

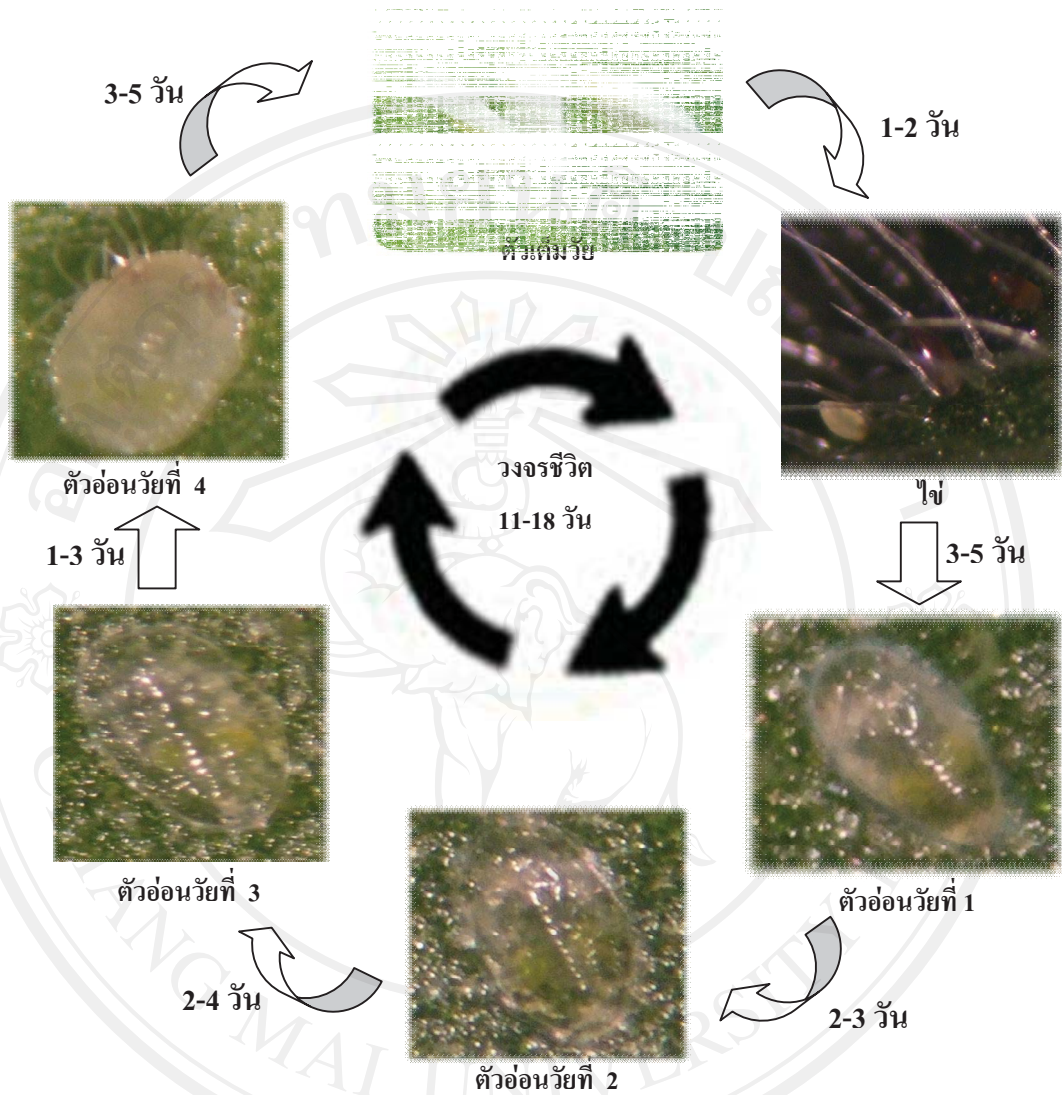
## บทที่ 4

### ผลและวิจารณ์การทดลอง

#### 1. การเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ขาวเพื่อการทดลอง

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

เมื่อปล่อยแมลงหวี่ขาวโรงเรือน *T. vaporariorum* ไว้ในกรงมุ้งตาข่ายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ( $28^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ) ตรวจนับจำนวนไข่บนใบมะเขือเทศ พบว่า แมลงหวี่ขาววางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ ประมาณ 250 – 300 ฟอง กระจายตามใบพืชบนใบที่สองและที่สามนับจากยอดลงมา โดยไข่มีลักษณะเป็นรูปหยดน้ำเรียวยาวสีขาวเหลือง เมื่อใกล้ฟักส่วนปลายของไข่เปลี่ยนเป็นสีม่วงเกือบดำ ระยะไข่ 3 – 5 วัน ตัวอ่อนมี 4 วัย ตัวอ่อนวัย 1 มีขนาดเล็กมาก มีขาเคลื่อนไหวได้ ลำตัวขาวริบด้านหลังมีสีเขียวอ่อน 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 แต่ลำตัวโปร่งเป็นรูปทรงลูกบาศก์ มีขนขึ้นบนลำตัว เห็นตารวมสีแดงได้อย่างชัดเจน ตัวอ่อนวัยที่ 4 ใช้เวลาประมาณ 3 - 5 วัน จึงออกเป็นตัวเต็มวัย ระยะตั้งแต่วางไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัยรวมเวลาทั้งหมดประมาณ 11 – 18 วัน (ภาพ 19) ซึ่งลักษณะที่ได้กล่าวข้างต้นนี้มีลักษณะของไข่จนถึงตัวเต็มวัยเช่นเดียวกับที่ อัมพร (2552) ได้รายงานไว้



ภาพ 19 วงจรชีวิตของแมลงหิวข้าวโรงเรือน *Trialeurodes vaporariorum* ที่อุณหภูมิ  $28 \pm 3$  องศาเซลเซียส

การศึกษาลักษณะและวงจรชีวิตของแมลงหิวข้าวโรงเรือน *T. vaporariorum* ที่อุณหภูมิห้อง ( $28 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) พบว่า แมลงหิวข้าวโรงเรือนมีพฤติกรรมที่วางไข่เป็นวงกลมและกระจายทั่วไปพืช หลังจากที่อยู่ออกจากไข่ตัวอ่อนแมลงหิวข้าววัย 1 มักเดินเพื่อหาตำแหน่งในการดูดกินน้ำเลี้ยงพืชและลอกคราบเป็นวัยต่อไป การลอกคราบของแมลงหิวข้าวโรงเรือนมีลักษณะคล้ายกับแมลงทั่วไป ในการดันตัวออกมาทางด้านหน้า และสลัดคราบไปทางด้านหลัง หลังจากลอกคราบตัวอ่อนมีลักษณะใสจากนั้นลำตัวเริ่มบวมและขุ่นขึ้น ลักษณะตัวอ่อนวัยที่ 1-3 มีลักษณะคล้ายกับแมลงหิวข้าว

ฝ้ายและแมลงหิวข้าวเกลียว แต่มีความแตกต่างกันในตัวอ่อนระยะที่ 4 หรือระยะดักแด้ ซึ่งตัวอ่อนระยะที่ 4 ของแมลงหิวข้าวฝ้ายมีลักษณะเป็นรูปหยดน้ำสีเหลืองแบนราบติดใบพืช ด้านสันหลังนูนเล็กน้อย ตาแดง (ภาพ 20 ก) ส่วนตัวอ่อนระยะที่ 4 ของแมลงหิวข้าวเกลียวมีขนปกคลุมสวยงาม คล้ายเพรียงแปงหากมองด้วยตาเปล่า (ภาพ 20 ข) แตกต่างจากแมลงหิวข้าวโรงเรือนที่มีการพองตัวนูนทรงลูกบาศก์ มีเส้นขนยาวด้านบนสันหลังและเส้นเล็กกระจายรอบตัว (Murphy, 2003) (ภาพ 20 ค) ซึ่งในระยะของตัวอ่อนวัยที่ 4 หากต้องการความชัดเจนควรมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ



ภาพ 20 ลักษณะตัวอ่อนแมลงหิวข้าวระยะที่ 4

ก. แมลงหิวข้าวฝ้าย (*Bemisia tabaci*)

ข. แมลงหิวข้าวเกลียว (*Aleurodicus disperses*)

ค. แมลงหิวข้าวโรงเรือน (*Trialeurodes vaporariorum*)

ตัวเต็มวัยของแมลงหิวข้าวโรงเรือนมีลักษณะที่แตกต่างจากแมลงหิวข้าวฝ้ายและแมลงหิวข้าวเกลียวได้อย่างชัดเจนแม้สังเกตจากตาเปล่า ตัวเต็มวัยแมลงหิวข้าวฝ้ายมีขนาดเล็กกว่าแมลงหิวข้าวเกลียว

และแมลงหิวขาวโรงเรือน ในขณะที่แมลงเกาะพักนิ่งบนใบพืชแมลงหิวขาวฝ้ายมักหุบปีกลง ด้านข้างลำตัวคล้ายหลังคามองเห็นลำตัวชัดเจน(ภาพ 21 ก) ส่วนแมลงหิวขาวเกลียวและแมลงหิวขาวโรงเรือน นั้นมักหุบปีกไว้บนด้านสันหลังและมีขนาดลำตัวใหญ่กว่าแมลงหิวขาวฝ้าย แมลงหิวขาวโรงเรือน มีปีกสีขาวผ่องเบี่ยงคลุมเล็กน้อย (ภาพ 21 ข) เมื่อเทียบกับแมลงหิวขาวเกลียวปีกมีสีเทาหากมอง ด้วยตาเปล่า มีขนปกคลุมรวมทั้งผ่องเบี่ยง ส่วนท้ายลำตัวของแมลงหิวขาวเกลียวมีลักษณะคล้ายหางยื่น ออกมา (ภาพ 21 ค) ซึ่งลักษณะที่แตกต่างกันของตัวอ่อนระยะที่ 4 และตัวเต็มวัยของแมลงหิวขาว สามารถนำไปใช้ในการจำแนกชนิดของแมลงหิวขาวได้



ภาพ 21 ลักษณะตัวเต็มวัยแมลงหิวขาว

- ก. แมลงหิวขาวฝ้าย *Bemisia tabaci*
- ข. แมลงหิวขาวโรงเรือน *Aleurodicus disperses*
- ค. แมลงหิวขาวเกลียว *Trialeurodes vaporariorum*



สำหรับการเจริญเติบโตแมลงหีขาวโรงเรือนที่อุณหภูมิ (28 °C ± 3 °C) ใช้เวลาดังแต่ระยะไข่จนถึงตัวเต็มวัยเท่ากับ 11 – 18 วัน ซึ่งมีการเจริญอย่างรวดเร็วหากเปรียบเทียบกับอัมพร (2552) ใช้เวลา 25 - 30 วัน ที่อุณหภูมิ 21 °C แสดงว่าอุณหภูมิสูงขึ้นอาจทำให้แมลงหีขาวโรงเรือนระบาดได้ เนื่องจากช่วงการเจริญซoonกันแต่ละรุ่น และใน 1 ปีอาจมีแมลงหีขาวโรงเรือนหลายรุ่นได้เช่นกัน

## 2. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

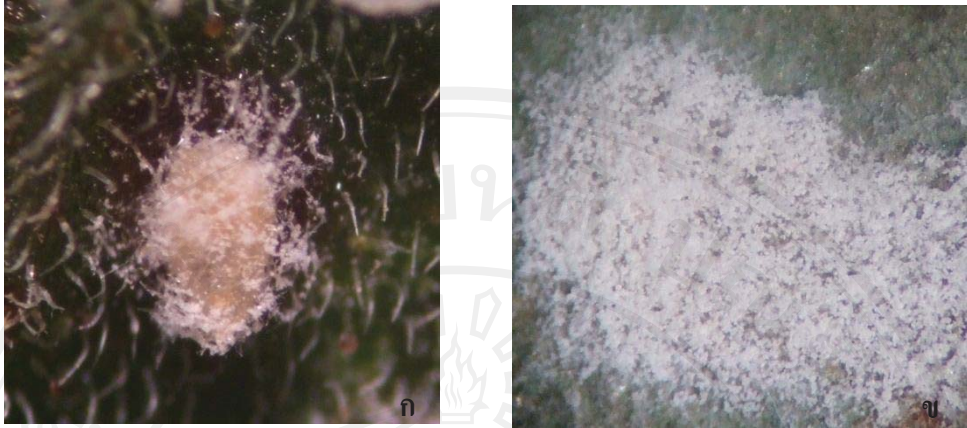
หลังจากนำเชื้อรา 5 สกุล 17 ชนิด 29 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับตัวอ่อนแมลงหีขาวโรงเรือนที่ความเข้มข้น 10<sup>8</sup> สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยบันทึกข้อมูลทุกวัน พบว่าหลังการพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อราแล้ว 3 วัน มีเชื้อราทดสอบบางไอโซเลทสามารถเข้าก่อโรคกับตัวอ่อนแมลงหีขาวโรงเรือน โดยสังเกตจากลักษณะสีลำตัวของตัวอ่อนแมลงหีขาวโรงเรือนที่พ่นด้วยน้ำกลั่นผสม tween (ภาพ 22 ก) กับตัวอ่อนแมลงหีขาวโรงเรือนหลังจากพ่นด้วยเชื้อรา *P. tenuipes* ที่ 3 วัน เห็นได้ว่าลำตัวจากสีใสเปลี่ยนเป็นสีส้มบวมขึ้นมาจากใบพืช (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 ลักษณะของตัวอ่อนแมลงหีขาวโรงเรือนหลังการพ่นที่ 3 วัน

ก. พ่นด้วยน้ำผสม tween

ข. พ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *Paecilomyces tenuipes*

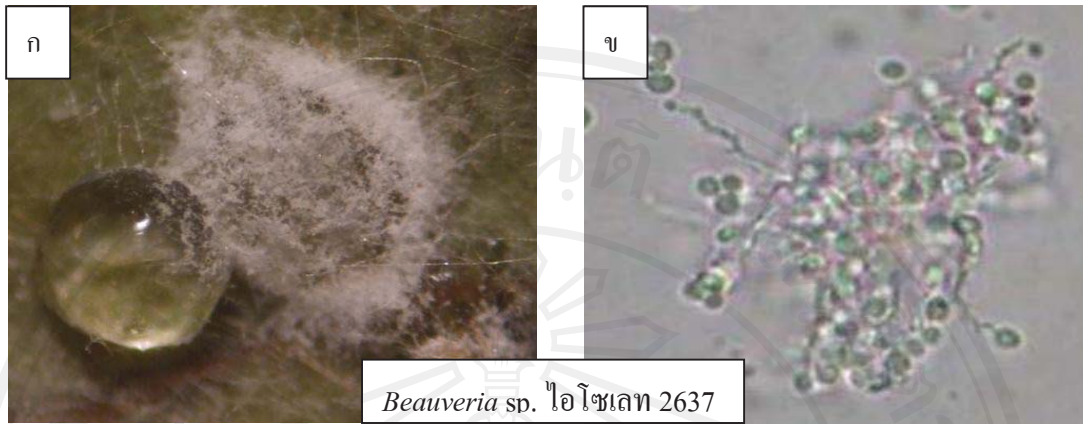


ภาพ 23 ลักษณะของตัวอ่อนแมลงหีวขาวโรงเรือนหลังจากพ่นเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ที่ 5 และ 7 วัน

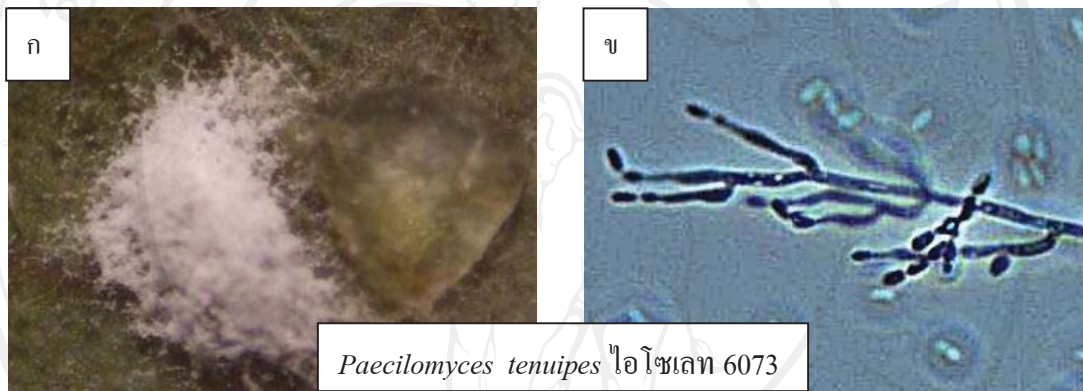
- ก. หลังจากพ่นเชื้อราที่ 5 วัน  
ข. หลังจากพ่นเชื้อราที่ 7 วัน

จากการสังเกตหลังการพ่นสปอร์แขวนลอยแล้ว 5-7 วัน พบว่าเมื่อมีเส้นใยเจริญทะลุผ่านบนตัวอ่อนแมลงหีวขาวมักเกิดหยดน้ำบริเวณด้านข้างและด้านบนของตัวแมลง อาจเป็นไปได้ว่าเส้นใยเชื้อราเกิดการอัดตัวกันแน่น เป็นผลให้ของเหลวภายในลำตัวของตัวอ่อนแมลงหีวขาวโรงเรือนถูกดันออกสู่ด้านนอกลำตัว และเมื่อเชื้อราเจริญเติบโตเต็มที่ทำให้ซากของตัวอ่อนแมลงหีวขาวโรงเรือนแห้งและเนบติดกับใบพืช เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำกลั่นผสม tween ลำตัวของตัวอ่อนของแมลงหีวขาวโรงเรือนยังใสและสามารถเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโต (ลอกคราบ) เป็นระยะถัดไปได้

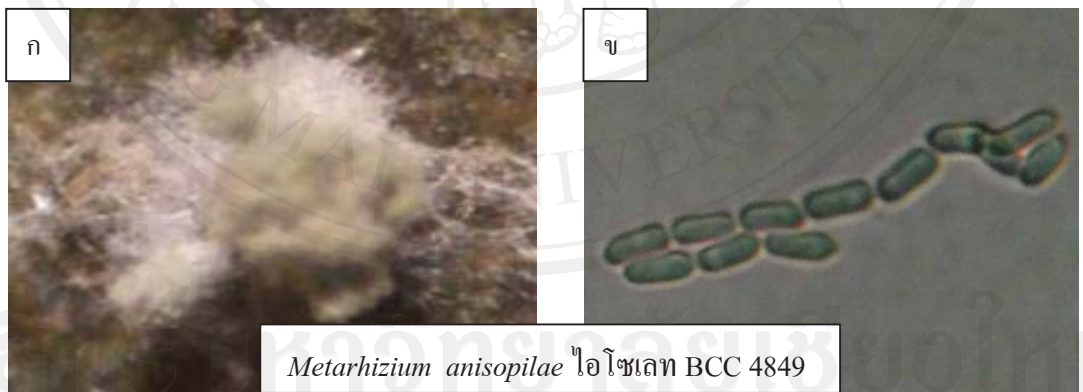
โดยเส้นใยของเชื้อราสกุล *Beauveria* เมื่อแทงออกจากตัวแมลงหีวขาวสร้างก้านชูสปอร์มีลักษณะเส้นเล็กบาง (conidiophore) จากนั้นผลิตสปอร์มีรูปร่างกลม ในการงอกมีลักษณะซีกแซก (ทิพย์วดี, 2535) (ภาพ 23 ก และ ข) ส่วนเส้นใยของเชื้อราสกุล *Paecilomyces* สร้าง phialides ออกจากก้านชูสปอร์หรือ conidiophore เพื่อเป็นฐานรองรับสปอร์ แล้วสร้างสปอร์บนยอดต่อออกไปมีลักษณะคล้ายนิ้วมือ ซึ่งสปอร์ที่อยู่ใกล้ phialides เป็นสปอร์ที่สร้างขึ้นใหม่ (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



*Beauveria* sp. ไอโซเลต 2637



*Paecilomyces tenuipes* ไอโซเลต 6073



*Metarhizium anisopilae* ไอโซเลต BCC 4849

ภาพ 24 ลักษณะแมลงหิวข้าวโรงเรือนที่ถูกปกคลุมด้วยเส้นใยเชื้อราหลังจากพ้น

สปอร์แขวนลอยเชื้อรา 7 วัน

ก. แมลงหิวข้าวโรงเรือนที่ถูกปกคลุมด้วยเส้นใยเชื้อรา

ข. ลักษณะ โคนิเดีย

ลิขสิทธิ์ © by Chiang Mai University  
All rights reserved



จากการทดสอบการเกิดโรคของเชื้อรา 5 สกุล 17 ชนิด 29 ไอโซเลทกับแมลงหิวข้าวโรงเรือน 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 มีความสามารถในการทำให้แมลงหิวข้าวโรงเรือน *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 ให้เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงหิวข้าวโรงเรือนเท่ากับ 92.44 และ 72.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลการทดลอง ดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Gökçe and Er (2005) ที่ได้ศึกษาการเกิดโรคของเชื้อรา *P. fumosoroseus* และ *P. lilacinus* กับแมลงหิวข้าวโรงเรือน *T. vaporariorum* โดยทำให้ตัวอ่อนของแมลงหิวข้าวโรงเรือนตายหลังจากฟันเชื้อราแล้ว 6 วัน ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ หากเปรียบเทียบกับเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 ที่อยู่ในสกุลเดียวกัน เชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 มีความสามารถในการเข้าก่อโรคกับแมลงหิวข้าวโรงเรือนได้มากกว่าสำหรับเชื้อราทดสอบไอโซเลทอื่น ๆ หลังจากฟันสปอร์แขวนลอยแล้ว ตัวอ่อนของแมลงหิวข้าวสามารถพัฒนาระยะการเจริญเติบโตเข้าสู่วัยถัดไปได้ ถึงแม้ว่าเชื้อราบางไอโซเลทอาจทำให้ตัวอ่อนของแมลงหิวข้าวเปลี่ยนจากลำตัวสีใสเป็นสีขุ่น แต่เมื่อย้ายวางในจานเลี้ยงเชื้อที่รองด้วยกระดาษกรองนิ่งฆ่าเชื้อและให้ความชื้นแล้วนั้น ไม่พบการงอกเส้นใยของสปอร์เชื้อราออกจากตัวอ่อนแมลงหิวข้าวเช่นเดียวกับกรรมวิธีที่ฟันด้วยน้ำกลั่นผสม tween ทั้งๆที่มีลักษณะการตายและจำนวนการตายแตกต่างจากที่ฟันด้วยน้ำกลั่นผสม tween ทั้งนี้อาจเกิดจากสารพิษที่เชื้อราแต่ละชนิดผลิตขึ้นเมื่อเข้าสู่ตัวแมลง แต่ในการศึกษาครั้งนี้ทำการประเมินความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง โดยดูจากเส้นใยเชื้อราที่ขึ้นปกคลุมตัวแมลง และในการทดลองครั้งนี้แม้ว่าเชื้อราบางสกุลโดยทั่วไปอาจสามารถก่อโรคกับแมลงหิวข้าวโรงเรือน แต่ทั้งนี้ต้องพิจารณาชนิดที่นำมาทดสอบ เช่น เชื้อราสกุล *Aschersonia* เป็นเชื้อราสกุลที่มีความสามารถเข้าก่อโรคกับแมลงที่มีไข่อ่อนนุ่มร่างกาย แต่ในการทดลองนี้เชื้อราในสกุล *Aschersonia* ไม่สามารถเข้าก่อโรคกับแมลงหิวข้าวโรงเรือนได้ อาจเนื่องจากความรุนแรงของชนิดที่นำมาทดสอบหรือเชื้อราดังกล่าวอาจเข้าก่อโรคกับแมลงชนิดอื่น (Meekes et al., 2002)



ตาราง 4 เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงหีขาวโดยเชื้อราที่สามารถเข้าก่อโรคได้

ชนิด	ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง
<i>Paecilomyces tenuipes</i>	Pt 6073	92.44a <sup>1</sup>
<i>Metarhizium anisopilae</i>	BCC 4849	72.67b
<i>Metarhizium flavoviride</i>	M.fl 1964	32.67c
<i>Beauveria</i> sp	2637	33.67c
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	BCC 19368	6.67d
<i>Paecilomyces cinnamomeus</i>	BCC 19341	3.85d

<sup>1</sup> ตัวอักษรในแนวตั้งที่ตามหลังค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อทดสอบทางสถิติด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD)

### 3. การทดสอบความรุนแรงของเชื้อรา

จากการนำเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 และเชื้อรา *M. anisopilae* BCC 4849 ที่สามารถทำให้เกิดโรคกับตัวอ่อนแมลงหีขาว ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ โดยนำสปอร์แขวนลอยฉีดพ่นลงบนตัวอ่อนแมลงหีขาววัยที่ 2 เพื่อทดสอบความรุนแรงของเชื้อราที่ระดับความเข้มข้น  $1 \times 10^2$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  และ  $1 \times 10^8$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยการคำนวณหาค่า median lethal concentration ( $LC_{50}$ ) พบว่าเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 มีค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ  $2.219 \times 10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร และเชื้อรา *M. anisopilae* BCC 4849 มีค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ  $1.005 \times 10^7$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตาราง 5)

จากค่า  $LC_{50}$  ดังกล่าวแสดงถึงความรุนแรงที่เชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 และเชื้อรา *M. anisopilae* ไอโซเลท 4849 เข้าทำลายแมลงหีขาวโรงเรือน ทั้งนี้เชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 มีค่า  $LC_{50}$  น้อยกว่าแสดงว่ามีความรุนแรงในการเข้าทำลายได้ดีกว่าเชื้อรา *M. anisopilae* ไอโซเลท 4849 เมื่อพิจารณาการใช้เวลาในการเข้าก่อโรคกับแมลงหีขาวโรงเรือนเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 สามารถเข้าก่อโรคได้เร็วกว่าเชื้อรา *M. anisopilae* ไอโซเลท BCC 4849 โดยมีค่า  $LT_{50}$  เท่ากับ 2.48 วัน และ 4.03 วัน ตามลำดับ หากนำไปใช้ในสภาพแปลงสามารถใช้เวลาเข้มข้น  $10^6 - 10^7$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร

ตาราง 5 ค่า LC<sub>50</sub> ของเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 และเชื้อรา *M. anisopila* BCC 4849

กรรมวิธี	ค่า LC <sub>50</sub>	ค่าต่ำสุด (สปอร์ต่อมิลลิเมตร)	ค่าสูงสุด
เชื้อรา <i>P. tenuipes</i> ไอโซเลท 6073	$2.219 \times 10^6$	$1.472 \times 10^6$	$3.239 \times 10^6$
เชื้อรา <i>M. anisopila</i> BCC 48	$1.005 \times 10^7$	$2.803 \times 10^6$	$4.801 \times 10^7$

#### 4. การทดสอบเปรียบเทียบเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมแมลงหิวข้าวกับชีวภัณฑ์กำจัดแมลงหิวข้าวทางการค้า

ก่อนนำสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลงทางการค้าทดลองในแปลงเกษตรกร ได้นำไปตรวจความมีชีวิตของเชื้อราโดยเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ malt extract peptone agar (MEA) เป็นเวลา 3 วัน พบว่าไม่มีการงอกของสปอร์ เมื่อนำไปทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 พบว่า หลังการพ่นสาร 3, 5 และ 7 วัน กรรมวิธีที่พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ทางการค้าไม่พบการเข้าทำลายกับตัวอ่อนแมลงหิวข้าว เนื่องจากไม่มีเส้นใยของเชื้อราขึ้นปกคลุม หากเปรียบเทียบกับเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^8$  สปอร์ต่อมิลลิเมตร พบว่าหลังการพ่นเชื้อราแล้ว 1 สัปดาห์ ให้เปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อนแมลงหิวข้าว 74.36 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจนับแมลงหิวข้าวที่มีเส้นใยของเชื้อราขึ้นปกคลุม โดยเทียบลักษณะของเส้นใยเชื้อราชนิดเดียวกันที่พ่นในห้องปฏิบัติการ เทียบกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ทางการค้าและกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำผสมสารจับใบ พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 มีความสามารถที่จะเข้าก่อโรครกับแมลงหิวข้าวโรงเรือนในสภาพแปลงได้ (ภาพ 25, ตาราง 6)



ภาพ 25 ลักษณะตัวอ่อนแมลงหิวข้าวโรงเรือนหลังจากพ่นสารแขวนลอยเชื้อรา 1 สัปดาห์  
 ก. เชื้อราสร้างเส้นใยและสปอร์ปกคลุมตัวแมลงหิวข้าวโรงเรือน  
 ข. ซากตัวอ่อนแมลงหิวข้าวโรงเรือนที่แห้งตายหลังเชื้อราเข้าทำลาย

ตาราง 6 ประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงหีวขาวของเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ไอโซเลต 6073 และชีวภัณฑ์กำจัดแมลงหีวขาวทางการค้าในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	ก่อนพ่นเชื้อรา		หลังพ่นเชื้อรา	
	จำนวนแมลงหีวขาว (ตัว)	จำนวนแมลงหีวขาวทั้งหมด (ตัว)	จำนวนแมลงหีวขาวที่มีเชื้อราขึ้นปกคลุม (ตัว)	เปอร์เซ็นต์การตาย
ชุดควบคุม	18.71 ± 4.96a <sup>1</sup>	15.77 ± 4.67a	0.00b	0.00b
สารชีวภัณฑ์ที่เป็นการค้า	18.04 ± 4.30a	15.84 ± 4.33a	0.00b	0.00b
<i>P. tenuipes</i>				
ไอโซเลต 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

<sup>1</sup> ตัวอักษรในแนวตั้งที่ตามหลังค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) เมื่อทดสอบทางสถิติด้วยวิธี Least significant difference (LSD)

เชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ไอโซเลต 6073 เป็นไอโซเลตของเชื้อราสกุล *Paecilomyces* ในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการเข้าก่อโรคในแมลงหีวขาว แต่ในต่างประเทศมีรายงานของเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลต FERM BP-7861 เข้าทำลายแมลงหีวขาว ได้แก่ แมลงหีวขาวโรงเรือน แมลงหีวขาวยาสูบ เป็นต้น (Shimizu *et al.*, 2006) และยังสามารถทำลายตัวหนอนของผีเสื้อคือ 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) นอกจากนี้ยังเข้าทำลายแมลงโดยตรงแล้วมีรายงานการศึกษาถึงสารเคมีในเชื้อราชนิดนี้แล้วพบว่าสามารถสร้างสารพิษ beauvericin เช่นเดียวกับเชื้อรา *Beauveria bassiana* (Intamas *et al.*, 2009)



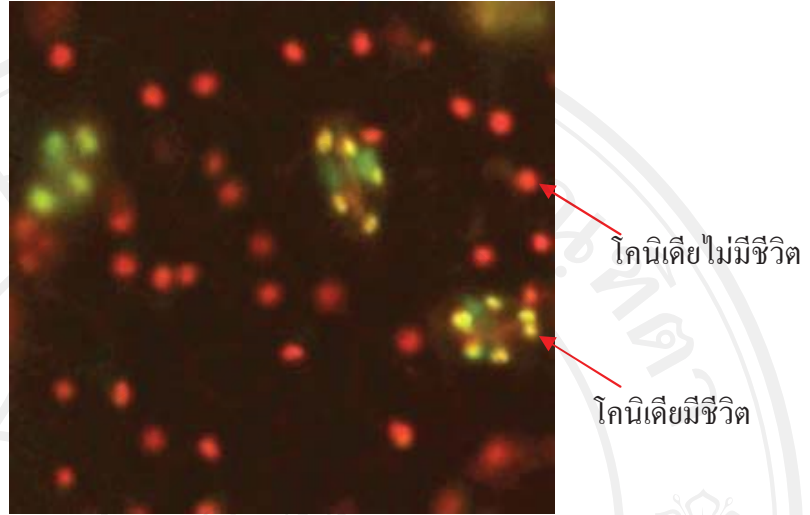
เชื้อราในสกุล *Paecilomyces* ที่มีความสามารถทำให้เกิดโรคกับแมลงหิวข้าวคือ เชื้อรา *P. fumosorosea* ซึ่งมีรายงานการเข้าทำลายแมลงหิวข้าว *B. tabaci*, *B. argentifolii* และ *T. vaporariorum* ในต่างประเทศได้มีการพัฒนาเชื้อรา *P. fumosorosea* ไอโซเลท Apopka 97 เป็นสารชีวภัณฑ์ในการควบคุมแมลงหิวข้าวโรงเรือนในการปลูกมะเขือเทศและแตงกวา เชื้อราชนิดนี้ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พืช สิ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์ และสิ่งแฉดล้อม (Faria and Wraight, 2007) สำหรับเชื้อรา *P. tenuipes* ไม่มีรายงานการเป็นโทษต่อ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่มีรายงานการใช้เชื้อรา *P. tenuipes* เป็นส่วนประกอบของเครื่องค้ำ ขยาบำรุง (tonic) และเป็นส่วนประกอบของอาหารเพื่อสุขภาพในการป้องกันโรคในประเทศ ญี่ปุ่น เกาหลี และจีน (Zhu et al., 1998)

## 5. เปรียบเทียบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมแมลงหิวข้าวโรงเรือน *T. vaporariorum* บนพืชอาศัยต่างชนิดกัน

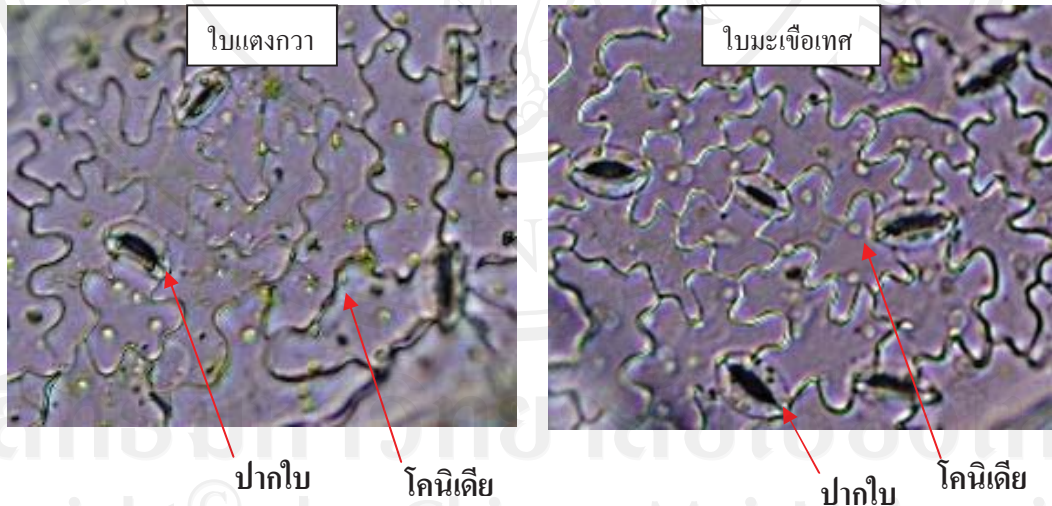
หลังจากฟ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *P. tenuipes* ที่ระดับความเข้มข้น  $1 \times 10^8$  สปอร์ต่อ มิลลิลิตร บนใบแตงกวาและมะเขือเทศ จากนั้นทำการเก็บข้อมูลความมีชีวิตและความคงทนของเชื้อรา *P. tenuipes* เป็นเวลา 1 เดือน ได้ผลการทดลองดังนี้

### 5.1. ศึกษาความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา

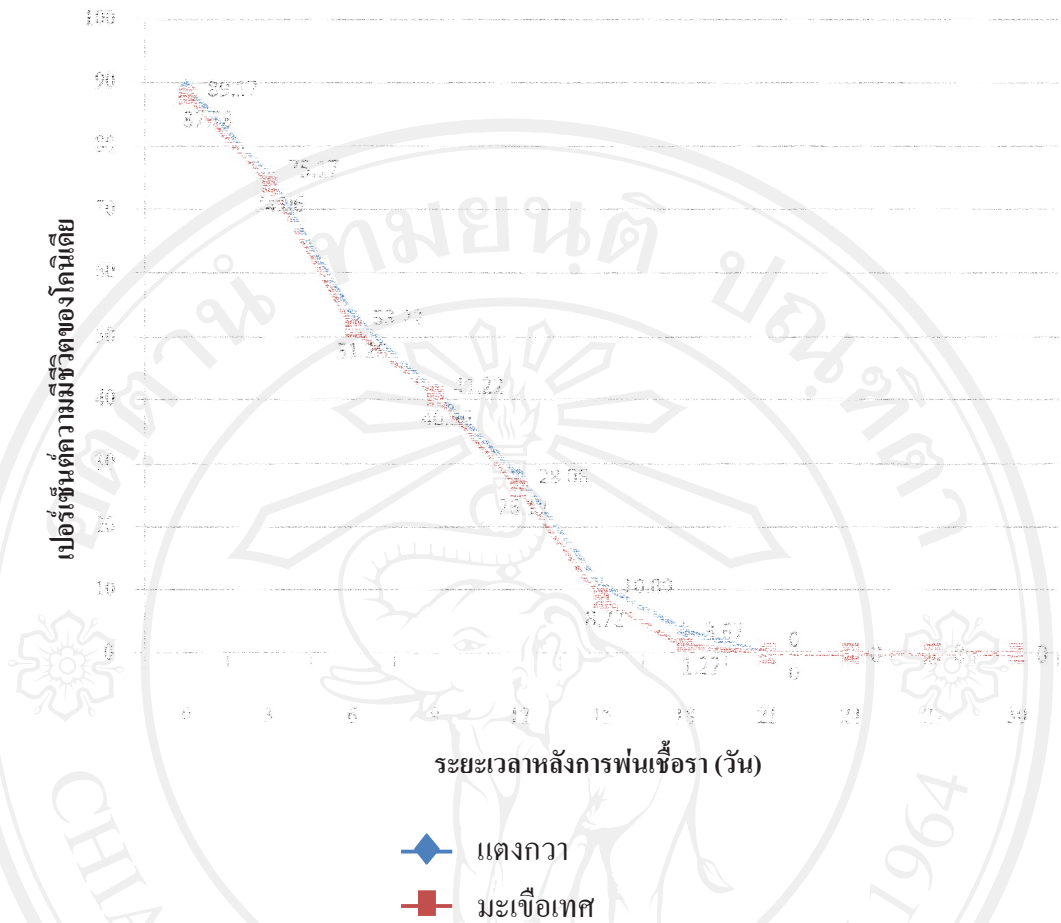
จากการเก็บใบพืชหลังจากฟ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อรา นำมาทดสอบความมีชีวิตของโคนิเดียโดยใช้ fluorescein diacetate (FDA) และทดสอบหาโคนิเดียที่ตายด้วย propidium (PI) ซึ่งโคนิเดียของเชื้อราที่มีชีวิตติดสีเขียวเหลือง ส่วนโคนิเดียที่ตายติดสีแดง (ภาพ 26) พบว่า ความมีชีวิตของโคนิเดียเชื้อรา *P. tenuipes* บนใบแตงกวาและมะเขือเทศหลัง การฟ่นเชื้อไม่แตกต่างกัน เนื่องจากได้ใบพืชทั้งสองชนิดมีลักษณะลักษณะต้นฐานวิหาคคล้ายคลึงกัน (ภาพ 27) กล่าวคือ มีลักษณะของปากใบและขนปกคลุมกระจายอยู่ทั่วใบพืชทำให้เชื้อรา *P. tenuipes* สามารถดำรงชีวิตได้ โดยมีค่าความมีชีวิตสูงที่สุดหลังการฟ่นเชื้อทันทีเท่ากับ 89.17 และ 87.78 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเวลาหลังการฟ่นเชื้อราเพิ่มขึ้นทำให้เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของ เชื้อราลดลง หากสังเกตความมีชีวิตของโคนิเดียหลังการฟ่นที่ 12, 15 และ 18 วัน เห็นได้ว่า ความมีชีวิตของโคนิเดียบนใบมะเขือเทศลดลงเร็วกว่าใบแตงกวา อาจเนื่องด้วยใบแตงกวามี ขนาดใหญ่และลักษณะทางสรีรวิทยาที่เป็นพืชอวบน้ำส่งผลให้โคนิเดียมีชีวิตได้นานกว่า เชื้อ รา *P. tenuipes* สามารถมีชีวิตอยู่ได้บนใบแตงกวาและมะเขือเทศหลังการฟ่นเชื้อเป็นเวลา 18 วัน ค่าความมีชีวิตเท่ากับ 3.67 และ 1.22 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 28) ใบพืชมีผลต่อความมีชีวิตของ โคนิเดียให้ผลเช่นเดียวกันกับการวิจัย ของ มาลี (2550)



ภาพ 26 ลักษณะ โคนิเดียของเชื้อราได้ก่ล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์



ภาพ 27 ลักษณะ โคนิเดียเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ไอโซเลท 6073 บนใบพืช



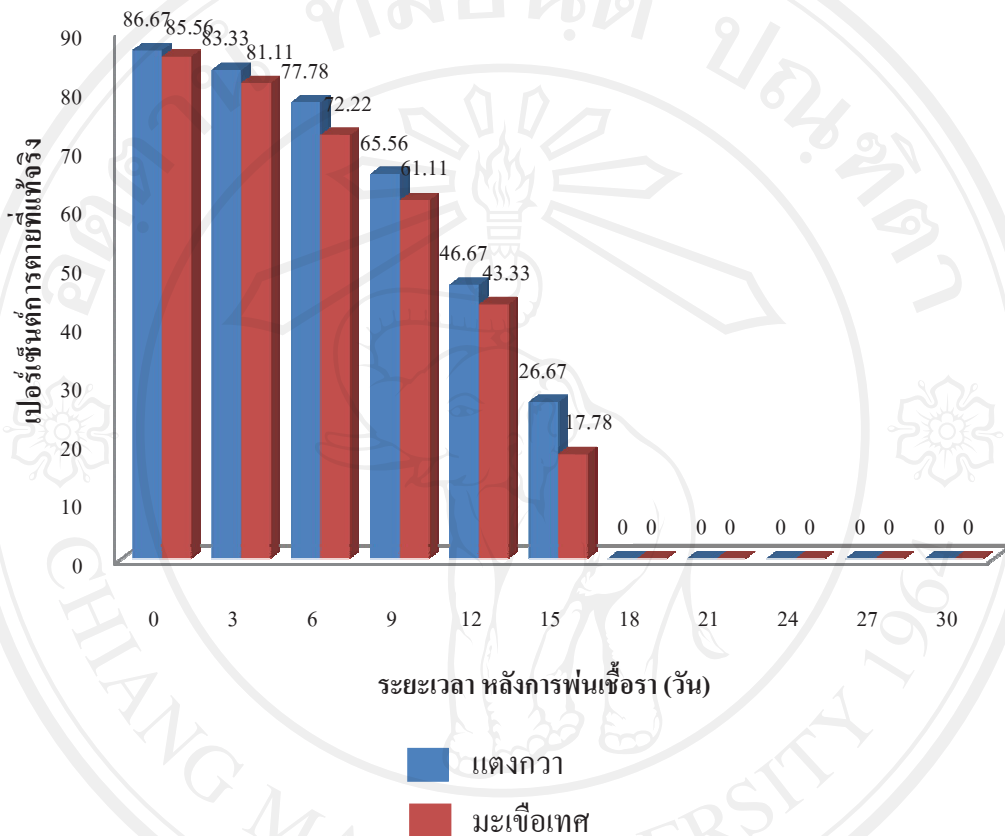
ภาพ 28 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของโคนิเดียเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* หลังปนเชื้อบนใบพีช 1 เดือน

## 5.2. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราที่กึ่งบนใบพีชในระยะเวลาต่าง ๆ กันในการทำให้เกิดโรคกับแมลงหิวขาวโรงเรียน

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *P. tenuipes* ที่อยู่บนใบพีช โดยการนำตัวอ่อนแมลงหิวขาวโรงเรียนวัย 1 มาเลี้ยงบนใบแดงกาวและมะเขือเทศที่เก็บหลังการปนเชื้อราในระยะเวลาต่าง ๆ กันคือ หลังการปนเชื้อราทันที, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 และ 30 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อนแมลงหิวขาวโรงเรียนที่เลี้ยงบนใบแดงกาวและมะเขือเทศหลังการปนเชื้อราไม่แตกต่างกัน โดยเปอร์เซ็นต์การตายหลังการปนเชื้อทันทีมีค่าเท่ากับ 86.67 และ 85.56 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งความสามารถการเกิดโรคของเชื้อรา *P. tenuipes* ที่อยู่บนใบพีชทั้งสองลดลงเรื่อย ๆ โดยในช่วง 6 วัน หลังจากปนเชื้อรา มีเปอร์เซ็นต์การตายลดลงอย่างช้า ๆ แต่หลังการปนเชื้อรา 9 วัน ความสามารถของเชื้อรา *P. tenuipes* ที่เข้าก่อโรคกับตัวอ่อนแมลงหิวขาวโรงเรียนลดลงอย่าง



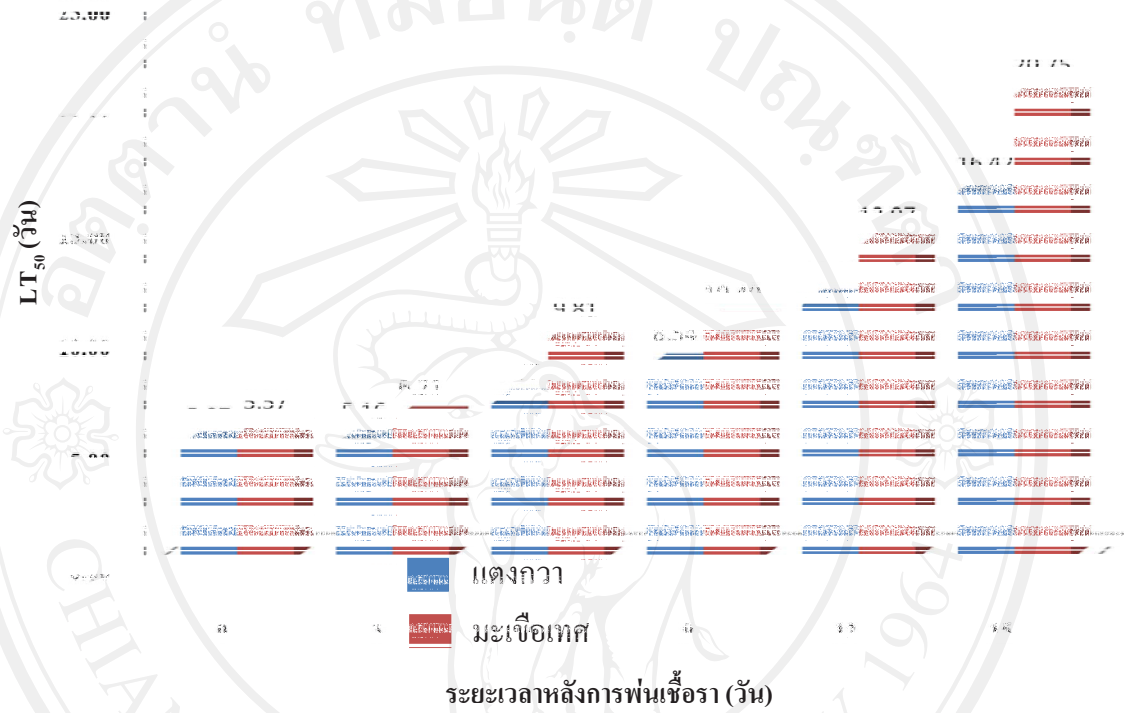
รวดเร็ว สอดคล้องกับการมีชีวิตของสปอร์ จากการทดลองเห็นได้ว่าหลังจากฟันเชื้อรา *P. tenuipes* เป็นเวลา 15 วัน สปอร์ที่มีชีวิตบนใบแดงกวาและมะเขือเทศเพียง 10 และ 8 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้แมลงหีขาวโรงเรือนตายได้เท่ากับ 26.67 และ 17.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพ 29)



ภาพ 29 เปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อนแมลงหีขาวโรงเรือนวัย 1 ที่เลี้ยงบนใบพืช หลังการฟันเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน

เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่ทำให้แมลงหีขาวโรงเรือนตาย 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนำตัวอ่อนแมลงหีขาวโรงเรือนวัยที่ 1 ย้ายเลี้ยงบนใบพืช พบว่า การเข้าก่อโรคของเชื้อรา *P. tenuipes* กับตัวอ่อนแมลงหีขาวโรงเรือนบนใบแดงกวาและใบมะเขือเทศมีความแตกต่างกัน แม้ว่าให้เปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อนแมลงหีขาวโรงเรือนตายไม่ต่างกัน แต่ระยะเวลาที่ใช้เชื้อรา *P. tenuipes* บนแดงกวาใช้นานน้อยกว่าในทุกครั้งเก็บใบพืชหลังการฟันเชื้อ โดยบนใบแดงกวามีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 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) แต่ทั้งนี้หลังจากนำแมลงลงไปบนใบเตงกวาและมะเขือเทศเป็นเวลา 3 วัน พบว่าตัวอ่อนแมลงหิวข้าวโรงเรือนที่อยู่บนใบเตงกวาและมะเขือเทศเปลี่ยนจากสีขาวใสเป็นสีส้มและไม่มีอาการเคลื่อนที่ (ภาพ 31)



ภาพ 30 ค่า LT<sub>50</sub> ตัวอ่อนแมลงหิวข้าวโรงเรือนวัย 1 ที่เลี้ยงบนใบพืชเตงกวาและมะเขือเทศหลังการพ่นเชื้อรา *Paecilomyces tenuipes* ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน



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

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหีขาวโรงเรือน *T. vaporariorum* บนพืชอาศัยต่างชนิดกันของเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 เห็นได้ว่า สปอร์เชื้อราที่อยู่บนใบแดงความีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดและสามารถเข้าก่อโรคกับตัวอ่อนแมลงหีขาวได้ดีกว่า เนื่องจากใบแดงความีขนาดใหญ่กว่าใบมะเขือเทศที่อายุเท่ากัน ทำให้สามารถป้องกันแสงแดดได้มากกว่า ถึงแม้ว่าลักษณะพื้นที่ใต้ใบของพืชทั้งสองชนิดนี้จะมีลักษณะคล้ายคลึงกัน และจากการสังเกตความมีชีวิตของสปอร์เชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท 6073 บนใบพืชทั้งสองเมื่อระยะเวลาผ่านไปหลังการปนสปอร์ที่มีชีวิตส่วนใหญ่พบอยู่บริเวณปากใบพืช แสดงว่าหากนำเชื้อราไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในสภาพโรงเรือน ปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้สปอร์สามารถคงทนบนใบพืชได้นานควรให้น้ำพืชอย่างสม่ำเสมอ ดังนั้นความชื้นและอุณหภูมิบนผิวใบพืชมีผลต่อการงอกสปอร์เชื้อราโดยเป็นตัวส่งเสริมให้เชื้อราที่คงทนบนใบพืชสามารถเข้าทำลายแมลงได้ จากการศึกษาผลกระทบของพืชอาศัยที่มีต่ออัตราการตายของแมลงหีขาวโรงเรือนจากการใช้เชื้อรา *B. bassiana* และเชื้อรา *P. fumosoroseus* ของ Poprawski *et al.* (2000) พบว่า หลังการปนโคนิเดียมของเชื้อราทั้งสองชนิดบนต้นแดงควาและมะเขือเทศมีผลต่อการตายของแมลงหีขาวโรงเรือน โดยเชื้อที่พบนบนต้นมะเขือเทศมีการเข้าทำลายแมลงหีขาวโรงเรือนได้น้อยกว่าต้นแดงควา เนื่องจากต้นมะเขือเทศมีสาร tomatine ซึ่งมีผลต่อการงอกของเชื้อร่ากำจัดแมลง แมลงหีขาวเป็นแมลงปากดูดเมื่อดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นพืชแมลงก็ได้รับสารประกอบเคมีเข้าสู่ร่างกายจึงทำให้การเข้าทำลายของเชื้อราอาจได้ผลช้าหรือต้านทานเชื้อราเข้าทำลายแมลงได้ นอกจากนี้สาร tomatine สามารถทำให้แมลงหีขาวสามารถต้านทานต่อสารฆ่าแมลงได้ด้วย ดังนั้นสารประกอบเคมีภายในพืชอาจมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เช่น terpenoid gossypol, catechol, salicyclic acid, tannic acid terpenoid gossypol (Vega *et al.*, 1997, Poprawski and Walker, 2000) และจากรายงานของ Poprawski *et al.* (2000) ได้ทำการทดสอบเชื้อรา *P. fumosoroseus* เติบโตบนอาหารที่มีส่วนผสมของสาร tomatine ที่ความเข้มข้น 0, 20, 50, 100, 500 และ 1,000 ppm. พบว่า อาหารมีส่วนผสมของสาร tomatine ที่ความเข้มข้น 0-100 ppm. เชื้อรา *P. fumosoroseus* สามารถงอกได้มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ แต่ในกรณีวิธีที่อาหารมีส่วนผสมของสาร tomatine ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm. เชื้อรา *P. fumosoroseus* ไม่สามารถงอกและเจริญบนอาหารได้ ทั้งนี้ปริมาณของสาร tomatine ในมะเขือเทศแต่ละพันธุ์มีปริมาณที่ไม่เท่ากัน ในการทดลองนี้เชื้อรา *P. tenuipes* อาจมีความต้านทานต่อสารดังกล่าวทำให้สามารถเข้าก่อโรคกับแมลงหีขาวโรงเรือนได้