ประสิทธิภาพสารพาบางชนิดในการเก็บรักษาเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

Efficacy of Some Carriers to Preserve *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 for Controlling Brown Planthopper

นวลศิริ สีบุญมี[1] วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ[1*] ไสว บูรณพานิชพันธุ์[2] ปภพ สินชยกุล[3] และ จิราพร กุลสาริน[2]

Nuansiri Sribunme[1], Weerathep Pongprasert[1*], Sawai Buranapanichpan[2], Pabhop Sinchayakul[3] and Jiraporn Kulsarin[2]

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

[1]Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

[2]ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

[2]Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

[3]ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

[3]Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom 73140, Thailand

**Corresponding author: Email: weerathepp@nu.ac.th*

(Received: 1 October 2017; Accepted: 29 December 2017)

Abstract: The objective of this research was to study on the efficacy of 5 carriers: soil organic matter, sand, white clay filler, Lop Buri kaolin, and Lampang kaolin to preserve *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 for controlling brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål). The total of 10 ml of *M. anisopliae* MRT-PCH 048 conidia suspension at the concentration of 10^8 conidia/ml was mixed with 300 grams of each carrier and stored at 25°C for 6 months. The completely randomized design with 3 replications was applied. Viability of *M. anisopliae* MRT-PCH 048 preserved in each carrier was determined in each month and the efficacy of those to control brown planthopper was evaluated after 6 months of preservation. The result found that soil organic matter and sand were the best high efficacy carriers to preserve *M. anisopliae* MRT-PCH 048 for 6 months. However, the high mortality of brown planthopper (98-100%) in 5 days after contacting to *M. anisopliae* MRT-PCH 048 preserved in all carriers with median lethal time (LT_{50}) at 2.03-2.57 days was found.

Keywords: *Metarhizium anisopliae*, carriers, soil organic matter, sand, white clay filler, kaolin

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์ของการศึกษาคือ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารพา 5 ชนิด คือ ดินอินทรียวัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง ในการเก็บรักษาโคนิเดียของเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) โดยใช้เชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ความเข้มข้น 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตรจำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมกับสารพา 300 กรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 3 ซ้ำ ตรวจสอบความมีชีวิตของเชื้อราในแต่ละสารพาทุกเดือน และตรวจสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เมื่อเก็บรักษาครบ 6 เดือน พบว่าสารพาดินอินทรียวัตถุและทราย มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวเป็นระยะเวลา 6 เดือนได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตาม เชื้อราเขียวที่เก็บรักษาในทุกสารพายังคงประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงมากถึงร้อยละ 98-100 ภายใน 5 วันหลังสัมผัสเชื้อ และทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% (LT_{50}) ภายในระยะเวลา 2.03-2.57 วัน

คำสำคัญ: เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม สารพา ดินอินทรียวัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาว

คำนำ

เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* เป็นเชื้อราในสกุล *Metarhizium* เป็นกลุ่มของเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคในแมลง (entomopathogenic fungi) (Bridge *et al.*, 1997; Iskandarov *et al.*, 2006) จัดอยู่ใน Division Ascomycota Class Sordariomycetes เป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดินสามารถแยกได้ 3 ชนิดตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของโคนิเดีย เช่น รูปร่าง ขนาด และสี เป็นต้น (Zimmermann, 1993) โดยแต่ละชนิดมีความแปรผันทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ มีความหลากหลายของสายพันธุ์แตกต่างกันตามถิ่นอาศัย และแต่ละสายพันธุ์มีแมลงอาศัย (host insect) แตกต่างกัน (Tulloch, 1976) จึงให้ประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงอาศัยแตกต่างกัน (Inglis *et al.*, 1999) อย่างไรก็ตาม การจำแนกในเบื้องต้นสามารถกระทำด้วยการทดสอบกับแมลงอาศัยเนื่องจากเชื้อราชนิดนี้มักมีความจำเพาะต่อแมลงอาศัยมาก (Shi and Feng, 2004; Milner *et al.*, 1998)

ในปัจจุบันพบว่า *M. anisopliae* เป็นเชื้อราในสกุลนี้ที่ได้รับการคัดและใช้ประโยชน์ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีอย่างแพร่หลาย (Onofre *et al.*, 2001) เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อพื้นฐาน potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิประมาณ 15-20 องศาเซลเซียส (Kershaw *et al.*, 1999) ลักษณะของโคโลนีเมื่อแรกเริ่มมีสีขาวจนเมื่อเจริญเต็มที่เชื้อสร้างโคนิเดียสีเขียวกระจายอยู่โดยรอบ (Tanada and Kaya, 1993) เชื้อรา *M. anisopliae* มีความปลอดภัยสูงเหมาะแก่การใช้ในการควบคุมศัตรูพืช เนื่องจากไม่พบการติดเชื้อในสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมายเช่น นก ปลา หนู หมู และกระต่ายในพื้นที่ที่มีการใช้เชื้อรานี้ (Zimmermann, 1993)

ในประเทศไทย เชื้อรา *M. anisopliae* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจและได้มีการทดสอบกับแมลงหลายชนิดเช่นด้วงงวงมะพร้าวด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย แมลงนูนหลวง (วิวัฒน์ และคณะ, 2548, 2551) แมลงวันผลไม้ (นริศ และอนุชิต, 2551) ด้วงหมัดผักแถบลาย (นาวิน และคณะ, 2559) แมลงสิง (สมบัติ และคณะ, 2541) หนอนกระทู้ผัก (ภัทรดนัย และคณะ, 2557) หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียว และเพลี้ยกระโดดหลังขาว (จริยา และคณะ, 2529; เพชรหทัย และคณะ, 2542) เป็นต้น โดยผลการควบคุมขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อและสภาพแวดล้อมของพื้นที่นั้น ๆ

จากการศึกษาที่ผ่านมา คณะผู้วิจัยได้คัดแยกเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048 จากธรรมชาติซึ่งมีศักยภาพในการลงทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดี (อารยา และคณะ, 2558) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมของพื้นที่นั้น ๆ อย่างไรก็ตาม การใช้ประโยชน์จากเชื้อราในปัจจุบันนิยมใช้ในรูปแบบหัวเชื้อสด ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยเทคนิคทางจุลชีววิทยาในการเก็บรักษาเชื้อและเลี้ยงเชื้อในอาหารเทียม เพื่อผลิตหัวเชื้อราสำหรับขยายในวัสดุเพาะเลี้ยงให้มีปริมาณมากเพียงพอต่อการใช้ประโยชน์ และที่สำคัญคือหัวเชื้อราสดไม่สามารถคงความมีชีวิตและ

ประสิทธิภาพได้นาน (เสาวนิตย์ และคณะ, 2549) แม้มีการเก็บเชื้อราในระดับอุณหภูมิต่ำ 4-5 องศาเซลเซียส เพื่อลดการเจริญของเชื้อราก็ตาม (อนุเทพ , 2536; Pham *et al*., 2009; Santa *et al*., 2005; Ying and Feng, 2006) ทำให้กลายเป็นข้อจำกัดสำหรับการส่งเสริมในระดับเกษตรกรอย่างมาก การผสมสปอร์หรือโคนิเดียของเชื้อรากับสารพาชนิดต่าง ๆ เช่น ดินอินทรีย์ ดินขาว ทราย (Daoust *et al*.,1983) สามารถการยืดอายุของเชื้อราสดให้คงประสิทธิภาพได้นานขึ้นได้ อย่างไรก็ตาม สารพาที่ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวแต่ละชนิดมีศักยภาพในการเก็บรักษาเชื้อราได้แตกต่างกัน การคัดเลือกสารพาที่มีความเหมาะสมในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวมีผลต่อความมีชีวิตและประสิทธิภาพของเชื้อรามาก ดังนั้นจึงได้ทำศึกษาประสิทธิภาพสารพาชนิดต่าง ๆ ในการเก็บรักษาเชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 นี้ขึ้น เพื่อศึกษาความมีชีวิตและประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ที่เก็บรักษาในสารพาชนิดต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 เดือน ทั้งนี้ผลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับพัฒนาชีวภัณฑ์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ได้รับจากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคเหนือตอนล่าง จังหวัดพิษณุโลก เป็นเชื้อราที่มีศักยภาพในการลงทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้รวดเร็ว (อารยา และคณะ, 2558) ทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Sabouraud dextrose agar) บ่มเชื้อที่ระดับอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน จนได้โคโลนีที่ฟูเต็มอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมโคนีเดียแขวนลอยของเชื้อราโดยใน 1 จานอาหารใช้น้ำกลั่นซึ่งผสมด้วย 0.1% Tween 80 (Sigma, St. Louis, MO, USA) จำนวน 20 มิลลิลิตร ผสมกับโคนีเดียเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อ ดูดน้ำโคนีเดียแขวนลอยของเชื้อราใส่ขวด 500 มิลลิลิตร แล้วเขย่าขวดเพื่อให้เชื้อกระจายทั่วขวด ทำการตรวจวัดความเข้มข้นของโคนีเดียโดย haemacytometer (Hausser, Horsham, PA, USA) และปรับความเข้มข้น ให้เป็น 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร

ชั่งสารพา 5 ชนิด คือ ดินอินทรียวัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง ชนิดละ 300 กรัม ใส่ขวดทดลอง ปิดปากขวดด้วยสำลี นำนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น ใส่สารแขวนลอยโคนีเดียเชื้อราเขียวข้างต้นขวดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร เก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 6 เดือน

ประเมินความมีชีวิตของเชื้อราเขียวโดยนำตัวอย่างหัวเชื้อที่บ่ม เป็นเวลา 1 เดือน จำนวน 1 กรัม ใส่ลงใน flask ที่ เติมน้ำกลั่นจำนวน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายผสมกับน้ำ รอจนตกตะกอน เจือจางที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} มิลลิลิตร และ spread ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA โดยใช้ปริมาณสารละลาย 0.1 มิลลิลิตร/เพลท บ่มที่ระดับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ตรวจนับและคำนวณจำนวนโคโลนีที่พบ และเปรียบเทียบระหว่างสารพาชนิดต่าง ๆ

ทดสอบศักยภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ต่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้เชื้อราเขียวที่ผสมในสารพาชนิดต่าง ๆ จำนวน 1 กรัม เพาะเลี้ยงในวัสดุเพาะคือข้าวพันธุ์เสาไห้หุงกึ่งสุก 150 กรัม บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จนโคนิเดียของเชื้อราเขียวเจริญทั่วถุงข้าว ทำการตรวจวัดความเข้มข้นของโคนีเดียในวัสดุเพาะเลี้ยง บันทึกผล จากนั้นปรับระดับความเข้มข้นของโคนีเดียที่ 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร พ่นลงบนต้นข้าวพันธุ์ไทชุงเนทีฟ1 ระยะแตกกอที่ได้ปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวัยที่ 3 จำนวน 30 ตัวต่อหน่วยการทดลอง แล้วเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงทำ 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับเชื้อราทางการค้า บันทึกจำนวนเพลี้ยกระโดดที่ตายทุกวัน วิเคราะห์ผลด้วย analysis of variance เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย (Duncan's multiple range test, DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ (P=0.05) และประเมินประสิทธิภาพของเชื้อรา โดยใช้ผลการคำนวณ probit analysis จากระยะเวลาที่เชื้อทำให้เพลี้ยตายร้อยละ 50 (LT_{50})

ผลการวิจัย

ผลการศึกษาประสิทธิภาพสารพาในการเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048

การทดสอบประสิทธิภาพสารพาในการเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด คือ ดินอินทรียวัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง พบว่าสารพาแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการรักษาความมีชีวิตของเชื้อราเขียวได้แตกต่างกันอย่างชัดเจนในแต่ละระยะเวลาของการเก็บรักษา ในเดือนที่ 1 สารพาชนิดต่าง ๆ สามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง 1.3×10^5 - 3.0×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยดินอินทรียวัตถุ และ ดินขาวลำปาง พบเชื้อราเขียวสูงสุดสองอันดับแรก คือ 3.0×10^5 และ 2.5×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 2 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง 1.5×10^5 - 3.5×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรียวัตถุ และดินขาวลำปาง เช่นเดียวกับในช่วง 1 เดือน พบ 3.5×10^5, และ 2.6×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 3 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง 0.4×10^5 - 3.6×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรียวัตถุ และดินขาวลพบุรี พบ 3.6×10^5, และ 1.5×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 4 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง 0.3×10^5 - 3.2×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรียวัตถุ และทราย พบ 3.2×10^5 และ 1.6×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 5 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง 0.4×10^5 - 3.5×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรียวัตถุ และทราย พบ 3.5×10^5 และ 1.3×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 6 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง 0.1×10^5 - 2.6×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรียวัตถุ และทราย พบ 2.6×10^5 และ 1.1×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 1)

ผลการศึกษาศักยภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ที่เก็บรักษาด้วยสารพาต่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

เมื่อเก็บรักษาเชื้อราได้ครบ 6 เดือน และขยายในข้าวกึ่งสุกกึ่งดิบพบว่า เชื้อราที่เก็บรักษาด้วยสารพาทั้ง 5 ชนิด คือ ดินอินทรียวัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง สามารถเพิ่มขยายจำนวนได้อย่างรวดเร็ว ใน 7 วัน ตรวจพบโคโลนีของเชื้อราได้ 8.8×10^9,

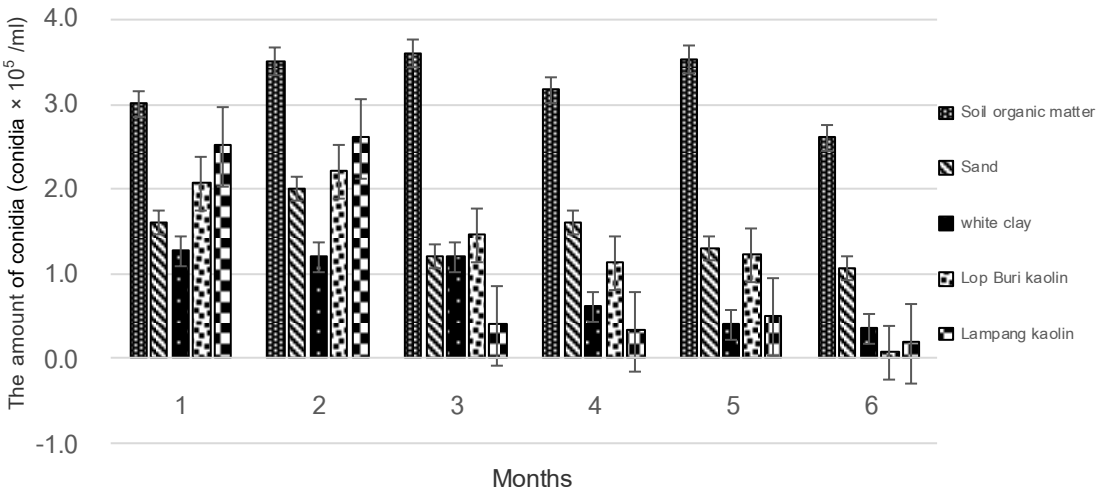

Figure 1. The amount of recovered *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 conidia preserved in 5 carriers during 1-6 months

4.2×10^8, 1.7×10^8, 1.5×10^9 และ 1.9×10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ที่เก็บรักษาในสารพาเป็นเวลานาน 6 เดือน เปรียบเทียบกับเชื้อราทางการค้า พบว่า เชื้อราเขียวในสารพาชนิดต่าง ๆ มีประสิทธิภาพในการฆ่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ในช่วงร้อยละ 98-100 ที่ระยะ 5 วันหลังสัมผัสเชื้อราเขียว โดยเชื้อราเขียวที่เก็บรักษาใน ทราย ดินสอพอง และดินขาวลพบุรี พบอัตราการตายของเพลี้ยที่ร้อยละ 100 และทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% (LT_{50}) ภายในระยะเวลา 2.03, 2.13 และ 2.21 วัน ตามลำดับ ส่วนเชื้อราที่เก็บรักษาใน ดินอินทรียวัตถุ และดินขาวลำปาง พบอัตราการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ร้อยละ 98.0 และ 98.7 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% (LT_{50}) ภายในระยะเวลา 2.35 และ 2.57 วัน ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อราทางการค้าพบอัตราการตายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ร้อยละ 93.3 แตกต่างจากเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ที่เก็บในสารพาทั้ง 5 ชนิด และทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% (LT_{50}) ภายในระยะเวลา 3.00 วัน (ตารางที่ 2)

วิจารณ์

จากผลการเก็บรักษาเชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ในสารพา 5 ชนิด คือ ดินอินทรียวัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า สารพาทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวได้ดี โดยตรวจพบจำนวนโคโลนีของเชื้อราเขียวได้สูงสุดในสารพาที่เป็นดินอินทรียวัตถุ และทราย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jackson *et al.* (2010) และ Post and Mann (1990)

Table 1. The amount of *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 colonies in 5 carriers recovered in rice media after 6 months of preservation

Carriers	Recovered conidia/ml
Soil organic matter	8.8×10^9a
Sand	4.2×10^8b
White clay	1.7×10^8b
Lop Buri kaolin	1.5×10^9b
Lampang kaolin	1.9×10^9b

Means within column followed by the same letter are not significantly different ($P\leq0.05$)

Table 2. Percentage of mortality and median lethal time (LT_{50}) of *Nilaparvata lugens* after contacting to *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 preserved for 6 months

Carriers	% Mortality ±SE (at 5 day)[1]	LT_{50} ± SE (day)[2]
Soil organic matter	98.0 ± 0.82[a]	2.35 ± 0.04
Sand	100.0 ± 0.00[a]	2.03 ± 0.06
White clay	100.0 ± 0.00[a]	2.13 ± 0.06
Lop Buri kaolin	100.0 ± 0.00[a]	2.21 ± 0.06
Lampang kaolin	98.7 ± 0.27[a]	2.57 ± 0.07
Commercial *M. anisopliae*	93.3 ± 0.30[b]	3.00 ± 0.13

Means within column followed by the same letter are not significantly different ($P\leq0.05$)

[1] Motality at day 5

[2] *M. anisopliae* were applied of concentration of 1×10^8 conidia/ml

พบว่าดินอินทรียวัตถุมีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสูงสุด *M. anisopliae* สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของดินได้เมื่อมีความชื้นที่เหมาะสมและ Bukhari *et al*. (2011) ที่พบว่า ทรายเป็นสารพาที่มีความชื้นต่ำ เมื่อผสมกับเชื้อราจึงสามารถกระจายตัวได้ดี ส่วนสารพาในกลุ่มดินขาวที่ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048 คือ ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง ซึ่งดินสอพองและดินขาวลพบุรี เป็นกลุ่มดินที่มีองค์ประกอบของแร่แคลไซต์ ส่วนดินขาวลำปางประกอบด้วยแร่โดโลไมท์และเศษซากฟอสซิล ซึ่งตายทับถมกันเป็นเวลานาน เนื้อดินจึงมีความพรุน และแห้งสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ดี ประกอบกับสารพาในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็น wetting agent เมื่อผสมกับวัสดุเพาะขยายเชื้อทำให้เชื้อสามารถกระจายตัวได้ดี (Ali, 2014) และแม้ว่าในเดือนที่ 6 พบโคโลนีเชื้อราเขียวในระดับต่ำมาก แต่กลับเป็นกลุ่มเชื้อที่มีความแข็งแรงมาก สามารถขยายเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในข้าวกึ่งสุก ความสามารถในการกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแตกต่างจากการใช้เชื้อรา *Metarhizium* ที่จำหน่ายเป็นการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม เชื้อราเขียวที่เก็บรักษาในสารพาทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการลงทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีในระดับที่ไม่แตกต่างทางสถิติ

ผลการทดลองในครั้งนี้เป็นการสร้างตัวเลือกในการใช้สารพาชนิดต่าง ๆ เพื่อเก็บรักษาเชื้อรา *M. anisopliae* โดยพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาเชื้อราและสภาพแวดล้อมในการเก็บรักษาที่มีเป็นเกณฑ์ ร่วมกับความสะดวกในการจัดหา และราคา ของสารพาในแต่และท้องที่ เพื่อช่วยเก็บรักษาเชื้อราได้มีความสะดวกในการนำไปใช้ ต่อไปในอนาคต

สรุป

การใช้ประโยชน์จากเชื้อราในปัจจุบันนิยมใช้ในรูปแบบหัวเชื้อสด จำเป็นต้องอาศัยเทคนิคทางจุลชีวิทยาในหลายในการเก็บเชื้อและเลี้ยงเชื้อในอาหารเทียม เพื่อผลิตหัวเชื้อราสำหรับขยายในวัสดุเพาะเลี้ยงให้มีปริมาณมากเพียงพอต่อการใช้ประโยชน์ และที่สำคัญคือหัวเชื้อราสดไม่สามารถคงความมีชีวิตและประสิทธิภาพได้นาน จึงได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารพา 5 ชนิด คือ ดินอินทรียวัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง ในการเก็บรักษาโคนิเดียของเชื้อราเขียวขึ้น โดยใช้เชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ความเข้มข้น 10^8 จำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมกับสารพา 500 กรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าสารพาทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ดินอินทรียวัตถุ และทราย และคงประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงถึงร้อยละ 98-100 ภายใน 5 วันหลังสัมผัสเชื้อ ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% (LT_{50}) ภายในระยะเวลา 2.03-2.57 วัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอบขอบคุณ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (วช.) ภาคเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ และสถานที่ในการทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

จริยา จันทร์ไพแสง ทิพย์วดี อรรถธรรม และ วาลุลี โรจนวงศ์. 2529. การสำรวจโรคเชื้อราของเพลี้ยจักจั่นบางชนิดที่เป็นศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจ. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นริศ ท้าวจันทร์ และ อนุชิต ชินาจริยวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพการคบคุมของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 39(3): 21-25.

นาวิน สุขเลิศ จิราพร กุลสาริน ไสว บรูณพานิชพันธุ์ และ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2559. ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในเบบี้ฮ่องเต้บนพื้นที่สูงของจังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 32(2): 171-180.

เพชรหทัย ปฏิรูปานุสร ธวัช ปฏิรูปานุสร และ ภมร ปัตตาวะตัง. 2542. ประสิทธิภาพของเชื้อราบางชนิดในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยจักจั่นสีเขียว. งานวิจัยอารักขาพืช ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก, พิษณุโลก.

ภัทรดนัย ชัยสวัสดิ์ จิราพร กุลสาริน ไสว บูรณพานิชพันธุ์ และ สิริญา คัมภิโร. 2557. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Nomuraea* และ *Metarhizium* สาเหตุโรคแมลง ในการควบคุมหนอนกระทู้ผักของดอกดาวเรือง. วารสารเกษตร 30(1): 11-19.

วิวัฒน์ เสือสะอาด พิมพรรณ สมมาตย์ ศิติภา นักขัตระวิมลมาศ โอสถเสน และ อาภรณ์ ปั้นทองคำ. 2548. การเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* และการนำไปใช้ควบคุมหนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย *Dorysthenes buqueti* Guerin (Coleoptera: Cerambycidae) ในสภาพไร่. หน้า 1-13. *ใน*: รายงานการประชุมวิชาการประจำปี 2548. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

วิวัฒน์ เสือสะอาด พิมพรรณ สมมาตย์ อาภรณ์ ปั้นทองคำ ปวีณา บูชาเทียน และ ดอกกล้วยไม้ หอมระหัด. 2551. การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin เพื่อควบคุมหนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย *Dorysthenes buqueti* (Guerin) (Coleoptera: Cerambycidae). หน้า 1. *ใน*: รวมบทคัดย่อผลงานวิจัย การประชุมวิชาการประจำปี 2551. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ. กรุงเทพฯ.

สมบัติ รุจาคม ภมร ปัตตาวะตัง นลินี เจียงวรรธนะ และ เพชรหทัย ปฏิรูปานุสร. 2541. การควบคุมแมลงสิงโดยเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* และเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae*. หน้า 198-209. *ใน*: รายงานการสัมมนาทางวิชาการ เรื่อง การพัฒนาข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ครั้งที่ 9. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ วัชรี สมสุข และ สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต. 2549. การศึกษาสารพา (carriers) ที่เหมาะสมในการใช้ร่วมกับแป้ง. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

อนุเทพ ภาสุระ. 2536. การผลิตมวลชีวภาพเชื้อรา *Trichoderma harzianum* โดยกระบวนการหมักอาหารเหลวเพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชทางชีววิธี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อารยา บุญศักดิ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บูรณพานิชพันธุ์ และ จิราพร กุลสาริน. 2558. การคัดเลือกเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin ที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว. วารสารเกษตร 31(3): 291-299.

Ali, M.I.E. 2014. Investigation of entomopathogenic fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*) for control of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae), and development of formulation. Ph.D. Dissertation. Indian Agricultural Research Institute, New Delhi.

Bridge, P.D., C. Prior, J. Sagbohan, C.J. Lomer, M. Carey and A. Buddie. 1997. Molecular characterization of isolates of *Metarhizium* from locusts and grasshoppers. Biodiversity and Conservation 6(2): 177-189.

Bukhari, T., W. Takken and C.J.M. Koenraadt. 2011. Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae. Parasites & Vectors 4: 23, doi: 10.1186/1756-3305-4-23.

Daoust, R.A., M.G. Ward and D.W. Roberts. 1983. Effect of formulation on the viability of *Metarhizium anisopliae* conidia. Journal of Invertebrate Pathology 41(2): 151-160.

Inglis, P.W., B.P. Magalhaes and M.C. Valadares-Inglis. 1999. Genetic variability in

Metarhizium flavoviride revealed by telomeric fingerprinting. FEMS Microbiology Letters 179(1): 49-52.

Iskandarov, U.S., A.G. Guzalova and K.D. Davranov. 2006. Effects of nutrient medium composition and temperature on the germination of conidia and the entomopathogenic activity of the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Applieid Biochemistry and Microbiology 42(1): 72-76.

Jackson, M.A., C.A. Dunlap and S.T. Jaronski. 2010. Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. BioControl 55(1): 129-145.

Kershaw, M.J., E.R. Moorhouse, R. Bateman, S.E. Reynolds and A.K. Charnley.1999. The role of destruxins in the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insect. Journal of Invertebrate Pathology 74(3): 213-223.

Milner, R.J., J.A. Staples and G.G. Lutton. 1998. The selection of an isolate of the hyphomycete fungus, *Metarhizium anisopliae*, for control of termites in Australia. Biological Control 11: 240-247.

Onofre, S.B., C.M. Miniuk, N.M. De Barros and J.L. Azevedo. 2001. Growth and sporulation of *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* on culture media and lighting regimes. Scientia Agricola 58(3): 613-616.

Pham, T.T., T.B. Nguyen, T. Dong and T.T. Tran. 1994. Effect of *Beauveria bassiana* Vuill. and *Metarhizium anisopliae* Sorok. on brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal) in Vietnam. International Rice Research Newsletter 19(3): 29.

Post, W.M. and L.K. Mann. 1990. Changes in soil organic carbon and nitrogen as a result of cultivation. pp. 401-406. *In*: A. F. Bowman (ed.). Soils and the Greenhouse Effect. John Wiley & Sons, New York.

Santa, H.S.D., O.R.D. Santa, D. Brand, L.P. de Souza Vandenberghe and C. R. Soccol. 2005. Spore production of *Beauveria bassiana* from agro-industrial residues. Brazilian Archives of Biology and Technology 48: 51-60.

Shi, W.B. and M.G. Feng. 2004. Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. Biological Control 30: 165-173.

Tanada, Y. and H.K. Kaya. 1993. Insect Pathology. Academic Press, New York.

Tulloch, M. 1976. The genus *Metarhizium*. Transactions of the British Mycological Society 66(3): 407-411.

Ying, S.H. and M.G. Feng. 2006. Medium components and culture conditions affect the thermotolerance of aerial conidia of fungal biocontrol agent *Beauveria bassiana*. Letters in Applied Microbiology 43(3): 331-335.

Zimmermann, G. 1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biological agent. Pest Management Science 37(4): 375-379.