

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

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ อิศเรศ เทียนทัต วิไลวรรณ เวชยันต์  
 กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การคัดเลือกและพัฒนาวิธีการเลี้ยงเชื้อราขาวเวเรียเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช เริ่มในเดือน ตุลาคม 2553 - กันยายน 2555 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏ และสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร การดำเนินงานในปี 2554 ได้เก็บ ตัวอย่างแมลงเป็นโรคในธรรมชาติ จำนวน 12 ตัวอย่าง ได้แก่ เชื้อราจากใบส้มโอ อ.บางขันแตก จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน ๑ ตัวอย่าง, เชื้อราจากเปลือกแป้งมันสำปะหลัง อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา จำนวน ๑ ตัวอย่าง, เชื้อราจากหนอนแทะเปลือกกลองกอง จ.จันทบุรี จำนวน ๑ ตัวอย่าง และเชื้อราจากเปลือกกระโถดสีน้ำตาลในนาข้าวที่ จ.สุพรรณบุรี จำนวน 9 ตัวอย่าง เมื่อนำมาแยกเชื้อ ให้บริสุทธิ์พบเป็นเชื้อราแมลงจำนวน 3 ชนิด คือ *Paecilomyces* sp., *Lecanicillium* sp. และ *Isaria* sp. การดำเนินงานในปี 2555 ได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราขาวเวเรียจากศูนย์วิจัย พืชสวนชุมพรที่แยกมาจากมอดเจาะเมล็ดกาแฟ และยังไม่เคยทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุม แมลงศัตรูพืชชนิดอื่นมาก่อน จึงต้องการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราขาวเวเรียไอโซเลตนี้เพื่อเป็น ข้อมูลในการตัดสินใจนำไปใช้ การดำเนินงานเริ่มจากเลี้ยงราขาวเวเรียบนข้าวโพดบดหยาบเป็นเวลา 14 วัน จากนั้นล้างและปรับกำลังโคโคนีเดีย =  $1 \times 10^9$  โคโคนีเดีย/มล. นำสารแขวนลอยโคโคนีเดียดังกล่าวมา ทดสอบประสิทธิภาพกับแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ ได้แก่ หนอนกระทุ้มหอม *Spodoptera exigua* (Hübner), หนอนกระทุ้มฝัก *Spodoptera litura* (Fabricius), ดั่งหมัดฝัก *Phyllotreta sinuata* (Stephens), เพลี้ยแป้งสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero และด้กแตนผี *Aularches miliaris* (Linnaeus) โดยเปรียบเทียบกับน้ำเปล่า (control) จากผลการทดลองพบว่า หนอนกระทุ้มหอม และหนอนกระทุ้มฝัก เป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อราขาวเวเรียสายพันธุ์ชุมพรค่อนข้างน้อย โดยหนอน กระทุ้มหอมพบการเกิดโรคที่ 19% และหนอนกระทุ้มฝักพบการเกิดโรคที่ 34% ส่วนด้วงหมัดฝัก, เพลี้ยแป้ง สีชมพู และด้กแตนผี พบเป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อราขาวเวเรียสายพันธุ์ชุมพร มากกว่า 50% โดย ตายเนื่องจากการติดเชื้อราขาวเวเรียที่ 57.78, 63.5 และ 76.67% ตามลำดับ

รหัสสารทดลอง 03-04-54-01-02-03-01-54

## คำนำ

ปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจงานด้านการป้องกันกำจัดศัตรูพืชทางชีวภาพมากขึ้น วิธีการหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจคือการนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ซึ่งนอกจากมีความปลอดภัยต่อสุขภาพ ของตัวเกษตรกรผู้ใช้รวมทั้งผู้บริโภคแล้ว ยังไม่ทำให้เกิดพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในสภาพแวดล้อม เชื้อรา ขาว *Beauveria bassiana* เป็นจุลินทรีย์ ที่นำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ จัดอยู่ใน Phylum: Ascomycota, Class: Sordariomycetes ซึ่งเชื้อราในกลุ่มนี้มักจะเป็นสาเหตุ ก่อให้เกิดโรค “muscadine” ในแมลง โดยใน *B. bassiana* มีการเรียกเชื้อราชนิดนี้ว่า “white muscadine” พบว่าเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคครั้งแรกกับหนอนไหม (Steinhaus, 1949) *B. bassiana* เป็นเชื้อราในดิน พบแพร่กระจายได้ทั่วไป แมลงอาศัยส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม Lepidoptera, Coleoptera และ Hemiptera แต่บางครั้งอาจจะพบในกลุ่ม Diptera และ Hymenoptera ด้วย (Tanada and Kaya, 1993) เชื้อราชนิดนี้ถูกนำมาผลิตใช้ในทางการค้าภายใต้ชื่อการค้าต่างๆ ใน หลายประเทศ เช่น Bea-sin ใน เม็กซิโก, Boverin ใน รัสเซีย, Boverol-spofa ใน เช็กโกสโลวาเกีย, Conidia ใน โคลัมเบีย, Mycotrol ใน อเมริกา, Ostrinil ใน ฝรั่งเศส และ Proecol ในเวเนซุเอลา เป็น ต้น (Wraight *et al.*, 2001)

ในเมืองไทยมีการศึกษาการนำเชื้อราขาวมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชมากมาย จากรายงาน ผลงานค้นคว้าวิจัยตั้งแต่ปี 2525 -2539 โดยมลิวัลย์ ปันยารชุน กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทาง ชีวภาพ กองกัญและสัตววิทยา ได้ทำการศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราดังกล่าวกับแมลง ศัตรูพืชชนิดต่างๆ พบว่าสามารถนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดได้แก่ เพลี้ยกระโดดสี น้ำตาล และหนอนเจาะขั้วผลเงาะ เป็นต้น ในปัจจุบันเชื้อราขาว (*Beauveria bassiana*) ได้รับความ สนใจจากเกษตรกรกลุ่มผู้ทำการเกษตรปลอดสารพิษเป็นจำนวนมาก เนื่องจากสามารถใช้ได้กับแมลง หลายประเภททั้งกลุ่มแมลงปากกัด ได้แก่ หนอนผีเสื้อศัตรูพืชชนิดต่างๆ และกลุ่มแมลงปากดูดได้แก่ เพลี้ยกระโดด, เพลี้ยไฟ, เพลี้ยแป้ง ฯลฯ ซึ่งศัตรูพืชเหล่านี้ทำความเสียหายให้กับพืชผลเกษตรเป็น จำนวนมาก งานวิจัยในปีงบประมาณ 2554 – 2558 งานวิจัยเชื้อราโรคแมลงจะได้ทำการเก็บรวบรวม และการคัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยเน้นการควบคุมแมลงศัตรูพืช ชนิดปากดูด ตลอดจนการพัฒนาเทคนิควิธีการเลี้ยงขยายเชื้อราชนิดนี้เพื่อเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกร และผู้บริโภคต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อทราบประสิทธิภาพของเชื้อราชีวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพรที่มี อยู่ในห้องปฏิบัติการ ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ ได้แก่ เพลี้ยแป้งสีชมพู, หนอนกระพุ่มัก, หนอนกระพุ่มหอม, ตัวหมัดผัก และตั๊กแตนผี เพื่อเป็นข้อมูลในการตัดสินใจนำไปใช้ต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ซุมพร (= ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยพืชสวน  
ซุมพร)
2. แผลงศัตรูพีซที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ เพลี้ยแป้งสีชมพู, หนอนกระทู้ผัก, หนอนกระทู้หอม,  
ด้วงหมัดผัก และต๊กแตนผี
3. ข้าวโพดบดหยาบ
4. Potato Dextrose Agar (PDA)
5. Potato Dextrose Broth (PDB)
6. กล้องเลี้ยงแมลง
7. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
8. เครื่องนับสปอร์ (Hemocytometer)
9. ตู้อุ่นเชื้อ
10. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
11. กล้องจุลทรรศน์
12. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)
13. ปีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.
14. กระบอกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.
15. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.

### วิธีการ

เลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ซุมพร บนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบโดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปลดทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 2 มล./ถุง คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 3 °ซ.) เป็นเวลา 14 วัน นำถุงเชื้อราบิวเวอเรียที่เลี้ยงได้มา เติมน้ำผสม tween ปริมาตร 200 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด ใช้ผ้าขาวบางกรองเศษอาหารที่ปะปนกับสารแขวนลอยโคนิเดีย จากนั้นนำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาตรวจนับความเข้มข้น และปรับความเข้มข้นโคนิเดียเชื้อที่  $1 \times 10^9$  โคนิเดีย/มล. นำมาทดสอบประสิทธิภาพกับแผลงศัตรูพีซชนิดต่างๆ ได้แก่ เพลี้ยแป้งสีชมพู, หนอนกระทู้ผัก, หนอนกระทู้หอม, ด้วงหมัดผัก และต๊กแตนผี เพื่อเป็นข้อมูลในการตัดสินใจนำไปใช้ต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ผสมกับแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ

หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner)

วิธีการ หนอนกระทู้หอม ที่ใช้ในการทดลองได้รับความอนุเคราะห์จากงานวิจัยแบคทีเรียและไวรัส กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ โดยเลือกใช้หนอนกระทู้หอมวัย 2 นำหนอนที่เลือกไปจุ่มในสารแขวนลอยโคนิเดียมเชื้อที่เตรียมไว้ ใช้หนอนกระทู้หอมจำนวน 100 ตัว/เชื้อ control ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นเขี่ยใส่กล่องอาหารเทียม ปิดฝากล่องวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคทุก 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius)

วิธีการ หนอนกระทู้ผัก ที่ใช้ในการทดลองได้รับความอนุเคราะห์จากงานวิจัยแบคทีเรียและไวรัส กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ โดยเลือกใช้หนอนกระทู้ผักวัย 3 นำหนอนที่เลือกไปจุ่มในสารแขวนลอยโคนิเดียมเชื้อที่เตรียมไว้ ใช้หนอนกระทู้ผักจำนวน 100 ตัว/เชื้อ control ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นเขี่ยใส่กล่องอาหารเทียม ปิดฝากล่องวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคทุก 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

ด้วงหมัดผัก *Phyllotreta sinuata* (Stephens)

วิธีการ เตรียมกล่องเลี้ยงแมลงขนาด 7 X 10 ซม. วางแผ่นกระดาษกรองในกล่องเลี้ยงแมลงหยดน้ำเพื่อเพิ่มความชื้นลงบนแผ่นกระดาษกรองวางใบกวางตั้งใส่กล่องเลี้ยงแมลง โดยภายหลังไปไว้ด้านบน พันสารแขวนลอยโคนิเดียมที่เตรียมไว้ลงบนใบกวางตั้ง ปล่อยตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักลงในกล่องเลี้ยงแมลงที่เตรียมจำนวน 100 ตัว/เชื้อ control ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ ปิดฝากล่องเลี้ยงแมลง วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคทุก 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

เพลี้ยแป้ง *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero

วิธีการ เลี้ยงเพลี้ยแป้งสีชมพูบนผลฟักทอง เลือกใช้เพลี้ยแป้งวัย 3 อายุประมาณ 20 – 25 วัน วางแผ่นกระดาษกรองในจานเลี้ยงเชื้อหยดน้ำเพื่อเพิ่มความชื้นลงบนแผ่นกระดาษกรอง วางใบมันสำปะหลังโดยภายหลังไปไว้ด้านบน นำเพลี้ยแป้งสีชมพูที่คัดเลือกไว้จุ่มในสารแขวนลอยโคนิเดียมเชื้อที่เตรียมไว้ จากนั้นเขี่ยใส่ใบมันสำปะหลัง ใช้เพลี้ยแป้งจำนวน 200 ตัว/เชื้อ control ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ ปิดฝาจานเลี้ยงเชื้อ วางไว้ที่อุณหภูมิห้องสังเกตการเป็นโรคทุก 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

ด้กแตนผี *Aularches miliaris* (Linnaeus)

วิธีการ ปล่อยด้กแตนผีใส่กรงเลี้ยงแมลง 100 ตัว/กรง พันสารแขวนลอยโคนิเดียมที่เตรียมไว้ control ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ ปิดฝากรง วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคทุก 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

#### เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2556

- ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพรกับแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ ได้แก่ หนอนกระทู้หอม, หนอนกระทู้ผัก, ดั้วงหมัดผัก, เพลี้ยแป้งสีชมพู และตักแตนผี โดยทำการทดสอบประสิทธิภาพเปรียบเทียบกับน้ำเปล่า (control) พบว่าหนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ผัก เป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพรค่อนข้างน้อย โดยหนอนกระทู้หอมพบการเกิดโรคที่ 19% และหนอนกระทู้ผักพบการเกิดโรคที่ 34% ส่วนดั้วงหมัดผัก, เพลี้ยแป้งสีชมพู และตักแตนผี พบเป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพร มากกว่า 50% โดยตายเนื่องจากการติดเชื้อราบิวเวอเรียที่ 57.78, 63.5 และ 76.67% ตามลำดับ

เนื่องจากการทดลองในปี 2555 มีเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพรในการทดสอบเพียงสายพันธุ์เดียวเปรียบเทียบกับน้ำเปล่า (control) ดังนั้นในปี 2556 จะได้หาเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์อื่นมาทำการทดลองเปรียบเทียบ และจะดำเนินการทดสอบกับแมลงศัตรูพืชต่างๆ ซ้ำ เพื่อยืนยันผลการทดลองต่อไป

### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพรในห้องปฏิบัติการ ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่างๆ ได้แก่ เพลี้ยแป้งสีชมพู, หนอนกระทู้ผัก, หนอนกระทู้หอม, ดั้วงหมัดผัก และตักแตนผี พบว่า เชื้อราบิวเวอเรียมีแนวโน้มในการใช้ควบคุมตักแตนผี เพลี้ยแป้งสีชมพู และดั้วงหมัดผัก ได้ดีกว่า หนอนกระทู้ผัก, หนอนกระทู้หอม ตามลำดับ

### คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวประภาพร ฉันทานุมัติ นักวิชาการเกษตรชำนาญการ ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราบิวเวอเรีย ซึ่งทำการแยกเชื้อจากมอดเจาะเมล็ดคาแฟพันธุ์อาราบิก้า ต. เทพเสด็จ อ. ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่

ขอขอบคุณ นางสาวยุวรินทร์ บุญทบ นักกีฏวิทยาชำนาญการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างตักแตนผี สำหรับทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรีย

### เอกสารอ้างอิง

Steinhaus, E. A. 1949. Principles of Insect Pathology. McGraw-Hill Book, New York.

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

Wraight, S.P., M.A. Jackson and S.L. de Kock. 2001. Production, stabilization and formation of fungal biocontrol agents. Pages 253-287. In: T.M. Butt, C. Jackson and N. Magan (eds.). Fungi an biocontrol agents progress, problems and potential. CABI publishing. 390 pp.

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายจากการติดเชื้อราบิวเวอเรียของแมลงศัตรูพืชทดสอบ

แมลงศัตรูพืชทดสอบ	เปอร์เซ็นต์การตายจากการติดเชื้อราบิวเวอเรีย <sup>1/</sup>
หนอนกระทู้หอม <sup>2/</sup> <i>Spodoptera exigua</i> (Hübner)	19
หนอนกระทู้ผัก <sup>3/</sup> <i>Spodoptera litura</i> (Fabricius)	34
ด้วงหมัดผัก <i>Phyllotreta sinuata</i> (Stephens)	57.78
เพลี้ยแป้งสีชมพู <i>Phenacoccus manihoti</i> Matile-Ferrero	63.5
ด้กแตนผี <i>Aularches miliaris</i> (Linnaeus)	76.67
Control = น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ	0

<sup>1/</sup> ความเข้มข้นโคโคนีเดีย =  $1 \times 10^9$  โคโคนีเดีย/มล.

<sup>2/</sup> หนอนกระทู้หอม ใช้หนอนวัย 2

<sup>3/</sup> หนอนกระทู้ผัก ใช้หนอนวัย 3