

ประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมไรสองจุด
Tetranychus urticae (Trombidiformes: Tetranychidae)

จักรพงษ์ สุภาวรรณ¹, กรวัณน์ อรรถโสภำ², ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์², พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ³,
กุลชา ขयरพ¹, ณัฐดนัย ลิขิตตระการ¹ และ ฉัตรสุดา เผือกใจแผ้ว^{1*}

¹สาขาวิชาอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

²ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

³สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อำเภอเมืองพิษณุโลก
จังหวัดพิษณุโลก 65000

บทคัดย่อ

ไรสองจุด *Tetranychus urticae* Koch, 1836 จัดเป็นไรศัตรูทางการเกษตรที่สำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตของพืชปลูกหลายชนิด และมีการพัฒนาความต้านทานต่อสารกำจัดไร จึงมีความจำเป็นที่จะต้องหาวิธีที่เป็นทางเลือกในการควบคุมไรสองจุด การศึกษานี้ได้ศึกษาสัณฐานวิทยาเพื่อใช้ในการระบุชนิดไร และทำการศึกษาผลของการควบคุมไรด้วยเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง 2 ชนิด ได้แก่ *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท Ma-MJU-BCTLC-218 และ *Beauveria bassiana* ไอโซเลท Bb-MJU-BCTLC-086 โดยในการทดลองในสภาพห้องปฏิบัติการ ใช้เชื้อราสาเหตุโรคของแมลงความเข้มข้น 1×10^7 และ 1×10^9 โคโคนิเดียต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับสารเคมีกำจัดไร (propagite และ amitraz) พบว่าหลังการพ่นสาร 24 ชั่วโมง อัตราการตายของไรกลุ่มที่พ่นด้วยเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่พ่นด้วยน้ำกลั่น ($p < 0.05$) แต่หลังจากพ่น 48 และ 72 ชั่วโมง อัตราการตายของไรกลุ่มที่พ่นด้วยเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงเพิ่มขึ้น และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มที่ทำให้อัตราการตายสูงสุด คือกลุ่มที่พ่นด้วยเชื้อ *B. bassiana* ความเข้มข้น 1×10^9 โคโคนิเดียต่อมิลลิลิตร ซึ่งไรสองจุดมีอัตราการตาย 56 เปอร์เซ็นต์ หลังการพ่น 72 ชั่วโมง ขณะที่การพ่นด้วยสารกำจัดไร propagite และ amitraz มีอัตราการตายของไรสองจุดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทุกกรรมวิธีที่ 48 และ 72 ชั่วโมง การศึกษาในครั้งนี้ แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการจัดการควบคุมไรสองจุดเพื่อลดอัตราการใช้สารกำจัดไรในการเกษตรต่อไป

คำสำคัญ: ไรสองจุด เชื้อราสาเหตุโรคของแมลง และ สัณฐานวิทยา

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: chatsuda_ph@mju.ac.th

Efficacy of Entomopathogenic Fungi Against Two-spotted Spider Mite,
Tetranychus urticae (Trombidiformes: Tetranychidae)

Jakarpong Supawan¹, Korrawat Attasopa³, Piyawan Suttiprapan³, Pisit Poolprasert²,
Kullacha Chayarop¹, Natdanai Likhitrakarn¹ and Chatsuda Phuakjaiphaeo^{1*}

¹Division of Plant Protection, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, 50290, Thailand

²Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200,
Thailand

³Biology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok, 65000, Thailand

Abstract

Two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, 1836 is known as an important agricultural pest which is the cause of yield loss in several crops and could develop resistance to acaricides. Thus, there is need to find the alternative method to control. Morphological measurements of the mite were established to help in identification. This study was designed to investigate in controlling of two-spotted spider mite by using entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* isolate Ma-MJU-BCTL-218 and *Beauveria bassiana* isolate Bb-MJU-BCTL-086 at the concentration of 1×10^7 and 1×10^9 conidia/ml comparing with chemical acaricide (propagite and amitraz). The results showed that after 24 hours, the mortality rate of the mites treated with all concentrations of both entomopathogenic fungi was not significantly different from that of control ($p < 0.05$) but significantly different increased after 48 and 72 hours after application. Application of *B. bassiana* at concentration of 1×10^9 conidia/ml resulting in the highest mortality rate at 56% after 72 hours. For propagite and amitraz, the mortality was significant difference with all treatments at 48 and 72 hours. This study showed that entomopathogenic fungi could be applied as potential bioinsecticides in controlling of the two-spotted spider mite to reduce using of acaricides in the agricultural production system.

Keywords: Two-spotted spider mite, entomopathogenic fungi and morphology

* Corresponding author: E-mail: chatsuda_ph@mju.ac.th

บทนำ

ไรสองจุด *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Trombidiformes: Tetranychidae) เป็นหนึ่งในศัตรูพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ สามารถเข้าทำลายพืชปลูกทั่วโลกได้มากกว่า 200 ชนิด ได้แก่ กุหลาบ หน้าวัว ลีนมั่งกร ถั่วฝักยาวและสตรอว์เบอร์รี่ (Bernardi *et al.*, 2013; Ek-amnuay, 2016; Elsadany, 2018) โดยตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงใต้ใบ และดอก และสร้างเส้นใยปกคลุมทำให้ต้นพืชแห้ง เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล หากพบการระบาดรุนแรง อาจส่งผลทำให้ต้นพืชแห้งตาย มักพบการระบาดในพื้นที่เพาะปลูกที่มีอากาศหนาวเย็น เช่น สตรอว์เบอร์รี่ ท้อ และไม้ดอก ไม้ประดับที่นำพันธุ์เข้ามาเพาะปลูกจากต่างประเทศ (Lankaew and Siri, 2013) แต่ปัญหาสำคัญที่พบในการควบคุมกำจัด คือ ไรสองจุดได้มีการพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดไรได้หลายชนิด ซึ่งเป็นผลมาจากการใช้สารเคมีกำจัดไรอย่างแพร่หลายและต่อเนื่องมาเป็นเวลายาวนาน (Afify *et al.*, 2012)

การควบคุมไรสองจุดทางชีววิธี โดยการรักษาปริมาณศัตรูธรรมชาติ เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมจากเกษตรกรมากขึ้น ปัจจุบันได้มีการศึกษาศักยภาพของศัตรูธรรมชาติที่มีความสามารถในการควบคุมไรสองจุดเพิ่มมากขึ้น อันได้แก่ไรตัวห้ำ (*Neoseiulus californicus*, *Phytoseiulus persimilis*), ตัวงักกระดก (*Oligota kashmirica benefica*), เพลี้ยไฟ (*Scolothrips sexmaculatus*), มวนดอกไม้ (*Orius laevigatus*, *O. vicinus*), บั่ว (*Feltiella acarisuga*), แมลงช้างปีกใส (*Chrysoperla carnea*), และ ตัวงเต่าตัวห้ำ (*Stethorus punctillum*) (Attia *et al.*, 2013; Kongchuensin *et al.*, 1989; Mallik *et al.*, 1998;

Pehlivan *et al.*, 2020; Lankaew and Siri, 2013) ตัวงเต่าตัวห้ำสกุล *Stethorus* Weise, 1885 ที่เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติเฉพาะของไรวงศ์ Tetranychidae ซึ่งมีการรายงานว่าพบตัวงเต่าตัวห้ำในสกุลนี้มากถึง 6 ชนิด และสามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทย (Chunram, 2002)

ราก่อโรคแมลง หรือเชื้อราสาเหตุโรคแมลง (entomopathogenic fungi) ถือเป็นศัตรูธรรมชาติที่นิยมนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทางชีววิธี ซึ่งเป็นทางเลือกที่เพิ่มความปลอดภัยแก่เกษตรกรและสิ่งมีชีวิต หรือศัตรูธรรมชาติที่อาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมนั้น และยังเป็นการลดความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดไรของไรสองจุดอีกด้วย Chandler *et al.* (2005) ได้ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลงมากกว่า 40 ไอโซเลท (isolates) จาก 6 สกุล *Beauveria*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Paecilomyces*, *Toypocladium* และ *Verticillium* เพื่อใช้ในการควบคุมปริมาณไรสองจุดในห้องปฏิบัติการ โดยพบว่า *M. anisopliae*, *H. sp.*, *V. lecanii* และ *B. bassiana* สายพันธุ์ที่มาจากประเทศสหรัฐอเมริกา และยุโรป สามารถทำให้ไรสองจุดมีอัตราการตายระหว่าง 25.8-43.2 เปอร์เซ็นต์ ทั้งสามารถนำมาใช้ร่วมกับการสารเคมีกำจัดไร (acaricides) ในสภาพโรงเรือนเพาะปลูกมะเขือเทศในประเทศอังกฤษได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดไรและเชื้อราสาเหตุโรคแมลงสายพันธุ์ไทยในการควบคุมประชากรของไรสองจุด สำหรับเป็นแนวทางในการแนะนำการป้องกันกำจัดไรสองจุดต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาสัณฐานวิทยา

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบในครั้งนี้ได้รับมาจากการเพาะเลี้ยงภายใต้ห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร โดยตัวอย่างบางส่วนหนึ่งนำมาทำสไลด์ถาวรด้วยน้ำยาฮอยเออร์ (Hoyer's solution) เพื่อทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอก (external morphology) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อน (Zeiss Axio compound microscope) พร้อมหัวกล้องถ่ายภาพ ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยการศึกษาได้อ้างอิงการศึกษาจากงานวิจัยของ Alberti and Coons (1999) และ Evans *et al.* (1961) ทำการบันทึกรายละเอียดทางสัณฐานวิทยา ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญที่ใช้ในการระบุชนิดของไร ได้แก่ ลักษณะลำตัว บริเวณด้านข้างลำตัวส่วน idiosoma ขนลำตัวด้านหลัง (dorsal setae) ส่วนปาก (chelicerae) ส่วนของรยางค์ปาก (palp) รวมทั้งลักษณะโครงสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ (genital opening) เป็นต้น เพื่อนำมาใช้ตรวจสอบและยืนยันชื่อชนิดจากเอกสารงานวิจัยทางอนุกรมวิธานของไรสกุล Tetranychus Dufour, 1832 ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ Boudreaux and Dosse, 1963, Carbonnelle and Hance, 2004, Flechtmann and Knihinicki, 2002 และ NAPPO, 2014 โดยตัวอย่างอ้างอิงของไรสองจุด (reference specimens) รหัส CMU-ACARI001-020 ของงานวิจัยชิ้นนี้ ส่วนหนึ่งจะถูกเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ และอีกส่วนหนึ่งถูกเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์

แมลง สาขาวิชาอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

การเพาะเลี้ยงไรสองจุด

ทำการเพาะเลี้ยงไรสองจุดด้วยต้นอ่อนถั่วเขียวที่ปลูกในกระถาง ที่มีอายุประมาณ 4-5 วัน ดูแลรักษาภายในโรงเรือนให้มีอายุตามต้องการแล้วจึงปล่อยไรสองจุดบนใบต้นถั่วเพื่อให้ไรสองจุดได้เพิ่มปริมาณเพียงพอจึงนำไปทดลองในขั้นตอนต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง และสารเคมีกำจัดไรสองจุดในห้องปฏิบัติการ

เชื้อไรสองจุดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากต้นถั่วลงบนใบหม่อนที่วางอยู่บนสำลีชุบน้ำในจานทดลอง มาทดสอบกับเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงและสารเคมีกำจัดไร วางแผนการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการแบบ CRD (completely randomized design) ประกอบไปด้วย 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสารเคมีกำจัดไร propagite อัตรา 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารเคมีกำจัดไร amitraz อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารแขวนลอย *M. anisopliae* ไอโซเลท Ma-MJU-BCTLC-218 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^7 โคเนเดียม/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารแขวนลอย *M. anisopliae* ไอโซเลท Ma-MJU-BCTLC-218 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^9 โคเนเดียม/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารแขวนลอย *B. bassiana* ไอโซเลท Bb-MJU-BCTLC-086 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^7 โคเนเดียม/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 6 พันสารแขวนลอย *B. bassiana* ไอโซเลท Bb-MJU-BCTLC-086 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 7 ชุดควบคุม

ทำการฉีดพ่นเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง และสารเคมีกำจัดไรตามกรรมวิธีที่กำหนดลงบนตัวไรสองจุด โดยแต่กรรมวิธีดำเนินการ 5 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำใช้ไรสองจุดจำนวน 20 ตัวตามลำดับ เก็บรักษาไรสองจุดไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น (temperature and humidity chamber) ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ 70% หลังจากพ่นสารที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง นับจำนวนไรที่ตาย โดยสังเกตจากตัวอย่างไรที่ไม่มีการเคลื่อนไหวหรือหากถูกปลายพู่กันเข็มไม่สามารถเคลื่อนไหวได้ให้ถือว่าเกิดการตายขึ้น แล้วนำมาคำนวณอัตราการตายโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของจำนวนไรทั้งหมด ทำการวิเคราะห์ข้อมูล โดยนำค่าเฉลี่ยอัตราการตายของไรสองจุดหลังการฉีดพ่นด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ มาเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

อนึ่งข้อมูลที่นำมาคำนวณหาอัตราการตายของแมลง (Mortality ratio) มีเงื่อนไขว่าถ้าอัตราการตายของกลุ่มควบคุม >20% ผลความผิดพลาดสูงจะต้องทำการทดลองใหม่ และถ้าอัตราการตายของกลุ่มควบคุมอยู่ในช่วง 5-20 % จะต้องนำอัตราการตายทั้งหมดมาปรับด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925) แต่ถ้าอัตราการตายของกลุ่มควบคุม <5% ก็จะใช้อัตราการตายจริงได้

Abbott's formula คำนวณได้ดังนี้:

$$\text{อัตราการตาย} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

ปีที่ 17 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2563

เมื่อ A คือ อัตราการรอดชีวิตของกลุ่มควบคุม

B คือ อัตราการรอดชีวิตของกลุ่มทดลอง

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

ลักษณะสัณฐานวิทยาของไรสองจุด

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของตัวอย่างไรภายใต้กล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อน พบว่า ตัวอย่างไรมีลักษณะลำตัวกลมยาว มีสีเขียวยาวหรือสีเขียวยอมเหลือง มีจุดเม็ดสีกระจายอยู่บริเวณทั้ง 2 ด้านข้างของลำตัวส่วน idiosoma (Fig. 1A) ขาส่วน coxae ทั้งหมดเชื่อมติดกับลำตัว ขนลำตัวด้านหลัง (dorsal setae) ยาว (Fig. 1B) ส่วนปาก (chelicerae) ประกอบด้วยรยางค์ที่ขยับได้ (movable digit) มีลักษณะเป็นเข็ม stylets (St) 1 คู่ (Fig. 1C) ส่วนฐานของ stylets และอวัยวะหายใจ peritreme (Pe) พบอยู่ด้านในส่วนด้านล่างของ stylophore (Sp) (Fig. 1D) และส่วนของรยางค์ปาก (palp) ที่มีความกว้างและสั้นเมื่อเทียบกับไรทั่วไป ส่วนปลายของ palptibia ประกอบด้วย palptibial claw 1 ชิ้น pretarsus ของขาคู่ที่ 1 ประกอบด้วย claw ที่มีลักษณะแฉก และ empodium ที่มีลักษณะแตกปลายเป็นซี่หรืออยู่ระหว่างกลาง (Fig. 1E) ด้านใต้ท้องส่วนปลาย (distoventral opisthosoma) ของไรเพศเมียพบรูเปิดอวัยวะสืบพันธุ์ (genital opening) อยู่เหนือส่วนช่องเปิดอวัยวะขับถ่าย (anal aperture) เล็กน้อย โดยมีขนด้านบนและด้านข้างรูเปิดอวัยวะสืบพันธุ์อย่างละ 1 คู่ โดยบริเวณด้านข้างของรูเปิดอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียได้แสดงถึงลวดลายที่จำเพาะต่อชนิด ช่องเปิดอวัยวะขับถ่ายมีขน 2 คู่ (Fig. 1F) โดยจากโครงสร้างลักษณะทาง

วารสารเกษตรพระวรุณ 239

สัณฐานวิทยาดังกล่าวสามารถระบุชนิดตัวอย่างไรที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ ไรสองจุด (two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, 1836) ในวงศ์ Tetranychidae (อันดับ Trombidiformes)

ผลการวัดขนาดไรเพศเมียทั้งหมด 10 ตัวอย่าง (n=10) แสดงเป็นช่วงค่าน้อยสุดถึงมากที่สุด (ค่าเฉลี่ย± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ได้ผลดังนี้ ความยาวลำตัว (idiosoma length) 0.27-0.38 (0.32±0.03) มิลลิเมตร ความกว้างลำตัว (idiosoma width) 0.4-0.51 (0.45±0.03) มิลลิเมตร ความยาวขาคู่ที่ 1 (leg I length) 0.34-0.4 (0.37±0.02) มิลลิเมตร ความยาวลำตัวหลังขาคู่ที่ 4 (ophistosoma length) 0.34-0.41 (0.38±0.02) มิลลิเมตร ความยาว palp (palp length) 0.13-0.16 (0.14±0.01) มิลลิเมตร ความกว้าง palp (palp width) 0.04-0.06 (0.04±0.01) มิลลิเมตร ความกว้าง femur I (femur I width) 0.03 (0.03±0.001) มิลลิเมตร ความกว้าง stylophore (stylophore width) 0.07-0.09 (0.08±0.01) มิลลิเมตร ความยาว stylophore (stylophore length) 0.1-0.12 (0.11±0.005) มิลลิเมตร โดยข้อมูลที่ได้นี้สามารถนำไปประกอบการระบุชนิดของไรสองจุดได้ในอนาคต

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง และสารเคมีกำจัดไรสองจุดในห้องปฏิบัติการ

ผลของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงต่ออัตราการตายของไรสองจุด (Table 1) หลังการพ่น 24 ชั่วโมง พบว่าอัตราการตายของไรสองจุดในกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อราทั้งสองชนิด ทุกความเข้มข้นยังไม่มีเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

ขณะที่สารเคมีกำจัดไร amitraz ทำให้ตัวอย่างไรมีอัตราการตายสูงถึง 75.00±12.55 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

หลังการพ่น 48 ชั่วโมง พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ทั้งสองความเข้มข้น (1×10^7 และ 1×10^9 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร) และ *B. bassiana* ความเข้มข้น 1×10^7 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ทำให้อัตราการตายของไรสองจุดเพิ่มขึ้นเป็น 29.00±8.43, 29.00±6.96 และ 23.00±6.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเชื้อรา *B. bassiana* ความเข้มข้น 1×10^9 โคนิเดียต่อมิลลิลิตรทำให้อัตราการตายของไรสองจุดเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (18.00±6.82 เปอร์เซ็นต์) ขณะที่สารเคมีกำจัดไรทั้ง propagite และ amitraz ทำให้อัตราการตายของไรสองจุดเพิ่มสูงขึ้นเป็น 89.00±3.67 และ 87.00±7.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2)

หลังการพ่น 72 ชั่วโมง พบว่าเชื้อรา *B. bassiana* ความเข้มข้น 1×10^9 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ทำให้อัตราการตายของไรสองจุดเพิ่มขึ้นเป็น 56.00±6.20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ทั้งสองความเข้มข้น (1×10^7 และ 1×10^9 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร) ซึ่งมีอัตราการตายของไรเท่ากับ 33.00±8.60 และ 41.00±8.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ *B. bassiana* ความเข้มข้น 1×10^7 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ที่มีอัตราการตายของไรเท่ากับ 40.00±10.37 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่อัตราการตายของไรสองจุดเมื่อพ่นด้วยสารเคมีกำจัดไร propagite และ amitraz เท่ากับ 94.00±2.91 และ 83.33±6.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 3)

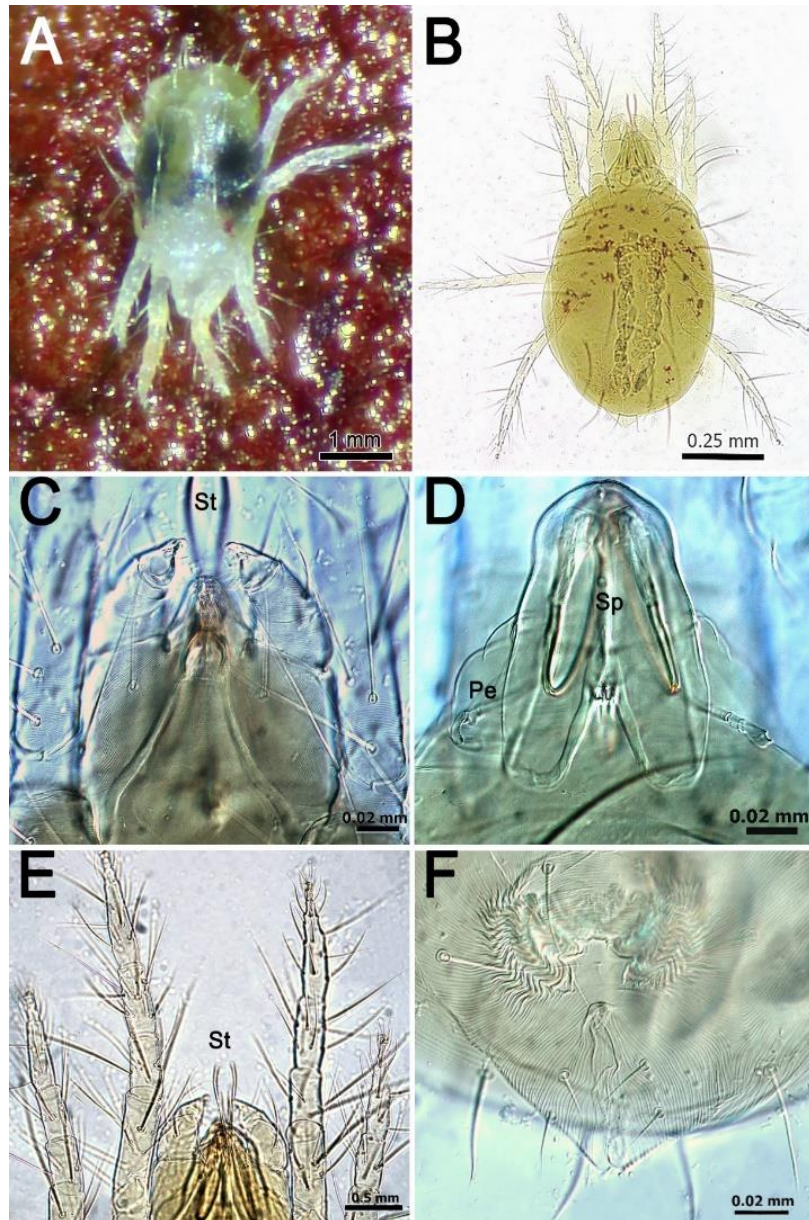


Fig. 1. *Tetranychus urticae*. (A) live specimen. (B-F) slide-mounted female specimen: (B) whole specimen, dorsal view; (C) gnathosoma and stylet (St), anteroventral view; (D) peritreme (Pe) and stylophore (Sp), dorsal view; (E) gnathosoma, first and second pairs of legs, anterodorsal view; (F) opisthosoma, ventral view

Table 1 Percent mortality of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) on mulberry leaf treated with acaricides and entomopathogenic fungi at 24 hours

Treatment	Application rate	Mean \pm S.E of <i>T. urticae</i> ^{1/}
propagite	15 ml/20 L water	14.00 \pm 2.91 ^b
amitraz	40 ml/20 L water	75.00 \pm 12.55 ^a
<i>M. anisopliae</i> isolate Ma-MJU-BCTL-218	1x10 ⁷ conidia/ml	0.00 \pm 0.00 ^b
<i>M. anisopliae</i> isolate Ma-MJU-BCTL-218	1x10 ⁹ conidia/ml	0.00 \pm 0.00 ^b
<i>B. bassiana</i> isolate Bb-MJU-BCTL-086	1x10 ⁷ conidia/ml	0.00 \pm 0.00 ^b
<i>B. bassiana</i> isolate Bb-MJU-BCTL-086	1x10 ⁹ conidia/ml	9.00 \pm 4.58 ^b
Control	-	0.00 \pm 0.00 ^b

^{1/} Means followed by the common letter in a column are not significantly different at the 5% level by Duncan's New Multiple Range Test.

Table 2 Percent mortality of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) on mulberry leaf treated with acaricides and entomopathogenic fungi at 48 hours

Treatment	Application rate	Mean \pm S.E of <i>T. urticae</i> ^{1/}
propagite	15 ml/20 L water	89.00 \pm 3.67 ^a
amitraz	40 ml/20 L water	87.00 \pm 7.18 ^a
<i>M. anisopliae</i> isolate Ma-MJU-BCTL-218	1x10 ⁷ conidia/ml	29.00 \pm 8.43 ^b
<i>M. anisopliae</i> isolate Ma-MJU-BCTL-218	1x10 ⁹ conidia/ml	29.00 \pm 6.96 ^b
<i>B. bassiana</i> isolate Bb-MJU-BCTL-086	1x10 ⁷ conidia/ml	23.00 \pm 6.04 ^b
<i>B. bassiana</i> isolate Bb-MJU-BCTL-086	1x10 ⁹ conidia/ml	18.00 \pm 6.82 ^c
Control	-	0.00 \pm 0.00 ^c

^{1/} Means followed by the common letter in a column are not significantly different at the 5% level by Duncan's New Multiple Range Test

Table 3 Percent mortality of Two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) on mulberry leaf treated with acaricides and entomopathogenic fungi at 72 hours

Treatment	Application rate	Mean \pm S.E of <i>T. urticae</i> ^{1/}
propagite	15 ml/20 L water	94.00 \pm 2.91 ^a
amitraz	40 ml/20 L water	83.33 \pm 6.82 ^a
<i>M. anisopliae</i> isolate Ma-MJU-BCTLC-218	1x10 ⁷ conidia/ml	33.00 \pm 8.60 ^c
<i>M. anisopliae</i> isolate Ma-MJU-BCTLC-218	1x10 ⁹ conidia/ml	41.00 \pm 8.27 ^c
<i>B. bassiana</i> isolate Bb-MJU-BCTLC-086	1x10 ⁷ conidia/ml	40.00 \pm 10.37 ^c
<i>B. bassiana</i> isolate Bb-MJU-BCTLC-086	1x10 ⁹ conidia/ml	56.00 \pm 6.20 ^b
Control	-	0.00 \pm 0.00 ^d

^{1/} Means followed by the common letter in a column are not significantly different at the 5% level by Duncan's New Multiple Range Test

จากผลการศึกษาพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคแมลง *B. bassiana* ที่ความเข้มข้น 1x10⁹ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ทำให้อัตราการตายของไรสองจุดสูงที่สุดมากถึง 56.00 \pm 6.20 เปอร์เซ็นต์ หลังจากพ่นเป็นเวลา 72 ชั่วโมง รองลงมาคือเชื้อราสาเหตุโรคแมลง *M. anisopliae* ที่ความเข้มข้น 1x10⁹ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร อย่างไรก็ตาม สารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงทั้งสองชนิดยังทำให้อัตราการตายของไรสองจุดต่ำกว่าการใช้สารเคมีกำจัดไร propagite และ amitraz อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ทั้งสามช่วงเวลา ซึ่งเชื้อราสาเหตุโรคแมลงและสารเคมีกำจัดไรมีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน ตามหลักของ Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) ซึ่งจัดแบ่งสารป้องกันกำจัดไรตามกลไกการออกฤทธิ์ สารเคมีกำจัดไร propagite จัดอยู่ในกลุ่มสารป้องกันกำจัดไรศัตรูพืชที่เป็นพิษต่อระบบหายใจ โดยการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน

และขัดขวางการส่งโปรตอนในกระบวนการ phosphorylation ส่วนสาร amitraz จัดอยู่ในกลุ่มสารป้องกันกำจัดไรศัตรูพืชที่เป็นพิษต่อระบบประสาทและกล้ามเนื้อ ซึ่งจะส่งผลอย่างรวดเร็วต่อไรศัตรูพืช (Ta-Phaisach and Choawattanawong, 2018) ในขณะที่เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในสกุล *Beauveria* และ *Metarhizium* จะก่อโรคในแมลงโดยการสร้างเอนไซม์ซึ่งจำเป็นต่อการเจาะผ่าน cuticle ที่ห่อหุ้มตัวแมลง เช่น chymoelastase และ protease นอกจากนี้เชื้อราสาเหตุโรคแมลง *Beauveria* ยังสามารถสร้างสารหลายชนิดที่เป็นพิษต่อแมลง ได้แก่ beauvericin, beauverolides, bassianolide, isarolides, oxalic acid และ สาร pigment เช่น bassianin, tenellin, oosporein สารเหล่านี้ทำให้เกิดกระบวนการ mycosis และส่งผลให้แมลงตายในที่สุด (Chandler *et al.*, 2005) อย่างไรก็ตามเนื่องจากไรสองจุดมีวงจรชีวิตที่สั้นและ

สามารถเพิ่มปริมาณประชากรได้มาก จึงสามารถพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดไรได้อย่างรวดเร็ว การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงทดแทนสารเคมีกำจัดไร เช่น *Beauveria* sp. และ *Metarhizium* sp. จะช่วยชะลอการต้านทานสารเคมีกำจัดไร และยังคงลดประชากรของไรสองจุดได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากผลการทดลอง ยังสังเกตได้อีกว่า อัตราการตายของไรสองจุดจะเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่นานขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Chandler *et al.* (2005) ที่ได้รายงานว่าอัตราการตายของไรสองจุดจะมากที่สุด 6 วันหลังจากการพ่นด้วยเชื้อราสาเหตุโรคแมลง *M. anisopliae*, *Hersutella* spp., *Verticillium lecanii* และ *B. bassiana* และสอดคล้องกับ Draganova and Simova (2010) ที่รายงานว่าอัตราการตายของไรสองจุดที่เกิดจากเชื้อรา *B. bassiana* ทั้ง 5 ไอโซเลท จะสูงสุดในวันที่ 3-5 หลังการพ่น

วิธีการพ่นเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะให้อัตราการตายของไรสองจุดแตกต่างกัน จากการศึกษาของ Chandler *et al.* (2005) พบว่าการพ่นเชื้อรา *B. bassiana* ลงบนใบมะเขือเทศโดยตรงด้วยสารแขวนลอยโคโคนิดีของเชื้อรา แล้วค่อยปล่อยไรสองจุดลงไปจะมีอัตราการตายของไรสองจุดมากกว่าการพ่นโดยตรงลงบนตัวของไร ซึ่งโคโคนิดีสามารถติดอยู่กับผิวของพืชและมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงด้วย (Altre *et al.*, 1999) อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ใช้วิธีการพ่นเชื้อราลงบนไรสองจุดโดยตรง (direct technique) เพื่อให้มั่นใจว่าเชื้อราได้สัมผัสกับไรสองจุดโดยตรง (Goettel and Inglis, 1997; Butt and Goettel, 2000) ส่วนการพ่นลงบนใบพืชเพื่อให้โคโคนิดีของเชื้อราเกาะติดกับผิวของพืช (indirect technique) ควรมีการศึกษาต่อไปในอนาคต

References

- Abbott, W.S. 1925. Method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 256-267.
- Afify, A.E.M.M.R., Ali, F.S. & Turkey, A.F. 2012. Control of *Tetranychus urticae* Koch by extracts of three essential oils of chamomile, marjoram and eucalyptus. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2(1): 24-30.
- Alberti, G. and Coons, L.B. 1999. Acari - Mites. pp. 515-1265. *In:* F.W. Harrison (ed.). *Microscopic Anatomy of Invertebrates, Chelicerate Arthropoda* (Vol. 8C). John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Altre, J.A., Van, Denberg, J.D. & Cantone, F.A. 1999. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates to diamondback moth, *Plutella xylostella*: correlation with spore size, germination speed, and attachment to cuticle. *J. Invertebr. Pathol.* 73: 332-338.

- Attia, S., Grissa, K.L., Lognay, G., Bitume, E., Hance, T. & Mailleux, A.C. 2013. A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with special reference to natural pesticides. *J. Pest. Sci.* 86(3): 361-386.
- Bernardi, D., Botton, M., da Cunha, U.S., Bernardi, O., Malausa, T., Garcia, M.S. & Nava, D.E. 2013. Effects of azadirachtin on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and its compatibility with predatory mites (Acari: Phytoseiidae) on strawberry. *Pest Manag. Sci.* 69(1): 75-80.
- Boudreaux, H.B. and Dosse, G. 1963. The usefulness of new taxonomic characters in females of the genus *Tetranychus* Dufour (Acari: Tetranychidae). *Acarologia.* 5: 13-33.
- Butt, T.M. and Goettel, M.S. 2000. Bioassays of entomogenous fungi. pp. 141-195. *In:* A. Navon and K.R.S. Ascher (eds.). *Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes.* Wallingford, UK: CABI Publishing.
- Carbonnelle, S. and Hance, T. 2004. Cuticular lobes in the *Tetranychus urticae* complex (Acari: Tetranychidae): a reliable taxonomic character?. *Belg. J. Zool.* 134(2/1): 51-54.
- Chandler, D., Davidson, D. & Jacobson, R. 2005. Laboratory and glasshouse evaluation of entomopathogenic fungi against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), on tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Biocontrol Sci. Technol.* 15(1): 37-54.
- Chunram, S. 2002. Lady beetles in Thailand. Insect Taxonomy Group, Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture. 211 pp. (in Thai)
- Draganova, S. and Simova, S. 2015. Susceptibility of *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae) to isolates of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Pestic. Phytomed. (Belgrade).* 25(1): 51-57.
- Ek-amnuay, P. 2016. Diseases and Pests of Economic Importance. 5th ed. Amarin Printing and Publishing PCL, Bangkok. 704 pp. (in Thai)
- Elsadany, M.F.I. 2018. Influence of host plants and some leaf contents on biological aspects of *Tetranychus urticae* Koch (Arachnida: Acari: Tetranychidae). *J. Basic Appl. Zool.* 79: 20, doi: 10.1186/s41936-018-0032-8.
- Evans, G.O., Sheals, J.G. & Macfarlane, D. 1961. The Terrestrial Acari of the British Isles. An Introduction to their Morphology, Biology and Classification. Vol. I. Introduction and Biology. Bartholomew Press, London. 219 pp.

- Flechtmann, C.H.W. and Knihinicki, D.K. 2002. New species and new record of *Tetranychus* Dufour from Australia, with a key to the major groups in this genus based on females (Acari: Prostigmata: Tetranychidae). Aust. J. Entomol. 41(2): 118-127.
- Goettel, M.S. and Inglis, G.D. 1997. Fungi: Hyphomycetes. pp. 213-249. In: L. Lacey (ed.). Manual of Techniques in Insect Pathology. San Diego, CA, USA: Academic Press.
- Kongchuensin, M., Charanasri, V., Saringkapibul, C. & Kulpiyawat, T. 1989. Biology of the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch and its predatory mite, *Amblyseius longispinosus* (Evans) on strawberry. Entomology and Zoology Gazette. 11: 195-204. (in Thai)
- Lankaew, S. and Siri, N. 2013. Predation efficacy and biology of coccinellid beetle; *Stethorus indira* Kapur on three mite species. Khon Kaen Agr. J. 41 (Suppl.1): 159-164. (in Thai)
- Mallik, B., Onkarappa, S. & Kumar, H.M. 1998. Management of spider mites, *Tetranychus urticae* Koch on rose using phytoseiid predators, *Amblyseius longispinosus* (Evans) in polyhouse. Pest Mangt. Hort. Ecosyst 4(1): 46-48. (in Thai)
- NAPPO. 2014. Morphological identification of spider mites (*Tetranychidae*) affecting important fruits. North American Plant Protection Organization. 30 pp.
- Pehlivan, S., Alinc, T., Achiri, T.D. & Atakan, E. 2020. Functional responses of two predatory bugs (Hemiptera: Anthocoridae) to changes in the abundance of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Eur. J. Entomol. 117: 49-55.
- Ta-Phaisach, N. and Choawattanawong, P. 2018. Classification of acaricides with different modes of action. Entomology and Zoology Gazette. 36: 57-61. (in Thai)