# *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลทกรมการข้าว เพื่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูข้าว

## The Rice Department's *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. Commercial Biopesticide Isolate for Controlling the Rice Pest, Brown Planthopper

อริษา จิตรติกรกุล[1),*] พยอม โคเบลลี่[2)] ไอลดา ชุมแสง[2)] ดวงกมล บุญช่วย[3)] ธีรดา หวังสมบูรณ์ดี[4)]

Arisa Jittikornkul[1),*] Payorm Cobelli[2)] Ilada Choomsang[2)] Duangkamon Boonchuay[3)] Teerada Wangsomboondee[4)]

### Abstract

The brown planthopper (BPH, *Nilaparvata lugens* (Stål)) is one of the major rice insect pests of rice production in Thailand. The Rice Department has studied the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. for controlling rice insect pests since 2015. *Beauveria bassiana* was isolated from brown planthopper (BPH, *N. lugens* (Stål)) and rice black bug (*Scotinophara coarctata* (Fabricius)). These *B. bassiana* isolates' effectiveness was evaluated for controlling BPH in rice fields. The *B. bassiana* BCNT004 and BCNT002 (MT) isolates showed the most efficient effect and were manufactured as commercial biopesticides in wettable powder formulations. This commercial product had 100% spore germination on potato dextrose agar (PDA) and in molasses for 16 and 24 hours, respectively. Additionally, three experiments were conducted in greenhouses. Both commercial biopesticides had high efficiency for BPH control with 69.0% and 88.5% BPH mortality and the lethal time 50 ($LT_{50}$) at 7.03 and 4.86 days. Moreover, similar results were found in the trial in organic rice fields in the wet season in 2021 and 2022. Application of the commercial biopesticides of BCNT002 (MT) and BCNT004 showed 39.4% and 39.0% of BPH mortality, respectively which was significantly different ($p \leq 0.01$) from without application of commercial biopesticide (control). The efficiency corresponded to the result of one field in the dry season in 2023, with 33.4% and 53.0% of BPH mortality, respectively. However, there were no significant differences in rice yields between control and commercial biopesticide application plots.

**Keywords:** rice, brown planthopper, biological control, *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., entomopathogenic fungi, commercial biopesticide

### บทคัดย่อ

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* (Stål)) เป็นแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญชนิดหนึ่งในการผลิตข้าวของประเทศไทย กรมการข้าว ได้ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* สาเหตุ

* corresponding author E-mail: arisa.j@rice.mail.go.th

Received: April 27, 2023/ Revised: June 13, 2023/ Accepted: June 13, 2023

[1)] ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000 โทร. 0-4534-4104

Ubon Ratchathani Rice Research Center, Mueang, Ubon Ratchathani 34000 Tel. 0-4534-4104

[2)] กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทร. 0-2579-7892

Division of Rice Research and Development, Rice Department, Chatuchak, Bangkok 10900 Tel. 0-2579-7892

[3)] ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท อ.เมือง จ.ชัยนาท 17000 โทร. 0-5601-9771

Chai Nat Rice Research Center, Mueang, Chai Nat 17000 Tel. 0-5601-9771

[4)] ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2185-0001

Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330 Tel. 0-2185-0001

โรคของแมลง เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูข้าวตั้งแต่ปี พ.ศ. 2558 โดยการแยกเชื้อรา *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและแมลงหล่า และนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนา พบว่าไอโซเลท BCNT004 และ BCNT002 (MT) มีประสิทธิภาพสูง เมื่อนำมาผลิตเป็นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ในรูปผงละลายน้ำ มีอัตราการงอกของสปอร์สูงร้อยละ 100 ในอาหาร PDA และกากน้ำตาล ที่ 16 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ นำชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่าชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ทั้ง 2 ไอโซเลท ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายสะสมเฉลี่ยร้อยละ 69.0 และ 88.5 ระยะเวลาตายร้อยละ 50 หลังสัมผัสเชื้อ ($LT_{50}$) 7.03 และ 4.86 วัน สอดคล้องกับผลการทดลองในสภาพนาอินทรีย์ฤดูนาปี 2564 และ 2565 ว่าชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *B. bassiana* ไอโซเลท BCNT002 (MT) และ BCNT004 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายสะสมเฉลี่ยร้อยละ 39.4 และ 39.0 ตามลำดับ แตกต่างจากกรรมวิธีไม่ใช้ชีวภัณฑ์ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) สอดคล้องกับผลการทดลองในฤดูนาปรัง 2565 พบว่า เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายสะสมเฉลี่ยร้อยละ 33.4 และ 53.0 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างของผลผลิตข้าวระหว่างการใช้กับไม่ใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์

**คำสำคัญ**: ข้าว เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล การควบคุมโดยชีววิธี *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์

## คำนำ

*Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. (Hypocreales: Cordycipitaceae) เป็นเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงศัตรูพืชหลายชนิด โดยพบการก่อโรคในแมลงครั้งแรกในหนอนไหม (Steinhaus, 1949) เชื้อรา *B. bassiana* เข้าทำลายแมลงโดยสร้างเส้นใยและสปอร์คล้ายผงสีขาวปกคลุมตัวแมลง จึงเรียกว่าโรค “white muscardine” (Dannon *et al*., 2020) ต่อมาพบเป็นสาเหตุโรคของแมลงอื่นๆ เช่น ผีเสื้อหนอนเจาะข้าว (*Chilo plejadellus*) หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera)* หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera littura*) หนอนเจาะอ้อย (*Diatraea saccharalis*) เพลี้ยข้าวสาลี (*Schizaphis graminum*) เพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Myzus persicae*) มวนแดงฝ้าย (*Dysdercus koenigii*) ด้วงงวงใบถั่ว (*Sitona lineatus*) เป็นต้น ประสิทธิภาพของการนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชขึ้นอยู่กับสายพันธุ์หรือไอโซเลทเชื้อที่จำเพาะกับแมลงแต่ละชนิด (Devi *et al.,* 2008) รวมทั้งใช้เพื่อควบคุมแมลงศัตรูข้าว เช่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* (Stål)) เพลี้ยกระโดดหลังขาว (whitebacked planthopper (WBPH), *Sogatella furcifera* (Horváth)) เพลี้ยจักจั่นสีเขียว (green rice leafhopper (GLH), *Nephotettix* spp.) เป็นต้น (Aguda *et al*., 1984)

เชื้อรา *B. bassiana* ถูกนำมาผลิตใช้ภายใต้ชื่อการค้าต่างๆ ในหลายประเทศ เช่น Bea-sin ในเม็กซิโก Boverin ในรัสเซีย Boverol-spofa ในเช็กโกสโลวาเกีย Conidia ในโคลัมเบีย Mycotrol, BotaniGard ในอเมริกา Ostrinil ในฝรั่งเศส Proecol ในเวเนซุเอลา เป็นต้น (Wraight *et al*., 2001)

งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้เชื้อรา *B. bassiana* เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช ดังเช่น Abdullah และคณะ (2020) พบว่า การใช้สารแขวนลอยสปอร์และชีวภัณฑ์เชื้อรา *B. bassiana* โดยวิธีพ่นบนตัวแมลง วิธีแช่และคลุกเมล็ดพันธุ์ข้าวในสารแขวนลอยสปอร์หรือชีวภัณฑ์ ทำให้ตัวอ่อนของเพลี้ยจักจั่นสีเขียว (*Nephotettix virescens* (Distant)) มีอัตราการตายสะสมสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมโดยวิธีพ่นเชื้อราหรือชีวภัณฑ์บนตัวแมลงโดยตรง มีประสิทธิภาพสูงสุด อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพของการใช้ *B. bassiana* จะลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะที่อุณหภูมิสูง ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ และเมื่อเชื้อราสัมผัสกับรังสีอัลตราไวโอเลตโดยตรง นอกจากนี้เชื้อรา *B. bassiana* ยังมีคุณสมบัติการเป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ (endophyte) ที่สามารถเจริญจากเมล็ดไปยังลำต้นและใบข้าวได้ ดังนั้นการแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวในสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* ($5x10^7$สปอร์ต่อมิลลิลิตร) อาจเป็นแนวทางในการใช้เชื้อรา *B. bassiana* ป้องกันกำจัดหนอนกอข้าว (*Chilo agamemnon* Bles.) ในอนาคต (Dannon *et al*., 2020; Khashaba, 2021)

Sayed และคณะ (2021) พบว่า การใช้เชื้อรา *B. bassiana* ($10^5$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ไม่มีผลกระทบต่อ

แมลงศัตรูธรรมชาติ ด้วงเต่า *Hippodamia variegate* และ *Coccinellaundecim punctata* ทั้งอัตราการตาย การอยู่รอดของแมลง ช่วงอายุของตัวเต็มวัย และจำนวนไข่ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Thungrabeab และ Tongma (2007) พบว่า *B. bassiana* Bb.5335 ($10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ไอโซเลทศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ไม่มีผลกระทบต่อการตายของตัวอ่อนระยะที่ 1 ของด้วงเต่า *C. septempunctata* L. และ *Chrysoperla carnea* (Stephens) และตัวเต็มวัยของมวน *Dicyphus tamaninii* Wagner และ *Heteromurus nitidus* Templeton ซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์ในดิน Hediyeh และคณะ (2013) รายงานว่า นอกจากสามารถใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *B. bassiana* ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยไม่มีผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติแล้ว ยังสามารถใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *B. bassiana* ร่วมกับสารเคมีป้องกันกำจัดวัชพืชในนาข้าว ได้แก่ บิวทาคลอร์ (butachlor) ไซโนซัลฟูรอน (cinosulfuron) เพรทิลาคลอร์ (pretilachlor) และออกซาไดอาร์กิล (oxadiargyl) แต่ควรหลีกเลี่ยงการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *B. bassiana* ร่วมกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ซึ่งส่งผลต่ออัตราการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana*

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โดย เสาวนิตย์ และคณะ (2556) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลทศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร (B4) ไอโซเลทกรมส่งเสริมการเกษตร (B2) ซึ่งแยกเชื้อจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และไอโซเลทศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BCC22355 และ BCC31578) ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่างๆ ได้แก่ เพลี้ยแป้งสีชมพู เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม พบว่า เชื้อรา 4 ไอโซเลท ความเข้มข้น $10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำให้เพลี้ยแป้งสีชมพูติดเชื้อร้อยละ 60-100 เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีการติดเชื้อร้อยละ 2.50-23.75 หนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอม พบการติดเชื้อไม่เกินร้อยละ 4 และ 6 ตามลำดับ

กรมส่งเสริมการเกษตร มีการผลิตสารชีวภัณฑ์ “เชื้อราบิวเวอเรีย บาสเซียนา (*Beauveria bassiana*)” แนะนำให้เกษตรกรใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด ทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย เช่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟ เพลี้ยไก่แจ้ แมลงหวี่ขาว ไรแดง หนอนผีเสื้อต่างๆ ด้วงหรือแมลงปีกแข็ง เป็นต้น มีการควบคุมมาตรฐานชีวภัณฑ์โดยการตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ เช่น สีของชีวภัณฑ์ ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา ลักษณะและรายละเอียดของภาชนะบรรจุ เป็นต้น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2563)

กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว โดย พยอม และคณะ (2563) แยกเชื้อราสาเหตุโรคของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และแมลงหล่า ในประเทศไทย ได้เชื้อรา *B. bassiana* จำนวน 6 ไอโซเลท ซึ่งเชื้อ 4 ไอโซเลท คือ BCNT002, BCNT003, BCNT004 และ BCNT001 มีประสิทธิภาพสูง ในการทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายในระยะเวลาที่เร็วกว่าไอโซเลทจากกรมส่งเสริมการเกษตร (BDOEA001) ในสภาพโรงเรือนทดลอง ต่อมา Wongwanich และคณะ (2017) พัฒนาเชื้อราไอโซเลท BCNT002 (wild type (WT)) ได้สายพันธุ์กลาย BCNT002 (mutant type (MT)) ที่ทนต่ออุณหภูมิสูง ไอลดา และคณะ (2564) ทดสอบความรุนแรงของเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท BCNT002 (MT) ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร Sabouraud dextrose agar (SDA) และ BCNT004 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร malt extract agar (MEA) พบว่าเป็นไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูง โดยมีอัตราการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระยะตัวอ่อนวัย 4 ถึง 5 ในสภาพโรงเรือนทดลอง ร้อยละ 61.3 และ 61.0 ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ พยอม และคณะ (2564) ใช้อาหารเหลวกากน้ำตาลและอาหารแข็งข้าวเจ้าแข็งหุงสุกพันธุ์เสาไห้ พบให้ผลผลิตสปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* สูง แตกต่างจากสูตรอาหารอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ และการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคและความรุนแรงของเชื้อ *B. bassiana* 5 ไอโซเลท ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งข้าวเจ้าแข็งหุงกึ่งสุกพันธุ์ข้าวเสาไห้ เป็นเวลา 30 วัน พบว่า หลังจากพ่นเชื้อรา *B. bassiana* 4-14 วัน การตายสะสมเฉลี่ยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุม โดยไอโซเลท BCNT002 (MT) มีประสิทธิภาพและความรุนแรงสูงสุด พบการตายสะสมเฉลี่ยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลร้อยละ 69.65

การศึกษาการยอมรับการผลิตและการใช้ “เชื้อรา

บิวเวอเรีย" เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวของเกษตรกรในจังหวัดพระนครศรีอยุธยาของ ธนวรรณและคณะ (2557) พบว่า เกษตรกรบางส่วนมีปัญหาเกี่ยวกับการใช้เชื้อราบิวเวอเรีย คือ การผลิตเชื้อราเพื่อใช้เองเกษตรกรลงความเห็นว่าการเลี้ยงขยายเชื้อบนเมล็ดข้าวโพด เป็นขั้นตอนที่ยุ่งยาก ต้องใช้เวลาในการผลิต และขาดแคลนเมล็ดข้าวโพด เชื้อสดเก็บรักษาได้ไม่นาน สิ่งที่เกษตรกรต้องการ คือ มีเชื้อราบิวเวอเรียแบบแห้งที่สามารถเก็บไว้ได้นาน และพร้อมนำมาใช้ได้ทันทีเมื่อพบการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล งานวิจัยนี้จึงคัดเลือกเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลทของกรมการข้าว มาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ในรูปผงละลายน้ำเพื่อใช้ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

## อุปกรณ์และวิธีการ

**1. การคัดเลือกเชื้อรา *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. เพื่อผลิตชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์**

1.1 คัดเลือกเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลทของกรมการข้าว ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและแมลงหล่า จากแปลงนาทดลองศูนย์วิจัยข้าวชัยนาทและนาเกษตรกร จังหวัดชัยนาท (พยอม และคณะ, 2563) และทำให้กลายพันธุ์เพื่อทนสภาพอากาศร้อน (Wongwanich *et al*., 2017) เพื่อผลิตเป็นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์

1.2 นำเชื้อรา *B. bassiana* ที่เลี้ยงบนอาหาร Sabouraud dextrose agar ผสม yeast extract (SDAY) มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนาทดลอง ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท โดยการหว่านข้าวพันธุ์อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล คือ พันธุ์ปทุมธานี 1 ทำการครอบแปลงทดสอบด้วยมุ้งตาข่ายไนลอน ขนาดกว้าง ยาว และสูง (1x1x1 เมตร) และดูดแมลงต่างๆ ออกจากแปลงด้วยเครื่อง D-Vac เมื่อข้าวอายุ ประมาณ 20 และ 45 วัน

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized completely block design (RCBD)) 6 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราไอโซเลท BCNT002 (WT) ความเข้มข้น $10^9$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงบนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระยะตัวอ่อนวัย 4 ถึง 5 (อายุประมาณ 8-10 วัน หลังจากฟักออกจากไข่ สามารถแยกเพศได้ ไม่มีปีก และขนาดใกล้เคียงกับตัวเต็มวัย) จำนวน 60 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราไอโซเลท BCNT002 (MT) ความเข้มข้น $10^9$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงบนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระยะตัวอ่อนวัย 4 ถึง 5 จำนวน 60 ตัว

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราไอโซเลท BCNT003 ความเข้มข้น $10^9$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงบนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระยะตัวอ่อนวัย 4 ถึง 5 จำนวน 60 ตัว

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราไอโซเลท BCNT004 ความเข้มข้น $10^9$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงบนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระยะตัวอ่อนวัย 4 ถึง 5 จำนวน 60 ตัว

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราไอโซเลท BDOAE001 ความเข้มข้น $10^9$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงบนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระยะตัวอ่อนวัย 4 ถึง 5 จำนวน 60 ตัว

กรรมวิธีที่ 6 พ่นสารละลาย 0.05% (v/v) Tween 80 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงบนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระยะตัวอ่อนวัย 4 ถึง 5 จำนวน 60 ตัว (กรรมวิธีควบคุม)

นำเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากกรรมวิธีที่ 1-6 ข้างต้นไปปล่อยลงในมุ้งตาข่ายไนลอนที่ครอบต้นข้าว จำนวน 60 ต้น เพื่อจำลองสถานการณ์การระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ระดับเศรษฐกิจ 1 ตัวต่อข้าว 1 ต้น) (Sriratanasak *et al*., 2015)

บันทึกการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลหลังจากพ่นเชื้อรา 1 7 และ 15 วัน พร้อมเก็บซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ตายออกจากมุ้งตาข่าย

สุ่มแยกเชื้อจากซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ตายเพื่อยืนยันสาเหตุการตายที่เกิดจากเชื้อรา จำแนกเชื้อราด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และพิสูจน์โรคตามหลักการ Koch's postulate (พยอม และคณะ, 2563)

คำนวณหาร้อยละการตายที่แท้จริงของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925) หากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายในกรรมวิธีควบคุมเกินร้อยละ 10 ให้ทำการทดลองใหม่ทุกกรรมวิธี

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วยโปรแกรม IRRISTAT for dos เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูล โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ดำเนินการ ระหว่างเดือนกันยายน 2563 ถึงมกราคม 2564

1.3 คัดเลือกเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนาส่งให้บริษัท แอพพลายเค็ม (ประเทศไทย) จำกัด พัฒนาเป็นชีวภัณฑ์พร้อมใช้ในรูปผงละลายน้ำ (wettable powder)

**2. การตรวจสอบอัตราการงอกของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. BCNT002 (MT) และ BCNT004**

ละลายชีวภัณฑ์เชื้อราเชิงพาณิชย์ ปริมาณ 0.4 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร (จะได้สปอร์ $10^9$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) คนให้ชีวภัณฑ์เชื้อราละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปนับจำนวนสปอร์ด้วยเครื่อง hemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจสอบการงอกของสปอร์โดยดูดสารแขวนลอยสปอร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ย้ายลงในอาหารเหลวกากน้ำตาล อาหาร potato dextrose agar (PDA) และ 0.05% (v/v) Tween 80 ($C_{64}H_{124}O_{26}$) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส และเขย่าด้วยเครื่อง incubator shaker ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที สำหรับอาหารเหลว ตรวจสอบการงอกหลังบ่มเชื้อ 8 12 16 20 24 28 48 72 และ 96 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะพบสปอร์งอกครบร้อยละ 100

**3. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. BCNT002 (MT) และ BCNT004 ในสภาพโรงเรือนทดลอง**

ประเมินความรุนแรงของชีวภัณฑ์เชื้อราในการทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระยะตัวอ่อนวัย 4 ถึง 5 ตาย ในสภาพโรงเรือนทดลองตามวิธีการในข้อ 1 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ และทำการทดลองซ้ำ 3 การทดลอง ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT002 (MT)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT004

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา BDOAE001 ($10^9$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารละลาย 0.05% (v/v) Tween 80 เป็นกรรมวิธีควบคุม

บันทึกการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทุกวัน พร้อมเก็บซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลออกจากกรง เป็นเวลา 14 วัน สุ่มแยกเชื้อจากซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ตายเพื่อยืนยันสาเหตุการตาย (พยอม และคณะ, 2563) คำนวณหาร้อยละการตายที่แท้จริงของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วยโปรแกรม IRRISTAT for dos เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูล โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และวิเคราะห์หาเวลา (วัน) น้อยสุดที่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสัมผัสเชื้อราแล้วตายร้อยละ 50 ($LT_{50}$) โดยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบโปรบิต (probit analysis) ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 22

**4. การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. BCNT002 (MT) และ BCNT004 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนาเกษตรกร**

วางแผนการทดลองแบบเปรียบเทียบเทคโนโลยีการจัดการเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลด้วยชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์กับการจัดการโดยไม่ใช้ชีวภัณฑ์ แบบจับคู่ (paired t-test) โดยมี 2 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ พื้นที่ทดลอง 1 ไร่ต่อแปลงเปรียบเทียบ แปลงละ 2 ไอโซเลทชีวภัณฑ์ ดังนี้

การเปรียบเทียบไอโซเลทที่ 1 ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 พ่นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT002 (MT) และกรรมวิธีที่ 2 ไม่พ่นชีวภัณฑ์เชื้อรา *B. bassiana*

การเปรียบเทียบไอโซเลทที่ 2 ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 พ่นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT004 และกรรมวิธีที่ 2 ไม่พ่นชีวภัณฑ์เชื้อรา *B. bassiana*

ปลูกข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยวิธีหว่านข้าวแห้งด้วยเมล็ดพันธุ์ข้าวอัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ ในแปลงทดลองขนาด 1 ไร่ ทำการครอบแปลงทดสอบด้วยมุ้งตาข่ายไนลอน ขนาด กว้างxยาวxสูง (1x1x1 เมตร) และดูดแมลง

ชนิดต่างๆ ออกจากแปลงด้วยเครื่อง D-Vac เมื่อต้นข้าวอายุไม่เกิน 20 วัน และ 45 วัน

กรรมวิธีที่ 1 ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ อัตรา 800 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (ความเข้มข้น $10^9$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 3 มิลลิลิตรผสมสารจับใบ และนำไปพ่นบนตัวเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 60 ตัว ห่างจากตัวแมลงประมาณ 10 เซนติเมตร โดยพ่นบนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 3 ครั้ง แล้วปล่อยแมลงในมุ้งตาข่ายไนลอน ชีวภัณฑ์ที่เหลือให้พ่นบนต้นข้าว ทำการพ่นช่วงเวลาเย็นที่ไม่มีแสงแดด

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วยสารละลาย 0.05% (v/v) Tween 80 แทนชีวภัณฑ์ (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

ดำเนินการทดลองในฤดูนาปี 2564 ระหว่างเดือนมิถุนายนถึงตุลาคม 2564 จำนวน 3 แปลงทดลอง ฤดูนาปี 2565 ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงกันยายน 2565 จำนวน 2 แปลง และในฤดูนาปรัง 2565 ระหว่างเดือนมกราคมถึงพฤษภาคม 2565 จำนวน 1 แปลง ในสภาพนาอินทรีย์ของเกษตรกร จังหวัดสุพรรณบุรี

บันทึกการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลหลังจากพ่นชีวภัณฑ์ 1 7 และ 15 วัน สุ่มแยกเชื้อจากซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ตายเพื่อยืนยันสาเหตุการตาย (พยอมและคณะ, 2563)

คำนวณหาร้อยละการตายที่แท้จริงของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925) และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ โดยใช้สถิติทดสอบ t-test ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel

**5. การเปรียบเทียบผลผลิต**

เก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวตามอายุการเก็บเกี่ยวในพื้นที่มุ้งตาข่าย ขนาด กว้างxยาวxสูง (1x1x1 เมตร) ทุกกรรมวิธี ชั่งน้ำหนักผลผลิตที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ นำมาวิเคราะห์หาผลผลิตต่อพื้นที่และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ โดยใช้สถิติทดสอบ paired t-test ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel

## ผลการทดลองและวิจารณ์

**1. การคัดเลือกเชื้อรา *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. เพื่อผลิตชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์**

สภาพนาข้าวที่อุณหภูมิใต้ทรงพุ่มเฉลี่ย 29.63 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่มเฉลี่ย 92.85 เปอร์เซ็นต์ พบว่า หลังจากพ่นเชื้อรา 15 วัน ร้อยละการตายที่แท้จริงของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุมที่พ่นด้วย Tween 80 โดยไอโซเลท BCNT004 มีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายสะสมเฉลี่ยสูงสุด คือ ร้อยละ 44.5 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับไอโซเลทอื่นๆ รองลงมา คือ BCNT002 (MT) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายสะสมเฉลี่ยร้อยละ 28.0 (Table 1)

ดังนั้น จึงคัดเลือกเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท BCNT004 และ BCNT002 (MT) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพนาข้าว 2 อันดับแรก เพื่อผลิตเป็นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ โดยบริษัทแอพพลายเค็ม (ประเทศไทย) จำกัด ได้เป็นชีวภัณฑ์พร้อมใช้ในรูปผงละลายน้ำ (wettable powder) (Fig. 1)

**2. การตรวจสอบอัตราการงอกของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. BCNT002 (MT) และ BCNT004**

ผลการทดสอบการงอกของสปอร์ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *B. bassiana* ที่ 8 ชั่วโมง ไม่พบการงอกทั้งในอาหารเหลวกากน้ำตาล อาหาร PDA และ Tween 80 เริ่มตรวจพบการงอกของสปอร์ที่ 12 และ 16 ชั่วโมง โดยในกากน้ำตาล พบว่า ไอโซเลท BCNT002 (MT) มีอัตราการงอกของสปอร์ ที่ 16 20 และ 24 ชั่วโมง เฉลี่ยร้อยละ 12.9 76.9 และ 100 ตามลำดับ ในขณะที่ไอโซเลท BCNT004 มีการงอกของสปอร์เฉลี่ยร้อยละ 20.0 84.8 และ 100 ตามลำดับ เมื่อทดสอบการงอกบนอาหาร PDA พบว่า สปอร์ของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ทั้ง 2 ไอโซเลท งอกได้เร็วกว่าในอาหารเหลวกากน้ำตาล คือ ไอโซเลท BCNT002 (MT) มีอัตราการงอกของสปอร์ที่ 12 และ 16 ชั่วโมง เฉลี่ยร้อยละ 61.5 และ 100 ตามลำดับ ไอโซเลท BCNT004 มีการงอกเฉลี่ยร้อยละ 76.8 และ 100 ตามลำดับ (Fig. 2, 3)

การทดลองครั้งนี้ ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ ทั้ง 2 ไอโซเลท มีอัตราการงอกสูงถึงร้อยละ 100 ที่ 16 และ 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA และกากน้ำตาล ตามลำดับ และสามารถเจริญเป็นเส้นใย ในขณะที่ไม่พบการงอกของชีวภัณฑ์ทั้งสองไอโซเลทเมื่อเลี้ยงใน 0.05% (v/v) Tween 80 เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง (Fig. 3) ดังนั้น ในขั้นตอน

Table 1 The cumulative mortality percentage of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)) after being treated with five strains of *Beauveria bassiana* on SDAY ($10^9$ spores/ml) for 15 days under rice field conditions at Chai Nat Rice Research Center, September 2020-January 2021

| No. | Treatment | Mortality of brown planthoppers (%)[1)] |
|---|---|---|
| 1 | BCNT002 (WT) | 21.3 b[2)] |
| 2 | BCNT002 (MT) | 28.0 ab |
| 3 | BCNT003 | 22.8 b |
| 4 | BCNT004 | 44.5 a |
| 5 | BDOAE001 | 18.3 b |
| 6 | Tween 80 (control) | 0.0 c |
| | CV (%) | 44.20 |

[1)] Abbott's formula (Abbott, 1925)

[2)] Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.05$

canopy temperature = 29.63 °C, relative humidity in the canopy = 92.85%

Fig. 1 The commercial biopesticides *Beauveria bassiana* A: BCNT002 (MT) and B: BCNT004 in wettable powder formulation

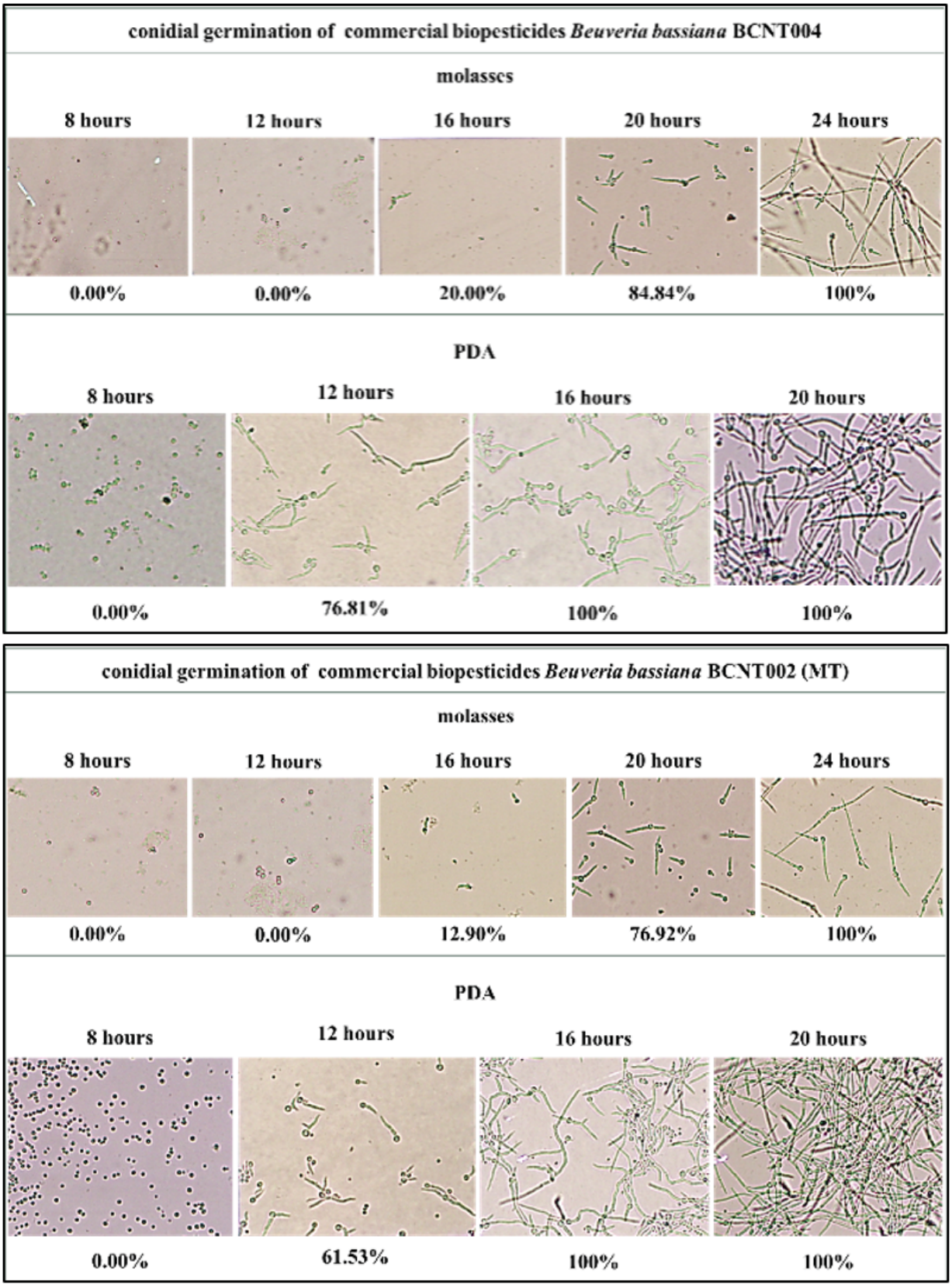
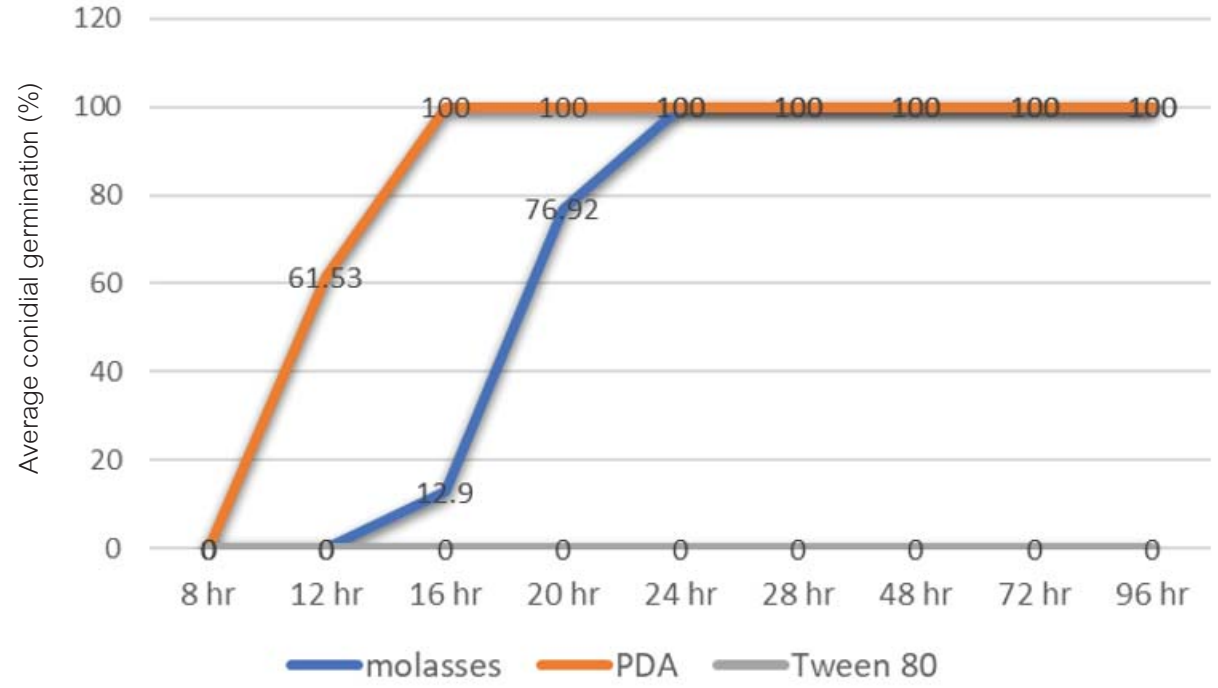
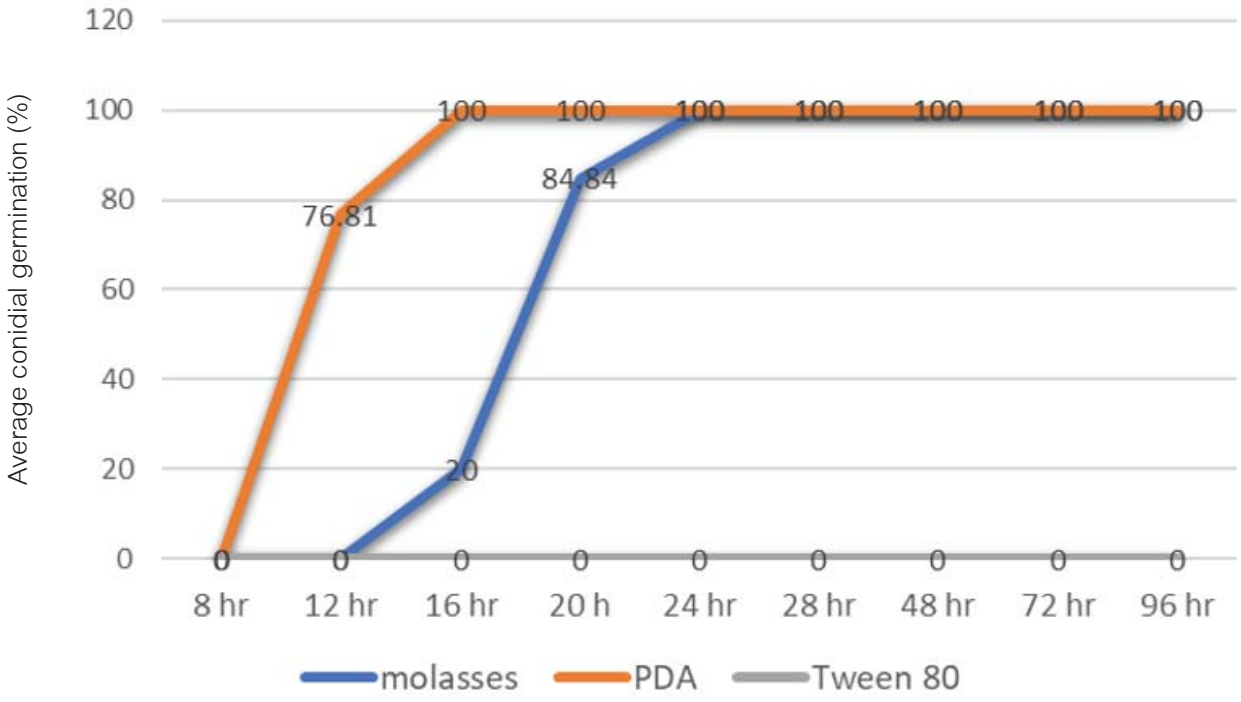



Fig. 2 Conidial germination of commercial biopesticides *Beauveria bassiana* BCNT002 (MT) and BCNT004 on culture media




a) Conidial germination (%) of commercial biopesticides *Beauveria bassiana* BCNT002 (MT)




b) Conidial germination (%) of commercial biopesticides *Beauveria bassiana* BCNT004

Fig. 3 Average conidial germination (%) of commercial biopesticides *Beauveria bassiana* BCNT002 (MT) and BCNT004 on culture media and 0.05% (v/v) Tween 80

การเตรียมชีวภัณฑ์ สปอร์เชื้อราจะไม่งอกก่อนที่จะนำไปพ่นบนแมลง การที่ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *B. bassiana* มีอัตราการงอกสูงเป็นคุณสมบัติสำคัญของการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อแมลง เนื่องจากกลไกเริ่มแรกที่เชื้อราใช้ในการทำลายแมลง คือ สปอร์มีการยึดเกาะ (adhesion) กับชั้นคิวติเคิลบนตัวแมลง แล้วเกิดกระบวนการงอกของสปอร์อย่างรวดเร็วเพื่อสร้าง germ tube และ appressorium แทงทะลุผ่านผนังลำตัวแมลงเข้าไปในช่องว่างภายในตัวของแมลงและเจริญเพิ่มปริมาณมากขึ้น รวมทั้งมีการสร้างสารพิษ เช่น beauvericin, beauverolides, bassianolides, isarolides เป็นต้น (Dannon *et al*., 2020) ทำให้เนื้อเยื่อและเซลล์เม็ดเลือดของแมลงถูกทำลาย แมลงจะเป็นอัมพาตทั้งตัว จากนั้นเชื้อราจะเจริญแทงก้านชูสปอร์ผ่านผนังลำตัวแมลงออกสู่ภายนอก ภายใน 5-7 วัน (Singh *et al*., 2017) ซึ่งมีปัจจัยที่ส่งผลต่อการงอกของสปอร์ เช่น สารอาหาร น้ำ ออกซิเจน ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ สารพิษจากผิวของแมลง เป็นต้น (Singh *et al*., 2017) และในธรรมชาติสปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* มีชีวิตอยู่ได้นานถึง 26 วัน จึงสามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ยาวนาน (Dannon *et al*., 2020)

**3. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. BCNT002 (MT) และ BCNT004 ในสภาพโรงเรือนทดลอง**

สภาพที่อุณหภูมิใต้ทรงพุ่มเฉลี่ย 32.80 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่มเฉลี่ย 75.70 เปอร์เซ็นต์ หลังจากพ่นชีวภัณฑ์บนตัวแมลง 4-14 วัน พบว่า ชีวภัณฑ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ยังคงมีประสิทธิภาพ ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT002 (MT) มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล การตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลร้อยละ 88.5 ระยะเวลาที่ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 50 หลังจากสัมผัสชีวภัณฑ์ ($LT_{50}$) น้อยสุด 4.86 วัน รองลงมา คือ ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT004 และเชื้อราไอโซเลท BDOAE001 มีการตายสะสมเฉลี่ยร้อยละ 69.0 และ 52.3 ตามลำดับ ค่า $LT_{50}$ 7.03 และ 10.40 วัน ตามลำดับ (Table 2) เนื่องจากเชื้อราไอโซเลท BCNT002 (MT) เป็นสายพันธุ์กลายที่ถูกพัฒนาให้มีความสามารถในการทนต่ออุณหภูมิสูง คือ 33 องศาเซลเซียส ในขณะที่เชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท BCNT001 BCNT002 (WT) และ BCNT003 จะเจริญได้ดีที่ช่วงอุณหภูมิ 25-31 องศาเซลเซียส (Wongwanich *et al*.,

Table 2 The cumulative mortality percentage of the lethal time 50 ($LT_{50}$) of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)) during 4-14 days after being treated with commercial biopesticide and spore suspension of *Beauveria bassiana* in greenhouse conditions at Division of Rice Research and Development, on May 2021

| No. | Treatment | Mortality of brown planthopper (%)[1)] | Lethal time 50 ($LT_{50}$) (days)[2)] |
|---|---|---|---|
| 1 | commercial biopesticide BCNT002 (MT) | 88.50±2.89 a[3)] | 4.86 |
| 2 | commercial biopesticide BCNT004 | 69.00±3.74 b | 7.03 |
| 3 | BDOAE001 (spore suspension) | 52.30±5.06 c | 10.40 |
| 4 | Tween 80 (control) | 0.0±0 d | - |
| | CV (%) = 7.10 | | |

[1)] Abbott's formula (Abbott, 1925)

[2)] Analysis by IBM SPSS Statistics 22

[3)] Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.05$

canopy temperature = 32.80 °C, relative humidity in the canopy = 75.70%

2017) ดังนั้น ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 32.08 องศาเซลเซียส ในสภาพโรงเรือนทดลอง ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT002 (MT) จึงมีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีกว่าชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT004 และเชื้อราไอโซเลท BDOAE001

**4. การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. BCNT002 (MT) และ BCNT004 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพนาเกษตรกร**

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *B. bassiana* ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพนาอินทรีย์ของเกษตรกร จังหวัดสุพรรณบุรี ในฤดูนาปี 2564 และนาปี 2565 จำนวน 5 การทดลอง (5 แปลง) ภายใต้อุณหภูมิ 33.0-36.3 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่ม 62.0-71.6 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT002 (MT) และ BCNT004 ทำให้อัตราการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสูงกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) กับกรรมวิธีไม่ใช้ชีวภัณฑ์ สอดคล้องกันทั้ง 5 การทดลอง โดยการตายที่แท้จริงของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากการใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT002 (MT) เฉลี่ยร้อยละ 39.4 ในขณะที่การใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT004 มีการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เฉลี่ยร้อยละ 39.0 (Table 3) และยังสอดคล้องกับผลการทดลองในฤดูนาปรัง 2565 จำนวน 1 การทดลอง (1 แปลง) ภายใต้อุณหภูมิ 33.20 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่ม 68.20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท

Table 3 The cumulative mortality percentage of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)) after being treated with commercial biopesticide *Beauveria bassiana* for 15 days under rice field conditions at Suphan Buri province in the wet season, field 1-3 in June-October 2021, fields 4-5 in May-September 2022

| Location | Mortality of brown planthopper (%)[1] | | Canopy temp.(°C) | Canopy RH (%) |
|---|---|---|---|---|
| | Com. bio. | Without com. bio. | | |
| Commercial biopesticide BCNT002 (MT) | | | | |
| Field 1: Phai Kwang, Mueang | 55.9±6.41 a[2] | 0.0±0 b | 36.3 | 71.6 |
| Field 2: Ban Krang, Si Prachan | 39.6±15.13 a | 0.0±0 b | 33.0 | 65.0 |
| Field 3: Ban Krang, Si Prachan | 42.6±1.96 a | 0.0±0 b | 33.0 | 65.0 |
| Field 4: Phai Kwang, Mueang | 44.7±16.29 a | 0.0±0 b | 33.0 | 68.0 |
| Field 5: Ban Krang, Si Prachan | 14.4±4.45 a | 0.0±0 b | 34.3 | 62.0 |
| Mean | 39.4±15.31 a | 0.0±0 b | | |
| Commercial biopesticide BCNT004 | | | | |
| Field 1: Phai Kwang, Mueang | 60.9±6.94 a | 0.0±0 b | 36.3 | 71.6 |
| Field 2: Ban Krang, Si Prachan | 43.2±10.62 a | 0.0±0 b | 33.0 | 65.0 |
| Field 3: Ban Krang, Si Prachan | 56.5±13.10 a | 0.0±0 b | 33.0 | 65.0 |
| Field 4: Phai Kwang, Mueang | 19.9±3.65 a | 0.0±0 b | 33.0 | 68.0 |
| Field 5: Ban Krang, Si Prachan | 14.4±5.24 a | 0.0±0 b | 34.3 | 62.0 |
| Mean | 39.0±21.05 a | 0.0±0 b | | |

[1] Abbott's formula (Abbott, 1925)

[2] Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.01$

RH = relative humidity

Table 4 The cumulative mortality percentage of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)) after being treated with commercial biopesticide *Beauveria bassiana* for 15 days under rice field conditions at Phai Kwang, Mueang, Suphan Buri province in the dry season, January-May 2022

| Location | Mortality of brown planthopper (%)[1] | | Canopy temp.(°C) | Canopy RH (%) |
|---|---|---|---|---|
| | Com. bio. | Without com. bio. | | |
| Commercial biopesticide BCNT002 (MT) | 33.40±1.83 a[2)] | 0.0±0 b | 33.2 | 68.2 |
| Commercial biopesticide BCNT004 | 53.00±7.60 a | 0.0±0 b | 33.2 | 68.2 |

[1)] Abbott's formula (Abbott, 1925)

[2)] Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.01$

RH = relative humidity

BCNT002 (MT) และ BCNT004 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายสะสมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) กับกรรมวิธีไม่ใช้ชีวภัณฑ์ โดยการตายที่แท้จริงของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากการใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT002 (MT) เฉลี่ยร้อยละ 33.4 ในขณะที่การใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT004 มีอัตราการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เฉลี่ยร้อยละ 53.0 (Table 4)

อย่างไรก็ตาม เนื่องจากในสภาพแปลงนามีอุณหภูมิสูงและความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่มต่ำกว่าในสภาพโรงเรือนทดลอง ส่งผลให้การตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลดลง โดยเฉพาะชีวภัณฑ์ไอโซเลท BCNT002 (MT) แม้จะมีคุณสมบัติในการทนต่ออุณหภูมิสูงถึง 33 องศาเซลเซียส แต่ก็มีประสิทธิภาพลดลง และลดต่ำกว่าชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT004 เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ

**5. การเปรียบเทียบผลผลิต**

ฤดูนาปี 2564 และ 2565 ผลผลิตข้าวที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ พบว่า แปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ให้ผลผลิต

Table 5 The average rice yield (g/m$^2$) (Pathum Thani 1) compared between plots with/without commercial biopesticide *Beauveria bassiana* application at Suphan Buri province in the wet season, fields 1-2 in June-October 2021, field 3 in May-September 2022

| Location | Commercial biopesticide | Without commercial biopesticide |
|---|---|---|
| Commercial biopesticide BCNT002 (MT) | | |
| Field 1: Phai Kwang, Mueang | 135±1.56 a[1)] | 174±75.92 a |
| Field 2: Ban Krang, Si Prachan | 127±37.40 a | 163±6.16 a |
| Field 3: Ban Krang, Si Prachan | 137±30.29 a | 160±0 a |
| Mean | 133±5.29 a | 166±7.37 a |
| Commercial biopesticide BCNT004 | | |
| Field 1: Phai Kwang, Mueang | 220±0 a | 146±60.66 a |
| Field 2: Ban Krang, Si Prachan | 208±143.83 a | 191±0 a |
| Mean | 214±8.49 a | 169±31.82 a |

[1)] Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.05$

Table 6 The average rice yield (g/m$^2$) (Pathum Thani 1) compared between plots with/without commercial biopesticide *Beauveria bassiana* application at Suphan Buri province in the dry season, January-May 2022

| Location | Commercial biopesticide | Without commercial biopesticide |
|---|---|---|
| Commercial biopesticide BCNT002 (MT) | 218 a[1)] | 227 a |
| Commercial biopesticide BCNT004 | 208 a | 150 a |

[1)] Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.05$

ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับแปลงที่ไม่ใช้ชีวภัณฑ์ โดยไอโซเลท BCNT002 (MT) ได้ผลผลิตเฉลี่ย 133 กรัมต่อตารางเมตร น้อยกว่าแปลงที่ไม่ใช้ชีวภัณฑ์ (166 กรัมต่อตารางเมตร) สำหรับแปลงที่ใช้ไอโซเลท BCNT004 ได้ผลผลิตเฉลี่ย 214 กรัมต่อตารางเมตร สูงกว่าแปลงที่ไม่ใช้ชีวภัณฑ์ (169 กรัมต่อตารางเมตร) (Table 5)

ฤดูนาปรัง 2565 แปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ได้ผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติกับแปลงที่ไม่ใช้ชีวภัณฑ์ เช่นเดียวกับนาปี 2564 และ 2565 โดยไอโซเลท BCNT002 (MT) ได้ผลผลิตเฉลี่ย 218 กรัมต่อตารางเมตร น้อยกว่าแปลงที่ไม่ใช้ชีวภัณฑ์ (227 กรัมต่อตารางเมตร) ในขณะที่ไอโซเลท BCNT004 ได้ผลผลิตเฉลี่ย 208 กรัมต่อตารางเมตร สูงกว่าแปลงที่ไม่ใช้ชีวภัณฑ์ (150 กรัมต่อตารางเมตร) (Table 6)

เนื่องจากน้ำหนักผลผลิตในแปลงที่ 3 ของการทดสอบชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT004 ในฤดูนาปี 2564 และฤดูนาปี 2565 ไม่ถึง 100 กรัม ทำให้ไม่สามารถวัดความชื้นที่ 14 เปอร์เซ็นต์ และเปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตได้

## สรุปผลการทดลอง

เชื้อราสาเหตุโรคของแมลงศัตรูข้าว *B. bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. ไอโซเลทของกรมการข้าว (BCNT004 และ BCNT002 (MT)) มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลร้อยละ 44.5 และ 28.0 ตามลำดับ หลังจากพ่นบนตัวแมลง นาน 15 วัน ในสภาพแปลงนา และผลิตชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์พร้อมใช้ในรูปผงละลายน้ำ จำนวน 2 ไอโซเลท คือ BCNT004 และ BCNT002 (MT) โดยบริษัท แอพพลายเค็ม (ประเทศไทย) จำกัด มีอัตราการงอกของสปอร์สูงถึงร้อยละ 100 ในอาหาร PDA และกากน้ำตาล ที่ 16 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งคุณสมบัตินี้เป็นปัจจัยสำคัญต่อประสิทธิภาพของเชื้อราในการเข้าทำลายแมลง

ประสิทธิภาพการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพโรงเรือนทดลองของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท BCNT002 (MT) และ BCNT004 ดีกว่าเชื้อราไอโซเลท BDOAE001 จากกรมส่งเสริมการเกษตร โดยทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายสะสมเฉลี่ยร้อยละ 88.5 และ 69.0 ตามลำดับ ใช้ระยะเวลาในการทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 50 หลังจากสัมผัสเชื้อรา ($LT_{50}$) น้อยที่สุด 4.86 และ 7.03 วัน ตามลำดับ

สำหรับประสิทธิภาพการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ในนาข้าวอินทรีย์ของเกษตรกร จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *B. bassiana* ไอโซเลท BCNT002 (MT) และ BCNT004 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายมากกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีไม่ใช้ชีวภัณฑ์ สอดคล้องกันทั้ง 5 การทดลอง ในฤดูนาปี 2564 และ 2565 และฤดูนาปรัง 2565 อย่างไรก็ตาม ผลผลิตข้าวจากแปลงที่ใช้และไม่ใช้ชีวภัณฑ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *B. bassiana* ไอโซเลท BCNT004 และ BCNT002 (MT) มีความจำเพาะต่อการทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล อาจเป็นทางเลือกให้เกษตรกรใช้ควบคุมการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระบบการผลิตข้าวแบบอินทรีย์หรือแบบผสมผสาน นอกเหนือจากไอโซเลทที่กรมส่งเสริมการเกษตรแนะนำให้เกษตรกรใช้

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากเงินกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ปีงบประมาณ พ.ศ. 2563-2565 ภายใต้แผนงานวิจัยระบบการผลิตข้าวแบบอาหารปลอดภัยและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ในโครงการ “การพัฒนาไอโซเลทและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงศัตรูข้าว (2563)” และโครงการ “การพัฒนาไอโซเลทและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคของแมลงเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญในระดับแปลงนาของเกษตรกร (2564-2565)” ขอขอบคุณ กลุ่มวิทยาการอารักขาข้าว กองวิจัยและพัฒนาข้าว ที่ให้ความอนุเคราะห์เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล กองส่งเสริมการอารักขาพืชและจัดการดินปุ๋ย กรมส่งเสริมการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อรา *B. bassiana* (BDOEA01) เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัย และบริษัท แอพพลายเค็ม (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการผลิตชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *B. bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. มา ณ ที่นี้

## เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2563. การใช้เชื้อจุลินทรีย์ (ชีวภัณฑ์) ในการควบคุมศัตรูพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพัฒนาการถ่ายทอดเทคโนโลยี. กรุงเทพฯ. 31 หน้า.

ธนวรรณ พูลเสมอ, สินีนุช ครุฑเมืองแสนเสริม และภรณี ต่างวิวัฒน์. 2557. การยอมรับการผลิตและการใช้เชื้อราบิวเวอเรียเพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวของเกษตรกรในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา. หน้า 1-12. *ใน*: การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 4. 26-27 พฤศจิกายน 2557. อาคารเฉลิมพระเกียรติ 80 พรรษา. 5 ธันวาคม 2550. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, นนทบุรี.

พยอม โคเบลลี่, ดวงกมล บุญช่วย, ญาณิศา วงศ์วานิช, ธีรดา หวังสมบูรณ์ดี และสุกัญญา อรัญมิตร. 2563. การคัดแยก จำแนกชนิด และประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล. วารสารวิชาการข้าว 11(2): 71-83.

พยอม โคเบลลี่, อริษา จิตรติกรกุล, ไอลดา ชุมแสง, ดวงกมล บุญช่วย และธีรดา หวังสมบูรณ์ดี. 2564. การคัดเลือกอาหารเหลวและอาหารแข็งที่เหมาะสมเพื่อการผลิตขยายเชื้อรา *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. เพื่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูข้าว. หน้า 80-95. *ใน*: การประชุมวิชาการข้าวกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคกลางและตะวันตก และกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคตะวันออก ประจำปี 2564. 23-25 มีนาคม 2564. ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี, ปทุมธานี.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, อิศเรส เทียนทัด และวิไลวรรณ เวชยันต์. 2556. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรีย; *Beauveria bassiana* (Balsamo) เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช. หน้า 683-692. *ใน*: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร.

ไอลดา ชุมแสง, พยอม โคเบลลี่, อริษา จิตรติกรกุล, อาภานุช สุนทรกุล, ดวงกมล บุญช่วย และธีรดา หวังสมบูรณ์ดี. 2564. ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตและความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. หน้า 96-110. *ใน*: การประชุมวิชาการข้าวกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคกลางและตะวันตก และกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคตะวันออก ประจำปี 2564. 23-25 มีนาคม 2564. ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี, ปทุมธานี.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticides. Journal of Economic Entomology 18(2): 265-267.

Abdullah, T., T. Kuswinanti, A. Nurariaty, I.D. Daud, A. Nasruddin, R. Risal, S. Utami and M. Tuwo. 2020. Application of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. (Hypocreales: Cordycipitaceae) in rice seed and its effect on mortality of green leaf hopper, *Nephotettix virescens* (Distant) (Homoptera: Cicadellidae). *In*: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science Volume 486, 2nd International Conference on Food Security and Sustainable Agriculture in the Tropics. 2 September 2019. Makassar. Indonesia.

Aguda, R.M., J.A. Litsinger, D.W. Roberts. 1984. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* on brown planthopper (BPH), white backed planthopper (WBPH), and green leafhopper (GLH). International Rice Research Newsletter 9(6): 20.

Dannon, H.F., A.E. Dannon, O.K. Douro-Kpindou, A.V. Zinsou, A.T. Houndete, J. Toffa-Mehinto, I.A.T.M. Elegbede, B.D. Olou and M. Tamo. 2020. Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. Journal of Cotton Research 3(24): 1-21.

Devi, K.U., J. Padmavathi, C.U.M. Rao, A.A.P. Khan and M.C. Mohan. 2008. A study of host specificity in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Hypocreales, Clavicipitaceae). Biocontrol Science and Technology 18(10): 975-989.

Hediyeh, G., S. Moosa, M.S. Farzad, B. Mohammad and M. Vahid. 2013. Effects of Common Pesticides Used in Rice Fields on the Conidial Germination of Several Isolates of Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. Journal of the Entomological Research Society 15(1): 17-22.

Khashaba, E.H.K. 2021. Inoculation and colonization of isolated entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* in rice plants, *Oryza sativa* L. through seed immersion method. Egyptian Journal of Biological Pest Control 31(92): 1-7.

Sayed, S., S.A. Elarrnaouty, S. AlOtaibi and M. Salah. 2021. Pathogenicity and Side Effect of Indigenous *Beauveria bassiana* on *Coccinella undecim-punctata* and *Hippodamia variegate* (Coleoptera: Coccinellidae). Insects 12(1): 42.

Singh, D., T.K. Raina and J. Singh. 2017. Entomopathogenic fungi: an effective biocontrol agent for management of insect populations naturally. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 9(6): 830-839.

Sriratanasak, W., S. Watcharabutsarakham, W. Sinthupinyo and W. Janlapha. 2015. Density Estimation of Brown Planthopper Population in Paddy Fields Using Image Application. Thai Rice Research Journal 6(1): 80-90.

Steinhaus, E.A. 1949. Principles of Insect Pathology. McGraw-Hill Book Co., New York. 757 p.

Thungrabeab, M. and S. Tongma. 2007. Effect of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Balsam) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on non-target insects. KMITL Science and Technology Journal 7(S1): 8-12.

Wongwanich. Y., P. Cobelli, D. Boonchuay and T. Wangsomboondee. 2017. Development of thermotolerant isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. with ethyl methanesulfonate. Journal of Plant Protection Research 57(4): 338-346.

Wraight, S.P., M.A. Jackson and S.L. de Kock. 2001. Production, stabilization and formation of fungal biocontrol agents. pp. 253-287. *In*: T.M. Butt, C. Jackson and N. Magan (eds.). Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. CABI publishing, Wallingford, UK. 390 p.