ผลของเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* ไอโซเลท PSUM02 ต่อการผสมพันธุ์และการอยู่รอดของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) (Diptera: Tephritidae)

Effects of *Metarhizium guizhouense* Isolate PSUM02 on Mating and Survival of *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) (Diptera: Tephritidae)

ปาณิศา ธรรมเสวตร

Panisa Thamsawet

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

ผลของเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* ไอโซเลท PSUM02 ต่อการผสมพันธุ์และการอยู่รอดของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) (Diptera: Tephritidae)

Effects of *Metarhizium guizhouense* Isolate PSUM02 on Mating and Survival of *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) (Diptera: Tephritidae)

ปาณิศา ธรรมเสวตร

Panisa Thamsawet

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 ผลของเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* ไอโซเลท PSUM02 ต่อการผสมพันธุ์และการอยู่รอดของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) (Diptera: Tephritidae)

ผู้เขียน นางสาวปาณิศา ธรรมเสวตร

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)

บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา

……

(รองศาสตราจารย์ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่าผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านไว้ ณ ที่นี้

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

ลงชื่อ.....
(นางสาวปาณิศา ธรรมเสวตร)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวปาณิศา ธรรมเสวตร)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* ไอโซเลท PSUM02 ต่อการผสมพันธุ์และการอยู่รอดของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) (Diptera: Tephritidae)

ผู้เขียน นางสาวปาณิศา ธรรมเสวตร

สาขาวิชา กีฏวิทยา

ปีการศึกษา 2558

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของระยะเวลาการติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ต่อแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* เพศเมียที่ระยะเวลาต่างๆ โดยเพศเมียที่ติดเชื้อราเป็นระยะเวลามากกว่า 48 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การวางไข่ลดลงน้อยกว่า 16.7 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่า 83.3 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังส่งผลต่อจำนวนตัวอ่อน และตัวเต็มวัยในรุ่นถัดไปที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM02 ผ่านการจับคู่ผสมพันธุ์แมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่แมลงวันแตงเพศเมียปกติที่อยู่ภายในกรงเดียวกันได้ โดยแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตต่ำสุดเท่ากับ 6.16 ± 0.19 วัน ส่วนแมลงวันแตงเพศเมียที่อยู่ภายในกรงเดียวกันมีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตเท่ากับ 11.10 ± 0.55 วัน ส่วนชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของแมลงวันแตงเพศผู้ และเพศเมียเท่ากับ 14.26 ± 0.24 และ 14.48 ± 0.26 วัน การแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรากับแมลงวันแตงเพศผู้ปกติ ในวันที่ 1 และ 2 พบเปอร์เซ็นต์การแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราและแมลงวันแตงเพศผู้ปกติไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ในวันที่ 3 แมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีเปอร์เซ็นต์การแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์น้อยกว่าแมลงวันแตงเพศผู้ปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และในวันที่4 ไม่พบการแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรา ส่วนชุดควบคุมยังมีเปอร์เซ็นต์การแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ตลอดการสังเกต 5 วัน การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลงผ่านการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราต่อแมลงวันแตงเพศเมียสถานะต่างๆ เพศผู้ที่ติดเชื้อรามีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ต่อแมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์มากกว่าแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์ และแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง

ไปสู่แมลงวันแตงเพศเมียทั้งสองสถานะได้ โดยทำให้ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของแมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ และแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์เท่ากับ 11.82 ± 0.51 และ 11.88 ± 0.26 วัน ส่วนแมลงวันแตงทั้งสองสถานะในชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตเท่ากับ 13.90 ± 0.14 และ13.90 ± 0.21 วัน ตามลำดับ ส่วนการควบคุมแมลงวันแตงเพศเมียโดยอาศัยแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราโรคแมลงในสภาพโรงเรือน กรงที่มีเพศผู้ติดเชื้อราโรคแมลงมีจำนวนตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยในรุ่นถัดไปน้อยกว่ากรงที่มีเพศผู้ที่ไม่ติดเชื้อราอยู่ระหว่าง 2.61-4.58 เท่า

Thesis Title	Effects of *Metarhizium guizhouense* Isolate PSUM02 on Mating and Survival of *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) (Diptera: Tephritidae)
Author	Miss Panisa Thamsawet
Major Program	Entomology
Academic Year	2015

Abstract

The study of infection periods of *Metarhizium guizhouense* PSUM02 on adult gravid female fly *Bactrocera cucurbitae*, were investigated. The adult gravid female *B. cucurbitae* infected with the fungus more than 48 hr was decreased the percentage of egg laying less than 16.7% and increased the percentage of mortality more than 83.3%. Moreover, the higher infection periods of the fly with the fungus reduced significantly ($P<0.05$) of the number of offspring and adult stage in the next generation when compared with the control. The transmitted of *M. guizhouense* PSUM02 to *B. cucurbitae* by mating behavior were study in the laboratory. The infected male fly with the fungus transmitted the fungus to healthy female fly in the same cage by mating habits. The fungus caused the average survival time (AST) of the infected male and healthy female fly in the same cage with 6.16 ± 0.19 and 11.10 ± 0.55 day while the control showed AST of healthy male and healthy female fly with 14.26 ± 0.24 and 14.48 ± 0.26 days, respectively. The mating competitiveness of infected male and un-infected male fly to healthy female fly was studied in the laboratory. The percentage of mating competitiveness of both infected and un-infected male fly were not significantly different ($P>0.05$) on day one and two after being treated. On day three after treated, the percentage of mating competitiveness of the infected male fly (4.00 ± 2.45%) was significantly lower than un-infected male fly (12.00 ± 2.00%) ($P<0.05$) and was not detected mating habit of the infected male fly on day four after being treated. The mating competitiveness of control cage (un-infected male fly) showed mating habit on five observation days. The mating preference of infected male fly to virgin or gravid

female fly was investigated in laboratory. The infected male fly preferred to mate with virgin than gravid female fly. On day one and two after being treated, the infected male fly showed percentage of mating with virgin female fly 26.00 ± 3.71 and 22.00 ± 2.91%, while the percentage of mating with gravid female fly was 5.00 ± 2.24 and 8.00 ± 2.49%, respectively. Moreover, the infected male fly transmitted the fungus to both virgin and gravid female flies and caused of the mortality with the AST 11.82 ± 0.51 and 11.88 ± 0.26 days, while the control cage (un-infected male fly) of mating preference showed the AST 13.90 ± 0.14 and 13.90 ± 0.21 day, respectively. The controlling of female fly, *B. cucurbitae*, with infected male fly with *M. guizhouense* PSUM02 was studied in the greenhouse conditions. The infected male fly (the tested greenhouse cages) showed the number of larval, pupal and adult stages of the next generation from the tested fruit less than the un-infected male fly (the control greenhouse cages) between 2.61-4.58 times.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริศ ท้าวจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางในการแก้ปัญหาต่างๆ แก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.อนุชิต ชินาจริยวงศ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.จิราพร เพชรรัตน์ และ รองศาสตราจารย์ ดร.อรัญ งามผ่องใส กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาชี้แนะข้อบกพร่องและแนวทางอันเป็นประโยชน์ ต่อการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่อำนวยความสะดวกสถานที่ในการทำวิจัยทั้งในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดลอง

ขอขอบพระคุณสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาติ และบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้มอบทุนสนับสนุนในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคใต้ ที่อำนวยความสะดวกและเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ และเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 รวมถึงบุคลากรในศูนย์ทุกท่าน

ขอขอบคุณ คุณปัทมาพร อินสุวรรณโณ และคุณสิริพร ศรีเจริญ ที่ช่วยเหลืองานด้านธุรการ คุณมงคล รัตนโสภา และคุณสุพจน์ แก้วประสิทธิ์ ที่ให้ความช่วยเหลือในแปลงทดลอง

ขอบคุณคุณพ่อ แม่ และคนในครอบครัว ผู้ที่เป็นกำลังใจ เป็นแรงผลักดัน ในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนเพื่อนๆ พี่ๆที่เรียนปริญญาโท ปริญญาเอกทุกท่าน ที่เป็นกำลังใจ ค่อยรับฟังปัญหาและให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางในการแก้ไขปัญหาเสมอมา

สุดท้ายผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่ไม่ได้เอ่ยนาม ที่คอยเป็นกำลังใจ และให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่องที่เป็นประโยชน์แก่การทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ปาณิศา ธรรมเสวตร

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(11)
รายการภาพ	(12)
บทที่	
1. บทนำ	1
-บทนำต้นเรื่อง	1
- ตรวจเอกสาร	3
- วัตถุประสงค์	12
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	13
3. ผล และวิจารณ์	29
4. สรุป และข้อเสนอแนะ	51
เอกสารอ้างอิง	53
ประวัติผู้เขียน	60

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบในการทำอาหารเทียมเพื่อเลี้ยงหนอนแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)	16
2	สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02	17
3	เปอร์เซ็นต์การวางไข่ อัตราการตาย จำนวนของหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) เพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่ ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ปล่อยให้ติดเชื้อราที่ระยะเวลาต่างกัน	31
4	การวิเคราะห์ Kaplan-Meier ของค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับเพศเมียปกติ และเพศผู้ปกติกับเพศเมียปกติ (ชุดควบคุม) ในห้องปฏิบัติการ	34
5	การวิเคราะห์ Kaplan-Meier ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) ผ่านการแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ของชุดติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับชุดควบคุม	41
6	การวิเคราะห์ Kaplan-Meier ของค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านและไม่ผ่านการผสมพันธุ์ กับชุดควบคุม	45

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของหัวและอกของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)	4
2	ลักษณะของปีกแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)	4
3	วงจรชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (ก: ระยะตัวเต็มวัย ข: ระยะไข่ ค: ระยะตัวหนอน ง: ระยะดักแด้)	6
4	ลักษณะ conidiophoresและสปอร์ของ *Metarhizium anisopliae*	7
5	การเข้าทำลายของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในแมลงที่เกิดจากกระบวนการติดเชื้อราของแมลง	9
6	การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เก็บจากธรรมชาติ	14
7	อาหารที่ใช้เลี้ยงตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) (ก) น้ำ (ข) น้ำตาล และ (ค) ยีสต์	14
8	ลักษณะแมลงวันแตงเพศเมีย *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่ผ่านการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่	15
9	แผนผังการเตรียมเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ในห้องปฏิบัติการ	18
10	แผนผังการเตรียมสปอร์แขวนลอยเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02	19
11	แผนผังการทดลองการติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouens* PSUM02 ในแมลงวันแตงเพศเมีย *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่ช่วงระยะเวลาต่างๆ	20
12	แมลงวันแตงเพศเมีย *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่เหลือรอดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 วางไข่ที่ช่วงระยะเวลาต่างๆ	21

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
13	แผนผังทดสอบการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ผ่านการผสมพันธุ์ของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) และชุดควบคุม ในห้องปฏิบัติการ (ก) ชุดคลุกเชื้อรา (ข) ชุดควบคุม	22
14	แผนผังทดสอบการติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ในแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) เพศผู้ต่อการแข่งขันผสมพันธุ์ (ก) ชุดคลุกเชื้อรา (ข) ชุดควบคุม	24
15	แผนผังทดสอบการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 โดยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) เพศผู้ต่อแมลงวันเพศเมียสถานะต่างๆ (ก) ชุดคลุกเชื้อรา (ข) ชุดควบคุม	26
16	โรงเรือนทดสอบการควบคุมแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) เพศเมียโดยอาศัยแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ในสภาพโรงเรือน	28
17	ลักษณะของแมลงวันแตงเพศเมีย *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่ถูกเข้าทำลายโดยเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02	32
18	เปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ (mean ± S.E.) ของตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับเพศเมียปกติและเพศผู้ปกติกับเพศเมียปกติ (ชุดควบคุม) ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี independence sample *t*-test ($P<0.05$)	33
19	สัดส่วนการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับเพศเมียปกติ และเพศผู้ปกติกับเพศเมียปกติ (ชุดควบคุม)	35

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
20	เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสม (mean ± S.E.) ของตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับเพศเมียปกติ และเพศผู้ปกติกับเพศเมียปกติ (ชุดควบคุม) ในสภาพห้องปฏิบัติการ	36
21	เปอร์เซ็นต์การแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ (mean ± S.E.) ของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) ตัวเต็มวัยเพศผู้ปกติ (แต้มหลังด้วยน้ำยาลบคำผิดสีขาว) กับตัวเต็มวัยเพศผู้ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02	38
22	เปอร์เซ็นต์การแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ (mean ± S.E.) ของตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ปกติ (แต้มหลังด้วยน้ำยาลบคำผิดสีขาว) กับตัวเต็มวัยเพศผู้ที่ไม่คลุกสปอร์เชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 (ชุดควบคุม)	38
23	เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสมของตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ปกติ (แต้มหลัง) เพศเมียปกติ และเพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับเพศผู้ปกติ (แต้มหลัง) เพศเมียปกติ และเพศผู้ที่คลุกน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม)	40
24	สัดส่วนการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) ผ่านการแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ของชุดติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับชุดควบคุม	42
25	เปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ (mean ± S.E.) ของตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านและไม่ผ่านการผสมพันธุ์	44

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
26	เปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ (mean ± S.E.) ของตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ไม่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านและไม่ผ่านการผสมพันธุ์ (ชุดควบคุม)	44
27	สัดส่วนการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่าน และไม่ผ่านการผสมพันธุ์ และเพศผู้ปกติกับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านและไม่ผ่านการผสมพันธุ์ (ชุดควบคุม)	46
28	เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสมของตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านและไม่ผ่านการผสมพันธุ์ และเพศผู้ที่คลุกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อกับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านและไม่ผ่านการผสมพันธุ์ (ชุดควบคุม)	47
29	ค่าเฉลี่ย (mean ± S.E.) ของจำนวนตัวหนอนของชุดที่ตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศผู้ที่ไม่ติดเชื้อรา (ควบคุม) ในสภาพโรงเรือนตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี independence sample *t*-test ($P<0.05$)	49
30	ค่าเฉลี่ย (mean ± S.E.) ของจำนวนดักแด้ของชุดที่ตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศผู้ที่ไม่ติดเชื้อรา (ควบคุม) ในสภาพโรงเรือนตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี independence sample *t*-test ($P<0.05$)	50

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
31	ค่าเฉลี่ย (mean ± S.E.) ของจำนวนตัวเต็มวัยของชุดที่ตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศผู้ที่ไม่ติดเชื้อรา (ควบคุม) ในสภาพโรงเรือนตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี independence sample *t*-test ($P<0.05$)	50

บทที่1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

แมลงวันแตง (melon fruit fly) *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) อยู่ในอันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae เป็นแมลงวันผลไม้ชนิดหนึ่งที่เข้าทำลายผลผลิตทางการเกษตรและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก โดยพบความเสียหายของการเข้าทำลายผลผลิตอยู่ระหว่าง 30 – 100 เปอร์เซ็นต์ (White and Elson-Harris, 1992; Allwood *et al.,* 1999; Clarke *et al*., 2001; Dhillon *et al*., 2005) สามารถเข้าทำลายพืชผักได้มากกว่า 81 ชนิด (Dhillon *et al*., 2005) โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชตระกูลแตง (Cucurbitaceae) เช่น แตงกวา แตงโม ตำลึง ฟัก น้ำเต้า แคนตาลูป บวบเหลี่ยม ฟักทอง มะระ เป็นต้น โดยแมลงวันแตงมีเขตแพร่ระบาดเริ่มจากทวีปเอเชีย หมู่เกาะฮาวาย ปาปัวนิวกินี และหมู่เกาะมาเรียนา ส่วนในประเทศไทยมีการแพร่กระจายทั่วทุกภาคของประเทศ (มนตรี, 2544) ความเสียหายที่เกิดขึ้นของผลผลิตเกิดจากแมลงวันแตงเพศเมียไปวางไข่ใต้ผิวของผลผลิต ตัวหนอนอาศัยและกินเนื้อเยื่ออยู่ภายในผลผลิต (Tremblay, 1994)

การป้องกันและกำจัดแมลงวันแตงมีหลายวิธี ได้แก่ วิธีเขตกรรมโดยการไถพรวนและการตากดินเพื่อกำจัดดักแด้ในดิน วิธีกล เช่น การเก็บผลที่หล่นบนพื้นดินหรือผลที่ถูกทำลายบนต้นมาทำลายทิ้ง การใช้กระดาษหรือพลาสติกห่อผล การใช้สารล่อ เช่น การใช้สาร Cue-Lure ผสมสารฆ่าแมลงล่อแมลงวันแตงเพศผู้ การใช้เหยื่อพิษ เช่น การใช้สารฆ่าแมลงผสมกับเหยื่อโปรตีน การทำหมันด้วยเทคนิคการฉายรังสีโดยทำให้แมลงวันเป็นหมัน การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช โดยทั่วไปจะใช้กับระยะตัวเต็มวัยของแมลง (Ros *et al*., 2002) ซึ่งสารเคมีอาจมีผลกระทบต่อมนุษย์ สิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมายและสิ่งแวดล้อมได้ ส่วนการควบคุมโดยชีววิธี โดยการใช้เชื้อราก่อโรคแมลงในการนำมาควบคุมแมลงวันผลไม้ปัจจุบันได้มีการหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการทำลายสูงแต่ต้นทุนต่ำ และไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย ในการนำมาใช้ควบคุมแมลงวันผลไม้ ดังนั้นการควบคุมโดยชีววิธีจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจโดยเฉพาะการใช้เชื้อรา *Metarhizium* sp. ที่ปัจจุบันมีการใช้อย่างแพร่หลาย

เชื้อรา *Metarhizium* sp. มีคุณสมบัติที่ดีในการเป็นเชื้อราโรคแมลง ซึ่งสามารถฆ่าแมลงวันผลไม้ได้ (นริศ, 2554) โดยแมลงจะตายด้วยเชื้อราไอโซเลท M2ภายในระยะเวลา

5.33 ± 0.58 วัน การทดสอบการแพร่กระจายของแมลงที่ติดเชื้อราสู่แมลงปกติในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 มีอัตราการตายของแมลงด้วยเชื้อราไอโซเลท M2 (1.33 ± 0.29 ตัว) (นริศและอนุชิต, 2551)

พฤติกรรมอย่างหนึ่งที่น่าสนใจของแมลงวันแตงหรือแมลงวันผลไม้ทั่วไป คือ การจับคู่ผสมพันธุ์ ซึ่งถือได้ว่าเป็นพฤติกรรมหลักของแมลง โดยแมลงวันผลไม้เพศเมียจะปล่อยฟีโรโมนที่ผลิตมาจากต่อมที่ทวารหนักของแมลงและย้ายไปยังปีกโดยใช้ขาหลัง (Kobayashi *et al*., 1978; Ohinata *et al.,* 1982; Kuba and Sokei, 1988) เพื่อดึงดูดแมลงวันผลไม้เพศผู้ให้เข้ามาจับคู่ผสมพันธุ์ (Monro 1953, Keiser *et al*., 1973) จากพฤติกรรมดังกล่าว Dimbi *et al*. (2009) ได้ศึกษาพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ 3 ชนิด คือ *Ceratitis capitata* (Wiedemann), *C. cosyra* (Walker) และ *C. fasciventris* (Bezzi) โดยผ่านทางพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ และพบว่าแมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ติดเชื้อรามีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ไม่แตกต่างจากแมลงวันผลไม้เพศผู้ปกติ นอกจากนี้จากการศึกษาของนริศและคณะ (2554) พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. papayae* (Drew & Hancock) เพศผู้ที่ติดเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่แมลงวันผลไม้เพศเมียปกติได้และทำให้มีเปอร์เซ็นต์การตายโดยเชื้อราเพิ่มมากขึ้น

ดังนั้นการนำเชื้อรา *Metarhizium* sp. มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้โดยผ่านพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ อาจเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถช่วยลดจำนวนประชากรแมลงวันผลไม้ในธรรมชาติได้ ซึ่งพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้สามารถช่วยแพร่กระจายเชื้อราจากแมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ติดเชื้อราไปสู่แมลงวันผลไม้ปกติได้ (Dimbi *et al*., 2009) โดยไม่เป็นอันตรายต่อแมลงที่มีประโยชน์ชนิดอื่นๆนอกเป้าหมาย ซึ่งเชื้อรา *M. anisopliae* และ *M. guizhouense* เป็นเชื้อราเขียวที่ได้รับความสนใจในการนำมาใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช และเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงได้หลายชนิดซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อรา เชื้อราสามารถมีชีวิตอยู่ในดินได้นานจึงได้มีการนำมาใช้กับแมลงศัตรูพืช โดยไม่ส่งผลกระทบต่อมนุษย์ สิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย และสิ่งแวดล้อมซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวของเชื้อรา *Metarhizium* sp. โดยเฉพาะเชื้อรา *M. guizhouense* PSUM02 จึงได้นำมาใช้ในการทำงานวิจัยครั้งนี้เพื่อใช้ในการควบคุมแมลงวันแตง *B. cucurbitae*

ตรวจเอกสาร

1. **แมลงวันแตง** *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)

แมลงวันแตงเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของพืชตระกูลแตง (Shah *et al*., 1948) ซึ่งแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* spp. ทำความเสียหายอย่างหนักให้กับผักและผลไม้ในเอเชีย (Nagappan *et al*., 1971) ความเสียหายของผลผลิตอยู่ระหว่าง 30-100 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชตระกูลแตง และสภาพฤดูกาล การระบาดของแมลงวันแตงมีมากในช่วงอุณหภูมิต่ำกว่า 32 องศาเซลเซียส และมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศอยู่ระหว่าง 60-70% RH (Dhillon *et al*., 2005)

1.1 **ลักษณะทางสัณฐานวิทยา** (White, 2014)

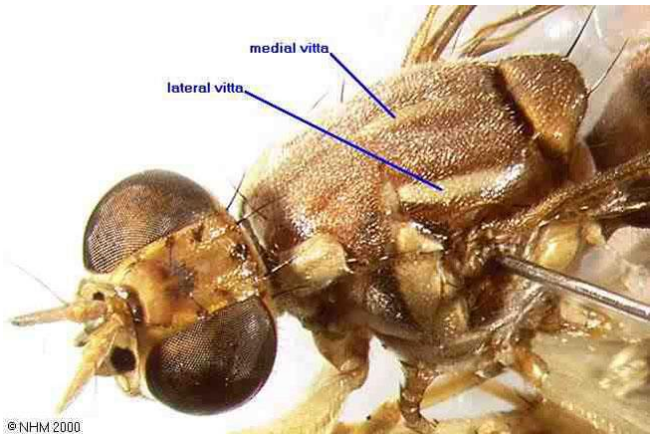
ส่วนหัว: ส่วนหัวของแมลงวันชนิดนี้มีสีเหลืองอมน้ำตาล พื้นที่ส่วนหน้า (fronts) ของหัวมีขน และมีขนอยู่ด้านใต้ fronts 3 คู่ และด้านบนสุดของ fronts อยู่ 1 คู่ ใต้หนวดมีจุดสีดำขนาดใหญ่ หนวดมีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 1)

ส่วนอก: แผ่นอกมีสีเหลืองออกน้ำตาล บริเวณ mesonotum มีแถบสีเหลืองตรงกลาง 3 แถบ แถบด้านข้างปลายจะเรียว ส่วนแถบตรงกลางตอนบนจะเรียวแหลม scutellum สีเหลือง (ภาพที่ 1)

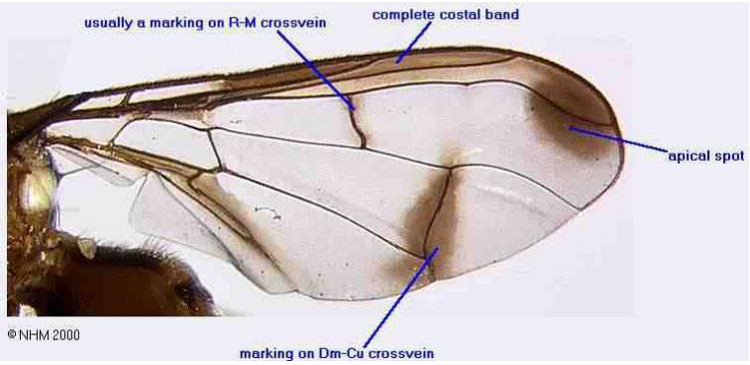
ส่วนปีก: ปีกของแมลงวันมีลักษณะใส ปีกยาวประมาณ 4.2-7.1 มิลลิเมตร ขอบปีกมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงปลายปีกและสีน้ำตาลจะขยายใหญ่ไปยังเส้นปีก R_{4+5} และมีลักษณะเป็นจุดกลมใหญ่สีน้ำตาลเข้มและที่เส้น R-M กับ dm-cu มีแถบขวางปีกสีเข้ม (ภาพที่ 2)

ส่วนท้อง: มีสีน้ำตาลออกเหลือง ด้านข้างปล้องที่ 1 มีสีน้ำตาลเข้ม ปล้องที่ 2 มีแถบสีน้ำตาลทางด้านบน ปล้องที่ 3-5 มีแถบสีดำพาดไปตามยาวของกลางปล้อง

ส่วนขา: บริเวณโคนขามีสีซีด ส่วนด้านปลายขามีสีเหลืองน้ำตาลแดง โดยบริเวณ tibia ของขาคู่กลางมีหนามสีดำ



ภาพที่1 ลักษณะของหัวและอกของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)
ที่มา: White (2014)



ภาพที่ 2 ลักษณะของปีกแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)
ที่มา: White (2014)

1.2 **วงจรชีวิตของแมลงวันแตง** *Bactrocera cucurbitae*

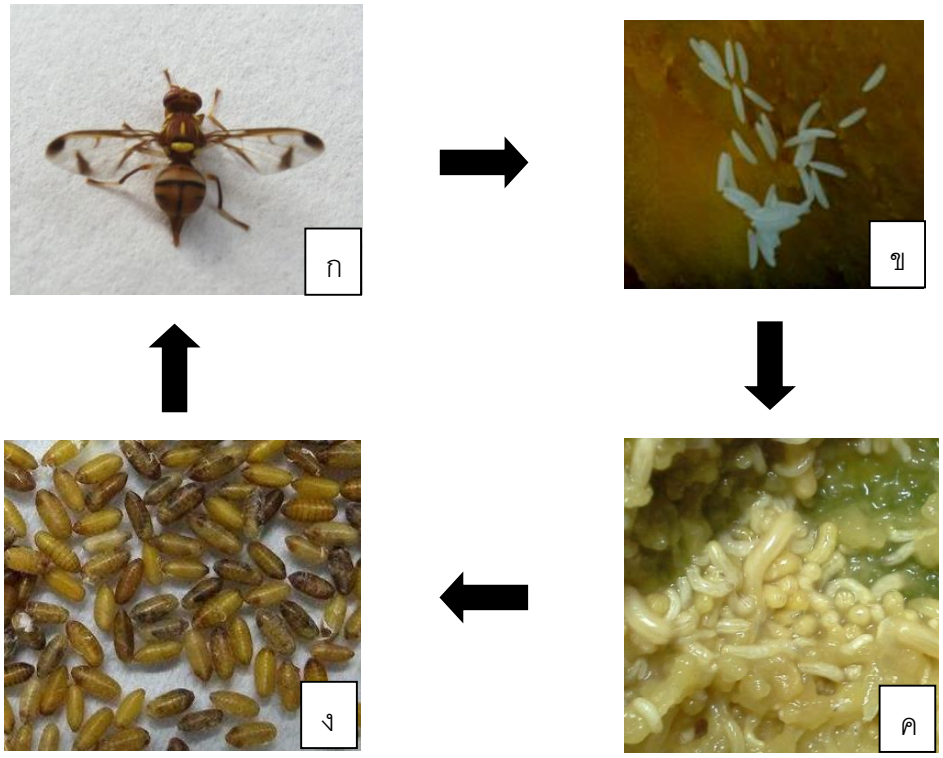
แมลงวันแตงมีการเจริญเติบโตแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) แบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ ระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย (ภาพที่ 3)

ระยะไข่ (egg): ไข่ของแมลงวันแตงมีสีขาวขุ่นถึงขาวปนเหลืองเล็กน้อย รูปทรงคล้ายเมล็ดข้าวสาร มีขนาดกว้างประมาณ 0.2 มิลลิเมตรและยาว 0.8 มิลลิเมตรไข่จะฟักเป็นตัวหนอนภายในระยะเวลา 1-2 วัน ที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส

ระยะตัวหนอน (larva): ตัวหนอนมีสีขาวหรือมีสีใกล้เคียงกับสีของพืชอาศัย ลักษณะเป็นแบบหนอนแมลงวัน (maggots) ไม่มีรยางค์บนลำตัว ระยะหนอนมี 3 วัย ใช้เวลา 4-17 วัน ตัวหนอนกินเนื้อภายในผลของพืชเป็นอาหาร เมื่อตัวหนอนเติบโตเต็มที่ถึงวัยที่ 3 จะมีความยาว 9.0-11.0 มิลลิเมตร ลักษณะตัวหนอนมีรูปร่างกลมยาวรีหัวแหลม ท้ายป้าน ตัวหนอนที่โตเต็มที่จะดีดตัวลงสู่ดินและพัฒนาเป็นดักแด้ฝังตัวอยู่ในดินใต้ต้นพืชอาศัยซึ่งตัวหนอนสามารถดีดไปได้ไกลประมาณ 30 เซนติเมตร

ระยะดักแด้ (pupa): ดักแด้มีลักษณะทรงกลมรีเป็นแบบ coarctate ไม่มีส่วนของรยางค์ให้เห็น มีความยาว 4.0-6.0 มิลลิเมตรมีสีเหลืองอ่อน และสีเข้มขึ้นจนเป็นสีน้ำตาลไหม้ ระยะดักแด้ใช้เวลา 7-13 วัน จึงจะพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย

ระยะตัวเต็มวัย (adult): แมลงวันแตงตัวเต็มวัยมีขนาดใกล้เคียงกันกับแมลงวันบ้าน มีความยาวประมาณ 7-8 มิลลิเมตร ลักษณะของสีบนลำตัวมีสีน้ำตาลอมส้ม มีแถบสีเหลืองบนอกด้านสันหลัง 3 แถบ ปีกมีแถบสีดำตามแนวขวางของปีก มีแถบสีดำหนาที่ปลายปีกจนดูเป็นจุดที่ปลายปีก ตัวเต็มวัยของแมลงวันแตงสามารถบินได้ไกล 50-100 กิโลเมตร เพื่อค้นหาพืชอาหารและวางไข่ (Fletcher, 1989) ซึ่งแมลงวันแตงตัวเต็มวัยเพศเมียที่ได้รับการผสมพันธุ์จะวางไข่ใต้ผิวเปลือกของผลของพืชอาศัย ตลอดอายุของแมลงวันแตงเพศเมียสามารถวางไข่ได้มากกว่า 1,000 ฟอง ตัวเต็มวัยพบได้ตลอดปี เมื่อออกจากดักแด้ได้ 10-12 วัน โดยทั่วไปตัวเต็มวัยอาจมีอายุได้ถึง 5 เดือน ในกรณีอากาศหนาวเย็นเหมาะสมอาจมีอายุได้ถึง 15 เดือน (Christenson and Foote, 1960)



ภาพที่ 3 วงจรชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (ก: ระยะตัวเต็มวัย ข: ระยะไข่ ค: ระยะตัวหนอน ง: ระยะดักแด้)

2. พฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตง

พฤติกรรมการผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้โดยทั่วไป พบว่าแมลงวันผลไม้เพศเมียจะปล่อยฟีโรโมนออกมาเพื่อดึงดูดแมลงวันผลไม้เพศผู้ ซึ่งฟีโรโมนดังกล่าวนี้จะผลิตมาจากต่อมที่ทวารหนักของแมลงและย้ายไปยังปีกโดยใช้ขาหลัง (Kobayashi *et al*. 1978; Ohinata *et al*. 1982; Kuba and Sokei, 1988) เมื่อแมลงวันผลไม้เพศผู้ได้รับฟีโรโมนจะรวมกลุ่มและกระพือปีกรอบๆ แมลงวันผลไม้เพศเมีย จากนั้นแมลงวันผลไม้เพศเมียจะตอบสนองแมลงวันผลไม้เพศผู้โดยการบินหรือเดินบริเวณรอบๆ เพศผู้ หลังจากนั้นเพศผู้จะเข้ามาหาเพศเมียแล้วบินไปเกาะบนหลังเพศเมียและผสมพันธุ์กัน (Monro 1953; Keiser *et al*. 1973)

สำหรับช่วงเวลาและปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการจับคู่ผสมพันธุ์ พบว่าแมลงวันผลไม้จะถูกกระตุ้นให้เกิดการผสมพันธุ์ด้วยความเข้มแสงที่ลดลงซึ่งช่วงเวลาการผสมพันธุ์จะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของแมลงวันผลไม้ (Drew 1989) ได้แก่ *B. dorsalis* (Hendel), *B. cucurbitae* และ *B. tryoni* (Froggatt) โดยแมลงวันผลไม้จะเริ่มมีการผสมพันธุ์เมื่อมีความเข้มแสงลดลงก่อนพระอาทิตย์จะตกดิน (Bateman, 1972) แมลงวันผลไม้ *B. tryoni* จะมีการผสมพันธุ์

เพียงรอบเดียวในช่วงเวลาพลบค่ำเท่านั้น ซึ่งช่วงเวลาที่มีความเหมาะสมจะต้องมีความใกล้เคียงกับสภาพในธรรมชาติ (Myers 1952; Tychsenand Fletcher 1971) โดยการผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้จะต้องอยู่ในที่มืด หากมีแสงสว่างของแสงไฟ (10,000 lux) การผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้จะสิ้นสุดลง แต่หากมีความสว่างของแสงไฟ 1,000 lux ความสามารถในการผสมพันธุ์จะมีความถี่เพิ่มขึ้นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (Smith 1979)

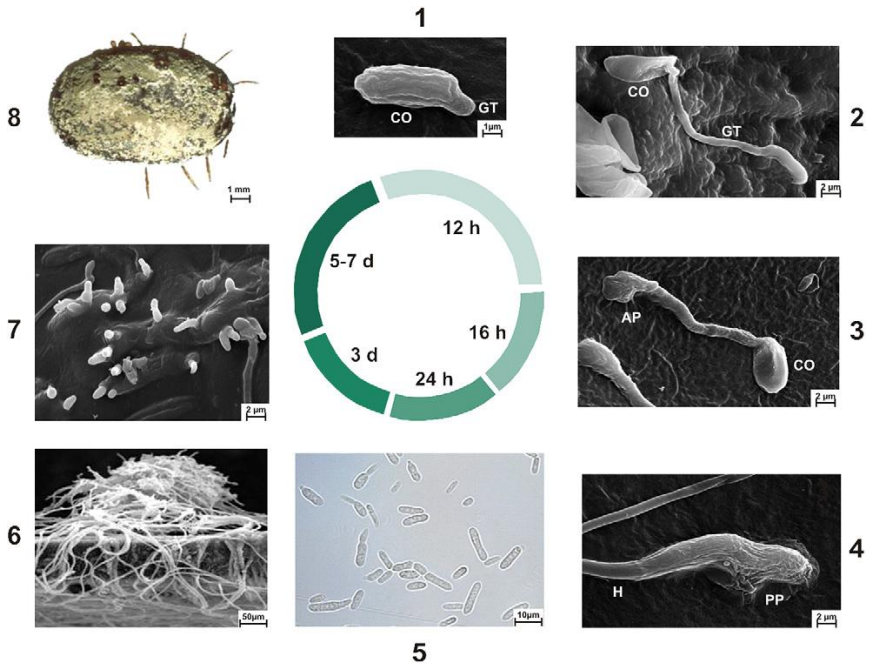
3. เชื้อรา *Metarhizium* sp.

เชื้อรา *Metarhizium* sp. เป็นเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง ที่จัดอยู่ในกลุ่ม Deuteromycetes อันดับ Moniliales วงศ์ Moniliaceae อาศัยอยู่ในดิน เป็นเชื้อราที่มีวงจรชีวิตไม่สมบูรณ์ ไม่พบระยะการสืบพันธุ์โดยอาศัยเพศ สามารถเข้าทำลายแมลงได้หลายชนิด และเข้าทำลายทุกระยะการเจริญเติบโตของแมลง (มลิวัลย์, 2534) ซึ่งสีสปอร์ที่สร้างขึ้นตอนแรกมีสีขาว และค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเขียวเมื่อแก่ขึ้นสีของสปอร์จะมีสีเขียวเข้มเกือบดำ (ภาพที่ 4) ลักษณะเชื้อราเป็นรูปทรงกระบอก เส้นใยมีผนังกั้นเป็นปล้องๆไม่มีสี เส้นใยจะแผ่ขยายเจริญเติบโตสร้างสปอร์ (conidia) เป็นรูปยาวรีคล้ายเมล็ดข้าว เป็นลูกโซ่ต่อกันตรงรอยคอคอดเรียกว่า conidium (นิรนาม ,มปป.)

ภาพที่ 4 ลักษณะ conidiophores และสปอร์ของ *Metarhizium anisopliae*
ที่มา :ทิพย์วดี และคณะ (ม.ป.ป.)

3.1 **การเข้าทำลายแมลงของเชื้อรา** *Metarhizium* sp.

การติดเชื้อของแมลงเริ่มจากการที่สปอร์ของเชื้อรา *M. anisopliae* ไปสะสมและยึดเกาะบนลำตัวของแมลง เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมสปอร์ของเชื้อราที่อยู่บนลำตัวแมลงก็จะสร้างเส้นใย (germ tube) เพื่อแทงทะลุตามข้อปล้องเจาะเข้าไปในลำตัวของแมลงบนผิวของโปรตีนและชั้นไขมันที่อยู่บนลำตัวแมลงมีผลต่อการเจริญเติบโตของ *M. anisopliae* ก่อนเจาะเข้าไปในลำตัวของแมลง (Jarrold *et al*., 2007) (ภาพที่ 5) โดยเชื้อรา *M. anisopliae* สามารถผลิตเอนไซม์ต่างๆ มาเพื่อย่อยสลายลำตัวแมลง เช่น เอนไซม์ lipase ช่วยย่อยสลายชั้นไขมันที่เคลือบอยู่บนผนังลำตัวแมลง (Silva *et al*., 2005) และยังมีเอนไซม์อื่นๆ เช่น เอนไซม์ chitinase และ proteinase ช่วยย่อยสลายชั้นต่างๆ ของผนังลำตัวแมลง (Frazzon *et al*., 2000; Silva *et al*., 2005; Arruda *et al*., 2005) เมื่อเชื้อราเข้าไปในช่องว่างภายในลำตัวแมลงก็จะเจริญสร้างเส้นใยจนเต็มลำตัวแมลงแย่งแร่ธาตุอาหารและทำลายอวัยวะต่างๆ ในลำตัวแมลง เมื่อแมลงตายเชื้อราจะแทงทะลุผนังลำตัวแมลงออกมา (Silva *et al*., 2009) เพื่อสร้างเส้นใยสืบพันธุ์ชูขึ้นมาบนอากาศ และสร้างสปอร์ไว้ขยายพันธุ์ต่อไป แมลงที่ตายเพราะเชื้อราตัวมักแห้งแข็ง มีเส้นใยและสปอร์ปกคลุมทั่วตัว สปอร์บนตัวแมลงสามารถแพร่กระจายต่อไปได้ (มลิวัลย์, 2534)



ภาพที่ 5 การเข้าทำลายของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในแมลงที่เกิดจากกระบวนการติดเชื้อของแมลง หมายเลขแทนดังนี้ 1. สปอร์ของเชื้อรายึดเกาะของบนผนังลำตัวของแมลง 2. สปอร์สร้าง Germ tube ออกมา 3. สปอร์สร้าง Apressoria 4. เส้นใยปล่อยเอนไซม์เจาะผนังลำตัวแมลง 5. ลักษณะของสปอร์ที่มีผนังหนา 6. เส้นใยเจริญภายในลำตัวของแมลง 7. เส้นใยแทงทะลุผ่านผนังลำตัวของแมลงออกมา 8. เชื้อราสร้างสปอร์และก้านชูสปอร์บนตัวแมลงที่ตายแล้วเพื่อขยายพันธุ์ต่อไป

ที่มา: Schrank and Vainstein (2010)

การใช้เชื้อรา *Metarhizium* sp. ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ

เชื้อรา *Metarhizium* sp. ได้ถูกนำไปใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิดมีการแพร่กระจายไปกว้างในธรรมชาติและพบในดินที่บริเวณรากพืชหรือซากของแมลงเป็น parasitizes มีความหลากหลายของชนิดแมลงและเห็บ (Schrank and Vainstein, 2010) เช่น ด้วง (Klien and Lacey, 1999) ตั๊กแตน (Peng *et al*., 2008) แมลงสาบ (Hernandez-Ramirez *et al*., 2008) เพลี้ยไฟ (ทิพย์วดี และคณะ, มปป.) ยกตัวอย่างเช่น การนำเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 10 ไอโซเลทมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับหนอนกระทู้ผักวัย 2 โดยให้สัมผัสกับเชื้อราโดยตรงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีเชื้อราเขียว 3 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผักคือ BCC1858, BCC4849

และ KhonKaen ซึ่งทำให้หนอนกระทู้ผักตาย 100 เปอร์เซ็นต์ภายใน 2 วัน (พัชรินทร์, มปป.) นอกจากนี้มีรายงานการนำเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลต E9, IBCB425 และ IBCB159 พบว่า E9 ทำให้ดักแด้ของแมลงวัน *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) ตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นของสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (Dinalva *et al*., 2010)

การใช้เชื้อรา *Metarhizium* sp.ในการควบคุมแมลงวันผลไม้

การใช้เชื้อรา *Metarhizium* sp. ในการควบคุมแมลงวันผลไม้ จากการศึกษาของนริศและอนุชิต (2551) โดยการทดสอบเชื้อรา *M. anisopliae* กับแมลงวันผลไม้ *B. papayae* พบว่าสามารถทำให้เกิดโรคในแมลงวันผลไม้ได้ นอกจากนี้มีรายงานว่าสายพันธุ์เชื้อราก่อโรคแมลงที่นำมาใช้กับตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *C. capitata* พบว่าตัวเต็มวัยมีอัตราการตายเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 41.9-88.0 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการแพร่กระจายของเชื้อราโรคแมลง (Evangelos *et al*., 2012) นอกจากนี้มีรายงานการทดสอบของ *M. anisopliae* var. *anisopliae* สายพันธุ์ E9 กับระยะหนอนก่อนเข้าดักแด้ระยะดักแด้และตัวเต็มวัยที่ออกมาจากดักแด้ของแมลงวันผลไม้อเมริกาใต้ *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) พบว่าความเข้มข้นของสปอร์สูงสุด 2.52×10^{10} สปอร์ต่อกรัมของดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อ มีอัตราการตายของตัวเต็มวัยที่ออกจากดักแด้ 86 เปอร์เซ็นต์ และระดับความเข้มข้นที่ทำให้ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนที่ทดสอบ (LC_{50}) คือ 8.44×10^9 สปอร์ต่อกรัมของดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และ 12.23×10^9 สปอร์ต่อกรัมของดินที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ (Destéfano *et al*., 2005)

มีรายงานการนำเชื้อรา *M. anisopliae* มาทดสอบกับแมลงวันผลไม้ *C. capitata* พบว่าความเข้มข้นของเชื้อราที่ 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำให้อัตราการของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *C. capitata* ตาย 100 เปอร์เซ็นต์ (Jorge *et al*., 2006) นอกจากนี้มีรายงานการเข้าทำลายของ *M. anisopliae* ทั้ง 4 สายพันธุ์ต่อดักแด้ของ *C. capitata* ระยะหนอนวัยที่สาม ในดินที่ปราศจากเชื้อถูกตรวจสอบในห้องปฏิบัติการภายใต้การควบคุมของอุณหภูมิและความชื้นที่ 20-30 องศาเซลเซียส พบว่ามีอัตราการตายสูงสุดในระยะดักแด้ที่ water potential -0.1 และ-0.01 mega pascal (MPa) และต่ำสุดที่ water potential -0.0055 และ-0.0035 MPa ในทุกสายพันธุ์เมื่อทดสอบด้วยเชื้อราสายพันธุ์ ICE20 ในระยะดักแด้ของแมลงวันผลไม้แอฟริกัน (*C. rosa* (Karsch), *C. fasciventris* และ *C.cosyra*) สามารถเข้าทำลายได้ถึง 60-80 เปอร์เซ็นต์ (Ekesi *et al*., 2003)

นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ส่งผลต่อพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ในแมลงวันผลไม้แอฟริกัน 3 ชนิด คือ *C. capitata, C. cosyra* และ *C. fasciventris* โดย

เปรียบเทียบช่วงระยะเวลาการเริ่มต้นการจับคู่ผสมพันธุ์ในเพศผู้ที่ได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* จะใช้เวลาการจับคู่ผสมพันธุ์นาน โดยเริ่มต้นที่ 70.0-80.0 นาที และในเพศผู้ที่ปกติจะใช้ระยะเวลาการจับคู่ผสมพันธุ์เร็วกว่าเริ่มต้นที่ 15.0-16.0 นาที นับหลังจากที่เพศเมียปล่อยฟีโรโมนเพศเพื่อการจับคู่ผสมพันธุ์ (Dimbi *et al*., 2009) นอกจากนี้ยังมีรายงานการนำเชื้อรา *M. anisopliae* มาทดลองกับแมลงวันผลไม้สกุล *C. capitata* และ *C. rosa* var. *fasciventris* พบว่าสามารถก่อให้เกิดโรคกับแมลงทั้ง 2 ชนิดหลังจากการปลูกเชื้อ 4 วัน มีอัตราการตายอยู่ที่ 7-100 เปอร์เซ็นต์ และ 11.4-100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Dimbi *et al*., 2003)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาการติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ที่ช่วงระยะเวลาต่างๆ ของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศเมียที่พร้อมวางไข่และการพัฒนาระยะตัวอ่อน

2. เพื่อศึกษาการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM02 ผ่านการจับคู่ผสมในห้องปฏิบัติการ

3. เพื่อศึกษาผลของการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM02 ในแมลงวันแตง *B. cucurbitae* เพศผู้ต่อการแข่งขันผสมพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ

4. เพื่อศึกษาผลของการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM02 ในแมลงวันแตง *B. cucurbitae* เพศผู้ต่อแมลงวันเพศเมียสถานะต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ

5. ศึกษาการควบคุมแมลงวันแตง *B. cucurbitae* เพศเมีย โดยอาศัยแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM02 ในสภาพโรงเรือน

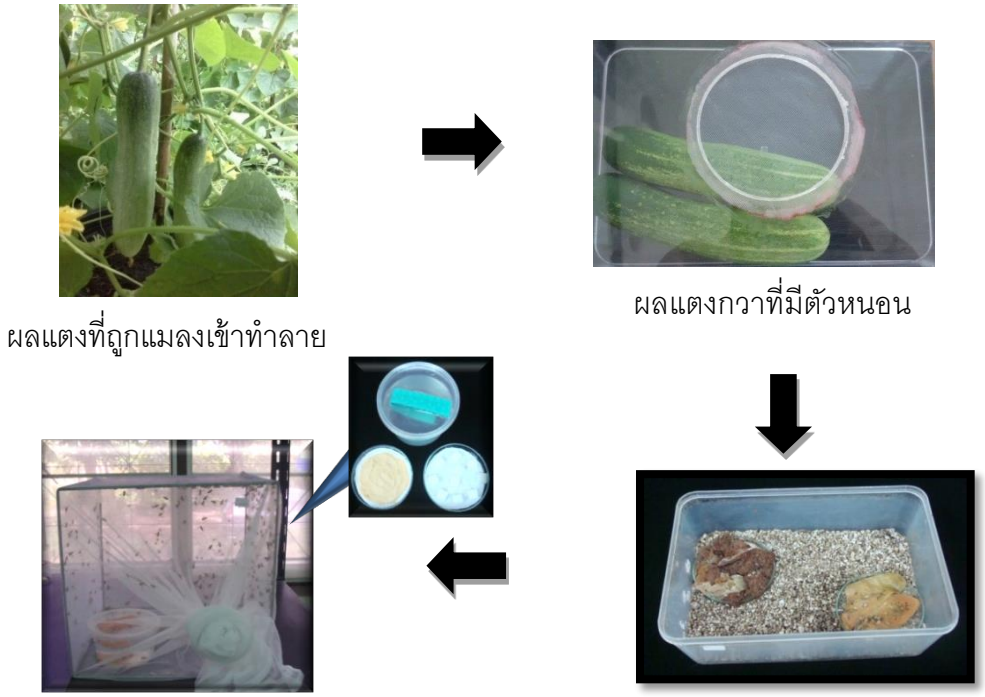
บทที่2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

1.การเตรียมแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett)

1.1 การเก็บแมลงวันแตง *B. cucurbitae* จากธรรมชาติ

เก็บรวบรวมผลบวบเหลี่ยมและแตงกวาที่ถูกแมลงวันแตงเข้าทำลายจากแปลงภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และแปลงปลูกเกษตรกร ต.บางเหรียง อ.ควนเนียง จ.สงขลา ใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด 19×28×10.50 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศปิดด้วยผ้ามุ้ง จากนั้นนำผลแตงกวาที่มีตัวหนอนไปเลี้ยงบนอาหารเทียมตามสูตรของ Swaine *et al*. (1978) (อ้างโดย แสน, 2529) (ตารางที่ 1) เลี้ยงระยะหนอนจนถึงวัยที่ 3 ย้ายอาหารเทียมมาใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด 19×28×10.50 เซนติเมตร ด้านล่างของกล่องรองพื้นด้วย vermiculite สูงประมาณ 2 เซนติเมตร เพื่อให้หนอนออกมาเข้าดักแด้ประมาณ 8-10 วัน เมื่อตัวเต็มวัยออกจากดักแด้แล้วนำไปใส่ในกรงผ้ามุ้งขนาด 30×30×30 เซนติเมตร ภายในกรงมีน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำเป็นแหล่งอาหารให้กับแมลง (ภาพที่ 7) เลี้ยงแมลงวันแตงจนตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียมีอายุประมาณ 20 วัน หรือแมลงวันแตงเพศเมียผ่านการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่ (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เก็บจากธรรมชาติ

ภาพที่ 7 อาหารที่ใช้เลี้ยงตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) (ก) น้ำ (ข) น้ำตาล และ (ค) ยีสต์

1.2 การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันแตง *B. cucurbitae* ในห้องปฏิบัติการ

เมื่อเลี้ยงตัวเต็มวัยแมลงวันแตงที่เก็บจากธรรมชาติข้างต้นจนครบอายุ 20 วัน หรือแมลงวันแตงเพศเมียผ่านการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่ (สังเกตไข่ของแมลงวันแตงที่กรงผ้ามุ้ง) จากนั้นนำผลแตงกวา 2-3 ผล ที่ผ่าครึ่งตามแนวยาวมาวางภายในกรง ให้แมลงวันแตงวางไข่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเก็บผลแตงออกไปบ่มในกล่องพลาสติกใสขนาด 19×28×10.50 เซนติเมตร จนหนอนฟักออกจากไข่ จากนั้นนำผลแตงกวาที่มีตัวหนอนไปเลี้ยงบนอาหาร (ตามข้อที่ 1.1)

1.3 การเตรียมแมลงวันแตงเพศเมีย *B. cucurbitae* ที่ผ่านการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่

นำแมลงวันแตงเพศเมีย และเพศผู้ที่ออกจากดักแด้อายุ 1 วัน นำมาใส่ในกรงผ้ามุ้งขนาด 30×30×30 เซนติเมตร ภายในกรงมีน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำเป็นแหล่งอาหารให้กับแมลง ปล่อยให้แมลงวันแตงจับคู่ผสมพันธุ์กันและเลี้ยงจนอายุครบ 20 วัน หลังจากนั้นเลือกแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่ (แมลงวันแตงเพศเมียจะมีลักษณะของส่วนท้องป่อง และใต้ท้องมีสีขาวขุ่น) (ภาพที่ 8) มาใช้ในการทดลองที่ 1, 4 และการทดลองที่ 5

ภาพที่ 8 ลักษณะแมลงวันแตงเพศเมีย *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่ผ่านการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่

1.4 การเตรียมแมลงวันแตงเพศเมียและเพศผู้ *B. cucurbitae* ที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์

นำแมลงวันแตงเพศเมีย และเพศผู้ที่ออกจากดักแด้อายุ 1 วัน นำมาใส่ในกรงผ้ามุ้งขนาด 30×30×30 เซนติเมตร (เพศเมีย 1 กรง และเพศผู้ 1 กรง) ภายในกรงมีน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำเป็นแหล่งอาหารให้กับแมลง เลี้ยงแมลงวันแตงจนอายุครบ 15 วัน หลังจากนั้นเลือกแมลงวันแตงเพศเมียและเพศผู้ มาใช้ในการทดลองที่ 2, 3, 4 และการทดลองที่ 5

2. การเตรียมอาหารเทียม

2.1 การเตรียมอาหารเทียมเลี้ยงหนอนแมลงวันแตง *B. cucurbitae*

โดยมีวิธีการทำอาหารเทียมดังนี้ ชั่งวัสดุและสารเคมีตามตารางที่ 1 จากนั้นนำกระดาษชำระมาแช่น้ำให้ชุ่มและฉีกเป็นชิ้นเล็ก นำข้าวโพดหวานดิบ และกล้วยน้ำว้าสุกปอกเปลือกมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก เพื่อง่ายต่อการปั่นส่วนผสมให้เข้ากัน เริ่มด้วยการนำน้ำใส่ลงไปในเครื่องปั่นจากนั้นนำกล้วยน้ำว้า, ข้าวโพด, Brewer's yeast, Sodium benzoate, Hydrochloric acid, น้ำตาลทราย และกระดาษชำระ ตามลำดับ ปั่นให้ส่วนผสมเข้ากันเป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นนำไปใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด 19×28×10.50 เซนติเมตร ที่มีฝาปิดมิดชิด แล้วนำไปใส่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบในการทำอาหารเทียมเพื่อเลี้ยงหนอนแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
เมล็ดข้าวโพดหวานดิบ	150.0 กรัม
กล้วยน้ำว้าสุก	150.0 กรัม
กระดาษชำระชนิดหยาบ	30.0 กรัม
น้ำตาลทรายขาว	30.0 กรัม
Brewer's yeast	30.0 กรัม
Sodium benzoate	0.6 กรัม
Hydrochloric acid	6.0 มิลลิลิตร
น้ำ	300.0 มิลลิลิตร

ที่มา : Swaine *et al*. (1978 อ้างโดย แสน, 2529)

2.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อราโรคแมลง Sabouraud Dextrose Agar plus Yeast (SDAY)

นำสารเคมีตามตารางที่ 2 ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำน้ำ 500 มิลลิลิตร มาใส่ในบีกเกอร์ข้างต้น คนสารให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วเมื่อสารเข้ากันแล้วใส่น้ำอีก 500 มิลลิลิตร ลงไปคนให้เข้ากัน และตวงด้วยกระบอกตวง 200 มิลลิลิตรต่อขวด ใส่ในขวด laboratory bottle (Duran) ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีผงวุ้นอยู่ 4 กรัม จำนวน 5 ขวด จากนั้นนำไปใส่หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 121 ปอนด์ จากนั้นนำอาหารไปเทในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็งแล้วจึงนำไปใช้ในการเลี้ยงเชื้อราโรคแมลงต่อไป

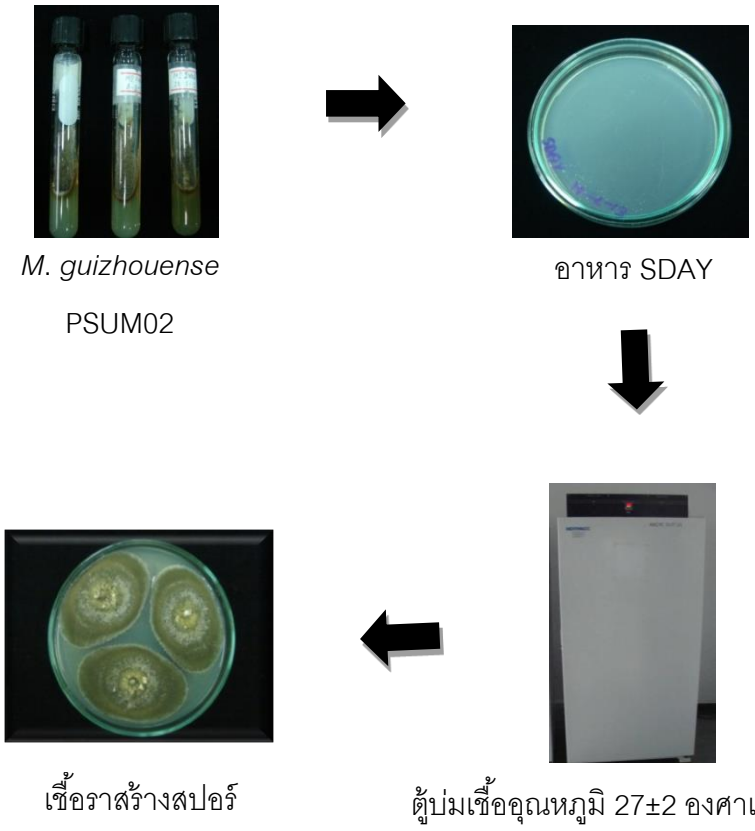
ตารางที่ 2 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02

Sabouraud Dextrose Agar plus Yeast (SDAY)	ปริมาณ
Dextrose	10.0 กรัม
Peptone	2.5 กรัม
Yeast extract	2.5 กรัม
Agar	20.0 กรัม
น้ำ	1.0 ลิตร

3. การเตรียมเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02

3.1 การเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM02

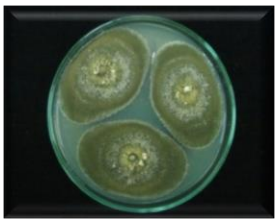
นำเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM02 ที่ได้รับจากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ศูนย์ภาคใต้ (นริศ, 2554) มาเพาะเลี้ยงในอาหาร Sabouraud Dextrose Agar plus Yeast (SDAY) (ตารางที่ 2) ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร บ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียสในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ หรือจนกว่าเชื้อราสร้างสปอร์ (ภาพที่ 9) ตามวิธีการของ นริศ และอนุชิต (2551)



ภาพที่ 9 แผนผังการเตรียมเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ในห้องปฏิบัติการ

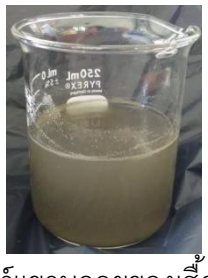
3.2 การเตรียมสปอร์แขวนลอยเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM02 ที่ความหนาแน่น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

นำเชื้อราที่สร้างสปอร์เต็มอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว มาขูดผิวหน้าด้วยแท่งแก้วรูปตัว L แล้วเทลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปลอดเชื้อผสมกับ Tween 80 ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสปอร์แขวนลอยไปนับด้วย haemacytometer เพื่อคำนวณหาความหนาแน่นของสปอร์แขวนลอย ปรับความหนาแน่นของสปอร์ให้ได้ 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 10)



เชื้อรา *M. guizhouense* PSUM02

น้ำกลั่นปลอดเชื้อ + Tween 80 (0.01%)



สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา ความหนาแน่น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

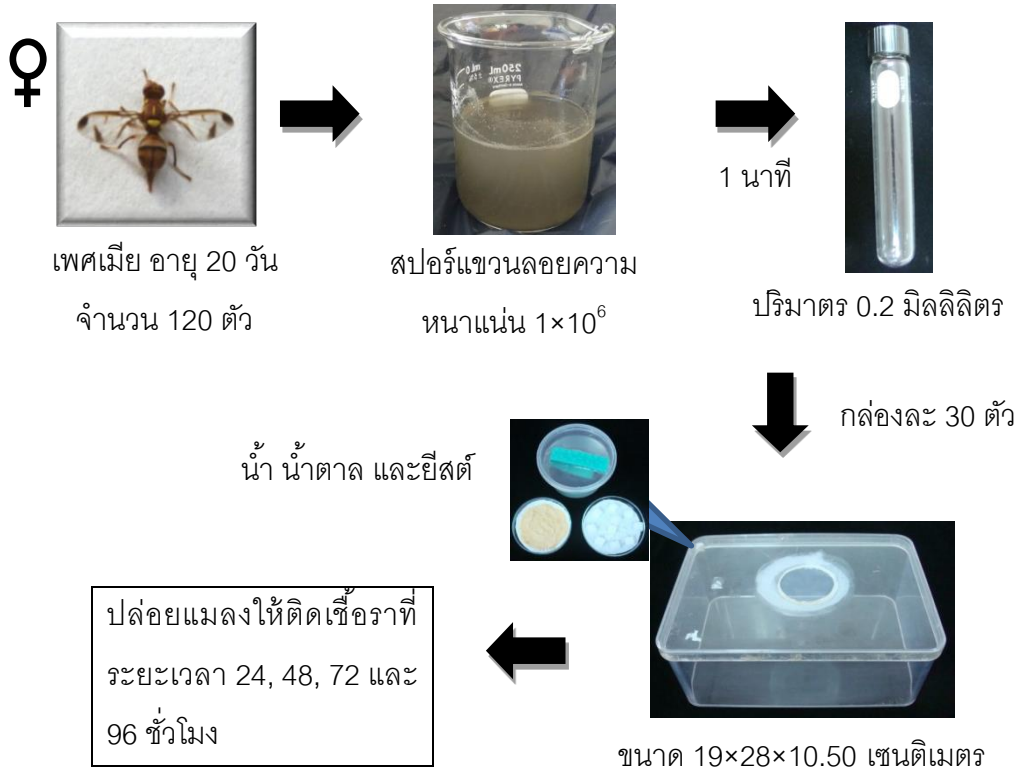
Haemacytometer

ภาพที่ 10 แผนผังการเตรียมสปอร์แขวนลอยเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02

4. ศึกษาผลของระยะเวลาการติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ที่ช่วงระยะเวลาต่าง ๆ ของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* เพศเมียที่พร้อมวางไข่และการพัฒนาระยะตัวอ่อน

- การเตรียมแมลง

นำแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่จำนวน 150 ตัวแบ่งแมลงวันเพศเมียออกเป็น 5 ทรีทเมนต์ ๆ ละ 30 ซ้ำ นำแมลงวันแตงทรีทเมนต์ที่ 1 มาจำนวน 30 ตัว คลุกสปอร์เชื้อราที่มีความหนาแน่น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาทีแล้วย้ายใส่กล่องพลาสติกใสขนาด 19×28×10.50 เซนติเมตร ที่ฝาด้านบนของกล่องเจาะรูและปิดด้วยผ้ามุ้งปล่อยให้แมลงติดเชื้อราเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนทรีทเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 ปล่อยให้แมลงติดเชื้อราเป็นเวลา 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ภายในกล่องมีน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำ เป็นแหล่งอาหารให้กับแมลง (ภาพที่ 11) ส่วนแมลงวันแตงอีก 30 ตัว เป็นชุดควบคุมทำเช่นเดียวกับชุดคลุกเชื้อรา แต่คลุกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ เมื่อครบระยะเวลาการติดเชื้อราแล้วจึงนำแมลงแต่ละทรีทเมนต์ไปทดสอบ



ภาพที่ 11 แผนผังการทดลองการติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouens* PSUM02 ในแมลงวันแตงเพศเมีย *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) ที่ช่วงระยะเวลาต่างๆ

- การทดสอบ

นำแมลงวันแตงเพศเมียที่ติดเชื้อราจำนวน 1 ตัวต่อกล่องต่อซ้ำ เป็น 1 หน่วยการทดลอง เมื่อแมลงเพศเมียติดเชื้อราครบระยะเวลาตามที่กำหนดแล้ว (ภาพที่ 12) นำแมลงวันแตงเพศเมียแต่ละกรรมวิธีแยกใส่กล่องใสขนาด 15.5×22×8 เซนติเมตร ที่ฝาด้านบนกล่องเจาะรูและปิดด้วยผ้ามุ้ง จำนวน 1 ตัวต่อกล่องต่อซ้ำ ภายในกล่องใส่แตงกวาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร ยาว 15 เซนติเมตร จำนวน 1 ผล ปล่อยให้แมลงวันแตงวางไข่ที่ผลแตงกวาเป็นระยะเวลา 5 วัน ภายในกล่องมีน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำ เป็นแหล่งอาหารให้กับแมลงจากนั้นนำผลแตงกวามาบ่มในกล่องพลาสติกใสขนาดข้างต้น จนตัวหนอนเริ่มเข้าดักแด้ ย้ายมาใส่กล่องใสขนาดข้างต้นที่รองด้วย vermiculite บันทึกจำนวนตัวหนอน ดักแด้ ตัวเต็มวัย ทั้งที่มีชีวิตและที่ไม่มีชีวิต

♀

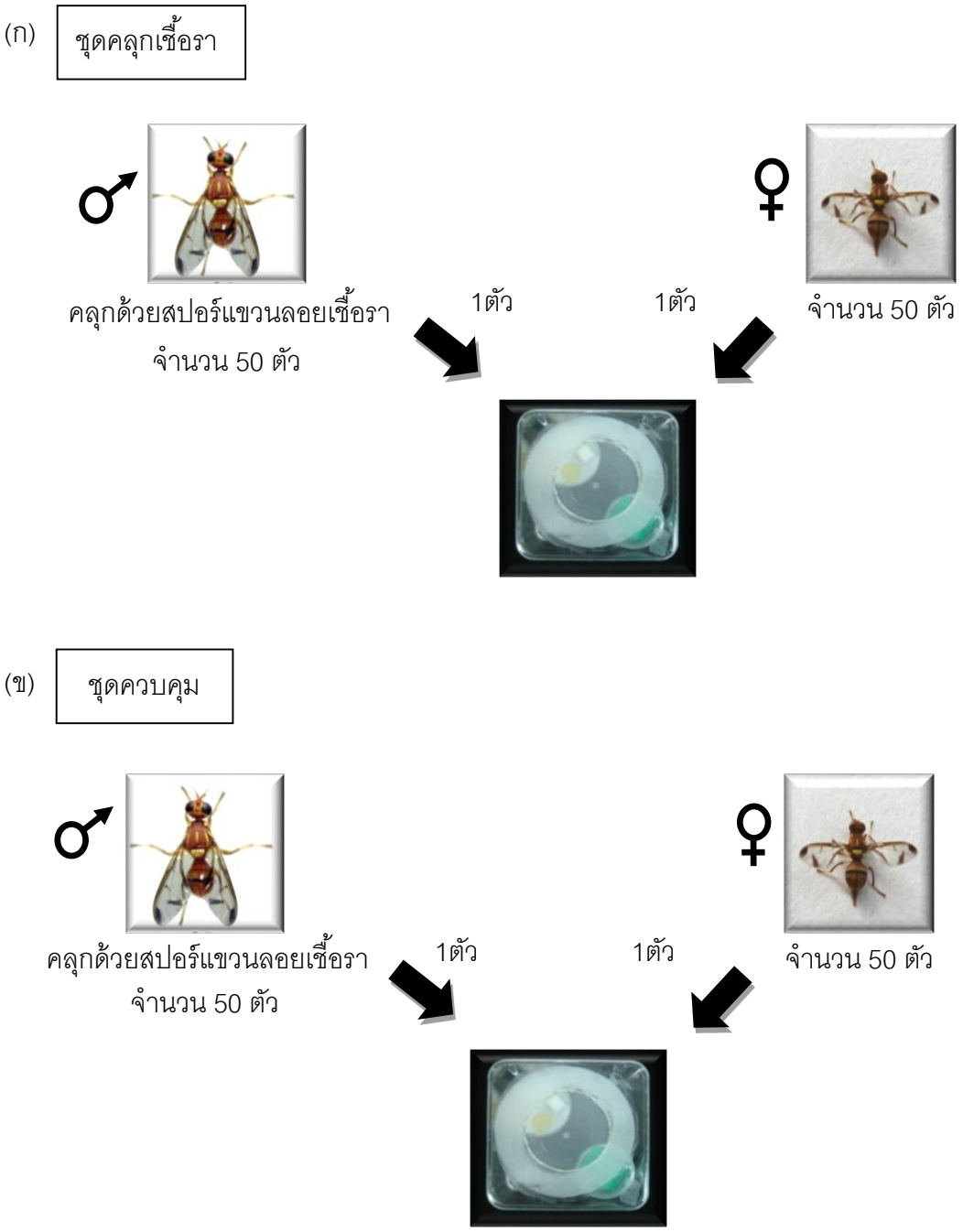
แมลงวันแตงเพศเมียที่เหลือรอดจาก
การเข้าทำลายของเชื้อราโรคแมลง

ภาพที่ 12 แมลงวันแตงเพศเมีย *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่เหลือรอดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 วางไข่ที่ช่วงระยะเวลาต่างๆ

5. ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ผ่านการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* ในห้องปฏิบัติการ

- การเตรียมแมลง

นำแมลงวันแตงเพศผู้ที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ จำนวน 50 ตัว คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาดเล็ก 11×11×6 เซนติเมตร จากนั้นนำแมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ จำนวน 50 ตัว ใส่เข้าไปในกล่องเดียวกัน ดังนั้นภายในกล่องจะมีแมลงวันแตงเพศผู้ที่คลุกเชื้อรา 1 ตัว และแมลงวันแตงเพศเมีย 1 ตัว ภายในกล่องมีน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำ เป็นแหล่งอาหารให้กับแมลงส่วนชุดควบคุมทำเช่นเดียวกับชุดคลุกเชื้อราแต่จะคลุกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ภาพที่ 13)



ภาพที่13 แผนผังทดสอบการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ผ่านการผสมพันธุ์ของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) และชุดควบคุมในห้องปฏิบัติการ (ก) ชุดคลุกเชื้อรา (ข) ชุดควบคุม

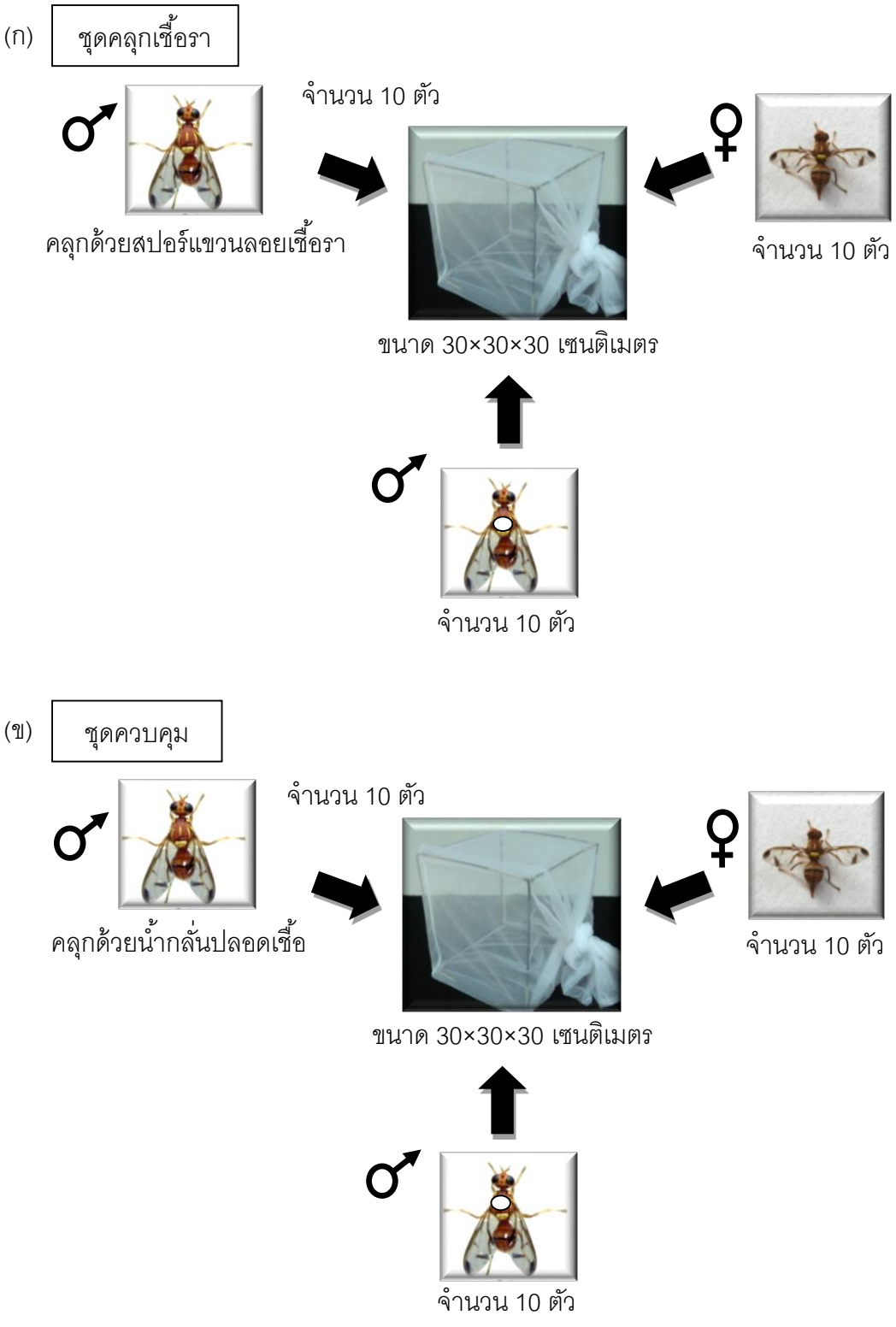
- การทดสอบ

เฝ้าสังเกตการณ์การจับคู่ผสมพันธุ์กันของแมลงวันแตงที่เวลา 18.00 - 21.00 น. โดยการใช้ไฟฉายแสงสีส้มในการส่องดูแมลงจับคู่ผสมพันธุ์ เป็นเวลา 5 วัน หลังจากเริ่มปล่อยแมลงเข้ากล่องพลาสติกใส บันทึกจำนวนแมลงวันแตงที่จับคู่ผสมพันธุ์กัน (ต้องจับคู่ผสมพันธุ์นานอย่างน้อย 10 นาที) การถ่ายทอดและการแพร่กระจายเชื้อราในประชากรทำการบันทึกการตายของแมลงทุกวันเป็นเวลา 15 วัน การทดลองวิเคราะห์สถิติด้วยวิธี independent-samples *t*-test ทำจำนวน 50 ซ้ำ (คู่) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

6. ศึกษาผลของการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ในแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* เพศผู้ต่อการแข่งขันผสมพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ

- การเตรียมแมลง

นำแมลงวันแตงเพศผู้ที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ จำนวน 10 ตัว คลุกด้วยสปอร์แขวนลอยเชื้อรา เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปใส่ในกรงผ้ามุ้งจากนั้นนำแมลงวันแตงเพศผู้ที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ จำนวน 10 ตัว แต้มสีที่ด้านหลังด้วยน้ำยาลบคำผิดสีขาวแบบพู่กันสูตรน้ำ เพื่อแยกความแตกต่างจากแมลงวันแตงเพศผู้ที่คลุกด้วยสปอร์แขวนลอยเชื้อรา ใส่ในกรงผ้ามุ้งข้างต้น จากนั้นนำแมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ จำนวน 10 ตัวใส่เข้าไปภายในกรงผ้ามุ้งเดียวกัน ภายในกรงมีน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำ เป็นแหล่งอาหารให้กับแมลง ส่วนชุดควบคุมทำเช่นเดียวกันแต่จะคลุกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 แผนผังทดสอบการติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ในแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ต่อการแข่งขันผสมพันธุ์ (ก) ชุดคลุกเชื้อรา (ข) ชุดควบคุม

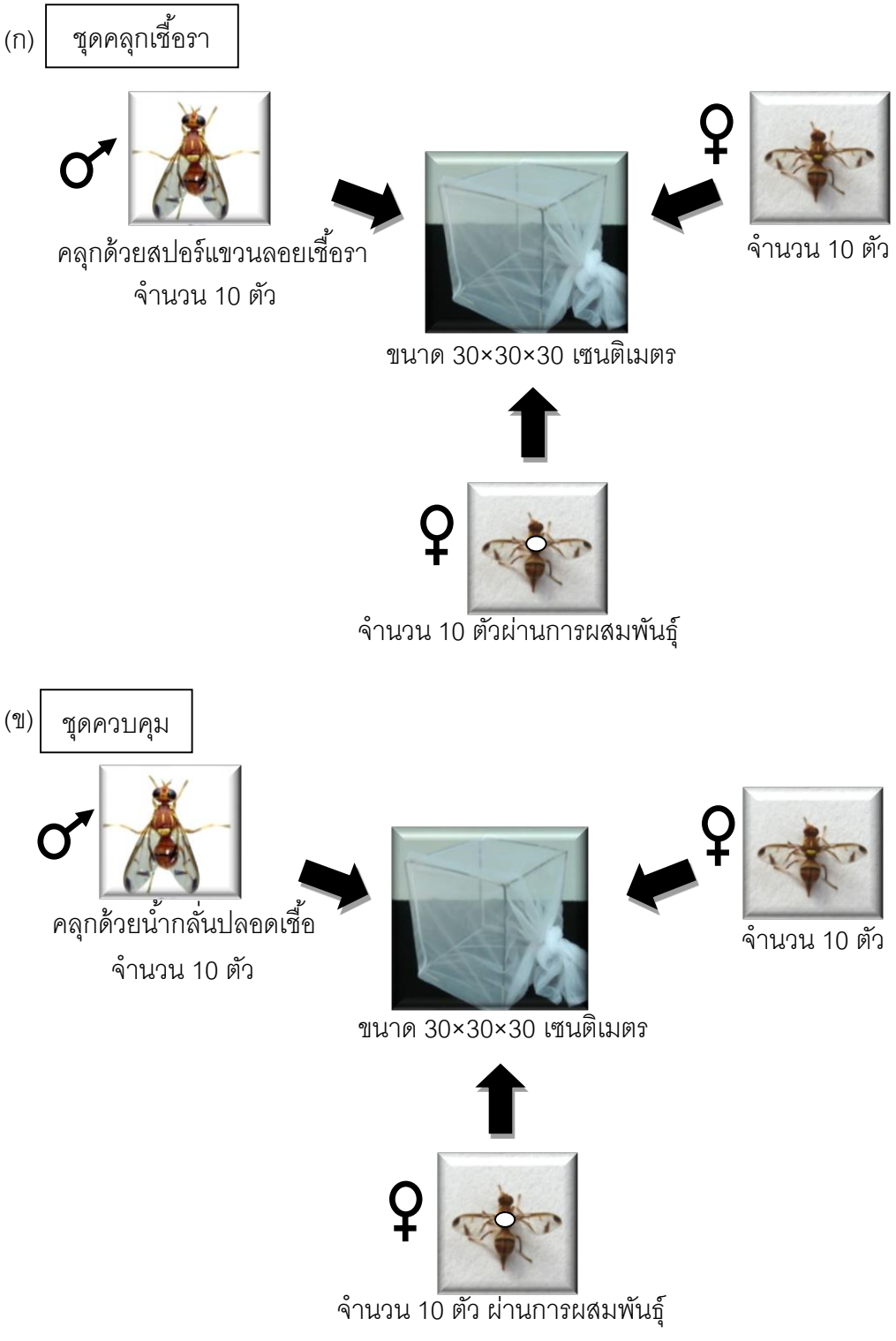
- การทดสอบ

เฝ้าสังเกตการณ์การจับคู่ผสมพันธุ์กันของแมลงวันแตงที่เวลา 18.00 - 21.00 น. โดยการใช้ไฟฉายแสงสีส้มในการส่องดูแมลงจับคู่ผสมพันธุ์ เป็นเวลา 5 วัน หลังจากเริ่มปล่อยแมลงเข้ากรง บันทึกจำนวนการจับคู่ของแมลงวันแตงเพศผู้ที่คลุกเชื้อราและไม่คลุกเชื้อรา (ต้องจับคู่ผสมพันธุ์นานอย่างน้อย 10 นาที) บันทึกการตายของแมลงวันแตงและการแพร่กระจายเชื้อราในประชากรทำการบันทึกการตายของแมลงทุกวันเป็นเวลา 15 วัน วิเคราะห์สถิติด้วยวิธี independent-samples *t*-test ทำจำนวน 10 ซ้ำ (กรง)

7. เพื่อศึกษาผลของการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02ในแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* เพศผู้ต่อแมลงวันเพศเมียสถานะต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

- การเตรียมแมลง

นำแมลงวันแตงเพศเมียอายุที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ (virgin female flies) จำนวน 10 ตัว ใส่ในกรงผ้ามุ้งขนาด 30×30×30 เซนติเมตร และแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่ (gravid female flies) จำนวน 10 ตัว แต้มสีที่ด้านหลังด้วยน้ำยาลบคำผิดสีขาวแบบพู่กันสูตรน้ำ เพื่อแยกความแตกต่างจากแมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ ใส่ในกรงผ้ามุ้งเดียวกัน จากนั้นนำแมลงวันแตงเพศผู้ที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ จำนวน 10 ตัว คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา เป็นเวลา 1 นาที ใส่เข้าไปในกรงของแมลงวันแตงเพศเมียที่เตรียมไว้ข้างต้น ส่วนชุดควบคุมทำเช่นเดียวกับชุดคลุกเชื้อราแต่จะคลุกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ภาพที่ 15)



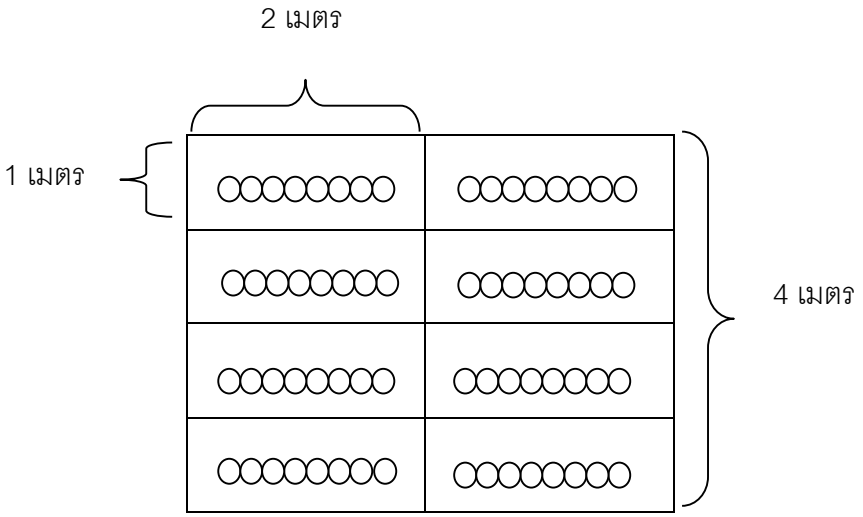
ภาพที่ 15 แผนผังทดสอบการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 โดยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ต่อแมลงวันเพศเมียสถานะต่างๆ (ก) ชุดคลุกเชื้อรา (ข) ชุดควบคุม

- การทดสอบ

เฝ้าสังเกตการณ์การจับคู่ผสมพันธุ์กันของแมลงวันแตงที่เวลา 18.00 - 21.00 น. โดยการใช้ไฟฉายแสงสีส้มในการส่องดูแมลงจับคู่ผสมพันธุ์ เป็นเวลา 5 วัน หลังจากเริ่มปล่อยแมลงเข้ากรง บันทึกจำนวนแมลงวันแตงที่จับคู่ผสมพันธุ์กัน (ต้องจับคู่ผสมพันธุ์นานอย่างน้อย 10 นาที) บันทึกการตายของแมลงวันแตงและการแพร่กระจายเชื้อราในประชากรทำการบันทึกการตายของแมลงทุกวันเป็นเวลา 15 วัน วิเคราะห์สถิติด้วยวิธี independent-samples *t*-test ทำจำนวน 10 ซ้ำ (กรง) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

8. ศึกษาการควบคุมแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* เพศเมีย โดยอาศัยแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ในสภาพโรงเรือน

เตรียมกรงเหล็กคลุมผ้าตาข่ายขนาด 2×4 เมตร จำนวน 2 กรง โดยแบ่งกรงใหญ่ออกเป็น 4 ส่วน ขนาด 2×1 เมตร (ภาพที่ 16) การทดลองมี 2 กรรมวิธี คือ ชุดคลุกเชื้อรา และชุดควบคุม โดยแต่ละกรรมวิธีมี 4 ซ้ำ ภายในกรงย่อยปลูกต้นแตงกวาใส่กระถางพลาสติกซ้ำละ 8 กระถาง จนแตงกว่าอายุ 40 วัน หรือมีผลแตงกวาขนาดพร้อมวางไข่ วางกรงไว้ในสภาพธรรมชาติ เพื่อให้ได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมภายนอก เตรียมแมลงวันแตงเพศเมียที่ได้รับการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่ ใส่เข้าไปในกรงขนาด 2×1 เมตร กรงละ 250 ตัว ทั้ง 4 ซ้ำ จากนั้นเตรียมแมลงวันเพศผู้ที่คลุกด้วยสปอร์แขวนลอยเชื้อรา เป็นเวลา 1 นาที จำนวน 250 ตัว ใส่เข้าไปในกรงเดียวกัน หลังจากปล่อยแมลงวันแตง 1 วัน แขวนผลแตงกวาจำนวน 5 ผล ที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน แล้วจึงนำผลแตงกวาออกมาบ่มในกล่องพลาสติกใสขนาด 20×10×7 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูปิดด้วยผ้ามุ้ง และพื้นกล่องบรรจุ vermiculite หนา 2 เซนติเมตร เพื่อให้หนอนแมลงวันแตงออกมาเข้าดักแด้ บันทึกจำนวนตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยที่มีชีวิต สำหรับชุดควบคุมคลุกแมลงวันแตงตัวเต็มวัยเพศผู้ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ แล้วนำไปทดสอบเหมือนวิธีข้างต้น วิเคราะห์สถิติด้วยวิธี independent-samples *t*-test



ภาพที่ 16 โรงเรือนทดสอบการควบคุมแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศเมียโดยอาศัยแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ในสภาพโรงเรือน

ตั้งแต่การทดลองที่ 1 ถึงการทดลองที่ 4 จะทำการเก็บซากตัวเต็มวัยแมลงวันแตงทั้งสองเพศที่อยู่ในกรงเป็นเวลา 15 วัน โดยนำซากแมลงไปฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ sodium hypochlorite ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อสามครั้งแล้วซับด้วยกระดาษชำระปลอดเชื้อ นำไปวางในจานอาหารขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ที่รองด้วยกระดาษกรอง (Whatman® No. 1) ชื้นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เพื่อยืนยันว่าแมลงที่ตายมีสาเหตุมาจากเชื้อรา

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

1. ผลของระยะเวลาการติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ที่ช่วงระยะเวลาต่างๆ ของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* เพศเมียที่พร้อมวางไข่และการพัฒนาระยะตัวอ่อน

การทดสอบผลของเชื้อราโรคแมลงต่อตัวเต็มวัยแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่ที่ติดเชื้อราในระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าระยะเวลาการติดเชื้อราของแมลงวันแตงเพศเมียมีผลต่อจำนวนตัวเต็มวัยที่สามารถวางไข่ และการพัฒนาของไข่เป็นตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยแมลงวันแตงเพศเมียที่ติดเชื้อรา (ภาพที่ 17) เป็นเวลามากกว่า 48 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงตัวเต็มวัยเพศเมียมากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแมลงวันแตงเพศเมียที่ติดเชื้อราแต่ละช่วงเวลามีรายละเอียด ดังนี้

แมลงวันแตงเพศเมียที่ติดเชื้อราเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากจำนวนแมลงเริ่มต้น 30 ตัว มีจำนวนแมลงวันแตงที่สามารถวางไข่ได้จำนวน 18 ตัว (60 เปอร์เซ็นต์) ตัวเต็มวัยที่ติดเชื้อราจำนวน 14 ตัว (40 เปอร์เซ็นต์) จากจำนวนแมลงวันแตงที่เหลือรอดพบว่าสามารถวางไข่และมีจำนวนตัวหนอนที่มีชีวิต 572 ตัว จำนวนตัวหนอนที่ตาย 15 ตัว จำนวนตัวหนอนที่เข้าดักแด้ 557 ตัว จำนวนดักแด้ที่ไม่ฟักเป็นตัวเต็มวัย 103 ดักแด้ และมีจำนวนตัวเต็มวัยที่เหลือรอด 454 ตัว (ตารางที่ 3)

แมลงวันแตงเพศเมียที่ติดเชื้อราเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากจำนวนแมลงเริ่มต้น 30 ตัว มีจำนวนแมลงวันแตงที่สามารถวางไข่ได้จำนวน 5 ตัว (16.7 เปอร์เซ็นต์) ตัวเต็มวัยที่ติดเชื้อราจำนวน 25 ตัว (83.3 เปอร์เซ็นต์) จากจำนวนแมลงวันแตงที่เหลือรอดพบว่าสามารถวางไข่และมีจำนวนตัวหนอนที่มีชีวิต 60 ตัว จำนวนตัวหนอนที่ตาย 12 ตัว จำนวนตัวหนอนที่เข้าดักแด้ 48 ตัว จำนวนดักแด้ที่ไม่ฟักเป็นตัวเต็มวัย 18 ดักแด้ และมีจำนวนตัวเต็มวัยที่เหลือรอด 30 ตัว (ตารางที่ 3)

แมลงวันแตงเพศเมียที่ติดเชื้อราเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากจำนวนแมลงเริ่มต้น 30 ตัว มีจำนวนแมลงวันแตงที่สามารถวางไข่ได้จำนวน 1 ตัว (3.3 เปอร์เซ็นต์) ตัวเต็มวัยที่ติดเชื้อราจำนวน 29 ตัว (96.7 เปอร์เซ็นต์) จากจำนวนแมลงวันแตงที่เหลือรอดพบว่าสามารถวางไข่และมีจำนวนตัวหนอนที่มีชีวิต 7 ตัว จำนวนตัวหนอนที่ตาย 1 ตัว จำนวนตัวหนอนที่เข้าดักแด้ 6 ตัว จำนวนดักแด้ที่ไม่ฟักเป็นตัวเต็มวัย 1 ดักแด้ และมีจำนวนตัวเต็มวัยที่เหลือรอด 5 ตัว (ตารางที่ 3)

แมลงวันแตงเพศเมียที่ติดเชื้อราเป็นเวลา 96 ชั่วโมง จากจำนวนแมลงเริ่มต้น 30 ตัว มีจำนวนแมลงวันแตงที่สามารถวางไข่ได้จำนวน 4 ตัว (13.3 เปอร์เซ็นต์) ตัวเต็มวัยที่ติดเชื้อราจำนวน 26 ตัว (86.7 เปอร์เซ็นต์) จากจำนวนแมลงวันแตงที่เหลือรอดพบว่าสามารถวางไข่และมีจำนวนตัวหนอนที่มีชีวิต 43 ตัว จำนวนตัวหนอนที่ตาย 7 ตัว จำนวนตัวหนอนที่เข้าดักแด้ 36 ตัว จำนวนดักแด้ที่ไม่ฟักเป็นตัวเต็มวัย 12 ดักแด้ และมีจำนวนตัวเต็มวัยที่เหลือรอด 24 ตัว (ตารางที่ 3)

ส่วนชุดควบคุมคือแมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ติดเชื้อรา จากจำนวนแมลงเริ่มต้น 30 ตัว มีจำนวนแมลงวันแตงที่สามารถวางไข่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แมลงวันแตงทั้งหมดสามารถวางไข่และมีจำนวนตัวหนอนที่มีชีวิต 973 ตัว จำนวนตัวหนอนที่ตาย 11 ตัว จำนวนตัวหนอนที่เข้าดักแด้ 962 ตัว ดักแด้ทั้งหมดสามารถฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัยได้ทั้งหมด (ตารางที่ 3)

การทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการรายงานของ นริศและอนุชิต (2551) ที่ทดสอบเชื้อรา *M. anisopliae* กับตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *B. papaya*e โดยใช้ความหนาแน่นของเชื้อราที่ 1×10^{6} สปอร์ต่อมิลลิลิตร สามารถเข้าทำลายตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ *B. papaya*e ทั้งสองเพศได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 4-6 วัน นอกจากนี้ Dimbi *et al*. (2003) ได้นำเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 12 ไอโซเลท มาทดสอบกับตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้สกุล *Ceratitis capitata* และ *C. rosa* var. *fasciventris* สามารถก่อให้เกิดโรคกับแมลงวันผลไม้ทั้ง 2 ชนิด หลังจากการปลูกเชื้อเป็นระยะเวลา 4 วัน โดยมีการตายอยู่ระหว่าง 7-100 เปอร์เซ็นต์ และ 11.4-100 เปอร์เซ็นต์ ของแมลงวันผลไม้แต่ละชนิดตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าแมลงวันผลไม้เพศเมียทั้ง 3 ชนิด *C. capitata, C. fasciventris* และ *C. cosyra* ที่ติดเชื้อรา *M. anisopliae* มีการวางไข่ลดลงถึง 82, 73 และ 37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Dimbi *et al*., 2013) สำหรับสัดส่วนเพศผู้และเพศเมียของรุ่นลูกที่ออกมา พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 3) ส่วนจำนวนลูกต่อแมลงวันแตงเพศเมียที่เหลือรอดวางไข่จากการติดเชื้อราที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่ามีความแตกต่างกัน โดยที่ระยะเวลาติดเชื้อราที่ 0 และ 24 ชั่วโมง มีจำนวนลูกต่อเพศเมียเท่ากัน คือ 32 ตัว ส่วนแมลงวันแตงเพศเมียที่ติดเชื้อราที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง มีจำนวนลูกต่อแมลงวันแตงเพศเมียที่เหลือรอดวางไข่น้อยที่สุดคือ 7 ตัว (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การวางไข่ อัตราการตาย จำนวนของหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) เพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่ ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ปล่อยให้ติดเชื้อราที่ระยะเวลาต่างกัน

ระยะเวลาการติดเชื้อรา (ชั่วโมง)	จำนวนแมลงทดสอบ (ตัว)	จำนวนแมลงเพศเมียที่เหลือรอดวางไข่ (%)	จำนวนตัวหนอน	จำนวนตัวหนอนที่ตาย	จำนวนดักแด้	จำนวนดักแด้ที่ตาย	ตัวเต็มวัย			จำนวนลูก/เพศเมีย
							เพศผู้	เพศเมีย	รวม	
0 (ควบคุม)	30	30 (100.0)	973	11	962	0	482	480	962	32
24	30	18 (60.0)	572	15	557	103	228	226	454	32
48	30	5 (16.7)	60	12	48	18	16	14	30	12
72	30	1 (3.3)	7	1	6	1	1	4	5	7
96	30	4 (13.3)	43	7	36	12	7	17	24	11
χ^2-test[1/]		**	**	*	**	**	**	**	**	*

[1/]เปรียบเทียบโดยวิธี Chi-square goodness-of-fit test (P<0.05)

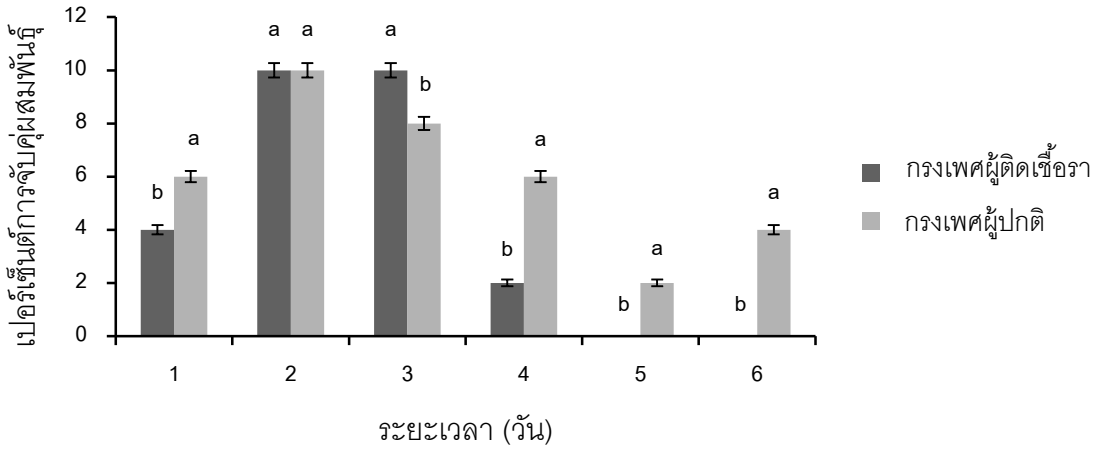
ภาพที่ 17 ลักษณะของแมลงวันแตงเพศเมีย *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ที่ถูกเข้าทำลายโดยเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02

2. ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ผ่านการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* ในห้องปฏิบัติการ

จากการศึกษาผลของเชื้อราโรคแมลงต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรากับแมลงวันแตงเพศเมียปกติ และแมลงวันแตงเพศผู้ปกติกับแมลงวันแตงเพศเมียปกติ (ชุดควบคุม) (ภาพที่ 18) ในวันที่ 1 หลังจากการทดสอบ แมลงวันแตงเพศผู้ปกติมีการจับคู่ผสมพันธุ์กับแมลงวันแตงเพศเมีย 6.00 ± 0.21 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราที่มีการจับคู่ผสมพันธุ์ 4.00 ± 0.18 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในวันที่ 2 หลังจากการทดสอบ แมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราและแมลงวันเพศผู้ปกติมีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์กับแมลงวันแตงเพศเมียเท่ากัน (10.00 ± 0.27 เปอร์เซ็นต์) (P>0.05) ในวันที่ 3 หลังจากการทดสอบ แมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์กับแมลงวันแตงเพศเมีย (10.00 ± 0.27 เปอร์เซ็นต์) มากกว่าแมลงวันแตงเพศผู้ปกติ (8.00 ± 0.25 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.05) สำหรับวันที่ 4 เปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรากับแมลงวันแตงเพศเมียลดลง (2.00 ± 0.13 เปอร์เซ็นต์) และไม่พบการจับคู่ผสมพันธุ์ในวันที่ 5 และ 6 หลังจากการทดสอบ (เนื่องจากแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราตายหมดแล้ว) ส่วนแมลงวันแตงเพศผู้ปกติยังพบการจับคู่ผสมพันธุ์กับแมลงวันแตงเพศเมียในวันดังกล่าว (ภาพที่ 18)

ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Dimbi *et al.* (2009) ที่รายงานว่าแมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ติดเชื้อราเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์ช้ากว่าแมลงวันผลไม้เพศผู้ปกติและมีผลต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ที่

ลดลง นอกจากนี้เชื้อรายังส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรา และแมลงวันแตงเพศเมียที่อยู่ภายในกรงเดียวกันโดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลง



ภาพที่ 18 เปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ (mean ± S.E.) ของตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับเพศเมียปกติและเพศผู้ปกติกับเพศเมียปกติ (ชุดควบคุม) ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี independence sample *t*-test ($P<0.05$)

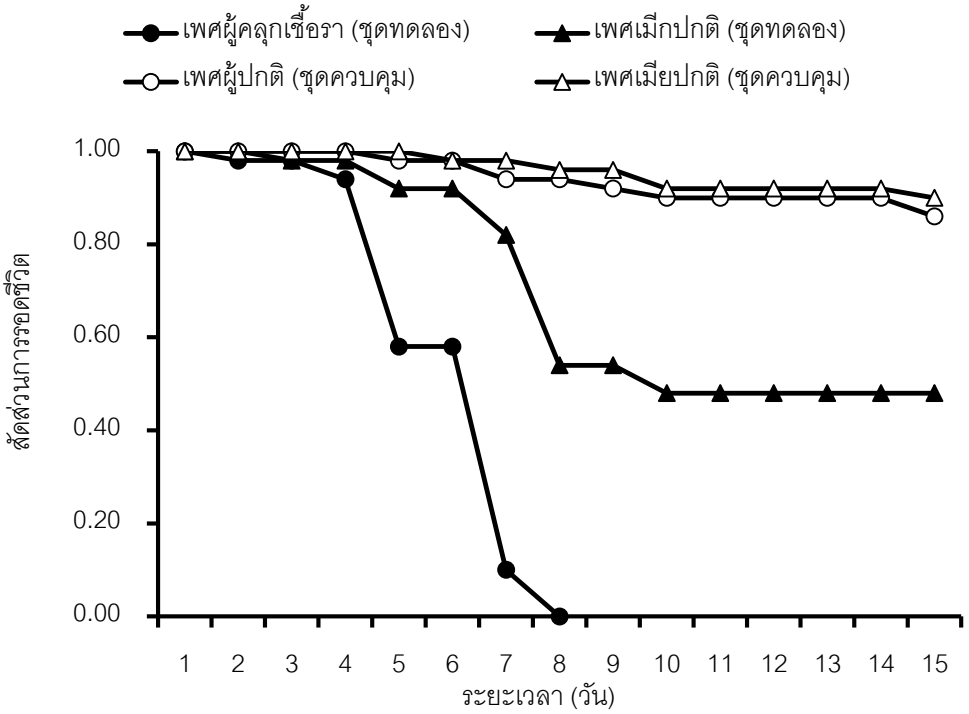
การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิต (Average Survival Time, AST) ของแมลงวันแตงแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตต่ำสุดเท่ากับ 6.16 ± 0.19 วัน รองลงมาคือแมลงวันแตงเพศเมียปกติที่อยู่ภายในกรงเดียวกันกับเพศผู้ที่ติดเชื้อราซึ่งมีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตเท่ากับ 11.10 ± 0.55 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของเพศผู้ปกติและเพศเมียปกติเท่ากับ 14.26 ± 0.24 และ 14.48 ± 0.26 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ Kaplan-Meier ของค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับเพศเมียปกติและเพศผู้ปกติกับเพศเมียปกติ (ชุดควบคุม) ในห้องปฏิบัติการ

ชุดการทดลอง	แมลง	ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิต (AST) (mean ± SE)*	ช่วงค่าความเชื่อมั่นที่ 95% (Confidence interval)	
			ต่ำสุด	สูงสุด
ติดเชื้อรา	เพศผู้ติดเชื้อรา	6.16 ± 0.19[a]	5.82	6.54
	เพศเมียปกติ	11.10 ± 0.55[b]	10.19	12.40
ชุดควบคุม	เพศผู้ปกติ	14.26 ± 0.24[c]	13.56	14.95
	เพศเมียปกติ	14.48 ± 0.26[c]	13.93	15.03

*ตัวอักษรที่เหมือนกันภายในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's HSD test (P>0.05) ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิต (AST) จำกัดที่ 15 วัน

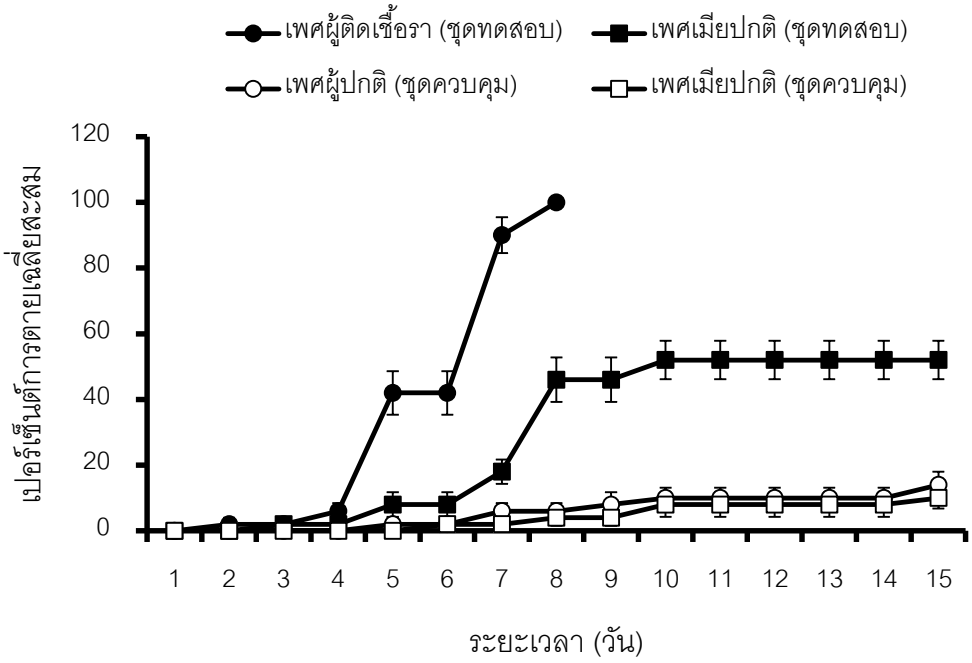
ในกรงชุดทดสอบของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีสัดส่วนการรอดชีวิตลดลงหลังจากได้รับเชื้อราในวันที่ 5 และมีสัดส่วนการรอดชีวิตลดลงเมื่อระยะเวลาการติดเชื้อราเพิ่มมากขึ้น รองลงมาคือแมลงวันแตงเพศเมียในชุดทดลองเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับกรงของชุดควบคุมที่มีสัดส่วนการรอดชีวิตของแมลงวันแตงเพศผู้และเพศเมียสูง (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 สัดส่วนการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับเพศเมียปกติ และเพศผู้ปกติกับเพศเมียปกติ (ชุดควบคุม)

ส่วนเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสมของตัวเต็มวัยแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรากับเพศเมียปกติ พบว่าวันที่ 2 เพศผู้ที่ติดเชื้อรามีเปอร์เซ็นต์การตายเพิ่มขึ้น ตามระยะเวลาที่เพิ่มมากขึ้นและพบว่าเพศเมียปกติที่อยู่ภายในกรงเดียวกันมีเปอร์เซ็นต์การตายเพิ่มขึ้นเช่นกัน ในวันที่ 8 เพศผู้ที่ติดเชื้อรามีเปอร์เซ็นต์การตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแมลงวันแตงเพศเมียที่อยู่ภายในกรงเดียวกันพบการตายเฉลี่ยสะสมสูงสุด 52.00 ± 5.83 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 10 หลังการทดสอบ (ภาพที่ 20) สำหรับชุดควบคุมการตายเฉลี่ยสะสมของแมลงวันแตงเพศผู้และเพศเมียปกติเท่ากับ 14.00 ± 4.00 และ 10.00 ± 3.16 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 15 หลังการทดสอบ ตามลำดับ (ภาพที่ 20) ซึ่งสอดคล้องกับนริศและคณะ (2554) พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. papayae* เพศผู้ที่ติดเชื้อราเป็นระยะเวลา 6 วัน พบการตายของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแมลงวันผลไม้ *B. papayae* เพศเมียและเพศผู้ปกติที่อยู่ภายในกรงเดียวกันมีการตาย 84.00 และ 72.00 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 15 หลังการทดสอบตามลำดับ นอกจากนี้การทดลองของ Toledo *et al.* (2007) ได้ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อรา *Beauveria bassiana* ทั้ง 2 สายพันธุ์ (LCPP และ Bassianil) ของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้สกุล *Anastrepha luden* (Loew) เพศผู้ที่ติดเชื้อราผ่านการจับคู่ผสม

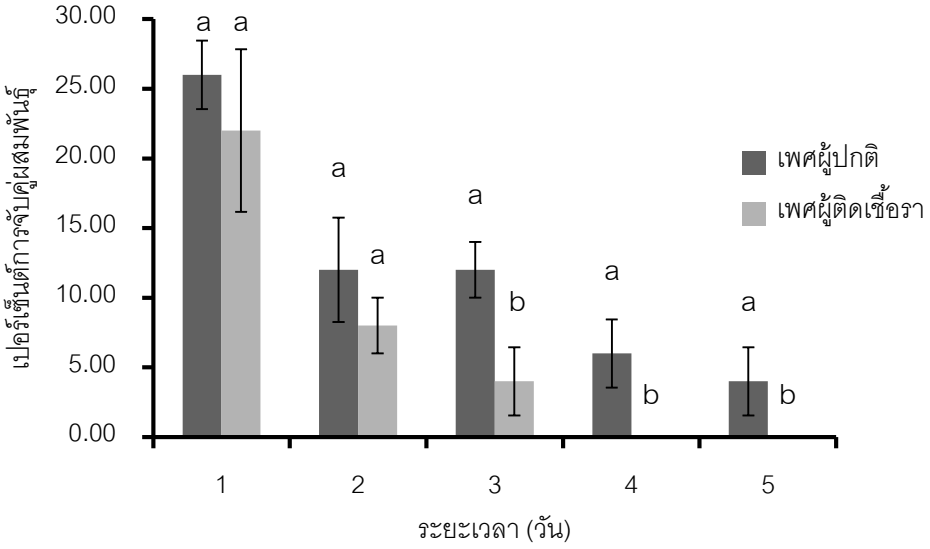
พันธุ์กับเพศเมีย พบว่าเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพในการทำให้เกิดโรคกับแมลงสูง โดยเชื้อราสายพันธุ์ LCPP ที่ความเข้มข้น 1×10^{8} สปอร์ต่อมิลิลิตร ส่งผลต่อการตายของแมลงถึง 98.70 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า LT_{50} เท่ากับ 4.20 วัน ส่วนเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ของเพศผู้ที่ติดเชื้อราไม่มีความแตกต่างกันกับชุดควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราเป็นระยะเวลา 3 วัน สามารถถ่ายทอดเชื้อรา *B. bassiana* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ไปสู่แมลงวันผลไม้เพศเมียปกติได้ถึง 80.60 และ 84.30 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธีการจับคู่ผสมพันธุ์



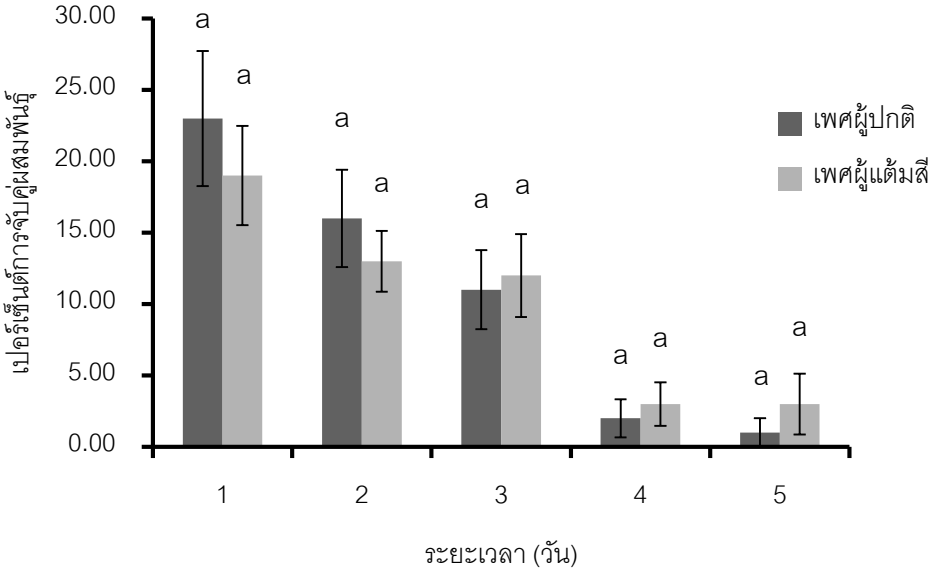
ภาพที่ 20 เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสม (mean ± S.E.) ของกรงชุดทดสอบตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับเพศเมียปกติ และกรงชุดควบคุมเพศผู้ปกติกับเพศเมียปกติ (ชุดควบคุม) ในสภาพห้องปฏิบัติการ

3. ผลของการติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ในแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* เพศผู้ต่อการแข่งขันผสมพันธุ์

จากการนำแมลงวันแตงเพศผู้คลุกด้วยสปอร์แขวนลอยเชื้อรา เพศผู้ปกติ (แต้มสีที่อกด้านหลังด้วยน้ำยาลบคำผิดสีขาวแบบพู่กันสูตรน้ำ) และเพศเมียปกติ โดยปล่อยให้แมลงทั้ง 3 สถานะจับคู่ผสมพันธุ์กันตามปกติ ในวันที่ 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์การแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้ปกติกับเพศผู้ที่ติดเชื้อราไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) ในวันที่ 3 เปอร์เซ็นต์การแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้ปกติ (12.00 ± 2.00 เปอร์เซ็นต์) กับเพศผู้ที่ติดเชื้อรา (4.00 ± 2.45 เปอร์เซ็นต์) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนในวันที่ 4 และ 5 ไม่พบการแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรา (ภาพที่21) (เนื่องจากแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราตายหมด) ส่วนชุดควบคุมในวันที่ 1 ถึงวันที่ 5 เปอร์เซ็นต์การแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันเพศผู้ปกติ (แต้มสีที่ด้านหลังด้วยน้ำยาลบคำผิดสีขาว) กับเพศผู้ที่คลุกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ภาพที่ 22) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Maniania *et al.* (2013) ที่ได้ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อราระหว่างตัวเต็มวัย *Glossina morsitans morsitans* โดยผ่านการจับคู่ผสมพันธุ์ พบว่า แมลง *G. morsitans morsitans* เพศผู้หรือเพศเมียที่ติดเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่เพศผู้หรือเพศเมียปกติได้ โดยส่งผลต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ที่ลดลงเท่ากับ 82.5 ถึง 32.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และส่งผลต่ออัตราการตายที่เพิ่มขึ้น ส่วน Sookar *et al*. (2013) ได้ทดสอบการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตง *B. cucurbitae* เพศผู้ที่ได้รับการฉายรังสี และแมลงวันแตงเพศผู้จากธรรมชาติที่ติดเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* พบว่าแมลงวันแตง *B. cucurbitae* เพศผู้ที่ฉายรังสีและติดเชื้อราทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างของการจับคู่ผสมพันธุ์เมื่อเปรียบเทียบกับแมลงวันแตงเพศผู้จากธรรมชาติที่ติดเชื้อราเช่นเดียวกัน



ภาพที่ 21 เปอร์เซ็นต์การแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ (mean ± S.E.) ของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) ตัวเต็มวัยเพศผู้ปกติ (แต้มหลังด้วยน้ำยาลบคำผิดสีขาว) กับตัวเต็มวัยเพศผู้ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี independence sample *t*-test ($P<0.05$)

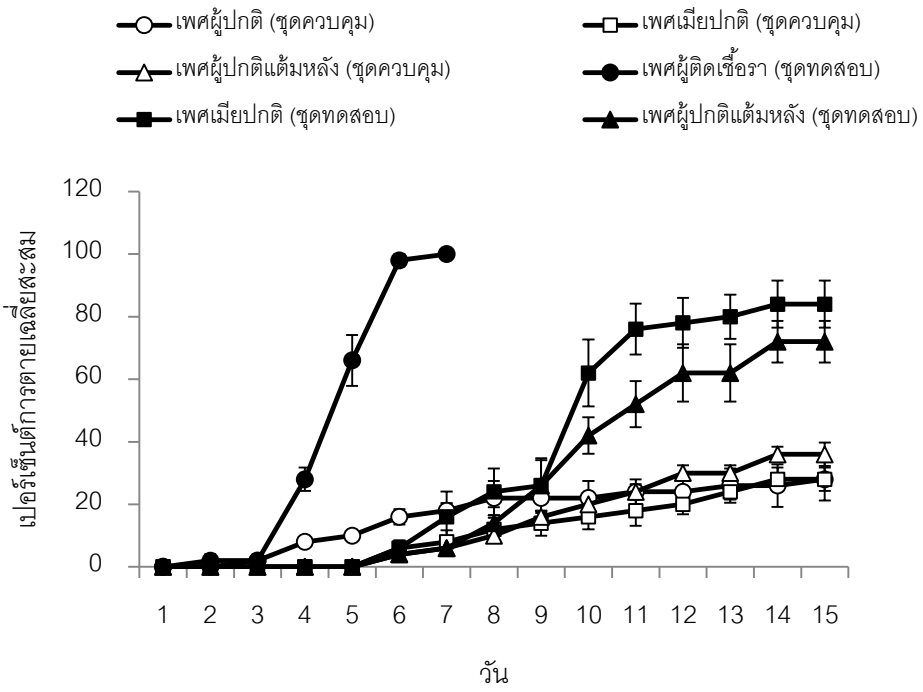


ภาพที่ 22 เปอร์เซ็นต์การแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ (mean ± S.E.) ของตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ปกติ (แต้มหลังด้วยน้ำยาลบคำผิดสีขาว) กับตัวเต็มวัยเพศผู้ที่ไม่คลุกสปอร์เชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 (ชุดควบคุม) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี independence sample *t*-test ($P<0.05$)

สำหรับเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของชุดที่ติดเชื้อรา แมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการติดเชื้อราที่เพิ่มมากขึ้นโดยพบเปอร์เซ็นต์การตายสะสม 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 6 หลังจากการติดเชื้อรา ส่วนแมลงวันแตงเพศเมีย และแมลงวันแตงเพศผู้ปกติที่อยู่ภายในกรงเดียวกับแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรา แมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่แมลงวันแตงเพศเมียปกติและแมลงวันแตงเพศผู้ปกติได้ โดยทำให้แมลงวันแตงเพศเมียปกติและแมลงวันแตงเพศผู้ปกติมีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมเพิ่มขึ้นและมีเปอร์เซ็นต์การตายสะสม 72.00 ± 6.63 และ 84.00 ± 7.48 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 14 หลังการทดสอบ ตามลำดับ (ภาพที่ 23)

ส่วนชุดควบคุมเพศผู้ปกติ (แต้มด้วยน้ำยาลบคำผิดสีขาว) เพศผู้ที่คลุกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และเพศเมียปกติ มีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมต่ำและมีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมเท่ากับ 36.00 ± 6.78, 28.00 ± 3.74 และ 28.00 ± 3.74 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 15 หลังการทดสอบตามลำดับ (ภาพที่ 23) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ นริศและคณะ (2554) พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. papayae* เพศผู้ที่ติดเชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* มีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าแมลงวันผลไม้ *B. papayae* เพศผู้ที่ผ่านการติดเชื้อรา *M. anisopliae* เป็นระยะเวลา 6 วัน มีเปอร์เซ็นต์การตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแมลงวันผลไม้ปกติทั้งสองเพศที่อยู่ภายในกรงเดียวกันมีการตายมากกว่า 72.00 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 15 หลังการทดสอบ

นอกจากนี้ Sookar *et al*. (2014) ทดสอบการถ่ายทอดเชื้อรา *M. anisopliae* โดยผ่านการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวัน *B. zonata* และ *B. cucurbitae* โดยคลุกเชื้อราที่เพศผู้และเพศเมียของแมลงวันทั้ง 2 ชนิด พบว่าแมลงวันทั้ง 2 ชนิดที่ติดเชื้อราตายภายใน 6-7 วัน และเมื่อทำการทดสอบความสามารถการถ่ายทอดเชื้อราของแมลงวันผลไม้เพศผู้ไปสู่แมลงวันผลไม้เพศเมียปกติ โดยแมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ติดเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่แมลงวันผลไม้เพศเมียปกติได้ โดยส่งผลต่อการตายเฉลี่ย 83 ± 5 เปอร์เซ็นต์ ในแมลงวันผลไม้ *B. zonata* และ 69 ± 5 เปอร์เซ็นต์ ในแมลงวัน *B. cucurbitae* ภายใน 14 วัน หลังติดเชื้อรา เช่นเดียวกับแมลงวันผลไม้เพศเมียที่ติดเชื้อรา สามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่แมลงวันผลไม้เพศผู้ปกติได้ โดยพบการตายเฉลี่ย 88 ± 6 เปอร์เซ็นต์ในแมลงวัน *B. zonata* และ 78 ± 4 เปอร์เซ็นต์ ในแมลงวัน *B. cucurbitae* ภายใน 13 วัน หลังติดเชื้อรา



ภาพที่ 23 เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสม (mean ± S.E.) ของกรงชุดทดสอบตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ปกติ (แต้มหลัง) เพศเมียปกติ และเพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 และกรงชุดควบคุมเพศผู้ปกติ (แต้มหลัง) เพศเมียปกติ และเพศผู้ที่คลุกน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม)

การวิเคราะห์ Kaplan-Meier ของค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของแมลงวันแตง(ตารางที่ 5) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา มีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตต่ำที่สุด คือ 5.04 ± 0.14 วัน ซึ่งแตกต่างจากชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) รองลงมาคือ แมลงวันแตงเพศเมียที่อยู่ในกรงเดียวกับแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตเท่ากับ 10.48 ± 0.62 วัน และแมลงวันแตงเพศผู้ปกติที่อยู่ในกรงเดียวกับแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตเท่ากับ 11.60 ± 0.43 วัน ส่วนชุดควบคุมแมลงวันแตงเพศผู้ปกติ (แต้มน้ำยาลบคำผิดสีขาว) แมลงวันแตงเพศผู้ และแมลงวันแตงเพศเมียมีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 13.24 ± 0.40, 12.80 ± 0.13 และ 13.54 ± 0.27 วัน ตามลำดับ โดยมีจำนวนวันที่ทำการสำรวจจำกัดที่ 15 วัน สอดคล้องกับการทดลองของ Yousef *et al*. (2013) ที่ทดสอบผลของการใช้เชื้อรา *M. brunneum* สายพันธุ์ EAMb 09/01-Su ในแมลงวันผลไม้มะกอก *B. oleae* (Gmelin) ระยะตัวเต็มวัย โดยพบว่าเชื้อราดังกล่าวทำให้แมลงตาย 60.00 ± 10.95 เปอร์เซ็นต์ และส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย (AST) เท่ากับ 8.8± 0.72 วัน เมื่อ

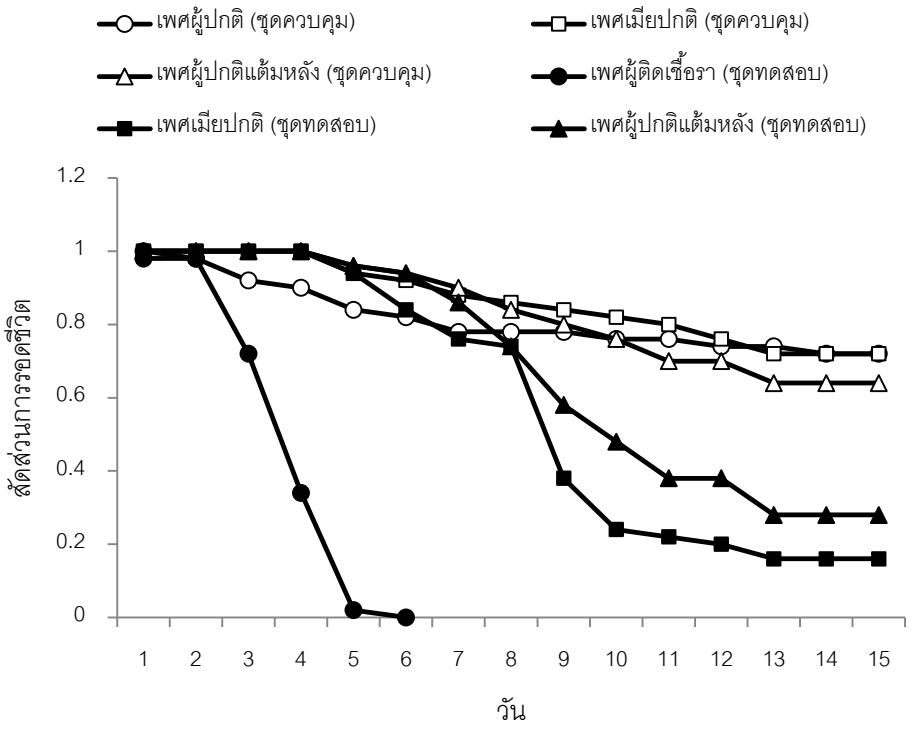
เปรียบเทียบกับชุดควบคุมมีการตาย 6.66 ± 6.66 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย (AST) เท่ากับ 12.00 ± 0.00 วัน

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ Kaplan-Meier ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) ผ่านการแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ของชุดติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับชุดควบคุม

การทดลอง	แมลง	ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิต (AST) (mean ± SE)*	ช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 %	
			ต่ำสุด	สูงสุด
คลุกเชื้อรา	เพศผู้คลุกเชื้อรา	5.04 ± 0.14[a]	4.78	5.29
	เพศผู้ปกติ	11.60 ± 0.43[c]	10.83	12.37
	เพศเมียปกติ	10.48 ± 0.62[b]	9.75	11.21
ชุดควบคุม	เพศผู้แต้มหลัง	13.24 ± 0.40[d]	12.47	14.01
	เพศผู้ปกติ	12.80 ± 0.13[d]	11.66	13.94
	เพศเมียปกติ	13.54 ± 0.27[d]	12.76	14.32

*ตัวอักษรที่เหมือนกันภายในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's HSD test ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิต (AST) จำกัดที่ 15 วัน

ในกรงชุดทดสอบของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีสัดส่วนการรอดชีวิตลดลงหลังจากได้รับเชื้อรา 2 วัน จากนั้นมีสัดส่วนการรอดชีวิตลดลงเมื่อระยะเวลาการติดเชื้อราเพิ่มมากจนมีสัดส่วนการรอดชีวิตที่ 0 ในวันที่ 6 รองลงมาคือแมลงวันแตงเพศเมียปกติ และแมลงวันแตงเพศผู้ปกติแต้มหลังที่อยู่ในชุดทดลองเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับกรงของชุดควบคุมที่มีสัดส่วนการรอดชีวิตของแมลงวันแตงเพศผู้ปกติ แมลงวันแตงเพศเมียปกติ และแมลงวันแตงเพศผู้ปกติแต้มหลังอยู่ระหว่าง 0.6-0.7 (ภาพที่ 24)

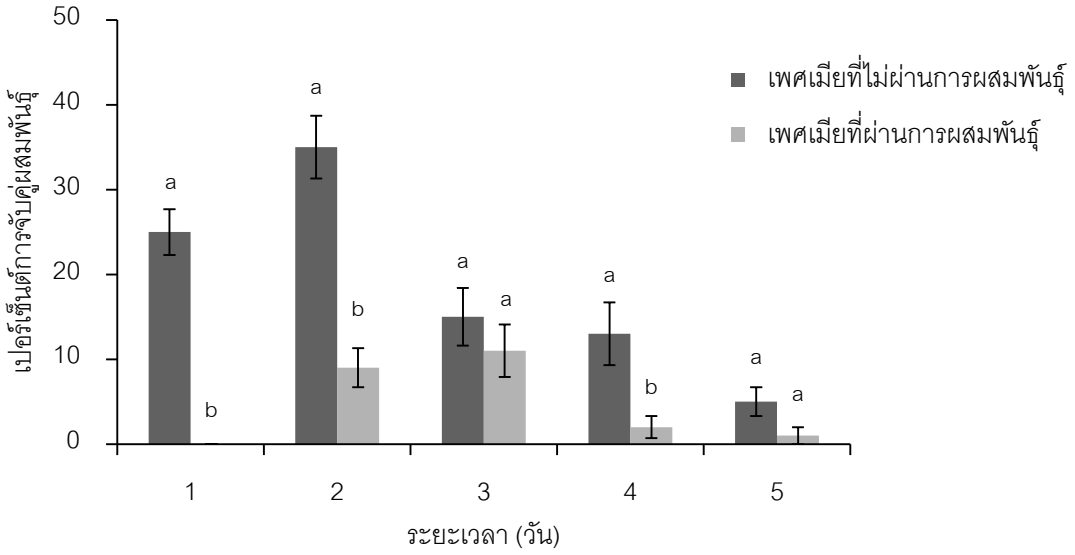


ภาพที่ 24 สัดส่วนการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) ผ่านการแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ของชุดติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับชุดควบคุม

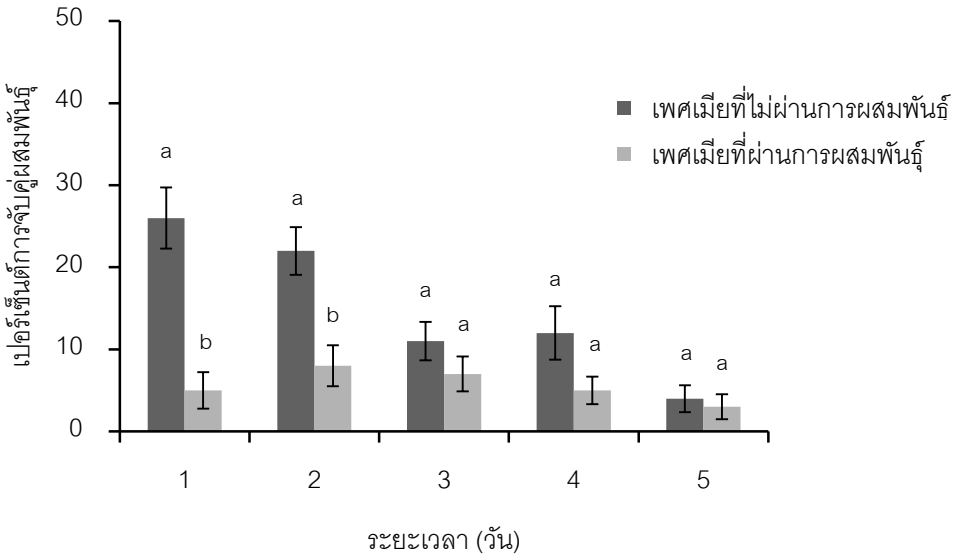
4. การถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 โดยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* เพศผู้ต่อแมลงวันเพศเมียสถานะต่าง ๆ

จากการศึกษาการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลงในแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราต่อแมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ผ่านและผ่านการผสมพันธุ์ ในวันที่ 1, 2 และ 4 มีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ของเพศผู้ต่อเพศเมียที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์มากกว่าเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยในวันที่ 1 ไม่พบเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรากับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์ ส่วนในวันที่ 2 พบการจับคู่ผสมพันธุ์สูงที่สุดเท่ากับ 35.00 ± 3.7 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 3 และ 5 มีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ที่ไม่แตกต่างกัน (P>0.05) ของเพศผู้ต่อเพศเมียที่ไม่ผ่านและเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์ (ภาพที่ 25)

ส่วนชุดควบคุมในวันที่ 1 และ 2 มีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้ต่อแมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์มากกว่าเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยในวันที่ 1 และ 2 พบการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้ต่อแมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์เท่ากับ 26.00 ± 3.71 และ 22.00 ± 2.91 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนการจับคู่ผสมพันธุ์ในแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์ เท่ากับ 5.00 ± 2.24 และ 8.00 ± 2.49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับในวันที่ 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) ของแมลงวันแตงเพศผู้ต่อเพศเมียที่ไม่ผ่านและเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์ (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 25 เปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ (mean ± S.E.) ของตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านและไม่ผ่านการผสมพันธุ์ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี independence sample *t*-test ($P<0.05$)



ภาพที่ 26 เปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ (mean ± S.E.) ของตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ไม่คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านและไม่ผ่านการผสมพันธุ์ (ชุดควบคุม) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี independence sample *t*-test ($P<0.05$)

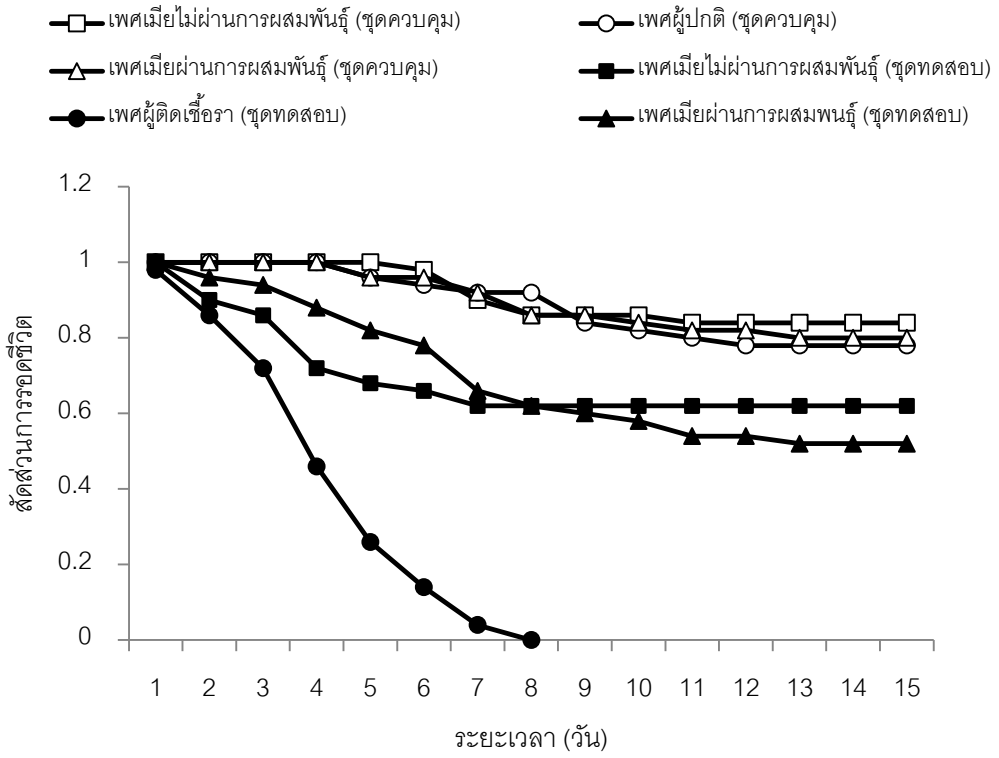
การวิเคราะห์ Kaplan-Meier ของค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรา พบว่ามีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตต่ำที่สุด คือ 6.15 ± 0.29 วัน ซึ่งแตกต่างจากชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตาราง 6) รองลงมาคือ แมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ผ่านและผ่านการผสมพันธุ์ที่อยู่ในกรงเดียวกับแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตเท่ากับ 11.82 ± 0.51 และ 11.88 ± 0.26 วัน ส่วนชุดควบคุมแมลงวันแตงเพศผู้ แมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ผ่านและผ่านการผสมพันธุ์มีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เท่ากับ 14.06 ± 0.12, 13.90 ± 0.14 และ 13.90 ± 0.21 วัน ตามลำดับ โดยมีจำนวนวันที่ทำการสำรวจจำกัดที่ 15 วัน (ตาราง 6) Quesaea-Moraga *et al.* (2008) ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อรา *M. anisopliae* ต่อจำนวนประชากรของแมลงวันผลไม้ *C. capitata* เพศผู้และเพศเมียที่คลุกด้วยสปอร์เชื้อราแห้งหรือสปอร์แขวนลอย ส่งผลให้แมลงวันผลไม้มีอัตราการตาย 95.0-100.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตอยู่ที่ 8.30-9.30 วัน โดยการคลุกเชื้อทั้ง 2 วิธี เพศผู้ที่ติดเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่เพศเมีย อยู่ในช่วงระหว่าง 90.0 เปอร์เซ็นต์ (สปอร์แขวนลอย) และ 100 เปอร์เซ็นต์ (สปอร์แห้ง) ได้สูงกว่าการถ่ายทอดเชื้อราจากเพศเมียไปสู่เพศผู้อยู่ในช่วง 60.0 เปอร์เซ็นต์ (สปอร์แขวนลอย) และ 90.0 เปอร์เซ็นต์ (สปอร์แห้ง)

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ Kaplan-Meier ของค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านและไม่ผ่านการผสมพันธุ์ กับชุดควบคุม

ชุดการทดลอง	แมลง	ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิต (AST) (mean ± SE)*	ช่วงความเชื่อมั่นที่ 95% (Confidence interval)	
			ต่ำสุด	สูงสุด
คลุกเชื้อรา	เพศผู้คลุกเชื้อรา	6.15 ± 0.29[a]	5.79	6.51
	เพศเมียไม่ผ่านการผสมพันธุ์	11.82 ± 0.51[b]	10.90	12.47
	เพศเมียผ่านการผสมพันธุ์	11.88 ± 0.26[b]	11.09	12.67
ควบคุม	เพศผู้ปกติ	14.06 ± 0.12[c]	13.62	14.50
	เพศเมียไม่ผ่านการผสมพันธุ์	13.90 ± 0.14[c]	13.41	14.39
	เพศเมียผ่านการผสมพันธุ์	13.90 ± 0.21[c]	13.40	14.40

*ตัวอักษรที่เหมือนกันภายใต้คอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's HSD test ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิต (AST) จำกัดที่ 15 วัน

ในกรงชุดทดสอบของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีสัดส่วนการรอดชีวิตลดลงหลังจากได้รับเชื้อรา 2 วัน จากนั้นมีสัดส่วนการรอดชีวิตลดลงเมื่อระยะเวลาการติดเชื้อราเพิ่มมากจนมีสัดส่วนการรอดชีวิตที่ 0 ในวันที่ 8 รองลงมาคือแมลงวันแตงเพศเมียผ่านการผสมพันธุ์ และแมลงวันแตงเพศผู้เมียไม่ผ่านการผสมพันธุ์ที่อยู่ในชุดทดลองเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับกรงของชุดควบคุมที่มีสัดส่วนการรอดชีวิตมากกว่า 0.8 (ภาพที่ 27)

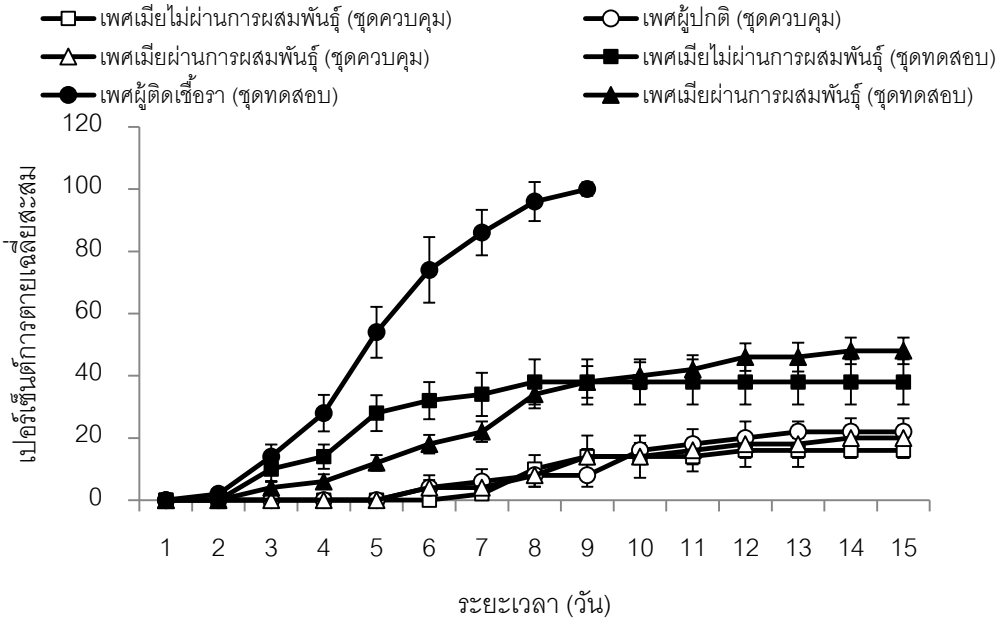


ภาพที่ 27 สัดส่วนการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่าน และไม่ผ่านการผสมพันธุ์ และเพศผู้ปกติกับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่าน และไม่ผ่านการผสมพันธุ์ (ชุดควบคุม)

เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสมของชุดการทดลองของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อรา (ภาพที่ 28) มีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมในวันที่ 3 เท่ากับ 14.00 ± 3.92 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสมเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการติดเชื้อราเพิ่มมากขึ้น และพบเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสม 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 8 หลังการทดสอบ สำหรับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์ที่อยู่ภายในกรงเดียวกันมีการตายเฉลี่ยสะสมเริ่มต้นในวันที่ 3 เท่ากับ 4.00 ± 1.89 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสมสูงสุดเท่ากับ 48.00 ± 4.24 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 15

หลังจากการทดสอบส่วนเพศเมียที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์มีการตายเฉลี่ยสะสมเริ่มต้นในวันที่ 3 เท่ากับ 10.00 ± 3.80 เปอร์เซ็นต์ หลังการทดสอบ และมีเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสมสูงสุดเท่ากับ 38.00 ± 6.99 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่วันที่ 8 จนถึงวันที่ 15 หลังการทดสอบ

สำหรับแมลงวันแตงในชุดควบคุม แมลงวันแตงเพศผู้ที่คลุกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ แมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านและไม่ผ่านการผสมพันธุ์ มีเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสมเริ่มต้นในวันที่ 6 และมีเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสมสุดท้ายต่ำกว่า 20.00 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 15 หลังทดสอบ (ภาพที่ 28) จากการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานทดลองของ Dimbi *et al.* (2003) ทำการทดลองโดยใช้เชื้อรา *M. anisopliae* กับแมลงวันผลไม้สกุล *C. capitata* และ *C. rosa var. fasciventris* พบว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถก่อให้เกิดโรคกับแมลงวันผลไม้ทั้ง 2 ชนิด หลังจากปลูกเชื้อ 4 วัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 7-100 เปอร์เซ็นต์ และ 11.4-100 เปอร์เซ็นต์ ในแมลงวันผลไม้แต่ละชนิด ตามลำดับ และ Evangelos *et al*. (2012) รายงานว่าสายพันธุ์เชื้อราก่อโรคแมลงที่นำมาใช้กับตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *C. capitata* ในระยะตัวเต็มวัยมีเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 41.9-88.0 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 28 เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสม (mean ± S.E.) ของกรงชุดทดสอบตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านและไม่ผ่านการผสมพันธุ์ และกรงชุดควบคุมเพศผู้ที่คลุกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อกับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านและไม่ผ่านการผสมพันธุ์ (ชุดควบคุม)

5. การควบคุมแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* เพศเมียโดยอาศัยแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium guizhouense* PSUM02 ในสภาพโรงเรือน

เมื่อปล่อยแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่ จำนวน 250 ตัว/กรง และแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราโรคแมลงจำนวน 250 ตัว/กรง ในวันที่ 1 และ 2 มีจำนวนของตัวหนอนในชุดที่ใช้เชื้อราไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยพบจำนวนตัวหนอนในชุดที่ใช้เชื้อรากับชุดควบคุมในวันที่ 1 เท่ากับ 310 ± 43 และ 675 ± 146 ตัว ส่วนจำนวนตัวหนอนในวันที่ 2 เท่ากับ 96 ± 10 และ 264 ± 70 ตัว ตามลำดับ ส่วนในวันที่ 3, 4 และ 5 มีจำนวนของหนอนในชุดที่ใช้เชื้อราน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.05) โดยพบจำนวนตัวหนอนในชุดที่ใช้เชื้อราน้อยกว่าชุดควบคุมในวันที่ 3, 4 และ 5 เท่ากับ 2.61, 4.11 และ 4.39 เท่า ตามลำดับ (ภาพที่ 29)

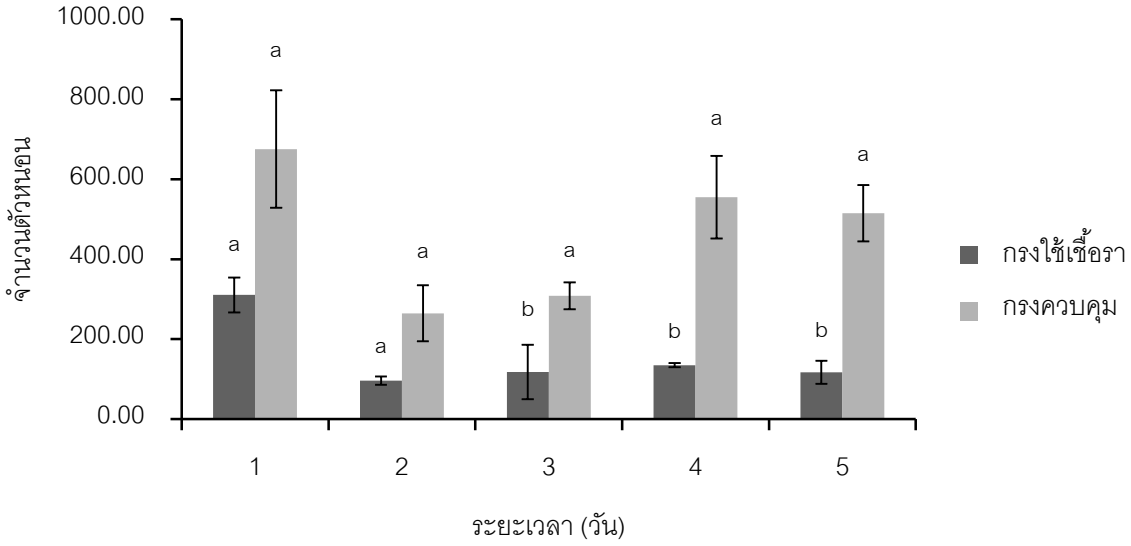
สำหรับจำนวนดักแด้ให้ผลสอดคล้องกับจำนวนตัวหนอน โดยพบว่าในวันที่ 1 และ 2 ของชุดที่ใช้เชื้อรามีจำนวนของดักแด้ไม่แตกต่างกันกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ส่วนในวันที่ 3, 4 และ 5 มีจำนวนดักแด้ในชุดที่ใช้เชื้อราน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.05) โดยพบจำนวนตัวหนอนในชุดที่ใช้เชื้อราน้อยกว่าชุดควบคุมในวันที่ 3, 4 และ 5 เท่ากับ 2.64, 4.17 และ 4.48 เท่า ตามลำดับ (ภาพที่ 30)

จำนวนของตัวเต็มวัยของแมลงวันแตง *B. cucurbitae* พบว่าจำนวนของตัวเต็มวัยของชุดที่ใช้เชื้อราในวันที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ส่วนในวันที่ 3, 4 และ 5 ชุดที่ใช้เชื้อรามีจำนวนตัวเต็มวัยที่ออกมาน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.05) โดยพบจำนวนตัวเต็มวัยที่ออกมาจากชุดที่ใช้เชื้อราน้อยกว่าชุดควบคุมในวันที่ 3, 4 และ 5 เท่ากับ 2.64, 4.26 และ 4.58 เท่า ตามลำดับ (ภาพที่ 31)

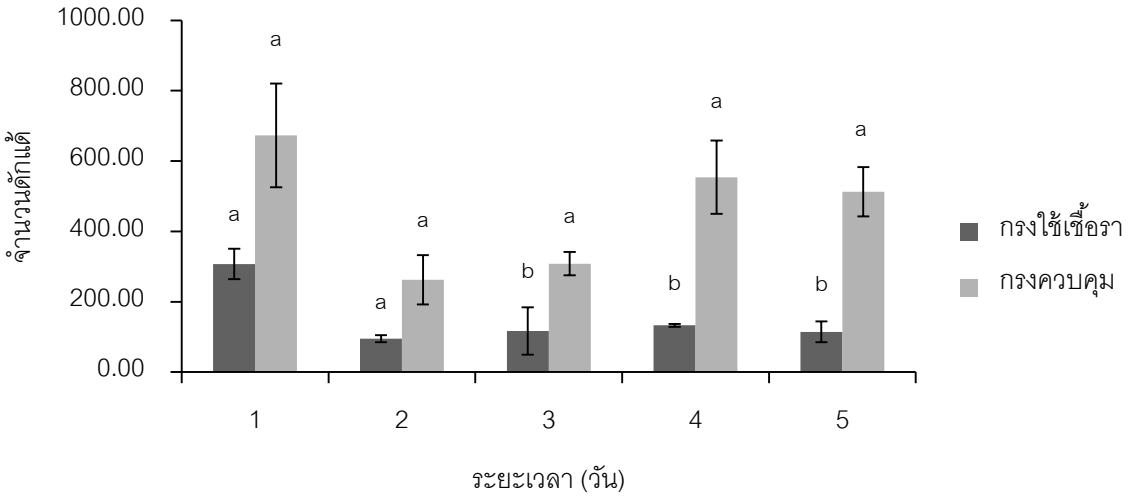
สอดคล้องกับงานทดลองของ วัชระ (2557) ที่ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียม น้ำมัน และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง ต่อการเข้าทำลายบวบเหลี่ยมของแมลงวันแตง *B. cucurbitae* ในสภาพโรงเรือน พบว่าการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียม มีจำนวนตัวหนอนในผลผลิตน้อยที่สุด และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) กับการใช้สารฆ่าแมลงมาลาไธออน ในส่วนของดักแด้การใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียมทำให้จำนวนดักแด้น้อยลง และพบจำนวนใกล้เคียงกับสารฆ่าแมลงมาลาไธออน โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ดักแด้เท่ากับ 41.99 และ 39.39 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* เพียงอย่างเดียว ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของดักแด้สูงสุดถึง 34.75 เปอร์เซ็นต์ และการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* เพียงอย่างเดียวมีค่าการพัฒนาไปเป็นตัว

เต็มวัยของแมลงวันแตง *B. cucurbitae* ต่ำสุดเท่ากับ 65.14 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีค่าการพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยเท่ากับ 99.38 เปอร์เซ็นต์

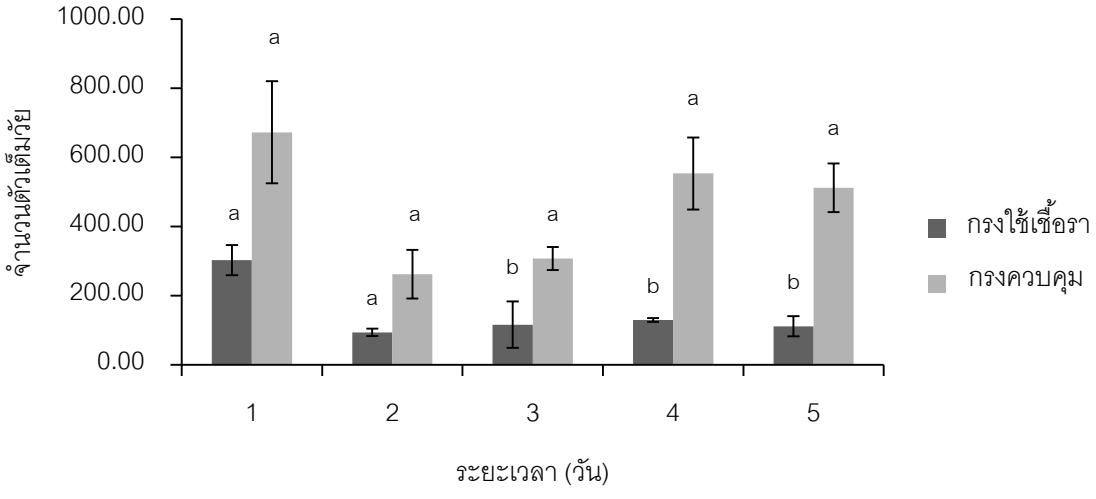
ส่วนหงส์ฟ้า (2558) ได้ทำการศึกษาการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 ควบคุมแมลงวันพริก *Bactrocera latifrons* (Hendel) ระยะตัวเต็มวัยในเรือนทดลอง พบว่าแมลงวันพริก *B. latifrons* เพศผู้ที่ติดเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่แมลงวันพริกเพศเมียปกติได้ โดยพบจำนวนแมลงวันพริก *B. latifrons* ในผลพริกจากกรงที่ใช้เชื้อราเฉลี่ย 3.7 ± 0.2 ตัวต่อผลน้อยกว่ากรงชุดควบคุมที่พบเฉลี่ย 7.0 ± 0.2 ตัวต่อผล



ภาพที่ 29 ค่าเฉลี่ย (mean ± S.E.) ของจำนวนตัวหนอนของชุดที่ตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศผู้ที่ไม่ติดเชื้อรา (ควบคุม) ในสภาพโรงเรือนตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี independence sample *t*-test ($P<0.05$)



ภาพที่ 30 ค่าเฉลี่ย (mean ± S.E.) ของจำนวนดักแด้ของชุดที่ตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศผู้ที่ไม่ติดเชื้อรา (ควบคุม) ในสภาพโรงเรือนตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี independence sample *t*-test ($P<0.05$)



ภาพที่ 31 ค่าเฉลี่ย (mean ± S.E.) ของจำนวนตัวเต็มวัยของชุดที่ตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Couqillett) เพศผู้ที่ติดเชื้อรา *Metarhizium guizhouense* PSUM02 กับแมลงวันแตงเพศผู้ที่ไม่ติดเชื้อรา (ควบคุม) ในสภาพโรงเรือนตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี independence sample *t*-test ($P<0.05$)

บทที่ 4

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการทดสอบระยะเวลาการติดเชื้อราโรคแมลง *M. guizhouense* PSUM02 ในแมลงวันแตง *B. cucurbitae* เพศเมียต่อพฤติกรรมการวางไข่ และการพัฒนาระยะตัวอ่อนเมื่อตัวเต็มวัยแมลงวันแตงเพศเมียติดเชื้อรามากกว่า 48 ชั่วโมง ทำให้แมลงวันแตงเพศเมียมีอัตราการตายเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลต่อการรอดชีวิตมาวางไข่ของแมลงวันแตงเพศเมีย และการพัฒนาระยะตัวอ่อนของแมลงวันแตงรุ่นลูกที่ลดลง ส่วนชุดควบคุมไม่พบเปอร์เซ็นต์การตายของตัวเต็มวัยแมลงวันแตงและยังพบว่าเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของสัดส่วนเพศที่ออกมาจากดักแด้ไม่มีความแตกต่างกัน

ผลจากการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลงผ่านการผสมพันธุ์ของแมลงวันแตงเพศผู้กับแมลงวันแตงเพศเมีย โดยแมลงวันแตงเพศผู้ที่คลุกเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่แมลงวันแตงเพศเมียผ่านการจับคู่ผสมพันธุ์ได้ โดยส่งผลต่อค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตต่ำ และเปอร์เซ็นต์การตายสะสมสูงของแมลงวันแตงเพศผู้คลุกเชื้อรา และเพศเมียปกติในกล่องเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตสูงและเปอร์เซ็นต์การตายสะสมต่ำ

ผลการทดลองการติดเชื้อราโรคแมลงของแมลงวันแตงต่อการแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์ของเพศผู้ปกติกับเพศผู้ที่ติดเชื้อรา ช่วง 2 วันแรกเพศผู้ที่ติดเชื้อราสามารถแข่งขันจับคู่ผสมพันธุ์กับเพศเมียปกติได้ ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของเพศเมียปกติ เพศผู้ปกติในกรงเดียวกันเพิ่มสูงขึ้น และมีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่แมลงวันแตงเพศผู้ที่คลุกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (แต้มน้ำยาลบคำผิดสีขาว) แมลงวันแตงเพศผู้ปกติ และแมลงวันแตงเพศเมียมีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมต่ำ และค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตสูง

ผลการถ่ายทอดเชื้อราโรคแมลงในแมลงวันแตงเพศผู้ที่คลุกเชื้อราต่อแมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ผ่านและผ่านการผสมพันธุ์ พบว่าแมลงวันแตงเพศผู้สามารถจับคู่ผสมพันธุ์กับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์ได้ โดยแมลงวันแตงเพศผู้ที่คลุกเชื้อรามีการจับคู่ผสมพันธุ์กับเพศเมียที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์มากกว่าเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์เช่นเดียวกับชุดควบคุมที่แมลงวันแตงเพศผู้มีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์กับแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์และเพศผู้มีการจับคู่กับเพศเมียที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์มากกว่าเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์ เพศผู้ที่คลุกเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่เพศเมียได้ โดยส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การตายสะสมที่สูงขึ้น

และค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตต่ำของแมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ผ่านและผ่านการผสมพันธุ์ที่อยู่ในกรงเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่แมลงวันแตงเพศผู้ปกติ แมลงวันแตงเพศเมียที่ไม่ผ่านและผ่านการผสมพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมต่ำ และค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตสูง

จากการทดสอบการควบคุมแมลงวันแตงเพศเมียโดยอาศัยแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราโรคแมลงในสภาพโรงเรือน แมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่แมลงวันแตงเพศเมียผ่านการผสมพันธุ์ได้ ส่งผลให้แมลงวันแตงเพศเมียเหลือรอดมาวางไข่ลดลง ทำให้จำนวนของหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย มีจำนวนลดลงด้วย ซึ่งช่วยลดการเข้าทำลายผลผลิตของแมลงวันแตงเพศเมียลงได้

เอกสารอ้างอิง

ทิพย์วดี อรรถธรรม กรรณิการ์ สีนวลมาก และ จีรภา ปัญญาศิริ. ม.ป.ป. เชื้อราของแมลงและศักยภาพในการใช้ควบคุมกำจัดเพลี้ยไฟ. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก http://plantpro.doae.go.th/insectpest-research/P-14.pdf. (2 มกราคม 2556).

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

นริศ ท้าวจันทร์ อนุชิต ชินาจริยวงศ์และวิวัฒน์ เสือสะอาด. 2554. ผลของราเชื้อโรคแมลง *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ต่อพฤติกรรมการผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera papayae* (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (พิเศษ) 42: 339-342.

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

นิรนาม. มปป. ไบโอเมตา 60. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จากhttp://www.thaifungus.com/product/detail-192437.html (5 มกราคม 2559)

พัชรินทร์ ครุฑเมือง. ม.ป.ป. การพัฒนาต้นการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* ในการกำจัดแมลงศัตรูผัก. ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืชคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มนตรี จิรสุรัตน์. 2544. แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการของกีฏและสัตว์วิทยา กรมวิชาการเกษตร, จตุจักร, กรุงเทพฯ.

มลิวัลย์ ปันยารชุน. 2534. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้เชื้อรา. เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี .กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร,กรุงเทพฯ.

วัชระ ลุ้งใส้. 2557. ผลของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* น้ำมันปีโตรเลียม และสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างต่อการเข้าทำลายของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) ในบวบเหลี่ยม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 73 หน้า.

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

หงส์ฟ้า แซ่เตี้อง. 2558. ศักยภาพการควบคุมของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin ไอโซเลท PSUM02 ต่อแมลงวันพริก *Bactrocera latifrons* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) ในห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 71 หน้า.

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., Vijaysegaran, S. 1999. Host plant records for fruit flies (Diptera: Tephritidae) in South –East Asia. The Raffles Bulletin of Zoology 47: 1-92.

Arruda, W. Lubeck, I. Schrank, A. and Vainstein, M.H. 2005. Morphological alterations of *Metarhizium anisopliae* during penetration of *Boophilus microplus* ticks. Experimental and Applied Acarology 37: 231-244.

Bateman, M.A. 1972. The ecology of fruit flies. Annual Review of Entomology 17: 493-518.

Christenson, L.D. and Foote, R.H. 1960. Biological of fruit flies. Annual Review of Entomology 5: 171-192.

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

Destéfano, R., Bechara, I.J., Messias, C.L. and Piedrabuena, A.E. 2005. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* against immature stages of *Anastrepha fraterculus* fruitfly (Diptera: Tephritidae). Brazilian Journal of Microbiology 36: 94-99.

Dhillon, M.K., Singh, R., Naresh, J.S. and Sharma, H.C. 2005. The melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae*: A review of its biology and managemant. Journal of Insect Science 5: 1-16.

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*, *Ceratitis cosyra* and *Ceratitis fasciventris*. Biological Control 50: 111-116.

Dimbi, S., Maniania, N.K. and Ekesi, S. 2013. Horizontal transmission of *Metarhizium anisopliae* in fruit flies and effect of fungal infection on egg laying and fertility. Insects 4: 206-216.

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. M., Antonio, C. M., Ana, C.R.M. and Luciana, Y., 2010. Entomopathogenic fungal activity against pupae and adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). Veterinary Parasitology 168: 105–110.

Drew, R.A.I. and Lloyd, A.C. 1989. Biology and physiology nutrition; bacteria associated with fruit flies and their host plants. *In*: Fruit Flies; Their Biology, Natural Enemies and Control. (eds. Robinson, A.S. and Hooper, G.), pp. 131-140. World Crop Pests.

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.

Evangelos, I.B., Dimitrios, P.P., Anastasia, F., Spyridon, A.A. and Dimitrios, C.K. 2012 . Pathogenicity of three entomopathogenic fungi on pupae and adults of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Journal of Pest Science 86: 275-284.

Fletcher, B.S. 1989. Ecology: life history strategies of tephritid fruit flies. *In*: Fruit Flies; Their Biology, Natural Enemies and Control. (eds. Robinson, A.S. and Hooper, G.), pp. 195-208. World Crop Pests.

Frazzon, A.P., Vaz Junior, I., Masuda, A., Schrank, A. and Vainstein, M.H., 2000. *In vitro* assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. Veterinary Parasitology 94: 117-125.

Hernandez-Ramirez, G., Sanchez-Arroyo, H., and Alatorre-Rosas, R., 2008. Patogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the American cockroach (Dictyoptera: Blattidae). Proceedings of the Sixth International Conference on Urban Pests pp. 143-144.

Jarrold, S.L., Moore, D., Potter, U. and Charnley, A.K. 2007. The contribution of surface waxes to pre-penetration growth of an entomopathogenic fungus on host cuticle. Mycological Research 111: 240-249.

Jorge, T., Pablo, L., Salvador, F., Sergio, E.C., Antonio, V. and Pablo, M., 2006. Use of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for Fruit Fly control: A novel Approach. Proceedings of the 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance pp. 127-132.

Keiser, I., Kobayashi, R.M., Chambers, D.L. and Schneider, E.L. 1973. Relation of sexual dimorphism in the wings, potential stridulation, and illumination to mating of oriental fruit flies, melon flies, and Mediterranean fruit flies in Hawaii. Annals of the Entomological Society of America 66: 937-941.

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

Kobayashi, R.M., Ohinata, K., Chambers, D.L. and Fujimoto, M.S. 1978. Sex pheromones of the oriental fruit fly and melon fly: mating behavior, bioassay method, and attraction of females by live males and by suspected pheromone glands of males. Environmental Entomology 7: 107-112.

Kuba, H. and Sokei, Y. 1988. The production of pheromone clouds by spraying in the melon fly, *Dacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae). Journal of Ethology 6: 105-110.

Maniania, N.K., Okech, M.A., Adino, J.O., Opere, J.O. and Ekesi, S. 2013. Transfer of inoculum of *Metarhizium anisopliae* between adult *Glossina morsitans morsitans* and effects of fungal infection on blood feeding and mating behaviors. Journal of Pest Science 86: 285–292.

Monro, J. 1953. Stridulation in the Queensland fruit fly *Dacus (Strumeta) tryoni* Frogg. Australian Journal of Science 16: 60-62.

Myers, K. 1952. Oviposition and mating behavior of the Queensland fruit fly, *Dacus* (Strumeta) *tryoni* and the solanum fruit fly *Dacus* (Strumeta) *cacuminatus* (Hering). Australian Journal of Scientific Research 5: 264-281.

Nagappan, K., Kamalnathan, S., Santharaman, T. and Ayyasamy, M.K. 1971. Insecticidal trials for the control of the melon fruit fly, *Dacus cucurbitae* Coq. infesting snake gourd, *Trichosanthes anguina*. Madras Agriculture Journal 58: 688-690.

Ohinata, K., Jacobson, M., Kobayashi, R.M., Chambers, D.L., Fujimoto, M.S. and Higa, H.H. 1982. Oriental fruit fly and melon fly: biological and chemical studies of smoke produced by males. Journal of environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering 17: 197-216.

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

Ros, J., Wong, E., Olivero, J. and Castillo, E. 2002. Mejora de los mosqueros, atrayentesy sistemas de retención contra la mosca mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata* Wied. Como hacer de la técnica del trampeo masivo una

Buena herramienta para controlar esta plaga. Boletin de Sanidad Vegetal, Plagas 28: 591-597.

Schrank, A. and Vainstein, M.H. 2010. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. Toxicon 56: 1267-1274.

Shah M.I, Batra H.N. and Ranjhen P.L. 1948. Notes on the biology of *Dacus* (*Strumeta*) *ferrugineus* Fab. and other fruit flies in the North-West Frontier province. Indian Journal of Entomology 10: 249-266.

Silva, W.O.B., Mitidieri, S., Schrank, A. and Vainstein, M.H. 2005. Production and extraction of an extracellular lipase from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Procress Biochemistry 40: 321-326.

Silva, W.O.B., Santi, L., Schrank, A. and Vainstein, M.H. 2009. *Metarhizium anisopliae* lipolytic activity plays a pivotal role in *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* infection. Mycological Research doi:10.1016/j.mycres.2009.08.003.

Smith, P.H. 1979. Genetic manipulation of the circadian clock's timing of sexual behavior in the Queensland fruit fly, *Dacus tryoni* and *Dacus neohumeralis*. Physiological Entomology 4: 71-78.

Sookar, P., Bhagwant, S. and Allymamod, M.N. 2014. Effect of *Metarhizium anisopliae* on the fertility and fecundity of two species of fruit flies and horizontal transmission of mycotic infection. Journal of Insect Science 14: 100.

Sookar, P., Bhagwant, S., Khayrattee, F.B., Chooneea, Y. and Ekesi, S. 2013. Mating compatibility of wild and sterile melon flies, *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) treated with entomopathogenic fungi. Journal of Applied Entomology 138: 409-417.

Toledo, J., Campos, S.E., Flores, S., Liedo, P., Barrera, J.F., Villaseñor, A., and Montoya, P. 2007. Horizontal transmission of *Beauveria bassiana* in the Mexfly, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), under laboratory and field-cage conditions. Journal of Economic Entomology 100: 291-297.

Tremblay, E. 1994. Entomologia Applicata, thirded. Liguori Editore. Volume III, Part 2.

Tychsen, P.H. and Fletcher, B.S. 1971. Studies on the rhythm of mating in the Queensland fruit fly, *Dacus tryoni* (Frogg). Journal of Insect Physiology 17: 2139-2156.

White, I.M. 2014. *Bactrocera cucurbitae In*: Identification of Peach Fruit Fly, *Bactrocera zonata* (Saunders), in The Eastern Mediterranean. Natulral History Museum, London, UK.

White, I.M. and Elson-Harris, M. 1992. Fruit Flies of Economic Importance their Identification and Bionomics. CAB International Oxon. England. 601 pp.

Yousef, M., Lozano-Tovar, MD., Garrido-Jurado, I. and Quesada-Morage, E. 2013. Biocontrol of *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) with *Metarhizium brunneum* and its extracts. Journal of Entomology 106: 1118-1125.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล นางสาวปาณิศา ธรรมเสวตร

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5410620044

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2554

ทุนการศึกษา

- ทุนสนับสนุนโครงการวิจัยวิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- ทุนสนับสนุนจากสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร และทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาติ

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ปาณิศา ธรรมเสวตร และ นริศ ท้าวจันทร์. 2557. ผลของระยะเวลาการติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* PSUM02 ต่อการวางไข่ และระยะตัวอ่อนแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae*. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 1(1): 59-65.

ปาณิศา ธรรมเสวตร และ นริศ ท้าวจันทร์. 2557. ผลของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM02 ต่อการจับคู่ผสมพันธุ์และการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). วารสารแก่นเกษตร (ฉบับพิเศษ) 42(3): 639-643.

ปาณิศา ธรรมเสวตร และ นริศ ท้าวจันทร์. 2558. การถ่ายทอดเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM02 ในแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) เพศผู้ต่อเพศเมียที่ไม่ผ่านและผ่านการผสมพันธุ์. วารสารแก่นเกษตร (ฉบับพิเศษ) 43(1): 759-768.