

ศักยภาพในการควบคุมหนอนใยผักของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่คัดแยกจากดิน ในจังหวัดอุตรดิตถ์

Potential of Entomopathogenic Fungi Isolated from Soils in Uttaradit Province for Controlling Diamondback Moth Larva

มนัสนิตย์ บุญตุด¹ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ^{2*} ไสว บุรณพานิชพันธุ์¹ และ จิราพร กุลสาริน¹

Manasanid Boontud¹, Weerathep Pongprasert^{2*}, Sawai Buranapanichpan¹ and Jiraporn Kulsarin¹

¹ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

¹Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จ. พิษณุโลก 65000

²Department of Agriculture Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

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

(Received: 11 June 2019; Accepted: 10 July 2019)

Abstract: Diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae), is a serious pest of cruciferae worldwide. Therefore, this study aims to find and screen the effectively entomopathogenic fungi to control diamondback moth from forest soil in Uttaradit province. The total of 36 soil samples from five districts was collected and brought back to the laboratory. *Metarhizium anisopliae* at the amount of 28 isolates was identified and coded the numbers and their sources. The efficacy of those was determined by dipping the 3rd instar larva of diamondback moth in each spore suspension of fungal isolate at the concentration of 10⁸ conidia/ml. The experiment was based on a completely randomized design (CRD) with 3 replications. The result showed that four isolates of *M. anisopliae*; U-NM02, U-LM01, U-PM01 and U-NM05; were high efficacy to control diamondback moth larva with 100% mortality in 4 days after dipping and LT₅₀ were 1.80, 2.08, 2.12 and 2.23 days, respectively.

Keywords: *Metarhizium anisopliae*, diamondback moth, control

บทคัดย่อ: หนอนใยผัก *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญและสร้างความเสียหายให้แก่พืชผักในวงศ์กะหล่ำทั่วโลก ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาและคัดเลือกเชื้อราสาเหตุก่อโรคในแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักจากดินป่าในจังหวัดอุดรธานี ซึ่งได้ทำการเก็บตัวอย่างดินจำนวน 36 ตัวอย่างจาก 5 อำเภอ พบเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* จำนวน 28 ไอโซเลท ทำการแยกลักษณะ และใส่รหัสในแต่ละไอโซเลท ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราแต่ละไอโซเลท โดยจุ่มหนอนใยผักวัยที่ 3 ลงในสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราที่มีความเข้มข้น 10^8 โค尼เตียต่อมิลลิตร แผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ผลการศึกษาพบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 4 ไอโซเลท คือ U-NM02, U-LM01, U-PM01 และ U-NM05 ทำให้หนอนใยผักตายร้อยละ 100 ในวันที่ 4 หลังการจุ่มโดยมีค่า LT_{50} เท่ากับ 1.80, 2.08, 2.12 และ 2.23 วัน ตามลำดับ

คำสำคัญ: *Metarhizium anisopliae* หนอนใยผัก ควบคุม

คำนำ

หนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) เป็นแมลงที่สำคัญของพืชวงศ์กะหล่ำทั่วโลก การเพิ่มขึ้นของพื้นที่การปลูกผัก ทำให้แมลงมีภาระบาดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และรุนแรงมาก ก่อให้เกิดความเสียหายทั้งด้านปริมาณ และคุณภาพของผักเพื่อการบริโภคและส่งออก การควบคุมนิยมใช้สารฆ่าแมลงเป็นหลัก แต่การใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่องเป็นประจำมีผลทำให้แมลงเกิดการต้านทานต่อสารฆ่าแมลงและสามารถถ่ายทอดความต้านทานนี้ผ่านทางพันธุกรรมสู่ลูกหลานได้ (Chawanapong *et al.*, 2002; Furlong *et al.*, 2013; Rowell *et al.*, 2005; Shen *et al.*, 2017; Sripontan, 2016) ในประเทศไทยได้มีการศึกษาผลของสารฆ่าแมลงบางชนิดกับหนอนใยผักในพื้นที่จังหวัดตาก พิษณุโลก เพชรบูรณ์ อุดรธานี และนครสวรรค์ โดยมีจังหวัดเชียงใหม่ และนันทบุรีเป็นแหล่งเปรียบเทียบ พบว่า สารฆ่าแมลงมีผลต่อหนอนใยผักแตกต่างกันไปตามแหล่งพื้นที่อาศัย (Thongcharoen *et al.*, 2009) นอกจากนี้ Shelton *et al.* (1993) ได้รายงานว่าการควบคุมหนอนใยผักบางกลุ่มมีความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* เป็นผลให้ประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณหนอนใยผักต่ำลง

ในปัจจุบันมีการส่งเสริมการลดการใช้สารเคมีฆ่าแมลงอย่างกว้างขวางและแนะนำการใช้จุลินทรีย์ทางการเกษตรทดแทนอย่างต่อเนื่อง เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เป็นหนึ่งในเชื้อจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการควบคุมแมลงหลายชนิด Nguyen and Vo (2007) และ Dong *et al.* (2016) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* ในการเข้าทำลายหนอนใยผักพบว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถเข้าทำลายหนอนใยผักได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้เชื้อราชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วไป และมีรายงานการค้นพบไอโซเลทใหม่ ๆ เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง Lacey *et al.* (2015) ได้รายงานการค้นพบเชื้อราในหลายพื้นที่ เช่น การพบเชื้อราสกุล *Metarhizium* หลายชนิดในแอฟริกาใต้ ออสเตรเลีย และสหรัฐอเมริกา ซึ่งการค้นพบเชื้อราชนิดใหม่ ๆ ที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงสามารถทำได้โดยคัดแยกเชื้อราจากดิน เช่นดินป่าที่มีความชื้นเหมาะสม ทั้งนี้เขตพื้นที่จังหวัดอุดรธานีนั้นมีภูมิประเทศและป่าที่มีความอุดมสมบูรณ์ค่อนข้างมาก (Department of Mineral Resources, 2008) สอดคล้องกับการดำรงชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ รวมทั้งเชื้อราก่อโรคกับแมลง อย่างไรก็ตาม การสำรวจค้นหาเชื้อราก่อโรคกับแมลงในพื้นที่ดังกล่าวมีน้อย ดังนั้นจึงทำการสำรวจคัดแยก และคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพจากดินป่าในพื้นที่จังหวัดอุดรธานีเพื่อใช้ในการควบคุมหนอนใยผักและเป็นทางเลือกในการควบคุมหนอนใยผักให้แก่เกษตรกรต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนใยผัก

เก็บรวบรวมหนอนใยผักจากแปลงปลูกคะน้าในตำบลบึงพระ อำเภอเมืองพิษณุโลก จังหวัดพิษณุโลก คัดเลือกหนอนที่มีความแข็งแรง ไม่มีร่องรอยการเบียนหรือรอยแผล สีสนับนลำตัวไม่คล้ำ หรือใสจนผิดปกติ เลี้ยงเพิ่มปริมาณในกล่องพลาสติกขนาด 15x25x10 เซนติเมตร ให้อาหารด้วยใบคะน้าอายุ 5-7 สัปดาห์ และเปลี่ยนอาหารทุกวัน เมื่อหนอนใยผักเข้าดักแด่ แยกเลี้ยงจนออกเป็นฝัสดู นำสำลีสับน้ำผึ่งซั่มซั่มร้อยละ 10 เป็นอาหารเลี้ยงตัวเต็มวัย ทำการเลี้ยง 3-5 รุ่นให้ได้หนอนวัย 3 เพียงพอต่อการทดสอบ (Sumaetha and Chanbang, 2014)

การเก็บรวบรวมตัวอย่างดินในพื้นที่จังหวัดอุดรดิตถ์

การเก็บรวบรวมตัวอย่างดินภายในพื้นที่ของจังหวัดอุดรดิตถ์ ทั้งหมด 5 อำเภอ คือ อำเภอท่าปลา (ตำบลผาเลือด) อำเภอน้ำปาด (ตำบลน้ำไคร้ และตำบลเด่นขี้เหล็ก) อำเภอพิชัย (ตำบลท่ามะเฟือง และตำบลนายาง) อำเภอปากท่อ (ตำบลสองห้อง และตำบลบ้านเสี้ยว) และอำเภอลับแล (ตำบลชัยภูมิ และตำบลแม่พูล) โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดิน จุดละ 200 กรัม โดยเก็บบริเวณผิวหน้าดินในถุงพลาสติกพร้อมทั้งระบุวัน เวลา และสถานที่ (Razkhanty and Klangsinsirikul, 2017)

การแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์และการจำแนกชนิดเชื้อรา

สุ่มตัวอย่างดินตัวอย่างบริเวณละ 10 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง ที่เติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร เขย่าให้ดินกระจายตัวโดยใช้เครื่องเขย่าสาร เป็นเวลา 25-30 นาที เมื่อดินกระจายตัวดี วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 นาทีเพื่อให้ดินตกตะกอน ใช้ไมโครปิเปตดูดสารแขวนลอยของดิน 1 มิลลิลิตร และใส่ลงไปในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที โดยในขั้นตอนนี้สารแขวนลอยมีระดับค่าความเจือจางอยู่ที่ 10^{-1} โคนิเดียต่อมิลลิลิตร (Kunasakdakul, 2013) เจือจางสารแขวนลอยให้อยู่ที่ 10^{-4} โคนิเดียต่อมิลลิลิตร และดูดสารแขวนลอยขึ้นมา 0.1

มิลลิลิตร spread บนอาหารเลี้ยงเชื้อ sabouraud dextrose agar (SDA) ที่ผสมสารปฏิชีวนะ chloramphenicol 0.5 กรัม thiabendazole 0.001 กรัม และ cycloheximide 0.25 กรัม ต่อลิตร ทำ 3 ซ้ำ ต่อ 1 พื้นที่ (Fernandes *et al.*, 2010; Razkhanty and Klangsinsirikul, 2017) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน ตรวจสอบโคโลนีของเชื้อราที่ขึ้นบนอาหาร คัดแยกเชื้อรา *M. anisopliae* โดยตัดปลายเส้นใยของเชื้อราที่ขึ้นบนอาหาร และย้ายเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA เพื่อเพิ่มปริมาณและทำ slide culture ยืนยันการจำแนกต่อไปตามวิธีการของ Kunasakdakul (2013) และ Humber (2005)

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการควบคุมหนอนใยผัก

เตรียมเชื้อราที่ความเข้มข้น 10^8 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ผสมกับ Tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) 3 ซ้ำ หน่วยทดลองคือ หนอนใยผักวัยที่ 3 จำนวน 10 ตัวต่อหน่วย ทดสอบโดยทำการจุ่มหนอนในสารแขวนลอยของเชื้อราแต่ละไอโซเลท เป็นเวลา 10 วินาที และเลี้ยงด้วยใบคะน้าสดภายในกล่องขนาด 10x10 เซนติเมตร ชุดควบคุมคือน้ำกลั่นผสม Tween 80 ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้ความชื้นร้อยละ 75 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Ismail *et al.*, 2017; Ozturk *et al.*, 2015; Razkhanty and Klangsinsirikul, 2017; Sribunme *et al.*, 2018) บันทึกผลจำนวนหนอนใยผักที่ตาย และมีเส้นใยของเชื้อราขึ้นปกคลุมทุกวัน ตั้งแต่วันที่ 1-15

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ผลอัตราการตายของหนอนใยผักด้วย analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และประเมินประสิทธิภาพของเชื้อราแต่ละไอโซเลทโดยการคำนวณ probit analysis จากระยะเวลานับที่เชื้อราทำให้หนอนใยผักตายร้อยละ 50 (LT_{50})

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเก็บรวบรวมตัวอย่างดินในพื้นที่จังหวัดอุตรดิตถ์

ผลการเก็บตัวอย่างดินในเขตพื้นที่จังหวัดอุตรดิตถ์เพื่อนำมาแยกหาเชื้อราสาเหตุโรคแมลงนั้นพบว่า สามารถเก็บตัวอย่างดินได้ทั้งหมด 36 ตัวอย่าง

การแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์และการจำแนกชนิดเชื้อรา

การแยกเชื้อราจากตัวอย่างดินในพื้นที่จังหวัดอุตรดิตถ์ จำนวน 36 ตัวอย่าง พบว่า สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 34 ไอโซเลท ตรวจสอบลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยา พบเชื้อราที่มีโคโคนีสีเขียว จำนวน 28 ไอโซเลท หลังจากแยกเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA เป็นเวลา 1 วัน พบ โคโคนีสีขาวแนบไปกับผิวหน้าอาหาร เมื่อผ่านไป 7 วัน พบสีเขียวอ่อน-เหลืองขึ้นกลางโคโคนี และเกิดโคนิเดีย ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดย slide culture พบว่าโคนิเดียมีลักษณะเป็นแคปซูล ความยาวประมาณ 6-7 ไมโครเมตร ที่กำลังขยาย 40 เท่า เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้กับ Humber (2005) พบว่าเชื้อราที่แยกได้มีลักษณะตรงกับเชื้อรา *M. anisopliae* เชื้อราดังกล่าวแยกได้จากเขตพื้นที่อำเภอพิชัย 9 ไอโซเลท รหัสไอโซเลท คือ U-PM01 - U-PM09 อำเภอป่าปอ 15 ไอโซเลท รหัสไอโซเลท คือ U-NM01 — U-NM15 อำเภอท่าปลา 3 ไอโซเลท รหัสไอโซเลท คือ U-TM01 - U-TM03 และ อำเภอลับแล 1 ไอโซเลท รหัสไอโซเลท คือ U-LM01 (Table 1)

ผลการทดสอบการคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 28 ไอโซเลทในการควบคุมหนอนใยผักโดยวิธีจุ่ม

หลังจากหนอนใยผักวัยที่ 3 สัมผัสกับเชื้อราเป็นระยะเวลา 3-4 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมทดสอบโดยการใช้ น้ำกลั่นผสม Tween 80 ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 พบว่า ตัวหนอนที่สัมผัสเชื้อราเคลื่อนไหวและกินอาหารน้อยลง ลำตัวเปลี่ยนเป็นสีเหลือง หรือ ชีดจาง

ในขณะที่ชุดควบคุม พบว่า ตัวหนอนเคลื่อนไหวและกินอาหารปกติ สามารถพัฒนาตัวเองไปเป็นตัวเต็มวัยที่สมบูรณ์ได้ หนอนที่ตายจากการเข้าทำลายของเชื้อรา เมื่อเก็บรักษาไว้ระยะเวลาหนึ่ง พบว่า ลำตัวของหนอนแห้งและหดตัวสั้นลง สามารถสังเกตพบเส้นขนบนลำตัวหนอนได้อย่างชัดเจน และบางซากพบโคนิเดียของเชื้อราขึ้นปกคลุมทั่วทั้งลำตัว เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท U-NM02, U-LM01, U-PM01 และ U-NM05 เป็นไอโซเลทของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการควบคุมหนอนใยผัก มีอัตราการตายของหนอนใยผักร้อยละ 100 ในเวลาที่รวดเร็วที่สุด และมีค่า LT_{50} สั้นที่สุด คือ 1.80, 2.08, 2.12 และ 2.23 วัน ตามลำดับ (Table 2) ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Duarte *et al.* (2016) ได้ทำการศึกษาศักยภาพของเชื้อรา *Metarhizium rileyi* ในการเข้าทำลายหนอนใยผัก ในการทดลองให้หนอนใยผักวัยที่ 2 จุ่มสารแขวนลอยสปอร์ 10 มิลลิกรัม เป็นเวลา 1 นาที และพักให้แห้ง ทำการจดบันทึกการตายของหนอนใยผักทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน พบว่า เชื้อรา *M. rileyi* ไอโซเลท LCMAP101 มีร้อยละการตาย 49.52-54.88 และมีค่า LT_{50} อยู่ที่ 52.22 ชั่วโมง หรือประมาณ 2.18 วัน และสอดคล้องกับการศึกษาของ Chui-chai *et al.* (2012) ได้นำเชื้อรา *Metarhizium* sp. มาทดสอบการก่อโรคในหนอนใยผัก โดยใช้หนอนใยผักวัยที่ 2 มาพ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์ 10^8 โคนิเดียต่อมิลลิกรัม พบว่า เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลท M.6079 มีค่า LT_{50} 71.00 ± 1.57 ชั่วโมง หรือประมาณ 1.99 วัน และ เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท BCC1701 มีค่า LT_{50} 52.05 ± 4.02 ชั่วโมง หรือประมาณ 2.17 วัน และคล้ายคลึงกับการทดลองของ Silva *et al.* (2003) ซึ่งได้นำหนอนใยผักวัยที่ 2 พ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์ *M. anisopliae* ไอโซเลท IPA-207 ที่ความเข้มข้น 10^8 โคนิเดียต่อมิลลิกรัม ตรวจสอบอัตราการตายทุกวัน พบว่า ไอโซเลท IPA-207 ทำให้หนอนมีอัตราการตายร้อยละ 96.0 ± 0.57 ค่า LT_{50} 1.4 วัน (Table 2)

Table 1. Locations, number of isolates and isolate codes of *Metarhizium anisopliae* found from forest soil collected from Uttaradit province

Location	Geographic coordinate		Number of isolates	Isolate code
	N	E		
Fak Tha district	17°52'03.70"	100°47'20.90"	-	-
Song Hong subdistrict	17°52'03.50"	100°47'20.30"	-	-
	17°52'03.00"	100°47'28.20"	-	-
	17°55'26.78"	100°48'58.55"	-	-
Ban Siao subdistrict	17°55'27.53"	100°48'58.06"	-	-
	17°55'28.75"	100°48'56.90"	-	-
Laplae district	17°37'43.10"	100°02'17.64"	-	-
Chai Chumphon subdistrict	17°36'44.45"	100°02'28.19"	-	-
	17°36'17.64"	100°02'40.89"	-	-
Mae Phun subdistrict	17°43'47.65"	99°58'37.98"	-	-
	17°43'47.27"	99°58'38.45"	-	-
	17°58'45.72"	99°58'39.81"	1	U-LM01
Nam Pat district	17°36'12.92"	100°31'16.76"	3	U-NM01 - 03
Nam Khrai subdistrict	17°36'12.99"	100°31'16.28"	-	-
	17°36'12.56"	100°31'16.22"	2	U-NM04 - 05
	17°37'31.08"	100°32'26.84"	-	-
	17°37'31.41"	100°32'26.48"	1	U-NM06
	17°37'30.94"	100°32'26.68"	3	U-NM07 - 09
Den Lek subdistrict	17°49'08.00"	100°45'47.60"	1	U-NM10
	17°49'00.80"	100°45'47.16"	3	U-NM11 - 13
	17°49'07.60"	100°45'47.90"	2	U-NM14 - 15
Phichai district	17°14'25.25"	100°01'16.30"	-	-
Tha Mafueang subdistrict	17°14'26.84"	100.01'12.55"	-	-
	17°14'26.53"	100°01'13.34"	1	U-PM01
	17°12'55.79"	100°2'48.80"	5	U-PM02 - 06
	17°12'54.42"	100°2'51.36"	2	U-PM07 - 08
	17°12'48.81"	100°2'51.46"	1	U-PM09
Na Yang subdistrict	17°16'02.30"	100°11.56.29"	-	-
	17°16'02.28"	100°11'57.16"	-	-
	17°16'01.85"	100°11'57.78"	-	-
Tha Pla district	17°44'18.50"	100°26'31.32"	-	-
Pha Lueat subdistrict	17°44'18.22"	100.26'31.43"	1	U-TM01
	17°44'17.90"	100°26'30.57"	-	-
	17°43'16.51"	100°22'40.65"	-	-
	17°43'17.01"	100°22'38.16"	2	U-TM02 - 03
	17°43'16.92"	100°22'38.57"	-	-

Remarks: F = Fak Tha, L = Laplae, M = *M. anisopliae*, N = Nam Pat, P = Phichai, T = Tha Pla, U = Uttaradit

Table 2. Average of mortality percentage and LT₅₀ of 3rd instar larva of diamondback moth after contacting 28 isolates of *Metarhizium anisopliae* at concentration of 10⁸ conidia/ml

Isolate	Mortality percentage of 3 rd instar larva ¹						LT ₅₀ within 4 days
	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	
U-LM01	16.67 ^{ab}	36.67 ^{ab}	70 ^{ab}	100 ^a	100 ^a	100 ^a	2.08
U-NM01	13.33 ^{abc}	26.67 ^{bc}	53.33 ^{bc}	73.33 ^{bc}	80 ^c	100 ^a	2.63
U-NM02	20 ^a	46.67 ^a	80 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	1.80
U-NM03	6.67 ^{bc}	13.33 ^c	36.67 ^c	56.67 ^c	80 ^c	100 ^a	3.45
U-NM04	6.67 ^{bc}	23.33 ^{bc}	36.67 ^c	56.67 ^c	80 ^c	100 ^a	3.12
U-NM05	10 ^{abc}	36.67 ^{ab}	80 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	2.23
U-NM06	3.33 ^c	13.33 ^c	40 ^c	66.67 ^{bc}	86.67 ^{bc}	100 ^a	2.70
U-NM07	6.67 ^{bc}	26.67 ^{bc}	40 ^c	66.67 ^{bc}	86.67 ^{bc}	100 ^a	2.99
U-NM08	16.67 ^{ab}	26.67 ^{bc}	53.33 ^{bc}	76.67 ^b	90 ^{abc}	100 ^a	2.58
U-NM09	13.33 ^{abc}	23.33 ^{bc}	43.33 ^c	66.67 ^{bc}	86.67 ^{bc}	100 ^a	2.74
U-NM10	10 ^{abc}	23.33 ^{bc}	46.67 ^c	73.33 ^{bc}	86.67 ^{bc}	100 ^a	2.40
U-NM11	13.33 ^{abc}	23.33 ^{bc}	43.33 ^c	66.67 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.62
U-NM12	13.33 ^{abc}	23.33 ^{bc}	46.67 ^c	66.67 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.49
U-NM13	13.33 ^{abc}	23.33 ^{bc}	53.33 ^{bc}	70 ^{bc}	86.67 ^{bc}	100 ^a	2.57
U-NM14	13.33 ^{abc}	26.67 ^{bc}	50 ^c	66.67 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.43
U-NM15	3.33 ^c	16.67 ^c	43.33 ^c	70 ^{bc}	86.67 ^{bc}	100 ^a	2.47
U-PM01	16.67 ^{ab}	36.67 ^{ab}	73.33 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	2.12
U-PM02	3.33 ^c	13.33 ^c	36.67 ^c	63.33 ^{bc}	90 ^{abc}	100 ^a	2.64
U-PM03	6.67 ^{bc}	20 ^{bc}	46.67 ^c	70 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.61
U-PM04	6.67 ^{bc}	26.67 ^{bc}	46.67 ^c	73.33 ^{bc}	93.33 ^{ab}	100 ^a	2.48
U-PM05	3.33 ^c	36.67 ^{ab}	40 ^c	66.67 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.42
U-PM06	10 ^{abc}	26.67 ^{bc}	53.33 ^{bc}	66.67 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.48
U-PM07	6.67 ^{bc}	26.67 ^{bc}	43.33 ^c	70 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.65
U-PM08	6.67 ^{bc}	16.67 ^c	40 ^c	63.33 ^{bc}	80 ^c	100 ^a	2.48
U-PM09	6.67 ^{bc}	30 ^{bc}	46.67 ^c	66.67 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.59
U-TM01	6.67 ^{bc}	23.33 ^{bc}	40 ^c	60 ^{bc}	80 ^c	100 ^a	3.08
U-TM02	16.67 ^{ab}	20 ^{bc}	43.33 ^c	63.33 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.66
U-TM03	13.33 ^{abc}	26.67 ^{bc}	53.33 ^{bc}	73.33 ^{bc}	90 ^{abc}	100 ^a	2.44

¹ Means within the same column followed by different letters showed significant difference between treatments by DMRT ($P \leq 0.05$)

สรุป

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจากดินแหล่งต่าง ๆ ในจังหวัดอุดรธานี พบว่าสามารถแยกเชื้อรา *M. anisopliae* ได้ 28 ไอโซเลท จากดินทั้งหมด 36 ตัวอย่าง ใน 5 อำเภอ นำเชื้อราทั้งหมดมาทำการทดสอบกับหนอนใยผักวัยที่ 3 โดยวิธีจุ่ม ที่ความเข้มข้น 10^8 โคเนดีย์ต่อมิลลิลิตร พบว่า เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักได้ดีที่สุด คือ ไอโซเลท U-NM02, U-LM01, U-PM01 และ U-NM05 ซึ่งพบการตายของหนอนใยผักร้อยละ 100 ในวันที่ 4 และมีค่า LT_{50} เท่ากับ 1.80, 2.08, 2.12 และ 2.23 วัน ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

- Chawanapong, M., W. Plodkornburee, D. Wechakit, J. Ekamnuay, O. Wisessang, S. Kongsangdao, J. Poomongkutchai and S. Khamiam. 2002. Trial for integrated pests control on Chinese kale. Entomology and Zoology Gazette 24(2): 85-99. (in Thai)
- Chui-chai, N., P. Krutmuang, S. Nalumpang, S. Mekchay, C. Khanongnuch and Y. Chanbang. 2012. Insecticidal activity and cuticle degrading enzymes of entomopathogenic fungi against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). CMU Journal of Natural Sciences 11(1): 147-155.
- Department of Mineral Resources. 2008. Area Classification for Mineral Resource Management. Advance Vision Service Ltd., Bangkok. 97 p. (in Thai)
- Dong, T., B. Zhang, Q. Weng and Q. Hu. 2016. The production relationship of destruxins and blastopores of *Metarhizium anisopliae* with virulence against *Plutella xylostella*. Journal of Integrative Agriculture 15(6): 1313-1320.
- Duarte, R.T., K.C. Goncalves, D.J.L. Espinosa, L.F. Moreira, S.A. De Bortoli, R.A. Humber and R.A. Polanczyk. 2016. Potential of entomopathogenic fungi as biological control agents of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and compatibility with chemical insecticides. Journal of Economic Entomology 109(2): 594-601.
- Fernandes, E.K.K., C.A. Keyser, D.E.N. Rangel, R.N. Foster and D.W. Roberts. 2010. CTC medium: A novel dodine-free selective medium for isolating entomopathogenic fungi, especially *Metarhizium acridum*, from soil. Biological Control 54: 197-205.
- Furlong, M.J, D.J. Wright and L.M. Dosdall. 2013. Diamondblack moth ecology and management: problems, progress, and prospects. Annual Review of Entomology 58: 517-541.
- Humber, R.A. 2005. Entomopathogenic fungal identification. (Online). Available: <https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/80620520/apswkshoprev.pdf> (May 29, 2018).
- Ismail, M., W. Wakil, N.H. Bashir, W. ul Hassan and U.W. Muhammad. 2017. Entomocidal effect of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and new chemistry insecticides against *Spodoptera litura* (Fabricius) (Noctuidae: Lepidoptera) under controlled conditions. International Journal of Agriculture Innovations and Research 5(6): 1056-1061.
- Kunasakdakul, K. 2013. Plant Pathology Techniques. Chiang Mai University Press, Chiang Mai. 212 p. (in Thai)
- Lacey, L.A., D. Grzywacz, D.I. Shapiro-Ilan, R. Frutos, M. Brownbridge and M.S. Goettel. 2015. Insect pathogens as biological control

- agents: Back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology* 132: 1-41.
- Nguyen, L.T. and C.T.B. Vo. 2007. Biocontrol potential of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Omonrice* 15: 86-93.
- Ozturk, H.E., O. Guven and I. Karaca. 2015. Effects of some bioinsecticides and entomopathogenic fungi on Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* L.). *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* 80(2): 205-211.
- Razkhanty, K. and S. Klangsinsirikul. 2017. Screening of potential insect pathogenic fungi for controlling cabbage aphid (*Lipaphis erysimi*). *King Mongkut's Agricultural Journal* 35(2): 65-75. (in Thai)
- Rowell, B., N. Bunsong, K. Sathaporn, S. Phithamma and C. Doungsa-ard. 2005. Hymenopteran parasitoids of diamondback moth (Lepidoptera: Ypeuonutidae) in northern Thailand. *Journal of Economic Entomology* 98(2): 449-456.
- Shelton, A.M., J.L. Robertson, J.D. Tang, C. Perez, S.D. Eigenbrode, H.K. Preisler, W.T. Wilsey and R.J. Cooley. 1993. Resistance of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) to *Bacillus thuringiensis* subspecies in the field. *Journal of Economic Entomology* 86(3): 697-705.
- Shen, J., D. Lin, S. Zhang, X. Zhu, H. Wan and J. Li. 2017. Fitness and inheritance of metaflumizone resistance in *Plutella xylostella*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 139: 53-59.
- Silva, V.C.A., R. Barros, E.J. Marques and J.B. Torres. 2003. Susceptibility of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) to the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Neotropical Entomology* 32(4): 653-658.
- Sribunme, N., W. Pongprasert, S. Buranapanichpan, P. Sinchayakul and J. Kulsarin. 2018. Efficacy of some carriers to preserve *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 for controlling brown planthopper. *Journal of Agriculture* 34(2): 227-234. (in Thai)
- Sripontan, Y. 2016. Comparisons on the development of cutworm, *Spodoptera litura* (F.) and diamondback moth, *Plutella xylostella* L. reared on three varieties of cruciferous plants. *Songklanakarin Journal of Plant Science* 3(Suppl. 3): 56-62. (in Thai)
- Sumaetha, K. and Y. Chanbang. 2014. Fitness cost of resistance to diamide insecticide in diamondback moth. *Journal of Agriculture* 30(1): 29-37. (in Thai)
- Thongcharoen, K., W. Pongprasert, S. Buranapanichpan and J. Tayutivutikul. 2009. Efficiency of certain insecticides on diamondback moth in lower northern Thailand. *Journal of Agriculture* 25(3): 245-255. (in Thai)