บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

2.1 หนอนกระทู้ผัก

ณรรฐพล (2526) ได้ศึกษาความสำคัญ ชีวประวัติ พืชอาหาร และท้องถิ่นการระบาดของหนอนกระทู้ผัก ดังมีรายละเอียดต่อไปนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Spodoptera litura* F.
วงศ์ Noctuidae
อันดับ Lepidoptera
ชื่อสามัญ tobacco cutworm, cotton worm, cotton leaf worm

ความสำคัญ

หนอนกระทู้ผักพบเข้าทำลายในผักกะหล่ำ คะน้า ตัวหนอนเริ่มทำลายผัก ตั้งแต่เริ่มฟักออกมาจากไข่ใหม่ ๆ โดยอยู่รวมกันเป็นกลุ่มในระยะแรก ในระยะต่อมาจะเริ่มทำลายยอดรุนแรงมาก สามารถกัดกิน ใบ ก้าน ดอก หัว ได้ทุกส่วน หนอนชนิดนี้มีพืชอาหารมากมายหลายสิบชนิด จึงสามารถขยายพันธุ์ได้เกือบตลอดปี

ลักษณะและชีวประวัติ

ตัวเต็มวัยมักวางไข่เป็นกลุ่มใต้ใบพืชอาหาร ไข่กลุ่มหนึ่ง ๆ มีจำนวนนับร้อยฟอง บนกลุ่มไข่มีใยสีน้ำตาลปกคลุม ไข่มีลักษณะคล้ายรูปฝาชี ผิวของไข่มีลายเส้น บาง ๆ โดยรอบ ตรงกลางมีรอยบุ๋ม และมีเส้นเป็นรัศมีรอบ ๆ ไข่ใหม่ ๆ มีสีครีมค่อนข้างขาว ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเป็นมัน ระยะไข่ประมาณ 3-5 วัน ตัวเต็มวัยตัวหนึ่ง ๆ สามารถวางไข่ได้ ตั้งแต่ 200 – 3,250 ฟอง (สิริวัฒน์, 2526 และ ทัศนีย์, 2526)

ตัวหนอนที่ฟักออกจากไข่ใหม่ ๆ มีขนาด ความยาวประมาณ 1.5 มิลลิเมตร หัวโตดำ ตัวใส ลักษณะตัวหนอนเป็นแบบ eruciform มีขาจริง 3 คู่ สีดำ ขาเทียม 5 คู่ ปรากฏอยู่ที่ส่วนท้องปล้องที่ 3, 4, 5, 6 และปล้องสุดท้ายของลำตัว ที่ส่วนท้องปล้องที่ 1 มีสีดำ ลำตัวมีขนและ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตุ่มขนสีดำ อกปล้องแรกทางด้านบนมีแผ่นแข็งสีดำปกคลุม สีของลำตัวจะเปลี่ยนแปลงไปเมื่อโตขึ้น เมื่อเริ่มกินอาหารลำตัวจะมีสีเขียว พอหนอนอายุได้ 5 วัน จะมองเห็นแถบสีเหลือง เริ่มจากอกปล้องแรกทางด้านบนพาดไปตามความยาวของลำตัวตรงกลางของสันหลัง จนถึงส่วนท้ายของลำตัว และถัดออกไปทางด้านข้างจะพบแถบสีเหลือง ข้างละแถบพาดจากอกปล้องแรกไปยังส่วนท้ายของลำตัวหัวและแผ่นแข็งบนอกปล้องแรกเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ทางด้านข้างของลำตัวมีแถบสีนี้ รูหายใจที่ส่วนหายใจที่ส่วนท้องเห็นเป็นจุดสีขาว บนอกปล้องที่ 2 และ 3 ใกล้กับรูหายใจมีจุดสีดำติดอยู่ เมื่อตัวหนอนมีอายุได้ประมาณ 10 วัน สีของลำตัวจะเปลี่ยนไป คือทางด้านข้างลำตัวจะมีสีดำใหญ่พาดไปตามความยาวของลำตัว หัวมีสีค่อนข้างดำ เหนือแถบสีดำใหญ่ด้านข้างลำตัวขึ้นไป จะมีจุดสีเหลืองปล้องละหลายจุด ยกเว้นปล้องท้องปล้องที่ 1 และทางด้านบนของจุดสีเหลืองนี้จะมีรอยแต้มรูปร่างค่อนข้างเป็นสามเหลี่ยมสีดำ ตัวหนอนเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่แล้วมีความยาวประมาณ 32-34 มิลลิเมตร ตัวหนอนในระยะที่ 3 จะทำความเสียหายให้กับพืชผักมาก ชอบกัดกินผักใบอ่อนมากกว่าใบแก่ ออกหากินในเวลากลางคืน แต่บางครั้งก็พบหนอนกระทู้ผักในเวลากลางวัน ซึ่งอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ๆ โดยซ่อนตัวกัดกินเนื้อเยื่ออยู่ทางด้านล่างของใบ ระยะของการเป็นตัวอ่อนของหนอนประมาณ 15 - 21 วัน ก่อนเข้าดักแด้ตัวหนอนจะลงไปในดิน และหดตัวสั้นลง จากนั้นก็จะเข้าดักแด้ในดิน

ดักแด้ของแมลงชนิดนี้เป็นแบบ obtected pupa มีอวัยวะขา และปีกติดกันเป็นเนื้อเดียวกับลำตัว ขนาดของดักแด้ยาวประมาณ 14 -16 มิลลิเมตร และมีสีน้ำตาลแก่ ที่ปลายหางของดักแด้มี cremaster ส่วนโคนสีดำ ส่วนปลายสีขาวใส เมื่อดักแด้อายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลไหม้ รูหายใจมีสีดำเห็นชัดเจน ระยะการเป็นดักแด้ 7 - 10 วัน จึงออกเป็นตัวเต็มวัย

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง มีขนาดลำตัวยาวประมาณ 11 - 16 มิลลิเมตร เมื่อกางปีกเต็มที่วัดจากขอบปีกหนึ่งไปยังอีกขอบปีกหนึ่งประมาณ 24 - 30 มิลลิเมตร เมื่อเกาะนิ่งอยู่กับที่ ปีกจะหุบเป็นรูปหลังคา ปีกคู่หน้า (costal margin) และด้านปลายปีก (apical margin) ปีกมีขนขึ้นจำนวนมาก หนวดเป็นแบบเส้นด้าย ตารวมมีขนาดใหญ่ ขาและลำตัวเต็มไปด้วยเกล็ด บริเวณด้านล่างของอกและเท้ามีสีเทา แต่ทางด้านบนมีสีเข้มกว่า ตัวเต็มวัยมีอายุ 7- 10 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พืชอาหาร

แมลงชนิดนี้มีพืชอาหารได้กว้างขวางมาก คือ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักคะน้า ผักกาดหัว ผักกาดหอม ผักกาดขาวใหญ่ กะหล่ำปม ผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง มะเขือเทศ มะระ ถั่วพุ่ม

ถั่วฝักยาว ผักตำลึง ถั่วพู หอมหัวใหญ่ เผือก ยาสูบ ข้าวโพด ข้าว ยางพารา บัว บานชื่น หงอนไก่ บานไม่รู้โรย ถั่วเขียว ตลอดจนไม้ผล ไม้ใบ และไม้ดอก ไม้ประดับอีกหลายชนิด

ท้องถิ่นระบาด

พบทั่วทุกภาคของประเทศไทย

2. 2 เชื้อรา

ในปี 1879 Metchnikoff ชาวรัสเซียพบโรคราเขียว (green muscardine fungus) เกิดจากเชื้อ *Metarhizium anisopliae* ทำให้เกิดโรคกับแมลงศัตรูข้าวสาลี (Wheat cockchafer) ในปีต่อมาเขาสามารถผลิตเชื้อรานี้ได้บนอาหารเทียมและนำไปควบคุมแมลงศัตรูข้าวสาลี ในปี 1886 และ 1888 Krassilstschik ชาวรัสเซียได้เลี้ยง *M. anisopliae* บนอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว จำนวนมากและนำไปใช้ควบคุมแมลงด้วงงวง ทำลาย sugar beet ในสภาพไร่ ได้มีรายงานว่าเชื้อรา *M. anisopliae* สามารถทำลายแมลงได้ 50 ถึง 80 % (กรมวิชาการเกษตร, 2534) ต่อมาในปี 1915 Johnston ได้อธิบายว่าเชื้อรานี้มี 2 แบบ (forms) คือ major และ minor form โดยจะเกิดบน host ต่างชนิดกัน และในปี 1920 Friederichs ก็รายงานเช่นเดียวกันว่ามี 2 forms คือสร้างสปอร์ที่มีขนาดยาวประมาณ 10.6 ถึง 12 ไมครอน และสร้างสปอร์ขนาดสั้น ประมาณ 3.5 ถึง 8.2 ไมครอน ในปี 1935 Petch ได้พบเชื้อราในสกุลนี้อีก 2 ตัว คือ *M. album* และ *M. brunneum* (ทิพย์วดี, 2535)

<u>ระบบการตั้งชื่อและจัดหมวดหมู่ ของเชื้อรา *M. anisopliae*</u>

Superkingdom	Eukaryonta
Kingdom	Fungi (Myceteae)
Division	Eumycota (Amastigomycota) (Alexopoulos and Mims,1979)
Subdivision	Deuteromycotina
Class	Deuteromycetes (Hyphomycetes)
Subclass	Hyphomycetidae (Hawksworth, 1974)
Order	Moniliales
Family	Moniliaceae

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Genus	*Metarhizium*
Species	*anisopliae*
Scientific name	*Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin
Common name	Green muscardine fungus
Synonyms	*Oospora destructor* (Metschnikoff) *Entomophthora anisopliae* (Metschnikoff) *Penicillium anisopliae* (Metschnikoff) (Madelin, 1963)

เชื้อ *M. anisopliae* เป็นเชื้อราที่มีวงจรชีวิตแบบไม่สมบูรณ์ คือ ไม่พบว่ามีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ จึงเรียกกันว่า Fungi Imperfect เชื้อ *M. anisopliae* มีกระบวนการเข้าทำลายแมลงเช่นเดียวกับ *Beauveria bassiana* โดยสปอร์ของเชื้อรางอกผ่านทะลุผนังลำตัวแมลงเข้าไป แต่ก็มีรายงานว่าเชื้อนี้ผ่านเข้าไปทางปาก และรูเปิดของท่ออากาศที่ผนังลำตัวแมลงด้วย ผนังลำตัวตรงที่เชื้อราแทงทะลุเข้าไป จะมีสีซีดจาง หรือเป็นจ้ำขาว โดยปกติเชื้อจะเข้าทำลายเซลล์เม็ดเลือด และเจริญสร้างเส้นใยในเลือดหรือช่องว่างในตัวแมลงตลอดเวลาที่แมลงมีชีวิตอยู่ แต่ก็พบเชื้อเข้าทำลายเนื้อเยื่อไขมันด้วย อาการของโรคเริ่มแรกคือ แมลงจะอ่อนแอ กระสับกระส่าย ไม่กินอาหาร ต่อมาจะเริ่มไม่สามารถควบคุมการทำงานของระบบต่าง ๆ ได้ และเป็นอัมพาตในที่สุด บริเวณที่เชื้อราเข้าสู่ตัวแมลงในระยะแรก จะเป็นวงสีซีดจางอาจจะเปลี่ยนเป็นสีดำ สีตัวแมลงทั่วไปจะเป็นสีคล้ำลงไม่เห็นลวดลายชัดเจน เมื่อแมลงตาย เส้นใยจะแทงทะลุผ่านลำตัวขึ้นมาสร้างก้านชูสปอร์เป็นกลุ่ม บริเวณเซลล์ส่วนปลายของก้านชูสปอร์อาจจะแตกแขนง หลังจากนั้นมีการสร้างสปอร์ต่อกันเป็นลูกโซ่ (conidial chain) สปอร์เมื่อแรกสร้างเป็นสีใส (hyaline) และจะค่อยเปลี่ยนเป็นสีเขียวเมื่อแก่ขึ้น จนถึงสีเขียวเข้มเกือบดำ ในที่สุดซากแมลงจะแห้งและมีเชื้อราปกคลุมเต็มตัว (ศิวิลัย, 2533 และ ทิพย์วดี, 2535)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค

1. ด่านต่างๆ ที่เป็นทางให้เชื้อโรคเข้าทำลายแมลง (portal of entry) ซึ่งมีอยู่ 3 ทาง คือ

1.1 ผนังลำตัว (integument) เชื้อจุลินทรีย์จำพวกเชื้อราชนิดต่างๆ จะเข้าไปในตัวแมลงด้วยขบวนการทาง mechanical คือ แทงทะลุผ่านผนังลำตัวเข้าไป เช่นการงอก germ tube ของเชื้อรา หรือเชื้อจุลินทรีย์เข้าไปในตัวแมลง โดยการสร้างเอนไซม์ทำลายผนังลำตัวของแมลง เช่นเอนไซม์ proteinase, chitinase แมลงที่มีผนังลำตัวหนาแข็งจุลินทรีย์ก็จะเข้าทำลายได้ลำบากทำให้เกิดโรคยาก

1.2 ปาก (mouth) เป็นด่านสำคัญที่เชื้อจุลินทรีย์เข้าสู่ตัวแมลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อไวรัส และเชื้อแบคทีเรีย ด้วยการกินอาหารที่มีเชื้อปะปนเข้าไป คุณสมบัติทางเคมีหรือสภาพความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำลายและน้ำย่อยมีส่วนให้เชื้อจุลินทรีย์เข้าสู่ตัวแมลงได้มากน้อยต่างกัน น้ำลายหรือน้ำย่อยอาจมีคุณสมบัติที่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ก่อนจะทำให้เกิดโรค

1.3 กระเพาะอาหาร (gut) เป็นอีกด่านหนึ่ง ซึ่งสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในกระเพาะอาหารกระจายเข้าไปในเลือด ซึ่งจะทำให้เกิดโรคได้อย่างรวดเร็ว โครงสร้างกระเพาะอาหารที่มีผนังหนา โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนของ peritrophic membrane จะช่วยมิให้เชื้อโรคเข้าไปในเลือดหรืออวัยวะอื่นๆในร่างกายแมลงได้ นอกจากนี้น้ำย่อยในกระเพาะอาหารของแมลงอาจช่วยทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อนที่จะมีโอกาสเข้าไปในช่องว่างในตัวแมลง

2. จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค จำเป็นต้องมีเชื้อจุลินทรีย์จำนวนหนึ่งจึงจะสามารถเอาชนะกระบวนการต่อต้านโรคของแมลงได้ จุลินทรีย์จำนวนที่มากพอนี้จะเป็นจุดเริ่มต้น ทำให้เกิดโรค จุลินทรีย์ที่เพิ่มจำนวนได้มากและเร็ว จะทำให้เกิดโรคได้ดีกว่าจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตช้า

3. สภาพของแมลงอาศัย ได้แก่ อายุของแมลง วัยและเพศของแมลงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการทำให้เกิดโรค แมลงที่อายุน้อย เช่น แมลงในวัยแรกมักเกิดโรคได้ง่ายกว่าดักแด้หรือตัวเต็มวัย แมลงเพศเมียมักเป็นโรคได้ง่ายกว่าเพศผู้ นอกจากนี้ความแข็งแรงและอ่อนแอของแมลงก็เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งด้วย

4. สภาพแวดล้อมต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และแสง มีส่วนช่วยเร่งหรือลดการเกิดโรคได้ทั้งนั้น โดยอาจมีผลโดยตรงกับเชื้อจุลินทรีย์หรือแมลง หรือมีผลทางอ้อมกับกระบวนการทำให้เกิดโรค (กรมวิชาการเกษตร, 2534)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การพัฒนาของเชื้อราในแมลงอาศัย

สปอร์ของเชื้อราเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้โรคแพร่กระจาย การเข้าทำลายของเชื้อราผ่านทางระบบหายใจ และระบบทางเดินอาหารพบน้อยมาก (Muller Kogler, 1965; Veen, 1966; Yendol and Paschke, 1965) ส่วนใหญ่จะเข้าทางผนังลำตัว

Roberts (1970) ศึกษาการพัฒนาของเชื้อราในแมลงอาศัย รายงานว่า Infecttive unit ของเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคแก่แมลง โดยทั่วไปมีทั้งชนิดเคลื่อนที่ได้เช่น Zoospore (Phycomycetes) และเคลื่อนที่ไม่ได้ เช่น conidium และ spore (Entomophthorales และ higher fungi) และ ascospore บางชนิดขบวนการทำให้ติดเชื้ออาจแบ่งเป็นระยะต่างๆ ดังนี้

1. ระยะประชิดกับผิวลำตัวแมลง (cuticle) เชื่อกันว่าแรงทางเคมีและแรงทางไฟฟ้าสถิตมีส่วนร่วมด้วย ปฏิกริยาร่วม (interaction) ระหว่าง Lipopylic compounds บนผิวของ spore และ lipids บนผิวลำตัวแมลงอาศัย อาจมีส่วนสำคัญในการงอกของ spore

2. ระยะรางอก โดยทั่วไป spore ของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแมลงจะฟักตัว ในสิ่งแวดล้อมทางจุลชีวะที่อุดมสมบูรณ์ เช่น ดิน เป็นต้น แม้ว่าความชื้นและอุณหภูมิจะพอเหมาะกับการงอก แต่ spore จะงอก หลังจากที่ได้ประชิดติดลำตัวแมลงอาจเป็นเพราะมีการกระตุ้นทางเคมี โดยสารบนผิวลำตัวแมลง และการกระตุ้นทางสรีระ ซึ่งสัมพันธ์กับขบวนการประชิดตัว หรืออาจเป็นเพราะการแยกทางสรีระออกจากจุลชีพ ซึ่งแข่งขันกันใช้สารอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ผิวลำตัวแมลงที่มีชีวิต หรือเพราะการประชิดผิวแมลงทำให้เชื้อราสร้างสารที่ทำให้การงอกดีขึ้น และกระตุ้นทำให้เกิดการงอกของ spore

3. ระยะแทงทะลุผิว โดยราจะงอก germ tube สั้นๆ และใช้ germ tube หรือ infection pegs ที่ราสร้างขึ้นจาก spore แทงทะลุผิวหนังแมลงเข้าไปภายใน โดยมี appressoria (Madelin *et al.* 1967) เป็นส่วนที่ช่วยยึดผิวลำตัวแมลงไว้ เข้าใจว่ามีแรงทางเคมีและฟิสิกส์เข้าเกี่ยวข้องในขบวนการนี้ โดยทางเคมี เป็น enzyme ซึ่งมีส่วนสำคัญ ช่วยในการแทงทะลุผ่านผิวลำตัวแมลงที่ประกอบด้วยไขมัน โปรตีนและคาร์โบไฮเดรตที่ซับซ้อน โดยเฉพาะ chitin คาดว่ามี enzyme นานาชนิดที่จำเป็นในการแทงผิวลำตัวแมลงของ germ tube

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. ระยะการพัฒนาในตัวแมลง เมื่อเข้าไปในร่างกายของแมลงแล้วเชื้อราจะสร้าง mycelium เข้าไปตามทางเดินโลหิต และเข้าไปขยายจำนวนในเลือด โดย mycelium หักออกเป็นท่อนสั้น ๆ และเข้าทำลายอวัยวะต่างๆ เช่น fat body เป็นต้น ภายหลังที่แมลงตายลง หรือก่อนตายเล็กน้อย จะพบว่า mycelium ขยาย ไปทั่วภายในลำตัวแมลงจนลำตัวเต็มไปด้วยเชื้อราหนาแน่นและแข็ง ในระยะต่อมาเชื้อราจะสร้าง conidiophores และแทงทะลุออกมานอกลำตัวแมลงสร้าง conidia ตรงปลาย (กรมวิชาการเกษตร, 2534)

สารพิษของเชื้อรา

Toxin ของเชื้อรามีทั้งชนิดเป็นพิษโดยการฉีด (injection) และเป็นพิษโดยการกิน (per oral) ชนิดหลังมีแนวโน้มว่าจะสกัดใช้เป็นสารพิษฆ่าแมลงในอนาคตแต่ชนิดแรกใช้เพียงศึกษาเท่านั้น สารพิษจากเชื้อราของแมลงเท่าที่พบมี

Cordycepin จาก *C. militaris*

Aflatoxin จาก strain ของ *A. flavus*

Isarins และ Isarolids จาก *Isaria*

Beauvericin จาก *Beauveria bassiana*

Destruxin A และ B จาก *Metarhizium anisopliae*

Toxin จาก *Entomophthora* sp. เป็น protein ซึ่งทำให้ผิวหนังแมลงเปลี่ยนซึ่งอาจเป็น enzyme ชนิดหนึ่งก็ได้ (กรมวิชาการเกษตร, 2534)

Baird (1956, 1958 a, b) รายงานว่ามีการพยายามใช้เชื้อราถึง 41 ครั้ง ที่ประสบความสำเร็จในการควบคุมแมลง 28 ชนิด (species) แต่ต่อจากนั้นมาเชื้อราเหล่านี้ได้รับการสนใจนำมาใช้เพียง 2-3 เชื้อ เท่านั้น เชื้อราเหล่านี้ได้แก่ *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* และราบางชนิด (species) ของ *Entomophthora* สาเหตุของความล้มเหลว ข้อแรกคือการไม่เข้าใจในปัจจัยที่เกี่ยวข้องและวิธีการ ซึ่งจำเป็นต้องได้รับการดัดแปลงให้เหมาะสมยิ่งขึ้น อีกประการหนึ่งคือ ใช้ปริมาณของเชื้อราไม่เพียงพอ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. 3 ความปลอดภัย

ความปลอดภัยถือเป็นองค์ประกอบสำคัญในการพัฒนาและการใช้การกำจัดแมลงโดยวิธีการทางจุลชีววิทยา และความปลอดภัยเป็นหัวข้อที่สำคัญอย่างยิ่ง เมื่อต้องมีการขึ้นทะเบียน (เป็นสารกำจัดแมลง) ในปี 1957 ประเด็นความปลอดภัยและผลกระทบที่จะเกิดขึ้นเป็นหัวข้อที่เป็นที่ถกเถียงในวงสนทนาทั่วไป Shaeffenberg, 1968 ทำการทดลอง โดยใช้ *M. anisopliae* กับสัตว์ชนิดต่างๆ ในปี 1968 เป็นต้นมา ข้อมูลที่เกี่ยวข้องมีแสดงดังนี้ (ตารางที่ 1) ซึ่งพบว่าไม่ปรากฏอาการพิษหรืออาการทางร่างกายต่างๆ เมื่อมีการนำมาทดลองในหลากหลายวิธีกับนก ปลา หนูบ้าน หนูขาว หนูทดลอง หรือกระต่าย ข้อมูลเหล่านี้ได้บันทึกข้อผิดพลาด ซึ่งแสดงผลการทดสอบที่กระทบ กับความปลอดภัยของมนุษย์ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และพืชในช่วง 100 ปีที่ผ่านมาชี้ให้เห็นว่าเชื้อนี้มีความปลอดภัย นอกจากนี้ยังไม่ปรากฏว่าเป็นอันตรายต่อผึ้งงาน ไส้เดือนดิน และ แมลงหางดีด

ตารางที่ 1 การทดสอบความปลอดภัยของเชื้อรา *M. anisopliae* กับสัตว์ชนิดต่างๆ

สัตว์ที่นำมาทดสอบ	ประเภทของการทดสอบ	อาการที่พบ	ผู้ทำการทดสอบ/ปีที่ทำการทดสอบ
หนูนา	ฉีด พ่น/รมสารทดสอบ ปนกับอาหาร	ไม่ปรากฏอาการผิดปกติหรืออาการแพ้สารเคมี	Schaefeenberg, 1968
หนูเลี้ยง (สัตว์เลี้ยง) หนูตะเภา	ผสมกับอาหาร	ไม่มีความแตกต่างกับก่อนทดสอบ	Latch, 1976
ปลา (*Epiptatys bifasciatus*)	นำสปอร์ของ *Metarhizium anisopliae* มาเจือจางกับน้ำ	ไม่มีความแตกต่างในเรื่องจำนวนปลาที่ตายเมื่อเทียบกับปลาที่ไม่ได้ทำการทดสอบด้วยวิธีนี้	Roberts, 1975
นกน้ำญี่ปุ่น	ให้ปนกับอาหาร	ไม่ปรากฏเชื้อพิษหรือภาวะเป็นโรค	Wastu *et al.,* 1980

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สัตว์ที่นำมาทดสอบ	ประเภทของการทดสอบ	อาการที่พบ	ผู้ทำการทดสอบ/ปีที่ทำการทดสอบ
หนูเลี้ยง (สัตว์เลี้ยง)	ฉีด	ไม่ปรากฏเชื้อพิษหรือภาวะเป็นโรคหรือ การระคายเคืองที่ตา	Shadduck, 1982
หนูนา	พ่น/รมสารทดสอบ		
กระต่าย	ทดสอบที่ตา		
หนูเลี้ยง	ฉีด	ไม่ปรากฏเชื้อพิษหรือภาวะเป็นโรค	El-kadi *et al*.,
หนูตะเภา	พ่น/รมสารทดสอบให้อาหาร		
หนูนา	ฉีด	กล้ามเนื้อบริเวณที่มี *Metarhizium anisopliae* ไม่ได้รับบาดเจ็บ	Fan *et al*., 1990
	ทดสอบโดยตรงที่ช่องปาก (LD_{50})	> 20000 มก./กก.	Feinecke *et al.,* 1990
	ทดสอบโดยตรงที่เยื่อบุผิวหนัง (LD_{50})	> 20000 มก./กก.	Feinecke *et al.,* 1990
กระต่าย	ทดสอบที่ผิวหนังและดวงตา	ไม่มีปรากฏอาการระคายเคืองที่ผิวหนัง มีอาการระคายเคือง ที่ดวงตาเล็กน้อย	
นกน้ำญี่ปุ่น	ทดสอบด้วยเชื้อพิษ		ไม่มีผลข้างเคียง

* Zimmermann (1993)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การใช้เชื้อรา *M. anisopliae* เป็นที่ยอมรับในหลายประเทศในฐานะตัวควบคุมทางชีวภาพที่ช่วยป้องการการแพร่ระบาดของแมลงรบกวน เชื้อราชนิดนี้แสดงถึงความสามารถที่ยอดเยี่ยมสำหรับการควบคุมในทางชีวภาพ การจัดจำหน่ายเชื้อนี้ มีในยุโรปตะวันตกและสหรัฐอเมริกา

การนำเชื้อราเขียวไปใช้ประโยชน์ ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชนั้น จึงจำเป็นต้องทราบชนิด และสายพันธุ์ที่แน่นอน ซึ่งการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราเขียวสามารถอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ แต่ก็มีข้อจำกัด เช่น สภาพแวดล้อมทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ปรากฏผันแปรไป จึงยากแก่การจัดจำแนก ปัจจุบันได้มีการพัฒนาการจัดจำแนก โดยอาศัยเทคนิคทางชีวโมเลกุลร่วมด้วย เช่น RAPD (random amplification polymorphic DNA), PCR (polymerase chain reaction) เป็นต้น (Cobb and Clarkson, 1993)

2.4 การนำเชื้อรามาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ในต่างประเทศนั้นมีการศึกษาเชื้อราชนิดนี้มาเป็นเวลานานมากกว่า 70 ปี โดยทำการศึกษาถึงศักยภาพในการป้องกันแมลงศัตรูพืช (Hashim *et al*., 2003; Ibrahim *et al*., 1999, 2001) เช่น แมลงที่เข้าทำลายต้นหญ้าในสนามกอล์ฟ พบว่าเมื่อมีการใช้เชื้อ *M. anisopliae* 2 ไอโซเลท ร่วมกัน คือ ไอโซเลท CLO53 และ CLO54 จะทำให้แมลงตายได้มากถึง 90 % แต่ถ้าใช้เพียงไอโซเลทเดียวจะตายเพียง 10-62 % (Ansari *et al*., 2004)

Scholte *et al*. (2004) ได้ทำการทดลองใช้เชื้อ *M. anisopliae* กับตัวอ่อนยุงวัยที่ 3 ผลปรากฏว่าหลังจากที่แมลงได้รับเชื้อ 48-72 ชั่วโมง ตัวอ่อนยุงวัยที่ 3 จะเริ่มตาย

Kao and Tsai (1989) ได้ทำการทดลองใช้เชื้อ *M. anisopliae* ร่วมกับ *B. bassiana* ซึ่งสามารถควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ดีกว่าการใช้สารฆ่าแมลงบางชนิด

Silva *et al*. (2003) รายงานว่า *M. anisopliae* ความเข้มข้น 10^6 conidia /ml ทำให้หนอนใยผักระยะวัยที่ 2 มีอัตราการตายตั้งแต่ 57 % ถึง 96 %

Metchnikoff (1888) ได้ศึกษาการผลิตสปอร์ของเชื้อราเขียวและได้มีการประยุกต์ใช้เชื้อราในไร่ เพื่อควบคุมด้วงงวงอ้อย ปรากฏว่ามีอัตราการตายของหนอน 55 ถึง 80%

Schabel (1976) ได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรียบางชนิดและเชื้อราที่พบบนผิวหนังของแมลง ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคได้ ในด้วงงวงสนมีเชื้อราและแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนผิวหนังของด้วงที่ยับยั้งการสร้างเชื้อรา *M. anisopliae*

McCauley *et al. (*1968) ได้ทำการศึกษาเชื้อราที่สามารถทำให้เกิดโรคในแมลง โดยการผ่านเข้าทางรูอากาศและส่วนอื่นของร่างกายที่เปิดไว้ เชื้อ *M. anisopliae* บางครั้งสามารถทำให้เกิดโรคกับหนอนด้วงดีดโดยผ่านเข้าไปทางรูอากาศและรูขุมขนของระบบร่างกาย ต่อมา Zacharuk

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(1973) รายงานว่าเชื้อ *M. anisopliae* สามารถประยุกต์ใช้กับหนอนด้วงดีดในช่วงเวลาสั้นๆ ก่อนที่จะมีการลอกคราบ

Burodeos and Villacarlos (1989) ทดสอบเชื้อ *B. bassiana* 2 ไอโซเลท และเชื้อ *M. anisopliae* 5 ไอโซเลทกับด้วงมันเทศภายใต้ห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมอุณหภูมิ เชื้อ *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ใช้ LC_{50} ที่ 1x 10^8 spores/ml ทำให้มีอัตราการตาย 50 % หลังจากมีการทดลอง 3 และ 4 วัน ตามลำดับ

ในเคนยา Maniana (1992) ได้ศึกษาเชื้อ *B. bassiana* และ *M. anisopliae* กับ หนอนกอลายใหญ่และ หนอนกอออเมริกันในห้องปฏิบัติการ เชื้อ *B. bassiana* สามารถทำให้หนอนกอลายใหญ่ มีอัตราการตาย 3 -100% และ หนอนกอออเมริกัน มีอัตราการตาย 30 – 84 % เชื้อ *M. anisopliae* มีระดับความเป็นพิษสูงสำหรับแมลงศัตรูพืชทั้ง 2 ชนิด ซึ่งมีอัตราการตาย 65 -100% การเจริญของเชื้อราจะมีระยะเวลานานในหนอนกอออเมริกัน (LT_{50} เป็นเวลา 6.2-13.2 วัน) ซึ่งมากกว่าหนอนกอลายใหญ่ (LT_{50} เป็นเวลา 1.9-5.4วัน) เชื้อราทั้ง 2 ชนิด มีศักยภาพในการควบคุมหนอนกอลายใหญ่และ หนอนกอออเมริกัน

Hajek *et al.* (2006) รายงานว่า มีการใช้เชื้อ *M. anisopliae* และ *B. brongniartii* ในการควบคุม ด้วงหนวดยาว

Sabbour (2002) ทำการศึกษาเชื้อ *B. bassiana* และ *M. anisopliae* กับ หนอนผีเสื้อเจาะหัวมันฝรั่ง ซึ่ง LC_{50} ของ *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ที่มีผลกับหนอน มีค่าเท่ากับ 3.4 x10^6 และ 8.61x 10^7 conidia/ml ตามลำดับ

Milner *et al.* (1997) รายงานว่าทดสอบเชื้อ *M. anisopliae* (ไอโซเลทFI610) กับ ปลวก 2 species คือ *Coptotermes acinaciformis* และ *Nasutitermes exitiosus* ที่ความชื้น ที่ลดลงถึง 86 % พบว่าเป็นความชื้นที่ต่ำสุดที่ปลวกจะมีชีวิตอยู่รอด แต่ถ้าความชื้นสูงกว่า 93% ทำให้ปลวกมีการตายเกิดขึ้น

Sosa *et al.* (1997) ศึกษา conidial ของเชื้อ *M. anisopliae* บนมวนเขียวพบว่าหลังจากที่มีการเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง มี conidial เพียง 5-20 % เท่านั้น

Bruck *et al.* (2005) รายงานว่าเชื้อ *M. anisopliae* 3 ไอโซเลท (F 52, ATCC62176 และ ARSEF5520) และ เชื้อ *B. bassiana* (GHA) ทดสอบกับแมลงวันหนอนชอนรากกะหล่ำ วัย 2 พบว่าเชื้อ *M. anisopliae* (F52) ทำให้หนอน มีค่าเฉลี่ยอัตราการตาย 85 % และค่าเฉลี่ย LC_{50} และ LC_{95} ของ F52 ที่มีผลต่อหนอนวัย 2 เท่ากับ 2.7x 10^6 และ 1.8 spores/g

Mullen and Goldsworthy (2005) มีการทดสอบเชื้อ *M. anisopliae* var. acridum 2 ไอโซเลท คือ IMI330189 และ ARSEF 728 กับ ตั๊กแตน พบว่า ไอโซเลท IMI330189 สามารถทำให้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เกิดการเป็นโรคได้สูง ซึ่งอาจประยุกต์ใช้ในส่วนของ conidia หรือ การฉีด blastospores แต่ว่า ไอโซเลท ARSEF 728 สามารถก่อให้เกิดโรค โดยการฉีด blastospores เท่านั้น ถ้ามีการฉีด blastospores ที่ได้จากไอโซเลท IMI330189 จะทำให้ เอนไซม์ phenoloxidase ที่อยู่ในระบบเลือดเพิ่มขึ้น ซึ่งพบในตัวอ่อนวัย 5 และ ตัวเต็มวัยของตั๊กแตน

Uma *et al.* (2006) ได้ทำการทดลองเชื้อ *B. bassiana* และ *Nomuraea rileyi* กับหนอนกระทู้ผักวัย 2 พบว่าเชื้อ *B. bassiana* สามารถทำให้หนอนเป็นโรคได้ ที่อุณหภูมิ 25±1องศาเซลเซียสและเชื้อ *N. rileyi* สามารถทำให้หนอนเป็นโรคได้ ที่อุณหภูมิ 32 ± 2 องศาเซลเซียส (8 ชั่วโมง) สลับกับอุณหภูมิ 21± 2 องศาเซลเซียส (16 ชั่วโมง)

สำหรับการนำเอาเชื้อ *M. anisopliae* มาใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ในประเทศไทยนั้น เมื่อปี พ.ศ. 2521 มลิวัลย์ และอัจฉรา ได้ทำการศึกษาเชื้อรา *M. anisopliae* เพื่อควบคุมตัวอ่อนของด้วงแรดมะพร้าว

Pongpanich (1992) ได้ทดลอง เชื้อ *Beauvaria* sp. และ *Metarhizium* sp. กับ หนอนกินใบสัก โดยวิธี dipping และ topical method ปรากฏว่าวิธี dipping มีประสิทธิภาพดีกว่า topical method ต่อมา Sakchoowong (1994) ได้ทำการศึกษาเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* กับ หนอนกินใบสัก พบว่า เชื้อ B. *Bassiana* ทำให้เกิดโรคและมีประสิทธิภาพที่ดีกว่า *M. anisopliae* ซึ่งเชื้อ *B. bassiana* ทำให้หนอนตาย 60.24 % และเชื้อ *M. anisopliae* ทำให้หนอนตาย 37.69 %

Kirtibutr (1994) รายงานว่าได้มีการเลี้ยงเชื้อ *M. anisopliae* บนอาหาร Latch's medium ระยะเวลา 30 วัน และ 45 วัน จากนั้นมีการนำเชื้อเข้าสู่ปลวก โดยการกินและสัมผัส spores ซึ่งผลปรากฏว่าระยะเวลา 45 วัน สามารถควบคุมปลวกได้ดีกว่าระยะเวลา 30 วัน ด้วย LC_{50} ที่ 2.27 x 10^7 spore/cm^2 / mg ต่อมา Krutmuang (1996) ทำการทดลองเชื้อ *M. anisopliae* var. *anisopliae* และ *M. anisopliae* var. *majus* กับปลวก *Coptotermes* sp. และ *Microcerotermes* sp. พบว่า *M. anisopliae* var. *anisopliae* สามารถทำให้เกิดโรคได้มากกว่า *M. anisopliae* var. *majus* และเปอร์เซ็นต์การตายของปลวกขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ spore suspension และ generation ของเชื้อราและรวมทั้ง variety ของเชื้อรา

Youngchaitrakul (1999) รายงานว่า *M. anisopliae* var. *anisopliae* ที่ระดับความเข้มข้น 2x 10^8 สปอร์/ มล. ทำให้หนอนแมลงวันบ้านวัย 3 มีอัตราการตายเฉลี่ย 84.88 %

ศิวิลัย และคณะ (2544) ได้ทำการศึกษา *M. anisopliae* spp. จำนวน 5 ไอโซเลท พบว่าการเข้าทำลายตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ดัดแปลงตามวิธีของ Samules, 1986) โดยไอโซเลท 5MfKK มีค่าสูงสุด คือ 88.78 % ส่วนการผลิตมวลชีวภาพของเชื้อพบว่าอาหาร SDB (Sabouraud dextrose broth) ให้ผลผลิตของน้ำหนักแห้งของเส้นใยสูงสุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทิพย์วดี และคณะ (2546) ได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ พบว่าเพลี้ยแป้งอ่อนแอต่อเชื้อรา *M. anisopliae* และ *Fusarium solani*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved