

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

สารพิษปนเปื้อนที่มาจากการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช นอกจากจะเป็นพิษต่อมนุษย์แล้ว ยังมีผลเสียต่อสิ่งมีชีวิตอื่นๆ รวมทั้งสิ่งแวดล้อมด้วย ดังนั้น เพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน กระบวนการผลิตพืชอาหารจึงควรมีวิธีทางเลือก เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีดังกล่าว นั่นคือการทำ การเกษตรที่อาศัยการจัดการทรัพยากรธรรมชาติ และการพัฒนาเทคโนโลยีการ เกษตร กรรมที่ เหมาะสม โดยคงไว้และสามารถนำมาใช้ต่อไปได้ ทั้งในปัจจุบันและอนาคต ไม่ทำลาย สภาพแวดล้อม และไม่ก่อให้เกิดผลเสียทั้งด้านเศรษฐกิจ และคุณภาพชีวิต ของมนุษย์ จากจำนวน พืชเศรษฐกิจที่สำคัญในประเทศ ผักกวางศกะหล่ำเป็นพืชที่มีความสำคัญ และได้รับความนิยมนบริโภค อย่างมากชนิดหนึ่ง ทว่าพืชดังกล่าวเป็นพืชที่ใช้เวลาในการเจริญเติบโตถึงเก็บเกี่ยวผลผลิต สั้น และมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เอื้ออำนวยต่อการทำลายของแมลงศัตรูพืช จึงมีแมลง ศัตรูพืชหลาย ชนิดลงทำลาย (Wongsiri, 1991, p.41) ด้วยเหตุนี้ เกษตรกรจึงมักใช้สารเคมีในการ กำจัดแมลง ศัตรูพืชเป็นประจำ เนื่องจากเห็นว่าได้ผลเร็ว โดยไม่คำนึงถึง หรืออาจไม่ทราบถึง พิษภัยที่จะเกิดขึ้น

ปัจจุบันมีการส่งเสริมให้ปลูกผัก โดยหลีกเลี่ยง การใช้ สารเคมีป้องกันกำจัด แมลง ซึ่งอาจใช้วิธีทางเลือกที่ช่วยลดการใช้สารเคมี ในการ ควบคุมแมลงศัตรูพืช ได้แก่ การใช้สารสกัด ชีวภาพจากพืชชนิดต่าง ๆ เช่นสารสกัดสะเดา หางไหล และน้ำหมักสะระแหน่ การใช้ประโยชน์จาก ศัตรูธรรมชาติที่มีอยู่ในพื้นที่ปลูก เช่นตัวห้ำ ตัวเบียน และเชื้อโรคที่ทำลายแมลง ซึ่งได้แก่ เชื้อ ไวรัส NPV เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Bt.) เชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium* sp. (Shu-Sheng and Guang-Mei, 1996) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เชื้อรา *B. bassiana* และ *Metarhizium* spp. ซึ่งมีรายงานชี้ว่า เป็นเชื้อราซึ่งมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลาย ชนิด เช่น ตัวห้ำตัวเบียน เพลี้ยอ่อน มวนผัก และแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ต่างๆอีก หลายชนิด (Butt et al., 2001, p. 23) โดยเชื้อรา *B.bassiana* สามารถก่อโรค ได้กับทั้งตัวอ่อนและ ตัวเต็มวัยของด้วง แมลง ปากดูดต่าง ๆ รวมทั้งเป็นเชื้อราโรคแมลงที่มีประวัติและวิวัฒนาการอัน ยาวนาน ควบคู่ไปกับการควบคุมแมลงศัตรูพืช (Steinhaus, 1967, p. 1; Tanada and Kaya, 1993, p. 20) ทั้งนี้ มีรายงานเกี่ยวกับประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช หลายชนิด โดยใช้ เชื้อราชนิดนี้ ในปัจจุบันมีการนำมา พัฒนา เป็นสูตรสำเร็จ (formulations) เพื่อใช้ในการควบคุม

แมลงศัตรูพืช ที่เรียกกันว่าเป็น ยาเชื้อ (microbial insecticides) (Copping, 2009 p. 43) หรือรวมไปถึง การนำไป ดัดแปลงทาง พันธุกรรม (genetic modification) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพใน การควบคุมศัตรูพืช (Fang *et al.*, 1994, pp. 3-34) เชื้อรา *Beauveria* spp. ได้รับการ ยอมรับเป็นอย่างดี ในระบบการปลูกพืชปลอดภัยจากสารพิษ (ATTRA, 2007; Vandenberg *et al.*, 1998, pp. 624-630) เนื่องจากไม่มีผลเสียต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราที่นำมาทำเป็นยาเชื้อ และ เชื้อรา *B. bassiana* บางสายพันธุ์ ได้รับการขึ้นทะเบียน เป็นยาเชื้อ เพื่อการค้า (commercial microbial insecticides) เช่น สายพันธุ์ Bb-147-NPP ซึ่งแยกได้ มาจากหนอนเจาะผักข้าวโพด ยุโรป European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hubner) จากเมือง Beauce ประเทศฝรั่งเศส สายพันธุ์ ATCC-74040 ซึ่งแยกได้จาก ตัวงวงเจาะสมอฝ้าย (boll weevil, *Anthonomus grandis* (Boheman) ของกระทรวงเกษตรสหรัฐ (USDA) และ สายพันธุ์ GHA จากประเทศอินเดีย โดย สายพันธุ์เหล่านี้ มีการนำไปใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชสวน ไม้ประดับ พืชผัก และ ไม้ผลบางชนิด (Butt *et al.*, 2001, p. 1; Copping, 2009, p. 43) ในประเทศไทย ได้เริ่มมีการนำยาเชื้อสูตรสำเร็จ นี้ เข้ามาจัดจำหน่ายให้แก่เกษตรกรในบางพื้นที่ เช่น ในจังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรี นครปฐม และ จังหวัดใกล้เคียง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เกษตรกรที่ปลูกผักกวางตุ้งกะหล่ำ แต่อย่างไรก็ตาม การใช้ยาเชื้อ นี้ ยังไม่เป็นที่แพร่หลาย เนื่องจากข้อจำกัดเรื่องราคาที่ยังค่อนข้างสูง ประกอบกับต้องมีการพ่นซ้ำ หลายครั้ง และ ไม่เห็นผลชัด เจนทันที เมื่อเปรียบ เทียบกับ การใช้ สารเคมีทั่ว ๆ ไป อีกทั้ง ยังไม่มี รายงานถึงผลสำเร็จของการใช้ยาเชื้อชนิดนี้ในประเทศ ที่ชัดเจน นอกจากนั้น การใช้เชื้อสูตรสำเร็จ ที่ได้จากสายพันธุ์ของต่างประเทศ น่าจะเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ อาจมีผลต่อประสิทธิภาพของยาเชื้อ เนื่องจากสายพันธุ์ที่กล่าวมาข้างต้น ส่วนมาก ได้มาจากประเทศทาง ทวีปยุโรป ซึ่งมีสภาพ ภูมิอากาศ และสภาพแวดล้อมของระบบเกษตรที่แตกต่าง ไปจากประเทศไทย และ แม้ว่า ใน ประเทศไทยเชื้อรา *Beauveria* spp. เป็นเชื้อ ราที่พบอยู่แล้วในธรรมชาติ แต่ทว่าการแพร่กระจาย ทำลายแมลงศัตรูพืชตามธรรมชาติ ยังไม่เพียงพอ สำหรับ ลดประชากรของแมลงศัตรูพืชในช่วงที่มี การระบาดสูง ทั้งนี้ในปี พ. ศ. 2549 ได้มีรายงานถึงการผลิตเชื้อรา *Beauveria* spp. ที่แยกเชื้อได้ จากท้องถิ่นในจังหวัดสุพรรณบุรี และ เชียงใหม่ ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมแมลงศัตรูที่ สำคัญของพืชผักกวางตุ้งกะหล่ำ เช่น ตัวงมดผัก และ เพลี้ยอ่อนผัก และสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่ม ปริมาณได้ในวัสดุเพาะ ที่สามารถหาได้ในท้องถิ่น เช่น เมล็ดข้าวฟ่างและ ข้าวโพด (รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และ สมภาพ ,แสงยศ 2549, หน้า 375-376; Saengyot and Napompeth, 2008) โดยใน การศึกษาชนิด และการระบาดของแมลงศัตรูของพืชผักกวางตุ้งกะหล่ำที่พบใน จังหวัด สุพรรณบุรี ในปี พ.ศ. 2549 ของคณะผู้วิจัย ได้มีการสำรวจพบเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด ที่ลงทำลายแมลงศัตรูพืชผัก

วงศ์กะหล่ำในพื้นที่ได้แก่ เชื้อรา *B. bassiana*, *Nomuraea rileyi*, *Metarhizium* spp. และ *Hirsutella* sp. แต่พบเปอร์เซ็นต์การทำลายแมลงศัตรูพืช ในระดับที่น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งในการทดลองในห้องปฏิบัติการของงานวิจัยครั้งนี้ พบว่าเชื้อรา *B. bassiana* เป็นเชื้อราที่ให้ผลการควบคุมที่ดี ในการทำลายด้วงหมัดผัก และ เพลี้ยอ่อนผัก ทั้งนี้แมลงทั้งสอง ชนิดนับได้ว่าเป็นแมลงที่ป้องกันกำจัดยาก และมีความสำคัญสูง จึงน่าที่จะมีความเป็นไปได้ในการนำสายพันธุ์เชื้อราที่พบไปศึกษาต่อยอดในการคัดเลือกวิธี ในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ และ ในการ ใช้ประโยชน์ เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในสภาพแปลงเกษตรต่อไปได้ นอกจากนั้น ในการศึกษาครั้งนั้น ยังพบว่าเกษตรกรเริ่มมีการรู้จักและยอมรับ กับเริ่ม มีการใช้แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Bt) ไวรัส Nucleo polyhedrosis virus (NPV) รวมทั้งไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. ในรูปแบบของ ยาเชื้อด้วย

ต่อมา คณะผู้วิจัยได้ดำเนินงานวิจัยเรื่องการประยุกต์ใช้เชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ท้องถิ่น ในการควบคุมศัตรูพืชเพื่อการผลิตผักวงศ์กะหล่ำปลอดภัยจากสารพิษในสภาพควบคุม ในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2551 – 2552 โดยได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน โดยผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติในปีงบประมาณ พ.ศ. 2552 และพบว่า ในจังหวัดสุพรรณบุรี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกผักวงศ์กะหล่ำที่สำคัญจังหวัดหนึ่ง ได้มีการระบาดของแมลงหลายชนิด และแมลงศัตรูพืชที่สำคัญมาก คือ หนอนใยผัก ด้วงหมัดผัก เพลี้ยอ่อน และ หนอนผีเสื้อชนิดต่าง ๆ หลายชนิด จากนั้นผู้ศึกษาได้ รวบรวมสายพันธุ์ของเชื้อรา *B. bassiana* ในจังหวัดสุพรรณบุรี และ เชียงใหม่ ทั้งหมด รวม 424 ไอโซเลท ชี และสามารถคัดเลือกไอโซเลทส์ โดยพบว่า ไอโซเลท ชีหมายเลขที่ Bb126, Bb011, Bb028 และ Bb029 มีประสิทธิภาพในการควบคุม หนอนใยผัก หนอนกระทุ้ผัก ด้วงหมัดผัก และ เพลี้ยอ่อนผัก ทั้งนี้ไอโซเลทส์ Bb126 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด และหลังจากการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณไอโซเลทส์นี้ด้วยวิธีที่เหมาะสมแล้ว จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้ จุลินทรีย์ด้วยวิธีการต่าง ๆ กับ การ พ่นน้ำกลั่น และการใช้ สารเคมี พบว่าการใช้เชื้อจุลินทรีย์ทุกวิธีการให้ผลในการควบคุมแมลง ในเป้าหมายดีกว่าการไม่ใช้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ถึงแม้ว่าไม่สามารถเทียบเท่าได้กับการใช้สารเคมี และ การใช้เชื้อ รา *B. bassiana* ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ให้ผลดีกว่าการใช้เชื้อ ราชนิดนี้แต่เพียงชนิดเดียว ซึ่งในการศึกษาในครั้งนี้ ได้ผลการทดลองเกินกว่าที่กำหนดไว้แต่เดิม ในกรอบการศึกษา ของโครงการในปีดังกล่าว และเพื่อเป็นการ พัฒนาแนวทางการนำเชื้อนี้ไปใช้ได้จริงกับเกษตรกร โดย ให้เป็นทางเลือกใหม่ในการควบคุมแมลงศัตรูของผักวงศ์กะหล่ำ โดยเน้นการลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษ ดังนั้น การวิจัยเรื่องการประยุกต์ใช้เชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ท้องถิ่นที่พบในประเทศไทย ในการ

ควบคุมประชากรแมลงศัตรูผักกาดหัวครั้งนี้ จึงเป็นการต่อยอด ซึ่งทำการทดสอบความรุนแรงและความจำเพาะเจาะจงของเชื้อ ราต่อแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ ในห้องปฏิบัติการ เพิ่มเติม โดยเน้นการทดสอบ เพื่อหาวิธีที่เหมาะสม เพื่อนำเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ไปใช้ต่อในสภาพแปลง ปลูกของเกษตรกร ในอัตราความเข้มข้นที่เหมาะสม นอกจากนั้น ได้ทดสอบเบื้องต้นในการนำเชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือก มาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในระดับเรือนทดลองและแปลงปลูก ซึ่งหากสามารถนำเชื้อเหล่านี้ไปใช้ในระบบเกษตร ดังกล่าวได้อย่างเหมาะสมแล้ว จะเป็นการเพิ่มขีดความสามารถในการควบคุมแมลงศัตรูพืช อีกแนวทางหนึ่งอีกทั้งจะเป็นข้อมูลที่สำคัญ หากมีการนำเชื้อราสายพันธุ์ดังกล่าว ไปขึ้นทะเบียนเป็นยาเชื้อในอนาคตอีกด้วย และพร้อมกันไป จะเป็นการเพิ่มประชากรของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในระบบนิเวศอันจะนำมาซึ่งความยั่งยืนของการควบคุมศัตรูพืชโดยวิธีธรรมชาติต่อไป

วัตถุประสงค์

- 3.1 เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อรา *Beauveria bassiana* ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด และเหมาะสม สำหรับการใช้ควบคุมแมลงศัตรูผักกาดหัวเพิ่มเติม
- 3.2 เพื่อคัดเลือกวิธีการประยุกต์ใช้ที่เหมาะสม สำหรับการใช้ประโยชน์จากเชื้อ รา *B. bassiana* เพื่อควบคุมแมลงศัตรู ผักกาดหัว ในระดับเรือนทดลอง และแปลงปลูก

กรอบแนวคิด และสมมติฐานการวิจัย

ในทุกๆ ปี ในระบบการเกษตรของประเทศไทย มีการใช้สารเคมีที่มีพิษ เช่น สาร กำจัดศัตรูพืช สังกะสี และ ปุ๋ยเคมี ในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเกษตรกร เชื่อว่า วิธีการดังกล่าว สามารถให้ผลตอบแทนในปริมาณมากและรวดเร็ว โดยการใช้สารเคมีทางการเกษตร ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ส่งผลให้สมดุล ของสภาพแวดล้อมสูญเสียไป เกิดปัญหาต่างๆ ตามมาอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ เช่น ดินขาดความอุดมสมบูรณ์ สารเคมีตกค้างสะสมในดิน น้ำ และอากาศและพืชอาหาร โรคและแมลงศัตรูพืชดื้อยา และการระบาดของศัตรูพืช เพิ่มขึ้น ทำให้ต้องเพิ่มปริมาณสารพิษเพื่อการป้องกันกำจัดมากขึ้น นับเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิต ก่อให้เกิดปัญหานี้ขึ้น สุขภาพ และผู้บริโภค รับสารพิษต่างๆ เข้าไปสะสมในร่างกาย เกิดอันตรายต่อสุขภาพ จึงจำเป็นต้องมีการปรับเปลี่ยน วนวิธีการทางการเกษตรให้มีความปลอดภัยและยั่งยืนเพื่อ

ความอยู่รอด และคุณภาพชีวิตที่ดีของประชากรโลกในอนาคต โดยทำการเกษตรที่ดำเนินการโดย การจัดการทรัพยากรธรรมชาติที่เอื้อประโยชน์ต่อการผลิตและการพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อการเกษตร ที่เหมาะสม ไม่ทำลายสภาพแวดล้อมและไม่ก่อให้เกิดผลเสียทั้งด้านเศรษฐกิจและสุขภาพมนุษย์ อีกทั้งทำให้ ผลผลิตพืชให้ได้ผลผลิตเพียงพอ ต่อความต้องการของผู้บริโภคมา ดังเช่น ระบบเกษตร อินทรีย์ และระบบเกษตรทางเลือกต่างๆ ที่มุ่งเน้นการผลิตที่ลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษ เป็นระบบที่ ต้องอาศัยสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์จากธรรมชาติ ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เพื่อ การ ผลิตพืช ปลอดภัยจากสารพิษในปัจจุบันเป็นการผลิตเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค

การพยายามแสวงหาต้นทุนทางธรรมชาติ เช่น สิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ เช่น ศัตรูธรรมชาติ ของแมลงศัตรูพืช มาช่วยเสริมในการ บริหาร จัดการศัตรูพืช สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่การ อนุรักษ์ และการปลดปล่อยเพื่อการเพิ่มปริมาณในธรรมชาติ โดยการดำเนินงานตามความจำเป็น และความเหมาะสม จึงเป็นทางเลือกที่เหมาะสมทางเลือกหนึ่ง ในที่นี้หากสามารถใช้ประโยชน์จาก เชื้อราโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ได้อย่างเหมาะสมแล้ว น่าจะเป็นการ พัฒนาองค์ความรู้ในการจัดการศัตรูพืชในระบบ ตลอดจนการเพิ่มศักยภาพในการผลิตพืชอินทรีย์ ของเกษตรกรไทยได้อีกทางหนึ่ง อีกทั้งได้มีรายงานถึงความสำเร็จในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดย ชีววิธีมาแล้วในหลายระดับ และ เชื้อรา *Beauveria bassiana* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงที่เป็นที่ยอมรับ ว่าสามารถนำมาใช้ได้อย่าง ปลอดภัย ทั้งต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม และมีรายงาน สนับสนุนอย่างต่อเนื่อง ซึ่งกล่าว ถึงศักยภาพในการควบคุมแมลง ศัตรูพืช หลายชนิด ทั้งในและ ต่างประเทศ และ แม้ว่าเชื้อราชนิดนี้จะพบอยู่แล้วในธรรมชาติ แต่มักพบว่าการแพร่ระบาดทำลาย แมลงศัตรูพืชตามธรรมชาติยังไม่เพียงพอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงที่แมลงศัตรูพืชเป้าหมายมีการ ระบาดมาก ดังนั้น จึงมีความจำเป็นในการเพิ่มปริมาณประชากรของเชื้อนี้ รวมทั้ง พัฒนาวิธีการ ประยุกต์ใช้ ให้เกิดใช้ประโยชน์สูงสุด เพื่อเป็นกลไกหนึ่งในการ ผลักดัน ให้มีการ ใช้สิ่งมีชีวิตที่ ปลอดภัยและยั่งยืน ทดแทนการใช้สารเคมี ซึ่งแม้ว่าจะมีการผลิตเชื้อราดังกล่าวออกมาจำหน่ายใน รูปยาเชื้อ แล้วก็ตาม แต่สายพันธุ์ที่มีจำหน่ายเป็นสายพันธุ์จาก ต่างประเทศที่ นำเข้ามา อาจมี ข้อจำกัดเรื่องราคา และสภาพที่อาจไม่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ในประเทศ อีกทั้ง ณ ปัจจุบันยังไม่ มีรายงานที่แน่ชัดของผลกระทบของเชื้อราสายพันธุ์ต่างประเท ศดังกล่าว ในระยะยาว ต่อความ หลากหลายของสายพันธุ์ท้องถิ่น ด้วยเหตุนี้หากในประเทศไทยสามารถผลิตเชื้อรา *Beauveria* sp. สายพันธุ์ท้องถิ่นมาใช้ โดยใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมและราคาถูกลง และมีประสิทธิภาพแล้ว ประกอบ กับมีกรอบวิธีการใช้ที่ เป็นมาตรฐาน และมีงานวิจัยรองรับ น่าจะเป็น ประโยชน์อย่างยิ่งต่อการ บริหารจัดการแมลงศัตรูพืชที่ประหยัดคุ้มค่า เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และ ยั่งยืนได้

ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาวิธีการในการประยุกต์ใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ที่พบในประเทศไทย และมีประสิทธิภาพสูง ในการควบคุมประชากรแมลงศัตรู ผักวงศ์กะหล่ำ โดยหลังจาก การคัดเลือกสายพันธุ์ ของเชื้อ ราดังกล่าว เพิ่มเติมใน จังหวัด เชียงใหม่ จากที่มี การรวบรวมมาก่อน และที่พบในจังหวัดสุพรรณบุรี ในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2549 – 2550 โดยคณะผู้วิจัย ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน โดยผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ใน ปีงบประมาณ พ.ศ. 2550 จากนั้นในปี พ.ศ.2551 - 2552 ได้มีการทดสอบความสามารถในการควบคุมแมลงศัตรูพืชผักวงศ์กะหล่ำที่สำคัญในสภาพควบคุม ภายใต้โครงการวิจัย เรื่อง การศึกษาวิธีการในการประยุกต์ใช้เชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ที่พบในประเทศไทย ในการควบคุมประชากรแมลงศัตรูพืชผักวงศ์กะหล่ำ โดยคณะผู้วิจัยได้ รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ในปีงบประมาณ 2552 ซึ่งจากการ ทดสอบ ความรุนแรง (virulence) และความจำเพาะเจาะจง (specificity) ของเชื้อต่อแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ ในระดับห้องปฏิบัติการ ได้พบ สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูง และเหมาะสมต่อการนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ คือไอโซเลทหมายเลขที่ Bb126 เป็นไอโซเลทที่สามารถควบคุมแมลงศัตรูสำคัญ ของพืชผักวงศ์กะหล่ำซึ่งได้แก่ ได้แก่ หนอนใยผัก *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) หนอนกระทุ้งผัก *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) ตัวหมัดผัก *Phyllotreta sinuata* Stephen (Coleoptera: Chrysomelidae) และ เพลี้ยอ่อนผัก *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) (Homoptera: Aphididae) โดยจากการใช้ตัวชี้วัด คือ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) และ เวลาเฉลี่ยถึงการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (Mean time to death – MTD 50%) ของแมลงศัตรูสำคัญดังกล่าว

ในการคัดเลือก พบว่า จากการพันเชื้อที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ไอโซเลท Bb126 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ดังนั้นการศึกษานี้จึงดำเนินการศึกษาต่อยอดโดย การศึกษาความสามารถในการก่อโรค ของเชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือก ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต กรุงเทพฯ และ ทดสอบในระดับเรือนทดลอง ณ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติภาคเหนือตอนบน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ รวมทั้งแปลงปลูกของเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่ โดยทดสอบหาวิธี ที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ ควบคุมแมลงศัตรูกะหล่ำได้อย่างมีประสิทธิภาพเหมาะสม ที่สุด อีกทั้งจะได้ เป็นข้อมูล ส่วนหนึ่ง ประกอบ หากมีการนำเชื้อราสายพันธุ์ดังกล่าวไปขึ้นทะเบียนเป็นยาเชื้อในอนาคต และ หากสามารถนำเชื้อเหล่านี้

ไปใช้ในระบบเกษตรได้อย่างเหมาะสมแล้ว จะเป็นการเพิ่มขีดความสามารถในการ ควบคุมแมลง ศัตรูพืชอีกทางหนึ่ง

นิยามศัพท์

1. **การควบคุมโดยธรรมชาติ (Natural control)** หมายถึง การควบคุมซึ่งเกิดจากการกระทำร่วมกันของปัจจัยต่างๆ ในสภาพแวดล้อม ทั้งเป็นสิ่งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต เพื่อรักษาระดับประชากร ของสิ่งมีชีวิตที่ถูกควบคุม ให้อยู่ระหว่างขีดจำกัดสูงและขีดจำกัดต่ำ (upper and lower limits) ในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง
2. **การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี (Biological control)** หมายถึง การควบคุมจำนวนพืชหรือสัตว์ โดยปัจจัยที่ทำให้ตายเป็นสิ่งมีชีวิต ได้แก่ศัตรูธรรมชาติ เช่น ตัวห้ำ ตัวเบียน และเชื้อโรค รวมไปถึงการที่ มนุษย์นำศัตรูธรรมชาติมาใช้ในการควบคุมจำนวนของศัตรูพืช หรือวัชพืช ด้วย
3. **ศัตรูธรรมชาติ (Natural enemies)** หมายถึง พืชหรือสัตว์ในธรรมชาติ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายก่อนกำหนด ของสัตว์หรือพืชชนิดอื่น
4. **การควบคุมโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ (Microbial control)** คือ วิธีการควบคุมศัตรูพืชวิธีหนึ่ง ของการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี (Biological control) หมายถึง การควบคุมโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ (pathogens) โดยมนุษย์ ในการควบคุม และรักษาระดับจำนวน หรือปริมาณของสัตว์ (หรือพืช) ในพื้นที่หนึ่ง หรือในประชากร กลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง
5. **ศัตรูพืช (Plant pests)** หมายถึง สิ่งมีชีวิตชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งถ้ามีจำนวนมากจะก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ ต่อพืชผลที่ทำการเพาะปลูก
6. **แมลงศัตรูพืช (Insect pests)** หมายถึง แมลงชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งถ้ามีจำนวนมากจะก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ ต่อพืชผลที่ทำการเพาะปลูก
7. **ยาเชื้อ (Microbial pesticide)** หมายถึง สารกำจัด ศัตรูพืช ที่ผลิตขึ้นมาด้วยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ หรือ สารพิษที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นมา สำหรับใช้ในการควบคุมศัตรูพืช
8. **การกลับมาระบาดอีก (Pest resurgence)** หมายถึง การที่ศัตรูพืชบางชนิดที่ไม่เคยมีการระบาดมาก่อน ระบาด สูงขึ้นจน กลายเป็นศัตรูพืชที่สำคัญ อันเกิดมาจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มี ผลทำลายศัตรูธรรมชาติให้หมดไป จึงส่งผลให้ในพื้นที่นั้น ๆ ไม่มีปัจจัยตามธรรมชาติมาควบคุมศัตรูพืชชนิดนั้น ให้อยู่ในระดับที่ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ
9. **เชื้อราโรคของแมลง (Entomopathogenic fungi)** คือ เชื้อราที่ก่อ ให้เกิดโรคในแมลงชนิดต่างๆ เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง ที่พบได้โดยทั่วไปตามธรรมชาติ ก่อโรคโดยการทำให้ แมลงติดเชื้อ เข้าทำลายอวัยวะต่างๆ ของแมลง และทำให้แมลงตาย ในที่สุด

10. เวลาเฉลี่ยถึงการตาย 50 เปอร์เซนต์ (Mean time to death – MTD₅₀) หมายถึงเวลาเฉลี่ย ที่เชื้อราโรคแมลง หรือ สารเคมีที่ทดสอบ ทำให้แมลงตาย 50 เปอร์เซนต์
11. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) หมายถึง เปอร์เซนต์ หรือ ร้อยละของการตายสะสม ของแมลงเป้าหมาย ในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่งที่กำหนด จากสาเหตุที่กำหนด เช่น จากการได้รับสารพิษ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงสายพันธุ์ของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด และเหมาะสม สำหรับการควบคุมแมลงศัตรูผักกาดในกระถาง
2. ทราบถึงความเป็นไปได้ ในการใช้เชื้อ *B. bassiana* และ *Metarhizium* sp. ร่วมกันในการ ควบคุมแมลงศัตรูผักกาดในกระถางอินทรีย์
3. ทราบถึงวิธีการ ในการใช้เทคโนโลยีอย่างง่ายในการเพิ่มปริมาณเชื้อรา *B. bassiana* และ *Metarhizium* sp. เพื่อนำไปใช้ในกระถาง
4. ทราบถึงวิธีการประยุกต์ใช้ที่เหมาะสม สำหรับการนำประโยชน์จาก เชื้อรา *B. bassiana* เพื่อควบคุมแมลงศัตรูผักกาดในกระถางทดลองและแปลงปลูก
5. ทราบถึงค่าเวลาเฉลี่ย ที่ทำให้แมลงเป้าหมายตาย 50 เปอร์เซนต์ เพื่อเป็นข้อมูลในการ นำ เชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ที่พบในประเทศไทย ไปใช้ในการควบคุมแมลงศัตรู ผักกาด
6. เป็นข้อมูลที่เมื่อเผยแพร่แล้ว จะเป็นการเพิ่มองค์ความรู้เกี่ยวกับการใช้เชื้อราโรคของแมลง ในการบริหารจัดการ แมลงศัตรูพืช ในระบบการปลูก ผักที่เน้นวิถีทางเลือกเพื่อลดการใช้ สารเคมี โดย หน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ ซึ่งได้แก่ หน่วยงานต่าง ๆ ที่ ทำงานเกี่ยวข้องกับการควบคุมศัตรูพืช แล ะ การเกษตรกรรมแบบยั่งยืน ตามแนว เศรษฐกิจพอเพียง เช่น โครงการในพระราชดำ ริช กรมส่งเสริมการเกษตร กรมวิชาการ เกษตร รวมทั้งสถาบันการศึกษา ที่มีการเรียนการสอน และการฝึกอบรมเกี่ยวกับการ ควบคุมศัตรูพืช องค์กรต่าง และกลุ่มเกษตรกร ในโครงการเกษตร ธรรมชาติ และ การผลิต อาหารปลอดภัยจากสารพิษ

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในทางการเกษตรได้มีการใช้สารเคมีที่มีพิษในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมนุษย์เชื่อว่าสามารถให้ผลตอบแทนในปริมาณมากและรวดเร็ว เช่น สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ปุ๋ย คมี้ โดยการใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ส่งผลให้สมดุลสภาพแวดล้อมสูญเสียไป เกิดปัญหาต่างๆ ได้แก่ ดินขาดความอุดมสมบูรณ์ สารเคมีตกค้างสะสมในดิน น้ำและอากาศและพืชอาหาร โรคและแมลงศัตรูพืชดื้อยาและระบาดเพิ่มขึ้น ต้องเพิ่มปริมาณสารพิษเพื่อการป้องกันกำจัดมากขึ้น เป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิต ก่อให้เกิดปัญหานี้ขึ้น สุขภาพ และผู้บริโภคมีการรับสารพิษต่าง ๆ เข้าไปสะสมในร่างกาย เกิดอันตรายต่อชีวิต จึงจำเป็นต้องมีการปรับเปลี่ยนวิธีการทางการเกษตรให้มีความปลอดภัยและยั่งยืนเพื่อความอยู่รอด และคุณภาพชีวิตที่ดีของประชากรโลกในอนาคต (มลิวัลย์ ปันยารชุน, 2539, หน้า 183-197)

พืชผักวงศ์กะหล่ำ ได้แก่ คะน้า กะหล่ำ ผักกาดชนิดต่าง ๆ รวมทั้งผักเมืองหนาว หลากหลายชนิด เช่น บร็อคโคลี่ ผักสลัด และ กะหล่ำหลากสี เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ Crucifereae เป็นที่นิยมรับประทานอย่างกว้างขวาง ทั้งแบบรับประทานสดและที่ปรุงสุกแล้ว แต่เนื่องจากเป็นผักที่มีระยะการเก็บเกี่ยวสั้น คือประมาณ 50-55 วัน ประกอบกับการมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เอื้อต่อการทำลายของแมลงศัตรูพืช จึงเป็นพืชที่มีแมลงศัตรูหลายชนิดเข้าทำลายในทุกระยะการเจริญเติบโต (เมืองทอง ทวนทวี และ สุรรัตน์ ปัญญาโ ตนะ, 2532, หน้า 36) แมลงศัตรูพืชผักวงศ์กะหล่ำที่มีรายงานในประเทศไทย ได้แก่ หนอนกระทู้ดำ black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) หนอนใยผัก diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) ตัวงหมัดผัก leaf eating beetle, *Phyllotreta sinuata* Stephen และ *P. chontanica* Duvivier (Coleoptera: Chrysomelidae) เพลี้ยอ่อนฝ้าย cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) แมลงหี้ยขาวยาสูบ tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) หนอนกะหล่ำ cabbage moth, *Crocicidolomia binotalis* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) มวนผัก leaf sucking bug, *Eurydema pulchra* Westwood (Hemiptera: Pentatomidae) หนอนเจาะยอดกะหล่ำ cabbage webworm, *Hellula undalis* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ cabbage aphid, *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) (Homoptera: Aphididae) เพลี้ยอ่อนยาสูบ tobacco aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) (*Aphis* spp.) หนอนผีเสื้อขาว white

cabbage butterfly, *Pieris* spp. (Lepidoptera: Pieridae) หนอนกะหล่ำปลี common cutworm, *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) หนอนกระทู้หอม beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) หนอนคืบกะหล่ำ cabbage looper, *Trichoplusia ni* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) เพลี้ยอ่อนข้าวโพด ; Corn leaf aphid, *Phopalosiphum maidis* (Fitch) (Homoptera: Aphididae) (พิสุทธิ เอกอำนวย , 2550 , หน้า 142 ; Wongsiri ,1991, p. 41) ดังนั้นเกษตรกรจึงมักใช้สารเคมีในการควบคุมศัตรูพืชในผักเหล่านี้มาก เนื่องจากเห็นผลเร็วและทันต่อเวลาที่ ในมุมมองของเกษตรกรโดยไม่คำนึงถึงพิษภัยที่จะเกิดกับตนเอง ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม ทั้งในระยะสั้นและระยะยาว จึงทำให้พืชผักวงศ์กะหล่ำเป็นพืชผักกลุ่มหนึ่ง ที่มีรายงานการตกค้างของสารพิษ ในระดับสูง เสมอ (วีรยา การพานิช และคณะ , 2548 ; หนังสือพิมพ์ผู้จัดการออนไลน์, 2549) ทั้งนี้สารเคมีสังเคราะห์ กำจัดแมลงศัตรูพืช ที่ถูกนำมาใช้ ในระบบการปลูกพืชผักวงศ์กะหล่ำโดยทั่วไป ได้แก่ สารอะบาเม คติน (abamectin) คลอร์ฟิโนเฟอร์ (chlorfenapyr) สไปโนแซด (spinosad) อินดอกซาคาร์บ (indoxacarb) ฟิโปรนิล (fipronil) โพรไทโอฟอส (prothiofos) โพรฟิโนฟอส (profenofos) เดลตาเมธริน (deltamethrin) ไดฟลูเบนซุรอน (diflubenzuron) และ คาร์โบซัลแฟน (carbosufan) เป็นต้น (กรมวิชาการเกษตร , 2547 , หน้า 103) ทว่าสารเหล่านี้ เป็นสารที่มีพิษต่อคนและสัตว์ ทั้งในระยะสั้นจากการได้รับสารเคมีในอัตราที่สูงเกินไปอันเนื่องมาจากอุบัติเหตุ และการใช้อย่างผิดวิธี และพิษ ในระยะยาว เช่น การมีสารเคมีสะสมในร่างกายจนกลายเป็นสารก่อมะเร็ง อีกทั้งสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงบางชนิด ไม่มีความจำเพาะเจาะจงในการทำลายศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่ง ส่งผลให้สิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งศัตรูธรรมชาติ เช่น แมลงตัวห้ำ แมลงตัวเบียน และเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ถูกทำลาย นำไปสู่การเสียสมดุลธรรมชาติ และมีผลกระทบในระยะยาวจากการเกิดสารพิษตกค้างในอาหารและสภาพแวดล้อม (food and environmental residues) การดื้อยาของศัตรูพืช (pest resistance) และ ทำให้ศัตรูพืชบางชนิดที่ไม่เคยมีภาวะระบาดมาก่อนระบาดกลายเป็นศัตรูพืชที่สำคัญ (pest resurgence) เป็นต้น

เพื่อให้สอดคล้องกับการที่ ในปัจจุบัน ได้มีการรณรงค์เพื่อการผลิตและบริโภคพืชปลอดภัยจากสารพิษ การ บริหารจัดการ ศัตรูพืชในการปลูก ผักวงศ์กะหล่ำ ในระบบที่พยายามหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี จึงมักมีหลักการพิจารณาในการเลือกวิธี การบริหารจัดการที่ค่อนข้างสอดคล้องกับหลักเกษตรอินทรีย์ เป็นต้นว่าการห้ามใช้สารเคมีปราบศัตรูพืชที่เป็นสารพิษสังเคราะห์ แต่หากมีความจำเป็นต้องใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ให้เลือกใช้สารหรือสิ่งมีชีวิตที่มาจากธรรมชาติ เช่น สารสกัดจากพืช เช่น สารสกัดสะเดา หางไหล หนอนตายอยาก ข่า

ตะไคร้ ส ะวะแห่น และจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์บางชนิด เช่น น้ำหมักพืชจากจุลินทรีย์ (Effective microorganisms - EM) (มลิวัลย์ ปันยารชุน และ สุรพล จตุรยานนท์, 2526) และ หลายฝ่ายหันมาให้ความสนใจการใช้ระบบการ บริหาร จัดการศัตรูพืช โดยอาศัยวิธี ที่เรียกว่าการควบคุมโดยชีววิธี (biological control) ซึ่งหมายถึง การควบคุมจำนวนพืชหรือสัตว์ โดยปัจจัยที่ ทำให้ตาย เป็นสิ่งมีชีวิต หรือ ศัตรูธรรมชาติ (natural enemies) ซึ่งได้แก่ ตัวห้ำ (predators) ตัวเบียน (parasite หรือ parasitoid) และ เชื้อโรค (pathogens) (บรรพต ฌ ป้อมเพชร , 2525, หน้า 84) ในส่วนของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาควบคุมศัตรูพืช โดยชีววิธี (biological control microorganisms) ได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganisms) และเชื้อจุลินทรีย์โรคแมลง (entomopathogenic microorganisms หรือ entomopathogens) โดยมีงานวิจัยหลาย ชิ้นที่ กล่าวถึงจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในการควบคุมศัตรูพืช เช่น ใน Erlandson and Goettel (2005) ซึ่งมีรายละเอียดบางส่วนเกี่ยวกับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการควบคุมศัตรูพืช ส่วน Copping (2009, p. 11) ได้ให้รายละเอียดเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อโรคพืชและแมลงศัตรูพืช หลายชนิด โดยบางชนิดได้ถูกพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จ (formulations) เพื่อจำหน่าย เป็นการค้า ใน ตลาดสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช โดยมีการนำมาใช้ประโยชน์ และมีรายงานถึงชนิด จุลินทรีย์ ที่ มีการขึ้น ทะเบียน เป็นสารควบคุมศัตรูพืช ที่เรียกว่า ชีวภัณฑ์ หรือ ยาเชื้อ (Rabbengran *et al.*, 2000, pp. 143-146) การใช้เชื้อโรคแมลงชนิดต่างๆ ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เช่น เชื้อแบคทีเรีย Bt และเชื้อไวรัส NPV เป็นอีกหนึ่งทางเลือกสำหรับการหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีที่เป็นพิษ (สำนักวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ , 2538) ส่วน Muehleisen (2007) ได้ศึกษาการใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ร่วมกับไส้เดือนฝอย *Steinernema feltiae* ในการควบคุมแมลงศัตรูแค รอทในระบบเกษตรอินทรีย์ และกำลังอยู่ในขั้นตอนของการดำเนินงานและวิเคราะห์ผล นอกจากนั้น ได้มีรายงานถึงผลสำเร็จของการใช้เชื้อ *M. anisopliae* ในการควบคุมหนอนของด้วง ดีด (click beetle) ในระบบ การปลูกมันฝรั่งอินทรีย์ (Glogoza, 2001) และยังมี รายงานเกี่ยวกับการสำรวจประชากรของจุลินทรีย์ที่พบในแปลงปลูกผักอินทรีย์ ซึ่งได้แก่ ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *B. bassiana* และ *M. anisopliae* เป็นต้น (Pundt and Smith, 2005; Robert *et al.*, 2007, pp. 84-91; Shu-Sheng *et al.*, 1996)

เชื้อรา *Beauveria* spp. มีหลายชนิด และมีชื่อ เรียกอีกอย่างหนึ่งว่ารามัสคา รีดินขาว (white muscardine) เป็นเชื้อโรคของ แมลงที่มีการกล่าวถึงในยุ คต้นๆ ของประวัติ การศึกษา เกี่ยวกับโรคของแมลง และเป็นเชื้อ ราที่มีความสำคัญทาง บรรพชีวินวิทยา (paleontology) โดยมีการพบในก้อนอำพัน (amber) ซึ่งติดอยู่กับซากมด มีอายุถึง 25 ล้านปี ซึ่งต่อมามีการยืนยันว่า เชื้อ

วาดังกล่าวมี ลักษณะคล้ายกับเชื้อรา *B. bassiana* เป็นเชื้อราในชั้น Deuteromycetes โคนิเดีย (conidia) ของเชื้อมีลักษณะใส รูปร่างกลมถึงรูปไข่ เกิดบนก้านชูไฮสปอร์ (zoospore) ที่มีลักษณะรูปร่างไม่แน่นอน เกิดแบบเดี่ยว ๆ หรืออาจเกิดเป็นกลุ่ม โดยฐานของก้านชู ไฮสปอร์จะมีลักษณะแบนราบ และมีสปอร์ หรือโคนิเดีย เกิดเรียงกันในแนวซิกแซกที่ขยายออก (rachis) เชื้อรา *Beauveria* spp. มีหลากหลายชนิด ซึ่งนอกจาก *B. bassiana* แล้ว ชนิดที่มีรายงานพบเป็นประจำ ได้แก่ *B. brongniartii* (= *tenella*), *B. ralata* และ *B. amorpha* เป็นต้น (Viaud, 1996, pp. 175-183) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *B. bassiana* สามารถเจริญได้ในเนื้อเยื่อพืช (endophytic fungi) เป็นเชื้อราที่ติดเชื้อทางเดินหายใจได้ในสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ หรือสัตว์เลือดเย็นบางชนิด เช่น เต่า และ จิ้งหรีด และบางชนิดก่อโรคกับปลา แต่อย่างไรก็ตาม การที่สัตว์เหล่านี้ จะได้รับอันตรายจากเชื้อรา *Beauveria* spp. นั้นสัตว์จะต้องได้รับเชื้อในปริมาณที่สูงมากและอย่างท่วมท้น แต่แม้กระนั้นก็ตาม เชื้อราชนิดนี้จะไม่ค่อยเจริญเติบโตในสภาพอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงนับว่ามีความปลอดภัยต่อสัตว์เลือดอุ่น รวมทั้งมนุษย์ด้วย (Greg *et al.*, 2005, pp. 1-8)

เชื้อรา *Beauveria* spp. ที่รวบรวม ตัวอย่าง มาจากธรรมชาติ เช่นจากแมลงที่เป็นโรค สามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารเทียม เช่น SMY agar, oatmeal agar และ PDA และสามารถเก็บรักษาได้ในสภาพเย็นจัดถึง - 70 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลานาน ในการแยกเชื้อรา ชนิดนี้จากธรรมชาติ อาจต้องใช้อาหารคัดเลือก (selective media) ที่ผสมสารปฏิชีวนะ เช่นสาร streptomycin, tetracycline, gentamycin และ cycloheximide เพื่อยับยั้งการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรีย ในทางสัณฐานวิทยา *B. bassiana* สามารถแยก ออกจาก *Beauveria* ชนิดอื่นโดย *B. bassiana* จะมีโคนิเดียเป็นรูปกลม ส่วนชนิดอื่นเช่น *B. brongniartii* จะมีโคนิเดียเป็นรูปไข่ นอกจากนี้ยังมีวิธีการอื่นที่ใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อรา *Beauveria* เช่น การศึกษาจาก รรรมของเอ็นไซม์ จากการสกัดโปรตีน การศึกษาทาง วิทยาภูมิคุ้มกัน (immunology) การศึกษาขนาดโครโมโซม และในปัจจุบัน มีการใช้ เทคนิค RAPD (random amplified polymorphic DNA) และ RFLP (restriction fragment length polymorphism) ในการแยกความแตกต่างของชนิดของ *Beauveria* spp. (Brad and Lewis, 2002, pp. 125-132) และมีรายงานถึงความสำเร็จในการใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีมาแล้ว ในหลายระดับ

เชื้อรา *B. bassiana* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง ที่มีเป็นที่ยอมรับแล้วว่ามีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม (Westwood *et al.*, 2005, pp. 1-8) นอกจากนี้ มีรายงานถึงศักยภาพในการควบคุมแมลงหลายชนิด เช่น ตัวง และ แมลงปากดูด และ มีผลงานวิจัยที่แสดงถึงผลสำเร็จในการใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชจำนวนมาก ทั้งในและต่างประเทศอย่างต่อเนื่อง แม้ว่าเชื้อ

ราชชนิดนี้ จะพบอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ แต่จากรายงานต่าง ๆ มักพบว่าการแพร่ระบาด และทำลาย
 แมลงศัตรูพืชตามธรรมชาติยังไม่เพียงพอ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ช่วงที่แมลงศัตรูพืชเป้าหมายมีการ
 ระบาดมาก การเพิ่มปริมาณประชากรของเชื้อรา นี้ และการพัฒนาวิธีการที่จะประยุกต์ใช้ให้เกิด
 ประโยชน์สูงสุด จึงเป็นแนวทางหนึ่ง ที่จะผลักดันให้มีการใช้ สิ่งมีชีวิตที่ปลอดภัย มาทดแทนการใช้
 สารเคมี (Copping, 2009, p.43) รายงานต่าง ๆ ที่กล่าวถึงวิธีการประยุกต์ใช้ประโยชน์ และ
 ประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชเป้าหมายของเชื้อรา *Beauveria* spp. ส่วนใหญ่เป็นก
 ดำเนินการในต่างประเทศ ได้แก่ การทดสอบใช้เชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ต่าง ๆ จำนวน 7 สาย
 พันธุ์ ซึ่งมีสูตรสำเร็จต่าง ๆ กัน ได้แก่ สูตรผสมน้ำมัน สูตรสารแขวนลอยในน้ำ และแบบผง แบ่ง ใน
 การควบคุมหนอนผีเสื้อ *Populus xeuramericana* (Lepidoptera: Noctuidae) ซึ่งเป็นแมลงศัตรู
 ป่าไม้ และพบว่าสูตรผสมน้ำมันให้ผลในการควบคุมได้ดีที่สุด กล่าวคือ จากการพ่นด้วยแบบ
 ปริมาตรต่ำ หรือ ULV (ultra low volume) ที่ความเข้มข้น 1.5×10^{13} และ 2.0×10^{13} สปอร์ต่อเฮกแตร์
 เชื้อราที่ทดสอบสามารถก่อการตายให้แมลงดังกล่าว สูงถึง 95.4 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
 (Jinshui et al., 2007, pp. 218-223) ส่วน Tinzaara et al. (2007, pp. 111-124) ได้พบว่าการใช้
 เชื้อรา *B. bassiana* ร่วมกับฟีโรโมนการรวมกลุ่ม (aggregating pheromone) เพื่อล่อให้แมลงมา
 รวมกลุ่ม และติดเชื้อ เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมตัว งวงเจาะเหड़ा กล้วย banana
 weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae) โดยเชื้อราดังกล่าว
 มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อ ราแต่เพียงอย่างเดียว ทั้งนี้ Ugine et al. (2007, pp. 193-
 219) ได้ศึกษาวิธีการใช้เชื้อรา *B. bassiana* ที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยไฟ ผดอกไม้
Frankliniella occidentalis (Thysanoptera: Thripidae) ในเรือนทดลอง โดยมีการพิจารณา จาก
 ความถี่ของการพ่น อัตราที่ใช้ ปริมาณที่ใช้ และโปรแกรมการพ่น ที่ถูกต้อง ซึ่งผลจากการทดสอบ
 พบว่าการพ่นในอัตรา $1-2 \times 10^{14}$ ที่ปริมาตร 3,740 ลิตรต่อเฮกแตร์ จำนวน 3-4 ครั้ง โดยการพ่นแต่
 ละครั้ง มีระยะเวลาห่างกัน ไม่เกิน 7 วัน มีผลช่วยลดปริมาณประชากรของเพลี้ยไฟให้อยู่ระดับ ต่ำ
 จนอยู่ในระดับที่ควบคุมได้ ส่วนรายงานที่เกี่ยวข้องกับแนวโน้มของการนำเชื้อรา *B. bassiana* มา
 ใช้ประโยชน์ทางการเกษตร Wickramananda(2007, pp. 20-21) รายงานว่า เชื้อรา *Beauveria*
 spp. และเชื้อราโรคของแมลงหลายชนิด สามารถใช้ทดแทนสารเคมีในการควบคุมแมลงดำนาม
 มะพร้าว *Brontispa longissima* (Coleoptera: Hispididae) ได้ ส่วนกระทรวงเกษตรสหรัฐ (USDA)
 มีการแนะนำให้เกษตรกรใช้เชื้อรา *B. bassiana* ในรูปของยาเชื้อ (microbial insecticides) ที่มีชื่อ
 การค้าว่า Microtrol ในการปลูกผักอินทรีย์ โดยระบุว่าสามารถใช้ในการควบคุม เพลี้ยไฟ แมลงหวี
 ขาว เพลี้ยอ่อน ตัวม้วนฝรั่ ง เพลี้ยแป้ง และหนอนใยผัก (ATTRA, 2007; Vandenberg

et al. ,1998, pp. 624-630) และ ในเอกสารเผยแพร่เกี่ยวกับการปลูกผักอินทรีย์ของมหาวิทยาลัยคอร์เนลล์ (Cornell University) ได้แนะนำให้เกษตรกรที่ปลูกพืชอินทรีย์ใช้เชื้อ Bt, NPV และ *B. bassiana* ร่วมกันในการบริหารจัดการศัตรูพืช ในระบบเกษตรอินทรีย์ นอกจาก นี้ ยังมีรายงานพบว่าการทดสอบใช้ Microtrol® ในการปลูกผักอินทรีย์ ทำให้เพลี้ยไฟหอมที่ลงทำลายผักตายถึง 69% เปรียบเทียบกับขณะที่การไม่ใช้เชื้อราชนิดนี้ (control) ไม่พบการตายของแมลงดังกล่าวเลย

เชื้อรา *Beauveria* spp. สายพันธุ์ ที่ได้มีการขึ้นทะเบียนใช้เป็นยาเชื้อเป็นการค้า (commercial microbial insecticides) ได้แก่ สายพันธุ์ Bb-147-NPP ซึ่งแยกได้จากหนอนเจาะผักข้าวโพดยุโรป European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hubner) ใน Beauce ประเทศฝรั่งเศส และ สายพันธุ์ ATCC-74040 ซึ่งแยกได้จาก ตัววงงเจาะสมอฝ้าย boll weevil, *Anthonomus grandis* (Boheman) ซึ่งเป็นของกระทรวงเกษตรสหรัฐฯ (USDA) และ สายพันธุ์ GH4 จากประเทศอินเดีย ซึ่งมีการแนะนำให้ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชสวน ไม้ประดับ พืชผัก และไม้ผลบางชนิด (Copping, 2009, p.43) ในประเทศไทยเริ่มมี การนำยาเชื้อสูตรสำเร็จ เข้ามาจำหน่ายให้แก่เกษตรกรในบางพื้นที่ เช่น ในจังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรี นครปฐม และ จังหวัดใกล้เคียง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เกษตรกรที่ปลูกผักวงศ์กะหล่ำ แต่อย่างไรก็ตามการใช้ยาเชื้อดังกล่าว ยังไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลายนัก

ศมาพร แสงยศ และ คณะ (2549) ได้รายงานการพบเชื้อรา *Beauveria* spp. ก่อโรคให้กับแมลงศัตรูพืชหลายชนิด เช่น เพลี้ยอ่อนผัก และ เพลี้ยจักจั่น ช่อมะม่วง นอกจากนี้ รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และ ศมาพร แสงยศ (2550) ได้ศึกษาชนิด และประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ท้องถิ่น ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชผักวงศ์กะหล่ำ และพบว่าเชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ที่แยกได้จากจังหวัดเชียงใหม่ และ สุพรรณบุรี มีประสิทธิภาพในการทำลายตัวงมหัดผัก และ เพลี้ยอ่อน ผัก ในห้องปฏิบัติการ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานถึงวิธีการใช้ในภาคสนามหรือเรือนทดลอง ถึงแม้ว่าจะมีการทำสูตรสำเร็จเพื่อจำหน่ายในรูปยาเชื้อแล้วก็ตาม อีกทั้ง อุปสรรค ของการใช้เชื้อรา *Beauveria* spp. ในรูปแบบยาเชื้อ คือ ข้อจำกัดเกี่ยวกับราคาของยาเชื้อ ซึ่งจะมีราคาแพง กับการที่ต้องมีการพ่นซ้ำหลายครั้ง และ ไม่เห็นผลชัดเจน ทันที เมื่อ เปรียบ เทียบกับสารเคมีทั่วไป นอกจากนั้น การใช้เชื้อสูตรสำเร็จที่ได้จากสายพันธุ์ของต่างประเทศ น่าจะมีส่วนทำให้การใช้ไม่เกิดประสิทธิภาพสูงสุด เนื่องจากสายพันธุ์ส่วนมากได้มาจากประเทศ แอบยุโรป ซึ่งมีสภาพภูมิอากาศ และสภาพแวดล้อมของระบบเกษตรที่แตกต่างจากประเทศไทย จึงไม่สอดคล้องกับวิถีของการเกษตรไทย ที่ส่วนใหญ่เป็นเกษตรกรรายย่อย มีฐานะยากจน และ ยังใช้เทคโนโลยีในการผลิต แบบเก่าอยู่ นอกไปจากนั้น ถึงแม้ว่าเชื้อราดังกล่าว เป็นเชื้อราที่พบอยู่แล้วในธรรมชาติ แต่ทว่าการ

แพร่กระจาย และทำลายแมลงศัตรูพืชตามธรรมชาติ ยังไม่เพียงพอที่จะลดประชากรของ แมลงศัตรูพืชในช่วงที่มีการระบาดได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการควบคุมแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชผักวงศ์กะหล่ำ เช่น ดั้วหมัดผัก และเพลี้ยอ่อนผัก

เชื้อราชนิดนี้สามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้ ในวัสดุเพาะที่สามารถหาได้ในท้องถิ่นแล้ว เช่น เมล็ดข้าวฟ่างและข้าวโพด (มลิวัลย์ ปันยารชุน และ สุรพล จตุรยานนท์ , 2526; รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และ ศมาพร แสงยศ , 2549; Saengyot and Napompeth, 2008) ทั้งนี้ ในปี 2552 ผู้ศึกษาได้ดำเนินงานวิจัยเรื่องการประยุกต์ใช้เชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ท้องถิ่น ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชเพื่อการผลิตผักวงศ์กะหล่ำที่ปลอดภัยจากสารพิษในสภาพควบคุม ในระยะแรก โดยได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน โดยผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติใน ปีงบประมาณ พ.ศ. 2552 ซึ่งทางคณะผู้วิจัยได้พบว่า ในจังหวัดสุพรรณบุรีซึ่งเป็นแหล่งปลูกพืชผักวงศ์กะหล่ำที่สำคัญจังหวัดหนึ่ง ได้มีการระบาดของแมลงหลายชนิด และแมลงศัตรูที่สำคัญมากคือ ดั้วหมัดผัก *Phyllotreta sinuata* Stephen (Coleoptera: Chrysomelidae) หนอนใยผัก *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) และ หนอนกระทู้ชนิดต่างๆ เช่น *Spodoptera* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) และหลังจากการรวบรวม สายพันธุ์ของเชื้อรา *B. bassiana* ในจังหวัดสุพรรณบุรี และเชียงใหม่ และทำการทดสอบความสามารถในการก่อโรคในแมลงเป้าหมาย ซึ่งจากการใช้ตัวชี้วัดคือ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) และ เวลาเฉลี่ยถึงการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (Mean time to death – MTD₅₀) ของแมลงศัตรูสำคัญของพืชผักวงศ์กะหล่ำ 4 ชนิด ได้แก่ หนอนใยผัก (*P. xylostella*) หนอนกระทู้ผัก (*S. litura*) ดั้วหมัดผัก (*P. sinuata*) และเพลี้ยอ่อนผัก (*L. erysimi*) พบว่าเชื้อรา *Beauveria* sp. ไอโซเลทหมายเลขที่ Bb011, Bb028, Bb029 และ Bb126 เป็นไอโซเลทที่สามารถควบคุมแมลงเป้าหมายได้ทั้งสิ้นนี้ ไอโซเลท Bb126 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด จากการพนเชื้อที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10¹⁰ สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีค่า PCM เป็น 48.4±4.7, 10.86± 2.70, 41.05±4.68 และ 67.00 ± 3.05 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า MTD₅₀ เท่ากับ 6.0±2.60, 6.20±0.44, 8.0±2.44 และ 2.80±0.83 วัน ตามลำดับ นอกจากนี้ทางคณะผู้วิจัยได้ศึกษาเพิ่มเติมโดยการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณไอโซเลท Bb126 ด้วยวิธีที่เหมาะสม และทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้จุลินทรีย์ด้วยวิธีการประยุกต์ใช้แบบต่างๆ กับ การไม่ใช้สาร และ การใช้สารเคมี และ พบว่าการใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย เป็นวิธีการที่เหมาะสมต่อการนำจุลินทรีย์ไปใช้ โดยในระยะเวลา 7 วัน การใช้เชื้อจุลินทรีย์ทุกวิธีการ ให้ผลในการควบคุมแมลงเป้าหมายดีกว่าการไม่ใช้ อย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ แต่ไม่เทียบเท่ากับการใช้สารเคมี และ การใช้เชื้อ *B. bassiana* ร่วมเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น

ให้ผลดีกว่าการใช้เชื้อ ชนิดนี้เพียงอย่างเดียว คือ การใช้เชื้อ *B. bassiana* ร่วมกับ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^7 มีค่า PCM 91.44 ± 7.97 , 50.10 ± 5.28 , 58.58 ± 14.03 และ 84 ± 1.28 เปอร์เซ็นต์ และค่า MTD_{50} เท่ากับ 6.0 ± 0.7 , 7.0 ± 1.0 , 6 ± 0.70 และ 5.20 ± 0.44 วันตามลำดับ ส่วนการใช้เชื้อ *B. bassiana* และ *Metarhizium* sp. ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^7 คือ 89.91 ± 7.48 , 49.26 ± 5.20 , 57.61 ± 13.08 และ 82.6 เปอร์เซ็นต์ กับค่า MTD_{50} คือ 4.80 ± 0.44 , $7.0 \pm 2.3 \pm 1.22$, 4.40 ± 0.54 และ 4.40 ± 0.54 วัน ตามลำดับ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่และระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้เริ่มดำเนินการตั้งแต่ เดือนตุลาคม พ.ศ. 2552 ถึง กันยายน พ.ศ. 2553 รวมระยะเวลา 1 ปี โดยมีสถานที่ทำการวิจัย ได้แก่ โปรแกรมวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต กรุงเทพฯ และ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคเหนือตอนบน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่ และพื้นที่เกษตร กรโน ม. บ้านโป่ง ต. ป่าไผ่ อ. สันทราย จ. เชียงใหม่

3.2 อุปกรณ์เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. ตู้สำหรับเขี่ยเชื้อจุลินทรีย์ (laminar flow)
2. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Tomy autoclave ss-320, Tomy Seiko Co.Ltd., Japan)
3. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope
4. กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope
5. อุปกรณ์พื้นฐานในห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยา
6. วัสดุการเกษตรสำหรับปลูกพืชเพื่อการทดสอบ ทั้งในเรือนทดลอง และสภาพควบคุม
7. เครื่องพ่นสารเคมีกำจัดแมลงในแปลงแบบหัวฉีด
8. อุปกรณ์พื้นฐานในการเก็บตัวอย่างแมลงโรคพืชและเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในภาคสนาม
9. เรือนทดลองที่คลุมด้วยตาข่ายชาราน (Saran wrap) ขนาดกว้าง x ยาว x สูง 4x 5x 4 เมตร
10. สารเคมีและอาหารเทียมที่ใช้ในการทดลอง
 - 10.1 Potato Dextrose Agar (PDA) Hi-Media Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai-400 086, India
 - 10.2 Sabouraud Dextrose Agar (SDA) BIOMARK Laboratory, Pune 411011, India
 - 10.3 Nutrient agar
 - 10.4 Yeast Extract (Scharlau Chemie S.A. Barcelona, Spain, Made in European Union)

- 10.5 Malt extract agar (MEA) (Scharlau Chemie S.A., Barcelona, Spain, Made in European Union)
- 10.6 Beef extract (Becton Dickinson Microbiolog systems Company, Spatks, USA)
- 10.7 Peptone (Hi Media Laboratories Pvt. Ltd. Mumbai-400 086, India)
- 10.8 Casein Acid Hydrolysate (Hi-Media Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, India
- 10.9 Agar (ผงวุ้น)
- 10.10 Malt extract (Fluka biochemika)
- 10.11 Magnesium sulphate, Maso $47H_2O$) (CARLO ERBA REAGENTI, France)
- 10.12 K_2HPO_4 (CARLO ERBA REAGENTI, France)
- 10.13 Glycerol
- 10.14 Dextrose (DIFCO, BECTON DICKINSON, MD, USA)
- 10.15 น้ำมันพืช
- 10.16 สารจับใบ
- 10.17 ปุ๋ยเคมี
- 10.18 สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- 10.19 สูตรสำเร็จของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*
- 10.20 สารเคมีพื้นฐานที่ใช้ในการฆ่าเชื้อในห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยา

3.3 วิธีการวิจัย

3.3.1 การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อรา *Beauveria bassiana* ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของผักกวางตุ้งกะหล่ำ และการประเมินความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของแมลงศัตรูพืชในสภาพควบคุม

หลังจากสำรวจและเก็บตัวอย่างแมลงศัตรูของผักกวางตุ้งกะหล่ำ ที่ถูกทำลายโดยเชื้อรา *B. bassiana* จากพื้นที่ปลูกผักกวางตุ้งกะหล่ำในจังหวัดสุพรรณบุรี และ เชียงใหม่ ในปี พ.ศ. 2552 และทดสอบความสามารถในการก่อโรคเบื้องต้น เพื่อการจำแนกชนิดแล้ว ทำการทดสอบความจำเพาะเจาะจง และประสิทธิภาพการทำลายแมลงของเชื้อรา *B. bassiana* ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของ ผักกวางตุ้งกะหล่ำ เป้าหมาย คือ หนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ตัวมดผัก (*Phyllotreta sinuata*) และ เพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) โดยแมลงที่นำมาทดสอบ เตรียม มาโดย สองวิธีการคือ จากการเก็บตัวอย่าง ในแปลงเกษตรกร โดยคัดเลือกแมลงที่มีสุขภาพสมบูรณ์ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงเบียน และการติดเชื้อ ซึ่งสังเกตได้จากการที่แมลงมีสี และ ขนาดปกติ และ มีการกินอาหารตามธรรมชาติได้อย่างปกติ ซึ่งหากแมลงหรือหนอนของแมลงถูกทำลายโดยแมลงเบียนหรือติดโรค มักพบว่าในระยะหนอนจะมีสีเหลืองซีด และไม่กินอาหาร เป็นต้น และ ตัวอย่างแมลง ทดสอบอีกส่วนหนึ่ง ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยเริ่มจากเพาะต้นคะน้า แล ะ/หรือ ผักกาดกวางตุ้งโดยใช้เมล็ด ในแปลงเพาะในเรือนทดลอง หลังหว่านประมาณ 7 วันเมื่อพบว่ากล้าออก ให้ให้น้ำวันละสองครั้ง และเมื่อกล้าอายุ 25 วัน ทำการถอนแยกย้ายใส่กระถางปลูก ให้น้ำและปุ๋ยตามขบวนการที่เกษตรกรใช้ แต่ไม่มีการใช้สารเคมีเป็นเวลา 10 วัน จากนั้นนำกระถาง ที่มีพืชปลูกที่เตรียมไว้ใส่ในกรงขนาด 100 x 100 x 100 เซนติเมตร ปลอ่ย แมลง เป้าหมายแต่ละชนิด ที่ไม่เป็นโรค ในกรงที่เตรียมไว้ มีการเปลี่ยนอาหารเมื่อแมลงกินอาหารหมด เพื่อให้แมลงมีการขยายพันธุ์จนได้รุ่นลูก (generation) ประมาณ 2-3 รุ่น เพื่อให้แน่ใจว่าเป็นแมลงที่ไม่มีการติดเชื้อ (ปลอดโรค) จากนั้นจึงนำแมลงเหล่านี้มาทดสอบความสามารถในการก่อโรค ความจำเพาะเจาะจง และ การก่อโรคของเชื้อแต่ละไอโซเลตส์ต่อไป

นำตัวอย่างแมลงที่เตรียมไว้แต่ละชนิด มาทดสอบการก่อโรค และความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของแมลง โดยการ พ่นสารละลายสปอร์ของเชื้อที่ ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตรในสารละลายน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว สำหรับการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเชื้อรา *B. bassiana* แต่ละไอโซเลตส์ และ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในสารละลายน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพการก่อโรค กับแมลงเป้าหมาย เปรียบเทียบกับวิธีการที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ (control) โดยพ่นเชื้อบน แมลงศัตรูผักกวางตุ้งกะหล่ำแต่ละชนิด ที่เตรียมไว้ในกล่องเพาะเลี้ยงแมลงขนาด 18.5 x 28 x 10.5 เซนติเมตร จำนวน 50 ตัวต่อกล่อง โดยทำซ้ำวิธีการละ 4 ซ้ำ

หลังจากฟอสפורของเชื้อหรือน้ำ (control) ให้อาหารแมลงเป็นใบคะ น้ำหรือผักกาดกวาดุ้ง ที่ปลูกโดยไม่ใช้สารเคมี และวางกล่องในห้องเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิ ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตอาการป่วยของแมลง และนับจำนวน แมลงที่ตาย ทุก 24 ชั่วโมง และบันทึกการตายของแมลง จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มา หาเปอร์เซ็นต์การตาย และปรับค่าเป็นค่าการตายที่ถูกต้อง (corrected control mortality) กับการตายในตัวเปรียบเทียบ โดยใช้สูตร Abbott's Correction (Abbott, 1925) ดังนี้

เปอร์เซ็นต์ตายของแมลงที่ทดสอบ ที่ถูกต้อง

$$= \frac{\% \text{ การตายของแมลงที่ได้รับเชื้อ} - \% \text{ การตายของแมลงที่ไม่ได้รับเชื้อ}}{\% \text{ การตายของแมลงที่ไม่ได้รับเชื้อ}} \times 100$$

คำนวณเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) และคำนวณค่าเฉลี่ยของเวลาถึงการตาย ร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) จากนั้นหาค่าเฉลี่ย และวิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อหานัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ หากพบว่ามีนัยสำคัญทางสถิติแล้ว จึงทำการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย ตามวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

3.3.2 การทดสอบ วิธีการที่เหมาะสมในการ ใช้เชื้อ *B. bassiana* สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูง ในการควบคุมแมลงศัตรูกะหล่ำในเรือนทดลองปิด

หลังจากพบ *B. bassiana* สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูง สดในการควบคุมแมลงศัตรู ผักกวดกะหล่ำเป้าหมายแล้ว เพาะเลี้ยงขยายปริมาณเชื้อรา *B. bassiana* ด้วยวิธีที่เหมาะสมคือ ใช้เมล็ดข้าวฟ่างเป็นวัสดุเพาะ (จากผลการทดลองในงานวิจัยในปีงบประมาณ 2552) โดยเริ่มจากการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นาน 14 วัน เตรียมวัสดุเพาะโดยนำเมล็ดข้าวฟ่างมาล้างน้ำให้สะอาด 2-3 ครั้ง แช่น้ำนาน 24 ชั่วโมง โดยมีการเปลี่ยนน้ำทุก 3-4 ชั่วโมง นำมาต้มนาน 20 นาที กรองน้ำออก นำเมล็ดมาผึ่งจนหมาด บรรจุในถุงร้อนในปริมาณ 500 กรัม น้ำหนักเปียกต่อถุง นำไปฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พึ่งให้เย็นประมาณ 2-3 ชั่วโมง จากนั้นย้ายขึ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อ *B. bassiana* เจริญอยู่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร วางในเมล็ดข้าวฟ่างที่เตรียมไว้ เพาะเลี้ยงต่อในสภาพอุณหภูมิห้อง (25- 30 องศาเซลเซียส) นานประมาณ 15-20 วัน (ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความชื้น ระหว่างการทดลองแต่ละชุด)

หรือ จนกว่าจะพบว่าเชื้อมีการสร้างสปอร์เป็นผงสีขาว ได้ประมาณ 70-80 เปอร์เซ็นต์ของวัสดุเพาะ จึงนำไปใช้ในการทดสอบต่อไป

ทดสอบวิธีการที่เหมาะสมในการใช้เชื้อรา *B. bassiana* เพื่อควบคุม กับแมลง ศัตรูสำคัญของผักกาดคะหล่ำ 4 ชนิดได้แก่ หนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก ตัวงหมัดผัก และ เพลี้ยอ่อนผัก ในเรือนทดลองแบบปิด โดยจัดการทดลองแบบแฟคทอเรียลในการวางแผนแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial experiment in CRD) ที่ประกอบด้วย 2 ปัจจัยหลัก คือ รูปแบบของสูตรผสมซึ่งได้แก่ การใช้สูตรผสมน้ำมัน สูตรผสมน้ำ และ รูปแบบการใช้เชื้อ *B. bassiana* เพียงอย่างเดียว และ แบบใช้เชื้อ *B. bassiana* ร่วมกับเชื้อโรคแมลงชนิดอื่นซึ่งได้แก่เชื้อ *Bacillus thuringiensis* (Bt). และ *Metarhizium* sp. โดยกำหนดวิธีทดลองดังนี้

1. การใช้เชื้อรา *B. bassiana* แบบผสมน้ำ ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบ หลังจากปล่อยแมลงเป้าหมาย 7 วัน และ พ่นซ้ำทุก 7 วัน
2. การใช้เชื้อรา *B. bassiana* แบบผสมน้ำมัน ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบ หลังจากปล่อยแมลงเป้าหมาย 7 วัน และพ่นซ้ำทุก 7 วัน
3. การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำ *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ผสมน้ำร่วมกับการพ่นเชื้อ Bt. สูตรสำเร็จ ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบ หลังจากปล่อยแมลงเป้าหมาย 7 วัน และ พ่นซ้ำทุก 7 วัน
4. การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำมัน *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ผสมน้ำมันร่วมกับการพ่นเชื้อ Bt. สูตรสำเร็จ ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบ หลังจากปล่อยแมลงเป้าหมาย 7 วัน และ พ่นซ้ำทุก 7 วัน
5. การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำ *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ผสมน้ำร่วมกับการพ่นเชื้อ *Metarhizium* sp. ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบ หลังจากปล่อยแมลงเป้าหมาย 7 วัน และ พ่นซ้ำทุก 7 วัน
6. การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำมัน *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ผสมน้ำมันร่วมกับการพ่นเชื้อ *Metarhizium* sp. ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบ หลังจากปล่อยแมลงเป้าหมาย 7 วัน และ พ่นซ้ำทุก 7 วัน
7. พ่นน้ำเปล่าทางใบ หลังจากปล่อยแมลงเป้าหมาย 7 วัน และ พ่นซ้ำทุก 7 วัน
8. การใช้สารเคมีตามปกติ ตามโปรแกรมที่ใช้กับผักกาดคะหล่ำโดยทั่วไป โดยใช้สารอะบาเมคติน ในอัตรา 20 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร สารอะบาเมคติน ในอัตรา 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร สารไพเพอโฟส อัตรา 30 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร และ ไพเพอโฟส 30 มลต่อน้ำ 20 ลิตร สำหรับ หนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก ตัวงหมัดผัก และ เพลี้ยอ่อนผัก ตามลำดับ

ก่อนเริ่มการทดลอง ปลุกคะน้ำ หรือผักกาดขวางตั้ง ในแปลงเพาะในเรือนทดลอง ที่ครอบด้วยมุ้งสำหรับปลูกผัก โดยอุณหภูมิในโรง เรือนอยู่ประมาณ 25-35 องศาเซลเซียส หว่านเมล็ดและให้น้ำ หลังกล้างอก 25 วัน ถอนแยกให้ต้นพืชมีระยะห่างระหว่างต้น 10 เซนติเมตร จากนั้นนำแมลงศัตรูเป้าหมายที่เตรียมไว้ตามวิธีในข้อ 3.4.1 มาปล่อยในเรือนทดลองในอัตรา 50, 50, 100 และ 300 ตัวต่อแปลง สำหรับหนอนใยผัก หนอนกระทุ้งผัก ดัวงหมัดผัก และ เพลี้ยอ่อนผัก ตามลำดับ มีการให้น้ำและปุ๋ยพืชปลูกตามตารางที่เกษตรกรใช้ จากนั้นในวันที่ 4 หลังการปล่อยแมลง เตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อโรคแมลงที่ทดสอบโดยเตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อโดยนำเชื้อที่เจริญในวัสดุเพาะที่เตรียมไว้มาละลายในตัวทำละลาย (น้ำ หรือน้ำมันพืช) และปรับความเข้มข้นให้ได้ความเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร คนให้เข้ากัน กรองด้วยผ้ามุ้งตาข่าย และเติมสารจับใบ 1 ช้อนชา และพ่นสารตามวิธีการที่กำหนดไว้ในแผนการทดลองข้างต้น หลังจากพ่นสปอร์ของเชื้อที่ทดสอบครั้งแรก เก็บและบันทึกข้อมูลโดยนับจำนวนแมลงที่ตายทุก 24 ชั่วโมง หาเปอร์เซ็นต์การตายและปรับค่า (corrected control mortality) กับการตายในตัวเปรียบเทียบ โดยใช้สูตร Abbott's Correction คำนวณเปอร์เซ็นต์การตายสะสม PCM และค่าเฉลี่ยของเวลาถึงการตาย MTD_{50} และ วิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อหานัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อพบว่ามีความสำคัญทางสถิติแล้ว ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย ตามวิธี DMRT

3.3.3 การทดสอบ วิธีการใช้เชื้อ รา *B. bassiana* สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูง สุดในสภาพแปลงทดลอง

หลังการทดสอบในเรือนทดลองแบบปิดแล้ว ทำการทดลองแบบแฟคทอเรียลในการวางแผนแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial experiment in CRD) ที่ประกอบด้วย 2 ปัจจัยหลัก ได้แก่ รูปแบบของสูตรผสม ซึ่งได้แก่การใช้สูตรผสมน้ำมัน สูตรผสมน้ำ และรูปแบบการใช้เชื้อ *B. bassiana* เพียงอย่างเดียว และ แบบใช้ เชื้อ *B. bassiana* ร่วมกับเชื้อโรคแมลงชนิดอื่นซึ่งได้แก่เชื้อ *Bacillus thuringiensis* (Bt). และ *Metarhizium* sp. โดยกำหนดวิธีทดลอง ซึ่งมีการทำซ้ำวิธีทดลองละ 4 ซ้ำดังนี้

- การใช้เชื้อรา *B. bassiana* แบบผสมน้ำ ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้างอก (Tr1)
- การใช้เชื้อรา *B. bassiana* แบบผสมน้ำมัน ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้างอก (Tr2)

- การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำ *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตรผสมน้ำ ร่วมกับการพ่นเชื้อ Bt. สูตรสำเร็จที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก(Tr3)
- การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำมัน *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตรผสมน้ำ ร่วมกับการพ่นเชื้อ Bt. สูตรสำเร็จ ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบ ทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr4)
- การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำ *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตรผสมน้ำ ร่วมกับการพ่นเชื้อ *Metarhizium* sp. ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr5)
- การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำมัน *B. bassiana* ที่ระดับ ความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตรผสมน้ำ ร่วมกับการพ่นเชื้อ *Metarhizium* sp. ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr6)
- พ่นน้ำเปล่า พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr8)
- การใช้สารเคมีตามปกติ ตามโปรแกรมที่ใช้กับพืชผักวงก ละห้ล่าโดยทั่วไป โดยใช้สารอะบาเมคติน ในอัตรา 20 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร สารอะบาเม คติน ในอัตรา 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร สารไพเพรีโนฟอส อัตรา 30 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร และ ไพโรไทโอ ฟอส 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร สำหรับหนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก ดั้วหมัดผัก และ เพลี้ยอ่อนผัก ตามลำดับ (Tr7)

หลังการเตรียมแปลงปลูก ผักวงศ์กะหล่ำ ขนาด 80 x 125 เซนติเมตร และมีการจัดเรียงแปลงทดลองโดยการสุ่มจับสลาก ดัง ภาพที่ 1. เพาะกล้าโดยการหว่านเมล็ด ประมาณ 7 วัน เริ่มใช้ยาเชื้อตามวิธีทดลองที่กำหนด โดยเตรียมเชื้อจากการ ขยายปริมาณเชื้อรา *B. bassiana* ตามวิธีในข้อ 3.2 และนำมาเตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อโรคแมลงที่ทดสอบ เตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อโดยนำเชื้อที่เจริญในวัสดุเพาะที่เตรียมไว้ มาละลายใน ตัวทำละลาย (น้ำ หรือน้ำมันพืช) และปรับความเข้มข้นให้ได้ความเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร คนให้เข้ากัน กรอง ด้วยผ้ามุ้ง และเติมสารจับใบ 1 ช้อนชา และพ่นสารตามวิธีการที่กำหนดไว้ในแผนการทดลองข้างต้น เมื่อต้นกล้าออกและมีอายุประมาณ 25 วัน ทำการถอนแยก ให้มีระยะห่างระหว่างต้น ประมาณ 10 เซนติเมตร มีการให้น้ำ วันละสองครั้ง และให้ปุ๋ยตามตารางปกติที่เกษตรกรใช้ ตรวจดูการลงทำลาย และนับจำนวนแมลงศัตรูพืชเป้าหมายได้แก่ หนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก ดั้วหมัดผัก และ เพลี้ยอ่อนผัก ทุกระยะ 7 วัน จนต้นผักเข้าสู่ระยะเก็บเกี่ยวคืออายุประมาณ 50 วัน หาเปอร์เซ็นต์

การตาย และนำข้อมูลการตายของแมลงมาปรับค่า (corrected control mortality) กับการตายในตัวเปรียบเทียบ โดยใช้ สูตร Abbott's Correction คำนวณเปอร์เซ็นต์การตายสะสม PCM และ คำนวณค่าเฉลี่ยของเวลาถึงการตาย MTD_{50} นำผลที่ได้ไป วิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อหานัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพบว่ามีความสำคัญทางสถิติแล้ว จึงทำการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย ตามวิธี DMRT ในวันที่พืชมีอายุครบระยะเก็บเกี่ยว เก็บเกี่ยวผลผลิต และประเมินระดับการถูกทำลายของผลผลิต และชั่งน้ำหนักของผลผลิต ที่ได้ มาจากแต่ละวิธีการ บันทึกข้อมูล นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อหานัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจึงทำการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย ตามวิธี DMRT

Blank								
Blank	T1R1	Blank	T2R1	Blank	T3R1	Blank	T4R1	Blank
	Blank		Blank		Blank		Blank	
	T5R2		T6R2		T8R2		T7R2	
	Blank		Blank		Blank		Blank	
	T7R3		T2R4		T4R3		T8R3	
	Blank		Blank		Blank		Blank	
	T1R2		T2R2		T3R2		T4R2	
	Blank		Blank		Blank		Blank	
	T1R3		T5R3		T3R3		T2R3	
	Blank		Blank		Blank		Blank	
	T1R4		T3R4		T6R3		T4R4	
	Blank		Blank		Blank		Blank	
	T5R1		T6R1		T7R1		T8R1	
	Blank							
Blank	T5R4	Blank	T7R4	Blank	T8R4	Blank	T6R4	Blank
Blank								

ภาพที่ 1. การจัดเรียงแปลงทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในการทดลองที่ 3.4.3

3.3.4 เผยแพร่ความรู้ ความเข้าใจ เกี่ยวกับการควบคุมแมลงศัตรูผักวงศ์กะหล่ำโดยใช้เชื้อ *B. bassiana*

เผยแพร่ความรู้ ความเข้าใจ เกี่ยวกับการควบคุมแมลงศัตรู ผักวงศ์กะหล่ำโดยใช้เชื้อ *B. bassiana* ให้เกษตรกร นักเรียน นิสิต นักศึกษา และ หน่วยงานต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องในด้านการควบคุมแมลงศัตรูพืช รวมทั้งศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยีทางการเกษตรระดับท้องถิ่นโดยผ่าน ทางเอกสารแนะนำ รายการวิทยุ โทรทัศน์ และระบบออนไลน์ รวมทั้ง การสาธิต และการฝึกอบรม ของหน่วยงานเกี่ยวข้องในด้านการควบคุมแมลงศัตรูพืช รวมทั้งศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยีทางการเกษตรระดับท้องถิ่น โดยการจัดทำรายงานการวิจัยในรูปแบบโปสเตอร์ เสนอผลงานในการประชุมวิชาการ ทางระบบออนไลน์ และ ในการให้ข้อมูลแก่หน่วยงานที่สนใจเพื่อนำไปปฏิบัติ และเผยแพร่ต่อไป

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อ *Beauveria bassiana* ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการ ควบคุม แมลงศัตรูพืชที่สำคัญของ ผักวงศ์กะหล่ำ และการ ประเมินความจำเพาะเจาะจงต่อ ชนิดของแมลงศัตรูพืชในสภาพควบคุม

จากรายงานที่เกี่ยวข้อง แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Beauveria* spp. เป็นเชื้อราที่สามารถ ทำลายแมลงได้หลายชนิด แต่อย่างไรก็ตามจากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *B. bassiana* กับแมลง ศัตรูกะหล่ำ เป้าหมาย 4 ชนิดได้แก่ หนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ตัวงหมัดผัก (*Phyllotreta sinuata*) และเพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) พบว่าจาก สายพันธุ์ เชื้อ *B. bassiana* ที่รวบรวมได้ในปี พ .ศ. 2552 และ เพิ่มเติมในปี 2553 ทั้งหมด 541 ไอโซเลตส์ โดยแยกได้จาก เพลี้ยอ่อนผัก false cabbage aphid, *Lipaphis erysimi* (Homoptera: Aphididae) จำนวน 392 ไอโซเลตส์ จากตัวงหมัดผัก *Phyllotreta sinuata* (Coleoptera: Chrysomelidae) จำนวน 75 ไอโซเลตส์ จากหนอนกระทู้ผัก common cutworm, *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) จำนวน 43 ไอโซเลตส์ และหนอน กะหล่ำเล็ก small cabbage white, *Pieris rapae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae) จำนวน 21 ไอโซ เลตส์ และจาก หนอนคืบกะหล่ำ cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) จำนวน 10 ไอโซเลตส์ หลังการทดสอบความจำเพาะเจาะจงโดยการปลูกเชื้อบริสุทธิ์ ที่แยกได้กับแมลงชนิดที่แยกได้ จากเพลี้ยอ่อนที่ระดับความเข้มข้น 10^8 - 10^{10} ผลปรากฏว่าเชื้อ ราที่ แยกได้จากเพลี้ยอ่อนผัก ก่อโรคได้ดีกับเพลี้ยอ่อนผักเท่านั้น แต่ไม่ก่อโรคแมลงศัตรูสำคัญของ พืชผักวงศ์กะหล่ำชนิดอื่นที่เป็นแมลงเป้าหมาย คือ ตัวงหมัดผัก หนอนกระทู้ผัก และ หนอนใยผัก และ มีเพียง 4 ไอโซเลตส์ หรือ 0.94 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ที่มีฤทธิ์กว้าง หรือ มีความรุนแรงพอในการ ก่อโรคได้กับแมลงทั้งสี่ชนิด ที่กล่าว ได้แก่ ไอโซเลตส์เลขที่ Bb011 ซึ่งแยกได้จากหนอนคืบกะหล่ำ ส่วนไอโซเลตส์หมายเลขที่ Bb028, Bb029 และ Bb126 ซึ่งแยกได้จากตัวงหมัดผัก (ตารางที่ 1.)

ทั้งนี้ ในการใช้เชื้อราโรคแมลงใน การควบคุมประชากรแมลงในพืชผัก ที่มีแมลงศัตรู หลายชนิด เชื้อราที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ ควรมีความสามารถในการก่อโรคกับแมลงศัตรูได้ หลากหลายชนิด เมื่อพ่นใช้ในคราวเดียวกัน ผลจากการ เปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตาย สะสม (Percent cumulative mortality - PCM) และ เวลาเฉลี่ยถึงการตาย ร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD_{50}) ของแมลงศัตรูผักวงศ์กะหล่ำ 4 ชนิดดังกล่าว ที่ได้รับเชื้อที่ค วามเข้มข้นสปอร์ 10^8 เปรียบเทียบกับการไม่พ่น เชื้อ (control) พบว่าเชื้อรา *B. Bassiana* สายพันธุ์ Bb126 มี ประสิทธิภาพสูงที่สุด ในการควบคุมหนอนใยผัก ตัวงหมัดผัก และ เพลี้ยอ่อนผัก โดยมีค่า PCM

เป็น 44.32 ± 5.1 , 15.96 ± 4.80 และ 67.00 ± 3.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน สายพันธุ์ ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ในการควบคุมหนอนกระทุ้ง คือสายพันธุ์ Bb011 แต่อย่างไรก็ตาม ค่า PCM คือ 43.40 ± 9.9 และค่า PCM ของสายพันธุ์ Bb126, Bb028 และ Bb029 และไม่มี ความแตกต่าง คือมีค่าเป็น 31.99 ± 7.8 , 32.95 ± 7.2 และ 32.98 ± 8.1 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักโดย *B. bassiana* พบว่าทั้งสี่เชื้อเลทส์สามารถควบคุมแมลง ได้ในระดับหนึ่ง เมื่อเทียบกับ การไม่ใช้เชื้อรา โดยสายพันธุ์ Bb 126 ควบคุมได้ดีที่สุด รอง ลงมาคือ Bb028 ตามด้วย Bb011 และ Bb029 ซึ่งมีค่า PCM ของเวลา 7 วันอยู่ที่ 44.32 ± 5.1 , 39.17 ± 3.3 , 30.51 ± 3.1 และ 30.29 ± 3.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2.) โดยมี ค่า MTD_{50} 4.4 ± 0.5 , 5.0 ± 0.71 , 8.0 ± 0.71 และ 9.2 ± 1.30 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 3. ภาพที่ 2.) ส่วนผลการทดสอบกับหนอนกระทุ้ง ได้ค่า PCM ของการใช้เชื้อรา Bb011 ที่ 43.40 ± 9.9 ทั้งนี้ค่า MTD_{50} เป็น 4.4 ± 0.55 , 5.0 ± 0.71 , 8.0 ± 0.71 และ 9.2 ± 1.30 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 3. ภาพที่ 3.) ในการควบคุมหนอนกระทุ้ง Bb011 ให้ผลดีในการควบคุมแมลงนี้ที่สุด โดยมีค่า PCM คือ 43.40 ± 9.9 ส่วน Bb126, Bb028 และ Bb029 ไม่มีความแตกต่างโดยมีค่าอยู่ที่ 31.99 ± 7.8 , 32.95 ± 7.2 และ 32.98 ± 8.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้ค่า MTD_{50} ของทั้งหมดไม่มีความแตกต่างโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.80 ± 0.83 , 6.90 ± 0.44 , 6.40 ± 1.14 และ 6.40 ± 1.14 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 3) สำหรับด้วงหมัดผักพบว่าค่า PCM ของเชื้อไอโซเลทส์ Bb126 มีความแตกต่างกับการพ่นน้ำกลั่น คือมีค่าเท่ากับ 15 ± 4.8 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Bb011, Bb028 และ Bb29 มีค่าPCM ต่ำ และไม่แตกต่างจากการใช้น้ำกลั่นซึ่งเฉลี่ยเท่ากับ 1.0 ± 9.6 , 1.0 ± 31 , $1.85.0 \pm 3.1$ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2.) ค่า MTD_{50} ของทั้งหมดไม่มีความแตกต่างโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18 ± 1.0 , 16.4 ± 0.55 , 18.2 ± 1.10 และ 16.8 ± 0.45 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 3. ภาพที่ 4.) เชื้อรา *B. bassiana* แต่ละสายพันธุ์มี ประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนผัก ได้ดีอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับการใช้น้ำกลั่น สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการทำลายเพลี้ยอ่อนผัก คือ Bb126, Bb011, Bb029 และ Bb028 ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 67.27 ± 0.6 , 43.29 ± 3.05 , 50.29 ± 1.9 , 32.13 ± 2.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) และ ค่า MTD_{50} 3.2 ± 0.44 , 3.2 ± 0.45 , 7.2 ± 0.45 และ 5.2 ± 1.48 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 3. ภาพที่ 5.)

ตารางที่ 1. ผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงศัตรู ผักวงศ์กะหล่ำของเชื้อรา
Beauveria bassiana จำนวน 424 ไอโซเลตส์ในสภาพควบคุม

แมลงศัตรูที่พบติดเชื้อ	การก่อโรค กับแมลงตัว อาศัย	จำนวน ไอโซเลตส์ที่ ทดสอบ	การก่อโรคกับแมลง เป้าหมาย			
			1	2	3	4
หนอนกะหล่ำฝัก (common cutworm) <i>Spodoptera litura</i> (F.), Noctuidae	+	43	-	-	-	-
หนอนคืบกะหล่ำ (cabbage looper) <i>Trichoplusia ni</i> (Hubner), Noctuidae	+	9	-	-	-	-
“..”	+	1	+	+	+	+
หนอนกะหล่ำเล็ก (small cabbage white) <i>Pieris rapae</i> (L.): Pieridae	+	21	-	-	-	-
ด้วงหมัดผัก (striped flea beetle) <i>Phyllotreta sinuata</i> Stephen, Chrysomelidae	+	75	-	-	-	-
“”	+	3	+	+	+	+
เพลี้ยอ่อนผัก (false cabbage aphid) <i>Lipaphis erysimi</i> (Kaltenbach), Aphididae	+	392	-	-	-	-

หมายเหตุ

- หมายเลข 1 หมายถึง หนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) หมายเลข 2 หมายถึง หนอน
กะหล่ำฝัก *Spodoptera litura* หมายเลข 3 หมายถึง ด้วงหมัดผัก *Phyllotreta sinuata* และ
หมายเลข 4 หมายถึง เพลี้ยอ่อนผัก *Lipaphis erysimi*
- เครื่องหมาย (+) หมายถึงเชื้อราสามารถก่อโรคกับแมลงที่ทดสอบ ที่ความเข้มข้นสปอร์
10⁸ และ เครื่องหมาย (-) หมายถึงเชื้อราไม่ก่อโรคกับแมลงที่ทดสอบ

ตารางที่ 2. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) ในเวลา 7 วัน จากการพ่นเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ต่างๆ เปรียบเทียบกับการไม่พ่น (control) ของแมลงศัตรูสำคัญของ ผักวงศ์กะหล่ำที่ความเข้มข้น 1.2×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในสภาพควบคุม

วิธีการ	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (PCM) (%)			
	หนอนใยผัก	หนอนกระทู้ผัก	ด้วงหมัดผัก	เพลี้ยอ่อนผัก
พ่น Bb011	39.17 $\pm$ 3.3a	43.40 $\pm$ 9.9a	1.0 $\pm$ 9.6a	43.29 $\pm$ 3.05a
พ่น Bb028	30.29 $\pm$ 3.1b	32.95 $\pm$ 7.2b	1.0 $\pm$ 31a	50.29 $\pm$ 1.9b
พ่น Bb029	30.51 $\pm$ 3.1b	32.98 $\pm$ 8.1b	1.85 $\pm$ 3.1b	32.13 $\pm$ 1.9c
พ่น Bb126	44.32 $\pm$ 5.1 a	31.99 $\pm$ 7.8b	15.0 $\pm$ 4.8c	67.27 $\pm$ 2.2d
Control	10.06 $\pm$ 7.1 d	1.85 $\pm$ 3.1c	0	0.268 $\pm$ 0.6e

หมายเหตุ

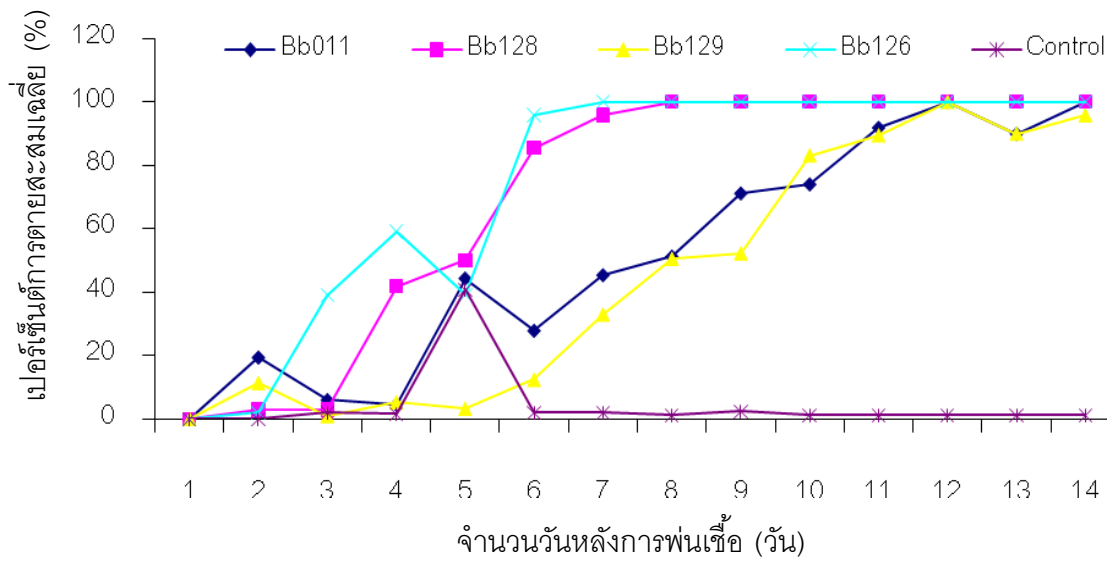
- ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ แถวเดียวกันมีอักษรต่างกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
- Bb011, Bb028, Bb029 และ Bb126 หมายถึงเชื้อรา *B. bassiana* strain หมายเลข 011, หมายเลข 028 หมายเลข 029, และ หมายเลข 126 ตามลำดับ

ตารางที่ 3. เวลาเฉลี่ยถึงการตายร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) ของแมลงศัตรูผักวงศ์กะหล่ำ 4 ชนิด จากการพ่นเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ต่างๆ ที่ความเข้มข้น 1.2×10^8 สปอร์ ต่อมิลลิลิตร ในสภาพควบคุม

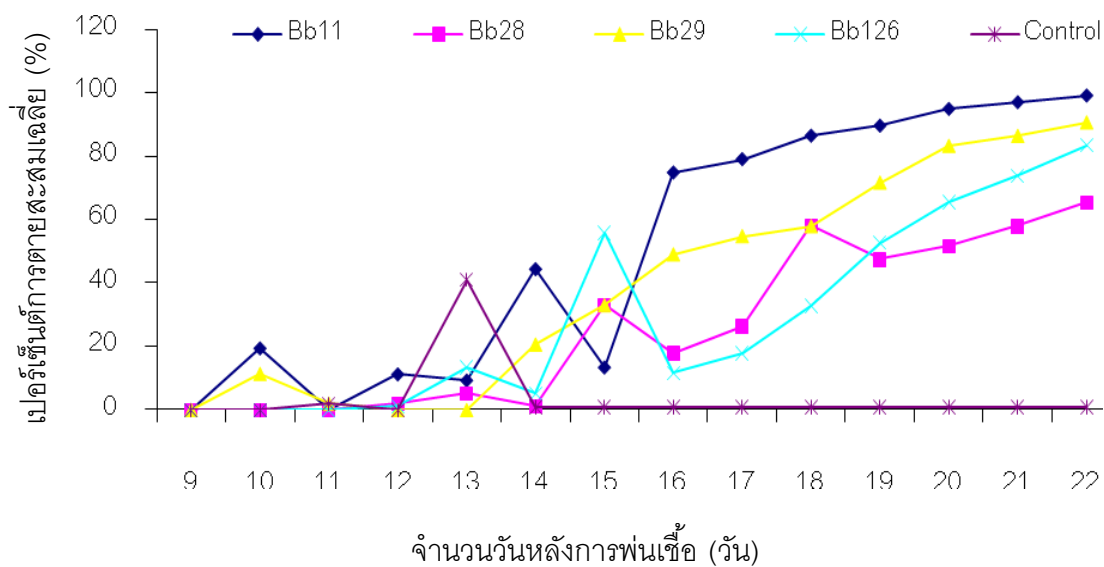
วิธีการ	เวลาเฉลี่ยถึงการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (MTD ₅₀) วัน			
	หนอนใยผัก	หนอนกระทู้ผัก	ด้วงหมัดผัก	เพลี้ยอ่อนผัก
พ่น Bb011	8.0 ± 0.71a	6.80 ± 0.83ns	16.4 ± 0.5 ns	3.2 ± 0.4a
พ่น Bb028	5.0 ± 0.71b	6.40 ± 1.1 ns	18.2 ± 1.1 ns	7.2 ± 0.4b
พ่น Bb029	9.2 ± 1.30a	6.40 ± 1.1 ns	16.8 ± 0.4 ns	5.2 ± 1.4c
พ่น Bb126	4.4 ± 0.55b	6.90 ± 0.4 ns	18.0 ± 1.0 ns	3.2 ± 0.4a
Control	*	*	*	*

หมายเหตุ

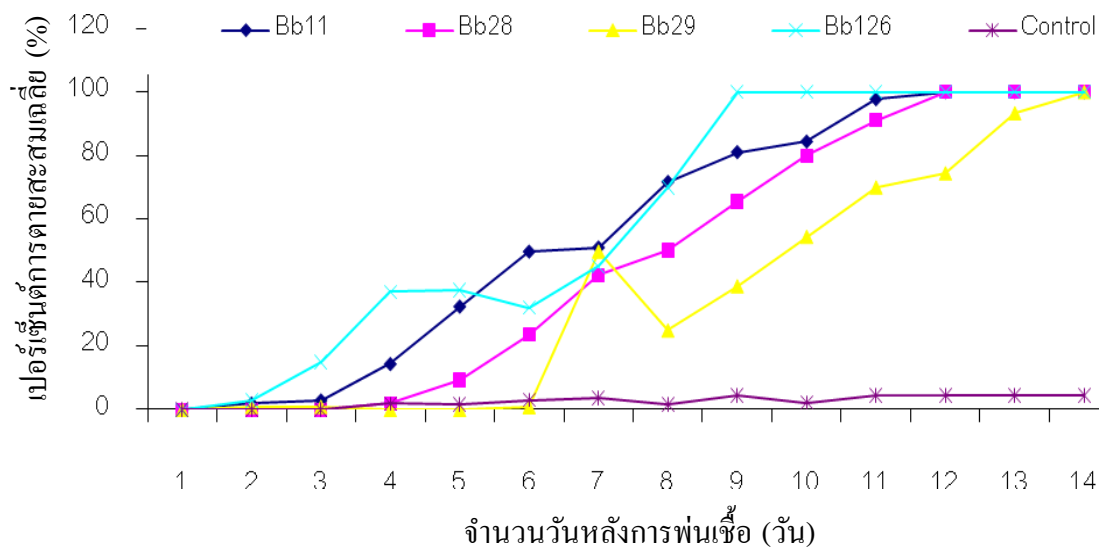
- ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ แถวเดียวกัน มีอักษรต่างกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีความแตกต่าง
- Bb011, Bb028, Bb029 และ Bb126 หมายถึงเชื้อรา *B. bassiana* strain หมายเลข 011, หมายเลข 028 หมายเลข 029, และ หมายเลข 126 ตามลำดับ
- * แมลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถอยู่รอดจนถึงตัวเต็มวัย



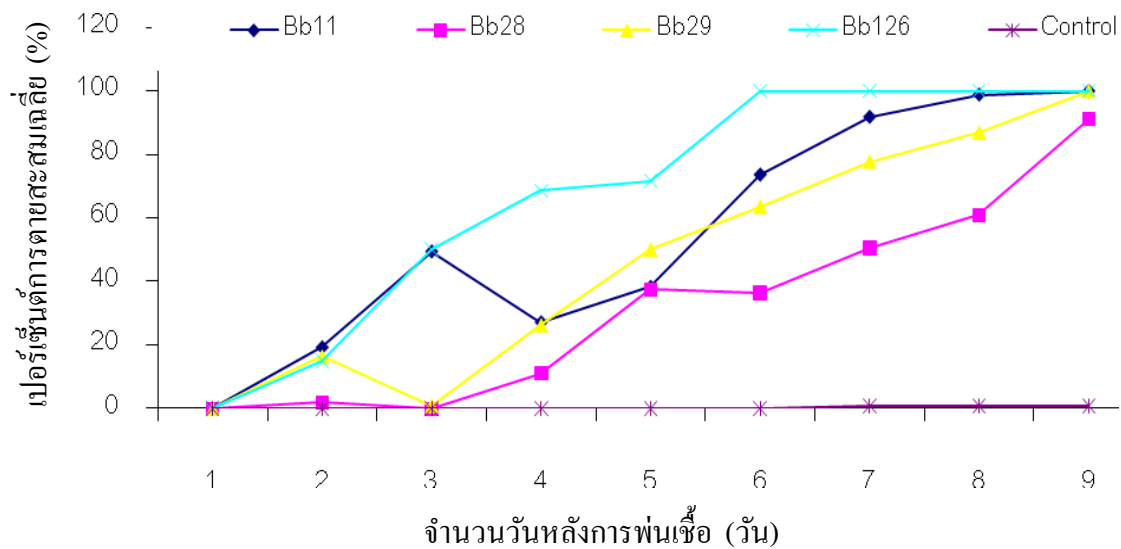
ภาพที่ 2. เปอร์เซนต์การตายสะสมเฉลี่ย (Percent cumulative mortality) ของหนอนใยผัก *Plutella xylostella* ที่ได้รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ต่างๆ ที่ความเข้มข้น 1.2×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในสภาพควบคุม



ภาพที่ 3. เปอร์เซนต์การตายสะสมเฉลี่ย (Percent cumulative mortality) ของหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* ที่ได้รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 1.2×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในสภาพควบคุม



ภาพที่ 4. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality) ของด้วงหมัดผักกาด *Phyllotreta sinuata* ที่ได้รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ต่างๆ ที่ความเข้มข้น 1.2×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในสภาพควบคุม



ภาพที่ 5. เปอร์เซ็นต์การตายสะสมเฉลี่ย (Percent cumulative mortality) ของเพลี้ยอ่อนผัก *Lipaphis erysimi* ที่ได้รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ต่างๆ ที่ความเข้มข้น 1.2×10^8 สปอร์ ต่อมิลลิลิตร ในสภาพควบคุม

4.2 การคัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมในการ ใช้เชื้อ *B. bassiana* สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมแมลงศัตรูกะหล่ำในเรือนทดลองปิด

หลังจากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคจำนวน 4 ไอโซเลตส์ ได้แก่ ไอโซเลตส์ หมายเลขที่ Bb011, Bb028, Bb029 และ Bb126 ในสภาพควบคุมและผลพบว่า Bb126 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมแมลงศัตรูสำคัญของพืชผักวงศ์กะหล่ำซึ่งได้แก่ หนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก ตัวมดผัก และ เพลี้ยอ่อนผัก จากนั้นเมื่อทดสอบวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อ Bb126 ในการควบคุมแมลงเป้าหมายในเรือนทดลองแบบปิด (ภาพที่ 6. และ 7.) พบว่าจากการใช้ตัวชี้วัดสองตัวชี้วัดซึ่งได้แก่ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) และ เวลาเฉลี่ยถึงการตาย ร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD_{50}) ของแมลงศัตรูผักวงศ์กะหล่ำ 4 ชนิด เพื่อการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการควบคุมแมลง ได้แก่ หนอนใยผัก และพบว่าวิธีการพ่นเชื้อ Bb126 ประสิทธิภาพในการควบคุมเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น แต่ไม่เทียบเท่ากับการใช้สารเคมี ซึ่งมีค่า PCM ที่ 93.6 ± 2.41 ส่วนตัวทำลายที่เหมาะสมในการนำมาใช้พ่น Bb126 คือน้ำ ซึ่งค่า PCM เฉลี่ย 63.8 ± 8.93 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้น้ำมันเป็น 47.1 ± 6.47 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้เชื้อนี้ แต่เพียงอย่างเดียว เท่ากับ 76.8 ± 5.9 เปรียบ เทียบกับ 61.8 ± 7.58 เปอร์เซ็นต์ จากการใช้น้ำมัน เมื่อใช้ Bb026 พ่นร่วมกับเชื้อ Bt. และ 74.7 ± 8.85 เมื่อเทียบกับกา รใช้น้ำมันซึ่งเท่ากับ 56.4 ± 5.34 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ Bb126 พ่นร่วมกับเชื้อ *Metarhizium* sp.(ตารางที่ 4.) และการใช้เชื้อจุลินทรีย์โรคแมลงสองชนิดร่วมกันให้ผลในการควบคุมดีขึ้น เช่นค่า PCM ของการพ่นเชื้อ Bb126 ร่วมกับเชื้อรา *Metarhizium* sp. มีค่าเป็น 74.7 ± 8.85 เมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำลาย 56.4 ± 5.34 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้น้ำมันเป็นตัวทำลาย ส่วนการพ่นเชื้อ Bb126 อย่างเดียวมีค่าเป็น 63.8 ± 8.93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำลาย ส่วนการใช้น้ำมันเป็น 47.1 ± 6.47 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการพ่น Bb126 ร่วมกับเชื้อ Bt. โดยเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำลายมีค่าเป็น 74.7 ± 8.85 และ 56.4 ± 5.34 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้น้ำมันเป็นตัวทำลาย นอกจากนี้จะเห็นว่า ค่า MTD_{50} ของการใช้เชื้อจุลินทรีย์สองชนิดร่วมกันมีค่าลดลงจาก 6.4 ± 0.89 เป็น 4.8 ± 0.84 เมื่อพ่น Bb126 ร่วมกับเชื้อ Bt. และเป็น 4.93 ± 0.81 วัน เมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำลาย (ตารางที่ 4. ภาพที่ 8. และ 9.)

B. bassiana สายพันธุ์ Bb126 มีประสิทธิภาพ สูงในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก ในเรือนทดลองแบบปิด เมื่อเทียบกับการพ่นน้ำกลั่น แต่ไม่เทียบเท่ากับการใช้สาร สารอะบาเม คติน ในอัตรา 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร และตัวทำลายที่ เหมาะสม กับการใช้ Bb126 ในการพ่นคือน้ำ โดยมีค่า PCM 36.81 ± 7.73 เปอร์เซ็นต์ และ MTD_{50} เป็น 9.2 ± 1.8 วัน เทียบกับการใช้น้ำมันที่ค่า PCM 35.05 ± 6.31 เปอร์เซ็นต์ MTD_{50} เป็น 9.10 ± 1.8 วัน เมื่อใช้ในการพ่นเชื้อ Bb126 แต่เพียงอย่างเดียว และพบว่าการใช้เชื้อ Bb126 ร่วมกับเชื้อ Bt. และ *Metarhizium* sp. มีผลทำให้ค่า

PCM เพิ่มขึ้น เป็น 45.66 ± 8.80 และ 46.46 ± 5.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ให้ค่าของการใช้ Bb026 ร่วมกับ Bt. มีค่า MTD_{50} ลดลงเป็น 7.8 ± 0.8 แต่อย่างไรก็ตาม MTD_{50} ของการใช้ Bb126 เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับการพ่น Bb126 เพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 5. ภาพที่ 1. และ 11.)

ในการทดสอบการควบคุมด้วงหมัดผัก ค่า PCM ของการใช้น้ำและน้ำมันเป็นตัวทำละลายในการพ่น Bb126 ไม่มีความแตกต่าง โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 37.84 ± 6.07 และ 35.94 ± 2.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าค่า PCM ดังกล่าวไม่มีความแตกต่างจากการใช้ Bb126 ร่วมกับ Bt. ซึ่งมีค่าอยู่ที่ 34.97 ± 6.90 เมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และ 39.74 ± 5.81 เมื่อใช้น้ำมันเป็นตัวทำละลาย รวมทั้งไม่แตกต่างจากการใช้ Bb126 ร่วมกับ *Metarhizium* sp. โดยใช้น้ำมันเป็นตัวทำละลาย ซึ่งมีค่า 37.43 ± 3.93 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตาม จากการทดลองพบว่าการใช้ Bb026 ร่วมกับ *Metarhizium* sp. โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย มีค่า PCM สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ คือ 47.39 ± 3.34 เปอร์เซ็นต์ ส่วนค่า MTD_{50} ของการใช้ Bb126 มีค่ามากกว่าการใช้ สารโพธิ์โนฟอส อัตรา 30 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร โดยมีค่าอยู่ที่ 71.3 ± 1.11 และ การพ่น Bb126 ละลายน้ำ Bb126 ละลายน้ำมัน Bb126 ร่วมกับ Bt. ละลายน้ำ Bb126 ร่วมกับ Bt. ละลายน้ำมัน Bb126 ร่วมกับ *Metarhizium* sp. ละลายน้ำ Bb126 ร่วมกับ *Metarhizium* sp. ละลายน้ำมัน ค่า MTD_{50} ไม่มีความแตกต่างกันคือมีค่าอยู่ที่ 13.6 ± 3.50 , 13 ± 2.34 , 14 ± 2.82 , 13.8 ± 2.04 , 10.2 ± 4.97 และ 14.1 ± 1.58 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 6. ภาพที่ 12. และ 13.)

ในสภาพเรือนทดลองแบบปิด การใช้ Bb126 มีประสิทธิภาพควบคุมเพลี้ยอ่อนผักได้ในระดับสูง เมื่อเทียบกับการพ่นน้ำกลั่น และ ในบางกรณีมีความเทียบเท่ากับการใช้สาร โพธิ์โนฟอส 30 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีค่า PCM 79.37 ± 8.44 แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาค่า MTD_{50} ของการพ่นสารเคมี มีค่าน้อยกว่าการใช้เชื้อรา Bb126 อย่างมีนัยสำคัญ ในการใช้ Bb126 พ่นเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนผัก การใช้น้ำให้ผลดีต่อการใช้เชื้อ Bb126 เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนผัก โดยค่า PCM เมื่อใช้น้ำอยู่ที่ 73.2 ± 73.2 , 76.55 ± 5.60 และ 85.36 ± 6.69 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพ่น Bb126 ร่วมกับ Bt. และ ร่วมกับ *Metarhizium* sp. ตามลำดับ ส่วนการใช้น้ำมันเป็นตัวทำละลายมีค่าอยู่ที่ 51.76 ± 51.7 , 82.65 ± 6.86 และ 79.43 ± 7.77 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ Bb126 ร่วมกับ Bt. หรือ *Metarhizium* sp. ให้ผลดีกว่าการใช้ Bb126 แต่เพียงอย่างเดียว ส่วนค่า MTD_{50} ของการใช้ Bb126 ร่วมกับ *Metarhizium* sp. มีค่าน้อยที่สุด คือ 4.4 ± 0.55 วัน แต่ไม่เทียบเท่ากับผลของการใช้สารเคมีซึ่งมีค่า 1.6 ± 0.55 วัน และยังพบว่าการใช้ Bb126 ร่วมกับ Bt. หรือ *Metarhizium* sp. สามารถทำให้ค่า MTD_{50} ลดลง เมื่อเทียบกับการพ่น Bb126 แต่เพียงอย่างเดียว แต่อย่างไรก็ตาม ค่าดังกล่าวไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 6. ภาพที่ 14. และ 15.)

ตารางที่ 4. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) และเวลาเฉลี่ยถึงการตาย ร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) ของหนอนใยผัก *Plutella xylostella* ในเวลา 7 วัน จากการพ่นเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ Bb126 ที่ความเข้มข้น 1.2×10^{10} สปอร์ ต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธีการต่าง ๆ เปรียบเทียบการการไม่พ่น และการใช้ สารอะบาเม็ค ดิน 20 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ในเรือนทดลองแบบปิด

วิธีทดลอง	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (เปอร์เซ็นต์)	เวลาเฉลี่ยถึงการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (MTD ₅₀) (วัน)
Bb+ น้ำ	63.8 ± 8.93a	6.4 ± 0.89a
Bb+น้ำมันพืช	47.1 ± 6.47b	7.6 ± 0.89ac
Bb+Bt+ น้ำ	76.8 ± 5.9c	4.8 ± 0.84b
Bb+Bt+น้ำมัน	61.8 ± 7.58a	8.21 ± 0.83c
Bb+Ma+น้ำ	74.7 ± 8.85b	4.8 ± 0.84b
Bb+Ma+น้ำมัน	56.4 ± 5.34ab	8.0 ± 2.83c
พ่นน้ำ	2.46 ± 1.7d	*
พ่นน้ำมัน	2.0 ± 0.87e	*
พ่นสาร	93.6 ± 2.41f	3.0 ± 0.71d

หมายเหตุ

- ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ แถวเดียวกันมีอักษรต่างกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
- Bb หมายถึง เชื้อรา *B. bassiana*, Ma หมายถึง เชื้อรา *Metarhizium* sp., Bt. หมายถึง เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*
- * หมายถึงกรณีที่แมลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถอยู่รอดจนถึงตัวเต็มวัย

ตารางที่ 5. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) และ เวลาเฉลี่ยถึงการตาย ร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) ของหนอนกระทู้ ผัก *Spodoptera litura* ในเวลา 7 วัน จากการพ่นเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ Bb126 ที่ความเข้มข้น 1.2×10^{10} สปอร์ ต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธีการต่าง ๆ เปรียบเทียบการการไม่พ่น และการใช้ สารอะบาเม็กติน 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ใน เรือนทดลองแบบปิด

วิธีทดลอง	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (เปอร์เซ็นต์)	เวลาเฉลี่ยถึงการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (MTD ₅₀) (วัน)
Bb+ น้ำ	36.81 ± 7.73a	9.2 ± 1.8a
Bb+น้ำมันพืช	35.05 ± 6.31a	9.10 ± 1.8a
Bb+Bt+ น้ำ	45.66 ± 8.80b	7.8 ± 0.8b
Bb+Bt+ น้ำมัน	42.49 ± 2.32b	11.2 ± 4.4a
Bb+Ma+ น้ำ	30.46 ± 5.33a	14.0 ± 5.1c
Bb+Ma+ น้ำมัน	23.98 ± 6.25c	16.2 ± 7.0c
พ่นน้ำ	1.09 ± 0.90d	*
พ่นน้ำมัน	1.62 ± 1.23d	*
พ่นสาร	83.59 ± 5.35e	2.6 ± 0.5d

หมายเหตุ

- ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ แถวเดียวกันมีอักษรต่างกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
- Bb หมายถึง เชื้อรา *B. bassiana*, Ma หมายถึง เชื้อรา *Metarhizium* sp., Bt. หมายถึง เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*
- * หมายถึงกรณีที่แมลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถอยู่รอดจนถึงตัวเต็มวัย

ตารางที่ 6. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) และ เวลาเฉลี่ยถึงการตายร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) ของด้วงหมัดผัก *Phyllotreta sinuata* ในเวลา 7 วัน จากการพ่นเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ Bb126 ที่ความเข้มข้น 1.2×10^{10} สปอร์ ต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธีการต่าง ๆ เปรียบเทียบการพ่นน้ำ และ การใช้สารโพรฟิโนฟอส อัตรา 30 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร ในเรือนทดลองแบบปิด

วิธีทดลอง	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (เปอร์เซ็นต์)	เวลาเฉลี่ยถึงการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (MTD ₅₀) (วัน)
Bb+ น้ำ	37.84 ± 6.07a	13.6 ± 3.50a
Bb+น้ำมันพืช	32.94 ± 2.50a	13.0 ± 2.34a
Bb+Bt+ น้ำ	34.97 ± 6.90a	14.0 ± 2.82a
Bb+Bt+ น้ำมัน	39.74 ± 5.81ab	13.8 ± 2.04a
Bb+Ma+ น้ำ	47.39 ± 3.34b	10.2 ± 4.97b
Bb+Ma+ น้ำมัน	37.43 ± 3.93ab	14.1 ± 1.58a
พ่นน้ำ	-	-
พ่นน้ำมัน	-	-
พ่นสาร	71.3 ± 11.1c	4.4 ± 1.51c

หมายเหตุ

- ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ แถวเดียวกันมีอักษรต่างกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
- Bb หมายถึง เชื้อรา *B. bassiana*, Ma หมายถึง เชื้อรา *Metarhizium* sp., Bt. หมายถึง เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*

ตารางที่ 7. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) และ เวลาเฉลี่ยถึงการตายร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) ของเพลี้ยอ่อนฝัก *Lipaphis erysimi* ในเวลา 7 วัน จากการพ่นเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ Bb126 ที่ความเข้มข้น 1.2×10^{10} สปอร์ ต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธีการต่าง ๆ เปรียบเทียบ การพ่นและไม่พ่น และ การใช้ โพรไทโอฟอส 30 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร ในเรือนทดลอง แบบปิด

วิธีทดลอง	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (เปอร์เซ็นต์)	เวลาเฉลี่ยถึงการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (MTD ₅₀) (วัน)
Bb+ น้ำ	73.2 ± 73.2a	5.6 ± 0.55a
Bb+น้ำมันพืช	51.76 ± 51.7b	7.2 ± 0.45b
Bb+Bt+ น้ำ	76.55 ± 5.60a	5.8 ± 0.45a
Bb+Bt+ น้ำมัน	82.65 ± 6.86c	6.2 ± 0.45a
Bb+Ma+ น้ำ	85.36 ± 6.69c	4.4 ± 0.55c
Bb+Ma+ น้ำมัน	79.43 ± 7.77ac	4.8 ± 1.1c
พ่นน้ำ	85.36 ± 6.96c	23.2 ± 6.76d
พ่นน้ำมัน	8.81 ± 5.71d	24.2 ± 4.87d
พ่นสาร	79.37 ± 8.44e	1.6 ± 0.55e

หมายเหตุ

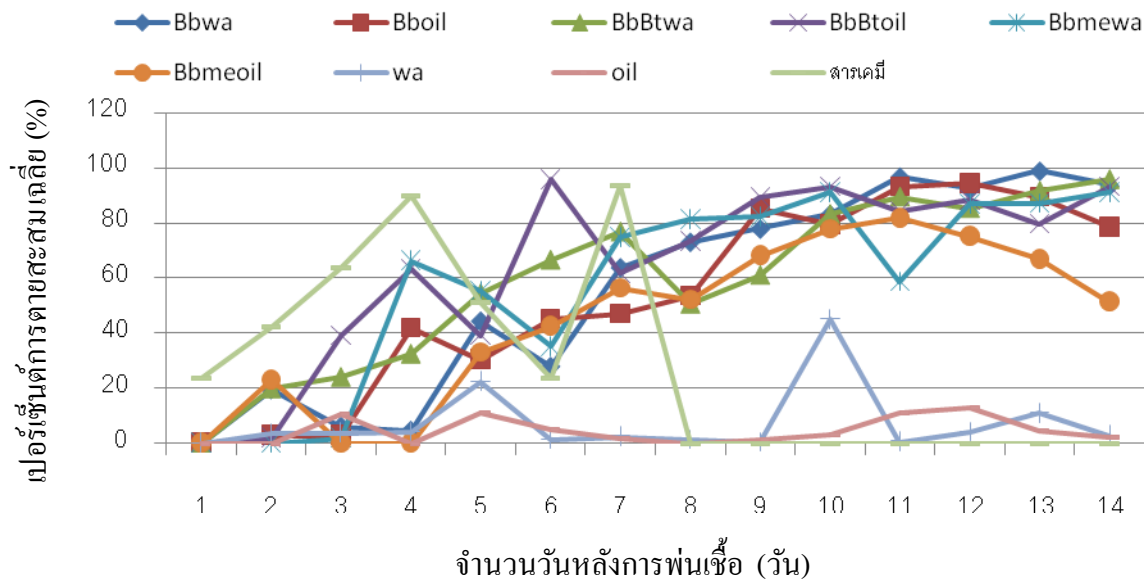
- ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ แถวเดียวกันมีอักษรต่างกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
- Bb หมายถึง เชื้อรา *B. bassiana*, Ma หมายถึง เชื้อรา *Metarhizium* sp., Bt. หมายถึง เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*



ภาพที่ 6. เรือนทดลองแบบปิด ที่ใช้ในการทดลอง



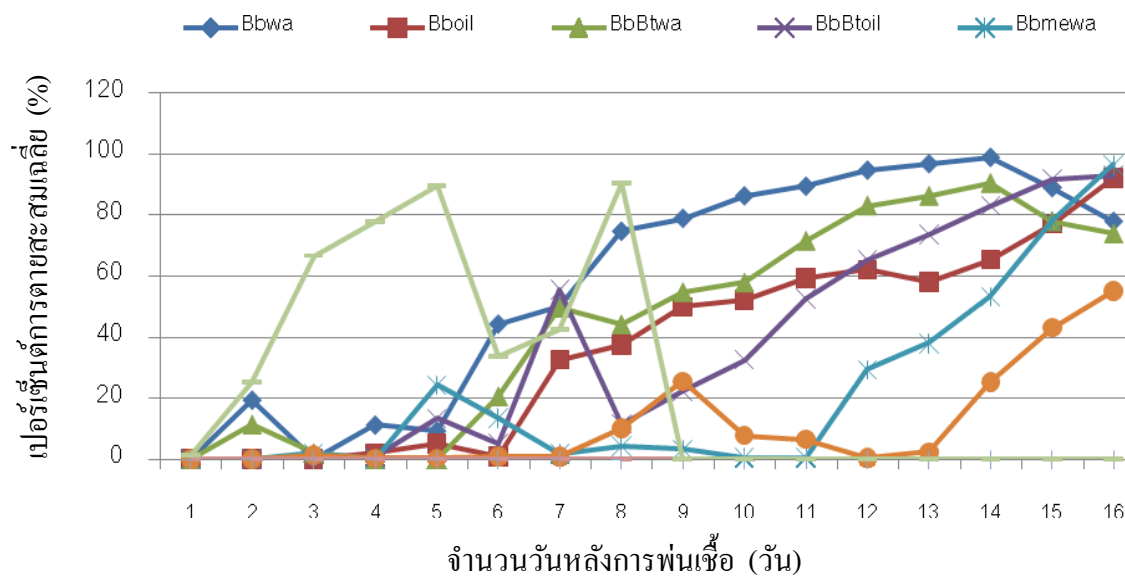
ภาพที่ 7. แปลงทดลองภายในเรือนทดลองแบบปิด ที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 8. เปอร์เซ็นต์การตายสะสมเฉลี่ย (Percent cumulative mortality) ของหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) ที่ได้รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ Bb126 ที่ความเข้มข้น 1.2×10^{10} สปอร์ ต่อมิลลิลิตร ในเรือนทดลองแบบปิด



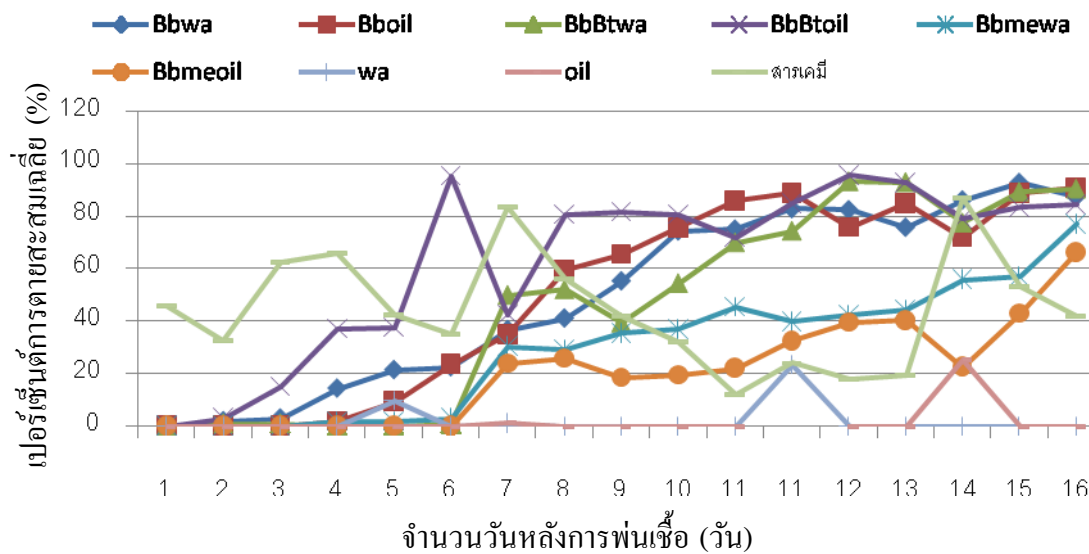
ภาพที่ 9. หนอนใยผักที่ตายหลังได้ รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ Bb126 ที่ความเข้มข้น 1.2×10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในเรือนทดลองแบบปิด



ภาพที่ 10. เปอร์เซ็นต์การตายสะสมเฉลี่ย (Percent cumulative mortality) ของหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ที่ได้รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ Bb126 ที่ความเข้มข้น 1.2×10^{10} สปอร์ ต่อมิลลิลิตร ในเรือนทดลองแบบปิด



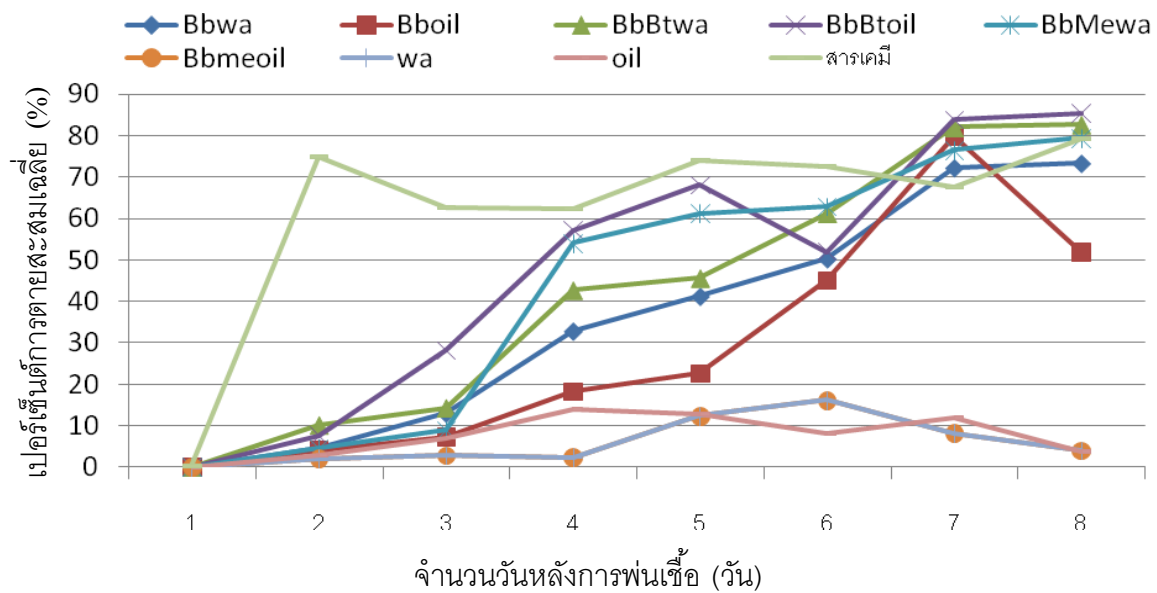
ภาพที่ 11. หนอนกระทู้ผัก ที่ตายหลังได้รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ Bb126 ที่ความเข้มข้น 1.2×10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในเรือนทดลองแบบปิด



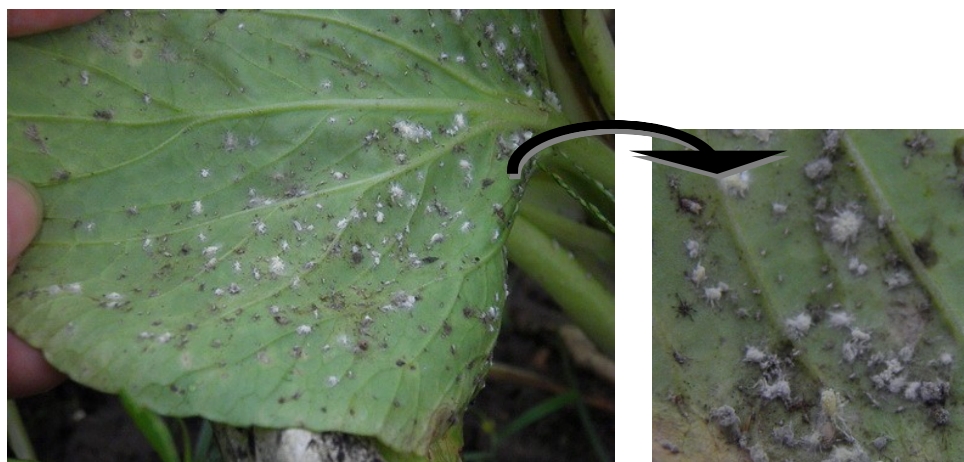
ภาพที่ 12. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality) ของด้วงหมัดผักกาด *Phyllotreta sinuata* ที่ได้รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ Bb126 ที่ความเข้มข้น 1.2×10^{10} สปอร์ ต่อมิลลิลิตร ในเรือนทดลองแบบปิด



ภาพที่ 13. ด้วงหมัดผักกาดที่ตายหลังจากได้รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ Bb126 ที่ความเข้มข้น 1.2×10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในเรือนทดลองแบบปิด



ภาพที่ 14. เปอร์เซ็นต์การตายสะสมเฉลี่ย (Percent cumulative mortality) ของเพลี้ยอ่อนผัก *Lipaphis erysimi* ที่ได้รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ Bb126 ที่ความเข้มข้น 1.2×10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในเรือนทดลองแบบปิด



ภาพที่ 15. เพลี้ยอ่อนผัก *Lipaphis erysimi* ที่ตาย หลังได้รับเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ Bb126 ที่ความเข้มข้น 1.2×10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในเรือนทดลองแบบปิด

4.3 การทดสอบวิธีการใช้เชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูง สุดในสภาพแปลงทดลอง

หลังการทดสอบในเรือนทดลองแบบปิดแล้ว ในช่วงระหว่างเดือน กรกฎาคม ถึง กันยายน พ.ศ. 2553 ได้ทำการขยายผลต่อในระดับแปลงทดลอง โดยการขอความร่วมมือกับเกษตรกรใน ม. บ้านโป่ง ต. ป่าไผ่ จ. เชียงใหม่ โดยการให้เกษตรกรปลูกพืชผักวงศ์กะหล่ำสองชนิด ได้แก่ คะน้า และ ผักกาดกวางตุ้ง ในแปลงเพาะกล้า (ภาพที่ 16.) และ ทำการย้ายปลูก ทำ การทดลองแบบแฟคทอเรียลในการวางแผนแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial experiment in CRD) ที่ประกอบด้วย 2 ปัจจัยหลัก ได้แก่ รูปแบบของสูตรผสม ซึ่งได้แก่การใช้สูตรผสมน้ำมัน สูตรผสมน้ำ และ รูปแบบการใช้เชื้อ *B. bassiana* เพียงอย่างเดียว และ แบบใช้ เชื้อ *B. bassiana* ร่วมกับเชื้อโรคแมลงชนิดอื่น ซึ่งได้แก่เชื้อ *Bacillus thuringiensis* (Bt). และ *Metarhizium* sp. โดยกำหนดวิธีทดลองซึ่งมีการทำซ้ำวิธีทดลองละ 4 ซ้ำ ดังนี้ การใช้เชื้อรา *B. bassiana* แบบผสมน้ำ ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr1) การใช้เชื้อรา *B. bassiana* แบบผสมน้ำมัน ที่ระดับความเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบ ทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr2) การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำ *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตรผสมน้ำ ร่วมกับการพ่นเชื้อ Bt. สูตรสำเร็จที่ระดับความเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบ ทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr3) การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำมัน *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตรผสมน้ำ ร่วมกับการพ่นเชื้อ Bt. สูตรสำเร็จที่ระดับความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบ ทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr4) การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำ *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตรผสมน้ำ ร่วมกับการพ่นเชื้อ *Metarhizium* sp. ที่ระดับความเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr5) การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำมัน *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตรผสมน้ำ ร่วมกับการพ่นเชื้อ *Metarhizium* sp. ที่ระดับความเข้มข้น 10^{10} พ่นทางใบ ทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr6) การใช้สารเคมีตามปกติ ตามโปรแกรมที่ใช้กับผักวงศ์กะหล่ำโดยทั่วไป โดยใช้สาร อะบาเม คติน ในอัตรา 20 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร สารอะบาเม คติน ในอัตรา 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร สารโพฟีโนฟอส อัตรา 30 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร และ โพฟีโนฟอส 30 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร สำหรับหนอนใยผัก หนอน กระทุ้งผัก ดั้วหมัดผัก และ เพลี้ยอ่อนผัก ตามลำดับ (Tr7) และ การพ่นน้ำเปล่า พ่นทางใบ ทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr8) และ ในขณะเดียวกัน เตรียมแปลงปลูก ผักวงศ์กะหล่ำ ขนาด 80 x 125 เซนติเมตร และ จัดเรียงแปลงทดลองโดยการสุ่มจับสลาก และ มีการเริ่มเพาะกล้าโดยการหว่านเมล็ด ประมาณ 7 วัน แต่จากการปฏิบัติงานใน สภาพแปลงทดลอง พบปัญหาคือการที่มีฝนตกหนาแน่น ในช่วงเวลาทำการทดสอบ โดยหลังจากทำการพ่นเชื้อ หรือ สารกำจัดศัตรูพืช มีฝน ตกอย่างต่อเนื่อง ทำให้ต้นผักที่ปลูก เกิดโรคเน่า และ ไม่สามารถเก็บผลการทดลอง ได้ (ภาพที่ 17.) ซึ่ง

แม้จะมีการปลูกผัก ทดลองรุ่นใหม่ ชดเชยถึงสองครั้ง แล้วก็ตาม แต่ยังเกิดปัญหาในลักษณะเดียวกัน



ภาพที่ 16. แปลงเพาะกล้าผักกาดขวางตั้ง เพื่อใช้ในการทดลองในสภาพแปลงทดลอง ณ ม. บ้านโป่ง ต. ป่าไผ่ อ. สันทราย จ. เชียงใหม่



ภาพที่ 17. แปลงผักกาดขวางตั้งสำหรับทดลอง ณ ม. บ้านโป่ง ต. ป่าไผ่ อ. สันทราย จ. เชียงใหม่ ซึ่งได้รับความเสียหาย จากโรคเน่าเนื่อ งจากฝนตกหนักในช่วงเดือน กรกฎาคม - กันยายน พ.ศ. 2553

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ท้องถิ่น ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของพืชผักวงศ์กะหล่ำ มีการประเมินความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของแมลงศัตรูพืช ในสภาพควบคุม ในห้องปฏิบัติการ ในโครงการ นี้ สามารถรวบรวมสายพันธุ์เชื้อรา *B. bassiana* ได้มากถึง 541 ไอโซเลตส์ โดยส่วนมากเป็นสายพันธุ์ ที่แยกได้จากแมลงที่มี ลำตัวอ่อนนุ่ม เช่นเพลี้ยอ่อน ผัก *Lipaphis erysimi* ซึ่งสามารถแยกได้ถึง 392 ไอโซเลตส์ เป็นการแสดงให้เห็นว่า ในสภาพธรรมชาติในแปลงปลูกผักวงศ์กะหล่ำ เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงที่มีโอกาสได้รับเชื้อนี้สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับแมลงศัตรูกะหล่ำชนิดอื่น ซึ่ง น่าจะเพราะเพลี้ยมีลำตัวอ่อนนุ่ม ผนังลำตัวบาง และ ในลำตัวประกอบด้วยของเหลว ซึ่งเป็นอาหาร ที่ดีของเชื้อโรคแมลง Steinhilber (1967) ได้อธิบายถึงกลไกการเข้าทำลายแมลง ของเชื้อราโรคแมลงหลายชนิดรวมทั้งเชื้อรา *Beauveria* sp. คือ เชื้อราจะเข้าไปในตัวแมลง โดยการแทงเส้นใย (hyphae) ผ่านผนังลำตัว (cuticle) ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่อ่อนนุ่มซึ่งอยู่ระหว่างรอยต่อ อปล้องลำ ตัวแมลง โดยมีเอนไซม์ช่วยย่อยผนังเซลล์ รวมทั้งการเจริญของเส้นใยผ่านส่วนที่เป็น รูหายใจ (spiracles) และในกลุ่มของแมลงศัตรูผักวงศ์กะหล่ำ เพลี้ยอ่อนผักเป็นแมลงที่มีผนังลำตัวอ่อนนุ่ม และบอบบางที่สุด อีกทั้งเป็น แมลงที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม จึงง่ายต่อการระบาดของเชื้อรา ดังนั้นในการใช้เชื้อรา *B. bassiana* ในการควบคุมแมลง น่าจะให้ผลดีและมีความยั่งยืน นอกจากนั้น อาจช่วยแก้ปัญหาเรื่องข้อจำกัดของการใช้สารเคมีในการควบคุมเพลี้ยอ่อนเรื่องการดื้อยา ซึ่งมี รายงานว่าเพลี้ยอ่อนเป็นแมลงที่ต้านทานสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เช่น การพบว่าเพลี้ยอ่อน นยาสูบ (*Myzus persicae*) ที่ต้านทานสารป้องกันกำจัดแมลงกลุ่ม organophosphates (Gould, 1966) การต้านทานสารเคมีของเพลี้ยอ่อน ผักสลัด lettuce aphid (*Nasonovia ribis-nigri*) (Moore et al., 2010) เป็นต้น ดังนั้น หากมีการใช้เชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ท้องถิ่น ควบคุมแมลง เหล่านี้ นอกจากจะมีความปลอดภัยและยั่งยืนแล้ว ยังอาจช่วยลดปัญหาการต้านทานสาร กำจัดศัตรูพืชในแมลงด้วย ในโครงการนี้ ถึงแม้ว่าจะสามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จำนวนมาก แต่หลังจากทดสอบ กับแมลงศัตรูกะหล่ำ เป้าหมาย 4 ชนิด ได้แก่ หนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ตัวห้ำตัวเบียน กาด (*Phyllotreta sinuata*) และ เพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) และทดสอบความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของแมลงอาศัย พบว่ามีเพียง 4 ไอโซเลตส์ หรือ 0.94 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น ที่มีฤทธิ์กว้าง สามารถทำลายแมลงเป้าหมายได้ทั้งสี่ชนิด ซึ่งเป็นสิ่งบ่งบอกว่า ในธรรมชาติเชื้อราชนิดนี้ อาจมีระดับความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงแตกต่างกัน ทั้งนี้ ได้มีรายงานยืนยัน เช่น ความรุนแรง ในการก่อโรค ของเชื้อขึ้นอยู่กับ พื้นที่ที่พบเชื้อราชนิดนั้น ๆ

(pathogenic ecotype or geographical isolate) รูปแบบของพันธุกรรม และ พิสัยของแมลงที่เป็นตัวอาศัย (insect host range) ของเชื้อ (Brad et al., 2002, pp.125-132; Devi et al., 2006, pp. 495-504) ซึ่งน่าจะเป็นผลดี ในแง่การมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ เช่นตัวห้ำและตัวเบียน และผลดีอีกด้านหนึ่ง คือการใช้เชื้อรา สายพันธุ์ท้องถิ่น ในการควบคุมแมลงศัตรูในท้องถิ่น น่าจะเกิดประสิทธิภาพ และ มีความเหมาะสม เนื่องจากเชื้อสายพันธุ์ดังกล่าวน่าจะมี ความคุ้นเคยกับสภาพนิเวศวิทยาในท้องถิ่นนั้นๆ ได้ดีกว่า และในที่นี้ผลผลิตเชื้อ ราที่คัดเลือกได้จากการศึกษาครั้งนี้ นับเป็นเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นในประเทศไทย จึงน่าจะมี ความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ได้ อย่างมีประสิทธิภาพ และช่วยลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงในท้องถิ่น ได้อีกทางหนึ่ง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำผลการวิจัยในด้านการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ และ การ ผลิตเชื้อบริสุทธิ์ ไปประยุกต์ใช้ในภาคการเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในการปลูกผักวงศ์กะหล่ำ ที่มีการใช้ สารเคมีในปริมาณสูง และ โครงการ นี้ ได้พบไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมแมลง ศัตรูสำคัญของกะหล่ำ ซึ่งได้แก่ ไอโซเลทส์ เลขที่ Bb126 ที่มีความรุนแรงพอในการก่อโรคให้กับแมลงเป้าหมาย ทั้งสี่ชนิด ดังอธิบายไว้ในตารางที่ 1. ทั้งนี้ไอโซเล ทส์ดังกล่าว ได้ถูกคัดเลือกเนื่องจากมีฤทธิ์กว้าง เพื่อการที่จะสามารถใช้ เชื้อราโรคแมลง ในการควบคุมประชากรแมลงในพืชผักที่ มีแมลงศัตรูหลาย ชนิด อนึ่ง เชื้อ ราที่เหมาะสมต่อการนำมา ประยุกต์ ใช้ ควรมีความสามารถในการก่อโรคกับแมลงศัตรู ได้หลากหลายชนิด เมื่อพ่นในคราวเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาต่อยอด เรื่องผลของเชื้อไอโซเลทส์ดังกล่าว ต่อแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์ด้วย

ในการศึกษานี้ หลัง การเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) และ เวลาเฉลี่ยถึงการตาย ร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) ของแมลงศัตรูผักวงศ์กะหล่ำ 4 ชนิด ที่ได้รับเชื้อรา *B. bassiana* ผลการทดสอบ ในสภาพควบคุม พบว่าไอโซเลทส์เลขที่ Bb0126 ให้ผลในการควบคุมดีที่สุด โดยให้ ค่า PCM ในการก่อโรคกับแมลงเป้าหมายข้างต้นตามลำดับ เป็น 44.32 ± 5.1 , 31.99 ± 0.4 , 15 ± 4.8 และ 67.27 ± 2.2 เปอร์เซ็นต์ และ ให้ค่าเวลาเฉลี่ยถึงการตาย 4.4 ± 0.55 , 6.9 ± 0.4 , 18.0 ± 1.0 และ 3.2 ± 0.4 วัน ตามลำดับจากนั้นเมื่อทดสอบวิธีที่เหมาะสมในการใช้เชื้อ Bb126 ในการควบคุมแมลงเป้าหมาย ในเรือนทดลองแบบปิด พบว่าการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายเป็นวิธีการที่เหมาะสมต่อการนำเชื้อนี้ไปใช้ในการฉีดพ่นโดยมีค่า PCM 63.8 ± 8.93 , 36.81 ± 7.73 , 37.84 ± 6.07 , 73.2 ± 73.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยให้ค่า MTD₅₀ เป็น 6.4 ± 0.89 , 9.2 ± 1.8 , 13.6 ± 3.50 และ 5.6 ± 0.55 วัน ตามลำดับ ซึ่งจากตารางที่ 4-7 ถึงแม้ผลการทดสอบว่า การใช้น้ำมันเป็นตัวทำละลาย ในหลายกรณีให้ผลไม่แตกต่างจากการใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย อีกทั้งมีรายงาน ว่า การใช้เชื้อรา *B. bassiana* ในรูปแบบต่างๆ ได้แก่ รูปสารแขวนลอยในน้ำมัน น้ำ และ เป็นผงแป้ง ในการฉีดพ่นเพื่อควบคุมหนอนในวงศ์

Notodontidae พบว่า สูตรที่ใช้น้ำมันให้ผลดีที่สุด ทำให้แมลงตายถึง 94.64 เปอร์เซ็นต์ (Jinshut *et al.*, 2007, pp. 218-223) แต่สำหรับการปลูกพืชที่กิน ใบ เช่น ผักวงศ์กะหล่ำ ในการใช้น้ำมันเป็นตัวทำลายอาจไม่เหมาะสม อีกทั้งอาจมีผลในด้านของคุณภาพผลผลิตซึ่งเป็นผักกินใบ การใช้น้ำมันเป็นตัวทำลาย อาจทำให้ใบพืชไม่สวยงาม ไม่น่ารับประทาน ซึ่งน่าจะมีการศึกษาผลของรูปแบบตัวทำลาย ต่อคุณค่าทางการตลาดของผลผลิตด้วย

การทดสอบวิธีการใช้เชื้อรา *B. bassiana* สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูง สุด ในสภาพแปลงทดลอง หลังการทดสอบในเรือนทดลองแบบปิดแล้ว ในช่วงระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึง กันยายน พ.ศ. 2553 3. พบปัญหา คือการที่มีฝนตกหนัก ในช่วงเวลาที่ศึกษา ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ไม่สามารถเก็บผลการทดลองได้ โดยหลังจากการพ่นสปอร์ของเชื้อ รา น้ำกลั่น และสารเคมี ในวันที่ดำเนินการพ่นสาร มักมีฝนตกอย่างหนัก จึงเป็นไปได้ที่สารที่พ่นอาจถูกชะล้างไป ทำให้ไม่ได้ผลในการทดลอง ทั้งในวิธีการพ่นสารเคมี และการพ่นเชื้อราโรคพืช ปัญหาที่พบอีกอย่าง คือการเกิดโรคเน่าจากแบคทีเรียของต้นผักในแปลงทดลอง ซึ่งมีสาเหตุจากความชื้นในอากาศและในดิน สูงเกินไป ทำให้จำเป็นต้องปลูกพืชทดลองมาซ่อมต้นที่เสียหายถึงสองครั้ง แต่อย่างไรก็ตาม ยังเกิดปัญหาการเน่าของต้นผักตามมาอีก และ ในที่สุดไม่สามารถเก็บผลการทดลอง ได้ ซึ่งทำให้ได้ข้อมูลในการนำเชื้อรา และ/หรือ สารเคมีไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในฤดูฝน ว่าควรมีการจัดการเรื่องของโรคพืช ที่อาจก่อความเสียหายแก่หน่วยทดลองได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผักในวงศ์กะหล่ำ ซึ่งจะเจริญเติบโตได้ดีในฤดูซึ่งมีอากาศเย็น และ ฝนตกน้อย และ งานวิจัยที่มีการทดสอบการใช้สารชนิดใดๆ กับพืชเหล่านี้ ควรพิจารณาสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมด้วย แต่เกษตรกร ก็สามารถปลูกพืชผักได้ ในฤดูที่มีฝนตกหนัก โดยเกษตรกรจะปลูกในโรงเรือน แล ะ/หรือ มีการใช้วัสดุกำบังฝน และการระบายน้ำในแปลงปลูก ประกอบกับการใช้สารควบคุมเชื้อโรคพืชในดินพร้อมกันไปด้วย แต่ผลจากการทดลอง ที่ได้จากการทดสอบในโรงเรือน น่าจะสามารถนำ ประยุกต์ไปใช้ เป็นการทดแทนได้ สำหรับกรณีนี้

เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย

- การปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ. สำนักวิจัย. (2538). **การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย**. กรุงเทพฯ: ผู้แต่ง.
- เมืองทอง ทวนทวี และ สุรรัตน์ ปัญญาโตนะ. (2532). **ผักบ้านเรา**. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์อัสวชิน.
- บรรพต ณ ป้อมเพชร. (2525). **การควบคุมแมลงศัตรูพืชและวัชพืชโดยชีววิธี**. เอกสารพิเศษฉบับที่ 5. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 202 หน้า.
- พิสุทธิ เอกอำนวย. (2550). **โรคและแมลงของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ**. กรุงเทพมหานคร: อัมรินทร์พรินติงแอนด์พับลิชชิง.
- มลิวลย์ ปันยารชุน และ สุรพล จตุรยานนท์. (2526). การศึกษาการพัฒนากาผลิตเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เพื่อใช้ควบคุมด้วงแรดมะพร้าว. **รายงานสรุปผลการค้นคว้าวิจัย. กองกัญและสัตววิทยา**. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.
- รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และ สมภาพร แสงยศ. (2550). ชนิดและการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคแมลงศัตรูพืชผักวงศ์กะหล่ำในตำบลโคกโคเฒ่า อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี. **วิทยาศาสตร์เกษตร 37 (6)**.
- วิชาการเกษตร, กรม. (2547). **คำแนะนำ การป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2547**. กรุงเทพฯ: ผู้แต่ง.
- วีรยา การพานิช, เวณิกา เบ็ญจพงษ์, ทรงศักดิ์ ศรีอนุชาต, เนตรนภิส ธนนิเวศน์กุล และ ปราณี พัฒนกุลอนันต์. (2548). ปริมาณตะกั่ว และแคดเมียมในผักคะน้าอินทรีย์, ผักคะน้าปลอดภัยจากสารพิษและผักคะน้าทั่วไป (เคมี). **การประชุมวิชาการสมาคมพิษวิทยาแห่งประเทศไทยประจำปี 2548, Food & Chemical Safety**. วันที่ 17-18 พฤศจิกายน 2548 โรงแรมแกรนด์ ทาวเวอร์อินน์ ถนนพระรามหก กรุงเทพฯ.
- สมภาพร แสงยศ ชาญณรงค์ ดวงสอาด วรวรรณ ชาลีพรหม วารุณี ศิริขจรจารุ และ พอใจ เดชอุป. (2549). **งานวิจัยเรื่อง การสำรวจ รวบรวม และประเมินผลจุลินทรีย์เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช และวัชพืชโดยชีววิธี**. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ.
- หนังสือพิมพ์ผู้จัดการออนไลน์. 2549. **สถานการณ์พืชตกค้างในผักผลไม้**. ระบบออนไลน์. หนังสือพิมพ์ผู้จัดการออนไลน์. www.manager.co.th. วันที่ 3 มีนาคม 2549.

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology** 18: 265-267.
- Alford, D. J. (2000). Biological control of insect pest on oilseed rape in Europe. **Pesticide Outlook**. [Online]. Available: <http://www.researchinformation.co.uk/pest/2000/B008023N>. [9 February 2007].
- Appropriate Technology Transfer for Rural Areas (ATTRA). (2007). **Organic greenhouse vegetable production**. (Online). Available. <http://www.attra.org>. [5 May, 2007].
- Brad, S., R.L. Hellmich and L.C. Lewis. (2002). Allelic variation of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) minisatellite is dependent of host range and geographic origin. **Genome** 45: 125-132.
- Butt, T.M., C.W. Jackson and N. Magan. eds. (2001). **Fungi as biocontrol agent: Progress, problems and potential**. Wallingford: CABI Publishing,
- Copping, L.G. (2009). 4th ed. **The manual of biocontrol agents**. British Crop Protection Council (BCPC). Hamshire: BCPC. 702 pp.
- Devi, K.U., A. Reineke, N.N.R. Reddy, C.U.M. Rao and J. Padmavathi. (2006). Genetic diversity, reproductive biology and speciation in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. **Genome** 45: 495-504.
- Erlandson, M. and M. Goettel. (2005). **Microbial agents for insect pest control**. (Online). Available. <http://www.arg.gc.ca>. [12 November, 2005].
- Fang, M.G., T.J. Poprawski and G.G. Khachatourians. (1994). Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. **Biocontrol Science and Technology** 4: 3-34.
- Fagade, O. E., S.A. Balogun and C.J. Lomer. (2005). Microbial control of caged population of *Zonocerus variegates* using *Beauveria bassiana* and *Metarhizium* sp. **African Journal of Biotechnology** 4(1): 113-116.
- Glogoza, P. (2001). **Wireworm Management for North Dakota Field Crops**. North Dakota State University. (Online). Available. <http://www.ag.ndsu.edu/pubs/plantsci.htm>. [1 December, 2001]

- Gould, H. J. (1966). Organophosphorus insecticide resistance in aphids on year-round chrysanthemums. **Plant Pathology** 15(3): 109–112.
- Greg, S. W., S. W. Huang and N. O. Keyhani. (2005). Allergens of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Clin. Mol. Allergy**. 3 (1) : 1-8.
- Gurvinder, K. and V. Padmaja. (2008). Evaluation of *Beauveria bassiana* isolate for virulence against *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae) and their characterization by RAPD-PCR. **African Journal of Microbiological Research** 2: 299-307.
- Ibrahim, L., T. M. Butt, A. Beckett and S.J. Clark. (2007). **The germination of oil-formulated conidia of the insect pathogen, *Metarhizium anisopliae***. (Online). Available. <http://journals.cambridge.org>. [9 February 2007].
- Ignoffo, C.M., C.M. Garcia and M. Couch. (2005) Use of *Thrichoplusia ni* to bioassay conidia of *Beauveria bassiana*. **Journal of Economic Entomology** 93(3): 683-688.
- Jinshui, H., T. Chensheng and J.H. Yuande. (2007). Study on excellent strain of *Beauveria bassiana* against Notodontidae in *Pupalus x euramericana* ant controlling by different formulation in forest. Forest Research, Beijing. 20 (2), 218-223. In **Review of Agricultural Entomology** 95 (10). October 2007.
- Lacey, L.A. ed. (1997). **Manual of techniques in insect pathology**. San Diego: Academic Press. 409 pp.
- McLeod, P. J., D. C. Steinkraus, J. C. Correll and T. E. Morelock. (1998). Prevalence of *Erynia neoaphidis* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) infections of green peach aphid (Homoptera: Aphididae) on spinach in Arkansas River Valley. **Environmental Entomology** 27(3): 796-800.
- Moore, M. S. Bayer (NZ) Ltd and G. C. Hagerty. 2010. **Preliminary advice on minimizing insecticide resistance in lettuce aphids**. (Online). Available. 15 August 2010. <http://www.aphidwatch.com/lettuce/aphid-resis2.pdf>.
- Muehleisen, D.P. (2007). Field efficacy of *Metarhizium anisopliae* alone and in combination with entomopathogenic nematodes against the larval stage of the carrot rust fly *Psila rosae*. **Organic cropping research for the Northwest**. (Online). Available. <http://www.wsu.edu>. [2 May, 2007].

- Rabbengran, N., D.J. Moot. E.E. Jones and A. Stewart. (2000). Inconsistent growth promotion of cabbage and lettuce from *Trichoderma* isolates. **New Zealand Plant Protection** 53: 143-146.
- Poinar, G.O. Jr. and G.M. Thomas. (1984). **Laboratory guide to insect pathogens and parasites**. New York: Plenum Press.
- Posada Flores, F.J. (2008). Production of *Beauveria bassiana* fungal spore on rice to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. **Journal of Insect Science** 8 (4): 1-13.
- Pundt, L. and T.M. Smith. (2005). **Pest Management for vegetable bedding plants**. (Online). Available. <http://www.hortnet.co.nz>. [12 December, 2005].
- Rabbengran, N., D.J. Moot, E.E. Jones and A. Stewart. (2000). Inconsistent growth promotion of cabbage and lettuce from *Trichoderma* isolates. **New Zealand Plant Protection** 53: 143-146.
- Robert, L.H., J.F. Walganbach, M.E. Barbercheck, G.G. Kennedy, G.D. Hoyt and C. Arellano. (2007) Effect of production practices on soil-borne entomopathogens in western North Carolina vegetable system. **Environmental Entomology** 31(1): 84-91.
- Saengyot, S. and B. Napompeth. (2008). Simple technique for mass propagation of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) for microbial control in Thailand. **Journal of International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences (ISSAAS)** 13(3) (Supplement): 96-102.
- Shankar, G., S. Mallikarjunappa, U.G. Bhat and G.N. Kendappa. (1996). *Bacillus thuringiensis* Berliner subspecies kurstaki in the management of diamondback moth in India, pp. 104-108. In: A. Sivapragasam, W.H. Loke, A.K. Hussan and G.S. Lim. (eds.). **Proceedings of the Management of Diamondback Moth and Other Crucifer Pests**. 29 October – 1 November, 1996. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Shu-Sheng, L. and Z. Guang-Mei. (1996). Effect of *Bacillus thuringiensis* on eggs of three lepidopterous pests of crucifer vegetable crops. In: A. Sivapragasam, W.H. Loke, A.K. Hussan and G.S. Lim (eds.). **Proceedings of the Management of Diamondback Moth and Other Crucifer Pests**. 29 October – 1 November 1996. Kuala Lumpur, Malaysia.

- Stavely, F.J.L., J.K. Pell, B. Chapman, T.R. Glare, H. Yeo, D.M. Suckling and M. Walte.
(2007). **Insect pathogens for biological control of the diamondback moth with particular emphasis on the fungus *Zoophthora radicans* in New Zealand.**
(Online). Available. <http://www.regional.org.au/au/esa/2001/10/1003stavely.htm>.
[9 February, 2007].
- Steinhaus, E. A. (1967). **Principle of insect pathology**. New York: Hafner Publishing.
757 pp. (a facsimile of the 1949 edition).
- Tanada, Y. and H.K. Kaya. (1993). **Insect pathology**. San Diego: Academic Press.
666 pp.
- Tinzaara, W., C.S. Gold, M. Dicke, A. Van Huis, C.M. Nankinga, G.H. Kagezi and P.E. Ragama. (2007). The use of aggregation pheromone to enhance dissemination of *Beauveria bassiana* for the control of the banana weevil in Uganda. **Biocontrol Science and Technology** 17(1/2): 111-124.
- Ugine, T.D., S.P. Wraight and J.P. Sanderson. (2007). Effect of manipulating spray-application parameters on efficacy of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, infesting impatiens crops. **Biological Science and Technology** 17(1/2): 193-219.
- Vandenberg, J.D., A.M. Shelton, W.T. Wilsey and M. Ramos. (1998). Assessment of *Beauveria bassiana* sprays for control of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) on crucifers. **Journal of Economic Entomology** 91: 624-630.
- Viaud, M., Y. Couteaudier, C. Levis and G. Roba. (1996). Genome organization in *Beauveria bassiana*: electrophoretic karyotype, gene mapping, and telomeric fingerprint. **Fungal Genetical Biology** 20: 175-183.
- Wickramananda, I.R. (2007). The coconut leaf beetle, *Brontispa longissima*. Indian Coconut Journal 37(9): 20-21. In **Review of Agricultural Entomology** 95 (10), October 2007.
- Wongsiri, N. (1991). **List of insect, mite and other zoological pests of economic plants in Thailand**. Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture, Bangkok.

ภาคผนวก

การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยเริ่มจากการวิเคราะห์ความแปรปรวน
โดยใช้วิธี F-test ดังขั้นตอนต่อไปนี้

1. หา x total =

$$\sum_i^n x$$

2. หาค่า $CF = (\sum x^2)/n$

3. sum of squares total (SS total) = $\sum x^2 - CF$

4. sum of squares of treatment (SS treatment) = $\sum x^2 - CF$

5. SS error = SS total – SS treatment

6. หาค่า mean square (MS) = SS/Df โดยที่ df = n-1

7. หาค่า F = MS treatment / MS error

หาค่า f จากตาราง F-test ของ Fisher ที่ระดับความน่าจะเป็นไปได้ 0.05 ณ degree of freedom error (df error) และหาก ค่า F ที่คำนวณได้มีค่ามากกว่าในตาราง หมายถึงค่าเฉลี่ยในแต่ละ treatment มีความแตกต่างกันตามนัยสำคัญทางสถิติ จากนั้นจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดย

1. คำนวณ standard error ของค่าเฉลี่ย treatment จากสูตร

$$S_m = \sqrt{MS\ error \div Df\ treatment}$$

2. เลือกระดับความน่าจะเป็นไปได้ หาค่าระดับความน่าจะเป็นไปได้ (p) จากตาราง ที่ df error

3. คำนวณค่า Rp จาก $S_m \times p$

4. ทำการเปรียบเทียบ ผลต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ กับค่า Rp ซึ่งหากค่าผลต่างของคู่ใดมีมากกว่าค่า Rp แสดงว่าค่าเฉลี่ยคู่ดังกล่าวมีความแตกต่าง

วิธีการคำนวณค่าต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง

1. ค่าเฉลี่ย $\bar{x} = \frac{x_1+x_2+x_3+....x_n}{N}$

2. ค่า standard deviation (s)

$$S = \sqrt{\sum x^2 \div n - 1}$$

3. ค่า standard error

$$S_{\bar{x}} = s/\sqrt{n}$$

4. ค่า Coefficient of variation (CV)

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อหาความแตกต่างทางสถิติ

1. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) ของหนอนไยผัก
ในสภาพควบคุม

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	4	6408.15	1602.03	53.076**
Error	20	603.67	30.18	
Total	24	7011.82		

ผลการจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

Treatment	N	Subset for alpha 0.05			
		a	b	c	d
Control	5	6.88			
Bb029	5	9.48			
Bb011	5		21.05		
Bb028	5			37.11	
Bb126	5				49.47
Sig.		0.463	1.00	1.00	1.00

2. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) ของหนอนกระตุ้มักในสภาพควบคุม

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	4	212.71	53.17	2.77**
Error	20	382.88	19.14	
Total	24	595.59		

ผลการจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

Treatment	N	Subset for alpha 0.05	
		a	b
Bb028	5	5.94	
control	5	6.96	
Bb029	5	10.07	10.07
Bb126	5	10.86	10.86
Bb011	5		14.12
Sig.		0.18	0.18

3. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) ดัชนีหมัดฝัก
ในสภาพควบคุม

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	4	5127.34	1281.83	146.47**
Error	20	175.02	8.75	
Total	24	5302.36		

ผลการจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

Treatment	N	Subset for alpha 0.05		
		a	b	
control	5	1.43		
Bb029	5	2.48		
Bb028	5		12.91	
Bb011	5		16.37	
Bb126	5			41.05
Sig.		0.54	0.08	1.00

4. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) เพลี้ยอ่อนผัก
ในสภาพควบคุม

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	4	12395.14	3098.78	561.67**
Error	20	110.34	5.51	
Total	24	12505.48		

ผลการจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

Treatment	N	Subset for alpha 0.05				
		a	b	c	d	e
control	5	6.88				
Bb028	5		32.12			
Bb029	5			43.28		
Bb011	5				50.29	
Bb126	5					67.04
Sig.	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

5. เวลาเฉลี่ยถึงการตายร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) ของหนอนไผ่ผัก

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	3	4.55	1.51	0.31Ns
Error	16	76.40	4.77	
Total	19	80.95		

6. เวลาเฉลี่ยถึงการตายร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) ของหนอนกระทู้ผักในสภาพควบคุม

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	3	0.95	0.31	0.36Ns
Error	16	14.00	0.85	
Total	19	14.95		

7. เวลาเฉลี่ยถึงการตายร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) ของด้วงหมัดผัก ในสภาพควบคุม

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	3	3.75	1.25	0.26Ns
Error	16	74.80	4.67	
Total	19	78.55		

8. เวลาเฉลี่ยถึงการตายร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) ของเพลี้ยอ่อนผัก

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	3	3.60	1.20	0.46 Ns
Error	16	21.60	1.35	
Total	19	25.20		

9. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) ของหนอนโย
ผัก ในเรือนทดลอง

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	7	36043.58	5149.18	181.22**
Error	32	909.22	28.41	
Total	39	36953.80		
CV				

ผลการจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

Treatment	N	Subset for alpha = .05				
		a	b	c	d	e
7.00	5	2.8000				
2.00	5		39.6240			
4.00	5		45.5668			
6.00	5			61.1438		
1.00	5				76.2000	
5.00	5					89.9160
3.00	5					91.4400
8.00	5					95.0000
Sig.		1.000	.087	1.000	1.000	.164

10. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) ของหนอน
กระทุ้งในเรือทดลอง

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	7	23504.19	3375.74	237.31**
Error	32	452.76	14.14	
Total	39	23956.96		

ผลการจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

Treatment	N	Subset for alpha = .05					
		a	b	c	d	e	f
7.00	5	1.0988					
2.00	5		21.7113				
4.00	5		24.9680				
6.00	5			33.5023			
1.00	5				41.7526		
5.00	5					49.2680	
3.00	5					50.1031	
8.00	5						89.0207
Sig.		1.000	.181	1.000	1.000	.728	1.000

11. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) ของด้วงหมัด
ผัก ในเรือนทดลอง

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	7	22144.98	3163.56	35.92**
Error	32	2817.71	88.05	
Total	39	24962.7		

ผลการจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

Treatment	N	Subset for alpha = .05					
		a	b	c	d	e	f
7.00	5	1.8435					
2.00	5		25.3884				
4.00	5		29.1967	29.1967			
6.00	5			39.1763	39.1763		
1.00	5				48.8239	48.8239	
5.00	5					57.6122	
3.00	5					58.5887	
8.00	5						84.5880
Sig.		1.000	.526	.102	.114	.129	1.000

12. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) ของ
เพลี้ยอ่อนผัก ในเรือนทดลอง

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	7	26086.24	3726.60	172.21**
Error	32	692.45	21.63	
Total	39	26778.69		

ผลการจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

Treatment	N	Subset for alpha = .05					
		a	b	c	d	e	f
7.00	5	16.3481					
2.00	5		36.4000				
4.00	5		41.8600				
6.00	5			56.1680			
1.00	5				70.0000		
5.00	5					82.6000	
3.00	5					84.0000	
8.00	5						95.0000
Sig.		1.000	.073	1.000	1.000	.637	1.000

13. เวลาเฉลี่ยถึงการตายร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD 5₀) ของหนอนโยผักใน
เรือนทดลอง

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	7	619.90	88.55	47.86**
Error	32	59.20	1.85	
Total	39	679.10		

ผลการจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

Treatment	N	Subset for alpha = .05				
		a	b	c	d	e
8.00	5	2.0000				
2.00	5		3.8000			
1.00	5		4.2000	4.2000		
5.00	5		4.8000	4.8000		
6.00	5		5.2000	5.2000		
3.00	5			6.0000	6.0000	
4.00	5				7.4000	
7.00	5					15.8000
Sig.		1.000	.146	.063	.113	1.000

14. เวลาเฉลี่ยถึงการตายร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD 5₀) ของหนอนกระทุ้ผักใน
เรือนทดลอง

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	7	361.20	51.60	71.17**
Error	32	23.20	0.72	
Total	39	384.40		

ผลการจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

Treatment	N	Subset for alpha = .05			
		a	b	c	d
7.00	5	.0000			
8.00	5		2.4000		
3.00	5			7.0000	
5.00	5			7.0000	
1.00	5			8.0000	8.0000
2.00	5			8.0000	8.0000
6.00	5				8.4000
4.00	5				8.8000
Sig.		1.000	1.000	.098	.185

15. เวลาเฉลี่ยถึงการตายร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) ของด้วงหมัดผักใน
เรือนทดลอง

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	7	3360.37	480.05	263.04**
Error	32	58.40	1.82	
Total	39	3418.75		

ผลการจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

Treatment	N	Subset for alpha = .05				
		a	b	c	d	e
8.00	5	2.0000				
5.00	5		4.4000			
6.00	5		5.2000			
3.00	5		6.0000	6.0000		
4.00	5			7.6000	7.6000	
2.00	5				8.0000	
1.00	5				8.4000	
7.00	5					33.0000
Sig.		1.000	.085	.070	.385	1.000

16. เวลาเฉลี่ยถึงการตายร้อยละ 50 (Mean time to death – MTD₅₀) ของเพลี้ยอ่อนผักใน
เรือนทดลอง

ANOVA

Source	df	Sum of squares (SS)	Mean square (MS)	F
Treatment	7	1750.17	250.02	95.70**
Error	32	83.60	2.61	
Total	39	1833.77		

ผลการจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

Treatment	N	Subset for alpha = .05				
		a	b	c	d	e
8.00	5	1.4000				
2.00	5	2.2000				
1.00	5	3.0000	3.0000			
5.00	5		4.4000	4.4000		
3.00	5			5.2000		
6.00	5			5.6000	5.6000	
4.00	5				7.4000	
7.00	5					23.4000
Sig.		.149	.180	.277	.088	1.000

หมายเหตุ Treatment ที่ 1 - 8 ได้แก่

- การใช้เชื้อรา *B. bassiana* แบบผสมน้ำ ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr1)
- การใช้เชื้อรา *B. bassiana* แบบผสมน้ำมัน ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr2)
- การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำ *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตรผสมน้ำรวมกับการพ่นเชื้อ *Bt.* สูตรสำเร็จที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr3)
- การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำมัน *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตรผสมน้ำรวมกับการพ่นเชื้อ *Bt.* สูตรสำเร็จที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr4)
- การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำ *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตรผสมน้ำรวมกับการพ่นเชื้อ *Metarhizium sp.* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr5)
- การพ่นเชื้อราแบบผสมน้ำมัน *B. bassiana* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตรผสมน้ำรวมกับการพ่นเชื้อ *Metarhizium sp.* ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นทางใบทุก 7 วัน หลังต้นกล้าออก (Tr6)
- พ่นน้ำเปล่า พ่นทางใบทุก 7 วันหลังต้นกล้าออก (Tr8)
- การใช้สารเคมีตามปกติ ตามโปรแกรมที่ใช้กับพืชผักวงกะหล่ำ โดยทั่วไป โดยใช้สาร อะบาเมคติน ในอัตรา 20 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร สารเคมีป้องกันกำจัดแมลง ในอัตรา 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร สารโพรฟิโนฟอส อัตรา 30 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร และโพรไทโอฟอส 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร สำหรับหนอนไผ่ฝัก หนอนกระทุ้งฝัก ดัวงหมัดฝัก และ เพลี้ยอ่อนฝัก ตามลำดับ