

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

เพลี้ยอ่อน (*Aphis* spp., Hemiptera: Aphididae) เป็นแมลงศัตรูพืชชนิดหนึ่ง ซึ่งมีผลต่อการปลูกพืชผักหลายชนิด โดยตัวอย่างเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชผักที่มีรายงานในประเทศไทย ได้แก่ เพลี้ยอ่อนผัก (*Liphaphis erysimi*) ที่ลงทำลายพืชผักวงศ์กะหล่ำ (Cruciferae) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Myzus persicae*) เพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii*) ซึ่งลงทำลายพืชผักในวงศ์ Solanaceae เช่น พริก และมะเขือชนิดต่างๆ และเพลี้ยอ่อนถั่วเหลือง (*Aphis craccivora*) และเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*) ซึ่งลงทำลายถั่วฝักยาวและถั่วซึ่งเป็นพืชผัก เป็นต้น ทั้งนี้สิ่งที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ การที่เพลี้ยอ่อนที่กล่าวมาข้างต้นบางชนิดเป็นแมลงที่ทำลายพืชได้หลายชนิด (polyphagous insects) อีกทั้งมีรายงานอ้างว่าเพลี้ยอ่อนสามารถทำความเสียหายให้กับผลผลิตได้ถึง 12.79 ถึง 61.07 เปอร์เซ็นต์ (El-Defrawi & El-Harty, 2010) ซึ่งการทำลายของเพลี้ยอ่อน อาจเกิดจากการทำลายโดยตรงจากการดูดน้ำเลี้ยงในบริเวณ ยอด ใบ ดอก และผล ทำให้ส่วนที่ถูกทำลายผิดรูป ผลผลิตมีตำหนิ มีการเกิดราดำ (sooty mold) ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด หรือ ตลอดจนการนำเชื้อไวรัสโรคพืชมาสู่พืช ซึ่งหากพบการทำลายในระดับสูง อาจมีผลทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Fang et al., 1985; Clark & Perry, 2002, p. 1219-1222; Wang et al., 1998.) ด้วยเหตุนี้เพลี้ยอ่อนจึงเป็นแมลงศัตรูพืชผักที่สำคัญชนิดหนึ่ง ซึ่งมีผลกระทบต่อการผลิตพืชผลทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ

ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อน โดยการใช้สารเคมีจะไม่เหมาะสม เพราะก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อมนุษย์และเกิดสารพิษตกค้างในอาหารและสภาพแวดล้อม (food and environmental residues) อีกทั้งเป็นการทำลายแมลงศัตรูธรรมชาติและแมลงอื่นที่เป็นประโยชน์ในระบบนิเวศ รวมทั้งอาจก่อปัญหาการดื้อยาของศัตรูพืช (pest resistance) และทำให้ศัตรูพืชบางชนิดที่ไม่เคยมีการระบาดมาก่อน ระบาดสูงขึ้นจนกลายเป็นศัตรูพืชที่สำคัญ (pest resurgence) ได้ อนึ่ง ในปัจจุบันผู้บริโภคได้ให้ความสำคัญต่อความปลอดภัยของผลผลิตและอาหารเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ โดยมีมาตรการการตรวจสอบที่เข้มงวด และ หลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นการใช้ประโยชน์จาก เชื้อโรคแมลง (entomopathogens) ซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติ (natural enemies) ที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติ และยังเป็นปัจจัยการผลิตภายในระบบการเกษตรที่สามารถฟื้นฟูได้ (renewable) และ เพิ่มปริมาณให้มากขึ้นได้ จะเป็นการสอดคล้องกับเกษตรทางเลือกแบบเกษตรยั่งยืน (sustainable agriculture) (ชัยวุฒิ ชัยพันธุ์, 2542) และเกษตรอินทรีย์ ในบริบทของเศรษฐกิจเพียงพอ โดยในที่นี่ เชื้อรา *Pandora (Erynia) neoaphidis* (Remaudière & Hennebert) Humber เป็นเชื้อราโรคแมลงชนิดหนึ่ง ซึ่งมีรายงานอ้างว่ามีการแพร่กระจาย ทำลายและควบคุมประชากรของเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชหลายชนิด (Leskovar & Black, 1994; Wilding & Brady, 1984.) โดยในประเทศไทย ถึงแม้ว่าจะมีการสำรวจพบเชื้อราดังกล่าวทำลายเพลี้ยอ่อนศัตรูผักเช่นกัน (ศมาพร แสงยศ และคณะ, 2549) แต่แม้กระนั้นก็ตาม ยังไม่มีรายงานวิจัยด้านการทดสอบ

การใช้เชื้อราโรคแมลงชนิดต่างๆ มาใช้ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูผักในประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการนำเชื้อราโรคแมลงสายพันธุ์ท้องถิ่น ดังนั้น เพื่อเป็นการศึกษาความเป็นไปได้ ในการนำเชื้อรา *P. neoaphidis* ซึ่งเป็นทรัพยากรจุลินทรีย์ในท้องถิ่นมาใช้ประโยชน์ เพื่อลดต้นทุนการผลิต รวมทั้งลดความเสี่ยงจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงของเกษตรกรรายย่อยในประเทศไทย โครงการวิจัยนี้ จึงดำเนินการวิจัยโดยเริ่มจากการรวบรวมไอโซเลทของเชื้อรา *P. neoaphidis* สายพันธุ์ท้องถิ่นที่พบทำลายเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชผักในแปลงปลูก ในพื้นที่จังหวัดภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ เชียงราย พะเยา เชียงใหม่ ลำพูน และลำปาง ทำการจำแนกชนิด ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา ศึกษาวิธีแยกเชื้อบริสุทธิ์และเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อรา *P. neoaphidis* บนอาหารเทียม จากนั้นนำมาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการก่อโรคแก่เพลี้ยอ่อนศัตรูผักในเป้าหมายในระดับห้องปฏิบัติการ จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยอ่อนผัก (L.erysimi) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (M.persicae) และเพลี้ยอ่อนถั่วเหลือง (A. craccivora) หรือ เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (A.fabae) เพื่อคัดเลือกเชื้อราไอโซเลทซึ่งมีประสิทธิภาพสูงสำหรับการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชผักที่ทดสอบในห้องปฏิบัติการ เพื่อการศึกษาต่อยอดในระดับเรือนทดลอง และแปลงทดลอง และเพื่อเป็นข้อมูลต้นแบบและองค์ความรู้ ซึ่งมีคุณค่าด้านสังคมเศรษฐกิจ (socio-economic aspect) และเป็นการนำทรัพยากรท้องถิ่นมาใช้เป็นส่วนหนึ่งของฐานการผลิตทางการเกษตรอย่างปลอดภัย บนพื้นฐานและบริบทของความยั่งยืน และเศรษฐกิจพอเพียงต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. รวบรวมสายพันธุ์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ซึ่งทำลายพืชผักเพิ่มเติม ในพื้นที่ปลูกพืชผัก ในจังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน และ ลำปาง
2. จำแนกชนิด และศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อรา *P. neoaphidis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ เพื่อเป็นแนวทางสำหรับการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ
3. คัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* สายพันธุ์ท้องถิ่น ที่มีประสิทธิภาพสูง ในการควบคุมเพลี้ยเพลี้ยอ่อนศัตรูผักซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Myzus persicae*) และ เพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* หรือ *A. fabae*) ในระดับห้องปฏิบัติการ
4. ประเมินอัตราความเข้มข้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลทท้องถิ่นไอโซเลทซึ่งมี ประสิทธิภาพสูง ที่ก่อให้เกิดการตายเพลี้ยไฟฟริก ที่ระดับที่ร้อยละ 50 (LC₅₀) และ/ หรือ 90 (LC₉₀) ในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ในระดับขยายผล
5. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลทท้องถิ่นไอโซเลทซึ่งมี ประสิทธิภาพสูง ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูผักซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนผัก (*L. erysimi*) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*M. persicae*) และเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*A. fabae*) ในระดับ เรือนทดลอง

6. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลทท้องถิ่น ไอโซเลทซึ่งมี ประสิทธิภาพสูง ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูผักซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนผัก (*L. erysimi*) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*M. persicae*) และเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*A. fabae*) ในระดับแปลงปลูก

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ในปีแรกของโครงการวิจัย (ปีงบประมาณ พ.ศ. 2558) การดำเนินงานมีขอบเขตตั้งแต่ การสำรวจและรวบรวมตัวอย่างเชื้อรา *Pandora neoaphidis* โรคแมลงซึ่งก่อโรคกับเพลี้ยอ่อนศัตรู ผัก ซึ่งทำลายพืชผักวงศ์กะหล่ำ พริก และ มะเขือ ในแปลงเกษตรกร ในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน และลำปาง เพิ่มเติมจากที่มีอยู่แล้วจากโครงการที่เคยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยในเรื่อง การ ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมและความรุนแรงในระดับ โมเลกุลของเชื้อรา *Erynia neoaphidis* Remaudière and Hennebert (Entomophthorales: Entomophthoraceae) ซึ่ง ใช้ประโยชน์ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชผักวงศ์กะหล่ำอย่างยั่งยืน **ซึ่งเคยได้รับงบประมาณ อุดหนุนการวิจัยในปีงบประมาณ 2555** โดยการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราแต่ละชนิด การแยกเชื้อบริสุทธิ์และเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณโดยใช้อาหารเทียมที่เหมาะสม การคัดเลือกเชื้อรา ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูผักจำนวน 3 ชนิดได้แก่ เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Mizus persicae*) เพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) และเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora*) หรือ เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*) โดยพิจารณาจาก เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของเพลี้ยอ่อนแต่ละ ชนิด (Percent Cumulative Mortality - PCM) และเวลาเฉลี่ยการตาย (Mean Time to Death - MTD) ในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งผลการดำเนินงานได้นำมาศึกษาในระยะขยายผลใน **ในปีที่สองของ โครงการวิจัย (ปีงบประมาณ พ.ศ. 2559)** โดยได้มีการประเมินค่าความเข้มข้นที่ก่อการตายต่อเพลี้ย อ่อนแต่ละชนิด ที่ระดับ 50 และ/ หรือ 90 เปอร์เซ็นต์ ของเชื้อราชนิดและสายพันธุ์ที่ได้รับการ คัดเลือก การทดสอบนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูผักในเป้าหมายในระดับเรือน ทดลอง และแปลงปลูกโดยพิจารณาจากการตายและการเพิ่มจำนวนประชากรของเพลี้ยอ่อน เปรียบเทียบปริมาณประชากรของเพลี้ยอ่อนชนิดที่ทดสอบ ในแปลงที่มีการใช้เชื้อรา *P. neoaphidis* และไม่ใช่เปรียบเทียบของการควบคุมศัตรูพืชโดยใช้สารเคมี ต่อจากนั้น จึงจะสังเคราะห์และ วิเคราะห์ข้อมูล เพื่อจัดทำเป็นรายงานวิชาการ เกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากเชื้อรา *P. neoaphidis* ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูผักชนิดเป้าหมาย

1.4 สมมติฐานการวิจัย

เพลี้ยอ่อนศัตรูพืชผัก ซึ่งโดยมากได้แก่ เพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Mizus persicae*) และเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชวงศ์ถั่ว ซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora*) และเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*) เป็นแมลงศัตรูพืชที่ก่อความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจหลายชนิดทั้งในประเทศไทยเอง และในต่างประเทศ จึงถือได้ว่าเป็นแมลงสำคัญที่มีทั้งผลต่อการลดศักยภาพการผลิตทางการเกษตรของเกษตรกรรายย่อย และโดยภาพรวมของประเทศ ปัจจุบันภาครัฐและหลายภาคส่วน มีความพยายามในการลดการใช้สารเคมีเพื่อสร้างความเข้มแข็งภาคเกษตร และความมั่นคงทางอาหารของประเทศ ดังนั้น จึงควรมีวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่มนี้อย่างเหมาะสม และสอดคล้องกับแนวทางการพัฒนาประเทศ โดยคำนึงถึงผลกระทบในด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อมพร้อมกันไป การใช้ประโยชน์จากเชื้อราโรคแมลง จึงเป็นแนวทางหนึ่งของการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี (Biological control) ซึ่งสามารถนำมาใช้ร่วมกับวิธีการควบคุมวิธีอื่นๆ ในแนวทางการบริหารจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการ (Integrated pest management - IPM) ได้เป็นอย่างดี อีกทั้งเชื้อราโรคแมลงเป็นทรัพยากรจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ ที่นับได้ว่าเป็นต้นทุนตามธรรมชาติ ซึ่งสามารถนำมาใช้ในระบบการควบคุมศัตรูพืชที่เน้นการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติ ให้เกิดประโยชน์สูงสุด เป็นทรัพยากรที่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก (renewable resources) ดังนั้น การศึกษาการนำเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมเพลี้ยอ่อน จึงน่าจะเป็นเป็นกลยุทธ์หนึ่งในการที่จะก่อให้เกิดทางเลือก (alternatives) ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่ประหยัด และปลอดภัย เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และเป็นปัจจัยการผลิตภายในท้องถิ่น ซึ่งน่าจะมีส่วนเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน และความเข้มแข็งของภาคเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกษตรกรรายย่อยในอนาคตได้

1.5 คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี (Biological control) หมายถึง การควบคุมจำนวนพืชหรือสัตว์ โดยปัจจัยที่ทำให้ตายเป็นสิ่งมีชีวิต ได้แก่ ศัตรูธรรมชาติ เช่น ตัวห้ำ ตัวเบียน และเชื้อโรค รวมไปถึงการที่มนุษย์นำศัตรูธรรมชาติมาใช้ในการควบคุมจำนวนของศัตรูพืช หรือ วัชพืช ด้วยการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยจุลินทรีย์ (microbial control)

การเกษตรแบบยั่งยืน (Sustainable agriculture) หมายถึง การทำการเกษตรโดยไม่ทำลายทรัพยากรธรรมชาติ และสภาพแวดล้อม เช่น การเลือกปลูกพืชผักโดยวิธีธรรมชาติ โดยการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ ไม่ใช้ปุ๋ยเคมี หรือสารเคมีสังเคราะห์ในการควบคุมศัตรูพืช

การควบคุมโดยธรรมชาติ (Natural control) หมายถึง การควบคุมซึ่งเกิดจากการกระทำร่วมกันของปัจจัยต่างๆ ในสภาพแวดล้อม ทั้งเป็นสิ่งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต เพื่อรักษาระดับประชากรของสิ่งมีชีวิตที่ถูกควบคุมให้อยู่ระหว่างขีดจำกัดสูงและขีดจำกัดต่ำ (upper and lower limits) ในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent cumulative mortality - PCM) หมายถึง เปอร์เซ็นต์ หรือ ร้อยละของการตายสะสม ของแมลงเป้าหมาย ในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่งที่กำหนด จากสาเหตุที่กำหนด เช่น จากการได้รับสารพิษ

การควบคุมโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ (Microbial control) คือ วิธีการควบคุมศัตรูพืชวิธีหนึ่ง ของการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี (Biological control) หมายถึง การควบคุมโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ (pathogens) โดยมนุษย์ ในการควบคุม และรักษาระดับจำนวน หรือปริมาณของสัตว์ (หรือพืช) ในพื้นที่หนึ่ง หรือในประชากร กลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง

ความเข้มข้นที่ทำให้แมลงตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (Lethal concentration 50 - LC₅₀) หมายถึง ความเข้มข้นของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงหรือยาเชื้อที่มีผลให้แมลงที่ได้รับสารนั้น ๆ ตายไป 50 เปอร์เซ็นต์

ความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity) หมายถึง ระดับของความสามารถของจุลินทรีย์ ในการเป็นสาเหตุของโรค หรือความสามารถของเชื้อในการเอาชนะความต้านทานของเมตาบอลิซึมของตัวอาศัยของเชื้อนั้น ๆ

เชื้อราโรคของแมลง (Entomopathogenic fungi) คือ เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในแมลงชนิดต่างๆ เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง ที่พบได้โดยทั่วไปตามธรรมชาติ ก่อโรคโดยการทำให้แมลงติดเชื้อ เข้าทำลายอวัยวะต่างๆ ของแมลง และทำให้แมลงตายในที่สุด

แมลงที่กินพืชได้หลายอย่าง (Polyphagous insects) หมายถึง แมลงที่สามารถกินพืชได้หลากหลายชนิด ซึ่งพืชอาหารของแมลงกลุ่มนี้อันมีความแตกต่างถึงระดับวงศ์ (Family)

ยาเชื้อ (Microbial pesticide) หมายถึง สารกำจัดศัตรูพืช ที่ผลิตขึ้นมาด้วยการใช้เชื้อจุลินทรีย์จากธรรมชาติ หรือ สารพิษที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นมา สำหรับใช้ในการควบคุมศัตรูพืช

เวลาเฉลี่ยเวลาถึงการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (Mean time to death - MTD₅₀) หมายถึง เวลาเฉลี่ยที่เชื้อราโรคแมลง หรือ สารเคมีที่ทดสอบ ทำให้แมลงตาย 50 เปอร์เซ็นต์

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถรวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคเพลี้ยอ่อน *Pandora neoaphidis* ที่ก่อโรคกับเพลี้ยอ่อนในแปลงปลูกผักในพื้นที่ ในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน และลำปางเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูผักบางชนิด

2. สามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ และคัดเลือกเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลทส์ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูผักซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Mizus persicae*) และเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชวงศ์ถั่ว ซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora*) หรือ เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*A. fabae*) ในระดับห้องปฏิบัติการ

3. สามารถวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของเชื้อรา *P. neoaphidis* ซึ่งทำให้แมลงเป้าหมายตาย 50 และ/หรือ 90 เปอร์เซ็นต์ในระดับห้องปฏิบัติการ สำหรับการขยายผลการทดสอบในระดับเรือนทดลองและแปลงปลูก เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนาเป็นยาเชื้อเพื่อการค้าในอนาคต

4. ทราบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูผักซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนผัก (*L. erysimi*) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*M. persicae*) และเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชวงศ์ถั่ว ซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora*) หรือ เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*A. fabae*) ในระดับเรือนทดลอง

5. ทราบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูผักซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนผัก (*L. erysimi*) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*M. persicae*) เพลี้ยอ่อนศัตรูพืชวงศ์ถั่ว ซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora*) หรือ เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*A. fabae*) ในระดับแปลงปลูก

6. ได้องค์ความรู้เกี่ยวกับประสิทธิภาพและทราบความเป็นไปได้ในการนำเชื้อรา *P. neoaphidis* มาใช้ประโยชน์ควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูผัก เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการตัดสินใจใช้เชื้อราโรคแมลงชนิดนี้มาใช้ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชแบบปลอดภัยจากสารพิษ

7. ได้สร้างนักวิจัยรุ่นใหม่ 1 ท่าน คือ อาจารย์รัตติ เมฆวิสัย

หน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยของโครงการนี้ไปใช้ประโยชน์ ได้แก่ หน่วยงานต่าง ๆ ที่ทำงานเกี่ยวข้องกับการควบคุมแมลงศัตรูพืช และการบริหารจัดการศัตรูพืช เช่น กรมส่งเสริมการเกษตร กรมวิชาการเกษตร หน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา และใช้ประโยชน์จุลินทรีย์ รวมทั้งสถาบันที่มีการเรียนการสอน และการฝึกอบรมเกี่ยวกับการควบคุมศัตรูพืชโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ การผลิตอาหารที่ปลอดภัยจากสารพิษ รวมทั้งการทำการเกษตรโดยอาศัยหลักธรรมชาติ และการเกษตรแบบยั่งยืน

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เพลี้ยอ่อนศัตรูพืชในเป้าหมาย

โดยทั่วไป เพลี้ยอ่อน (*Aphis* spp., Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphididae) เป็นแมลงศัตรูพืชทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย (Hill, 1997; El-Defrawi and El-Harty, 2010, p. 1523-1530) เป็นแมลงปากดูดขนาดเล็ก (ขนาดลำตัวกว้าง x ยาว ประมาณ 0.2-0.3 เซนติเมตร) มีปากประเภทปากดูด (sucking type) เป็นแมลงที่สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) และ ไม่อาศัยเพศเป็นการสืบพันธุ์ไร้การปฏิสนธิ (parthenogenesis) โดยออกลูกเป็นตัว ทั้งนี้เพลี้ยอ่อนตัวเมียในระยะมีปีกซึ่งสามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ เรียกว่า pterae และตัวเมียที่ไม่มีปีกเรียกว่า alate หลายชนิดเป็นแมลงที่ทำลายพืชได้หลากหลายชนิด (polyphagous insect) เพลี้ยอ่อนมีการระบาดทำความเสียหายให้กับพืชทุกช่วงอายุ โดยเฉพาะในช่วงที่มีสภาพอากาศแห้งแล้งหรือฝนทิ้งช่วง โดยมีรายงานอ้างว่าในประเทศไทย เพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Myzus persicae*) เพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii*) และ เพลี้ยอ่อนศัตรูพืชวงศ์ถั่ว (*Aphis craccivora* และ *Aphis fabae*) เป็นแมลงศัตรูที่พบทำลายพืชปลูกหลายชนิด เช่น พืชผักวงศ์กะหล่ำ (Cruciferae) ได้แก่ คะน้า กะหล่ำ กวางตุ้ง และ บรอกโคลี วงศ์มะเขือ (Solanaceae) ได้แก่ พริกชนิดต่างๆ มะเขือเทศ มะเขือเปราะ และมะเขือยาว และวงศ์ถั่ว (Leguminosae) ได้แก่ ถั่วฝักยาว และ ถั่วพุ่ม

ในธรรมชาติ มดเป็นปัจจัยช่วยในการระบาดของเพลี้ยอ่อน โดยมดอาศัยกินน้ำหวาน (honeydew) ที่เพลี้ยอ่อนถ่ายออกมา ทำให้เกิดราดำ ซึ่งหากมีการลงทำลายที่รุนแรง จะส่งผลให้ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย ร่วง แคระแกรน ไม่ให้ผลผลิต ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด ทั้งนี้ระดับความเสียหายของพืช จะขึ้นกับระยะการเจริญ หรือส่วนที่ถูกทำลาย ในอีกทางหนึ่งซึ่งสำคัญอย่างมาก มีรายงานว่าเพลี้ยอ่อนเป็นแมลงพาหะนำเชื้อไวรัสโรคพืชหลายชนิด เช่น โรคไวรัสใบหงิกพริก (chili leaf curl virus - CLCV) (ภาพที่ 2.1) โรคไวรัสใบด่างในถั่วอัลฟัลฟา (Alfalfa mosaic virus - AMV) โรคไวรัสใบด่างในแตง (Cucumber mosaic virus-CMV) โรคไวรัสในถั่วลิสง (Peanut mottle virus - PMV) โรคใบด่างถั่วเหลือง (Soybean mosaic virus - SMV) โรคไวรัสใบด่างยาสูบ (Tobacco ring spot virus - TRSV) และ โรคไวรัส Hyoscyamus virus III (henbane mosaic potyvirus - HMV) (Clark and Perry, 2002; Fang et al., 1985; Sánchez et al., 2001; Wang et al., 1998) รวมทั้งมีรายงานว่าเพลี้ยอ่อนเป็นแมลงที่มีการพัฒนาต้านทานสารเคมีฆ่าแมลง โดยเฉพาะในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตส์ (organophosphates) ได้เร็วและในความถี่ที่สูง (Amad et al., 2003; Gould, 1966) ดังนั้น เพลี้ยอ่อนจึงเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่อศักยภาพในการผลิตของภาคเกษตรของประเทศชนิดหนึ่ง

เพลี้ยอ่อนผักกาด (*Lipaphis erysimi*) (ภาพที่ 2.2) หรือ ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ คือ mustar aphid หรือ turnip aphid ตัวเมียระยะไม่มีปีกมีสีเขียวอมเหลือง เขียวเทาถึงเขียวมะกอก ปกคลุมด้วยขี้ผึ้งสีขาวโดยเฉพาะในช่วงที่มีอากาศชื้น ผงขี้ผึ้งสีขาวดังกล่าวจะมีความหนาแน่นมาก ตัวเมียระยะมีปีกมีท้องสีเขียวหม่น (dusky green) และมีแถบสีเข้มด้านข้างแบ่งส่วนลำตัวด้านล่าง และด้านบน หนวดของเพลี้ยอ่อนชนิดนี้มีสีเข้มบริเวณฐานปีก โดยตัวที่ไม่มีปีกจะมีความยาวของหนวดประมาณ 1.4-2.2 มิลลิเมตร และเพลี้ยอ่อนเพศเมียที่ลอกคราบถึงระยะตัวเต็มวัยแล้ว 1-2 วัน จะเริ่มผลิตรุ่นลูก โดยมีระยะสืบพันธุ์นี้เป็นเวลา 13-20 วัน และตัวเมียที่ไม่มีปีกแต่ละตัวสามารถผลิตลูกได้ 70-87 ตัวตลอดชั่วอายุขัย ส่วนตัวเมียที่มีปีกจะผลิตลูกได้ 31-40 ตัวตลอดชั่วอายุขัย ส่วนเพลี้ยอ่อนผักกาดตัวผู้จะมีสีเขียวมะกอกถึงสีน้ำตาล มีขนาดเล็กกว่าตัวเมีย มีขนาด 1.20-1.35 (Rirkviree, 1967; Bänziger, 1976, 1977; Blackman & Eastop, 2000) นอกจากนี้ในประเทศไทย ได้มีการอธิบายลักษณะของเพลี้ยอ่อนผักไว้คือตัวอ่อนในระยะที่ไม่มีปีก มีขนาดเล็กสีเขียวอ่อน มีรูปร่างลักษณะคล้ายตัวเต็มวัย และมีการลอกคราบจำนวน 4 ครั้ง ภายในเวลา 5-6 วันและมีสีเข้มขึ้นตามวัยที่เพิ่มขึ้น เมื่ออยู่ในระยะตัวเต็มสามารถออกลูกได้ 6-11 ตัวต่อวันต่อตัว ระยะเป็นตัวอ่อนจะมีการลอกคราบ 4 ครั้ง ตัวอ่อนมีอายุประมาณ 5-6 วัน หลังจากนั้นจะเป็นตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยของเพลี้ยอ่อนผักกาดมีทั้งมีปีกและไม่มีปีก พวกที่ไม่มีปีกมีหนวด 6 ปล้อง หนวดปล้องแรกและปล้องที่สองสั้นสีเขียวอ่อน ปล้องที่สามและปล้องถัดไปจะมีสีเข้มและมีขนาดยาวขึ้นเรื่อย ปากมี 5 ปล้องสีเหลืองอ่อน ปลายปากสีดำ ตาสีดำ ปลายขาเหยียดตรง ส่วนท้องสีเขียวอ่อน สำหรับตัวเต็มวัยที่มีปีกจะมีลักษณะคล้ายกับพวกไม่มีปีก ลักษณะที่ต่างออกไปคือหนวดปล้องแรกและปล้องที่สองมีสีค่อนข้างดำ ปล้องที่สามมีสีดำปนเขียว ปล้องที่อยู่ถัดไปมีสีเขียวอ่อน หัวและอกสีดำ มีปีกบางใส 2 คู่ ขาทั้ง 3 คู่ค่อนข้างยาว ระยะตัวเต็มวัยมีชีวิตอยู่ได้นาน 6-18 วัน ตัวเต็มวัยตัวหนึ่งๆ สามารถออกลูกได้ตลอดชีวิตได้ประมาณ 75 ตัว (กรมส่งเสริมการเกษตร, มปป.) และพืชอาศัยที่มีรายงานอ้างว่าเพลี้ยอ่อนผักกาดลงทำลายได้แก่ บร็อคโคลี่ กะหล่ำ ผักกาดขาว ผักกาดกวางตุ้ง มัสตาร์ด แรดิช มะเขือ และแตงกวาญี่ปุ่น (zucchini) ซึ่งชนิดของพืชอาศัยจะมีผลต่อชีววิทยาของเพลี้ยอ่อนผักกาด (Blackman & Eastop, 2000) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (green peach aphid, tobacco aphid) (*Myzus persicae*) (ภาพที่ 2.3) ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ไม่มีปีก และสามารถสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศได้มีรูปร่างแบบรูไข่ ขนาด 1.2-2.1 มิลลิเมตร และมีสีค่อนข้างหลากหลาย เช่นเขียวอ่อน เหลืองอ่อนถึงเขียว เทาเขียว เขียวกลาง เขียวเข้ม ชมพู หรือแดง โดยกลุ่มที่ทำลายยาสูบอาจมีสีเหลืองสด หรือเกือบดำ และในบางสายพันธุ์อาจมีสีเขียวเข้มมากในช่วงหนาว ระยะตัวอ่อนผิวค่อนข้างมัน แต่ตัวเต็มวัยผิวไม่มันเท่า ระยะมีปีกจะมีจุดสีดำตรงสันหลังส่วนท้อง และตัวเมียระยะมีปีกซึ่งเป็นตัวอ่อนมักมีสีชมพูหรือแดง โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่พบในฤดูแล้ง ส่วนตัวผู้ระยะตัวอ่อนจะมีสีเหลือง (Blackman & Eastop, 1984.)

เพลี้ยอ่อนลูกท้อทำลายพืชได้ทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย โดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากถุงเซลล์ (cell sap) ของใบอ่อน ดอก และ ผลอ่อน ทำให้ส่วนต่างๆ ของพืชเหล่านี้มีลักษณะผิดปกติ (malformation) (Carter, 1962) (ภาพที่ 3.2) ทำลายพืชได้หลากหลายชนิดในหลายวงศ์ ได้แก่ บร็อคโคลี่ โกโบ้ (burdock) (*Arctium lappa*) กะหล่ำ แครอท กะหล่ำดอก หัวผักกาดไชเท้า (daikon) (*Raphanus sativus*) มะเขือ กะหล่ำปม สลัด มะคาเดเมีย มัสตาร์ด มะละกอ พริก มัน

เทศ มะเขือเทศ ผักสลัดน้ำ (watercress) (*Nasturtium officinale*) และ แตงกวาญี่ปุ่น (zucchini) นอกจากนี้ยังทำลายพืชสวน เช่น คาร์เนชั่น เบญจมาศ กะหล่ำดอกประดับ (flowering white cabbage) ต้นคริสต์มาส (poinsettia) (*Euphorbia pulcherrima*) และกุหลาบ และการทำลายพืชโดยเพลี้ยอ่อนในอีกทางหนึ่งซึ่งสำคัญอย่างมากคือ มีรายงานว่าเพลี้ยอ่อนเป็นแมลงพาหะนำเชื้อไวรัสโรคพืชหลายชนิด เช่น โรคไวรัสใบหงิกพริก (chili leaf curl virus - CLCV) โรคไวรัสใบด่างในอัลฟาฟ่า (Alfalfa mosaic virus - AMV) โรคไวรัสใบด่างในแตง (Cucumber mosaic virus - CMV) โรคไวรัสในถั่วลิสง (Peanut mottle virus - PMV) โรคใบด่างถั่วเหลือง (Soybean mosaic virus - SMV) โรคไวรัสใบด่างยาสูบ (Tobacco ring spot virus - TRSV) และ โรคไวรัส *Hyoscyamus virus III* (henbane mosaic potyvirus - HMV) (Carter, 1962, Clark & Perry, 2002 Fang et al., 1985, Sánchez et al., 2001, Wang et al., 1998.)

เพลี้ยอ่อนถั่วลิสง (groundnut aphid, *Aphis craccivora*) มีลักษณะสัณฐานวิทยาสังเกตได้คือ *A. craccivora* เป็นเพลี้ยอ่อนที่มีขนาดค่อนข้างเล็ก ระยะที่ไม่มีปีกมีขนาด 1.4 – 2.2 มิลลิเมตร ระยะที่มีปีกตัวเมียจะมีสีน้ำตาลดำถึงดำมัน มี cauda สีดำและขาสีเหลือง ส่วนระยะตัวอ่อนจะปกคลุมด้วยผงฝุ่น ส่วนตัวเต็มวัยไม่มี หนวดมี 6 ปล้อง ส่วน femur, siphunculi and cauda มีสีดำ ส่วนท้องด้านสันหลังจะมีจุดสีดำ cauda และ siphunculi มีสีดำ และด้านส่วนท้องด้านสันหลังไม่มีสี ส่วน cauda จะสีจางกว่า siphunculi (ภาพที่ 2.4) *A. craccivora* ทำลายพืชโดยดูดน้ำเลี้ยงจากยอดอ่อน ดอก และฝักของถั่ว ทำให้ดอกร่วง ซึ่งหากทำลายถั่วต้นเล็กๆ อาจทำให้ต้นถั่วตายได้ ทั้งนี้ CABI (2014) รายงานพืชอาศัยของพืชอาศัยของ *A. craccivora* ไว้กว่า 37 ชนิด โดยพืชอาศัยหลักได้แก่ ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea*) ถั่วมะแฮะ (*Cajanus cajan*) ต้นน้ำผึ้งตักแตน (honey locust tree) (*Gleditsia triacanthos*, Fabaceae) ถั่วอัลฟาฟ่า (*Medicago sativa*) ถั่วเขียว (*Vigna radiata*) และ ถั่วฝักยาว (*Vigna unguiculata*) โดยในประเทศไทยพบว่าเป็นศัตรูสำคัญอย่างหนึ่งของถั่วฝักยาว ส่วน *A. craccivora* เป็นเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชอีกชนิดหนึ่งที่ระบาดทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งแถบอากาศอบอุ่น และเขตร้อนชื้น (Blackman & Eastop, 1984.)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะอาการของโรคซึ่งมีเพลี้ยอ่อนเป็นพาหะนำโรค
(ที่มา: IVillage Home & Garden Network, 2013)



ภาพที่ 2.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Myzus persicae*)
(ที่มา: Iowa State University, 2014)



ภาพที่ 2.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*)
(ที่มา: Iowa State University, 2014)



ภาพที่ 2.4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora*)
(ที่มา: Iowa State University, 2014)

2.2 สารเคมีป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนและปัญหา

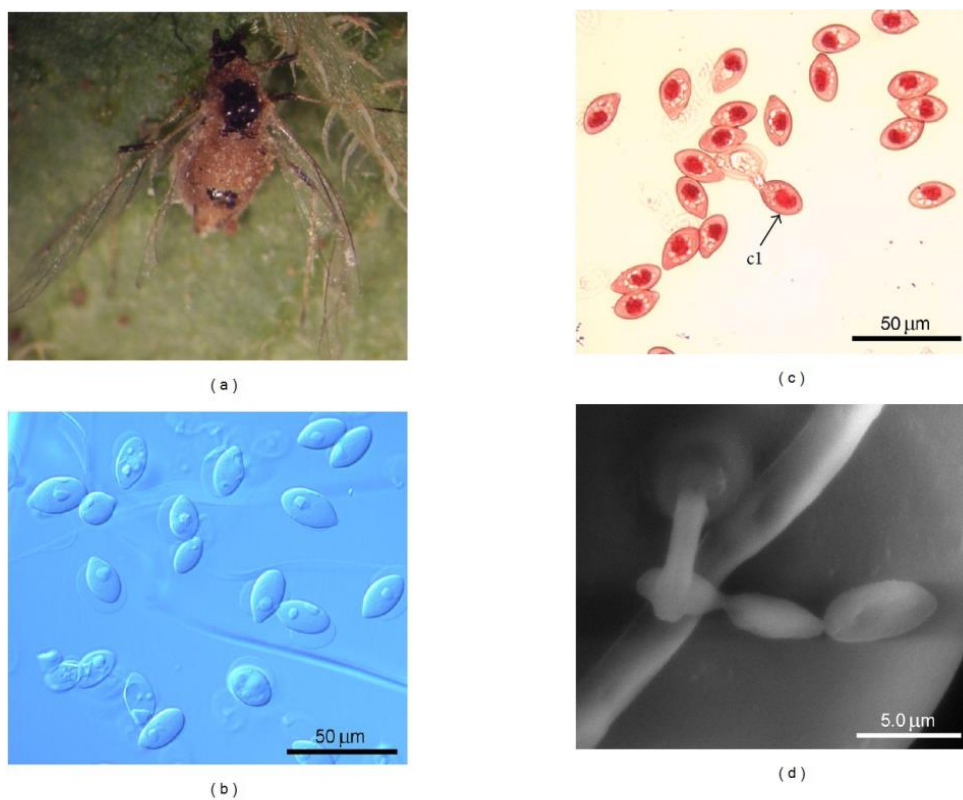
สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่ใช้ควบคุมเพลี้ยอ่อนโดยทั่วไป ได้แก่ สารที่ใช้พ่นทางใบ ได้แก่ กลุ่ม Carbamates ได้แก่ methomyl และ pirimicarb กลุ่ม Organophosphates ได้แก่ thimet, diazinon, omethoate, dimethoate, dichlorvos, dcephate, methamidophos, chlorpyrifos, malathion, methamidophos กลุ่ม Cyclodiene เช่น endosulfan, phenylpyrazole, fipronil กลุ่ม Pyrethroids เช่น cyhalothrin, fluvalinate และ permethrin เป็นต้น ส่วนสารฆ่าแมลงเช่น acephate, diazinon และ methamidophos ซึ่งเป็นสารที่มีความเป็นพิษสูง สามารถฆ่าแมลงได้ทั้งเพลี้ยอ่อนและศัตรูธรรมชาติ โดยที่บางชนิด เช่น acephate ถูกห้ามใช้กับพืชอาหาร อีกทั้งมีรายงานชี้ว่าการใช้สารเหล่านี้ซ้ำ อาจส่งผลให้แมลงพัฒนาต้านทานยาฆ่าแมลง (กรมวิชาการเกษตร, 2554; Stufkens *et al.*, 2004; Owain *et al.*, 2008) ทว่าปัญหาที่เกี่ยวกับการควบคุมเพลี้ยอ่อนโดยการใช้สารเคมีได้แก่ ความเป็นพิษต่อมนุษย์และการเกิดสารพิษตกค้างในอาหารและสภาพแวดล้อม (food and environmental residues) การดื้อยาของศัตรูพืช (pest resistance) เนื่องจากการที่แมลงชนิดนี้สามารถหลบซ่อน หลีกเลียงการสัมผัส และต้านทานต่อสารเคมี หรือ แม้แต่ต้านทานต่อแตนเบียน และ เชื้อโรค ตามรายงานของ Ferrari *et al.*, 2001) และ การใช้สารเคมีอาจเป็นการทำลายแมลงหรือศัตรูธรรมชาติ (natural enemies) ซึ่งมีประโยชน์ในการควบคุมศัตรูพืชบางชนิดตามธรรมชาติ ทำให้ศัตรูพืชบางชนิด ที่ไม่เคยมีการระบาดมาก่อน ระบาดกลายเป็นศัตรูพืชที่สำคัญ (pest resurgence) อีกทั้งในยุคปัจจุบันมีการพยายามลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ด้วยเหตุผลด้านความปลอดภัยจากสารพิษของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม และรณรงค์เพื่อการผลิตและบริโภคพืชปลอดภัยจากสารพิษ โดยมีการเน้นระบบเกษตรยั่งยืน (sustainable agriculture) (ชัยวุฒิ, 2542)

2.3 เชื้อรา *Pandora neoaphidis* และการใช้ประโยชน์ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืช

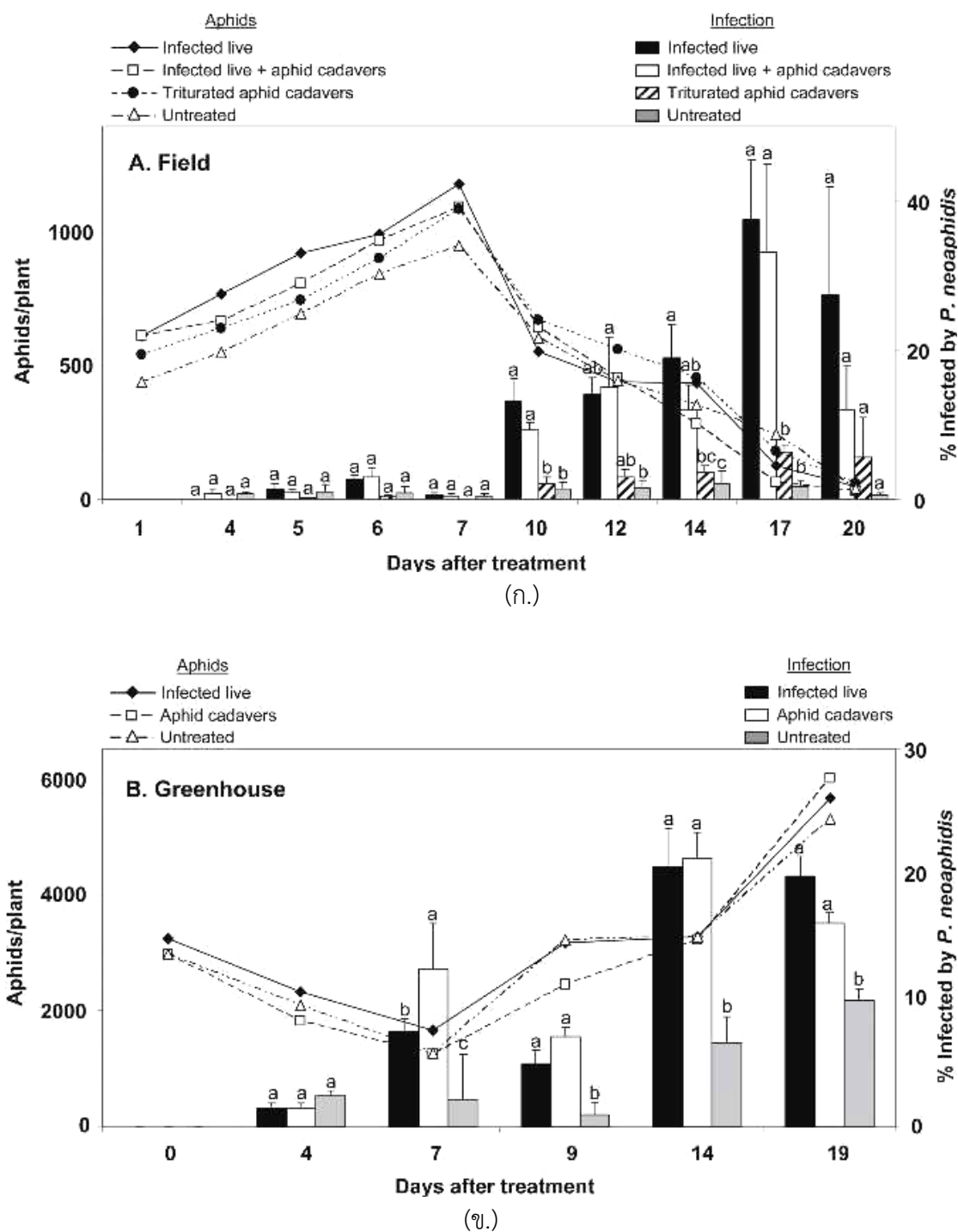
เชื้อรา *Pandora neoaphidis* (Remaudière & Hennebert) Humber หรือ ชื่อวิทยาศาสตร์เดิมคือ *Erynia neoaphidis* Remaudière & Hennebert] เป็นเชื้อจุลินทรีย์โรคแมลง (entomopathogenic microorganisms หรือ entomopathogens) จัดอยู่ในอันดับ Entomophthorales และวงศ์ Entomophthoraceae Tzean & Hsieh (2014) ได้อธิบายลักษณะของเชื้อรา *P. neoaphidis* ว่าเพลี้ยอ่อนยาสูบที่ตายจากเชื้อนี้จะติดอยู่กับใบพืช โดย ventral rhizoids และปกคลุมด้วยเส้นใย และโคนิเดียของเชื้อ ซึ่งมีสีเหลืองอ่อน เหลืองเทา ส้มสด หรือส้มเทา rhizoids มีขนาดกว้าง 6.1-12.1 ไมโครเมตร ส่วนที่เรียกว่า basal holdfast มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 36.4-54.6 ไมโครเมตร มีการแตกสาขาเป็นราก หรือรูปร่างคล้ายจาน บางกรณีจะสร้างเยื่อแบนบาง ส่วน protoplasts และ hyphal bodies มีรูปร่างไม่แน่นอน ส่วนที่เรียกว่า hyphal-like conidiophores แตกสาขา บางกรณีมีการแตกสาขาที่ปลาย ขยายขนาดได้ถึง 8.8-16.9 ไมโครเมตร โคนิเดียปฐมภูมิ (Primary conidia) มีขนาดยาว 17.9-34.9 × 11.9-19.8 ไมโครเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง = 1.32-2.31 มีรูปร่างแบบยาว (elongate) กลม (ovoid) ทรงรี (ellipsoid) ถึงรูปร่างแบบกระสวย (fusiform) บางครั้งเป็นเกลียว ส่วนโคนิเดียทุติยภูมิ (secondary conidia) มีรูปร่างคล้ายโคนิเดียปฐมภูมิ หรืออาจกลมกว่า มีขนาด กว้าง×ยาว เท่ากับ 17.5-23.8 ×

13.5-19.1 ไมโครเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.16-1.33 ไมโครเมตร นอกจากนี้ ยังมีรายงานถึงลักษณะ สัณฐานวิทยาจากการแยกเชื้อและการศึกษาเบื้องต้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ที่ทำลายเพลี้ยอ่อน ผักที่ติดเชื้อ และ พบว่าสปอร์ของเชื้อราชนิดนี้ มีลักษณะ สี มีรูปร่างหลากหลาย รูปร่างกลม ไป จนถึงแบบผลมะนาว ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 8-10 ไมโครเมตร (ศมาพร แสงยศ และคณะ, 2551; Ben et al., 2013) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า Hemmati et al. (2001) พยายามหาความ เข้มข้นของโคโคนีเดียของ *P. neoaphidis* ที่ลอยอยู่ในอากาศเหนือแปลงเพาะปลูกธัญพืชด้วย

เชื้อรา *P. neoaphidis* นับเป็นต้นทุนทางธรรมชาติอย่างหนึ่งซึ่งถูกพบว่าแพร่กระจายทำลาย เพลี้ยอ่อนศัตรูพืชทั่วโลก (Wilding & Brady, 1984) และถูกอ้างว่าเป็นเชื้อราโรคแมลงที่มี ประสิทธิภาพในการควบคุมประชากรของเพลี้ยอ่อนซึ่งพบในความถี่สูงชนิดหนึ่ง (Chen et al., 2007) และสามารถสำรวจพบได้ตามแปลงปลูกพืชผักหลายชนิด เช่น พืชผักวงศ์กะหล่ำ และพริก ใน ประเทศไทย เช่นในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน (ศมาพร แสงยศ และคณะ, 2549) ส่วน Leskovar & Black (1994) รายงานว่าเชื้อนี้พบทำลายเพลี้ยอ่อนฝ้ายและสามารถลดประชากรได้อย่างมีนัยสำคัญ รวมทั้งมีความสัมพันธ์ร่วมกับการขึ้นลงของประชากรของเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชอย่างมีนัยสำคัญ (McLeod et al., 1998) โดยในต่างประเทศได้มีการนำเชื้อรา *P. neoaphidis* มาใช้ประโยชน์ในการ ควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชหลายชนิด เช่นพืชกลุ่มผักกินใบในวงศ์เดียวกับผักโขม (Amaranthaceae) (David et al., 2003) รวมทั้งมีรายงานของความสำเร็จของการใช้เชื้อ *P. neoaphidis* ควบคุมเพลี้ย อ่อนศัตรูธัญพืช (Wilding et al., 1990) นอกจากนี้ได้มีการนำ *P. neoaphidis* ไปใช้ในโปรแกรม การบริหารจัดการการเกิดความต้านทานสารเคมีของเพลี้ยอ่อนศัตรูพืช เช่น กรณีซึ่งดำเนินการใน ประเทศออสเตรเลีย เป็นต้น (Edwards et al., 2008) ส่วน El-kassabany (1992) รายงานว่าเชื้อรา *P. neoaphidis* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่สามารถลดปริมาณของเพลี้ยอ่อนยาสูบที่ทำลายผักโขม ได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ มีรายงานถึงการประสบความสำเร็จในการปลูกเชื้อรา *P. neoaphidis* ในแปลงยาสูบเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนยาสูบ ทั้งในระดับแปลงและเรือนกระจก โดยใน การศึกษาค้นคว้าดำเนินการโดยการใส่เพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ เปรียบเทียบกับการไม่ใส่ พบว่าสองสัปดาห์ หลังจากการใส่เชื้อการทำลายของเพลี้ยอ่อนยาสูบลดลง 33-37 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งช่วยลดการเพิ่ม ประชากรของเพลี้ยอ่อนยาสูบในแปลงยาสูบอย่างเห็นได้ชัด (Surendra & Semtner, 2006) (ภาพที่ 2.5) Sheng (2010) รายงานถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโคนีเดียปฐมภูมิ (primary conidia) โคโคนีเดียทุติยภูมิ (secondary conidia) และเส้นใยของ เชื้อรา *P. neoaphidis* ว่าการใช้ สารแขวนลอยโคโคนีเดียของที่ระดับความเข้มข้น 18.2 โคโคนีเดียต่อมิลลิลิตร เป็นระดับความเข้มข้นที่ก่อ การตายของเพลี้ยอ่อนผัก *L. erysimi* และอ้างว่าเชื้อรานี้มีประสิทธิภาพเพียงพอสำหรับควบคุม ประชากรของเพลี้ยอ่อนชนิดนี้ ดังนั้นการใช้เชื้อราโรคแมลงชนิดนี้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่ยาก ต่อการควบคุมโดยใช้สารเคมีเช่นเพลี้ยอ่อน ที่ควรสอดคล้องกับวิถีของการเกษตรไทย ที่ส่วนใหญ่เป็น เกษตรกรรายย่อย ซึ่งมีต้นทุนเพื่อการผลิตต่ำ และ ยังใช้เทคโนโลยีในการผลิตแบบเก่าอยู่ จึงควรมี องค์ความรู้ และข้อมูล เกี่ยวกับวิธีทางเลือก สำหรับการบริหารจัดการศัตรูพืช ที่ประหยัด ปลอดภัย และสามารถหาได้ในท้องถิ่น เพื่อเสริมสร้างศักยภาพในการผลิตอย่างยั่งยืน



ภาพที่ 2.5 เพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Myzus persicae*) ที่ถูกเชื้อรา *Pandora neoaphidis* และ ลักษณะของสปอร์ของเชื้อรานี้
(ที่มา: Ben et al., 2013)



ภาพที่ 2.6 การลดลงของประชากรของเพลี้ยอ่อนยาสูบในแปลงทดลอง (ก) และเรือนกระจก (ข) หลังการปล่อยเชื้อรา *P. neoaphidis* เปรียบเทียบกับการไม่ใส่ (ที่มา: Surendra & Semtner, 2006)

กรอบแนวคิดในการวิจัย

เพลี้ยอ่อนศัตรูพืชที่ทำลายพืชผักโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่มีรายงานในประเทศไทย ได้แก่ เพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Myzus persicae*) และเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชวงศ์ถั่ว ซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora*) หรือ เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*A. fabae*) โดยบางชนิดเป็นแมลงศัตรูพืชที่ก่อความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจหลายชนิดเนื่องจากสามารถทำลายพืชได้หลากหลายชนิดในหลากหลายวงศ์ ทั้งในประเทศไทยและในต่างประเทศ จึงถือได้ว่าเป็นแมลงสำคัญที่มีทั้งผลต่อการลดศักยภาพการผลิตทางการเกษตรของเกษตรกรรายย่อย และโดยภาพรวมของประเทศ ปัจจุบันภาครัฐและหลายภาคส่วน มีความพยายามในการลดการใช้สารเคมีเพื่อสร้างความเข้มแข็งภาคเกษตร และความมั่นคงทางอาหารของประเทศ ดังนั้น จึงควรมีวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่มนี้อย่างเหมาะสม และสอดคล้องกับแนวทางการพัฒนาประเทศ โดยคำนึงถึงผลกระทบในด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อมพร้อมกันไป การใช้ประโยชน์จากเชื้อราโรคแมลง จึงเป็นแนวทางหนึ่งของการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี (biological control) (DeBach & Rosen, 1991) ซึ่งสามารถนำมาใช้ร่วมกับวิธีการควบคุมวิธีอื่นๆ ในแนวทางการบริหารจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาภาพ (Integrated pest management - IPM) ได้เป็นอย่างดี อีกทั้งเชื้อราโรคแมลงเป็นทรัพยากรจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ ที่นับได้ว่าเป็นต้นทุนตามธรรมชาติ ซึ่งสามารถนำมาใช้ในระบบการควบคุมศัตรูพืชที่เน้นการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติ ให้เกิดประโยชน์สูงสุด เป็นทรัพยากรที่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก (renewable resources) ดังนั้นการศึกษาการนำเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมเพลี้ยอ่อน จึงน่าจะเป็นเป็นกลยุทธ์หนึ่งในการที่จะก่อให้เกิดทางเลือก (alternatives) ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่ประหยัด และปลอดภัย เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และเป็นปัจจัยการผลิตภายในท้องถิ่น ซึ่งน่าจะมีส่วนเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน และความเข้มแข็งของภาคเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกษตรกรรายย่อยในอนาคตได้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

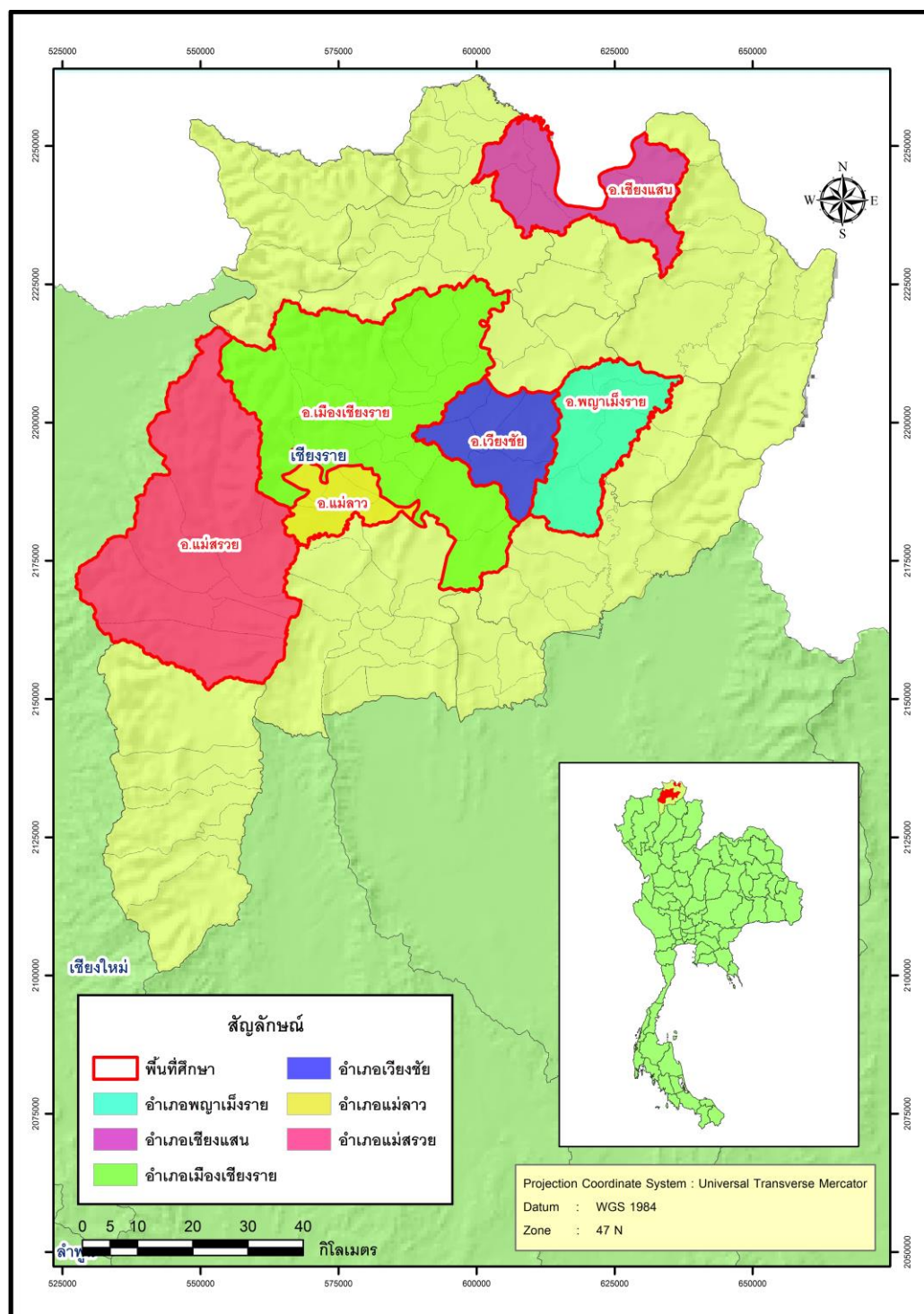
3.1 การรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนศัตรูผักที่พบว่าติดเชื้อ *Pandora neoaphidis*

ในสภาพแปลงเกษตรกร

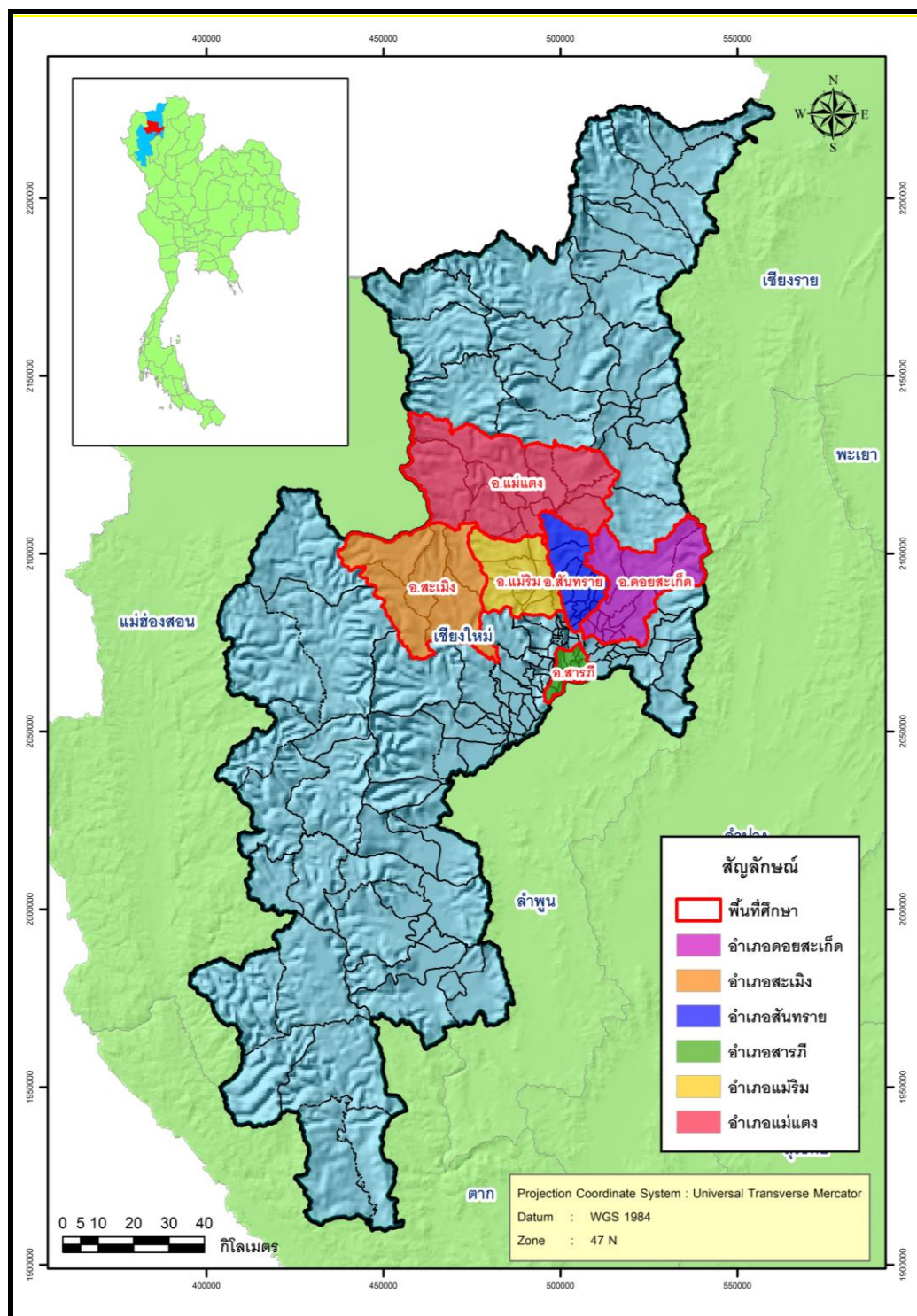
การเก็บรวบรวมตัวอย่าง และประเมินประชากรเพลี้ยอ่อนที่ถูกทำลายโดยเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง (entomopathogens) *P. neoaphidis* ในสภาพแปลงเกษตรกร รวมทั้งการประเมินเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเหล่านั้น ในสภาพธรรมชาติ ในพื้นที่สามจังหวัดภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ซึ่งได้แก่ อำเภอยางตลาด พระยาเม็ญราย เวียงชัย เมืองเชียงราย แม่ลาว และแม่สรวย จังหวัดเชียงราย (ภาพที่ 3.1) อำเภอสะเมิง แม่ริม แม่แตง ดอยสะเก็ด สันทราย สารภี และ จอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ (ภาพที่ 3.2) อำเภอบ้านธิ เมืองลำพูน ป่าซาง แม่ทา เวียงหนองล่อง และ ลี้ จังหวัดลำพูน (ภาพที่ 3.3) เดือนละ 1-2 ครั้ง โดยกำหนดชนิดพืช เป็น พืชผักวงศ์กะหล่ำ (Cruciferae) เช่น คะน้า กะหล่ำ กวางตุ้ง วงศ์ Solanaceae เช่น พริก และมะเขือชนิดต่าง ๆ และวงศ์ถั่ว (Leguminosae) เช่น ถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม ที่มีรายงานอ้างว่าพบการทำลายโดยเพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Myzus persicae*) และเพลี้ยอ่อนกลุ่มที่ทำลายพืชผักในวงศ์ถั่ว (*Aphis craccivora* หรือ *Aphis fabae*) ชนิดนี้ จำนวน 6 จุดต่อจังหวัด โดยแต่ละจุดขนาดไม่เกินจุดละ 1,600 ตารางเมตร พื้นที่ขนาดไม่เกินจุดละ 400 ตารางวา จำนวน 6 จุดต่อจังหวัด โดยสุ่มตรวจสอบเพลี้ยอ่อนที่ตายจากการติดเชื้อรา 100 หน่วย (ต้น/แปลงย่อย) เดือนละ 1 ครั้งต่อพื้นที่เดือนละหนึ่งครั้ง ตามวิธีของ Steinhilber (1967), Poinar & Thomas (1984) และ Tanada & Kaya (1993) ระหว่างการสำรวจ ณ แต่ละจุดสำรวจรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนศัตรูผักที่พบว่าติดเชื้อ *P. neoaphidis* จากการสุ่มเก็บใบพืชที่ถูกเพลี้ยไฟทำลายแบบสุ่มกระจาย (random sampling) จำนวน 10 ตัวอย่างแต่ละจุด (50 ใบ และ/หรือ ขึ้นพืชต่อตัวอย่าง) ตรวจสอบลักษณะอาการของเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ ซึ่งสามารถสังเกตได้โดยการที่เพลี้ยอ่อนตายเกาะนิ่งบนใบพืช และปกคลุมด้วยเส้นใย และ/หรือ สปอร์ของเชื้อรา ซึ่งมีสีส้ม (ภาพที่ 3.4) หลังจากบันทึกข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนทั้งหมด เพลี้ยอ่อนที่เป็นโรค และคำนวณเปอร์เซ็นต์การก่อโรคของเชื้อรา เพื่อการนำเสนอข้อมูลเปอร์เซ็นต์เพลี้ยอ่อนแต่ละชนิดที่ติดเชื้อ จากแต่ละพื้นที่ มาหาค่าเฉลี่ยของแต่ละเดือน และนำมาแสดงผลเป็นพลศาสตร์ประชากรเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายแต่ละชนิดและเชื้อรา *P. neoaphidis* ในรอบหนึ่งปี ตามวิธีของ Dent & Walton (1997) จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์เพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อรา} = \frac{\text{จำนวนเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อรา } P. neoaphidis \times 100}{\text{จำนวนเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิดทั้งหมดที่พบแต่ละต้น}}$$

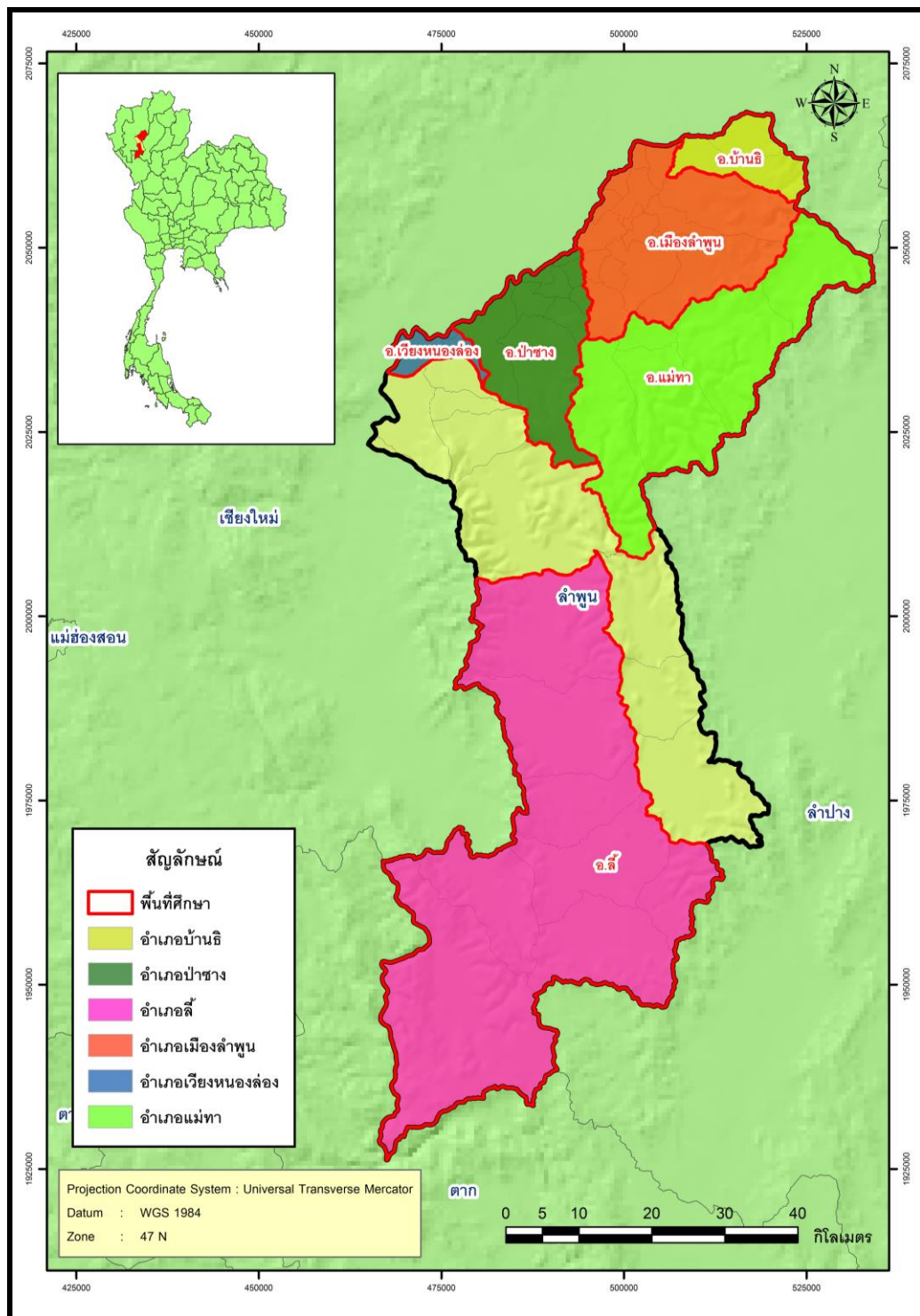
นำแต่ละตัวอย่างใส่กล่องพลาสติกใส ขนาด กว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 18 x 18 x 12 เซนติเมตรที่ปูด้วยกระดาษทิชชูซึ่งใช้สำหรับงานครัว (towel) สีขาว และนำกล่องพลาสติกดังกล่าวใส่ภาชนะให้ความเย็น (cooler) ซึ่งบรรจุน้ำแข็งแห้งสำเร็จรูปในภาชนะบรรจุ (dry ice) เพื่อให้ความเย็น เพื่อนำตัวอย่างมาศึกษา ณ ห้องปฏิบัติการด้านการควบคุมโดยชีววิธี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (MJU Biological Control Laboratory – MJU-BCL) และตรวจสอบโดยเริ่มจากนำตัวอย่างที่เก็บจากภาคสนามมาเก็บในตู้ให้ความเย็น (Mirage รุ่น F2-269 ซันโย ยูนิเวอร์แซลอิเล็กทรอนิกส์ ประเทศไทย) ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการต่อไป



ภาพที่ 3.1 แผนที่พื้นที่ศึกษา ในจังหวัดเชียงราย ได้แก่ใน อำเภอเชียงแสน พระยาเม็งราย เวียงชัย เมืองเชียงราย แม่ลาว และ แม่สรวย ซึ่งทำการสำรวจ รวบรวม และประเมินประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่พบทำลายเพลี้ยไฟแปลงปลูกพืชซึ่งมีการระบาดของเพลี้ยไฟพริก ในช่วงเวลาดังแต่เดือนตุลาคม 2556 ถึง มีนาคม 2557
(ที่มา: รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และศมาพร แสงยศ, 2559)



ภาพที่ 3.2 แผนที่พื้นที่ศึกษา ในจังหวัดเชียงใหม่ ได้แก่อำเภอแม่สะเรียง แม่ริม แม่แตง ดอยสะเก็ด สันทราย และ สารภี ที่ได้ทำการสำรวจ รวบรวม และประเมินประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่พบทำลายเพลี้ยไฟแปลงปลูกพืชซึ่งมีการระบาดของเพลี้ยไฟพริก ในช่วงเวลาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2556 ถึง มีนาคม พ.ศ. 2557
(ที่มา: รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และศมาพร แสงยศ, 2559)



ภาพที่ 3.3 แผนที่พื้นที่ศึกษา ในจังหวัดลำพูนได้แก่ อำเภอบ้านธิ เมืองลำพูน ป่าซาง แม่ทา เวียงหนองล่อง และ สี ซึ่งทำการสำรวจ รวบรวม และประเมินประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง ที่พบทำลายเพลี้ยไฟแปลงปลูกพืชซึ่งมีการระบาดของเพลี้ยไฟพริก ในช่วงเวลาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2556 ถึง มีนาคม พ.ศ. 2557
(ที่มา: รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และศมาพร แสงยศ, 2559)



ก



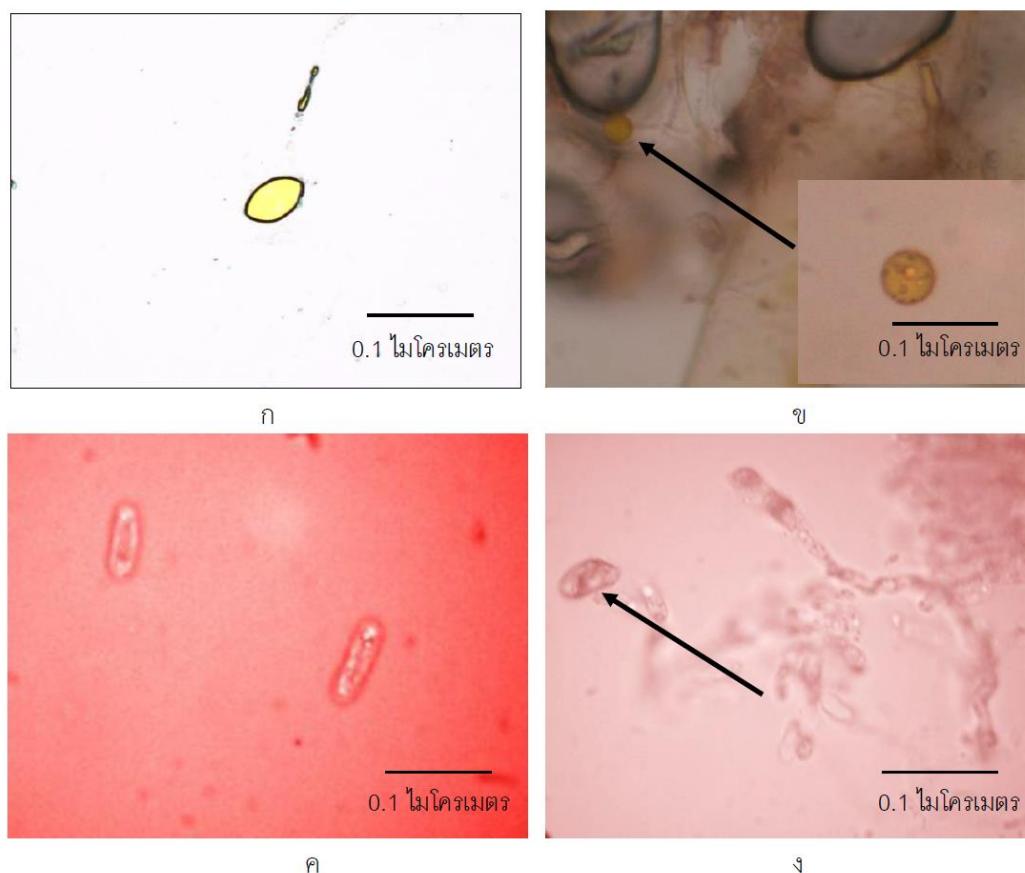
ข

ภาพที่ 3.4 ลักษณะอ้างอิงของเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ และสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis*(
ที่มา: รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และศมาพร แสงยศ, 2556)

3.2 การแยกเชื้อบริสุทธิ์ จำแนกชนิด ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และเพาะเลี้ยงเชื้อรา

P. neoaphidis

แยกเชื้อบริสุทธิ์ จำแนกชนิด ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และเพาะเลี้ยงเชื้อ ตามวิธีของ รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และคณะ (2557ก.) กล่าวคือการนำเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ *P. neoaphidis* มาเตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อราโดยวิธี Dilution plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) และ Sabouraud Dextrose Agar (SDA) และเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหาร Sabouraud Dextrose Agar Supplemented with Yeast Extract (SDAY) บ่มจนอาหารดังกล่าวในสภาพอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 ± 10 เปอร์เซ็นต์ และสภาพแสง: มืด เท่ากับ 12:12 ชั่วโมง และ สังเกตได้จากมีลักษณะสีขาว และเปลี่ยนเป็นสีขาวอมส้ม เส้นใยไม่ฟู ร่วมกับการนำสปอร์จากโคโลนีดังกล่าวไปตรวจสอบใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยนำแขวนลอยดังกล่าวมาหยดลงบนแผ่นสไลด์ และตรวจความหลากหลายของรูปร่างและขนาดสปอร์ ใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope ที่กำลังขยาย 10 – 40X โดยตรวจไอโซเลตละ 3 ซ้ำ บันทึกขนาดลักษณะการเกิดเส้นใยบนตัวแมลง สีของเส้นใย และรูปร่างของสปอร์ของเชื้อที่พบ โดยสังเกตจากลักษณะ สปอร์ของเชื้อรานี้มีลักษณะใส มีรูปร่างหลากหลาย รูปร่างกลม ไปจนถึงแบบผลมะนาว ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 8-10 ไมโครเมตร (ภาพที่ 3.4)



ภาพที่ 3.5 ความหลากหลายของรูปร่างสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ซึ่งมี 4 รูปแบบได้แก่ รูปผลมะนาว (ก.) รูปหัวท้ายมน (ข.) รูปกลม (ค.) และ กลุ่มที่มีรูปร่างไม่แน่นอน (ง.)

(ที่มา: รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และคณะ, พ.ศ.2557)

เพิ่มปริมาณของเชื้อรา *P. neoaphidis* แต่ละไอโซเลตส์ เพื่อนำไปใช้สำหรับการประเมินความรุนแรงในระดับห้องปฏิบัติการตามวิธีของ (รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และศมาพร แสงยศ, 2557) เพาะเลี้ยงเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต Pd105 บนวัสดุเพาะคือเมล็ดข้าวฟ่าง โดยเริ่มจากเตรียมข้าวฟ่างโดยการนึ่งให้สุกเพียง 50 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาเกลี่ยให้เย็นในถาดซึ่งสานด้วยไม้ไผ่เพื่อลดความชื้นส่วนเกิน เติมน้ำ Sabouraud Dextrose Broth (SDB) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักข้าวฟ่าง 150 กรัม นำวัสดุเพาะแต่ละชนิดมาวางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณ 25 กรัมต่อจาน และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ระดับอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และนำออกมาผึ่งให้เย็นในสภาพอุณหภูมิห้อง ย้ายเชื้อบริสุทธิ์มาวางบนอาหาร SDAY หลังจากเชื้ออายุ 10 วัน โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้ออยู่ มาวางในจานวัสดุเพาะที่เตรียมไว้ วางบนชิ้น ในสภาพอุณหภูมิ 20 ± 2 องศาเซลเซียสในสภาพมืด ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ จนกว่าจะพบว่าเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* เจริญจนเต็มวัสดุเพาะ จึงนำไปเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ เพื่อการทดสอบความสามารถในการก่อโรคกับเพลี้ยอ่อนต่อไป

3.3 การคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ที่เหมาะสมกับการควบคุมเพลี้ยอ่อนชนิดในเป้าหมายแต่ละชนิดในระดับห้องปฏิบัติการ

การเตรียมประชากร และ/หรือ หน่วยทดลอง

เพลี้ยเลี้ยงเพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Myzus persicae*) โดยเริ่มจากเตรียมต้นพริกมาเพาะในกระถางพลาสติกขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง x สูง เท่ากับ 15 x 10 เซนติเมตร ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 50 x 50 เซนติเมตร และให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ขนาด 14 วัตต์ ในช่วงแสง:มืด เท่ากับ 14: 8 ชั่วโมง เพื่อให้ต้นพริกมีการเจริญเติบโตทางใบ สำหรับการเพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนยาสูบต่อไป โดยการเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนดังกล่าวจากแปลงเกษตรโดยเก็บใบพริก มันฝรั่ง หรือมะเขือเทศ ที่มีวัยต่างๆ ของเพลี้ยอ่อนทำลายอยู่มาวางบนต้นพริกที่เตรียมไว้ และปล่อยให้เพลี้ยอ่อนยาสูบขยายพันธุ์ 1-2 รุ่น (เพลี้ยอ่อนจะใช้เวลา 10-15 วันสำหรับการขยายพันธุ์ต่อรุ่น) โดยสังเกตจากการพบกลุ่มตัวอ่อนระยะที่ 1-2 ของเพลี้ยอ่อนบนต้นพริกต้นใหม่ (รุ่นที่ 1) จากนั้นย้ายต้นพริกที่เริ่มปล่อยเพลี้ยอ่อนครั้งแรกออกจากกรง และนำพริกต้นใหม่วางในกรงเลี้ยงเพื่อให้มีเพลี้ยอ่อนรุ่นที่สองต่อไป (ภาพที่ 3.6)

เพลี้ยเลี้ยงเพลี้ยอ่อนผักตามวิธีของ (รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และศมาพร แสงยศ, 2557) โดยเพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) ให้ปลอดเชื้อโดยเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนดังกล่าวจากแปลงเกษตรโดยเก็บใบผักคะน้า และ กะหล่ำ ที่มีวัยต่างๆ ของเพลี้ยอ่อนทำลายอยู่ มาวางบนต้นคะน้า (อายุ 30 วัน) ที่เตรียมไว้ในกระถางปลูกในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 50 x 50 x 50 เซนติเมตร ในเรือนทดลอง กรงละ 1 ต้น และปล่อยให้เพลี้ยอ่อนดังกล่าวขยายพันธุ์ 1-2 รุ่น (20-30 วัน) โดยสังเกตจากการพบกลุ่มตัวอ่อนระยะที่ 1-2 ของเพลี้ยอ่อนบนต้นผักต้นใหม่ (รุ่นที่ 1) จากนั้นย้ายต้นผักที่เริ่มปล่อยเพลี้ยอ่อนครั้งแรกออกจากโรงเรือน จากนั้นนำต้นผักต้นใหม่มาวางในกรงเลี้ยงเพื่อให้มีเพลี้ยอ่อนรุ่นที่สองต่อไป (ภาพที่ 3.7)

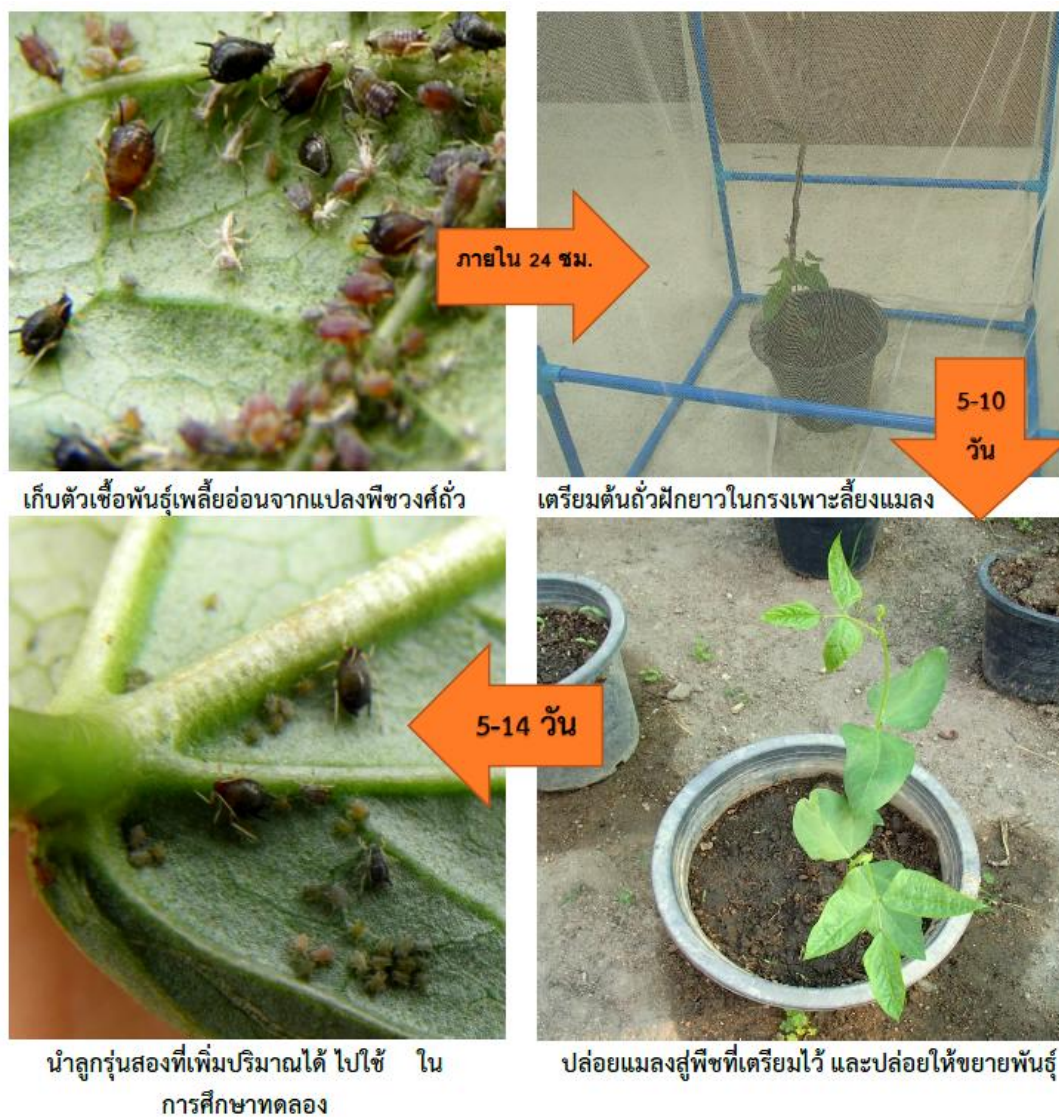
เพลี้ยเลี้ยงเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*) โดยเริ่มจากเตรียม ต้นถั่วฝักยาวมาเพาะในกระถางพลาสติกขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง x สูง เท่ากับ 15 x 10 เซนติเมตร ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 50 x 50 x 50 เซนติเมตร และให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ขนาด 14 วัตต์ ในช่วงแสง:มืด เท่ากับ 16: 8 ชั่วโมง เพื่อให้ต้นถั่ว มีการเจริญเติบโตทางใบสำหรับการเพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนถั่วต่อไป โดยการเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนดังกล่าวจากแปลงเกษตรโดยเก็บใบถั่วฝักยาว และหรือใบถั่วเหลือง ที่มีวัยต่างๆ ของเพลี้ยอ่อนเหล่านี้ทำลายอยู่มาวางบนต้นถั่วที่เตรียมไว้ และปล่อยให้เพลี้ยอ่อนถั่วขยายพันธุ์ 1-2 รุ่น (เพลี้ยอ่อนจะใช้เวลา 10-15 วันสำหรับการขยายพันธุ์ต่อรุ่น) โดยสังเกตจากการพบกลุ่มตัวอ่อนระยะที่ 1-2 ของเพลี้ยอ่อนบนต้นถั่วต้นใหม่ (รุ่นที่ 1) จากนั้นย้ายต้นถั่วที่เริ่มปล่อยเพลี้ยอ่อนครั้งแรกออกจากกรง และนำถั่วฝักยาวต้นใหม่ วางในกรงเลี้ยงเพื่อให้มีเพลี้ยอ่อนรุ่นที่สองต่อไป (ภาพที่ 3.8)



ภาพที่ 3.6 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Myzus persicae*) เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในห้องปฏิบัติการโดยใช้ต้นพริก



ภาพที่ 3.7 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในห้องปฏิบัติการโดยใช้ต้นค่น้ำ



ภาพที่ 3.8 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis fabae*) เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในห้องปฏิบัติการโดยใช้ต้นคะน้า

เตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ซึ่งเพาะเลี้ยงได้จากอาหารเทียมแต่ละชนิด โดยชุดสปอร์จากอาหารเลี้ยงเชื้อมาละลายในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อที่มีสารจับใบ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ นับจำนวนสปอร์โดยใช้เครื่องนับจำนวนสปอร์ Neybauer Hemocytometer และปรับความเข้มข้นของสปอร์ 1010 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามวิธีของ Poinar and Thomas (1984) โดยใช้น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อที่มีสารจับใบ Tween 20 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย ปลุกเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 โดยใช้สารแขวนลอยสปอร์ที่ได้จากเชื้อราที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมชนิดต่างๆ กับเพลี้ยอ่อนที่เตรียมไว้ โดยนำต้นพืช (พริกในกรณีทดสอบกับเพลี้ยอ่อนยาสูบ ค่ะ) ในกรณีทำการทดสอบเพลี้ยอ่อนผัก และ ถั่วฝักยาวหากเป็นเพลี้ยอ่อนถั่ว) มีเพลี้ยอ่อนรุ่นที่สอง ที่เพาะเลี้ยงไว้มาตัดใบที่มีกลุ่มของเพลี้ยอ่อนที่ต้องการทดสอบอยู่จำนวนหนึ่งใบ ใช้ฟู่กันเบอร์ 2 เชี่ยเพลี้ยอ่อนออกจนเหลือ 50 ตัวต่อใบ วางใบพืชที่มีเพลี้ยอ่อนในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่ปูด้วยกระดาษกรอง (No.1) ชุ่มน้ำเพื่อให้มีระดับความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80 - 90 เปอร์เซ็นต์ และพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่ความเข้มข้น 10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยมีวิธีควบคุม (control) คือการพ่นน้ำกลั่นผสม Tween 20 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการปลุกเชื้อแล้ว วางจานอาหารเลี้ยงเชื้อในสภาพอุณหภูมิ 20 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพมืด และบันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ตาย และ ที่มีชีวิตอยู่ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง (รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และศมาพร แสงยศ, 2557)

การเก็บรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการรวบรวมข้อมูลและคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent Cumulative Mortality – PCM) ของแมลงที่ทดสอบโดยนำข้อมูลการตายมาปรับเป็นค่าการตายที่ถูกต้อง (corrected control mortality) ตามขบวนการทางพิษวิทยาโดยใช้ Abbott's Correction Formula (Abbott, 1925) ดังนี้

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

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยทำซ้ำวิธีการทดลองละ 5 ซ้ำ นำค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของเพลี้ยอ่อนในเวลาที่กำหนดที่วัดได้จากทั้งสองการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อหาปัจจัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ และหากพบปัจจัยสำคัญ ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT (Gomez & Gomez, 1984; Snedecor & Cochran, 1989)

3.4 การประเมินอัตราความเข้มข้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ที่ก่อโรคแก่แมลงในเป้าหมายที่ 50 และ/ หรือ 90 เปอร์เซนต์ (LC50 และ/ หรือ LC90) ในระดับห้องปฏิบัติการ

เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ในระดับขยายผล การศึกษานี้ได้มีทำการประเมินค่าระดับความเข้มข้นที่ก่อการตาย (Lethal Concentration - LC) แก่เพลี้ยอ่อนในเป้าหมายที่ 50 (LC₅₀) เปอร์เซนต์ ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ซึ่งเป็นสายพันธุ์มีประสิทธิภาพสูงสุดซึ่งคัดเลือกได้มาจากการศึกษาในปีงบประมาณ 2558 และโดยเริ่มจากการเพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนทั้งสามชนิด ตามวิธีในข้อ 3.3 พร้อมไปกับการเพิ่มปริมาณของเชื้อรา *P. neoaphidis* ตามวิธีในข้อ 3.2

เตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ตามวิธีในข้อ 3.3 โดยใช้เชื้อราซึ่งเพาะเลี้ยงได้จากอาหารเทียม SDA โดยชุดสปอร์จากผิวอาหารเลี้ยงเชื้อมาละลายในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อที่มีสารจับใบ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซนต์ นับจำนวนสปอร์โดยใช้เครื่องนับจำนวนสปอร์ Neybauer Hemocytometer และปรับความเข้มข้นของสปอร์ที่ความเข้มข้นดังต่อไปนี้ได้แก่ 0.00 10.00 50.00 100.00 150.00 200.00 250.00 300.00 และ 350.00 สปอร์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อที่มีสารจับใบ Tween 20 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซนต์เป็นตัวทำละลาย

เตรียมเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Mizus persicae*) เพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) และเพลี้ยอ่อนกลุ่มที่ทำลายพืชผักในวงศ์ถั่ว (*Aphis craccivora*) ตามวิธีในข้อ 3.3 นำเพลี้ยอ่อนที่เพาะเลี้ยงรุ่นที่ 2 มาใช้ทำการทดสอบโดยการตัดใบที่มีกลุ่มของเพลี้ยอ่อนที่ต้องการทดสอบอยู่จำนวนหนึ่งใบ ใช้ฟู่กันเบอร์ 2 เชี่ยวเพลี้ยอ่อนออกจนเหลือ 50 ตัวต่อใบ วางใบพืชที่มีเพลี้ยอ่อนในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่ปูด้วยกระดาษกรอง (Wattman # 1) ชุ่มน้ำเพื่อให้มีระดับความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80 ± 5 เปอร์เซนต์

ปลูกเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 เพลี้ยอ่อนที่เตรียมไว้โดยการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่ความเข้มข้นที่เตรียมไว้ โดยมีวิธีควบคุม (control) คือการพ่นน้ำกลั่น ผสม Tween 20 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซนต์ โดยทำซ้ำความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ จากนั้น และวางจานอาหารเลี้ยงเชื้อในสภาพอุณหภูมิ 20 ± 5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 ± 5 เปอร์เซนต์ ในสภาพมืด และบันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ตาย และ ที่มีชีวิตอยู่ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง (รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และศมาพร แสงยศ, 2557) จากนั้นนับจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ตายในแต่ละความเข้มข้น

รวบรวมข้อมูลและคำนวณเปอร์เซนต์การตายสะสม (Percent Cumulative Mortality - PCM) ของแมลงที่ทดสอบโดยนำข้อมูลการตายมาปรับเป็นค่าการตายที่ถูกต้อง (corrected control mortality) ตามขบวนการทางพิษวิทยาโดยใช้ Abbott's Correction Formula ตามวิธีในข้อ 3.3 หาค่าเฉลี่ยจากซ้ำที่ดำเนินการ และคำนวณค่าเปอร์เซนต์การตายสะสม (PCM) และประเมินค่า LC₅₀ จากโดยการวิเคราะห์ ค่าโพรบิต (Probit analysis) จากการพล็อตกราฟ และหาจุดตัดจากค่าความเข้มข้นและ PCM ซึ่งถูกแปลงเป็นค่า probit ตามวิธีของ Finney (1971)

3.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายในระดับเรือนทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการควบคุม เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Mizus persicae*)

เตรียมพืชอาศัยในเรือนทดลองโดย ในช่วงเดือน มกราคม – มีนาคม 2559 ทำการปลูกพริกในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร จำนวน 1 ต้นต่อกระถาง รวมจำนวน 30 กระถางต่อวิธีทดลอง ในโรงเรือน ณ หลักสูตรอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตรมหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยหลังจากย้ายปลูก 24 ชั่วโมง ทำการปล่อยเพลี้ยอ่อนฝักซึ่งเก็บตัวอย่างจากแปลง โดยการวางใบพืชที่มีเพลี้ยอ่อนจำนวนใบละ 20 ตัว จำนวน 1 ต่อกระถางและปล่อยให้เพลี้ยอ่อนขยายพันธุ์ในเรือนทดลองต่อไป (ภาพที่ 3.9)

เตรียมสารละลายสำหรับการทดสอบ ได้แก่ 1) สปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ตามวิธีในข้อ 3.3 ในอัตราที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อน 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) เติมสารจับใบ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ 2) น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อที่มีสารจับใบ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ และ 3) สารเคมี dimethoate 15-20 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร ในอัตราที่กำหนดในฉลาก ที่มีสารจับใบ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ โดยแต่ละวิธีทดลองวางห่างกัน 3 เมตร และทดสอบพบนต้นพืชทุกต้น โดยใช้กระบอกฉีดน้ำในสภาพเรือนทดลอง ในทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ทำการนับและบันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อนลูกท้อที่มีชีวิตและตาย ที่พบบนต้นพืช ทุก 24 ชั่วโมง โดยสุ่มนับจำนวนเพลี้ยอ่อนบนต้นพืช ที่ทำการทดสอบจำนวน 10 ต้นต่อวิธีทดลอง โดยแบบนับทั้งต้น จากนั้นเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่ตายมาวางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปูด้วยกระดาษกรองและให้ความชื้นด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ และนำมาวางในสภาพอุณหภูมิ 20 ± 5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 ± 5 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพมืด และบันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อนที่พบเชื้อราเจริญบนผิวหนัง

คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent Cumulative Mortality - PCM) และค่าเฉลี่ยเวลาถึงการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (Mean Time to Death - MTD) หลังได้รับเชื้อของเพลี้ยอ่อน จากข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย PCM และ MTD โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ CRD ที่มีการทำซ้ำวิธีการทดลองละ 10 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อหาความสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 % และหากพบความสำคัญ ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ตามวิธีของ LeClerc et al. (1966) และ Snedecor & Cochran (1967)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการควบคุม เพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*)

เตรียมพืชอาศัยในเรือนทดลองโดย ในช่วงเดือน เมษายน – มิถุนายน 2559 ทำการปลูก พืชผักวงศ์กะหล่ำ ได้แก่ คะน้า และผักกาด ในโรงเรือนซึ่งมีแปลงปลูกขนาด 80 x 500 เซนติเมตร จำนวน 5 แปลงต่อโรง ฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ โดยหลังจากย้ายปลูก 24 ชั่วโมง ทำการ ปลอ่ยเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาวซึ่งเก็บตัวอย่างจากแปลง โดยการวางใบพืชที่มีเพลี้ยอ่อนจำนวนใบละ 20 ตัว จำนวน 1 ต่อกระถางและปลอ่ยให้เพลี้ยอ่อนขยายพันธุ์ในเรือนทดลองต่อไป (ภาพที่ 3.10)

เตรียมสารละลายสำหรับการทดสอบ ได้แก่ 1) สปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ตามวิธีในข้อ 3.3 ในอัตราที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) เติมสาร จับใบ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ 2) น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อที่มีสารจับใบ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ และ 3) สารเคมี dimethoate 15-20 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร ในอัตราที่กำหนดในฉลาก ที่มีสารจับใบ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ โดยกำหนดให้แต่ละวิธีการ มีแปลงที่ได้รับการพ่น มีแปลงกีดกันจำนวนช่วงละ 1 แปลง และทดสอบพ่นบนต้นพืชทุกต้น โดยใช้เครื่อง พ่นสารเคมีแบบมือถือในทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ทำการนับและบันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อนลูกทอที่มีชีวิตและตาย ที่พบบนต้นพืช ทุก 24 ชั่วโมง โดยสุ่มนับจำนวนเพลี้ยอ่อนบนต้นพืช ที่ทำการทดสอบจำนวน 10 ต้นต่อวิธีทดลอง โดยแบบนับทั้งต้น จากนั้นเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่ตายมาวางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปูด้วยกระดาษกรองและให้ความชื้นด้วย น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ และนำมาวางในในสภาพอุณหภูมิ 20 ± 5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 ± 5 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพมืด และบันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อนที่พบเชื้อราเจริญบนผิวหนัง

คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent Cumulative Mortality - PCM) และ ค่าเฉลี่ยเวลาถึงการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (Mean Time to Death - MTD) หลังได้รับเชื้อของเพลี้ยอ่อน จากข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย PCM และ MTD โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ CBD ที่มีการทำซ้ำวิธีการทดลองละ 10 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อหา นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 % และหากพบนัยสำคัญ ทำการเปรียบเทียบ ความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ตามวิธีของ LeClerc et al. (1966) และ Snedecor & Cochran (1967)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการควบคุม เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*)

เตรียมพืชอาศัยในเรือนทดลองโดย ในช่วงเดือน เมษายน – มิถุนายน 2559 ทำการปลูก ถั่วฝักยาวในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร จำนวน 1 ต้นต่อกระถาง รวมจำนวน 30 กระถางต่อวิธีทดลอง ในโรงเรือน ณ หลักสูตรอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตรมหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยหลังจากย้ายปลูก 24 ชั่วโมง ทำการปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาวซึ่งเก็บตัวอย่างจากแปลง โดยการวางใบพืชที่มีเพลี้ยอ่อนจำนวนใบละ 20 ตัว จำนวน 1 ต่อกระถางและปล่อยให้เพลี้ยอ่อนขยายพันธุ์ในเรือนทดลองต่อไป (ภาพที่ 3.11)

เตรียมสารละลายสำหรับการทดสอบ ได้แก่ 1) สปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ตามวิธีในข้อ 3.3 ในอัตราที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) เติมสารจับใบ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ 2) น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อที่มีสารจับใบ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ และ 3) สารเคมี dimethoate 15-20 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร ในอัตราที่กำหนดในฉลาก ที่มีสารจับใบ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ โดยแต่ละวิธีทดลองวางห่างกัน 3 เมตร และทดสอบพ่นบนต้นพืชทุกต้น โดยใช้กระบอกฉีดน้ำในสภาพเรือนทดลอง ในทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ทำการนับและบันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาวที่มีชีวิตและตาย ที่พบบนต้นพืช ทุก 24 ชั่วโมง โดยสุ่มนับจำนวนเพลี้ยอ่อนบนต้นพืช ที่ทำการทดสอบจำนวน 10 ต้นต่อวิธีทดลอง โดยแบบนับทั้งต้น จากนั้นเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่ตายมาวางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปูด้วยกระดาษกรองและให้ความชื้นด้วย น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ และนำมาวางในในสภาพอุณหภูมิ 20 ± 5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 ± 5 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพมืด และบันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อนที่พบเชื้อราเจริญบนผิวหนัง

คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent Cumulative Mortality - PCM) และ ค่าเฉลี่ยเวลาถึงการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (Mean Time to Death - MTD) หลังได้รับเชื้อของเพลี้ยอ่อน จากข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย PCM และ MTD โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ CRD ที่มีการทำซ้ำวิธีการทดลองละ 10 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อหา นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 % และหากพบนัยสำคัญ ทำการเปรียบเทียบ ความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ตามวิธีของ LeClerc et al. (1966) และ Snedecor & Cochran (1967)



ภาพที่ 3.9 ต้นพริกซึ่งปล่อยเพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Myzus persicae*) เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในเรือนทดลอง ณ หลักสูตรอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่



ภาพที่ 3.10 แปลงพืชผักวงศ์กะหล่ำซึ่งปล่อยเพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในเรือนทดลอง ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่



ภาพที่ 3.11 ต้นถั่วฝักยาวซึ่งปล่อยเพลี้ยเลี้ยงเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis fabae*) เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในเรือนทดลอง ณ หลักสูตรอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

3.6 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายในระดับแปลงทดลอง

ในช่วงระหว่างเดือน พฤษภาคม – ตุลาคม 2559 ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ในระดับแปลงทดลอง โดยแบ่งการทดลองเป็นสาม ชุด ได้แก่การทดสอบในพริก (ภาพที่ 3.12) พืชผักวงศ์กะหล่ำ (ภาพที่ 3.13) และถั่วฝักยาว (ภาพที่ 3.14) โดยปล่อยให้มีการระบาดของเพลี้ยอ่อนตามธรรมชาติ โดยแต่ละชุดเริ่มจากการเตรียมแปลงทดลองขนาด 50 x 500 เซนติเมตร จำนวน 12 แปลง ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ จากนั้นปลูกพืชที่กำหนดไว้ในแปลงทดลอง โดยวิธีการย้ายกล้า เตรียมสารละลายที่ใช้ทดสอบตามวิธีในข้อ 3.5 หากแต่ในการพ่นสารละลายตามวิธีทดลอง ในแปลงจะใช้เครื่องพ่นแบบสเปรย์หลัง ทุก 7 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Completely Randomized Block Design - CBD) โดยมีการทำซ้ำวิธีการทดลองละ 3 แปลง และเก็บรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล ตามวิธีในข้อ 3.5 จากการสุ่มนับเพลี้ยอ่อนบนต้นพืช วิธีทดลองละ 30 ต้น



ภาพที่ 3. 12 แปลงพริกซึ่งใช้สำหรับทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ต่อเพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Myzus persicae*) ในระดับแปลงทดลอง ณ ฟาร์ม มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่



ภาพที่ 3.13 แปลงพืชผักวงศ์กะหล่ำซึ่งใช้สำหรับทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ต่อเพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) ในระดับแปลงทดลอง ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่



ภาพที่ 3.14 แปลงถั่วฝักยาวซึ่งใช้สำหรับทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis fabae*) ในระดับแปลงทดลอง ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

3.7 เครื่องมือในการวิจัยและการตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ

ผู้สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ (Laminar flow) ที่มีการรับรองมาตรฐานตามมาตรฐานของ NSF ได้แก่ การทดสอบความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงาน โดยวัดปริมาณของสปอร์ของแบคทีเรียที่ออกมาจากพื้นที่การทำงานภายในตู้สู่งสิ่งแวดล้อม ทดสอบความปลอดภัยของชิ้นงาน โดยวัดปริมาณของสปอร์ของแบคทีเรียภายนอกที่เข้ามาในพื้นที่การทำงานภายในตู้ และ ทดสอบการป้องกันการเกิด cross contamination โดยวัดปริมาณสปอร์ของแบคทีเรียที่ตกค้างภายในตู้หลังจากการทำงานรวมทั้งการทดสอบต่างๆนี้วัดทั้งความเร็วของการไหลเวียนอากาศภายในและภายนอกตู้ วัดความเร็วของอากาศที่หมุนเวียนในห้องปฏิบัติการ ทดสอบการรั่วของแผ่นกรอง HEPA นอกจากนี้ยังทดสอบไปถึง การสั่นและความดังของตู้ขณะทำงาน และวัดปริมาณความเข้มแสงในห้องปฏิบัติงาน โดยช่างดูแลอุปกรณ์

หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Tomy autoclave SS-320, Tomy Seiko Co. Ltd., Japan) ซึ่งได้รับการประกันคุณภาพและบำรุงรักษาจากบริษัทผู้จำหน่าย ผู้เชี่ยวชาญ หรือผู้ผลิต ได้แก่ (1) ตัวบ่งชี้ทางกายภาพประกอบไปด้วย โลหะอัลลอยด์ ที่สามารถทนอุณหภูมิสูงที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีได้ โดยไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ถ้าโลหะนี้เกิดหลอมเหลวหรือเสียหายจากการทำงานของเครื่องจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่สามารถมองเห็นได้ (2) ตัวบ่งชี้ทางเคมีได้แก่ การมีเทปสำหรับนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave tape) ซึ่งจะมีแถบสีที่จะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีดำหรือน้ำตาลเข้ม เมื่อผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (3) ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ โดยตัวบ่งชี้ชนิดนี้คือการบรรจุสปอร์ของแบคทีเรียที่ทนความร้อนได้สูงมาก ถ้าเครื่อง autoclave ไม่สามารถทำอุณหภูมิที่ถูกต้อง สปอร์เหล่านี้จะเจริญเติบโตต่อไปได้ ซึ่งตัวบ่งชี้ทางชีวภาพนี้จะได้กล่าวถึงอย่างละเอียดในหัวข้อต่อไป อีกทั้งมีการทดสอบเครื่อง autoclave ทุกๆ 6 เดือน โดยการทำ spore test โดยใช้ชุดทดสอบแบบสำเร็จ (spore strips) ของเชื้อแบคทีเรียพวก *Bacillus stearothermophilus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ทนความร้อนได้สูงมาก โดยใส่ชุดทดสอบซึ่งภายในมีอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ หลังจากเริ่มการทำงานเครื่องแล้ว จะทำให้หลอดแก้วภายในชุดทดสอบแตกสปอร์ที่อยู่ภายใน ก็จะตกลงไปในอาหารเหลวภายใน หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำชุดทดสอบไปบ่มที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ถ้าสปอร์ถูกทำลายทั้งหมดสีของอาหารจะยังคงเป็นสีฟ้าเช่นเดิม แต่ถ้าสปอร์มีการเจริญเติบโตและมีกระบวนการเมตาบอลิซึมเกิดขึ้นจะทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง อีกทั้งมีการใช้เครื่องมือ และมีการบรรจุสิ่งที่จะฆ่าเชื้ออย่างปลอดภัยตามคำแนะนำของผู้ผลิต

กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope และกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope ซึ่งมีการตรวจสอบคุณภาพโดยบริการหลังการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ รวมทั้งมีการจัดการด้านพื้นฐานการใช้และการดูแลเบื้องต้นโดยผู้ใช้และดูแลอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ ในห้องปฏิบัติการเช่น การเก็บกล้องจุลทรรศน์ไว้ในที่ที่ปราศจากฝุ่นละออง ไม่มีความชื้นสูง ในห้องมีอากาศถ่ายเทได้สะดวก หลีกเลี่ยงจากสถานที่ที่มีเชื้อรา การเตรียมสไลด์ที่เหมาะสมกับการใช้กล้อง การขีดเลนส์ต้องใช้กระดาษขีดเลนส์ทุกครั้งโดยน้ำยาที่ใช้ขีดเลนส์ ได้แก่ xylene 85% ผสม ether 15% หรือ alcohol 80% ผสม ether 20% ส่วนไมโครมิเตอร์ที่ใช้วัดขนาดของสิ่งที่ส่องได้กล้อง ได้มีการเทียบค่าระยะห่างของแต่ละช่องกัน stage micrometer เมื่อต้องการวัดขนาดวัตถุ ให้ใส่แผ่นกระจกกลมในกระบอกเลนส์ใกล้ตา วางแผ่น stage micrometer บนแท่นวางสไลด์ หลังปรับกล้องให้เห็นภาพชัดแบ่งบนสไลด์ แล้วเทียบระยะห่างแต่ละช่องบนแผ่นกระจกกลมกับขีดแบ่งบนแผ่นสไลด์ และ คำนวณค่าของระยะห่างของช่องบนแผ่นกระจกกลมตามสูตร

ค่า 1 ช่องของ ocular micrometer = จำนวนช่องของ stage micrometer / จำนวนช่องของ ocular micrometer x ค่า 1 ช่องของ stage micrometer

อุปกรณ์พื้นฐานในห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาอื่น ๆ เช่นเครื่องแก้วและเครื่องมือวิทยาศาสตร์ขนาดเล็ก มีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ รวมทั้งมีการปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ผลิตอย่างเคร่งครัด

เรือนทดลอง กรง กล้อง และและอุปกรณ์พื้นฐาน สำหรับเพาะเลี้ยงแมลงมีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางผู้รับเหมาจัดทำและผู้ตรวจรับ รวมทั้งมีการปฏิบัติงานตามความเหมาะสมในระดับที่ทดสอบ

อุปกรณ์สำหรับฉีดพ่นเชื้อราโรคแมลงมีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ

อุปกรณ์สำหรับให้ความชื้น (Devatec Steam Humidifier) มีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ

เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น (Temperature and Humidity Data Logger รุ่น SKL200THIIa, SK Sato, Japan) ซึ่งมีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ

เครื่องชั่งดิจิทัล (Digital Scale 3000g, GM-3KG, Lutron, Taiwan) ซึ่งมีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ

เครื่องเขย่าสารและควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) KS 4000 ic control, Germany มีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศทุก 6 เดือน รวมทั้งมีการปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ผลิตอย่างเคร่งครัด

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้มีการสั่งซื้อจากตัวแทนจำหน่ายที่ได้รับความเชื่อถือ รวมทั้งมีการคัดเลือกบริษัทผู้ผลิตที่มีคุณภาพ มีการตรวจสอบสภาพและอายุการใช้งาน และการใช้อัตราและวิธีการตามคำแนะนำของผู้ผลิตอย่างเคร่งครัด โดยสารเคมีที่ใช้ในการศึกษานี้ ได้แก่

1. Potato Dextrose Agar (PDA) (Hi-Media Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai 400 086, India)
2. Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (BIOMARK Laboratory, Pune 411011, India)
3. Beef Extract (Becton Dickinson Microbiolog Systems Company, Sparks, USA)
4. Peptone (Hi Media Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai 400 086, India)
5. Casein Acid Hydrolysate (Hi-Media Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai 400 086, India)
6. agar (ผงวุ้น)
7. Malt Extract (Fluka biochemika)
8. Magnesium sulphate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (CARLO ERBA REAGENTI, France)
9. K_2HPO_4 (CARLO ERBA REAGENTI, France)
10. Glycerol
11. Dextrose (DIFCO, BECTON DICKINSON, MD, USA)
12. สารจับใบ Tween 80
13. สารเคมีพื้นฐานที่ใช้ในการฆ่าเชื้อในห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยา
14. ethanol 70 %

15. methanol
16. acetic acid
17. CaCl_2
18. น้ำมันพืช
19. สารจับใบ Tween 80
20. ปุ๋ยเคมี สูตร 15-0-0
21. เมล็ดธัญพืชที่ให้เป็นวัสดุเพาะ ได้แก่ เมล็ดข้าวฟ่าง
22. สารเคมีพื้นฐานที่ใช้ในการฆ่าเชื้อในห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยา
23. กรงเพาะเลี้ยงแมลง ตาข่ายซาราน (Saran wrap) ขนาดกว้าง x ยาว x สูง 4x 5x 4 เมตร และชุดหลอดไฟขนาด 14 วัตต์ ซึ่งติดตั้งเครื่องจับเวลา (timer) ปิดเปิดไฟฟ้า
24. เมล็ดพันธุ์พืชสำหรับปลูกพืชอาศัย ได้แก่ เมล็ดยาสูบ มะเขือเทศ พริกชี้ฟ้า ถั่วฝักยาว
25. ดินปลูกพืช เช่น ดินเพาะกล้า (peat moss ยี่ห้อ Triple Leaf) ดินผสมอินทรีย์วัตถุแบบสำเร็จพร้อมปลูก (ยี่ห้อดินงาม)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนศัตรูผักที่พบว่าติดเชื้อ *Pandora neoaphidis* ในสภาพแปลงเกษตรกร

4.1.1 การรวบรวมตัวอย่างและการแพร่กระจายของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ในพื้นที่ศึกษา

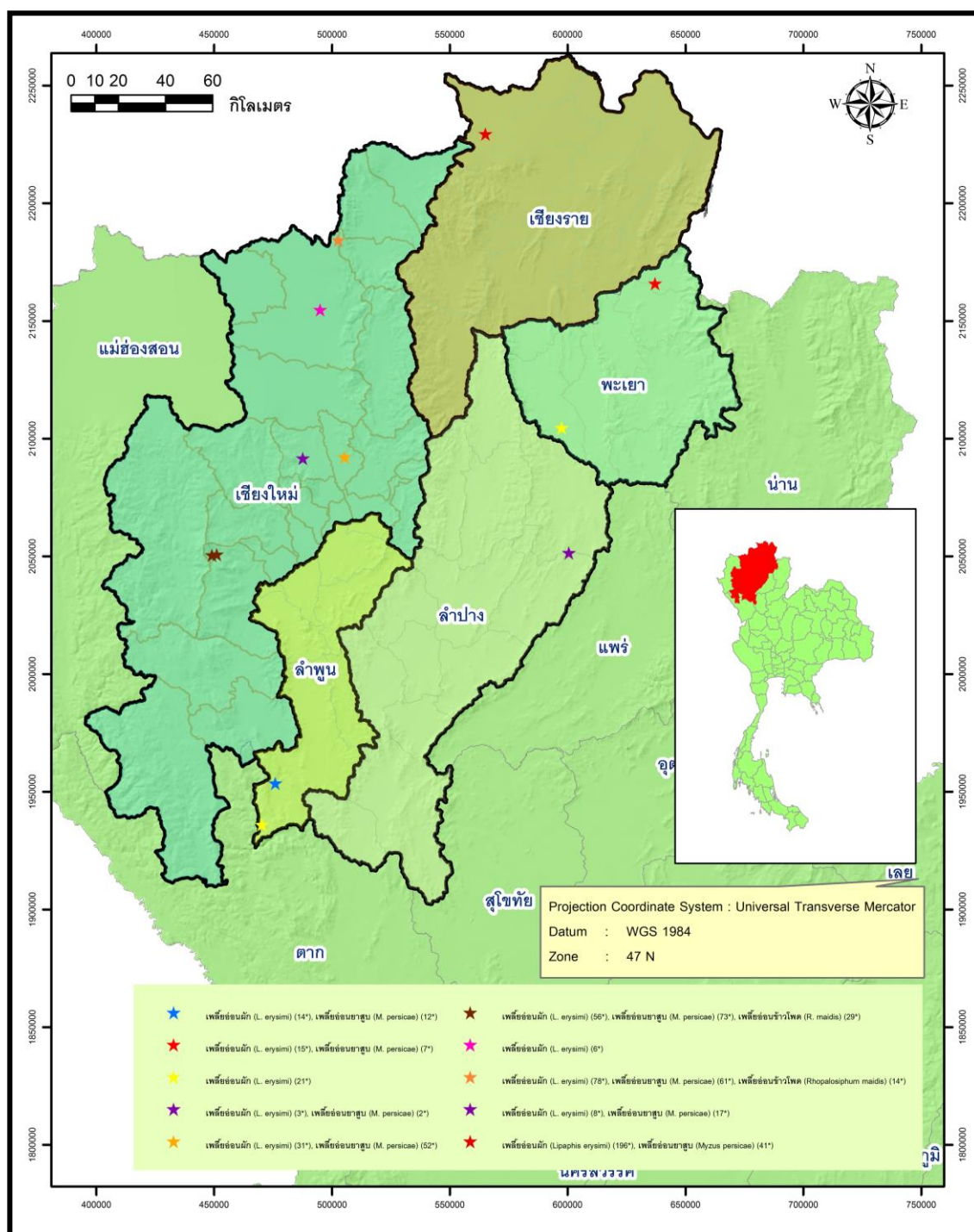
ผลการเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่ทำลายโดยเชื้อรา *P. neoaphidis* ในพื้นที่ 3 จังหวัดภาคเหนือตอนบนของประเทศไทยรวมทั้งหมด 20 พื้นที่ ได้แก่ อำเภอยางนคร พะเยา แม่สรวย เชียงราย แม่ลาว และแม่สรวย จังหวัดเชียงราย อำเภอสะเมิง แม่ริม แม่แตง ดอยสะเก็ด สันทราย สารภี และ จอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอบ้านธิ เมืองลำพูน ป่าซาง แม่ทา เวียงหนองล่อง และ ลี้ จังหวัดลำพูน เดือนละ 1-2 ครั้ง รวมจำนวน 12 ครั้งตั้งแต่เดือน กันยายน พ.ศ. 2557 ถึง กันยายน พ.ศ. 2558 โดยแต่ละพื้นที่หลักได้ถูกแบ่งเป็นจุดย่อยจำนวน 5 จุดย่อย ซึ่งมีขนาดพื้นที่ไม่เกิน 1,600 ตารางเมตร จากนั้นทำการสุ่มเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟ ตามวิธีของ Dent & Walton (1997) บนต้นพืชกลุ่มต่างๆ ซึ่งเป็นพืชปลูกในแปลงเกษตรกรที่ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช และไม่ใช้ คือ กลุ่มพืชผัก ได้แก่ กระเทียม ผักกาดขาว ผักกาดกวางตุ้ง กะหล่ำ และบรอกโคลี พริกชี้ฟ้า พริกชี้ขาว พริกหยวก มะเขือเทศ มะเขือยาว มะเขือเปราะ มันฝรั่ง ถั่วฝักยาว ไม้ดอก ดาวเรือง และเบญจมาศ พืชไร่ ได้แก่ ข้าวโพด และถั่วเหลือง และไม้ผล ได้แก่ ส้ม และมะนาว โดยกำหนดเวลาในการเก็บตัวอย่างจุดย่อยละ 1 ชั่วโมง รวม 100 จุดย่อย สามารถรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่เป็นโรคจากเชื้อราดังกล่าวจำนวน 716 ตัวอย่าง โดยมีเขตการแพร่กระจายในช่วงซึ่งอยู่ในช่วงเส้นรุ้ง (latitude) ที่ 18 องศา 46.2 ลิปดา 40 ฟลิปดาเหนือ ถึง เส้นรุ้งที่ 19 องศา 41 ลิปดา 1 ฟลิปดาเหนือ เส้นแวง (longitude) ที่ 99 องศา 49 ลิปดา 9.0 ฟลิปดาตะวันออก เส้นแวงที่ 100 องศา 11 ลิปดา 34 ฟลิปดาตะวันออก และมีการแพร่กระจายในพื้นที่ทุกจังหวัดที่ทำการสำรวจ ดังแสดงในภาพที่ 4.1 ทั้งนี้เมื่อพิจารณาตามชนิดของเพลี้ยอ่อนที่พบในแปลงระหว่างสำรวจ พบว่าเป็นตัวอย่างเพลี้ยอ่อนผักที่ถูกทำลายรวม 428 ตัวอย่าง เพลี้ยอ่อนยาสูบ 246 ตัวอย่าง และเพลี้ยอ่อนข้าวโพด 42 ตัวอย่าง (ภาพที่ 4.2) อีกทั้งเมื่อพิจารณาตามชนิดของพืชอาศัยพบว่าเพลี้ยอ่อนที่ถูกทำลายเป็นเพลี้ยอ่อนที่ทำลายพืชวงศ์กะหล่ำ (เพลี้ยอ่อนผัก และเพลี้ยอ่อนยาสูบ) รวมจำนวน 406 ตัวอย่าง โดยเฉพาะพื้นที่สูง ซึ่งมีการปลูกพืชผักโดยลดหรือไม่ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ทำลายเพลี้ยอ่อนยาสูบที่ทำลายมะเขือ โดยเฉพาะพริก (เพลี้ยอ่อนยาสูบ) รวม 268 ตัวอย่าง และเพลี้ยอ่อนข้าวโพดจำนวน 42 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างสามารถรวบรวมได้จาก จังหวัด เชียงราย พะเยา เชียงใหม่ ลำพูน และลำปาง ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และ ภาพที่ 4.3

ตารางที่ 4.1 ผลการรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่ถูกทำลายโดยเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ในพื้นที่จังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ พะเยา ลำพูนและลำปาง ตั้งแต่เดือนกันยายน 2557- ถึงกันยายน 2558

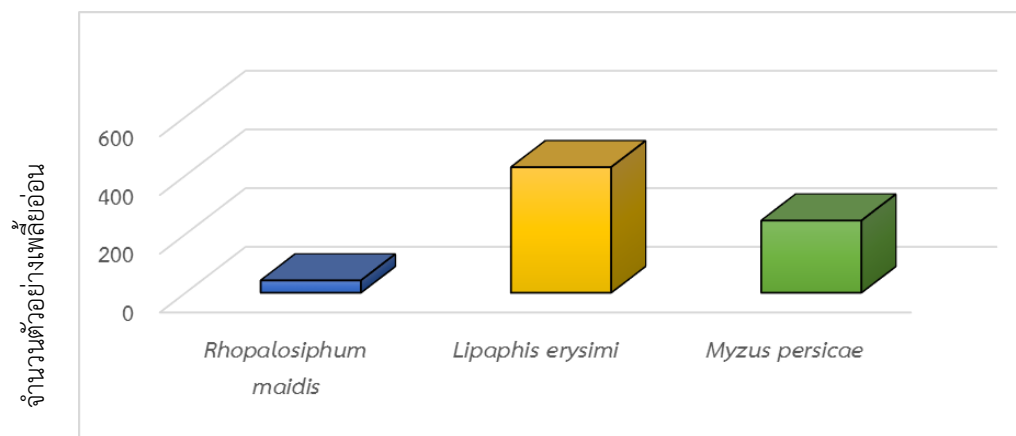
รหัสตัวอย่าง	ชนิดของเพลี้ยอ่อน	พืชอาศัย	สถานที่	พิกัด	
				เส้นรุ้ง (N)	เส้นแวง (E)
PE001-217	เพลี้ยอ่อนผัก (<i>Lipaphis erysimi</i>) (196*) เพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>Myzus persicae</i>) (41*)	กะหล่ำ (<i>Brassica oleracea</i>) คะน้า (<i>Brassica oleracea</i>) บรอกโคลี (<i>Brassica oleracea</i>)	ดอยแม่สลอง อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย	20° 9' 37.10"	99° 37' 25.38"
PE217-239	เพลี้ยอ่อนผัก (<i>L. erysimi</i>) (15*) เพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>M. persicae</i>) (7*)	คะน้า (<i>B. oleracea</i>) พริก (<i>Capsicum annuum</i>)	อ. ภูซาง จ. พะเยา	19°34'56.1"	100°18'28.34"
PE239-392	เพลี้ยอ่อนผัก (<i>L. erysimi</i>) (78*) เพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>M. persicae</i>) (61*) เพลี้ยอ่อนข้าวโพด (<i>Rhopalosiphum maidis</i>) (14*)	กะหล่ำ (<i>B. oleracea</i>) คะน้า (<i>B. oleracea</i>) บรอกโคลี (<i>B. oleracea</i>) ข้าวโพด (<i>Zea mays</i>)	ดอยอ่างขาง อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่		
PE392-475	เพลี้ยอ่อนผัก (<i>L. erysimi</i>) (31*) เพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>M. persicae</i>) (52*)	กะหล่ำ (<i>B. oleracea</i>) พริก (<i>C. annuum</i>)	อ. สันทราย จ. เชียงใหม่	18°55' 15.02"	99° 3' 6.59"
PE475-500	เพลี้ยอ่อนผัก (<i>L. erysimi</i>) (8*) เพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>M. persicae</i>) (17*)	กะหล่ำ (<i>B. oleracea</i>) พริก (<i>C. annuum</i>)	อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่		

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชนิดของเพลี้ยอ่อน	พืชอาศัย	สถานที่	พิกัด	
				เส้นรุ้ง (N)	เส้นแวง (E)
PE500-658	เพลี้ยอ่อนผัก (<i>L. erysimi</i>) (56*) เพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>M. persicae</i>) (73*) เพลี้ยอ่อนข้าวโพด (<i>R. maidis</i>) (29*)	กะหล่ำ (<i>B. oleracea</i>) คะน้า (<i>B. oleracea</i>) บรอกโคลี (<i>B. oleracea</i>) ข้าวโพด (<i>Zea mays</i>)	ดอยอินทนนท์	18°32' 47.00"	98° 32' 13.00"
			อ. จอมทอง	18°32'36.00"	98°31'06.00"
			จ. เชียงใหม่		
PE658-684	เพลี้ยอ่อนผัก (<i>L. erysimi</i>) (14*) เพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>M. persicae</i>) (12*)	กะหล่ำ (<i>B. oleracea</i>) คะน้า (<i>B. oleracea</i>) บรอกโคลี (<i>B. oleracea</i>)	อ. ลี้ จ. ลำพูน	17° 40' 5.04"	98° 46' 24.29"
PE684-689	เพลี้ยอ่อนผัก (<i>L. erysimi</i>) (3*) เพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>M. persicae</i>) (2*)	กะหล่ำ (<i>B. oleracea</i>) คะน้า (<i>B. oleracea</i>)	อ. แม่ทา จ. ลำพูน	18° 33' 2.00"	99° 15' 41.01"
PE689-695	เพลี้ยอ่อนผัก (<i>L. erysimi</i>) (6*)	กะหล่ำ (<i>B. oleracea</i>)	อ. เชียงดาว จ.	19°29' 10.26"	98° 57' 10.39"
			เชียงใหม่		
PE695-716	เพลี้ยอ่อนผัก (<i>L. erysimi</i>) (21*)	กะหล่ำ (<i>B. oleracea</i>)	อ. เมือง จ.พะเยา	19° 1' 50.98"	99° 55' 33.34"
				17°30'32.22"	98° 43' 11.23"

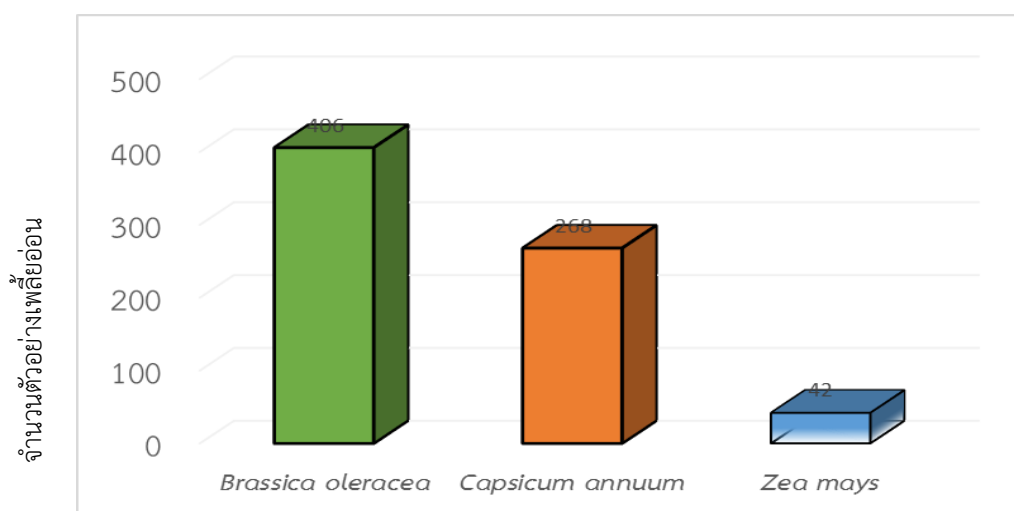


ภาพที่ 4.1 แผนที่การแพร่กระจายของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ในจังหวัดภาคเหนือในช่วงเดือนกันยายน - กันยายน 2558
(ที่มา: รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และศมาพร แสงยศ, 2557)



ชนิดของเพลี้ยอ่อน

ภาพที่ 4.2 เปรียบเทียบจำนวนเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิดที่พบว่าถูกเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ทำลายซึ่งพบในจังหวัดภาคเหนือในช่วงเดือนกันยายน 2557- กันยายน 2558

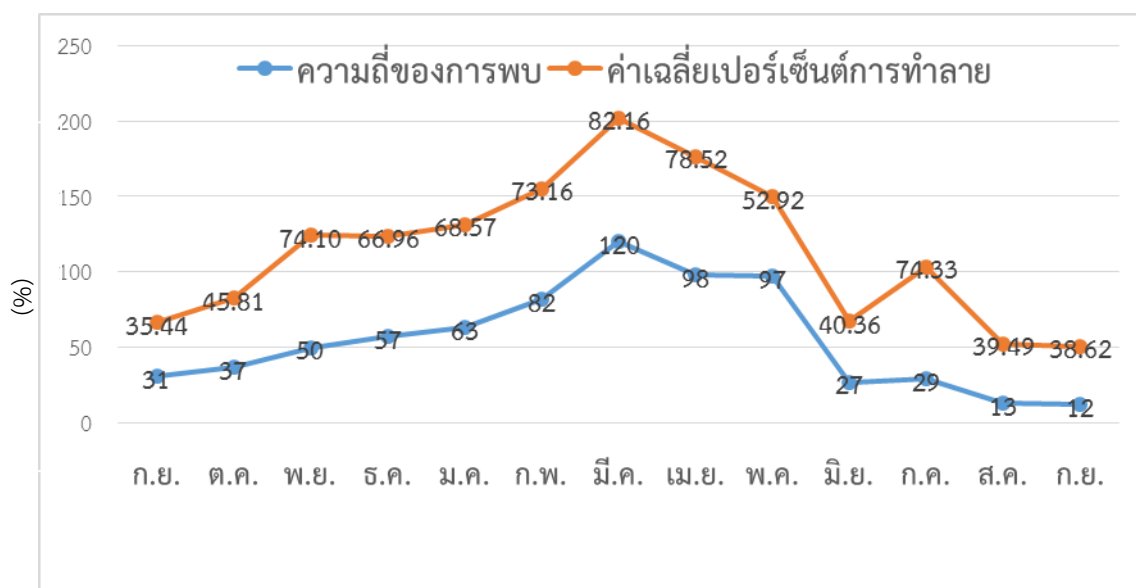


ชนิดของพืช

ภาพที่ 4.3 เปรียบเทียบชนิดของพืชที่พบเพลี้ยอ่อนที่ถูกเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ทำลายซึ่งพบในจังหวัดภาคเหนือในช่วงเดือนกันยายน - กันยายน 2558

4.1.2 การประเมินการขึ้นลงของประชากรที่เพลี้ยอ่อนที่ถูกทำลายโดยเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง (entomopathogens) *Pandora neoaphidis* ในสภาพแปลงเกษตรกร

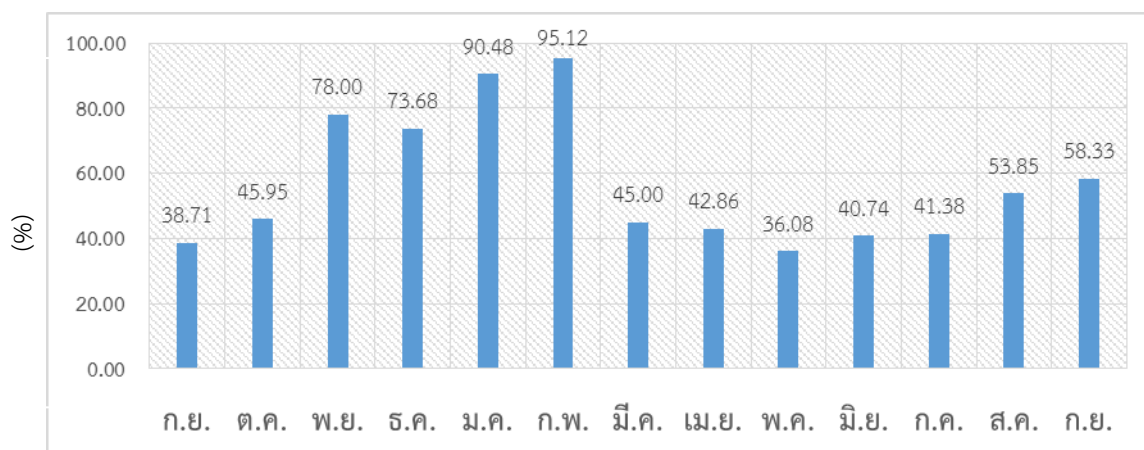
ระหว่างการเก็บรวบรวมตัวอย่างของเชื้อรา *P. neoaphidis* ได้มีการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรานี้และคำนวณเปอร์เซ็นต์การก่อโรคของเชื้อรานี้ตามวิธีของ Tanada and Kaya (1993) และ Lacey (1997) จากข้อมูลที่ได้เก็บรวบรวมได้ในระหว่างกันยายน พ.ศ. 2557- กันยายน 2558 เก็บรวบรวมตัวอย่าง และประเมินประชากรเพลี้ยอ่อนที่ถูกทำลายโดยเชื้อราสาเหตุโรคของเพลี้ยอ่อน *P. neoaphidis* โดยเปรียบเทียบจากตัวอย่างที่พบว่าถูกเชื้อดังกล่าวทำลาย พบว่าในธรรมชาติเชื้อรานี้ก่อโรคกับเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 48.05 ± 24.16 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การทำลายอยู่ระหว่าง 11.13 – 91.68 เปอร์เซ็นต์ โดยหลังจากการศึกษาการขึ้นลงของประชากรของเพลี้ยอ่อนที่ถูกทำลาย ในระหว่างช่วงเวลาที่ศึกษาพบว่าเชื้อนี้มีการระบาดตลอดทั้งปี และมีเปอร์เซ็นต์การทำลายเฉลี่ยรายเดือนตั้งแต่ 35.44-82.16 (เดือนกันยายน 2557 และเดือนมีนาคม 2558 ตามลำดับ) โดยจากการศึกษาซึ่งเริ่มเก็บข้อมูลจากเดือนกันยายน 2557 พบว่าเชื้อรามีการแพร่กระจายเพิ่มขึ้นเป็นลำดับจากเดือนกุมภาพันธ์ 2558 ถึง เมษายน 2558 โดยเริ่มลดลงตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2558 (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 การขึ้นลงของประชากรของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ซึ่งพิจารณาจากความถี่ของการพบเชื้อ และเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเพลี้ยอ่อน ในช่วงระหว่างเดือนกันยายน 2557 ถึงกันยายน 2558

4.2 การแยกเชื้อบริสุทธิ์ จำแนกชนิด ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และเพาะเลี้ยงเชื้อรา *P. neoaphidis*

จากการแยกเชื้อบริสุทธิ์ จำแนกชนิด ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และเพาะเลี้ยงเชื้อ ตามวิธีของรุ่งเกียรติ และ คณะ, 2557ก.) โดยการนำเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ *P. neoaphidis* มาเตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อราโดยวิธี Dilution plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) และ Sabouraud Dextrose Agar (SDA) และเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหาร Sabouraud Dextrose Agar Supplemented with Yeast Extract (SDAY) และตรวจสอบได้กล้องจุลทรรศน์ และบันทึกขนาดลักษณะการเกิดเส้นใยบนตัวแมลง สีของเส้นใย และรูปร่างของสปอร์ของเชื้อที่พบ พบว่าเชื้อรา *P. neoaphidis* ซึ่งเก็บตัวอย่างจากแปลงปลูกรวม 716 ตัวอย่างสามารถแยกเชื้อด้วยวิธีดังกล่าวโดยคิดจากเปอร์เซ็นต์ที่แยกได้จากจำนวนรวมของตัวอย่างในแต่ละเดือนที่เก็บตัวอย่าง อยู่ระหว่าง 36.07-90.48 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 56.94 ± 20.51 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.5)



ภาพที่ 4.5 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จของการแยกเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อรา จากเพลี้ยอ่อนที่เป็นโรค ซึ่งเก็บตัวอย่างระหว่างเดือนกันยายน 2557 ถึงเดือนกันยายน 2558

4.3 การคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ที่เหมาะสมกับการควบคุมเพลี้ยอ่อนชนิดในเป้าหมายแต่ละชนิดในระดับห้องปฏิบัติการ พร้อมไปกับการศึกษาการขึ้นลงของประชากรของเชื้อราในธรรมชาติ

ได้มีการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. neoaphidis* ที่เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหารเทียม ต่อเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชที่สำคัญ 3 ชนิด แสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* กับเพลี้ยอ่อนผัก
เพลี้ยอ่อนถั่ว และ เพลี้ยอ่อนยาสูบ ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	<i>Lipaphis erysimi</i>	<i>Aphis fabae</i>	<i>Myzus persicae</i>
PAN01	60.24 ± 2.05	55.10 ± 3.26	61.50 ± 6.59
PAN02	72.51 ± 3.41	71.34 ± 4.40	72.38 ± 5.18
PAN03	61.80 ± 2.16	63.90 ± 1.74	64.10 ± 2.65
PAN04	91.83 ± 2.18	92.36 ± 2.73	95.56 ± 3.25
PAN05	75.88 ± 2.17	76.08 ± 2.21	78.28 ± 3.89
PAN06	86.52 ± 2.05	88.92 ± 2.23	89.72 ± 3.47
PAN07	90.15 ± 1.46	90.95 ± 1.25	91.73 ± 1.57
PAN08	81.78 ± 2.19	81.38 ± 1.69	83.58 ± 2.18
PAN09	56.56 ± 2.07	60.50 ± 8.50	63.70 ± 7.39
PAN10	63.95 ± 2.22	64.35 ± 2.97	66.61 ± 3.21
PAN11	61.76 ± 1.43	63.36 ± 0.81	62.76 ± 1.59
PAN12	82.16 ± 2.57	82.30 ± 2.75	84.50 ± 2.32
PAN13	73.17 ± 2.05	73.84 ± 2.47	76.04 ± 2.32
PAN14	86.52 ± 1.87	86.12 ± 1.72	87.52 ± 1.75
PAN15	76.57 ± 1.10	74.97 ± 0.94	76.17 ± 0.95
PAN16	59.55 ± 1.98	55.15 ± 4.07	61.15 ± 2.54
PAN17	79.86 ± 1.35	77.88 ± 1.35	81.48 ± 2.63
PAN18	91.39 ± 2.59	92.16 ± 2.47	95.16 ± 4.09
PAN19	78.34 ± 10.52	81.12 ± 10.81	75.52 ± 12.17
PAN20	81.30 ± 4.93	81.10 ± 4.74	80.26 ± 4.39
PAN21	89.60 ± 2.56	89.30 ± 1.78	91.50 ± 3.13
PAN22	77.50 ± 4.23	77.83 ± 4.54	77.50 ± 4.32
PAN23	54.33 ± 1.51	54.33 ± 1.51	54.67 ± 1.37
PAN24	64.67 ± 4.68	64.67 ± 4.68	64.83 ± 4.62
PAN25	61.21 ± 2.46	61.67 ± 2.50	61.71 ± 1.93
PAN26	73.67 ± 1.32	73.59 ± 1.43	73.17 ± 0.68
PAN27	63.97 ± 3.31	63.80 ± 3.21	63.30 ± 2.36

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ไอโซเลท	<i>Lipaphis erysimi</i>	<i>Aphis fabae</i>	<i>Myzus persicae</i>
PAN28	91.31 ± 2.15	91.33 ± 2.16	90.81 ± 2.02
PAN29	61.67 ± 2.50	62.00 ± 2.37	62.50 ± 1.52
PAN30	57.00 ± 4.90	57.17 ± 5.04	55.33 ± 6.06
PAN31	80.33 ± 1.03	80.33 ± 1.03	80.67 ± 0.82
PAN32	73.83 ± 4.31	74.33 ± 3.93	75.83 ± 4.92
PAN33	78.00 ± 5.14	80.17 ± 6.24	75.83 ± 4.92
PAN34	85.00 ± 1.67	84.83 ± 0.41	80.17 ± 6.24
PAN35	90.83 ± 2.14	91.00 ± 2.00	84.67 ± 0.52
PAN36	80.17 ± 2.04	80.83 ± 1.83	90.33 ± 1.86
PAN37	52.67 ± 2.88	53.50 ± 1.76	80.67 ± 2.07
PAN38	62.67 ± 1.51	62.83 ± 1.33	52.33 ± 2.66
PAN39	61.33 ± 1.97	62.17 ± 2.32	62.17 ± 0.98
PAN40	82.17 ± 3.54	82.50 ± 3.39	61.83 ± 1.60
PAN41	71.67 ± 2.07	72.50 ± 3.02	81.00 ± 1.26
PAN42	61.79 ± 1.74	62.00 ± 1.67	70.67 ± 1.51
PAN43	71.59 ± 1.56	71.50 ± 1.52	61.46 ± 1.87
PAN44	63.33 ± 4.63	65.83 ± 6.71	71.50 ± 1.52
PAN45	90.83 ± 0.75	90.00 ± 1.10	65.33 ± 6.89
PAN46	89.00 ± 0.63	89.00 ± 0.63	90.67 ± 0.82
PAN47	79.00 ± 1.26	81.00 ± 3.46	89.33 ± 0.52
PAN48	55.00 ± 2.00	54.67 ± 1.37	80.67 ± 3.67
PAN49	61.67 ± 1.51	61.67 ± 1.37	54.50 ± 1.38
PAN50	60.67 ± 1.21	61.00 ± 1.26	61.50 ± 1.38
PAN51	73.09 ± 1.20	73.17 ± 1.17	61.17 ± 0.98
PAN52	61.63 ± 0.50	63.33 ± 4.27	72.59 ± 0.80
PAN53	92.17 ± 1.17	92.17 ± 1.17	61.47 ± 0.52
PAN54	63.33 ± 1.03	63.50 ± 1.05	92.17 ± 1.17
PAN55	87.50 ± 1.76	87.67 ± 1.51	63.50 ± 1.05
PAN57	60.83 ± 12.38	61.17 ± 12.21	80.83 ± 0.98
PAN58	63.00 ± 0.63	63.00 ± 0.63	56.33 ± 1.37

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ไอโซเลตส์	<i>Lipaphis erysimi</i>	<i>Aphis fabae</i>	<i>Myzus persicae</i>
PAN59	60.62 $\pm$ 0.76	60.83 $\pm$ 0.98	62.67 $\pm$ 0.52
PAN60	72.09 $\pm$ 1.28	72.09 $\pm$ 1.28	60.71 $\pm$ 1.01
PAN61	61.80 $\pm$ 0.75	61.67 $\pm$ 0.82	72.50 $\pm$ 0.77
PAN62	91.64 $\pm$ 0.81	91.33 $\pm$ 1.03	61.80 $\pm$ 0.75
PAN63	65.33 $\pm$ 3.39	65.83 $\pm$ 4.58	91.47 $\pm$ 1.03
PAN64	60.33 $\pm$ 0.82	80.17 $\pm$ 6.24	65.50 $\pm$ 4.72

4.4 การประเมินอัตราความเข้มข้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ที่ก่อโรคแก่แมลงในเป้าหมายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) ในระดับห้องปฏิบัติการ

การประเมินอัตราความเข้มข้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ที่ก่อโรคแก่แมลงในเป้าหมายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) ในระดับห้องปฏิบัติการโดยทดสอบกับแมลงในเป้าหมายสามชนิด พบว่าในการทดสอบกับเพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Mizus persicae*) เชื้อราสามารถก่อโรคให้แก่เพลี้ยอ่อนนี้ 50 เปอร์เซ็นต์ที่ระดับความเข้มข้นของสปอร์ 75.55 สปอร์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร โดยมีค่าความชันของกราฟเท่ากับ 1.321 มีค่าจุดตัด 2.479 และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็น 0.757 และ R² เท่ากับ 0.723 (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.6) ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของการก่อการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ แก่เพลี้ยอ่อนผัก (*Liphapsis erisimi*) เป็น 78.44 สปอร์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร โดยมีค่าความชันของกราฟเท่ากับ 1.12 มีค่าจุดตัด 2.12 และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็น 0.88 และ R² เท่ากับ 0.709 (ตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.7) และระดับความเข้มข้นของการก่อการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ แก่เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*) เท่ากับ 59.78 สปอร์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ซึ่งค่าความชันของกราฟเท่ากับ 1.06 มีค่าจุดตัด 1.87 และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็น 0.94 และ R² เท่ากับ 0.57 (ตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.8)

ตารางที่ 4.3 ผลการประเมินอัตราความเข้มข้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ที่ก่อโรคแก่เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Mizus persicae*) ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) ในระดับห้องปฏิบัติการ

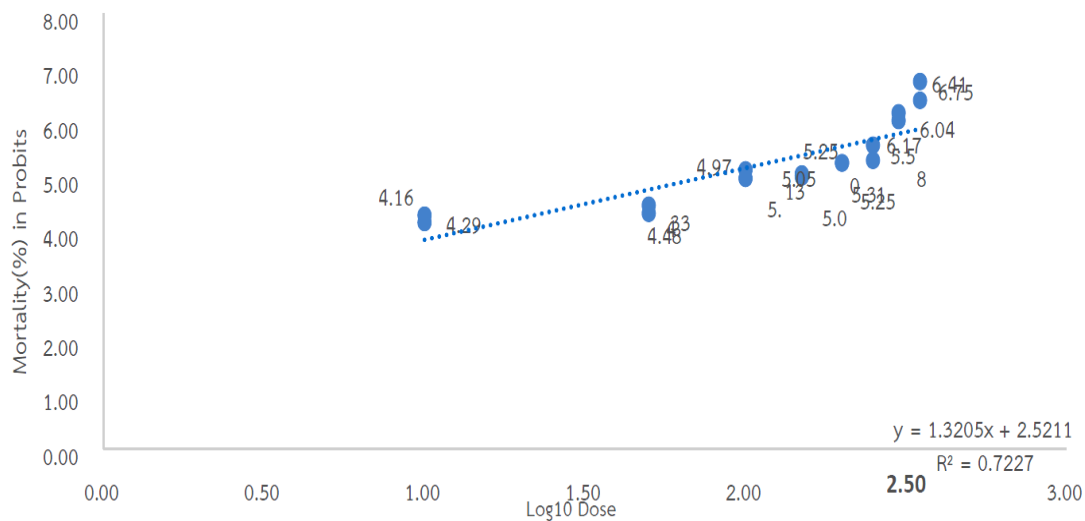
LC (%)	LC spore/ml ²	95%Fiducial CI	
		Lower	Upper
LD45	59.25	41.03	85.57
LD46	62.22	43.08	89.84
LD47	65.32	45.23	94.32
LD48	68.57	47.48	99.02
LD49	71.98	49.84	103.94
LD50	75.55	52.32	109.10
LD51	79.31	54.92	114.52
LD52	83.25	57.65	120.21
LD53	87.39	60.52	126.20
LD54	91.75	63.53	132.49
LD55	96.33	66.71	139.11
LD56	101.17	70.06	146.09

ตารางที่ 4.4 ผลการประเมินอัตราความเข้มข้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ที่ก่อโรคแก่เพลี้ยอ่อนฝัก (*Liphapis erisimi*) ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) ในระดับห้องปฏิบัติการ

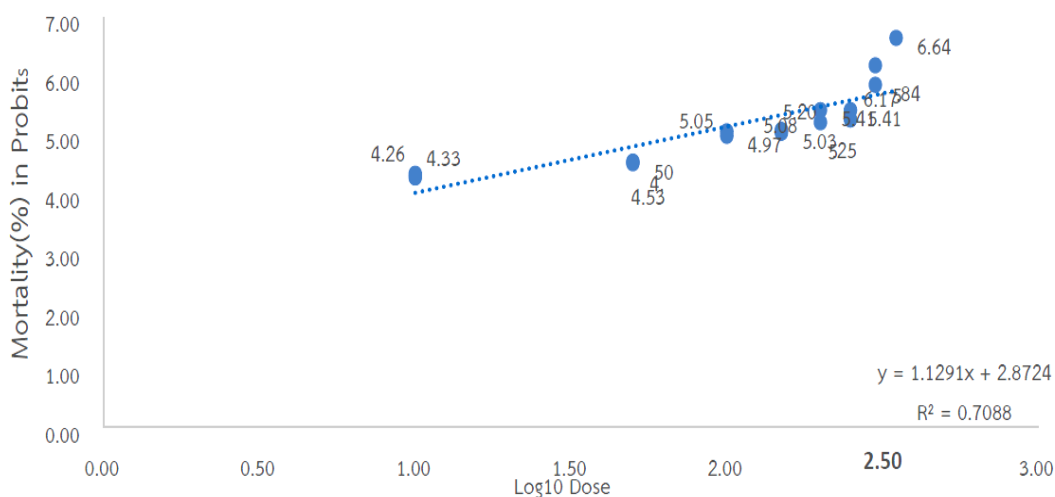
LC (%)	LC spore/ml ²	95%Fiducial CI	
		Lower	Upper
LD45	59.36	38.98	90.38
LD46	62.78	41.23	95.58
LD47	66.38	43.59	101.07
LD48	70.18	46.09	106.86
LD49	74.19	48.73	112.97
LD50	78.44	51.51	119.43
LD51	82.92	54.46	126.26
LD52	87.66	57.57	133.48
LD53	92.68	60.87	141.12
LD54	98.00	64.36	149.22
LD55	103.64	68.07	157.81
LD56	109.63	72.00	166.92

ตารางที่ 4.5 ผลการประเมินอัตราความเข้มข้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ที่ก่อโรคแก่เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*) ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) ในระดับห้องปฏิบัติการ

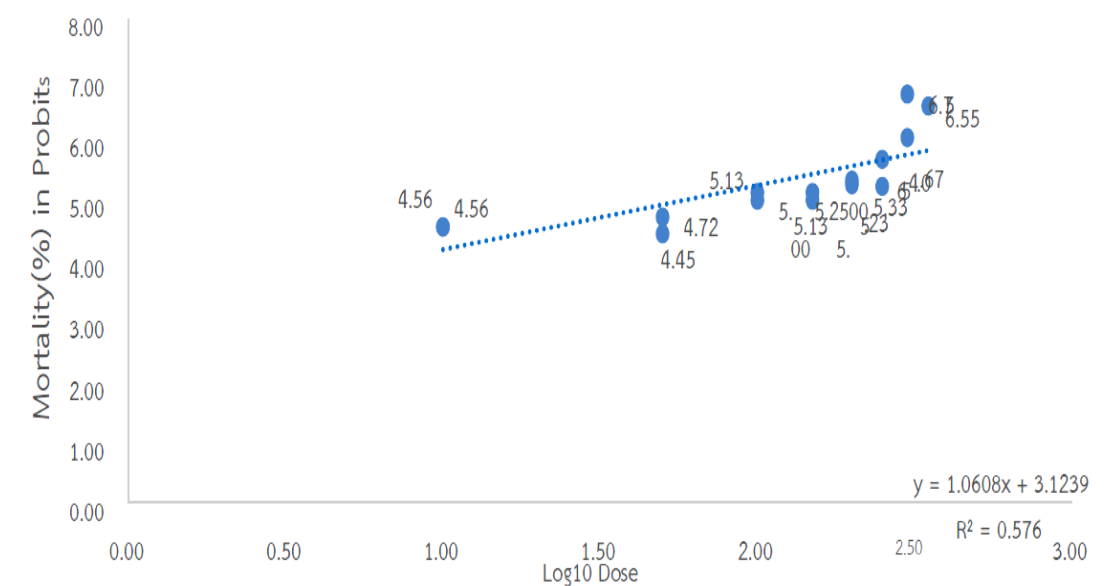
LC (%)	LC spore/ml ²	95% Fiducial CI	
		Lower	Upper
LD45	43.84	27.95	68.75
LD46	46.65	29.75	73.17
LD47	49.64	31.65	77.86
LD48	52.82	33.68	82.84
LD49	56.20	35.83	88.13
LD50	59.78	38.12	93.76
LD51	63.60	40.55	99.75
LD52	67.67	43.15	106.12
LD53	72.00	45.91	112.91
LD54	76.61	48.85	120.15
LD55	81.53	51.99	127.87
LD56	86.79	55.34	136.11



ภาพที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์อัตราความเข้มข้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ที่ก่อโรคแก่ เพี้ยอ่อนลูกท้อ (*Myzus persicae*) แมลงในเป้าหมายที่ 50 (LC₅₀) ในระดับห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4.7 ผลการวิเคราะห์อัตราความเข้มข้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ที่ก่อโรคแก่ เพี้ยอ่อนผัก (*Liphapis erisimi*) แมลงในเป้าหมายที่ 50 (LC₅₀) ในระดับห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4.8 ผลการวิเคราะห์อัตราความเข้มข้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ที่ก่อโรคแก่ เพ็ลยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*) แผลงในเป้าหมายที่ 50 (LC₅₀) ในระดับห้องปฏิบัติการ

4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายในระดับเรือนทดลอง

หลังจากทำการทดสอบการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายในระดับเรือนทดลอง โดยการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรานี้ในระดับความเข้มข้นที่ก่อการตายแก่แมลงเป้าหมายที่ทดสอบ 50 เปอร์เซ็นต์ตามผลที่ได้จากการทดลองในข้อ 4.4 กล่าวคือในช่วงระหว่างเดือน มกราคม – มีนาคม 2559 ทำการปล่อยและทดสอบกับเพลี้ยอ่อนลูกท้อ ให้ลงทำลายพริก ณ ในโรงเรือน หลักสูตรอารักขาพืช คณะผลิตภัณฑ์การเกษตรมหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยเปรียบเทียบกับสารเคมี dimethoate และ การพ่นน้ำกลั่นและ ทุก 7 วัน และเก็บข้อมูลการตายของแมลงในเป้าหมายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์ พบว่าเพลี้ยอ่อนในโรงเรือนมีแนวโน้มการเพิ่มประชากรในทุกวิธีทดลอง โดยระดับประชากรสุดท้ายของเพลี้ยอ่อน ณ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเป็น 159.06 44.46 และ 127.57 ตัวต่อใบตามลำดับ อีกทั้งพบว่าปริมาณเพลี้ยอ่อนลูกท้อที่ติดเชื้อ เพิ่มขึ้นตามตามลำดับ โดยเฉพาะวิธีการที่พ่นสารแขวนลอยสปอร์ โดย ณ สัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง มีประชากรเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ เป็น 73.09 ตัวต่อใบ ตัวในขณะที่การพ่นสารเคมี ไม่พบเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ และส่วนการพ่นน้ำกลั่นพบเพลี้ยอ่อนติดเชื้อ ณ สัปดาห์ที่ 8 เฉลี่ย 1 ตัวต่อต้น (ตารางที่ 4.6 ภาพที่ 4.9) ทั้งนี้จากการวัดประสิทธิภาพของ *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในเป้าหมาย โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตาย (CPM) และเวลาเฉลี่ยถึงการตาย (MTD) โดยจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 % พบว่าแต่ละวิธีการมีค่า CPM และ MTD แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนมากที่สุดได้แก่การใช้สารเคมี กล่าวคือทำให้เพลี้ยอ่อนตายเฉลี่ย 85.05 ± 5.33 เปอร์เซ็นต์ รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ซึ่งเท่ากับ 50.94 ± 16.55 เปอร์เซ็นต์ และวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนน้อยที่สุดคือการพ่นน้ำกลั่น ซึ่งเพลี้ยอ่อนตายเฉลี่ยเท่ากับ 21.99 ± 6.21 (ตารางที่ 4.9) ทั้งนี้จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย MTD พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญโดยวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนเร็วที่สุดได้แก่การพ่นสารเคมี รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา และน้ำกลั่น โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น 1.00 ± 1.15 และ 17 ± 1.73 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 4.10)

การทดสอบการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายในระดับเรือนทดลอง โดยการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรานี้ในระดับความเข้มข้นที่ก่อการตายแก่แมลงในเป้าหมายที่ทดสอบ 50 เปอร์เซ็นต์ตามผลที่ได้จากการทดลองในข้อ 4.4 ได้แกในช่วงระหว่างเดือน มกราคม – มีนาคม 2559 ทำการปล่อยและทดสอบกับเพลี้ยอ่อนผักให้ลงทำลายพืชผักวงศ์กะหล่ำ ณ ในโรงเรือน ฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ โดยเปรียบเทียบกับสารเคมี dimethoate และ การพ่นน้ำกลั่นและ ทุก 7 วัน และเก็บข้อมูลการตายของแมลงในเป้าหมายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์ พบว่าเพลี้ยอ่อนในโรงเรือนมีแนวโน้มการเพิ่มประชากรในทุกวิธีทดลอง โดยระดับประชากรสุดท้ายของเพลี้ยอ่อน ณ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเป็น 159.17 42.87 และ 242.28 ตัวต่อใบตามลำดับ และจากการนับปริมาณเพลี้ยอ่อนผักที่ติดเชื้อ พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะวิธีการที่พ่นสารแขวนลอยสปอร์ ทั้งนี้ ณ สัปดาห์ที่ 8

ของการทดลอง พบเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ เป็น 43.69 ตัวต่อใบ ในขณะที่การพ่นสารเคมี ไม่พบเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ ส่วนการพ่นน้ำกลั่นพบเพลี้ยอ่อนติดเชื้อ เฉลี่ย 1 ตัวต่อใบ (ตารางที่ 4.7 ภาพที่ 4.10) ส่วนการวัดประสิทธิภาพของ *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนผัก จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตาย (CPM) และเวลาเฉลี่ยถึงการตาย (MTD) โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 % พบว่าแต่ละวิธีการมีค่า PCM และ MTD แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการใช้สารเคมี วิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนมากที่สุด คือ 92.10 ± 9.18 เปอร์เซ็นต์ รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ซึ่งเท่ากับ 45.17 ± 4.27 เปอร์เซ็นต์ และวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนน้อยที่สุดคือการพ่นน้ำกลั่น ซึ่งเพลี้ยอ่อนตายเฉลี่ยเท่ากับ 29.51 ± 2.38 (ตารางที่ 4.9) ทั้งนี้จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย MTD พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญโดยวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนเร็วที่สุดได้แก่การพ่นสารเคมี รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา และน้ำกลั่น โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น $1.00 \ 5.56 \pm 1.53$ และ 17.00 ± 4.25 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 4.10)

การทดสอบการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว ในระดับเรือนทดลอง โดยพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรานี้ในระดับความเข้มข้นที่ก่อการตายแก่แมลงใส่เป้าหมายที่ทดสอบ 50 เปอร์เซ็นต์ตามผลที่ได้จากการทดลองในข้อ 4.4 กล่าวคือในช่วงระหว่างเดือน เมษายน – มิถุนายน 2559 ทำการปล่อยและทดสอบกับเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว ให้ลงทำลายพริก ณ ในโรงเรือน หลักสูตรอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยเปรียบเทียบกับสารเคมี dimethoate และการพ่นน้ำกลั่นและ ทุก 7 วัน และเก็บข้อมูลการตายของแมลงในเป้าหมายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์ พบว่าประชากรเพลี้ยอ่อน และจำนวนของเพลี้ยอ่อนในโรงเรือนมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้น ทั้งที่ระดับประชากรเพลี้ยอ่อน ถั่วฝักยาวที่ไม่ติดเชื้อ ในวิธีทดลองที่พ่นสปอร์ของเชื้อรา สารเคมี และน้ำกลั่น ณ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเป็น 102.26 34.32 และ 128.58 ตัวต่อใบตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณของเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ สามารถตรวจพบได้เฉพาะในวิธีการพ่นสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 และการพ่นน้ำกลั่นเท่านั้น โดย ณ สัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง มีประชากรเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ เป็น 39.54 ตัวต่อใบ การพ่นน้ำกลั่นพบเพลี้ยอ่อนติดเชื้อ ณ สัปดาห์ที่ 8 เฉลี่ย 1 ตัวต่อต้น (ตารางที่ 4.8 ภาพที่ 4.11) และการวัดประสิทธิภาพของ *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาวในเรือนทดลองจากการเปรียบเทียบค่า CPM และ MTD และวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 % พบว่าแต่ละวิธีการมีค่า PCM และ MTD แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนมากที่สุดได้แก่การใช้สารเคมี รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 และการพ่นน้ำกลั่น โดยค่า PCM เท่ากับ 80.24 ± 7.59 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเท่ากับ 47.36 ± 11.56 เปอร์เซ็นต์ และ 22.17 ± 7.96 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.9) ส่วนผลการวัดค่า MTD พบว่าวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนเร็วที่สุดได้แก่การพ่นสารเคมี รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา และน้ำกลั่น โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น $1.00 \ 3.67 \pm 0.58$ และ 14.33 ± 4.04 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.6 ค่าเฉลี่ยประชากรของเพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Myzus persicae*) ในเรือนทดลอง ซึ่งพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 และพ่นน้ำกลั่น ในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังย้ายกล้าปลูกในกระถาง

จำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัว/ใบ)	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 7	สัปดาห์ที่ 8
<i>M. persicae</i> (Tr)	1.10	6.50	26.00	110.78	132.97	148.20	152.49	159.06
Cadavers (Tr)	3.09	3.40	14.20	20.26	22.50	51.29	54.29	73.09
<i>M. persicae</i> (Control)	8.34	20.38	39.20	77.92	93.87	110.12	120.91	127.57
Cadavers (Control)	0.00	1.70	1.70	0.00	0.00	0.00	1.40	1.00
<i>M. persicae</i> (dimethoate)	0.00	0.60	2.50	8.80	9.68	31.48	33.27	44.46
Cadavers (dimethoate)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยจากการเก็บข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัวต่อใบ) ที่พบ และจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ตาย โดยการนับทั้งต้น และนับจำนวนใบ ทุก 24 ชั่วโมง หลังการย้ายกล้าปลูก เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์
: Cadavers หมายถึงเพลี้ยอ่อนที่ตายจากการติดเชื้อรา

ตารางที่ 4.7 ค่าเฉลี่ยประชากรของ เพลี้ยอ่อนผัก (*Liphapis erysimi*) ในเรือนทดลอง ซึ่งพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 และพ่นน้ำกลั่น ในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังย้ายกล้าปลูกในกระถาง

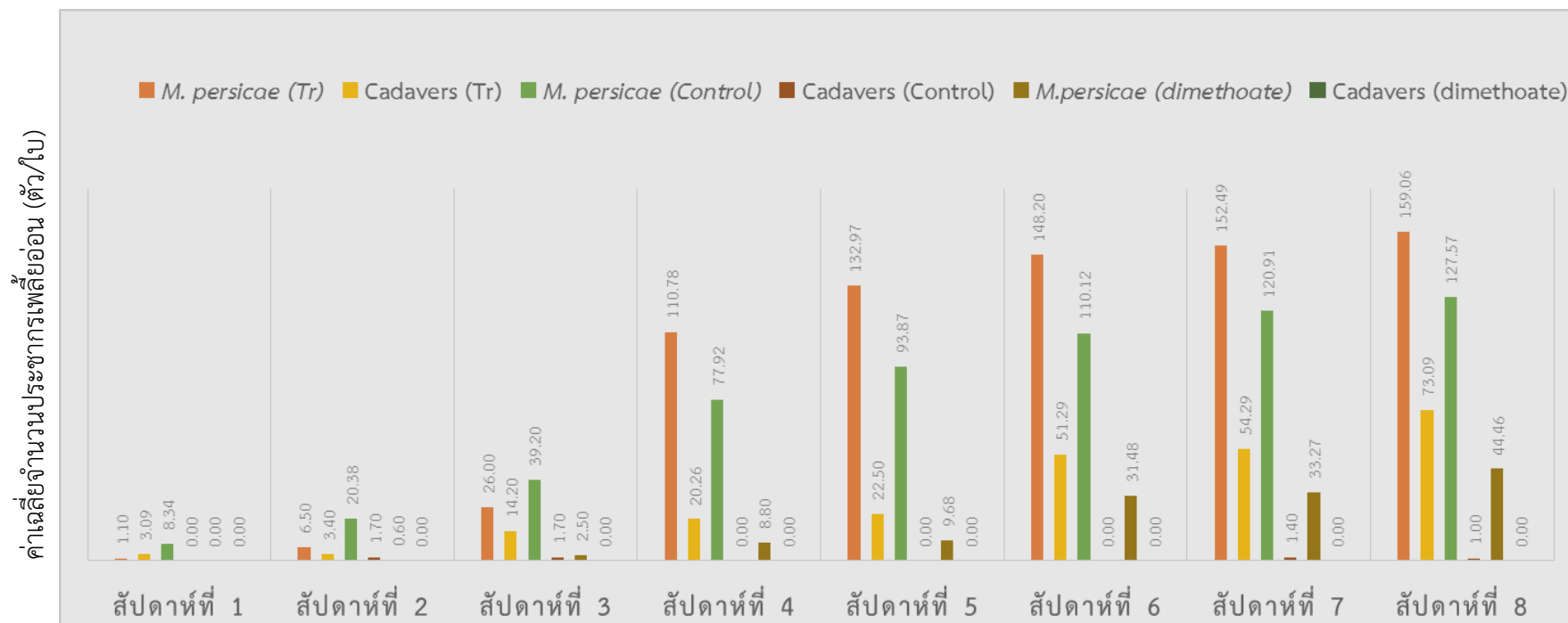
จำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัว/ใบ)	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 7	สัปดาห์ที่ 8
<i>L. erysimi</i> (Tr)	1.10	6.50	26.00	110.78	132.97	148.20	152.49	159.06
Cadavers (tr)	2.90	3.40	12.70	17.50	20.19	23.44	30.17	43.69
<i>L. erysimi</i> (Control)	25.48	54.40	101.40	209.76	219.06	229.73	237.38	242.28
Cadavers (Control)	0.00	0.00	0.80	0.10	1.20	4.50	1.40	1.00
<i>L. erysimi</i> (dimethoate)	0.00	0.60	2.30	8.40	9.24	29.30	31.17	42.87
Cadavers (dimethoate)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยจากการเก็บข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัวต่อใบ) ที่พบ และจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ตาย โดยการนับทั้งต้น และนับจำนวนใบ ทุก 24 ชั่วโมง หลังการย้ายกล้าปลูก เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์
: Cadavers หมายถึงเพลี้ยอ่อนที่ตายจากการติดเชื้อรา

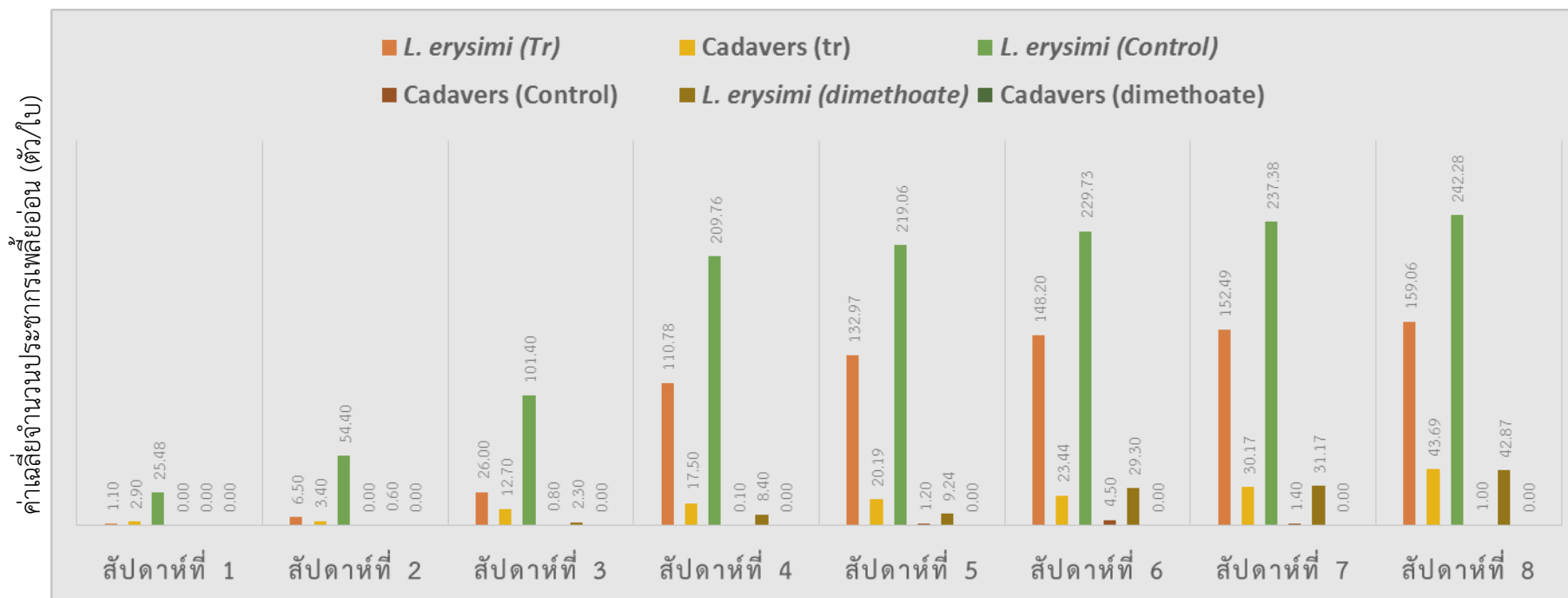
ตารางที่ 4.8 ค่าเฉลี่ยจำนวนของ เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*) ที่ติดเชื้อในเรือนทดลองซึ่งพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 และพ่นน้ำกลั่น ในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังย้ายกล้าปลูกในกระถาง

จำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัว/ใบ)	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 7	สัปดาห์ที่ 8
<i>A. fabae</i> (Tr)	1.10	6.50	30.70	65.25	89.30	90.31	93.66	102.26
Cadavers (Tr)	3.10	3.40	17.60	20.28	22.67	26.61	28.60	39.54
<i>A. fabae</i> (Control)	6.62	33.96	43.20	79.94	95.39	111.33	121.99	128.58
Cadavers (Control)	0.00	0.00	5.90	0.00	1.60	0.00	1.40	1.00
<i>A. fabae</i> (dimethoate)	0.00	0.00	0.00	0.00	9.90	22.09	23.79	34.32
Cadavers (dimethoate)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

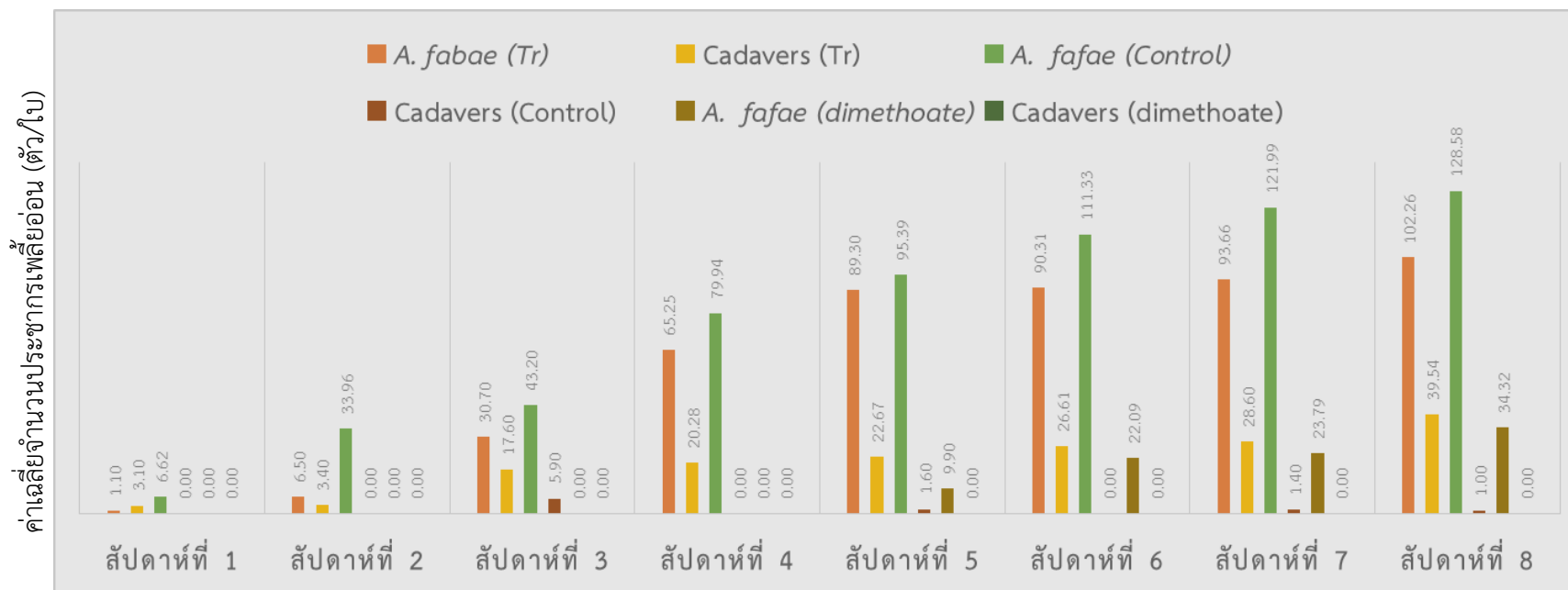
หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยจากการเก็บข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัวต่อใบ) ที่พบ และจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ตาย โดยการนับทั้งต้น และนับจำนวนใบ ทุก 24 ชั่วโมง หลังการย้ายกล้าปลูก เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์
: Cadavers หมายถึงเพลี้ยอ่อนที่ตายจากการติดเชื้อรา



ภาพที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงของประชากรของเพลี้ยอ่อนลูกห่อ (*Myzus persicae*) ที่ไม่ติดเชื้อ และติดเชื้อ *Pandora neoaphidis* ในเรือนทดลองซึ่งพันธุ์สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 และพ่นน้ำกลั่น ในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังย้ายกล้าปลูกในกระถาง



ภาพที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงของประชากรของเพลี้ยอ่อนผัก (*Liphapis erysimi*) ที่ไม่ติดเชื้อ และติดเชื้อ *Pandora neoaphidis* ในเรือนทดลองซึ่งพันสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 และพ่นน้ำกลั่น ในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังย้ายกล้าปลูกในกระถาง



ภาพที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงของประชากรของเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*) ที่ไม่ติดเชื้อ และติดเชื้อ *Pandora neoaphidis* ในเรือนทดลองซึ่งพันธุ์สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 และพ่นน้ำกลั่น ในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังย้ายกล้าปลูกในกระถาง

ตารางที่ 4.9 ค่าเฉลี่ยการตาย (PCM) ของเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายที่ทดสอบในระดับเรือนทดลอง

สารที่พ่น	เวลาเฉลี่ยถึงการตาย (PCM) (เปอร์เซ็นต์)		
	<i>Myzus persicae</i>	<i>Liphapis erysimi</i>	<i>Aphis fabae</i>
พ่นสารแขวนลอยสปอร์	50.94 ± 16.55a	45.17 ± 4.27a	47.36 ± 11.56a
พ่นน้ำกลั่น	21.99 ± 6.21b	29.51 ± 2.38b	22.17 ± 7.96b
พ่นสารเคมี dimethoate	85.10 ± 5.33c	92.10 ± 9.18c	80.24 ± 7.59c

หมายเหตุ : วางแผนการทดลองแบบ CRD มีการทำซ้ำวิธีการทดลองละ 10 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อหานัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 % และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ตามวิธีของ LeClerg et al. (1966) และ Snedecor & Cochran (1967)

ตารางที่ 4.10 ค่าเฉลี่ยเวลาถึงการตาย (MTD) ของเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายที่ทดสอบในระดับเรือนทดลอง

สารที่พ่น	เวลาเฉลี่ยถึงการตาย (MTD) (วัน)		
	<i>Myzus persicae</i>	<i>Liphapis erysimi</i>	<i>Aphis fabae</i>
พ่นสารแขวนลอยสปอร์	5.67 ± 1.15a	5.56 ± 1.53a	3.67 ± 0.58a
พ่นน้ำกลั่น	17.00 ± 1.73b	17.00 ± 4.25b	14.33 ± 4.04b
พ่นสารเคมี dimethoate	1.00 ± 0.00c	1.00 ± 0.00c	1.00 ± 0.00c

หมายเหตุ : วางแผนการทดลองแบบ CRD มีการทำซ้ำวิธีการทดลองละ 10 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อหานัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 % และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ตามวิธีของ LeClerg et al. (1966) และ Snedecor & Cochran (1967)

4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายในระดับแปลงทดลอง

การทดสอบการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนลูกห่อในระดับแปลงทดลอง ในช่วงระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ – เมษายน 2559 ทำการปล่อยและทดสอบกับเพลี้ยอ่อนลูกห่อ ให้ลงทำลายพริกในแปลงปลูก ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ โดยการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในระดับความเข้มข้นที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนลูกห่อ 50 เปอร์เซ็นต์ตามผลที่ได้จากการทดลองในข้อ 4.4 เปรียบเทียบกับสารเคมี dimethoate และ การพ่นน้ำกลั่นและ ทุก 7 วัน และเก็บข้อมูลการตายของเพลี้ยอ่อนเป้าหมายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์ พบว่าปริมาณประชากรของเพลี้ยอ่อนแปลงทดลองมีแนวโน้มการเพิ่มประชากรในทุกวิธีทดลอง โดยระดับประชากรสุดท้ายของเพลี้ยอ่อน ณ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเป็น 116.12 60.99 และ 143.24 ตัวต่อใบตามลำดับ อีกทั้งพบว่ามีปริมาณเพลี้ยอ่อนลูกห่อที่ติดเชื้อ เพิ่มขึ้นตามตามลำดับ โดยเฉพาะวิธีการที่พ่นสารแขวนลอยสปอร์ โดย ณ สัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง มีประชากรเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ เป็น 72.97 ตัวต่อใบ ตัวในขณะทำการพ่นสารเคมี ไม่พบเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ และส่วนการพ่นน้ำกลั่นพบเพลี้ยอ่อนติดเชื้อ ณ สัปดาห์ที่ 8 เฉลี่ย 1 ตัวต่อต้น (ตารางที่ 4.11 ภาพที่ 4.10) การวัดประสิทธิภาพของ *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนลูกห่อในแปลงปลูกพริก โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตาย (CPM) และเวลาเฉลี่ยถึงการตาย (MTD) โดยจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 % พบว่าแต่ละวิธีการมีค่า PCM และ MTD แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนมากที่สุดได้แก่การใช้สารเคมี กล่าวคือทำให้เพลี้ยอ่อนตายเฉลี่ย 72.26 ± 25.34 เปอร์เซ็นต์ รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ซึ่งเท่ากับ 45.8.00 เปอร์เซ็นต์ และวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนน้อยที่สุดคือการพ่นน้ำกลั่น ซึ่งเพลี้ยอ่อนตายเฉลี่ยเท่ากับ 3.00 ± 2.00 (ตารางที่ 4.14) ทั้งนี้จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย MTD พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญโดยวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนเร็วที่สุดได้แก่การพ่นสารเคมี รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา และน้ำกลั่น โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น 1.00 ± 2.00 และ 22 ± 3.46 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 4.15)

การทดสอบการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝักในระดับแปลงทดลอง ในช่วงระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ – เมษายน 2559 ทำการปล่อยและทดสอบกับเพลี้ยอ่อนฝักให้ลงทำลายพริกในแปลงปลูก ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ โดยการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 ในระดับความเข้มข้นที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนลูกห่อ 50 เปอร์เซ็นต์ตามผลที่ได้จากการทดลองในข้อ 4.4 เปรียบเทียบกับสารเคมี dimethoate และ การพ่นน้ำกลั่นและ ทุก 7 วัน และเก็บข้อมูลการตายของเพลี้ยอ่อนเป้าหมายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์ พบว่าเพลี้ยอ่อนในโรงเรือนมีแนวโน้มการเพิ่มประชากรในทุกวิธีทดลอง โดยระดับประชากรสุดท้ายของเพลี้ยอ่อน ณ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเป็น 139.97 82.13 และ 174.87 ตัวต่อใบตามลำดับ และจากการนับปริมาณเพลี้ยอ่อนฝักที่ติดเชื้อ พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะวิธีการที่พ่นสารแขวนลอยสปอร์ ทั้งนี้ ณ สัปดาห์ที่ 8 ของการ

ทดลอง พบเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ เป็น 82.89 ตัวต่อใบ ในขณะที่การพ่นสารเคมี ไม่พบเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ ส่วนการพ่นน้ำกลั่นพบเพลี้ยอ่อนติดเชื้อ เฉลี่ย 49.71 ตัวต่อใบ (ตารางที่ 4.12 ภาพที่ 4.11) ส่วนการวัดประสิทธิภาพของ *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝัก จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตาย (CPM) และเวลาเฉลี่ยถึงการตาย (MTD) โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 % พบว่าแต่ละวิธีการมีค่า CPM และ MTD แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการใช้สารเคมี วิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนมากที่สุด คือ 85.12 ± 10.16 เปอร์เซ็นต์ รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ซึ่งเท่ากับ 34.21 ± 15.37 เปอร์เซ็นต์ และวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนน้อยที่สุดคือการพ่นน้ำกลั่น ซึ่งเพลี้ยอ่อนตายเฉลี่ยเท่ากับ 17.86 ± 8.37 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.14) ทั้งนี้จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย MTD พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญโดยวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนเร็วที่สุดได้แก่การพ่นสารเคมี รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา และน้ำกลั่น โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น 1.00 6.67 ± 0.58 และ 21.33 ± 3.51 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 4.15)

การทดสอบการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาวในระดับแปลงทดลอง ในช่วงระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ – สิงหาคม 2559 (มีการปลูกพืชในแปลงทดลองใหม่รวม 3 ครั้ง เนื่องจากเกิดความเสียหายของพืชปลูกในแปลงจากโรคเหี่ยว จนทำให้ไม่สามารถเก็บข้อมูลได้) ทำการปล่อยและทดสอบกับเพลี้ยอ่อน ให้ลงทำลายถั่วฝักยาวในแปลงปลูก ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ โดยการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในระดับความเข้มข้นที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนลูกท้อ 50 เปอร์เซ็นต์ตามผลที่ได้จากการทดลองในข้อ 4.4 เปรียบเทียบกับสารเคมี dimethoate และ การพ่นน้ำกลั่นและ ทุก 7 วัน และเก็บข้อมูลการตายของเพลี้ยอ่อนเป้าหมายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์ พบว่าประชากรเพลี้ยอ่อน และจำนวนของเพลี้ยอ่อนในแปลงทดลองมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นทั้งที่ระดับประชากรเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาวที่ไม่ติดเชื้อ ในวิธีทดลองที่พ่นสปอร์ของเชื้อรา สารเคมี และน้ำกลั่น ณ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเป็น 102.26 42.59 และ 128.58 ตัวต่อใบตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณของเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อสามารถตรวจพบได้เฉพาะในวิธีการพ่นสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 และ การพ่นน้ำกลั่นเท่านั้น โดย ณ สัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง มีประชากรเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ เป็น 39.54 ตัวต่อใบ การพ่นน้ำกลั่นพบเพลี้ยอ่อนติดเชื้อ ณ สัปดาห์ที่ 8 เฉลี่ย 1 ตัวต่อต้น (ตารางที่ 4.13 ภาพที่ 4.12) และการวัดประสิทธิภาพของ *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาวในเรือนทดลองจากการเปรียบเทียบค่า CPM และ MTD และวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 % พบว่าแต่ละวิธีการมีค่า CPM และ MTD แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนมากที่สุดได้แก่การใช้สารเคมี รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 และการพ่นน้ำกลั่น โดยค่า CPM เท่ากับ 78.66 ± 8.24 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเท่ากับ 34.82 ± 7.24 และ 7.76 ± 3.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.14) ส่วนผลการวัดค่า MTD พบว่าวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนเร็วที่สุดได้แก่การพ่นสารเคมี รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา และน้ำกลั่น โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น 1.00 7.42 ± 0.58 และ 19.00 ± 1.00 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 4.15)

ตารางที่ 4.11 ค่าเฉลี่ยประชากรของเพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Myzus persicae*) ในแปลงทดลอง ซึ่งพ่นพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 และพ่นน้ำกลั่น ในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังย้ายกล้าปลูก

จำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัว/ใบ)	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 7	สัปดาห์ที่ 8
<i>M. persicae</i> (Tr)	1.00	7.10	36.80	69.81	93.06	108.82	113.46	116.12
Cadavers (Tr)	3.78	3.20	17.40	20.31	22.50	51.12	54.12	72.97
<i>M. persicae</i> (Control)	24.72	30.43	85.00	103.22	114.99	128.13	137.39	143.24
Cadavers (Control)	0.00	1.00	2.20	2.20	0.60	1.50	1.40	1.00
<i>M. persicae</i> (dimethoate)	0.00	0.60	9.90	28.50	31.35	43.67	47.17	60.99
Cadavers (dimethoate)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยจากการเก็บข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัวต่อใบ) ที่พบ และจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ตาย โดยสุ่มนับทั้งต้น และนับจำนวนใบ รวม 10 ต้นต่อแปลง ทุก 24 ชั่วโมง หลังการย้ายกล้าปลูก เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์
: Cadavers หมายถึงเพลี้ยอ่อนที่ตายจากการติดเชื้อรา

ตารางที่ 4.12 ค่าเฉลี่ยจำนวนของ เพลี้ยอ่อนผัก (*Liphapis erysimi*) ที่ติดเชื้อในแปลงทดลอง ซึ่งพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 และพ่นน้ำกลั่น ในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังย้ายกล้าปลูก

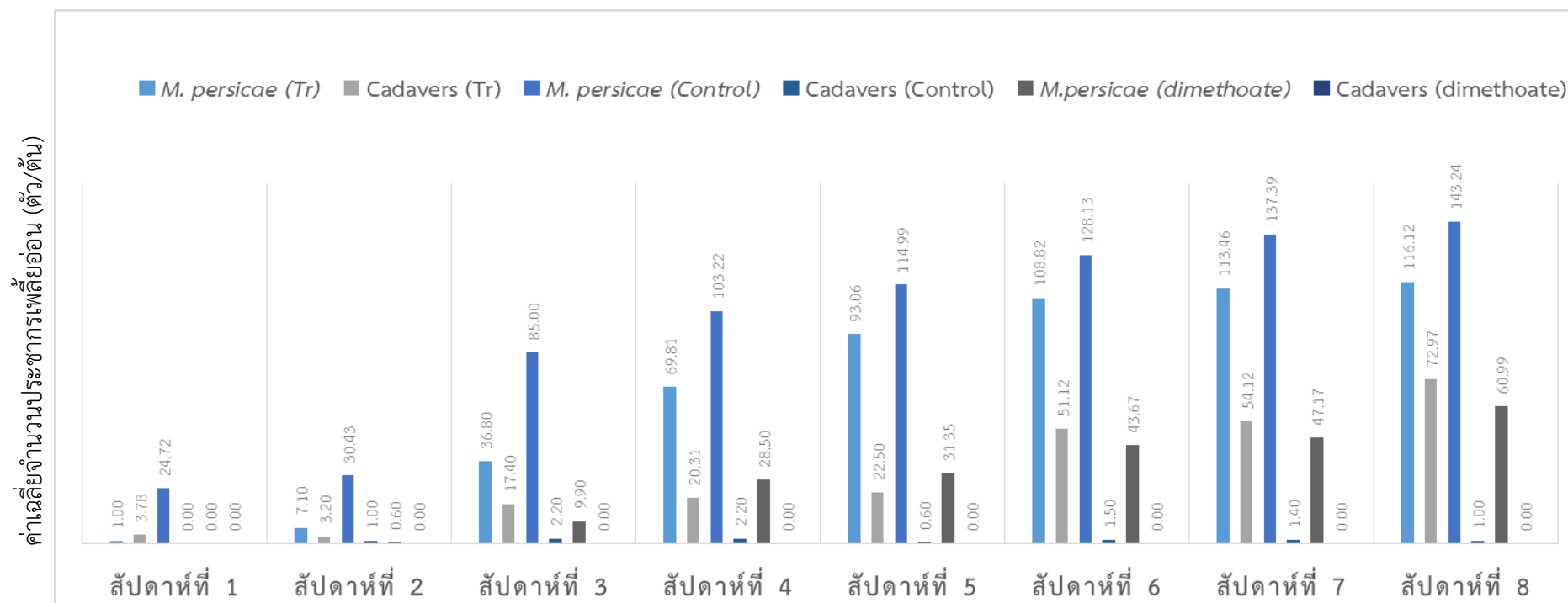
จำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัว/ใบ)	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 7	สัปดาห์ที่ 8
<i>L. erysimi</i> (Tr)	2.10	12.70	87.30	89.81	110.52	124.19	128.23	139.97
Cadavers (tr)	3.40	3.50	14.40	21.60	24.56	36.84	55.26	82.89
<i>L. erysimi</i> (Control)	22.29	65.56	129.10	142.56	151.75	162.32	169.96	174.87
Cadavers (Control)	0.00	0.00	0.80	1.60	32.80	43.73	48.11	49.71
<i>L. erysimi</i> (dimethoate)	0.00	0.60	5.10	16.45	24.68	37.01	55.52	83.13
Cadavers (dimethoate)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยจากการเก็บข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัวต่อใบ) ที่พบ และจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ตาย โดยสุ่มนับทั้งต้น และนับจำนวนใบ รวม 10 ต้นต่อแปลง ทุก 24 ชั่วโมง หลังการย้ายกล้าปลูก เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์
: Cadavers หมายถึงเพลี้ยอ่อนที่ตายจากการติดเชื้อรา

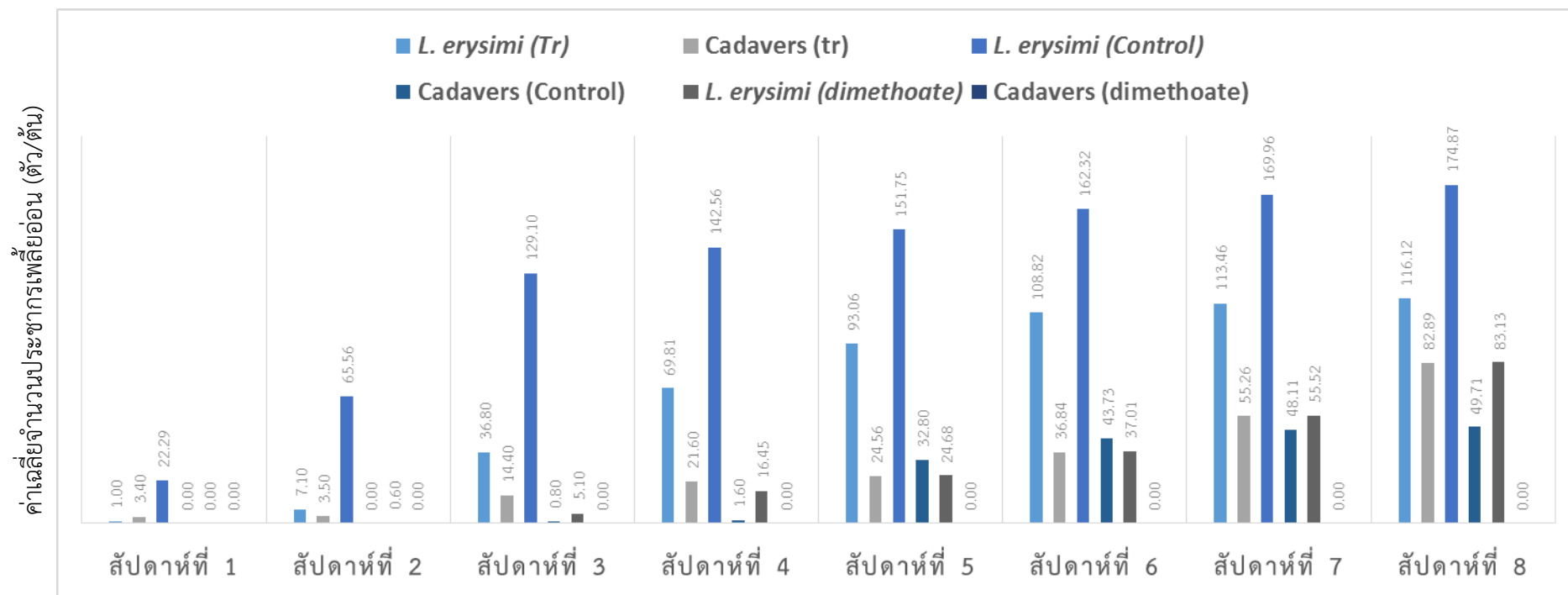
ตารางที่ 4.13 ค่าเฉลี่ยจำนวนของเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*) ที่ติดเชื้อในแปลงทดลอง ซึ่งพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 และพ่นน้ำกลั่น ในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังย้ายกล้าปลูก

จำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัว/ใบ)	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 7	สัปดาห์ที่ 8
<i>A. fabae</i> (Tr)	1.10	6.50	30.70	65.25	89.30	90.31	93.66	102.26
Cadavers (Tr)	3.10	3.40	17.60	20.28	22.67	26.61	28.60	39.54
<i>A. fabae</i> (Control)	6.62	33.96	43.20	79.94	95.39	111.33	121.99	128.58
Cadavers (Control)	0.00	0.00	5.90	0.00	1.60	0.00	1.40	1.00
<i>A. fabae</i> (dimethoate)	0.00	0.00	2.10	1.50	11.04	28.83	40.34	42.59
Cadavers (dimethoate)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

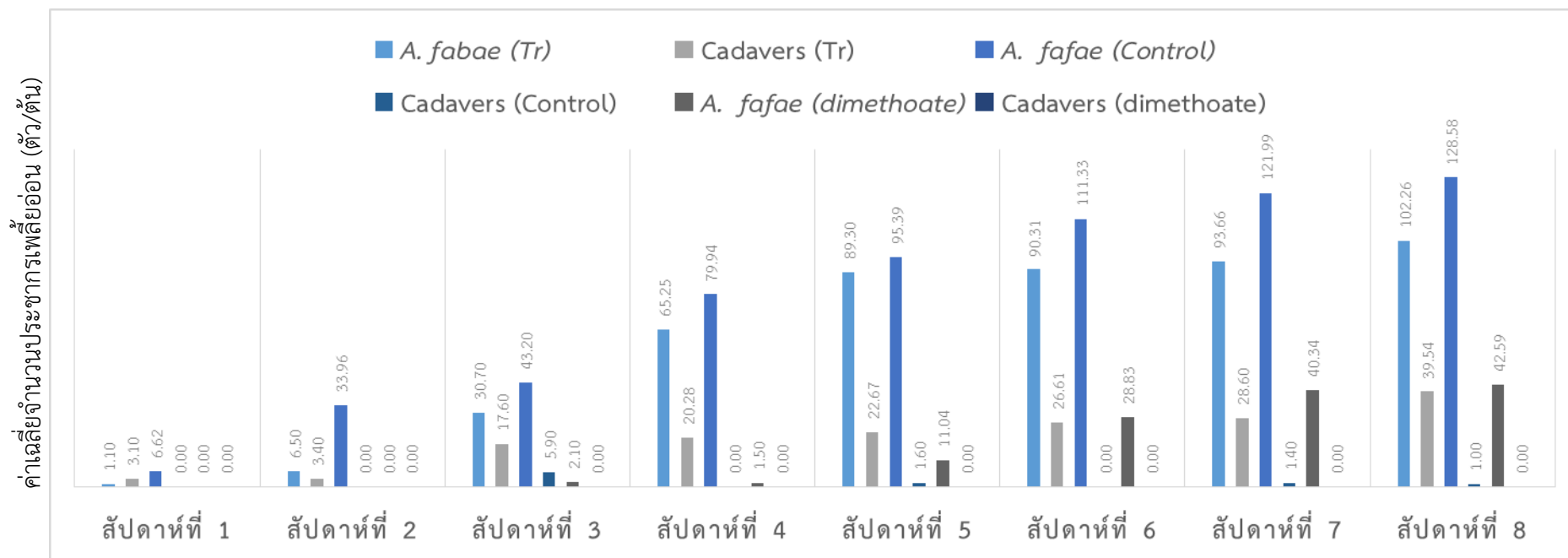
หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยจากการเก็บข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัวต่อใบ) ที่พบ และจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ตาย โดยสุ่มนับทั้งต้น และนับจำนวนใบ รวม 10 ต้นต่อแปลง
ทุก 24 ชั่วโมง หลังการย้ายกล้าปลูก เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์
: Cadavers หมายถึงเพลี้ยอ่อนที่ตายจากการติดเชื้อรา



ภาพที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงของประชากรของเพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Myzus persicae*) ที่ไม่ติดเชื้อ และติดเชื้อ *Pandora neoaphidis* ที่ติดเชื้อในแปลงทดลอง ซึ่งพันธุ์สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 และพันธุ์น้ำกลั่น ในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังย้ายกล้าปลูก



ภาพที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงของประชากรของเพลี้ยอ่อนฝัก (*Liphapis erysimi*) ที่ไม่ติดเชื้อ และติดเชื้อ *Pandora neoaphidis* ที่ติดเชื้อในแปลงทดลอง ซึ่งพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 และพ่นน้ำกลั่น ในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์ หลังย้ายกล้าปลูก



ภาพที่ 4.14 การเปลี่ยนแปลงของประชากรของเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*) ที่ไม่ติดเชื้อ และติดเชื้อ *Pandora neoaphidis* ที่ติดเชื้อในแปลงทดลอง ซึ่งพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลต PAN04 และพ่นน้ำกลั่น ในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังย้ายกล้าปลูก



ภาพที่ 4.15 เพี้ยอ่อนชนิดต่างๆ ที่ตายจากเชื้อรา *P. neoaphidis* ในการทดลอง

ตารางที่ 4.14 ค่าเฉลี่ยการตาย (PCM) ของเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายที่ทดสอบในระดับแปลงทดลอง

สารที่พ่น	เวลาเฉลี่ยถึงการตาย (PCM) (เปอร์เซ็นต์)					
	<i>Myzus persicae</i>		<i>Liphapis erysimi</i>		<i>Aphis fabae</i>	
พ่นสารแขวนลอยสปอร์	45.00	± 8.00a	34.21	± 15.37a	34.18	± 11.47a
พ่นน้ำกลั่น	3.00	± 2.00b	17.86	± 8.37b	7.24	± 3.72b
พ่นสารเคมี dimethoate	72.66	± 25.34c	85.82	± 10.18c	78.76	± 2.24c

ตารางที่ 4.15 ค่าเฉลี่ยเวลาถึงการตาย (MTD) ของเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายที่ทดสอบในระดับแปลงทดลอง

สารที่พ่น	เวลาเฉลี่ยถึงการตาย (MTD) (วัน)					
	<i>Myzus persicae</i>		<i>Liphapis erysimi</i>		<i>Aphis fabae</i>	
พ่นสารแขวนลอยสปอร์	6.00	± 2.00a	6.67	± 0.58a	7.42	± 0.58a
พ่นน้ำกลั่น	22.00	± 3.46b	21.33	± 3.51b	19.00	± 1.00b
พ่นสารเคมี dimethoate	1.00	± 0.00c	1.00	± 0.00c	1.00	± 0.00c

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การใช้ประโยชน์เชื้อรา *Pandora neoaphidis* (Entomophthoraceae) เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชผักโดยชีววิธี นำสู่แนวทางเศรษฐกิจพอเพียง เริ่มจากการรวบรวมเชื้อพันธุ์ของเชื้อ *P. neoaphidis* รวมจำนวน 716 ไอโซเลตส์ จากแปลงปลูกพืชผักในจังหวัดภาคเหนือ คือ เชียงราย พะเยา เชียงใหม่ ลำพูน และ ลำปาง พร้อมไปกับการศึกษา การแพร่กระจายในพื้นที่ ความสัมพันธ์กับชนิดของเพลี้ยอ่อน และพืชอาศัย พบว่าเชื้อราแพร่กระจายในทุกจังหวัดที่ทำการสำรวจในช่วงเส้นรุ้ง (latitude) ที่ 18 องศา 46.2 ลิปดา 40 ฟลิปดาเหนือ ถึง เส้นรุ้งที่ 19 องศา 41 ลิปดา 1 ฟลิปดาเหนือ เส้นแวง (longitude) ที่ 99 องศา 49 ลิปดา 9.0 ฟลิปดาตะวันออก เส้นแวงที่ 100 องศา 11 ลิปดา 34 ฟลิปดาตะวันออก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแปลงพืชผักและข้าวโพดที่ปลูกในดอยแม่สลอง อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย อ. ภูซาง และ อ. เชียงดาว จ. พะเยา ดอยอ่างขาง อ. ฝาง อ. แม่ริม อ. สันทราย และ ดอยอินทนนท์ อ. จอมทอง จ. เชียงใหม่ อ. ลี้ และ อ. แม่ทา จ. ลำพูน ในจังหวัด เชื้อรามีระดับการแพร่กระจายสูงในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเมษายน โดยในรอบปีพบเปอร์เซ็นต์การทำลายของเชื้อนี้ตามธรรมชาติ 48.05 ± 24.16 เปอร์เซ็นต์ (ระหว่าง 11.13 – 91.68 เปอร์เซ็นต์) โดยพบว่าเชื้อรามีความสัมพันธ์กับเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชชนิดที่สำคัญสามชนิดได้แก่ เพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) เพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Myzus persicae*) และเพลี้ยอ่อนข้าวโพด (*Rhopalosiphum maidis*) โดยความถี่ของการพบเท่ากับ 428 246 และ 42 ตัวอย่างตามลำดับ ทั้งนี้พืชอาศัยที่มีความสัมพันธ์กับแมลงศัตรูพืชเหล่านี้ได้แก่ผักวงศ์กะหล่ำซึ่งเป็นพืชอาหารของเพลี้ยอ่อนผักและเพลี้ยอ่อนลูกท้อและพบความถี่การพบเชื้อ 406 พืชผักวงศ์มะเขือ (*Solanaceae*) ซึ่งเป็นอาหารของเพลี้ยอ่อนลูกท้อ 268 ตัวอย่าง และข้าวโพดซึ่งเป็นอาหารของ เพลี้ยอ่อนข้าวโพด 42

การแยกเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ตามวิธีของรุ่งเกียรติ แก้วเพชร และคณะ (2557ก.) โดยใช้อาหารเทียมที่เหมาะสม พบว่าสามารถแยกเชื้อนี้ได้ผลสำเร็จในภาพรวม 56.94 ± 20.51 เปอร์เซ็นต์ โดยตัวอย่างที่เก็บตัวอย่างได้ในช่วงเดือน พฤศจิกายน 2557 ถึงกุมภาพันธ์ 2558 มีอัตราการแยกเชื้อประสบผลสำเร็จสูงถึง 73.68-95.12 เปอร์เซ็นต์ และอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรานี้ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA) และ Sabouraud Dextrose Agar Supplemented with Yeast Extract (SDAY) ซึ่งจะมีการนำเชื้อที่ขยายไปคัดเลือกและทดสอบความสามารถในการก่อโรคและพบว่าความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราชนิดนี้แต่ละไอโซเลตมีความแตกต่างกัน

การประเมินอัตราความเข้มข้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ที่ก่อโรคแก่แมลงในเป้าหมายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) ในระดับห้องปฏิบัติการกับแมลงในเป้าหมายสามชนิดพบว่า สำหรับเพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Mizus persicae*) เพลี้ยอ่อนผัก (*Liphapis erisimi*) เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว (*Aphis fabae*) มีค่าเท่ากับ 75.55 78.44 และ 59.78 สปอร์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ทั้งนี้ได้มีการขยายผลการศึกษาโดย การทดสอบพ่นสปอร์ของเชื้อราในอัตรา LC₅₀ เปรียบเทียบกับการพ่นสารเคมี และการพ่นน้ำกลั่น พบว่าวิธีการที่ก่อการตายสะสม (CPM) แก่แมลงในเป้าหมายสูงสุดได้แก่สารเคมี dimethoate ซึ่งเท่ากับ 85.05 ± 5.33 92.10 ± 9.18 และ 80.24 ± 7.59 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAD04 ซึ่งก่อโรคแก่เพลี้ยอ่อนในเป้าหมายเท่ากับ 50.94 ± 16.55 45.17 ± 4.27 และ 47.36 ± 11.56 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยทั้งสองวิธีการก่อการตายสูงกว่าวิธีการพ่นน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีค่า CPM เป็น 21.99 ± 6.21 29.51 ± 2.38 และ 22.17 ± 7.96 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยเวลาถึงการตาย (MTD) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญโดยวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนเร็วที่สุดได้แก่การพ่นสารเคมี รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา และน้ำกลั่น โดยในการทดสอบกับเพลี้ยอ่อนลูกท้อ มีค่าเฉลี่ยเป็น 1.00 5.67 ± 1.15 และ 17 ± 1.73 วัน เพลี้ยอ่อนผัก 1.00 5.56 ± 1.53 และ 17.00 ± 4.25 วัน และ เพลี้ยอ่อนถั่ว 1.00 3.67 ± 0.58 และ 14.33 ± 4.04 วัน ตามลำดับ

การทดสอบการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนลูกท้อในระดับแปลงทดลอง การปล่อยและทดสอบกับเพลี้ยอ่อนลูกท้อ ให้ผลโดยการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในระดับความเข้มข้นที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนลูกท้อ 50 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับการพ่นสารเคมี และการพ่นน้ำกลั่น พบว่าค่า CPM มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยสารเคมีทำให้เพลี้ยอ่อนลูกท้อ เพลี้ยอ่อนผัก และเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว ตายมากที่สุดคือ 72.26 ± 25.34 85.12 ± 10.16 และ 78.66 ± 8.24 เปอร์เซ็นต์ รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ซึ่งเท่ากับ 45.00 ± 8.00 34.21 ± 15.37 และ 34.82 ± 7.24 เปอร์เซ็นต์ และวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนน้อยที่สุดคือการพ่นน้ำกลั่น คือเฉลี่ยเท่ากับ 3.00 ± 2.00 17.86 ± 8.37 และ 7.24 ± 3.72 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย MTD พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญโดยวิธีการที่ก่อการตายแก่เพลี้ยอ่อนเร็วที่สุดได้แก่การพ่นสารเคมีซึ่งพบการตายของเพลี้ยอ่อนทุกชนิดภายใน 1.00 รองมาคือการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 6.00 ± 2.00 6.67 ± 0.58 และ 7.42 ± 0.58 ซึ่งเร็วกว่าการพ่นน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญ ที่โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น 22 ± 3.46 วัน 21.33 ± 3.51 และ 19.00 ± 1.00

อภิปรายผล

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Pandora neoaphidis* เป็นเชื้อราโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมประชากรของเพลี้ยอ่อนตามธรรมชาติ โดยเฉพาะในแปลงปลูกพืชผักในจังหวัดภาคเหนือตั้งแต่ช่วงพิกัดเส้นรุ้ง (latitude) ที่ 18 องศา 46.2 ลิปดา 40 พิลิปดาเหนือ ถึงเส้นรุ้งที่ 19 องศา 41 ลิปดา 1 พิลิปดาเหนือ เส้นแวง (longitude) ที่ 99 องศา 49 ลิปดา 9.0 พิลิปดาตะวันออก เส้นแวงที่ 100 องศา 11 ลิปดา 34 พิลิปดาตะวันออก โดยพบในแปลงปลูกพืชผักที่มีความสำคัญ ได้แก่ พืชผักวงศ์กะหล่ำ (Cruciferae) ซึ่งได้แก่ คะน้า กะหล่ำ ผักกาดกวางตุ้ง และ บรอกโคลี วงศ์มะเขือ (Solanaceae) ซึ่งได้แก่พริกและมะเขือเทศ และข้าวโพด โดยทั้งนี้มีรายงานที่เกี่ยวข้องอ้างว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงได้แก่ อุณหภูมิ ความแตกต่างของพืชของตัวอาศัย (host range) (Tyman et al., 2004, Yeo et al., 2003) อีกทั้งงานวิจัยนี้มีผลสอดคล้องกับการศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อรานี้โดย Chen et al. (2007) และ Wilding and Brady (1984) ซึ่งรายงานพบว่า พบเชื้อรา *P. neoaphidis* ในสภาพธรรมชาติ ในความถี่ซึ่งสูงชนิด และมีการระบาดทำลายเพลี้ยอ่อนทั่วโลก อีกทั้งสามารถก่อโรคกับเพลี้ยอ่อนได้มากกว่า 71 ชนิด ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชที่สำคัญของพืชผัก ซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อนผัก (L.erysimi) เพลี้ยอ่อนยาสูบ (M. persicae) และเพลี้ยอ่อนข้าวโพด (R. maidis) โดยมีเปอร์เซ็นต์การทำลายอยู่ระหว่าง 11.13 – 91.68 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะในช่วงระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเมษายน ซึ่งนับเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการระบาดของเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชเช่นเดียวกัน ดังนั้นเชื้อรานี้จึงน่าจะเป็นศัตรูธรรมชาติอีกชนิดหนึ่งซึ่งมีบทบาทในการควบคุมเพลี้ยอ่อนตามธรรมชาติ ในลักษณะการผันตามประชากรของแมลงศัตรูพืช (density dependent factor) ทั้งนี้มีรายงานสนับสนุนว่าเชื้อรา *P. neoaphidis* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงที่และสามารถลดประชากรเพลี้ยอ่อนตามธรรมชาติได้อย่างมีนัยสำคัญ (McLeod et al., 1998, Pell et al., 2001)

การศึกษานี้ได้ทำการแยกเชื้อและเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อรานี้โดยใช้อาหารเทียมที่เหมาะสม ซึ่งได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Sabouraud Dextrose Agar (SDA) และ Sabouraud Dextrose Agar Supplemented with Yeast Extract (SDAY โดยพบว่าสามารถใช้แยกเชื้อจากตัวอย่างเพลี้ยอ่อนสำเร็จเฉลี่ย 56.94 - 20.51 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อมีการสร้างสปอร์ได้ทุกไอโซเลตส์ อีกทั้งพบว่าข้าวฟ่าง เป็นอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณของเชื้อรานี้ โดยผลการศึกษาสอดคล้องกับรายงานของ Feng and Liang (2003) ที่พบว่าข้าวฟ่างเลี้ยงสัตว์ เช่นที่มีจำหน่ายในรูปอาหารนก (broomcorn millet, *Panicum miliaceum*) เป็นเมล็ดธัญพืชที่สามารถใช้เพาะเลี้ยงเชื้อรา *Pandora* spp. ได้ดี และจากการขยายผลการศึกษา ทำให้สามารถผลิตสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* เพียงพอต่อการศึกษาประสิทธิภาพในการทำลายเพลี้ยอ่อนเป้าหมาย อีกทั้งยังเป็นวิธีอย่างง่ายที่เหมาะสมสำหรับการถ่ายทอดสู่เกษตรกรรายย่อยต่อไป

การประเมินอัตราความเข้มข้นของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ที่ก่อโรคแก่แมลงในเป้าหมายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) ในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้ทดสอบกับแมลงเป้าหมายสามชนิด พบว่าในการทดสอบกับเพลี้ยอ่อนลูกท้อ (*Mizus persicae*) 59.78 สปอร์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ทั้งนี้ค่าความเข้มข้นดังกล่าวน่าจะมีความแตกต่างตามชนิดของเพลี้ยอ่อน นอกจากนี้วิธีการผลิตรูปแบบของส่วนที่นำมาเพิ่มปริมาณน่าจะมีผลต่อค่า LC₅₀ โดยในเรื่องนี้ Xu & Feng (2001) ได้รายงานว่ารูปแบบของชิ้นส่วนของเชื้อรา *P. neoaphidis* มีค่า LC₅₀ แตกต่างกัน กล่าวคือ ของสารแขวนลอยที่ผลิตจากเส้นใย และสปอร์ จะมีค่าเป็น 22.8-162, 4.7-49.4 มวลสารต่อลูกบาศก์มิลลิเมตรตามลำดับ

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายในระดับเรือนทดลอง โดยการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรานี้ในระดับความเข้มข้นที่ก่อการตายแก่แมลงในเป้าหมายที่ทดสอบ 50 เปอร์เซ็นต์ ทุก 7 วัน โดยเปรียบเทียบกับสารเคมี dimethoate และ การพ่นน้ำกลั่นและ เก็บข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนทั้งเพลี้ยอ่อนที่เพิ่มจำนวนและเพลี้ยอ่อนที่ตาย ซึ่งผลแสดงให้เห็นว่าเพลี้ยอ่อนในโรงเรือนมีการเพิ่มปริมาณอย่างต่อเนื่องในทุกวิธีทดลอง โดยการทดสอบกับเพลี้ยอ่อนลูกท้อ ณ สัปดาห์ที่ 8 ประชากรเพลี้ยอ่อนต่อใบในวิธีการพ่นสารเคมี เชื้อรา และน้ำกลั่น มีค่าเป็น 44.46 127.57 และ 159.06 ตัวต่อใบตามลำดับ ในการทดสอบกับเพลี้ยอ่อนผักมีค่าเป็น 42.87 และ 159.17 242.28 และในเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว ซึ่งเท่ากับ 34.32 102.26 และ 128.58 ในขณะที่การตรวจพบเพลี้ยอ่อนที่ตายจากการติดเชื้อมีค่าเป็น 73.09 43.69 และ 39.54 ตัวต่อใบสำหรับเพลี้ยอ่อนลูกท้อ เพลี้ยอ่อนผัก และเพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาวตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี ซึ่งไม่พบเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ อาจมีสาเหตุมาจากการที่การพ่นสารเคมีเป็นวิธีการที่กำจัดเพลี้ยอ่อนได้เร็วกว่า ดังนั้นจำนวนประชากรของเพลี้ยอ่อนในวิธีการพ่นสารเคมี จึงไม่เพียงพอต่อการระบาดของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *P. neoaphidis* ซึ่งต้องอาศัยทั้งเวลา และจำนวนของเพลี้ยอ่อนที่เพียงพอ ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อในวิธีการที่พ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราจะเห็นว่าวิธีการพ่นน้ำกลั่น จะพบเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อในจำนวนที่น้อยกว่าอย่างเห็นได้ชัด รวมทั้งจากตารางที่ 4.6 4.7 และ 4.8 การทดสอบในเรือนทดลอง และตารางที่ 4.11 4.12 และ 4.13 ชี้ให้เห็นว่าระยะเวลาในการพบเพลี้ยอ่อนตัวแรกที่ติดเชื้อยังช้ากว่าวิธีการที่พ่นสารแขวนลอยสปอร์อีกด้วย โดยผลการศึกษาสามารถยืนยันได้จากการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม และค่าเฉลี่ยเวลาถึงการตาย ในตารางที่ 4.9 และ 4.10 ในการทดสอบในเรือนทดลอง และ ตารางที่ 4.14 และ 4.15 ในการทดสอบในแปลงทดลอง แสดงว่าการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท PAN04 ให้ผลในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในเป้าหมาย ในทั้งระดับ เรือนทดลอง และแปลงทดลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพ่นแบบพ่นเป็นประจำ ทุก 7 วัน ซึ่งน่าจะสามารถนำไปเป็นแนวทางการนำเชื้อรานี้ไปใช้ควบคุมเพลี้ยอ่อนทั้งในโรงเรือน และแปลงปลูก โดยในเรื่องนี้ได้มีการศึกษา การที่ไม่พ่นสารแขวนลอยสปอร์

นอกจากนี้แม้ว่าวิธีการพนสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา จะให้ผลในการควบคุมเพลี้ยอ่อน ในเป้าหมายน้อยกว่าวิธีการใช้สารเคมี โดยเมื่อเปรียบเทียบความปลอดภัยแล้ว หากพนสารเคมี ใน ทุก 7 วัน อาจเป็นวิธีที่ไม่เหมาะสมและไม่ปลอดภัย อีกทั้งสารเคมีมีราคาแพง ซึ่งหากจะวางแผนการ พนสารเคมีต้องมีการคำนวณค่าความเสียหายทางเศรษฐกิจ อีกทั้งเกษตรกรต้องมีความรู้เรื่องการขึ้น ลงของประชากร ซึ่งยากแก่การนำไปใช้ได้จริงในแปลงปลูก หากแต่วิธีการใช้เชื้อราโดยการพนเป็นประจำ สามารถทำได้อย่างปลอดภัย และถือเป็นการป้องกันการแพร่ระบาดของเพลี้ยอ่อนให้เป็นไป อย่างช้าๆ ตามธรรมชาติ กล่าวคือการเพิ่มจำนวนเชื้อราที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติ เพื่อส่งผลต่อการ ควบคุมประชากรของเพลี้ยอ่อนในแปลงปลูก

ข้อเสนอแนะในการนำผลงานวิจัยไปใช้และการทำวิจัยครั้งต่อไป

การศึกษานี้เป็นอีกงานวิจัยหนึ่งซึ่งเกี่ยวข้องกับความพยายามการนำเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง *Pandora neoaphidis* Remaudière and Hennebert (Entomophthorales: Entomophthoraceae) ที่พบในท้องถิ่นมาใช้ประโยชน์สำหรับการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเช่น เพลี้ยอ่อนศัตรูสำคัญของพืชผัก ซึ่งโดยมากเป็นผักที่นิยมบริโภค เช่น พืชผักวงศ์กะหล่ำ และ วงศ์มะเขือ โดยการที่พบแนวโน้มที่ดีในการควบคุมและเป็นเชื้อราโรคแมลงที่สามารถหาได้กับธรรมชาติ มีความสัมพันธ์กับเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชหลายชนิดในท้องถิ่น โดยมีผลการศึกษาทั้งในระดับเรือนทดลองและแปลงทดลอง ดังนั้นในการศึกษาต่อไปควรมีการพัฒนาวิธีการผลิตเชื้อราชนิดดังกล่าวในรูปแบบของวิธีการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณโดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรหรือการผลิตในรูปสูตรสำเร็จ เพื่อเป็นทางเลือกสำหรับเกษตรกรในการนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชผัก เพื่อลดการใช้สารเคมีในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูผักอย่างปลอดภัยสำหรับเกษตรกรได้

บรรณานุกรม

บรรณานุกรมภาษาไทย

- กรมวิชาการเกษตร. (2554). คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและศัตรูพืช ปี 2553. กองกัญและสัตว์วิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- ชัยวุฒิ ชัยพันธุ์. (2542). การจัดการการเกษตร ทรัพยากรธรรมชาติ และการท่องเที่ยว. คณะเศรษฐศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และศมาพร แสงยศ. (2557). ความรุนแรงในการก่อโรคและพันธุกรรมในระดับโมเลกุลของเชื้อรา *Beauveria bassiana* สายพันธุ์ท้องถิ่นที่เป็นผลมาจากอาหารเทียมและวัสดุเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณสำหรับใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชอย่างยั่งยืน (ระยะที่สอง). รายงานวิจัย. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต.
- รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และศมาพร แสงยศ. (2559). เพิ่มข้อมูลแผนที่เพื่อการวิจัยและการเรียนการสอน. วารสาร.
- รุ่งเกียรติ แก้วเพชร ยุพาภรณ์ ณ พัทลุง และศมาพร แสงยศ. (2557). การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมและความรุนแรงในระดับโมเลกุลของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) ซึ่งใช้ประโยชน์ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชผักวงศ์กะหล่ำอย่างยั่งยืน (ระยะที่ 2). รายงานวิจัย. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต.
- โพรวินดอทคอม. (2557). แผนที่จังหวัดเชียงราย. ระบบออนไลน์. cmi.nfe.go.th. สืบค้นเมื่อ 10 ตุลาคม 2557.
- ศมาพร แสงยศ ชาญณรงค์ ดวงสอาด วรวรรณ ชาลีพรหม วารุณี ศิริขจรจารุ และพอใจ เดชอุป. (2551). การสำรวจ รวบรวม และประเมินผลจุลินทรีย์เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช และวัชพืชโดยชีววิธี. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ.
- ศมาพร แสงยศ ชาญณรงค์ ดวงสอาด วรวรรณ ชาลีพรหม วารุณี ศิริขจรจารุ และพอใจ เดชอุป. (2549). การสำรวจ รวบรวม และประเมินผลจุลินทรีย์เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช และวัชพืชโดยชีววิธี. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ.
- อเมซซิงทัวร์. 2557. แผนที่จังหวัดลำพูน. ระบบออนไลน์. www.amazingthaitour.com. สืบค้นเมื่อ 10 ตุลาคม 2557.

บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ

- Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
- Abney, T. S., Sillings, J. O., Richards, T. L., & Broersma, D. B. (1976). Aphids and other insects as vectors of soybean mosaic virus. *Journal of Economic Entomology*, 69 (2), 254-256.
- Ahmad, M., & Arif, I. (2008). Organophosphorus and carbamate insecticides. *Crop Protection*, 27 (3-5), 523-531.
- Amad, M., Arif, M. I., & Denholm, I. (2003). High resistance of field populations of the cotton aphid *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) to pyrethroid insecticides in Pakistan. *Journal of Economic Entomology*, 96 (3), 875-887.
- Barber, M.D., Moores, G.D., Tatchell, G.M., Vice, W.E., & Denholm, I. (1999). Insecticide resistance in the currant-lettuce aphid, *Nasonovia ribisnigri* (Hemiptera: Aphididae) in the UK. *Bulletin of Entomological Research*, 89 17-23.
- Bänziger, H. (1976). *Keys for the identification of aphids (Homoptera) I, Winged aphids of species economically important in Thailand*. Bangkok: Department of Agriculture and UNDP/FAO. Plant Protection Service Technical Bulletin No 36.
- Bänziger, H. (1977). *Keys for the identification of aphids (Homoptera) II*. Bangkok: Department of Agriculture and UNDP/FAO. II. Field identification No. 37.
- Ben, F. I., Boukhris, B. S., Eilenberg, J., Allagu, M.B., & Jensen, A.B. (2013). The Occurrence of Two Species of Entomophthorales (Entomophthoromycota), Pathogens of *Sitobion avenae* and *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), in Tunisia. Retrived November 11, 2008n from http://openi.nlm.nih.gov/legacy/detailedresult.php?img=3697232_BMRI2013-838145.001&req=4. 11 November, 2014.
- Blackman, R.L., & Eastop, V.F. (1984). *Aphids on the world's crops: an identification and information guide*. New York: John Wiley & Sons.
- Butt, T.M., Jackson, C.W., & Magan, N. (2001). *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*. Wallingford, Oxon, UK: CABI Publishing.
- CABI. (2014). *Aphis craccivora*. <http://www.cabi.org/isc/datasheet/6192>. 11 November 2014.
- Carter, W. (1962). *Insects in relation to plant diseases*. New York & London: John Wiley.

- Chen, B., Li, Z. Y., & Feng, M. G. (2007). Occurrence of entomopathogenic fungi in migratory alate aphids in Yunnan Province of China. *BioControl*, 53(2), 317-326.
- Clark, A.J., & Perry, K.L. (2002). Transmissibility of field isolates of soybean viruses by *Aphis glycines*. *Plant Dis.*, 86, 1219-1222.
- Copping, L.G. (2009). *The manual of biocontrol agents*. (4th ed). Hampshire, UK: British Crop Protection Council.
- David, A.S., Matthew, B., Thomas, Y., Simon, B. Y., Pellz, J.K., Pugh, C., & Fellowes, M. D. E. (2003). Genotype and temperature influence pea aphid resistant to a fungal entomopathogen. *Physiol. Entomol.*, 28, 75-81.
- DeBach, P., & Rosen, D. (1991). *Biological control by natural enemies*. Cambridge Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Dent, D.R., and Walton, M.P. (1997), *Methods in ecological and agricultural entomology*. Wallingford, Oxon, UK: CABI Publishing.
- Edwards, O.R., Franzmann, B., Thackray, D., & Micic, S. (2008). Insecticide resistance and implications for future aphid management in Australian grains and pastures: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48 (12), 1523-1530.
- El-Defrawi, G. M. M., & El-Harty, E. H. (2010). Injury levels and yield loss model for the cowpea aphid *Aphis craccivora* Koch on *Vicia faba* (L). Available. 5 May 2010.
- Elkassabany, N. M., Steinkraus, D. C., McLeod, P. J., Correll, P. J., & Morelock, T. E. (1992). *Pandora neoaphidis* (Entomophthorales: Entomophthoraceae): a potential biological control agent against *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) on spinach. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 65 (2), 196-199.
- Fang, H.S., Nee, H.H., & Chou, T.G. (1985). Comparative ability of seventeen aphid species to transmit tobacco vein-banding mosaic virus. *Bull. Taiwan Tobacco Res. Inst.*, 22, 41-46.
- Feng, M.G., & Liang, Y. (2003). Biological aspects on the cultures of the entomophthoralean fungus *Pandora delphacis* grown on broomcorn millets. *Chinese Sci. Bull*, 48, 1816-1821.
- Ferrari, J., B., Müller, C., Alex, R. K., & Godfray, H. C. J. (2001). Clonal variation and co-variation in aphid resistance to parasitoids and a pathogen. *Evolution*, 55(9), 1805-1814.
- Flint, M. L. (2012). How to manage pest in gardens and landscapes, aphids. Retrieved October 12, 2011, from <http://www.ipm.ucdavis.edu>.
- Gomez, K.A., & Gomez, A.A. (1984). *Statistical procedures for agricultural research*. 2nd ed. New York, NY : John Wiley.

- Google. (2012). *Chiang Mai map*. Retrieved February 17, 2012, from www.Googlemaps.com.
- Gould, H. J. (1966). Organophosphorus insecticide resistance in aphids on year-round chrysanthemums. *Plant Pathology*, 15 (3), 109–112.
- Gray, S., & Cilia, M. L. (2010). Virology. Retrieved January 15, 2012, from <http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome>.
- Hemmati, F., Pell, K. J., McCartney, H. A., & Deadman, M. L. (2001). Airborne concentrations of conidia of *Erynia neoaphidis* above cereal fields. *Mycological Research*, 105 (4), 485–489.
- Hill, D.S. (1997). *The economic importance of insect*. London: Chapman & Hall.
- Hoskin, C. J., Megan, H., McDonald, K.R., & Craig, M. (2005). Reinforcement drive rapid allopathic. *Nature*, 437(7063), 1353–135
- Iowa State University. 2014. *Aphis cracivora*. Retrived from <http://bugguide.net/node/view/356419>. 11 November 2014.
- Iowa State University. 2014. *Lipaphis erysimi*. Retrived from <http://bugguide.net/node/view/356412>. 11 November 2014.
- Iowa State University. 2014. *Myzus persicae*. Retrived from <http://bugguide.net/node/view/636670>. 11 November 2014.
- Kraaijeveld, A.R., & Godfray, H.C.J. (2008). Selection for resistance to a fungal pathogen in *Drosophila melanogaster*. *Heredity* 100, 400–406.
- Lacey, L.A. (1997). *Biological control techniques: Manual of techniques in insect pathology*. San Diego, USA: Academic Press.
- Leskovar, D. I., & Black, M. C. (1994). White rust infection leaf chlorosis in relation to
- Maurer, P., Couteaudier, Y., Girard, P.A., Bridge, P.D., & Riba, G. (1997). Genetic diversity of *Beauveria bassiana* and relatedness to host insect range. *Mycological Research*, 101, 159–164.
- McLeod, P.J., Steinkraus, D.C., Correll, J.C., & Morelock, T.E. (1998). Prevalence of *Erynia neoaphidis* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) infection of green peach aphid (Homoptera: Aphididae) on spinach in the Arkansas River Valley. *Environmental Entomology*, 27(3), 796–800.
- Moore, M. S., Bayer (NZ) Ltd., & Hagerty, G. C. (2010). *Preliminary advice on minimizing insecticide resistance in lettuce aphids*. Retrieved August 15, 2010, from <http://www.aphidwatch.com/lettuce/aphid-resis2.pdf>.
- Owain, R. E., Franzmann, B., Thackray, D., & Micic, S. (2008). Insecticide resistance and implications for future aphid management in Australian grains and pastures: a review. *Austr. Jour. Exp. Agri.*, 48(12), 1523–1530.

- Pell, J.K., Eilenberg, J., Hajek, A.E., & Steinkraus, D.C. (2001). Biology, ecology, and pest management potential of Entomophthorales. In: Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N. (eds.), *Fungal Biological Control Agents: Progress, Problems and Potential*. Wallingford, Oxon, UK: CABI Publishing.
- Poinar, G.O. Jr., & Thomas, G.M. (1984). *Laboratory guide to insect pathogens and parasites*. New York, ny : Plenum Press.
- Rirkviree, S. (1967). *Some aphids of economic importance in Thailand*. B.Sc.Agr. Thesis, Department of Entomology, Kasetsart University. Bangkok: Kasetsart University.
- Rodríguez-Gómez, D., Loera, O., Saucedo-Castañeda, G., & Viniegra-González, G. (2009). Substrate influence on physiology and virulence of *Beauveria bassiana* acting on larvae and adults of *Tenebrio molitor*. *Microbiology and Biotechnology*, 25(3): 513-518.
- Sánchez, M.V., Agüero, R., & Rivera, C. (2001). Host plants of *Aphis gossypii* (Aphididae), vector of virus of *Cucumis melo* melon (Cucurbitaceae) in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 49(1), 305-11.
- Scorsetti, A.C., Jensen, A.B., López Lastra, C., & Humber, R.A. (2012). First report of *Pandora neoaphidis* resting spore formation in vivo in aphid hosts. *Fungal Biology* 116, 196 - 203.
- Shah, P.A., & Pell, J.K. (2003). Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61(5-6), 413-423.
- Sheng, J. C. (2010). Isolation and identification of *Pandora neoaphidis* and its pathogenicity against turnip aphid (*Lipaphis erysimi*). *Plant Diseases and Pests* 1(6), 43-45.
- Sierotzki, H., F. Camastral, P.A., Shah, M. A., & Tuor, U. (2000). Biological characteristics of selected *Erynia neoaphidis* isolates. *Mycol. Res.*, 104 (2), 213- 219.
- Snedecor, G. W. & Cochran, W.G. (1989). *Statistical methods*. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press.
- Steinhaus, E.A. (1967). *Principles of insect pathology*. New York, ny : Hafner Publishing. (Facsimile of the Edition of 1949).
- Steinkraus, D. C. (2006). Factors affecting transmission of fungal pathogens of aphids. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92, 125-131.
- Stufkens, M.A.W., Walker, G.P., & Martin, N.A. (2005). Lettuce aphid resistance management and prevention strategy. In N.A. Martin and B. P. North. *Pesticide Resistance: Prevention and Management Strategies 2005*. (pp. 115-137). Hastings, New Zealand: New Zealand Plant Protection Society Inc.

- Surendra K. D., & Semtner, P. J. (2006). Within-Plant Distribution of *Pandora neoaphidis* (Zygomycetes: Entomophthorales) in populations of the tobacco-feeding form of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) on flue-cured tobacco. *J. Agric. Urban Entomol.*, 23(2), 65–76.
- Tanada, Y. & Kaya, H.K. (1993). *Insect pathology*. London: Academic Press.
- Tymon, A.M., Shah, P.A., and Pell, J.K. (2004). PCR-based molecular discrimination of *Pandora neoaphidis* isolates from related entomopathogenic fungi and development of species-specific diagnostic primers. *Mycological Research*, 108(4), 419-433.
- Tzean, S. S., & Hsieh, L. S. (2013). *Erynia neoaphidis* Remaudiere & Hennebert, 1980. Online: Available. <http://myco.taibif.tw/pages/1094>. 11 November, 2014.
- University of California. *Plant virus*. Retrieved November 5, 2012, from <http://ucanr.org>
- Uziel, A., and Kenneth, R.G. (1999). Influence of commercially derived lipids and surfactant on the mode of germination and process of germ-tube formation in primary conidia of two species of *Erynia* subgenus *Neopandora* (Zygomycotina: Entomophthorales). *Mycopathologia*, 144(3), 153-163.
- Wang, R. Y., Powell, G., Hardie, J., & Pirone, T. P. (1998). Role of the helper component in vector-specific transmission of potyviruses. *Jour. Gen. Virol.*, 79, 1519–1524.
- Wilding, N., & Brady, B. L. (1984). *Description of pathogenic fungi and bacteria, No. 815*. Aberystwyth, uk: Commonwealth Mycological Institute. The Cambrian News.
- Wilding, N., Mardell, S.K., Brobyn, P.J., Wratten, S.D., & Lomas, J. (1990). The effect of introducing the aphid-pathogenic fungus *Erynia neoaphidis* into populations of cereal aphids. *Ann. Appl. Biol.*, 117, 683–691.
- Wongsiri, N. (1991). *List of insect, mite and other zoological pests of economic plants in Thailand*. Bangkok: Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture. Technical Bulletin.
- Xu, Q. & Feng M. (2001). Biomass, sporulation and aphid-infecting virulence of *Pandora neoaphidis* mycelia produced in repeated liquid culture. Retrived from. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12549095>
- Yeo, H., Pell, J.K., Alderson, P.G., Clark, S.J., & Pye B.J. 2003. Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and on their pathogenicity to two aphid species. *Pest Management Science*, 59(2), 156–165.

ภาคผนวก

สูตรอาหารเทียมสำหรับทดสอบเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Pandora neoaphidis*

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud Dextrose Agar with Yeast extract (SDA+Y)

Neopeptone	10	กรัม
Dextrose	40	กรัม
Yeast extract	2	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีเตรียมอาหาร ผสมส่วนผสมที่แห้งเข้าด้วยกัน ใส่ น้ำกลั่น และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 221 องศาเซลเซียส 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud Dextrose Broth with Yeast extract (SDA+Y)

Neopeptone	10	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Yeast extract	2	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีเตรียมอาหาร ผสมส่วนผสมที่แห้งเข้าด้วยกัน ใส่ น้ำกลั่น เติม Yeast extract อีก 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย หม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 221 องศาเซลเซียส 15 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA)

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีเตรียมอาหาร ผสมส่วนผสมที่แห้งเข้าด้วยกัน ใส่ น้ำกลั่น และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 221 องศาเซลเซียส 15 นาที

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ Malt Extract Agar (MAE)

Malt extract	20	กรัม
Peptone	10	กรัม
Glucose	20	กรัม
Agar	20	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีเตรียมอาหาร ผสมส่วนผสมที่แห้งเข้าด้วยกัน ใส่ น้ำกลั่น และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง
ความดัน ที่อุณหภูมิ 221 องศาเซลเซียส 15 นาที

5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Water Agar (WA)

Agar	20	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีเตรียมอาหาร ผสมส่วนผสมที่แห้งเข้าด้วยกัน ใส่ น้ำกลั่น และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง
ความดัน ที่อุณหภูมิ 221 องศาเซลเซียส 15 นาที

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ: นายรุ่งเกียรติ แก้วเพชร

ประวัติการศึกษา: พ.ศ. 2542 ระดับปริญญาตรี วท.บ. (โรคพืชวิทยา)

พ.ศ. 2547 ระดับปริญญาโท วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ด้วยทุนสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ: เทคโนโลยีของเอนไซม์ (Enzyme Technology) การใช้
จุลินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร (Microbial
Control of Agricultural Pests)

ประสบการณ์การทำงาน:

รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต พ.ศ. 2548 - 2551

เลขานุการคณะกรรมการพัฒนางานวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต พ.ศ. 2548 - 2551

ผลงานวิจัยที่สำคัญ:

- 1 . Kawpet, R., W. Sridokchan and A. Aungsuratana. 2 0 1 1 . Performance of Entomopathogenic Fungi Endogenous Strains in Rice Pest Control towards Biological Method, p. 104. In Proceeding of ISSAAS International Symposium & Congress on A Holistic Approach in Establishing Food Security Securing Food Supplies to Meet the Future Demand of the Increasing Population. 7 -1 0 November 2 0 1 1 , International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences. Bogor Agricultural University (IPB), Bogor, Indonesia.
2. Kawpet, R. and W. Sridokchan. 2012. Entomopathogenic Fungi Endogenous Strains Efficiency on Rice Pest Management towards Organic Farming, p. 7 . In Proceeding of JKTC Seminar 2 0 1 2 Natural Environment and Sustainable Agriculture in Asian Countries. 10-12 November 2012, Okayama University, Okayama, Japan.
- 3 . Detection of Genetic Exchange of Formulated and Indigenous Strains of Entomopathogenic Fungi in the Agro-ecosystem (หัวหน้าโครงการ, พ.ศ.2555; วช.)

ตำแหน่งปัจจุบัน: อาจารย์ประจำ

สถานที่ทำงาน: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต
295 ถ. ราชสีมา เขตดุสิต กรุงเทพมหานคร 10300
โทรศัพท์/ โทรสาร: 0 2423 9403
Email: rungkiat99@yahoo.com

ชื่อ: นางสาวศมาพร แสงยศ
 ประวัติการศึกษา: พ.ศ. 2542 - ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (โรคพืชวิทยา)
 พ.ศ. 2546 - ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (กีฏวิทยา)
 พ.ศ. 2554 - ปริญญาดุษฎีบัณฑิต (กีฏวิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 (ทุนโครงการ Biodiversity Research and Technology Program (BRT
 Program) ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ)

สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ:
 กีฏวิทยาทางการเกษตร (Agricultural Entomology)
 การควบคุมแมลงศัตรูพืชและวัชพืชโดยชีววิธี (Biological Control
 of Insect Pests and Weeds) และ ความปลอดภัยทางชีวภาพของพืช
 ดัดแปลงพันธุกรรม (Biosafety of Genetically Modified crops)

ผลงานตีพิมพ์และงานวิจัยที่สำคัญ:

1. 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 ISSAAS. 13 (Supplement): 96-102.
2. Saengyot S. and I. Burikam. 2011. Host plants and natural enemies of papaya mealybug, *Paracoccus marginatus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in Thailand. Thai Journal of Agricultural Science 44(3): 197-205.
3. Saengyot, S. and I. Burikam. 2012. Development and growth ratio of predaceous coccinellid, *Sasajiscymnus quinquepunctatus* (Weise) on papaya mealybug, *Paracoccus marginatus* Williams & Granara de Willink. Kasetsart Journal (Natural Science) 46(3): 418-426.
4. Species Diversity and Utilization of Predatory Thrips for Biological Control of Insect Pests. (หัวหน้าโครงการ, พ.ศ. 2556; สวทช.)

ตำแหน่งปัจจุบัน: อาจารย์ประจำ

สถานที่ทำงาน: หลักสูตรอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร
 มหาวิทยาลัยแม่โจ้
 ตู้ ปณ. 49 แม่โจ้ ต.หนองหาร อ. สันทราย จ. เชียงใหม่ 50290
 โทรศัพท์/โทรสาร: 0 5387 5840
 Email: samaporn@mju.ac.th