การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลทกรมการข้าว เพื่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูข้าว

Efficiency Evaluation of Biopesticide-Formulation Commercial of *Metarhizium anisopliae* Isolates of Rice Department for Controlling the Rice Pest, Brown Planthopper

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

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

Abstract

Brown planthopper (BPH, *Nilaparvata lugens* (Stål)) is an important insect pest in the rice production system in Thailand. Biological control is an alternate method for insect control especially the use of commercial biopesticides which are convenient and easy to use for farmers. This research aimed to evaluate commercial biopesticide formulations of a fungus, *Metarhizium anisopliae* isolates of Rice Department, for effective BPH control in rice fields. Three isolates of *M. anisoplia*e having high BPH control efficiency in a greenhouse were selected to evaluate the efficiency of BPH control in irrigated lowland paddy fields in Suphan Buri province. The results showed no significant differences in BPH cumulative mortality percentages infected by *M. anisopliae* between isolates of Rice Department but significant differences were observed between isolates of Rice Department and an isolate of Department of Agricultural Extension (MNDOAE) and control (0.05% Tween 80) ($p < 0.05$). The cumulative mortality percentage of BPH infected by *M. anisopliae* isolates of Rice Department, MNMHN031 and MNNKI033, showed 55% and 49%, respectively, which were higher than MNDOAE isolates. Thus, these two effective fungal isolates were selected for commercial development of wettable powder biopesticide for ready-to-use isolate. These commercial biopesticides were evaluated for controlling BPH in a greenhouse. The results showed that MNNKI033 isolate presented the highest cumulative mortality at 68% and LT_{50} for 3 days than MNDOAE isolate. This is consistent with the experimental results of the commercial biopesticides for BPH control efficiency testing in rainfed lowland paddy field and irrigated lowland paddy field at Suphan Buri province. We found that the commercial biopesticide MNNKI033 isolate had significant higher BPH cumulative mortality than control method (without using biopesticide) ($p < 0.01$) with average BPH mortality at 36%. Furthermore, isolate of MNNKI033 will choose more isolate from DOAE (MNDOAE) to use for biopesticide to control BPH in paddy.

Keywords: rice, brown planthopper, entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae*, commercial biopesticide

บทคัดย่อ

ปัจจุบันเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เป็นแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญของการผลิตข้าวในประเทศไทย การใช้ชีวภัณฑ์เป็นอีกทางเลือกในการป้องกันกำจัด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ของเชื้อรา

* corresponding author E-mail: ilada.c@rice.mail.go.th

Received: August 6, 2023/ Revised: October 22, 2023/ Accepted: October 22, 2023

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

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

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

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

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

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

[4)] ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2218-5476

Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330 Tel. 0-2218-5476

Metarhizium anisopliae ไอโซเลทกรมการข้าวในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแมลงศัตรูข้าวในสภาพแปลงนา โดยการคัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* ที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพโรงเรือนทดลอง จำนวน 3 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงนา จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า ร้อยละการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *M. anisopliae* ไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างไอโซเลทจากกรมการข้าว แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับไอโซเลทจากกรมส่งเสริมการเกษตร (MNDOAE) และกรรมวิธีควบคุม โดยร้อยละการตายสะสมจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลทจากกรมการข้าว MNMHN031 และ MNNKI033 เท่ากับร้อยละ 55 และ 49 ตามลำดับ เมื่อนำไปพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์พร้อมใช้รูปแบบผงละลายน้ำ และทดสอบประสิทธิภาพในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่า ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท MNNKI033 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีการตายสะสมร้อยละ 68 ค่า LT_{50} เท่ากับ 3 สอดคล้องกับผลการทดลองในสภาพนาน้ำฝนและนาชลประทาน ที่การตายสะสมเฉลี่ยร้อยละ 36 สูงกว่ากรรมวิธีไม่ใช้ชีวภัณฑ์ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) จึงอาจเป็นทางเลือกให้แก่เกษตรกรใช้เป็นชีวภัณฑ์ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้

คำสำคัญ: ข้าว เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เชื้อราสาเหตุโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์

คำนำ

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper, BPH (*Nilaparvata lugens* (Stål)) (Hemiptera: Delphacidae) จัดเป็นแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญของประเทศไทย ทำลายต้นข้าวตั้งแต่ระยะแตกกอจนถึงระยะออกรวง โดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์ท่อน้ำท่ออาหารทำให้ต้นข้าวมีอาการใบเหลืองแห้งตายเป็นหย่อมๆ เรียก “อาการไหม้ (hopper burn)” ปัจจุบันพบการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งในพื้นที่นาชลประทานและนาน้ำฝนของประเทศไทย โดยเฉพาะในพื้นที่นาน้ำฝนภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบการระบาดร่วมกับเพลี้ยกระโดดหลังขาวเป็นประจำทุกปี (กรมการข้าว, 2562; จิรพงศ์ และคณะ, 2552) ในอดีตที่ผ่านมาพบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระบาดในพื้นที่ 1.9 ล้านไร่ กระจายอยู่ในจังหวัดภาคเหนือตอนล่างและภาคกลางตอนบน สร้างความเสียหายประมาณร้อยละ 70 ทำให้ผลผลิตข้าวเปลือกเสียหาย 1.1-1.2 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 1.1 หมื่นล้านบาท (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2566) ช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2566 พบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทำความเสียหายในพื้นที่นาเกษตรกร 935 ไร่ (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2566)

การควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยทั่วไปเกษตรกรนิยมใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลง ซึ่งมีผลกระทบต่อระบบนิเวศนาข้าว การป้องกันกำจัดโดยชีววิธีจึงเป็นทางเลือกสำหรับเกษตรกรโดยเฉพาะพื้นที่ปลูกข้าวอินทรีย์และข้าวปลอดสารพิษ เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokīn หรือเชื้อราเขียว (green muscardine fungus) เป็นเชื้อราที่ก่อโรคกับแมลง (entomopathogenic fungi) ทำให้เกิดโรคมัสคาดีนสีเขียวตามสีของสปอร์บนตัวแมลง จัดเป็นเชื้อราที่มีศักยภาพและได้รับความนิยมในการใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิดในอันดับต่างๆ เช่น Coleoptera, Lepidoptera, Homoptera, Hymenoptera, Orthoptera, Diptera เป็นต้น และบางไอโซเลทของเชื้อรามีความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงอาศัยมาก (ศิวิลัย, 2561) Peng และคณะ (2022) และ Zimmermann (2007) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* เพื่อการพัฒนาให้มีศักยภาพสูงในการควบคุมแมลงศัตรูพืช และพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ในรูปแบบทางการค้าออกมาจำหน่ายในตลาดเพื่อความสะดวกต่อการนำไปใช้

การใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราทดแทนการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และไม่ทำลายระบบสมดุลในธรรมชาติ (Altinok *et al*,. 2019) ได้มีการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าในประเทศต่างๆ ภายใต้ชื่อทางการค้า เช่น BioGreen (ประเทศออสเตรเลีย), BIO 1020 (ประเทศเยอรมันนี), Metabiol (ประเทศบราซิล), Meta-Sin (ประเทศเม็กซิโก) มาทาเซียม (ประเทศไทย) เป็นต้น (กรมวิชาการเกษตร 2566; ศิวิลัย, 2561) การพัฒนาชีวภัณฑ์มีหลากหลายรูปแบบ เช่น แบบอัดเม็ด แบบน้ำ แบบผงละลายน้ำ เป็นต้น แต่ละรูปแบบมีข้อจำกัดการใช้ที่แตกต่างกัน ในปัจจุบันได้มีการพัฒนา

รูปแบบของผลิตภัณฑ์ในเชิงอุตสาหกรรมเพื่อสะดวกต่อการนำไปใช้ ยืดอายุการเก็บรักษาได้นานกว่าเชื้อสด และสะดวกในการขนส่ง ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่นิยมใช้ส่วนมากและได้รับการขึ้นทะเบียนถูกต้องตามกฎหมายอยู่ในรูปแบบผงละลายน้ำ เกษตรกรสามารถจะนำไปใช้ได้ง่าย (กรมวิชาการเกษตร, 2566)

พยอม และคณะ (2561) ได้แยกเชื้อราบริสุทธิ์สาเหตุโรคของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเพลี้ยจักจั่นปีกลายหยัก ที่มีเส้นใยสีเขียวคล้ายเชื้อรา *Metarhizium* ที่รวบรวมได้จากทุกภาคในประเทศไทย จำนวน 136 ไอโซเลท จำแนกสกุลและชนิดเชื้อราด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เป็น *M. anisopliae* จำนวน 10 ไอโซเลท สอดคล้องกับการจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ Humber (2005) Ayele และคณะ (2020) และ Mongkolsamrit และคณะ (2020) ต่อมาดวงกมล และคณะ (2561) ศึกษาพบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท MNMHN031, MNPRE034 และ MNNKI033 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพโรงเรือนทดลอง ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีการตายสะสมเฉลี่ยร้อยละ 65.83 65.00 และ 64.72 ตามลำดับ และระยะเวลาที่ทำให้ตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50 เปอร์เซ็นต์ หลังสัมผัสเชื้อรา (medium lethal time, LT_{50}) ใช้เวลา 6.5 6.1 และ 5.9 วัน ตามลำดับ ไอลดา และคณะ (2565) ทดสอบความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อรา *M. anisopliae* ทั้ง 3 ไอโซเลท ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร Sabouraud dextrose agar (SDA) และ Sabouraud dextrose agar + yeast extract (SDAY) พบว่า เชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายสะสมไม่แตกต่างกันทางสถิติ และค่า LT_{50} ของเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเร็วกว่าไอโซเลทจากกรมส่งเสริมการเกษตร ที่แยกเชื้อรามาจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเช่นเดียวกันกับไอโซเลทจากกรมการข้าว

การใช้ประโยชน์จากเชื้อรา *M. anisopliae* ในปัจจุบันนิยมใช้ในรูปเชื้อสด โดยเลี้ยงเชื้อราด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ นำมาขยายเพิ่มปริมาณสปอร์ (conidia) ในวัสดุแข็งชนิดต่างๆ เช่น ข้าวหุงกึ่งสุกกึ่งดิบ เมล็ดข้าวฟ่าง หรือเมล็ดข้าวโพด เป็นต้น ก่อนนำไปฉีดพ่นในแปลงนา การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการใช้จุลินทรีย์ในการกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกร จังหวัดเชียงใหม่ พบว่า ส่วนใหญ่ร้อยละ 69.40 ยอมรับการใช้จุลินทรีย์ในการกำจัดศัตรูพืช แต่พบปัญหาในการผลิตและขยายเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากขั้นตอนในการผลิตและขยายเชื้อจุลินทรีย์มีความซับซ้อน ปัญหาการปนเปื้อน ปริมาณการผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร รวมทั้งปัญหาเรื่องการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ (ศุภกิจ และคณะ, 2564) ดังนั้น จึงมีแนวความคิดที่จะพัฒนาชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ไอโซเลทกรมการข้าว เพื่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเพิ่มทางเลือกให้แก่เกษตรกรในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เพื่อการผลิตชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

1.1 คัดเลือกเชื้อรา M. anisopliae ที่มีประสิทธิภาพของกรมการข้าว จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ MNMHN031 MNNKI033 และ MNPRE034 ทำการเพิ่มปริมาณสปอร์บนอาหาร SDA

1.2 ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพโรงเรือนทดลอง ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท ตามวิธีการของดวงกมล และคณะ (2561) โดยการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราความเข้มข้น 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ประมาณ 3 มิลลิลิตร บนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวัย 4-5 จำนวน 60 ตัวต่อซ้ำ นำไปปล่อยลงบนต้นข้าวพันธุ์อ่อนแอ คือ ไทชุงเนทีฟ 1 ในกรงเลี้ยงแมลงบันทึกการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน เพื่อนำข้อมูลมาคำนวณหาร้อยละการตายที่แท้จริงของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราด้วย Abbott's formula

1.3 นำเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท มาผลิตชีวภัณฑ์เชื้อสดบนอาหารแข็ง (ข้าวแข็งหุงกึ่งสุก) ดังพยอม และคณะ (2564) รายงานว่า ข้าวเจ้าแข็งหุงกึ่งสุกพันธุ์เสาไห้สามารถผลิตสปอร์ได้ความเข้มข้นสูง 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

1.4 ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพนาชลประทาน จังหวัดสุพรรณบุรี วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized completely block design (RCBD))

5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นชีวภัณฑ์แขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา ไอโซเลท MNMHN031

กรรมวิธีที่ 2 พ่นชีวภัณฑ์แขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา ไอโซเลท MNNKI033

กรรมวิธีที่ 3 พ่นชีวภัณฑ์แขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา ไอโซเลท MNPRE034

กรรมวิธีที่ 4 พ่นชีวภัณฑ์แขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา ไอโซเลท MNDOAE

กรรมวิธีที่ 5 ฉีดพ่นด้วย 0.05% (v/v) Tween 80 (กรรมวิธีควบคุม)

- พ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงบนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวัย 4-5 จำนวน 60 ตัวต่อกรรมวิธี ปล่อยแมลงบนต้นข้าว 60 ต้น หรือ 1 ตัวต่อ 1 ต้น (ระดับเศรษฐกิจของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล) (กรมการข้าว, 2562) โดยพ่นจำนวน 3 ครั้ง

- นำแมลงที่ได้รับเชื้อปล่อยในกรงเลี้ยงแมลงที่ปลูกข้าวพันธุ์อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เก็บตัวอย่างและบันทึกการตายของแมลงทุก 7 และ 14 วัน (พยอม และคณะ, 2563, 2564) เพื่อนำมาคำนวณหาร้อยละการตายที่แท้จริงของแมลงด้วย Abbott's formula วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วยโปรแกรม IRRISTAT for dos

- คัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนา ส่งให้บริษัท แอพพลายเค็ม (ประเทศไทย) จำกัด นำไปพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์พร้อมใช้ในรูปผงละลายน้ำ (wettable powder)

2. การพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033

บริษัท แอพพลายเค็ม (ประเทศไทย) จำกัด พัฒนาเป็นชีวภัณฑ์พร้อมใช้ในรูปผงละลายน้ำ ที่โรงงานผลิตชีวภัณฑ์ อำเภอชัยบาดาล จังหวัดลพบุรี และนำชีวภัณฑ์ส่งกลับให้กองวิจัยและพัฒนาข้าว ตรวจสอบอัตราการงอกและประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งในสภาพโรงเรือนทดลองและสภาพแปลงนาเกษตรกร ดังนี้

2.1 การตรวจสอบอัตราการงอกของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ M. anisopliae ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033 นำชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ปริมาณ 1 กรัม มาละลายในน้ำ 10 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) จากนั้นนับจำนวนสปอร์ด้วยเครื่อง hemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) และ SDA ตามวิธีการของอริษา และคณะ (2565)

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ M. anisopliae ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพโรงเรือนทดลอง

ประเมินความรุนแรงของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ต่อการก่อโรคกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ที่เลี้ยงเพิ่มประชากรบนข้าวพันธุ์ไทชุงเนทีฟ 1 ตามวิธีการของอริษา และคณะ (2565) โดยดำเนินการทดลองที่โรงเรือนทดลอง กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อคสมบูรณ์ (RCBD) ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ไอโซเลทที่ 1 MNMHN031 ปริมาณ 1 กรัม ละลายในน้ำ 10 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ไอโซเลทที่ 2 MNNKI033 ปริมาณ 1 กรัม ละลายในน้ำ 10 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร)

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราไอโซเลท MNDOAE (10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน

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

บันทึกการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทุกวัน พร้อมเก็บซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลออกจากกรง เป็นเวลา 14 วัน สุ่มแยกเชื้อจากซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ตายเพื่อยืนยันสาเหตุการตายของแมลง (พยอม และคณะ, 2563; 2564)

คำนวณหาร้อยละการตายที่แท้จริงของแมลงด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925) นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วยโปรแกรม IRRISTAT for dos เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูล โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และวิเคราะห์ระยะเวลาที่ทำให้

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลหลังสัมผัสเชื้อราแล้วตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LT_{50}) โดยการทำ probit analysis ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 22

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ M. anisopliae ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033 เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพแปลงนาเกษตรกร วางแผนการทดลองแบบเปรียบเทียบจับคู่ (paired t-test) ในแปลงปลูกข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตามวิธีการของอริษาและคณะ (2565) ระหว่างเดือนมิถุนายน 2565 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2566 โดยมี 2 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ พื้นที่ทดลอง 1 ไร่ต่อแปลง เปรียบเทียบแปลงละ 2 ไอโซเลท ในสภาพนาน้ำฝน ตำบลบ้านกร่าง อำเภอศรีประจันต์ จำนวน 1 แปลง และสภาพนาชลประทาน ตำบลสนามคลี อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 3 แปลง ดังนี้

การเปรียบเทียบชีวภัณฑ์เชื้อราไอโซเลทที่ 1 ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 พ่นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ไอโซเลทที่ 1 MNMHN031 ปริมาณ 1 กรัม ละลายในน้ำ 10 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารละลาย 0.05% (v/v) Tween 80 (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

การเปรียบเทียบชีวภัณฑ์เชื้อราไอโซเลทที่ 2 ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 พ่นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ไอโซเลทที่ 2 MNNKI033 ปริมาณ 1 กรัม ละลายในน้ำ 10 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารละลาย 0.05% (v/v) Tween 80 (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

ทำการพ่นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ 2 ครั้ง โดยพ่นครั้งแรกในช่วงที่ข้าวอยู่ในระยะแตกกออายุ 45 วัน และพ่นครั้งที่ 2 ห่างจากพ่นครั้งแรก 7 วัน บันทึกการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลหลังจากที่พ่นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* 1 7 และ 14 วัน

สุ่มแยกเชื้อจากซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ตายเพื่อยืนยันสาเหตุการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (พยอม และคณะ, 2563) คำนวณหาร้อยละการตายที่แท้จริงของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925) และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้สถิติทดสอบ t-test ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *M. anisopliae* เพื่อการผลิตชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ฤดูนาปรัง ระหว่างเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 ผลการทดลองในสภาพนาชลประทาน จังหวัดสุพรรณบุรี ที่อุณหภูมิใต้ทรงพุ่มเฉลี่ย 32.7 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่มเฉลี่ย 77.6 เปอร์เซ็นต์ พบว่า หลังจากพ่นเชื้อรา 14 วัน ร้อยละการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากการเข้าทำลายของชีวภัณฑ์เชื้อสดบนข้าวเจ้าแข็งหุงกึ่งสุกพันธุ์เสาไห้ (Fig. 1) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่าง 3 ไอโซเลทจากกรมการข้าว (MNMHN031 MNNKI033 และ MNPRE034) โดยการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสี

Fig. 1 *Metarhizium anisopliae* 4 isolates on solid culture media (cooked Sao Hai rice) at 14 days, A= MNMHN031, B= MNNKI033, C= MNPRE034 and D= MNDOAE

Table 1 The cumulative mortality percentage of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)) after treating with four isolates of *Metarhizium anisopliae* on cooked hard non-glutinous rice (Sao Hai) and 0.05% (v/v) Tween 80 used as a control at the concentration of 10^8 conidia/ml for 14 days, irrigated lowland paddy fields at Suphan Buri province, during December, 2021 - February, 2022

No.	Treatment	Isolate from	Mortality of brown planthopper (%)[1)]
1	MNMHN031	Rice Department	55.43 a[2)]
2	MNNKI033	Rice Department	48.91 a
3	MNPRE034	Rice Department	34.78 a
4	MNDOAE	Department of Agricultural Extension	11.96 b
5	Tween 80 (control)		0.00 b
	CV (%)		22.50

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

[2)] Means within the same column followed the same letter are not significantly different by DMRT test at $p < 0.05$ canopy temperature = 32.7 ºC, relative humidity in canopy = 77.6%

น้ำตาล อยู่ระหว่างร้อยละ 35-55 แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับไอโซเลทจากกรมส่งเสริมการเกษตร (MNDOAE) และกรรมวิธีควบคุมที่พ่นด้วย 0.05% Tween 80 ซึ่งทั้ง 3 ไอโซเลทนี้ มีร้อยละการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมากกว่าไอโซเลทจากกรมส่งเสริมการเกษตร (MNDOAE) และกรรมวิธีควบคุม (Table 1) สอดคล้องกับการทดลองของดวงกมล และคณะ (2561) พบว่า ในสภาพโรงเรือนทดลอง เชื้อราไอโซเลท MNMHN031 MNPRE034 และ MNNKI033 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีการตายสะสมเฉลี่ยอยู่ระหว่างร้อยละ 64.72-65.83 แต่ผลการทดลองในสภาพแปลงนาเกษตรกรต่ำกว่า เพราะไม่สามารถควบคุมปัจจัยสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ ส่งผลต่อความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคในการเข้าทำลายแมลงลดลง (Kawpet *et al.*, 2022)

ดังนั้น จึงคัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* 2 ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033 ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนา เพื่อพัฒนาผลิตเป็นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์โดยบริษัท แอพพลาย เค็ม (ประเทศไทย) จำกัด ในรูปแบบผงละลายน้ำ (Fig. 2)

2. การพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033

2.1 การตรวจสอบอัตราการงอกของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ M. anisopliae ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033

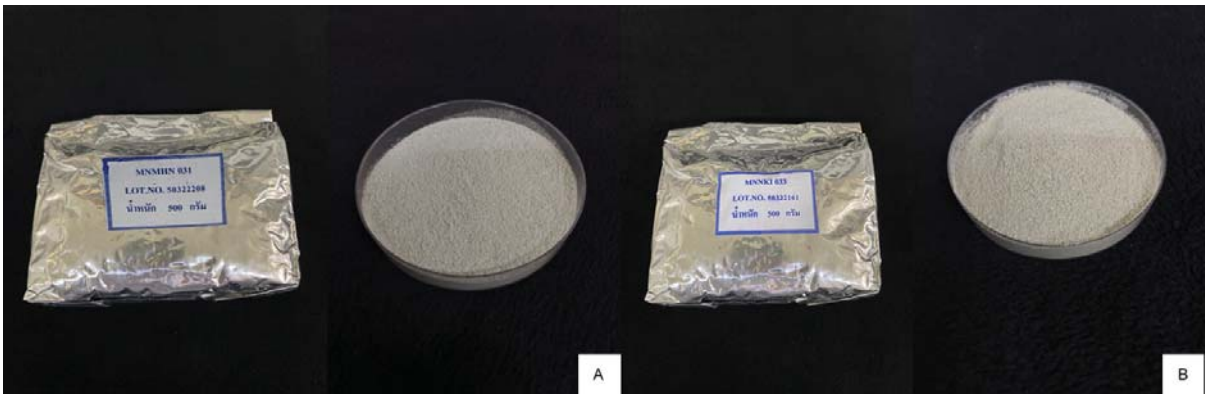

Fig. 2 The wettable powder formulation of commercial biopesticides *Metarhizium anisopliae* MNMHN031 (A) and MNNKI033 (B)

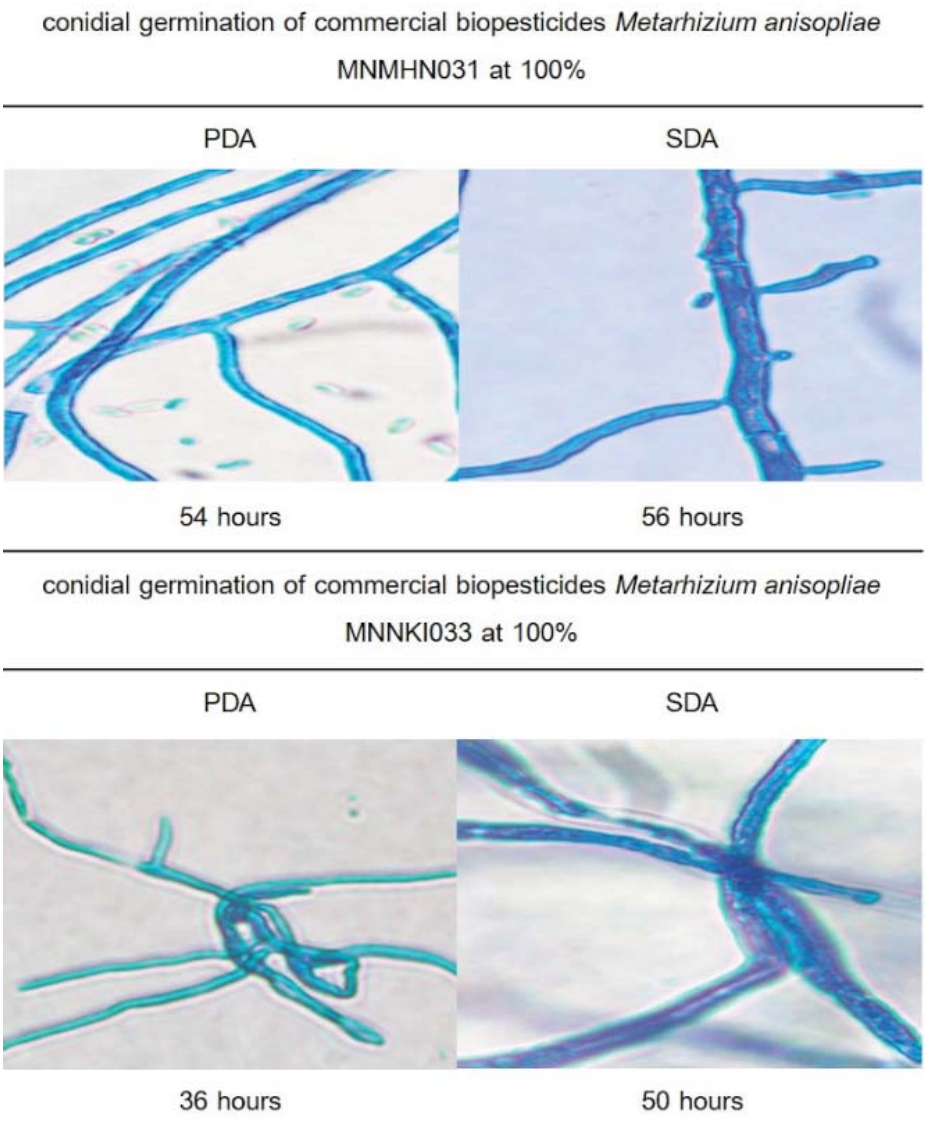

Fig. 3 Conidial germination of commercial biopesticides *Metarhizium anisopliae* MNMHN031 and MNNKI033 on culture media

การทดสอบความงอกของสปอร์ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ที่มีอายุการผลิต 14 วัน โดยทำการผลิตเมื่อวันที่ 5 กรกฎาคม 2565 พบการงอกร้อยละ 100 ทั้งในอาหาร PDA และ SDA โดยชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ไอโซเลท MNMHN031 มีอัตราการงอกของสปอร์บนอาหาร PDA ที่ 54 ชั่วโมง และบนอาหาร SDA ที่ 56 ชั่วโมง ส่วนไอโซเลท MNNKI033 มีอัตราการงอกของสปอร์บนอาหาร PDA ที่ 36 ชั่วโมง และบนอาหาร SDA ที่ 50 ชั่วโมง (Fig. 3) และไม่พบการงอกของสปอร์ ใน 0.05% (v/v) Tween 80 แม้จะทำการทดลองเป็นเวลา 96 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์จะไม่งอกก่อนที่จะนำไปพ่นบนตัวแมลง สอดคล้องกับการทดลองของอริษา และคณะ (2565) ที่พบว่า ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill จะไม่งอกใน 0.05% (v/v) Tween 80 ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการงอกสปอร์ของเชื้อรา โดยสูตรอาหารที่มีสัดส่วนของธาตุอาหารที่มีคาร์บอนและไนโตรเจนต่างกันจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตในการสร้างสปอร์และความเร็วในการงอกของสปอร์ได้ต่างกัน (Safavi *et al.*, 2007) แต่อัตราการงอกของสปอร์จะสูงเมื่อเลี้ยงบนสภาวะที่เหมาะสม คือ บนอาหารแข็ง PDA และ SDA ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อแมลง โดยกระบวนการก่อโรคบน

Table 2 The cumulative mortality percentage and the median lethal time 50 (LT_{50}) of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)) after treating with commercial biopesticide, spore suspension of *Metarhizium anisopliae* and 0.05% (v/v) Tween 80 used as a control at the concentration of 10^8 conidia/ml for 14 days, under greenhouse condition at Division of Rice Research and Development, on July, 2022

No.	Treatment	Mortality of brown planthopper[1)] (%)	Lethal time 50 (LT_{50})[2)] (days)
1	commercial biopesticide MNMHN031	46.88 b[3)]	8.591
2	commercial biopesticide MNNKI033	68.43 a	3.291
3	MNDOAE (spore suspension)	71.40 a	5.007
4	Tween 80 (control)	0.00 c	-
	CV (%)	3.90	

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

[2)] Analysis by IBM SPSS statistics 22

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

No. 1-2 isolate from Rice Department, No. 3 isolate from Department of Agricultural Extension

canopy temperature = 30.3 °C, relative humidity in canopy = 77.5%

แมลงของเชื้อรา *M. anisopliae* จะมีการยึดเกาะหรือสัมผัสระหว่างสปอร์เชื้อรากับผิวแมลง สปอร์งอก appressorium แทงผ่านชั้นผิวเข้าสู่ลำตัวแมลงเข้าไปเจริญเติบโตอยู่ภายในตัวแมลงจนทำให้แมลงเป็นอัมพาตและตายในที่สุด (ศิวิลัย, 2561; Gao *et al*., 2011) นอกจากนี้ การงอกของสปอร์เชื้อราจะขึ้นอยู่กับปัจจัยสภาพแวดล้อม เช่น ความชื้น อุณหภูมิ แสง และธาตุอาหาร โดยเปอร์เซ็นต์การงอก ระยะเวลาในการงอก ชนิดของสปอร์ ความรุนแรงของเชื้อรา และความอ่อนแอของแมลงอาศัยมีผลต่อการงอกและการเจริญเข้าไปของเชื้อราในแมลง (ศิวิลัย, 2561)

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ M. anisopliae ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพโรงเรือนทดลอง กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2565 ที่อุณหภูมิใต้ทรงพุ่มเฉลี่ย 30.3 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่มเฉลี่ย 77.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากพ่นชีวภัณฑ์เชื้อราบนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 4-14 วัน พบว่า ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ทั้ง 2 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายแตกต่างกันทางสถิติ โดยชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท MNNKI033 มีค่าเฉลี่ยการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลร้อยละ 68 ค่า LT_{50} เท่ากับ 3 วัน และไอโซเลท MNMHN031 มีค่าเฉลี่ยการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลร้อยละ 47 ค่า LT_{50} เท่ากับ 9 วัน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับการพ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราไอโซเลท MNDOAE ที่ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 71 ค่า LT_{50} เท่ากับ 5 วัน (Table 2) สอดคล้องกับการทดลองของดวงกมล และคณะ (2561) พบว่า การพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราไอโซเลท MNMHN031 MNPRE034 และ MNNKI033 ที่ความเข้มข้น 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีการตายสะสมเฉลี่ยร้อยละ 65.83 65.00 และ 64.72 ตามลำดับ และไอโซเลท MNNKI033 ค่า LT_{50} เท่ากับ 5.9 วัน น้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับไอโซเลทอื่นๆ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับผลการทดสอบประสิทธิภาพทั้งชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์และสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราในสภาพโรงเรือนทดลองของไอโซเลท MNNKI033 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 60

เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองของ Li และคณะ

(2012) พบว่า *Metarhizium* ไอโซเลท Mf82 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 82 ค่า LT_{50} เท่ากับ 5 วัน มากกว่าระยะเวลาของชีวภัณฑ์เชื้อราไอโซเลท MNNKI033 ของกรมการข้าว เห็นได้ว่า ความสัมพันธ์ระหว่างความรุนแรงในการก่อโรคและการเข้าทำลายแมลงของไอโซเลทเชื้อรามีความสำคัญ โดยเฉพาะไอโซเลทที่ผ่านการแยกเชื้อราจากแมลงเป้าหมายโดยตรง จะส่งผลทำให้เชื้อรามีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงได้เร็วกว่า

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ M. anisopliae ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033 เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนาเกษตรกร ในสภาพนาน้ำฝน ตำบลบ้านกร่าง อำเภอศรีประจันต์ จำนวน 1 แปลง และนาชลประทาน ตำบลสนามคลี อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 3 แปลง (Fig. 4) ระหว่างเดือนมิถุนายน 2565 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2566 ภายใต้อุณหภูมิเฉลี่ย 32.3 องศาเซลเซียส (29.8-34.8 องศาเซลเซียส) และความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่มเฉลี่ย 76.6 เปอร์เซ็นต์ (65.5-88.1 เปอร์เซ็นต์) พบว่า การใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033 ในสภาพนาน้ำฝน ภายใต้อุณหภูมิเฉลี่ย 34.8 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่มเฉลี่ย 65.5 เปอร์เซ็นต์ การตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 24 และ 39 ตามลำดับ ส่วนในสภาพนาชลประทาน ภายใต้อุณหภูมิเฉลี่ย 29.8-33.4 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่มเฉลี่ย 75.9-88.1 เปอร์เซ็นต์ การใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033 การตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 แปลง มีค่าเฉลี่ยระหว่างร้อยละ 22-43 และ 21-44 ตามลำดับ โดยแปลงที่มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.8-31.1 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่มเฉลี่ย 76.9-88.1 เปอร์เซ็นต์ การตายเฉลี่ยสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากการใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033 เท่ากับร้อยละ 43 และ 44 ตามลำดับ สูงกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีไม่ใช้ชีวภัณฑ์ โดยการตายสะสมเฉลี่ยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากการใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท MNNKI033 และ MNMHN031 เท่ากับร้อยละ 36 และ 28 ตามลำดับ (Table 3) และพบตัวอย่างเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลถูกชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* เข้าทำลาย (Fig. 5)

สาเหตุที่ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์มีประสิทธิภาพลดลงอาจเกิดจากก่อนนำชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ชนิดผงละลายน้ำมาใช้ทดสอบในสภาพแปลงนาเกษตรกรได้ทำการเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลามากกว่า 3 เดือน จึงอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลง อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองของประภาษและคณะ (2563) พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. ในชีวภัณฑ์แต่ละไอโซเลท มีชีวิตรอดและระยะเวลาการเก็บต่างกันส่งผลต่อประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืช โดยการเก็บชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดเม็ดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อรามีชีวิตรอดสูงกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง เชื้อรายังคงมีจำนวนโคนิเดียที่มีชีวิตสูงและคงที่นาน 9 เดือน และยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของรา *Fusarium oxysporum* f. sp.

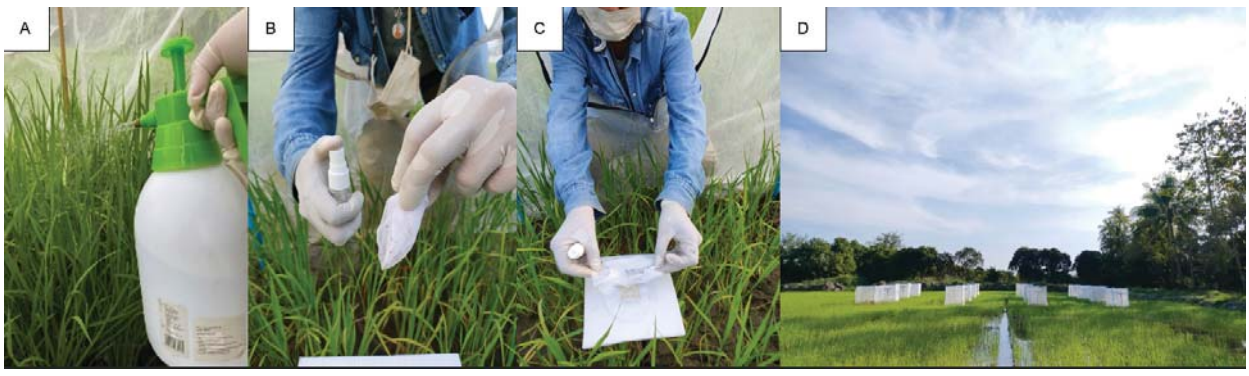

Fig. 4 The efficiency test of commercial biopesticides *Metarhizium anisopliae* controlling brown planthopper (BPH) in rainfed lowland paddy field at Suphan Buri province, during June, 2022 - February, 2023; increasing humidity before inoculation by spraying water (A), inoculation commercial biopesticide *M. anisopliae* on BPH (B-C), rainfed lowland paddy field condition (D)

Table 3 The cumulative mortality percentage of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)) after treating with commercial biopesticide *Metarhizium anisopliae* at the concentration of 10^8 conidia/ml for 14 days, in one rainfed lowland paddy field and three irrigated lowland paddy fields at Suphan Buri province, June, 2022 - February, 2023

Location	Mortality of brown planthopper (%)[1)]			Canopy temperature (°C)	Canopy relative humidity (%)
	Commercial biopesticide		Without commercial biopesticide		
	MNMHN031	MNNKI033			
Field 1: Ban Krang, Si Prachan (rainfed)	23.95	38.57	0.00	34.8	65.5
Field 2: Sanam Khli, Mueang (irrigated)	22.13	38.64	0.00	33.4	75.9
Field 3: Sanam Khli, Mueang (irrigated)	43.29	21.17	0.00	29.8	88.1
Field 4: Sanam Khli, Mueang (irrigated)	23.78	44.23	0.00	31.1	76.9
Mean	28.29	35.65	0.00	32.3	76.6
Diff. (MNMHN031 and without com. bio.)		28.29**			
Diff. (MNNKI033 and without com. bio.)		35.65**			

[1)] Abbott's formula (Abbott, 1925), **Means are significantly different at $p < 0.01$

Fig. 5 Cadaver of brown planthoppers infected by commercial biopesticides of *Metarhizium anisopliae* covered with green conidia in a paddy filed

lycopersici (Fol) สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ ดังนั้น การใช้สารชีวภัณฑ์เชื้อราต้องใช้ให้ถูกต้องและเหมาะสม ทั้งระดับความเข้มข้น ช่วงเวลาที่ใช้ และความถี่ในการพ่น เพื่อให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น (นาวิน และคณะ, 2559)

การทดสอบในสภาพนาข้าว พบว่า การตายเฉลี่ยสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่ำกว่าผลการทดสอบในสภาพโรงเรือนทดลอง อาจมีสาเหตุจากสภาพแวดล้อมในแปลงนามีแสงแดด อุณหภูมิสูง และความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่มต่ำกว่าในสภาพโรงเรือนทดลองที่เป็นสภาพปิด ควบคุมแสง อุณหภูมิ และความชื้นได้มากกว่าในสภาพแปลงนาข้าว ทำให้ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อราในการเข้าทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลดลง ซึ่งในสภาพอุณหภูมิต่ำกว่า 30 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ใต้ทรงพุ่มมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตหรือประสิทธิภาพของเชื้อรา ซึ่ง Atthanassiou และคณะ (2017) กล่าวว่า ปัจจัยทางสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิและความชื้น มีผลกระทบอย่างสูงต่อความรุนแรงและความสำเร็จในการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงในการควบคุมแมลงหลังการเก็บเกี่ยว เช่นเดียวกับ Kawpet และคณะ (2022) ได้ศึกษาการคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ในการควบคุมแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญทางภาคเหนือของไทย พบว่า ความสำเร็จของการใช้เชื้อราในสภาพแปลงนาข้าวเกี่ยวข้องกับขั้นตอนต่างๆ ในการปฏิบัติ รวมทั้งปัจจัยทางสภาพแวดล้อม

สรุปผลการทดลอง

M. anisopliae เชื้อราสาเหตุโรคของแมลงศัตรูข้าว ไอโซเลทกรมการข้าว MNMHN031 และ MNNKI033 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนาข้าว หลังพ่นเชื้อรา 14 วัน ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายเฉลี่ยร้อยละ 55 และ 49 ตามลำดับ เมื่อพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ โดยบริษัท แอพพลายเค็ม (ประเทศไทย) จำกัด ได้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์พร้อมใช้ในรูปผงละลายน้ำ จำนวน 2 ไอโซเลท คือ MNMHN031 และ MNNKI033 ซึ่งมีอัตราการงอกของสปอร์สูงถึงร้อยละ 100 ในไอโซเลท MNMHN031 บนอาหาร PDA ที่ 54 ชั่วโมง และบนอาหาร SDA ที่ 56 ชั่วโมง ส่วนไอโซเลท MNNKI033 มีอัตราการงอกของสปอร์ร้อยละ 100 บนอาหาร PDA ที่ 36 ชั่วโมง และบนอาหาร SDA ที่ 50 ชั่วโมง ตามลำดับ

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่า ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท MNNKI033 มีค่าเฉลี่ยการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลร้อยละ 68 ไม่แตกต่างทางสถิติกับชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae*

ไอโซเลท MNDOAE จากกรมส่งเสริมการเกษตร นอกจากนี้ยังพบว่าชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท MNNKI033 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายได้เร็วกว่าเชื้อราไอโซเลท MNDOAE จากกรมส่งเสริมการเกษตร

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพนาน้ำฝนและนาชลประทาน จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า การใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท MNMHN031 และ MNNKI033 ทำให้การตายเฉลี่ยสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสูงกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้ชีวภัณฑ์ โดยการใช้ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ไอโซเลท MNNKI033 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายเฉลี่ยสะสมร้อยละ 36 ดังนั้น ชีวภัณฑ์เชื้อราเชิงพาณิชย์ *M. anisopliae* ไอโซเลท MNNKI033 สามารถนำไปใช้เป็นชีวภัณฑ์ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระบบการผลิตข้าวแบบปลอดสารหรือข้าวอินทรีย์ ซึ่งเป็นอีกทางเลือกนอกจากไอโซเลทของกรมส่งเสริมการเกษตรปัจจุบันที่แนะนำให้เกษตรกรใช้

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากเงินกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 ภายใต้แผนงานวิจัยระบบการผลิตข้าวแบบอาหารปลอดภัยและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ในโครงการ “การพัฒนาสูตรและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคของแมลงเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญในระดับแปลงนาของเกษตรกร” และขอขอบคุณ กองส่งเสริมการอารักขาพืชและจัดการดินปุ๋ย กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อรา *M. anisopliae* (MNDOAE) และบริษัทแอพพลายเค็ม (ประเทศไทย) จำกัด ที่ได้ร่วมพัฒนาผลิตชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์พร้อมใช้ในรูปผงละลายน้ำ สำหรับใช้ในการทำงานวิจัยมา ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2566. รายงานสถานการณ์ภัยพิบัติด้านการเกษตร. สืบค้นจาก: https://www.moac.go.th/warning-files-452791791814. (9 ตุลาคม 2566)

กรมการข้าว. 2562. ศัตรูข้าวและการป้องกันกำจัด. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท อาร์ตควอลิไฟท์ จำกัด. กรุงเทพฯ. 220 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2566. วัตถุอันตรายที่ได้รับการขึ้นทะเบียน. สืบค้นจาก: https://www.doa.go.th/ard/?page_id=386. (24 มกราคม 2566)

จิรพงศ์ ใจรินทร์, วราภรณ์ วงศ์บุญ, กิจติพงษ์ เพ็งรัตน์, สงวน เทียงดีฤทธิ์, พิกุล ลีลากุด และกัลยา สามเสน. 2552. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมีคุณภาพเมล็ดเหมือนขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย. วารสารวิชาการข้าว 3(1): 21-36.

ดวงกมล บุญช่วย, ชัยรัตน์ จันทร์หนู, กมลวรรณ แจ้งดี และพยอม โคเบลลี่. 2561. ประสิทธิภาพเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล. หน้า 101-111. *ใน:* การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ครั้งที่ 35 พ.ศ. 2561. 26-28 มิถุนายน 2561. โรงแรมแซนด์ ดูนส์ เจ้าหลาว บีช รีสอร์ท, จันทบุรี.

นาวิน สุขเลิศ, จิราพร กุลสาริน, ไสว บูรณพานิชพันธุ์ และวีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2559. ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในเบบี้ฮ่องเต้บนพื้นที่สูงของจังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 32(2): 171-180.

ประภาษ กาวิชา, วนารัตน์ นาติโน และวิไลวรรณ พัฒนาสันต์. 2563. การพัฒนาชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดเม็ดเพื่อการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ. Thai Journal of Science and Technology 9(6): 832-843.

พยอม โคเบลลี่, ดวงกมล บุญช่วย, ชัยรัตน์ จันทร์หนู, กมลวรรณ แจ้งดี, นภสร แก้ววิเศษ, สมใจ สาลีโท, นันทิดา สินสายไทย, กรวรรณ ม่วงศรี, พุธชาติ ศรีพนม, เรณู จำปาเกตุ, ชลณิภา นวลทอง, กอบแก้ว สายเรี่ยม, ญานิศา วงศ์วานิช, ธีรดา หวังสมบูรณ์ดี และสุกัญญา อรัญมิตร. 2561. หน้า 1-102. *ใน*: รายงานฉบับสมบูรณ์เรื่องเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคแมลงศัตรูข้าวเพื่อควบคุมแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญโดยชีววิธีในประเทศไทย. กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, กรุงเทพฯ.

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.

ศิวลัย สิริมังคารัตน์. 2561. โรควิทยาของแมลงและการประยุกต์ใช้. พิมพ์ครั้งที่ 1. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 428 หน้า.

ศุภกิจ สิทธิวงค์, ภานุพันธุ์ ประภาติกุล, วรทัศน์ อินทรัคคัมพร และพัชรินทร์ ครุฑเมือง. 2564. ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการใช้จุลินทรีย์ในการกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกร จังหวัดเชียงใหม่. วารสารผลิตกรรมการเกษตร 3(3): 93-104.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.). 2566. รัฐสั่งปราบเพลี้ยนาข้าวเสียหาย 1.1 หมื่นล้าน. สืบค้นจาก: https://warning.acfs.go.th/th/early-warning/view/?page=1957. (10 ตุลาคม 2566)

อริษา จิตรติกรกุล, พยอม โคเบลลี่, ไอลดา ชุมแสง, ดวงกมล บุญช่วย และธีรดา หวังสมบูรณ์ดี. 2565. ประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. ไอโซเลทกรมการข้าว เพื่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูข้าว. หน้า 183-201. *ใน*: การประชุมวิชาการข้าวกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคกลางและภาคตะวันตก และกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคตะวันออก ประจำปี 2565. 11-12 พฤษภาคม 2565. ศูนย์วิจัยข้าวปราจีนบุรี, ปราจีนบุรี.

ไอลดา ชุมแสง, พยอม โคเบลลี่, อริษา จิตรติกรกุล และธีรดา หวังสมบูรณ์ดี. 2565. ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตและความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metschn.) Sorokīn. หน้า 167-182. *ใน:* การประชุมวิชาการข้าวกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคกลางและภาคตะวันตก และกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคตะวันออก ประจำปี 2565. 11-12 พฤษภาคม 2565. ศูนย์วิจัยข้าวปราจีนบุรี, ปราจีนบุรี.

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

Altinok, H.H., M.A. Altinok and A.S. Koca. 2019. Modes of action of entomopathogenic fungi. Current Trends in Natural Sciences 8(16): 117-124.

Atthanassiou, C.G., N.G. Kavallieratos, C.I. Rumbos and D.C. Kontodimas. 2017. Influence of temperature and relative humidity on the insecticidal efficacy of *Metarhizium anisopliae* against larvae of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) on wheat. Journal of Insect Science 17(1): 1-7.

Ayele, B.A., D. Muleta, J. Venegas and F. Assefa. 2020. Morphological, molecular, and pathogenicity characteristics of the native isolates of *Metarhizium anisopliae* against the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). Ethiopia Egyptian Journal of Biological Pest Control (2020) 30: 59.

Gao, Q., K. Jin, S.H. Ying, Y. Zhang, G. Xiao, Y. Shang, Z. Duan, X. Hu, X.Q. Xie, G. Zhou, G. Peng, Z. Luo, W. Huang, B. Wang, W. Fang, S. Wang, Y. Zhong, L.J. Ma, R.J.S. Leger, G.P. Zhao, Y. Pei, M.G. Feng, Y. Xia and C. Wang. 2011. Genome sequencing and comparative transcriptomics of the model entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *M. acridum.* PLoS Genetics 7(1): e1001264.

Humber, R.A. 2005. Entomopathogenic fungal identification. Available source: http://www.ars.usda.gov/ SP2UserFiles/Place/80620510/APSwkshoprev.pdf. (October 30, 2015)

Kawpet, R., A. Thancharoen and W. Sriidokchan. 2022. Potential of entomophatogenic fungi for controlling rice leafhoppers and lepidopterous larvae in northern Thailand. International Journal of Agricultural Technology 18(5): 2033-2446.

Li, M., H. Lin, S. Li, P. Chen, L. Jin and J. Yang. 2012. Virulence of entomopathogenic fungi to adults and eggs of *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae). African Journal of Agricultural Research 7(14): 2183-2190.

Mongkolsamrit, S., A. Khonsanit, D. Thanakitpipattana, K. Tasanathai, W. Noisripoom, S. Lamlertthon, W. Himaman, J. Houbraken, R.A. Samson and J.

Luangsa-ard. 2020. Revisiting *Metarhizium* and the description of new species from Thailand. Studies in Mycology 95: 171-251.

Peng, Z.Y., S.T. Huang, J.T. Chen, N. Li, Y. Wei, A. Nawaz and S.Q. Deng. 2022. An update of a green pesticide: *Metarhizium anisopliae*. All Life 15: 1141-1159.

Safavi, S.A., F.A. Shah, A.K. Pakdel, G.R. Rasoulian, A. R. Bandani and T.M. Butt. 2007. Effect of nutrition on growth and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. FEMS Microbiology Letters 270: 116-123.

Zimmermann, G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Biocontrol Science and Technology 17(9): 879-920.