

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย : โครงการวิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี
2. โครงการวิจัย : การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช
กิจกรรม : การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืช
3. การทดลอง : การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรีย; *Beauveria bassiana* (Balsamo) เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช
: Selection and Efficacy test of white muscadine fungus, *Beauveria bassiana* (Balsamo) to control insect pests

4. คณะผู้ดำเนินงาน

ชื่อหัวหน้าโครงการ	อัมพร วิโนทัย	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ชื่อ หัวหน้าการทดลอง	เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ชื่อผู้ร่วมงาน	อิศเรศ เทียนทัด	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	วิไลวรรณ เวชยันต์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. บทคัดย่อ

การคัดเลือกและพัฒนาวิธีการเลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรีย เริ่มในเดือนตุลาคม 2553 - กันยายน 2556 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร การดำเนินงานในปี 2554 ได้เก็บตัวอย่างแมลงเป็นโรคในธรรมชาติ จำนวน 12 ตัวอย่าง ได้แก่ เชื้อราจากใบส้มโอ อ.บางขันแตก จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 1 ตัวอย่าง, เชื้อราจากเปลือกแป้งมันสำปะหลัง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา จำนวน 1 ตัวอย่าง, เชื้อราจากหนอนแหะเปลือกกลองทอง จ.จันทบุรี จำนวน 1 ตัวอย่าง และเชื้อราจากเปลือกกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวที่ จ.สุพรรณบุรี จำนวน 9 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และส่งจำแนกเชื้อที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังพบว่าเป็นเชื้อราแมลงจำนวน 3 ชนิด คือ *Paecilomyces* sp., *Lecanicillium* sp. และ *Isaria* sp. ต่อมาในปี 2555 ได้ขอความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราบิวเวอเรียจากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร (B4) ซึ่งแยกเชื้อได้จากมอดเจาะเมล็ดกาแฟ เพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพกับแมลงศัตรูพืชได้แก่ เพลี้ยแป้งสีชมพู เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หนอนกระทู้ฝัก และหนอนกระทู้หอม โดยทำการทดสอบประสิทธิภาพเปรียบเทียบกับเชื้อราบิวเวอเรียจากกรมส่งเสริมการเกษตร (B2) และเชื้อราบิวเวอเรียจากศูนย์พันธุ์วิศวกรรมฯ (BCC22355 และ BCC31578) ผลการทดสอบประสิทธิภาพพบว่า เชื้อราบิวเวอเรียทั้ง 4 ไอโซเลทมีแนวโน้มในการใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งสีชมพู ได้ดีกว่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หนอนกระทู้ฝัก และหนอนกระทู้หอม โดยพบว่าเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพร (B4) ทำให้เพลี้ยแป้งสีชมพูติดเชื้อได้ 96 - 100% ในขณะที่ผลการทดสอบประสิทธิภาพกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลพบการติด

เชื้ออยู่ระหว่าง 3.75 – 12.5% ส่วนผลการทดสอบประสิทธิภาพกับ หนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม สามารถทำให้ติดเชื้อเพียง 2%

6. คำนำ

ปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจงานด้านการป้องกันกำจัดศัตรูพืชทางชีวภาพมากขึ้น วิธีการหนึ่งที่มีความสนใจคือการนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ซึ่งนอกจากมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของตัวเกษตรกรผู้เข้าร่วมทั้งผู้บริโภคแล้ว ยังไม่ทำให้เกิดพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในสภาพแวดล้อม

เชื้อราขาว *Beauveria bassiana* เป็นจุลินทรีย์ ที่นำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ จัดอยู่ใน Phylum: Ascomycota, Class: Sordariomycetes ซึ่งเชื้อราในกลุ่มนี้มักจะเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรค “muscadine” ในแมลง โดยใน *B. bassiana* มีการเรียกเชื้อราชนิดนี้ว่า “white muscadine” พบว่าเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคครั้งแรกกับหนอนไหม (Steinhaus, 1949) *B. bassiana* เป็นเชื้อราในดิน พบแพร่กระจายได้ทั่วไป แมลงอาศัยส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม Lepidoptera, Coleoptera และ Hemiptera แต่บางครั้งอาจจะพบในกลุ่ม Diptera และ Hymenoptera ด้วย (Tanada and Kaya, 1993) เชื้อราชนิดนี้ถูกนำมาผลิตใช้ในทางการค้าภายใต้ชื่อการค้าต่างๆ ในหลายประเทศ เช่น Bea-sin ใน เม็กซิโก, Boverin ใน รัสเซีย, Boverol-spofo ใน เช็กโกสโลวาเกีย, Conidia ใน โคลัมเบีย, Mycotrol ใน อเมริกา, Ostrinil ใน ฝรั่งเศส และ Proecol ในเวเนซุเอลา เป็นต้น (Wraight *et al.*, 2001)

ในเมืองไทยมีการศึกษาการนำเชื้อราขาวมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชมากมาย จากรายงานผลงานค้นคว้าวิจัยตั้งแต่ปี 2525 -2539 โดยมลิวลีย์ ปันยารชุน กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกัญและสัตววิทยา ได้ทำการศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราดังกล่าวกับแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ พบว่าสามารถนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดได้แก่ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และหนอนเจาะขั้วผลเงาะ เป็นต้น เชื้อราขาว (*Beauveria bassiana*) ได้รับความสนใจจากเกษตรกรกลุ่มผู้ทำการเกษตรปลอดสารพิษเป็นจำนวนมาก เนื่องจากสามารถใช้ได้กับแมลงหลายประเภททั้งกลุ่มแมลงปากกัด ได้แก่ หนอนผีเสื้อศัตรูพืชชนิดต่างๆ และกลุ่มแมลงปากดูดได้แก่ เพลี้ยกระโดด, เพลี้ยไฟ, เพลี้ยแป้ง ฯลฯ ซึ่งศัตรูพืชเหล่านี้ทำความเสียหายให้กับพืชผลเกษตรเป็นจำนวนมาก การดำเนินงานในปีงบประมาณ 2554 – 2556 งานวิจัยเชื้อราโรคแมลงได้รับอนุเคราะห์เชื้อราบิวเวอเรียจากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพรที่ได้มีการเก็บรวบรวมเชื้อราบิวเวอเรียจากมอดเจาะผลกาแฟในแปลงเกษตรกร และได้ทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ทั้ง 8 ไอโซเลท ในห้องปฏิบัติการ จนได้เชื้อราบิวเวอเรียที่มีประสิทธิภาพดีในการใช้ควบคุมมอดเจาะผลกาแฟจำนวน 4 ไอโซเลท (ยุพินและคณะ, 2545) ต่อมา ประภาพรและคณะ (2556) ได้นำเชื้อราบิวเวอเรียทั้ง 4 ไอโซเลท มาขยายผลทดสอบประสิทธิภาพในสภาพไร่ และศึกษาถึงวิธีการเลี้ยงขยายปริมาณเชื้อราบิวเวอเรียดังกล่าว

ในปัจจุบันงานวิจัยเชื้อราโรคแมลงได้รับความอนุเคราะห์เชื้อราบิวเวอเรียจากคุณประภาพร ฉันทานุมัติ ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ซึ่งในปีงบประมาณ 2554 – 2556 ได้นำเชื้อราบิวเวอเรียดังกล่าวมาศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นนอกเหนือจากมอดเจาะผลกาแฟ โดยเปรียบเทียบกับเชื้อราบิวเวอเรียสาย

พันธุ์กรมส่งเสริมการเกษตร และสายพันธุ์จากศูนย์พันธุ์วิศวกรรมฯ โดยแมลงที่ใช้ทำการทดสอบได้แก่ เพลี้ยแป้ง สีชมพู เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม เป็นต้น เพื่อทราบประสิทธิภาพและนำข้อมูลที่ได้เพื่อการตัดสินใจในการนำไปใช้ หรือเผยแพร่ต่อเกษตรกรผู้สนใจต่อไป

วัตถุประสงค์การทดลอง

- ได้ทราบประสิทธิภาพของเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพร (B4) ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่างๆ ได้แก่ เพลี้ยแป้ง สีชมพู เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม เปรียบเทียบกับเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์กรมส่งเสริมการเกษตร และสายพันธุ์จากศูนย์พันธุ์วิศวกรรมฯ เพื่อทราบประสิทธิภาพและนำข้อมูลที่ได้เพื่อการตัดสินใจในการนำไปใช้ หรือเผยแพร่ต่อเกษตรกรผู้สนใจต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. เชื้อราบิวเวอเรีย (*Beauveria bassiana*) ไอโซเลทต่างๆ
B2 = กรมส่งเสริมการเกษตร, B4 = บิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพร, BCC22355 = ศูนย์พันธุ์วิศวกรรมฯ และ BCC31578 = ศูนย์พันธุ์วิศวกรรม
2. แมลงศัตรูพืชที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ เพลี้ยแป้ง สีชมพู เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม
3. ข้าวโพดบดหยาบ
4. Potato Dextrose Agar (PDA)
5. Potato Dextrose Broth (PDB)
6. กล่องเลี้ยงแมลง
7. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
8. เครื่องนับสปอร์ (Hemocytometer)
9. ตู้เขี่ยเชื้อ
10. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
11. กล้องจุลทรรศน์
12. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)
13. ปีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.
14. กระจกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.
15. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.

วิธีการ

เลี้ยงเชื้อราบิวเวอเรีย (*Beauveria bassiana*) ทั้ง 4 ไอโซเลท ได้แก่ B2 = กรมส่งเสริมการเกษตร, B4 = ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร, BCC 22355 = ศูนย์พันธุวิศวกรรม และ BCC 31578 = ศูนย์พันธุวิศวกรรม บนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ในอัตรา 2 มล./ถุง คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 3 °ซ.) เป็นเวลา 14 วัน นำถุงเชื้อราบิวเวอเรียที่เลี้ยงได้มา เติมน้ำผสม tween ปริมาตร 200 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด ใช้ผ้าขาวบางกรองเศษอาหารที่ปะปนกับสารแขวนลอยโคนิเดีย จากนั้นนำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาตรวจนับความเข้มข้นของโคนิเดีย ปรับกำลังโคนิเดียเชื้อให้เท่ากันทุกไอโซเลทที่ 1×10^8 โคนิเดีย/มล.

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรีย

เพี้ยแป้งสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero

วิธีการ เลี้ยงเพี้ยแป้งสีชมพูบนผลฟักทอง เลือกใช้เพี้ยแป้งวัย 2 อายุประมาณ 1 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 กรรมวิธี 5 ซ้ำ เตรียมสารแขวนลอยโคนิเดียทุกไอโซเลทที่ 1×10^8 โคนิเดีย/มล. วางแผ่นกระดาษกรองในจานเลี้ยงเชื้อหยดน้ำเพื่อเพิ่มความชื้นลงบนแผ่นกระดาษกรอง วางใบมันสำปะหลังโดยวางหลังใบไว้ด้านบน เตรียมทริตเมนต์ละ 5 จานเลี้ยงเชื้อ (5 ซ้ำ) นำเพี้ยแป้งสีชมพูที่คัดเลือกไว้จุ่มในสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อแต่ละไอโซเลทที่เตรียมไว้ จากนั้นเขี่ยใส่ใบมันสำปะหลังที่เตรียม จานละ 20 ตัว ดังนั้นใช้เพี้ยแป้งจำนวน 100 ตัว/ทริตเมนต์ control ใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปิดฝาจานเลี้ยงเชื้อ วางไว้ที่อุณหภูมิห้องสังเกตการเป็นโรคทุก 2 วัน จัดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

เพี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*)

วิธีการ การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียกับเพี้ยกระโดดสีน้ำตาล ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการกรมการข้าวในการใช้สถานที่ทดสอบ รวมทั้งให้ความอนุเคราะห์เพี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพื่อใช้ในการทดสอบ วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ เตรียมสารแขวนลอยโคนิเดีย ทุกไอโซเลทที่ 1×10^8 โคนิเดีย/มล. ขั้นตอนเริ่มตั้งแต่เตรียมต้นข้าวอายุ ประมาณ 1 เดือน ใส่กระถาง (กระถางละ 15 – 20 ต้น) ใช้เพี้ยกระโดดสีน้ำตาลประมาณวัย 3 – 4 ในการทดสอบ ทำให้เพี้ยกระโดดสีน้ำตาลสลบโดดใช้ CO_2 เทเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่สลบใส่จานเลี้ยงเชื้อ จานละ 10 ตัว พันสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราขาวไอโซเลทต่างๆ ที่เตรียมไว้บนตัวเพี้ยกระโดดสีน้ำตาล (พ่น 3 ครั้ง ใช้สารแขวนลอยโคนิเดียประมาณ 3 มล.) จากนั้นเขี่ยเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลใส่ต้นข้าวที่เตรียมไว้ จำนวน 10 ตัว/กอข้าว (= 1 ซ้ำ) ครอบกระถางด้วยกระบอกพลาสติก ด้านบนคลุมด้วยมุ้งตาข่าย ทำการเช็คผลทุก 2 วัน หลังการทดสอบ

หมายเหตุ: ข้าวที่ปลูกลงกระถางใช้วิธีการเพาะเมล็ด กระถางละ 15 – 20 เมล็ด (1 กอ = 15 – 20 ต้น)

หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius)

วิธีการ หนอนกระทู้ผักที่ใช้ในการทดลองได้รับความอนุเคราะห์จากงานวิจัยแบคทีเรียและไวรัส กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 กรรมวิธี 5 ซ้ำ เตรียมสารแขวนลอยโคโคนิดีทุกไอโซเลทที่ 1×10^8 โคโคนิดี/มล. เลือกใช้หนอนกระทู้ผักวัย 2 ในการทดสอบ นำหนอนที่เลือกไปจุ่มในสารแขวนลอยโคโคนิดีเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลท ที่เตรียมไว้ ส่วนcontrol ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นเขี่ยใส่กล่องอาหารเทียมทรีตเมนต์ละ 50 ตัว (5 ซ้ำ/ซ้ำละ 10 ตัว) ปิดฝาจานเลี้ยงเชื้อ วางไว้ที่อุณหภูมิห้องสังเกตการเป็นโรคทุก 2 วัน จัดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner)

วิธีการ หนอนกระทู้หอม ที่ใช้ในการทดลองได้รับความอนุเคราะห์จากงานวิจัยแบคทีเรียและไวรัส กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 กรรมวิธี 5 ซ้ำ เตรียมสารแขวนลอยโคโคนิดีทุกไอโซเลทที่ 1×10^8 โคโคนิดี/มล. เลือกใช้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ในการทดสอบ นำหนอนที่เลือกไปจุ่มในสารแขวนลอยโคโคนิดีเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลท ที่เตรียมไว้ ส่วนcontrol ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นเขี่ยใส่กล่องอาหารเทียมทรีตเมนต์ละ 50 ตัว (5 ซ้ำ/ซ้ำละ 10 ตัว) ปิดฝาจานเลี้ยงเชื้อ วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคทุก 2 วัน จัดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

การบันทึกข้อมูล

- : เก็บรวบรวมข้อมูล และจัดบันทึกความผิดปกติทั้งหมดที่เกิดขึ้นระหว่างทำการทดลอง ได้แก่
 - อาการ และการเกิดโรคของแมลงที่ใช้ทดสอบ
 - ระยะเวลาที่ทำให้เกิดโรค
- : วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT

เวลาและสถานที่

- เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2556
- ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
- ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว กรุงเทพฯ

8. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

การคัดเลือกเชื้อราบิวเวอเรีย เริ่มต้นในเดือนตุลาคม 2553 ซึ่งในขณะนั้นได้เก็บตัวอย่างแมลงเป็นโรคในธรรมชาติ จำนวน 12 ตัวอย่าง ได้แก่ เชื้อราจากใบส้มโอ อ.บางขันแตก จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 1 ตัวอย่าง, เชื้อราจากเปลือกแป้งมันสำปะหลัง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา จำนวน 1 ตัวอย่าง, เชื้อราจากหนอนแหะเปลือกลองกอง จ.จันทบุรี จำนวน 1 ตัวอย่าง และเชื้อราจากเปลือกกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวที่ จ.สุพรรณบุรี จำนวน 9 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และส่งจำแนกเชื้อที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดย

การใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล ซึ่งในขณะนั้นสามารถจำแนกเชื้อราแมลงบริสุทธ์ได้ 3 ชนิด โดยยังไม่ได้ระบุสายพันธุ์ คือ *Paecilomyces* sp., *Lecanicillium* sp. และ *Isaria* sp. เนื่องจากยังไม่สามารถหาเชื้อราบิวเวอเรียในธรรมชาติได้ ดังนั้นในปี 2555 จึงได้ขอความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราบิวเวอเรียจากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร (B4) ซึ่งแยกเชื้อได้จากมอดเจาะเมล็ดกาแฟ เพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพกับแมลงศัตรูพืชต่างๆ ได้แก่ หนอนกระทู้ผัก, หนอนกระทู้หอม, เพลี้ยแป้งสีชมพู และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในขณะที่เดียวกันก็ได้ขอความอนุเคราะห์เชื้อราบิวเวอเรียจากกรมส่งเสริมการเกษตร (B2) ซึ่งแยกเชื้อจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล รวมทั้งติดต่อขอซื้อเชื้อราบิวเวอเรียจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติจำนวน 2 ไอโซเลท (BCC22355 และ BCC31578) เพื่อนำเชื้อราจากทั้ง 2 แหล่งมาใช้ในการเปรียบเทียบการทดสอบประสิทธิภาพกับเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพร (B4) ที่ได้รับ งานทดสอบเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพร (B4) เริ่มต้นในเดือนตุลาคม 2554 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ แมลงศัตรูพืชที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ เพลี้ยแป้งสีชมพู เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม, โดยทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราจำนวน 3 ครั้ง ในเวลาที่ต่างกัน เพื่อยืนยันผลการทดลอง ซึ่งแสดงผลการทดสอบดังนี้

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียกับเพลี้ยแป้งสีชมพู

ผลการทดสอบประสิทธิภาพพบว่ามีความแตกต่างจากผลการทดสอบกับหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอม โดยพบว่าเชื้อราบิวเวอเรียทุกไอโซเลทสามารถทำให้เพลี้ยแป้งสีชมพูติดเชื้อได้ตั้งแต่ 60 – 100% จากผลการทดลองครั้งที่ 1 พบว่าไอโซเลท B4, BCC22355 และ BCC31578 ทำให้เพลี้ยแป้งสีชมพูติดเชื้อได้ 96, 97 และ 99% ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ส่วน B2 ทำให้เพลี้ยแป้งสีชมพูติดเชื้อ 60% ผลการทดลองครั้งที่ 2 พบว่าทุกไอโซเลททำให้เพลี้ยแป้งสีชมพูติดเชื้อได้ดีไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยพบว่า ไอโซเลท B2, BCC31578, B4, BCC22355 ทำให้เพลี้ยแป้งสีชมพูติดเชื้อ 92, 98, 99 และ 100% ตามลำดับ และในการทดลองครั้งที่ 3 ยังคงพบว่าทุกไอโซเลททำให้เพลี้ยแป้งสีชมพูติดเชื้อได้ดีไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยพบว่าไอโซเลท B4, BCC22355 และ BCC31578 ทำให้เพลี้ยแป้งสีชมพูติดเชื้อได้ 100% ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ส่วน B2 ทำให้เพลี้ยแป้งสีชมพูติดเชื้อได้ 98% (ตารางที่ 1)

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

พบว่าเชื้อราบิวเวอเรียทุกไอโซเลทที่นำมาใช้ทดสอบมีประสิทธิภาพต่ำในการทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลติดเชื้อ จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อทั้ง 3 ครั้ง พบว่ามีการติดเชื้อราไม่เกิน 25% โดยผลจากการทดลองครั้งที่ 1 พบว่า เชื้อราบิวเวอเรียไอโซเลท B2 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลติดเชื้อ 23.75% ส่วนไอโซเลท BCC22355, BCC31578 และ B4 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลติดเชื้อ 7.5, 10 และ 12.5% ตามลำดับ ผลการทดลองครั้งที่ 2 พบว่าทุกไอโซเลทให้ผลไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยไอโซเลท B2, BCC31578, BCC22355 และ B4 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลติดเชื้อที่ 5, 5, 1.25 และ 3.75% ตามลำดับ และในการทดลองครั้งที่ 3 พบว่า ไอโซเลท BCC31578 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลติดเชื้อ 18.75% ในขณะที่ไอโซเลท B2, B4 และ BCC22355 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลติดเชื้อที่ 2.5, 5 และ 7.5% ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียกับหนอนกระตุ้ม

พบว่าเชื้อราบิวเวอเรียทุกไอโซเลทที่นำมาใช้ทดสอบไม่มีประสิทธิภาพในการทำให้หนอนกระตุ้มติดเชื้อ จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจำนวน 3 ครั้ง พบว่ามีการติดเชื้อราไม่ถึง 5% ในทุกไอโซเลทที่ทำการทดสอบ โดยการทดลองครั้งที่ 1 พบว่า เชื้อราบิวเวอเรียไอโซเลท BCC31578 ของศูนย์พันธุ์วิศวกรรมฯ ทำให้หนอนกระตุ้มติดเชื้อเฉลี่ย 4% ในขณะที่เชื้อราบิวเวอเรียไอโซเลท B4, BCC22355 และ B2 พบทำให้หนอนกระตุ้มติดเชื้อ 2, 1 และ 0% ผลการทดลองครั้งที่ 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราบิวเวอเรียให้ผลไม่แตกต่างจากครั้งแรก โดยพบไอโซเลท B2 ให้หนอนกระตุ้มติดเชื้อ 2% ส่วนไอโซเลทอื่นๆที่เหลือไม่พบการติดเชื้อ และผลการทดลองครั้งที่ 3 ก็ให้ผลไม่แตกต่างจากใน 2 ครั้งแรกคือพบว่า ไอโซเลท BCC31578 มีการติดเชื้อราเพียง 1% และไม่แตกต่างจากเชื้อราบิวเวอเรียไอโซเลทอื่นๆที่เหลือ (ตารางที่ 3)

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียกับหนอนกระตุ้มหอม

พบว่าให้ผลทดสอบใกล้เคียงและเป็นไปในทิศทางเดียวกับการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียกับหนอนกระตุ้ม โดยพบว่าผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อทั้ง 3 ครั้ง มีการติดเชื้อราสูงสุดเพียง 6% ผลการทดลองครั้งที่ 1 พบว่าไอโซเลท B4 ทำให้หนอนกระตุ้มหอมติดเชื้อ 2% ในขณะที่ไอโซเลทอื่นๆที่เหลือไม่พบการติดเชื้อ การทดลองครั้งที่ 2 พบการติดเชื้อที่ 5, 3, 2 และ 0% ของไอโซเลท BCC31578, BCC22355, B4 และ B2 ตามลำดับ และในการทดลองครั้งที่ 3 พบการติดเชื้อที่ 6, 2, 2 และ 0% ของไอโซเลท BCC31578, BCC22355, B4 และ B2 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพร (B4) เปรียบเทียบกับสายพันธุ์กรมส่งเสริมการเกษตร (B2) และสายพันธุ์จากศูนย์พันธุ์วิศวกรรมฯ (BCC22355 และ BCC31578) พบว่าเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลท ให้ผลการทดสอบเป็นไปในทิศทางเดียวกันคือมีประสิทธิภาพดีเมื่อใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งสีชมพู มากกว่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หนอนกระตุ้ม และหนอนกระตุ้มหอม ตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า เชื้อทั้ง 4 ไอโซเลท อาจมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันในลำดับพันธุกรรม ทำให้มีความเฉพาะเจาะจงต่อเหยื่ออาศัยเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ซึ่งในอนาคตน่าจะได้มีการพิสูจน์โดยอาศัยเทคนิคทางชีวโมเลกุล เพื่อความชัดเจนในสายพันธุ์กรรมต่อไป

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียทั้ง 4 ไอโซเลทในห้องปฏิบัติการพบว่า เชื้อราบิวเวอเรียทั้ง 4 ไอโซเลทมีแนวโน้มในการใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งสีชมพู ได้ดีกว่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หนอนกระตุ้ม และหนอนกระตุ้มหอม โดยพบว่าเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพร (B4) ทำให้เพลี้ยแป้งสีชมพูติดเชื้อได้ 96 – 100% ในขณะที่ผลการทดสอบประสิทธิภาพกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลพบการติดเชื้ออยู่ระหว่าง 3.75 – 12.5% และผลการทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนกระตุ้ม และหนอนกระตุ้มหอม สามารถทำให้ติดเชื้อเพียง 2%

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

พัฒนาต่อ

เผยแพร่ วารสารวิชาการเกษตร

/ นำไปขยายผลในพื้นที่

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการจำแนกชนิดของเชื้อราที่แยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์ได้ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล

ขอขอบคุณ นางสาวประภาพร ฉันทานุมัติ นักวิชาการเกษตรชำนาญการ ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราบิวเวอเรีย ซึ่งทำการแยกเชื้อจากมอดเจาะเมล็ดกาแฟพันธุ์อาราบิก้า ต. เทพเสด็จ อ. ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่

ขอขอบคุณ ส่วนบริหารศัตรูพืช กลุ่มงานชีววิธี สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อราบิวเวอเรีย ซึ่งทำการแยกเชื้อจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพื่อใช้เป็นเชื้อเปรียบเทียบในงานวิจัย

ขอขอบคุณ นางสุกัญญา อรัญมิตร นักกีฏวิทยาชำนาญการ สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว ที่ให้ความอนุเคราะห์เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล รวมทั้งสถานที่ในการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

12. เอกสารอ้างอิง

ยุพิน กลินเกษมพงษ์ ประภาพร ฉันทานุมัติ และไพรัตน์ ช่วยเต็ม. 2545. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin ที่มีผลต่อการตายของมอดกาแฟในห้องปฏิบัติการ. ใน การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ปี 2545. รวมงานวิจัย “กาแฟโรบัสต้า” ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร เล่ม 1 หน้า 239 – 244.

ประภาพร ฉันทานุมัติ ทิพยา ไกรทอง และยุพิน กลินเกษมพงษ์. 2556. การพัฒนาการใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin เพื่อป้องกันกำจัดมอดเจาะผลกาแฟในแปลงกาแฟ. ใน รวมงานวิจัย “กาแฟโรบัสต้า” ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร เล่ม 1 หน้า 231 – 237.

Steinhaus, E. A. 1949. Principles of Insect Pathology. McGraw-Hill Book, New York.

Tanada, Y and H.K. Kaya. 1993. Insect pathology. Academic press, Inc. 666 p.

Wright, S.P., M.A. Jackson and S.L. de Kock. 2001. Production, stabilization and formation of fungal biocontrol agents. Pages 253-287. In: T.M. Butt, C. Jackson and N. Magan (eds.). Fungi an biocontrol agents progress, problems and potential. CABI publishing. 390 pp.

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราบิวเวอเรียไอโซเลทต่างๆ กับเพลี้ยแป้งสีชมพู หลังทำการทดสอบ 7 วัน โดยใช้ความเข้มข้นของสารแขวนลอยโคโคเดี่ยเชื้อที่ 1×10^8 โคโคเดี่ย/มล.

ไอโซเลทเชื้อราบิวเวอเรีย	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราบิวเวอเรีย ^{1/} ของเพลี้ยแป้งสีชมพู		
	การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	การทดลองครั้งที่ 3
B2 (DOAE)	60 ^{1/} b	92 a	98 a
B4 (DOA/ชุมพร)	96 a	99 a	100 a
BCC22355 (ศูนย์พันธุวิศวกรรมฯ)	97 a	100 a	100 a
BCC31578 (ศูนย์พันธุวิศวกรรมฯ)	99 a	98 a	100 a
Control	0 c	0 b	0 b
CV	12.4%	7.2%	2.5%

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT (ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว)

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราบิวเวอเรียไอโซเลทต่างๆ กับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หลังทำการทดสอบ 9 วัน โดยใช้ความเข้มข้นของสารแขวนลอยโคโคนิดีที่ 1×10^8 โคโคนิดี/มล.

ไอโซเลทเชื้อราบิวเวอเรีย	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราบิวเวอเรีย ^{1/} ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล		
	การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	การทดลองครั้งที่ 3
B2 (DOAE)	23.75 ^{1/a}	5 a	2.5 bc
B4 (DOA/ชุมพร)	12.5 ab	3.75 a	5 bc
BCC22355 (ศูนย์พันธุวิศวกรรมฯ)	7.5 b	1.25 a	7.5 b
BCC31578 (ศูนย์พันธุวิศวกรรมฯ)	10 ab	5 a	18.75 a
Control	0 b	0 a	0 c
CV	85.6%	145.9%	49.7%

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT (ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว)

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราบิวเวอเรียไอโซเลทต่างๆกับหนอนกระตุ้ผัก หลังทำการทดสอบ 10 วัน โดยใช้ความเข้มข้นของสารแขวนลอยโคโคนิดีเชื้อที่ 1×10^8 โคโคนิดี/มล.

ไอโซเลทเชื้อราบิวเวอเรีย	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราบิวเวอเรีย ^{1/} ของหนอนกระตุ้ผัก ^{2/}		
	การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	การทดลองครั้งที่ 3
B2 (DOAE)	0 ^{1/} b	0 b	0 a
B4 (DOA/ชุมพร)	2 ab	2 a	0 a
BCC22355 (ศูนย์พันธุวิศวกรรมฯ)	1 ab	0 b	0 a
BCC31578 (ศูนย์พันธุวิศวกรรมฯ)	4 a	0 b	1 a
Control	0 b	0 b	0 a
CV	175%	306.2%	500%

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT (ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว)

^{2/} หนอนกระตุ้ผักใช้หนอนวัย 2

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราบิวเวอเรียไอโซเลทต่างๆกับหนอนกระทู้หอม หลังทำการทดสอบ 10 วัน โดยใช้ความเข้มข้นของสารแขวนลอยโคโคนิดีเชื้อที่ 1×10^8 โคโคนิดี/มล.

ไอโซเลทเชื้อราบิวเวอเรีย	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราบิวเวอเรีย ^{1/} ของหนอนกระทู้หอม ^{2/}		
	การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	การทดลองครั้งที่ 3
B2 (DOAE)	0 ^{1/} b	0 a	0 b
B4 (DOA/ชุมพร)	2 a	2 a	2 b
BCC22355 (ศูนย์พันธุวิศวกรรมฯ)	0 b	3 a	2 b
BCC31578 (ศูนย์พันธุวิศวกรรมฯ)	0 b	5 a	6 a
Control	0 b	0 a	0 b
CV	306.2%	226.4%	127.5%

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT (ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว)

^{2/} หนอนกระทู้หอมใช้หนอนวัย 3