บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

ผลของอาหารเทียม Potato Dextrose Agar (PDA), Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Sabouraud Dextrose Agar Supplemented with Yeast Extract (SDAY), Malt Extract Agar (MEA) และ Nutrient Agar (NA) และ วัสดุเพาะ ชนิดต่างๆ ได้แก่ ข้าวสวย ข้าวเปลือก และข้าวฟ่าง ต่อการเจริญการ ระดับความสามารถ ในการก่อโรคของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 กับเพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) และเพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Mizus persicae*) (Hemiptera: Aphididae) ในสภาพห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 20 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพมืด ซึ่งวัดจากระดับความสามารถในการก่อโรคเป็นเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent Cumulative Mortality –PCM) พบว่าค่า PCM ของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิดที่ได้รับเชื้อซึ่งเพาะเลี้ยงบนอาหารเทียมที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.01) โดยPCM ของเพลี้ยอ่อนผัก และเพลี้ยอ่อนยาสูบที่ได้รับสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 ที่เลี้ยงบนอาหาร SDAY มีค่าสูงสุดคือ 97.00 $\pm$ 4.53 และ 95.00 $\pm$ 5.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าวัสดุเพาะมีผลต่อการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรานี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p= 0.01) โดย *P. neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 สามารถเจริญได้บนเมล็ดข้าวฟ่างเลี้ยงสัตว์ได้ในอัตราสูงที่สุดคือ 0.65 $\pm$ 0.08 มิลลิเมตรต่อวัน และสร้างสปอร์เฉลี่ยได้สูงสุดคือ 16.20 $\pm$ 5.34 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และค่า PCM ของเพลี้ยอ่อนผัก และเพลี้ยอ่อนยาสูบที่ได้รับสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราซึ่งเพิ่มปริมาณในวัสดุเพาะชนิดต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.01) โดยจากการได้รับเชื้อราที่ความเข้มข้น 18 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เชื้อราที่เพาะเลี้ยงด้วยเมล็ดข้าวฟ่างเลี้ยงสัตว์สามารถก่อโรคกับเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายได้สูงสุดคือ 96.60 $\pm$ 4.97 และ 94.80 $\pm$ 6.90 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนการศึกษาผลของอาหารเทียมและวัสดุเพาะต่อปริมาณการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 ในการศึกษาโดยเน้นที่การวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ protease นั้นไม่ประสบผลในการสกัดเอนไซม์ดังกล่าว ซึ่งต่อมาหลังจากปรับเปลี่ยนวิธีการศึกษาโดยใช้ชุดทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ API ZYM® – Semiquantitation of enzymatic activities โดยวิธีการดีกล่าวสามารถตรวจพบพบว่า เชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียม และวัสดุเพาะชนิดที่ต่างกันมีการสร้างเอนไซม์ Chitinase, lipase, galactosidase, esterase และ leucine arylamidase ในปริมาณที่แตกต่างกัน และจากข้อมูลจากการศึกษานี้ ยังไม่สามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการก่อโรคกับระดับกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้ได้เนื่องจากยังไม่มีการวิเคราะห์และยังขาดการยืนยันชนิดของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรคของเชื้อราชนิดนี้

อภิปรายผล

เชื้อรา *Pandora neoaphidis* เป็นเชื้อราโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมประชากรของเพลี้ยอ่อนซึ่งพบในความถี่ซึ่งสูงชนิดหนึ่ง และพบระบาดทำลายเพลี้ยอ่อนทั่วโลก (Chen et al., 2007, pp. 317-326; Wilding and Brady, 1984) โดยสามารถก่อโรคกับเพลี้ยอ่อนได้มากกว่า 71 ชนิด อีกทั้งในบางกรณีทำลายเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*A. gossypii*) และสามารถลดประชากรเพลี้ยอ่อนตามธรรมชาติได้อย่างมีนัยสำคัญ (McLeod, *et al*., 1998, pp. 796-800; Pell *et al*., 2001, pp. 71-153) จากรายงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องอ้างว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงได้แก่ อุณหภูมิ ความแตกต่างของพิสัยของตัวอาศัย (host range) (Tymom *et al*., 2004, pp. 419 -433; Yeo *et al*., 2003, pp. 156-165) การศึกษานี้เป็นการศึกษาผลของอาหารเทียม ซึ่งได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Sabouraud Dextrose Agar Supplemented with Yeast Extract (SDAY), Malt Extract Agar (MEA) และ Nutrient Agar (NA) ต่อการก่อโรคต่อเพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) และเพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Mizus persicae*) (Hemiptera: Aphididae) ซึ่งยังไม่มีรายงานยืนยันถึงเรื่องนี้ โดยผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมชนิดที่แตกต่างกัน มีระดับความสามารถในการก่อโรคกับเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายทั้งสองชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังที่นำเสนอในตารางที่ 4.1 และในขณะเดียวกันก็พบว่าเชื้อราที่เพาะเลี้ยงด้วยวัสดุเพาะชนิดที่แตกต่างกันยังมีผลต่อความแตกต่างของระดับความสามารถในการก่อโรคต่อแมลงเป้าหมายของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 นี้เช่นกัน ซึ่งเหล่านี้นับเป็นองค์ความรู้ซึ่งค่อนข้างใหม่เมื่อพิจารณาในแง่เกี่ยวกับการศึกษาผลของอาหารเทียมต่อระดับความสามารถในการก่อโรคของเชื้อนี้ ซึ่งควรมีการขยายผลศึกษาผลในเชิงลึก เช่นสารประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ซึ่งเป็นสิ่งกระตุ้นให้เกิดการความแตกต่างของระดับความสามารถในการก่อโรคต่อไป อนึ่งการศึกษานี้เป็นอีกการศึกษาหนึ่งที่สนับสนุนผลการศึกษาในด้านที่เกี่ยวกับการใช้วัสดุเพาะในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 โดยผลการศึกษาชี้ว่าข้าวฟ่าง เป็นอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณของเชื้อรานี้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Feng and Liang (2003, pp. 1816–1821) ซึ่งอ้างว่าข้าวฟ่างเลี้ยงสัตว์ เช่นที่มีจำหน่ายในรูปอาหารนก (broomcorn millet, *Panicum miliaceaum*) เป็นเมล็ดธัญพืชที่สามารถใช้เพาะเลี้ยงเชื้อรา *Pandora* spp. ได้ดี ซึ่งในส่วนนี้ในประเทศไทยควรจะมีการขยายผลการศึกษาเพิ่มเติมอย่างละเอียด เพื่อการนำมาประยุกต์ใช้สำหรับการเพิ่มปริมาณของเชื้อนา *P. neoaphidis* ไอโซเลท ที่พบในท้องถิ่นด้วยวิธีอย่างง่ายสำหรับเกษตรกรรายย่อยต่อไป

นอกจาก ความสามารถในการยึดติดกับตัวอาศัย ความทานต่อสภาพแวดล้อม เช่น แสง อุณหภูมิ และความชื้น และสภาพของอาหารหรือวัสดุเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญมีผลต่อความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงแล้ว (Butt *et al*., 2001) การผลิตเอนไซม์

ซึ่งได้แก่ protease, chitinase และ lipase ยังเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อระดับความสามารถในการก่อโรคกับแมลงของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงโดยสามารถย่อยผนังเซลของแมลงตัวอาศัย เพื่อช่วยให้เชื้อสามารถงอกและแทงเส้นใยไปทำลายแมลงได้ (Steinhaus, 1976, p. 18) ในการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาผลของอาหารเทียมและวัสดุเพาะต่อปริมาณการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 ที่แม้ว่าในผลส่วนแรกที่ศึกษาผลต่อความสามารถในการก่อโรคกับเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายจะพบความแตกต่างของระดับความสามารถในการก่อโรค แต่เนื่องจากไม่ประสบผลในการสกัดเอนไซม์ในเป้าหมายที่ต้องการศึกษาซึ่งคือ protease ด้วยวิธีที่ใช้ในระเบียบวิธีวิจัยในครั้งนี้ข้อมูลการศึกษาจึงไม่สามารถวิเคราะห์ความสำพันธ์ระหว่างปริมาณการผลิตเอนไซม์นี้ได้ แต่อย่างไรก็ตามจากการปรับเปลี่ยนวิธีการศึกษาโดยชุดทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ API ZYM® – Semiquantitation of enzymatic activities ซึ่งสามารถศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อย่างกว้างๆ และพบว่าเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 มีการผลิตเอนไซม์ chitinase, lipase, galactosidase, esterase และ leucine arylamidase โดยจากการวิเคราะห์ผลในภาพรวมชี้ว่าเชื่อราที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียม และวัสดุเพาะชนิดที่ต่างกันมีการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิดในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งรายชนิดมีรายงานเกี่ยวข้องกับระดับความสามารถในการก่อโรคของเชื้อนี้ได้แก่ เอนไซม์ chitinase, protease และ lipese เป็นต้น (laycy, 1997, 409 p.) อีกทั้งรายงานยืนยันถึงอิทธิพลของเอนไซม์ต่อการก่อโรคของ Dias *et al*., (2008, pp. 301-306) ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นอีกองค์ความรู้หนึ่งซึ่งชี้ให้เห็นถึงปัจจัยที่อาจมีบทบาทต่อความสามารถในการก่อโรคของเชื้อนี้ในระดับชีวโมเลกุล

ข้อเสนอแนะในการนำผลงานวิจัยไปใช้และการทำวิจัยครั้งต่อไป

การศึกษานี้เป็นอีกงานวิจัยหนึ่งซึ่งเกี่ยวข้องกับความพยายามการนำเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงในท้องถิ่นมาใช้ประโยชน์สำหรับการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเช่นเพลี้ยอ่อนศัตรู โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นรายงานเกี่ยวกับเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง *Pandora neoaphidis* Remaudière and Hennebert (Entomophthorales: Entomophthoraceae) ซึ่งอยู่ในกลุ่มของเชื้อราที่ส่วนใหญ่เป็น obligated pathogen หรือเป็นเชื้อราที่มักไม่สามารถเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียม ซึ่งแม้ว่าจะมีรายงานการเพาะเลี้ยงในต่างประเทศบ้างแล้วตามที่กล่าวถึงในการทบทวนเอกสารในรายงานวิจัยนี้ เชื้อรานี้นับเป็นเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงอีกชนิดหนึ่งซึ่งพบได้ในท้องถิ่นประเทศไทย ที่น่าจะสามารถนำมาใช้ประโยชน์สำหรับการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย โดยผลการศึกษานี้ได้เป็นการเริ่มสร้างองค์ความรู้เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเชื้อรานี้ ด้วยอาหารเทียมและวัสดุเพาะที่หาได้ในประเทศ อีกทั้งเป็นการศึกษาแรกเริ่มเกี่ยวกับการผลิตเอนไซม์ของเชื้อนี้ซึ่งยังต้องมีการคิดค้นและปรับปรุงวิธีการศึกษาที่เหมาะสมต่อไป และในภาพรวมเพื่อเป็นการเสริมสร้างองค์ความรู้ในการที่จะนำเชื้อนี้มาใช้ประโยชน์ได้ในระบบเกษตรของไทยได้อย่างกว้างขวาง ควรมีการศึกษาต่อยอด และ/ หรือ ขยายผล เกี่ยวกับ วิธีการ

เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณอย่างง่าย การใช้ประโยชน์ในแปลงเกษตร การผลิตในรูปสูตรสำเร็จ ฯลฯ รวมทั้งในเชิงลึกทั้งระดับชีวโมเลกุลในด้านลักษณะแสดงออก (phenotype) และพันธุกรรม (genotype) เพื่อประสิทธิผลของการใช้ประโยชน์จาก *P. neoaphidis* ไอโซเลทที่พบในท้องถิ่นอย่างเหมาะสม สำหรับเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะลดการใช้สารเคมีในการควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชอย่างปลอดภัยในอนาคต