

การคัดเลือกเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*
(Metschnikoff) Sorokin
ที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว
Screening on Potential *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff)
Sorokin for Controlling Brown Planthopper in
Paddy Field

อารยา บุญศักดิ์^{1/} วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ^{1/*} ไสว บุรณพานิชพันธุ์^{2/} และ จิราพร กุลสาริน^{2/}
Araya Bunsak^{1/}, Weerathep Pongprasert^{1/*}, Sawai Buranapanichpan^{2/} and Jiraporn Kulsarin^{2/}

(Received: 23 December 2014; Accepted: 16 June 2015)

Abstract: The objectives of this research were to search for entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin against brown planthopper (BPH), screen for potential isolates to control BPH and evaluate specificity of selected isolates. The BPH sample infected by *M. anisopliae* was collected from rice paddy fields in Pichit province, and then spreaded on media. The total of 50 fungal colonies (isolates) were sampled, numbered from MRT-PCH-01-01 to MRT-PCH-01-50 and applied on seedlings of susceptible rice variety, Taichung Native 1 (TN1), at the concentration of 10^8 conidia/ml. Subsequently, the total of 30 BPH nymphs (3rd instars) were released into each experimental unit. The experiment was based on completely randomized design with 4 replications. The total of 4 isolates: MRT-PCH-01-03, MRT-PCH-01-08, MRT-PCH-01-38 and MRT-PCH-01-48, were the highest potential caused 100% BPH mortality within 6 days after exposed to the fungi. The median lethal times (LT_{50}) of those isolates against BPH nymph were 3.38, 3.24, 3.31 and 3.12 days, respectively. Then the specificity of all four isolates on insect pests and natural enemies found in rice paddy fields were determined. The result revealed that *Recilia dorsalis* (Motschulsky), *Nephotettix* spp. and *Aiolopus* sp. were found infected, meanwhile others natural enemies and rice insect pests were not infected.

Keywords: *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, brown planthopper, host specificity

^{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 จ.เชียงใหม่ 50200

^{2/} Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. Chiang Mai 50200, Thailand

* Corresponding author: E-mail address: weerathepp@nu.ac.th

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้คือ ค้นหาเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin ที่ก่อโรคกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล คัดเลือกเชื้อที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และทดสอบความเฉพาะเจาะจงของเชื้อกับแมลงต่าง ๆ ในนาข้าว ชากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ถูกเชื้อราเขียวลงทำลายได้ถูกค้นพบจากพื้นที่นาจังหวัดพิจิตร ทำการแยกเชื้อราเขียวให้บริสุทธิ์ สุ่มเลือกโคลนเชื้อราเขียวจำนวน 50 ไอโซเลต ใส่รหัสเรียงจาก MRT-PCH-01-01 ถึง MRT-PCH-01-50 และฟอสฟอรัสแวนดอลของเชื้อแต่ละไอโซเลตที่ระดับความเข้มข้น 10^6 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ลงบนต้นข้าวไทซุงเนทีฟ 1 (TN1) ปลอ่ยตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวัยที่ 3 จำนวน 30 ตัวต่อหน่วยทดลอง ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำ 4 ซ้ำ พบเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 4 ไอโซเลต คือ MRT-PCH-01-03, MRT-PCH-01-08, MRT-PCH-01-38 และ MRT-PCH-01-48 สามารถทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายทั้งหมดได้ภายใน 6 วันหลังจากสัมผัสเชื้อรา โดยระยะเวลาที่ทำให้เพลี้ยตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LT_{50}) คือ 3.38, 3.24, 3.31 และ 3.12 วัน ตามลำดับ จากนั้นทำการ ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลต กับแมลงในนาข้าว พบว่า เชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลต สามารถลงทำลาย เพลี้ยจักจั่นปีกลายหยัก เพลี้ยจักจั่นสีเขียว และด้งแตนข้าว และไม่พบการลงทำลายแมลงศัตรูธรรมชาติ และแมลงศัตรูข้าวอื่น ๆ

คำสำคัญ: เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ความเฉพาะเจาะจง

คำนำ

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* (Stål) (Hemiptera: Delphacidae) จัดว่าเป็นแมลงศัตรูข้าวที่มีความสำคัญที่สุดในเอเชีย สามารถทำลายข้าวได้หลายสายพันธุ์ โดยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลดูดกินน้ำเลี้ยง ทำให้ต้นข้าวมีอาการเหี่ยวและแห้งตาย (hopperburn) (Hill, 1996) นอกจากนี้ยังเป็นแมลงพาหะถ่ายทอดเชื้อไวรัสโรคเขียวเตี้ย และโรคจู๋ข้าวด้วย (Reissig *et al.*, 1986) การควบคุมมักนิยมใช้สารฆ่าแมลงเป็นหลักเนื่องจากให้ผลรวดเร็ว และชัดเจน (สำนวน และวีรเทพ, 2548) แต่สารฆ่าแมลงทุกชนิดมีผลกระทบต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อมเป็นอย่างมาก และเป็นสาเหตุสำคัญในการทำให้สมดุลธรรมชาติเสียหาย การควบคุมแมลงโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถให้ผลในการควบคุมแมลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เชื้อราเขียว (*Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin) เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยในนาข้าวได้ (จริยา และคณะ, 2529; เพชรหทัย และคณะ, 2546) สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีความชื้นสูง สอดคล้องต่อสภาพที่อยู่อาศัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ที่ดำรงชีพด้วยการดูดน้ำเลี้ยงอยู่บริเวณโคนต้นข้าว ที่สำคัญเชื้อราเขียวค่อนข้างมีความเฉพาะเจาะจงกับกลุ่มของแมลงมาก การใช้เชื้อราเขียวในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจึงมีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อมมาก มีความเป็นไปได้สูงมากในการทดแทนการใช้สารฆ่าแมลง อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการก่อโรคและความรุนแรงของเชื้อราเขียวกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ยังมีความแตกต่าง ตั้งแต่ร้อยละ 30-90 (Bandara and Ahangama, 1994; Pham *et al.*, 1994) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อราเขียวและสภาพแวดล้อมของพื้นที่เป็นหลัก (Burge, 1988)

ดังนั้นการค้นหาและคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราเขียวที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากแหล่งธรรมชาติจึงมีความสำคัญมาก เพื่อนำไปสู่การใช้ประโยชน์จากเชื้อที่พบได้อย่างถูกต้องเหมาะสมและยั่งยืน (Burge, 1988; Keller *et al.*, 2003) ในกรณีนี้ คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการเก็บรวบรวมเชื้อราเขียวที่ก่อโรคกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากสภาพธรรมชาติ และทำการคัดเลือก สายพันธุ์ที่มีศักยภาพ เพื่อใช้ประโยชน์ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยชีววิธีในนาข้าวภาคเหนือตอนล่างต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การค้นหาซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ถูกเชื้อราลงทำลาย

สำรวจ และเก็บรวบรวมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบเป็นโรคหรือถูกทำลายโดยเชื้อรา จากพื้นที่สำรวจตามนาชลประทานในเขตภาคเหนือตอนล่าง การดำเนินการประกอบด้วย 2 วิธีการ กรณีแรกเป็นการสำรวจในพื้นที่ที่มีการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นจำนวนมาก ใช้การสุ่มตัวอย่างแบบง่าย (simple random sampling) เก็บตัวอย่างจำนวน 4 ซ้ำ ขนาดพื้นที่สุ่ม 1x1 ตารางเมตร กรณีที่สองเป็นการเก็บรวบรวมแบบเจาะจงซึ่งเกิดจากการพบเชื้อราที่ลงทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาของเกษตรกร ทั้งโดยบังเอิญและโดยการกำหนดพื้นที่สำรวจ

การแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์

แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ โดยแยกเชื้อจากตัวแมลงทุกตัวผสมในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 100 ml เพาะเลี้ยงโดยวิธีการ streak-plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่ฉาบผิวด้วย Ampicillin 500 mg/L บ่มในสภาพภายใต้อุณหภูมิห้องเฉลี่ยประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเชื้อเจริญดี จึงคัดเลือกเชื้อและสุ่มเก็บตัวอย่างเชื้อ 50 ไอโซเลต รวมเป็นประชากรของเชื้อในแต่ละจุดที่ทำการเก็บตัวอย่าง ใส่รหัสของเชื้อตามแหล่งที่พบ และหมายเลขโคโลนีที่สุ่มเลือกเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บเป็น germ stock ที่ -20 องศาเซลเซียส (เพชรหทัย, 2547; Samson *et al.*, 1988)

เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

เก็บรวบรวมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากแปลงนาเกษตรกร ในเขตภาคเหนือตอนล่าง คัดกรองเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลให้มีความบริสุทธิ์ (purified population) ปราศจากศัตรูธรรมชาติ และเชื้อโรคที่ติดต่อกับแมลงทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนต้นข้าวพันธุ์ Taichung Native 1 (TN1) (Pathak *et al.*, 1982) ให้มีปริมาณมากเพียงพอต่อการทดสอบในขั้นต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อราเขียว ทั้ง 50 ไอโซเลตโดยแยกเชื้อจาก stock เชื้อราเขียวที่เก็บรวบรวมได้ ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ฉาบผิวด้วย Ampicillin 500 mg/L บ่มเชื้อที่ระดับอุณหภูมิห้อง จนได้โคโลนีที่ฟูเต็มอาหารเลี้ยงเชื้อ นำเชื้อราเขียวทั้ง 50 ไอโซเลต ทดสอบการก่อโรคกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) ใช้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวัยที่ 3 จำนวน 30 ตัวต่อหน่วยทดลอง ทำ 4 ซ้ำ โดยทำการพ่นเชื้อราที่ความเข้มข้น 10^8 conidia/ml ลงบนต้นข้าวทดสอบ TN1 ด้วยเครื่องพ่นแรงดันอากาศ ทั้งวันเป็นเวลา 10 นาที และปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย เพาะเลี้ยงภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ 75% ที่ระดับอุณหภูมิห้อง ปรับปรุงวิธีการจาก Aguda *et al.* (1988), Lacey (1997), Srisukchayakul *et al.* (2005), Trizelia and Nurdin (2010) และ ภัทรดนัย และคณะ (2557) บันทึกอัตราการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทุกวันจนครบ 7 วัน หลังจากปลดปล่อย คัดเลือกเชื้อราเขียวที่มีศักยภาพสูง

การทดสอบความเฉพาะเจาะจงของเชื้อราเขียวต่อการควบคุมแมลงนาข้าว

เพาะเลี้ยงแมลงที่พบในนาข้าว รวบรวมจากพื้นที่นาตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก ด้วยข้าวพันธุ์ TN1 อายุ 4 สัปดาห์ จำนวน 1 กอ ในกรงพลาสติกขนาด 30x30x75 เซนติเมตร พ่นเชื้อราเขียวที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากการศึกษาข้างต้น โดยมีเชื้อราเขียวจากที่ผลิตเป็นการค้าชื่อ เมตาไรเซียมTM และน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ ในรูปสปอร์แขวนลอยของเชื้อราที่ระดับความเข้มข้น 10^8 conidia/ml ทำ 4 ซ้ำ เพาะเลี้ยงแมลงภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ 50% ที่อุณหภูมิห้อง (Lacey, 1997) ตรวจสอบการเกิดโรคของแมลงชนิดต่าง ๆ บันทึกที่กักผล คัดเลือกเชื้อราเขียวที่มีความเฉพาะสูงเพื่อศึกษาในขั้นต่อไป

วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ผลด้วย analysis of variance เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยใช้ Duncan's new multiple range test (DMRT) และประเมินประสิทธิภาพของเชื้อแต่ละโคโลนี โดยใช้การคำนวณ probit analysis จากระยะเวลาที่สั้นที่สุดที่เชื้อราทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 50 (LT_{50})

ผลการวิจัย

ผลการค้นหาซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ถูกเชื้อราลงทำลาย พบซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลถูกเชื้อราเขียว (*M. anisopliae*) ลงทำลายจากพื้นที่จังหวัดพิจิตร จำนวน 1 ตัว ทำการจดจำแนกเชื้อรา 50 ไอโซเลต ใส่รหัสแต่ละไอโซเลต ตั้งแต่ MRT-PCH-01-01 ถึง MRT-PCH-01-50 และจัดเก็บเป็นตัวอย่างเชื้อราเพื่อใช้ทดสอบต่อไป

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวทั้ง 50 ไอโซเลต กับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพอุณหภูมิห้อง พบว่ามีเชื้อรา เพียง 4 ไอโซเลต คือ ไอโซเลต MRT-PCH-01-03, MRT-PCH-01-08, MRT-PCH-01-38 และ MRT-PCH-01-48 สามารถทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 100% ภายใน 6 วัน หลังสัมผัสเชื้อราเขียว โดยหลังจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสัมผัสเชื้อราเขียวมีผลทำให้เกิดอัตราการตายสะสมเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจากวันที่ 1 ถึง วันที่ 6 มีลักษณะเป็นแบบ sigmoid curve ทั้ง 4 ไอโซเลต (ภาพที่ 1) โดยในวันที่ 1 หลังจากสัมผัสเชื้อพบว่าเชื้อราไอโซเลต MRT-PCH-01-48 สามารถทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายมากที่สุด มีอัตราการตายร้อยละ 10.68 ± 0.42 รองลงมาคือไอโซเลต MRT-PCH-01-08, MRT-PCH-01-38 และ MRT-PCH-01-03 มีอัตราการตายร้อยละ 9.24 ± 0.40 , 8.20 ± 2.18 และ 6.48 ± 0.97 ตามลำดับ และผลที่เกิดขึ้นในวันที่ 2, 3 และ 4

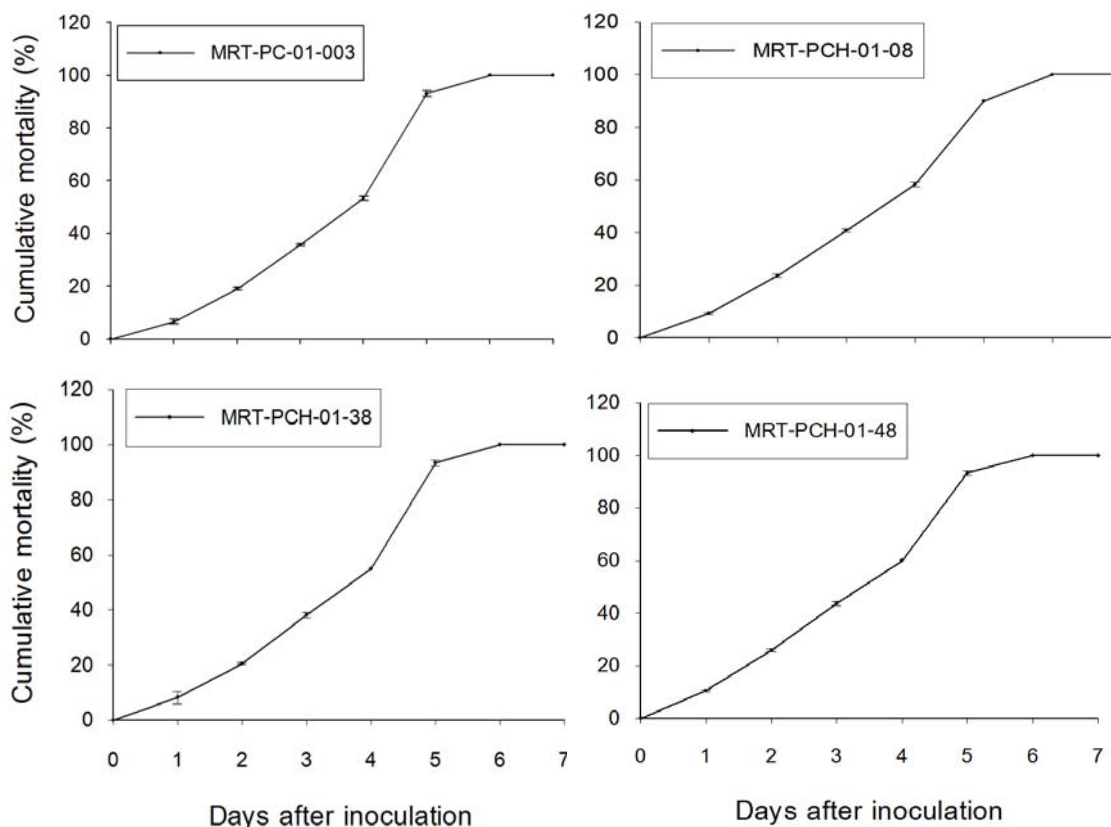


Figure 1 Trend of cumulative mortality (%) of *Nilaparvata lugens* (Stål) on 1-7 days after contacted to four *Metarhizium anisopliae* isolates, MRT-PCH-01-03, MRT-PCH-01-08, MRT-PCH-01-38 and MRT-PCH-01-48 at the concentration of 10^8 conidia/ml and 75% RH

มีทิศทางการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกันกับที่พบในวันที่ 1 แต่ในวันที่ 5 หลังสัมผัสเชื้อพบว่า MRT-PCH-01-38, MRT-PCH-01-48 และ MRT-PCH-01-03 มีอัตราการตายสูงถึงร้อยละ 93.32 $\pm$ 0.89, 93.32 $\pm$ 0.89 และ 93.04 $\pm$ 1.12 ตามลำดับ และ ไอโซเลต MRT-PCH-01-08 พบอัตราการตายต่ำสุดที่ร้อยละ 90.00 $\pm$ 0.00 เท่านั้น ในขณะที่วันที่ 6 หลังสัมผัสเชื้อพบว่าทุกไอโซเลตให้ผลอัตราการตายสูงที่สุดเท่ากันคือร้อยละ 100 (ตารางที่ 1)

เมื่อทำการวิเคราะห์ ระยะเวลาที่เชื้อราทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 50 (LT_{50}) พบว่าเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลต สามารถทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 50 (LT_{50}) รวดเร็วที่สุดคือไอโซเลต MRT-PCH-01-48

ใช้ระยะเวลา 3.12 วัน รองลงมาคือไอโซเลต MRT-PCH-01-08, MRT-PCH-01-38 และ MRT-PCH-01-03 สามารถทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 50 (LT_{50}) ภายใน 3.24, 3.31 และ 3.38 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

การทดสอบความเฉพาะเจาะจงของเชื้อราเขียวต่อการควบคุมแมลงนาข้าวพบว่าเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลตสามารถลงทำลายแมลงศัตรูข้าวได้หลายชนิด คือ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นปีกลายหยัก เพลี้ยจักจั่นสีเขียว และด้งแตงข้าว (ตารางที่ 3) และเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลตไม่พบความสามารถในการทำลายแมลงศัตรูธรรมชาติ ส่วนเชื้อราเมตาไรเซียมทางการค้าทั้ง 2 ชนิด ไม่พบความสามารถในการทำลายแมลงนาข้าวทั้งแมลงศัตรูข้าว และแมลงศัตรูธรรมชาติ

Table 1 Cumulative mortality (%) $\pm$ SE of *Nilaparvata lugens* (Stål) on 1-6 days after contacted to four *Metarhizium anisopliae* isolates at the concentration of 10^8 conidia/ml and 75% RH

Isolates	%Cumulative mortality $\pm$ SE/Days					
	1	2	3	4	5	6
MRT-PCH-01-03	6.48 $\pm$ 0.97b	19.03 $\pm$ 0.48c	35.70 $\pm$ 0.52c	53.33 $\pm$ 0.88b	93.04 $\pm$ 1.12a	100.00 $\pm$ 0.00a
MRT-PCH-01-08	9.24 $\pm$ 0.40ab	23.67 $\pm$ 0.70b	40.83 $\pm$ 0.90b	58.33 $\pm$ 0.88a	90.00 $\pm$ 0.00b	100.00 $\pm$ 0.00a
MRT-PCH-01-38	8.20 $\pm$ 2.18ab	20.56 $\pm$ 0.35c	38.10 $\pm$ 1.01c	55.00 $\pm$ 0.00b	93.32 $\pm$ 0.89a	100.00 $\pm$ 0.00a
MRT-PCH-01-48	10.68 $\pm$ 0.42a	25.89 $\pm$ 0.55a	43.63 $\pm$ 0.72a	60.00 $\pm$ 0.00a	93.32 $\pm$ 0.89a	100.00 $\pm$ 0.00a

Note: Means with same letter in the same column are not significantly different ($P > 0.05$), by ANOVA followed by DMRT

Table 2 The LT_{50} (days) of *Metarhizium anisopliae* isolates MRT-PCH-01-03, MRT-PCH-01-08, MRT-PCH-01-38 and MRT-PCH-01-48 at the concentration of 10^8 conidia/ml and 75% RH on *Nilaparvata lugens* (Stål)

Isolates	LT_{50} $\pm$ SE (days)
MRT-PCH-01-03	3.38 $\pm$ 0.05
MRT-PCH-01-08	3.24 $\pm$ 0.04
MRT-PCH-01-38	3.31 $\pm$ 0.05
MRT-PCH-01-48	3.12 $\pm$ 0.05

Table 3 Species of Rice Insect Pests and Natural Enemies infected by 4 fungal isolates of MRT-PCH-01-03, MRT-PCH-01-08, MRT-PCH-01-38 and MRT-PCH-01-48 and 2 commercial products

Rice Insect pests / natural enemies	Infected insects					
	MRT- PCH- 01-03	MRT- PCH- 01-08	MRT- PCH- 01-38	MRT- PCH- 01-48	<i>M. anisopliae</i> TM	<i>M. flavoviride</i> TM
<i>Dicladispa armigera</i> (Olivier)	-	-	-	-	-	-
<i>Orseolia oryzae</i> (Wood-Mason)	-	-	-	-	-	-
<i>Leptocorisa oratorius</i> (Fabricius)	-	-	-	-	-	-
<i>Nilaparvata lugens</i> (Stål)	√	√	√	√	-	-
<i>Scotinophara coarctata</i> (Fabricius)	-	-	-	-	-	-
<i>Recilia dorsalis</i> (Motschulsky)	√	√	√	√	-	-
<i>Cofana spectra</i> (Distant)	-	-	-	-	-	-
<i>Nephotettix nigropictus</i> (Stål)	-	√	-	-	-	-
<i>Spodoptera mauritia</i> (Boisduval)	-	-	-	-	-	-
<i>Scirpophaga incertulas</i> (Walker)	-	-	-	-	-	-
<i>Chilo polychrysus</i> (Meyrick)	-	-	-	-	-	-
<i>Nymphula depunctalis</i> (Guenée)	-	-	-	-	-	-
<i>Cnaphalocrocis medinalis</i> (Guenée)	-	-	-	-	-	-
<i>Locusta migratoria manilensis</i> (Meyen)	-	-	-	-	-	-
<i>Oxya japonica japonica</i> (Thunberg)	-	-	-	-	-	-
<i>Stenchaetothrips biformis</i> (Bagnall)	-	-	-	-	-	-
<i>Aiolopus</i> sp.	√	√			-	-
<i>Ophionea ishii ishii</i> (Habu)	-	-	-	-	-	-
<i>Coccinella transversalis</i> Fabricius	-	-	-	-	-	-
<i>Micraspis discolor</i> (Fabricius)	-	-	-	-	-	-
<i>Paederus fuscipes</i> Curtis	-	-	-	-	-	-
<i>Cyrtorhinus lividipennis</i> (Reuter)	-	-	-	-	-	-
<i>Tytthus chinensis</i> (Stål)	-	-	-	-	-	-
<i>Polytoxus</i> sp.	-	-	-	-	-	-
<i>Odontoponera transversa</i> (Smith)	-	-	-	-	-	-
<i>Ochthera brevitibialis</i> (de Meijere)	-	-	-	-	-	-
<i>Agriocnemis femina femina</i> (Brauer)	-	-	-	-	-	-
<i>Agriocnemis pygmaea</i> (Rambur)	-	-	-	-	-	-
<i>Elatoneura caesia</i> (Hagen)	-	-	-	-	-	-
<i>Conocephalus longipennis</i> (de Haan)	-	-	-	-	-	-
<i>Metioche vittaticolis</i> (Stål)	-	-	-	-	-	-
<i>Medetera</i> sp.	-	-	-	-	-	-

Table 3 (Continued)

Rice Insect pests / natural enemies	Infected insects					
	MRT- PCH- 01-03	MRT- PCH- 01-08	MRT- PCH- 01-38	MRT- PCH- 01-48	<i>M. anisopliae</i> TM	<i>M. flavoviride</i> TM
<i>Syntormon</i> sp.	-	-	-	-	-	-
<i>Pipunculus</i> sp.	-	-	-	-	-	-
<i>Argyrophyllax nigrotibialis</i> (Baranov)	-	-	-	-	-	-
<i>Bracon</i> sp.	-	-	-	-	-	-
<i>Apanteles</i> sp.	-	-	-	-	-	-
<i>Copidosomopsis</i> sp.	-	-	-	-	-	-
<i>Xanthopimpla flavolineata</i> (Cameron)	-	-	-	-	-	-
<i>Temelucha philippinensis</i> Ashmead	-	-	-	-	-	-
<i>Pardosa pseudoannulata</i> (Bösenberg and Strand)	-	-	-	-	-	-
<i>Oxyopes lineatus</i> Latreille	-	-	-	-	-	-
<i>Tetragnatha javana</i> (Thorell)	-	-	-	-	-	-
<i>Tetragnatha maxillosa</i> Thorell	-	-	-	-	-	-
<i>Tetragnatha nitens</i> (Audouin)	-	-	-	-	-	-

วิจารณ์

จากผลการวิจัยพบว่าเชื้อราเขียวที่ผ่านการคัดเลือกทั้ง 4 ไอโซเลต สามารถลงทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ สอดคล้องกับผลการวิจัยของ อรุณี และ นฤมล (2537) และ Bandara and Ahangama (1994) โดยความเข้มข้นของเชื้อที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้อย่างมีประสิทธิภาพคือ 10^8 conidia/ml สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Pham et al. (1994) ที่พบว่าเมื่อใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ที่ความเข้มข้น 10^6 - 10^8 conidia /ml สามารถป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดี เชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลต สามารถฆ่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายได้อย่างรวดเร็วภายใน 1 วัน และให้ผลชัดเจนคือเพลี้ยตายทั้งหมดภายใน 6 วันหลังจากสัมผัสเชื้อรา โดยมีระยะเวลาที่ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายสะสมที่ร้อยละ 50 ในช่วง 3.12-3.38 วัน รวดเร็วกว่าเชื้อราเขียวโดยทั่วไป ที่มักพบว่ามีค่า LT_{50} อยู่ที่ 9 ถึง 10 วัน (Geng and Zhang, 2004)

จากผลการวิจัยเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลตมีแนวโน้มในการนำมาใช้ประโยชน์ในอนาคตได้ อย่างไรก็ตาม การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระบบนิเวศเกษตรที่ความหลากหลายทางชีวภาพสูง เช่น นาข้าว นั้น ควรมีการศึกษาถึงผลกระทบต่อแมลงชนิดอื่นที่อาศัยอยู่ในนาข้าวเพิ่มเติมเพื่อคัดเลือกเชื้อที่มีความเหมาะสมสามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างแท้จริงและยั่งยืน (Burge, 1988) ในการนี้จึงได้ทำการทดสอบความเฉพาะเจาะจงของเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลต กับแมลงในนาข้าวเพิ่มเติม พบว่าเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลตนั้นมีความเฉพาะเจาะจงกับแมลงศัตรูข้าวในกลุ่มเพลี้ยกระโดดและเพลี้ยจักจั่น (เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นปีกกลายหยัก เพลี้ยจักจั่นสีเขียว) และด้กแตนหนวดสั้น ไม่พบการลงทำลายแมลงศัตรูข้าวอื่น ๆ เช่น หนอนห่อใบ หนอนม้วนใบ แมลงห่อใบ แมลงสิง หนอนหน้าแมว แมลงบัวรวมทั้งศัตรูธรรมชาติอื่น ๆ เช่น ตัวเต่าตัวห้ำ แมลงปอ แมลงวันตัวห้ำ และแมงมุม สอดคล้องกับงานวิจัยของ เพชรหทัย และ อัจฉราพร (2550) ที่พบว่าเชื้อรา

M. anisopliae จากเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* สามารถทำให้เกิดโรคกับเพลี้ยจักจั่นสีเขียวตัวเต็มวัยได้ ทำให้แมลงเป็นโรคถึงร้อยละ 66.2 เช่นเดียวกับการศึกษาวิจัยของ Bandara and Ahangama (1994) และ Pham *et al.* (1994) ที่พบว่าเชื้อราเขียวที่ควบคุมเพลี้ยกระโดดหลังขาว และเพลี้ยจักจั่นสีเขียว เป็นต้น และให้ผลในการควบคุมที่ร้อยละ 30-90 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเชื้อ และสภาพแวดล้อม จากผลการวิจัยดังกล่าวทำให้การนำเชื้อราทั้ง 4 ไส้เล็ดสู่การใช้ประโยชน์นั้นสามารถครอบคลุมแมลงศัตรูข้าวในกลุ่มเพลี้ยต่าง ๆ ได้ แต่หากจำเป็นต้องควบคุมแมลงศัตรูข้าวในกลุ่มอื่น ๆ เช่น หนอนผีเสื้อ แมลงด้วง แมลงห่อ หนอนกอ ฯลฯ จำเป็นต้องมีการผสมกับเชื้อราเขียวสายพันธุ์อื่น ๆ ที่สามารถลงทำลายแมลงศัตรูข้าวกลุ่มอื่น ๆ เหล่านั้นร่วมด้วย เพื่อให้ผลการควบคุมที่ครอบคลุมศัตรูข้าวได้อย่างเหมาะสม

สรุป

การคัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* ที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*N. lugens*) ในนาข้าว พบเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 4 ไส้เล็ด คือ MRT-PCH-01-03, MRT-PCH-01-08, MRT-PCH-01-38 และ MRT-PCH-01-48 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสูงสุดสามารถทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายทั้งหมดได้ภายใน 6 วันหลังจากสัมผัสเชื้อรา โดยระยะเวลาที่ทำให้เพลี้ยตาย 50% (LT_{50}) คือ 3.38, 3.24, 3.31 และ 3.12 วันตามลำดับ และเชื้อรา *M. anisopliae* ทั้ง 4 ไส้เล็ด มีความเฉพาะเจาะจงกับแมลงศัตรูข้าวในกลุ่มเพลี้ยกระโดด เพลี้ยจักจั่น และด้วงเต้านวดสันเท่านั้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยนเรศวร

ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ตลอดจนผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- จริยา จันทรไพแสง ทิพย์ดี อรรถธรรม และวาลลี ไรจนวงศ์. 2529. การสำรวจโรคเชื้อราของเพลี้ยจักจั่นบางชนิดที่เป็นศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจ. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เพชรหทัย ปฏิรูปานุสร. 2547. บทบาทของเชื้อราทำลายแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืช. ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก, สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2, กรมวิชาการเกษตร, พิษณุโลก.
- เพชรหทัย ปฏิรูปานุสร ธวัช ปฏิรูปานุสร และภมร ปัตตาวะตัง. 2546. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียวและแมลงด้วง. ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก, สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2, กรมวิชาการเกษตร, พิษณุโลก.
- เพชรหทัย ปฏิรูปานุสร และ อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ. 2550. ประสิทธิภาพของเชื้อราทำลายแมลงต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยจักจั่นสีเขียว. รายงานการประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2550. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว, กรมการข้าว, กรุงเทพฯ.
- ภัทรดนัย ชัยสวัสดิ์ จิราพร กุลสาริน ไสว บุรณพานิช-พันธุ์ และ สิริญา คัมภีโร. 2557. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Nomurea* และ *Metarhizium* สาเหตุโรคแมลง ในการควบคุมหนอนกระทู้ผักของดอกดาวเรือง. วารสารเกษตร 30(1): 11-19.
- สำนวน ฉิมพกา และวีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2548. ปัจจัยที่มีผลต่อการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูข้าวของเกษตรกร อำเภอตะพานหิน จังหวัดพิจิตร. วารสารเกษตรนเรศวร 8(1): 77-94.
- อรุณี จันทรสนธิ และนฤมล ศุภวานานุสรณ์. 2537. การใช้เชื้อราในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรู

- ข้าว. หน้า 95-106. ใน: รายงานผลงานวิชาการประจำปี 2537. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- Aguda, R. M., M. C. Rombach and B. M. Shepard. 1988. Infection of brown planthopper (BPH) with insect fungi in the laboratory. IRRN 13(5): 34.
- Bandara, J. M. and D. Ahangama. 1994. *Metarhizium* sp.: a new biocontrol agent for brown planthopper management in rice fields. IRRN 19(4): 19.
- Burge, M. N. 1988. Fungi in Biological Control Systems. Manchester University Press, Manchester, U.K.
- Geng, B. W. and R. J. Zhang. 2004. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* var. *acridu* to the developmental stages of brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) and *Sogatella furcifera* (Horvath). Entomologia Sinica. 11(2): 89-97.
- Hill, D. S. 1996. The Economic Importance of Insects. Chapman & Hall. London.
- Keller, S., P. Kessler and C. Schweizer. 2003. Distribution of insect pathogenic soil fungi in Switzerland with special reference to *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*. BioControl 48: 307-319.
- Lacey, L. A. 1997. Manual of Techniques in Insect Pathology. Academic Press, New York.
- Pathak, P. K., R. C. Saxena and E. A. Heinrichs. 1982. Para film sachet for measuring honeydew excretion by *Nilaparvata lugens* on rice. Journal of Economic Entomology 75: 194-195.
- Pham, T. T., T. B. Nguyen, T. Dong and T. T. Tran. 1994. Effects of *Beauveria bassiana* Vuill. and *Metarhizium anisopliae* Sorok. on brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) in Vietnam. IRRN 19(3): 29.
- Reissig, W. H., E. A. Heinrichs, J. A. Litsinger, K. Moody, L. Feidler, T. W. Mew and A. T. Barrion. 1986. Illustrated Guide to Integrated Pest Management in Rice in Tropical Asia. International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.
- Samson, R. A., H. C. Evans and J. P. Latge. 1988. Atlas of Entomopathogenic Fungi. Springer-Verlag, Berlin.
- Srisukchayakul, P., C. Wiwat and S. Pantuwatana. 2005. Studies on the pathogenesis of the local isolates of *Nomuraea rileyi* against *Spodoptera litura*. SciencAsia 31: 273-276.
- Trizelia and F. Nurdin. 2010. Virulence of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* isolates to *Crociodolomia pavonana* F. (Lepidoptera: Crambidae). Agrivita. Journal of Agricultural Science 32(3): 254-260.