โครงการวิจัยย่อยที่ 7
เชื้อราสาเหตุโรคแมลงศัตรูพริกและประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยไฟบนพริก
Entomopathogenic Fungi and Their Efficacy for Controlling Thrips on Chilli

จิราพร กุลสาริน[1/] และ กัลยา บุญสง่า[1/]

Jiraporn Kulsarin and Sawai Buranapanichpan

[1/] สาขาวิชากีฏวิทยา ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

[1/] Division of Entomology, Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

บทคัดย่อ

จากการแยกเชื้อราจากตัวอย่างเพลี้ยไฟและตัวอย่างดินที่เก็บรวบรวมจากแปลงปลูกพริกทั้งในโรงเรือนและนอกโรงเรือนของจังหวัดเชียงใหม่ พบเชื้อราสาเหตุโรคแมลง 2 ชนิด คือ *Beauveria bassiana* และ *Paecilomyces farinosus* และสามารถแยกเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคของแมลงได้ทั้งหมดจำนวน 10 ไอโซเลท คือ *B. bassiana* จำนวน 4 ไอโซเลท และ *P. farinosus* จำนวน 6 ไอโซเลท ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลทในการเข้าก่อโรคกับเพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* พบว่า เชื้อรา *P. farinosus* ทำให้เพลี้ยไฟพริกมีการตายระหว่าง 40- 90 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 1.47×10^6 - 6.12×10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ซึ่งเชื้อรา *P. farinosus* ให้อัตราการตายของเพลี้ยไฟสูงกว่าเชื้อรา *B. bassiana*

คำสำคัญ: เชื้อราสาเหตุโรคแมลง เพลี้ยไฟพริก

ABSTRACT

Isolation of entomopathogenic fungi from thrips and soils collected in chilli fields, inside and outside screen houses, of Chiang Mai was conducted in laboratory. The result revealed that four isolates of *Beauveria bassiana* and six isolates of *Paecilomyces farinosus* were found as entomopathogenic fungi. The efficacy test of all isolates for infecting chilli thrips, *Scirtothrips dorsalis*, indicated that *P. farinosus* gave 40-90 % of chilli thrips mortality with the LC_{50} ranging from 1.47×10^6 to 6.12×10^6 conidia/ml. In addition, *P. farinosus* showed higher mortality rate of chilli thrips than *B. bassiana*.

Keywords: Entomopathogenic fungi, *Scirtothrips dorsalis*

บทนำ

เพลี้ยไฟ เป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญมากที่สุดชนิดหนึ่ง เนื่องจากสามารถทำลายพืชเศรษฐกิจที่สำคัญได้ทั้งพืชผัก พืชไร่ ไม้ผล และไม้ดอก พืชผักที่ได้รับความเสียหายจากการเข้าทำลายของเพลี้ยไฟมากที่สุด ได้แก่ พริก แตงโม กะหล่ำ หอม กระเทียม มะเขือ มะเขือเทศ มันฝรั่ง หน่อไม้ฝรั่ง ถั่วฝักยาว ถั่วลันเตา กระเจี๊ยบเขียว และเห็ด (Bansiddhi and Poonchaisri, 1991) เพลี้ยไฟที่พบในประเทศไทยและวิเคราะห์ชื่อแล้วมีมากกว่า 100 ชนิด (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2552) ถือว่าเป็นแมลงปากดูดที่ทำลายพืชได้มากที่สุดโดยสามารถทำลายพืชทั้งในพื้นที่สูงและพื้นที่ราบ โดยเฉพาะพริกเป็นพืชที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งในประเทศไทย ซึ่งการปลูกพริกในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เกษตรกรมักประสบกับปัญหาเพลี้ยไฟเข้าทำลาย โดยทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยใช้ปากเขี่ยเนื้อเยื่อให้ช้ำแล้วดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช มักเข้าทำลายในส่วนที่กำลังเจริญของพืช เช่น ยอด ตา ดอก ใบ และผลอ่อนของพืช เมื่อใบหรือผลแก่ขึ้นทำให้เกิดเป็นรอยกร้านสีน้ำตาลหรือเป็นทางคล้ายขี้กลาก ช่อดอกเหี่ยวแห้งหลุดร่วง นอกจากนี้ยังเป็นพาหะในการถ่ายทอดเชื้อไวรัสจากต้นพืชที่เป็นโรคไปยังต้นพืชปกติ ทำให้ได้ผลผลิตน้อย มีอายุการเก็บเกี่ยวผลผลิตสั้น และเกษตรกรมีรายได้ลดลง (ธำรงค์, 2551) การระบาดของเพลี้ยไฟพบในช่วงฤดูร้อน อากาศแห้งแล้ง ฝนไม่ตก ทำให้มีการใช้สารฆ่าแมลงในปริมาณมากและบ่อยครั้ง ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค มีสารพิษตกค้างในผลผลิต และสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันพื้นที่การปลูกพืชลดลง ประกอบกับมีผู้บริโภคกลุ่มใหญ่ที่ต้องการพืชผักที่ปลอดสารพิษ ทำให้มีการนำพืชผักหลายชนิดไปปลูกในสภาพที่สามารถควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ในการผลิตได้ดีกว่าการปลูกในแปลงเปิด เช่น การปลูกในโรงเรือนและการปลูกในระบบไม่ใช้ดิน ผลผลิตที่ได้มีราคาสูง และเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ แต่การปลูกในโรงเรือนไม่สามารถป้องกันการทำลายของแมลงได้ทุกชนิด โดยเฉพาะแมลงขนาดเล็กหลายชนิดที่มีลักษณะปากเป็นแบบดูดกิน เช่น แมลงหวี่ขาว เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ และเพลี้ยแป้ง สามารถเข้าทำลายผลผลิตในโรงเรือนได้ การใช้สารเคมีกำจัดแมลงในโรงเรือนเป็นอันตรายอย่างมากต่อผู้ใช้ และมีการสะสมของสารพิษสูงกว่าในสภาพแปลงเปิด การใช้สารชีวภัณฑ์ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสม ปลอดภัยต่อเกษตรกรและผู้บริโภค ด้วยเหตุนี้จึงมีการควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยวิธีการที่ไม่ใช้สารเคมี เช่น การใช้สารสกัดจากพืช ตัวห้ำ ตัวเบียน และเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคแมลง โดยเฉพาะการใช้เชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคแมลงกับเพลี้ยไฟ สารชีวภัณฑ์ประเภทจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงประเภทปากเจาะดูด คือเชื้อราชนิดต่าง ๆ เนื่องจากสามารถเข้าทำลายแมลงได้โดยแทงเส้นใยทะลุผ่านผนังลำตัว ในขณะที่เชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ แมลงต้องกินเข้าไปจึงมีประสิทธิภาพ (Lacey *et al.*, 1996) ดังนั้น การนำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการลดและใช้ทดแทนสารเคมีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟพริก

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเก็บรวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในเขตพื้นที่ปลูกพริกจังหวัดเชียงใหม่
2. เพื่อศึกษาและคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเพลี้ยไฟในห้องปฏิบัติการ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างแมลงที่เป็นโรคและตัวอย่างดิน

ทำการเก็บตัวอย่างแมลงที่เป็นโรคตายและตัวอย่างดินในแปลงปลูกพริกทั้งในโรงเรือนและนอกโรงเรือนของเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บตัวอย่างแมลงที่ได้ในกล่องพลาสติกรองด้วยกระดาษกรองและหยดน้ำลงไปเพื่อให้ความชื้นกับตัวอย่าง ทำการศึกษาและแยกเชื้อราบนตัวแมลงในห้องปฏิบัติการ สำหรับตัวอย่างดินบริเวณผิวหน้าดินปริมาณ 100 กรัม ใส่ถุงพลาสติกนำกลับมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

2. การแยกเชื้อรา วิเคราะห์และเพาะเลี้ยงเชื้อ

2.1 การแยกเชื้อราจากตัวแมลง

2.1.1 นำแมลงที่ตายมาจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% (95% ethyl alcohol) ประมาณ 1-2 นาที เพื่อทำลายเชื้ออื่น ๆ ที่ปนเปื้อนบริเวณผนังลำตัวแมลง จานนั้นนำไปวางบนกระดาษทิชชู เพื่อให้ตัวแมลงแห้ง แล้วจึงนำไปวางบนกระดาษทิชชูที่หยดน้ำให้ความชื้น เพื่อให้เชื้อราที่อยู่บนตัวแมลงงอกออกมา เก็บไว้ในจานแก้ว ประมาณ 2-3 วัน นำซากแมลงที่ตายมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ซากแมลงที่ตายด้วยเชื้อรามีลักษณะแห้งแข็ง และมีเส้นใยของเชื้อราขึ้นตามลำตัวของแมลง

2.1.2 ทำการแยกเชื้อราจากแมลง โดยวางแมลงที่มีเชื้อราขึ้นปกคลุมทั่วตัวแมลงลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ซึ่งเติมกรดแลกติก 25% ประมาณ 1-2 หยด เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (นุชนารถ, 2540) เมื่อเชื้อราเจริญบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการแยกเชื้อในตู้เขี่ยเชื้อ โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะลงบนส่วนของเชื้อราบริเวณที่กำลังเจริญไปวางในจานเลี้ยงเชื้อใหม่ที่มีอาหาร PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง

2.1.3 เมื่อเชื้อราเจริญบนอาหาร PDA เต็มที่ เขี่ยเชื้อไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้ออีกครั้ง เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น เชื้อราที่ได้นำมาวิเคราะห์ เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อรา

2.2 การแยกเชื้อราจากตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดินที่เก็บมาจากพื้นที่ปลูกพริกในโรงเรือนที่พบเพลี้ยไฟตายด้วยเชื้อราจำนวน 20 ตัวอย่าง และเก็บดินจากพื้นที่ปลูกพริกนอกโรงเรือนเพิ่มอีก 10 ตัวอย่าง ทำการแยกเชื้อจากสารแขวนลอยดินเจือจาง ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร (2547) เพื่อวินิจฉัยลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่ปรากฏบนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเชื้อราสาเหตุโรคแมลงหรือไม่ โดยใช้ตัวอย่างดินจำนวน 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 90 มิลลิลิตร เขย่าให้ดินกระจายตัว 20-30 นาที ใช้ปิเปตดูดสารแขวนลอยดินปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปเจือจางด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนาน 1 นาที จากนั้นดูดสารแขวนลอยดินจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุ่น (ประมาณ 42-45 องศาเซลเซียส) ลงไป หมุนจานเพื่อให้สารแขวนลอยดินและอาหารเข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 5 วัน เมื่อกลุ่มเชื้อราเจริญบนผิวหน้าของอาหาร แยกเชื้อในตู้เขี่ยเชื้อ โดยใช้ cork borer เจาะลงบนส่วนของเชื้อรา นำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อใหม่ที่มีอาหาร PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อเจริญเต็มที่ เขี่ยเชื้อไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่อีกครั้ง เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น

3. การเพาะเลี้ยงเพลี้ยไฟพริก

ทำการเลี้ยงเพลี้ยไฟพริกในกล่องพลาสติกขนาด 43x63x36 เซนติเมตร ซึ่งเจาะช่องระบายอากาศทั้งสี่ด้าน และฝาด้านบนกล่องปิดทับด้วยผ้าตาข่าย ภายในมีพืชอาศัยของเพลี้ยไฟพริก ปล่อยเพลี้ยไฟจำนวน 100 ตัว ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ย้ายต้นพืชอาศัยที่เพลี้ยไฟวางไข่แล้วไปไว้ในกล่องใหม่ เพื่อให้ได้เพลี้ยไฟพริกที่มีอายุเท่า ๆ กันเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

4. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรากับเพลี้ยไฟในห้องปฏิบัติการ โดยพ่นสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราที่ระดับความเข้มข้น $1x10^8$ โคนีเดียต่อมิลลิลิตร ซึ่งได้จากการนำเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร PDA จนเจริญเต็มที่และสร้างสปอร์แล้ว มาทำการล้างสปอร์เชื้อรา โดยขูดเอาสปอร์เชื้อราที่เจริญบนอาหาร ลงในน้ำกลั่นผสม Tween 80 ความเข้มข้น 0.1% ที่นึ่งฆ่าเชื้อ กรองสารแขวนลอยสปอร์ด้วยผ้าขาวบาง นับสปอร์เชื้อราด้วย hemacytometer เพื่อคำนวณหาความเข้มข้น ฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ลงบนเพลี้ยไฟโดยใช้เพลี้ยไฟในระยะที่เป็นตัวอ่อน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยแต่ละเชื้อทำ 3 ซ้ำ มีชุดควบคุม 1 ชุด แต่ละซ้ำใช้เพลี้ยไฟ 10 ตัว ในชุดควบคุม ใช้น้ำกลั่นผสม tween 80 ความเข้มข้น 0.1% เป็นตัวเปรียบเทียบ ทำการบันทึกจำนวนเพลี้ยไฟที่ตายและมีเส้นใยปกคลุมทุกวันเป็นเวลา 7 วัน นำเพลี้ยไฟที่ตายส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเพื่อตรวจสอบว่าเป็นเชื้อราชนิดเดียวกันกับที่พ่น คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การตายที่ถูกต้องโดยใช้ Abbott's formula

5. การทดสอบความรุนแรงของเชื้อที่เข้าก่อโรคกับเพลี้ยไฟ

โดยใช้เชื้อราจากการทดสอบในการทำให้เกิดโรคกับเพลี้ยไฟที่มีเปอร์เซ็นต์การตาย 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปจากข้อ 3 มาทดสอบ ทำการพ่นสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราลงบนตัวอ่อนเพลี้ยไฟ ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^3$, $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$และ $1x10^8$ โคนีเดียต่อมิลลิลิตร บันทึกจำนวนเพลี้ยไฟที่ตายและมีเส้นใยขึ้นปกคลุม ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน คำนวณหาค่า median lethal concentration (LC_{50}) ด้วยโปรแกรม LOGIT PC เพื่อจัดระดับความรุนแรง

ผลการวิจัยและวิจารณ์

1. เก็บตัวอย่างแมลงที่เป็นโรคและตัวอย่างดิน

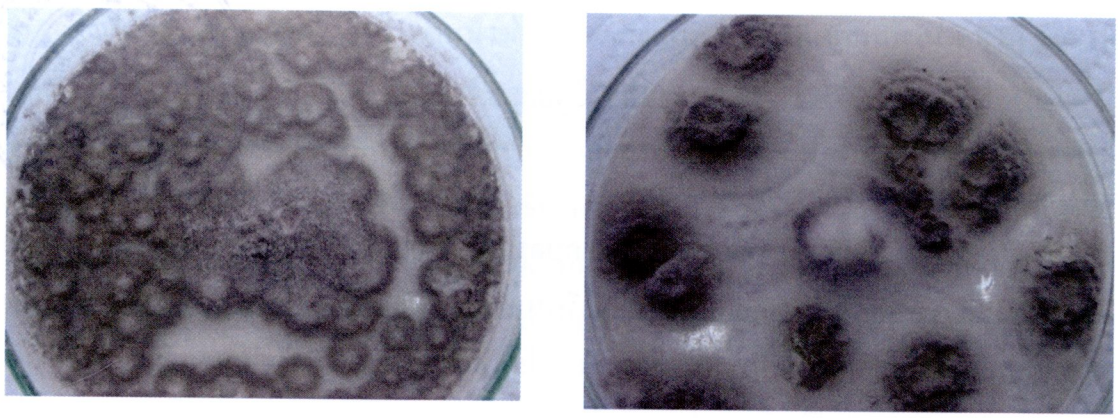
จากข้อมูลพื้นที่ปลูกพริกของสำนักงานเกษตรจังหวัดเชียงใหม่ (2552) พบว่า อำเภอที่ปลูกพริกในโรงเรือนมีจำนวน 3 อำเภอ คือ อำเภอแม่ริม ปลูกพริกหวาน อำเภอสะเมิง ปลูกพริกพิโรธและพริกหวาน อำเภอฮอด ปลูกพริกหวานและพริกขี้หนู ในฤดูเพาะปลูกปี พ.ศ. 2553 ช่วงเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2554 ที่อำเภอแม่ริม มีการปลูกพริกในโรงเรือนเป็นจำนวนมากถึง 142 ไร่ (สำนักงานเกษตรจังหวัดเชียงใหม่, 2553) ในต้นปี พ.ศ. 2553 พบการระบาดของเพลี้ยไฟเป็นจำนวนมากทั้งบนใบและผลพริก มีจำนวนเฉลี่ยมากกว่า 20 ตัวต่อใบ และ 5 ตัวต่อผล ในปี พ.ศ. 2554 กลับไปสำรวจพื้นที่เดิมพบว่า มีการปลูกพริกน้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับปี พ.ศ. 2553 เนื่องจากเกิดโรคไวรัสระบาดเป็นจำนวนมากในโรงเรือน ประกอบกับในช่วงต้นปี พ.ศ. 2554 มีฝนตกลงมาเป็นจำนวนมากและบ่อยครั้ง ทำให้มีความชื้นในดินสูง เมื่อพริกเป็นโรคทำให้มีการระบาดอย่างรวดเร็ว เกษตรกรบางรายจึงทิ้งแปลงปลูกเนื่องจากไม่คุ้มทุนในการป้องกันกำจัดโรค โดยปล่อยให้ต้นพริกเน่าตายในพื้นที่เพาะปลูก ส่งผลทำให้เกิดการสะสมของโรคและแมลงศัตรูในแปลงปลูกพริก จากสาเหตุดังกล่าวเกษตรกรบางรายเลือกปลูกพืชชนิดอื่นแทน ทำให้ปริมาณเพลี้ยไฟลดลง ทั้งนี้อาจเกี่ยวเนื่องกับสภาพอากาศที่มีฝนตกก่อนฤดูกาล

จากการเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟมาทำสไลด์และจำแนกชนิด พบว่าเป็นเพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* ซึ่งมีขนาดเล็กมาก ลำตัวยาวประมาณ 0.8 มิลลิเมตร มีสีเหลืองอ่อน ตารวมสีแดงเข้ม ตาเดี่ยว 3 ตา สีแดง หนวดมี 8 ปล้องโดยปล้องที่ 3-8 มีสีเข้มกว่า ปล้องที่ 1 และ 2 (ศิริณี, 2544; Mound and Gillespie, 1997)

2. การแยกเชื้อรา วิเคราะห์และเพาะเลี้ยงเชื้อ

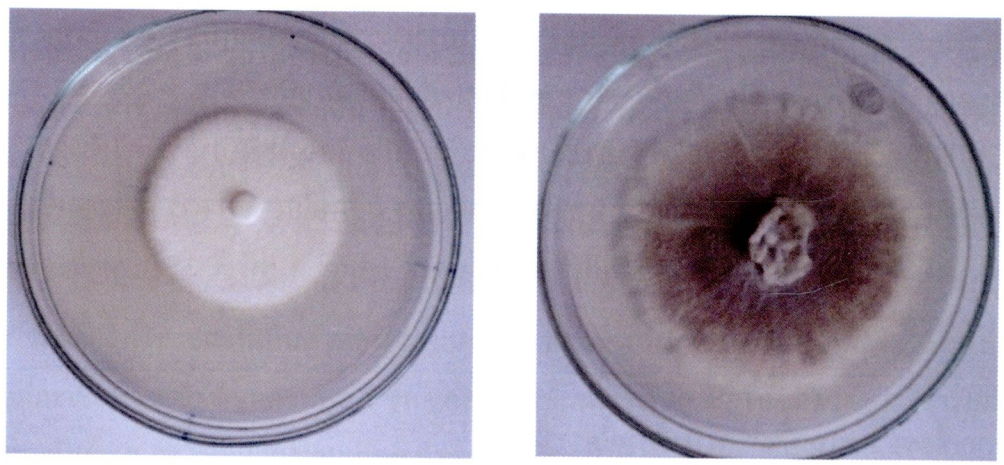
จากการเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟที่เป็นโรคตายด้วยเชื้อราบนต้นพริกและตัวอย่างดินจากอำเภอแม่ริม จำนวน 10 โรงเรือน และอำเภอสะเมิง 5 โรงเรือน โรงเรือนละ 10 จุด ส่วนการปลูกพริกในโรงเรือนในอำเภอฮอด เกษตรกรใช้สารเคมีมากและบ่อยครั้งในการควบคุมแมลงศัตรูพริก ทำให้ไม่พบเพลี้ยไฟที่ตายด้วยเชื้อรา

2.1 จากการแยกเชื้อจากเพลี้ยไฟที่ตายด้วยเชื้อราประมาณ 100 ตัว แบ่งวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จำนวน 4 จุด นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน พบว่ามีเส้นใยที่เจริญบนอาหาร PDA เชื้อรา เจริญเติบโตมีลักษณะของโคโลนีคล้ายผงแป้งมีสีเทา จึงทำการแยกเชื้อมาเลี้ยงต่อในอาหาร PDA ใหม่ ได้เชื้อราที่มีลักษณะดังภาพที่ 7.1



ภาพที่ 7.1 ลักษณะของเชื้อราที่แยกได้จากเพลี้ยไฟ

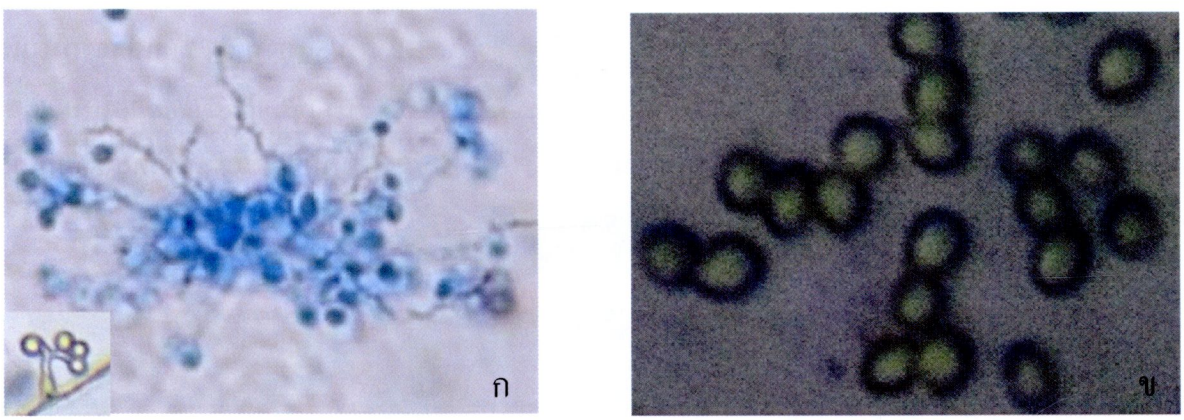
2.2 การแยกเชื้อราจากดิน จากเก็บตัวอย่างดินพื้นที่ปลูกพริกในโรงเรือนที่พบเพลี้ยไฟตาย ด้วยเชื้อรา และดินจากพื้นที่ปลูกพริกนอกโรงเรือนพบว่า เชื้อราที่ได้มีลักษณะของโคโลนีสีขาว และสีเทา (ภาพที่ 7.2)



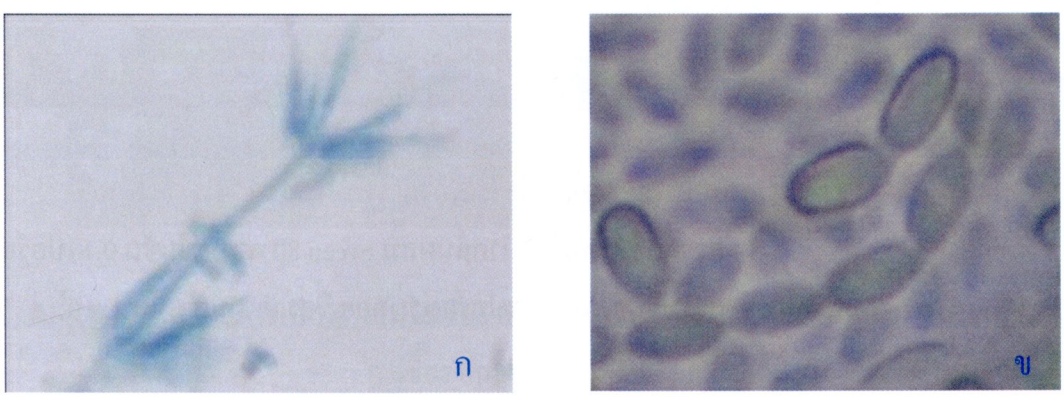
ภาพที่ 7.2 ลักษณะของเชื้อราที่แยกได้จากสารแขวนลอยดิน

2.3 จากการวินิจฉัยลักษณะของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนผิวหน้าของอาหารจากตัวอย่างที่เก็บรวบรวมมา พบว่า มีลักษณะคล้ายกับเชื้อราสาเหตุโรคแมลง 10 ตัวอย่าง จึงทำการเขี่ยเชื้อไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ใหม่เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และทำการตรวจดูลักษณะของโคโลนีที่เจริญบนอาหารอีกครั้งหนึ่ง พบว่ากลุ่มของสปอร์มีลักษณะคล้ายผงแป้ง จึงวินิจฉัยตามแผนผังการวินิจฉัยเชื้อราสาเหตุโรคแมลงตามที่กรมวิชาการเกษตร (2547) แนะนำ ได้กลุ่มสปอร์ของเชื้อราที่มีสีขาวอาจเป็นเชื้อราในสกุล *Beauveria* และกลุ่มสปอร์ของเชื้อราที่มีสีเทาและสีเทาอมม่วงอาจเป็นเชื้อราในสกุล *Paecilomyces*

เมื่อทำการตรวจดูลักษณะของเชื้อราที่แยกได้จากเพลี้ยไฟและการแยกเชื้อจากสารแขวนลอยดิน พบว่า เชื้อราที่มีกลุ่มสปอร์สีขาว มีก้านชูสปอร์ (conidiophores) อยู่รวมกันเป็นกระจุก และมีสปอร์ติดอยู่เป็นกระจุก สปอร์ (conidia) เป็นแบบเซลล์เดียว มีรูปร่างคล้ายหยดน้ำ ดังภาพที่ 7.3 ส่วนเชื้อราที่มีกลุ่มสปอร์สีเทาและเทาอมม่วง ส่วนของ conidiophore มีลักษณะโคนโป่งออกและเรียวเล็กไปสู่ปลาย ขนาดค่อนข้างยาว และเรียวคล้ายนิ้วมือ อยู่เรียงกันเป็นคู่และแตกแขนงออกเป็นคู่ ส่วนปลายมีสปอร์เรียงอยู่เป็นแถวหรือเดี่ยว ๆ conidia เป็นแบบเซลล์เดียว มีรูปร่างเป็นวงรี ดังภาพที่ 7.4



ภาพที่ 7.3 ก. ลักษณะ conidiophore ของเชื้อราที่มีกลุ่มสปอร์สีขาว
ข. ลักษณะconidia เชื้อราที่มีกลุ่มสปอร์สีขาว

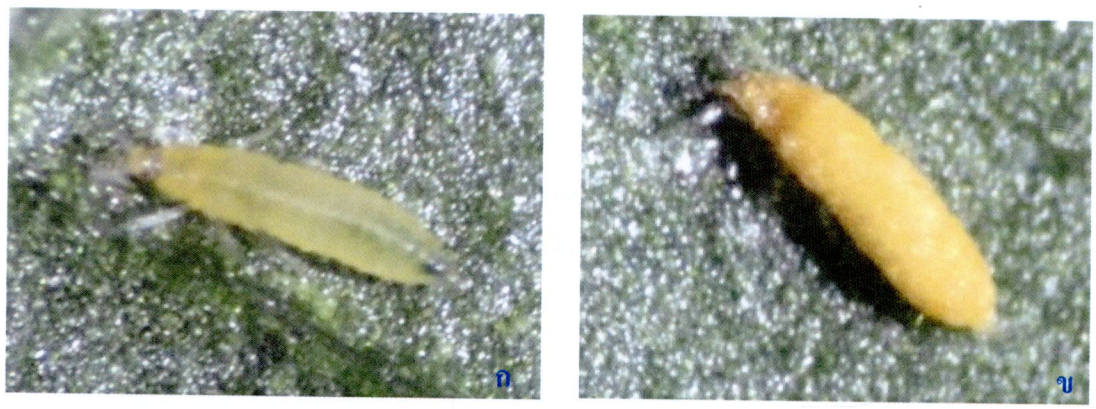


ภาพที่ 7.4 ก. ลักษณะ conidiophore ของเชื้อราที่มีกลุ่มสปอร์สีเทา
ข. ลักษณะ conidia ของเชื้อราที่มีกลุ่มสปอร์สีเทา

เมื่อตรวจดูลักษณะของเชื้อราแล้ว จึงทำการจำแนกเชื้อราตามวิธีของ Humber (2005) และ Barnett and Hunter (2011) พบว่า เชื้อราที่มีกลุ่มสปอร์สีขาวคือเชื้อรา *Beauveria bassiana* ส่วนเชื้อราที่มีกลุ่มสปอร์สีเทาคือ เชื้อรา *Paecilomyces farinosus* และจากการจำแนกชนิดของเชื้อราที่เก็บมา สามารถจำแนกเชื้อรา *B. bassiana* ได้จำนวน 4 ไอโซเลท และเชื้อรา *P. farinosus* ได้จำนวน 6 ไอโซเลท นำเชื้อรามาทดสอบประสิทธิภาพในการเข้าก่อโรคกับตัวอ่อนเพลี้ยไฟในห้องปฏิบัติการต่อไป

3. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

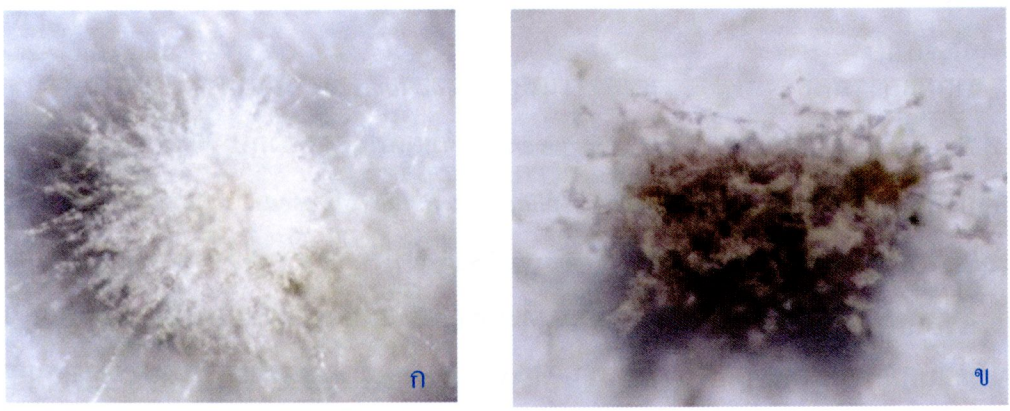
จากการทดสอบการเข้าก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจำนวน 10 ไอโซเลท โดยการพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อราความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร กับตัวอ่อนเพลี้ยไฟพริก พบว่า หลังการพ่นเชื้อรา 3 วัน ตัวอ่อนหยุดการเคลื่อนไหว ลักษณะของลำตัวเริ่มแข็งเปลี่ยนจากสีส้มใสเป็นสีส้มขุ่น (ภาพที่ 7.5 ข) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่พ่นตัวอ่อนเพลี้ยไฟด้วยน้ำกลั่นผสม tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 4 หลังการพ่นเชื้อรามีเกล็ดสีขาวบนลำตัวของตัวอ่อนเพลี้ยไฟ (ภาพที่ 7.6) และสังเกตเห็นเส้นใยแทงออกจากลำตัวหลังการพ่นเชื้อราในวันที่ 5 (ภาพที่ 7.7) หลังจากนั้นเส้นใยเชื้อราสร้างโคนิเดียบนลำตัวเพลี้ยไฟหลังการพ่นแล้ว 7 วัน โดยเชื้อรา *B. bassiana* มีลักษณะของโคนิเดียเป็นเม็ดกลม ๆ สีขาว (ภาพที่ 7.8 ก) ส่วนเชื้อรา *P. farinosus* มีลักษณะของโคนิเดีย รวมกันเป็นกระจุกอยู่ส่วนปลายเส้นใย สีชมพูเทา (ภาพที่ 7.8 ข)



ภาพที่ 7.5 ลักษณะตัวอ่อนเพลี้ยไฟหลังการพ่นเชื้อรา 3 วัน
ก. กรรมวิธีที่พ่นด้วนน้ำกลั่นผสม tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์
ข. กรรมวิธีที่พ่นด้วยสปอร์แขวนลอยเชื้อราความเข้มข้น $1x10^8$

ภาพที่ 7.6 ลักษณะเกล็ดสีขาวบนตัวอ่อนเพลี้ยไฟหลังพ่นเชื้อรา 4 วัน

ภาพที่ 7.7 ลักษณะเส้นใยบนตัวอ่อนเพลี้ยไฟหลังพ่นเชื้อรา 5 วัน



ภาพที่ 7.8 เส้นใยเชื้อราสร้างโคนิเดียบนลำตัวเพลี้ยไฟหลังการพ่นแล้ว 7 วัน

ก. เชื้อราสกุล *Beauveria*

ข. เชื้อราสกุล *Paecilomyces*

จากการทดสอบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงทั้ง 2 สกุล จำนวน 10 ไอโซเลท พบว่า เชื้อรา *P. farinosus* สามารถเข้าเข้าก่อโรคได้ 6 ไอโซเลท มีอัตราการตายของเพลี้ยไฟอยู่ระหว่าง 40-90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อรา *B. bassiana* สามารถเข้าก่อโรคกับเพลี้ยไฟได้จำนวน 2 ไอโซเลท โดยมีอัตราการตายระหว่าง 45.56–70.00 เปอร์เซ็นต์ โดย เชื้อรา *P. farinosus* ไอโซเลท CMUPE1 ทำให้ตัวอ่อนเพลี้ยไฟตายมากที่สุด เท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7.1)

ตารางที่ 7.1 เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟโดยเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เชื้อรา	ไอโซเลท	% การตายของเพลี้ยไฟ
Paecilomyces farinosus	CMUPE1	90.00
	CMUPE2	70.00
	CMUPE3	88.33
	CMUPE4	40.00
	CMUPE5	83.33
	CMUPE6	78.33
Beauveria bassiana	CMUBE1	0.00
	CMUBE2	70.00
	CMUBE3	0.00
	CMUBE4	45.56

จากผลการทดลองเห็นได้ว่าเชื้อราในสกุล *Peacilomyces* มีความสามารถในการเข้าก่อโรคกับเพลี้ยไฟ *S. dorsalis* ได้ดีกว่าเชื้อราสกุล *Beauveria* ซึ่งมีผลสอดคล้องกับ Vivek *et al.* (2010) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana*, *M. anisopliae* และ *P. fumosoroseus* ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟพริก *S. dorsalis* พบว่า *M. anisopliae* และ *P. fumosoroseus* มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟพริก และมีผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกับ ทิพย์วดี และคณะ (2546) ที่ได้ศึกษาเชื้อราของแมลงและศักยภาพในการใช้ควบคุมกำจัดเพลี้ยไฟ พบว่า เชื้อรา *P. fumosoroseus* มีประสิทธิภาพในการควบคุมกำจัดเพลี้ยไฟ *Ceratothripoides claratris* (Shumsher) ซึ่งเป็นแมลงศัตรูสำคัญของมะเขือเทศที่ปลูกในโรงเรือน ได้ดีกว่าเชื้อรา *B. bassiana* แต่จากรายการการศึกษาเชื้อรากำจัดแมลงกับเพลี้ยไฟในต่างประเทศพบว่าเชื้อรา *B. bassiana* สามารถเข้าก่อโรคกับ เพลี้ยไฟ *F. occidentalis*, *Taeniothrips inconsequens* และ *Thrips palmi* ได้ดีกว่า เชื้อรา *P. fumosoroseus* (Brownbridge, 1995, Vestergarrd *et al.*, 1995 และ Castineiras *et al.*, 1996) ทำให้สังเกตได้ว่า เชื้อรากำจัดแมลงชนิดเดียวกันมีความสามารถในการเข้าก่อโรคกับเพลี้ยไฟแต่ละชนิดได้

ไม่เท่ากัน โดยทั่วไปการที่เชื้อราสามารถทำให้เกิดโรครุนแรงมากน้อยกับแมลงขึ้นอยู่ปัจจัยต่าง ๆ หลายอย่าง เช่น ความรุนแรงของเชื้อ สภาพแวดล้อม ปริมาณเชื้อที่แมลงได้รับ ชนิดของพืชอาหาร อายุของแมลง และพฤติกรรมของแมลง (ทิพย์วดี, 2535)

4. การทดสอบความรุนแรงของเชื้อที่เข้าก่อโรคกับเพลี้ยไฟ

จากการทดสอบการเข้าก่อโรคของเชื้อสาเหตุโรคแมลงกับเพลี้ยไฟ มีเชื้อราจำนวน 6 ไอโซเลทที่ทำให้ตัวอ่อนเพลี้ยไฟตาย 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป คือเชื้อรา *P. farinosus* จำนวน 5 ไอโซเลท และเชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 1 ไอโซเลท นำเชื้อราทั้ง 6 ไอโซเลทมาทดสอบความรุนแรงในการเข้าก่อโรค 5 ระดับความเข้มข้น คือ $1x10^3$, $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$และ $1x10^8$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร พบว่า เชื้อราสกุล *Peacilomyces* มีความรุนแรงในการเข้าก่อโรคกับเพลี้ยไฟได้ดีกว่าเชื้อราสกุล *Beauveria* (ตารางที่ 7.2)

ตารางที่ 7.2 ค่าความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เชื้อรา	ไอโซเลท	LC_{50} (โคนิเดีย/มิลลิลิตร)
Paecilomyces farinosus	CMUPE1	$2.29x10^6$
	CMUPE 2	$6.12x10^6$
	CMUPE 3	$1.47x10^6$
	CMUPE 5	$1.74x10^6$
	CMUPE 6	$3.72x10^6$
Beauveria bassiana	CMUBE2	$2.03x10^7$

สรุปผลการวิจัย

จังหวัดเชียงใหม่มีการปลูกพริกในโรงเรือนมากที่สุด 3 อำเภอ คือ อำเภอแม่ริม ปลูกพริกหวาน อำเภอสะเมิง ปลูกพริกพิโรธและพริกหวาน อำเภอฮอด ปลูกพริกหวานและพริกขี้หนู จากการสำรวจพบว่ามีการระบาดของเพลี้ยไฟเป็นจำนวนมากทั้งบนใบและผลพริก มีจำนวนเฉลี่ยมากกว่า 20 ตัวต่อใบ และ 5 ตัวต่อผล ได้ทำการเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟมาทำสไลด์และจำแนกชนิด พบว่าเป็นเพลี้ยไฟพริก *S. dorsalis* พร้อมกันนี้ได้เก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟที่เป็นโรคตายด้วยเชื้อราบนต้นพริกและตัวอย่างดินทั้งในและนอกโรงเรือนเพื่อนำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อราสาเหตุโรคแมลง 2 ชนิด คือ *B. bassiana* และ *P. farinosus* และสามารถแยกเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคของแมลงได้ทั้งหมดจำนวน 10 ไอโซเลท คือ *B. bassiana* จำนวน 4 ไอโซเลท และ *P. farinosus* จำนวน 6 ไอโซเลท ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการเข้า

ก่อโรคกับเพลี้ยไฟพริก *S. dorsalis* พบว่า เชื้อรา *P. farinosus* ทำให้เพลี้ยไฟพริกมีการตายระหว่าง 40.00 – 90.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อรา *B. bassiana* ทำให้เพลี้ยไฟพริกมีการตายระหว่าง 45.56 – 70.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเชื้อราทั้งสองชนิดที่สามารถเข้าก่อโรคกับเพลี้ยไฟพริกได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบความรุนแรงในการเข้าก่อโรคกับเพลี้ยไฟพริก พบว่า เชื้อรา *P. farinosus* มีค่า LC_{50} ระหว่าง 1.47×10^{6} - 6.12×10^{6} โคนิเดียต่อมิลลิลิตร และเชื้อรา *B. bassiana* มีค่า LC_{50} เท่ากับ 2.03×10^{7} โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2547. เชื้อโรค (Pathogen). (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www. doa.go.th/fielcrops/ipm/th/books/cabi_natural_enemies_1/book_3.html (28 มีนาคม 2554).

ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2533. โรควิทยาของแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 205 หน้า.

ทิพย์วดี อรรถธรรม, กรรณิการ์ สีนวลมาก และ จีรภา ปัญญาศิริ.2546. เชื้อราของแมลงและศักยภาพในการใช้ควบคุมกำจัดเพลี้ยไฟ. หน้า 704-717. ใน:รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 6 เรื่องหนึ่งทศวรรษแห่งการอารักขาพืชในประเทศไทย. 24-27 พฤศจิกายน 2546. จังหวัดขอนแก่น.

ธำรงค์ เครือชุมพล. 2551. พริก. ทับทิมทองการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 120 หน้า.

นุชนารถ จงเลขา. 2540. เทคนิคขั้นพื้นฐานทางโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ Terebrantia. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว, กรุงเทพฯ. 76 หน้า.

สถาบันวิจัยพืชสวน. 2552. เพลี้ยไฟ. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://210.246.186.28/hort/database/orchid/default.html (15 กันยายน 2553).

สำนักงานเกษตรจังหวัดเชียงใหม่. 2552. สถิติการปลูกพืชจังหวัดเชียงใหม่. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.chiangmai.doae.go.th/ (15 กันยายน 2553).

สำนักงานเกษตรจังหวัดเชียงใหม่. 2553. สถิติการปลูกพืชจังหวัดเชียงใหม่. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.chiangmai.doae.go.th/ (1 กุมภาพันธ์ 2554).

Bansiddhi, K. and S. Poonchaisri. 1991. Thrips of vegetables and other commercially important crops in Thailand. pp. 34-39. *In*: N. S. Talekar (eds.). Thrips in Southeast Asia. Proceedings of Regional Consultation Workshop, Bangkok, Thailand, 13 March 1991.

Barnett, H. L. and B. B. Hunter. 2011. Collection of insect pathogens. (online). Available: http://www.lubilosa.org/Engl02a.PDF (May 5, 2011)

Brownbridge, M. 1995. Prospects for mycopathogens inthrips management, pp. 281-295. *In*: B. L. Parker, M. Skinner and T. Lewis, (eds.), *Thrips biology and management.* University of Vermont, Burlington, New York.

Castineiras, A., J. E. Pena, R. Duncan and L. Osborne. 1996. Potential of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as Biological Control agents of *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae). Florida Entomologist. 79(3): 458-461.

Humber, R. A. 2005. Entomopathogenic Fungal Identification. USDA-ARS Plant Protection Research Unit, US Plant, Soil and Nutrition Laboratory, Ithaca, New York. 32 pp.

Lacey, L. A., J. J. Fransen and R. I. Carruthers. 1996. Global distribution of naturally occurring fungi of *Bemisia*: their biologies and use as biological control agents. pp. 401-433. *In* : D. Gerling and R. T. Mayer (eds.). *Bemisia* 1995: Taxonomy, Biology, Damage Control and Management. Intercept, Andover.

Mound, L. A. and P. Gillespie. 1997. Identification guide to Thrips associated with crops in Australia. NSW Agriculture & CSIRO Entomology, Canberra. 56 pp.

Vestergaard, S., A. T. Gillespie, T. M. Butt, G. Schreiter and J. Eilenberg. 1995. Phathogenicity of the hyphomycete fungi *verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. Biological Sci. and Tech. 5: 185-192.

Vivek, K., S.R.Dakshina, S. David, O. S. Lance, M. L. Cindy and K. Garima. 2010. In vitro effects of selected fungicides on three species of entomopathogenic fungi- potential biocontrol agent of chilli thrips *Scirtothrips dorsalis* Hood (Thysanoptera: Thripidae). IN : ESA 58th annual meetings emtomology 2010. December 12-15, 2010. Grand Exhibit Hall (Town and Country Hotel and Convention Center), Can Diego, California.