



รายงานการวิจัย
เรื่อง

ผลของอาหารเทียมและวัสดุเพาะต่อการเจริญ ความรุนแรงและ
คุณสมบัติเอนไซม์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* Remaudière and
Hennebert (Entomophthorales: Entomophthoraceae) สายพันธุ์ท้องถิ่น
ประเทศไทย เพื่อนำไปสู่การควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชแบบอินทรีย์ในผักวงศ์กะหล่ำ
Effect of artificial and cultural media on growth, virulent and
enzymatic characteristics of Thai endogenous strains of *Pandora*
neoaphidis Remaudière and Hennebert (Entomophthorales:
Entomophthoraceae) towards organic control
of aphid pest in cruciferous crops

รุ่งเกียรติ แก้วเพชร
ดร. ศมาพร แสงยศ

มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต



รายงานการวิจัย
เรื่อง

ผลของอาหารเทียมและวัสดุเพาะต่อการเจริญ ความรุนแรงและ
คุณสมบัติเอนไซม์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* Remaudière and
Hennebert (Entomophthorales: Entomophthoraceae) สายพันธุ์ท้องถิ่น
ประเทศไทย เพื่อนำไปสู่การควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชแบบอินทรีย์ในผักวงศ์กะหล่ำ
Effect of artificial and cultural media on growth, virulent and
enzymatic characteristics of Thai endogenous strains of *Pandora*
neoaphidis Remaudière and Hennebert (Entomophthorales:
Entomophthoraceae) towards organic control
of aphid pest in cruciferous crops

รุ่งเกียรติ แก้วเพชร
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต
ดร. ศมาพร แสงยศ
หลักสูตรอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดินด้านการวิจัย ปีงบประมาณ 2557)

หัวข้อวิจัย	ผลของอาหารเทียมและวัสดุเพาะต่อการเจริญ ความรุนแรงและคุณสมบัติเอนไซม์ของเชื้อรา <i>Pandora neoaphidis</i> Remaudière and Hennebert (Entomophthorales: Entomophthoraceae) สายพันธุ์ท้องถิ่นประเทศไทย เพื่อนำไปสู่การควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชแบบอินทรีย์ในผักวงศ์กะหล่ำ
ผู้ดำเนินการวิจัย	รุ่งเกียรติ แก้วเพชร และ ดร. ศมาพร แสงยศ
ที่ปรึกษา	ดร. ชนะศึก นิชานนท์
หน่วยงาน	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต กรุงเทพฯ และหลักสูตรอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่
ปี พ.ศ.	2558

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้คือเพื่อศึกษาผลของอาหารเทียมและวัสดุเพาะต่อระดับความรุนแรงและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) ไอโซเลท Pd105 ผลปรากฏว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent Cumulative Mortality – PCM) ของเพลี้ยอ่อนฝัก (*Lipaphis erysimi*) และเพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Mizus persicae*) (Hemiptera: Aphididae) ที่ได้รับสารแขวนลอยสปอร์ ซึ่งเตรียมจากเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเทียมชนิดต่างๆ ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Sabouraud Dextrose Agar Supplemented with Yeast Extract (SDAY), Malt Extract Agar (MEA) และ Nutrient Agar (NA) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.01$) โดยเชื้อราที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร SDAY สามารถก่อโรคกับแมลงในเป้าหมายทั้งสองชนิดสูงสุดเป็น 97.00 ± 4.53 และ 95.00 ± 5.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าค่า PCM ของเพลี้ยอ่อนในเป้าหมาย ซึ่งได้รับสารแขวนลอยสปอร์ที่เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในวัสดุเพาะชนิดต่างๆ (ข้าวสอย เมล็ดข้าวเปลือก และเมล็ดข้าวฟ่าง) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.01$) โดยเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวฟ่างสามารถก่อโรคกับแมลง ในเป้าหมายได้สูงสุดคือ 96.60 ± 4.97 และ 94.80 ± 6.90 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การศึกษาการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารเทียมและวัสดุเพาะชนิดต่างๆ พบกิจกรรมของเอนไซม์ โดยใช้ชุดทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ API ZYM® – Semiquantitation of enzymatic activities พบว่าเชื้อรานี้มีการสร้างเอนไซม์ Chitinase, lipase, galactosidase, esterase และ leucine arylamidase ในปริมาณที่ต่างกัน

Research Title:	Effect of artificial and cultural media on growth, virulent and enzymatic characteristics of Thai endogenous strains of <i>Pandora neoaphidis</i> Remaudière and Hennebert (Entomophthorales: Entomophthoraceae) towards organic control of aphid pest in cruciferous crops
Researchers:	Rungkiat Kawpet and Dr. Samaporn Saengyot
Research Consultant:	Dr. Chanasuek Nichanong
Organization:	Faculty of Science and Technology, Suan Dusit Rajabhat University Bangkok and Plant Protection Program, Faculty of Agricultural production, Mae Jo University, Chiang Mai
Academic Year:	2015

The objective of this study are to evaluate the effect of artificial and cultural media on growth, virulent and enzymatic characteristics of Thai endogenous strains of *Pandora neoaphidis* Remaudière and Hennebert (Entomophthorales: Entomophthoraceae) isolate Pd105. The Percent Cumulative Mortality (PCM) of target insects, cabbage aphids (*Lipaphis erysimi*) and tobacco aphids (*Myzus persicae*) (Hemiptera: Aphididae) infected with spore suspension of *P. neoaphidis* isolate Pd105 cultured on various artificial media, Potato Dextrose Agar (PDA), Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Sabouraud Dextrose Agar Supplemented with Yeast Extract (SDAY), Malt Extract Agar (MEA) and Nutrient Agar (NA) SDAY were differed significantly ($p=0.01$). The fungus cultured on SDAY showed the highest PCM to the target insects that were 97.00 ± 4.53 and 95.00 ± 5.52 percent respectively. Furthermore, the pathogenicity to target insects infected with *P. neoaphidis* isolate Pd105 different culture media (cooked rice, rice grain and sorghum) were significant different ($p=0.01$) and the fungus spore obtained from sorghum showed highest PCM at respective average of 96.60 ± 4.97 and 94.80 ± 6.90 percent. Enzymatic study of *P. neoaphidis* isolate Pd105 cultured on artificial and cultural media was conducted using test kit, API ZYM® – Semiquantitation. It was found that, Chitinase, lipase, galactosidase, esterase and leucine arylamidase produced by *P. neoaphidis* isolate Pd105 obtained from various media were differed in enzymatic activity and profile.

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาผลของอาหารเทียมและวัสดุเพาะต่อการเจริญ ความรุนแรงและคุณสมบัติเอนไซม์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* Remaudière and Hennebert (Entomophthorales: Entomophthoraceae) สายพันธุ์ท้องถิ่นประเทศไทย เพื่อนำไปสู่การควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชแบบอินทรีย์ในผักวงศ์กะหล่ำ ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ประเมินผลสนับสนุนโครงการวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.ชนะศึก นิขานนท์ ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา ที่ปรึกษางานวิจัย ขอขอบพระคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา ที่ให้ความเอื้อเฟื้อในการแนะนำและอำนวยความสะดวก

ขอขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่ให้ความอนุเคราะห์เวลาและสนับสนุนวัสดุอุปกรณ์ สถานที่ รวมทั้งการประสานงาน

ขอขอบพระคุณ ผู้ประสานงานห้องปฏิบัติการการควบคุมโดยชีววิธี (MJU biological control laboratory) และหลักสูตรอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ที่สนับสนุนการวิจัย

ขอขอบพระคุณ เกษตรกรในพื้นที่ ที่ทำการศึกษาในจังหวัดเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนการใช้พื้นที่ในการเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนผักและโรคของเพลี้ยอ่อนเพื่อนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.บรรพต ฌ บ่อมเพชร ผู้ก่อตั้งและที่ปรึกษา ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตรวจประเมิน แก้วไข จรรย์งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

และขอขอบพระคุณ หน่วยงาน เจ้าของสถานที่ บุคคล ที่ให้ความสะดวกในการทำวิจัย แต่มิได้เอ่ยนามมา ณ โอกาสนี้

คณะผู้วิจัย

2558

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	3
1.4 ข้อจำกัด	3
1.5 สมมติฐานการวิจัย	4
1.6 คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย	4
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
2.1 ความสำคัญของเพลี้ยอ่อนและการทำลายพืช	7
2.2 การป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนโดยใช้สารเคมีและปัญหา	9
2.3 จุลินทรีย์โรคแมลงซึ่งทำลายเพลี้ยอ่อนตามธรรมชาติ	10
2.4 ความสามารถในการก่อโรคและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา <i>Pandora neoaphidis</i>	12
2.5 กรอบแนวคิดของการวิจัย	14
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	15
3.1 การศึกษาผลของอาหารเทียม และวัสดุเพาะ ชนิดต่างๆ ต่อการเจริญ การสร้างสปอร์ และระดับ ความสามารถ ในการก่อโรคของเชื้อรา <i>Pandora neoaphidis</i> ไอโซเลท Pd105 กับเพลี้ยอ่อนผัก (<i>Lipaphis erysimi</i>) และเพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>Mizus persicae</i>) (Hemiptera: Aphididae)	15
3.2 ผลของอาหารเทียมและวัสดุเพาะต่อการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา <i>P. neoaphidis</i> ไอโซเลท Pd105	19

สารบัญ

	หน้า
3.3 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา <i>P. neoaphidis</i> ไอโซเลท Pd105 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อรา และ วัสดุเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันต่อปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์	21
3.4 เครื่องมือในการวิจัยและการตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ	21
บทที่ 4 ผลการวิจัย	25
4.1 ผลของอาหารเทียม และ/ หรือ วัสดุเพาะ ชนิดต่างๆ ต่อการเจริญการสร้างสปอร์ และ ระดับ ความสามารถ ในการก่อโรคของเชื้อรา <i>Pandora neoaphidis</i> ไอโซเลท Pd105 กับเพลี้ยอ่อนผัก (<i>Lipaphis erysimi</i>) และ เพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>Mizus persicae</i>) (Hemiptera: Aphididae)	25
4.2 ผลของอาหารเทียมและวัสดุเพาะต่อการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา <i>P. neoaphidis</i> ไอโซเลท Pd105	29
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา <i>P. neoaphidis</i> ไอโซเลท Pd105 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อรา และ วัสดุเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันต่อปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์	31
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	32
5.1 สรุปผลการวิจัย	32
5.2 อภิปรายผล	33
5.3 ข้อเสนอแนะในการนำผลงานวิจัยไปใช้และการทำวิจัยครั้งต่อไป	34
บรรณานุกรม	36
บรรณานุกรมภาษาไทย	36
บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ	36
ภาคผนวก	42
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเทียมสำหรับทดสอบเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Pandora neoaphidis</i>	43
ภาคผนวก ข ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติค่าต่างๆ ที่ทดสอบ	46
ประวัติผู้วิจัย	50

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Cumulative Percent Mortality-PCM) 5 วัน ของเพลี้ยอ่อนฝัก (<i>Lipaphis erysimi</i>) และเพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>Mizus persicae</i>) (Hemiptera: Aphididae) ที่สารแขวนลอยสปอร์ที่ระดับความเข้มข้น 18 สปอร์ ต่อมิลลิลิตรของเชื้อรา <i>Pandora neoaphidis</i> ไอโซเลท Pd105 ซึ่งเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมชนิดต่างๆ	27
4.2	ค่าเฉลี่ยการเจริญของเส้นใย และปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Pandora neoaphidis</i> ไอโซเลท Pd105 บนวัสดุเพาะชนิดต่างๆ ในสภาพห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 20 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาพมืด และความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์	28
4.3	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Cumulative Percent Mortality-PCM) 5 วัน ของเพลี้ยอ่อนฝัก (<i>Lipaphis erysimi</i>) และเพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>Mizus persicae</i>) (Hemiptera: Aphididae) ที่สารแขวนลอยสปอร์ที่ระดับความเข้มข้น 18 สปอร์ ต่อมิลลิลิตรของเชื้อรา <i>Pandora neoaphidis</i> ไอโซเลท Pd105 ซึ่งเพาะเลี้ยงด้วย วัสดุเพาะชนิดต่างๆ	28

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลักษณะของเพลี้ยอ่อนยาสูบ (green peach aphid หรือ Tobacco aphid) หรือเพลี้ยอ่อนยาสูบ <i>Myzus persicae</i> (ที่มา; bugguide.net, ม.ป.ป.) (ก) และสตรอเบอรี่ ที่ถูกเพลี้ยอ่อนทำลายและมีอาการใบหงิก (Phyllody) (ข)	8
2.2	ตัวอย่างโรคไวรัสใบด่าง (alfalfa mosaic virus) ในมันฝรั่ง และ ไวรัสเหี่ยวเหลืองในแตงกวาญี่ปุ่น (Zucchini yellow mosaic virus; ZYMV) ซึ่งเพลี้ยอ่อนเป็นพาหะ	9
2.3	กลุ่มของเพลี้ยอ่อนที่ตายจากการติดเชื้อรา <i>Pandora (Erynia) neoaphidis</i> (ก) สัณฐานวิทยาของสปอร์ของเชื้อรา (ข)	12
2.4	ขั้นตอนซึ่งเซลล์ของผนังลำตัวของแมลงถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ protease ผลิตจากเชื้อราโรคแมลงอย่างช้าๆ ทำให้ผนังลำตัวส่วนที่ถูกย่อยสลายของแมลงค่อยค่อยเสียสภาพและบางลงตามลำดับจากภาพ ก – จ	13
3.1	ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนยาสูบ (<i>Myzus persicae</i>) เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา <i>P. neoaphidis</i> ไอโซเลท Pd105 ในห้องปฏิบัติการโดยใช้ต้นพริก	16
4.1	ระดับกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดต่างๆ ของเชื้อรา <i>Pandora neoaphidis</i> ไอโซเลท Pd105 ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมชนิดที่ต่างๆ ได้แก่ Potato Dextrose Broth (PDB), Sabouraud Dextrose Broth (SDB), Sabouraud Dextrose Broth Supplemented with Yeast Extract (SDBY), Malt Extract Broth (MEB) และ Nutrient Broth (NB)	30
4.2	ระดับกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดต่างๆ ของเชื้อรา <i>Pandora neoaphidis</i> ไอโซเลท Pd105 ที่เพาะเลี้ยงด้วยวัสดุเพาะชนิดที่ต่างๆ ได้แก่ ข้าวสอย ข้าวเปลือก และข้าวฟ่าง	31