รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **ชุดโครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
2. **โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี

   กิจกรรมที่ 2 : การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

   กิจกรรมย่อยที่ 2.3 : การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืช

3. **ชื่อการทดลอง** : ศักยภาพของราสาเหตุโรคแมลงบางชนิดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch)

   : Efficacy test of some Entomopathogenic fungi to control *Aphis craccivora* (Koch)

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

ชื่อหัวหน้าโครงการ	สาทิพย์ มาลี	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ชื่อ หัวหน้าการทดลอง	เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ชื่อผู้ร่วมงาน	เมธาสิทธิ์ คนการ	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. **บทคัดย่อ**

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราโรคแมลงในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) จำนวน 7 ไอโซเลท (M1, M4, M5, M6, M7, M8 และ M9), เชื้อราบิวเวอเรีย สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท B4 และเชื้อรา *Isaria javanica* กับเพลี้ยอ่อนดำ; *Aphis craccivora* (Koch) ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้งในห้องปฏิบัติการ ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2559 – เดือนมีนาคม 2560 โดยปรับกำลังโคนิเดียที่ $1X10^8$ โคนิเดียต่อมล. พบว่า ผลการทดสอบครั้งที่ 1 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 และ M9 มีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนดำเป็นโรคได้ดีที่สุดที่ 95 และ 87.5% ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อราบิวเวอเรีย B4 และ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M1 โดยทำให้เกิดโรคที่ 82.50 และ 81.25% ตามลำดับ ผลการทดสอบครั้งที่ 2 พบว่าเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 และ M9 ยังคงมีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนดำเป็นโรคได้ดีที่สุดที่ 95 และ 81.25% ตามลำดับ รองลงมาคือ M1 และ B4 โดยทำให้เกิดโรคที่ 81.25 และ 77.50% ตามลำดับ ผลการทดสอบครั้งที่ 3 พบว่า เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 และ M9 ยังคงมีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนดำเป็นโรคได้ดีที่สุดที่ 90 และ 80% ตามลำดับ รองลงมาคือ M1 และ B4 โดยทำให้เกิดโรคที่ 88.75 และ 68.75% ตามลำดับ ผลการทดสอบทั้ง 3 ครั้งเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ดังนั้นจึงเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพก่อให้เกิดโรคสูงสุดในห้องปฏิบัติการคือ M8, M9, M1 และ B4 เพื่อใช้ทำการศึกษาต่อในสภาพแปลงปลูกถั่วฝักยาวที่มีการระบาดของเพลี้ยอ่อนดำ

โดยเลือกพื้นที่ทดสอบในแปลงผักอินทรีย์ เขต อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี ทำการทดสอบทั้งหมดจำนวน 6 ครั้ง พบว่าผลการทดสอบเป็นไปในทิศทางเดียวกันคือ เชื้อเมตาไรเซียมสายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนดำติดเชื้อในแปลงปลูกถั่วฝักยาวได้สูงที่สุดทั้ง 6 ครั้ง รองลงมาคือ เชื้อราบิวเวอเรีย สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท B4 และเชื้อเมตาไรเซียมสายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท M1 และเมื่อนำผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราโรคแมลงทั้ง 4 ไอโซเลท ในเวลาที่ต่างกัน 6 ครั้ง มาหาค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยอ่อนดำ; *Aphis craccivora* พบว่า เชื้อเมตาไรเซียมไอโซเลท M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ดีที่สุดที่ 86.771% รองลงมาคือ B4 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อ 70.354% ส่วนไอโซเลท M1 และ M9 ทำให้เพลี้ยอ่อนดำติดเชื้อ 67.188 และ 57.604% ตามลำดับ ดังนั้นจากการศึกษาประสิทธิภาพเชื้อราโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ; *Aphis craccivora* ในครั้งนี้พบว่าเชื้อเมตาไรเซียม สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท M8 และเชื้อราบิวเวอเรีย สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท B4 มีความน่าสนใจในการถ่ายทอดให้เกษตรกรไปปรับใช้ในสภาพไร่ต่อไป

Abstract

The efficacy test of entomopathogenic fungi in laboratory complied of Metahrizium species which belong to department of Agriculture Thailand altogether 7 isolation *Metarhizium sp*. M1, M4, M5, M6, M8 and M9 including Beauveria (DOA species) *Beauveria sp. B4* and also *Isaria javanica* on Aphis craccivora (Koch). Three experiments were conducted in laboratory condition during October2559 - March 2560 within the concentration 1 x 10^{8} colony per ml that results showed in first experiment, the entomopathogenic fugi were able to control *Aphis craccivora* followed the mortality rate of M8 , M9, B4 and M1 as 95% , 87% , 82.50% and 81.25 % respectively . The second experiment showed isolate M8 and M 9 were still effectiveness as the same result from previous experiment 95% and 82 % followed isolates M1 and B4 as 81.25 % and 77.50% respectively. In the third experiment showed the consequence were the same direction of two previous experiments. Therefore, isolates M8, M9 and B4 were selected to continue the experiment to control the outbreak of *Aphis craccivora* in the field which the insect pathogenicity test conducted in organic vegetable orchards in Amphur Saiyok , Kanchanaburi province. Six experiments were carried on the field which the results revealed as the same with previous experiment in laboratories. These isolates M8 was the most effectiveness to control *Aphis craccivora* in the field in 6 experiments, B4 , M1 and M9 respectively, followed the mortality rate in these experiment as 86.771% , 70.354 % , 67.188% and 57.604% respectively. The concluded

of the experiments revealed *Metarhizium* sp.DOA M8 and *Beauveria* sp.DOA B4 have the potential to be applied to farmer practice in the future.

6. คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีการปลูกพืชผักเพื่อการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออกเป็นจำนวนมาก ปัญหาที่มักพบคู่กับการปลูกพืชผักเสมอคือการระบาดของแมลงศัตรูพืช ซึ่งจะมีความแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด ถั่วฝักยาวเป็นพืชตระกูลถั่วนอกจากจะเป็นพืชผักที่มีคุณค่าทางอาหารแล้ว ยังเป็นพืชที่ช่วยบำรุงดิน สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี แต่จะปลูกได้ผลดีในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนพฤศจิกายน สามารถปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศแหล่งปลูกที่สำคัญในเขตภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดราชบุรี นครปฐม สระบุรี ปทุมธานี อ่างทอง นครนายก แหล่งปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ นครราชสีมา หนองคาย อุดรธานี บุรีรัมย์ มหาสารคาม ร้อยเอ็ด แหล่งปลูกในภาคเหนือ ได้แก่ นครสววรค์ เชียงใหม่ ลำปาง แหล่งปลูกในภาคใต้ ได้แก่ นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และตรัง เป็นพืชที่ชอบอากาศค่อนข้างร้อนต้องการแสงแดดตลอดทั้งวัน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการปลูกอยู่ระหว่าง 16 – 24 องศาเซลเซียส สามารถปลูกในดินได้ทุกชนิดแต่ปลูกได้ผลดีในดินร่วนปนทราย ที่มีการระบายน้ำดี สภาพความเป็นกรดด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 5.5 – 6.0 แมลงศัตรูพืชที่มักพบอยู่เสมอคือ เพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch) ซึ่งเข้าทำลายพืชในระยะที่เป็นตัวอ่อนและตัวเต็มวัยโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงที่ใบอ่อน ยอดอ่อน ช่อดอก และฝักอ่อน เพลี้ยอ่อนจะถ่ายมูลที่เป็นของเหลวทำให้ต้นถั่วสังเคราะห์แสงได้น้อย ชะงักการเจริญเติบโต แคระแกรน ช่อดอกร่วง ฝักอ่อนบิดเบี้ยว เมล็ดลีบ ผลผลิตเสียหาย เนื่องจากเป็นพืชที่ผู้บริโภคนิยมบริโภคสด ทำให้มีโอกาสได้รับพิษจากสารฆ่าแมลงที่ปนเปื้อนในขั้นตอนการปลูก เพราะเกษตรกรส่วนใหญ่มักนิยมใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและเห็นผลเร็วแต่มักมีข้อเสียในด้านพิษตกค้างของสารเคมีซึ่งส่งผลต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้รวมทั้งผู้บริโภค ปัจจุบันจึงมีผู้ให้ความสนใจงานด้านการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธีมากขึ้น การนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชเป็นอีกหนึ่งวิธีที่ได้รับความสนใจนอกจากมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของตัวเกษตรกรผู้ใช้รวมทั้งผู้บริโภคแล้ว ยังไม่ทำให้เกิดพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในสภาพแวดล้อม

เชื้อราโรคแมลงถือเป็นเชื้อราที่มีประโยชน์ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร เชื้อราสาเหตุโรคแมลงต่างๆ เหล่านี้ ได้แก่ *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin, *Beauveria bassiana* (Balsamo), *Hirsutella thompsonii* (Fisher), *Paecilomyces* sp., *Lecanicillium lecanii* (Zimmerman) Zare & Gams, *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, *Isaria* sp., *Aschersonia aleyrodis* Webber ฯลฯ เชื้อราเหล่านี้ถือเป็นเชื้อราที่มีประโยชน์ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร เชื้อราบางชนิดมีการศึกษาและผลิตใช้ในเชิงการค้า ได้แก่ *Metarhizium*, *Beauveria*, *Nomeraea*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, เป็นต้น โดยประเทศที่มีการใช้เชื้อราต่าง ๆ เหล่านี้ ได้แก่ อเมริกา, เม็กซิโก, ออสเตรเลีย, โคลัมเบีย เป็นต้น (Wraight *et al*., 2001)

ปัจจุบันห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลงมีเชื้อราโรคแมลงที่เก็บรักษาไว้จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร), เชื้อราบิวเวอเรีย (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) และ *Isaria javanica* โดยแต่ละชนิดได้จากแหล่งที่มาแตกต่างกัน ความสามารถก่อให้เกิดโรคกับแมลงก็แตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ จึงจำเป็นต้องศึกษาศักยภาพของเชื้อราโรคแมลงเหล่านี้เพื่อการนำไปใช้ที่ถูกต้อง งานวิจัยในปีงบประมาณ 2559 – 2560 จะได้ศึกษาศักยภาพของเชื้อราโรคแมลงต่างๆ เหล่านี้ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch) ซึ่งเป็นแมลงศัตรูสำคัญในการปลูกถั่วฝักยาว เพื่อให้ทราบศักยภาพของเชื้อราแต่ละชนิด โดยจะทำการศึกษากับเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) จำนวน 7 ไอโซเลท เชื้อราบิวเวอเรีย จำนวน 1 ไอโซเลท และเชื้อรา *Isaria javanica* และในอนาคตจะได้นำมาใช้ทดสอบกับแมลงศัตรูพืชที่สำคัญตัวอื่นๆ ผลที่ได้รับจะนำมาใช้เผยแพร่ต่อเกษตรกรและผู้สนใจต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ราสาเหตุโรคแมลงต่างๆ ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) ทั้ง 7 ไอโซเลท (M1, M4, M5, M6, M7, M8 และ M9), เชื้อราบิวเวอเรีย สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท B4 และ *Isaria javanica*
2. เพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch)
3. ข้าวโพดบดหยาบ
4. Potato Dextrose Agar (PDA)
5. Potato Dextrose Broth (PDB)
6. เครื่องนับสปอร์ (Hemacytometer)
7. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)
8. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
9. ตู้เขี่ยเชื้อ
10. กล้องจุลทรรศน์
11. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.
12. กระบอกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.
13. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.
14. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
15. กล่องเลี้ยงแมลง
16. กรงเลี้ยงแมลง หรือ มุ้งตาข่าย
17. กระถางปลูกต้นไม้
18. เมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว

- **แบบและวิธีการทดลอง**

1. **การทดสอบและคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงชนิดต่างๆ ที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch) ในห้องปฏิบัติการ (ปี 2559)**

แบบและวิธีการทดลอง: วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 10 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M1 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M4 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M5 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M6 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M7 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 7 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M9 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 8 เชื้อราบิวเวอเรีย ไอโซเลท B4 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 9 *Isaria javanica* ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่10 น้ำเปล่า (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

- เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคแมลงชนิดต่างๆ ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ราเขียวเมตาไรเซียม ทั้ง 7 ไอโซเลท, เชื้อราบิวเวอเรีย และ *Isaria javanica* บนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 °C) เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำถุงราเขียวที่เลี้ยงได้มาเติมน้ำผสม tween 80 (0.5%) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด แล้วปรับกำลังโคนิเดียในแต่ละเชื้อให้เท่ากันที่ 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.

- ปลูกถั่วฝักยาวลงกระถาง สำหรับเป็นพืชอาหารของเพลี้ยอ่อน เก็บเพลี้ยอ่อนดำในธรรมชาติมาปล่อยบนต้นถั่วฝักยาว และเลี้ยงขยายพันธุ์เพลี้ยอ่อนเพื่อการทดสอบ

- เตรียมกล่องพลาสติกขนาด 7 X 10 ซ.ม จำนวน 4 กล่อง/กรรมวิธี (4 ซ้ำ) ตัดฟองน้ำหรือแผ่นโอเอซีสให้เท่าขนาดตัวกล่อง ใส่กล่องแล้ววางแผ่นสำลีบนฟองน้ำหรือแผ่นโอเอซีสใส่น้ำพอให้ฟองน้ำหรือแผ่นโอเอซีสดูดซับน้ำจนอิ่มตัว

- ตัดกิ่งหรือใบของต้นถั่วฝักยาวที่พบเพลี้ยอ่อนมากกว่า 20 ตัว/กิ่งหรือใบ นำสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราเขียวแต่ละไอโซเลทที่เตรียมไว้พ่นให้ทั่ว นำสำลีชุบน้ำหุ้มที่ปลายก้านเพื่อคงความสดของพืชไว้ เก็บใส่กล่องพลาสติกที่เตรียมไว้ 4 กล่อง/กรรมวิธี (4 ซ้ำ) ปิดฝาเพื่อรักษาความชื้น

การบันทึกข้อมูล

- เก็บข้อมูลโดยการตรวจนับจำนวนแมลงที่เป็นโรคทุก 2 วัน นำมาคิดเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเปรียบเทียบในแต่ละกรรมวิธี

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนดำ มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

เวลาและสถานที่ : เริ่มต้น ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2559

ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

2. การทดสอบประสิทธิภาพราสาเหตุโรคแมลงในสภาพกึ่งโรงเรือนทดลอง (ปี 2560)

2.1 การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่คัดเลือกได้จากห้องปฏิบัติการ (ข้อ 1) โดยพิจารณาเทียบจากกรรมวิธีเปรียบเทียบ เลือกไอโซเลทที่ให้เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนที่ดีที่สุด 3-4 กรรมวิธี นำเชื้อที่เลือกมาเลี้ยงขยายบนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 °C) เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำถุงราสาเหตุโรคแมลงที่เลี้ยงได้มาเติมน้ำผสม tween 80 (0.5%) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด แล้วปรับความเข้มข้นโคนิเดียของแต่ละเชื้อให้เท่ากันที่ $1X10^8$ โคนิเดียต่อมล. เพื่อเตรียมทดสอบในเรือนทดลองต่อไป

2.2 วิธีการเตรียมพืชอาศัย

เตรียมดินใส่กระถางเพาะพันธุ์ถั่วฝักยาว ลงกระถาง รดน้ำให้ความชื้น ใส่ปุ๋ยเพื่อเร่งการเจริญเติบโตของต้นถั่วฝักยาว

2.3 วิธีการเตรียมเพลี้ยอ่อนดำ

ทำการระบาดเทียม โดยเก็บเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch) ในธรรมชาติ มาปล่อยบนต้นถั่วฝักยาวที่เลี้ยงขยายไว้ในเรือนทดลอง ทิ้งไว้ให้เพลี้ยอ่อนเพิ่มปริมาณอย่างสม่ำเสมอ มากเพียงพอต่อการทดสอบ

2.4 การทดสอบในสภาพกึ่งโรงเรือนทดลอง

เลือกราสาเหตุโรคแมลงที่คัดเลือกได้จากห้องปฏิบัติการ (ข้อ 1) ในการทดสอบประสิทธิภาพ ดังนี้

แบบและวิธีการทดลอง: วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราบิวเวอเรีย สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท B4

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) ไอโซเลท M1

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) ไอโซเลท M8

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) ไอโซเลท M9

กรรมวิธีที่ 5 น้ำเปล่า (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

ปลูกถั่วฝักยาวลงกระถางจำนวน 40 กระถาง โดยใช้ Treatment ละ 5 ซ้ำ (ซ้ำละ 2 กระถาง) ทำการระบาดเทียม โดยเก็บเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch) ในธรรมชาติ มาปล่อยบนต้นถั่วฝักยาวที่เลี้ยงขยายไว้ในเรือนทดลอง ทิ้งไว้ให้เพลี้ยอ่อนเพิ่มปริมาณอย่างสม่ำเสมอมากเพียงพอต่อการทดสอบ เริ่มพ่นเมื่อพบเพลี้ยอ่อนลงทำลายมากกว่า 20 ตัว/ใบ, กิ่ง พ่นซ้ำทุก 3-4 วันติดต่อกัน 2-3 ครั้ง สังเกตการเป็นโรคโดยสุ่มตัดมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

หมายเหตุ : ใช้เครื่องสูบโยกสะพายหลัง ชนิดวัดแรงดันได้ ในการทดสอบ

การบันทึกข้อมูล

- เก็บข้อมูลโดยการตรวจนับจำนวนแมลงที่เป็นโรคทุก 2 วัน นำมาคิดเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเปรียบเทียบในแต่ละกรรมวิธี

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเพลี้ยอ่อน มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

เวลาและสถานที่ : เริ่มต้น ตุลาคม 2559 สิ้นสุด กันยายน 2560
ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
พื้นที่ทดสอบ ในเขต จ.กาญจนบุรี

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราโรคแมลงในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) จำนวน 7 ไอโซเลท (M1, M4, M5, M6, M7, M8 และ M9), เชื้อราบิวเวอเรีย สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท B4 และเชื้อรา *Isaria javanica* กับเพลี้ยอ่อนดำ; *Aphis craccivora* (Koch) ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้งในห้องปฏิบัติการ ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2559 – เดือนมีนาคม 2560 โดยเชื้อราโรคแมลงทั้งหมดที่ใช้ทดสอบจะปรับกำลังความเข้มข้นของโคนิเดียที่ $1X10^8$ โคนิเดียต่อมล. (ตารางที่ 1)

ผลการทดสอบครั้งที่ 1 พบว่า เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 และ M9 มีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนดำเป็นโรคได้ดีที่สุดที่ 95 และ 87.5% ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อราบิวเวอเรีย B4 และ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M1 โดยทำให้เกิดโรคที่ 82.50 และ 81.25% ตามลำดับ

ผลการทดสอบครั้งที่ 2 พบว่าเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 และ M9 ยังคงมีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนดำเป็นโรคได้ดีที่สุดที่ 95 และ 81.25% ตามลำดับ รองลงมาคือ M1 และ B4 โดยทำให้เกิดโรคที่ 81.25 และ 77.50% ตามลำดับ

ผลการทดสอบครั้งที่ 3 พบว่า เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 และ M9 ยังคงมีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนดำเป็นโรคได้ดีที่สุดที่ 90 และ 80% ตามลำดับ รองลงมาคือ M1 และ B4 โดยทำให้เกิดโรคที่ 88.75 และ 68.75% ตามลำดับ

จากผลการทดสอบทั้ง 3 ครั้ง แสดงให้เห็นว่าเชื้อราโรคแมลงที่นำมาทดสอบมีความเฉพาะเจาะจงต่อเหยื่ออาศัย ความรุนแรงและการก่อให้เกิดโรคแบบเฉพาะเจาะจงเป็นสิ่งที่ถูกควบคุมจากกลุ่มยีนในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต (Boucias, D.G. and Pendland, 1998) ดังนั้นจึงเลือกไอโซเลทที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเหยื่ออาศัยมากที่สุดคือไอโซเลท M8, M9, M1 และ B4 เพื่อใช้ทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป ซึ่งเป็นการทดสอบในสภาพโรงเรือน แต่เนื่องจากไม่สามารถหาโรงเรือนในการทดลองได้ จึงจำเป็นต้องทดสอบในสภาพกึ่งโรงเรือนทดลองแทน โดยเลือกพื้นที่ทดสอบในเขต จ.กาญจนบุรี การทดสอบในสภาพกึ่งโรงเรือนทดลองมีการปรับวิธีการทดลอง โดยจากเดิมจะปลูกถั่วฝักยาวลงกระถางจำนวน 40 กระถาง ใช้กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 2 กระถาง) จากนั้นจะทำการระบาดเทียม โดยเก็บเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch) ในธรรมชาติ มาปล่อยบนต้นถั่วฝักยาวที่เลี้ยงขยายไว้ในเรือนทดลอง รอจนกว่าเพลี้ยอ่อนจะสถาปนาตัวเองได้ จึงจะเริ่มทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราที่เลือกไว้ แต่เนื่องจากทำการทดสอบในช่วงฤดูฝน ช่วงที่เตรียมปลูกพืชเพื่อทดสอบมีฝนตกตลอดจึงไม่สามารถทำการระบาดเทียมได้ ดังนั้นจึงต้องเปลี่ยนวิธีการทดสอบ โดยสำรวจหาสภาพแปลงปลูกถั่วฝักยาวที่มีการระบาดของเพลี้ยอ่อนดำ ซึ่งจากการสำรวจได้พื้นที่ทดสอบเป็นแปลงผักอินทรีย์ที่มีการปลูกถั่วฝักยาวในเขต อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี เมื่อพบการระบาดของเพลี้ยอ่อนดำในธรรมชาติ จึงทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราโดยทำการทดสอบในช่วงเวลาเย็น เตรียมสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราไอโซเลทต่างๆ คือ M1, M8, M9, และ B4 ปรับกำลังความเข้มข้นของโคนิเดียที่ $1X10^8$ โคนิเดียต่อมล. พ่นเพลี้ยอ่อนดำที่พบบนต้นถั่ว ติดป้ายตามแต่ละกรรมวิธี ทิ้งไว้ข้ามคืน รุ่งขึ้นตัดส่วนของพืชที่พ่นเชื้อราลงบนเพลี้ยอ่อนดำ ใส่กล่องพลาสติกใส และเก็บใส่กล่องเก็บความเย็น นำกลับมาเช็คการเป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์และจดบันทึกการติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนทุกวัน การทดสอบในแปลงผักอินทรีย์ในเขต อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี ระหว่างเดือน เมษายน – สิงหาคม 2560 ได้ทำการทดสอบทั้งหมดจำนวน 6 ครั้ง (ตารางที่ 2) ดังนี้

ครั้งที่ 1 ผลการทดสอบพบว่า เชื้อเมตาไรเซียมไอโซเลท M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 96.25% รองลงมาคือ B4 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 72.50% ส่วนไอโซเลท M1 และ M9 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ใกล้เคียงกันที่ 66.25 และ 65% ตามลำดับ

ครั้งที่ 2 ผลการทดสอบพบว่า เชื้อเมตาไรเซียมไอโซเลท M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 79.375% รองลงมาคือ B4 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 74% ส่วนไอโซเลท M1 และ M9 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ใกล้เคียงกันที่ 64.375% และ 56.875% ตามลำดับ

ครั้งที่ 3 ผลการทดสอบพบว่า เชื้อเมตาไรเซียมไอโซเลท M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 86.875% รองลงมาคือ B4 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 71.250 % ส่วนไอโซเลท M1 และ M9 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ใกล้เคียงกันที่ 69.375% และ 61.250 % ตามลำดับ

ครั้งที่ 4 ผลการทดสอบพบว่า เชื้อเมตาไรเซียมไอโซเลท M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 85.625 % รองลงมาคือ M1 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 72.500 % ส่วนไอโซเลท B4 และ M9 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ใกล้เคียงกันที่ 51.875% และ 48.125% ตามลำดับ

ครั้งที่ 5 ผลการทดสอบพบว่า เชื้อเมตาไรเซียมไอโซเลท M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 86.250% รองลงมาคือ M1 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 76.875% ส่วนไอโซเลท B4 และ M9 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ใกล้เคียงกันที่ 73.750% และ 72.500% ตามลำดับ

ครั้งที่ 6 ผลการทดสอบพบว่า เชื้อเมตาไรเซียมไอโซเลท M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 86.250% รองลงมาคือ B4 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 78.750% ส่วนไอโซเลท M1 และ M9 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ใกล้เคียงกันที่ 53.750% และ 41.875% ตามลำดับ

จากการนำผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราโรคแมลงทั้ง 4 ไอโซเลท ในเวลาที่ต่างกัน 6 ครั้ง มาหาค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยอ่อนดำ (*Aphis craccivora*) พบว่า เชื้อเมตาไรเซียมไอโซเลท M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ดีที่สุดที่ 86.771% รองลงมาคือ B4 และ M1 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อ 70.354% และ 67.188 ส่วนไอโซเลท M9 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้น้อยที่สุดที่ 57.604% ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ (*Aphis craccivora*) ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2559 – เดือนมีนาคม 2560 ผลการทดสอบเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยได้คัดเลือกเชื้อราโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ ในห้องปฏิบัติการจำนวน 4 ไอโซเลท คือ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M8, M9 และ M1 เชื้อราบิวเวอเรีย ไอโซเลท B4 และเมื่อนำมาทดสอบต่อในแปลงผักอินทรีย์เขต อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี พบว่า เชื้อเมตาไรเซียมไอโซเลท M8 และ B4 มีความน่าสนใจในการเผยแพร่ต่อเกษตรกร เนื่องจากมีประสิทธิภาพดีทั้งในห้องปฏิบัติการ และในสภาพแปลงปลูก โดยทำให้เพลี้ยอ่อนดำติดเชื้อในแปลงปลูกได้ดีที่ 86.77% และ 70.35% ตามลำดับ ส่วนไอโซเลท M1 และ M9 ยังไม่เหมาะสมในการเผยแพร่ต่อเกษตรกรเพราะถึงแม้จะมีประสิทธิภาพดีในห้องปฏิบัติการ แต่เมื่อทดสอบในแปลงปลูกพบว่ามีประสิทธิภาพต่ำกว่า ซึ่งจะได้ใช้ไอโซเลทที่เหลือเหล่านี้ทดสอบกับแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นๆต่อไป

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ (*Aphis craccivora*) ทั้งในห้องปฏิบัติการและในแปลงผักอินทรีย์ เขต จ.กาญจนบุรี พบว่า เชื้อเมตาไรเซียมสายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท M8 และเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท B4 มีความน่าสนใจในการเผยแพร่ต่อเกษตรกร เนื่องจากมีประสิทธิภาพดีทั้งในห้องปฏิบัติการ และในสภาพแปลงปลูก โดยทำให้เพลี้ยอ่อนดำติดเชื้อในแปลงปลูกได้ดีที่ 86.77% และ 70.35% ตามลำดับ ส่วนไอโซเลทที่เหลือจะใช้ทดสอบประสิทธิภาพการเกิดโรคกับแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นๆต่อไป

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

10.1 เพื่อพัฒนาต่อ

11. คำขอบคุณ

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

12. เอกสารอ้างอิง

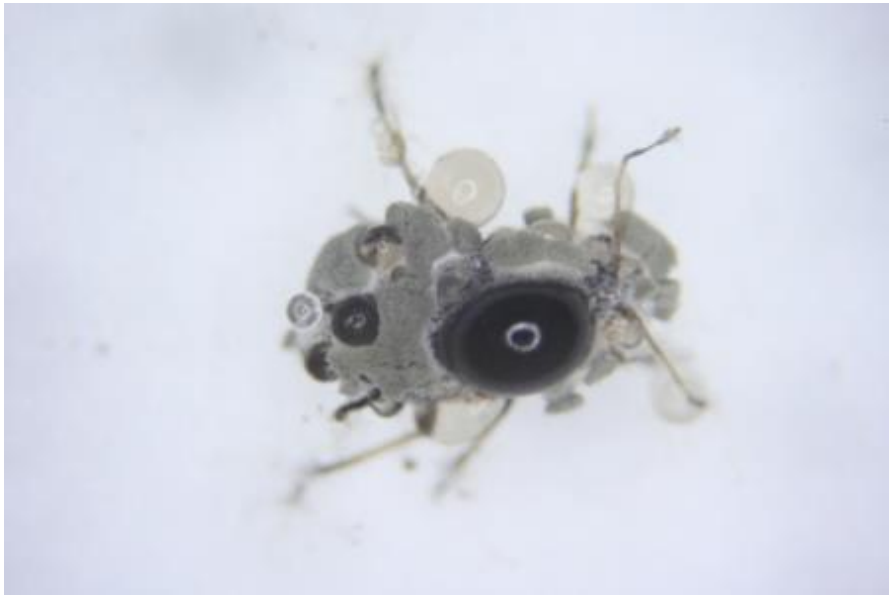
Boucias, D.G. and J.C. Pendland. 1998. Principles of Insect Pathology. Kluwer Academic Publishers. 537 p.

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

เพลี้ยอ่อนดำติดเชื้อเชื้อราบิวเวอเรีย (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) ไอโซเลท B4

เพลี้ยอ่อนดำติดเชื้อเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) ไอโซเลท M1

เพลี้ยอ่อนดำติดเชื้อเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) ไอโซเลท M8



เพลี้ยอ่อนดำติดเชื้อเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) ไอโซเลท M9

Table 1 The average percent mortality of *Aphis craccivora* treated with 9 different of fungus isolates incubated at ambient temperature and observed for 7 days during October 2016 – March 2017.

Insect fungi	Number of *Aphis craccivora*	percent mortality of *Aphis craccivora* [1/] after treated		
		The first experiment	The second experiment	The third experiment
Beauveria sp. (B4)	80	82.50 ab	77.50 a	68.75 bc
Isaria javanica	80	71.25 bc	57.50 b	52.50 cd
Metarhizium sp. (M1)	80	81.25 ab	81.25 a	88.75 a
Metarhizium sp. (M4)	80	66.25 c	36.25 c	30.00 e
Metarhizium sp. (M5)	80	61.25 c	38.75 bc	36.25 de
Metarhizium sp. (M6)	80	65.00 c	31.25 c	38.75 de
Metarhizium sp. (M7)	80	65.00 c	33.75 c	33.75 de
Metarhizium sp. (M8)	80	95.00 a	95.00 a	90.00 a
Metarhizium sp. (M9)	80	87.50 a	81.25 a	80.00 ab
Control (distilled water)	80	0.00 d	0.00 d	0.00 f
CV (%)	-	13.0%	25.3%	24.7%

[1/] Average of 4 replications, 20 adults/ replication

[2/] In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 2 The average percent mortality of *Aphis craccivora* treated with 4 different of fungus isolates after treated in the field and collected to incubated at ambient temperature during April - August 2017.

Insect fungi	No. of *A. craccivora*	percent mortality of *Aphis craccivora* [1/] after treated					
		The 1st experiment	The 2nd experiment	The 3rd experiment	The 4th experiment	The 5th experiment	The 6th experiment
B4	160	72.500	74.000	71.250	51.875	73.750	78.750
M1	160	66.250	64.375	69.375	72.500	76.875	53.750
M8	160	96.250	79.375	86.875	85.625	86.250	86.250
M9	160	65.000	56.875	61.250	48.125	72.500	41.875
Control	160	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
CV (%)	-	27.2%	27.0%	29.0%	32.4%	22.1%	29.9%

[1/] Average of 8 replications, 20 adults/ replication

[2/] In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 3 The average percent mortality of *Aphis craccivora* treated with 4 different of fungus isolates after treated in the field at 6 different time during April - August 2017.

Insect fungi	No. of *A. craccivora*	percent mortality of *Aphis craccivora* [1/] after treated
B4	160	70.354 b
M1	160	67.188 b
M8	160	86.771 a
M9	160	57.604 c
Control	160	0.000 d
CV (%)		13.1%

[1/] Average of 8 replications, 20 adults/ replication

[2/] In column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.