

ผลของการใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* ท้องถิ่นต่อการควบคุมเพลี้ยไก่อแจ้ *Allocaridala maleyensis* (Crawford) ในพื้นที่ปลูกทุเรียนภาคตะวันออก

Effect of Indigenous *Beauveria bassiana* on the Control of *Allocaridala maleyensis* (Crawford) in durian plantation areas in eastern region

สุกฤตา อนุตรกฤษชัย¹ เท็ดพอง สุทธิภาพงศ์² ประเวศ จันทศิริ³ และติติ ทองคำงาม^{1*}

Sukritta Anutrakunchai¹, Therdpong Sutthiapong², Pravej Chansiri³, and Titi Thongkamngam^{1*}

บทคัดย่อ

ปัญหาการแพร่ระบาดของเพลี้ยไก่อแจ้ในแปลงปลูกทุเรียนสร้างผลกระทบอย่างมากต่อเกษตรกรผู้ปลูกทุเรียน เพราะเพลี้ยไก่อแจ้สามารถเข้าทำลายทุเรียนได้แทบทุกระยะตั้งแต่เริ่มสร้างใบอ่อนจนกระทั่งเก็บผลผลิต จึงเป็นสิ่งจำเป็นที่จะต้องมีการคัดเลือกเชื้อราถิ่นแมลงท้องถิ่นที่มีศักยภาพในการช่วยควบคุมเพลี้ยไก่อแจ้ในแปลงปลูกทุเรียน ของเกษตรกร โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ท้องถิ่น ต่อการควบคุมเพลี้ยไก่อแจ้ในพื้นที่ปลูกทุเรียนภาคตะวันออก เริ่มจากการเก็บตัวอย่างแมลงศัตรูพืชในสวนทุเรียน จำนวน 3 จังหวัด คือ จันทบุรี ตราด และ ระยอง จากนั้นนำแมลงศัตรูพืชที่เก็บได้มาแยกเชื้อราถิ่นแมลงและจัดจำแนกทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา พบว่าเกิดจากเชื้อรา *B. bassiana* จึงนำเชื้อราที่แยกได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยไก่อแจ้ โดยประเมินจาก เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไก่อแจ้ ซึ่งแบ่งการทดสอบออกเป็น 2 ส่วน คือ ระยะตัวอ่อนทดสอบกับใบ และระยะตัวเต็มวัย ทดสอบกับยอดอ่อนของทุเรียน ผลการทดลองพบว่า เชื้อรา *B. bassiana* ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น 10^4 , 10^6 และ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเพลี้ยไก่อแจ้ได้ทั้งหมด โดยระดับความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไก่อแจ้ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 100 และ 88 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยสรุปจากการใช้เชื้อรา *B. bassiana* ท้องถิ่นควรต้องฉีดพ่นกับเพลี้ยไก่อแจ้ในระยะตัวอ่อนดีกว่าฉีดพ่นในระยะตัวเต็มวัย เพราะยังอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อราถิ่นแมลง

คำสำคัญ: เชื้อท้องถิ่น ทุเรียน *Beauveria bassiana*, *Allocaridala maleyensis* (Crawford)

Abstract

The spread of *Allocaridala maleyensis* (Crawford) in durian fields has a great economic impact on durian farmers. *Allocaridala maleyensis* can invade durian at every stage from the beginning of young leaves until harvesting. Thus, it is necessary to select indigenous entomopathogenic fungi that have the potential to control *A. maleyensis* in durian fields. The objective of this research was to select indigenous *Beauveria bassiana* with the ability to control *A. maleyensis* in durian plantation areas in the eastern region. The insect pest samples were collected from durian orchards in 3 provinces: Chanthaburi, Trat, and Rayong provinces. Fungi isolated from the collected insect pests were then identified and classified by fungi morphology. The isolated fungi were classified as *Beauveria bassiana* and used as tested fungi to control *A. maleyensis*. The results showed that *B.*

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชและภูมิทัศน์ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก 22210

¹ Department of Plant production and Landscape, Faculty of Agro Industrial Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-ok.

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 6 จันทบุรี กรมวิชาการเกษตร, ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

² Agricultural Research and Development Office, 6th District, Kung Krabaen Bay Royal Development Study Centre

³ กรมป่าไม้, ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

³ Forestry, Kung Krabaen Bay Royal Development Study Centre

* Corresponding author, Email: Titi_th@rmutto.ac.th

bassiana at 10^4 , 10^6 , and 10^8 spore/ml were able to inhibit the growth of *A. maleyensis*. *Beauveria bassiana* at 10^8 spore/ml completely inhibit mortality nymph (100%) and inhibited adult *A. maleyensis* (88%). It can be concluded that indigenous *B. bassiana* should be sprayed on rooster aphids at the nymph stage rather than at the adult stage because the nymph is susceptible to the infestation of entomopathogenic fungi.

Keyword: Indigenous, Durian, *Beauveria bassiana*, *Allocaridala maleyensis* (Crawford)

คำนำ

ปัจจุบันเกษตรกรผู้ปลูกทุเรียนประสบปัญหาการแพร่ระบาดของแมลงศัตรูพืชที่เข้ามาทำลายผลผลิตทุเรียนตั้งแต่เริ่มต้นของการสร้างใบอ่อนจนถึงเก็บเกี่ยวผลผลิต โดยแมลงศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายอย่างมากมีหลายชนิด เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไก่แจ้ มอดเจาะลำต้น ตัวหนอนยาว และหนอนเจาะเมล็ด Hodkinson (2009) ซึ่งเมื่อสังเกตในพื้นที่ปลูกทุเรียนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบการเข้าทำลายของเพลี้ยไก่แจ้ (*Psyllidae*) เป็นหลัก ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Allocaridala maleyensis* (Crawford) โดยพบระยะการเข้าทำลายของเพลี้ยไก่แจ้ตลอดทั้งปี เริ่มจากทุเรียนระยะเริ่มสร้างใบอ่อนทำให้ใบอ่อนเกิดจุดแผลสีเหลือง (Burckhardt et al., 2014; Butler & Trumble, 2012) ไม่เจริญเติบโต และใบบิดเบี้ยวเล็กผิดปกติ ถ้าระบาดหนักใบจะหงิกงอ แห้งและร่วงหล่นลงสู่พื้นดิน ยิ่งไปกว่านั้นยังสามารถลุกลามไปยังส่วนของยอดทำให้เกิดยอดแห้งเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังพบว่ามูลหوانซึ่งเพลี้ยขับถ่ายออกมาในขณะที่ลงทำลายจนกลายเป็นแหล่งอาหารให้กับเชื้อราดำให้ขึ้นปกคลุมใบทุเรียนและส่งผลทำให้การสังเคราะห์แสงลดลงได้ (Fabrice et al., 2020)

ด้วยเหตุนี้เกษตรกรผู้ปลูกทุเรียนจึงต้องหาวิธีการป้องกันกำจัดที่สามารถช่วยลดปัญหาการแพร่ระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ โดยการพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง แต่การฉีดพ่นสารเคมีมีข้อจำกัดกับการฉีดพ่นเพลี้ยไก่แจ้ เพราะถ้าหากฉีดพ่นไปถูกลำตัวของเพลี้ยไก่แจ้ สารก็อาจจะไม่สามารถเข้าถึงลำตัวของเพลี้ยได้ เนื่องจากเพลี้ยมีการสร้างไข (Wax) ปกคลุมตัวโดยรอบทำให้สารฆ่าแมลงเข้าสู่ร่างกายของเพลี้ยได้ยาก ประกอบกับเพลี้ยมีขนาดเล็กการเคลื่อนที่หลบหลีกการสัมผัสสารเคมีได้ง่าย (Hodkinson & Brid, 2006) ดังนั้นการฉีดพ่นสารเคมีฆ่าแมลงจึงได้ผลการควบคุมในระดับต่ำหรือไม่ได้ผลเท่าที่ควร ด้วยข้อจำกัดนี้คณะผู้วิจัยจึงได้หาแนวทางและวิธีการใช้เชื้อรากินแมลง (Entomopathogenic fungi) เช่น การใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* *Metarhizium anisopliae* และ *Paecilomyces lilacinus* (Zapata et al., 2020; Ullah et al., 2018; Mascarin & Jaronski, 2016) ซึ่งปัจจุบันการใช้เชื้อรากินแมลงได้รับความนิยมอย่างมากเพราะมีคุณสมบัติในการเข้าทำลายแมลงได้หลากหลายชนิด โดยเชื้อรากินแมลงสามารถติดไปกับตัวแมลงและเข้าไปในเนื้อเยื่อภายในตัวของแมลง (Mascarin et al., 2019) จากนั้นก็จะออกส่วนขยายพันธุ์ภายในลำตัวแมลงทำให้แมลงเคลื่อนไหวช้าลง หยุดกินอาหาร และตายในที่สุด โดยลักษณะของซากแมลงที่ตายมักถูกปกคลุมด้วยเส้นใยและโคนิเดียของเชื้อรา *B. bassiana* เมื่อระยะเวลาผ่านไปก็จะแพร่ขยายพันธุ์ไปยังแมลงอื่นๆ ต่อไป (Erler & Ates, 2015) อย่างไรก็ตามการที่จะเลือกใช้เชื้อรากินแมลงจึงจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาหาเชื้อราชนิดใหม่ๆ ที่มีประสิทธิภาพหรือเพื่อใช้เป็นแนวทางในการควบคุมแมลง โดยข้อดีของการใช้เชื้อราทั้งนี้สามารถอาศัยอยู่ร่วมกันในธรรมชาติได้โดยไม่จำเป็นต้องปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ และที่สำคัญคือไม่ส่งผลเสียต่อพืชปลูกทำให้ต้นพืชเจริญเติบโตแข็งแรงและลดการเข้าทำลายของศัตรูพืชได้อีกด้วย (Anutrakunchai et al., 2019)

ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรากินแมลงทั้งนี้ในการควบคุมเพลี้ยไก่แจ้ในพื้นที่ปลูกทุเรียนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เพื่อใช้เป็นทางเลือกในการควบคุมเพลี้ยไก่แจ้ทุเรียนในพื้นที่ปลูกทุเรียนภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยต่อไป

วิธีการศึกษา

เก็บตัวอย่างแมลงศัตรูพืชและแยกเชื้อรากินแมลง

เก็บตัวอย่างแมลงศัตรูพืชทุกชนิดที่พบในแปลงปลูกทุเรียน บริเวณส่วนต่างๆ ของต้นทุเรียน เช่น ใบ กิ่ง ยอด ดอก ผล และบนพื้นดิน เป็นต้น โดยในส่วนของแมลงกลุ่มหนอนใช้คีมจับแมลง (Forceps) และแมลงกลุ่มด้วงหรือเพลี้ยที่เคลื่อนไหวเร็วจะใช้กรรไกรตัดกิ่งตัดส่วนของต้นพืชที่แมลงเกาะตัวและอาศัยอยู่ (ไม่ใช่มือเปล่าจับสัมผัสกับแมลงโดยตรง เพื่อป้องกันแมลงได้รับการกระทบกระเทือนและเกิดการปนเปื้อนจากเชื้อทั่วไปในอากาศที่ติดตรงส่วนของมือผู้ปฏิบัติ) จากนั้นจับแมลงใส่ลงในกล่องพลาสติกสีเหลี่ยมสี่แบบมีฝาปิด ขนาด $18 \times 27.8 \times 8.8$ เซนติเมตร (ตรงส่วนด้านบน ฝากล่องเจาะรูติดมุ้งตาข่ายสแตนเลสเพื่อปิดกั้นไม่ให้แมลงออกได้) เก็บแมลงจำนวนทั้งหมด 10 ส่วนในภาคตะวันออก (Table 1) ตัวอย่างแมลงที่เก็บประกอบด้วย หนอนผีเสื้อ แมลงค่อมทอง แมลงกินนูน เพลี้ยไก่แจ้ เพลี้ยแป้ง หนอนด้วงหนวดยาว และหนอนบู่กินใบ เป็นต้น ซึ่งหลังจากการเก็บตัวอย่างของแมลงมาแล้ว นำแมลงมาเลี้ยงแยกใส่ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยใช้ใบทุเรียนอ่อนเป็นอาหารให้กับแมลงที่จับมาศึกษาพฤติกรรมซึ่งสังเกตลักษณะพฤติกรรมของแมลงจากการกิน การเคลื่อนไหว ถ้าหากพบว่าแมลงชนิดใดมีเส้นใยของเชื้อราเจริญขึ้นบริเวณส่วนของข้อต่อหรือลำตัวก็จะแยกออกมาเพื่อให้ความชื้น เพื่อให้ส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา เช่น เส้นใยหรือสปอร์ได้มีการเพิ่มจำนวนและขนาดให้มากขึ้น ซึ่งลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนตัวแมลงนั้นจะเน้นเก็บและคัดเลือกเฉพาะเชื้อราที่เจริญบนตัวแมลงได้ที่เจริญเติบโตเร็วเพื่อลดกระบวนการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่เจริญมาทีหลัง เพื่อที่จะได้นำไปใช้ในขั้นตอนการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ต่อไป

วิธีการแยกเชื้อราที่กินแมลงจะใช้วิธี Single spore และ Tissue transplanting technique (Lee et al., 2019) โดยเขี่ยส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราที่เจริญบนตัวของแมลง โดยการใช้เข็มเขี่ยสะกิดสปอร์หรือเส้นใยของเชื้อรานำมาเลี้ยงลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Water agar (WA) เป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นเมื่อเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาประมาณ 1-2 เซนติเมตร จะย้ายมาเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน นำไปจัดจำแนกโดยการส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อตามวิธีการมาตรฐานของ Samson et al. (1988) และ Humber (1997) เพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงต่อไป

Table 1 Sources of insect sample on durian orchard in this study.

Insect sample	Place (durian orchard)
<i>Curculionidae</i> , <i>Scarabaeidae</i> , <i>Cerambycidae</i> , <i>Psyllidae</i> , mealybugs, thrips, shot hole borer, durian seed borer, fruit borer	100 rai orchard, Kung Krabaen Bay, Chanthaburi
shot hole borer, long horned beetles, durian seed borer, fruit borer	Suan nam sap, Na Yai Am, Chanthaburi
	Suan luang chan, Takhianthong, Chanthaburi
<i>Psyllidae</i> , shot hole borer	Suan chantha khem, Chanthaburi
	Suan nong o, Chanthaburi
	Suan khao saming, Trat
<i>Cerambycidae</i> , <i>Psyllidae</i> , mealybugs, shot hole borer	Suan bo rai, Trat
	Suan bo waru, Trat
	Suan bo phloi, Trat
	Suan somboon, Rayong

การศึกษาวงจรชีวิตเพลี้ยไค้

เก็บเพลี้ยไค้ในวัย 3-5 และตัวเต็มวัย (ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงกับต้นกล้าทุเรียนในแปลงอนุบาล) มาเลี้ยงลงบนต้นกล้าของต้นทุเรียนป่าที่เพาะจากเมล็ดอายุ 1 ปี (Figure 1a) โดยแบ่งใส่ในโรงเรือนตาข่ายสีขาวขนาด 69 x 49 x 160 เซนติเมตร จำนวน 3 ต้นต่อ 1 โรงเรือน รวมทั้งหมด 5 โรงเรือน (Figure 1b) หลังจากนั้นปล่อยเพลี้ยไค้ลงบนต้นกล้าทุเรียน จำนวน 15-20 ตัว โดยสังเกตการเจริญเติบโตของเพลี้ยไค้แต่ละระยะ พร้อมทั้งบันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนวันของเพลี้ยไค้ตั้งแต่ระยะไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย หลังจากนั้นถ่ายภาพช่วงวัยต่างๆ ของเพลี้ยไค้เพื่อนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการกำหนดช่วงระยะเวลาของวงจรชีวิตของเพลี้ยไค้และสามารถใช้ในการป้องกันกำจัดต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ในการควบคุมเพลี้ยไค้

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ในการควบคุมเพลี้ยไค้ โดยการทดสอบจะแบ่งเพลี้ยไค้ใส่ลงในจานเพาะเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร และปล่อยเพลี้ยไค้ลงไปจำนวน 10 ตัวต่อจานเพาะเชื้อ ซึ่งแบ่งการทดสอบออกเป็น 2 ส่วน โดยใช้ส่วนของใบและยอดอ่อนของต้นทุเรียนมาทดสอบกับเพลี้ยไค้ในระยะที่แตกต่างกันคือ ส่วนที่ 1 ฉีดพ่นเชื้อรา *B. bassiana* กับตัวอ่อนเพลี้ยไค้วัย 3 หรือ 4 บนใบทุเรียน และส่วนที่ 2 ฉีดพ่นเชื้อรา *B. bassiana* กับตัวเต็มวัยเพลี้ยไค้บนยอดอ่อนของต้นทุเรียน การฉีดพ่นเชื้อรา *B. bassiana* ใช้ขวดสเปรย์แก้ว ขนาดบรรจุ 2 มิลลิลิตร ก่อนฉีดพ่นเชื้อรา *B. bassiana* ให้เปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้กว้างพอประมาณที่ละอองของเชื้อราที่สเปรย์สามารถฟุ้งกระจายไปโดนบริเวณส่วนกึ่งกลางของจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีเพลี้ยไค้जूอยู่ โดยกำหนดระดับความเข้มข้นไว้ 3 ความเข้มข้น คือ 10^4 10^6 และ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ฉีดพ่นเชื้อรา *B. bassiana* ปริมาณ 2 มิลลิลิตรต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized design (CRD) ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (Healthy control)

กรรมวิธีที่ 2 ฉีดพ่นเชื้อรา *B. bassiana* (10^4 spore/ml)

กรรมวิธีที่ 3 ฉีดพ่นเชื้อรา *B. bassiana* (10^6 spore/ml)

กรรมวิธีที่ 4 ฉีดพ่นเชื้อรา *B. bassiana* (10^8 spore/ml)

บันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนเพลี้ยไค้ที่ตายในแต่ละกรรมวิธี หลังจากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไค้และวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าทางสถิติ จากนั้นสังเกตการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *B. bassiana* บนตัวของเพลี้ยไค้ที่เกิดขึ้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์พร้อมทั้งถ่ายภาพ



Figure 1 Seeding durian in 1 year (a) and Sample seeding durian in green house (b).

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของการเก็บตัวอย่างแมลงศัตรูพืชและการแยกเชื้อรากินแมลง

จากการเก็บตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่เข้าทำลายต้นทุเรียนในภาคตะวันออก 3 จังหวัด ได้แก่ จันทบุรี ตราด และระยอง ในพื้นที่ปลูกทุเรียน 10 แหล่ง (Table. 1) โดยสามารถเก็บแมลงศัตรูพืชได้ จำนวน 9 ชนิด คือ แมลงค่อมทอง แมลงกินหนูนมอดเจาะลำต้น ตัวหนอนหวาย เพลี้ยไก่แจ้ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ หนอนเจาะเมล็ด และหนอนเจาะผลทุเรียน เป็นต้น หลังจากนั้นนำแมลงศัตรูพืชที่ได้มาแยกเชื้อรากินแมลง พบว่ามีแมลงเพียง 3 ชนิด ที่พบเชื้อรากินแมลงเจริญขึ้นปกคลุมลำตัว คือ แมลงค่อมทอง มอดเจาะลำต้น และเพลี้ยไก่แจ้ (Figure 2a-c) ตามลำดับ เมื่อทำการแยกเชื้อราที่เกิดขึ้นบนตัวแมลงทั้ง 3 ชนิด พบว่าเป็นเชื้อรา *Beauveria bassiana* (KMB1) โดยลักษณะของเส้นใยเชื้อรามีสีขาวผิวเรียบคล้ายผงฝุ่นแบ่งอยู่บริเวณผิวหน้าของอาหาร ซึ่งการเจริญเติบโตของเส้นใยจะค่อยๆ เจริญเฉลี่ยประมาณวันละ 1.5 เซนติเมตร รวมใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 14 วัน หลังจากนั้นเมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราคือ โคนิเดีย (Conidia) มีรูปร่างกลมสีใสแยกกันเดี่ยวๆ อยู่บริเวณส่วนบนของก้านชูโคนิเดีย (Conidiophore) (Figure 3a-b) ซึ่งสอดคล้องกับทดลองของ (Dowd & Vega 2003; Muerrle et al., 2006; Mascarín & Jaronski 2016) ที่ได้เก็บตัวอย่างแมลงศัตรูพืชมาแยกเชื้อรากินแมลง พบว่าเชื้อรา *B. bassiana* สามารถเข้าทำลายแมลงได้หลากหลายชนิด เช่น ตัวงวง ตัวผลไม้ ตัวกินหนูนมอดวันทอง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และยุง เป็นต้น นอกจากนั้นยังพบเชื้อรา *B. bassiana* เข้าทำลาย มอดเจาะลำต้นทุเรียนได้อีกด้วย (Anutrakunchai et al., 2019)



Figure 2 Sample of infected insect pests by *Beauveria bassiana* in *Hypomeces squamosus* (a), *Xyleborus fornicates* (b) and *Allocaridala maleyensis* (Crawford) (c).

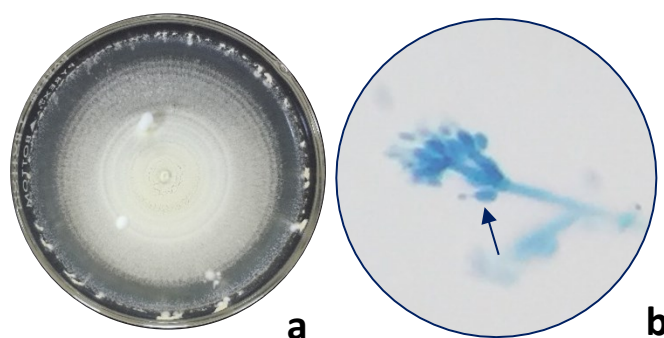


Figure 3 *Beauveria bassiana* (KMB1): Colony on PDA after 14 day (a), and Conidia and conidiophores (b).

ผลของการศึกษาวงจรชีวิตของเพลี้ยไก่แจ้

จากการศึกษาวงจรชีวิตของเพลี้ยไก่แจ้ที่เก็บตัวอย่างมาจากแปลงปลูกทุเรียน หลังจากนำมาเลี้ยงในโรงเรือนตาข่ายสีขาว พบว่าเพลี้ยไก่แจ้ตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถวางไข่โดยใช้ส่วนของอวัยวะวางไข่ Ovipositor (Figure 4a) แทะเข้าไปวางไข่ในเนื้อเยื่อของยอดอ่อนใบทุเรียนที่ยังไม่คลี่ออก ซึ่งวางเพียง 1 ฟองต่อจุด (Figure 5) สอดคล้องกับงานวิจัยของ

Butler & Trumble (2012) ที่พบการเข้าทำลายและวางไข่ของเพลี้ยไก่แจ้บนยอดอ่อนของต้นมันฝรั่งเช่นกัน หลังจากนั้นระยะไข่จะพัฒนาเป็นระยะตัวอ่อนวัย 1 ใช้เวลา 4-5 วัน ซึ่งระยะตัวอ่อน (Nymphal stages) มีทั้งหมด 5 วัย โดยใช้ระยะเวลาในการพัฒนาและเปลี่ยนแปลงรูปร่างประมาณ 15-20 วัน (Figure 5) ก่อนที่จะพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัย โดยตั้งแต่วัยที่ 3 เป็นต้นไป พบว่าเพลี้ยไก่แจ้จะสร้างส่วนของไข (Wax) สีขาวขึ้นมาปกคลุมลำตัวโดยจะมีลักษณะคล้ายกับหางของไก่แจ้ที่ส่วนด้านปลายของลำตัว นอกจากนั้นในวัย 1 ถึง 4 จะมีการลอกคราบและพัฒนาเปลี่ยนแปลงขนาดของลำตัว โดยใช้ระยะเวลาใกล้เคียงกัน คือ 1 ถึง 3 วัน ในขณะที่วัย 5 และตัวเต็มวัยใช้เวลาที่เพิ่มขึ้นเป็น 4 ถึง 5 วัน ในการพัฒนาจนครบวงจรชีวิต หลังจากนั้นเมื่อพิจารณาถึงเพศของเพลี้ยไก่แจ้ พบว่า สามารถแยกได้โดยการจับตัวเพลี้ยไก่แจ้ พลิกหงายท้องเพื่อดูส่วนของท้องส่วนปลาย ถ้าพบอวัยวะวางไข่ที่เรียกว่า Ovipositor (Figure 4a) ก็จะเป็นเพศเมีย แต่ถ้าไม่พบ ก็จะเป็นเพศผู้ (Figure 4b) และลักษณะสำคัญอื่นๆ เช่น เพศเมียจะมีลำตัวที่มีขนาดใหญ่และสีของลำตัวเข้มสดกว่าเพศผู้ ส่วนลักษณะภายนอกส่วนอื่นๆ มีลักษณะไม่แตกต่างกัน

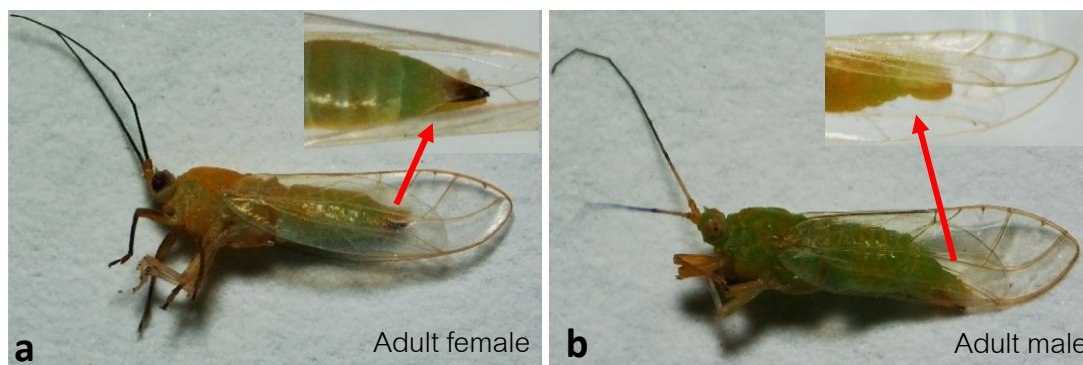


Figure 4 Sex separation of *Allocarsidara maleyensis* (Crawford). Ovipositor in adult female (a) and no ovipositor in adult male (b).

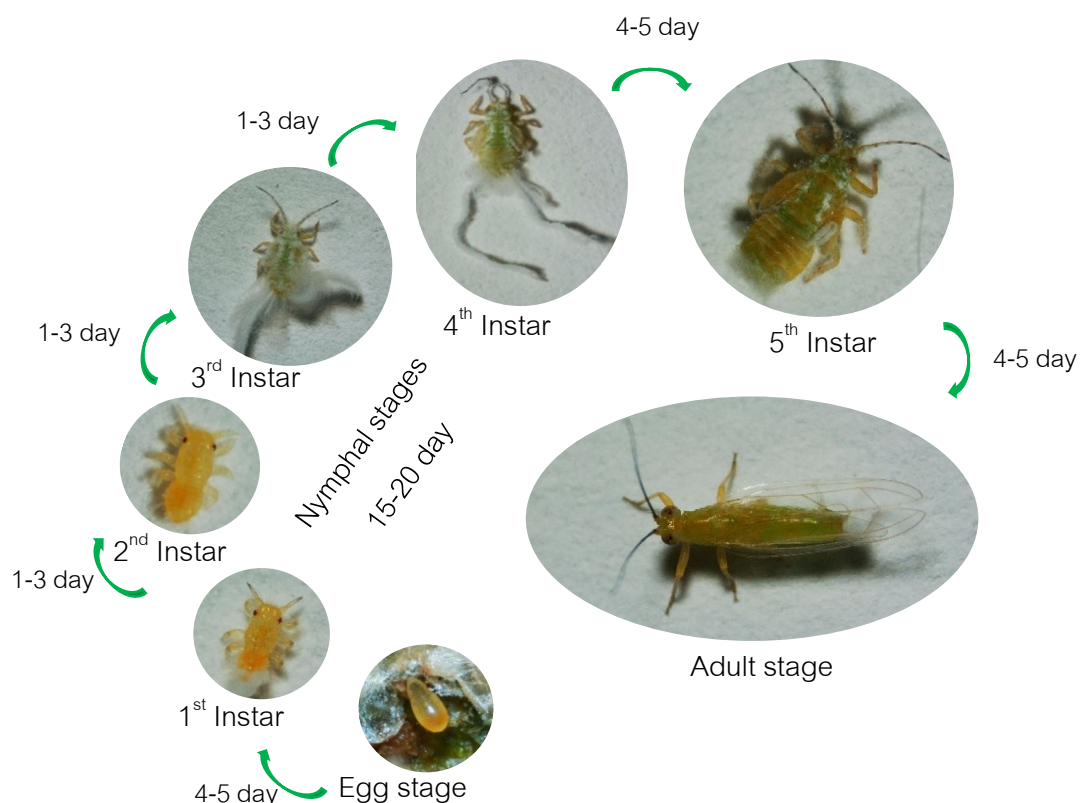


Figure 5 Life-cycle of a hemimetabolous insect, based on a psyllid (*Allocarsidara maleyensis* (Crawford)).

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ในการควบคุมเพลี้ยไก่แจ้

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ในการควบคุมเพลี้ยไก่แจ้ โดยแบ่งการทดสอบออกเป็น 2 ส่วน คือ ตัวอ่อนเพลี้ยไก่แจ้ทดสอบกับใบทุเรียน และตัวเต็มวัยเพลี้ยไก่แจ้ทดสอบกับยอดอ่อนทุเรียน พบว่าการใช้เชื้อรา *B. bassiana* ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น (10^4 10^6 และ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเพลี้ยไก่แจ้ได้ทั้ง 2 ระยะ (ตัวอ่อนและตัวเต็มวัย) โดยเห็นผลชัดเจนที่สุดในระยะตัวอ่อนมากที่สุด เมื่อสังเกตบนตัวแมลงด้วยตาเปล่า พบส่วนของเส้นใยสีขาวของเชื้อรา *B. bassiana* ขึ้นเจริญปกคลุมทับบนตัวอ่อนเพลี้ยไก่แจ้ (Figure 6 a-b) เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไก่แจ้ พบว่าตั้งแต่ช่วงแรกของการทดลอง (1-3 วันหลังการฉีดพ่นเชื้อรา *B. bassiana*) เปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 28-80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ระยะตัวเต็มวัย มีเปอร์เซ็นต์การตาย เท่ากับ 14-72 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าระยะตัวอ่อนของเพลี้ยไก่แจ้เป็นระยะที่เหมาะสมต่อการป้องกันกำจัดมากกว่าระยะตัวเต็มวัย และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนสิ้นสุดการทดลอง (7 วันหลังการฉีดพ่นเชื้อรา) ผลการทดลองก็เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลองในช่วงแรก กล่าวคือระยะตัวอ่อน มีเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไก่แจ้เพิ่มสูงขึ้นถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในกรรมวิธีที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อรา *B. bassiana* ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ ความเข้มข้น 10^6 และ 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย เท่ากับ 92 และ 84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) ในขณะเดียวกันผลการทดลองในส่วนของระยะตัวเต็มวัย (Figure 6 c-d) ก็ให้ผลการทดลองเช่นเดียวกันกับช่วงแรกของการทดลอง โดยจะเห็นว่าหลังจากการฉีดพ่นเชื้อรา *B. bassiana* ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไก่แจ้สูงกว่าในกรรมวิธีอื่นๆ โดยมีค่าเท่ากับ 88, 80 และ 68 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เช่นเดียวกับการทดลองของ Boston et al. (2020) ที่ทดสอบเชื้อรา *B. bassiana* กับด้วงผลไม้ *Carpophilus* spp. พบเปอร์เซ็นต์การตายของด้วงกลุ่มดังกล่าวในระยะตัวอ่อนประมาณ 73-80 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าเมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติระหว่างเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไก่แจ้แต่ละวันและระดับความเข้มข้นของเชื้อรา *B. bassiana* ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นให้ผลการทดลองที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยพบว่ายิ่งระดับความเข้มข้นของเชื้อราเพิ่มสูงขึ้นก็ส่งผลทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไก่แจ้ในแต่ละวันเพิ่มสูงขึ้นรวมไปถึงระยะของตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของเพลี้ยไก่แจ้ก็มีผลต่อการทดลองเพราะถ้าหากเพลี้ยฉีดพ่นเชื้อราไปไม่สัมผัสตัวแมลงก็อาจจะไม่สามารถควบคุมได้ (Table 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mascarín & Jaronski (2016) ที่ทดสอบเชื้อรา *B. bassiana* ความเข้มข้น 10^3 - 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ก็สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลงได้หลากหลายชนิด เช่น แมลงกินนูน ด้วงวงง เพลี้ยกระโดด และแมลงวันทอง เป็นต้น นอกจากนั้นก็ยังมีการใช้เชื้อรา *B. bassiana* แมลงชนิดอื่นๆ ที่ไม่ได้เป็นศัตรูพืช เช่น ยุง (Zapata et al., 2020; Fabrice et al., 2020; Ullah et al., 2018; Bukhari et al., 2011)

หลังจากนั้นเมื่อนำตัวอ่อนของเพลี้ยไก่แจ้ที่มีเชื้อรา *B. bassiana* เจริญขึ้นปกคลุมลำตัวมาส่งภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถเจริญเข้าไปภายในลำตัวของเพลี้ยไก่แจ้ โดยการงอกส่วนขยายพันธุ์ที่เป็นเส้นใยแทงผ่านเข้าไปในลำตัวของแมลง หลังจากนั้นก็จะสร้างสปอร์ภายในตัวของแมลงและแพร่กระจายตัวออกมาภายนอกลำตัวแมลงเพื่อการแพร่ระบาดไปยังแมลงตัวใหม่ต่อไป (Figure 7)



Figure 6 Hypha of *B. bassiana* covering by *Allocarsidara malayensis* nymphal (a-b) and adult (c-d).

Table 2 Percentage of mortality of nymph and adult of *Allocarsidara malayensis* infected by *Beauveria bassiana*.

Treatment	Percentage of mortality (%) ¹				
<i>Nymph of Psyllidae on durian leaves</i>	1 DAI ²	3 DAI	5 DAI	7 DAI	C.V.
Tr1 Healthy control	0c	0c	0c	0c	-
Tr2 Spray of <i>B. bassiana</i> (10 ⁴ spore/ml)	28Cb ³	52Bb	68Bb	84Ab	13.08
Tr3 Spray of <i>B. bassiana</i> (10 ⁶ spore/ml)	36Cb	54Bb	76Bb	92Aa	12.07
Tr4 Spray of <i>B. bassiana</i> (10 ⁸ spore/ml)	66BCa	80Ba	94Aa	100Aa	8.75
C.V. (%)	25.8	14.6	8.51	7.85	-
F-value	*	*	*	*	-
<i>Adult of Psyllidae on durian plumules</i>	1 DAI	3 DAI	5 DAI	7 DAI	C.V.
Tr1 Healthy control	0c	0d	0c	0c	-
Tr2 Spray of <i>B. bassiana</i> (10 ⁴ spore/ml)	14Cbc	30Bc	56Ab	68Ab	15.3
Tr3 Spray of <i>B. bassiana</i> (10 ⁶ spore/ml)	26Cb	50Bb	68Aa	80Aa	14.2
Tr4 Spray of <i>B. bassiana</i> (10 ⁸ spore/ml)	58Ba	72ABa	80Aa	88Aa	14.1
C.V. (%)	30.9	22.8	13.9	9.61	-
F-value	*	*	*	*	-

¹ Percent of Mortality = (total number of insects – number of insect dead) x 100

² DAI = Day after inoculation

³ Average followed by lowercase English letters in the same row and uppercase English letters in column rows have no significant statistical differences P= 0.05 by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).



Figure 7 Nymph of *Allocarsidara malayensis* infected by *Beauveria bassiana* (blue area around nymph body).

สรุปผลการศึกษา

จากการเก็บตัวอย่างแมลงศัตรูทุเรียนในภาคตะวันออก 3 จังหวัด คือ จันทบุรี ตราด และ ระยอง พบแมลงศัตรูทุเรียนหลากหลายชนิด เช่น แมลงค่อมทอง แมลงกินนูน มอดเจาะลำต้น ตัวหนวดยาว เพลี้ยไก่แจ้ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ หนอนเจาะเมล็ด และหนอนเจาะผลทุเรียน หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อรากินแมลงและจัดจำแนกทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา พบว่าเกิดจากเชื้อรา *B. bassiana* เมื่อมาประเมินประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยไก่แจ้ ในระยะตัวอ่อน และระยะตัวเต็มวัย พบว่า ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเพลี้ยไก่แจ้ได้ 100 และ 88 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยสรุป อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองครั้งนี้เป็นการทดสอบเพียงเบื้องต้นในสภาพห้องปฏิบัติการซึ่งสามารถควบคุมปัจจัยสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น และอื่นๆ ทั้งนี้ถ้าหากจะให้ได้ผลการทดสอบอย่างแน่ชัดจำเป็นที่จะต้องศึกษาในครั้งต่อไปในสภาพแปลงปลูก เพื่อให้ทราบถึงประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* และการมีชีวิตรอดในธรรมชาติ รวมไปถึงการเพิ่มจำนวนของเชื้อให้มีปริมาณมากพอต่อการใช้ฉีดพ่นแปลงทุเรียนในพื้นที่ขนาดใหญ่ เพื่อนำเอาข้อมูลที่ได้ใช้เผยแพร่ให้กับเกษตรกรผู้สนใจได้นำมาใช้เป็นแนวทางในการช่วยแก้ปัญหาการเข้าทำลายของเพลี้ยไก่แจ้ในแปลงทุเรียนต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดจันทบุรี ที่ให้ใช้พื้นที่ในการทำงานวิจัย และห้องปฏิบัติการกีฏวิทยาและโรคพืชวิทยา ของสาขาเทคโนโลยีการผลิตพืชและภูมิทัศน์ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมและการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี ที่สนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Anutrakunchai, S., Tongla, T. & Thongkamngam, T. (2019). A Survey of Shot-Hole Borer (*Xyleborus fornicates* Eichoff) *Scolytidae*: Coleoptera-an Insect pest on durian in chanthaburi province. In **Proceedings of 3rd International Symposium on Agricultural Technology and 17th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology.** (pp. 118-123). Bangkok: King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang.
- Boston, W., Leemon, D. & Cunningham, J. P. (2020). Virulence screen of *Beauveria bassiana* isolates for Australian *Carpophilus* (Coleoptera: Nitidulidae) beetle biocontrol. **Agronomy.** 10, 1207.
- Bukhari, T., Takken, W. & Koenraadt, C. J. M. (2011). Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae. **Parasites & Vectors.** 4(1), 23-37.

- Burckhardt, D., Ouvrard, D., Queiroz, D. & Percy, D. (2014). Psyllid host-plants (Hemiptera: *Psylloidea*): Resolving a semantic problem. **Florida Entomologist**. 97(1), 242-246.
- Butler, C. D. & Trumble, J. T. (2012). The potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: *Triozidae*): Life history, relationship to plant diseases, and management strategies. **Terrestrial Arthropod Reviews**. 5(2), 87-111.
- Dowd, P. E. & Vega, F. E. (2003). Autodissemination of *Beauveria bassiana* by Sap Beetle (Coleoptera: *Nitidulidae*) to overwintering sites. **Biocontrol Science and Technology**. 13, 65-75.
- Erler, F. & Ates, A. O. (2015). Potential of two entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Coleoptera: *Scarabaeidae*), as biological control agents against the June beetle. **Journal of Insect science**. 15(1), 44-62.
- Fabrice, D. H., Elie, D. A., Kobi, D. O., Valerien, Z. A., Thomas, H. A., Joelle, T., Maurille, E. I. A. T., Denis, O. B. & Manuele, T. (2020). Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. **Journal of Cotton Research**. 3, 24-45.
- Hodkinson, I. D. & Bird, J. M. (2006). Facultative parthenogenesis in *Cacopsylla myrtilli* (Wagner) (Hemiptera: *Psylloidea*) in northern Sweden. **Entomologisk Tidskrift**. 127, 157-160.
- Hodkinson, I. D. (2009). Life cycle variation and adaptation in jumping plant lice (Insecta:Hemiptera: *Psylloidea*): a global synthesis. **Journal of Natural History**. 43(1-2), 65-179.
- Humber, R. (1997). Fungi: identification. In Lacey, L. A., **Manual of Technique in Insect pathology**. (pp. 153-163). San Diego: Academic Press.
- Lee, T. J., Zobayed, S., Firmani, F. & Park, E. (2019). A novel automated transplanting system for plant tissue culture. **Biosystems Engineering**. 181, 63-72.
- Mascarin, G. M. & Jaronski, S. T. (2016). The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. 32, 177-203.
- Mascarin, G. M., Lopes, R. B., Delalibera, I. D., Fernandes, E. K. K., Luz, C. & Faria, M. (2019). Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for microbial control of arthropod pests in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**. 165, 46-53.
- Muerrle, T. M., Neumann, P., Dames, J. F., Hepburn, H. P. & Hill, H. P. (2006). Susceptibility of adult *Aethina tumida* (Coleoptera: *Nitidulidae*) to entomopathogenic fungi. **Journal of Economic Entomology**. 99, 1-6.
- Samson, R., Evans, H. & Latge, J. P. (1988). **Atlas of Entomopathogenic fungi**. Berlin: Springer Verlag.
- Ullah, M. I., Arshad, M., Abdullah, A., Khalid, S., Iftikhar, Y. & Zahid, A. M. (2018). Use of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: *Moniliales*) and *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: *Cordycipitaceae*) to control *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: *Liviidae*) under laboratory and semi-field conditions. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**. 28, 75-80.
- Zapata, Q. I., Gonzalez, F. M. S., Santillana, L. E. J., Gonzalez, N. A. & Pacheco, G. F. L. (2020). Late effects of *Beauveria bassiana* on larval stages of *Aedes aegypti* Linneo, 1762 (Diptera: *Culicidae*). **Brazilian Journal of Biology**. 82, 1-8.

วันรับบทความ (Received date) : 27 พ.ค. 65

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 11 มี.ค. 66

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 20 เม.ย. 66

<https://doi.org/10.55003/kmaj.2023.12.28.004>