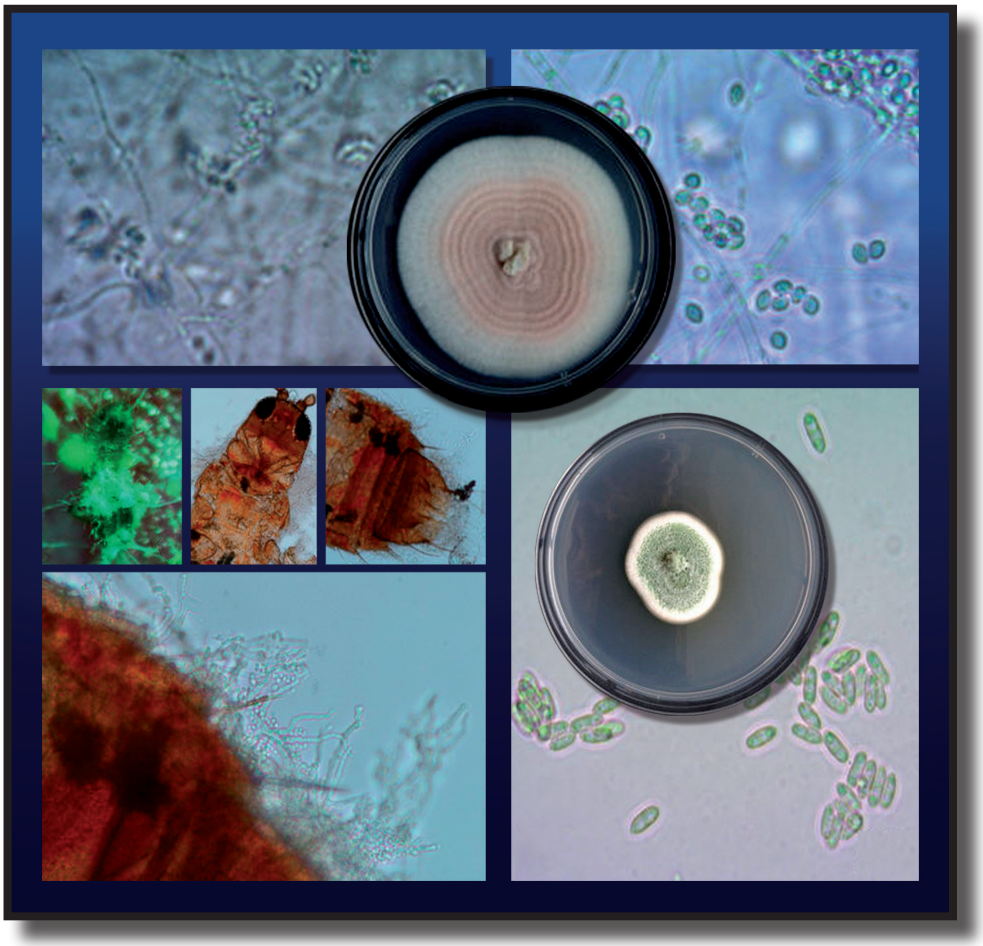
วว.TISTR

โครงการวิจัยที่ ภ. 54-04 / ย. 2 / รายงานฉบับที่ 1 (ฉบับสมบูรณ์)

การวิจัยและพัฒนาการป้องกันและการกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายโดยชีววิธีด้วยการใช้เชื้อรา



สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

โครงการวิจัยที่ ภ.54-04
การวิจัยและพัฒนาการควบคุมและกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในอุตสาหกรรมการผลิตกล้วยไม้

โครงการย่อยที่ 2
การวิจัยและพัฒนาการป้องกันและการกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย
โดยชีววิธีด้วยการใช้เชื้อรา

รายงานฉบับที่ 1 (ฉบับสมบูรณ์)
การวิจัยและพัฒนาการป้องกันและการกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย โดยชีววิธีด้วยการใช้เชื้อรา

โดย

อนวัช สุวรรณกุล

จิตรา เกาะแก้ว **ปพิชญา กองจินดา**

รุจิรา ดีวัฒนวงศ์ **สุภาวดี ชนะพาล**

ชุติมา สารทจีนพงษ์ **คนึงนิจ บุศราคำ**

บรรณาธิการ วว., ปทุมธานี 2559

ศิระ ศิลานนท์

สงวนลิขสิทธิ์

บุญเรียม น้อยชุมแพ

ศิริสุข ศรีสุข

รายงานฉบับนี้ได้รับการอนุมัติให้พิมพ์โดย
ผู้ว่าการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

(นางลักษมี ปลั่งแสงมาศ)
ผู้ว่าการ

คำนำ

การดำรงชีวิตตามธรรมชาติของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดบนโลกก็จะมีความสัมพันธ์ต่อกันเป็นระบบนิเวศน์ในธรรมชาติ ดังนั้น สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดก็เป็นส่วนหนึ่งในห่วงโซ่อาหาร ซึ่งมีการบริโภคต่อกันเป็นทอดๆ ตั้งแต่ผู้ผลิต ผู้บริโภคแต่ละลำดับจนถึงผู้ย่อยสลาย แสดงให้เห็นว่าสิ่งมีชีวิตมีศัตรูตามธรรมชาติ ดังนั้น สามารถนำความรู้ดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมเพลี้ยไฟฝ้าย โดยตั้งสมมุติฐานว่าเพลี้ยไฟฝ้ายมีศัตรูตามธรรมชาติเช่นเดียวกัน การศึกษาศัตรูตามธรรมชาติของเพลี้ยไฟฝ้าย โดยการแยกและจำแนกเชื้อราจากเพลี้ยไฟฝ้ายที่ตายตามธรรมชาติ โดยมุ่งเน้นไปที่เชื้อราโดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อรา *Verticillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Neozygites parvispora* หรือ *Lecanicillium longisporum* ซึ่งได้เคยมีรายงานว่า เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคของแมลงหลายชนิดในธรรมชาติ หรือทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราที่เก็บรวบรวมไว้แล้ว กับเพลี้ยไฟฝ้ายที่ก่อให้เกิดปัญหาในการผลิตดอกกล้วยไม้ จึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะสามารถแยกและจำแนกเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ๆ ที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้นและมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาใช้เป็นสารชีวภัณฑ์สำหรับควบคุมเพลี้ยไฟฝ้ายในอุตสาหกรรมการผลิตกล้วยไม้ต่อไป.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ได้ให้การสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณศูนย์จุลินทรีย์ ฝ่ายเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ที่อนุเคราะห์เชื้อรามาเพื่อทดสอบในครั้งนี้.

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อคัดเลือก จำแนกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคเพลี้ยไฟฝ้ายตามธรรมชาติ.
2. เพื่อศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพของเชื่อราที่มีศักยภาพเพื่อการนำมาพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์.
3. เพื่อพัฒนาแนวทางการในนำเชื้อราที่ได้คัดเลือกแล้วมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์เพื่อใช้ควบคุมและกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในกล้วยไม้โดยชีววิธี.

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
วัตถุประสงค์ของโครงการ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
ABSTRACT	1
บทคัดย่อ	2
1. บทนำ	3
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	6
3. ผลการทดลองและวิจารณ์	9
4. สรุปผลการทดลอง	30
5. สรุปผลทางด้านการตลาดและผลกระทบของโครงการ	31
6. เอกสารอ้างอิง	32

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.	เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ศึกษา จำนวน 20 สายพันธุ์ แบ่งเป็น 7 genera 7 species	6
ตารางที่ 2.	Entomopathogenic fungi isolated from insect and leaf litter	13
ตารางที่ 3.	Enzyme activity of entomopathogenic fungi	23
ตารางที่ 4.	Efficiency of entomopathogenic fungi against cotton thrips, *Thrips palmi*	25

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1.	วงจรชีวิตเพลี้ยไฟกล้วยไม้ (*Thrips palmi*)	10
รูปที่ 2.	ลักษณะสำคัญทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกเพลี้ยไฟฝ้าย *Thrips palmi*	12
รูปที่ 3.	*Aschersonia paraphysata* โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 1 เดือน	14
รูปที่ 4.	*Beauveria bassiana* โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ก); conidia conidiophores phialind (ข)	15
รูปที่ 5.	*Hirsutella brunneapunctata* โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 1 เดือน	16
รูปที่ 6.	*Isaria fumosorosea* โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ก); conidia conidiophores phialind (ข-ค)	17
รูปที่ 7.	*Metarhizium anisopliae* โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ก); conidia conidiophores phialind (ข-ค)	18
รูปที่ 8.	*Metarhizium flavoviride* โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ก); conidia (ข)	19
รูปที่ 9.	*Paecilomyces lilacinus* โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ก); conidia conidiophores phialind (ข-ค)	20
รูปที่ 10.	*Verticillium* sp. โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ก); conidia conidiophores phialind (ข)	21
รูปที่ 11.	*Isaria fumosorosea* (BCC1659) stereo microscope of mummified of *Thrips palmi*, (ก) ; light microscope of hypha and conidia on *Thrips palmi* (ข-ง)	26
รูปที่ 12.	*Paecilomyces lilacinus* (TISTR 3619) stereo microscope of mummified of *Thrips palmi*, (ก) ; light microscope of hypha and conidia on *Thrips palmi* (ข-ง)	27
รูปที่ 13.	*Beauveria bassiana* (N2) stereo microscope of mummified of *Thrips palmi*, (ก) ; light microscope of hypha and conidia on *Thrips palmi* (ข-ง)	28
รูปที่ 14.	*Metarhizium anisopliae* (TISTR3607) stereo microscope of mummified of *Thrips palmi*, (ก) ; light microscope of hypha and conidia on *Thrips palmi* (ข-ง)	29

RESEARCH AND DEVELOPMENT ON BIOLOGICAL CONTROL OF COTTON THRIPS BY ENTOMOPATHOGENIC FUNGI

Anawat Suwanagul, Jitra Kokaew, Papitchaya Kongchinda, Rujira Deewatthanawong, Supavadee Chanapan, Chutima Satjeenpong and Kanungnid Busarakam

ABSTRACT

Thrips are polyphagous pests which affect orchid in Thailand. Entomopathogenic fungi are found to be effective natural enemies of thrips. In this study, a total of 20 isolates of entomopathogenic fungi were collected from insects and leaf litter which are comprised of seven genera with seven species. These include five isolates of *Aschersonia paraphysata*, *Beauveria* sp., *Hirsutella brunneapunctata*, *Metarhizium flavoviride*, *Verticillium* sp., three isolates of *Beauveria bassiana*, three isolates of *Isaria fumosorosea*, three isoaltes of *Metarhizium anisopliae* and six isolates of *Paecilomyces lilacinus*. The preliminary bioassay revealed that the fungus, *Isaria fumosorosea* (BCC1659) was the most virulent strain, followed by *Beauveria bassiana* (N1) and *Metarhizium anisopliae* (TISTR3607), giving 80, and 70% mortality, respectively. The common entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (DOAE1) and *Metarhizium flavoviride* (BCC1707) were found to be less effective. Spore suspension at 10^9 spores/ml was found to be more efficient than at 10^7 and 10^5 spores/ml, respectively. Fast growing fungi which produced abundance of conidia are required to develop bioproducts, therefore; more research and development on efficient mass production of these fungi as well as all important factors involved in infection process are needed to be done before thrips control bioproduct are introduced to the market.

การวิจัยและพัฒนาการป้องกันและการกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย โดยชีววิธีด้วยการใช้เชื้อรา

อนวัช สุวรรณกุล[1], จิตรา เกาะแก้ว[1], ปพิชญา กองจินดา[1], รุจิรา ดีวัฒนวงศ์[1], สุภาวดี ชนะพาล[1], ชุติมา สาตรจีนพงษ์[1] และ คนึงนิจ บุศราคำ[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง เพื่อควบคุมเพลี้ยไฟศัตรูสำคัญของกล้วยไม้ โดยเชื้อรา 20 ไอโซเลต ประกอบด้วยเชื้อรา 7 สกุล 7 ชนิด ที่แยกได้จากแมลงและเศษซากใบไม้ในป่า ได้แก่ *Aschersonia paraphysata*, *Beauveria* sp., *Hirsutella brunneapunctata, Metarhizium flavoviride*, *Verticillium* sp., *Beauveria bassiana* 3 ไอโซเลต *Isaria fumosorosea* 3 ไอโซเลต, *Metarhizium anisopliae* 3 ไอโซเลต และ *Paecilomyces lilacinus* 6 ไอโซเลต ผลการทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของราทั้ง 20 สายพันธุ์ พบว่า รา *Isaria fumosorosea* (BCC1659) มีประสิทธิภาพสูงสุดโดยทำให้ตัวอ่อนเพลี้ยไฟตาย 80%, ราที่มีประสิทธิภาพรองลงมา ได้แก่ เชื้อรา *Beauveria bassiana* (N1) และ *Metarhizium sopliae* (TISTR3607) ทำให้ตัวอ่อนเพลี้ยไฟตาย 70% ในขณะที่เชื้อรา *Beauveria bassiana* (DOAE1) และ *Metarhizium flavoviride* (BCC1707) มีประสิทธิภาพต่ำสุดในการทำให้เพลี้ยไฟตาย, รา *Isaria fumosorosea* (BCC1659) ที่ความเข้มข้นของสปอร์ 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการทำให้เพลี้ยไฟตายมากกว่าความเข้มข้นของสปอร์ที่ 10^7 และ10^5 สายพันธุ์ เชื้อราที่เจริญเติบโตรวดเร็วและสร้างสปอร์เป็นจำนวนมาก เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการนำมาพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดเพลี้ยไฟ ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาปัจจัยต่างๆ ในการเข้าทำลายแมลงของเชื้อรา.

---

[1] ฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

1. บทนำ

กล้วยไม้เป็นสินค้าที่ได้รับความนิยมสูงในตลาดโลก และเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของไทย นอกจากความสวยงามโดดเด่น, มีมูลค่าสูง กล้วยไม้ของไทยสามารถสร้างรายได้เข้าสู่ประเทศได้เป็นจำนวนมาก ในปี พ.ศ. 2552 ประเทศไทยส่งออกดอกกล้วยไม้และต้นกล้วยไม้คิดเป็นมูลค่า 586,157.173 ล้านบาท ซึ่งเป็นอันดับ 1 ของไม้ดอกไม้ประดับที่ส่งออกทั้งหมด โดยประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกดอกกล้วยไม้เขตร้อนสูงเป็นอันดับ 1 ของโลกมาโดยตลอด ส่วนใหญ่ผลิตดอกกล้วยไม้ ได้แก่ กล้วยไม้สกุลหวาย, สกุลมอคคารา และสกุลแวนดา ทั่วโลกมีการซื้อขายดอกกล้วยไม้ประมาณ 30,000 ล้านบาท ส่วนใหญ่เป็นกล้วยไม้ เขตร้อนสกุลหวาย, โดยมีตลาดรับซื้อประมาณ 84 ประเทศ ที่สำคัญ ได้แก่ ญี่ปุ่น, อิตาลี, ฝรั่งเศส, เยอรมนี, สาธารณรัฐประชาชนจีน, สหรัฐอเมริกา, เนเธอร์แลนด์, อังกฤษ และรัสเซีย (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร 2556) ปัญหาการปลูกและการส่งออกกล้วยไม้ของประเทศไทยมีอุปสรรคหลายด้านโดยเฉพาะปัญหาด้านโรคและแมลงที่ติดไปกับผลผลิต ซึ่งเป็นช่องทางให้ประเทศคู่ค้าออกมาตรการกีดกันทางการค้ากับประเทศไทย ทำให้หน่วยงานที่มีหน้าที่ออกใบรับรองปลอดศัตรูพืชเพิ่มความเข้มงวดในการตรวจสอบมากขึ้น โดยเฉพาะปัญหาจากเพลี้ยไฟฝ้ายที่ติดไปกับกล้วยไม้ในการส่งออกดอกกล้วยไม้เข้าไปบางประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา, ญี่ปุ่น และประเทศในเครือสหภาพยุโรป เช่น อิตาลี และอังกฤษ เป็นต้น หากด่านเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชในประเทศเหล่านั้น ตรวจพบเพลี้ยไฟชนิดนี้แม้เพียง 1 ตัว ก็จะทำการเผาดอกกล้วยไม้ที่นำเข้าชุดนั้น เช่น ในปี พ.ศ. 2540 มีกล้วยไม้ที่ส่งออกจากประเทศไทยไปยังประเทศในแถบยุโรปถูกเผาทำลายทิ้งหลายครั้งเนื่องจากตรวจสอบพบเพลี้ยไฟติดไปกับผลผลิตกล้วยไม้ (สุขสมบูรณ์ 2550).

เพลี้ยไฟฝ้ายมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Thrips palmi* Karny เป็นแมลงปากดูดที่มีพืชอาศัยกว้าง (polyphagous) พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไปเป็นที่รู้จักกันดีในวงการผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ ในชื่อว่า “ตัวกันสี” เป็นแมลงปากดูดที่มีขนาดเล็กมาก มีความยาวประมาณ ½-2 มิลลิเมตร รูปร่างเรียวยาว ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยมีลักษณะคล้ายกัน แต่ตัวอ่อนไม่มีปีก ตัวอ่อนมีสีเหลืองอ่อนหรือสีน้ำตาลอ่อนหรือสีดำ ตัวแก่มีปีกซึ่งมีลักษณะแคบยาว มักจะพบเห็นตัวอ่อนเกาะบนกล้วยไม้ เพลี้ยไฟมีการเคลื่อนไหวรวดเร็วมาก ถ้าไม่สังเกตจะมองไม่เห็นตัว วงจรชีวิตของเพลี้ยไฟตั้งแต่ไข่จนเป็นตัวเต็มวัยกินเวลาประมาณ 7-10 วัน ทำให้เพลี้ยไฟสามารถขยายแพร่พันธุ์ได้รวดเร็ว ซึ่งพบระบาดมากในช่วงฤดูแล้งอากาศค่อนข้างร้อนหรือช่วงที่ไม่มีฝน (พูนไชยศรี 2539) เพลี้ยไฟที่ทำลายกล้วยไม้ในประเทศไทย มี 7 ชนิดด้วยกัน ชนิดที่เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญที่สุดในกล้วยไม้ ได้แก่ ชนิด *Thrips*

palmi เพลี้ยไฟชนิดนี้พบทำลายดอกกล้วยไม้เป็นประจำ ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยทำลายพืชโดยการดูดน้ำเลี้ยง โดยเฉพาะส่วนอ่อนหรือส่วนเจริญ เช่น ตา, ใบอ่อน และดอก เป็นต้น ส่วนของพืชที่ถูกเพลี้ยไฟทำลาย จะมีอาการหงิกงอ, เป็นคลื่น, มีสีขาวซีด หรือถ้ามีการทำลายรุนแรงส่วนนั้นๆ จะเป็นรอยด่างสีน้ำตาล, เหี่ยวแห้ง เพลี้ยไฟจะเริ่มเข้าทำลายตั้งแต่ยังเป็นตาดอก ทำให้ตาดอกเหี่ยวแห้งไม่ออกดอก การทำลายตั้งแต่เป็นดอกตูมจะทำให้ดอกมีรูปร่างผิดปกติกลีบดอกหงิกงอบิดเบี้ยวและเล็กลงมากจนถึงเป็นรอยด่างสีน้ำตาล (เกษรจันทร์ 2541) นอกจากกล้วยไม้แล้ว เพลี้ยไฟชนิดนี้ยังสามารถระบาดรุนแรงในพืชอื่นๆ เช่น ฝ้าย, ผักในตระกูลพริก-มะเขือ, มันฝรั่ง, แตงโม และถั่วฝักยาว โดยพบการระบาดในหลายๆ ภูมิภาคเกือบทั่วโลก เช่น มาเลเซีย, อินโดนีเซีย, ฟิลิปปินส์, อินเดีย, ฮ่องกง, ปากีสถาน และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น (เซียนมีสุข และคณะ 2542).

การเลี้ยงกล้วยไม้ในประเทศไทยมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายเป็นจำนวนมาก เพราะสารเคมีให้ผลในการป้องกันกำจัดที่รวดเร็ว และประหยัดแรงงานในการดูแลดอกกล้วยไม้ เมื่อมีการใช้สารเคมีมากขึ้นทำให้เกิดปัญหาความต้านทานสารเคมี เนื่องจากเกษตรกรส่วนใหญ่มักใช้สารเคมีอย่างไม่ถูกหลัก ทำให้เกิดปัญหาเพลี้ยไฟมีความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงหลายชนิด นอกจากนี้ ยังส่งผลให้เกิดปัญหาสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อมและผลิตภัณฑ์กล้วยไม้ เกิดปัญหาการกีดกันทางการค้า เนื่องจากสารเคมีที่ตกค้างตามมามากขึ้น ในปัจจุบันจึงได้มีการพัฒนาวิธีการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายขึ้นหลายวิธี ซึ่งปกติการใช้วิธีใดวิธีหนึ่งมักไม่ได้ผลในการป้องกันกำจัดเท่าที่ควร การป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในกล้วยไม้ให้ได้ผลดีควรใช้หลายๆ วิธีร่วมกัน เช่น วิธีกล, วิธีเขตกรรม, ร่วมกับการใช้สารเคมี และการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายโดยชีววิธี เช่น การใช้แมลงตัวห้ำ หรือแมลงตัวเบียน และการใช้จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงอย่างแบคทีเรีย และเชื้อราบางชนิด เป็นอีกทางเลือกในการนำศัตรูธรรมชาติมาใช้ป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (กรมวิชาการเกษตร 2538).

ปัจจุบันมีการใช้เชื้อราป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชกันอย่างแพร่หลาย เช่น การใช้รา *Metarhizium anisopliae* ในการกำจัด cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*) และรา *Beauveria bassiana* ที่มีการใช้เป็นการค้าแทนการใช้สารเคมีในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด (Hajek *et al*. 2001) สำหรับเพลี้ยไฟมีรายงานพบเชื้อราหลายชนิดที่ก่อโรค เช่น รา *Verticillium lecanii*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* และรา *Paecilomyces fumosoroseus* ที่ทำให้เกิดโรคกับเพลี้ยไฟ *Thrips tabasi* (Gillespie 1986; Fransen 1990; Maniania *et al*. 2003) และพบว่า เชื้อรา *Hirsutella* sp., *P. fumosoroseus*, *B. bassiana*,

V. lecanii และ *Lecanicillium muscarium* กำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย *T. palmi* (Hall *et al*. 1994; Saito 1991; Saito 1992; Smith *et al.* 2005).

กล้วยไม้ในประเทศไทยพบปัญหาการระบาดของเพลี้ยไฟฝ้าย สร้างความเสียหายกับผลผลิตกล้วยไม้เป็นอย่างมาก การศึกษาหาเชื้อราสาเหตุโรคของเพลี้ยไฟฝ้าย เพื่อนำมาพัฒนาเป็น mycoinsecticides สำหรับใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในกล้วยไม้เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง เพื่อลดปัญหาการต้านทานสารเคมีของเพลี้ยไฟ และลดปัญหาสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อม และผลผลิต นอกจากนี้ ยังเป็นการลดต้นทุนการผลิตเมื่อสามารถลดค่าใช้จ่ายในการซื้อสารเคมีลงได้.

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 วัสดุ

ตัวอย่างเชื้อราที่ใช้ในการศึกษาความสามารถในการก่อโรคกับแมลงทั้งหมด 20 สายพันธุ์ ซึ่งแยกได้จากดินในป่า, ซากแมลงในแปลงข้าว และรวบรวมจากฝ่ายเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ดังแสดงในตารางที่ 1.

ตารางที่ 1. เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ศึกษา จำนวน 20 สายพันธุ์ แบ่งเป็น 7 genera 7 species

Scientific name	Code	Host	Source
Aschersonia paraphysata	BCC 1467	Homoptera - scale insect/Leaf	BIOTEC
Beauveria sp.	BCC 2114	Lepidoptera - pupa/Leaf	BIOTEC
Beaverria bassiana	TISTR3617	-	TISTR
	DOAE 1	-	Department Of Agricultural Extension
	NIPOL1	Brown plant hopper	TISTR
Hirsutella brunneapunctata	BCC2218	Coleoptera - elaterid larva/Soil	BIOTEC
Isaria fumosorosea	BCC1659	Bupressidae/Leaf litter	BIOTEC
	BCC7058	-	BIOTEC
	TISTR3618	-	TISTR
Metarhizium anisopliae	BCC1701	Homoptera - hopper/Leaf	BIOTEC
	TISTR3607	-	TISTR
	NIPOl 2	Brown plant hopper	TISTR
Metarhizium flavoviride	BCC1707	Hemiptera - nymph/ leaf	BIOTEC
Paecilomyces lilacinus	TISTR 15	Leaf litter	TISTR
	TISTR 19	Leaf litter	TISTR
	TISTR 22	Leaf litter	TISTR
Verticillium sp.	TISTR 3	Leaf litter	TISTR

2.2 อุปกรณ์

1. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) HICLAVE ^{TM} รุ่น HVE-50.
2. ตู้เลี้ยงเชื้อ (Laminar flow).
3. เครื่องชั่ง.
4. กล้อง stereo microscope.
5. กล้องจุลทรรศน์.
6. กล่องพลาสติกสำหรับเลี้ยงเพลี้ยไฟฝ้าย.

2.3 วิธีการ

2.3.1 การแยกเชื้อราแมลง (Entomopathogenic fungi)

1. การแยกเชื้อรา จากดินใช้ตัวอย่างดินประมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อเกลี่ยให้กระจายทั่วจาน จากนั้น นำอาหาร (Baath's medium 1991) (malt extract 20g; $CuSO_4$. $5H_2O$ 200-400 mg (of Cu); agar 15 g; distilled water 1,000 ml) มาเททับ ทิ้งไว้ 2-4 วันจะพบโคโลนีของเชื้อราเจริญขึ้นมาบนผิวหน้าอาหาร ใช้เข็มเขี่ยตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีมาวางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เพื่อเลี้ยงให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ต่อไป.

2. การแยกเชื้อราจากซากแมลง นำเศษซากแมลงที่เก็บได้มาตรวจดูใต้กล้อง stereo microscope เมื่อตรวจพบส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราใช้เข็มเขี่ยขนาดเล็ก ตักเชื้อราขึ้นมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มทิ้งไว้ 3-5 วันจะพบเชื้อราเจริญขึ้นเป็นโคโลนี นำมาตรวจสอบดูส่วนขยายพันธุ์ใต้กล้องจุลทรรศน์ และเลี้ยงให้ได้เชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป.

2.3.2 การคัดเลือกเชื้อราเพื่อใช้ทดสอบความสามารถในการก่อโรคกับแมลง

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการสร้าง enzyme chitinase protease lipase และ amylase ตามวิธีของ Kaur and Padmaja (2009) เพื่อคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้าง enzyme ดังกล่าวมาทำการทดสอบความสามารถในการก่อโรคกับแมลง.

2.3.3 การเพาะเลี้ยงเพลี้ยไฟฝ้ายเพื่อการทดลอง

เพาะเลี้ยงเพลี้ยไฟฝ้าย *Thrips palmi* โดยการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ในโรงเรือนปลูกพืชทดลองโดยกล้วยไม้ที่นำมาเลี้ยงนั้นจะไม่ฉีดพ่นสารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคและแมลงเลยเป็นระยะเวลา 1 เดือน นำดอกกล้วยไม้ มาวางในถังพลาสติกที่เจาะรูระบายอากาศและปิดทับด้วยผ้ามุ้งเขี่ยตัวเต็มวัยเพลี้ยไฟลงไปประมาณ 10 ตัว ปิดฝาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพลี้ยจะดูดกินอาหารจาก

กลีบดอกกล้วยไม้เมื่อดอกโทรมเปลี่ยนดอกกล้วยไม้ช่อใหม่โดยใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยไฟจากช่อดอกเดิมลงไปบนช่อดอกใหม่วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง.

2.3.4 การเตรียมสารแขวนลอยเชื้อรา

เลี้ยงเชื้อราแต่ละสายพันธุ์บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน หรือจนเชื้อรามีการเจริญสร้างสปอร์แล้ว นำมาเตรียมสารแขวนลอยของเชื้อรา โดยเท 0.1% Tween 20® ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อ, จากนั้น ใช้แท่งแก้วขูดผิวหน้าโคโลนีเพื่อให้สปอร์หลุดออกมาเป็นสารแขวนลอย ทำการตรวจวัดความเข้มข้นของสปอร์เชื้อราด้วยเครื่อง Improved Neubauer Bright Line Haemacytometer ปรับความเข้มข้นของสปอร์เชื้อราให้ได้ปริมาณสปอร์ตามที่ต้องการ คือ 10^9, 10^7 และ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร.

2.3.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรากับเพลี้ยไฟฝ้าย

เตรียมกล่องพลาสติกใสขนาดเล็กพร้อมฝาปิด โดยล้างทำความสะอาดด้วย 70% เอทิลแอลกอฮอล์ นำกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อมาวางลงในกล่องพลาสติกใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อหยดลงกระดาษเพื่อให้ความชื้น นำกลีบดอกกล้วยไม้ที่ล้างให้สะอาดและซับให้แห้งมาวางบนกระดาษกรองเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเพลี้ยไฟที่ใช้ทดสอบ จากนั้น ใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยไฟฝ้ายจำนวน 10 ตัว ใส่ลงในสารแขวนลอยของเชื้อราที่เตรียมไว้ ทิ้งไว้สักครู่ นำเพลี้ยไฟฝ้ายขึ้นจากสารแขวนลอยวางลงบนกลีบดอกกล้วยไม้ในกล่องพลาสติกปิดฝากล่องให้สนิท ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยมีชุดควบคุม 1 ชุด โดยใช้ตัวอ่อนเพลี้ยไฟฝ้ายเขี่ยลงใน 0.1% Tween 20® วางชุดทดลองทั้งหมดไว้ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นตรวจสอบการรอดชีวิตของเพลี้ยไฟใต้กล้อง stereo microscope เมื่อพบเพลี้ยไฟที่ตายมีการเจริญปกคลุมด้วยรา ใช้เข็มเขี่ยตักเส้นใยของเชื้อรามาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อตรวจสอบดูว่าเป็นเชื้อราชนิดเดียวกับเชื้อราที่ใช้ทดสอบหรือไม่.

2.3.6 การตรวจวัดผลการทดลอง

ทำการตรวจวัดผลการทดลองทุกวัน โดยนับจำนวนเพลี้ยไฟที่ตายไปจนครบ 7 วัน แล้วนำมาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราแต่ละชนิดในการทำให้เกิดโรคกับเพลี้ยไฟฝ้าย นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงตามวิธีของ Abbott (1925) โดยมีสูตรคำนวณ ดังนี้ :

เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง = [(C-T)/C] x 100

C = เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของแมลงในชุดควบคุม (Control).

T = เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของแมลงในแต่ละวิธี (Treatment).

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 การจำแนกชนิดและเพาะเลี้ยงเพลี้ยไฟเพื่อใช้ในการทดลอง

เก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟ จากแปลงกล้วยไม้มาจำแนกชนิดโดยดูจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตามวิธีของพูนไชยศรี (2544) พบว่า เป็นเพลี้ยไฟฝ้าย วงศ์ Thripidae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Thriphs palmi* เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในกรงเลี้ยงแมลงโดยใช้ดอกกล้วยไม้เป็นอาหารและศึกษาวงชีวิตของเพลี้ยไฟ ชนิดนี้ พบว่า ตัวอ่อนของเพลี้ยไฟฝ้ายมี 3 ระยะ มีรายละเอียด ดังนี้ :

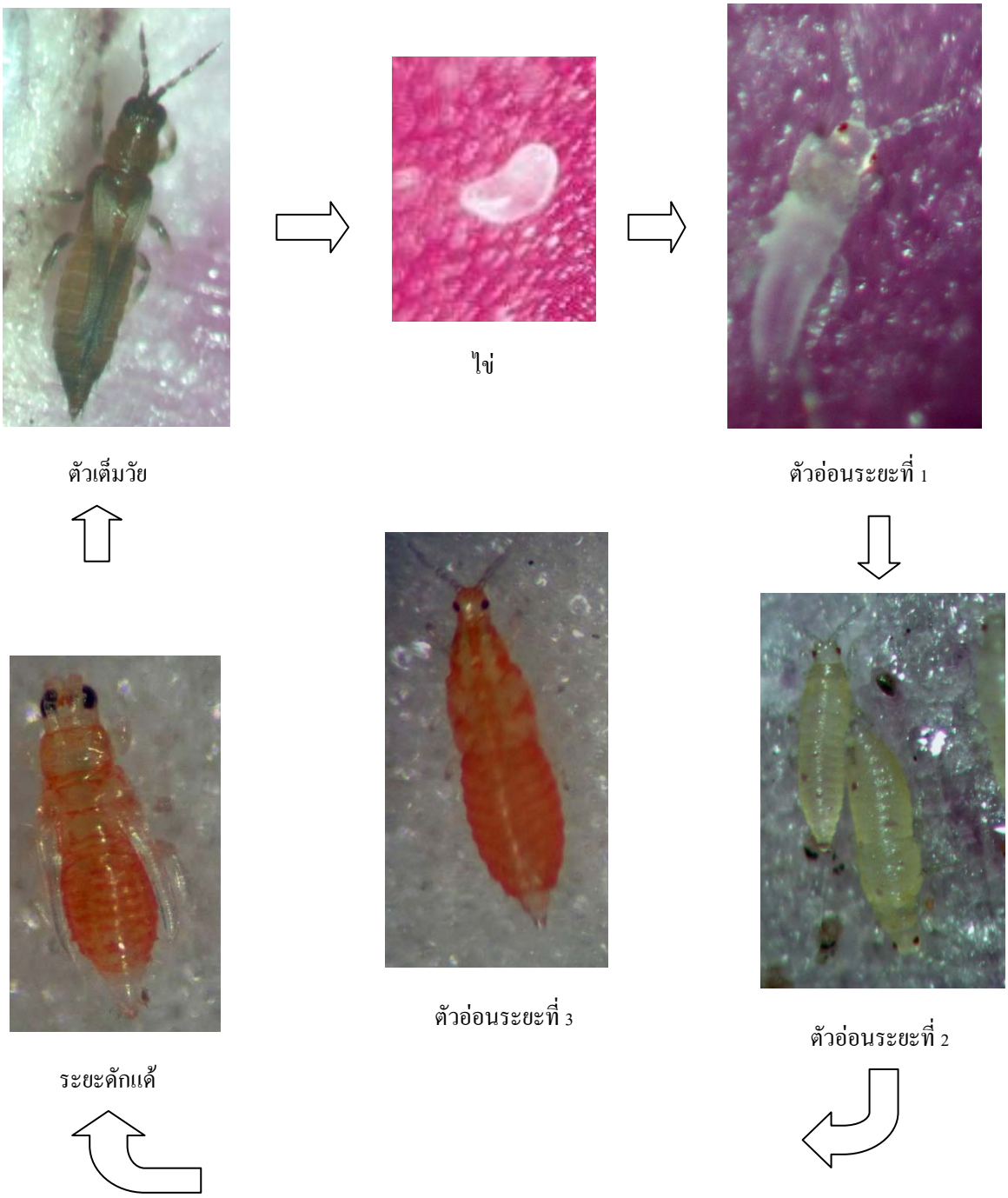
ระยะที่1 ตัวอ่อนจะมีสีขาวใส ลำตัวผอมเรียวเล็ก ขนาดลำตัวยาวประมาณ 0.2-0.3 มิลลิเมตร บริเวณปลายท้องค่อนข้างแหลม ตารวมขาวใส เคลื่อนไหวตลอดเวลาและเข้าทำลายพืชทันทีโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืช.

ระยะที่ 2 ลำตัวเพลี้ยไฟจะมีสีเหลืองเข้มขึ้น ขนาดลำตัวยาว 0.3-0.4 มิลลิเมตร ส่วนปลายของท้องไม่แหลมเท่าตัวอ่อนระยะแรก เคลื่อนไหวลำตัวว่องไวและรวดเร็วมาก.

ระยะที่ 3 ตัวอ่อนก่อนเข้าสู่ระยะดักแด้ ลำตัวมีสีเหลืองเข้ม ขนาด 0.5-0.7 มิลลิเมตร ตารวมมีสีเทาปนดำ, ตาเดี่ยวสีแดง, ตุ่มปีกบริเวณอกปล้องที่ 2 และ 3 เริ่มเจริญเติบโตมากขึ้น โดยระยะนี้จะมีการเคลื่อนไหวช้าลง แต่ยังดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืชอยู่.

ระยะดักแด้ หลังจากตัวอ่อนระยะที่ 3 จะเข้าสู่ดักแด้ เพลี้ยไฟมีลำตัวสีเหลืองเข้ม, หนวดชี้ไปทางด้านหลัง, เหนือส่วนหัว, มีแผ่นปีกที่เจริญเพิ่มมากขึ้น ยาวเกือบถึงปลายส่วนท้อง เป็นระยะที่อยู่นิ่งไม่เคลื่อนไหว ไม่กินอาหาร.

ตัวเต็มวัย มีขนาดลำตัวยาวประมาณ 0.8-1.0 มิลลิเมตร สีเหลืองเข้มจนถึงน้ำตาลดำ ปีกสีเหลืองปนน้ำตาล, ยาวคลุมมิดส่วนท้อง, มีขนยาวสีเทารอบปีก, ปล้องท้องมีจำนวน 10 ปล้อง ระยะนี้เพลี้ยจะเคลื่อนไหวรวดเร็วและว่องไวมาก ดังแสดงในรูปที่ 1.

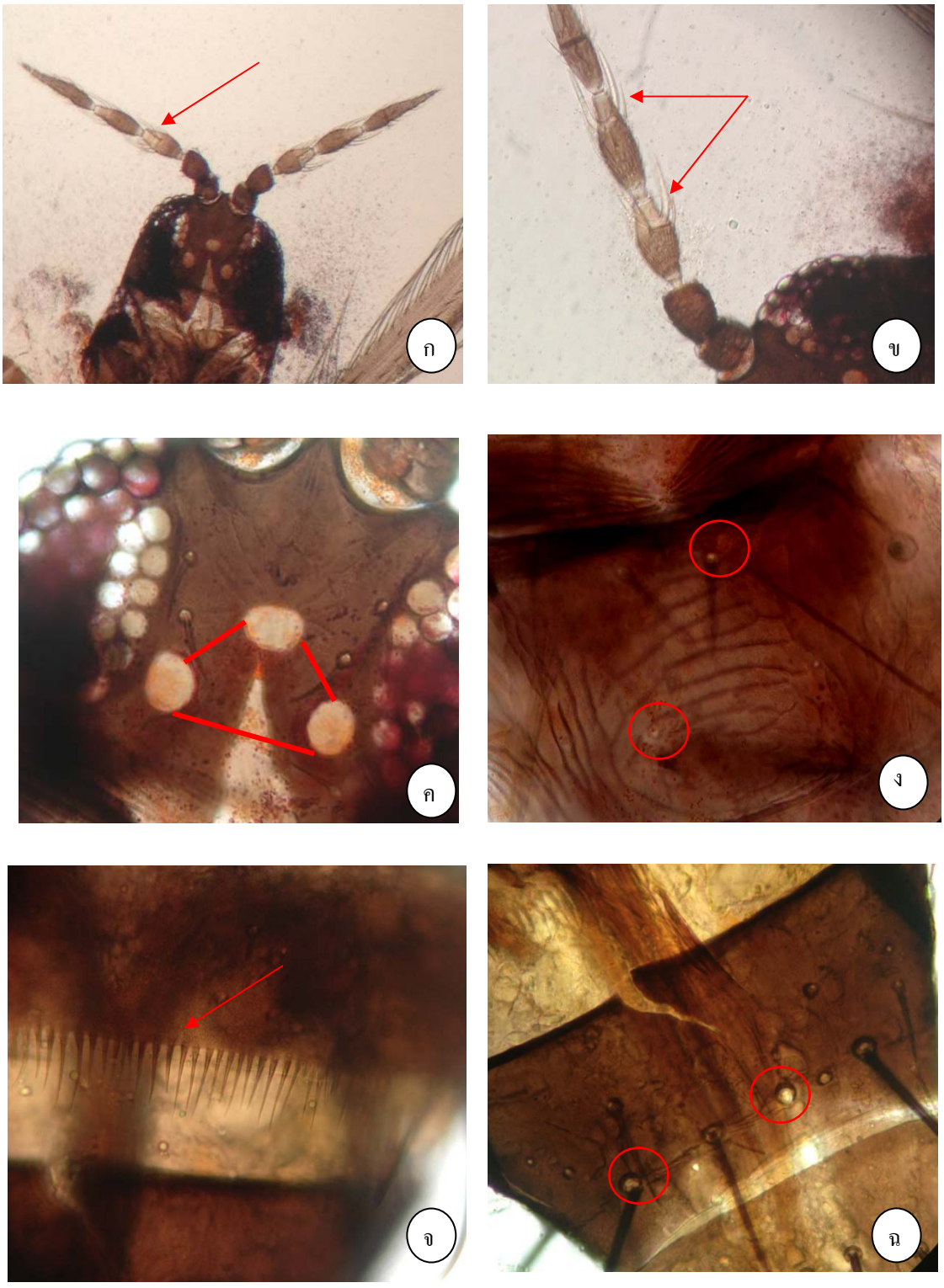


รูปที่ 1. วงจรชีวิตเพลี้ยไฟกล้วยไม้ (*Thrips palmi*).

เพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi*) สามารถจำแนกลักษณะสัณฐานวิทยาที่สำคัญซึ่งมีความแตกต่างจากเพลี้ยไฟชนิดอื่นได้ คือ มีหนวด 7 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3-4 มีเส้นขนลักษณะเป็นง่ามคล้ายส้อม เส้นขนของตาเดี่ยวคู่ที่ 3 ปรากฏนอกกรอบสามเหลี่ยมของตาเดี่ยว 3 ตา มีรูรับความรู้สึก 1 คู่ อยู่ที่ด้านหลังของอกปล้องที่ 3 มีเส้นขนลักษณะคล้ายฟันหวีที่ด้านท้องของปล้องท้องที่ 8 มีรูรับความรู้สึก 2 คู่ อยู่ที่ด้านท้องของปล้องท้องที่ 9 ดังแสดงในรูปที่ 2.

เลี้ยงเพลี้ยไฟในกล่องพลาสติกโดยมีดอกกล้วยไม้ที่ปลูกเลี้ยงเองในโรงเรือนปลูกพืชทดลองเป็นอาหารเลี้ยงเพลี้ยไฟพบว่า มีการเจริญเติบโตแพร่พันธุ์ได้ดีโดยเฉพาะในฤดูร้อน แต่จะเริ่มแพร่พันธุ์ได้น้อยลง และในบางครั้งพบมีไรและแมลงบางชนิดที่ติดไปกับดอกกล้วยไม้ที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเพลี้ยกัดกินไข่และตัวอ่อนของเพลี้ยทำให้มีตัวอ่อนไม่เพียงพอต่อการทดลอง.

เพลี้ยไฟชนิดนี้สามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิดทั้งพืชผัก, ไม้ดอก, ไม้ประดับและไม้ผล นอกจากนี้มีรายงานว่า เพลี้ยไฟชนิดนี้เป็นแมลงพาหะนำเชื้อไวรัสมาสู่พืช ได้แก่ water melon silver mottle virus (WSMoV), melon yellow spot virus (MYSV), tomato spotted wilt virus (TSWV) ไวรัสเหล่านี้เป็นไวรัสในกลุ่ม Tospovirus ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น พริก, มะเขือ, ถั่วลิสง และยาสูบ (Iwaki *et al*. 1984; Kato 2000; Fujisawa *et al*. 1988).



รูปที่ 2. ลักษณะสำคัญทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกเพลี้ยไฟฝ้าย Thrips palmi.

ก) มีหนวด 7 ปล้อง.

ข) หนวดปล้องที่ 3-4 มีเส้นขนลักษณะเป็นง่ามคล้ายส้อม.

ค) เส้นขนของตาเดี่ยวคู่ที่ 3 ปรากฏนอกกรอบสามเหลี่ยมของตาเดี่ยว 3 ตา.

ง) มีรูรับความรู้สึก 1 คู่ อยู่ที่ด้านหลังของอกปล้องที่.

จ) มีเส้นขนลักษณะคล้ายฟันหวีที่ด้านท้องของปล้องท้องที่ 8.

ฉ) มีรูรับความรู้สึก 2 คู่อยู่ที่ด้านท้องของปล้องท้องที่ 9.

3.2 การจำแนกชนิดเชื้อราที่ใช้ทดสอบ

เก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟในแปลงปลูกกล้วยไม้ ไม่พบเพลี้ยไฟที่ถูกทำลายด้วยเชื้อราในแปลงปลูกกล้วยไม้ เก็บตัวอย่างราที่ทำลายแมลงได้จากแปลงปลูกข้าว โดยเป็นตัวอย่างเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบเชื้อราเจริญปกคลุม ได้แก่ รา *Beauveria bassiana* (N1), *Metarhizium anisopliae* (N2) *Paecilomyces lilacinus* (N3) และสามารถแยกรา *Paecilomyces lilacinus*, *Verticillium* sp. ได้จากเศษซากใบไม้ที่เน่าเปื่อย ราสาเหตุโรคแมลงส่วนใหญ่ที่นำมาทดสอบได้รับความอนุเคราะห์จาก ฝ่ายเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และกรมส่งเสริมการเกษตร ซึ่งเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ใช้ศึกษาทั้งหมดรวม 20 สายพันธุ์ แบ่งเป็น 7 สกุล 7 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.

ตารางที่ 2. Entomopathogenic fungi isolated from insect and leaf litter

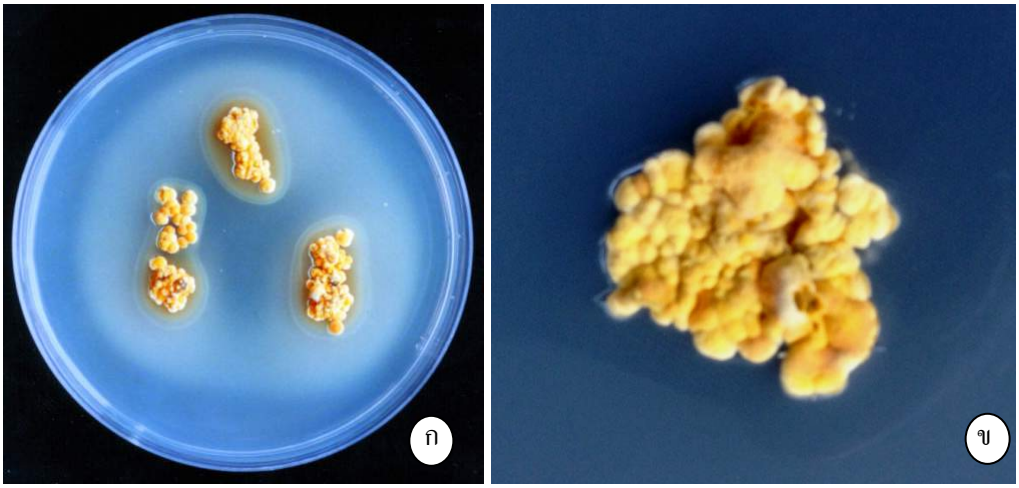
Scientific name	Source	Code
Aschersonia paraphysata	Homoptera-scale insect/Leaf	BCC1467
Beauveria sp.	Lepidoptera-pupa/Leaf	BCC2114
Beauveria bassiana	-	TISTR3617
Beauveria bassiana	-	DOAE1
Beauveria bassiana	Homoptera-brown plant hopper/Leaf	N 1
Hirsutella brunneapunctata	Coleoptera-elaterid larva/Soil	BCC2218
Isaria fumosorosea	Bupressidae/Leaf	BCC1659
Isaria fumosorosea	-	BCC7058
Isaria fumosorosea	-	TISTR3618
Metarhizium anisopliae	Homoptera- hopper/Leaf	BCC1701
Scientific name	Source	Code
Metarhizium anisopliae	-	TISTR3607

ตารางที่ 2. (ต่อ)

Scientific name	Source	Code
Metarhizium anisopliae	Homoptera-brown plant hopper/Leaf	N 2
Meatarhizium flavoviride	Hemiptera-nymph/Leaf	BCC1707
Paecilomyces lilacinus	Hemiptera-Cydnidae/Leaf litter	BCC2156
Paecilomyces lilacinus	-	TISTR3619
Paecilomyces lilacinus	Homoptera-brown plant hopper/Leaf	N 3
Paecilomyces lilacinus	Leaf litter	TISTR15
Paecilomyces lilacinus	Leaf litter	TISTR19
Paecilomyces lilacinus	Leaf litter	TISTR22
Verticillium sp.	Leaf litter	TISTR3

3.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่แยกจากแมลงและเศษซากพืช

3.3.1 ***Aschersonia paraphysata*** ดังแสดงในรูปที่ 3.



รูปที่ 3. ***Aschersonia paraphysata*** **โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 1 เดือน.**

Phylum : Ascomycota

Class : Sordariomycetes

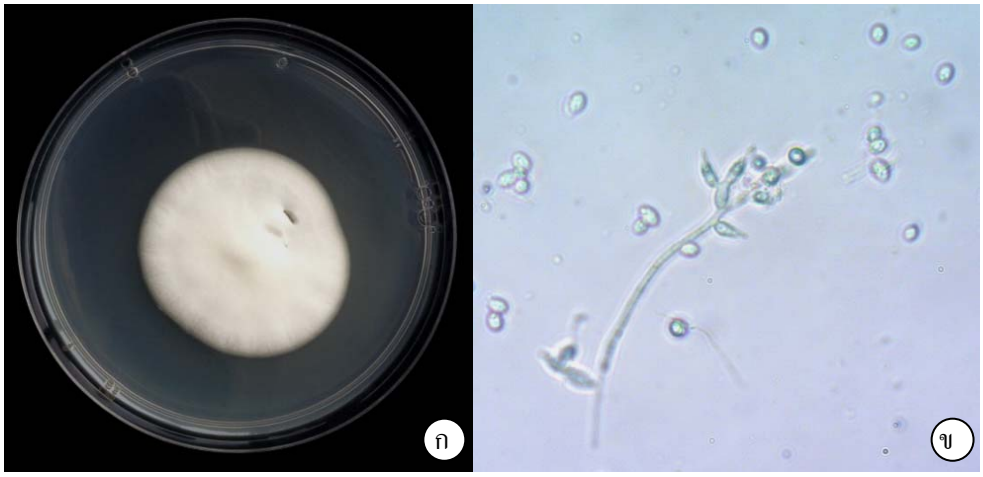
Order : Hypocreales

Family : Clavicipitaceae

สร้าง teleomorph state ราชนิดนี้เจริญเติบโตช้า โคโลนีสีเหลือง ขอบโคโลนีไม่เรียบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4-5 มิลลิเมตร รานี้สร้างสปอร์ช้า หรืออาจไม่สร้างสปอร์ มีรายงานว่า รา *A. paraphysata* สร้างสปอร์เมื่ออายุได้ 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 20 °ซ. โดยสปอร์มีขนาดเล็ก รูปกระสวยจำนวนมากจะเกิดในโครงสร้างที่เรียกว่า pycnidia.

แยกรานี้ได้จาก Homoptera-scale insect (เพลี้ยหอย) Isaka (2010) รายงานว่า รา *Aschersonia paraphysata* สายพันธุ์ BCC 11964 สร้างสาร Hopene 1 และ aschernaphthopyrone A มีฤทธิ์ในการยับยั้งมาลาเรีย.

3.3.2 *Beauveria bassiana* ดังแสดงในรูปที่ 4.



รูปที่ 4. *Beauveria bassiana* โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ก); conidia conidiophores phialind (ข).

Phylum : Ascomycota

Class : Sordariomycetes

Order : Hypocreales

Famil : Clavicipitaceae

โคโลนีเรียบ เป็นฝุ่นคล้ายแป้งหรือชอล์ก เจริญเติบโตเร็ว สร้างสปอร์สีขาวครีมจำนวนมาก ลักษณะเป็นรูปทรงกลม ก้านชูสปอร์ตั้งขึ้นเป็นเส้นยาว เรียงเป็นสายเดียวหรือเป็นกิ่งก้าน กลุ่มของสปอร์อยู่รวมกัน เส้นใย ทรงกระบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-2.0 µ แยกรา Beauveria bassiana ได้จาก *Homoptera-brown plant hopper* (เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล).

Beauveria bassiana เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ สามารถทำลายแมลงได้หลายชนิดโดยการผลิตเอนไซม์ที่เป็นพิษต่อแมลงศัตรูพืช และเป็นเชื้อราที่อาศัยและกินเศษซากที่ผุพังในดิน แมลงที่ถูกทำลายจะแสดงอาการของโรค คือ เบื่ออาหาร, กินน้อยลง, อ่อนเพลีย และไม่เคลื่อนไหว สีผนังลำตัวเปลี่ยนไปเป็นจุดสีดำบนบริเวณที่ถูกเชื้อเข้าทำลายพบเส้นใยและผงสีขาวของสปอร์ปกคลุมตัวแมลง (Makoto and Takafumi 2005).

3.3.3 *Hirsutella brunneapunctata* ดังแสดงในรูปที่ 5.

รูปที่ 5. *Hirsutella brunneapunctata* โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 1 เดือน.

Phylum : Ascomycota

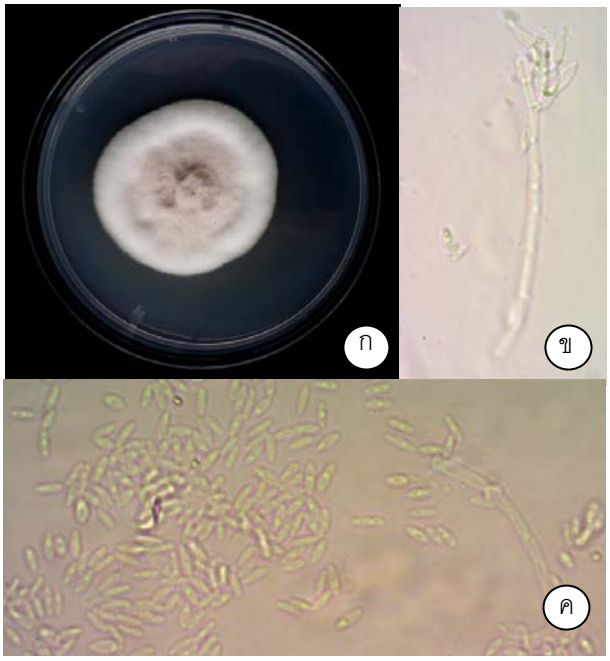
Class : Sordariomycetes

Order : Hypocreales

Family : Ophiocordycipitaceae

รา *Hirsutella brunneapunctata* มี teleomorph state เป็นรา *Ophiocordyceps brunneipunctat* รานี้เจริญเติบโตช้ามาก โคโลนีมีสีขาว ลักษณะเส้นใยแผ่ราบไปกับผิวอาหาร เส้นใยค่อนข้างเหนียว มีลักษณะเปียกชื้น ขนาด โคโลนีประมาณ 10-20 มม. เมื่ออายุได้ 1 เดือน ยังไม่พบการสร้างสปอร์ของรานี้บนอาหาร PDA ราในสกุลนี้ส่วนใหญ่เป็นราสาเหตุโรคของแมลง ไร และไส้เดือนฝอย และมีรายงานการนำมาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอย และไร (Bałazy *et al*. 2008; Boucias *et al*. 2007).

3.3.4 ***Isaria fumosorosea*** ดังแสดงในรูปที่ 6.



รูปที่ 6. ***Isaria fumosorosea*** **โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ก); conidia conidiophores phialind (ข-ค).**

Phylum: Ascomycota

Class : Ascomycetes

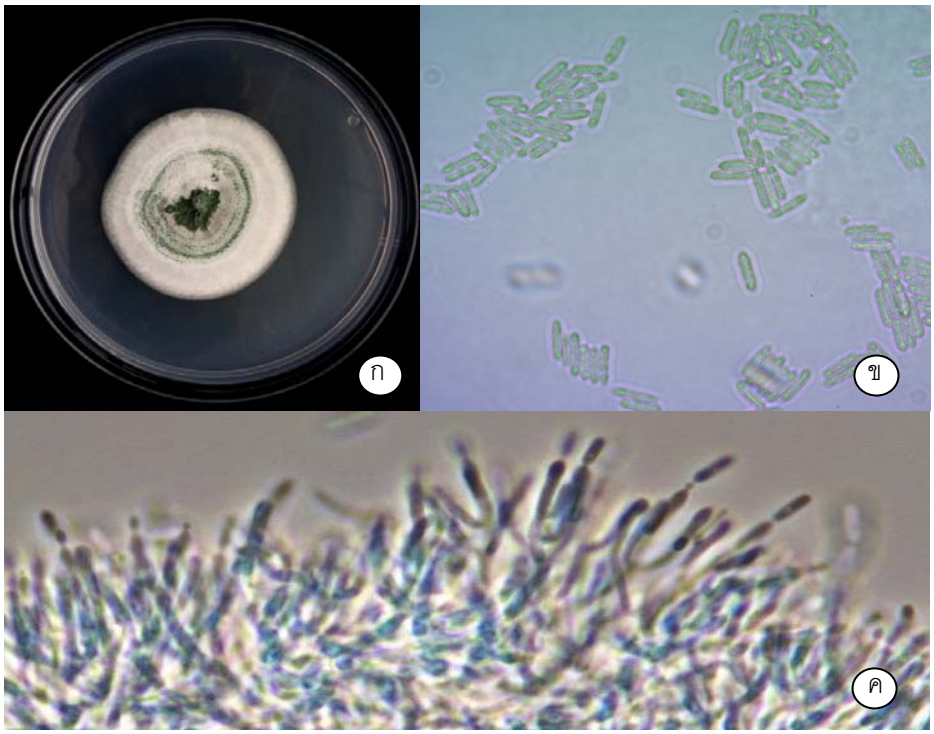
Order : Eurotiales

Family : Trichocomaceae

รา Isaria fumosorosea มี teleomorph state เป็นรา Cordyceps sp. เจริญเติบโตค่อนข้างช้า โคโลนีสีขาวอมชมพู ขนาดโคโลนีประมาณ 4-5 เซนติเมตร ลักษณะโคโลนีค่อนข้างฟู่ง, สร้างสปอร์, จำนวนมาก, รูปร่างยาวรี, ผนังเรียบ, เกิดเรียงกันอยู่บน Phialide.

Pick *et al.* (2010) รายงานการใช้ราชนิดนี้ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนที่เข้าทำลายต้นส้ม Stauderman *et al*. (2012) ใช้ราชนิดนี้ในการควบคุม Diaphorina citri (เพลี้ยหอย) ในแปลงปลูกมะนาว.

3.3.5 *Metarhizium anisopliae* ดังแสดงในรูปที่ 7.



รูปที่ 7. *Metarhizium anisopliae* โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ก); conidia conidiophores phialind (ข-ค).

Phylum : Ascomycota

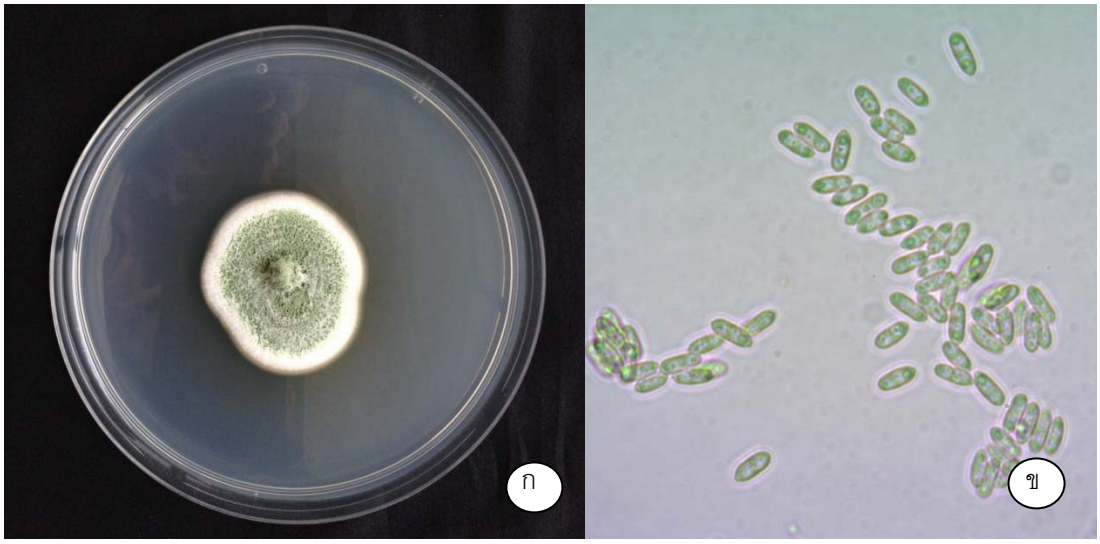
Class : Sordariomycetes

Order : Hypocreales

Family : Clavicipitaceae

M. anisopliae มี teleomorph state เป็นรา *Metacordyceps brittlebankisoides* โคโลนีบนอาหาร PDA ราเจริญเติบโตค่อนข้างเร็ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5-6 เซนติเมตร สร้างสปอร์สีเขียวเกิดเป็นวง สปอร์เกิดบน Phialide เกาะกลุ่มก้อนเป็นก้อนขนาดใหญ่ รูปร่าง cylindrical เรียงต่อกันเป็นโซ่ รานี้มีการนำมาใช้ในการควบคุมแมลงโดยชีววิธี และผลิตเป็นการค้าใช้กันอย่างแพร่หลาย สามารถเข้าทำลายแมลงได้มากกว่า 200 ชนิด, เนื่องจากราสามารถสร้างสาร เพื่อทำลายแมลงได้ สารที่สร้างมีคุณสมบัติเป็นยาปฏิชีวนะ หรือฤทธิ์ในการฆ่าแมลง (Vey *et al*. 2001).

3.3.6 *Metarhizium flavoviride* ดังแสดงในรูปที่ 8.



รูปที่ 8. *Metarhizium flavoviride* โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ก); conidia (ข).

Phylum : Ascomycota

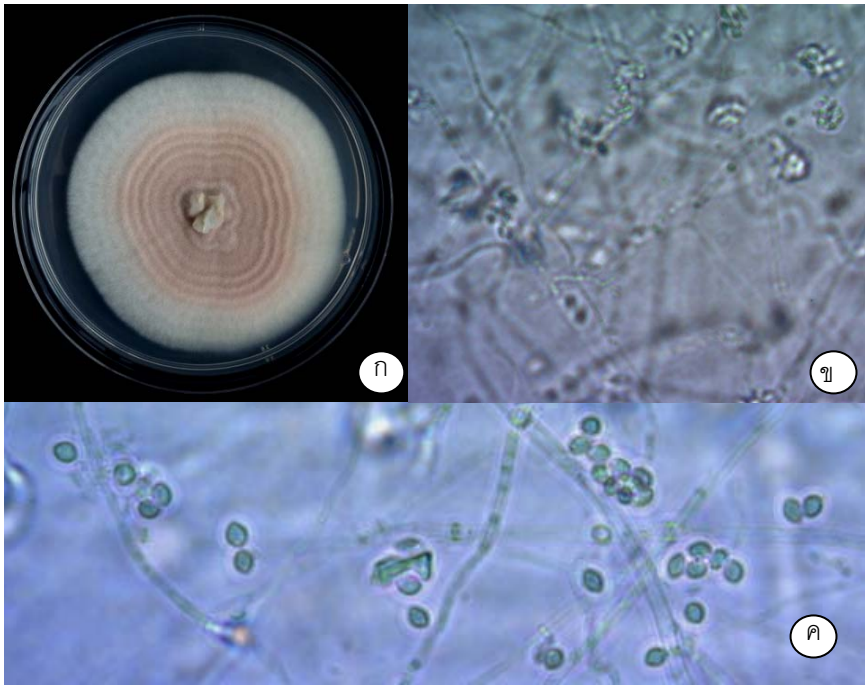
Class : Sordariomycetes

Order : Hypocreales

Family : Clavicipitaceae

Metarhizium flavoviride : โคโลนีบนอาหาร PDA เจริญเติบโตค่อนข้างเร็วสร้างสปอร์สีเขียวเกาะเป็นกลุ่มจำนวนมาก สปอร์รูปร่าง oval ขนาด 5-7 x 2 µm สีเทาจนถึงเขียวเข้ม เป็นราที่พบทำลายแมลงในกลุ่ม Hemiptera และ Coleoptera มีรายงานใช้เป็นราควบคุมตั๊กแตนหนวดสั้น (Humber 1997).

3.3.7 *Paecilomyces lilacinus* ดังแสดงในรูปที่ 9



รูปที่ 9. *Paecilomyces lilacinus* โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ก); conidia conidiophores phialind (ข-ค).

Phylum : Ascomycota

Class : Sordariomycetes

Order : Hypocreales

Family : Clavicipitaceae

Paecilomyces lilacinus : โคโลนีบนอาหาร PDA สีขาวอมชมพูลักษณะฟูเล็กน้อยสร้างสปอร์จำนวนมากเกิดเป็นกลุ่มบน phialind สปอร์รูปร่างรีหัวท้ายแหลมจนถึงรูปกระสวย ผนังเรียบ ขนาด 2.5- 3 x 2-2.5 µ โดยFiedler *et al*. 2007 ได้รายงานการใช้รา *P. lilacinus* ในการควบคุมแมลง และไร ในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง และรานี้สามารถควบคุมแมลงได้หลายชนิด.

3.3.8 *Verticillium* sp. ดังแสดงในรูปที่ 10.

รูปที่ 10. *Verticillium* sp. โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ก) ; conidia conidiophores phialind (ข).

Phylum : Ascomycota

Class : Incertae sedis

Family : Plectosphaerellaceae

Verticillium sp. : โคโลนีสีเหลืองเส้นใยค่อนข้างฟู เปลี่ยนสีอาหารเป็นสีเหลือง สร้างสปอร์จำนวนมากบน phialind ที่มีรูปร่างเรียวยาว สปอร์รูปร่างทรงกระบอกสั้นใสไม่มีสี รา *verticillium* เป็น parasite ของพืช, แมลง และไส้เดือนฝอย Vestergarrd *et al*. (1995) และ Brownbridge (1995) รายงานว่า ราในสกุล *verticillium* สามารถเข้าทำลายเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* และ *Taeniothrips inconsequens.*

3.4 การทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

ใช้เชื้อราทั้งหมด 32 สายพันธุ์ในการทดสอบความสามารถในการสร้าง enzyme 4 ชนิด ได้แก่ chitinase Protease Lipase และ Amylase จากผลการทดลองพบว่า เชื้อราแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป ดังแสดงในตารางที่ 2.

ผลการทดสอบ enzyme chitinase พบว่า เชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* No. 11 และ No. 22 สร้าง enzyme chitinase ย่อย coroidal chitin ที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อได้มากสุด 0.3 cm *Paecilomyces lilacinus lilacinus* No. 19 ย่อยได้ 0.2 เซนติเมตร ในขณะที่รา *Isaria fumosorosea* (BCC7058), *Metarhizium anisopliae* (BCC1407), *Metarhizium flavoviride* (BCC1707), *Paecilomyces lilacinus* (BCC2156), *Paecilomyces lilacinus* (No.12-16, No.18, No.20, No.21) ย่อยได้ 0.1 เซนติเมตร ในขณะที่รา *Aschersonia paraphysata* (BCC1467) *Beauveria* sp. (BCC2114) *Beaverria bassiana* (TISTR3617, DOAE1) *Hirsutella brunneapunctata* (BCC2218) *Paecilomyces lilacinus* (TISTR3619, No.5-10, No.11) ไม่สามารถย่อย coroidal chitin ที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อได้.

ผลการทดสอบ enzyme protease พบว่า เชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* No.19 สามารถย่อย gelatin ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้มากที่สุด 2.0 เซนติเมตร รองลงมา ได้แก่ *Paecilomyces lilacinus* (TISTR3619) ย่อยได้ 1.8 เซนติเมตร *Paecilomyces lilacinus* No.22 ย่อยได้ 1.6 เซนติเมตร. รา *Paecilomyces lilacinus* No.15 ย่อยได้ 1.5 เซนติเมตร *Metarhizium anisopliae* (BCC1407) และ *Paecilomyces lilacinus* No.21 ย่อยได้ 1.4 เซนติเมตร

ผลการทดสอบ enzyme lipase พบว่า เชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* No.20 *Verticillium* sp. No.3 ย่อยไขมันได้ 1.4 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ *Isaria fumosorosea* (TISTR3618), *Paecilomyces lilacinus* No.10, 18,21 ย่อยไขมันได้ 1.3 เซนติเมตร ในขณะที่รา *Beaverria bassiana* (TISTR3617, DOAE1), *Metarhizium anisopliae* (BCC1407, TISTR3607, BCC1707) ไม่สามารถย่อย ไขมันที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อได้.

ผลการทดสอบ enzyme amylase พบว่า เชื้อราทั้งหมดไม่สามารถย่อยแป้งที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อได้.

ตารางที่ 3. Enzyme activity of entomopathogenic fungi

Fungi	Diameter of enzyme activity (cm)			
	Chitinase	Protease	Lipase	Amylase
Aschersonia paraphysata (BCC1467)	0	-	-	0
Beauveria sp. (BCC2114)	0	1.2	0.3	0
Beaverria bassiana (TISTR3617)	0	1.2	0	0
Beaverria bassiana (DOAE1)	0	0.8	0	0
Hirsutella brunneapunctata (BCC2218)	0	-	-	0
Isaria fumosorosea (BCC1659)	0	-	-	0
Isaria fumosorosea (BCC7058)	0.1	1.2	1.0	0
Isaria fumosorosea (TISTR3618)	0	1.3	1.3	0
Metarhizium anisopliae (BCC1407)	0.1	1.4	0	0
Metarhizium anisopliae (TISTR3607)	0	-	0	0
Metarhizium flavoviride (BCC1707)	0.1	0.3	0	0
Paecilomyces lilacinus (BCC2156)	0.1	1.1	0.5	0
Paecilomyces lilacinus (TISTR3619)	0	1.8	0.7	0
Paecilomyces lilacinus No.5	0	-	-	0
Paecilomyces lilacinus No.6	0	1.0	1.1	0
Paecilomyces lilacinus No.7	0	0.8	1.0	0
Paecilomyces lilacinus No.8	0	0.7	1.2	0
Paecilomyces lilacinus No.9	0	1.0	1.0	0
Paecilomyces lilacinus No.10	0	1.0	1.3	0
Paecilomyces lilacinus No.11	0.3	0.7	0.9	0
Paecilomyces lilacinus No.12	0.1	1.0	1.1	0
Paecilomyces lilacinus No.13	0.1	1.1	1.0	0
Paecilomyces lilacinus No.14	0.1	1.1	0.9	0
Paecilomyces lilacinus No.15	0.1	1.5	0.8	0
Paecilomyces lilacinus No.16	0.1	1.2	0.7	0
Paecilomyces lilacinus No.17	0	1.0	0.9	0
Paecilomyces lilacinus No.18	0.1	0.5	1.3	0
Paecilomyces lilacinus No.19	0.2	2.0	0.7	0
Paecilomyces lilacinus No.20	0.1	0.6	1.4	0
Paecilomyces lilacinus No.21	0.1	1.4	1.3	0
Paecilomyces lilacinus No.22	0.3	1.6	1.0	0

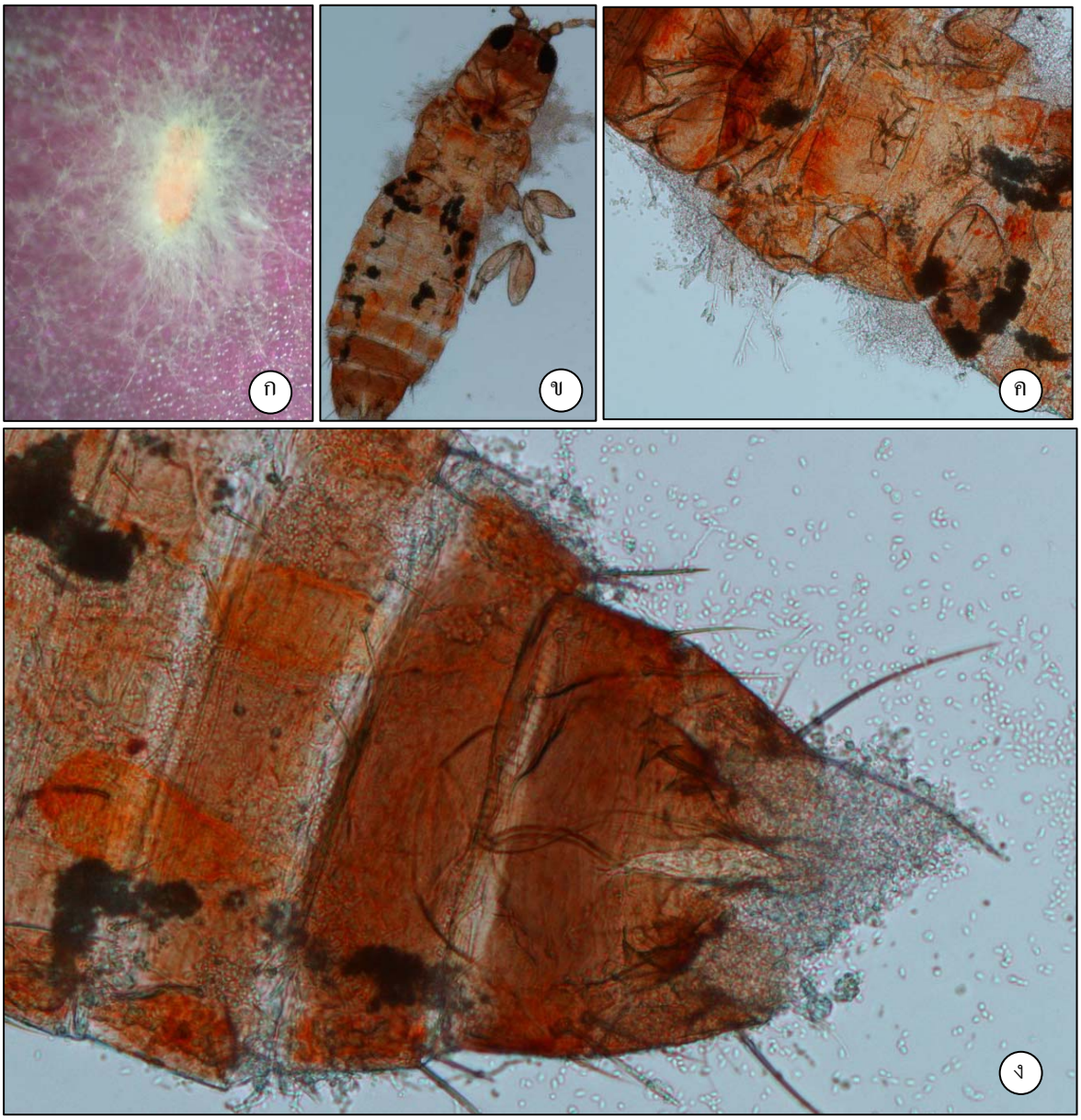
3.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรากับเพลี้ยไฟฝ้าย

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราทั้ง 20 สายพันธุ์ กับเพลี้ยไฟฝ้ายในห้องปฏิบัติการ เชื้อราที่มีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยไฟตายดีที่สุดเรียงลำดับ ดังนี้ ราที่ทำให้เพลี้ยไฟตาย 80% ได้แก่ *Isaria fumosorosea* (BCC1659); 70% ได้แก่ *Beauveria bassiana* (N2) และ *Metarhizium anisopliae* (TISTR3607); 60% *Isaria fumosorosea* (BCC7058); 50% *Metarhizium anisopliae* (N2) เชื้อราที่สามารถทำให้เพลี้ยไฟตายได้แต่มีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำ คือ ทำให้เพลี้ยไฟตาย 40% ได้แก่ รา *Paecilomyces lilacinus* (BCC 2156, TISTR 3619, TISTR 15) ; 30% ได้แก่ *Beauveria bassiana* (TISTR3617), *Metarhizium anisopliae* (BCC 1701) *Paecilomyces lilacinus* (N3) ; 20% *Beauveria* sp. (BCC2114); 10% *Paecilomyces lilacinus* (TISTR19, TISTR22) *Verticillium* sp. (TISTR3) เชื้อราที่ไม่ทำให้เพลี้ยไฟตายในการทดลองนี้ คือ *Aschersonia paraphysata* (BCC1467), *Beauveria bassiana* (DOAE1), *Hirsutella brunneapunctata* (BCC2218), *Meatarhizium flavoviride* (BCC1707) ดังแสดงในตารางที่ 3. รา *Aschersonia paraphysata* และ *Hirsutella brunneapunctata* เจริญเติบโตช้า ราทั้งสองชนิดไม่สามารถสร้างสปอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เส้นใยของเชื้อรานี้ไม่สามารถงอกเข้าไปเจริญขยายพันธุ์ในลำตัวแมลงได้ ประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยไฟต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิ, ความชื้น และปริมาณเชื้อที่แมลงได้รับ โดยปกติเชื้อราต้องการความชื้นสูง เพื่อทำให้สปอร์งอกแทงผ่านผนังลำตัวแมลง เชื้อราบางชนิดต้องใช้ปริมาณความเข้มข้นของสปอร์สูงมาก มีรายงานว่าการใช้เชื้อรา *Verticillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* ควบคุมเพลี้ยไฟ จำเป็นต้องใช้เชื้อราในปริมาณที่สูงมาก เนื่องจากเพลี้ยไฟเป็นแมลงที่ชอบหลบซ่อนตัวและมีการเคลื่อนไหวที่รวดเร็ว ทำให้มีโอกาสได้รับเชื้อน้อย (Brownbridge 1995) อายุของแมลงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมเพลี้ยไฟ. Vestergaard *et al*. (1995) รายงานว่า เพลี้ยไฟในระยะตัวอ่อนมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรามากกว่าในระยะดักแด้และตัวเต็มวัย เนื่องจากมีการลอกคราบทำให้สปอร์ที่ติดไปกับลำตัวหลุดออกไปด้วย ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอ่อนระยะที่ 2 และ 3 ในการทดลองซึ่งการทดลองอาจคลาดเคลื่อนได้ ส่วนการทดลองเกี่ยวกับความเข้มข้นของสปอร์พบว่าเชื้อราจะเข้าทำลายเพลี้ยไฟได้ดีเมื่อใช้ความเข้มข้นของสปอร์ที่ 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร, อัตราการตายของเพลี้ยไฟลดลงเมื่อลดปริมาณความเข้มข้นของสปอร์ลง, อัตราการตายของเพลี้ยไฟลดต่ำกว่า 50% เมื่อลดปริมาณความเข้มข้นของสปอร์ลงเหลือ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จากการสังเกตพฤติกรรมของเพลี้ยไฟเมื่อเชื้อราเข้าทำลายเพลี้ยไฟเริ่มมีการเคลื่อนไหวช้าลงหรือหยุดการเคลื่อนไหว เชื้อราจะแทงทะลุผ่านผนังลำตัวเพลี้ยไฟเจริญสร้างเส้นใยในตัวแมลง หลังจากนั้นเชื้อราจะสร้างเส้นใยปกคลุมลำตัวเพลี้ยไฟ เพลี้ยไฟจะแห้งแข็งมีลักษณะที่เรียกว่า mummified ดังแสดงในรูปที่ 11-14.

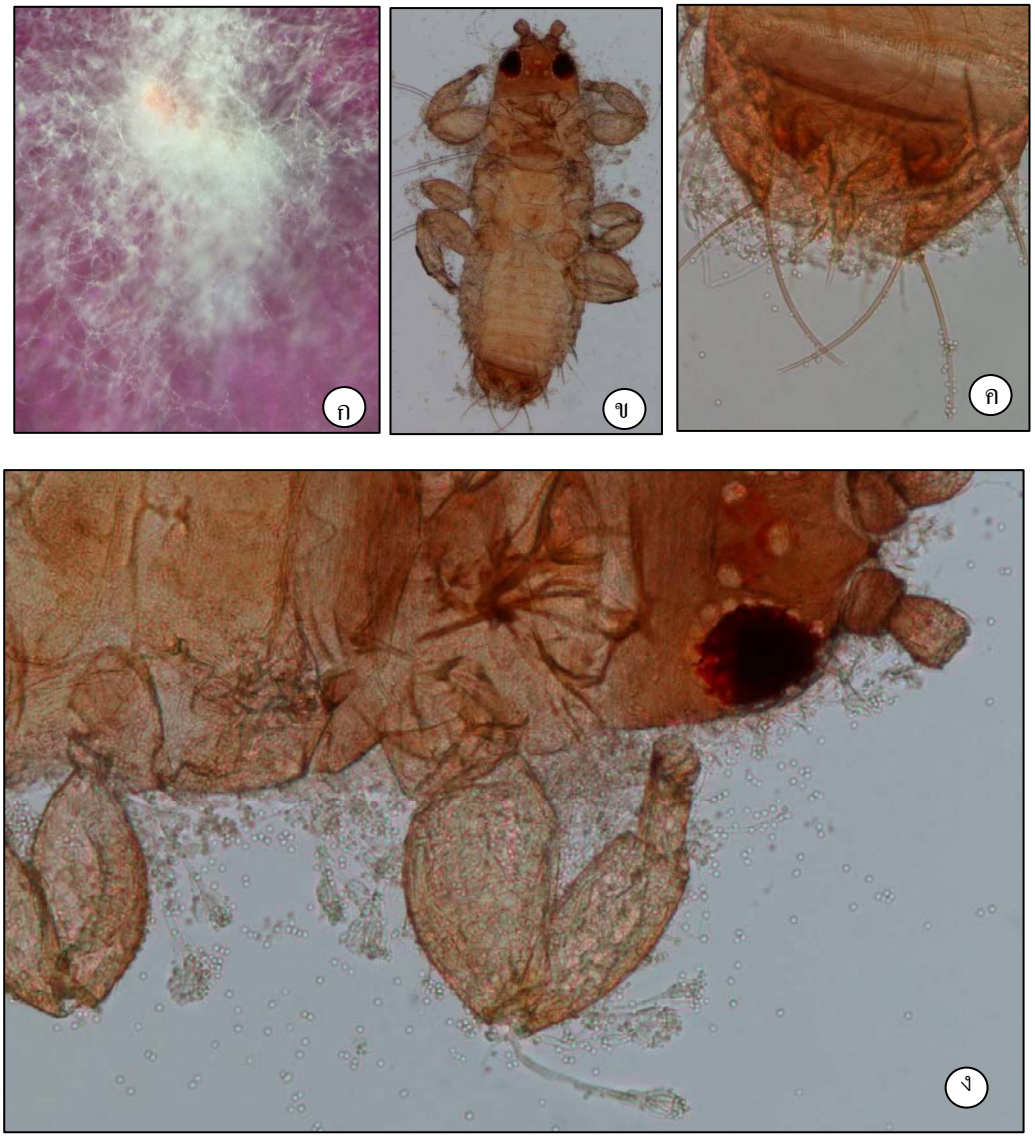
ตารางที่ 4. Efficiency of entomopathogenic fungi against cotton thrips, *Thrips palmi*

Acession No.	Scientific name	No. mortarity			Average no. mortality	%mortality
		Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3		
Control	-	0	0	0	0	0
BCC 1467	*Aschersonia paraphysata*	0	0	0	0	0
BCC 2114	*Beauveria* sp.	1	2	2	3	30
TISTR 3617	*Beauveria bassiana*	3	3	4	3	30
DOAE 1	*Beauveria bassiana*	1	0	0	0	0
N 1	*Beauveria bassiana*	8	7	5	7	70
BCC 2218	*Hirsutella brunneapunctata*	1	0	0	0	0
BCC 1659	*Isaria fumosorosea*	8	8	9	8	80
BCC 7058	*Isaria fumosorosea*	7	7	5	6	60
TISTR 3618	*Isaria fumosorosea*	3	2	4	1	10
BCC 1701	*Metarhizium anisopliae*	2	4	3	3	30
N 2	*Metarhizium anisopliae*	4	7	5	5	50
TISTR 3607	*Metarhizium anisopliae*	7	6	7	7	70
BCC 1707	*Meatarhizium flavoviride*	0	0	1	0	0
BCC 2156	*Paecilomyces lilacinus*	3	3	5	4	40
TISTR 3619	*Paecilomyces lilacinus*	5	2	4	4	40
N 3	*Paecilomyces lilacinus*	2	3	3	3	30
TISTR 15	*Paecilomyces lilacinus*	5	3	3	4	40
TISTR 19	*Paecilomyces lilacinus*	1	2	1	1	10
TISTR 22	*Paecilomyces lilacinus*	1	2	0	1	10
TISTR 3	*Verticillium* sp.	2	0	1	1	10

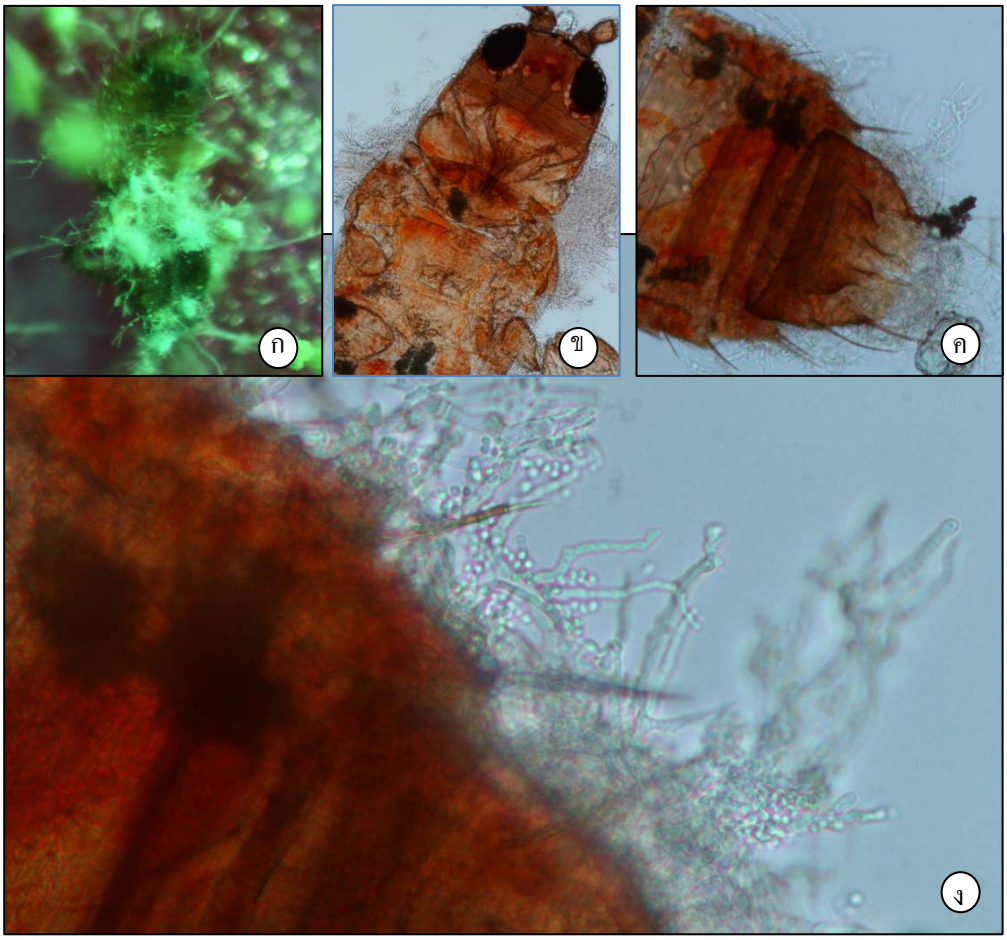
*Percent mortality cooected by Abbott's formula



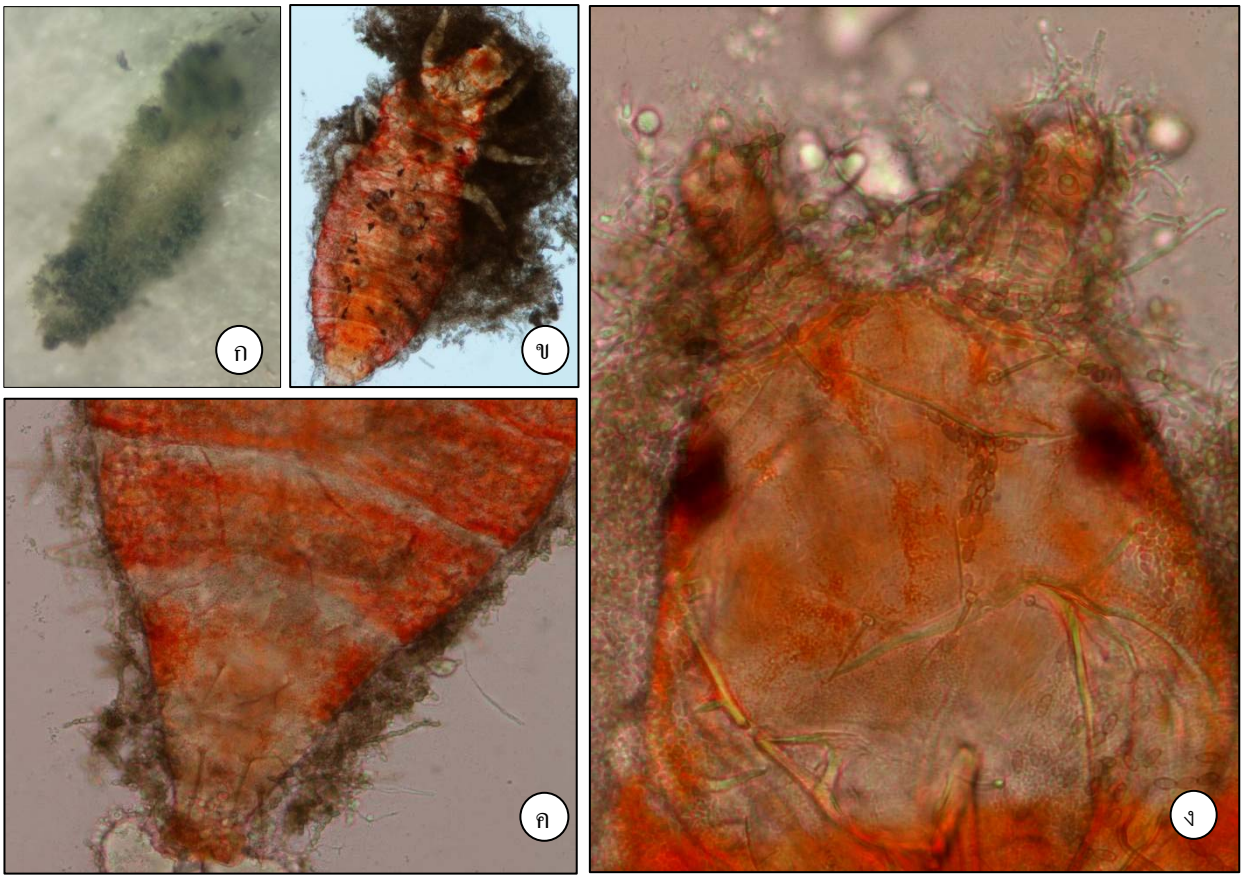
รูปที่ 11. *Isaria fumosorosea* (BCC1659) stereo microscope of mummified of *Thrips palmi*. (ก) ; light microscope of hypha and conidia on *Thrips palmi* (ข-ง).



รูปที่ 12. *Paecilomyces lilacinus* (TISTR 3619) stereo microscope of mummified of *Thrips palmi* (ก); light microscope of hypha and conidia on *Thrips palmi* (ข-ง).



รูปที่ 13. *Beauveria bassiana* (N2) stereo microscope of mummified of *Thrips palmi* (ก); light microscope of hypha and conidia on *Thrips palmi* (ข-ง).



รูปที่ 14. ***Metarhizium anisopliae*** **(TISTR3607) stereo microscope of mummified of** ***Thrips palmi*** **(ก); light microscope of hypha and conidia on** ***Thrips palmi*** **(ข-ง).**

การเข้าทำลายแมลงของเชื้อราเกิดจากสปอร์ของเชื้อราที่ติดไปบนผนังลำตัวแมลงงอกออกมาเป็นโครงสร้างที่เรียก appressorium หรือ penetration peg ที่สามารถแทงทะลุผ่านผนังลำตัวแมลงได้ เมื่อเชื้อราแทงเข้าไปในลำตัวแมลงได้แล้วจะเจริญสร้างเส้นใยในลำตัวแมลง ซึ่งมีเชื้อราหลายชนิดที่สร้างเอนไซม์มาย่อยผนังลำตัวแมลง เช่น protease, chitinase และ lipase (Butt 1990). นอกจากเอนไซม์แล้วราบางชนิดยังสามารถสร้างสารพิษที่มีฤทธิ์รุนแรงในการฆ่าแมลง เช่น รา Metarhizium anisopliae (Vestergaard *et al.* 1995), เชื้อราส่วนใหญ่จะสร้างเส้นใยสั้นๆ ที่เรียกว่า blastospores เพื่อทำหน้าที่ในการดูดซับแร่ธาตุอาหารจากตัวแมลงและปล่อยเอนไซม์ย่อยผนังลำตัวแมลง การศึกษาลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อราจะทำให้มีความเข้าใจถึงเส้นทางและกลไกที่เชื้อราเข้าทำลายตัวแมลง จะช่วยให้เข้าใจถึงการพัฒนาสูตรผสมของเชื้อรา ให้มีความเหมาะสมต่อการเข้าทำลายแมลง รวมทั้งการพัฒนาเทคนิคในการฉีดพ่นสปอร์เชื้อรา เพื่อให้เข้าทำลายแมลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ.

4. สรุปผลการทดลอง

เพลี้ยไฟศัตรูสำคัญของกล้วยไม้ ได้แก่ เพลี้ยไฟฝ้ายซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Thrips palmi* การควบคุมจำเป็นต้องใช้วิธีการที่เหมาะสมร่วมกันหลายๆ วิธี เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดรวมทั้งเกิดความปลอดภัยต่อตัวผู้บริโภคและเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้ การเลือกใช้เชื้อราในการควบคุมเพลี้ยไฟเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราทั้ง 20 สายพันธุ์ พบว่า มีเชื้อรา 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Isaria fumosorosea* (BCC1659), *Beauveria bassiana* (N1) และ *Metarhizium anisopliae* (TISTR3607) เป็นราที่มีความเหมาะสมในการนำไปพัฒนาใช้กำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย เนื่องจากสามารถทำให้เพลี้ยไฟตายได้ในปริมาณมาก.

5. สรุปผลทางด้านการตลาดและผลกระทบของโครงการ

เชื้อราสาเหตุโรคแมลงทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยไฟยังไม่ได้พัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์หรือชีวภัณฑ์ในการกำจัดเพลี้ยไฟ เนื่องจากในการทดลองช่วง 2 ปีแรก ประสบปัญหาจากอุทกภัยใหญ่เมื่อปี พ.ศ. 2554 ซึ่งส่งผลให้เพลี้ยไฟและเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เลี้ยงไว้เสียหายไปทั้งหมด และได้เริ่มทำการทดลองใหม่ในปี พ.ศ. 2555 ซึ่งระยะเวลาและงบประมาณหมดลง การทดลองครั้งนี้จึงได้เพียงข้อมูลของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเพลี้ยไฟ.

อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษากลไกการทำลายของเชื้อรา และปัจจัยต่างๆ ในสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาสูตรผสมของเชื้อราที่เหมาะสม รวมทั้งศึกษาการใช้เชื้อราควบคุมเพลี้ยไฟร่วมกับการควบคุมเพลี้ยไฟด้วยวิธีอื่นๆ เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการควบคุมเพลี้ยมากยิ่งขึ้นในกรณีที่สามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์แล้ว ผลิตภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงนี้จะมีศักยภาพในกลุ่มอุตสาหกรรมการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ โดยการนำผลิตภัณฑ์เชื้อราที่พัฒนาเป็นผงสำเร็จรูปมาละลายในน้ำฉีดพ่นไปในแปลงกล้วยไม้ โดยผลิตภัณฑ์นี้สามารถใช้ร่วมกับสารเคมีป้องกันกำจัดโรคและแมลงชนิดอื่นๆ ได้ และเชื้อราที่ฉีดพ่นไปสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานจนกระทั่งเชื้อสามารถงอก และเข้าไปเจริญในลำตัวแมลงได้ ดังนั้น เพื่อให้การถ่ายทอดเทคโนโลยีในระยะที่เริ่มทดลองใช้ เป็นไปอย่างถูกต้องและเหมาะสม ฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้รายใหญ่ๆ ของประเทศและสมาคมผู้ประกอบการส่งออกดอกกล้วยไม้มาเป็นเวลานาน จะเป็นผู้รับผิดชอบในการถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ได้พัฒนาขึ้นจากผลการวิจัยของโครงการสู่ผู้ประกอบการรายใหญ่ก่อน โดยอาศัยนักวิชาการของฝ่ายเอง โดยอาศัยวิธีการฝึกอบรมแบบ on site training ให้กับเกษตรกรเฉพาะราย ซึ่งผลการถ่ายทอดดังกล่าวจะได้ถูกประเมินและนำมาปรับแก้ไขให้อยู่ในรูปแบบมาตรฐานเพื่อถ่ายทอดแก่หน่วยราชการที่เกี่ยวข้อง เช่น กรมส่งเสริมการเกษตร, สมาคมผู้ปลูกกล้วยไม้ตัดดอก หรือเกษตรกรหรือผู้สนใจรายอื่นต่อไป ในส่วนของผลลัพธ์และผลกระทบที่จะเกิดขึ้นในทางเศรษฐกิจ สามารถลดการนำเข้าสารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลงจากต่างประเทศได้ ลดค่าใช้จ่ายในการซื้อสารเคมีของเกษตรกรลงได้ ทางด้านสังคมสามารถลดปริมาณสารเคมีสงเคราะห์ที่ส่งผลต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้ และผู้บริโภคลงได้.

6. เอกสารอ้างอิง

เกสรจันทร์, ไมตรี. 2548. การป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในกล้วยไม้อย่างมีประสิทธิภาพ. *ไม้ดอกไม้ประดับ.* **4**(41), หน้า 19-23.

เขียนมีสุข, ปิยะรัตน์ ; พูนไชยศรี, ศิริณี ; โท้ทอง, ศรีสุดา. และรัตนเสถียร, ไพศาล. 2542. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญของกล้วยไม้. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเจ้าหน้าที่และเกษตรกรตามโครงการปรับปรุงคุณภาพดอกกล้วยไม้เพื่อการส่งออกปี 2542 อ.บางใหญ่ จ. นนทบุรี. วันที่ 29 มิถุนายน 2542.

พูนไชยศรี, ศิริณี. 2539. เพลี้ยไฟฝ้าย *Thrips palmi* Karny. *วารสารกีฏและสัตว์,*. **18**(4), หน้า 240-242.

พูนไชยศรี, ศิริณี. 2544. เพลี้ยไฟ Terebrantia. กรุงเทพฯ : กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2556. ดอกกล้วยไม้สด: ปริมาณและมูลค่าส่งออกรายเดือน [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export_result.php, [เข้าถึงเมื่อ 30 สิงหาคม 2556].

อรรถธรรม, ทิพย์วดี ; สีนวลมาก, กรรณิการ์. และปัญญาศิริ, จีรภา. 2546. เชื้อราของแมลงและศักยภาพในการใช้ควบคุมกำจัดเพลี้ยไฟ. หน้า 704-717. *ใน* : เรื่องเต็มการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 6 “หนึ่งทศวรรษแห่งการอารักขาพืชในประเทศไทย” วันที่ 24-27 พฤศจิกายน 2546 จังหวัดขอนแก่น.

สุขสมบูรณ์, อัจฉรา. 2550. เพลี้ยไฟฝ้าย แมลงศัตรูสำคัญของกล้วยไม้ในฤดูร้อน. บทความส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ : ฝ่ายประชาสัมพันธ์ กองเกษตรสัมพันธ์ กรมวิชาการเกษตร.

Abbott, W.S., 1992. A method of computing the effectiveness of insecticide. *J. Econ. Entomol,* **18**, pp. 265-267.

Bałazy, S., Wrzosek, M., Sosnowska, D., Tkaczuk, C., Muszewska, A., 2008. Laboratory trials to infect insects and nematodes by some acaropathogenic Hirsutella strains (Mycota: Clavicipitaceous anamorphs). *Journal of Invertebrate Pathology*, 97, pp. 103–113.

Boucias, D.G., Meyer, J.M, Popoonsak, S., Breaux, E., 2007. The genus Hirsutella: A polyphyletic group of fungal pathogens infecting mites and insects. *In:* Ekesi, S., Maniania, N.K., Editors. *Use of Entomopathogenic Fungi in Biological Pest Management*, pp. 1–34. Old City Publishing.

Brownbridge, M., 1995. Prospects for mycopathogens in thrips management. *In* : Thrips Biology and Management. (B. L Parker, M. Skinner and T. Lewis, eds). New York.: Plenum Press, pp. 281-195.

de Faria, M.R. and Wraight, S.P., 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides : A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control*,. **43,** pp. 237-259.

Fiedler, Z. and Sosnowska, D., 2007. Nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson is also a biological agent for control of greenhouse insect and mite pests. *Biological Control*, **52,** pp. 547-558.

Fransen, J.J., 1990. Fungi on aphids, thrips and whitefly in the greenhouse environment. *In* : Proceedings, 5th International Colloquim on Invertebrate Pathology and Microbial Control. Australia : Society for Invertebrate Pathology, Adelaide, pp. 376-380.

Hajek, A.E., Wraight, S.P., Vandenberg, J.D., 2001. Control of arthropods using pathogenic fungi. *In*: Pointing, S.B., Hyde, K.D. (Eds.), Bio-Exploitation of Filamentous Fungi. Fungal Diversity Research Series, Vol. **6**, pp. 309–347.

Hall, R.A., Peterkin, D. and Ali. B., 1994. Fungal control of whitefly, *Thrips palmi* and sugarcane froghopper in Trinidad and Tobago. *In*: Proceeding, 6th International Colloqiuum on Invertebrate Pathology and Microbial Control. France : Society for Invertebrate Pathology, Montpellier, pp. 277-282.

Humber, R.A., 1997. Fungi: identification. *In*: Manual of techniques in insect pathology. San Diego, California (USA): Academic Press Inc, pp. 153-185.

Isaka, M., Yangchum, A., Rachtawee, P., Komwijit, S., and Lutthisungneon, A., 2010. Hopane-type triterpenes and binaphthopyrones from the scale insect pathogenic fungus *Aschersonia paraphysata* BCC11964. *J Nat Prod*, **73(**4), pp. 688-692.

Kunimi, Y., 2007. Current status and prospects on microbial control in Japan. *Journal of Invertebrate Pathology*, **95**, pp. 181-186.

Makoto, A. and Takafumi., I., 2005. Susceptibility of five species of thrips to different strains of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Appl. Entomol. Zoo*. **40**(4), pp. 667-674.

Pick, D.A., Avery, P.B., Hunter, W.B., Powell, C.A. and Hall, D.G., 2010. Entomopathogenic fungus, Isaria fumosorosea, and aphid parasitoid, Lysiphlebus testaceipes, for managing infestations of brown citrus aphid, Toxoptera citricida. *Florida Sci.* **73**, pp. 5.

Stauderman, K., Pasco, A. Luis, A., and Steven, A., 2012. Evaluation of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) for control of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Biocontrol Science and Technolog,* **22**(7), pp. 747-761.

Vestergaard, S., Butt, T.M., Gillespie, A.T. Schreiter, G. and Eilenberg, J., 1995. Pathogenecity of the hyphomycetes fungi, Verticillium lecanii and Metarhizium anisopliae to the western flower thrips, Frankliniella occidentalis. *Biocontrol Sci. and Tech*, **5**, pp. 185-192.

Vey A., Hoagl, R., and Butt, T.M., 2001. Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. *In*: Butt TM, Jackson J, Magan N, eds. Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential. New York : CABI Publishing. pp. 311–146.