

การศึกษาความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงเพื่อควบคุมแมลงพาหะ
(เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล) โรคใบขาวอ้อย

Study on Virulence of Entomopathogenic Fungi for Controlling Insect Vector, *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) of Sugarcane White Leaf Disease

ณิชนันท์ เกินอาษา^{1*}

Nichanun Kernasa^{1*}

Received: January 17, 2024

Revised: April 19, 2024

Accepted: April 23, 2024

Abstract: Entomopathogenic fungi are organisms that naturally parasitize and kill insect pests. These fungi, which include species such as *Beauveria bassiana*, *Purpureocillium lilacinum*, and *Metarhizium anisopliae*, have been extensively researched for their potential in biological insect pest control. The objective of this study was to isolate the entomopathogenic fungus *M. anisopliae* from sugarcane longhorn stem borer, *B. bassiana*, and *P. lilacinum* from brown plant hopper, and their pathogenicity was evaluated against *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) adults using five concentrations of 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 and 1×10^9 conidia/mL. Every day, insect mortality was observed for up to seven days. The results found that all three fungi at 1×10^9 conidia/mL concentration caused the highest insect mortality against *M. hiroglyphicus*. The entomopathogenic fungi caused 97.6% mortality in *B. bassiana*, 95.56% mortality in *P. lilacinum* and 95% mortality in *M. anisopliae* at seven days post treatment, respectively. Fungi caused lower LC50 values in *B. bassiana* (2.90×10^5 conidia/mL), in *P. lilacinus* (3.76×10^5 conidia/mL), and in *M. anisopliae* (7.39×10^6 conidia/mL) on *M. hiroglyphicus* adults, respectively. The results clearly conclude that entomopathogenic fungus is effective and pollution-free candidates for controlling *M. hiroglyphicus* insect pest.

Keywords: entomopathogenic fungi, lethal concentrations, sugarcane white leaf hoppe

บทคัดย่อ: เชื้อราที่ก่อโรคในแมลงคือสิ่งมีชีวิตที่เป็นปรสิตและฆ่าแมลงศัตรูพืช พบได้หลากหลายสายพันธุ์ ยกตัวอย่างเช่น *Beauveria bassiana*, *Purpureocillium lilacinum* และ *Metarhizium anisopliae* เป็นสายพันธุ์ที่มีงานวิจัยอย่างกว้างขวางถึงศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความรุนแรงของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ที่แยกจากด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย *B. bassiana* และ *P. lilacinum* ที่แยกจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ต่อการควบคุมเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล ประเมินการก่อโรคกับ

¹ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

^{1*} Department of Entomology Faculty of Agriculture at Kamphaengsaen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, 73140

¹ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคกลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

^{1*} National Biological Control Research Center Central Regional Center Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

*Corresponding author: agropk@ku.ac.th

ตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล ทดสอบความเข้มข้น 5 ระดับใน 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 และ 1×10^9 โคโคนีต่อมิลลิลิตร เก็บผลทุก ๆ วัน สังเกตการตายของแมลง เป็นเวลา 7 วัน ผลการวิจัยพบว่าเชื้อราทั้งสามชนิดที่ระดับความเข้มข้น 1×10^9 โคโคนีต่อมิลลิลิตร ทำให้เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลมีอัตราการตายสูงที่สุด โดยเชื้อรา *B. bassiana* ทำให้เกิดอัตราการตาย 97.6 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา *P. lilacinum* ทำให้เกิดอัตราการตาย 95.56 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *M. anisopliae* ทำให้เกิดอัตราการตาย 95 เปอร์เซ็นต์ หลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน เชื้อราทำให้ค่า LC50 ต่ำกว่าใน *B. bassiana* (2.90×10^5 โคโคนีต่อมิลลิลิตร) ใน *P. lilacinus* (3.76×10^5 โคโคนีต่อมิลลิลิตร) และใน *M. anisopliae* (7.39×10^6 โคโคนีต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ ในเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลตัวเต็มวัย จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า การใช้เชื้อราที่ก่อโรคในแมลงมีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลได้ในระดับสูง และด้วยวิธีนี้ปราศจากมลภาวะจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงศัตรูพืชเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลโดยชีววิธี

คำสำคัญ: เชื้อราก่อโรคแมลง, ความเป็นพิษเฉียบพลัน, เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล

คำนำ

โรคใบขาวอ้อยเป็นโรคที่สำคัญของอ้อย พบครั้งแรกที่จังหวัดลำปาง ในปี พ.ศ.2497 โรคใบขาวเกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา อาการของโรค คือ ใบอ้อยเป็นสีขาว อ้อยชะงักการแตกกอ ถ้าอาการรุนแรงสามารถทำให้อ้อยตายได้ (Hanboonsong and Kobori, 2017) ซึ่ง Hanboonsong et al., (2002) รายงานว่าเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) เป็นแมลงพาหะนำโรคใบขาวอ้อย Roddee et al. (2018) ศึกษาการเพิ่มปริมาณของเชื้อไฟโตพลาสมาในต้นอ้อยจากการปลูกเชื้อด้วยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* พบว่า ปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้น 1-2 เท่า ทุกสัปดาห์ และหลังจากปลูกเชื้อไปแล้ว 6 และ 9 เดือน พบปริมาณเชื้อสะสมสูงที่สุดบริเวณกลางลำต้น Chen et al. (1971) รายงานว่า ระยะตัวอ่อนวัย 4-5 ของ เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* สามารถเจริญเติบโตบนหญ้าแพรกและหญ้าตีนกาได้ และทำให้หญ้าทั้งสองชนิดแสดงอาการใบขาวด้วย ซึ่งทำให้แมลงชนิดนี้มีพืชอาหารอื่นนอกจากอ้อยและใช้เป็นแหล่งสะสมโรคใบขาวเพื่อพร้อมที่จะระบาดไปสู่อ้อยได้อย่างดี

การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงอาจมีความเป็นไปได้ในการใช้ควบคุมปริมาณของเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* เพราะเป็นแมลงปากดูด

หากใช้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ แมลงต้องกินเข้าไปจึงจะทำให้แมลงเป็นโรค แต่เชื้อราสามารถเข้าทำลายแมลงได้โดยทางเส้นใยทะลุผ่านผนังลำตัว การนำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการลดและใช้ทดแทนสารเคมี (กรมส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์, 2563)

เชื้อราสาเหตุโรคแมลง (entomopathogenic fungi) เป็นกลุ่มเชื้อราที่มีความเฉพาะเจาะจงกับแมลงและอาร์โทรพอดอื่น ๆ เช่น แมงมุม ไร เห็บ เป็นสาเหตุทำให้สิ่งมีชีวิตเหล่านี้เกิดโรคตายเท่านั้น โดยไม่ก่อให้เกิดโรคในพืช สัตว์ชนิดต่าง ๆ รวมถึงมนุษย์แต่อย่างใด (กรมส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์, 2563) เชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงมีหลายชนิด ที่เป็นเชื้อสาเหตุของโรคที่แท้จริง (obligate parasite) คือเจริญเติบโตเฉพาะในตัวแมลงเท่านั้น แบบ semi parasite คือสามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในตัวแมลงและในอาหารเลี้ยงเชื้อ และ saprophyte คือ เชื้อราอาศัยบนซากพืช ซากสัตว์และอินทรีย์วัตถุที่เชื้อราใช้เป็นอาหาร (ศูนย์เรียนรู้เทคโนโลยีการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี มหาวิทยาลัยแม่โจ้, 2558) เชื้อราทำให้เกิดโรคในแมลงได้ด้วยการแทงเข้าสู่แมลงทางผนังลำตัวหรือรูหายใจ หรือบาดแผลที่ผนังลำตัว โดยสปอร์ของเชื้อราที่ตกลงบนผนังลำตัวของแมลง เมื่อมีความชื้นที่พอเหมาะ เชื้อราจะสร้าง germ tube แทงทะลุผนังลำตัวแมลงเข้าไป โดยปกติจะเข้าบริเวณที่มีผนังบาง ๆ

เช่น รอยต่อระหว่างปล้องหรือข้อต่อของรยางค์ต่าง ๆ เมื่อเชื้อราเข้าไปในช่องว่างภายในตัวแมลง จะเจริญสร้างเส้นใยจนเต็มตัวแมลง แย่งแร่ธาตุอาหาร เบียดเบียนและทำลายอวัยวะต่าง ๆ ในตัวแมลง เมื่อแมลงตายเชื้อราจะแทงทะลุผนังลำตัวแมลงออกมา โดยทั่วไปจะออกมาตรงจุดที่เชื้อราแทงเข้าไป เชื้อราจะเริ่มสร้างสปอร์บนผนังลำตัวของแมลง ซึ่งในที่สุดจะคลุมทั่วตัวแมลง ทำให้แมลงมีลักษณะคล้ายมัมมี่ คือเป็นซากแห้งแข็งและมีสปอร์ขึ้นปกคลุมทั้งตัว เมื่อถูกสัมผัสสปอร์บนผนังลำตัวแมลงจะปลิวกระจายไป เพื่อเข้าทำลายแมลงตัวอื่นต่อไป นอกจากการเข้าเบียดเบียนและทำลายเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของแมลงแล้ว เชื้อราหลายชนิดสร้างสารพิษทำลายแมลงด้วย เช่น เชื้อราในสกุล *Beauveria* จะสร้างสารพิษ beauvericin และ bassianolide สารพิษเหล่านี้มีพิษรุนแรงต่อแมลงมากน้อยแตกต่างกัน (ทิพย์วดี, 2535) ทั้งนี้ยังไม่พบรายงานการวิจัยที่ใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* ทั้งในประเทศและต่างประเทศ

การวิจัยที่ใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* ยังจำเป็นต้องศึกษาในรายละเอียดให้มากขึ้น เพื่อการนำไปใช้ในการควบคุมแมลงชนิดอื่นนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แนวทางการควบคุมประชากรของเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* ด้วย

การใช้เชื้อราสาเหตุโรคของแมลงจึงเป็นวิธีการที่จะลดโอกาสการเกิดโรคใบขาวอ้อยได้ ดังนั้น การใช้วิธีการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อควบคุมเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* จึงเป็นวิธีการที่สามารถป้องกันการเข้าทำลายและการระบาดในแปลงอ้อยได้ เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* เป็นแมลงพาหะที่สำคัญในการแพร่กระจายโรคใบขาวอ้อย วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อประเมินความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงที่เหมาะสมในการเข้าทำลายตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus*

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *Matsumuratettix hiroglyphicus*

เก็บรวบรวมเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* จากแปลงปลูกอ้อยในเขตจังหวัดกำแพงเพชร โดยการติดตั้งกับดักแสงไฟ (Figure 1) เพื่อให้เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* มาติดกับดักแล้วใช้เครื่องดูดแมลง (aspirator) เก็บรวบรวมใส่กล่องขนาดกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร นำกลับมาที่ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคกลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป



Figure 1 Light trap setting for collecting gray sugarcane leaf hopper, *Matsumuratettix hiroglyphicus*.

การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus*

นำตัวอย่างตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* จากแปลงปลูกอ้อย เพศเมีย: เพศผู้ สัดส่วน 10:10 เลี้ยงบนต้นอ้อยที่ปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นิ้ว ครอบ

ด้วยกรงพลาสติกใส (Figure 2) และวางไว้ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-90 เปอร์เซ็นต์ RH เมื่อแมลงวางไข่แยกตัวเต็มวัยออกจากกรง และเลี้ยงแมลงรุ่นลูกตัวเต็มวัยเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป



Figure 2 Rearing cage for *Matsumuratettix hiroglyphicus*.

การเพาะเลี้ยงเชื้อรา

การเพาะเลี้ยงเชื้อราทั้งสามชนิด ได้แก่ เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ที่แยกได้จากตัวหนอนหวายเจาะลำต้นอ้อย (Figure 3-1), เชื้อราขาว *Beauveria bassiana* (Figure 3-2) และเชื้อรา *Purpureocillium lilacinus* (Figure 3-3) ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ เลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 %RH หรือจนกว่าเชื้อราสร้างสปอร์จนสมบูรณ์ จากนั้นเพิ่มปริมาณโคโคนิเดียแขวนลอยเชื้อราแต่ละชนิด โดยล้างเชื้อราด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฝาเชื้อที่ผสมสาร Triton X ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 45 ไมโครลิตร แล้วใช้

ข้อสอดแทงหลอดที่ผิวหน้าอาหาร PDA จากนั้นดูดสปอร์แขวนลอยใส่ในขวดแก้ว แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปในการเลี้ยงเชื้อปริมาตร 2 มิลลิเมตร ล้างสปอร์ใส่ในขวดแก้ว จะได้โคโคนิเดียแขวนลอยแล้วปรับระดับความเข้มข้นของเชื้อรา โดยดูดน้ำกลั่นผสม Triton X 0.05 เปอร์เซ็นต์ ใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 900 ไมโครลิตร จำนวน 3 หลอด ดูดโคโคนิเดียแขวนลอย 100 ไมโครลิตร (ที่เตรียมไว้จากการล้างสปอร์เชื้อรา) ใส่ลงในหลอดทดลองที่เตรียมไว้ เพื่อทำการเจือจางในระดับ 10 100 และ 1,000 เท่า ตรวจวัดความเข้มข้นของโคโคนิเดียแขวนลอยด้วย hemacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และทำการปรับความเข้มข้นของโคโคนิเดียแขวนลอยในระดับความเข้มข้นที่ต้องการ เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

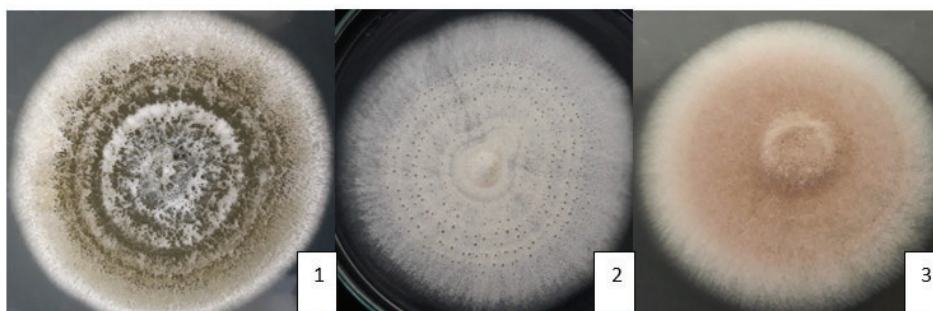


Figure 3 Colonies of tested fungi on agar plate: 1. *Metarhizium anisopliae*, 2. *Beauveria Bassiana* and 3. *Purpureocillium lilacinus* .

การทดสอบความรุนแรงของเชื้อราต่อตัวเต็มวัย เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* ใน ระดับห้องปฏิบัติการ

ทดสอบความรุนแรงของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ที่แยกได้จากด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย เชื้อราขาว *B. bassiana* และเชื้อรา *P. lilacinus* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้ความเข้มข้นของแต่ละเชื้อที่แตกต่างกัน 5 กรวมวิธี ได้แก่ ความเข้มข้นที่ 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 และ 1×10^9 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร และชุดควบคุมใช้น้ำกลั่นผสม Triton X ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นละ 10 ข้ำ ให้เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล ข้ำละ 5 ตัว วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) สำหรับการปลูกเชื้อที่ตัวเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* ใช้ปิเปตดูดสารโคนิเดียแขวนลอยแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ใส่ในขวดสเปรย์ แล้วพ่นบนตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* โดยเลี้ยงแมลงที่ปลูกเชื้อราในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส บันทึกจำนวนเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลที่ตายทุก ๆ วัน หรือจนเห็นเส้นใยเชื้อราแทงออกมาภายนอกลำตัว ตรวจผลเป็นเวลา 7 วัน คำนวณอัตราการตายของตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล แล้วนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาค่า Median lethal concentration (LC₅₀) ด้วยโปรแกรม Logit PC

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดสอบความรุนแรงของเชื้อราต่อตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* พบว่า โคนิเดียของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ที่แยกได้จากด้วงหนวดยาวอ้อย ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 และ 1×10^9 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร สามารถเข้าก่อโรคกับตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลได้ และหลังจากแมลงตายพบโคนิเดียของเชื้อรา *M. anisopliae* สีเขียวขึ้นปกคลุมลำตัวแมลง (Figure 4) โดยมีอัตราการตายที่ 0.00, 20.00, 52.00, 92.00 และ 95.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าความเข้มข้นโคนิเดียแขวนลอยของ

เชื้อราเขียว *M. anisopliae* ที่ทำให้ตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลมีอัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (Median lethal concentration, LC₅₀) 7.39×10^6 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ที่ Probit analysis แสดงค่า R² เท่ากับ 0.9439 (Table 1 and Figure 7) ทั้งนี้จากการศึกษาความรุนแรงของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน มีอัตราการตายตั้งแต่ 0-95 เปอร์เซ็นต์ การใช้ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^8 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร เป็นต้นไป ทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากการฉีดพ่นเป็นเวลา 7 วัน พบเชื้อราสร้างโคนิเดียสีเขียวที่ผิวแมลงชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ จุฑามาส และคณะ (2560) รายงานการใช้เชื้อราเขียว *Metarhizium* sp. ไอโซเลท BCC30455 กับตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ภายหลังฉีดพ่นเชื้อรา 12 วัน เชื้อราเขียวมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายดีที่สุด คือ ทำให้เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล ตาย 55 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าเชื้อราเขียว *M. anisopliae* สามารถใช้ควบคุมเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* ได้

ผลการทดสอบความรุนแรงของเชื้อราต่อตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* พบว่า โคนิเดียเชื้อรา *P. lilacinus* ที่แยกจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 และ 1×10^9 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร สามารถเข้าก่อโรคกับตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลได้ และหลังจากแมลงตายพบโคนิเดียของเชื้อรา *P. lilacinus* สีชมพูขึ้นปกคลุมลำตัวแมลง (Figure 5) โดยมีอัตราการตายที่ 37.78, 60.00, 73.33, 93.33 และ 95.56 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีค่าความเข้มข้นโคนิเดียแขวนลอยของเชื้อรา *P. lilacinus* ที่ทำให้ตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลมีอัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) 3.76×10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ที่ Probit analysis แสดงค่า R² เท่ากับ 0.9728 (Table 2 and Figure 8) สำหรับการศึกษาความรุนแรงของเชื้อรา *P. lilacinus* ในระดับความเข้มข้น

ที่แตกต่างกัน มีอัตราการตายตั้งแต่ 37.78-95.56 เปอร์เซ็นต์ การใช้ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^8 โคโคนีเดียต่อมิลลิเมตร เป็นต้นไป ทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากการฉีดพ่นเป็นเวลา 7 วัน พบเส้นใยเชื้อราที่บริเวณผิวแมลงชัดเจน สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้เชื้อรา *P. lilacinum* ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชในประเทศไทยยังไม่พบรายงาน แต่ในต่างประเทศ มีผลงานวิจัยที่สอดคล้องกันของ Kepenekci *et al.* (2015) รายงานว่า เชื้อรา *P. lilacinum* TR1 สามารถเข้าทำลายเพลี้ยอ่อน *Myzus cerasi* (Fabricius) ได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 10^8 โคโคนีเดียต่อมิลลิเมตร ทำให้เพลี้ยอ่อนมีอัตราการตายหลังจากได้รับเชื้อ 6 และ 8 วัน เท่ากับ 73.48 เปอร์เซ็นต์ และ 83.64 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกจากนี้ Toksöz *et al.* (2018) รายงานว่า เชื้อรา *P. lilacinum* TR1 ที่ความเข้มข้น 108 โคโคนีเดียต่อมิลลิเมตร ทำให้ด้วงแอมโบรเซีย *Xylosandrus germanus* และ *Xyleborus dispar* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) มีอัตราการตาย 94.72 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ถึงแม้ว่าการใช้ความเข้มข้นที่สูงของเชื้อรา *P. lilacinum* ทำให้เพิ่มอัตราการตายของเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในทางกลับกัน Luangsa-Ard *et al.* (2011) รายงานว่า เชื้อรา *P. lilacinum* เมื่อใช้ในความเข้มข้นสูงจะมีผลต่อการติดเชื้อในมนุษย์ ดังนั้นการใช้เชื้อราชนิดนี้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชจึงควรใช้ด้วยความระมัดระวัง

ผลการทดสอบความรุนแรงของเชื้อราต่อตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* พบว่า โคโคนีเดียเชื้อรา *B. bassiana*

ที่แยกจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 และ 1×10^9 โคโคนีเดียต่อมิลลิเมตร สามารถเข้าก่อโรคกับตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลได้ และหลังจากแมลงตายพบโคโคนีเดียของเชื้อรา *P. lilacinus* สีขาวขึ้นปกคลุมลำตัวแมลง (Figure 6) โดยมีอัตราการตาย 46.60, 60.00, 70.00, 92.60 และ 97.60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีค่าความเข้มข้นโคโคนีเดียแขวนลอยของเชื้อรา *B. bassiana* ที่ทำให้ตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลมีอัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) 2.90×10^5 โคโคนีเดียต่อมิลลิเมตร ที่ Probit analysis แสดงค่า R^2 เท่ากับ 0.9556 (Table 3 and Figure 9) ทั้งนี้จากการศึกษาความรุนแรงของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน มีอัตราการตายตั้งแต่ 46.60-97.60 เปอร์เซ็นต์ ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1×10^8 โคโคนีเดีย/มิลลิเมตร เป็นต้นไป ทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากการฉีดพ่นเป็นเวลา 7 วัน พบเชื้อราที่สร้างโคโคนีเดียสีขาวที่ผิวแมลงชัดเจน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Puterka *et al.* (1994) รายงานว่าเชื้อราขาว *B. bassiana* มีความรุนแรงมากกว่าเชื้อราเขียว *M. anisopliae* เมื่อทดสอบกับตัวอ่อนของเพลี้ยไก่แจ้แพร่ *Cacopsylla pyricola* คือทำให้ตัวอ่อนเพลี้ยไก่แจ้แพร่มีเปอร์เซ็นต์การตาย 92.5-99.6 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 1×10^7 โคโคนีเดียต่อมิลลิเมตร ในเวลา 7 วัน และ Wang and Zheng (2012) ที่รายงานเชื้อราขาว *B. bassiana*-CYT5 ความเข้มข้น 1×10^8 โคโคนีเดียต่อมิลลิเมตร ทำให้เพลี้ยไฟตะวันตก *Frankliniella occidentalis* มีอัตราการตาย 93.08 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 6 วัน



Figure 4 Adult of gray sugarcane leafhopper, *Matsumuratettix hiroglyphicus* infected with fungus, *Metarhizium anisopliae*



Figure 5 Adult of gray sugarcane leafhopper, *Matsumuratettix hiroglyphicus* infected with fungus, *Purpureocillium lilacinus*

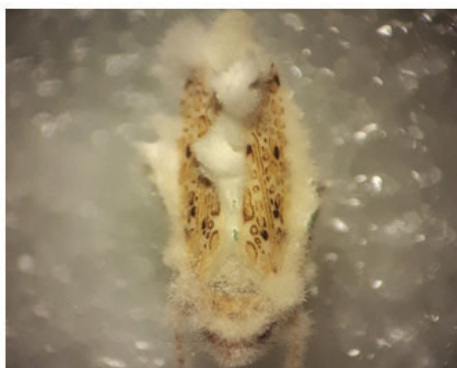


Figure 6 Adult of gray sugarcane leafhopper, *Matsumuratettix hiroglyphicus* infected with fungus, *Beauveria bassiana*

Table 1 Virulence of fungus *Metarhizium anisopliae* against adults of gray sugarcane leafhopper *Matsumuratettix hiroglyphicus* 7 days after fungal inoculation

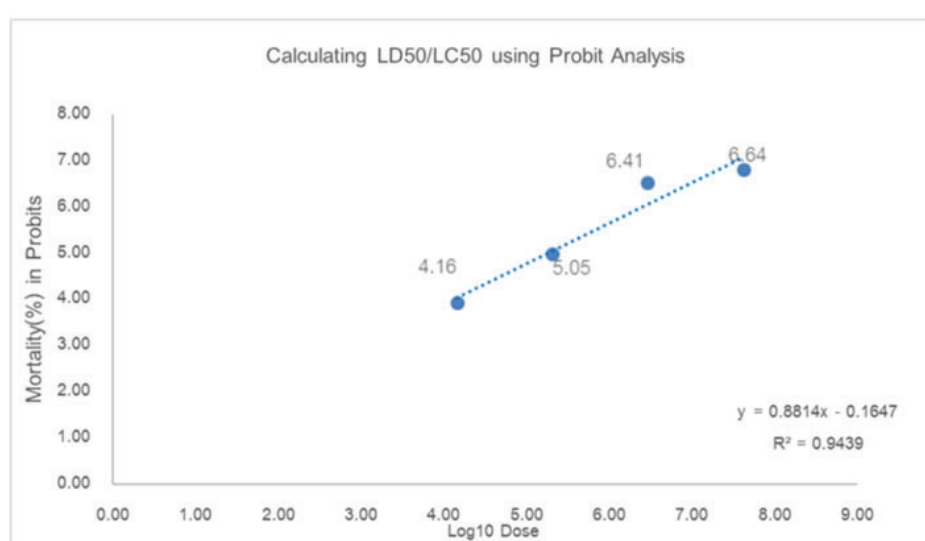
Concentration (conidia/ml)	Mortality (%)	LC ₅₀ (conidia/ml)	95% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1x10 ⁵	0.00			
1x10 ⁶	20.00			
1x10 ⁷	52.00	7.39x10 ⁶	2.29x10 ⁶	2.38x10 ⁷
1x10 ⁸	92.00			
1x10 ⁹	95.00			
Control	0.00			

Table 2 Virulence of fungus *Purpureocillium lilacinus* against adults of gray sugarcane leafhopper *Matsumuratettix hiroglyphicus* 7 days after fungal inoculation.

Concentration (conidia/ml)	Mortality (%)	LC ₅₀ (conidia/ml)	95%Fiducial CI	
			Lower	Upper
1x10 ⁵	37.78	3.76x10 ⁵	6.25x10 ⁴	2.26x10 ⁶
1x10 ⁶	60.00			
1x10 ⁷	73.33			
1x10 ⁸	93.33			
1x10 ⁹	95.56			
Control	0.00			

Table 3 Virulence of fungus *Beauveria bassiana* against adults of gray sugarcane leafhopper *Matsumuratettix hiroglyphicus* 7 days after fungal inoculation.

Concentration (conidia/ml)	Mortality (%)	LC ₅₀ (conidia/ml)	95%Fiducial CI	
			Lower	Upper
1x10 ⁵	46.60	2.90x10 ⁵	4.77x10 ⁴	1.76x10 ⁶
1x10 ⁶	60.00			
1x10 ⁷	70.00			
1x10 ⁸	92.60			
1x10 ⁹	97.60			
Control	0.00			

**Figure 7** Median lethal concentration (LC₅₀) of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* calculated by Probit analysis.

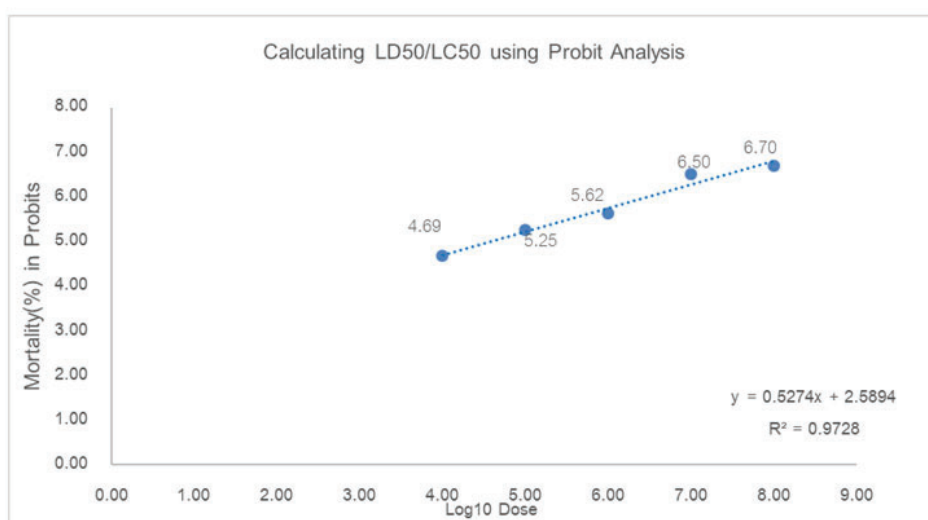


Figure 8 Median lethal concentration (LC_{50}) of entomopathogenic fungus, *Purpureocillium lilacinus* calculated by Probit analysis.

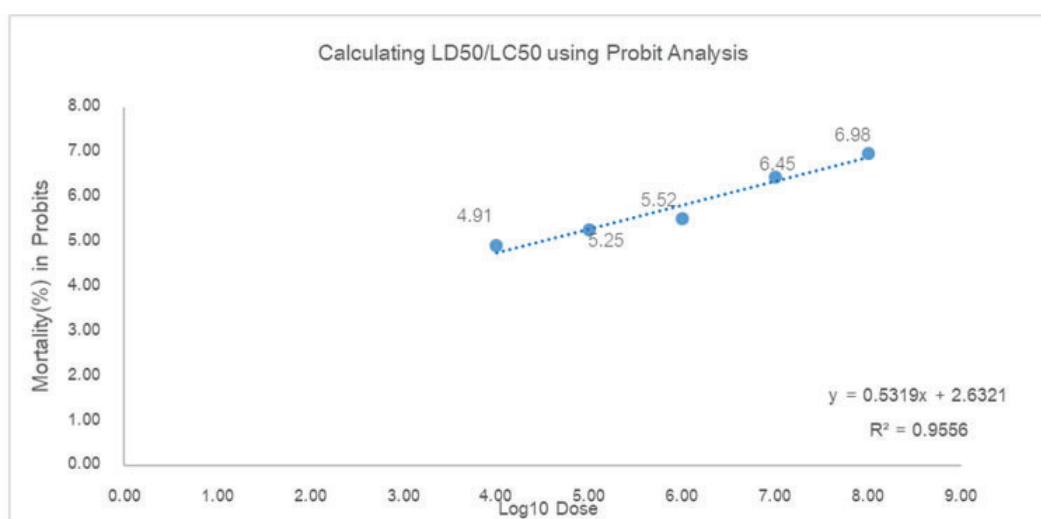


Figure 9 Median lethal concentration (LC_{50}) of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* calculated by Probit analysis.

สรุป

เชื้อรา *B. bassiana* ให้ค่าความรุนแรงในการเข้าทำลายตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* สูงกว่าเชื้อราเขียว *M. anisopliae* และเชื้อรา *P. lilacinum* อย่างไรก็ตามเชื้อราทั้ง 3 ชนิดสามารถทำให้ตัวเต็มวัยเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* ตายมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 และ 1×10^9 โคโคนี้/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นอัตราที่สามารถใช้เป็นอัตราแนะนำเพื่อการนำไปใช้ควบคุมแมลงชนิดนี้ได้เช่นกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์. 2563. การใช้เชื้อจุลินทรีย์(ชีวภัณฑ์)ในการควบคุมศัตรูพืช. กรุงเทพฯ: สำนักพัฒนาการถ่ายทอดเทคโนโลยีกรมส่งเสริมการเกษตร. 35 หน้า.

จุฑามาส ฮวดประสิทธิ์, จุริมาศ วังศิริ และยุพา หาญบุญทรง. 2560. ประสิทธิภาพของราสกุล *Metarhizium* และ *Beauveria* ในการควบคุมเพลี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* พาหะนำโรคใบขาวอ้อย. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 25(3): 467-478.

- ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2535. โรควิทยาของแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 205 หน้า.
- ศูนย์เรียนรู้เทคโนโลยีการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 2558. การพัฒนาฐานข้อมูลและศึกษาบทบาทของการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีในระบบการผลิตเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคของแมลงที่พบในระบบปลูกพืชอินทรีย์จังหวัดเชียงใหม่. (ระบบออนไลน์) แหล่งข้อมูล. ฐานข้อมูลองค์ความรู้มหาวิทยาลัยแม่โจ้: <https://kb.mju.ac.th/assets/img/articleFile/256311139d4c2e6922fc47e4ad7687833d7081bc.pdf>
- Chen, C. T, C. S. Lee and S. M. Lee. 1971. Beneficial effects of white leaf infected plants on the leafhopper, *Matsumuratettix hiroglyphicus* Matsumura. In Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists. Fourteenth Congress, New Orleans, Louisiana, October 22-November 5. 434-438.
- Hanboonsong, Y., C. Choosai, S. Panyim and S. Damak. 2002. Transovarial transmission of sugarcane white leaf phytoplasma in the insect vector *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura). Insect Molecular Biology 11(1): 97-103.
- Hanboonsong, Y. and Y. Kobori. 2017. Effects of Selected Insecticides on *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura), a vector of sugarcane white leaf disease, and on two natural enemies of the sugarcane stem borer in sugarcane fields. Sugar Tech 19(6): 573-578.
- Kepenekci, I., A. Yesilayer, T. Atay and A. Tulek. 2015. Pathogenicity of the entomopathogenic fungus, *Purpureocillium lilacinum* TR1 against the black cherry aphid, *Myzus cerasi* Fabricius (Hemiptera: Aphididae). Mun. Ent. Zool 10(1): 53-60.
- Luangsa-Ard, J., J. Houbraken, T. van Doorn, S.B. Hong, A.M. Borman, N.L. Hywel-Jones and R.A. Samson. 2011. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. FEMS Microbiol Lett 321(2): 141-9.
- Puterka, G.J., R.A. Humber and T.J. Poprawski. 1994. Virulence of fungal pathogens (Imperfect Fungi: Hyphomycetes) to pear psylla (Homoptera: Psyllidae). Environmental Entomology 23(2): 514-520.
- Roddee, J., Y. Kobori and Y. Hanboonsong. 2018. Multiplication and distribution of sugarcane white leaf phytoplasma transmitted by the leafhopper, *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) (Hemiptera: Cicadellidae), in Infected Sugarcane. Sugar Tech 20(4): 445-453.
- Toksöz, S., E. Oksal, I. Saruhan and I. Kepenekci. 2018. Pathogenicity of the entomopathogenic fungus, *Purpureocillium lilacinum* TR1 against ambrosia beetles, *Xylosandrus germanus* (Blandford) and *Xyleborus dispar* (Fabricius) (Coleoptera: Scolytinae). Mun. Ent. Zool 13(2): 471-481.
- Wang, J. and C. Zheng. 2012. Characterization of a newly discovered *Beauveria bassiana* isolate to *Frankliniella occidentalis* Perganda, a non-native invasive species in China. Microbiological Research 167: 116-120.