บทที่ 5
ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราต่อการควบคุมแมลงวันหัวเขียว ในสถานประกอบการโรงฆ่าสัตว์

บทนำ

การคัดเลือกหาสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีความสามารถในการทำให้แมลงวันหัวเขียวเกิดโรค และมีความรุนแรงสูงในการทำให้แมลงหัวเขียวตายได้อย่างรวดเร็วแล้ว การทดสอบในสภาพที่จะนำไปใช้จริงซึ่งเป็นสิ่งที่จำเป็น เนื่องจากมีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างไปจากห้องปฏิบัติการ แมลงวันหัวเขียวมักจะวางไข่บริเวณบนสิ่งสกปรก มีกลิ่นเหม็น เช่น ซากสัตว์ มูลสัตว์ บาดแผลเน่าเปื่อย และ กองขยะมูลฝอย เป็นต้น เนื่องจากแมลงวันชนิดนี้มีความต้องการอาหารโปรตีนเพื่อบำรุงรังไข่ให้เจริญเติบโตสมบูรณ์ก่อนที่จะวางไข่ โดยแมลงวันหัวเขียวจะอาศัยโปรตีนจากสิ่งสกปรกเหล่านั้นเพื่ออาศัยสำหรับการวางไข่ แมลงวันหัวเขียวชอบกินอาหารที่เป็นเนื้อสัตว์ โดยที่ตัวเต็มวัยชอบออกหากินเวลากลางวัน ไม่ชอบแสงแดดจัด รัศมีการหากินอยู่ในวงกว้างประมาณ 3 กิโลเมตร แมลงวันหัวเขียวจัดเป็นพาหะนำเชื้อโรคหลายชนิด โดยเป็นพาหะนำโรคได้มากกว่าแมลงวันบ้าน ได้แก่ เชื้ออหิวาตกโรค เชื้อบิด เชื้อไข้รากสาด เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร และไข่พยาธิบางชนิดได้ ซึ่งเชื้อโรคหรือไข่พยาธิจะติดตามตัวแมลงวัน เช่น ขา ปาก ลำตัว โดยปกคลุมไปด้วยขนมากมาย ประการสำคัญเชื้อโรคบางชนิดสามารถเข้าไปอยู่ในระบบทางเดินอาหารของแมลงวัน และสามารถถูกขับถ่ายหรือสำรอกออกมาขณะที่แมลงวันตอมอาหาร นอกจากนี้ตัวหนอนของแมลงวันหัวเขียวยังทำให้เกิดโรคได้เช่นกันจากการที่หนอนไชเข้าไปตามเนื้อเยื่อของคน (คม และกาบแก้ว, 2551) โดยแมลงวันหัวเขียวสามารถพบได้ทั่วไปตามแหล่งที่มีการฆ่าสัตว์โดยเฉพาะบริเวณสถานประกอบการโรงฆ่าสัตว์ที่มักจะมีแมลงวันหัวเขียวมาเกาะ และตอมเนื้อสัตว์จากการชำแหละ ซึ่งอาจเป็นพาหะนำเชื้อโรคจากสิ่งปฏิกูลจำพวกมูลสัตว์ ซากสัตว์ แล้วแพร่กระจายเชื้อโรคเหล่านั้นไปสู่เนื้อสัตว์ก่อนถึงผู้บริโภค จึงได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราในการควบคุมแมลงวันหัวเขียวในสถานประกอบการโรงฆ่าสัตว์ เพื่อการควบคุมแมลงวันหัวเขียวอย่างยั่งยืน และปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ผ่านการทดสอบหาค่าความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในห้องปฏิบัติการมาทดสอบในสถานประกอบการโรงฆ่าสัตว์

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร

อุปกรณ์และวิธีการ

5.1 เชื้อราที่ใช้สำหรับทดสอบ

เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท Ma.6171 ที่ผ่านการทดสอบว่ามีความรุนแรงสูงที่สุดในทุกระยะการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว

การเตรียมเชื้อราสำหรับทดสอบ

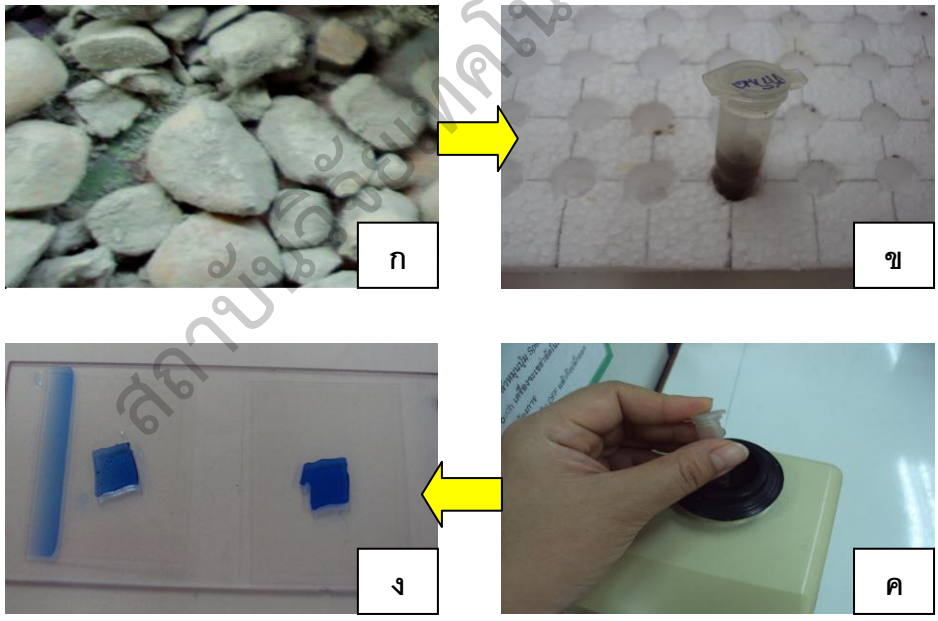
โดยนำเมล็ดข้าวโพดบดบรรจุลงในถุงพลาสติกชนิดถุงร้อน ขนาด 8x12 นิ้ว ปริมาณถุงละ 350 กรัม โดยใส่น้ำลงไปถุงละ 175 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 2:1) แล้วจึงขยำให้ข้าวโพดกับน้ำเข้ากัน ใส่คอขวดพลาสติกและอุดด้วยสำลี และหุ้มด้วยกระดาษปิดปากถุงให้แน่น นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ระยะเวลา 45 นาที รอจนความดันลดลงเหลือ 0 หลังจากนั้นนำข้าวโพดออกจากหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ รอจนกระทั่งเย็น แล้วเปิดถุงข้าวโพดที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อในตู้เขี่ยเชื้อตัดเชื้อราจากที่เลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA ที่มีอายุ 10-14 วัน ให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางชิ้นละประมาณ 1 เซนติเมตร ใส่ลงในถุงๆ ละ 3 ชิ้น เขย่าให้วุ้นที่มีเชื้อรากระจายทั่วถุงเม็ดข้าวโพด ปิดปากถุงให้สนิทแล้วนำไปวางบนชั้นที่ทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 25$\pm$ 2 องศาเซลเซียส เขย่าถุงทุก 3 วัน (เพื่อให้เชื้อราสร้างโคนิเดีย) เชื้อราจะเจริญขึ้นคลุมเมล็ดข้าวโพดภายใน 10 วัน จากนั้นนำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม เมื่อเชื้อแห้งเก็บใส่ถุงเพื่อนำไปทดสอบต่อไป

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5.2 การศึกษาความงอกของโคนิเดียเชื้อราสาเหตุโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท Ma.6171 ที่ผลิตในเมล็ดข้าวโพดบด

5.2.1 วิธีการทดลอง

โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Patato Dextose Agar) เทอาหารลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ให้แข็งตัว นำเชื้อราที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวโพดบด ดังภาพที่ 5.1 (ก) มาล้างโคนิเดียโดยใช้คีมคีบเมล็ดข้าวโพดบดจำนวน 1-2 เมล็ด ใส่ลงในหลอดทดลอง ที่บรรจุ tween 80 ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ดังภาพที่ 5.1 (ข) จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร ดังภาพที่ 5.1 (ค) ดูดสารแขวนลอยโคนิเดียใส่ในจานเพาะเชื้อในปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นเกลี่ยให้โคนิเดียกระจายทั่วอาหารวุ้น เมื่อครบ 6 ชั่วโมง ตัดชิ้นวุ้นขนาด 1 เซนติเมตร วางลงบนแผ่นสไลด์ หยด Lactophenol cotton blue ลงบนชิ้นวุ้น 1 หยด แล้วใช้แผ่นกระจกปิดสไลด์ ปิดลงบนชิ้นวุ้น ดังภาพที่ 5.1 (ง) นำมานับการงอกของโคนิเดียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และนับโคนิเดียทุกๆ ชั่วโมงจนกระทั่งโคนิเดียของเชื้อรางอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 5.1 แสดงการศึกษาความงอกของโคนิเดียเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ผลิตในเมล็ดข้าวโพดบด

(ก) เชื้อราที่เลี้ยงบนเมล็ดข้าวโพดบด

(ข) เชื้อราไอโซเลท Ma.6171 ในเมล็ดข้าวโพดบดที่ใส่ลงหลอดทดลอง

(ค) การเขย่าหลอดทดลองด้วยเครื่องเขย่าสาร

(ง) ชิ้นวุ้นที่ตัดวางบนแผ่นสไลด์

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร

5.3 ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราไอโซเลท Ma.6171 ในการควบคุมแมลงวันหัวเขียวในสภาพเลียนแบบสภาพจริง

5.3.1 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design; RCBD) ใช้ถาดพลาสติกทรงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตรซึ่งมีกรงครอบใส่เนื้อสัตว์ปริมาณ 50 กรัมลงในทุกๆ ถาด และใส่เชื้อราในแต่ละถาด โดยมีกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราปริมาณ 100 กรัม ใส่ครั้งเดียวเมื่อเริ่มการทดลอง

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราปริมาณ 100 กรัม ใส่ 2 ครั้ง ได้แก่ เมื่อเริ่มการทดลอง และใส่ซ้ำเมื่อปล่อยตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวไปแล้ว 5 วัน

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราปริมาณ 100 กรัม ใส่ 3 ครั้ง ได้แก่ เมื่อเริ่มการทดลอง ใส่ซ้ำเมื่อปล่อยตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวไปแล้ว 5 วัน และ 10 วัน ตามลำดับ

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราปริมาณ 200 กรัม ใส่ครั้งเดียวเมื่อเริ่มการทดลอง

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราปริมาณ 200 กรัม ใส่ 2 ครั้ง ได้แก่ เมื่อเริ่มการทดลอง และใส่ซ้ำเมื่อปล่อยตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวไปแล้ว 5 วัน

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราปริมาณ 200 กรัม ใส่ 3 ครั้ง ได้แก่ เมื่อเริ่มการทดลอง ใส่ซ้ำเมื่อปล่อยตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวไปแล้ว 5 วัน และ 10 วัน ตามลำดับ

กรรมวิธีที่ 7 เชื้อราปริมาณ 300 กรัม ใส่ครั้งเดียวเมื่อเริ่มการทดลอง

กรรมวิธีที่ 8 เชื้อรา 300 กรัม ใส่ 2 ครั้ง ได้แก่ เมื่อเริ่มการทดลอง และใส่ซ้ำเมื่อปล่อยตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวไปแล้ว 5 วัน

กรรมวิธีที่ 9 เชื้อราปริมาณ 300 กรัม ใส่ 3 ครั้ง ได้แก่ เมื่อเริ่มการทดลอง ใส่ซ้ำเมื่อปล่อยตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวไปแล้ว 5 วัน และ 10 วัน ตามลำดับ

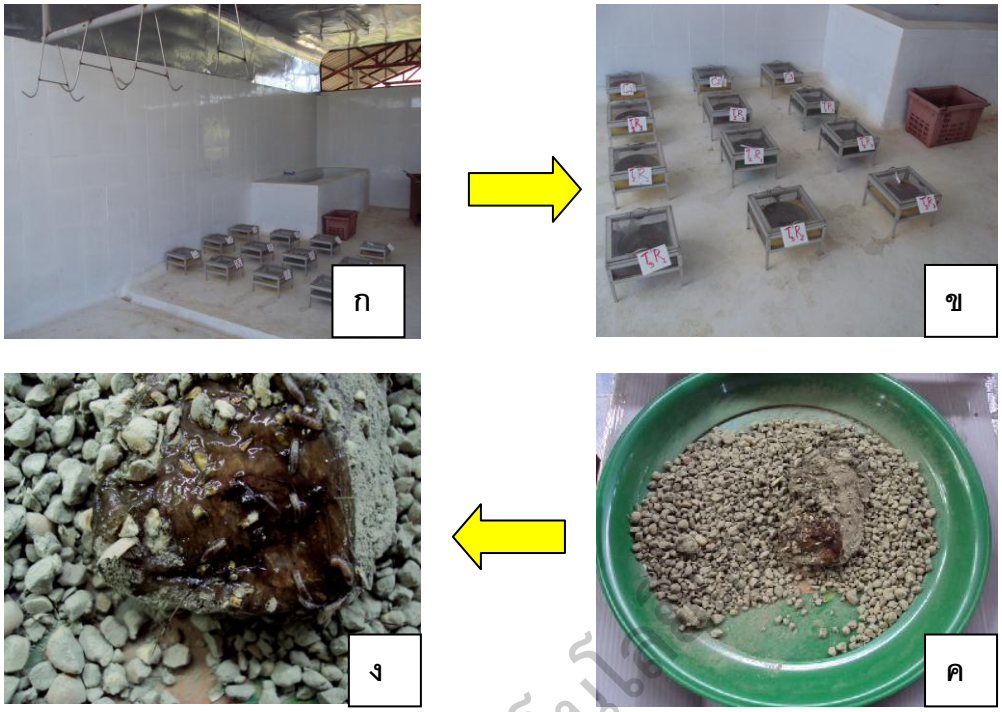
กรรมวิธีที่ 10 ไม่มีการใส่เชื้อรา

ในแต่ละถาด ปล่อยตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวอายุ 2 วัน ถาดละ 30 ตัว (1 ถาด ต่อ 1 ซ้ำ) ทำ 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่ให้แสงแดดส่องถึง

5.3.2 การเก็บข้อมูล

เก็บข้อมูลจำนวนตัวเต็มวัยที่รอดชีวิตในแต่ละกรรมวิธีเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

สถาบันวิทยบริการ เทคโนโลยีเกษตร



ภาพที่ 5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในสภาพเลียนแบบสภาพจริง

(ก) และ (ข) กรงทดสอบที่นำไปวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

(ค) เนื้อหมูที่คลุกด้วยเชื้อราโดยเกลี่ยเชื้อราในจานให้กระจายทั่วจาน

(ง) หนอนแมลงวันหัวเขียวบนเนื้อหมูที่คลุกด้วยเชื้อรา

สถาบันวิจัยเทคโนโลยี

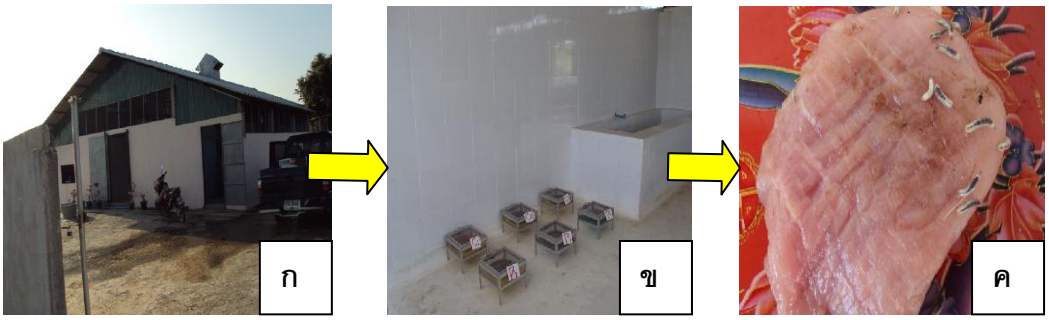
5.4 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราในสถานประกอบการโรงฆ่าสัตว์

5.4.1 วิธีการทดลอง

จากกรรมวิธีในข้อ 5.3.1 ทำการคัดเลือกกรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดมา 1 กรรมวิธีโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design; RCBD) ปล่อยตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวอายุ 2 วัน กรงละ 30 ตัว ทำ 3 ซ้ำ (ดังภาพที่ 5.3) เปรียบเทียบกับหนอนแมลงวันหัวเขียวที่ไม่ได้คลุกเชื้อรา (กลุ่มควบคุม) และบันทึกอัตราการรอดชีวิต โดยมีกรรมวิธีการทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราปริมาณ 300 กรัม ใส่ 3 ครั้ง ได้แก่ เมื่อเริ่มการทดลอง ใส่ซ้ำเมื่อปล่อยตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวไปแล้ว 5 วัน และ 10 วัน ตามลำดับ



ภาพที่ 5.3 การทดสอบเชื้อราในสถานประกอบการโรงฆ่าสัตว์เอกชนลำปาง 1 ต.ลำปางหลวง อ.เกาะคา จ.ลำปาง

(ก) โรงฆ่าสัตว์เอกชนลำปาง 1

(ข) กรงทดสอบที่นำไปวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

(ค) กรรมวิธีควบคุม (Control) เนื้อหมูที่ไม่ได้คลุกเชื้อรา

5.4.2 การเก็บข้อมูล

เก็บข้อมูลจำนวนตัวเต็มวัยที่ฟักออกมาในแต่ละกรรมวิธีเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

5.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

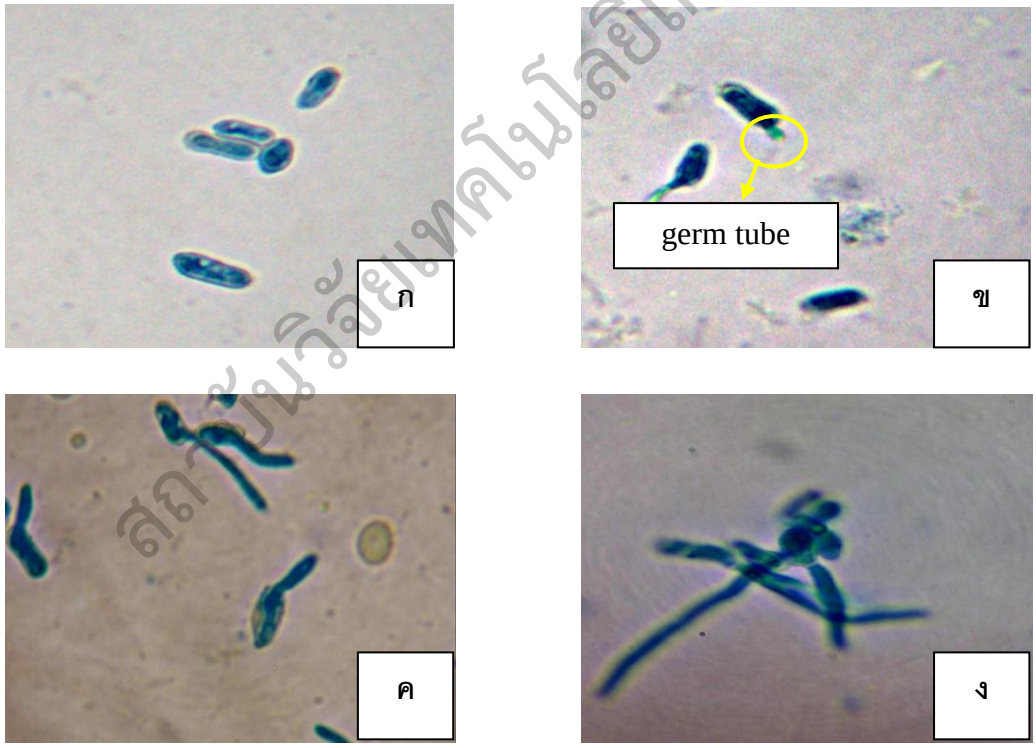
วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ของผลการทดลองตามแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Random Completely Randomized Design, RCBD) และเปรียบเทียบจำนวนแมลงวันหัวเขียวที่รอดชีวิตในแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Duncan' s new multiple range test (Steel and Torrie, 1980)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

5.1 การศึกษาการงอกของโคนิเดียเชื้อราสาเหตุโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท Ma.6171 ในเมล็ดข้าวโพดบด

โคนิเดียของเชื้อราไอโซเลท Ma.6171 ที่เลี้ยงในวัสดุข้าวโพดบดมีลักษณะเป็นท่อนสั้นๆ คล้ายแคปซูล ดังภาพที่ 5.4 (ก) โดยโคนิเดียจะเริ่มงอกส่วนของ germ tube ในชั่วโมงที่ 6 ซึ่งในช่วงแรก germ tube มีลักษณะเป็นปุ่มปมเหมือนท่อสั้นๆ งอกที่ปลายด้านข้างของโคนิเดีย ภาพที่ 5.4 (ข) ต่อมาเริ่มเห็น germ tube ที่พัฒนาเป็นเส้นที่ยาวขึ้น โดยในชั่วโมงที่ 9 ภาพที่ 5.4 (ค) และในชั่วโมงที่ 11 พบว่า สร้างเส้นใยพันทับกันและแทงลงไปในอาหารวุ้น ภาพที่ 5.4 (ง)



ภาพที่ 5.4 เปรียบเทียบลักษณะการงอกของโคนิเดียของเชื้อราไอโซเลท Ma.6171

(ก) ลักษณะโคนิเดียเชื้อราไอโซเลท Ma.6171 ในเมล็ดข้าวโพดบด

(ข) ลักษณะการงอกของ germ tube ในชั่วโมงที่ 6

(ค) ลักษณะการงอกของ germ tube ในชั่วโมงที่ 9

(ง) ลักษณะการงอกของ germ tube ในชั่วโมงที่ 11

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร

นอกจากนี้ ผลจากการทดลองพบว่า โคนิเดียของเชื้อรางอก100 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาผ่านไป 11 ชั่วโมง (ตารางที่ 5.1)

ตารางที่ 5.1 เปอร์เซ็นต์การงอกของโคนิเดียที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	เปอร์เซ็นต์การงอก
0	0
1	0
2	0
3	0
4	0
5	0
6	11.00
7	17.68
8	31.68
9	57.73
10	81.38
11	100.00

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร

5.2 ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราไอโซเลท Ma.6171 ในการควบคุมแมลงวันหัวเขียวในสภาพเลียนแบบสภาพจริง

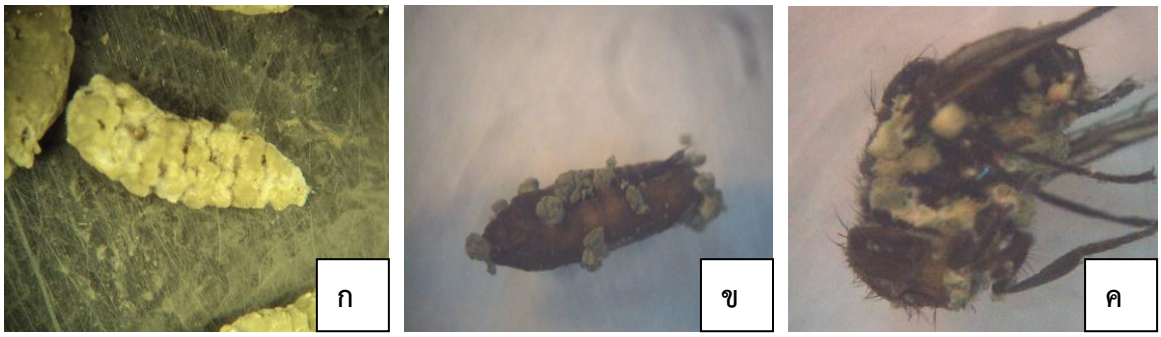
จากการศึกษาความสามารถของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท Ma.6171 ที่เลี้ยงเชื้อราด้วยเมล็ดข้าวโพดบด ในการควบคุมแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ในสภาพเลียนแบบสภาพจริง จากการศึกษา พบว่า ในกรรมวิธีทดลองทุกกรรมวิธี แมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัยวัยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่น้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยกรรมวิธีการทดลองที่ 9 คือ การใช้เชื้อราที่ปริมาณ 300 กรัม โดยการใส่เชื้อราในระยะเวลา 3 ครั้งได้แก่ ใส่ครั้งแรกเมื่อเริ่มการทดลอง ใส่ครั้งที่ 2 เมื่อปล่อยตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวไปแล้ว 5 วัน และ 10 วัน ตามลำดับ แมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัยมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ (ตารางที่ 5.2) โดยสามารถพบเห็นการตายของระยะหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัยในแต่ละกรรมวิธีทดลอง (ภาพที่ 5.5)

ตารางที่ 5.2 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียวในสภาพเลียนแบบสภาพจริง

กรรมวิธีการทดลอง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียว (% ± SE)
กรรมวิธีที่ 1	75.56 ± 1.92h
กรรมวิธีที่ 2	67.78 ± 5.09g
กรรมวิธีที่ 3	62.22 ± 1.92f
กรรมวิธีที่ 4	53.32 ± 3.34e
กรรมวิธีที่ 5	52.22 ± 3.86e
กรรมวิธีที่ 6	45.56 ± 1.92d
กรรมวิธีที่ 7	32.22 ± 1.92c
กรรมวิธีที่ 8	26.67 ± 3.34b
กรรมวิธีที่ 9	14.45 ± 3.85a
กรรมวิธีที่ 10 (Control)	92.23 ± 0.57i

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร



ภาพที่ 5.5 ลักษณะหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียวที่ถูกทำลายด้วยเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท Ma.6171

(ก) หนอน

(ข) ดักแด้

(ค) ตัวเต็มวัย

จากการค้นคว้าเอกสาร ไม่พบรายงานการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงสายพันธุ์ *Metarhizium anisopliae* ในการควบคุมแมลงวันหัวเขียวสกุล *Chrysomya megacephala* แต่พบการทดลองของ Wright *et al*. (2004) ซึ่งได้ทำการทดสอบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงสายพันธุ์ *Metarhizium anisopliae* ในการควบคุมแมลงวันหัวเขียวสกุล *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) ในระยะตัวเต็มวัยเพศเมียซึ่งเป็นแมลงวันที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการของโรคผิวหนังที่สำคัญซึ่งโรค Myiasis ซึ่งพบในแกะทางตอนเหนือของทวีปยุโรป พบว่า เมื่อใช้เชื้อราในรูปแบบน้ำมันทำให้แมลงวันหัวเขียวเกิดการติดโรคและตายในปริมาณที่สูงถึง 50-70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าในรูปแบบการใช้สารแขวนลอยของเชื้อราที่ผสม tween 80 ในอัตราส่วน 0.3 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ที่มีอัตราการตายเพียง 10-20 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อใช้สารแขวนลอยของเชื้อราที่ระดับความเข้มข้น $1x10^{7}$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ทำให้แมลงวันหัวเขียวสกุล *L. sericata* มีเปอร์เซ็นต์การตายถึง 64 ส่วนการศึกษาของ Sahagun *et al*. (2005) พบว่า เชื้อราสายพันธุ์ *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท Ma.2, Ma.25 และ Pfr.10 ทำให้ดักแด้ของแมลงวันคอกสัตว์สกุล *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) เกิดการติดโรคและตายได้อยู่ระหว่าง 50 และ 71.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร

5.3 ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราในสถานประกอบการโรงฆ่าสัตว์

จากการนำเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท Ma. 6171 ไปทดสอบในสถานประกอบการโรงฆ่าสัตว์เอกชนลำปาง 1 โดยการใช้เชื้อราในรูปแบบแห้งคือที่ผลิตโดยข้าวโพดบดเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อ ใส่เชื้อราปริมาณ 300 กรัม และใส่ซ้ำเมื่อใส่ครั้งแรกไปแล้วที่ 5 และ 10 วัน ตามลำดับ พบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* Ma.6171 สามารถใช้ในการควบคุมแมลงวันหัวเขียวได้ เนื่องจากพบจำนวนการรอดชีวิตของตัวเต็มวัยต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Control) คิดเป็น 15.57และ 88.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 5.3)

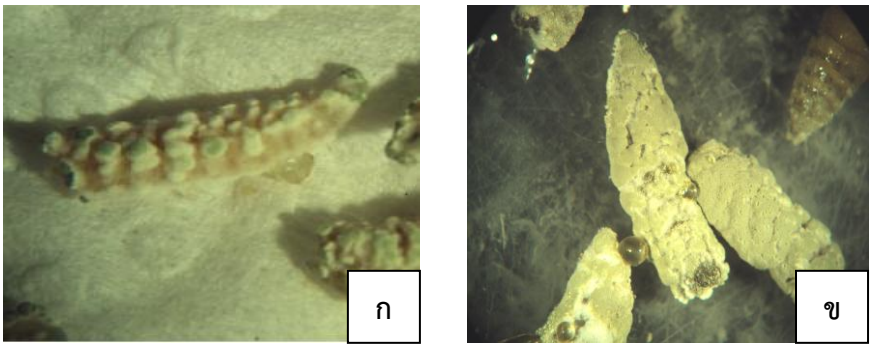
ตารางที่ 5.3 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียวจากการทดสอบในสถานประกอบการโรงฆ่าสัตว์เอกชนลำปาง 1 ต.ลำปางหลวง อ.เกาะคา จ.ลำปาง

กรรมวิธีการทดลอง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียว (% ± SE)
กรรมวิธีควบคุม	88.90 ± 0.57a
กรรมวิธีทดลอง	15.57 ± 2.08b

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ด้วยวิธี T- test

อย่างไรก็ตาม พบว่า เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท Ma.6171 สามารถเข้าทำลายได้ทุกระยะการเจริญเติบโตเนื่องจากพบว่า แมลงวันหัวเขียวทั้งระยะหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย ที่ตายมีเชื้อราขึ้นปกคลุม (ภาพที่ 5.6 และ 5.7)

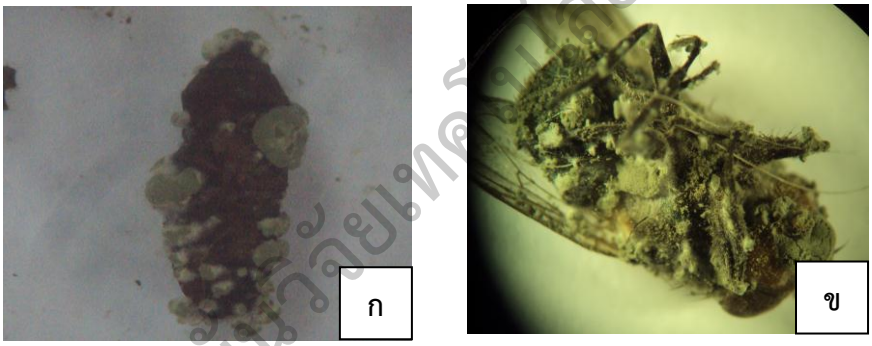
สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร



ภาพที่ 5.6 ลักษณะหนอนที่ถูกเชื้อราไอโซเลท Ma.6171 เข้าทำลาย

(ก) ลักษณะหนอนที่ถูกเชื้อราไอโซเลท Ma.6171 เข้าทำลายที่ระยะเวลา 4 วัน

(ข) เข้าทำลายที่ระยะเวลา 8 วัน



ภาพที่ 5.7 ลักษณะดักแด้และตัวเต็มวัยที่ถูกเชื้อราไอโซเลท Ma.6171 เข้าทำลาย

(ก) ดักแด้ของแมลงวันหัวเขียวที่ถูกเชื้อราไอโซเลท Ma.6171 เข้าทำลาย

(ข) ตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียวที่ถูกเชื้อราไอโซเลท Ma.6171 เข้าทำลาย

การทดลองครั้งนี้ จะเห็นได้ว่าเชื้อราสาเหตุโรคแมลงสายพันธุ์ *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท Ma.6171 มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันหัวเขียวได้ และเป็นครั้งแรกที่มีการทดลองใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ผลิตในรูปแบบเม็ดในการควบคุมแมลงวันหัวเขียวในสถานประกอบการโรงฆ่าสัตว์จริง ส่วนการศึกษาของ Barson *et al.* (1994) รายงานว่า จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อราสายพันธุ์ *Metarhizium anisopliae* และเชื้อราสายพันธุ์ *Tolypocladium cylindrosporum* โดยการเปรียบเทียบรูปแบบของการใช้เชื้อราในส่วนผสมของน้ำมันชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับรูปแบบของน้ำกลั่น พบว่า การใช้เชื้อราในรูปแบบ

สถาบันวิจัยเพื่อการเกษตร

น้ำมันพืช แร่น้ำมัน น้ำมันฝ้าย และน้ำมันถั่วเหลืองสามารถทำให้แมลงวันบ้านตายได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ภายในระยะเวลา 3 วัน ส่วนการใช้น้ำกลั่นทำให้แมลงวันบ้านตายได้ใน 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 6 วัน ซึ่งการใช้น้ำมัน มีข้อดีคือ สามารถทำให้โคนิเดียของเชื้อรายึดเกาะกับผนังลำตัวของแมลงได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้ Geden *et al*. (1995) ได้ทำการศึกษาความรุนแรงของรูปแบบการใช้เชื้อราสายพันธุ์ *Beauveria bassiana* ไอโซเลท Hf88 ในรูปแบบแห้งกับรูปแบบสารแขวนลอยต่อแมลงวันบ้านระยะตัวเต็มวัย พบว่า เมื่อใช้เชื้อราในรูปแบบแห้งแมลงวันบ้านมีเปอร์เซ็นต์การตายระหว่าง 94-100 ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^7$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าการใช้เชื้อราในรูปแบบของสารแขวนลอย โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 90-99 ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร หรือผสมเชื้อรากับอาหารของแมลงวันที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดียต่อ 100 มิลลิกรัม ส่วนการเก็บรักษาเชื้อรา Theunis (1997) รายงานว่า การเก็บรักษาโคนิเดียของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงสายพันธุ์ *Metarhizium anisopliae* และ เชื้อราสายพันธุ์ *Beauveria bassiana* ในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะเอียงหรือในจานเพาะเลี้ยงเชื้อราที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บรักษาโคนิเดียของเชื้อราได้ในระยะเวลามากกว่า 4-6 เดือน และเมื่อเก็บรักษาเชื้อราที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บรักษาเชื้อราได้ในระยะเวลามากกว่า 4-5 ปี (Kogler and Stein, 1976; Latch and Falloon, 1976; Milner and Lutton, 1976; Rath, 1992) จากการศึกษาของ Mikuni *et al*. (1982) รายงานว่า โคนิเดียของเชื้อราจากซากของแมลงที่ตายด้วยสาเหตุจากเชื้อราจะมีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคที่สูงยิ่งขึ้น และยังเป็นการช่วยแพร่กระจายโคนิเดียของเชื้อราได้ดีหากสภาพแวดล้อมภายนอกไม่เอื้ออำนวย นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคแมลงสายพันธุ์ *M. anisopliae* บางไอโซเลทยังสามารถเจริญเติบโตได้ดีในอินทรียวัตถุที่อยู่ในดิน ส่วนการศึกษาของ Milner *et al*. (2003) ได้ทำการทดสอบความมีชีวิตโคนิเดียของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงสายพันธุ์ *M. anisopliae* บริเวณทางภาคเหนือของรัฐควีนแลนด์ ประเทศออสเตรเลีย ซึ่งมีความแตกต่างของชนิดดินและสภาพภูมิอากาศเป็นอย่างมากซึ่งการควบคุมหนอนด้วงทำลายอ้อยโดยการผสมเชื้อราลงในดินภายในท่อ PVC เมื่อเก็บตัวอย่างโคนิเดียของเชื้อราทุกๆ 6 เดือน เป็นระยะเวลา 3.5 ปี พบว่า โคนิเดียของเชื้อรามีปริมาณลดลงในแต่ละเดือนเฉลี่ยเพียง 0.0512 ซึ่งสิ่งที่กล่าวมาข้างต้นเป็นข้อมูลที่สนับสนุนความเป็นไปได้ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง ที่สามารถควบคุมแมลงวันหัวเขียวได้อย่างยั่งยืน

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปผลการทดลอง

จากการนำเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท Ma.6171 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันหัวเขียวในสถานประกอบการโรงฆ่าสัตว์เอกชนลำปาง 1 โดยการใช้เชื้อราในรูปแบบเม็ดที่ผลิตโดยข้าวโพดบดเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อ พบว่า มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันหัวเขียว โดยสามารถลดเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของแมลงวันหัวเขียวลงได้อย่างชัดเจน ซึ่งช่วยควบคุมปัญหาเรื่องแมลงพาหะนำโรค ดังนั้น เชื้อราสายพันธุ์ *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท Ma.6171 สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมแมลงวันหัวเขียวโดยชีววิธีในสถานประกอบการโรงฆ่าสัตว์แทนการใช้สารเคมี ซึ่งจะช่วยลดปัญหาสารพิษที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์สำหรับการบริโภคได้ ทำให้ผู้บริโภคได้รับอาหารที่ปลอดภัยและลดสารเคมีที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร