

การประเมินความรุนแรงของเชื้อราก่อโรคแมลงไอโซเลตท้องถิ่นต่อหนอนกระทู้ผัก
(*Spodoptera litura* Fabricius) ในสภาพห้องปฏิบัติการ และการเพิ่มปริมาณสปอร์ด้วยเมล็ดธัญพืช
Evaluation of Virulence of Local Isolates of Entomopathogenic Fungi against
Common Cutworm (*Spodoptera litura* Fabricius) Under Laboratory Condition and
Spore Production Using Cereal Grains

เดือนเพ็ญ วงศ์สอน^{1*} พรนภา บุญถึง¹ สุรัชย์ รัตนสุข² เบญญา แสนมหายักษ์¹ และ ยาวพา ความหมั่น¹
Duanpen Wongsorn^{1*} Pornnapa Boontueng¹ Surachai Rattanasuk² Benya Saenmahayak¹
and Yaowapa Kawmman¹

¹คณะนวัตกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน นครราชสีมา

²ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด

¹Faculty of Agricultural Innovation and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Nakhon Ratchasima

²Department of Science and Technology, Faculty of Arts and Sciences, Roi-Et Rajabhat University

*E-mail: duanpen.wo@rmuti.ac.th

Received: Feb 15, 2023

Revised: Apr 20, 2023

Accepted: Apr 25, 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความรุนแรงของเชื้อราก่อโรคในแมลงไอโซเลตท้องถิ่นต่อหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* Fabricius) ในสภาพห้องปฏิบัติการ และเพื่อประเมินการเพิ่มปริมาณสปอร์ด้วยเมล็ดธัญพืช จากการแยกเชื้อราก่อโรคแมลงจากตัวอย่างดินที่รวบรวมได้จากพื้นที่ต่าง ๆ ในจังหวัดนครราชสีมา ได้เชื้อรา *Metarhizium* spp. จำนวน 11 ไอโซเลต (*MetNM_M4/3*, *MetNM_M7/3*, *MetNM_M8/6*, *MetNM_M10/2*, *MetNM_M11/1*, *MetNM_JKR14/2*, *MetNM_JKR16/3*, *MetNM_JKR17/2*, *MetNM_JKR18/4*, *MetNM_JKR19/4* และ *MetNM_NBM10/3*) และเชื้อรา *Beauveria bassiana* จำนวน 1 ไอโซเลต (*BbNM_CC1/1*) เมื่อนำเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมดมาศึกษาการเจริญของเส้นใยบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 21 วัน พบว่าเชื้อราไอโซเลต *MetNM_M7/3* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยมากที่สุด (78.00 มิลลิเมตร) ส่วนเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต *BbNM_CC1/1* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยน้อยที่สุด (45.50 มิลลิเมตร) จากการนำเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมดมาทดสอบความสามารถในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่มีความเข้มข้น 1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ให้กับหนอนกระทู้ผักวัย 3 พบว่าไอโซเลต *BbNM_CC1/1* ทำให้มีการตายสะสม และการติดเชื้อสะสมของหนอนกระทู้ผักมากที่สุด (96.67%) เมื่อนำไอโซเลต *BbNM_CC1/1* มาทดสอบการเพิ่มปริมาณสปอร์บนเมล็ดธัญพืช (ข้าวฟ่าง, ข้าวเปลือก, ข้าวโพด, ข้าวโพดบดหยาบ และข้าวสารหัก) โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อราบนเมล็ดธัญพืชเป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน พบว่าเชื้อราสร้างสปอร์ได้มากที่สุดบนข้าวสารหัก (4.10×10^8 สปอร์ต่อกรัม) เมื่อเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 21 วัน การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต *BbNM_CC 1/1* มีความรุนแรงสูงที่สุดในการทำลายหนอนกระทู้ผักในสภาพห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงมีความน่าสนใจที่จะนำไปทดสอบต่อในสภาพเรือนทดลอง และแปลงปลูกต่อไป

คำสำคัญ: เชื้อราก่อโรคแมลง หนอนกระทู้ผัก เมล็ดธัญพืช

Abstract

This research aimed to evaluate the virulence of local isolates of entomopathogenic fungi against a common cutworm (*Spodoptera litura* Fabricius) under laboratory condition and to evaluate spore production using cereal grains. From the isolation of entomopathogenic fungi from soil samples collected from different areas in Nakhon Ratchasima province, a total of 11 isolates of *Metarhizium* spp. (*MetNM_M4/3*, *MetNM_M7/3*, *MetNM_M8/6*, *MetNM_M10/2*, *MetNM_M11/1*, *MetNM_JKR14/2*, *MetNM_JKR16/3*, *MetNM_JKR17/2*, *MetNM_JKR18/4*, *MetNM_JKR19/4* and *MetNM_NBM10/3*) and 1 isolate of *Beauveria bassiana* (*BbNM_CC1/1*) were isolated. When all of the isolated entomopathogenic fungi were evaluated for their mycelium growth on potato dextrose agar (PDA) for 21 days, the isolate *MetNM_M7/3* had the largest average colony diameter (78.00 mm) while the isolate *B. bassiana* isolate *BbNM_CC1/1* had the smallest average colony diameter (45.50 mm). All of the isolated entomopathogenic fungi were tested for their infectivity against a common cutworm under laboratory condition by spraying fungal spores at a concentration of 1×10^8 spores/mL on the 3rd instar common cutworm. It was found that the isolate *BbNM_CC1/1* caused the highest cumulative mortality and cumulative infection of the common cutworm (96.67%). When the isolate *BbNM_CC1/1* was tested for its spore production on different cereal grains (sorghum, unmilled rice, maize, broken maize, and broken rice) by cultivating the fungus on the cereal grains for 7, 14 and 21 days, the fungus produced the highest number of spores on broken rice (4.10×10^8 spores/g) when cultivated for 21 days. This study demonstrated that the isolate *B. bassiana* *BbNM_CC1/1* was the most virulent against a common cutworm under laboratory condition. Therefore, it would be interesting for further evaluation in greenhouse and field conditions.

Keywords: Entomopathogenic fungus, Common cutworm, Cereal grains

1. บทนำ

หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* Fabricius) เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด และสามารถเข้าทำลายพืชมากกว่า 112 ชนิด (species) ใน 44 สกุล (genus) [1] อีกทั้งยังสามารถแพร่ระบาดได้ตลอดทั้งปีในทุกฤดูกาล โดยเฉพาะช่วงฤดูฝน สำหรับประเทศแถบเอเชียที่มีสภาพภูมิอากาศร้อนชื้นจะพบการแพร่ระบาดมากกว่า ส่วนในประเทศไทยพบการระบาดในทุกภาค ระยะหนอนจะเริ่มทำลายพืชตั้งแต่เริ่มฟักออกมาและทำลายรุนแรงขึ้นสามารถกัดกินได้ทุกส่วนของพืช ทั้งใบ ก้าน ดอก และหัว ซึ่งทำความเสียหายให้กับพืชผักได้เป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นหนอนที่มีขนาดใหญ่และแพร่ระบาดได้รวดเร็วตลอดทั้งปี [2] การป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผักนั้นทำได้ยาก เนื่องจากพฤติกรรมของหนอนกระทู้ผักที่มักจะลงไปอยู่ในดินเมื่ออากาศร้อน และเมื่อหนอนโตเต็มที่จะหยุดกินอาหารแล้วลงไปเข้าดักแด้ในดินจนกระทั่งฟักออกเป็นตัวเต็มวัย [3] เกษตรกรจึงนิยมใช้สารเคมีสังเคราะห์ (chemical synthetic insecticides) เนื่องจากหาซื้อได้ง่าย ใช้ได้สะดวก และรวดเร็ว อีกทั้งมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงได้ทุกระยะการเจริญเติบโต [4]

อย่างไรก็ตามสารเคมีสังเคราะห์มีข้อเสียหลายประการ เช่น มีผลกระทบต่อผู้ใช้ มีพิษตกค้างในผลผลิต สภาพแวดล้อม และห่วงโซ่อาหาร ซึ่งจะมีผลต่อการดำรงชีวิตของสัตว์และสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ อีกทั้งยังมีผลต่อความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศ [5], [6], [7] และสิ่งที่ต้องตระหนักคือแมลงสามารถสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงได้ [8], [9] โดยมีสารเคมีกำจัดแมลงที่มีสารออกฤทธิ์ (active ingredients) มากกว่า 20 ชนิด ที่หนอนกระทู้ผักสามารถสร้างความต้านทานได้ [10] นอกจากสารเคมีแล้วยังมีการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรหลายชนิดมาควบคุมและกำจัดซึ่งให้ผลในการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพ [11] แต่สารสกัดจากพืชสมุนไพรมีความคงตัวต่ำถูกทำลายได้ง่ายด้วยรังสียูวี (ultraviolet) และการชะล้างของน้ำหรือน้ำฝน การใช้เชื้อราก่อโรคแมลง (entomopathogenic fungi) จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ป้องกันกำจัดแมลงอย่างแพร่หลาย โดยมีรายงานถึงเชื้อราดังกล่าวประมาณ 750-800 ชนิด ที่สามารถเข้าทำลายแมลงต่างชนิดกันได้ [12], [13], [14] ซึ่งชนิดที่นิยมนำมากำจัดแมลงศัตรูพืช ได้แก่ เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* และเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* เชื้อรานี้มี

ความสามารถในการเข้าทำลายแมลงได้มากถึง 7 อันดับ (order) มากกว่า 200 species ตัวอย่างเช่น ตัวมดแดง พริก หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทุ้ง หนอนกระทุ้งหอม ตัวสนมหนัญญ์ปูน เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตั๊กแตน แมลงสาบ ปลวก ตัวมดดำ หนอนกินรังผึ้ง และยุง เป็นต้น [15] ด้วยคุณลักษณะที่ดีของเชื้อราก่อโรคแมลงที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้และไม่เป็นพิษต่อสภาพแวดล้อม สามารถเพิ่มปริมาณได้ง่าย เกษตรกรสามารถผลิตใช้เอง มีความรุนแรงและความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงเป้าหมายสูง สามารถดำรงชีวิตอยู่ในสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมในรูปสปอร์ และเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมเชื้อราดังกล่าวก็สามารถงอกและเข้าทำลายแมลงเป้าหมายได้ [16] ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการคัดเลือกเชื้อราก่อโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลง เพื่อนำไปใช้ในการควบคุมหนอนกระทุ้งในสภาพเรือนทดลอง และแปลงปลูกอย่างปลอดภัยต่อไป

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1. การรวบรวมตัวอย่างดิน การแยกเชื้อราก่อโรคแมลงให้บริสุทธิ์ และการศึกษาลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยา

2.1.1. การรวบรวมตัวอย่างดินและการแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์

สุ่มเก็บตัวอย่างดินในเขตอำเภอเมือง, จักราช, หนองบุญมาก และโชคชัย จังหวัดนครราชสีมา นำมาแยกหาเชื้อราก่อโรคในแมลง (ราเขียว *Metarhizium* spp. และราขาว *B. bassiana*) โดยประยุกต์ตามวิธีของ Bidochka et al. [17] ด้วยวิธีใช้เหยื่อล่อ (baiting technique) ซึ่งใช้หนอนนก (yellow mealworm; *Tenebrio molitor* L.) วัย 3-5 เป็นเหยื่อล่อเชื้อจากดิน เป็นเวลา 7 วัน เมื่อพบหนอนนกที่ตายทำการฆ่าเชื้อที่ผิวหนอนนกด้วยการแช่ในสารละลาย sodium hypochlorite (NaClO) เข้มข้น 0.5% นาน 5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง แต่ละครั้งนาน 5 นาที จากนั้นนำไปไว้ในกล่องชื้น (moist chamber) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จึงนำไปหมักในที่มีด ในตู้บ่มอุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$) ความชื้นสัมพัทธ์ $80 \pm 5\%$ ปลอ่ยไว้จนกระทั่งเชื้อราสร้างเส้นใยและสปอร์ จึงนำไปแยกให้ได้เชื้อราที่บริสุทธิ์ และบ่งชี้การเป็นเชื้อราก่อโรคแมลง จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนี ก้านชูสปอร์ และลักษณะของสปอร์ เปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราก่อโรคแมลงกับเอกสารของ Samson et al. [12] และ Humber [18]

2.1.2. การศึกษาลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยา

เชื้อราก่อโรคแมลงแต่ละไอโซเลต (isolate) ที่แยกได้เชื้อบริสุทธิ์ นำมาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) และทดสอบต่อในสภาพปลอดเชื้อ โดยเมื่อเชื้อราอายุ 14 วัน ใช้ที่เจาะ (cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 มิลลิเมตร (มม.) เจาะที่ขอบโคโลนี แล้วย้ายชิ้นวันที่เจาะไว้ ลงในอาหาร PDA นำเชื้อไปบ่มในที่มืดที่ตู้บ่มเชื้อรา อุณหภูมิ 28 ± 2 $^{\circ}\text{C}$. ความชื้นสัมพัทธ์ 60-80% นำเชื้อออกมาวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเมื่ออายุเชื้อ 7, 14 และ 21 วัน และวัดขนาดสปอร์ เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อแต่ละไอโซเลตจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) ประกอบด้วย 12 กรรมวิธี (ไอโซเลต) แต่ละไอโซเลตมี 3 ซ้ำ ๆ ละ 5 จานเลี้ยงเชื้อ (plate) วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

2.2. การประเมินประสิทธิภาพของเชื้อราก่อโรคแมลงต่อการเข้าทำลายหนอนกระทุ้ง

การทดสอบในข้อ 2.2 นี้ดำเนินการภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

2.2.1. การเตรียมแมลงทดสอบ

เก็บรวบรวมกลุ่มไข่ของหนอนกระทุ้งจากแปลงผัก (แปลงฝึกงาน) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน จังหวัดนครราชสีมา นำกลุ่มไข่มาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยการจุ่มในสารละลาย NaClO (0.5%) นาน 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ผึ่งให้แห้ง จากนั้นเก็บใส่กล่องเลี้ยงแมลง เมื่อหนอนกระทุ้งฟักออกจากไข่ แยกลงในกล่องพลาสติก ขนาด $12 \times 20 \times 6$ เซนติเมตร (ซม.) ให้อาหารโดยใช้ใบละหุ่ง จนกระทั่งหนอนกระทุ้งเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย (ผีเสื้อ) จับคู่ผีเสื้อระหว่างเพศผู้และเพศเมียจนกระทั่งวางไข่ นำกลุ่มไข่ 5 กลุ่มที่วางไข่วันเดียวกันมาใส่ในกล่องเลี้ยงแมลงที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และให้ความชื้นด้วยสำลีชุบน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อ เมื่อไข่ฟักเป็นตัวหนอนให้อาหารด้วยใบละหุ่ง จนกระทั่งหนอนเข้าสู่ วัย 3 คัดหนอนที่ลอกคราบพร้อมกัน 3-5 ชั่วโมง (ซม.) สำหรับเตรียมทดสอบต่อไป

2.2.2. การเตรียมเชื้อราก่อโรคแมลง

นำเชื้อราก่อโรคแมลงแต่ละไอโซเลตที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 21 วัน นำมาชุดเอสเปอร์ โดยการเติมสาร

จับใบ Tween 20® เข้มข้น 0.05% ปริมาณ 10 มิลลิลิตร (มล.) /จานเลี้ยงเชื้อ ใช้เข็มเย็บเชื้อปลายมน (loop) ขุดสปอร์เบา ๆ จากนั้นนำมารองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว แล้วนับจำนวนสปอร์ด้วย Hemocytometer และปรับความเข้มข้นของเชื้อราแต่ละไอโซเลตด้วยสารจับใบ Tween20® (0.05%) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1×10^8 สปอร์/มล.

2.2.3. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราก่อโรคแมลงต่อการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผัก

นำหนอนกระทู้ผัก วัย 3 ในข้อ 2.2.1 มาปล่อยลงบนละอองที่พ่นกันใบด้วยสาลิซึบ น้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งวางในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด 10x10x5 ซม. ปล่อยให้หนอนกระทู้ผักปรับตัวและกักกินใบละออง 5 ซม. จากนั้นพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่ความเข้มข้น 1×10^8 สปอร์/มล. เปรียบเทียบกับการไม่พ่นสารใด ๆ การพ่นด้วยสารจับใบ Tween® 20 (0.05 %) และการพ่นด้วยสารเคมีกำจัดแมลง คีฟอยด์® (chlorpyrifos) อัตราการใช้ตามฉลากแนะนำ หลังการทดสอบ 24 ชม. เปลี่ยนอาหารโดยให้ใบละอองที่ไม่พ่นสารใด ๆ แทน วิธีการทดสอบประยุกต์ตามวิธีของ Han et al. [19] วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 15 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ (กล่อง) แต่ละซ้ำใช้หนอนกระทู้ผัก 20 ตัว

หลังการทดสอบ 24 ชม. ตรวจสอบการตายของหนอนกระทู้ผักทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน เมื่อพบหนอนตาย นำมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยการแช่ในสารละลาย NaClO (0.5%) นาน 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อ นาน 5 นาที จำนวน 2 ครั้ง จึงย้ายไปไว้ในกล่องขึ้น แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 °ซ. 60-80 %R.H. ในที่มืด ประยุกต์ตามวิธีของ Natongkham et al. [20] บันทึกผลการตายและการติดเชื้อของหนอนทุกวัน นำค่าเฉลี่ยของการตายและการติดเชื้อสะสมที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธีด้วย DMRT

2.3. การศึกษาการเพิ่มปริมาณสปอร์เชื้อราก่อโรคแมลงด้วยเมล็ดธัญพืช

เชื้อราก่อโรคในแมลงที่เข้าทำลายหนอนกระทู้ผักได้ดีที่สุด นำมาเพิ่มปริมาณสปอร์บนเมล็ดธัญพืช 5 ชนิด คือ ข้าวฟ่าง, ข้าวเปลือก, ข้าวโพด, ข้าวโพดบดหยาบ และข้าวสารหัก โดยเมล็ดข้าวฟ่าง, ข้าวเปลือก และข้าวโพด ล้างทำความสะอาดและแช่น้ำ 1 คืน ก่อนนำมาต้มให้พอสุก ประมาณ 15-20 นาที

ส่วนข้าวสารหักและข้าวโพดบดหยาบ แช่น้ำ 1 คืน โดยไม่ต้ม จากนั้นนำเมล็ดธัญพืชที่สะเด็ดน้ำแล้วมากรอกใส่ถุงพลาสติกขนาด 8 x 10 นิ้ว ถุงละ 100 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °ซ. ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำเชื้อราแต่ละไอโซเลตที่เลี้ยงในอาหาร PDA อายุ 21 วัน มาเจาะด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 มม. แล้วใส่ลงในถุงเมล็ดธัญพืช จำนวน 10 ชิ้น/ถุง ขยี้ให้เข้ากัน นำไปบ่มในที่มืดที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 28 ± 2 °ซ., 60-80 %R.H. หลังการทดสอบ 7, 14 และ 21 วัน นำเชื้อรามานับจำนวนสปอร์และคำนวณค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์/เมล็ดธัญพืช 1 กรัม วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี (เมล็ดธัญพืช) กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยเชื้อรา 3 ถุง วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย DMRT

3. ผลการวิจัย

3.1. การรวบรวมตัวอย่างดิน การแยกเชื้อราก่อโรคแมลงให้บริสุทธิ์ และการศึกษาลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยา

จากการรวบรวมตัวอย่างดินและแยกหาเชื้อราก่อโรคแมลง ได้เชื้อรา จำนวน 12 ไอโซเลต เมื่อจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปรียบเทียบกับรายงานของ Samson et al. [12] และ Humber [18] พบว่าเป็นเชื้อราเขียว *Metarhizium* spp. จำนวน 11 ไอโซเลต (*MetNM_M4/3*, *MetNM_M7/3*, *MetNM_M8/6*, *MetNM_M10/2*, *MetNM_M11/1*, *MetNM_JKR14/2*, *MetNM_JKR16/3*, *MetNM_JKR17/2*, *MetNM_JKR18/4*, *MetNM_JKR19/4* และ *MetNM_NBM10/3*) และเชื้อราขาว *B. bassiana* จำนวน 1 ไอโซเลต (*BbNM_CC1/1*) เมื่อศึกษาการเจริญและลักษณะโคโลนีของเชื้อราบนอาหาร PDA (Table 1, Figure 1) ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 27.93 °ซ. (25.67-31.25 °ซ.) 70.76% (68.22-76.43%) เชื้อรา *Metarhizium* spp. สร้างเส้นใยเจริญเรียงไปกับผิวหน้าอาหาร แต่ละไอโซเลตมีลักษณะโคโลนีแตกต่างกันไป เชื้อราที่มีอายุน้อยจะมีเส้นใยสีขาว-สีเหลือง เมื่อเส้นใยแก่จะสร้างสปอร์ที่ปลายเส้นใยมีสีเขียว-เขียวเข้ม หรือมีสีน้ำตาลเข้ม-ดำ สปอร์มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก ปลายมน คอดตรงกลางเล็กน้อย มีสีเขียว สปอร์มีขนาดใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 2.50 x 5.00-5.60 ไมโครเมตร ส่วนเชื้อราขาว *B. bassiana* เส้นใยเจริญช้าและเรียงไปกับผิวหน้าอาหาร ลักษณะเส้นใยอัดตัวกันแน่น คล้ายกำมะหยี่ มีสีขาว

สร้างสปอร์ทรงกลมสีขาวตรงปลายเส้นใย สปอร์เมื่อเริ่มแก่ เส้นใยจะยุบตัวลงเป็นผงคล้ายแป้งหรือขอลค์ ที่อายุเชื้อ 21 วัน เชื้อราเขียว *MetNM_M7/3* มีการเจริญดีที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี 78.00 มม. รองลงมา และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) กับไอโซเลต *MetNM_JKR19/4* (77.00 มม.) ส่วน *BbNM_CC1/1* มีการเจริญช้าที่สุด (45.50 มม.)

3.2. ประสิทธิภาพของเชื้อราก่อโรคแมลงต่อการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผัก

หลังการทดสอบ 24 ชม. (Table 2) การพ่นสารเคมีกำจัดแมลงมีการตายของหนอนกระทู้ผัก 100% หนอนที่ตายมีลักษณะแข็ง สีน้ำตาลเข้มดำ แต่ไม่พบเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราปกคลุมลำตัว ในขณะที่การพ่นด้วยสารแวนลอยสปอร์ของเชื้อรา พบการตายหนอนกระทู้ผักหลังทดสอบ 48 ชม. โดยไอโซเลต *MetNM_JKR18/4* และ *BbNM_CC1/1* มีการ

ตายของหนอนกระทู้ผักก่อนไอโซเลตอื่น ๆ และหลังการทดสอบ 14 วัน นั้น ไอโซเลต *BbNM_CC1/1* มีการตายสะสมของหนอนกระทู้ผักมากที่สุด (96.67%) เมื่อเปรียบเทียบกับไอโซเลตอื่น ๆ ในขณะที่ไม่ใช้สารใด ๆ การใช้สารจับใบ Tween20® และเชื้อราไอโซเลต *MetNM_M10/2* ไม่พบการตายของหนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้ผักสามารถเจริญเติบโตจนเข้าสู่ระยะดักแด้และตัวเต็มวัยได้ ในด้านการติดเชื้อ (Table 3) พบการติดเชื้อของหนอนกระทู้ผักมากที่สุดเมื่อทดสอบกับเชื้อราไอโซเลต *BbNM_CC1/1* (96.67%) แตกต่างทางสถิติกับไอโซเลตอื่น ๆ ($P<0.05$) รองลงมาคือ ไอโซเลต *MetNM_JKR18/4* (66.67%) โดยหนอนที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายมีลักษณะแข็งมีเส้นใยและสปอร์ปกคลุมลำตัว (Figure 2) ส่วนเชื้อราไอโซเลต *MetNM_JKR17/2* และ *MetNM_NBM10/3* ไม่พบการติดเชื้อของหนอนกระทู้ผัก (0.00 %)

Table 1 Colony diameters (means $\pm$ SD) on PDA at the culturing times of 7, 14 and 21 days of the entomopathogenic fungi isolated from different sources

Isolates	Source/Location (Village, sub-district, district)	Colony diameters (mm)		
		7 days	14 days	21 days
<i>MetNM_M4/3</i>	Rice field/Ban Mabmakar, Nongraweing, Mueng	25.50 $\pm$ 1.23de	41.50 $\pm$ 0.97f	60.00 $\pm$ 0.44f
<i>MetNM_M7/3</i>	Forest soil/Ban nongrawieng, Nongraweing, Mueng	29.78 $\pm$ 0.58b	53.50 $\pm$ 1.06bc	78.00$\pm$0.20a
<i>MetNM_M8/6</i>	Forest soil/Rmuit Nongrawieng Campus, Mueng	27.50 $\pm$ 1.11c	57.50$\pm$2.59a	73.50 $\pm$ 1.03c
<i>MetNM_M10/2</i>	Cassava field/Ban Tanod, Nongraweing, Mueng	23.30 $\pm$ 1.15f	42.00 $\pm$ 0.42ef	65.80 $\pm$ 0.05d
<i>MetNM_M11/1</i>	Rice field/Ban Tanod, Nongraweing, Mueng	25.50 $\pm$ 0.11de	44.00 $\pm$ 0.42de	62.50 $\pm$ 0.06e
<i>MetNM_JKR14/2</i>	Forest soil/Nongteng-Jakkarat forest, Jakkarat	23.30 $\pm$ 0.68f	38.00 $\pm$ 0.20g	55.50 $\pm$ 2.53g
<i>MetNM_JKR16/3</i>	Rice field/Ban Non Cla, Jakkarat, Jakkarat	33.00 $\pm$ 0.20a	53.00 $\pm$ 0.88c	75.50 $\pm$ 1.17bc
<i>MetNM_JKR17/2</i>	Rubber field/Ban Kham, SriSuk, Jakkarat	24.00 $\pm$ 0.61ef	45.80 $\pm$ 1.03d	63.30 $\pm$ 2.68e
<i>MetNM_JKR18/4</i>	Forest soil/Nongteng-Jakkarat forest, Jakkarat	23.80 $\pm$ 0.34ef	42.30 $\pm$ 0.74ef	66.30 $\pm$ 1.15d
<i>MetNM_JKR19/4</i>	Rice field/Ban Lakor, Sri Lakor, Jakkarat	32.30$\pm$0.16a	55.00 $\pm$ 1.33b	77.00 $\pm$ 0.95ab
<i>MetNM_NBM10/3</i>	Papaya field/Ban Pracha Nimitr, Nong Takai, Nong Boonmark	21.00 $\pm$ 1.23g	41.80 $\pm$ 0.06f	55.80 $\pm$ 1.95g
<i>BbNM_CC1/1</i>	Forest soil/Ban Phlapphla, Phlapphla, Chok Chai	19.00 $\pm$ 0.62h	30.50 $\pm$ 0.98h	45.50 $\pm$ 1.03h
P-value		<0.0001**	<0.0001**	<0.0001**

Means $\pm$ SD in a column followed by a common letter are not significantly different ($P>0.05$) according to DMRT.

SD = Standard deviation, ** = Significantly different at 99% confidence level

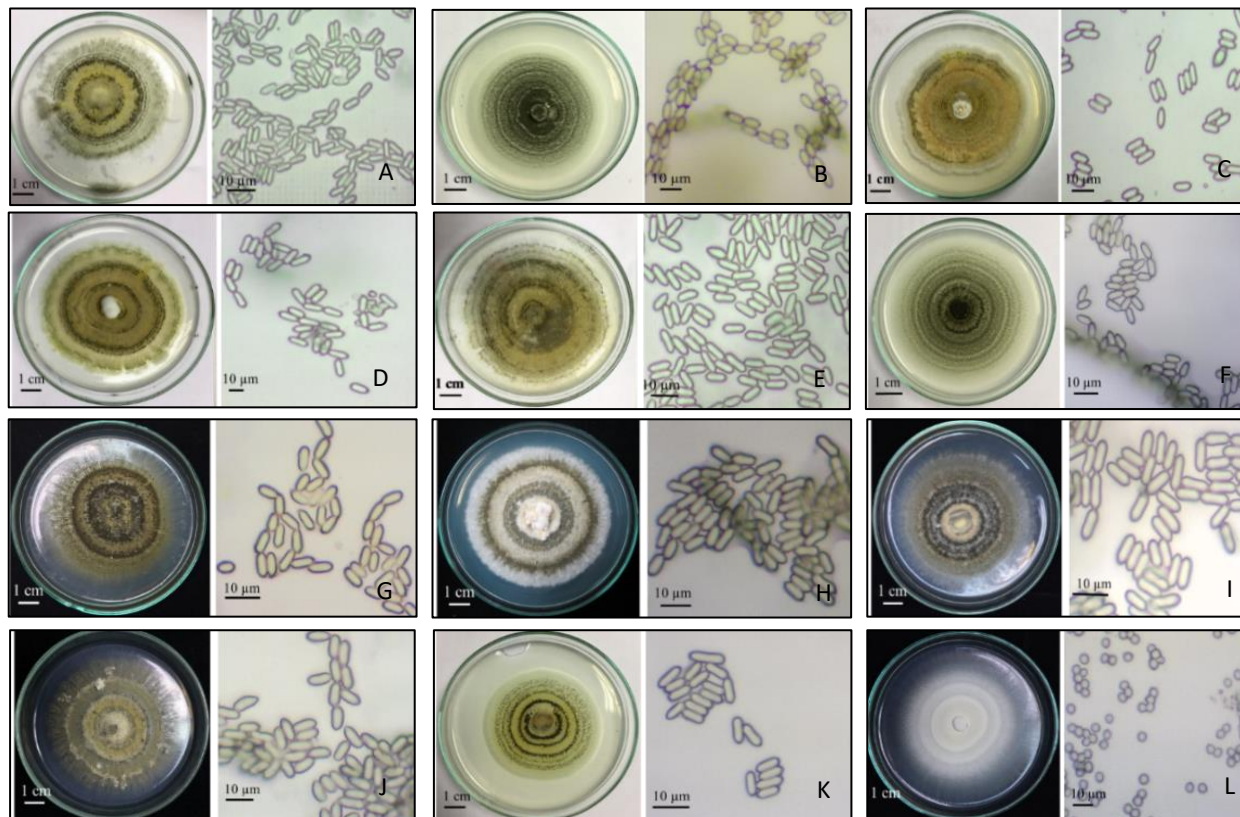


Figure 1 Colony characteristics of 21-day-old cultures and conidia of entomopathogenic fungi isolates on PDA

A) *MetNM_M4/3*, B) *MetNM_M7/3*, C) *MetNM_M8/6*, D) *MetNM_M10/2*, E) *MetNM_M11/1*,
 F) *MetNM_JKR14/2*, G) *MetNM_JKR16/3*, H) *MetNM_JKR17/2*, I) *MetNM_JKR18/4*,
 J) *MetNM_JKR19/4*, K) *MetNM_NBM10/3* and L) *BbNM_CC1/1*

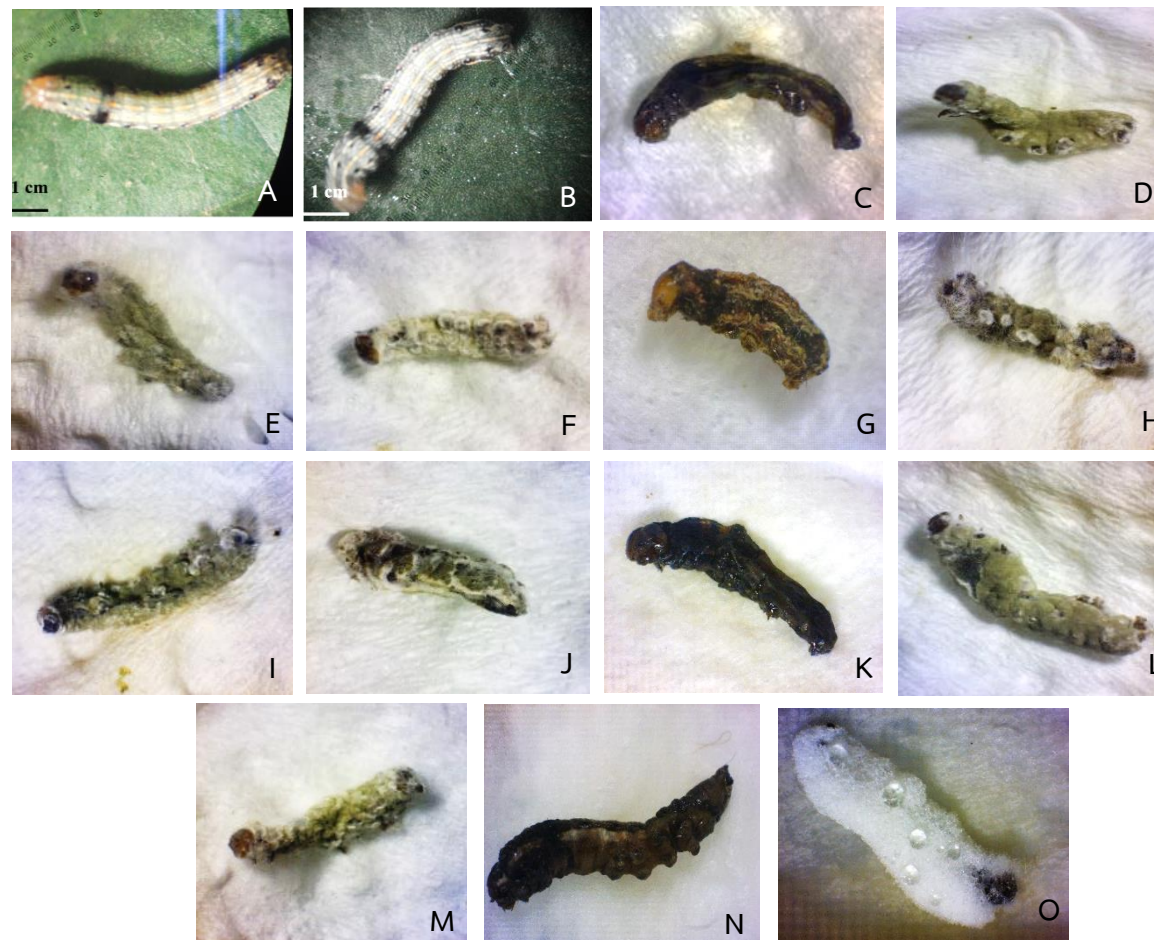


Figure 2 Symptoms of *Spodoptera litura* cadavers infected by entomopathogenic fungi
 A) Non-Spraying, B) Tween 20®; 0.05%, C) Insecticide, D) *MetNM_M4/3*, E) *MetNM_M7/3*,
 F) *MetNM_M8/6*, G) *MetNM_M10/2*, H) *MetNM_M11/1*, I) *MetNM_JKR14/2*, J) *MetNM_JKR16/3*,
 K) *MetNM_JKR17/2*, L) *MetNM_JKR18/4*, M) *MetNM_JKR19/4*, N) *MetNM_NBM10/3* and O) *BbNM_CC1/1*

Table 2 Mortality (means) and cumulative mortality (means $\pm$ SD) of the 3rd instar larvae of *Spodoptera litura* subjected to different treatments

Treatments	Mortality (%) on different days after treatment														Cumulative mortality (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Non-spraying (control)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00 $\pm$ 0.00h
Tween 20®; 0.05% (control)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00 $\pm$ 0.00h
Insecticide (chlorpyrifos)	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100.00$\pm$0.00a
MetNM_M4/3	0	0	3.33	8.33	1.67	1.67	0	0	0	0	0	0	0	0	15.00 $\pm$ 5.00ef
MetNM_M7/3	0	0	3.33	13.33	1.67	1.67	0	0	0	0	0	0	0	0	20.00 $\pm$ 5.00de
MetNM_M8/6	0	0	10	13.33	8.33	1.67	0	0	0	0	0	0	0	0	33.33 $\pm$ 2.89c
MetNM_M10/2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00 $\pm$ 0.00h
MetNM_M11/1	0	0	3.33	3.33	5	3.33	0	0	0	0	0	0	0	0	15.00 $\pm$ 5.00ef
MetNM_JKR14/2	0	0	0	3.33	3.33	3.33	1.67	0	0	0	0	0	0	0	11.67 $\pm$ 2.89fg
MetNM_JKR16/3	0	0	0	3.33	1.67	0	1.67	0	0	0	0	0	0	0	6.67 $\pm$ 2.89gh
MetNM_JKR17/2	0	0	0	0	1.67	1.67	0	0	0	0	0	0	0	0	3.33 $\pm$ 2.89h
MetNM_JKR18/4	0	8.33	25	26.67	0	6.67	0	0	0	0	0	0	0	0	66.67 $\pm$ 7.64b
MetNM_JKR19/4	0	0	6.67	5	5	5	0	1.67	1.67	0	0	0	0	0	25.00 $\pm$ 5.00d
MetNM_NBM10/3	0	0	0	0	0	1.67	1.67	0	0	0	0	0	0	0	3.33 $\pm$ 2.89h
BbNM_CC1/1	0	10	35	23.33	23.33	5	0	0	0	0	0	0	0	0	96.67$\pm$2.89a
<i>P-value</i>	<0.0001**														

Means $\pm$ SD in a column followed by a common letter are not significantly different ($P>0.05$) according to DMRT.

SD = Standard deviation, ** = Significantly different at 99% confidence level

Table 3 Infection (means) and cumulative infection (means $\pm$ SD) of the 3rd instar larvae of *Spodoptera litura* subjected to different treatments

Treatments	Infection (%) on different days after treatment														Cumulative infection (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Non-spraying (control)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00 $\pm$ 0.00f
Tween 20 [®] ; 0.05% (control)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00 $\pm$ 0.00f
Insecticide (chlorpyrifos)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00 $\pm$ 0.00f
MetNM_M4/3	0	0	0	3.33	1.67	5	1.67	1.67	0	0	0	0	0	0	13.33 $\pm$ 5.77e
MetNM_M7/3	0	0	0	3.33	1.67	8.33	3.33	3.33	0	0	0	0	0	0	20.00 $\pm$ 5.00d
MetNM_M8/6	0	0	0	3.33	10	6.67	5	6.67	0	1.67	0	0	0	0	33.33 $\pm$ 2.89c
MetNM_M10/2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00 $\pm$ 0.00f
MetNM_M11/1	0	0	0	0	1.67	5.00	1.67	1.67	0	0	0	0	0	0	10.00 $\pm$ 5.00e
MetNM_JKR14/2	0	0	0	0	3.33	1.67	1.67	0	0	0	0	0	0	0	6.67 $\pm$ 2.89ef
MetNM_JKR16/3	0	0	0	0	3.33	1.67	0	0	1.67	0	0	0	0	0	6.67 $\pm$ 2.89ef
MetNM_JKR17/2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00 $\pm$ 0.00f
MetNM_JKR18/4	0	0	0	0	21.67	20	6.67	13.33	3.33	1.67	0	0	0	0	66.67 $\pm$ 7.64b
MetNM_JKR19/4	0	0	0	0	5	11.67	3.33	1.67	1.67	0	0	0	0	0	23.33 $\pm$ 7.64d
MetNM_NBM10/3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00 $\pm$ 0.00f
BbNM_CC1/1	0	0	6.67	10	26.67	28.33	16.67	6.67	1.67	0	0	0	0	0	96.67 $\pm$ 2.89a
<i>P-value</i>															<0.0001**

Means $\pm$ SD in a column followed by a common letter are not significantly different ($P>0.05$) according to DMRT.

SD = Standard deviation, ** = Significantly different at 99% confidence level

3.3. การเพิ่มปริมาณเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* ด้วยเมล็ดธัญพืช

เชื้อราขาว *B. bassiana* ไอโซเลต BbNM_CC1/1 ที่เข้าทำลายหนอนกระพี้ได้ดีที่สุด ถูกนำมาเพิ่มปริมาณสปอร์ด้วยเมล็ดธัญพืชทั้ง 5 ชนิด (Table 4) จะเห็นว่าในทุกกรรมวิธีนั้นจำนวนสปอร์เพิ่มขึ้นตามอายุเชื้อที่เพิ่มขึ้น ที่อายุเชื้อ 21 วัน เมล็ดข้าวสารหักมีจำนวนสปอร์สูงสุด (4.10×10^8 สปอร์/กรัม) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับข้าวโพดบดหยาบ (3.89×10^8 สปอร์/กรัม) ส่วนเมล็ดข้าวเปลือกมีปริมาณสปอร์น้อยที่สุด (2.40×10^8 สปอร์/กรัม)

4. อภิปรายผลการวิจัย

การแยกเชื้อราก่อโรคแมลง (ราเขียว *Metarhizium* spp. และราขาว *B. bassiana*) จากตัวอย่างดินในการศึกษานี้ เชื้อราที่แยกได้มีลักษณะโคโลนีและการเจริญแตกต่างกันไปในแต่ละไอโซเลต สอดคล้องกับ Thaochan and Sausa-Ard [21] ที่รายงานว่าเชื้อรา *M.anisopliae* ที่แยกจากดินในเขตพื้นที่ภาคใต้ เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร SDAY (Sabouraud

dextrose agar + yeast extract) เชื้อราจะมีลักษณะโคโลนีและการเจริญแตกต่างกัน เช่นเดียวกับ Sepulveda et al. [22] ที่พบว่าเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ต่างไอโซเลต มีลักษณะโคโลนีแตกต่างกัน และเมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต่างกัน แม้เป็นไอโซเลตเดียวกันลักษณะโคโลนีก็มีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นว่าเชื้อราขาว *B. bassiana* (BbNM_CC1/1) จะเจริญบนอาหาร PDA ช้ากว่าเชื้อรา *Metarhizium* spp. ไอโซเลตอื่น ๆ ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากอาหาร PDA ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราดังกล่าว ซึ่งเชื้อราแต่ละชนิดต้องการสารอาหารในการเจริญและสร้างสปอร์ต่างกัน อีกทั้งขึ้นอยู่กับสภาวะของเชื้อ เป็นต้น โดยเฉพาะปริมาณและสัดส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจน ซึ่ง Deb et al. [23] รายงานว่าเชื้อรา *B. bassiana* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร Sabouraud dextrose yeast agar (SDYA) และ Sabouraud dextrose agar (SDA) ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิดนี้มีส่วนผสมของ peptone ซึ่งถือว่าเป็นแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญในการเจริญของเชื้อรานั่นเอง

Table 4 Spore yields (means $\pm$ SD) of the isolate *Beauveria bassiana*, BbNM_CC1/1 cultivated on different cereal grains

Cereal grains	Spore yields ($\times 10^8$ spores/g) at different cultivation times		
	7 days	14 days	21 days
Sorghum	3.17 $\pm$ 0.02b	3.49 $\pm$ 0.18a	3.71 $\pm$ 0.14b
Unmilled rice	0.44 $\pm$ 0.03d	2.21 $\pm$ 0.20b	2.40 $\pm$ 0.13d
Maize	1.75 $\pm$ 0.05c	2.71 $\pm$ 0.45b	3.01 $\pm$ 0.32c
Broken maize	3.34 $\pm$ 0.26ab	3.68 $\pm$ 0.12a	3.89 $\pm$ 0.12ab
Broken rice	3.46 $\pm$ 0.20a	3.87 $\pm$ 0.35a	4.10 $\pm$ 0.11a
<i>P-value</i>	<0.0001**	<0.0001**	<0.0001**

Means $\pm$ SD in a column followed by a common letter are not significantly different ($P>0.05$) according to DMRT.

SD = Standard deviation, ** = Significantly different at 99% confidence level

ในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราก่อโรคแมลงต่อการเข้าทำลายหนอนกระพี้ 3 จะเห็นว่าเชื้อราทั้ง 12 ไอโซเลต เข้าทำลายหนอนกระพี้ได้แตกต่างกันทั้งความเร็วและความรุนแรงของเชื้อ โดยเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลต BbNM_CC1/1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการเข้าทำลายหนอนกระพี้ 3 ทั้งความไวในการเข้าทำลายซึ่งพิจารณาจากการตายของหนอนและการติดเชื้อที่ใช้เวลาน้อยกว่าไอโซเลตอื่น ๆ

อีกทั้งยังมีการติดเชื้อสะสมมากที่สุด ทั้งนี้การตายของหนอนทั้งหมดเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ โดยสังเกตจากการปกคลุมของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราบนตัวหนอน ระยะเวลาที่เชื้อเข้าทำลายหนอนจนกระทั่งแทงเส้นใยและสร้างสปอร์ใช้เวลาประมาณ 3-5 วัน สอดคล้องกับ Indriyanti et al. [24] ที่รายงานว่าระยะเวลาที่เชื้อรา *B. bassiana* เข้าทำลายหนอนกระพี้ 3 ตั้งแต่การปลูกเชื้อจนกระทั่งหนอนตายใช้เวลา

ประมาณ 4-6 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเชื้อ อีกทั้งความเร็วในการเข้าทำลายแมลงนั้นขึ้นอยู่กับความรุนแรงของเชื้อในการแทงเส้นใยเข้าสู่ผนังลำตัวแมลงด้วย [25], [26] ส่วนเชื้อบางไอโซเลตนั้น ไม่พบการตายของหนอนหรือมีการตายของหนอนกระพุ่มเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความสามารถในการทำให้เกิดโรคและความรุนแรงของเชื้อ จึงไม่สามารถทำให้หนอนตายได้ แต่เชื้อราอาจจะไปมีผลต่อพัฒนาการและการเจริญเติบโต การผิดปกติของดักแด้หรือตัวเต็มวัย อายุของตัวเต็มวัยสั้นลง รวมไปถึงการฟัก และจำนวนไข่ในตัวเต็มวัย [27], [28] ซึ่งในบางไอโซเลตพบการตายของหนอนมากกว่าการติดเชื้อนั้น การตายนั่นนี้อาจเนื่องมาจากสาเหตุอื่นที่ไม่ใช่สาเหตุมาจากเชื้อรา หรืออาจจะเป็นไปได้ว่าหนอนกระพุ่มตายเนื่องจากสารพิษจากเชื้อรา แต่เชื้อราไม่สามารถเพิ่มปริมาณและแทงเส้นใยออกมาภายนอกลำตัวของหนอนได้ จึงไม่ปรากฏเห็นเส้นใยของเชื้อราแทงออกมาจากลำตัวหนอน อีกทั้งเชื้อราบางไอโซเลตไม่สามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูได้ ซึ่งเชื้อราแต่ละไอโซเลตมีความจำเพาะเจาะจงกับแมลงได้ต่างชนิดกัน [29] อย่างไรก็ตามการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรายังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง นอกจากชนิดความรุนแรงและความเข้มข้นของเชื้อราแล้ว ชนิดของแมลงเป้าหมาย ระยะเวลาที่เชื้อสัมผัสกับตัวแมลง รวมทั้งปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ แสงแดด และปริมาณน้ำฝน ก็เป็นปัจจัยสำคัญเช่นกัน [30] ส่วนการเพิ่มปริมาณเชื้อรา *BbNM_CC1/1* จะเห็นว่าเมล็ดข้าวสารหักมีความเหมาะสมที่จะนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณสปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* มากที่สุด สอดคล้องกับ Seema et al. [31] ที่รายงานว่าเมล็ดข้าวสารเป็นอาหารแข็งที่ดีที่สุดสำหรับการเพิ่มปริมาณเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดข้าวโพด, เมล็ดฝ้าย, เมล็ดข้าวสาลี, แกลบ และรำข้าว อีกทั้ง Vats et al. [32] ยังได้รายงานว่าเมล็ดข้าวสารหักสามารถเพิ่มปริมาณเชื้อรา *M. anisopliae* และเชื้อรา *B. bassiana* ได้ดีที่สุดเช่นกัน ส่วน Rai et al. [33] ก็ได้รายงานว่าเชื้อรา *B. bassiana* สร้างสปอร์ได้ดีบนเมล็ดข้าวสารหักและสปอร์มีการงอกสูงที่สุด รองลงมาคือข้าวฟ่าง และข้าวโพด ตามลำดับ ในขณะที่ Mar and Lumyong [34] รายงานว่าเชื้อราต่างไอโซเลตสามารถสร้างสปอร์บนเมล็ดธัญพืชได้ต่างกัน ซึ่งเชื้อรา *B. bassiana* สร้างสปอร์ได้มากที่สุดบนเมล็ดข้าวโพดแต่ไม่แตกต่างกับการสร้างสปอร์บน

เมล็ดข้าว การที่เชื้อราขาว ไอโซเลต *BbNM_CC1/1* สามารถสร้างสปอร์ได้ปริมาณมากบนเมล็ดข้าวสารหัก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากข้าวสารหักมีขนาดของเมล็ดที่เล็กกว่าธัญพืชชนิดอื่น ๆ และมีพื้นที่ให้เชื้อราเจริญและสร้างสปอร์ได้มากกว่า อีกทั้งเมล็ดข้าวสารเมื่อแช่น้ำแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เมล็ดที่ได้มีความชื้นพอเหมาะต่อการเจริญของเชื้อรา ในขณะที่เมล็ดข้าวโพดและเมล็ดข้าวเปลือกเมล็ดมีลักษณะแข็งทำให้เชื้อราสร้างเส้นใยได้ช้า ซึ่งลักษณะโครงสร้างและรูปร่างลักษณะของเมล็ดธัญพืชที่นำมาเพิ่มปริมาณเชื้อรามีความสำคัญต่อการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อราด้วย [35] อย่างไรก็ตามการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อราก่อโรคแมลงยังมีปัจจัยอย่างอื่นที่สำคัญด้วย เช่น ไอโซเลตของเชื้อ, ความเข้มข้นของเชื้อที่ใช้เพิ่มปริมาณ, สภาพแวดล้อมที่ใช้เพิ่มปริมาณเชื้อ เช่น ช่วงแสง, อุณหภูมิ และระยะเวลาในการบ่มเชื้อ เป็นต้น [36]

5. บทสรุป

เชื้อราก่อโรคแมลงที่รวบรวมได้ในเขตจังหวัดนครราชสีมา จำนวน 12 ไอโซเลต (เชื้อราเขียว *Metarhizium* spp. จำนวน 11 ไอโซเลต และเชื้อราขาว *B. bassiana* จำนวน 1 ไอโซเลต) สามารถเข้าทำลายหนอนกระพุ่มได้ จำนวน 9 ไอโซเลต และเชื้อราขาว *B. bassiana* (*BbNM_CC1/1*) เข้าทำลายหนอนกระพุ่มได้ดีที่สุด ส่วนการเพิ่มปริมาณเชื้อรา *B. bassiana* (*BbNM_CC1/1*) ด้วยเมล็ดข้าวสารหักนั้นผลิตสปอร์ได้มากที่สุด รองลงมาคือเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ ดังนั้นเชื้อรา *BbNM_CC1/1* จึงมีความเหมาะสมสำหรับการนำไปทดลองควบคุมหนอนกระพุ่มในสภาพเรือนทดลอง และสภาพแปลงปลูกต่อไป

6. กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี คณะวิจัยขอขอบคุณแหล่งทุนที่ให้การสนับสนุนสำหรับการดำเนินการวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน ประจำปีงบประมาณ 2562 ขอขอบคุณคณะนวัตกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร และคณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน ศูนย์กลาง นครราชสีมา ที่เอื้ออำนวยความสะดวกสำหรับการดำเนินงานวิจัย

7. References

- [1] Chari, M.S. and Patel, N.G. 1983. Cotton leaf worm *Spodoptera litura* (Fab.), its biology and integrated control measures. **Cotton Development**. 13: 7-8.
- [2] Siriphongtangmun, S. and et al. 2016. **Pests of Vegetables, Mushrooms and Flowering Plants**. Nonthaburi: Printing House of the Agricultural Co-operative Federation of Thailand, Ltd. (in Thai)
- [3] Mochida, O. 1973. Two important pests, *Spodoptera litura* (F.) and *Spodoptera littoralis* (Boisduval) on various crops: morphological discrimination of the adult, pupal and larval stages. **Applied Entomology and Zoology**. 8: 205-214.
- [4] Matintarangson, N. 2021. Effect of weed crude extract from Asteraceae as the oral toxicity and growth inhibition on common cutworm. **Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University**. 23(2): 12-17. (in Thai)
- [5] Isenring, R. 2010. Pesticides reduce biodiversity. **Pesticides News**. 88: 4-7.
- [6] Mitra, A., Chatterjee, C. and Mandal, F.B. 2011. Synthetic chemical pesticides and their effects on birds. **Research Journal of Environmental Toxicology**. 5(2): 81-96.
- [7] Nicolopoulou-Stamati, P. and et al. 2016. Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. **Frontiers in Public Health**. 4: 1-8.
- [8] Sarwar, M. and Salman, M. 2015. Insecticides resistance in insect pests or vectors and development of novel strategies to combat its evolution. **International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering**. 1(3): 344-351.
- [9] Abbas, N. and et al. 2014. Resistance of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) to profenofos: Relative fitness and cross resistance. **Crop Protection**. 58: 49-54.
- [10] Whalon, M.E., Mota-Sanchez, D. and Hollingworth, R.M. 2008. Analysis of global pesticide resistance in arthropods. In: Whalon, M.E., Mota-Sanchez, D. and Hollingworth, R.M. (eds.) **Global Pesticide Resistance in Arthropods**. Wallingford: CAB International.
- [11] Bhatt, P., Thodsare, N. and Srivastava, R.P. 2014. Toxicity of some bioactive medicinal plant extracts to Asian army worm, *Spodoptera litura*. **Journal of Applied and Natural Science**. 6(1): 139-143.
- [12] Samson, R.A., Evans, H.C. and Latge, J.P. 1988. **Atlas of Entomopathogenic Fungi**. Berlin: Springer Verlag.
- [13] Thackar, J.R.M. 2002. **An Introduction to Arthropod Pest Control**. Cambridge: Cambridge University Press.
- [14] Um, M. and et al. 2018. A review on the use of entomopathogenic fungi in the management of insect pests of field crops. **Journal of Entomology and Zoology Studies**. 6(1): 27-32.
- [15] Aw, K.M.S. and Hue, S.M. 2017. Mode of infection of *Metarhizium* spp. fungus and their potential as biological control agents. **Journal of Fungi**. 3(30): 2-20.
- [16] Altinok, H.H., Altinok, M.A. and Koca, A.K. 2020. Mode of action of entomopathogenic fungi. **Current Trends in Natural Sciences**. 8(16): 117-124.
- [17] Bidochka, M.J., Kasperski, J.E. and Wild, G.A.M. 1998. Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soil from temperate and near northern habitats. **Canadian Journal of Botany**. 76: 1198-1204.
- [18] Humber, R.A. 2012. Identification of entomopathogenic fungi. In: Lacey, L.A. (ed.) **Techniques in Invertebrate Pathology**. London: Academic Press.

- [19] Han, H. J. and et al. 2012. Virulence of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* for the microbial control of *Spodoptera exigua*. **Journal of Microbiology**. 18(9): 385-390.
- [20] Natongkham, A. and et al. 2010. The efficiency of Northeastern isolates of green muscardine fungi *Metarhizium* spp. on controlling economic insect pests. **KKU Research Journal**. 15(10): 930-940. (in Thai)
- [21] Thaochan, N. and Sausa-Ard, W. 2017. Occurrence and effectiveness of indigenous *Metarhizium anisopliae* against adults *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) in Southern Thailand. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**. 39(3): 325-334.
- [22] Sepulveda, M. and et al. 2016. Molecular, morphological and pathogenic characterization of six strains of *Metarhizium* spp. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for the control of *Aegorhinus superciliosus* (Coleoptera: Curculionidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**. 76: 77-83.
- [23] Deb, L., Thangaswamy, R. and Monika, H. 2017. Growth of *Beauveria bassiana* in different solid media. **Trends in Biosciences**. 10(23): 4815-4817.
- [24] Indriyanti, D.R., Mahmuda, S. and Slamet, M. 2017. Effect of *Beauveria bassiana* doses on *Spodoptera litura* mortality. **International Journal of Scientific & Technology Research**. 6(09): 206- 210.
- [25] St. Leger, R.J., Staples, R.C. and Roberts, D.W. 1991. Entomopathogenic isolates of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Aspergillus flavus* produce multiple extracellular chitinase isozymes. **Journal of Invertebrate Pathology**. 61: 81-84.
- [26] St. Leger, R.J. and et al. 1996. Construction of an improved mycoinsecticide overexpressing a toxic protease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 93: 6349-6354.
- [27] Malarvannan, S. and et al. 2010. Laboratory evaluation of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* against the tobacco caterpillar, *Spodoptera litura* Fabricius (Noctuidae: Lepidoptera). **Journal of Biopesticides**. 3(1 Special Issue): 126-131.
- [28] Baskar, K. and et al. 2012. Larvicidal and growth inhibitory activities of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* against Asian army worm, *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Entomology**. 9: 155-162.
- [29] Sirimungkararat, S. 2018. **Insect Pathology and Application**. Khon Kean: KKU Printing House. (in Thai)
- [30] Bugti, G.A. and et al. 2020. Entomopathogenic fungi: Factors involved in successful microbial control of insect pests. **European Journal of Entomology**. 17: 74-83.
- [31] Seema, Y., Neeraj, T. and Krishan, K. 2013. Mass production of entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* using rice as a substrate by diphasic liquid-solid fermentation technique. **International Journal of Advanced Biological Research**. 3: 331-335.
- [32] Vats, S., Singh, R.K. and Singh, B. 2015. Mass production of *Beauveria bassiana* (NCIM No.1300) fungal spores on cereal grains and agro-industrial residues. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**. 6(1): 57-60.
- [33] Rai, R., Pandey, R. and Tamta, A.K. 2021. Mass multiplication of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* with agroindustrial wastes. **Indian Journal of Entomology**. 83(4): 644-645.

- [34] Mar, T.T. and Lumyong, S. 2012. Conidial production of entomopathogenic fungi in solid state fermentation. **KKU Research Journal**. 17(5): 762-768.
- [35] Jaronski, S.T. and Mascarin, G.M. 2017. Mass production of fungal entomopathogens. In: Lacey, L.A. (ed.) **Microbial Control of Insect and Mite Pests**. London: Academic Press.
- [36] Taylor, B. and et al. 2013. Yield and germination of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* when grown on different rice preparations. **Journal of Stored Products Research**. 53: 23-26.