

การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีศักยภาพเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำ Screening of Potential Insect Pathogenic Fungi for Controlling Cabbage Aphid (*Lipaphis erysimi*)

แก้วบัวสอน ราชันติ¹และสุกัญญา คลั่งสินศิริกุล¹
Keobouasone Razkhanty¹ and Sukanya Klangsinsirikul¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีศักยภาพสูงที่สุดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำ (*Lipaphis erysimi*) โดยทำการสำรวจ เก็บข้อมูลในแปลงปลูกพืชเกษตรกรรมและป่าธรรมชาติของประเทศไทย 8 จังหวัด และสปป. ลาว 9 จังหวัด แยกได้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงทั้งหมด 100 ไอโซเลท (ประเทศไทยพบจำนวน 53 ไอโซเลท และสปป. ลาว จำนวน 47 ไอโซเลท) ใน 100 ไอโซเลทจำแนกได้เชื้อรา 3 ชนิด คือเชื้อราสกุล *Metarhizium* จำนวน 12 ไอโซเลท (ประเทศไทย 5 ไอโซเลท และสปป. ลาว 7 ไอโซเลท) เชื้อราสกุล *Beauveria* จำนวน 53 ไอโซเลท (ประเทศไทย 25 ไอโซเลท และสปป. ลาว 28 ไอโซเลท) และเชื้อราสกุล *Paecilomyces* จำนวน 35 ไอโซเลท (ประเทศไทย 23 ไอโซเลท และสปป. ลาว 12 ไอโซเลท) และทำการทดสอบศักยภาพเชื้อรา 100 ไอโซเลท ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำในห้องปฏิบัติการพบว่าเชื้อราสกุล *Metarhizium* ไอโซเลท PS0N1 ซึ่งแยกได้จากดินในพื้นที่ของสปป. ลาว สามารถทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ มีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคและตายสูงที่สุดที่ 48, 72 และ 96 ชั่วโมงเท่ากับ 32.5, 58.75 และ 90.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

คำสำคัญ : เชื้อราสาเหตุโรคแมลง เชื้อราสกุลบิวเวอเรีย เชื้อราสกุลเมตาไรเซียม เชื้อราสกุลพิซิโลมัยซิส เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ

Abstract

The objective of this research was to search for potential insect pathogenic fungi to control cabbage aphid (*Lipaphis erysimi*). The survey and sample collection were performed in farmer crop fields and natural forest areas in eight provinces of Thailand and nine provinces of Lao PDR. A total of 100 isolates of fungi were found (53 isolates from Thailand and 47 isolates from Lao PDR). All isolates were identified to be 12 isolates of *Metarhizium* (53 isolates from Thailand and 47 isolates from Lao PDR), 53 isolates of *Beauveria* (25 isolates from Thailand and 28 isolates from Lao PDR) and 35 isolates of *Paecilomyces* (23 isolates from Thailand and 12 isolates from Lao PDR). Control potential of pathogenic fungi were tested on the cabbage aphid under laboratory condition. The result revealed that *Metarhizium* isolate PS0N1 from Lao PDR showed the highest potential control to cabbage aphid with the mortality of 32.5, 58.75 and 90.00% at 48, 72 and 96 hours after direct spraying on the aphids, respectively.

Keywords: insect pathogenic, fungus, *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces*, cabbage aphid

บทนำ

การผลิตพืชผักเพื่อเป็นการค้าของเกษตรกรผู้ปลูกผักส่วนใหญ่มักจะผลิตพืชผักชนิดเดียวกันซ้ำบนพื้นที่เดิมเป็นเวลานานจนทำให้เกิดการแพร่ระบาดของแมลงศัตรูพืชทำลายตั้งแต่พืชอยู่ในระยะกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยว ในการกำจัดแมลงศัตรูผักเกษตรกรมักใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช เนื่องจากเห็นผลได้รวดเร็ว และแก้ปัญหาเฉพาะหน้าได้ทันเวลาที่ แต่วิธีการนี้ เกษตรกรมักไม่คำนึงถึงผลเสียที่จะตามมาภายหลัง เช่น อันตรายของสารพิษที่มีต่อผู้ใช้และผู้บริโภค ซึ่งมีพิษตกค้างสะสมในห่วงโซ่อาหาร อันส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (มาลี และศิริพันธ์, 2554)

กะหล่ำปลี (*Brassica oleracea* var. *capitata*) เป็นหนึ่งในชนิดพืชผักที่นิยมเพาะปลูกมากในประเทศไทย เนื่องจากเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคจำนวนมาก แหล่งผลิตที่สำคัญ ได้แก่ จังหวัดเพชรบุรี ตาก เชียงใหม่ นอกจากนี้ยังมีการนำเข้ากะหล่ำปลีจากสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว โดยเฉพาะแขวงจำปาสักนับว่าเป็นแหล่งผลิตกะหล่ำปลีแหล่งใหญ่และสำคัญของประเทศ มีปริมาณส่งออก 433,400 ตัน คิดเป็นมูลค่า 40,797,600 บาท (กรมวิชาการเกษตร จังหวัดจำปาสัก, 2554) แต่ปัญหาลำดับของการปลูกกะหล่ำ คือ มีแมลงศัตรูพืชเข้าทำลายผลผลิต ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะ เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ (*Lipaphis erysimi*) จะเข้าทำลายทั้งระยะที่เป็นตัวอ่อนและตัวเต็มวัยโดยจะดูดกินน้ำเลี้ยงตามใบ ยอดอ่อนทำให้หงิกงอ เป็นคลื่น หากมีการระบาดมาก ๆ จะทำให้ใบ ยอดเหี่ยวและอ่อนแอ ทำให้เกิดความเสียหายอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำเป็นพาหะนำโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสที่สำคัญหลายชนิด และเป็นแมลงพาหะนำเชื้อดังกล่าวได้มากกว่าแมลงชนิดอื่น ๆ (กองกัญ และสัตววิทยา, 2545) เมื่อมีการระบาดของเกษตรกรจึงทำการควบคุมโดยวิธีใช้สารเคมีที่เป็นพิษรุนแรงเป็นอันตรายต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค เพื่อเป็นการลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษรุนแรงในการควบคุมแมลงศัตรูพืช การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสม ปลอดภัยเพราะเชื้อรามีความเฉพาะเจาะจงกับแมลงอาศัย ทำให้ไม่เป็นอันตรายกับสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมายและไม่เกิดสารตกค้างในสิ่งแวดล้อมเหมือนกับสารเคมีอีกทั้งย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่นิยมใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่มีศักยภาพได้แก่ เชื้อราสกุล *Metarhizium*, *Beauveria* และ *Paecilomyces* เป็นต้น (Ujjan and Shahzad, 2012)

เชื้อราสาเหตุโรคแมลงเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีอยู่ในธรรมชาติ มีการศึกษาและนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด เช่น เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ ตัวงมหัดผัก และแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกหลายชนิด (Butt *et al.*, 2001) เชื้อราเหล่านี้สามารถเข้าทำลายแมลงได้โดยผ่านทางผนังลำตัวบางชนิดอาศัยเอนไซม์ในการย่อยสลายชั้นไขมันของแมลงจากนั้นเส้นใยจึงเจริญงอกผ่านเข้าไปในช่องว่างภายในลำตัวและเจริญเติบโตขึ้นภายในตัวแมลงเป็นเหตุทำให้แมลงตายในที่สุดและบางชนิดแมลงต้องกินเข้าไปจึงมีประสิทธิภาพ (Tanada and Kaya, 1993) ปัจจุบันได้มีการนำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชมาพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ (microbial insecticides) ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชในระบบการปลูกพืชปลอดภัยจากสารพิษ (Copping, 2004) จากคุณสมบัติเหล่านี้จึงทำการศึกษาคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำ เพื่อนำผลที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำโดยไม่ใช้สารเคมีต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่าง

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างดินในแปลงปลูกพืชของเกษตรกรและป้าธรรมชาติของประเทศไทย 8 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี สุรินทร์ มหาสารคาม ประจวบคีรีขันธ์ ขอนแก่น มุกดาหาร ศรีสะเกษ และหนองคาย และสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว 9 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกำแพงนครเวียงจันทน์ เวียงจันทน์ บอลิคำไซ คำม่วน

สะพานะเขต จำปาสัก สาละวัน อัดตะปือ และ เซกอง สุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณรากต้นไม้ใหญ่ต้นละ 3 จุด ๆ ละ 10 กรัม ชุตลึกลงไปประมาณ 0-15 เซนติเมตร นำดินที่เก็บได้บรรจุใส่ถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้สนิท บันทึกวันที่และสถานที่เก็บตัวอย่างโดยละเอียด แล้วนำมาแยกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในห้องปฏิบัติการ ตามวิธีการของ นฤมล (2553)

2. การแยกเชื้อราบริสุทธิ์จากดิน

นำตัวอย่างดินผึ่งลมให้แห้งและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 35 ช่อง/ตารางนิ้ว ซึ่งดินตัวอย่างละ 20 กรัม บรรจุลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น (ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ) ปริมาตร 180 มิลลิลิตร และสารลดแรงตึงผิว (0.01% Triton X-100) 3 หยด ลงไปในขวดที่มีตัวอย่างดิน ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำสารแขวนลอยที่ได้เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 4 ระดับ ได้แก่ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} และ 10^{-4} แล้วแยกเชื้อราโดยวิธี spread plate technique โดยดูดสารแขวนลอยจำนวน 0.2 มิลลิลิตร หยดลงบนผิวหน้าอาหาร potato dextrose agar (PDA) ที่ผสมสารปฏิชีวนะ 3 ชนิด คือ streptomycin sulphate 350 มิลลิกรัม tetracycline hydrochloride 50 มิลลิกรัม และ cycloheximide 125 มิลลิกรัมต่ออาหารปริมาตร 1 ลิตรเพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียและจุลินทรีย์ชนิดอื่นนอกเหนือจากเชื้อราเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเพราะต้องการคัดเลือกเฉพาะเชื้อราเท่านั้น ใช้แท่งแก้วเกลี่ยสารแขวนลอยให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร นำไปบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เมื่อปรากฏเส้นใยเชื้อราบนอาหาร เลือกลำ colony เชื้อราโดยใช้เข็มเย็บเย็บปลายแหลมตัดชิ้นส่วนของบริเวณปลายเส้นใยย้ายมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ใหม่ เพื่อให้ได้เชื้อราบริสุทธิ์ (Reay *et al.*, 2008)

3. การจำแนกเชื้อราที่แยกได้จากดินภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereo microscope)

ทำการตรวจสอบลักษณะของ colony ที่เจริญบนอาหารด้วยตาเปล่าและตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสีขวามีก้านชูสปอร์ (conidiophores) อยู่รวมกันเป็นกระจุก และมีสปอร์ติดอยู่เป็นกระจุกสปอร์ (conidia) เป็นแบบเชลล์เดียวมีรูปร่างคล้ายหยดน้ำ คือ เชื้อราในสกุล *Beauveria* (วิวัฒน์ และคณะ, 2551) เชื้อราที่มีกลุ่มสปอร์สีเขียว ลักษณะของ colony ในระยะแรกจะมีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มเมื่อดูใต้กล้องจุลทรรศน์จะเห็น phialide ลักษณะเหมือนกระบองยาว 9-14 ไมครอน ส่วนยอดกลม สร้าง conidia เป็นสายโซ่ยาว conidia ยาวประมาณ 7-11 ไมครอน เป็นเชื้อราในสกุล *Metarhizium* (Samson *et al.*, 2013) และเชื้อราสร้างเส้นใยที่มีผนังกัน (septate hypha) มีผนังเรียบเป็นส่วนใหญ่ โคลนีมีสีเหลืองอ่อน เป็นราที่มีก้านชูสปอร์ แตกเป็นกิ่งก้าน มี phialide ที่มีปลายยาวและมีโคนเดี่ยว (conidium) ที่มีเชลล์เดี่ยว ผนังเรียบ ไม่มีสี และต่อกันเป็นสายโซ่ยาว ก้านชูสปอร์ยาว 400-600 ไมครอน โคนเดี่ยวมีลักษณะกลมรีหรือเป็นรูปวงรีคล้ายรูปกระสวย ขนาดกว้าง 2.0-2.2 ไมครอน ยาว 2.5-3.0 ไมครอนเป็นเชื้อราในสกุล *Paecilomyces* (Brown and Smith, 1957)

4. ทดสอบศักยภาพของเชื้อราในการควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำในห้องปฏิบัติการ

เพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนกะหล่ำ *Lipaphis erysimi* โดยการเก็บใบกะหล่ำปลีที่มีกลุ่มตัวอ่อนของเพลี้ยอ่อนกะหล่ำจากแปลงเกษตรกรใส่กล่องพลาสติก จากนั้นนำตัวอ่อนที่เก็บได้มาเลี้ยงในกล่องพลาสติกใหม่พร้อมใบกะหล่ำปลีในห้องปฏิบัติการจนกระทั่งตัวอ่อนกลายเป็นตัวเต็มวัยแล้วนำตัวเต็มวัยมาใส่ในกรงพร้อมกับต้นกล้ากะหล่ำปลีเลี้ยงต่อจนได้ตัวอ่อนวัยที่ 2 ก่อนนำไปใช้ในการทดสอบ

เพาะเลี้ยงเส้นใยบริสุทธิ์ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่จำแนกได้ (จากข้อ 3) บนอาหาร potato dextrose agar ให้เจริญเต็มที่และสร้างสปอร์ ทำการชุบสปอร์ลงในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อผสม Tween 80 เข้มข้น 0.1% กรองสารแขวนลอยสปอร์ด้วยผ้าขาวบาง ตรวจนับสปอร์เชื้อราด้วย hemacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ให้ได้ระดับความเข้มข้น 5×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร นำไปพ่นลงบนตัวเพลี้ยอ่อนกะหล่ำบนจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่รองด้วยใบกะหล่ำที่ตัดเป็นชิ้นวงกลมและสาลีชุมน้ำ (มาลี และ ศิริพันธ์, 2544) วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำ 3 ซ้ำแต่ละซ้ำใช้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ 20 ตัว บันทึกผลโดยการนับจำนวนเพลี้ยอ่อนกะหล่ำที่ตายและมีเส้นใยปกคลุมหลังจากพ่นเชื้อรา 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง วิเคราะห์ความแปรปรวน

(analysis of variance) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ นำเพลี้ยอ่อนกะหล่ำที่ตายสองดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอเพื่อตรวจสอบว่าเป็นเชื้อราชนิดเดียวกันกับที่พบแล้วคัดเลือกเชื้อราที่มีศักยภาพการก่อโรคและทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำมีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุด

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่าง

จากการเก็บรวบรวมดินบริเวณเขตรากพืชจากพื้นที่ทำเกษตรกรรม และพื้นที่ป่าธรรมชาติ ในช่วงเดือน พฤษภาคม 2553 ถึง กันยายน 2555 ทำการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างสำหรับประเทศไทยจำนวน 19 อำเภอ 8 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี สุรินทร์ มหาสารคาม ประจวบคีรีขันธ์ ชอนแก่น มุกดาหาร ศรีสะเกษ และหนองคาย และสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาวจำนวน 20 อำเภอ 9 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกำแพงนครเวียงจันทน์ เวียงจันทน์ บอลิคำไซ คำม่วน สะหวันนะเขต จำปาสัก สาละวัน อุดตะปือ และ เซกอง รวมทั้งสิ้น 100 สถานที่ (100 ตัวอย่าง)

2. การแยกเชื้อราบริสุทธิ์จากดิน

เมื่อนำตัวอย่างดินที่เก็บรวบรวมได้ทั้งหมดมาแยกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ selective culture media ในห้องปฏิบัติการโดยคัดเลือกเชื้อรา 1 ไอโซเลตต่อ 1 ตัวอย่างดิน สามารถคัดเลือกได้เชื้อราทั้งหมด 100 ไอโซเลต ที่ยังไม่ได้จำแนกชนิด ซึ่งในประเทศไทยพบเชื้อราจำนวน 53 ไอโซเลต (จังหวัดสุรินทร์ 1 ไอโซเลต มหาสารคาม 1 ไอโซเลต ประจวบคีรีขันธ์ 1 ไอโซเลต ชอนแก่น 1 ไอโซเลต มุกดาหาร 1 ไอโซเลต หนองคาย 1 ไอโซเลต ศรีสะเกษ 3 ไอโซเลต และอุบลราชธานี 4 ไอโซเลต) และในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว จำนวน 47 ไอโซเลต (จังหวัดกำแพงนครเวียงจันทน์ 3 ไอโซเลต เวียงจันทน์ 7 ไอโซเลต บอลิคำไซ 1 ไอโซเลต คำม่วน 2 ไอโซเลต สะหวันนะเขต 3 ไอโซเลต จำปาสัก 28 ไอโซเลต สาละวัน 1 ไอโซเลต อุดตะปือ 1 ไอโซเลต และเซกอง 1 ไอโซเลต (Table 1)

3. การจำแนกเชื้อราที่แยกได้จากดิน

เมื่อนำเชื้อรา 100 ไอโซเลตที่แยกได้จากดินมาจำแนกด้วยวิธีตรวจสอบลักษณะของ colony ที่เจริญบนอาหารด้วยตาเปล่าและตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ พบว่าเชื้อราดังกล่าวมี 3 กลุ่มคือ เชื้อราสกุล *Beauveria* จำนวน 53 ไอโซเลต (ประเทศไทย 25 ไอโซเลต สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว 28 ไอโซเลต) เชื้อราสกุล *Paecilomyces* จำนวน 35 ไอโซเลต (ประเทศไทย 23 ไอโซเลต และ สปป. ลาว 12 ไอโซเลต) และเชื้อราสกุล *Metarhizium* จำนวน 12 ไอโซเลต (ประเทศไทย 5 ไอโซเลต และ สปป. ลาว 7 ไอโซเลต) (Table 2)

4. ทดสอบศักยภาพของเชื้อราควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบศักยภาพของเชื้อราสกุล *Beauveria*, *Paecilomyces* และ *Metarhizium* ทั้งหมด 100 ไอโซเลต ควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำในห้องปฏิบัติการที่ระยะเวลา 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 5×10^5 สปอร์ / มิลลิเมตร พบว่า เชื้อราแต่ละชนิดมีศักยภาพทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำเกิดโรคและตายแตกต่างกันในแต่ระยะเวลาโดยพบการตายเกิดขึ้นชัดเจนตั้งแต่ 40 ชั่วโมงขึ้นไป

ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงสามารถทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ มีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคตายอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.01) จำแนกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำเกิดโรคและตายสูงกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 ช่วง 10-30 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 3 ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเชื้อราที่ทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ มีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคและตายสูงสุดในระยะเวลานี้ มี 2 ไอโซเลต คือ เชื้อราสกุล *Metarhizium* ไอโซเลต PSON1 และเชื้อราสกุล *Beauveria* ไอโซเลต BJ6 เท่ากับ 32.5 และ 31.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 3)

Table 1 Number of isolated fungi found from various locations in Thailand and Lao PDR with isolate code number.

Thailand			Lao PDR		
Location	Number of isolates	Isolate	Location	Number of isolates	Isolate
Si Sa Ket			Vientiane Capita		
Kantharalak	2	KTL1- KTL2	Xaysettha	1	SST1
Benchalak	1	BCL1	Sangthong	1	ST1
Ubon Ratchathani			Naxaythong	1	NST1
Nam Khun	3	NK1-NK3	Vientiane		
Trakan Phuet Phon	2	TK1-TK2	Vientiane	3	VC1-VC3
Khong Chiam	4	KJ1-KJ4	Viengkham	4	NG1-NG4
Sawang Wirawong	2	SV1-SV2	Savannakhet		
Det Udom	1	DUD1	Songkhone	2	SV1- SV3
Muang Sam Sip	2	MSS1- MSS2	Sepone	1	SN1
Khun Han	2	KH1-KH2	Champasak		
Buntharik	1	BTR1	Pakse	3	PSE1-PSE3
Samrong	1	SR1	Bachiong	7	BC1-BJ7
Phibun Mangsahan	2	PB1-PB2	Paksong	7	PERSON1-PERSON7
Warin Chamrap	24	VR1-VR24	Champasak	2	CPS1-CPS2
Surin			Phonthong	1	PT1
Mueang Surin	1	SR1	Khong	5	MK1-MK5
Maha Sarakham			Sanasomeboun	2	XNB1-XNB2
Mueang Maha Sarakham	1	MHSRK1	Soukhouma	1	SKM1
Prachuap Khiri Khan			Saravanh		
Mueang Prachuap Khiri Khan	1	PJ1	Saravanh	1	SLV1
Khon Kaen			Attapeu		
Mueang Khon Kaen	1	KK1	Sanamxay	1	SNX1
Mukdahan			Xekong		
Mueang Mukdahan			Dakcheung	1	DJ1
Nong Khai	1	MDH1	Bolykhamxay		
Mueang Nong Khai	1		Paksun	1	PX1
			Khammouane		
			Thakhek	2	TK1-TK2
Total	53		Total	47	

Table 2 Number and isolate code of insect pathogenic fungi collected from Thailand and Lao PDR.

Insect pathogenic fungi	Thailand		Lao PDR	
	Number of isolate	Isolate	Number of isolate	Isolate
<i>Beauveria</i>	25	NK1, NK2, NK3, SR1, KJ1, TK1, SV1, SV2, DUD1, MSS2, KK1, NKHAI1, VR1, VR3 VR4, VR6VR9, VR12, VR14, VR15, VR16, VR17, VR18,VR19,VR22	28	PSON3, PS0N4, PS0N6, PSON7, BJ6, MK2, ST1, SST1, SK1, PT1, SLV1, NG1, SNX1, SVNK2, PSE1, PSE2, PSE3, BJ3, BJ4, BJ5, BJ7, XNSB1, XNSB2, MK3, SN1, VC1, VC3, TK2
<i>Paecilomyces</i>	23	VR2, VR5, VR7, VR8, VR10, VR11, VR20, VR21, VR23, KTL1,KTL2,KJ2, KJ3, KJ4, KH1, KH2, BCL1, MSS1, SR1, PJ1, TK2, PB1, BTR1	12	VC2, MK4, NG2, NG3, NG4, SVNK1, PS0N2, CPS1, NST1, MK1, TK1, SKM1
<i>Metarhizium</i>	5	VR13, SLK1, MDH1, PB2, VR24	7	CPS2, BJ1, PS0N1, PS0N5, BJ2, PX1, MK5

ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง เชื้อราสาเหตุโรคของแมลงสามารถทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ มีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคตายแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) จำแนกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำเกิดโรคและตายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 ช่วง 10 - 50 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 3 ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเชื้อราที่ทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ มีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคและตายสูงสุดเป็นเชื้อราสกุล *Metarhizium* ไอโซเลท PS0N1 เท่ากับ 58.75 เปอร์เซ็นต์ (Table 4)

ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมงเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงสามารถทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ มีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคตายแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) จำแนกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำเกิดโรคและตายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 ช่วง 10 - 50 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 3 ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเชื้อราที่ทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ มีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคและตายสูงสุด คือเชื้อราสกุล *Metarhizium* ไอโซเลท PS0N1 เท่ากับ 90.00 เปอร์เซ็นต์ (Table 5)

ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง เชื้อราสาเหตุโรคแมลงจะมีศักยภาพในการทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำเกิดโรคและตายสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาอื่น ๆ รองลงมาเป็นระยะเวลา 72 และ 48 ชั่วโมง แต่ที่ระยะเวลา 24 และ 12 ชั่วโมง ไม่สามารถทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำเกิดโรคและตายได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า เชื้อราสาเหตุโรคแมลงจะมีแนวโน้มในการทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำเกิดโรคและตายเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นและเชื้อราสกุล *Metarhizium* จะมีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำได้มากกว่าเชื้อราสกุล *Beauveria* และเชื้อราสกุล *Paecilomyces* ในทุก ๆ ระยะเวลา ซึ่งเชื้อราสกุล *Metarhizium* ไอโซเลท PS0N1 สามารถทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำมีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคตายสูงสุดที่เวลา 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

Table 3 Percent mortality of *Lipaphis erysimi* at 48 hours after spaying with each of 100 isolates of insect pathogenic fungi at concentration of 5×10^8 conidia/ml.

Isolate	Percent mortality
PSON1, BJ6	32.5 ^a , 31.25 ^a
SN1, CPS2, PT1, VR12, VR17, PSE3, NG3, VC3, TK2-PT, TK1, VR15, SNX1, ST1, NK2, BJ2, VR5, VR7, SLV1, PSE2, SLK1, PJ1, SST1, NG1, NG4, VR1, VR8, VR13, VR9, MK1, SVNK2, MK5, BJ3, NST1, MDH1, VR2, SVNK1, PS0N4, BJ7, SK1, KJ2, PS0N5, VR22, VR14, NK3, VR3, VR4, VR9, KTL2, VR11, VR18, PX1, SNSB2, KK1, NK1, PS0N6, PB2, BJ4	26.25 ^b -11.25 ^{ghi} (<50%-10%)
VC2, KJ1, VR20, VR19, VR21, MSS1, SV2, VR6, MSS2, TK1, MK4, MK3, VR16, KJ3, KJ4, NK1, KH1, VR23, BJ5, VR24, SKM1, SNSB1, VC1, PSE1, NG2, KTL1, SR1, DUD1, SV1, BCL1, PB1, BJ1, TK2, PS0N7, PS0N2, PS0N3, CPS1, MK2, BTR1, KH2, SR1, Control	8.75 ^{hij} - 0.00 ^k (<10%)
F-Test	**
CV (%)	28.24

Remarks: Data represent average means followed by different letters differ by the DMRT at 1% probability ($P < 0.01$)

Table 4 Percent mortality of *Lipaphis erysimi* at 72 hours after spaying with each of 100 isolates of insect pathogenic fungi at concentration of 5×10^8 conidia/ml.

Isolate	Percent mortality
PSON1	58.75 ^a
BJ6	52.50 ^b (>50%)
CPS2, SN1, PT1, BJ3, VC3, NK2, MK1L, SLV1, VR17, SLK1, SNSB2, NG3, SNX1, PSE3, SST1, BJ4, VR2, VR12, PSE2, VR9, KTL2, SVNK1, VR6, MSS2, TK1, SK1, NK1, MDH1, NG1, VR3, VR15, NST1, ST1, BJ2, TK1, VR16, MK5L, PJ1, KK1, PS0N5, PS0N6, PB2, TK2, VR13, VR14, VR9, VR4, KJ3, VR18, PS0N4, PX1, SVNK2, VR22, VC2, VR8, KJ1, VR21, SV2, BJ7, VR5, SNSB1, NG4, VR7, VR24, VR1, NK3, VR11, KJ4, VR20, MSS1, BJ5, SKM1, VR23, NK1, VR19, MK3, KH1, MK4	46.25 ^c -12.50 ⁱ (<50%-10%)
KJ2, VC1, PSE1, NG2, KTL1, SR1, DUD1, SV1, BCL1, PB1, BJ1, TK2, PS0N7, PS0N2, PS0N3, CPS1, MK2, BTR1, KH2, SR1, Control	7.50 ^{ghi} - 0.00 ^u (<10%)
F-Test	**
CV (%)	17.64

Remarks: Data represent average means followed by different letters differ by the DMRT at 1% probability ($P < 0.01$)

Table 5 Percent mortality of *Lipaphis erysimi* at 96 hours after spaying with each of 100 isolates of insect pathogenic fungi at concentration of 5×10^8 conidia/ml.

Isolate	Percent mortality
PSON1	90.00 ^a
CPS2	68.75 ^b
BJ6	63.75 ^c
BJ3	53.75 ^c
SN1	50.00 ^{cd}
	(>50%)
SLK1, VR2, PT1, SNSB2, MDH1, VC3, SST1, MK1, KJ2, SK1, VR9, SLV1, NST1, PSON5, VR3, VR4, ST1, NK2, VR10, KTL2, TK1, VR22, VR16, BJ4, NK3, SNX1, VR17, PJ1, VR11, SVNK1, PB2, NG3, KJ3, SV2, BJ5, MSS2, PSE2, KK1, TK2, PX1, PSE3, NK1, PSON6, VC2, TK1, VR18, VR24, VR12, SVNK2, BJ7, NG1, NK1, KJ4, KH1, VR23, VR6, VR15, BJ2, VR14, PS0N4L, SPS1, MSS1, VR7, MK5, VR20, NG4, KJ1, VR13, VR19, VR5, SKM1, SNSB1, VR1, VR21, MK3, MK4	47.50 ^d - 16.25 ^{wx} (<50%-10%)
VC1, PSE1, NG2, KTL1, SR1, DUD1, SV1, BCL1, PB1, BJ1, TK2, PSON7, PSON2, PSON3, CPS1, MK2, BTR1, KH2, SR1, Control	0.00 ^y (<10%)
F-Test	**
CV (%)	15.10

Remarks: Data represent average means followed by different letters differ by the DMRT at 1% probability ($P < 0.01$)

เชื้อราแต่ละชนิด (*Beauveria*, *Paecilomyces* และ *Metarhizium*) มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนแตกต่างกันทั้งนี้ก็เพราะเชื้อราแต่ละชนิดมีความเฉพาะเจาะจงกับแมลงอาศัยแตกต่างกัน (Burge, 1988) เชื้อราที่ทำให้เพลี้ยอ่อนกะหล่ำเกิดโรคและตายสูงที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ เชื้อราสกุล *Metarhizium* ไอโซเลท PSON1 เป็นเชื้อราที่แยกได้จากดินในพื้นที่อำเภอ Paksong สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาวมีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำถึง 90.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ 96 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ กนกกาญจน์ และนริศ (2557) รายงานว่า เมื่อใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM04 ควบคุมเพลี้ยอ่อน *L.erysimi* ที่ระดับความเข้มข้นของสปอร์ 1×10^8 และ 1×10^9 สปอร์/มิลลิลิตร ส่งผลให้เพลี้ยอ่อนตาย 98.00 ± 1.33 และ 100.00 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ หลังการพ่นสปอร์ 5 วัน Butt et al. (1994) รายงานว่าสายพันธุ์ต่าง ๆ ของ *M. anisopliae* ทำให้เพลี้ยอ่อน *L. erysimi* และ เพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* ตาย 100 เปอร์เซ็นต์ หลังการพ่นสปอร์ 4 วัน ที่ระดับความเข้มข้นของสปอร์ 10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร Araujo et al. (2009) รายงานว่า เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท CG30 มีผลทำให้เพลี้ยอ่อน *L. erysimi* ตาย 64.00 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 3.8 วัน ที่ระดับความเข้มข้นของสปอร์ 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร Saranya et al. (2010) รายงานว่า *M.anisopliae* ไอโซเลท PDRL526 ทำให้เพลี้ยอ่อน *L. erysimi* ตายถึง 72 เปอร์เซ็นต์หลังการพ่นสปอร์ 3 วัน และ *M.anisopliae* ทำให้เพลี้ยอ่อน *Aphis craccivora* Koch ตาย 83.3 เปอร์เซ็นต์ หลังการพ่นสปอร์ 7 วันเมื่อใช้สปอร์

เชื้อราที่มีความเข้มข้นของสปอร์ 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร Ujian and Shahzad (2012) รายงานว่า เชื้อรา *M.anisopliae* ไอโซเลท PDRL526 มีผลทำให้เพลี้ยอ่อน *L.erysimi* ตายถึง 96.8 เปอร์เซ็นต์เมื่อใช้สปอร์เชื้อราที่มีความเข้มข้น 1×10^9 สปอร์/มิลลิลิตร ส่วนการศึกษาของ Ujian and Shahzad (2007) รายงานว่า *M. anisopliae* ไอโซเลท PDRL526 และ PDRL711 ทำให้เพลี้ย *Maconellicoccus hirsutus* วัยที่ 7 และตัวเต็มวัยตาย 100 เปอร์เซ็นต์หลังการพ่นสปอร์ 4 วันและ Güven *et al.* (2014) รายงานว่าเมื่อใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ที่ระดับเข้มข้น 1×10^9 สปอร์/มิลลิลิตร สามารถควบคุมเพลี้ยอ่อน *Aphis fabae* Scop. ได้ถึง 90.54 เปอร์เซ็นต์ เชื้อราสกุล *Metarhizium* เป็นเชื้อราที่เพาะเลี้ยงง่ายและพบทั่วไปในดิน (Valadares–Inglis and Peberdy, 1997) มีความสามารถในการทำลายแมลงได้มากกว่า 200 ชนิด (Zimmermann, 1992) เชื้อราชนิดนี้ทำลายแมลงโดยการสร้างเอนไซม์ขึ้นมาย่อยผนังลำตัวของแมลง เอนไซม์ที่เชื้อราสกุล *Metarhizium* ใช้ในการย่อยผนังลำตัวของแมลงมีหลายชนิด ได้แก่ โปรติเอส โคติเนส ไดเปปติเดส อะมิโนเปปติเดส และคาร์บอกซีเปปติเดส (Leger *et al.*, 1998) โคติเนสเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการเข้าทำลายแมลง (Murad *et al.*, 2006) เป็นตัวหลักในการเปลี่ยนแปลงผนังเซลล์ และการงอกสปอร์อีกด้วย โดยจะพบกิจกรรมเอนไซม์ โคติเนสอยู่ในระยะที่สองของการเข้าทำลายแมลงต่อจากเอนไซม์โปรติเอส (Santi *et al.*, 2010) นอกจากการสร้างเอนไซม์แล้ว เชื้อราสกุล *Metarhizium* ยังสร้างสารพิษ destruxin ซึ่งเป็นตัวแปรที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการเข้าทำลายของเชื้อได้เช่นกัน (Boucias and Pendland, 1998) แมลงที่ถูกเชื้อราสกุลนี้ทำลายจะมีสีเขียวขึ้นปกคลุมตลอดลำตัวในที่สุดลำตัวของหนอนจะแข็งและแห้งตาย (มลิวัลย์, 2539) ดังนั้นในการศึกษานี้เชื้อราสกุล *Metarhizium* ไอโซเลท PSON1 จึงมีแนวโน้มในการนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำได้ แต่อย่างไรก็ตามการใช้เชื้อจุลินทรีย์ไม่ว่าจะเป็นเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส ควบคุมแมลงศัตรูพืชในระบบนิเวศเกษตรที่มีความหลากหลายทางชีวภาพควรมีการศึกษาถึงผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่น เพื่อคัดเลือกเชื้อที่สามารถนำไปใช้ได้อย่างถูกต้องเหมาะสม และทำให้เกิดประโยชน์สูงสุด (Burge, 1988)

สรุป

ผลจากการคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีศักยภาพเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำ พบว่า เชื้อราสกุล *Metarhizium* ไอโซเลท PSON1 มีศักยภาพสูงสุดในการทำลายเพลี้ยอ่อนกะหล่ำในระยะเวลา 48, 72 และ 96 ชั่วโมง โดยพบเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยอ่อนกะหล่ำ 32.5, 58.7 และ 90.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ควรได้รับการนำไปใช้เป็นแนวทางสำหรับการควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการความร่วมมือเพื่อการพัฒนาระหว่างประเทศ (สพร. หรือ TICA) สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ทุนในการทำวิจัยและ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง จังหวัดอุบลราชธานี ที่สนับสนุนพื้นที่ในการทำงานวิจัยวิจัยอุปกรณ์ และเครื่องมือวิจัยต่าง ๆ

เอกสารอ้างอิง

- กนกกาญจน์ ดลิ่งผล และ นริศ ท้าวจันทร์. 2557. การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM04 ควบคุมเพลี้ยอ่อนผัก *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Homoptera: Aphididae). วารสารแก่นเกษตร 42 ฉบับพิเศษ (3): 634-638.
- กรมวิชาการเกษตร จังหวัดจันทบุรี. 2554. การผลิตและส่งออกของกะหล่ำปลี. หน้า 24 - 30. ใน รายงานการผลิตและส่งออกพืช. กรมวิชาการเกษตรและป้าไม้ จังหวัดจันทบุรี.
- กองกัญและสัตตวิทยา. 2545. แมลง ไวและสัตว์ศัตรูพืชเศรษฐกิจ. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพฯ . 275 น.
- นฤมล ตั้งธีระสุนันท์. 2553. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *Metarhizium* spp. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร

- มหบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
 มลิวัลย์ ปันยารชุน. 2539. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้เชื้อรา. หน้า 183- 197. ใน เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. โรงพิมพ์ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.
- มาลี ตั้งระเบียบ และ ศิริพันธ์ เอี่ยมประภา. 2544. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria* spp. ใน การควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูลำคัญพืชผัก. รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ 5. โรงแรมเฟลิกซ์ ริเวอร์แคว์ กาญจนบุรี. หน้า 63-70.
- วิวัฒน์ เสือสะอาด พิมพ์พรณ สมมาตย์ ปวีณา ฐาเทียน รัตติรส เขียงสิน และ อภรณ์ บันทองคำ. 2551. การศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเชื้อราขาว *Beauveria bassiana*. ใน รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ, กรุงเทพฯ.
- Araujo, J. M. D., E. J. Marques and J. V. D. Oliveira. 2009. Potencial de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* de óleo de Nim no Controle do Pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae). Neotrop. Entomol. 38(4): 520-525.
- Boucias, D.G. and J.C. Pendland. 1998. Principles of Insect Pathology. Kluwer Academic Publishers, Boston, Massachusetts. 558 p.
- Brown, A. H. and G. Smith. 1957. The genus *Paecilomyces* Bainier and its perfect stage *Byssoschlamys* Westling. Transactions of the British Mycological Society 40(1): 17-89.
- Burge, M. N. 1988. Fungi in Biological Control Systems. Manchester University Press, Manchester. 254 p.
- Butt, T. M., C. Jackson and N. Magan. 2001. Fungi as Biocontrol Agents: Progress Problems and Potential. CABI, New York. 351 p.
- Butt, T. M., L. Ibrahim, B. V. Ball and S. J. Clark. 1994. Pathogenicity of the entomogenous fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against crucifer pests and the honey bee. Biocontrol Science and Technology 4(2): 207-214.
- Copping, L. G. 2004. The Manual of Biocontrol Agents: A Word Compendium. British Crop Protection Council, Alton, 1702 p.
- Güven, Ö., R. Baydar, C. Temel and I. Karaca. 2014. The effects of some entomopathogenic fungi against *Aphis fabae* (Scopoli) (Hemiptera: Aphididae). Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi 5(2): 149-157.
- Leger, R. J. S., L. Joshi and D. Roberts. 1998. Ambient pH is a major determinant in the expression of cuticle-degrading enzymes and hydrophobin by *Metarhizium anisopliae*. Applied and Environmental Microbiology 64(2): 709-713.
- Murad, A.M., R. A. Laumann, T. A. Lima, R.C. Sarmento, E.F. Noronha, T.L. Rocha, M.C. Valadares-Ingglis and O.L. Franco. 2006. Screening of entomopathogenic *Metarhizium anisopliae* isolates and proteomic analysis of secretion synthesized in response to cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*) exoskeleton. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 142(3-4): 365-370.
- Reay, S.D., M. Brownbridge, N.J. Cummings, T.L. Nelson, B. Souffre, C. Lignon and T.R. Glare. 2008. Isolation and characterization of *Beauveria* spp. associated with exotic bark beetles in New Zealand *Pinus radiata* plantation forests. Biological Control 46(3): 484 - 494.
- Samson, R. A., H.C. Evans and J.P. Latgé. 2013. Atlas of Entomopathogenic Fungi. Springer Science & Business Media, New York. 185 p.
- Santi, L., W.O. Silva, A.F. Pinto, A. Schrank and M.H. Vainstein. 2010. *Metarhizium anisopliae* host-pathogen interaction: Differential immunoproteomics reveals proteins involved in the infection process of arthropods. Fungal Biology 114(4): 312-319.
- Saranya, S., R. Ushakumari, S. Jacob and B. M. Philip. 2010. Efficacy of different entomopathogenic fungi against cowpea aphid, *Aphis craccivora* (Koch). Journal of Biopesticides 3(1): 138-142.
- Tanada, Y. and H.K. Kaya. 2012. Insect Pathology. Academic Press, London. 633 p.
- Ujjan, A. A. and S. Shahzad. 2007. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* strains on pink hibiscus mealy bug (*Maconellicoccus hirsutus*) affecting cotton crop. Pak. J. Bot. 39(3): 967-973.

- Ujjan, A. A. and S. Shahzad. 2012. Use of entomopathogenic fungi for the control of mustard aphid (*Lipaphis erysimi*) on canola (*Brassica napus* L.). Pak. J. Bot. 44(6): 2081-2086.
- Valadares-Inglis, M.C. and J.F. Peberdy. 1997. Location of chitinolytic enzymes in protoplast and whole cells of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Mycological Research 101(2): 1393-1396.
- Zimmermann, G. 1992. *Metarhizium anisopliae* : an entomopathogenic fungus. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer 45(63): 113-128.