

ประสิทธิภาพสารพาบางชนิดในการเก็บรักษาเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*  
MRT-PCH 048 เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

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

นวลศิริ สิบบุญมี<sup>1</sup> วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ<sup>1\*</sup> ไสว บูรณพานิชพันธ์<sup>2</sup> ปภพ สินชยกุล<sup>3</sup> และ จิราพร กุลสาริน<sup>2</sup>  
Nuansiri Sribunme<sup>1</sup>, Weerathep Pongprasert<sup>1\*</sup>, Sawai Buranapanichpan<sup>2</sup>, Pabhop Sinchayakul<sup>3</sup>  
and Jiraporn Kulsarin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

<sup>1</sup>Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University,  
Phitsanulok 65000, Thailand

<sup>2</sup>ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>2</sup>Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

<sup>3</sup>ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

<sup>3</sup>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

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

**คำสำคัญ:** เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม สารพา ดินอินทรีย์วัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาว

## คำนำ

เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* เป็นเชื้อราในสกุล *Metarhizium* เป็นกลุ่มของเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคในแมลง (entomopathogenic fungi) (Bridge *et al.*, 1997; Iskandarov *et al.*, 2006) จัด อยู่ใน Division Ascomycota Class Sordariomycetes เป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดินสามารถแยกได้ 3 ชนิดตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของโคนินเดีย เช่น รูปร่าง ขนาด และสี เป็นต้น (Zimmermann, 1993) โดยแต่ละชนิดมีความแปรผันทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ มีความหลากหลายของสายพันธุ์แตกต่างกันตามถิ่นอาศัย และแต่ละสายพันธุ์มีแมลงอาศัย (host insect) ต่างกัน (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) ลักษณะของโคโลนีเมื่อแรกเริ่มมีสีขาวจนเมื่อเจริญเต็มที่เชื้อสร้างโคนินเดียสีเขียวกระจายอยู่โดยรอบ (Tanada and Kaya, 1993) เชื้อรา *M. anisopliae*

มีความปลอดภัยสูงเหมาะแก่การใช้ในการควบคุมศัตรูพืช เนื่องจากไม่พบการติดเชื้อในสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมายเช่น นก ปลา หนู หมู และกระต่ายในพื้นที่ที่มีการใช้เชื้อรานี้ (Zimmermann, 1993)

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

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

ประสิทธิภาพได้นาน (เสาวนิตย์ และคณะ, 2549) แม้มีการเก็บเชื้อราในระดับอุณหภูมิต่ำ 4-5 องศาเซลเซียส เพื่อลดการเจริญของเชื้อราก็ตาม (อนุเทพ, 2536; Pham *et al.*, 2009; Santa *et al.*, 2005; Ying and Feng, 2006) ทำให้กลายเป็นข้อจำกัดสำหรับการส่งเสริมในระดับเกษตรกรอย่างมาก การผสมสปอร์หรือโคโคนีเดียของเชื้อรากับสารพาทาชนิดต่าง ๆ เช่น ดินอินทรีย์ ดินขาว ททราย (Daoust *et al.*, 1983) สามารถการยืดอายุของเชื้อราสดีให้คงประสิทธิภาพได้นานขึ้นได้ อย่างไรก็ตาม สารพาทาที่ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวแต่ละชนิดมีศักยภาพในการเก็บรักษาเชื้อราได้แตกต่างกัน การคัดเลือกสารพาทาที่มีความเหมาะสมในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวมีผลต่อความมีชีวิตและประสิทธิภาพของเชื้อรามาก ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพสารพาทาชนิดต่าง ๆ ในการเก็บรักษาเชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 นี้ขึ้น เพื่อศึกษาความมีชีวิตและประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ที่เก็บรักษาในสารพาทาชนิดต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 เดือน ทั้งนี้ผลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับพัฒนาชีวภัณฑ์ต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

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

เตรียมโคโคนีเดียแขวนลอยของเชื้อราโดยใน 1 จานอาหารใช้น้ำกลั่นซึ่งผสมด้วย 0.1% Tween 80 (Sigma, St. Louis, MO, USA) จำนวน 20 มิลลิลิตร ผสมกับโคโคนีเดียเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อ ดูดน้ำโคโคนีเดียแขวนลอยของเชื้อราใส่ขวด 500 มิลลิลิตร แล้วเขย่าขวดเพื่อให้เชื้อกระจายทั่วขวด ทำการตรวจวัดความเข้มข้นของโคโคนีเดียโดย haemocytometer (Hausser, Horsham,

PA, USA) และปรับความเข้มข้น ให้เป็น  $10^8$  โคโคนีเดีย/มิลลิลิตร

ซึ่งสารพาทา 5 ชนิด คือ ดินอินทรีย์วัตถุ ททราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง ชนิดละ 300 กรัม ใส่ขวดทดลอง ปิดปากขวดด้วยล้าสี นำน้ำเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น ใส่สารแขวนลอยโคโคนีเดียเชื้อราเขียวข้างต้นขวดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 6 เดือน

ประเมินความมีชีวิตของเชื้อราเขียวโดยนำตัวอย่างหัวเชื้อที่บ่ม เป็นเวลา 1 เดือน จำนวน 1 กรัม ใส่ลงใน flask ที่ เต็มน้ำกลั่นจำนวน 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 ตรวจนับและคำนวณจำนวนโคโคนีที่พบ และเปรียบเทียบระหว่างสารพาทาชนิดต่าง ๆ

ทดสอบศักยภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ต่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้เชื้อราเขียวที่ผสมในสารพาทาชนิดต่าง ๆ จำนวน 1 กรัม เพาะเลี้ยงในวัสดุเพาะคือข้าวพันธุ์เส้าไห่ทุ่งกึ่งสูง 150 กรัม บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จนโคโคนีเดียของเชื้อราเขียวเจริญทั่วถุงข้าว ทำการตรวจวัดความเข้มข้นของโคโคนีเดียในวัสดุเพาะเลี้ยง บันทึกผล จากนั้นปรับระดับความเข้มข้นของโคโคนีเดียที่  $10^8$  โคโคนีเดีย/มิลลิลิตร พ่นลงบนต้นข้าวพันธุ์ไทภูเขาพื้นที่ 1 ไร่ระยะแตกกอที่ได้ปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวัยที่ 3 จำนวน 30 ตัว ต่อหน่วยการทดลอง แล้วเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงทำ 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับเชื้อราทางการค้า บันทึกจำนวนเพลี้ยกระโดดที่ตายทุกวัน วิเคราะห์ผลด้วย analysis of variance เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย (Duncan's multiple range test, DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์ ( $P=0.05$ ) และประเมินประสิทธิภาพของเชื้อรา โดยใช้ผลการคำนวณ probit analysis จากระยะเวลาที่เชื้อทำให้เพลี้ยตายร้อยละ 50 ( $LT_{50}$ )

**ผลการวิจัย**

**ผลการศึกษาประสิทธิภาพสารพาในการเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048**

การทดสอบประสิทธิภาพสารพาในการเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด คือ ดินอินทรีย์วัตถุ ททราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง พบว่า สารพาแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการรักษาความมีชีวิตของเชื้อราเขียวได้แตกต่างกันอย่างชัดเจนในแต่ละระยะเวลาของการเก็บรักษา ในเดือนที่ 1 สารพาชนิดต่าง ๆ สามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง  $1.3 \times 10^5$  -  $3.0 \times 10^5$  โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยดินอินทรีย์วัตถุ และ ดินขาวลำปาง พบเชื้อราเขียวสูงสุดสองอันดับแรกคือ  $3.0 \times 10^5$  และ  $2.5 \times 10^5$  โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 2 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง  $1.5 \times 10^5$  -  $3.5 \times 10^5$  โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรีย์วัตถุ และ ดินขาวลำปาง เช่นเดียวกับในช่วง 1 เดือน พบ  $3.5 \times 10^5$  และ  $2.6 \times 10^5$  โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 3 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง  $0.4 \times 10^5$  -  $3.6 \times 10^5$  โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรีย์วัตถุ และ ดินขาวลพบุรี พบ  $3.6 \times 10^5$  และ  $1.5 \times 10^5$  โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 4 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง  $0.3 \times 10^5$  -  $3.2 \times 10^5$  โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรีย์วัตถุ และ ททราย พบ  $3.2 \times 10^5$  และ  $1.6 \times 10^5$  โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 5 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง  $0.4 \times 10^5$  -  $3.5 \times 10^5$  โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรีย์วัตถุ และ ททราย พบ  $3.5 \times 10^5$  และ  $1.3 \times 10^5$  โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 6 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง  $0.1 \times 10^5$  -  $2.6 \times 10^5$  โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรีย์วัตถุ และ ททราย พบ  $2.6 \times 10^5$  และ  $1.1 \times 10^5$  โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 1)

**ผลการศึกษาศักยภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ที่เก็บรักษาด้วยสารพาต่อ การควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล**

เมื่อเก็บรักษาเชื้อราได้ครบ 6 เดือน และขยายในข้าวกิ่งสูงกิ่งดิบพบว่า เชื้อราที่เก็บรักษาด้วยสารพาทั้ง 5 ชนิด คือ ดินอินทรีย์วัตถุ ททราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง สามารถเพิ่มขยายจำนวนได้อย่างรวดเร็ว ใน 7 วัน ตรวจพบโคโคนีของเชื้อราได้  $8.8 \times 10^9$ ,

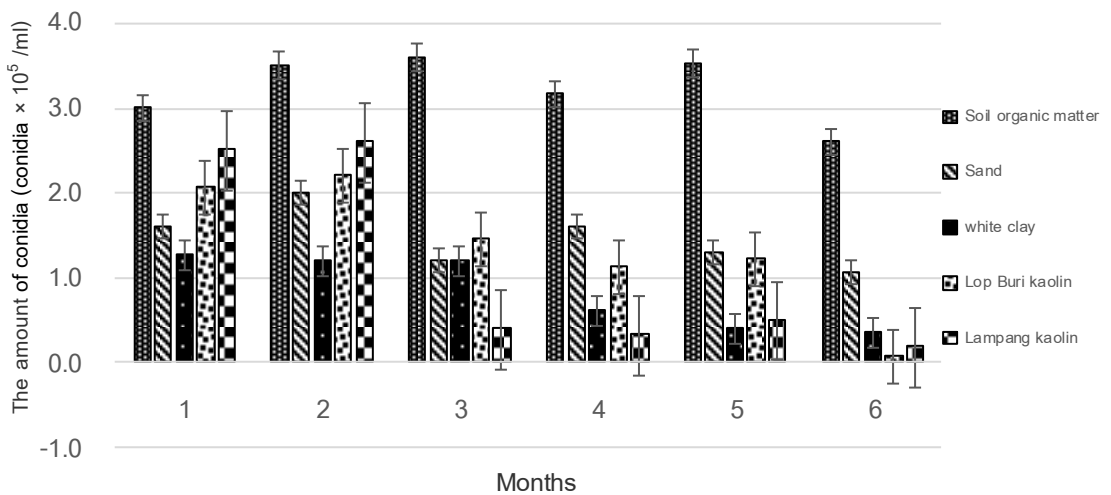


Figure 1. The amount of recovered *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 conidia preserved in 5 carriers during 1-6 months

$4.2 \times 10^8$ ,  $1.7 \times 10^8$ ,  $1.5 \times 10^9$  และ  $1.9 \times 10^9$  โคนิ เดีย / มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ที่เก็บรักษาในสารพรางเป็นเวลานาน 6 เดือน เปรียบเทียบกับเชื้อราทางการค้า พบว่า เชื้อราเขียวในสารพรางชนิดต่าง ๆ มีประสิทธิภาพในการฆ่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ในช่วง ร้อยละ 98-100 ที่ระยะ 5 วัน หลังสัมผัสเชื้อราเขียว โดยเชื้อราเขียวที่เก็บรักษาใน ทราย ดินสอพอง และดินขาวลพบุรี พบอัตราการตายของเพลี้ยที่ร้อยละ 100 และทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% ( $LT_{50}$ ) ภายในระยะเวลา 2.03, 2.13 และ 2.21 วัน ตามลำดับ ส่วนเชื้อราที่เก็บรักษาใน ดินอินทรีย์วัตถุ 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 ที่เก็บในสารพรางทั้ง 5 ชนิด และทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% ( $LT_{50}$ ) ภายในระยะเวลา 3.00 วัน (ตารางที่ 2)

### วิจารณ์

จากผลการเก็บรักษาเชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ในสารพราง 5 ชนิด คือ ดินอินทรีย์วัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า สารพรางทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวได้ดี โดยตรวจพบจำนวนโคโลนีของเชื้อราเขียวได้สูงสุดในสารพรางที่เป็นดินอินทรีย์วัตถุ 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	$8.8 \times 10^9$ a
Sand	$4.2 \times 10^8$ b
White clay	$1.7 \times 10^8$ b
Lop Buri kaolin	$1.5 \times 10^9$ b
Lampang kaolin	$1.9 \times 10^9$ b

Means within column followed by the same letter are not significantly different ( $P \leq 0.05$ )

**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 $\pm$ SE (at 5 day) <sup>1</sup>	$LT_{50} \pm$ SE (day) <sup>2</sup>
Soil organic matter	$98.0 \pm 0.82^a$	$2.35 \pm 0.04$
Sand	$100.0 \pm 0.00^a$	$2.03 \pm 0.06$
White clay	$100.0 \pm 0.00^a$	$2.13 \pm 0.06$
Lop Buri kaolin	$100.0 \pm 0.00^a$	$2.21 \pm 0.06$
Lampang kaolin	$98.7 \pm 0.27^a$	$2.57 \pm 0.07$
Commercial <i>M. anisopliae</i>	$93.3 \pm 0.30^b$	$3.00 \pm 0.13$

Means within column followed by the same letter are not significantly different ( $P \leq 0.05$ )

<sup>1</sup> Mortality at day 5

<sup>2</sup> *M. anisopliae* were applied of concentration of  $1 \times 10^8$  conidia/ml

พบว่าดินอินทรีย์วัตถุมีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสูงสุด *M. anisopliae* สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของดินได้เมื่อมีความชื้นที่เหมาะสมและ Bukhari *et al.* (2011) ที่พบว่า ทราายเป็นสารพาที่มีความชื้นต่ำ 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 แต่กลับเป็นกลุ่มเชื้อที่มีความแข็งแรงมากสามารถขยายเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในช่วงกิ่งสูงความสามารถในการกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแตกต่างจากการใช้เชื้อรา *Metarhizium* ที่จำหน่ายเป็นการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม เชื้อราเขียวที่เก็บรักษาในสารพาทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการลงทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีในระดับที่ไม่แตกต่างทางสถิติ

ผลการทดลองในครั้งนี้เป็นการสร้างตัวเลือกในการใช้สารพาชนิดต่างๆ เพื่อเก็บรักษาเชื้อรา *M. anisopliae* โดยพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาเชื้อราและสภาพแวดล้อมในการเก็บรักษาที่มีเป็นเกณฑ์ ร่วมกับความสะดวกในการจัดหา และราคาของสารพาในแต่ละห้องที่ เพื่อช่วยเก็บรักษาเชื้อราได้มีความสะดวกในการนำไปใช้ ต่อไปในอนาคต

## สรุป

การใช้ประโยชน์จากเชื้อราในปัจจุบันนิยมใช้ในรูปแบบหัวเชื้อสด จำเป็นต้องอาศัยเทคนิคทางจุลชีววิทยาในหลายในการเก็บเชื้อและเลี้ยงเชื้อในอาหารเทียม เพื่อผลิตหัวเชื้อราสำหรับขยายในวัสดุเพาะเลี้ยงให้มีปริมาณมากเพียงพอต่อการใช้ประโยชน์ และที่สำคัญคือหัวเชื้อราสดไม่สามารถคงความมีชีวิตและประสิทธิภาพได้นาน

จึงได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารพา 5 ชนิด คือ ดินอินทรีย์วัตถุ ทราয় ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง ในการเก็บรักษาโคโลนีเดียวของเชื้อราเขียวขึ้น โดยใช้เชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ความเข้มข้น  $10^8$  จำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมกับสารพา 500 กรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือนพบว่าสารพาทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ดินอินทรีย์วัตถุ และทราয় และคงประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงถึงร้อยละ 98-100 ภายใน 5 วันหลังสัมผัสเชื้อ ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% ( $LT_{50}$ ) ภายในระยะเวลา 2.03-2.57 วัน

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (วช.) ภาคเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ และสถานที่ในการทำงานวิจัยนี้

## เอกสารอ้างอิง

- จริยา จันทร์ไพแสง ทิพย์วดี อรรถธรรม และ วาลูลี ใจจนวงศ์. 2529. การสำรวจโรคเชื้อราของเพลี้ยจักจั่นบางชนิดที่เป็นศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจ. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- นริศ ท้าวจันท์ และ อนุชิต ชินาจริยวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพการควบคุมของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 39(3): 21-25.
- นาวิณ สุขเลิศ จิราพร กุลสาริน ไสว บรณพานิชพันธ์ และ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2559. ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในเบบี่ฮ่องเต้บนพื้นที่สูงของจังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 32(2): 171-180.

- เพชรหทัย ปฏิกูปานุสร ธวัช ปฏิกูปานุสร และ ภมร บัตตา  
วะตัง. 2542. ประสิทธิภาพของเชื้อราบางชนิด  
ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ย  
จักจั่นสีเขียว. งานวิจัยอารักขาพืช ศูนย์วิจัยข้าว  
พิษณุโลก, พิษณุโลก.
- ภัทรณีย์ ชัยสวัสดิ์ จิราพร กุลสาริน ไสว บุรณพานิชพันธ์  
และ สิริญา คัมภีโร. 2557. ประสิทธิภาพของ  
เชื้อรา *Nomuraea* และ *Metarhizium* สาเหตุ  
โรคแมลง ในการควบคุมหนอนกระทุ่มักของดอก  
ดาวเรือง. วารสารเกษตร 30(1): 11-19.
- วิวัฒน์ เสือสะอาด พิมพ์วรรณ สมมาตย์ ศิติภา นักชัตรี  
วิมลมาศ ไชยเสถน และ อาภรณ์ บันทองคำ.  
2548. การเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Metarhizium*  
*anisopliae* และการนำไปใช้ควบคุมหนอนด้วง  
หนวดยาวเจาะลำต้น อ้อย *Dorystenes*  
*buqueti* Guerin (Coleoptera: Cerambycidae)  
ในสภาพไร่. หน้า 1-13. ใน: รายงานการประชุม  
วิชาการประจำปี 2548. ศูนย์วิจัยควบคุม  
ศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.
- วิวัฒน์ เสือสะอาด พิมพ์วรรณ สมมาตย์ อาภรณ์ บัน  
ทองคำ ปวีณา บุญชาติ และ ดอกกล้วยไม้  
หอมระหัด. 2551. การใช้เชื้อรา *Metarhizium*  
*anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin เพื่อควบคุม  
หนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้น อ้อย  
*Dorystenes buqueti* (Guerin) (Coleoptera:  
Cerambycidae). หน้า 1. ใน: รวบรวมบทความ  
ผลงานวิจัย การประชุมวิชาการประจำปี 2551.  
ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ.  
กรุงเทพฯ.
- สมบัติ รุจาคม ภมร บัตตา วะตัง นลินี เจียงวรรณะ และ  
เพชรหทัย ปฏิกูปานุสร. 2541. การควบคุมแมลง  
สิงโดยเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* และเชื้อ  
ราเขียว *Metarhizium anisopliae*. หน้า 198-  
209. ใน: รายงานการสัมมนาทางวิชาการ เรื่อง  
การพัฒนาข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ครั้งที่ 9.  
กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ วชิรี สมสุข และ สุชลวัฒน์ ว่องไว  
ลิขิต. 2549. การศึกษาสารพา (carriers) ที่  
เหมาะสมในการใช้ร่วมกับแบ้ง. สำนักวิจัย  
พัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร,  
กรุงเทพฯ.
- อนุเทพ ภาสุระ. 2536. การผลิตมวลชีวภาพเชื้อรา  
*Trichoderma harzianum* โดยกระบวนการหมัก  
อาหารเหลือเพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุ  
โรคพืชทางชีววิธี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์  
มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,  
กรุงเทพฯ.
- อารยา บุญศักดิ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บุรณพานิช  
พันธ์ และ จิราพร กุลสาริน. 2558. การคัดเลือก  
เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff)  
Sorokin ที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ย  
กระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว. 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*. Applied 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. Socol. 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.