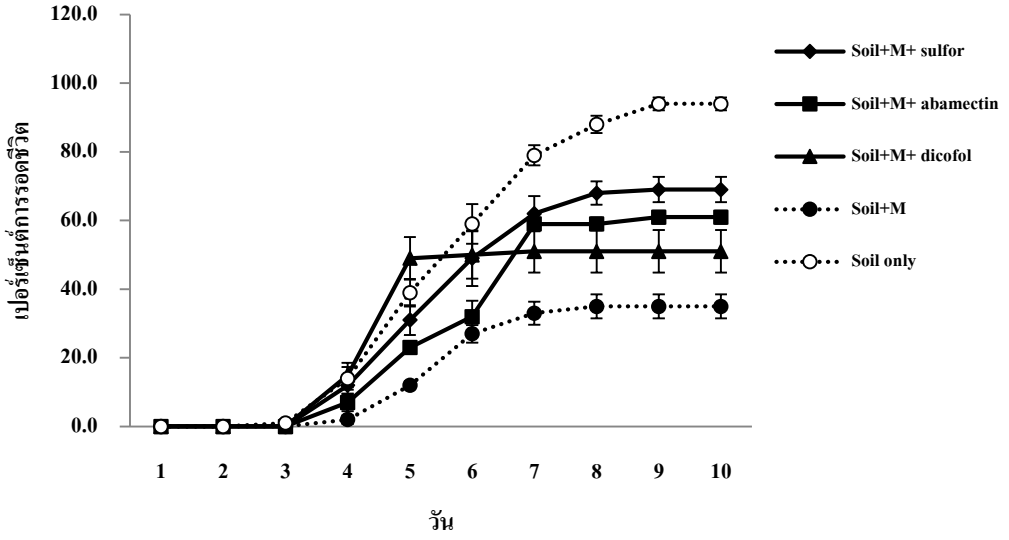
ค. ตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ที่นำมาเลี้ยงต่อ หลังจากออกจากดักแด้และเมื่อแมลงตายมีเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ขึ้นปกคลุมบนซากของแมลงวันผลไม้



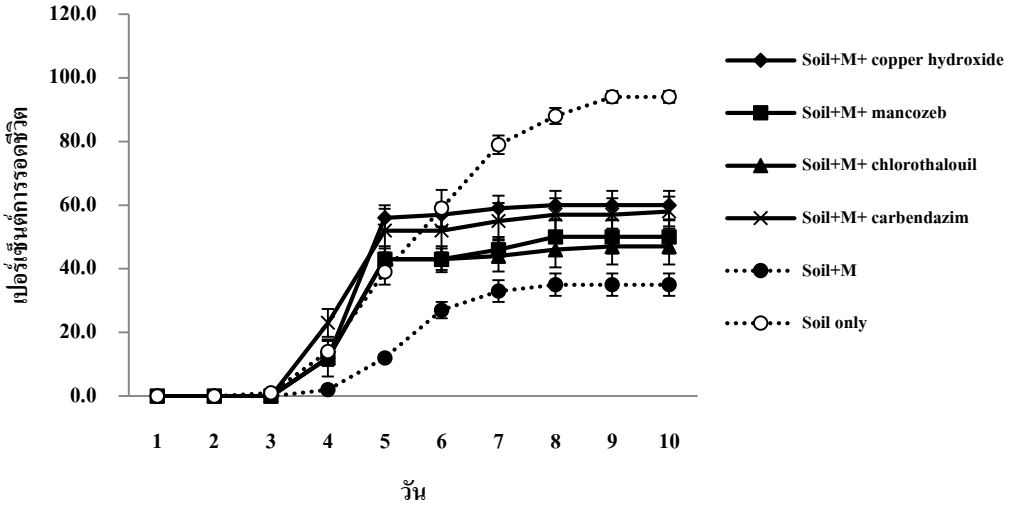
ภาพที่ 25 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 กลุ่มได้แก่ กลุ่มสารกำจัดแมลง กลุ่มสารกำจัดไร กลุ่มสารกำจัดเชื้อราและกลุ่มสารกำจัดวัชพืช ในสภาพห้องปฏิบัติการ



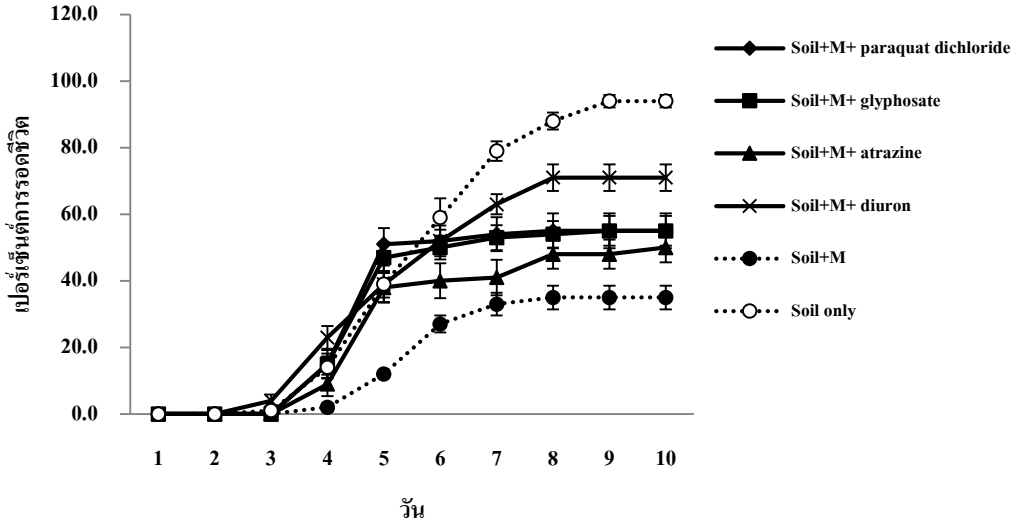
ภาพที่ 26 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดแมลงทั้ง 4 ชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 27 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดไรทั้ง 3 ชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 28 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดเชื้อราทั้ง 4 ชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 29 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดวัชพืชทั้ง 4 ชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการทดลองในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของดักแด้แมลงวันผลไม้ลดลง เมื่อมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ร่วมกันเชื้อราโรคแมลง โดยแมลงมีการรอดชีวิตอยู่ระหว่าง 47.00 - 79.00 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นสาร chlorpyrifos ที่มีการรอดชีวิตที่ต่ำ อยู่ที่ 19.00 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากสารดังกล่าวเป็นสารกำจัดแมลงโดยตรง โดยสอดคล้องกับทดลองของ Mochi และคณะ (2006) รายงานว่าเมื่อนำเชื้อราโรคแมลง ไปใช้ควบคุมดักแด้แมลงวันผลไม้ *Ceratitis capitata* ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละกลุ่ม พบว่าแมลงวันผลไม้มีการรอดชีวิตอยู่ระหว่าง 46.40 – 59.30 เปอร์เซ็นต์

7. ผลของสารกำจัดศัตรูพืชในดินต่อการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 ในสภาพเรือนทดลอง

จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ ทำการคัดเลือกสารกำจัดศัตรูพืช เป็นตัวอย่างสำหรับการทดลอง โดยคัดเลือกกลุ่มละ 2 ชนิด ได้แก่ สารกำจัดแมลง 2 ชนิด (สาร imidacloprid กับสาร chlorpyrifos) สารกำจัดไร 2 ชนิด (สาร sulfer กับสาร abamectin) สารกำจัดเชื้อรา 2 ชนิด (สาร mancozeb กับสาร carbendazim) และสารกำจัดวัชพืช 2 ชนิด (สาร glyhosate และสาร diuron) ทำการทดลองในสภาพเรือนทดลอง

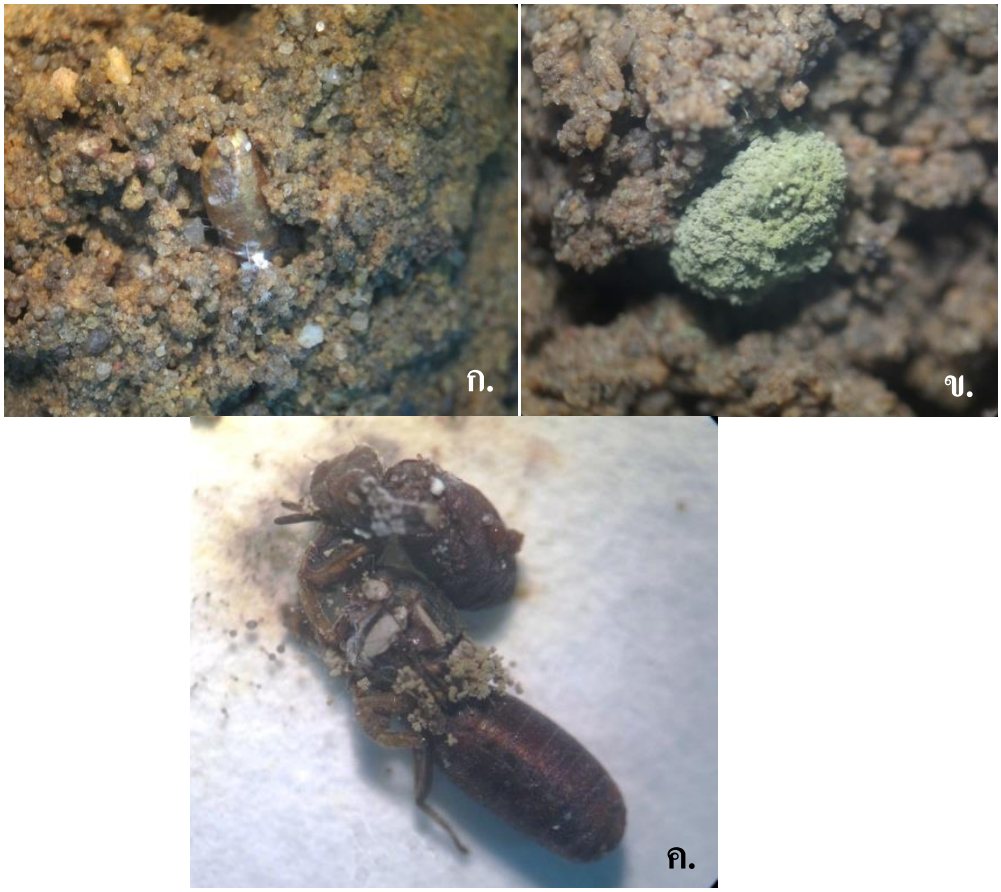
สารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 กลุ่มมีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมของแมลงวันผลไม้อยู่ที่ 47.00 – 58.67 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 10 ของการทดลอง ไม่แตกต่างกับชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ที่มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสม อยู่ที่ 50.00 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้เชื้อราโรคแมลง ที่มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสม อยู่ที่ 76.00 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

โดยสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มสารกำจัดแมลง ส่งผลต่อดักแด้แมลงวันผลไม้มากที่สุดคือ สาร chlorpyrifos เนื่องจากมีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมต่ำสุดอยู่ที่ 25.33 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 10 ของการทดลอง ซึ่งสาร chlorpyrifos ไม่มีผลต่อการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ของเชื้อราโรคแมลง เนื่องจากเมื่อนำดักแด้ที่ไม่ฟักและตัวเต็มวัยที่ออกจากดักแด้แล้วตายไปบ่มชื้น พบว่ามีเชื้อราโรคแมลงขึ้นปกคลุมบนดักแด้ และบนตัวของแมลงวันผลไม้ที่ฟักระหว่างการทดลองในสภาพเรือนทดลองอีกด้วย และสาร imidacloprid มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมอยู่ที่ 58.67 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 10 ของการทดลอง ไม่แตกต่างกับชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้เชื้อราโรคแมลง (ภาพที่ 30)

สารกำจัดไร สาร sulfer และสาร abamectin มีการรอดชีวิตเฉลี่ยวสะสม อยู่ที่ 58.33 และ 49.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในวันที่ 10 ของการทดลองไม่แตกต่างกับชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้เชื้อราโรคแมลง

กลุ่มสารกำจัดเชื้อรา สาร mancozeb และสาร carbendazim มีดักแด้รอดชีวิตเฉลี่ยสะสมอยู่ที่ 48.33 และ 47.67 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในวันที่ 10 ของการทดลองซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 เพียงอย่างเดียว แต่สารดังกล่าวมีผลต่อเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 โดยตรงเนื่องจากเมื่อนำดักแด้และตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ที่ฟัก ไปบ่มชื้นไม่ปรากฏเชื้อราโรคแมลงบนตัวของดักแด้ และแมลง จึงสามารถยืนยันได้ว่าสารดังกล่าวมีผลกระทบต่อเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04

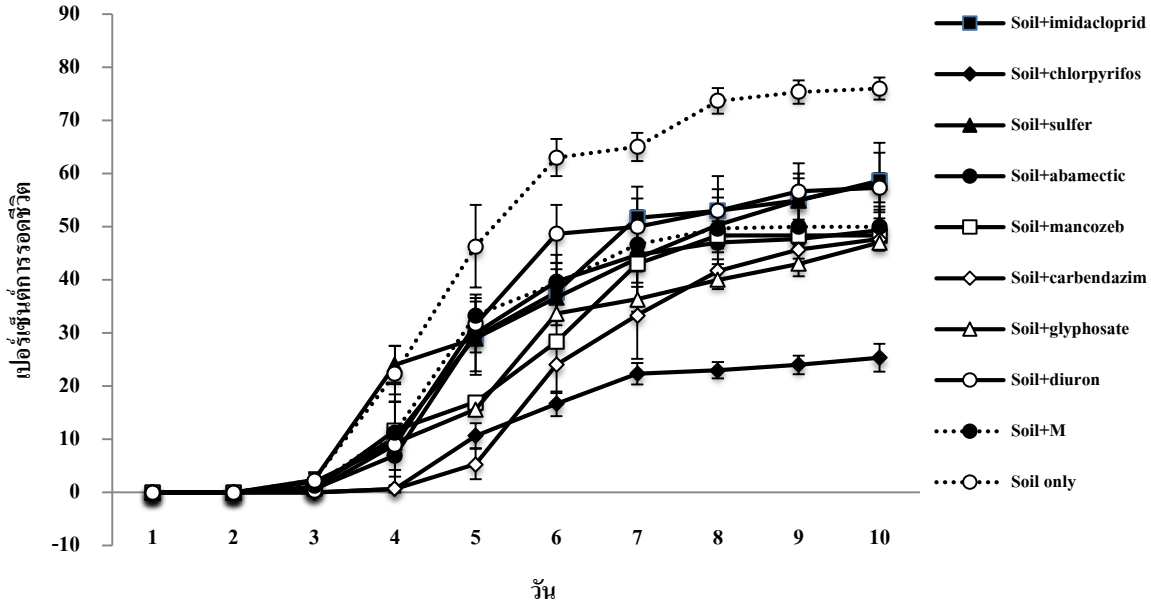
ส่วนสารกำจัดวัชพืช สาร glyphosate และสาร diuron มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสม อยู่ที่ 47.00 และ 57.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในวันที่ 10 ของการทดลอง ไม่แตกต่างกับชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้เชื้อราโรคแมลง (ภาพที่ 31)



ภาพที่ 30 ลักษณะของดักแด้และตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ระหว่างการทดลองในสภาพเรือนทดลอง

ก. และ ข. ดักแด้ของแมลงวันผลไม้ระหว่างการทดลองโดนเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM04 เข้าทำลาย ในสภาพเรือนทดลอง

ค. ตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ที่ตายระหว่างการฟัก โดนเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 เข้าทำลาย ในสภาพเรือนทดลอง



ภาพที่ 31 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสม (mean ± S.E.) ของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 กลุ่มในสภาพเรือนทดลอง

ในสภาพเรือนทดลองแมลงวันผลไม้มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมลดลง เมื่อมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆร่วมกับเชื้อราโรคแมลง โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชและเชื้อราโรคแมลง แต่แมลงวันผลไม้มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมสูงกว่าชุดควบคุมที่มีการใช้เชื้อราโรคแมลงเพียงอย่างเดียว การรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมของดักแด้แมลงวันผลไม้ของสารกำจัดศัตรูพืชทุกชนิดอยู่ระหว่าง 47.00 - 58.67 เปอร์เซ็นต์ยกเว้นสาร chlorpyrifos มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมต่ำอยู่ที่ 25.33 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเป็นสารกำจัดแมลงโดยตรง โดยสอดคล้องกับการทดลองของ Mochi และคณะ (2006) รายงานว่าเมื่อนำเชื้อราก่อโรคแมลงไปใช้ควบคุมดักแด้แมลงวันผลไม้ *C. capitata* ในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละกลุ่มทำให้แมลงวันผลไม้มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสะสมต่ำกว่า 60.00 เปอร์เซ็นต์

อีกทั้งเชื้อราโรคแมลงที่นำมาใช้สามารถทำให้เกิดโรคกับแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยและเชื้อราโรคแมลงยังสามารถแพร่กระจายไปสู่แมลงวันผลไม้ตัวอื่นได้ สามารถยืนยันการเข้าทำลายของเชื้อรา โดยนำซากแมลงไปบ่มชื้นแล้วปรากฏเชื้อราเจริญขึ้นปกคลุมบนตัวแมลง แต่ในการทดลองที่ใช้สารกำจัดเชื้อราร่วมกับเชื้อราโรคแมลง พบว่าแมลงวันผลไม้ที่รอดเป็นตัวเต็มวัยเมื่อ

แมลงวันผลไม้เหล่านั้นตาย นำไปบ่มชื้นไม่มีการปรากฏของเชื้อราบนตัวแมลง จึงสามารถสรุปได้ว่าสารกำจัดเชื้อรามีผลกระทบต่อเชื้อราโรคแมลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Alves และคณะ (1998) ที่แสดงให้เห็นว่าการใช้เชื้อราโรคแมลงร่วมกับสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มสารกำจัดเชื้อรา ส่งผลทำให้ไปลดความรุนแรงของเชื้อราโรคของแมลง ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ และทำให้เชื้อราตายได้

บทที่ 4

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต ปรากฏว่าสารกำจัดศัตรูพืชส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราโรคแมลง ทั้งการงอกและการเจริญของเส้นใยเชื้อรา โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารกำจัดศัตรูพืช ในกลุ่มสารกำจัดเชื้อรา ได้แก่ สาร mancozeb และสาร chlorothalonil ส่งผลทำให้สปอร์ของเชื้อราโรคแมลงไม่งอก หรืองอกแต่ช้ากว่าปกติ อีกทั้งสารกำจัดศัตรูพืชยังส่งผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 โดยเฉพาะสารในกลุ่มสารกำจัดเชื้อรา ได้แก่ สาร carbendazim ที่ไม่พบการเจริญของเส้นใย แต่สารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มอื่นๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างมากนักกับชุดควบคุม

การสร้างกิจกรรมของเอนไซม์ได้รับผลกระทบเช่นกันเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 สามารถสร้างเอนไซม์ได้หลายชนิด แต่เอนไซม์ที่มีผลต่อความรุนแรงในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืช มีสองชนิด คือ เอนไซม์ไคติเนส และเอนไซม์โปรตีเอส จากการทดลองสารในกลุ่มสารกำจัดเชื้อรามีผลยับยั้งการสร้างเอนไซม์ไคติเนสและเอนไซม์โปรตีเอส ยกเว้นสาร chlorothalonil พบการสร้างเอนไซม์โปรตีเอสอย่างเดียว ส่วนสารกำจัดเชื้อราสาร copper hydroxide สาร mancozeb และสาร carbendazim ไม่พบการสร้างเอนไซม์โปรตีเอสและเอนไซม์ไคติเนส

การทดสอบความมีชีวิตรอดของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ในดินที่ผสมของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ พบว่าสารในกลุ่มกำจัดเชื้อราทั้ง 4 ชนิด มีผลต่อความมีชีวิตรอดของเชื้อราโรคแมลง เนื่องจากไม่พบโคโลนีของเชื้อราตลอดการทดลอง

การทดสอบอัตราการหายใจของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ในดินที่ผสมของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ พบว่าในช่วงแรก มีการหายใจเกิดขึ้นในดินที่มีการปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชทุกชนิด แต่หลังจากผ่านวันที่ 12 ขึ้นไปพบว่าอัตราการหายใจของเชื้อรามีแนวโน้มลดลง เมื่อเทียบกับดินชุดควบคุมที่ไม่มีเชื้อรา ยกเว้นสารกำจัดวัชพืชสาร glyphosate พบว่ามีการหายใจที่สูงกว่าสารกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่นๆ

การศึกษาความสามารถในการเข้าทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ของเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ในดินที่มีสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของดักแด้แมลงวันผลไม้ ลดลงเมื่อมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆร่วมกับเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ยกเว้นสาร chlorpyrifos ที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ต่ำที่สุด และในสภาพเรือนทดลอง พบว่าสารกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 กลุ่มมี

เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตไม่แตกต่างกับชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 เพียงอย่างเดียว แต่เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใช้เชื้อราและไม่ใช่สากำจัดศัตรูพืช ปรากฏว่าแมลงวันผลไม้ในชุดควบคุมสามารถฟักออกจากดักแด้ได้สูงที่สุด ทั้งนี้สาร chlorpyrifos ที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ต่ำกว่าชุดควมคุมทั้ง2 ชนิด

ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า การใช้เชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ควบคุมแมลงศัตรูพืชเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพ ช่วยลดการใช้สารเคมี ซึ่งเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย หากต้องการนำเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 ไปใช้ร่วมกับพื้นที่ที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชมาก่อนควรทราบถึงกลุ่มของสารกำจัดศัตรูพืชเหล่านั้นเนื่องจากสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดมีผลต่อเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM04 แตกต่างกัน และเพื่อให้เชื้อราโรคแมลงเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. มปป. คลินิกพืชแมลงวันผลไม้. [ออนไลน์] เข้าถึงจาก http://www.agriqua.doae.go.th/plantclinic/Clinic/plant/mango/oriental_fruit.html. (20 สิงหาคม 2556).

กลุ่มส่งเสริมและพัฒนาเทคโนโลยีรังสี. มปป. แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. [ออนไลน์] เข้าถึงจาก http://www.agriqua.doae.go.th/radiation/fruitflies%2 0 in%2 0 Thailand.html. (20 สิงหาคม 2556).

ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2533. โรควิทยาของแมลง. ภาคกีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นริศ ท้าวจันทร์ ฤทธิพร เบ็ญอาหลี อนุชิต ชินาจริยวงศ์ และ วิวัฒน์ เสือสะอาด. 2555. ความหนาแน่นสปอร์เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae*ต่อความถี่การจับคู่ผสมพันธุ์และการแพร่กระจายเชื้อราในประชากรแมลงวันผลไม้ *Bactrocera papayae* (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (ฉบับพิเศษ) 43(1): 107-110.

นริศ ท้าวจันทร์ และอนุชิต ชินาจริยวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพการควบคุมของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*ในแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร(พิเศษ) 39: 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.

นริศ ท้าวจันทร์. 2554. การคัดกรองเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นในเขตจังหวัดภาคใต้ตอนกลางเพื่อการควบคุมแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 49หน้า.

นิรนาม. 2559. ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม. [ออนไลน์] เข้าถึงจาก http://www.thaipan.org/node/325 (17 มิถุนายน 2559)

ปาณิศา ธรรมเสวตร. 2558. ผลของเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* ไอโซเลท PSUM02 ต่อการผสมพันธุ์และการอยู่รอดของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) (Diptera: Tephritidae). วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 60 หน้า.

มนตรี จิรสุรัตน์. 2544. แมลงวันผลไม้ที่สำคัญของประเทศไทยและการแพร่กระจาย. น. 13 – 18. *ใน*: แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยากรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

วัชระ ลุ้งใส้ อรัญ งามผ่องใส และ นริศ ท้าวจันทร์. 2555. ผลของน้ำมันปิโตรเลียมและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างต่อการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อรา*Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (ฉบับพิเศษ) 43(1): 95-98.

ศุภมาศ พานิชศักดิ์พัฒนา. 2534. ผลกระทบของสารเคมีต่อดินและสภาพแวดล้อม. วารสารพัฒนาที่ดิน 28(10): 39-55.

สุวรรณา อ่ำทอง และแสวง รวยสูงเนิน. 2538. ผลของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน. วารสารแก่นเกษตร 23(1) : 8-13.

แสน ติกวัฒนานนท์. 2529. การเลี้ยงแมลงวันทองในสกุลดาคัสสี่ให้ได้ปริมาณมากด้วยอาหารกึ่งเทียม. วารสารเกษตรศาสตร์ (วิทย์) 20: 22-36.

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.Raffles Bulletin of Zoology7: 1-99.

Alves, S.B., Moino, A. and Almeida, J.E.M. 1998. Produtos fitosanitários e entomopatógenos. p. 217-237. *In*: Alves, S.B. (ed.). Controle microbiano de insectos. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), Sao Paulo, Brasil.

Bischoff, J.F., Rehner, S.A. and Humber, R.A. 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. Mycologia 101: 512–530.

Burn, R.G., and Edwards, J.A. 1979. Pesticide breakdown by soil enzymes. Persistence Science 11: 506-512.

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.

Clarke, A.R., Allwood, A.J., 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.Raffles Bulletin of Zoology49: 207–220.

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

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.

Dinalva, A., Mochi, A., Monteiro, C. and José, C.B. 2015. Action of Pesticides to *Metarhizium anisopliae* in Soil. Neotropical Entomology 34(6):961-971.

Durán, J., Carballo, M. and Hidalgo, E. 2004. Efecto de fungicidas sobre la germinación y el crecimiento de *Beauveria bassiana*. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) 71: 73-78.

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. 2003. Effect of soil temperature and moisture on survival and infectivity of *Metarhizium anisopliae* to four tephritid fruit fly puparia. Journal of Invertebrate Pathology 83: 157-167.

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.

Flexer, J. and Belnavis, D. 2000. Microbial insecticides. p. 35-62. *In*: Rechcigl, J.E. and Rechcigl, N.A. (eds.). Biological and biotechnological control of insect pest. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, USA.

Florencio, C., Couri S. and Fainas. C.S. 2012. Correlation between agar plate screening and solid-state fermentation for the prediction of cellulose production by *Trichoderma* strains. Enzyme Research doi:10.1155/2012/793708

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

Hänel, H. and Watson, J.A.L. 1983. Preliminary field tests on the use of *Metarhizium anisopliae* for the control of *Nasutitermes exitiosus* (Hill) (Isoptera: Termitidae). Bulletin of Entomological Research 73: 305-313.

Haney, R.L., Senseman, S.A. and Hons, F.M. 2002. Effect of roundup ultra on microbial activity and biomass from selected soils. Journal of Environmental Quality 31: 730-735.

Haney, R.L., Senseman, S.A., Hons, F.M. and Zuberer, D.A. 2000. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. Weed Science 48: 89-93.

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.

Hilbold, A.E. 1974. Persistence of Pesticide in Soil. pp. 203-220 *In*: Guenzi,W.D. (ed.) Pesticide in Soil and Water Soil Science Society of America, Inc. Madison Wisconsin, USA.

Hsu, J.C. and Camper, N.D. 1975. Degradation of loxynil to CO_2 in soil. Pesticide Biochemistry and Physiology 5: 47-51.

Inglis, G.D., Goettel, M.S., Butt, T.M. and Strasser, H. 2001. Use of Hyphomycetes fungi for managing insect pests. pp. 23-69. *In*: Butt, T.M., Janckson, C. and Magan, N. (eds.). Fungi as Biocontrol Agents Progress, Problems and Potential. CABI Publishing, London, UK.

Jenkinson, D.S. and Powlson, D.S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil - V. A method for measuring soil biomass. Soil Biology and Biochemistry 8: 209- 213.

Katayama, A. and Kuwatsuka, S. 1991. Effect of pesticides on cellulose degradation in soil under upland and flooded conditions. Soil Science and Plant Nutrition 27(1): 1-6.

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.

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.

Loureiro, E.S., de Moino, A., Jr. Arnosti, A. and de Souza, G.C. 2002. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. Neotropical Entomology 31: 263-269.

Mårtensson, A.M. 1992. Effects of agrochemicals and heavy metals on fast-growing Rhizobia and their symbiosis with small-seeded legumes. Soil Biology and Biochemistry 24(5): 435-445.

Mark, K.S., Nidchaya, A., Weerawan, A., Karen, F.A., Antonis, A.A., Norman, B., Wang, B., Kostas, B., Laura, M., Carlos, C., Stephen, L.C., Toni, A.C., Suksom, C., Anastasija, C., Marc, D.M., Ellena, D., Anna, E., Sunday, E., Angeliki, G.P., Scott, M.G., Deborah, H., Mohammed, H., David, H., Alvin, K.W.H., Jorge, H., Andrew, J., Qinge, J., Fathiya, M.K., Matthew, N.K., Luc, L., Khalid, M., Anna, R.M., Pinelopi, M.T., Maulid, M., Ritsuo, N., Hajime, O., Jesus, R., Daniel, R., Michael, S.J., Todd, E.S., Sunyanee, S., Keng, H.T., Sujinda, T., Ihsan, H., Shanmugam, V., Suk, L.W., Farzana, Y., Antigone, Z. and Anthony, R.C. 2015. Synonymization of key pest species within the *Bactrocera dorsalis* species complex (Diptera: Tephritidae): taxonomic changes based on a review of 20 years of integrative morphological, molecular, cytogenetic, behavioural and chemoecological data. Systematic Entomology 40(2): 456–471

Marsh, J.A.P., Devies, H.A. and Grossbrad, E. 1977. The effect of herbiocides on respiration and transformation of nitrogen in two soils. I. Metrirazin and Glyphosates. Weed Research 17: 977-982.

Mochi, D.A., Monteiro, A.C. and Barbosa, J.C. 2005. Action of pesticides to *Metarhizium anisopliae* in soil. Neotropical Entomology 34: 961-971.

Mochi, D.A., Monterio, A.C., De Bortoli, S.A., Dória, H.O.S. and Barbosa, J.C. 2006. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in soil with different pesticides. Neotropical Entomology 35(3): 382-389.

Murai, T. 1981. Photochemical of pesticides in the environment. Japan Pesticide Information 38: 13-16.

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 migatroia manilensis* (Meyen) in Northern China. Crop Protection 27: 1244-1250.

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

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

Rachappa, V., Lingappa, S. and Patil, R.K. 2007. Effect of Agrochemicals on growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin. Karnataka Journal Agricultural Sciences 20: 410-413.

Saleem, A., Shoaib, F., Asifa, H., Hafiza, T.G., Muhammad, A., Muhammad, N.M., Muhammad, N. and Muhammad, B.K. 2012. Compatibility of *Metarhizium anisopliae* with different insecticides and fungicides. Microbiology Research 6(17): 3956-3962.

Santi, L., Silva, W.O.B., Pinto, A.F.M., Schrank A. and Vainstein. M.H. 2010. *Metarhizium anisopliae* host-pathogen interaction: differential immunoproteomics reveals proteins involved in the infection process of arthropods. Fungal Biology 114: 312-319.

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

St Leger, R.J., Joshi, L. and Roberts, D. 1998. Ambient pH is major determinant in expression of cuticle-degrading enzyme and hydrophobin by *Metarhizium anisopliae*. Applied Environmental Microbiology 64: 709-713.

Swaine, G., Corcoran, R.J. and Davey, M.A. 1978. Commodity treatment against infestations of the cu- cumber fly, *Dacus (Austrodacus) cucumis* French, in cucumbers. Queensland Journal of Agricultural and Animal Science 35: 5-9.

Tamai, M.A., Alves, S.B., Lopes, R.B., Faion, M. and Padulla, L.F.L. 2002. Toxicidade de produtos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Arquivos do Instituto Biológico 69: 89-96.

Thaochan, N. and Chandrapatya, A. 2016. The phenotypic and metabolic properties of *Metarhizium guizhouense* on *Corcyra cephalonica*. Mycosphere 7: 215–226.

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

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

Todorova, S.I., Coderre, D., Duchesne, R.M. and Côté, J.C. 1998. Compatibility of *Beauveria bassiana* with selected fungicides and herbicides. Environmental Entomology 27: 427-433.

Vestergaard, S. and Eilenberg, J. 2000. Persistence of released *Metarhizium anisopliae* in soil and prevalence in ground and rove beetles. Bulletin OILB/SROP. 23: 181-185.

White, I.M. and Elson-Harris, M. 1992. Fruit flies of economic importance their identification and bionomics. CAB International Oxon, UK.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

ตารางภาคผนวกที่ 1 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อรา *Metarhizium guizhouense*

Sabouraud Dextrose Agar plus Yeast (SDAY)	
Dextrose	10.0 g.
Peptone	2.5 g.
Yeast extract	2.5 g.
Agar	4.0 g.
น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

เตรียมสารละลายตามอัตราส่วนข้างต้น ใส่ขวด duran ขนาด 250 กรัมนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 - 20 นาที

ตารางภาคผนวกที่ 2 วัสดุ และปริมาณของสารเคมีที่ใช้ทำอาหารเทียมเพื่อเลี้ยงหนอนแมลงวันผลไม้ *Bactrocera papayae* (Drew & Hancock)

วัสดุ	**ปริมาณ**
เมล็ดข้าวโพดหวานดิบ	150.0 กรัม
กล้วยน้ำว้าสุก	150.0 กรัม
ทิชชูหยาบ	30.0 กรัม
น้ำตาลทรายขาว	30.0 กรัม
Brewer's yeast	30.0 กรัม
Sodium benzoate	0.6 กรัม
Hydrochloric acid	6.0 มิลลิลิตร
H_2O	300.0 มิลลิลิตร

ที่มา : แสน (2529)

ตารางภาคผนวกที่ 3 ข้อมูลสารกำจัดศัตรูพืชสำหรับการทดสอบ

ลำดับ	ชื่อการค้า	สารออกฤทธิ์	สาระสำคัญ	ภาพประกอบ
1	เซฟดริน 85	carbaryl	1-haphthyl methyl carbamate 85 % WP	
2	ซิสเกตท์ 10	imidacloprid	Imidacloprid 10 % W/V SL	
3	ดีเบส	deltamethin	(s)-α-cyano-3-phenoxybenzyl (1R,3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2-2-dimethylcyclopropanecarboxylate 3 % W/V EC	
4	แคลเทียม	chlorpyrifos	0,0-diethyl 0-3.5,6-trichloro -2-pyridyl phosphorothioate 40 % W/V EC	
5	กำมะถันเมืองทอง	sulfur	sulfur 80 % WG	
6	อะบาเม็กติน	abamectin	abamectin 1.8 % W/V EC	

ลำดับ	ชื่อการค้า	สารออกฤทธิ์	สาระสำคัญ	ภาพประกอบ
7	ดีโอร่า	dicofol	2,2,2-trichloro-1,1-bis (4-chlorophenyl) ethanol 18.5 % W/V EC	
8	โคบาคอป	copper hydroxide	copper hydroxide 77 % WP [metallic copper equivalent 50 %]	
9	โรแทน เอ็ม	mancozeb	manganese ethylenebis (dithiocarbamate) polymeric complex with zinc salt 80 % WP	
10	การานิล 75	chlorothalonil	Terachloroisophthalonitrile 75 % WP	
11	ซิลโต้ เอสซี	carbendazim	methyl benzimidazol -2-ylcarbamate 50 % W/V SC	
12	ฟูโซน	Paraquat dichloride	1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium, dichloride 27.6 % W/V SL (1,1'- dimethyl-4,4'-bipyridinium ion 20 % W/V)	

ลำดับ	ชื่อการค้า	สารออกฤทธิ์	สาระสำคัญ	ภาพประกอบ
13	ไกลโฟเซต 48	glyphosate	N-(phosphonomethyl) glycine, isopropylamine salt 48 % W/V SL (N-(phosphonomethyl) glycine 36 % W/V)	
14	อาทราซีน 80	atrazine	6-chloro-N^2-ethyl-N^4-isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine 80 % WP	
15	ไดยูรอน	diuron	3-(3,4-dichlorophenyl) -1,1-dimethylurea 80 % WP	

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นายฤทธิพร เบ็ญอาหลี

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5510620041

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2554

ทุนการศึกษา

-ทุนสนับสนุนโครงการวิจัยวิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

-ทุนสนับสนุนจากสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร และทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาติ

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ฤทธิพร เบ็ญอาหลี และ นริศ ท้าวจันทร์. 2558. ความมีชีวิตรอดของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM04 ในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืชในสภาพห้องปฏิบัติการ. วารสารแก่นเกษตร (ฉบับพิเศษ) 43(1):759-768.

ฤทธิพร เบ็ญอาหลี และนริศ ท้าวจันทร์. 2557. การงอกของสปอร์และการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* PSUM04 ภายใต้สภาวะที่มีสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ในสภาพห้องปฏิบัติการ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 1(1): 59-65.

ฤทธิพร เบ็ญอาหลี และ นริศ ท้าวจันทร์. 2557. ผลของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราก่อโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* PSUM04 ในสภาพห้องปฏิบัติการ. วารสารแก่นเกษตร (ฉบับพิเศษ) 42(3):639-645.

นริศ ท้าวจันทร์ และ ฤทธิพร เบ็ญอาหลี. 2557. การคงอยู่ของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM04 บนต้นลองกอง เพื่อการควบคุมหนอนกินใต้ผิวเปลือกลำต้นลองกอง. วารสารแก่นเกษตร (ฉบับพิเศษ) 42(3): 618-623.

นริศ ท้าวจันทร์ ฤทธิพร เบ็ญอาหลี อนุชิต ชินาจริยวงศ์ และวิวัฒน์ เสือสะอาด. 2555. ความหนาแน่นสปอร์เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* ต่อความถี่การจับคู่ผสมพันธุ์และการแพร่กระจายเชื้อราในประชากรแมลงวันผลไม้ *Bactrocera papayae* (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (ฉบับพิเศษ) 43(1): 107-110.