

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญภาพ	ฐ
สารบัญภาพภาคผนวก	ณ
อักษรย่อ และสัญลักษณ์	ด
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	3
1.2 ประโยชน์ที่จะได้รับจากการศึกษา	3
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	4
2.1 เชื้อรากำจัดแมลง (entomopathogenic fungi)	4
2.1.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อรากำจัดแมลง	8
2.1.1.1 เชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i>	8
2.1.1.2 เชื้อรา <i>Metarhizium anisopliae</i>	9
2.1.2 กลไกการเข้าทำลายของเชื้อรากำจัดแมลง	10
2.1.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคของเชื้อรา	12
2.1.4 หลักการใช้เชื้อรากำจัดแมลง	14
2.2 เห็บโค (Cattle Tick)	15
2.2.1 รูปร่างลักษณะ	15
2.2.2 วงจรชีวิต	17

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright © Chiang Mai University  
 All rights reserved

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2.3 นิสัยการกินอาหารของเห็บ	20
2.2.4 ความเสียหายทางเศรษฐกิจ	21
2.2.5 การควบคุมเห็บ	29
2.2.5.1 การควบคุมเห็บบนตัวสัตว์	31
2.2.5.2 การควบคุมเห็บนอกตัวสัตว์	31
2.2.6 ความต้านทานของเห็บโคต่อยาม่าเห็บ	32
2.3 การศึกษาเชื้อร่ากำจัดแมลงเพื่อควบคุมและกำจัดพยาธิภายนอกในสัตว์	32
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	39
3.1 อุปกรณ์ และสารเคมี	39
3.2 การทดลองที่ 1 ศึกษาความสามารถของเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i> ต่อเห็บโคระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่คัดเลือกจันอิม เห็บระยะตัวอ่อน และไข่ในห้องปฏิบัติการ	40
3.2.1 เชื้อรา	40
3.2.2 วิธีการทดลอง	41
3.2.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ	47
3.3 การทดลองที่ 2 การทดสอบความรุนแรงของเชื้อ <i>Beauveria bassiana</i> ที่ใช้ควบคุมเห็บในโค ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่คัดเลือกจันอิม (ค่า $LC_{50}$ : median lethal concentration และ $LT_{50}$ : median lethal time)	47
3.3.1 วิธีการทดลอง	47
3.3.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ	48
3.4 การทดลองที่ 3 ศึกษากลไกการเข้าทำลายของเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i> ในเห็บระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่คัดเลือกจันอิม	48
3.4.1 วิธีการทดลอง	48

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5 การทดลองที่ 4 ศึกษาความสามารถเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i> ต่อการฟักออกของไข่เห็บในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ	49
3.5.1 การเตรียมเชื้อรา	49
3.5.2 วิธีการทดลอง	50
3.5.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ	50
3.6 การทดลองที่ 5 ศึกษาเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i> ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทำลายเห็บตัวเต็มวัยบนตัวโค	51
3.6.1 สัตว์ทดลอง	51
3.6.2 วิธีการทดลอง	51
3.6.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ	52
3.7 สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล	52
3.8 ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย	52
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	53
4.1 ศึกษาความสามารถของเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i> ต่อเห็บโค ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอัม เห็บระยะตัวอ่อน และไข่ในห้องปฏิบัติการ	53
4.1.1 การศึกษาไอโซเลทของเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i> ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทำลายเห็บตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดจนอัม ในห้องปฏิบัติการ	53
4.1.2 การศึกษาไอโซเลทของเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i> ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทำลายเห็บระยะตัวอ่อนในห้องปฏิบัติการ	57
4.1.3 การศึกษาไอโซเลทของเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i> ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทำลายไข่เห็บในห้องปฏิบัติการ	59

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2 การทดสอบความรุนแรงของเชื้อ <i>Beauveria bassiana</i> ที่ใช้ควบคุมเห็บใน โคระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่คัดเลือกจนอ้อม (ค่า $LC_{50}$ : median lethal concentration และ $LT_{50}$ : median lethal time)	62
4.3 การศึกษากลไกการเข้าทำลายของเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i> ในเห็บ ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่คัดเลือกจนอ้อม	65
4.4 การศึกษาความสามารถเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i> ต่อการฟักออก ของไข่เห็บในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ	68
4.5 การศึกษาเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i> ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการ ทำลายเห็บตัวเต็มวัยบนตัวโค	72
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	75
ข้อเสนอแนะ	76
เอกสารอ้างอิง	77
ภาคผนวก	85
ภาคผนวก ก	86
ภาคผนวก ข	88
ประวัติผู้เขียน	89

## สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2-1 เชื้อร่ากำจัดแมลง (entomopathogenic fungi)	5
2-2 รายงานการเฝ้าระวังโรคระบาดสัตว์ทางห้องปฏิบัติการ ปี 2547- 2551	22
3-1 เชื้อร่า <i>B. bassiana</i> ที่นำมาใช้ในการศึกษา	40
4-1 อัตราการตายของเห็บเพศเมียที่ดูดเลือดคนอิมเนื่องจากเชื้อร่า <i>B. bassiana</i> แต่ละไอโซเลท	55
4-2 อัตราการตายของเห็บตัวอ่อนเนื่องจากเชื้อร่า <i>B. bassiana</i> แต่ละไอโซเลท	58
4-3 ไข่เห็บที่ไม่ฟักหรือไข่เห็บฝ่อเนื่องจากเชื้อร่า <i>B. bassiana</i> แต่ละไอโซเลท	61
4-4 ค่า LC <sub>50</sub> (median lethal concentration) ของเชื้อ <i>B. bassiana</i> ที่ใช้ควบคุมเห็บในโคระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดคนอิม	62
4-5 ค่า LT <sub>50</sub> (median lethal time) ของเชื้อ <i>B. bassiana</i> ที่ใช้ควบคุมเห็บในโคระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดูดเลือดคนอิม	63
4-6 ค่า LC <sub>50</sub> (median lethal concentration) และค่า LT <sub>50</sub> (median lethal time) ของเชื้อร่ากำจัดแมลงแต่ละสายพันธุ์ที่ใช้ในการควบคุมเห็บในโค	64
4-7 ไข่เห็บที่ไม่ฟัก (ไข่เห็บฝ่อ) และอัตราการตายของเห็บระยะตัวอ่อน	69
4-8 อัตราการตายของเห็บเพศเมียที่ดูดเลือดคนอิมบนตัวโคเนื่องจากเชื้อร่า <i>Beauveria bassiana</i>	73

## สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2-1 ไมซีเลียมของเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i> ที่เข้าทำลายมด ออกมาจากตัวแมลง หลังจากแมลงตาย	7
2-2 ลักษณะ โคลโคนีของเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i>	8
2-3 ลักษณะ Conidia (A) และ Conidophores (B) ของเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i>	8
2-4 ลักษณะ โคลโคนี (A,B) ของเชื้อรา <i>Metarhizium anisopliae</i>	9
2-5 ลักษณะ Conidia (C) และ Conidophores (D) ของเชื้อรา <i>Metarhizium anisopliae</i>	10
2-6 วงจรชีวิตของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง	11
2-7 การแทงทะลุผ่านผนังลำตัวแมลงของเชื้อรา	11
2-8 ลักษณะของแมลงที่ตายด้วยเชื้อราสาเหตุโรคแมลง	12
2-9 รูปร่างลักษณะของเห็บเพศผู้และเห็บเมีย	16
2-10 caudal process ของเห็บเพศผู้	16
2-11 anal groove (A) และ anus (B) ของเห็บ	16
2-12 hypostome ของเห็บ	17
2-13 ลักษณะของไข่เห็บ (A) เห็บระยะตัวอ่อน (B) และเห็บระยะตัวกลางวัย (C)	17
2-14 วงจรชีวิตของเห็บโค	18
2-15 เห็บเพศเมียที่ดูดเลือดจนเป่ง	19
2-16 กราฟแสดงจำนวนไข่ของเห็บโคที่วางไข่ต่อวัน ที่อุณหภูมิ 30 °C	
ความชื้นสัมพัทธ์ 80 %	19
2-17 ลักษณะของปัสสาวะสีแดงเข้ม	23
2-18 ลักษณะของเชื้อ <i>Babesia</i> spp. ที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง	24
2-19 ลักษณะของเนื้อเยื่อทั่วไปมีสีเหลืองหลังได้รับเชื้อ <i>Babesia</i> spp.	26
2-20 เชื้อ <i>Anaplasma centrale</i> ในเม็ดเลือดแดงของโค	27
2-21 ลักษณะของตับขยายใหญ่ และถุงน้ำดี มีน้ำดีสีเขียวเข้มขังอยู่เต็มหลังจากได้รับเชื้อ <i>Anaplasma</i> spp.	28
2-22 แสดงวงจรชีวิตของเห็บและระยะเวลาในการควบคุมเห็บที่ได้ผลดีเยี่ยมและดี	30

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ	หน้า
3-1 เชื้อรา <i>B. bassiana</i> ที่เลี้ยงไว้บนอาหารMEAมีอายุการเลี้ยงไม่เกิน 1 เดือน (A), การล้างสปอร์ (B) และสารแขวนลอยสปอร์ที่ผ่านการกรองด้วยผ้าขาวบาง (C)	41
3-2 การเจือจางสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา	42
3-3 การนับสปอร์เชื้อราโดยใช้ Haemocytometer	43
3-4 การจุ่มเห็บเพศเมียลงในสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา	45
3-5 เห็บตัวอ่อนเห็บหลังจากการพ่นสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา	46
3-6 ไข่เห็บหลังจากการพ่นสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา	46
3-7 สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา <i>B. bassiana</i> ที่ระดับความเข้มข้น $1 \times 10^4$ , $1 \times 10^6$ , $1 \times 10^8$ , $1 \times 10^9$ และ $1 \times 10^{10}$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา)	48
3-8 ลักษณะของเห็บที่แช่ใน chloral hydrate จนมีลักษณะใส และการวางตัวเห็บลงบนสไลด์ที่จะนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนส์	49
3-9 ลักษณะของการแช่เห็บลงใน fuchsin acid 0.5% และการวางเห็บลงบนสไลด์เพื่อนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์	49
3-10 เชื้อรา <i>B. bassiana</i> ในข้าวฟ่างวันที่ 1 ของการทดลอง (A) และไข่เห็บ (B)	50
3-11 การพ่นสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราลงบนใบหูกโค	51
4-1 เห็บโคเพศเมียที่คัดเลือกจั่นอ้อมในกลุ่มควบคุม และในกลุ่มที่ทำการทดสอบเชื้อรา	56
4-2 ไข่เห็บที่ถูกวางจากเห็บในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่ทำการทดสอบเชื้อรา	56
4-3 เห็บระยะตัวอ่อน ในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่ทำการทดสอบเชื้อรา	59
4-4 ไข่เห็บในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่ทำการทดสอบเชื้อรา	61
4-5 เห็บโคที่ถูกเชื้อรา <i>B. bassiana</i> เข้าทำลาย 10 วันหลังจากการสัมผัสเชื้อรา	63
4-6 เห็บโค ( <i>Boophilus microplus</i> ) ถูกย้อมด้วย calcofluor ในชั่วโมงที่ 6	66
4-7 เห็บโค ( <i>Boophilus microplus</i> ) ถูกย้อมด้วย calcofluor ในชั่วโมงที่ 12	67
4-8 เห็บโค ( <i>Boophilus microplus</i> ) ในวันที่ 1 ถูกย้อมด้วย fuchsin acid 0.5%	67
4-9 เห็บโค ( <i>Boophilus microplus</i> ) ในวันที่ 5 ถูกย้อมด้วย fuchsin acid 0.5%	68

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ	หน้า
4-10 ไข่เห็บและการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>B. bassiana</i> ในวันที่ 6 และ 10 ของการทดสอบ	70
4-11 ตัวอ่อนเห็บโคที่ถูกเชื้อรา <i>B. bassiana</i> เข้าทำลาย ในวันที่ 3 ของการฟักออก	70
4-12 เห็บโคในกลุ่มควบคุม และในกลุ่มที่ทำการทดสอบเชื้อรา	73



สารบัญภาพภาคผนวก

ภาพภาคผนวก

หน้า

1 ลักษณะการเจริญเติบโต และเส้นใยของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ใน  
อาหารเลี้ยงเชื้อ MEA

87



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

### อักษรย่อและสัญลักษณ์

ซม.	=	เซนติเมตร
มล.	=	มิลลิลิตร
°C	=	Degree Celsius
°F	=	Degree Fahrenheit
LC <sub>50</sub>	=	Median lethal concentration
LT <sub>50</sub>	=	Median lethal time
MEA	=	Malt extract peptone agar

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright© by Chiang Mai University  
 All rights reserved