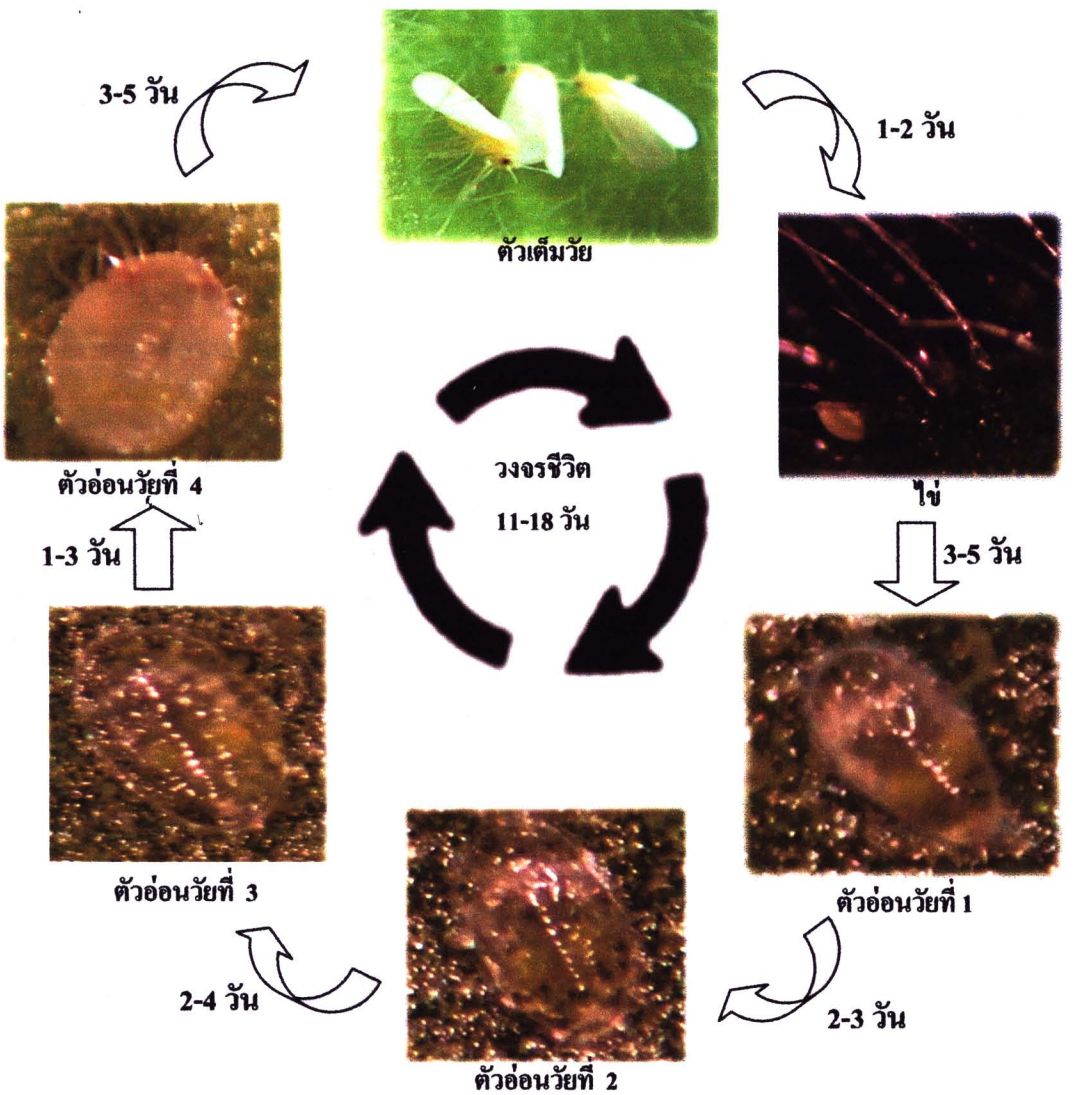
บทที่ 4

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. การเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ขาวเพื่อการทดลอง

แมลงหวี่ขาวโรงเรือน *T. vaporariorum* เป็นแมลงศัตรูพืชที่แพร่กระจายไปทั่วโลกพบได้ในพื้นที่ปลูกสูงกว่าระดับน้ำทะเล 1,000 เมตร ในเขตร้อน เขตกึ่งร้อน และสภาพโรงเรือน ซึ่งมีรายงานการพบแมลงหวี่ขาวโรงเรือนครั้งแรกในปี 1907 ที่ Oahu และเริ่มแพร่กระจายออกไป (Kessing and Mau, 2007) ซึ่งการเข้าทำลายของแมลงหวี่ขาวโรงเรือนทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากด้านล่างของใบพืช ซึ่งถ้าสังเกตจากด้านบนใบพืชไม่สามารถเห็นร่องรอยความเสียหายได้อย่างชัดเจน และยังมีการปล่อย honeydew ลักษณะเป็นของเหลวเหนียวคล้ายกาว ซึ่งเป็นแหล่งอาหารในการเจริญเติบโตของเชื้อราดำ โดยในแต่ระยะของแมลงหวี่ขาวโรงเรือนพบได้ในทุกส่วนของพืชอาศัย ตั้งแต่ยอดจนถึงใบล่างของต้นพืชอาศัย ในทุกระยะการเจริญเติบโตของต้นพืช โดยตัวเต็มวัยมักพบบนส่วนของยอดหรือใบอ่อนเพื่อทำการวางไข่ และในระยะถัดมาจะพบในส่วนใบล่าง ๆ โดยเฉพาะตัวอ่อนวัยที่ 4 หรือพร้อมออกเป็นตัวเต็มวัยมักพบอยู่ใต้ใบล่างสุด

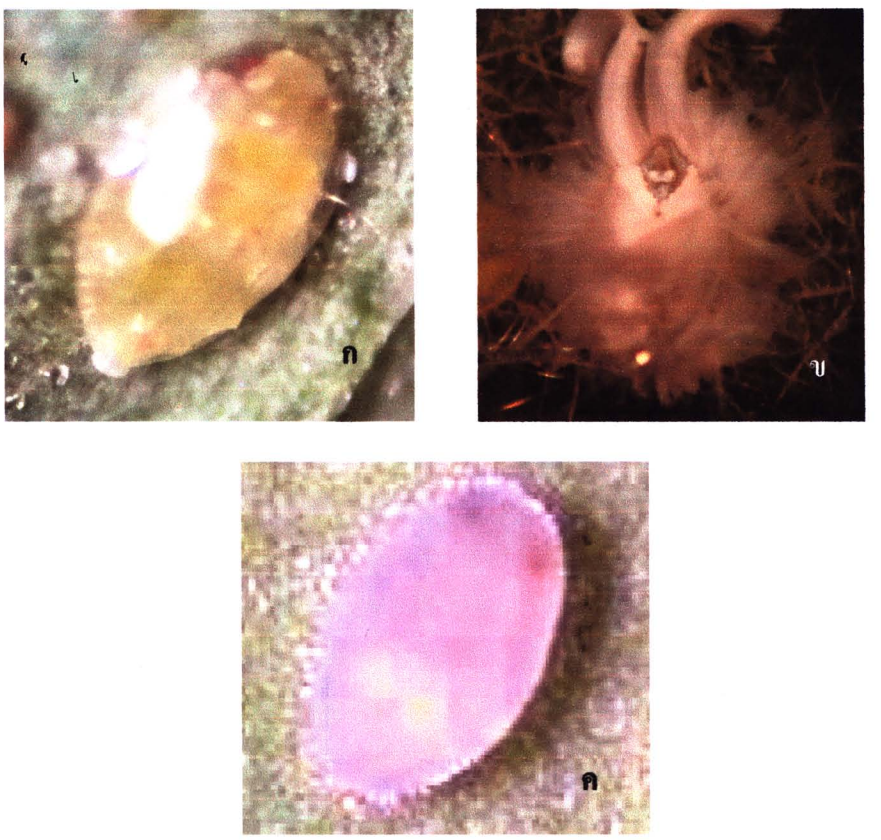
เมื่อปล่อยแมลงหวี่ขาวโรงเรือน *T. vaporariorum* ไว้ในกรงมุ้งตาข่ายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (28 °C ± 3 °C) ตรวจนับจำนวนไข่บนใบมะเขือเทศ พบว่า แมลงหวี่ขาววางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ ประมาณ 250 – 300 ฟอง กระจายตามใบพืชบนใบที่สองและที่สามนับจากยอดลงมา โดยไข่มีลักษณะเป็นรูปหยดน้ำเรียวยาวสีขาวเหลือง เมื่อใกล้ฟักส่วนปลายของไข่เปลี่ยนเป็นสีม่วงเกือบดำ ระยะไข่ 3 – 5 วัน ตัวอ่อนมี 4 วัย ตัวอ่อนวัย 1 มีขนาดเล็กมาก มีขาเคลื่อนไหวได้ ลำตัวยาวรีบนด้านหลังมีสีเขียวอ่อน มีขนสีขาวอยู่รอบลำตัวด้านข้าง เมื่อพบแหล่งอาหารที่เหมาะสมตัวอ่อนมักหยุดการเคลื่อนไหว ในระยะตัวอ่อนวัย 1 ใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน ลอกคราบเป็นตัวอ่อนวัยที่ 2 มีลักษณะคล้ายกับตัวอ่อนวัยที่ 1 แต่ลำตัวใสไม่มีขาและแบนติดกับใบพืชโดยระยะที่ 2 ใช้เวลาประมาณ 2 – 4 วัน ลอกคราบเป็นตัวอ่อนวัยที่ 3 คล้ายกับตัวอ่อนวัยที่ 2 แต่ลำตัวจะนูนขึ้นมาและมีขนาดใหญ่กว่า ระยะตัวอ่อนวัยที่ 3 ใช้เวลาประมาณ 1 - 3 วัน จึงลอกคราบเป็นตัวอ่อนวัย 4 มีลักษณะคล้ายตัวอ่อนวัยที่ 3 แต่ลำตัวโป่งพองเป็นรูปทรงลูกบาศก์ มีขนขึ้นบนลำตัว เห็นตารวมสีแดงได้อย่างชัดเจน ตัวอ่อนวัยที่ 4 ใช้เวลาประมาณ 3 - 5 วัน จึงออกเป็นตัวเต็มวัย ระยะตั้งแต่วางไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัยรวมเวลาทั้งหมดประมาณ 11 – 18 วัน (ภาพ 19) ซึ่งลักษณะที่ได้กล่าวข้างต้นนี้มีลักษณะของไข่จนถึงตัวเต็มวัยเช่นเดียวกับที่ อัมพร (2552) ได้รายงานไว้



ภาพ 19 วงจรชีวิตของแมลงหวี่ขาวโรงเรือน *Trialeurodes vaporariorum* ที่อุณหภูมิ 28±3 องศาเซลเซียส

การศึกษาลักษณะและวงจรชีวิตของแมลงหวี่ขาวโรงเรือน *T. vaporariorum* ที่อุณหภูมิห้อง (28 ℃ ± 3 ℃) พบว่า แมลงหวี่ขาวโรงเรือนมีพฤติกรรมที่วางไข่เป็นวงกลมและกระจายทั่วใบพืช หลังจากที่ออกจากไข่ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาววัย 1 มักเดินเพื่อหาตำแหน่งในการดูดกินน้ำเลี้ยงพืชและลอกคราบเป็นวัยต่อ ๆไป การลอกคราบของแมลงหวี่ขาวโรงเรือนมีลักษณะคล้ายกับแมลงทั่วไป ในการดันตัวออกมาทางด้านหน้า และสลัดคราบไปทางด้านหลัง หลังจากลอกคราบตัวอ่อนมีลักษณะใสจากนั้นลำตัวเริ่มนูนและขุ่นขึ้น ลักษณะตัวอ่อนวัยที่ 1-3 มีลักษณะคล้ายกับแมลงหวี่ขาว

ฝ้ายและแมลงหวี่ขาวเกลียว แต่มีความแตกต่างกันในตัวอ่อนระยะที่ 4 หรือระยะดักแด้ ซึ่งตัวอ่อนระยะที่ 4 ของแมลงหวี่ขาวฝ้ายมีลักษณะเป็นรูปหยดน้ำสีเหลืองแบนราบติดใบพืช ด้านสันหลังนูนเล็กน้อย ตาแดง (ภาพ 20 ก) ส่วนตัวอ่อนระยะที่ 4 ของแมลงหวี่ขาวเกลียวมีขนปกคลุมสวยงาม คล้ายเพลี้ยแป้งหากมองด้วยตาเปล่า (ภาพ 20 ข) แตกต่างจากแมลงหวี่ขาวโรงเรือนที่มีการพองตัวนูนทรงลูกบาศก์ มีเส้นขนยาวด้านบนสันหลังและเส้นเล็กกระจายรอบตัว (Murphy, 2003) (ภาพ 20 ค) ซึ่งในระยะของตัวอ่อนวัยที่ 4 หากต้องการความชัดเจนควรมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ



ภาพ 20 ลักษณะตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวระยะที่ 4

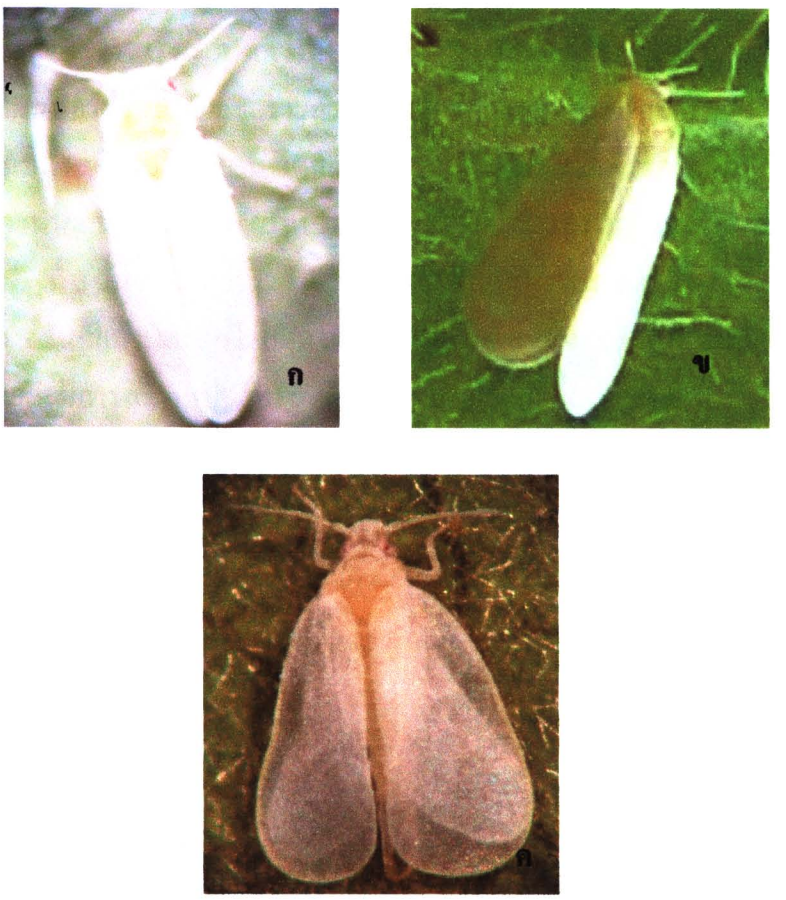
ก. แมลงหวี่ขาวฝ้าย (*Bemisia tabaci*)

ข. แมลงหวี่ขาวเกลียว (*Aleurodicus disperses*)

ค. แมลงหวี่ขาวโรงเรือน (*Trialeurodes vaporariorum*)

ตัวเต็มวัยของแมลงหวี่ขาวโรงเรือนมีลักษณะที่แตกต่างจากแมลงหวี่ขาวฝ้ายและแมลงหวี่ขาวเกลียวได้อย่างชัดเจนแม้สังเกตจากตาเปล่า ตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวฝ้ายมีขนาดเล็กกว่าแมลงหวี่ขาวเกลียว

และแมลงหวี่ขาวโรงเรือน ในขณะที่แมลงเกาะพักนิ่งบนใบพืชแมลงหวี่ขาวฝ้ายมักหุบปีกลงด้านข้างลำตัวคล้ายหลังคามองเห็นลำตัวชัดเจน (ภาพ 21 ก) ส่วนแมลงหวี่ขาวเกลียวและแมลงหวี่ขาวโรงเรือนนั้นมักหุบปีกไว้บนด้านสันหลังและมีขนาดลำตัวใหญ่กว่าแมลงหวี่ขาวฝ้าย แมลงหวี่ขาวโรงเรือนมีปีกสีขาวผงแป้งคลุมเล็กน้อย (ภาพ 21 ข) เมื่อเทียบกับแมลงหวี่ขาวเกลียวปีกมีสีเทาหากมองด้วยตาเปล่า มีขนปกคลุมรวมทั้งผงแป้ง ส่วนท้ายลำตัวของแมลงหวี่ขาวเกลียวมีลักษณะคล้ายหางยื่นออกมา (ภาพ 21 ค) ซึ่งลักษณะที่แตกต่างกันของตัวอ่อนระยะที่ 4 และตัวเต็มวัยของแมลงหวี่ขาวสามารถนำไปใช้ในการจำแนกชนิดของแมลงหวี่ขาวได้



ภาพ 21 ลักษณะตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว

ก. แมลงหวี่ขาวฝ้าย *Bemisia tabaci*

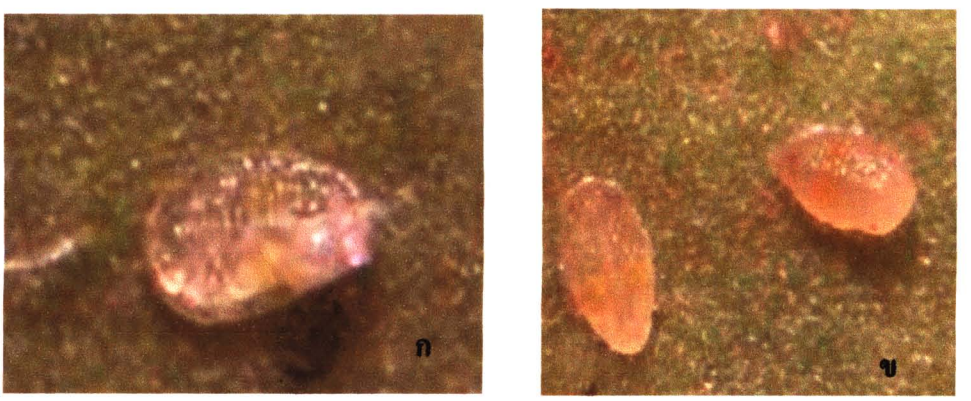
ข. แมลงหวี่ขาวโรงเรือน *Aleurodicus disperses*

ค. แมลงหวี่ขาวเกลียว *Trialeurodes vaporariorum*

สำหรับการเจริญเติบโตแมลงหวี่ขาวโรงเรือนที่อุณหภูมิ (28 ℃ ± 3 ℃) ใช้เวลาตั้งแต่ระยะไข่จนถึงตัวเต็มวัยเท่ากับ 11 – 18 วัน ซึ่งมีการเจริญอย่างรวดเร็วหากเปรียบเทียบกับอัมพร (2552) ใช้เวลา 25 - 30 วัน ที่อุณหภูมิ 21 ℃ แสดงว่าอุณหภูมิสูงขึ้นอาจทำให้แมลงหวี่ขาวโรงเรือนระบาดได้ เนื่องจากช่วงการเจริญซ้อนกันแต่ละรุ่น และใน 1 ปีอาจมีแมลงหวี่ขาวโรงเรือนหลายรุ่นได้เช่นกัน

2. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

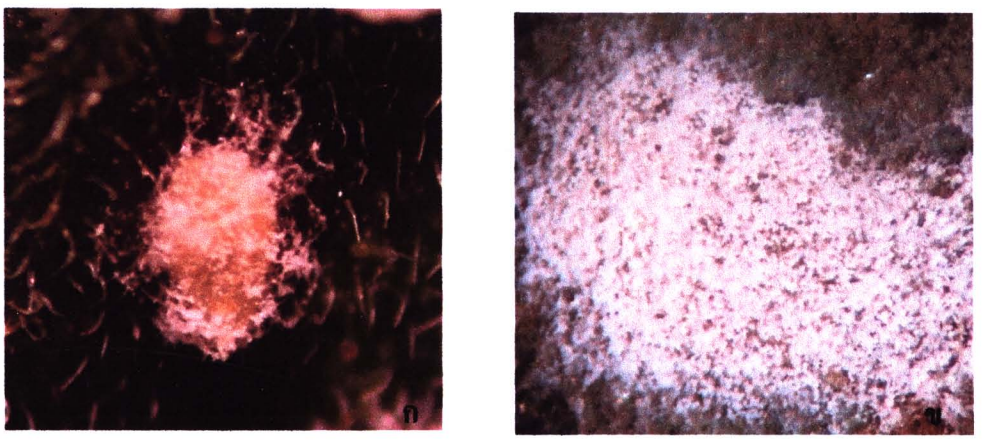
หลังจากนำเชื้อรา 5 สกุล 17 ชนิด 29 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนที่ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยบันทึกข้อมูลทุกวัน พบว่าหลังการพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อราแล้ว 3 วัน มีเชื้อราทดสอบบางไอโซเลทสามารถเข้าก่อโรคกับตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือน โดยสังเกตจากลักษณะสีลำตัวของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนที่พ่นด้วยน้ำกลั่นผสม tween (ภาพ 22 ก) กับตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนหลังจากพ่นด้วยเชื้อรา *P. tenuipes* ที่ 3 วัน เห็นได้ว่าลำตัวจากสีใสเปลี่ยนเป็นสีส้มบวมนูนขึ้นมาจากใบพืช (ภาพ 22 ข) หลังจาก 5 วัน มีเส้นใยงอกโดยแทงก้านชูสปอร์หรือ conidiophores ทะลุผ่านผนังลำตัวออกมาภายนอก และมีการสร้างสปอร์หรือ conidia ปกคลุมตัวอ่อนแมลง (ภาพ 23 ก) และหลังจากพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อราที่ 7 วัน ตัวอ่อนแมลงถูกปกคลุมด้วยเชื้อราและมีลักษณะแห้ง (ภาพ 23 ข) ซึ่งในเชื้อราแต่ละสกุลมีลักษณะของเส้นใยที่ปรากฏบนตัวแมลงแตกต่างกัน (ภาพ 24)



ภาพ 22 ลักษณะของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนหลังการพ่นที่ 3 วัน

ก. พ่นด้วยน้ำผสม tween

ข. พ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *Paecilomyces tenuipes*



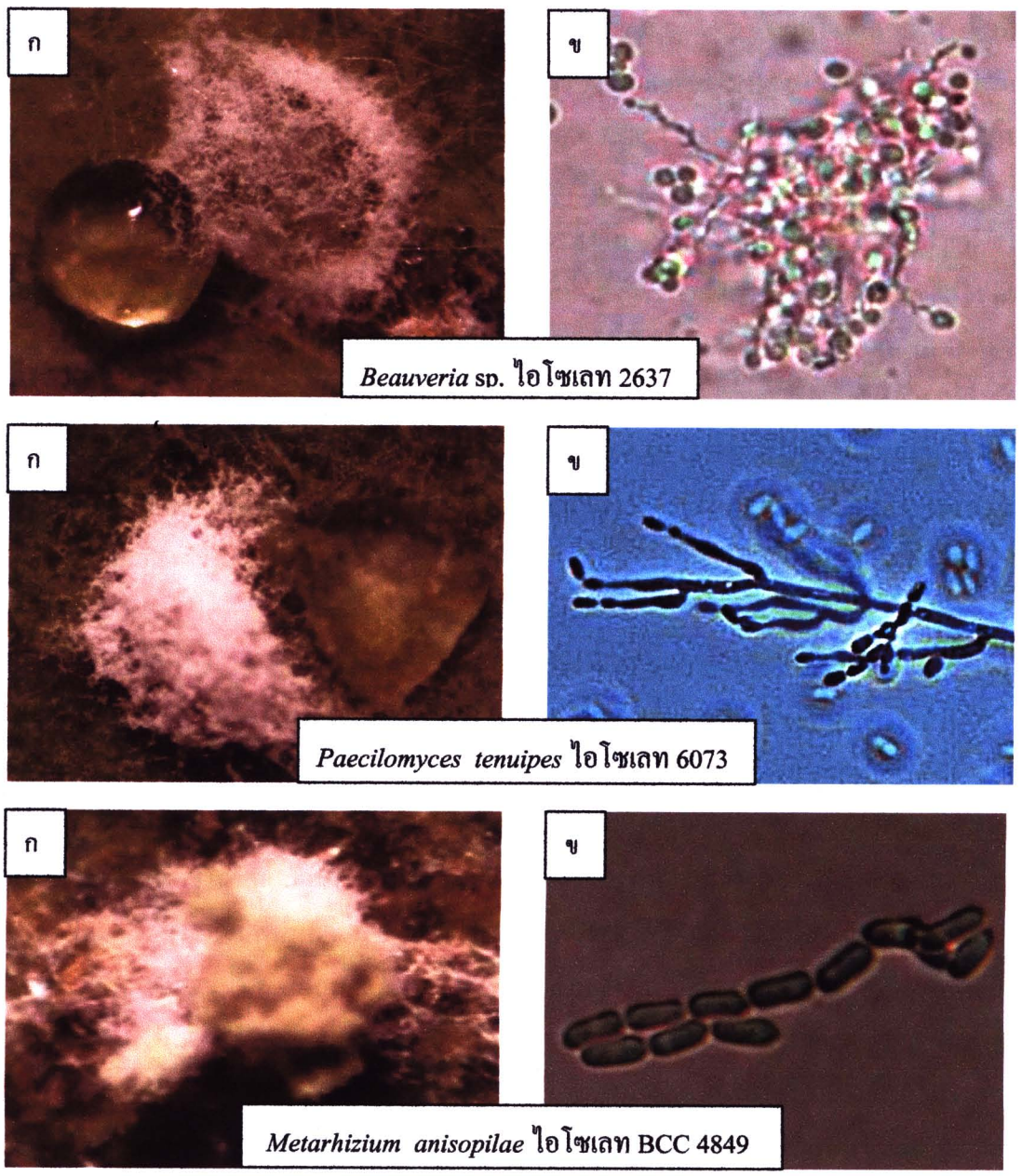
ภาพ 23 ลักษณะของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนหลังจากพ่นเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ที่ 5 และ 7 วัน

ก. หลังจากพ่นเชื้อราที่ 5 วัน

ข. หลังจากพ่นเชื้อราที่ 7 วัน

จากการสังเกตหลังการพ่นสปอร์แขวนลอยแล้ว 5–7 วัน พบว่าเมื่อมีเส้นใยเจริญทะลุผ่านบนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวมักเกิดหยดน้ำบริเวณด้านข้างและด้านบนของตัวแมลง อาจเป็นไปได้ว่าเส้นใยเชื้อราเกิดการอัดตัวกันแน่น เป็นผลให้ของเหลวภายในลำตัวของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนถูกดันออกสู่ด้านนอกลำตัว และเมื่อเชื้อราเจริญเติบโตเต็มที่ทำให้ซากของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนแห้งและแนบติดกับใบพืช เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำกลั่นผสม tween ลำตัวของตัวอ่อนของแมลงหวี่ขาวโรงเรือนยังใสและสามารถเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโต (ลอกคราบ) เป็นระยะถัดไปได้

โดยเส้นใยของเชื้อราสกุล *Beauveria* เมื่อแทงออกจากตัวแมลงหวี่ขาวสร้างก้านชูสปอร์มีลักษณะเส้นเล็กบาง (conidiophore) จากนั้นผลิตสปอร์มีรูปร่างกลม ในการงอกมีลักษณะซิกแซก (ทิพย์วดี, 2535) (ภาพ 23 ก และ ข) ส่วนเส้นใยของ เชื้อราสกุล *Paecilomyces* สร้าง phialides ออกจากก้านชูสปอร์หรือ conidiophore เพื่อเป็นฐานรองรับสปอร์ แล้วสร้างสปอร์บนยอดต่อออกไปมีลักษณะคล้ายนิ้วมือ ซึ่งสปอร์ที่อยู่ใกล้ phialides เป็นสปอร์ที่สร้างขึ้นมาใหม่ (Domsch *et al.*, 1993) ส่วนด้านบนที่อยู่ปลายเป็นสปอร์แก่ที่พร้อมสืบพันธุ์ เส้นใยมีสีขาวหนากว่าเส้นใยของเชื้อราสกุล *Beauveria* (ภาพ 23 ค และ ง) สำหรับเส้นใยของเชื้อราสกุล *Metarhizium* มีลักษณะเป็นเส้นใยต่อกัน สปอร์เดี่ยว เริ่มแรกเส้นใยมีสีขาวเมื่อเกิดสปอร์เปลี่ยนเป็นสีเขียวขี้ม้า (ภาพ 23 จ และ ฉ) ซึ่งการใช้เวลาในการสร้างเส้นใยหรือสปอร์บนตัวแมลงมักขึ้นอยู่กับชนิด และความรุนแรงของเชื้อรา รวมถึงแมลงอาศัยที่เชื้อราเข้าก่อโรคด้วย



ภาพ 24 ลักษณะแมลงหวี่ขาวโรงเรือนที่ถูกปกคลุมด้วยเส้นใยเชื้อราหลังจากพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อรา 7 วัน

ก. แมลงหวี่ขาวโรงเรือนที่ถูกปกคลุมด้วยเส้นใยเชื้อรา

ข. ลักษณะ โคนิเดีย

จากการทดสอบการเกิดโรคของเชื้อรา 5 สกุล 17 ชนิด 29 ไอโซเลทกับแมลงหวี่ขาวโรงเรือน พบว่า มีเชื้อราจำนวน 3 สกุล 6 ชนิด 6 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อรา *Beauveria* sp. ไอโซเลท 2637 เชื้อรา *Metarhizium anisopilae* ไอโซเลท BCC 4849 เชื้อรา *M. flavoviride* (M.fl) เชื้อรา *Paecilomyces cinnamomeus* ไอโซเลท BCC 19341 *P. lilacinus* ไอโซเลท BCC 19368 และ *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 มีความสามารถในการทำให้แมลงหวี่ขาวโรงเรือน *T. vaporariorum* เกิดโรคได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 33.67, 72.67, 32.67, 3.85, 6.67 และ 92.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 4) โดยเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 มีความสามารถในการเข้าก่อโรคได้สูงสุด รองลงมาคือเชื้อรา *M. anisopilae* ไอโซเลท BCC 4849 ให้เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงหวี่ขาวโรงเรือนเท่ากับ 92.44 และ 72.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลการทดลอง ดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Gökçe and Er (2005) ที่ได้ศึกษาการเกิดโรคของเชื้อรา *P. fumosoroseus* และ *P. lilacinus* กับแมลงหวี่ขาวโรงเรือน *T. vaporariorum* โดยทำให้ตัวอ่อนของแมลงหวี่ขาวโรงเรือนตายหลังจากพ่นเชื้อราแล้ว 6 วัน ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ หากเปรียบเทียบกับเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 ที่อยู่ในสกุลเดียวกัน เชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 มีความสามารถในการเข้าก่อโรคกับแมลงหวี่ขาวโรงเรือนได้มากกว่าสำหรับเชื้อราทดสอบไอโซเลทอื่น ๆ หลังจากพ่นสปอร์แขวนลอยแล้ว ตัวอ่อนของแมลงหวี่ขาวสามารถพัฒนาระยะการเจริญเติบโตเข้าสู่วัยถัดไปได้ ถึงแม้ว่าเชื้อราบางไอโซเลทอาจทำให้ตัวอ่อนของแมลงหวี่ขาวเปลี่ยนจากลำตัวสีใสเป็นสีขุ่น แต่เมื่อย้ายวางในจานเลี้ยงเชื้อที่รองด้วยกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อและให้ความชื้นแล้วนั้น ไม่พบการงอกเส้นใยของสปอร์เชื้อราออกจากตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวเช่นเดียวกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำกลั่นผสม tween ทั้งๆที่มีลักษณะการตายและจำนวนการตายแตกต่างจากที่พ่นด้วยน้ำกลั่นผสม tween ทั้งนี้อาจเกิดจากสารพิษที่เชื้อราแต่ละชนิดผลิตขึ้นเมื่อเข้าสู่ตัวแมลง แต่ในการศึกษาครั้งนี้ทำการประเมินความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง โดยดูจากเส้นใยเชื้อราที่ขึ้นปกคลุมตัวแมลง และในการทดลองครั้งนี้แม้ว่าเชื้อราบางสกุลโดยทั่วไปอาจสามารถก่อโรคกับแมลงหวี่ขาวโรงเรือน แต่ทั้งนี้ต้องพิจารณาชนิดที่นำมาทดสอบ เช่น เชื้อราสกุล *Aschersonia* เป็นเชื้อราสกุลที่มีความสามารถเข้าก่อโรคกับแมลงที่มีไขห่อหุ้มร่างกาย แต่ในการทดลองนี้เชื้อราในสกุล *Aschersonia* ไม่สามารถเข้าก่อโรคกับแมลงหวี่ขาวโรงเรือนได้ อาจเนื่องจากความรุนแรงของชนิดที่นำมาทดสอบหรือเชื้อราดังกล่าวอาจเข้าก่อโรคกับแมลงชนิดอื่น (Meekes *et al*., 2002)

ตาราง 4 เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงหวี่ขาวโดยเชื้อราที่สามารถเข้าก่อโรคได้

ชนิด	ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์ารตายที่แท้จริง
Paecilomyces tenuipes	Pt 6073	92.44a[1]
Metarhizium anisopilae	BCC 4849	72.67b
Metarhizium flavoviride	M.fl 1964	32.67c
Beauveria sp	2637	33.67c
Paecilomyces lilacinus	BCC 19368	6.67d
Paecilomyces cinnamomeus	BCC 19341	3.85d

[1] ตัวอักษรในแนวตั้งที่ตามหลังค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อทดสอบทางสถิติด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD)

3. การทดสอบความรุนแรงของเชื้อรา

จากการนำเชื้อรา *P tenuipes* ไอโซเลท 6073 และเชื้อรา *M. anisopilae* BCC 4849 ที่สามารถทำให้เกิดโรคกับตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ โดยนำสปอร์แขวนลอยฉีดพ่นลงบนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาววัยที่ 2 เพื่อทดสอบความรุนแรงของเชื้อราที่ระดับความเข้มข้น $1x10^2$, $1x10^4$, $1x10^6$, $1x10^7$และ$1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตรโดยการคำนวณหาค่า median lethal concentration (LC_{50}) พบว่า เชื้อรา *P tenuipes* ไอโซเลท 6073 มีค่า LC_{50} เท่ากับ 2.219×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และเชื้อรา *M. anisopilae* BCC 4849 มีค่า LC_{50} เท่ากับ 1.005×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร(ตาราง 5)

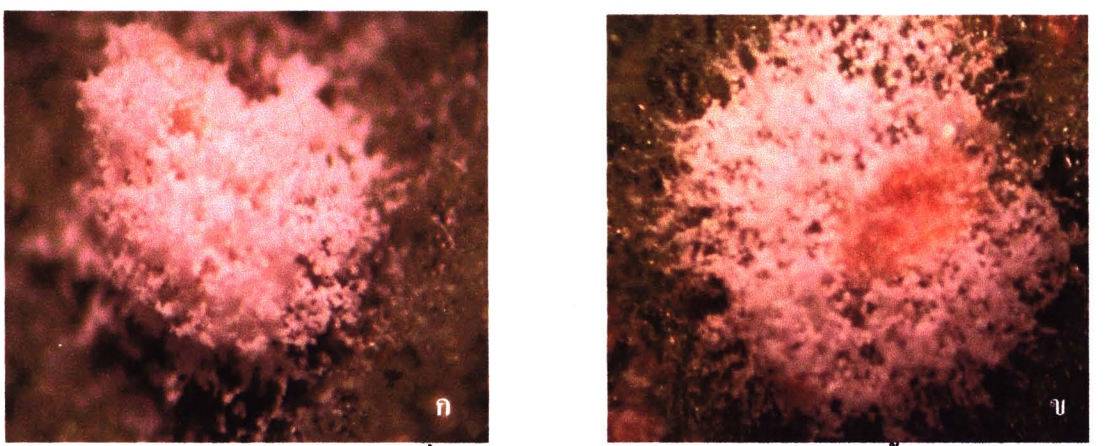
จากค่า LC_{50} ดังกล่าวแสดงถึงความรุนแรงที่เชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 และเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท 4849 เข้าทำลายแมลงหวี่ขาวโรงเรือน ทั้งนี้เชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 มีค่า LC_{50} น้อยกว่าแสดงว่ามีความรุนแรงในเข้าการเข้าทำลายได้ดีกว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท 4849 เมื่อพิจารณาการใช้เวลาในการเข้าก่อโรคกับแมลงหวี่ขาวโรงเรือนเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 สามารถเข้าก่อโรคได้เร็วกว่าเชื้อรา *M. anisopilae* ไอโซเลท BCC 4849 โดยมีค่า LT_{50} เท่ากับ 2.48 วัน และ 4.03 วัน ตามลำดับ หากนำไปใช้ในสภาพแปลงสามารถใช้ความเข้มข้น $10^6 - 10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร

ตาราง 5 ค่า LC_{50} ของเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 และเชื้อรา *M. anisopilae* BCC 4849

กรรมวิธี	ค่า LC_{50}	ค่าต่ำสุด (สปอร์ต่อมิลลิลิตร)	ค่าสูงสุด
เชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073	2.219×10^6	1.472×10^6	3.239×10^6
เชื้อรา *M. anisopilae* BCC 48	1.005×10^7	2.803×10^6	4.801×10^7

4. การทดสอบเปรียบเทียบเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมแมลงหวี่ขาวกับชีวภัณฑ์กำจัดแมลงหวี่ขาวทางการค้า

ก่อนนำสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลงทางการค้าทดลองในแปลงเกษตรกร ได้นำไปตรวจความมีชีวิตของเชื้อราโดยเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ malt extract peptone agar (MEA) เป็นเวลา 3 วัน พบว่าไม่มีการงอกของสปอร์ เมื่อนำไปทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 พบว่า หลังการพ่นสาร 3, 5 และ 7 วัน กรรมวิธีที่พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ทางการค้าไม่พบการเข้าทำลายกับตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว เนื่องจากไม่มีเส้นใยของเชื้อราขึ้นปกคลุม หากเปรียบเทียบกับเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร พบว่าหลังการพ่นเชื้อราแล้ว 1 สัปดาห์ ให้เปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว 74.36 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจนับแมลงหวี่ขาวที่มีเส้นใยของเชื้อราขึ้นปกคลุมโดยเทียบลักษณะของเส้นใยเชื้อราชนิดเดียวกันที่พ่นในห้องปฏิบัติการ เทียบกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารชีภัณฑ์ทางการค้าและกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำผสมสารจับใบ พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 มีความสามารถที่จะเข้าก่อโรคกับแมลงหวี่ขาวโรงเรือนในสภาพแปลงได้ (ภาพ 25, ตาราง 6)



ภาพ 25 ลักษณะตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนหลังจากพ่นสารแขวนลอยเชื้อรา 1 สัปดาห์
ก. เชื้อราสร้างเส้นใยและสปอร์ปกคลุมตัวแมลงหวี่ขาวโรงเรือน
ข. ซากตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนที่แห้งตายหลังเชื้อราเข้าทำลาย

ตาราง 6 ประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงหวี่ขาวของเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ไอโซเลท 6073 และชีวภัณฑ์กำจัดแมลงหวี่ขาวทางการค้าในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	ก่อนพ่นเชื้อรา	หลังพ่นเชื้อรา		
	จำนวนแมลงหวี่ขาว (ตัว)	จำนวนแมลงหวี่ขาวทั้งหมด (ตัว)	จำนวนแมลงหวี่ขาวที่มีเชื้อราขึ้นปกคลุม (ตัว)	เปอร์เซ็นต์การตาย
ชุดควบคุม	18.71 ± 4.96a[1]	15.77 ± 4.67a	0.00b	0.00b
สารชีวภัณฑ์ที่เป็นการค้า	18.04 ± 4.30a	15.84 ± 4.33a	0.00b	0.00b
P. tenuipes ไอโซเลท 6073	19.03 ± 2.69a	16.11 ± 3.39a	11.98 ± 2.70a	74.36± 6.11a
CV	22.04	26.18	38.97	14.23

[1] ตัวอักษรในแนวตั้งที่ตามหลังค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อทดสอบทางสถิติด้วยวิธี Least significant difference (LSD)

เชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ไอโซเลท 6073 เป็นไอโซเลทของเชื้อราสกุล *Paecilomyces* ในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการเข้าก่อโรคในแมลงหวี่ขาว แต่ในต่างประเทศมีรายงานของเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท FERM BP-7861 เข้าทำลายแมลงหวี่ขาว ได้แก่ แมลงหวี่ขาวโรงเรือน แมลงหวี่ขาวยาสูบ เป็นต้น (Shimizu *et al.*, 2006) และยังเข้าทำลายตัวหนอนของผีเสื้อ คือ หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (*Ostrinia furnacalis* Guenée), ผีเสื้อข้าวโพด (*Ephestia cautella* Walker), หนอนผีเสื้อข้าวสาร (*Corcyra cephalonica* Stainton), หนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.), หนอนเจาะฝักข้าวโพด (*Helicoverpa armigera* Hübner) และหนอนไหม (*Bombyx mori* L.) เป็นต้น (Wang, 1996) นอกจากเข้าทำลายแมลงโดยตรงแล้วมีรายงานการศึกษาถึงสารเคมีในเชื้อราชนิดนี้แล้วพบว่าสามารถสร้างสารพิษ beauvericin เช่นเดียวกับเชื้อรา *Beauveria bassiana* (Intamas *et al.*, 2009)

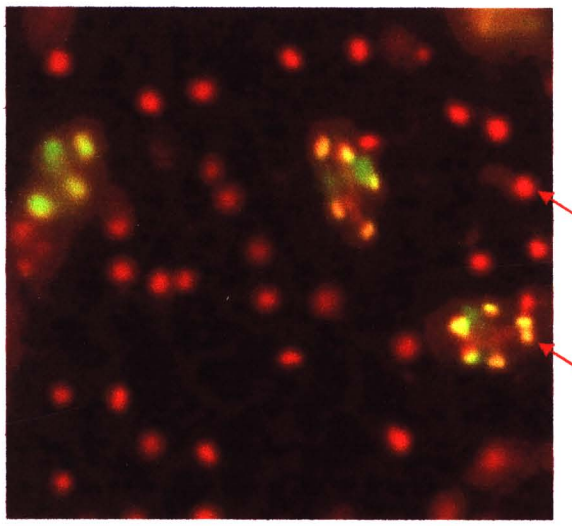
เชื้อราในสกุล *Paecilomyces* ที่มีความสามารถทำให้เกิดโรคกับแมลงหวี่ขาวคือ เชื้อรา *P. fumosorosea* ซึ่งมีรายงานการเข้าทำลายแมลงหวี่ขาว *B. tabaci*, *B. argentifolii* และ *T. vaporariorum* ในต่างประเทศได้มีการพัฒนาเชื้อรา *P. fumosorosea* ไอโซเลท Apopka 97 เป็นสารชีวภัณฑ์ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวโรงเรือนในการปลูกมะเขือเทศและแตงกวา เชื้อราชนิดนี้ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พืช สิ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์ และสิ่งแวดล้อม (Faria and Wraight, 2007) สำหรับเชื้อรา *P. tenuipes* ไม่มีรายงานการเป็นโทษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่มีรายงานการใช้เชื้อรา *P. tenuipes* เป็นส่วนประกอบของเครื่องดื่ม ยาบำรุง (tonic) และเป็นส่วนประกอบของอาหารเพื่อสุขภาพในการป้องกันโรคในประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และจีน (Zhu *et al.*, 1998)

5. เปรียบเทียบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวโรงเรือน *T. vaporariorum* บนพืชอาศัยต่างชนิดกัน

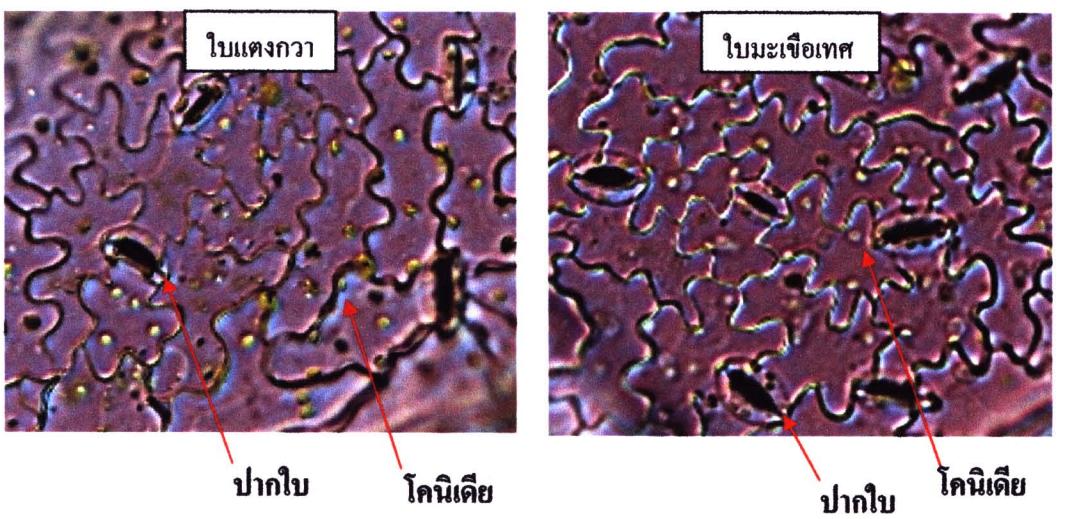
หลังจากพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *P. tenuipes* ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร บนใบแตงกวาและมะเขือเทศ จากนั้นทำการเก็บข้อมูลความมีชีวิตและความคงทนของเชื้อรา *P. tenuipes* เป็นเวลา 1 เดือน ได้ผลการทดลองดังนี้

5.1. ศึกษาความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา

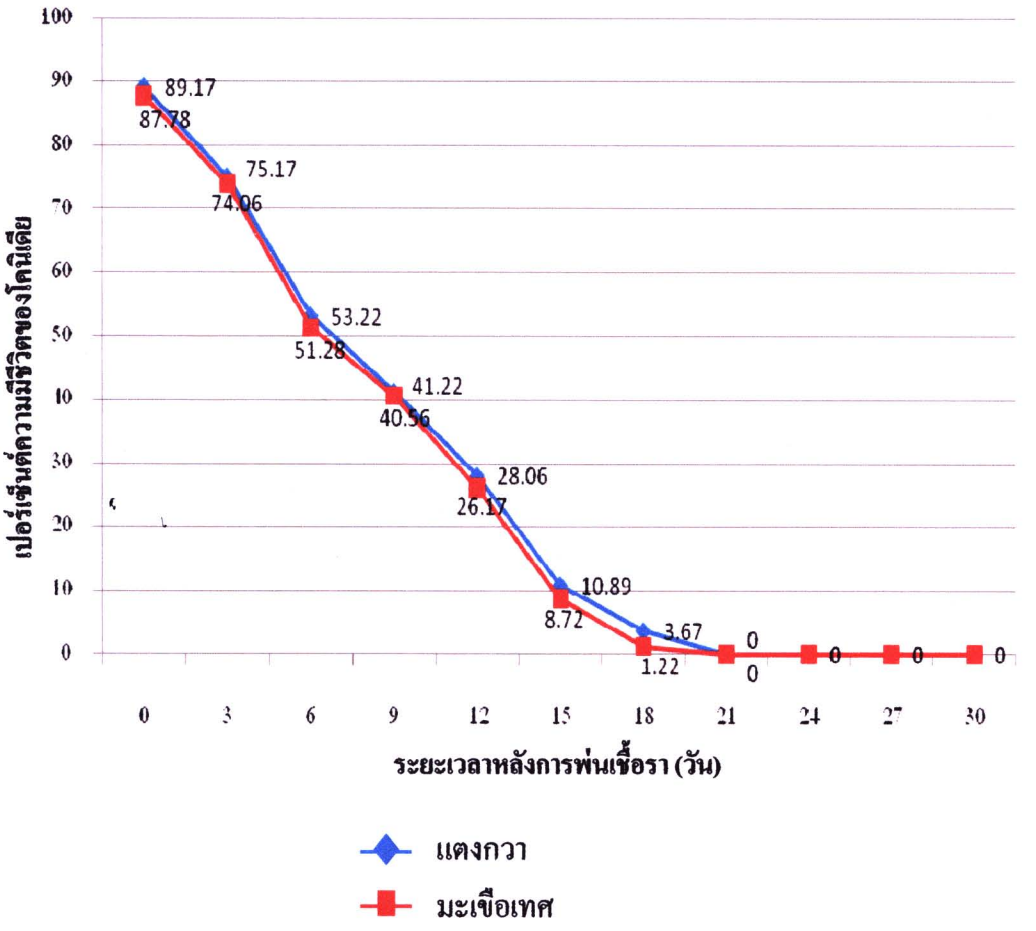
จากการเก็บใบพืชหลังจากพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อรา นำมาทดสอบความมีชีวิตของโคนิเดียโดยใช้ fluorescein diacetate (FDA) และทดสอบหาโคนิเดียที่ตายด้วย propidium (PI) ซึ่งโคนิเดียของเชื้อราที่มีชีวิตติดสีเขียวเหลือง ส่วนโคนิเดียที่ตายติดสีแดง (ภาพ 26) พบว่า ความมีชีวิตของโคนิเดียเชื้อรา *P. tenuipes* บนใบแตงกวาและมะเขือเทศหลังการพ่นเชื้อไม่แตกต่างกัน เนื่องจากใต้ใบพืชทั้งสองชนิดมีลักษณะสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกัน (ภาพ 27) กล่าวคือ มีลักษณะของปากใบและขนปกคลุมกระจายอยู่ทั่วใต้ใบพืชทำให้เชื้อรา *P. tenuipes* สามารถดำรงชีวิตได้ โดยมีค่าความมีชีวิตสูงที่สุดหลังการพ่นเชื้อทันทีเท่ากับ 89.17 และ 87.78 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเวลาหลังการพ่นเชื้อราเพิ่มขึ้นทำให้เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเชื้อราลดลง หากสังเกตความมีชีวิตของโคนิเดียหลังการพ่นที่ 12, 15 และ 18 วัน เห็นได้ว่าความมีชีวิตของโคนิเดียบนใบมะเขือเทศลดลงเร็วกว่าใบแตงกวา อาจเนื่องด้วยใบแตงกวามีขนาดใหญ่และลักษณะทางสรีรวิทยาที่เป็นพืชอวบน้ำส่งผลให้โคนิเดียมีชีวิตได้นานกว่า เชื้อรา *P. tenuipes* สามารถมีชีวิตอยู่ได้บนใบแตงกวาและมะเขือเทศหลังการพ่นเชื้อเป็นเวลา 18 วัน ค่าความมีชีวิตเท่ากับ 3.67 และ 1.22 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 28) ใบพืชมีผลต่อความมีชีวิตของโคนิเดียให้ผลเช่นเดียวกันกับการวิจัย ของ มาลี (2550)



ภาพ 26 ลักษณะโคนิเดียของเชื้อราใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์



ภาพ 27 ลักษณะโคนิเดียเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ไอโซเลท 6073 บนใบพืช

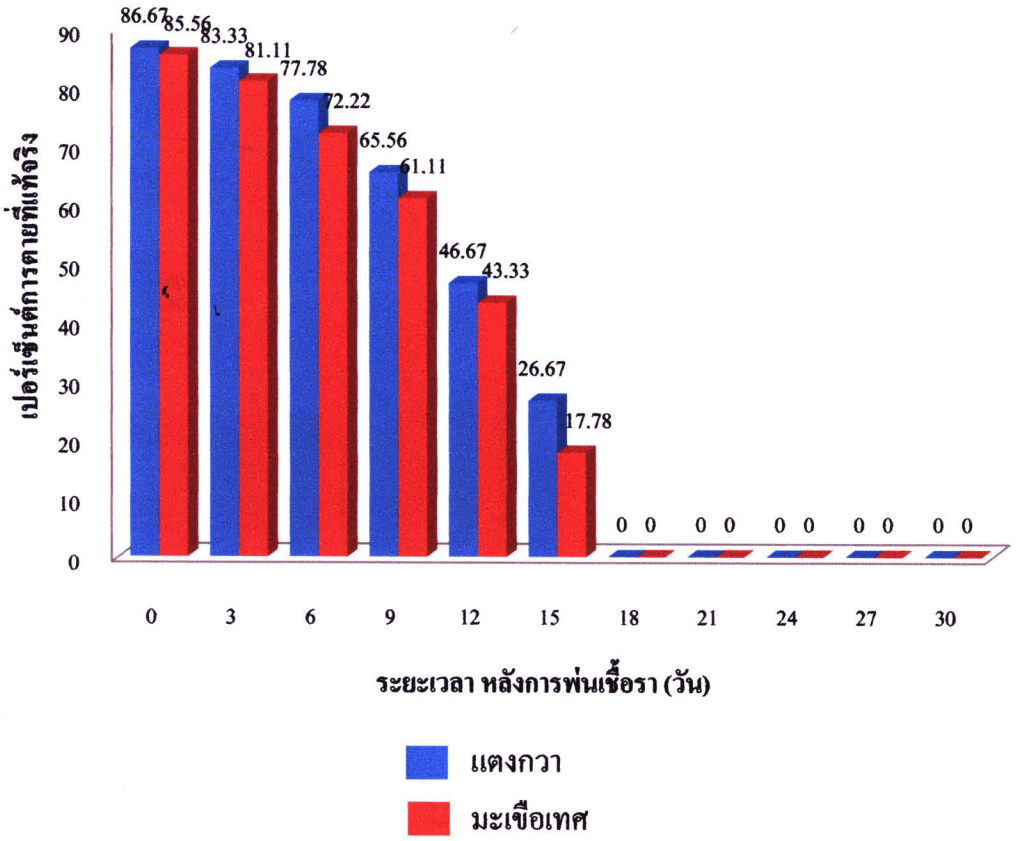


ภาพ 28 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของโคนิเดียเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* หลังพ่นเชื้อบนใบพืช 1 เดือน

5.2. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราที่คงทนบนใบพืชในระยะเวลาต่าง ๆ กันในการทำให้เกิดโรคกับแมลงหวี่ขาวโรงเรือน

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *P. tenuipes* ที่อยู่บนใบพืช โดยการนำตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนวัย 1 มาเลี้ยงบนใบแตงกวาและมะเขือเทศที่เก็บหลังการพ่นเชื้อราในระยะเวลาต่าง ๆ กันคือ หลังการพ่นเชื้อราทันที, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 และ 30 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนที่เลี้ยงบนใบแตงกวาและมะเขือเทศหลังการพ่นเชื้อราไม่แตกต่างกัน โดยเปอร์เซ็นต์การตายหลังการพ่นเชื้อทันทีมีค่าเท่ากับ 86.67 และ 85.56 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งความสามารถการเกิดโรคของเชื้อรา *P. tenuipes* ที่อยู่ใบพืชทั้งสองลดลงเรื่อย ๆ โดยในช่วง 6 วัน หลังจากพ่นเชื้อรามีเปอร์เซ็นต์การตายลดลงอย่างช้า ๆ แต่หลังการพ่นเชื้อรา 9 วัน ความสามารถของเชื้อรา *P. tenuipes* ที่เข้าก่อโรคกับตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนลดลงอย่าง

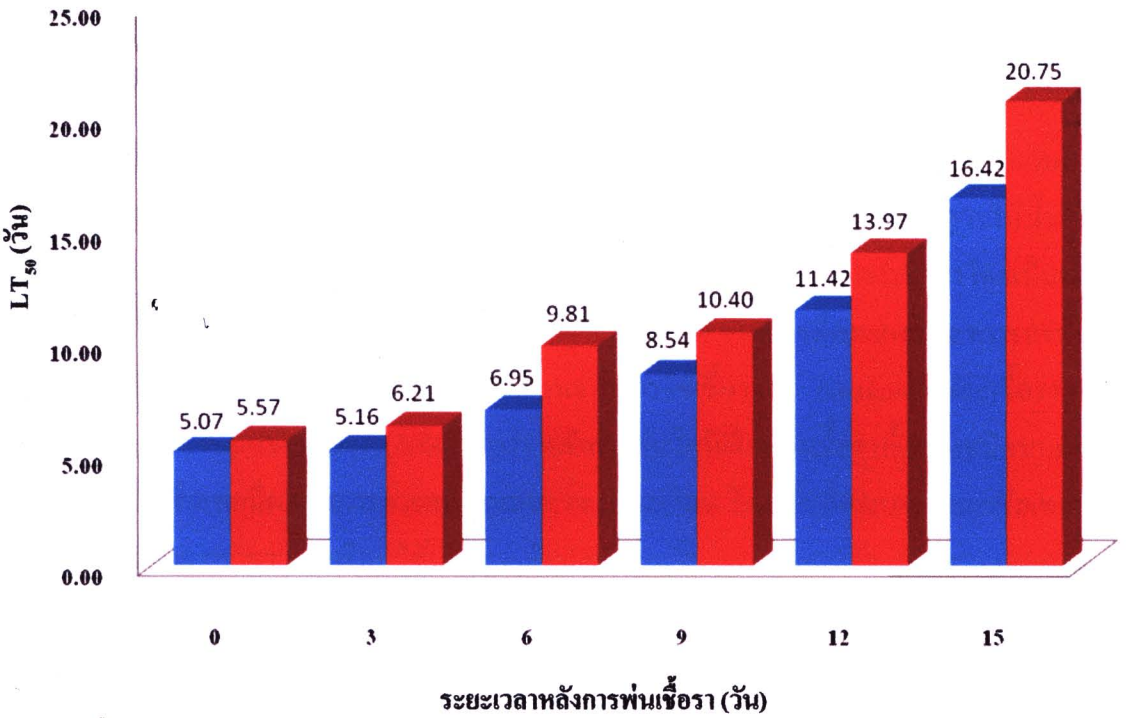
รวดเร็ว สอดคล้องกับการมีชีวิตของสปอร์ จากการทดลองเห็นได้ว่าหลังจากพ่นเชื้อรา *P. tenuipes* เป็นเวลา 15 วัน สปอร์ที่มีชีวิตบนใบแตงกวาและมะเขือเทศเพียง 10 และ 8 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้แมลงหวี่ขาวโรงเรือนตายได้เท่ากับ 26.67 และ 17.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพ 29)



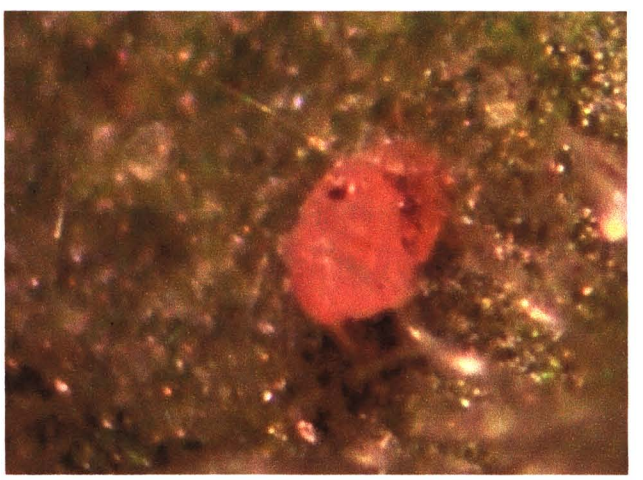
ภาพ 29 เปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนวัย 1 ที่เลี้ยงบนใบพืชหลังการพ่นเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน

เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่ทำให้แมลงหวี่ขาวโรงเรือนตาย 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนำตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนวัยที่ 1 ย้ายเลี้ยงบนใบพืช พบว่า การเข้าก่อโรคของเชื้อรา *P. tenuipes* กับตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนบนใบแตงกวาและใบมะเขือเทศมีความแตกต่างกัน แม้ว่าให้เปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนตายไม่ต่างกัน แต่ระยะเวลาที่ใช้เชื้อรา *P. tenuipes* บนแตงกวาใช้เวลาน้อยกว่าในทุกครั้งเก็บใบพืชหลังการพ่นเชื้อ โดยบนใบแตงกวามีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 86.67, 83.33, 77.78, 65.56, 46.67 และ 26.67 เปอร์เซ็นต์ มีค่า LT_{50} เท่ากับ 5.07, 5.16, 6.95, 8.54, 11.42 และ 16.42 วัน ตามลำดับ ส่วนบนใบมะเขือเทศ พบการตาย 85.56, 81.11, 72.22, 61.11, 43.33 และ 17.78 เปอร์เซ็นต์ มีค่า LT_{50} เท่ากับ 5.57, 6.21, 9.81, 10.4,

13.97 และ 20.75 วัน (ภาพ 29 และ 30) แต่ทั้งนี้หลังจากนำแมลงลงไปบนใบแตงกวาและมะเขือเทศเป็นเวลา 3 วัน พบว่าตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนที่อยู่บนใบแตงกวาและมะเขือเทศเปลี่ยนจากสีขาวใสเป็นสีส้มและไม่มีการเคลื่อนที่ (ภาพ 31)



ภาพ 30 ค่า LT_{50} ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนวัย 1 ที่เลี้ยงบนใบพืชแตงกวาและมะเขือเทศหลังการพ่นเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน



ภาพ 31 ลักษณะตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนวัย 1 หลังจากอยู่บนใบพืชที่พ่นเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ได้ 3 วัน

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวโรงเรือน *T. vaporariorum* บนพืชอาศัยต่างชนิดกันของเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 เห็นได้ว่า สปอร์เชื้อราที่อยู่บนใบแตงกวามีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดและสามารถเข้าก่อโรคกับตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวได้ดีกว่า เนื่องจากใบแตงกวามีขนาดใหญ่กว่าใบมะเขือเทศที่อายุเท่ากัน ทำให้สามารถป้องกันแสงแดดได้มากกว่า ถึงแม้ว่าลักษณะพื้นที่ใต้ใบของพืชทั้งสองชนิดนี้จะมีลักษณะคล้ายคลึงกัน และจากการสังเกตความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 บนใบพืชทั้งสองเมื่อระยะเวลาผ่านไปหลังการพ่นสปอร์ที่มีชีวิตส่วนใหญ่พบอยู่บริเวณปากใบพืช แสดงว่าหากนำเชื้อราไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในสภาพโรงเรือน ปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้สปอร์สามารถคงทนบนใบพืชได้นานควรให้น้ำพืชอย่างสม่ำเสมอ ดังนั้นความชื้นและอุณหภูมิบนผิวใบพืชมีผลต่อการงอกสปอร์เชื้อราโดยเป็นตัวส่งเสริมให้เชื้อราที่คงทนบนใบพืชสามารถเข้าทำลายแมลงได้ จากการศึกษาผลกระทบของพืชอาศัยที่มีต่ออัตราการตายของแมลงหวี่ขาวโรงเรือนจากการใช้เชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *P. fumosoroseus* ของ Poprawski *et al.* (2000) พบว่า หลังการพ่นโคนิเดียของเชื้อราทั้งสองชนิดบนต้นแตงกวาและมะเขือเทศมีผลต่อการตายของแมลงหวี่ขาวโรงเรือน โดยเชื้อที่พ่นบนต้นมะเขือเทศมีการเข้าทำลายแมลงหวี่ขาวโรงเรือนได้น้อยกว่าต้นแตงกวา เนื่องจากต้นมะเขือเทศมีสาร tomatine ซึ่งมีผลต่อการงอกของเชื้อรากำจัดแมลง แมลงหวี่ขาวเป็นแมลงปากดูดเมื่อดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นพืช แมลงก็ได้รับสารประกอบเคมีเข้าสู่ร่างกายจึงทำให้การเข้าทำลายของเชื้อราอาจได้ผลช้าหรือต้านทานเชื้อราเข้าทำลายแมลงได้ นอกจากนี้สาร tomatine สามารถทำให้แมลงหวี่ขาวสามารถต้านทานต่อสารฆ่าแมลงได้ด้วย ดังนั้นสารประกอบเคมีภายในพืชอาจมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เช่น terpenoid gossypol, catechol, saliccyclic acid, tannic acid terpernoid gossypol (Vega *et al.*, 1997, Poprawski and Walker, 2000) และจากรายงานของ Poprawski *et al.* (2000)ได้ทำการทดสอบเชื้อรา *P. fumosoroseus* เลี้ยงบนอาหารที่มีส่วนผสมของสาร tomatine ที่ความเข้มข้น 0, 20, 50, 100, 500 และ 1,000 ppm. พบว่า อาหารมีส่วนผสมของสาร tomatine ที่ความเข้มข้น 0 -100 ppm. เชื้อรา *P. fumosoroseus* สามารถงอกได้มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ แต่ในกรรมวิธีที่อาหารมีส่วนผสมของสาร tomatine ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm. เชื้อรา *P. fumosoroseus* ไม่สามารถงอกและเจริญบนอาหารได้ ทั้งนี้ปริมาณของสาร tomatine ในมะเขือเทศแต่ละพันธุ์มีปริมาณที่ไม่เท่ากัน ในการทดลองนี้เชื้อรา *P. tenuipes* อาจมีความต้านทานต่อสารดังกล่าวทำให้สามารถเข้าก่อโรคกับแมลงหวี่ขาวโรงเรือนได้