

กระบวนการทำแห้งเชื้อราเมตาโรเซียมและประสิทธิภาพในการควบคุม
หนอนด้วงแรดมะพร้าว

**Metarhizium Pellet Drying Process and Efficiency in Controlling the Coconut
Rhinoceros Beetle Larvae**

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์^{1/} ทิภาพร นวลเนตร^{1/} ภัททิรา ศาตรังษ์^{1/}
Saowanit popoonsak^{1/} Thiphaphorn naunnet^{1/} Pattira satwong^{1/}

Received 09 Apr. 2022/Revised 29 May. 2022/Accepted 06 Jul. 2022

ABSTRACT

The study of drying processes for *Metarhizium* fungal fresh culture pellets formulation was conducted under laboratory condition, between October 2019 to September 2021. Two methods of drying; dehydrating at 50 ± 2 °C in a hot air oven and dehydrating at 30 ± 3 °C in a 3x3 meter sterile room were compared. The tested samples were collected after 24, 48, 72, and 96 hrs. of drying. the number of conidia, the fungal viability (coony forming unit: CFU) and the moisture content of pellets from both methods were measured. In conclusion, the best method for drying *Metarhizium* is the sterile room at 30 ± 3 °C for 24 hrs. which yield highest conidia germination. Pellets obtained from this process was able to control the coconut rhinoceros beetle larvae effectively. There were no statistically significant difference in the number of conidia from both methods at 24 hrs. There were 1.09×10^8 , 3.12×10^8 and 1.50×10^8 conidia/ml. from hot air oven method and 2.32×10^8 , 2.55×10^8 and 2.18×10^7 conidia/ml. from sterile room method. However, the fungal viability in the sterile room drying method (6.25×10^7 , 5.17×10^7 and 2.73×10^8 cfu/g) was higher than a those from hot air oven drying method (3.64×10^5 , 2.65×10^6 and 1.95×10^7 cfu/g) in all three tests. The moisture content in a hot air oven drying method (1.91, 2.64 and 1.39 %) was greater than the sterile room drying method (4.77, 3.63 and 3.32 %). There was no significant difference of both methods in controlling the coconut rhinoceros beetle larvae (100 %). Considering the cost of electricity, the sterile room drying method (37.55 baht /day) costed seven times lower than a hot air oven drying method (268.10 baht/day).

Keywords: *Metarhizium*, entomopathogenic fungi, drying production, biocontrol

^{1/} สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 50 ถนนพหลโยธิน จตุจักร กทม 10900.

^{1/} Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, 50 Paholyothin Rd., Chatuchak, Bangkok, 10900.

*Corresponding author: saowanit_m@yahoo.com

ศึกษาวิธีการทำแห้งราเขียวเมตาโรเซียมรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ดในห้องปฏิบัติการ ระหว่างเดือน ต.ค. 2562 ถึง ก.ย. 2564 เปรียบเทียบ 2 กรรมวิธีคือ การทำแห้งโดยใช้ตู้อบที่อุณหภูมิ $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และการทำแห้งโดยการตากในห้องปลอดเชื้อระบบปิดควบคุมอุณหภูมิ $30 \pm 3^{\circ}\text{C}$ สุ่มเก็บตัวอย่างที่ 24, 48, 72 และ 96 ชม. ระหว่างการทำแห้ง นับจำนวนโคนินเดีย ความมีชีวิตรอดของราเขียว และความชื้น วิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้ T-test พบว่า การตากชีวภัณฑ์ในห้องปิด ($30 \pm 3^{\circ}\text{C}$) 24 ชม. เป็นวิธีที่เหมาะสม ชีวภัณฑ์ยังคงมีคุณภาพรักษาปริมาณความมีชีวิตรอดของเชื้อได้ และมีประสิทธิภาพควบคุมหนอนด่างแรมมะพร้าวผลการทดลอง 3 ครั้ง พบว่า ที่ 24 ชม. จำนวนโคนินเดียไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธีอบมีจำนวนโคนินเดีย 1.09×10^8 , 3.12×10^8 และ 1.50×10^8 โคนินเดีย/มล. วิธีการตากมีจำนวนโคนินเดีย 2.32×10^8 , 2.55×10^8 และ 2.18×10^7 โคนินเดีย/มล. ตามลำดับ ส่วนความมีชีวิตรอดของราพบว่า การตากในห้องปลอดเชื้อมีปริมาณเชื้อรา 6.25×10^7 , 5.17×10^7 และ 2.73×10^8 หน่วยโคโลนี/ก. ขณะที่การอบมีปริมาณเชื้อรา 3.64×10^5 , 2.65×10^6 และ 1.95×10^7 หน่วยโคโลนี/ก. ส่วนความชื้นของชีวภัณฑ์ พบความแตกต่างทางสถิติทั้ง 3 ครั้งของการทดสอบ วิธีการอบทำให้ความชื้นลดลง 1.91, 2.64 และ 1.39 % ขณะที่วิธีการตากลดความชื้นได้ 4.77, 3.63 และ 3.32 % ทั้ง 2 กรรมวิธีพบว่า มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนด่างแรมมะพร้าวได้ 100 % เมื่อพิจารณาต้นทุนค่าไฟฟ้าพบว่า วิธีการตากในห้องปิดมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าวิธีการอบถึง 7 เท่า โดยการตากมีต้นทุนค่าไฟฟ้า 37.55 บาท/วัน ขณะที่การอบมีต้นทุนค่าไฟฟ้า 268.10 บาท/วัน

ได้คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ในห้องปฏิบัติการ และประสบความสำเร็จในการนำไปควบคุมแมลงศัตรูมะพร้าวได้แก่ หนอนด้วงแรด, หนอนแมลงดำหนาม และ หนอนหัวดำมะพร้าว จากนั้น อัมพร และคณะ (2560) ได้นำไปขยายผลในพื้นที่ อ.เกาะสมุย จ.สุราษฎร์ธานี ระหว่างเดือน ม.ค.-ส.ค. 2556 โดยคัดเลือกพื้นที่ที่มีการระบาดของด้วงแรด และจัดทำกองล่อตามความสมัครใจของเกษตรกรเจ้าของแปลง มีเกษตรกรเข้าร่วมจำนวน 29 ราย 51 กองล่อ พบว่า หลังใส่ราเขียวเมตาไรเซียมในเดือนที่ 1 พบการติดเชื้อของหนอนด้วงแรดค่อนข้างน้อย (17.31%) ในเดือนที่ 2 พบหนอนด้วงแรดติดเชื้อมากถึง 98.08% และในเดือนที่ 3 พบหนอนด้วงแรดติดเชื้อราเขียวมากที่สุด 100% ต่อมา ได้ศึกษารูปแบบการผลิตชีวภัณฑ์เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม และการประยุกต์ใช้ชีวภัณฑ์กำจัดด้วงแรด และพัฒนากระบวนการผลิตในรูปแบบที่สะดวกต่อการใช้และการเก็บรักษา โดยศึกษาการผลิตในรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ด (pellet) พบว่า ยังคงมีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงแรดได้ดี ไม่แตกต่างจากการใช้เชื้อสดตามแนะนำ (เสาวนิตย์ และคณะ, 2561)

อย่างไรก็ตาม การผลิตชีวภัณฑ์เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ดที่ผ่านมามักประสบปัญหาเรื่องกระบวนการทำแห้งเนื่องจาก ห้องปฏิบัติการมีขนาดเล็กและมีพื้นที่ค่อนข้างจำกัด ดังนั้น การทำแห้งชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จึงจำเป็นต้องนำเข้าตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 50°C. เพื่อรักษาความมีชีวิตของเชื้อรา การอบแต่ละครั้งสามารถใส่ชีวภัณฑ์ในตู้อบได้ไม่เกิน 2.8 กก. และต้องใช้เวลาในการอบ 1 วัน จากนั้น จึงย้ายชีวภัณฑ์ใส่ตู้ดูดความชื้นเพื่อตั้งออกให้เหลือไม่เกิน 5% การผลิตชีวภัณฑ์ในรูปแบบเชิงพาณิชย์จำเป็นต้องผลิตในปริมาณมาก

เพื่อประหยัดเวลาและลดต้นทุน ดังนั้น การทำแห้งชีวภัณฑ์โดยวิธีการอบจึงอาจไม่เหมาะสมสำหรับเกษตรกรที่จะนำไปใช้ วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อเปรียบเทียบกรรมวิธีการทำแห้งเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ด โดยใช้อุณหภูมิในตู้อบความร้อน $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$. และการตากที่อุณหภูมิห้อง เปรียบเทียบความแตกต่างข้อดี ข้อเสีย ของแต่ละวิธี เพื่อเป็นแนวทางสำหรับการผลิตขยายผลต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเลี้ยงขยายเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *Metarhizium anisopliae* (DOA-M5)

1.1 การเลี้ยงขยายเชื้อราเพื่อใช้เป็น stock culture

เชื้อราเมตาไรเซียม *Metarhizium anisopliae* (DOA-M5) ที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้ เป็นเชื้อที่แยกได้จากหนอนด้วงแรดมะพร้าวที่ติดเชื้อในธรรมชาติ โดยเก็บจากแปลงมะพร้าว อ.ลำลูกกา จ.ปทุมธานี เมื่อปี พ.ศ. 2548 ได้ผ่านการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพแล้วว่า สามารถใช้ควบคุมหนอนด้วงแรดได้ดี (เสาวนิตย์ และคณะ, 2553) นำ stock เชื้อรา DOA-M5 มาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว potato dextrose broth (PDB) เพื่อเป็นเชื้อตั้งต้น (inoculum) โดย ตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราขนาดประมาณ 1 X 1 ซม. ย้ายใส่ลงในฟลasksอาหารเหลว PDB ปริมาตร 200 มล./ฟลask นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า (rotary shaker) ความเร็ว 180 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจเช็คการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ก่อนจะนำมาเลี้ยงขยายต่อบนข้าวโพดบดหยาบ

1.2 การเลี้ยงขยายเชื้อราบนข้าวโพดบดหยาบ

เลี้ยงขยายเชื้อราเมตาไรเซียมบนข้าวโพด

บดหยาบในห้องปลอดเชื้อขนาด 3 x 3 ม. บรรจุข้าวโพดบดหยาบใส่ถุงพลาสติกทนร้อนถ่วงละ 600 ก. เติมน้ำ 600 มล. ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C. ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว เป็นเวลา 20 นาที จากนั้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วย้ายเชื้อราเมตาโรเซียมที่เลี้ยงไว้ในข้อ 1.1 ใส่ในถุงที่บรรจุข้าวโพดบดหยาบปริมาตร 4 มล./ถุง คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร จากนั้น นำถุงเชื้อมาวางบนชั้นเลี้ยง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง $30 \pm 3^{\circ}\text{C}$. เป็นเวลา 14 วัน เชื้อราเมตาโรเซียมจะสร้างโคนิเดียเจริญเต็มถุง จึงนำเชื้อสดที่ได้ไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

2. ศึกษากระบวนการทำแห้งเชื้อราเมตาโรเซียมในรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ด

นำเชื้อราเมตาโรเซียมทั้งหมดที่เลี้ยงได้ในข้อ 1.2 ไปผลิตชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ดตามวิธีการของเสาวนิตย์ และคณะ (2561) แบ่งชีวภัณฑ์ที่ได้จากการอัดเม็ดออกเป็น 2 ส่วน เพื่อนำไปศึกษากระบวนการทำแห้ง 2 กรรมวิธี ทำการทดสอบเปรียบเทียบจำนวน 3 ครั้ง การทดสอบครั้งที่ 1 เดือนตุลาคม 2563 การทดสอบครั้งที่ 2 เดือนมกราคม 2564 และการทดสอบครั้งที่ 3 เดือนกรกฎาคม 2564 ขั้นตอนการทดสอบ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1

นำชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ดใส่ถาดขนาด 20 X 30 ซม. จำนวน 11 ถาด 300 ก./ถาด มาวางในตู้อบ อุณหภูมิ $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$. เป็นเวลานาน 24 ชม. จากนั้น นำมาวางในตู้ดูดความชื้นเป็นเวลา 96 ชม. ทำการสุ่มตรวจทุก ๆ 24 ชม. โดยสุ่มตัวอย่าง 5 จุด/ถาด เก็บตัวอย่างที่มุมถาดทั้ง 4 จุด (ด้าน) และเก็บบริเวณกลางถาด 1 จุด จากนั้น นำตัวอย่างมารวมกันเพื่อเป็นตัวแทนหาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคนิเดียของหน่วยทดลองนั้น ๆ ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตรอดของเชื้อ (Colony Forming Unit,

CFU) ในแต่ละถาด และค่าเฉลี่ยความชื้นของชีวภัณฑ์อัดเม็ด ชีวภัณฑ์อัดเม็ดที่เหลือจากการตรวจสอบ นำมาบรรจุใส่ถุงออลูมิเนียมฟอยล์ภายใต้ระบบสุญญากาศ เก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ $7 \pm 2^{\circ}\text{C}$. เพื่อรอกการนำไปใช้ทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนด่างเรด บันทีระยะเวลาการทำแห้งชีวภัณฑ์ที่ใช้ทั้งหมด

กรรมวิธีที่ 2

นำชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ดมาวางตากในห้องปิด อุณหภูมิห้อง $30 \pm 3^{\circ}\text{C}$. ที่ทำความสะอาดฆ่าเชื้อก่อนเริ่มทดลอง โดยนำชีวภัณฑ์อัดเม็ดปริมาตร 500 ก. วางบนกระดาษไข ขนาด 50 X 50 ซม. ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว และวางอยู่บนชั้นตากเชื้อแต่ละชั้น จำนวน 11 ชั้น กลี๋ยตัวอย่างให้กระจายตัวเท่า ๆ กัน เปิดพัดลมดูดอากาศ และเครื่องดูดความชื้นไว้ตลอดระยะเวลาทำการทดลอง 96 ชม. สุ่มเก็บตัวอย่างชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ดทุก ๆ 24 ชม. โดย สุ่มเก็บชั้นละ 5 จุด ต่อ 1 หน่วยการทดลอง (ชั้นตากเชื้อ) เก็บชีวภัณฑ์ที่มุมทั้ง 4 จุด และเก็บบริเวณกลางชั้น 1 จุด นำชีวภัณฑ์ที่เก็บทั้ง 5 จุดมารวมกันเพื่อเป็นตัวแทนหาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคนิเดีย ค่าเฉลี่ยปริมาณความมีชีวิตรอดของเชื้อ และค่าเฉลี่ยความชื้นของชีวภัณฑ์อัดเม็ด ชีวภัณฑ์อัดเม็ดที่เหลือจากการตรวจสอบนำมาบรรจุในถุงออลูมิเนียมฟอยล์และเก็บใส่ตู้เย็นเพื่อรอทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนด่างเรดต่อไป

3. การตรวจนับโคนิเดียของเชื้อรา

นำชีวภัณฑ์ที่สิ้นสุดกระบวนการอบแห้งทั้ง 2 กรรมวิธี มาตรวจนับโคนิเดียของเชื้อราโดยวิธีการเจือจาง (dilution plate) เตรียมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อใส่หลอด ๆ ละ 9 มล. ชั่งชีวภัณฑ์อัดเม็ด 1 ก. ใส่ในหลอดทดลอง บั่นให้ชีวภัณฑ์แตกตัวโดยใช้ vortex mixer แล้วทำการเจือจางสารละลายให้มี

ความเข้มข้นเป็น 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ จากหลอดที่ 1 จากนั้นดูดสารแขวนลอยโคโคนีเดียปริมาณ 10 ไมโครลิตร ใส่ใน Hemacytometer ทำการนับจำนวนโคโคนีเดียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40X ตามวิธีการของ Prescott *et.al.* (2001) และวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ T- test

4. การตรวจสอบการมีชีวิตรอดของเชื้อรา (Colony Forming Unit : CFU)

นำตัวอย่างสารแขวนลอยโคโคนีเดียรา ที่ทำการเจือจางแต่ละความเข้มข้นจากข้อ 3 มาทดสอบโดยใช้ไมโครปิเปตดูดสารแขวนลอยโคโคนีเดียปริมาณ 100 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ ใช้แท่งแก้วเกลี่ยให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง $27 \pm 3^{\circ}\text{C}$. ประมาณ 3 - 4 วัน จะพบโคโคนีเดียเชื้อออกเป็นจุดสีขาว นับจำนวนโคโคนีเดียเชื้อที่ขึ้นกระจายบนอาหาร PDA แล้วคูณด้วยระดับการเจือจางที่ใช้เลี้ยงเชื้อ (Breed and Dotterer, 1916)

5. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์กับ หนอนดั่งแรดในสภาพห้องปฏิบัติการ

นำชีวภัณฑ์ราที่ผ่านกระบวนการอบแห้ง ทั้ง 2 กรรมวิธี มาศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุม หนอนดั่งแรดมะพร้าว โดยเตรียมกล่องพลาสติกใสแบบมีฝาปิดขนาด $10 \times 7.5 \times 5$ ตร.ซม. จำนวน 55 กล่อง ต่อ 1 กรรมวิธี เจาะช่องที่ฝา กล่องขนาด 12×17 ซม. ปิดด้วยตาข่ายเพื่อเพิ่มการระบายอากาศ ใส่ก้ามมะพร้าวสับที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 70 ก./กล่อง พ่นน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อให้ ความชื้นบนก้ามมะพร้าวสับ ใส่ชีวภัณฑ์อัดเม็ดที่อบแห้งจากทั้ง 2 กรรมวิธี แยกกันในปริมาณ 2 ก./กล่อง จากนั้น ใส่หนอนดั่งแรดมะพร้าว

1 ตัว/กล่อง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตและบันทึกการติดเชื้อของหนอนดั่งแรดทุก 2 วัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หรือจนกว่าหนอนดั่งแรดจะตาย บันทึกระยะเวลาที่ทำให้หนอนดั่งแรดตายในแต่ละกรรมวิธี

6. เปรียบเทียบต้นทุนค่าไฟฟ้าที่ใช้ในแต่ละกรรมวิธี

คำนวณค่าใช้จ่ายจากการใช้ไฟฟ้า นำมาเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตของแต่ละกรรมวิธี

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเลี้ยงขยายเชื้อราเมตาไรเซียม

เชื้อราเมตาไรเซียมที่เลี้ยงบนข้าวโพดบดหยาบในห้องปลอดเชื้อที่อุณหภูมิห้อง พบว่าสามารถเจริญเติบโตได้ดี โคโคนีเดียเชื้อราเริ่มงอกและเห็นเส้นใยสีขาวเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อภายในเวลา 3-4 วัน จากนั้น เชื้อราจะเริ่มสร้างโคโคนีเดียสีเขียวกระจายจนเต็มถาดอาหาร ซึ่งใช้เวลาในการเลี้ยงทั้งหมด 14 วัน โดยไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น

2. กระบวนการทำแห้งเชื้อราเมตาไรเซียมในรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ด

การทดสอบครั้งที่ 1 ตุลาคม 2563

ชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ดมีความชื้นก่อนทดสอบ 36.55 % มีจำนวนโคโคนีเดีย 2.50×10^8 โคโคนีเดีย/มล. และมีปริมาณเชื้อรา 3.95×10^7 หน่วยโคโคนี/ก.

ความชื้นในผลิตภัณฑ์

หลังจากเข้าตู้อบอุณหภูมิ $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$. เป็นเวลา 24 ชม. ความชื้นในผลิตภัณฑ์ลดลงเหลือ 1.91% และเมื่อเข้าตู้อบความชื้นต่อเนื่องเป็นเวลา 48, 72 และ 96 ชม. ความชื้นในผลิตภัณฑ์จะลดลง

เหลือ 1.40, 1.30 และ 0.91 ตามลำดับ (Table 1) ในขณะที่ ชีวภัณฑ์ที่ตากในห้อยตากเชื้อ ความชื้นในผลิตภัณฑ์จะลดลงเหลือ 4.77 % และความชื้นในผลิตภัณฑ์มีค่าเท่ากับ 4.62, 4.11 และ 4.14 % ตามลำดับ หลังเข้าสู่ตู้ดูดความชื้นเป็นเวลา 48, 72 และ 96 ชม. (Table 1)

จำนวนโคนินเดียและปริมาณการมีชีวิตรอดของเชื้อรา

หลังเข้าสู่ตู้ 24 ชม. พบว่า มีจำนวนโคนินเดีย 1.09×10^8 โคนินเดีย/มล. และมีปริมาณโคโลนีที่ 3.64×10^5 หน่วยโคโลนี/ก. เมื่อดูดความชื้นต่อหลังเข้าสู่ตู้เป็นเวลา 48, 72 และ 96 ชม. จะมีจำนวนโคนินเดียเท่ากับ 1.23×10^8 , 2.05×10^8 และ 1.00×10^8 โคนินเดีย/มล. และพบปริมาณเชื้อรา 1.16×10^6 หน่วยโคโลนี/ก. หลังดูดความชื้นที่ 48 ชม. ขณะที่ 72 และ 96 ชม. หลังดูดความชื้น พบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ไม่สามารถนับโคโลนีของเราได้ ซึ่งคาดว่าเกิดจากการเกลี่ยเชื้อในตู้อบไม่สม่ำเสมอ และในบางจุดที่มีความหนาของชีวภัณฑ์มากเกินไป ทำให้แห้งช้า จุลินทรีย์อื่นมีโอกาสเจริญเติบโตแข่งขันได้ ในขณะที่ชีวภัณฑ์ที่ตากในห้อยตากเชื้อเป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชม. มีจำนวนโคนินเดียเท่ากับ 2.32×10^8 , 1.00×10^8 , 1.68×10^8 และ 1.14×10^8 โคนินเดีย/มล. และมีปริมาณเชื้อรา 6.25×10^7 , 8.18×10^7 , 2.74×10^7 และ 5.22×10^7 หน่วยโคโลนี/ก. ตามลำดับ (Table 1)

การทดสอบครั้งที่ 2 เดือนมกราคม 2564

ชีวภัณฑ์เชื้อสอดัดเม็ดมีความชื้นก่อนทดสอบ 34.67% มีจำนวนโคนินเดีย 2.00×10^8 โคนินเดีย/มล. และมีปริมาณเชื้อรา 3.82×10^7 หน่วยโคโลนี/ก.

ความชื้นในผลิตภัณฑ์

เมื่อเข้าสู่ตู้อบอุณหภูมิ $50 \pm 2^\circ\text{C}$. เป็นเวลา 24 ชม. ความชื้นในผลิตภัณฑ์ลดลงเหลือ

2.64% และเมื่อเข้าสู่ตู้ดูดความชื้นต่อเป็นเวลา 48, 72 และ 96 ชม. ความชื้นในผลิตภัณฑ์จะลดลงเหลือ 1.80, 1.49 และ 1.44% ตามลำดับ ในขณะที่ชีวภัณฑ์ที่ตากในห้อยตากเชื้ออุณหภูมิ $30 \pm 3^\circ\text{C}$. เป็นเวลา 24 ชม.ความชื้นในผลิตภัณฑ์จะลดลงเหลือ 3.63% และมีความชื้น 3.82, 3.79 และ 4.09% เมื่อเพิ่มระยะเวลาตากเชื้อเป็นเวลา 48, 72 และ 96 ชม.ตามลำดับ

จำนวนโคนินเดียและปริมาณการมีชีวิตรอดของเชื้อรา

หลังเข้าสู่ตู้อบ 24 ชม. พบว่า มีจำนวนโคนินเดีย 3.12×10^8 โคนินเดีย/ก. และมีปริมาณเชื้อรา 2.65×10^6 หน่วยโคโลนี/ก. เมื่อดูดความชื้นต่อเป็นเวลา 48, 72 และ 96 ชม. พบว่า มีจำนวนโคนินเดีย 2.75×10^8 , 2.13×10^8 และ 1.16×10^8 โคนินเดีย/ก. และพบปริมาณเชื้อราหลังดูดความชื้น 48, 72 และ 96 ชม.ที่ 8.55×10^5 , 4.36×10^5 และ 2.17×10^7 หน่วยโคโลนี/ก. ในขณะที่ชีวภัณฑ์ที่ตากในห้อยตากเชื้อมีจำนวนโคนินเดีย 2.55×10^8 , 2.33×10^8 , 2.45×10^8 และ 1.02×10^8 โคนินเดีย/ก. และมีปริมาณเชื้อรา 5.17×10^7 , 3.40×10^7 , 2.93×10^6 และ 1.89×10^6 หน่วยโคโลนี/ก. หลังตากเชื้อเป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชม. ตามลำดับ (Table 2)

การทดสอบครั้งที่ 3 กรกฎาคม 2564

ชีวภัณฑ์เชื้อสอดัดเม็ดมีความชื้นก่อนทดสอบ 36.06% มีจำนวนโคนินเดีย 2.57×10^8 โคนินเดีย/มล. และมีปริมาณการงอกที่ 5.30×10^7 หน่วยโคโลนี/ก.

ความชื้นในผลิตภัณฑ์ เมื่อเข้าสู่ตู้อบอุณหภูมิ $50 \pm 2^\circ\text{C}$. เป็นเวลา 24 ชม. ความชื้นในผลิตภัณฑ์ลดลงเหลือ 1.39 % และเมื่อดูดความชื้นต่อเป็นเวลา 48, 72 และ 96 ชม. ความชื้นในผลิตภัณฑ์มีค่า 1.29, 1.29 และ 1.12 % ตามลำดับ ในขณะที่ชีวภัณฑ์ที่ตากในห้อยตากเชื้อ

Table 1 Comparison the moisture content, number of conidia, fungal viability (Colony Forming Unit: CFU) and the efficiency for controlling coconut rhinoceros beetle of *Metarhizium* pellet from two drying methods at the laboratory in October 2020

Treat ment	Before				After 24 hr. ^{1/}				After 48 hr. ^{1/}				After 72 hr. ^{1/}				After 96 hr. ^{1/}			
	MC (%)	No. conidia (conidia /ml)	Fungal viability (cfu/g)		MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	Fungal infection (%)	MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	Fungal infection (%)	MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	Fungal infection (%)	MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	Fungal infection (%)
Hot air oven 50±2°C	36.55 ^{1/}	2.5x10 ⁸	3.95x10 ⁷		1.91	1.09x10 ⁸	3.64x10 ⁵	100	1.40	1.23x10 ⁸	1.16x10 ⁶	100	1.30	2.05x10 ⁸	2/	100	0.91	1.00x10 ⁸	2/	100
sterile room 30±3°C	36.55	2.5x10 ⁸	3.95x10 ⁷		4.77	2.32x10 ⁸	6.25x10 ⁷	100	4.62	1.00x10 ⁸	8.18x10 ⁷	100	4.11	1.68x10 ⁸	2.74x10 ⁷	100	4.14	1.14x10 ⁸	5.22x10 ⁷	100
T-test					34.78**	-2.04 ^{ns}	-4.77**		40.55**	0.58 ^{ns}	-8.84**		41.49**	0.49 ^{ns}			28.45**	-0.58 ^{ns}		

^{1/} Means of 11 trails

^{2/} Contaminated / unable to count spores

** P-value ≤ 0.01

* P-value ≤ of 0.05

ns = non-significant

MC = Moisture Content,

Table 2 Comparison the moisture content, number of conidia, fungal viability (Colony Forming Unit: CFU) and the efficiency for controlling coconut rhinoceros beetle of *Metarhizium* pellet from two drying methods at the laboratory in January 2021

Treat ment	Before			After 24 hr. ^{1/}				After 48 hr. ^{1/}				After 72 hr. ^{1/}				After 96 hr. ^{1/}			
	MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	Fungal infection (%)	MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	Fungal infection (%)	MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	Fungal infection (%)	MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	Fungal infection (%)
Hot air oven 50±2°C	34.67 ^{1/}	2x10 ⁸	3.82x10 ⁷	2.64	3.12x10 ⁸	2.65x10 ⁶	100	1.80	2.75x10 ⁸	8.55x10 ⁵	100	1.49	2.13x10 ⁸	4.36x10 ⁵	100	1.44	1.16x10 ⁸	2.17x10 ⁷	100
sterile room 30±3°C	34.67	2x10 ⁸	3.82x10 ⁷	3.63	2.55x10 ⁸	5.17x10 ⁷	100	3.82	2.33x10 ⁸	3.40x10 ⁷	100	3.79	2.45x10 ⁸	2.93x10 ⁶	100	4.09	1.02x10 ⁸	1.89x10 ⁶	100
T-test				-9.52**	2.07 ^{ns}	-9.73**		-49.60**	0.87 ^{ns}	-3.37**		-26.04**	-0.63 ^{ns}	-5.86**		-41.87**	0.46 ^{ns}	2.66*	

^{1/} Means of 11 trails

** P-value ≤ 0.01

* P-value ≤ 0.05

ns = non-significant

MC = Moisture Content

เป็นเวลา 24 ชม. ความชื้นในผลิตภัณฑ์ลดลงเหลือ 3.32 % และเมื่อเพิ่มระยะเวลาตากเชื้อและความชื้นเป็น 48, 72 และ 96 ชม. ความชื้นในผลิตภัณฑ์มีค่า 3.65, 3.32 และ 3.40 % ตามลำดับ

จำนวนโคนินเดียและปริมาณความมีชีวิตโรค

พบว่า มีจำนวนโคนินเดีย 1.50×10^8 โคนินเดีย/มล. และมีปริมาณเชื้อรา 1.95×10^7 หน่วยโคโลนี/ก. หลังเข้าตูบ 24 ชม. เมื่อดูความชื้นต่อเป็นเวลา 48, 72 และ 96 ชม. จำนวนโคนินเดียลดลงเหลือ 1.91×10^8 , 1.09×10^8 และ 1.68×10^8 โคนินเดีย/มล. และมีปริมาณเชื้อรา 1.25×10^7 , 4.00×10^5 และ 8.09×10^6 หน่วยโคโลนี/ก. ตามลำดับ ในขณะที่ชีวภัณฑ์ที่ตากในห้องตากเชื้อเป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชม. มีจำนวนโคนินเดีย 2.18×10^7 , 1.64×10^8 , 3.05×10^8 , 1.95×10^8 โคนินเดีย/มล. และมีปริมาณเชื้อรา 2.73×10^8 , 1.49×10^8 , 1.57×10^7 และ 8.56×10^6 หน่วยโคโลนี/ก. ตามลำดับ (Table 3)

3. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนดั่งแรดในสภาพห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพราเมตาไรเซียมในรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ดทั้ง 2 กรรมวิธีในการควบคุมหนอนดั่งแรด พบว่า สามารถทำให้หนอนดั่งแรดติดเชื้อราเมตาไรเซียม 100% ภายในเวลา 14 วัน โดยผลการทดสอบทั้ง 3 ครั้ง มีความ

สอดคล้องเป็นไปในทิศทางเดียวกัน การใช้ชีวภัณฑ์อัดเม็ดที่ทำแห้งโดยการตากในห้องตากเชื้อพบว่า หนอนดั่งแรดที่ใช้ทดสอบจะเริ่มติดเชื้อตายภายใน 10-12 วัน ขณะที่ชีวภัณฑ์อัดเม็ดที่ทำแห้งโดยการอบในตูบความร้อน หนอนจะเริ่มติดเชื้อตายประมาณวันที่ 12 วันของการทดสอบ การที่หนอนติดเชื้อช้ากว่าอาจเนื่องมาจาก ความร้อนจากการอบโดยตูบใช้อุณหภูมิ 50 ± 2 °ซ. ซึ่งน่าจะมีผลต่อการงอกของโคนินเดียเชื้อรา โคนินเดียสูญเสียการงอกหรืองอกช้ากว่าเดิม ทำให้การเข้าทำลายหนอนดั่งแรดช้าและติดเชื้อช้ากว่าการใช้ชีวภัณฑ์อัดเม็ดที่ทำแห้งโดยวิธีการตาก ซึ่งสอดคล้องกับ Tanada and Kaya (1993) ที่กล่าวว่า อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุณหภูมิที่สูงเกิน 30 °ซ.

กรรมวิธีการอบในตูบความร้อน สามารถลดความชื้นในชีวภัณฑ์อัดเม็ดได้มากกว่ากรรมวิธีการตากในห้องตากเชื้อ อย่างไรก็ตาม ชีวภัณฑ์อัดเม็ดจากทั้ง 2 กรรมวิธี มีความชื้นในผลิตภัณฑ์ไม่เกิน 5% สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jaronski and Mascarin (2017) ที่ศึกษากระบวนการผลิตขยายราสาเหตุโรคแมลงและรายงานไว้ว่า ความชื้นในผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพควรมีค่าไม่เกิน 5% เพื่อยืดอายุในการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ให้ยาวนานขึ้น นอกจากนี้จำนวนโคนินเดียของชีวภัณฑ์อัดเม็ดทั้ง 2 กรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกัน ทางสถิติ

Table 3 Comparison the moisture content, number of conidia, fungal viability (Colony Forming Unit: CFU) and the efficiency for controlling coconut rhinoceros beetle of *Metarhizium* pellet from two drying methods at the laboratory in July 2021

Treat ment	Before				After 24 hr. ^{1/}				After 48 hr. ^{1/}				After 72 hr. ^{1/}				After 96 hr. ^{1/}			
	MC (%)	No. conidia (conidia /ml)	Fungal viability (cfu/g)		MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	Fungal infection (%)	MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	Fungal infection (%)	MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	Fungal infection (%)	MC (%)	No. conidia (conidia/ml)	Fungal viability (cfu/g)	Fungal infection (%)
Hot air oven 50±2°C	36.06 ^{1/}	2.57x10 ⁸	5.3x10 ⁷		1.39	1.50x10 ⁸	1.95x10 ⁷	100	1.29	1.91x10 ⁸	1.25x10 ⁷	100	1.29	1.09x10 ⁸	4.00x10 ⁵	100	1.12	1.68x10 ⁸	8.09x10 ⁶	100
sterile room 30±3°C	36.06	2.57x10 ⁸	5.3x10 ⁷		3.32	2.18x10 ⁷	2.73x10 ⁸	100	3.65	1.64x10 ⁸	1.49x10 ⁸	100	3.32	3.05x10 ⁸	1.57x10 ⁷	100	3.40	1.95x10 ⁸	8.56x10 ⁶	100
T-test					-25.20**	-1.84 ^{ns}	-7.00**		-34.23**	0.54 ^{ns}	-6.35**		-31.34**	-3.10*	-3.32**		-33.16**	-3.36 ^{ns}	-0.15 ^{ns}	

^{1/} Means of 11 trails

** P-value ≤ 0.01

* P-value ≤ 0.05

ns = non-significant

MC = Moisture Content

ต้นทุนค่าใช้ไฟฟ้า ของทั้ง 2 กรรมวิธี พบว่า กรรมวิธีการอบชีวภัณฑ์ซึ่งต้องใช้ตู้อบลมร้อน และตู้ดูดความชื้นจะมีต้นทุนค่าใช้ไฟฟ้า 268.10 บาท/วัน ส่วนกรรมวิธีการตากชีวภัณฑ์ที่ต้องใช้พัดลมดูดอากาศ และเครื่องดูดความชื้น จะมีต้นทุนค่าใช้ไฟฟ้า 37.55 บาท/วัน ซึ่งมีต้นทุนที่แตกต่างกันถึง 7 เท่า (Table 4)

แสดงให้เห็นว่า การทำแห้งราเชื้อเห็ดตาไรเทียมในรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ดโดยนำชีวภัณฑ์อัดเม็ดตากในห้องตากเชื้อที่อุณหภูมิ $30 \pm 3^{\circ}\text{C}$.

เป็นเวลานาน 24 ชม.เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการผลิตขยายในรูปแบบเชิงการค้า เนื่องจาก ชีวภัณฑ์ยังคงคุณภาพ สามารถรักษาปริมาณความมีชีวิตรอดของเชื้อรา และความชื้นในชีวภัณฑ์ไม่เกิน 5 % ตามมาตรฐาน (Jaronski and Mascarin, 2017) ชีวภัณฑ์อัดเม็ดที่ผลิตได้ยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าวได้ 100 % และต้นทุนการผลิตต่ำกว่ากรรมวิธีการอบชีวภัณฑ์ด้วยตู้อบลมร้อน ถึง 7 เท่า (Table 5)

Table 4 Cost of electricity used in each Treatment

Treatment	Electrical Appliances	Electricity price (baht/day)	Total electricity bills (baht/day)
Hot air oven 50±2°C	Hot air oven	235.79	268.10
	Desiccator	32.31	
sterile room 30±3°C	Exhaust Fan	1.75	37.55
	Desiccator	35.80	

Note:

^{1/} Calculation formula (source: <https://erdi.cmu.ac.th/?p=564> Data at 28 May 2021)

Number of units per day = Power (Watts) x (Number of electrical appliances/1000) x Hours spent on a day

^{2/} Electricity price^{2/}

Type 6 Nonprofit Organizations In case of electrical appliances under 12 kV

On Peak: Monday - Friday time 09.00-22.00 น. price 4.3297 Baht/Unit

Off Peak: Monday - Friday time 22.00-09.00 น. price 2.6369 Baht/Unit

^{3/ft} January - April 2021 = -0.1532 baht/unit

Value-Added Tax (VAT)3/ 7% (VAT)

Table 5 Comparison qualities and cost between two drying methods of *Metarhizium* fungal fresh culture into pellets formulation

Quality and cost	Treatment	
	Hot air oven 50±2°C	sterile room 30±3°C
Moisture Content	Fast	slow
the number of conidia	Not different	Not different
the percentage of germination	Less than	More than
Efficacy for controlling the coconut rhinoceros beetle larvae	Not different	Not different
Cost of electricity	268.10 baht/day	37.55 baht/day

การผลิตราเชื้อวเมตาโรเซียมในรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ดสามารถยืดอายุการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ได้นานขึ้น และในปัจจุบันยังมีความน่าสนใจศึกษาการผลิตราเชื้อวเมตาโรเซียมในเชิงพาณิชย์ เช่น การนำโคโคนีเดียราเชื้อวเมตาโรเซียมมาผลิตในรูปแบบเม็ด (encapsulated) เพื่อควบคุมแมลงในดิน (Przyklenk *et al.*, 2017) หรือการใช้วัสดุที่สามารถควบคุมอากาศภายใน (modified atmosphere packaging) เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาราเชื้อวเมตาโรเซียมที่เลี้ยงบนข้าวฟ่าง ซึ่งพบว่าการเลี้ยงในวัสดุที่ผลิตจาก ethylene vinyl alcohol (EVOH) เป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับใช้ยืดอายุการเก็บรักษา (Jeong *et al.*, 2022) เป็นต้น

สรุปผลการทดลอง

วิธีการที่เหมาะสมในการทำแห้งชีวภัณฑ์ราเชื้อวเมตาโรเซียมในรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ด คือวิธีการตากชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ดในห้องปิด (ปลอดเชื้อ) ขนาด 3 x 3 ม. ที่อุณหภูมิ 30 ± 3 °ซ. เป็นเวลานาน 24 ชม. และควรเปิดเครื่องดูดความชื้น และพัดลมดูดอากาศตลอดเวลา ซึ่งการทำแห้งชีวภัณฑ์รูปแบบนี้เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการผลิตขยายในรูปแบบเชิงการค้า เนื่องจากชีวภัณฑ์ที่ได้ยังคงมีคุณภาพ สามารถรักษาปริมาณความมีชีวิตรอดของเชื้อราได้ และมีความชื้นในชีวภัณฑ์ไม่เกิน 5% ตามมาตรฐาน นอกจากนี้ชีวภัณฑ์อัดเม็ดที่ผลิตได้ยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนด่างแรมมะพร้าว และกรรมวิธีการตากชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ดในห้องปิด (ปลอดเชื้อ) ยังมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่ากรรมวิธีการอบชีวภัณฑ์ถึง 7 เท่า

เอกสารอ้างอิง

- จรียา จันทร์โพแสง. 2536. *เชื้อราสาเหตุของโรคแมลง*. เอกสารประกอบการสอน ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 123 หน้า
- ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2535. *โรควิทยาของแมลง*. เอกสารประกอบการสอน ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 205 หน้า
- มลิวัลย์ ปันยารชุน และสุรพล ตรุษานนท์. 2525. ศึกษาการพัฒนาการผลิตเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เพื่อใช้ควบคุมด้วงแรดมะพร้าว. หน้า 1-6. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2525. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- มลิวัลย์ ปันยารชุน และ สุรพล ตรุษานนท์. 2526ก. การตรวจสอบความรุนแรงของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ที่ผลิตด้วยข้าวเปลือกต่อด้วงแรดมะพร้าว. หน้า 1 - 10. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2526 กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
- มลิวัลย์ ปันยารชุน และ สุรพล ตรุษานนท์. 2526ข. ศึกษาการเก็บรักษาความรุนแรงของเชื้อราเชื้อวเมตาโรเซียม. หน้า 1 - 10. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2526 กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
- มลิวัลย์ ปันยารชุน และ อัจฉรา ตันติโชค. 2521. โรคราของแมลงในประเทศไทยและผลของสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการงอกของเชื้อราของแมลงและสัตว์ศัตรูพืช. หน้า 42 - 54. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2521 กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
- เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และ อนุวัฒน์ จันทร์สุวรรณ. 2548. การวิจัยและพัฒนาการผลิตและใช้เชื้อราเชื้อว *Metarhizium anisopliae* เพื่อประโยชน์ทางการเกษตร, หน้า 1785-1808. ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเดิมปี 2548 เล่มที่ 2 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ISBN: 374-436-561-7

- เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, เกรียงไกร จำเริญมา และ
สาทิพย์ มาลี. 2553. การคัดเลือกและทดสอบ
ประสิทธิภาพเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae*.
หน้า 842-853. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี
2553 เล่ม 2 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.
เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 1/2554 กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ อิศเรศ เทียนทัต เมธาสิทธิ์ คนการ
สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ประภาพร ฉันทานุมัติ
ดารากร เผ่าชู อุดมพร เสือมาก และภัชชณภณ
หมื่นแจ้ง. 2561. การผลิตและการประยุกต์ใช้
ชีวภัณฑ์เชื้อราเขียวเมตาโรเซียมในการกำจัด
ด้วงแรด (*Oryctes rhinoceros* L.). รายงาน
ผลวิจัยเรื่องเต็ม สนับสนุนโดย เงินรายได้จาก
การดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการ
เกษตร กรุงเทพฯ.
- อัมพร วิโนทัย พชรวิวรรณ จงจิตเมตต์ วลัยพร ศะศิประภา
ยัณนิม รียาพันธ์ สุวัฒน์ พูลพาน สุเทพ สหยา
พฤทธิชาติ ปญวัฒน์ โสวานิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์
ไพบูรณ์ เปรียบย้ง นริรัตน์ ชูช่วย พัชรพร หนูวิลัย
ประภาพร ฉันทานุมัติ ดารากร เผ่าชู สุนี ศรีสิงห์
อุดม วงศ์ชนะภัย ปิยนุช นาคะ วีรา คล้ายพุก
หยกทิพย์ สุดารีย์ ภัชชณภณ หมื่นแจ้ง
โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล. 2560. *การจัดการแมลง
ศัตรูมะพร้าวแบบผสมผสานในพื้นที่แปลงใหญ่*.
รายงานผลวิจัยเรื่องเต็ม สนับสนุนโดยเงิน
รายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร 152 หน้า.
- Breed R.S. and W.D. Dotterer. 1961. The Number of
Colonies Allowable on Satisfactory Agar
Plates. *Journal of Bacteriology*. 1((3): 321-331
- Jaronski, S.T. and G.M. Mascarini. 2017. Mass
Production of Fungal Entomopathogens,
page. 141-155. In: L.A. Lacey, ed. *Microbial
Control of Insect and Mite Pests*. Elsevier
Inc.
- Jeong, S.G., H.M. Kim, J. Kim, J.S. Kim and
H.W.Park. 2022. Effect of storage conditions
on the shelf-life extension of fungus-colonized
substrates based on *Metarhizium anisopliae*
using modified atmosphere packaging. *Scientific
reports*, [www.nature.com/scientific reports](http://doi.org/10.1038/s41598-021-04232-5),
<http://doi.org/10.1038/s41598-021-04232-5>.
- McCoy, C.W., R.A. Samson, D.G. Boucias. 1988.
Entomogenous fungi. pp.151-236. In: C.M.
Ignoffo, M.N.Bushan (Eds.), *CRC Handbook
of Natural Pesticides. Microbial Insecticides:*
Part A. Entomogenous Protozoa and Fungi.
Vol. 5. CRC Press. Boca Raton, Prescott,
L.M. 2002. *Microbiology. Fifth Edition. The
McGraw-Hill Companies, Inc.* 1147 p.
- Prescott, L.M., J.P. Harley and D.A. Klein. 2001
History of Microbiology, PP. 8-9 In: D. Allen,
ed. *Microbiology*. McGraw-Hill, New York
- Przyklenk, M., M. Vemmer, M. Hanitzsch and
A. Patel. 2017. A Bioencapsulation
and drying method increases shelf life
and efficacy of *Metarhizium brunneum*
conidia. *Journal of Microencapsulation*,
Doi: 10.1080/02652048.2017.1354941
[http://www.tandfonline.com/action/journal
information?journalCode=imnc20](http://www.tandfonline.com/action/journal
information?journalCode=imnc20).
- Tanada, Y and H. K. Kaya. 1993. *Insect Pathology:*
Chapter 15 Microbial Control. Academic
Press, INC. 666 pp.