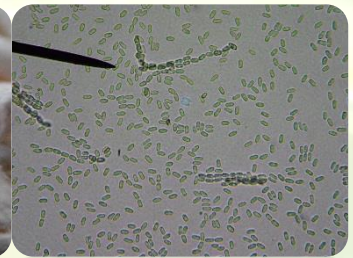


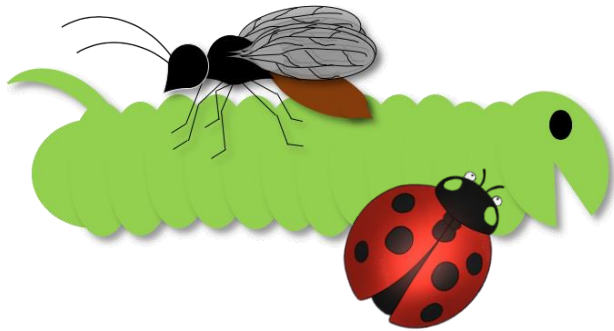
# DOAE



## Quality Standard of biological control agent



# Biological control agents Or Natural Enemies



**Insect  
parasitoids  
and parasitators**



**Microorganisms**

# Natural enemy: Insect



Insect predators and parasitoids promoted by the Department of Agricultural extension

## Predators

*Eoncanthecona furcellata* : Beet armyworm, Fall armyworm

*Sycanus collalis*: Common cutworm, Cotton bollworm

*Plesiochrysa ramburi*: Mealybug

*Euborellia* sp : Worms and small insects e.g. aphid

*Chelisoches morio* : Coconut hispine beetle (larva)  
Coconut black-headed caterpillar

## Parasitoids

*Trichogramma* spp. : Egg stage of *Opisina arenosella*, *Odoiporus longicollis*

*Bracon hebetor.* : Coconut black-headed caterpillar

*Asecodes hispinarum.* : Coconut hispine beetle (larva)

*Tetrastichus brontispae*: Coconut hispine beetle (pupa)

*Anagyrus lopezi.* : Pink mealy bug

# Predators

*Plesiochrysa ramburi*



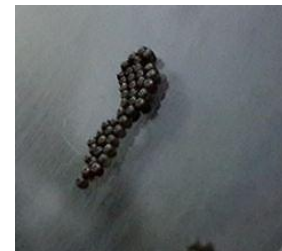
*Plesiochrysa ramburi*



*Chelisoches morio*



predator bug



# Parasitoids

## *Anagyrus lopezi*



## *Bracon hebetor*



## *Trichogramma* spp

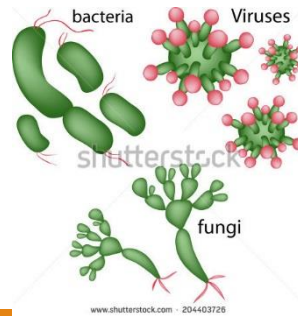


## *Asecodes hispinarum*/ *Tetrastichus brontispae*



# Microorganism

A group of microscopic life forms which are both harmful and useful. "Microbial biological control agents" are an example of useful microorganism.



# Microbial Bioagent

## Microbial bioagents provided by DOAE

### Plant Protection Promotion and Soil-Fertilizer Management Division

- Pure culture
- Quality test

### Regional Plant Protection Center

- Multiply bioagents from pure culture
- - Quality test

### Provincial/District Agricultural Office

- Ready to Use bioagent

### Community Pest Management Center

### Fungal Bioagent

*Beauveria bassiana* : Brown planthopper, leafhopper, aphid, mealy bug, Thrips, Whiteflies, Moina, caterpillar, larvae of beetles

*Metarhizium anisopliae* : Coconut rhinoceros beetle (Larvae), Longhorn beetle (Larvae), sugarcane borer, grasshopper, planthopper, leafhopper, flea beetle, termite and pupae of common cutworm, Beet armyworm and FAW

*Metarhizium anisopliae* : Coconut rhinoceros beetle (Larvae), Longhorn beetle (Larvae), sugarcane borer, grasshopper, planthopper, leafhopper, flea beetle, termite and pupae of common cutworm, Beet armyworm and FAW

### Bacterial bioagent

***Bacillus thuringiensis*: diamondback moth (larva), Citrus Leafminer, Cotton bollworm, cabbage looper, Common cutworm etc.**

*Bacillus subtilis* : fungi and bacteria causing plant diseases e.g. root rot, bacterial wilt disease, leave spot disease, Canker etc.

*Bacillus subtilis* : fungi and bacteria causing plant diseases e.g. root rot, bacterial wilt disease, leave spot disease, Canker etc.

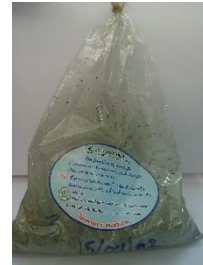
### Viral Bioagent

NPV : High specificity to host >> Common cutworm, Beet armyworm, Cotton bollworm

# Microbial biological control agents



Beauveria



Metarhizium



Trichoderma



Viral biological control agents



Bacillus thuringiensis



Bacillus subtilis





# Bacterial biological control agents



*Bacillus thuringiensis* or Bt

For controlling: diamondback moth (larva), Citrus Leafminer, Cotton bollworm, cabbage looper, Common cutworm etc.

Many strains which are specific to different insects

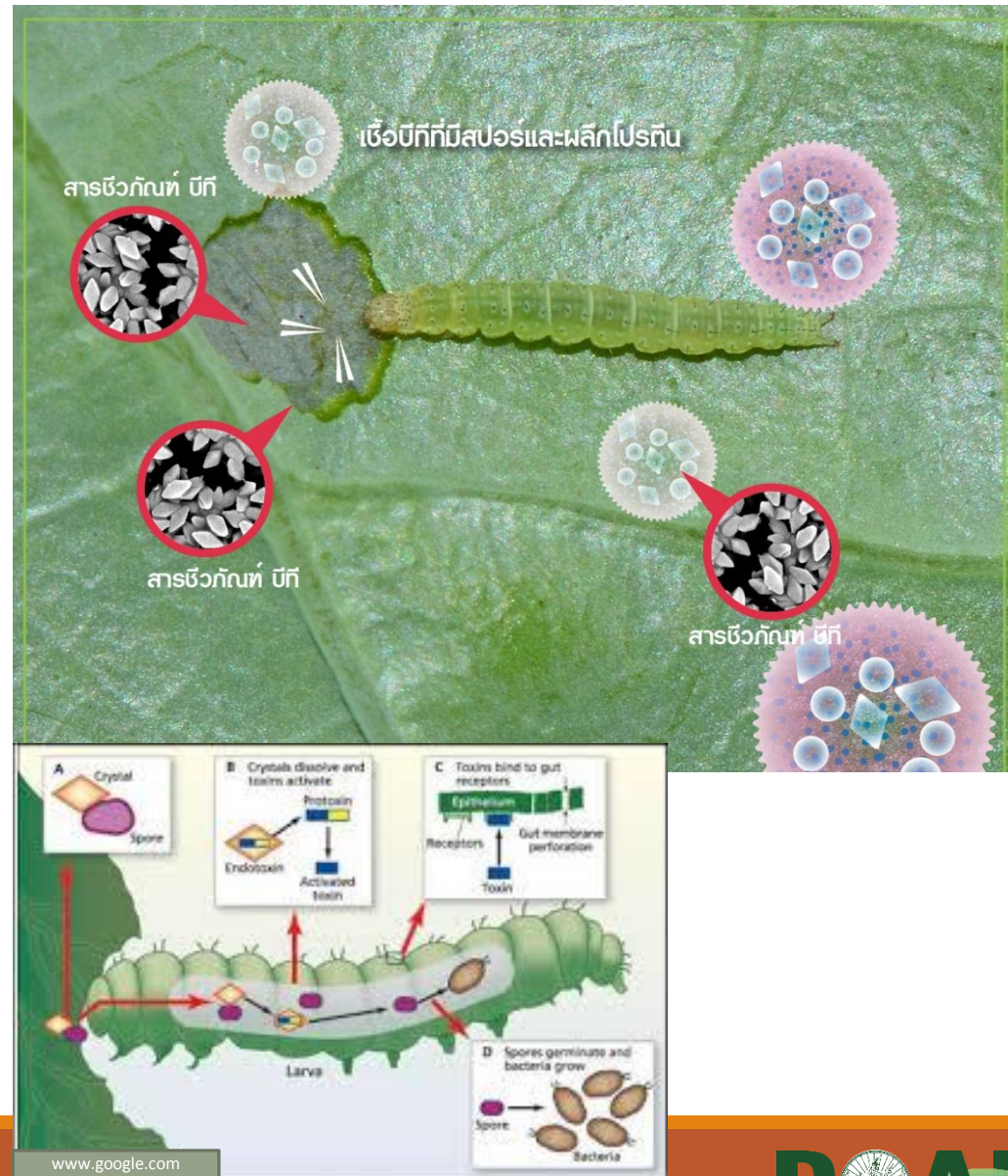


# How's Bt work?

Larvae consume toxins produced by BT

Bt damage the gut of insect larvae which then become inactive and starved.

Larvae turn into brown color, soft and finally die



เอฟ.ซี.  
ยาเชื้อคุณภาพ..

หนอนจะตาย  
ภายใน  
1-2 วัน  
หลังจากกินเชื้อ

จำหน่ายขนาด  
1000 ซีซี.  
500 ซีซี.  
100 ซีซี.

ลาอออกฤทธิ์ (ยาเชื้อบาซิลลัส ทรูริงเยนซิส)  
สายพันธุ์โอชาว ความเข้มข้น 8500 IU./mg.



\* หนอนใย 40-100 ซีซี. \* หนอนผีเสื้อต่างๆ 50-80 ซีซี.  
\* ป้องกันการรื้อยาของหนอน \* ปลดภัยต่อผู้บริโภค  
\* ใช้ร่วมกับสารกำจัดแมลงอื่นได้ดี (ฉีดสลับ)

หนอนใยก่อนรับเชื้อ    หนอนใยหลังรับเชื้อ

หนอนแปะใบ    หนอนกระตุ้    หนอนเจาะดอก

หนอนผีเสื้อ    หนอนใย    หนอนแปะใบ



✓ หนอนกระตุ้หอม  
✓ หนอนแปะใบอ่อน  
✓ หนอนหน้างเหนียว  
✓ หนอนคืบกินขอมะระ  
✓ หนอนกระตุ้ลายจุดข้าวโพด

อัตราการใช้ : 40-60 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร

All About Plants    all\_about\_plants    AllAboutPlants9    www.allaboutplants9.com



ชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช

ชื่อสามัญ : บาซิลลัส ทรูริงเยนซิส  
(*Bacillus thuringiensis var. kurstaki*)

ทะเบียนสารเคมี 202-2555  
ผู้จำหน่าย : Saccharin  
การค้า : *Bacillus thuringiensis var. kurstaki*..... 9.3 x 10<sup>10</sup> ch./g (16,000 IU/mg WP)

หนอนใยผักในกระถาง



# Microbial bioagent

- Registration No.
- Group of chemical
- Active chemical

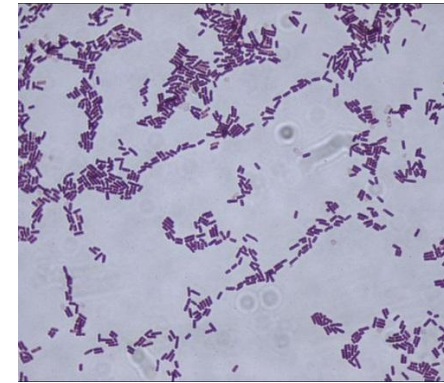
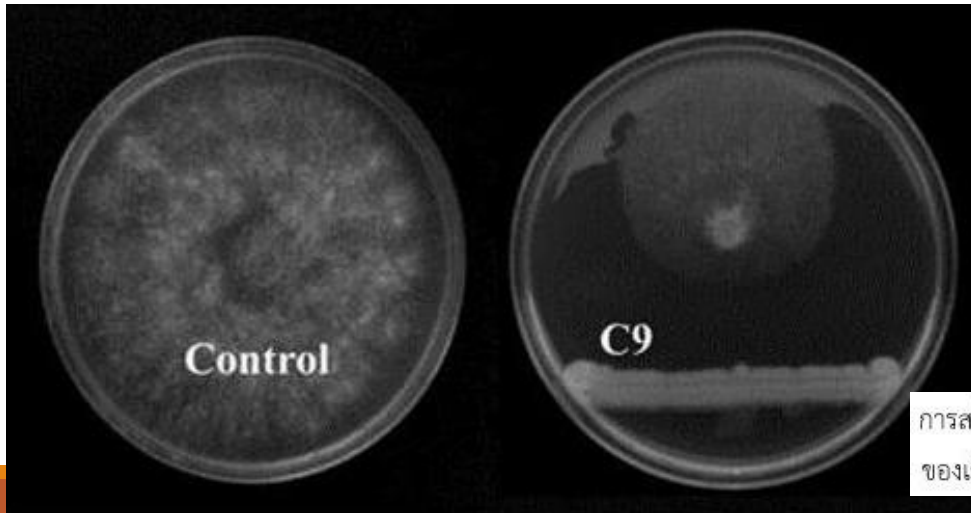
# Bacteria controlling plant disease : BS

*Bacillus subtilis* or Bs



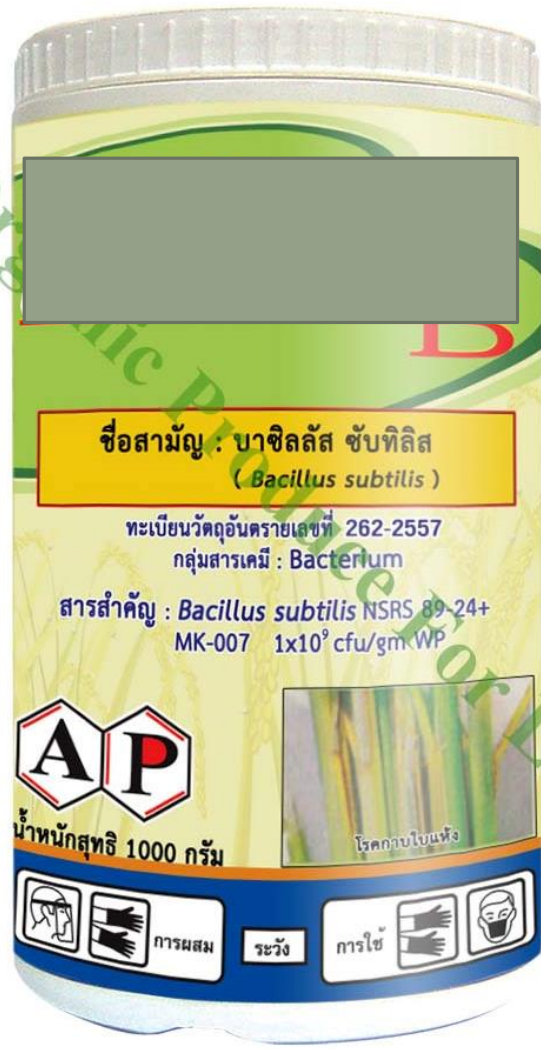
Can control fungi and bacteria causing plant diseases e.g. root rot, bacterial wilt disease, leave spot disease, Canker etc.

nutrient competition/ hyperparasitism/ antibiosis



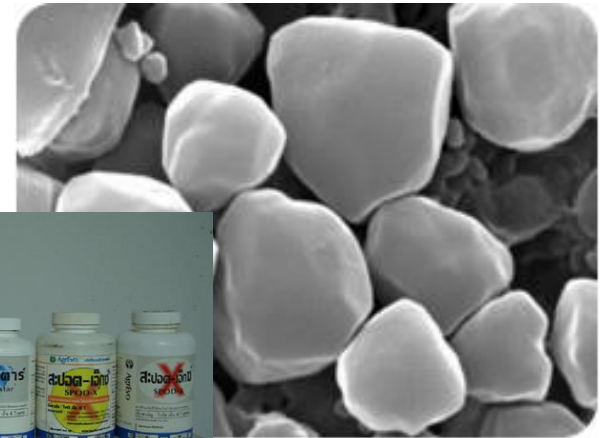
การสร้างสารปฏิชีวนะจากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ C9 ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครดพืช *Rhizoctonia solani* (Islam et al., 2012)

# Examples of commercial BS



# Viral bioagent: NPV

NucleoPolyhedroVirus  
or NPV



Target specificity: Common cutworm,  
Beet armyworm, Cotton bollworm



Common cutworm

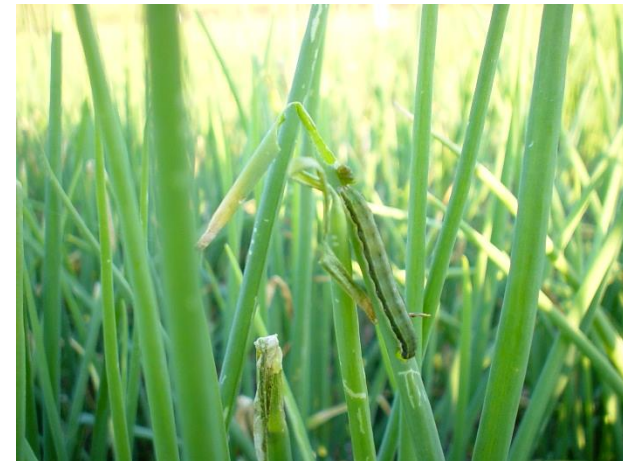


Beet armyworm



Cotton bollworm

# Beet armyworm



ภาพ : สวทช.

# Common cutworm



ภาพ : สวทช.



# Cotton bollworm



www.wikipedia.org



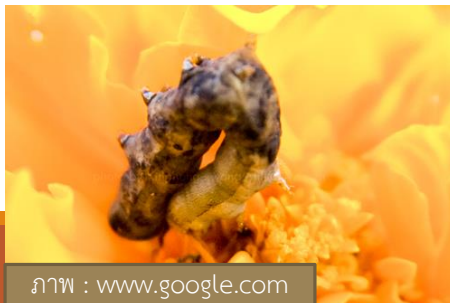
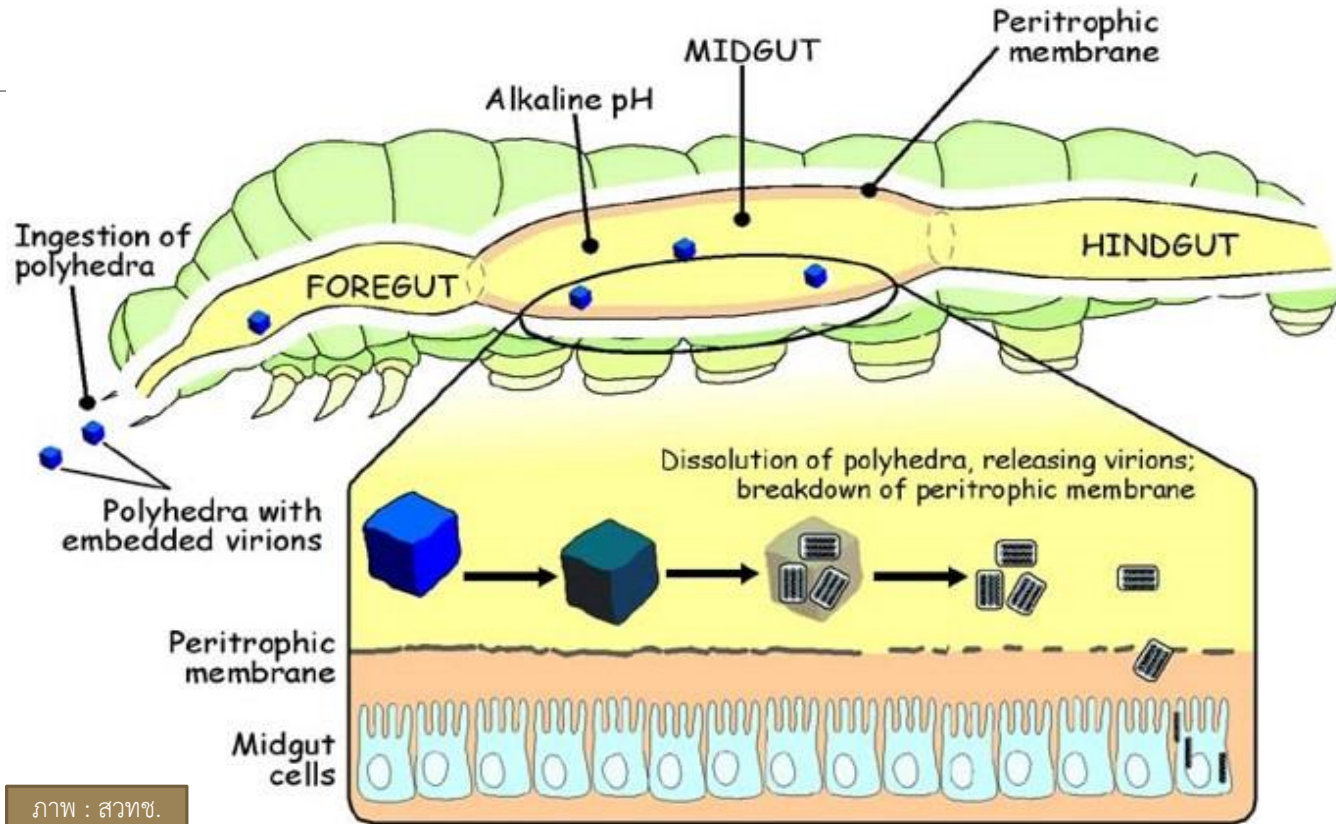
ภาพ : สวทช.



malaeng.com

# Mechanism of NPV action

## NPV infection of an insect host



# Use of NPV for biological control

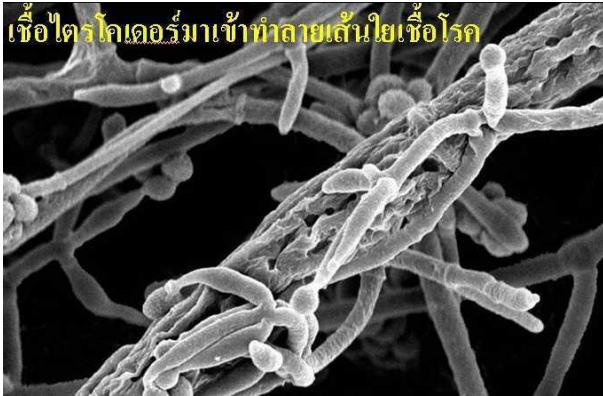


Quantity of NPV used depending on pest infestation levels  
Low infestation : 10ml NPV : 20 l of water, every 7-10 days  
Medium infestation: 15 ml NPV : 20 l of water, every 5 – 7 days  
High infestation: 20 ml NPV : 20 l water, every other day

Input	Details/Restriction
	Programme
Mulching	Use of natural materials such as rice straw, dried leaves and grass to control weeds.
Viruses	<p>For IFOAM Programme: any virus is allowed except GMOs</p> <p>For EU Programme: Only the followings microorganisms are allowed:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* Cydia pomonella Granulovirus (CpGV)</li> <li>* Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus (HearNPV)</li> <li>* Pepino mosaic virus strain CH2 isolate 1906</li> <li>* Spodoptera exigua nuclear polyhedrosis virus</li> <li>* Spodoptera littoralis nucleopolyhedrovirus</li> <li>* Zucchini Yellow Mosaik Virus, weak strain</li> </ul>

# Fungal Bioagents against plant diseases

## *Trichoderma asperellum*



- Soil Fungi
- Green Spores
- Antagonist against fungal plant pathogens causing root rot, damping-off, wilt, blast disease etc.



<http://www3.rdi.ku.ac.th>

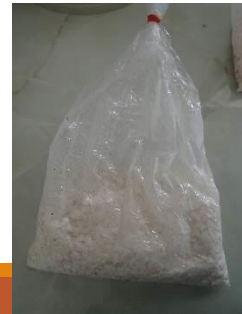


# How to use Trichoderma

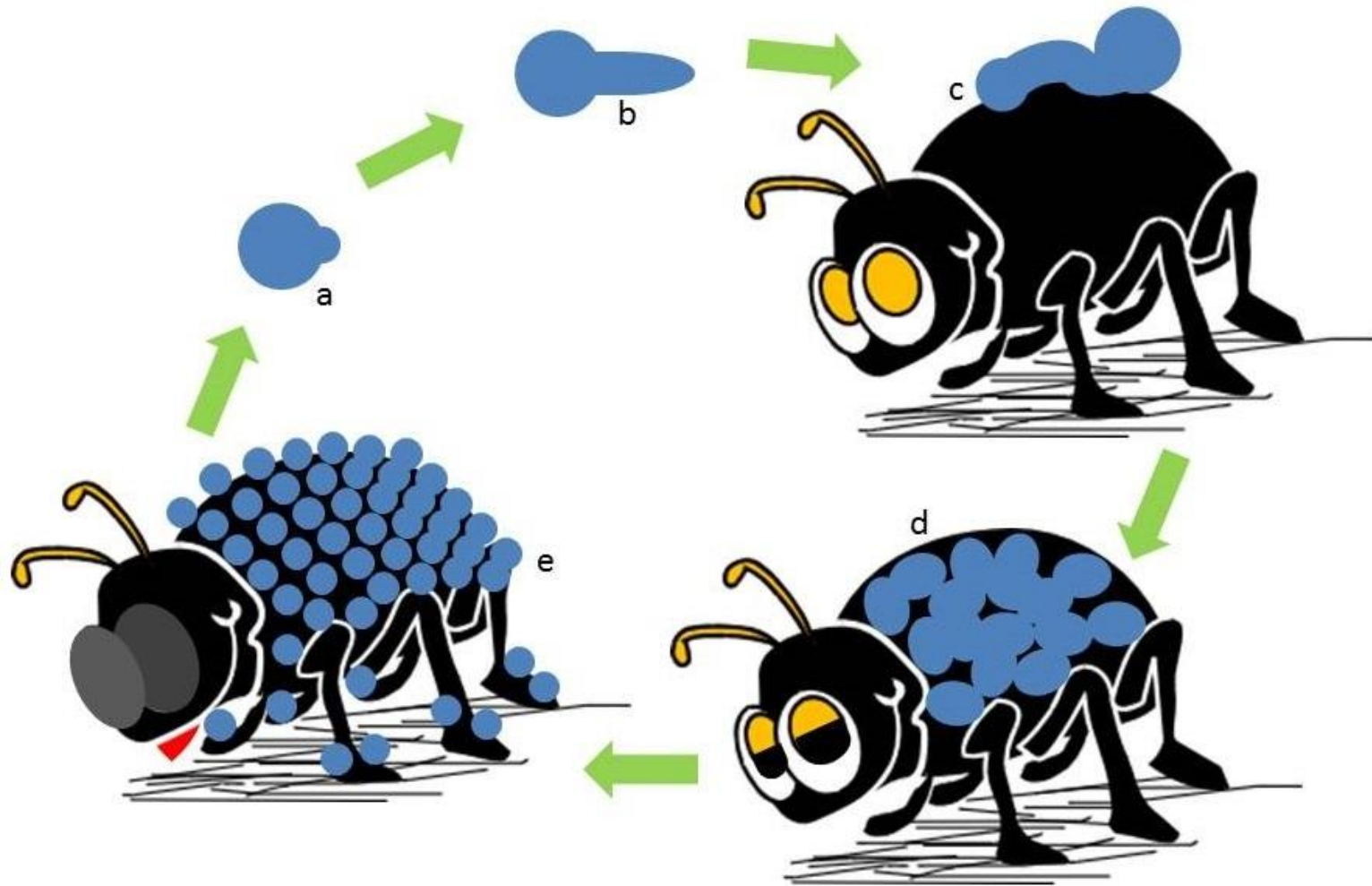


ที่มา : คณะเกษตร มก.

# Fungal Bioagents against insect pests



# Infection of fungal bioagents



**Mode of infection of entomopathogenic fungi.** Conidial spore (a) in the formulation or discharged from an infected cadaver germinates and produces a germ tube (b). It produces an appressorium (c) on insect cuticle when it finds an ideal penetration site. Upon successful entry into the host body, it divides and produces hyphal bodies and invades the host tissues (d). Fungus emerges from the dead host and produces more conidial spores (e).



# Fungal Bioagents against insect pests

*Beauveria bassiana*



- White in color
- Control insect pests: Brown planthopper, leafhopper, aphid, mealy bug, Thrips, Whiteflies, Moina, caterpillar, larvae of beetles



# Fungal Bioagents against insect pests

## *Metarhizium anisopliae*



- Green fungi
- Control insect pests : Coconut rhinoceros beetle (Larvae), Longhorn beetle (Larvae), sugarcane borer, grasshopper, planthopper, leafhopper, flea beetle, termite and pupae of common cutworm, Beet armyworm and FAW



# Recommendation for fungal bioagent application

1. Bioagents must have high quality (**pure, active and adequate amount for controlling pests**) Spray of the spores must **directly contact** to an insect body to allow efficient infection.
2. Fungal bioagents are **not insect specific** so **insect survey** should be done before applying bioagents to avoid killing benefit natural enemies.



# Recommendation for fungal bioagent application

- 3. Temperature and humidity affect infection efficiency of the bioagents. Therefore, it should be applied in the late afternoon.**
- 4. Not harmful to humans and animals but may cause irritation. Therefore, it is recommended to wear gloves and masks during spraying.**
- 5. Choose bioagents produced from reliable producers.**

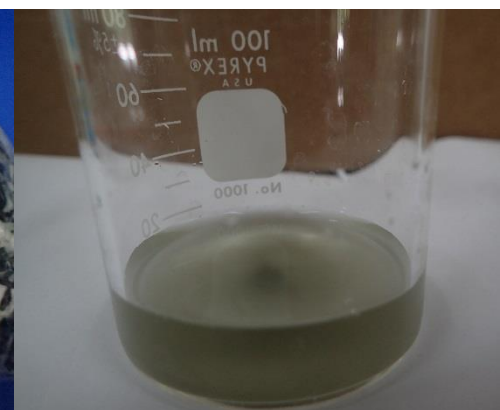
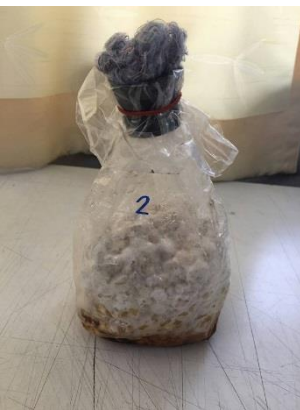


# Commercial biocontrol products



[www.google.com](http://www.google.com)

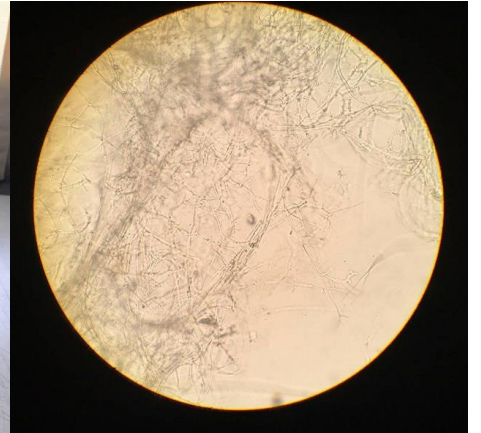
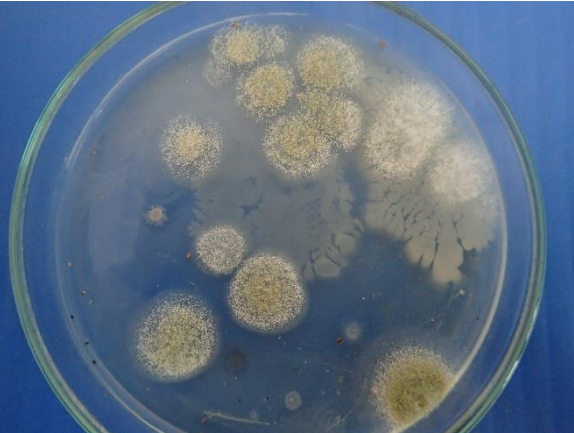
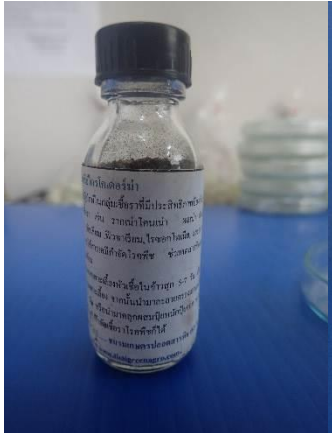
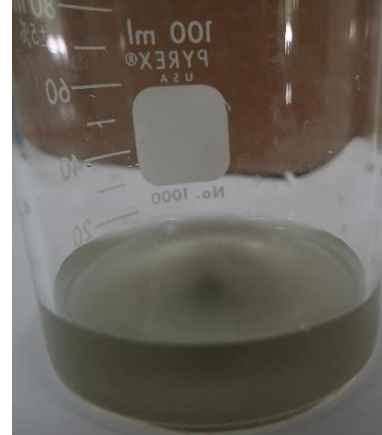
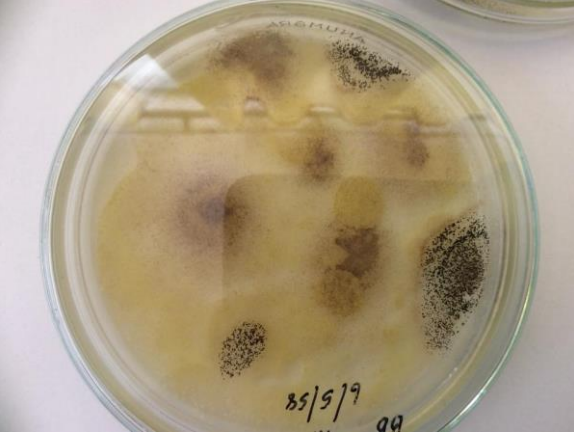
# Examples of bioagents produced by DOAE and have quality checked by National Science and Technology Development Agency





ภาพ : สวทช.

# Quality test result



# Quality test result



# How can we be sure about its quality?

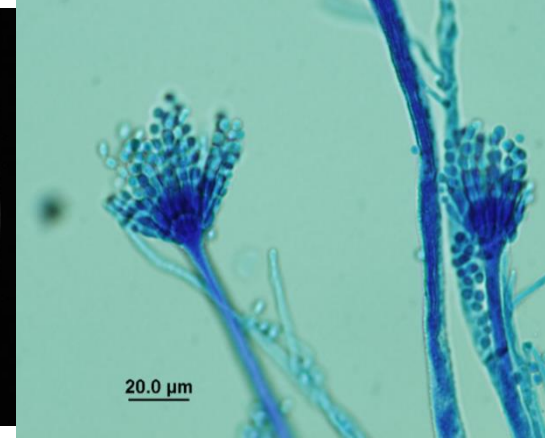
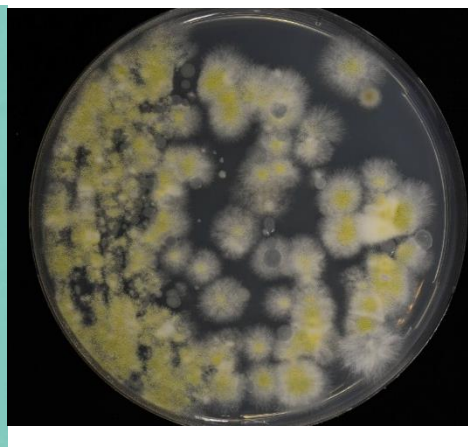
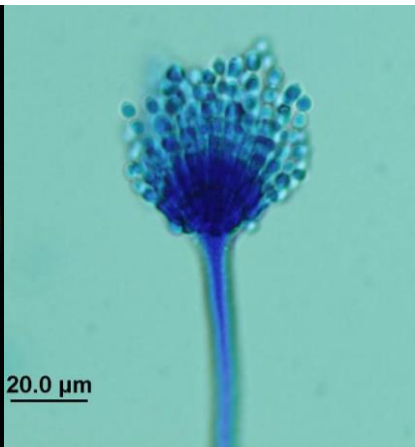
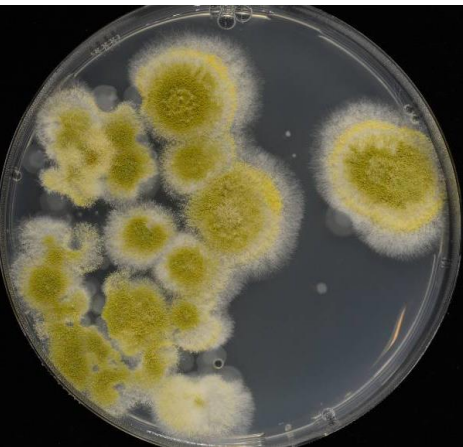




**Beauveria ?**



**Beauveria ?**



**Quality test result**

**Quality control of biological control agents**

**by Department of Agricultural Extension**

**To improve quality of bioagent production**

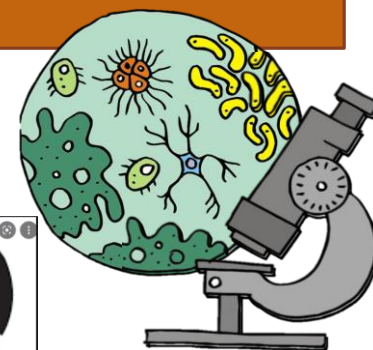
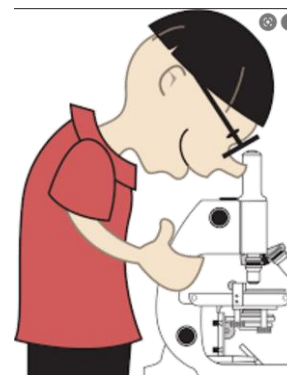
**To meet required standard**

**And ensure pest controlling efficiency**





# Quality Control process





# 1 Primary inspection (Observation)

**Trichoderma :**  
Dark green color  
No contaminants



**Beauveria :**  
White color



**Metarhizium :**  
Greyish or  
olive green  
color



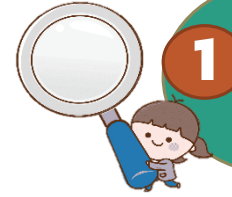
Liquid stock

Dry  
powder

Ready to use

**Bio culture microbial solution :**

- Not smelly
- No contaminated particles at the upper surface
- Fungal spore sediment at the bottom.



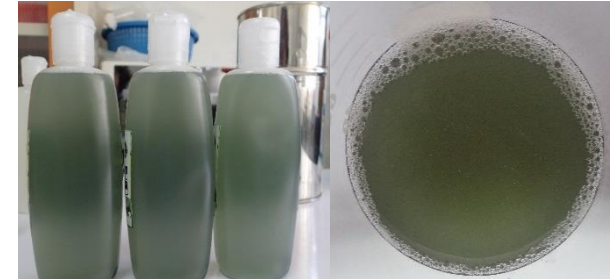
**1 Primary Examination  
(Observation with  
naked eyes)**



**Trichoderma**



**Beauveria**



**Metarhizium**

**Powder form : dry powder with its own color**



**Trichoderma**



**Beauveria**



**Metarhizium**



## Observation with Stereo microscope

2

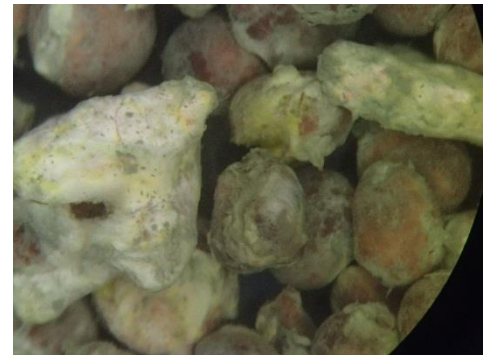
## Microscopic Examination



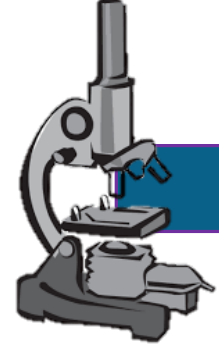
**Trichoderma**

**Beauveria**

**Metarhizium**



**Contamination with other microorganisms**

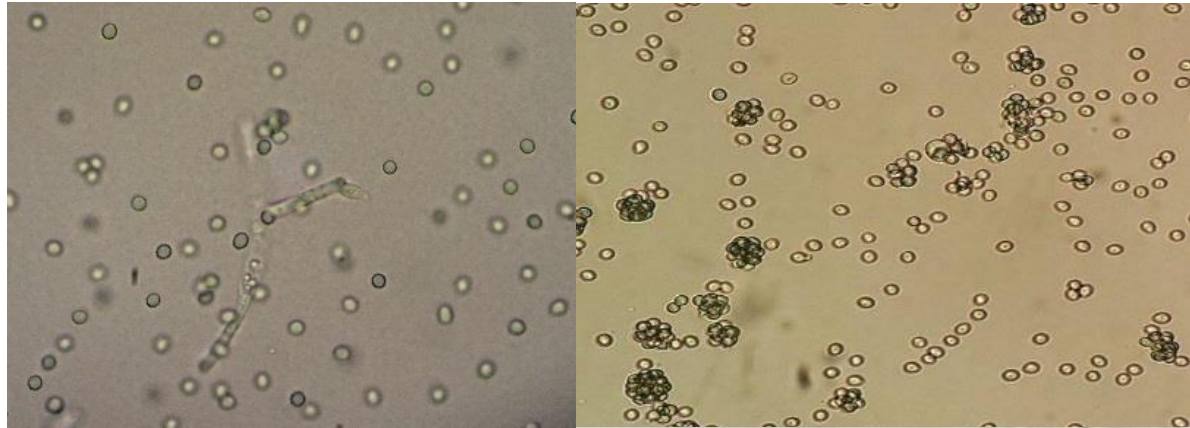


## Examination with Compound microscope

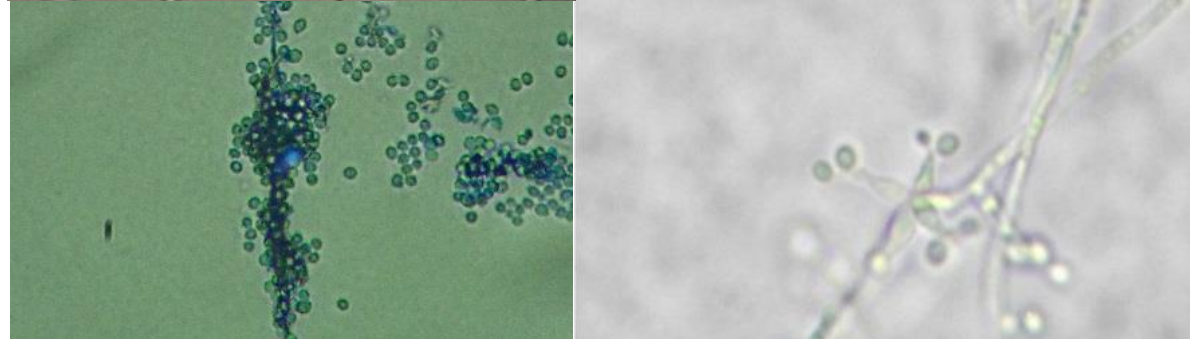
2

## Microscopic Examination

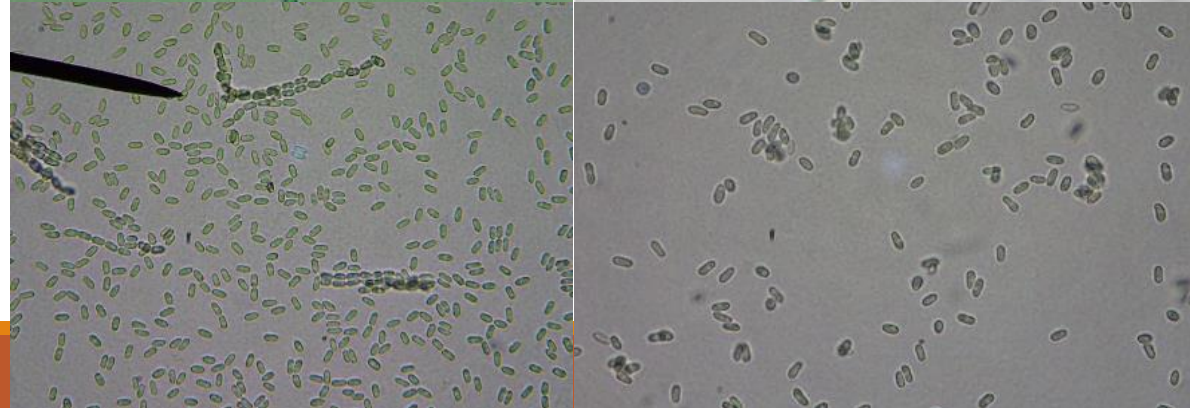
Trichoderma :  
transparent green  
sphere



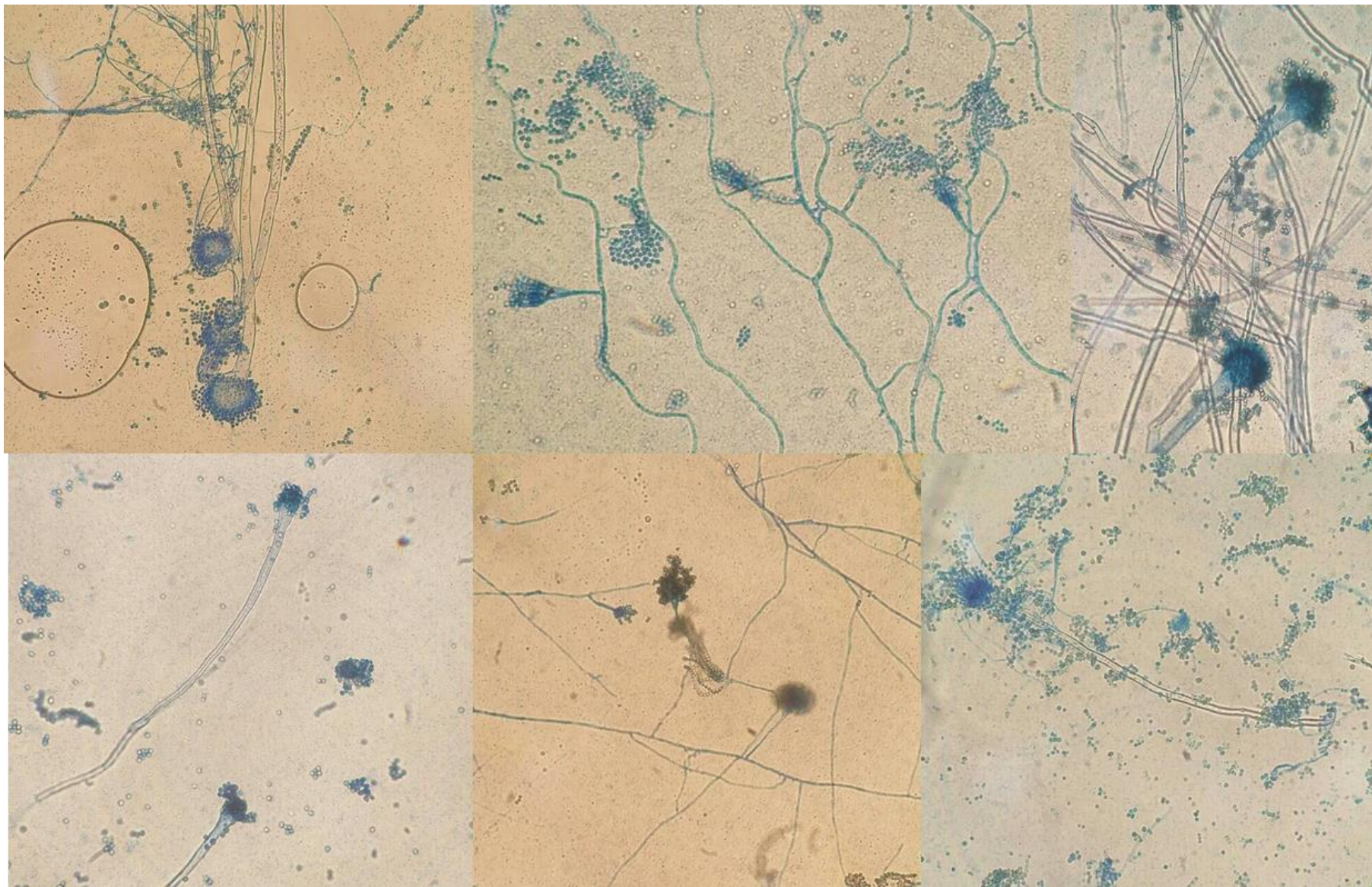
Beauveria :  
Transparent sphere



Metarhizium :  
Transparent light  
green rod

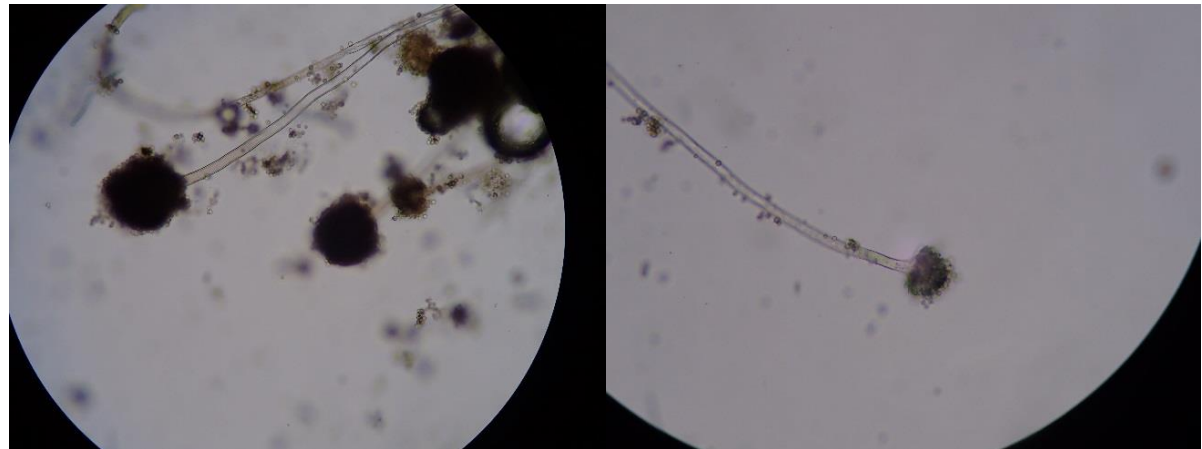
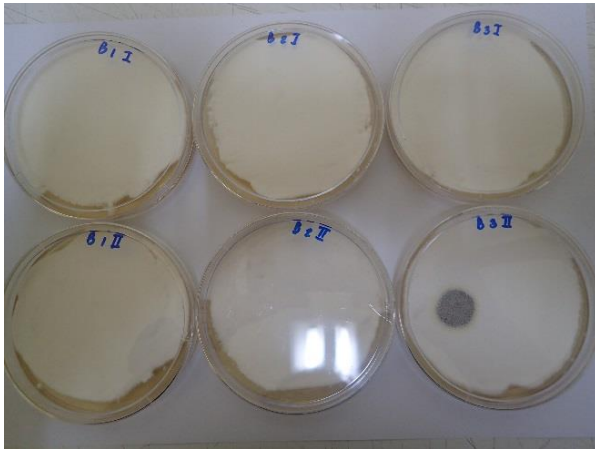
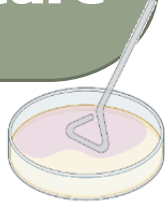






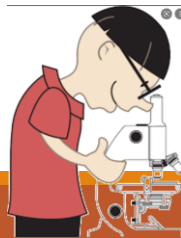
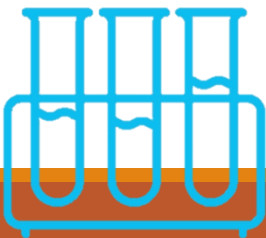
**Microscopic examination of Beauveria showing contamination of the samples with other fungi**

### 3 Microbial Culture

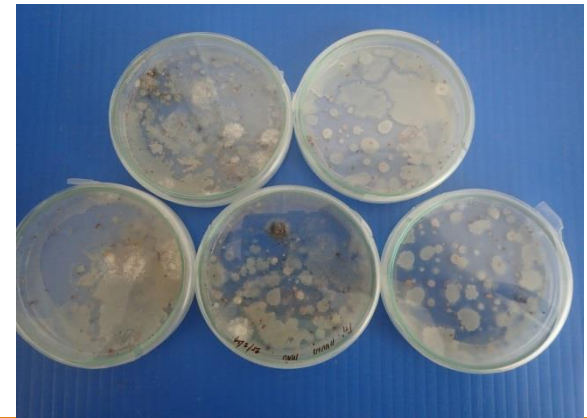
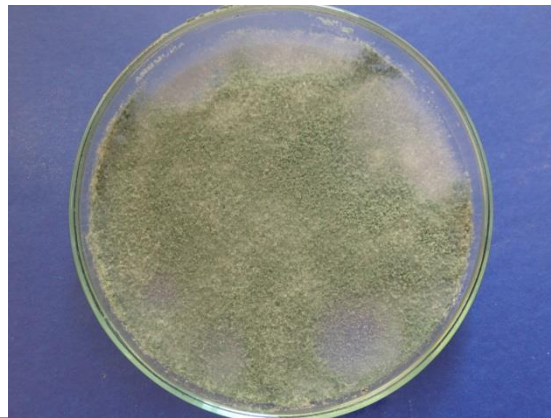
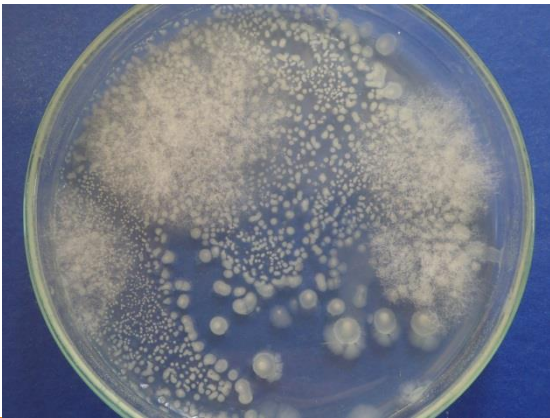
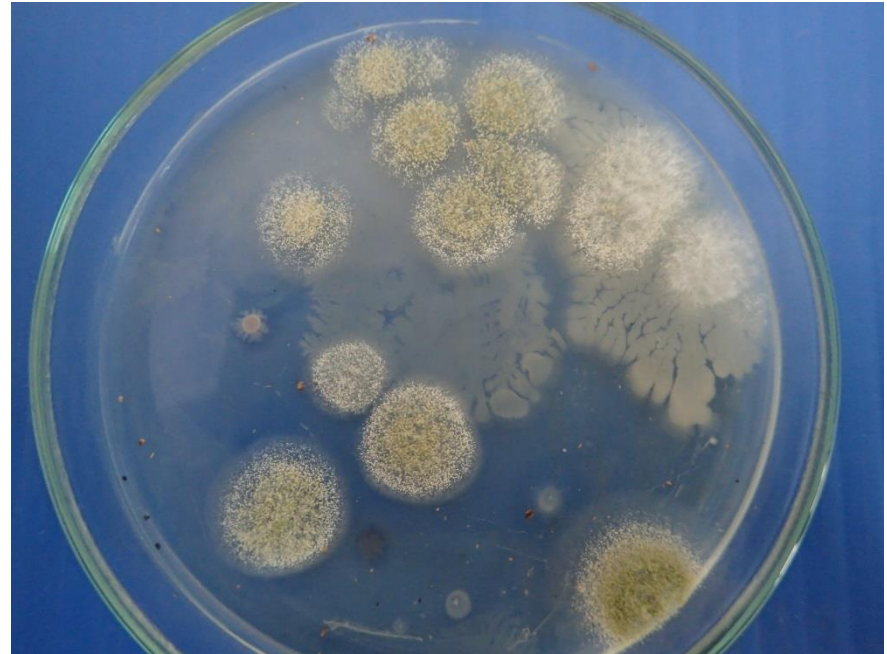
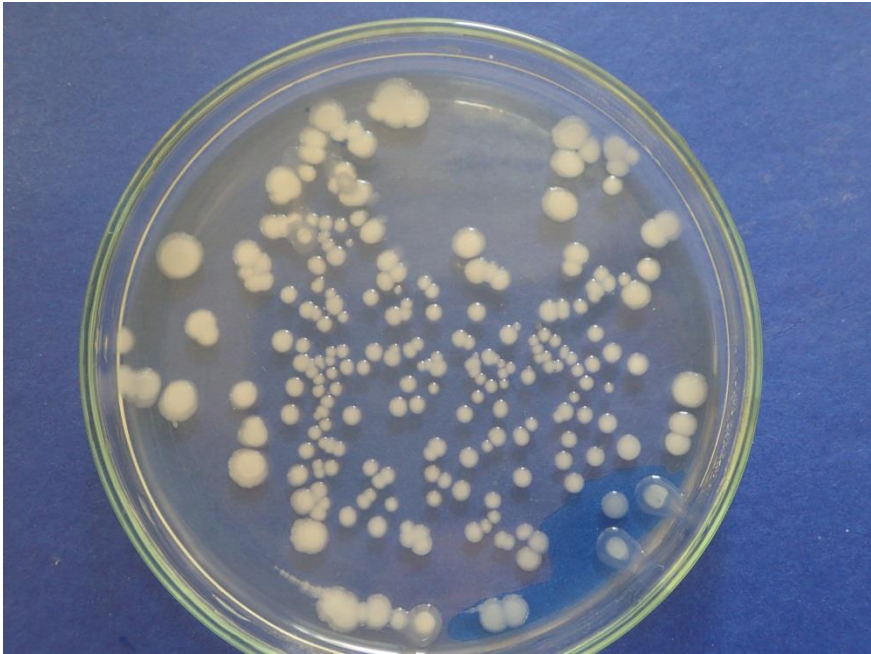


Spread plate technique

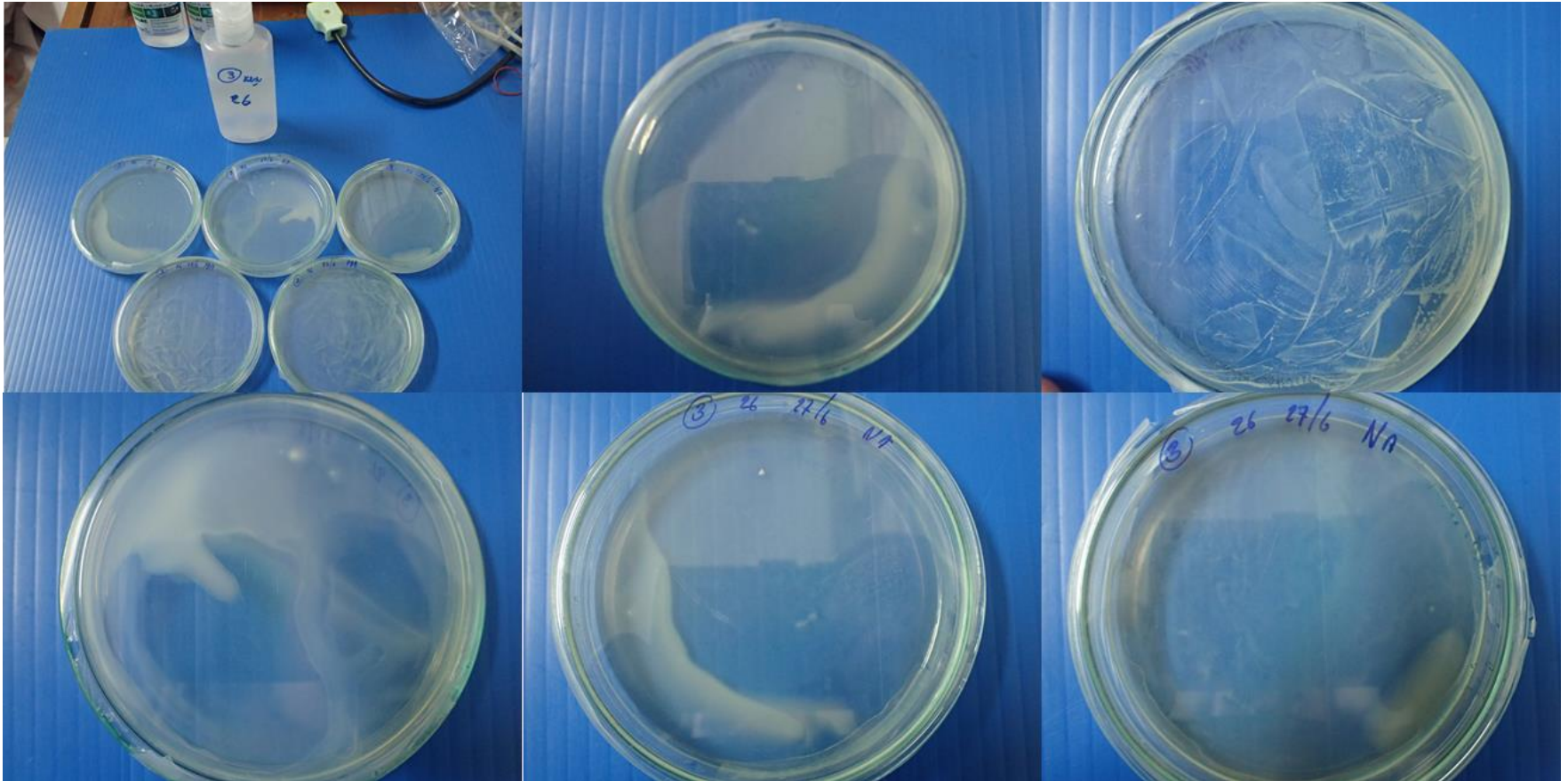
Contaminants detected under microscope



# Contamination with other microbes



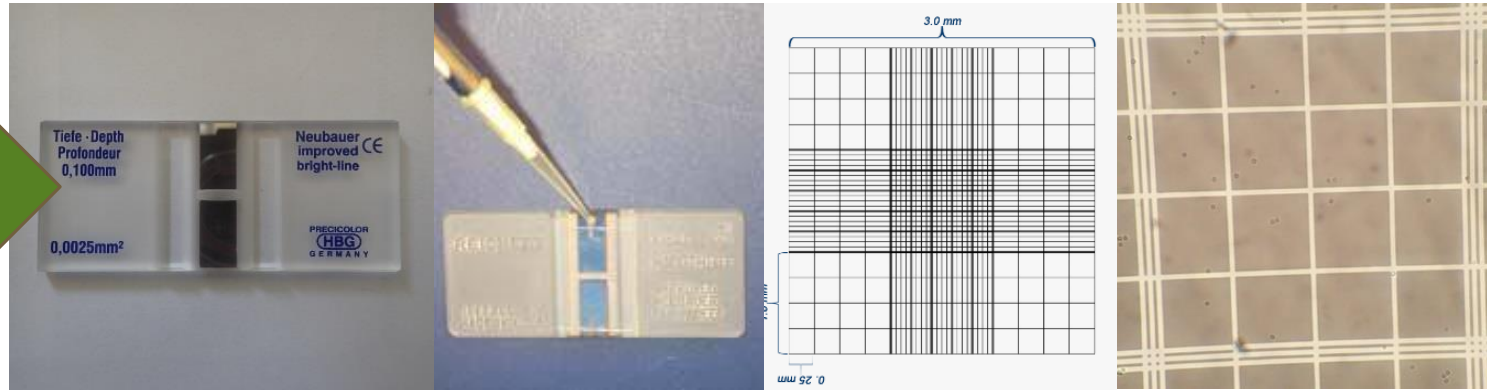
# Contamination with other microbes



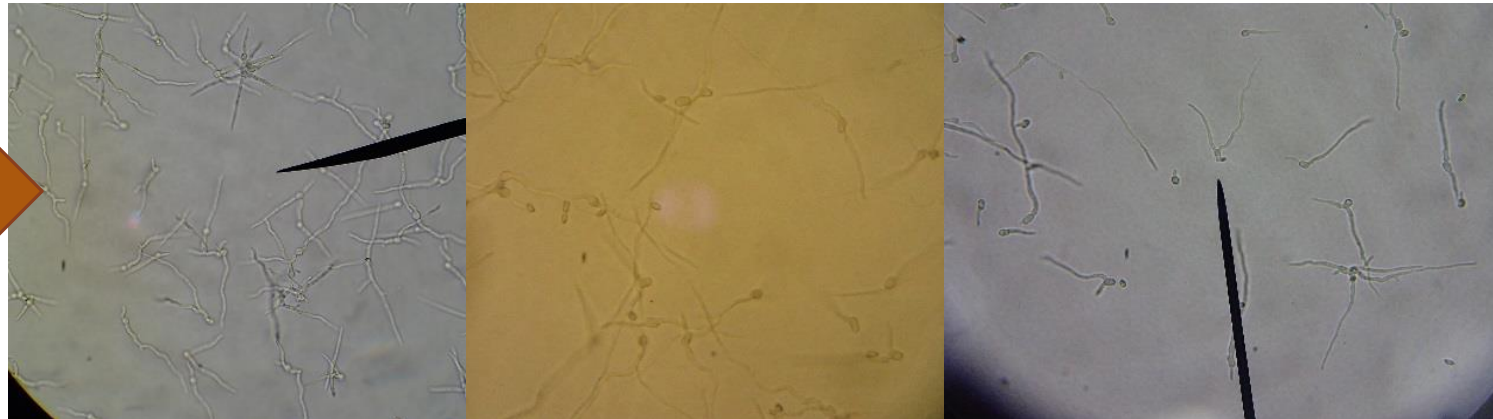
4

# Spore concentration and germination rate

Spore concentration  
(spore/ml)



Germination rate



# Quality control report

## Sample detail

## Summary of the quality check

## Detailed result

### แบบรายงานผลการตรวจคุณภาพเชื้อจุลินทรีย์

ตัวอย่าง เชื้อราข้าวเวอเรีย (เชื้อสดบนเมล็ดข้าวสาร)

ที่มา

วันที่รับตัวอย่าง วันที่ ๒๒ มิถุนายน ๒๕๕๙

วันที่ตรวจ ตั้งแต่วันที่ ๒๓ มิถุนายน ๒๕๕๙

### สรุปผลการตรวจสอบคุณภาพเชื้อจุลินทรีย์

๑. มีการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดอื่นในตัวอย่างที่ระบุว่าเป็นเชื้อราข้าวเวอเรีย
๒. เชื้อชนิดนี้จึงไม่ควรนำไปใช้ในการควบคุมศัตรูพืช เพราะเป็นเชื้อที่ไม่บริสุทธิ์มีเชื้ออื่นปนเปื้อน ไม่มีคุณภาพเพียงพอในการควบคุมศัตรูพืชและเชื้อที่ปนเปื้อนอาจก่อให้เกิดอันตราย และอาจปนเปื้อนในผลผลิตและสิ่งแวดล้อมได้
๓. ควรทำลายเชื้อก่อนทิ้ง และควรตรวจสอบและปรับปรุงกระบวนการผลิตขยายเชื้อตามคำแนะนำที่ข้างท้าย

### รายละเอียดผลการตรวจคุณภาพ

๑. ลักษณะทั่วไป

๑.๑ ลักษณะทางกายภาพ

ตัวอย่างที่ BKK 1 ระบุว่าเป็นตัวอย่างเชื้อราข้าวเวอเรีย เป็นเชื้อสดบนเมล็ดข้าวสาร ลักษณะเมล็ดข้าวและ อัดตัวกันแน่น

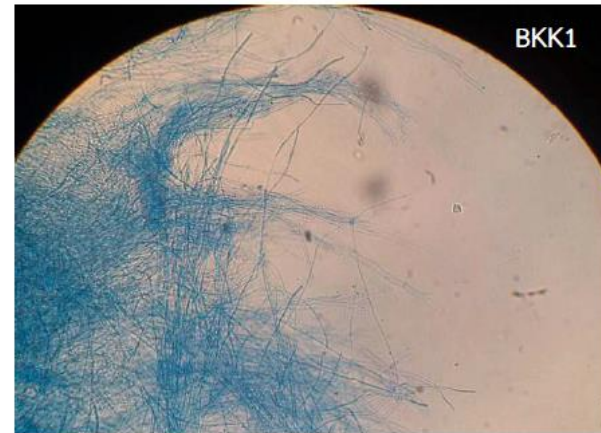


ภาพแสดงลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างที่ BKK1

๑.๒ ลักษณะเชื้อได้กึ่งจุลทรรศน์

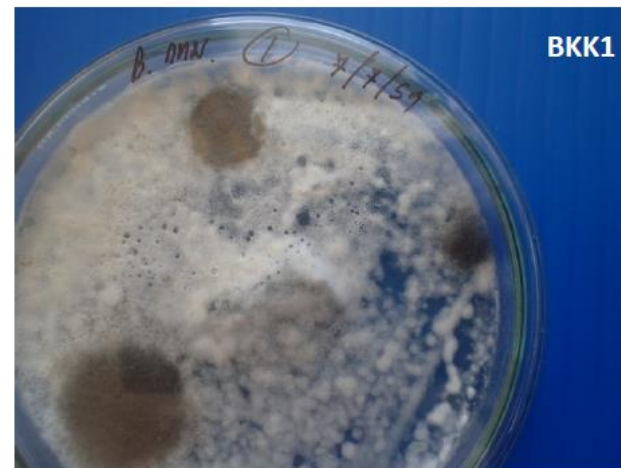
ตัวอย่างที่

BKK1 พบเฉพาะเส้นใยของเชื้อราไม่พบสปอร์



ภาพแสดงลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของตัวอย่างที่ BKK1

๒. ลักษณะเชื้อตัวอย่างเมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า BKK1 มีเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus* sp. ขึ้นปะปนกับตัวอย่าง



ภาพแสดงลักษณะเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ( 5 วัน)

Detailed result





5

## Packaging appearance



Properly packed/sealed



Leak/not properly sealed

Contaminated with other microbes

- Label (Example) -

*Beauveria bassiana*

Control insect pests: Brown planthopper, leafhopper, aphid, mealy bug, Thrips, Whiteflies, Moina, caterpillar, larvae of beetles

Directions

1 pack of *Beauveria bassiana* : 20 L water

Recommended to apply in the late afternoon

250 g/pack

MFG : 1 Aug 2022

Produced by: Plant Protection Promotion  
and Soil-Fertilizer Management Division  
Department of Agricultural Extension

# Support of bioagents for farmers



**DOAE produces pure culture  
of microbial bioagents  
and natural enemies**

← **Quality Check**

**Randomly examine  
the quality of  
bioagents produced  
DOAE headquarter**



**Regional Plant Protection Center**

- **Multiply bioagents from pure culture**
- **Produce ready-to-use bioagents**
- **Herbal extract**

← **Quality Check**

**Randomly examine  
the quality of  
bioagents produced  
DOAE headquarter**



**Provincial/District Agricultural Office**

← **Quality Check**

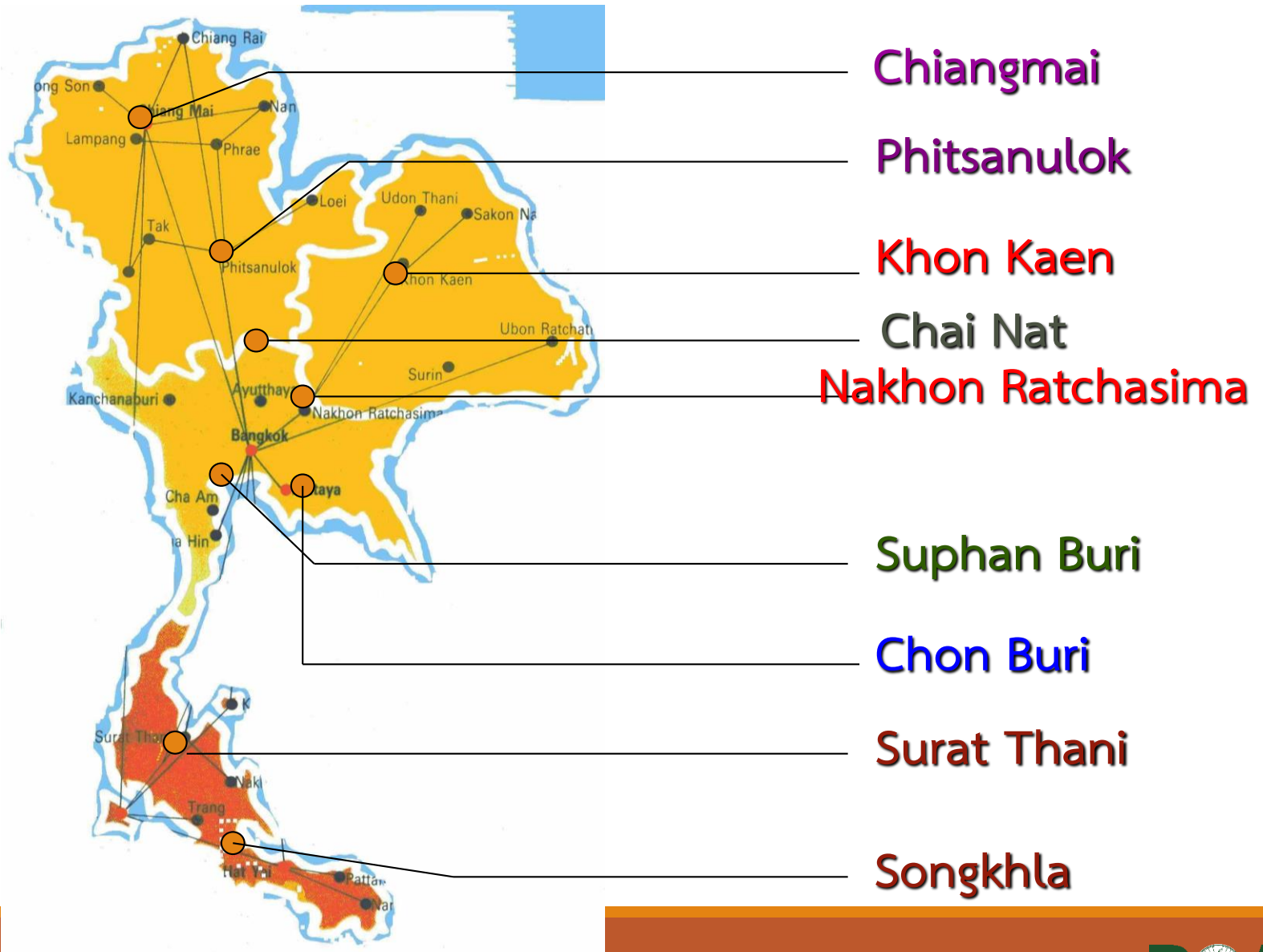
**Randomly examine the  
quality of bioagents  
produced  
Regional Plant  
Protection Center**



- **Community Pest Management Center**
- **Other farmers/groups**



# Regional Plant Protection Center





**Plant Protection Promotion  
and Soil-Fertilizer Management Division  
Department of Agricultural Extension**



**Tel. 0-2579-3664**



**E-mail : [biogroupdoae@gmail.com](mailto:biogroupdoae@gmail.com)**

**Thank you**

