บทที่ 4
วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อรา

จากการแยกเชื้อราจากซากแมลงที่ตายด้วยโรครา ได้เชื้อราทั้งหมด 15 สกุล เป็นเชื้อราที่มีรายงานว่าพบในแมลงจำนวน 6 สกุล เป็นเชื้อราที่มีรายงานว่าแยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 3 สกุล

เชื้อราที่แยกได้ และมีรายงานว่าเป็นเชื้อราก่อโรคของแมลงได้แก่

1.1 *Aspergillus flavus* เป็นเชื้อราที่ได้รับความสนใจมากในอดีตในแง่ของการเป็นเชื้อโรคของแมลง เนื่องจากสามารถก่อให้เกิดโรคกับแมลงได้หลายชนิด เช่น *Platysamia cecropia* , *Palacococcus rosae* , *Schistocera gregaria* (Sussman, 1951;1952) ในขณะเดียวกันก็เป็นเชื้อโรคสำคัญของผึ้ง (Steinhaus, 1947) เชื้อราชนิดนี้สามารถสร้างสารพิษ aflatoxin ขณะดำรงชีวิตแบบ saprophyte ซึ่งสารพิษนี้ทนทานต่อความร้อนสูง และเป็นสารก่อมะเร็งต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Auswick, 1977) เชื้อรา *A.flavus* เป็น airborne ที่สามารถปนเปื้อนอยู่ในธัญพืชหลังการเก็บเกี่ยว ถ้ามีการเก็บรักษาผลผลิตไม่ดีพอ ความชื้นสูง ก็จะทำให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวในโรงเก็บ ดังนั้นในการพิจารณาเพื่อเลือกใช้เชื้อราในการควบคุมแมลง เชื้อรา *A.flavus* ไม่เหมาะสมอย่างยิ่งในการนำมาใช้ หรือแม้แต่การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค เนื่องจากอาจก่อผลเสียหายต่อสภาพแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตอื่นๆ Rombach และคณะ (1994) รายงานว่าแยก *A. flavus* ได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แต่อย่างไรก็ตามมักพบว่าเชื้อราชนิดนี้เข้าทำลายซากแมลงตายมากกว่าที่จะเข้าทำลายแมลงในขณะที่มีชีวิต ดังนั้นเชื้อราชนิดนี้จึงไม่มีความสำคัญในการควบคุมแมลงโดยชีววิธี

1.2 *Basidiobolus haptosporus* เป็นเชื้อราที่แยกได้จากแมลง 2 ครั้ง จากการสังเกตลักษณะของเชื้อราทั้งลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อและลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากแผ่นแก้วสไลด์กึ่งถาวร พบว่าเป็นเชื้อราในกลุ่ม Entomophthorales แต่เนื่องจากเอกสารข้อมูลที่ค้นคว้าไม่เพียงพอที่จะใช้ในการจำแนก จึงได้ขอความกรุณา Dr. Nigel L. Hywel- Jones ผู้เชี่ยวชาญด้านเชื้อราในแมลง ได้ตรวจสอบชนิดของเชื้อราพบว่าเป็น *Basidiobolus haptosporus* ซึ่งเป็นเชื้อราที่มี

รายงานว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคของคน (King, 1979) และเมื่อตรวจสอบลักษณะอีกครั้งโดยเปรียบเทียบกับ *B. haptosporus* ที่แยกได้จากผู้ป่วย ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์เชื้อราชนิดนี้จาก ดร. นงนุช ชนิตย์วนาคม คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่ามีลักษณะเดียวกัน ทั้งลักษณะโคโลนีเมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกัน ลักษณะการเจริญเติบโต ลักษณะสปอร์ กลิ่นของเชื้อที่เลี้ยงบนอาหาร และเมื่อศึกษารายงานเกี่ยวกับเชื้อราชนิดนี้พบว่าไม่ใช่เชื้อก่อโรคของแมลง (Wilding, 1981) และจากการทดลองนี้ก็ได้ผลเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงไม่มีคุณสมบัติที่จะนำมาใช้ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

1.3 *Metarhizium flavoviride* เป็นเชื้อราที่แยกได้บ่อยครั้งจากการทดลอง ซึ่ง Rombach และคณะ (1986b, 1994) รายงานว่าแยกเชื้อราชนิดนี้ได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศฟิลิปปินส์ เชื้อราใน Genus *Metarhizium* ที่มีบทบาทสำคัญในการเป็นเชื้อโรคของแมลงหลายชนิดรวมทั้งเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล คือ *M. anisopliae* ซึ่งได้มีการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบ่อยครั้ง (Li, 1985 ; Samuels et al., 1989 ; Rombach et al., 1986a ; 1986b ; Gillespie, 1986 ; Aguda et al., 1987 ; Gillespie and Jimenez, 1990) *M. flavoviride* มีลักษณะแตกต่างจาก *M. anisopliae* ซึ่งรายละเอียดที่ใช้ในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดได้อ้างอิงตาม Tulloch (1976) เชื้อรา *M. anisopliae* มีโคโลนีสีเขียวอ่อน เจริญเติบโตได้ค่อนข้างช้า เมื่อเชื้อราเจริญเติบโตไประยะหนึ่งจะมีการสร้างสารสีแดงปล่อยลงในอาหาร สปอร์มีรูปทรงกระบอก ตรงกลางคอดเข้าเล็กน้อย คล้ายรูปดัมเบล ส่วนเชื้อรา *M. flavoviride* จะมีโคโลนีสีเขียวแก่จนถึงเขียวมะกอกโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะที่มีการสร้างสปอร์จำนวนมาก เจริญเติบโตได้ค่อนข้างเร็ว สปอร์รูปรี ขนาดเล็กกว่าสปอร์ของ *M. anisopliae* กลุ่มสปอร์มีสีเขียวเข้ม

1.4 *Paecilomyces fumosoroseus* เป็นเชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างเดียวในการศึกษาครั้งนี้ มีรายงานว่าพบได้บ่อยในแมลงหลายชนิด รวมทั้งในเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่ง Li (1985) ได้รายงานว่าแยกเชื้อรา *Paecilomyces* sp. ได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศจีน แต่ไม่ได้ระบุ species ของเชื้อราชนิดนี้ Rombach และคณะ (1994) ได้รายงานว่าเคยแยก *P. fumosoroseus* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เก็บตัวอย่างได้จากสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI)ประเทศฟิลิปปินส์ เชื้อราสกุลนี้ที่เคยพบบ่อยในเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้แก่ *P.farinosus* (Gillespie, 1986; Kuruvilla and Jacob, 1980) และ *P. lilacinus* (Rombach et al., 1986b) เชื้อรา *P. fumosoroseus* ที่แยกได้มีความแตกต่างกันกับ *P. lilacinus* กล่าวคือใน *P. fumosoroseus* ในระยะแรกจะมีโคโลนีสีขาว

ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู โดยเฉพาะอย่างยิ่งในขณะที่มีการสร้างสปอร์ในปริมาณมาก ได้โคโลนีไม่มีสี หรืออาจมีสีเหลือง ไม่มีกลิ่น เส้นใยและก้านชูสปอร์มีผนังเรียบ ไม่มีสี ส่วนใน *P. lilacinus* ในระยะแรกโคโลนีมีสีขาวเช่นเดียวกัน ต่อมาเมื่อมีการสร้างสปอร์จะเปลี่ยนเป็นสีออกแดง เส้นใยมีผนังเรียบ ไม่มีสี ก้านชูสปอร์มีสีออกเหลือง หรือสีไทนม่วง มีผนังไม่เรียบ (Samson, 1974)

1.5 *Verticillium lecanii* เป็นเชื้อราที่แยกได้เพียงตัวอย่างเดียวจากการเก็บตัวอย่างทั้งหมด โดยทั่วไปแล้วจะเป็นเชื้อโรคที่สำคัญของเพลี้ยอ่อนและแมลงหวี่ขาวในประเทศแถบยุโรป *V. lecanii* ไม่ได้เจริญจำกัดเฉพาะแต่ในแมลงที่เป็นแมลงอาศัยเท่านั้น แต่ยังสามารถเจริญบนซากอินทรียวัตถุในดิน เป็น hyperparasite ของเชื้อราหลายชนิดเช่น ราสนิม พวก agarics หรือแม้แต่เชื้อราสาเหตุโรคแมลงด้วยกัน นอกจากนี้ยังเป็น facultative parasite บนแมลงหลายชนิด แต่ยังไม่เคยพบว่าเป็นเชื้อก่อโรคของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Samson and Rombach, 1985) สำหรับการก่อโรคต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนั้น Gillespie (1986) ได้เคยรายงานไว้ว่า *V.lecanii* เป็นเชื้อโรคอย่างอ่อนต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แต่ในประเทศอินเดีย Mancharan และ Jayaraj (1979) ได้พบ *V.lecanii* ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แต่ในการทดลองครั้งนี้ไม่สามารถทำให้อัตราส่วนการตายของแมลงแตกต่างจากชุดควบคุม

1.6 *Fusarium lateritium* ในการทดลองนี้สามารถแยก *F. lateritium* ได้ 2 ครั้ง โดยทั่วไปแล้ว เชื้อราชนิดนี้เป็นเชื้อราในดิน แต่ก็เคยมีรายงานว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคของเพลี้ยหอย *Hemiberlesia rapex* (Crove and Pople, 1980) แต่ในการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าไม่สามารถทำให้อัตราส่วนการตายแตกต่างจากชุดควบคุม

สำหรับเชื้อราที่พบนอกเหนือจากนี้ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในดิน เจริญบนซากอินทรียวัตถุ เช่น *Aspergillus clavatus* , *Oedocephalum* sp. นอกจากนี้ยังมีเชื้อรา *Chaetomium* spp. ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายเซลลูโลส เชื้อราอีกกลุ่มที่พบคือเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคในพืช เช่น *Choanephora* sp. เป็นเชื้อราสาเหตุโรคของพืชผักและผลไม้บางชนิด *Curvularia* spp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Rhizoctonia* sp., *Nigrospora* sp. เหล่านี้ก็เป็นเชื้อราที่เป็น parasite ของเชื้อราชนิดอื่น (Barnett, 1967 ; Gilman, 1975 ; Raper and Fennell, 1977 ; Booth, 1971) ในการแยกเชื้อราจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้นำซากแมลงไปให้ความชื้น แล้วแยกเชื้อราที่เจริญบนซากแมลงออกมา ซึ่งบางครั้งเชื้อราที่แยกได้อาจไม่ใช่เชื้อราสาเหตุโรค แต่มีความสามารถในการเจริญเติบโตได้รวดเร็วกว่าเชื้อราสาเหตุโรค ดังนั้นเชื้อราที่ได้มาจำเป็นต้องมีการจำแนกชนิดสกุล

และสำรวจเอกสารเกี่ยวกับเชื้อราชนิดนั้นๆ ในแง่ของการเป็นเชื้อโรคของแมลง เพื่อให้มั่นใจว่าเชื้อราที่แยกได้เป็นเชื้อราสาเหตุโรค นอกจากนี้ยังพบว่ามีแบคทีเรียเจริญจากซากแมลงจำนวนหนึ่ง

การศึกษาระดับความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

จากการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพห้องปฏิบัติการโดยฉีดพ่นแมลงด้วยสปอร์แขวนลอยในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อที่เติม Tween80 0.05% แล้วเลี้ยงแมลงไว้ในหลอดทดลองที่ใส่ต้นข้าวไว้เพื่อเป็นอาหารของแมลง แล้วตรวจนับจำนวนแมลงที่ตายสะสม จากการทดสอบครั้งที่ 1 พบว่าในเชื้อราที่นำมาทดสอบจำนวน 5 สายพันธุ์มีเพียง 2 สายพันธุ์เท่านั้นที่ทำให้แมลงมีอัตราส่วนการตายสะสมสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือเชื้อรา *Metarhizium flavoviride* สายพันธุ์ 0512 และ *Paecilomyces fumosoroseus* และเมื่อทำการทดสอบครั้งที่ 2 โดยใช้เชื้อราสายพันธุ์เดิมทั้งหมดที่ใช้ทดสอบในครั้งที่ 1 และทดสอบเพิ่มอีก 3 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราที่ทำให้แมลงมีอัตราการตายสะสมสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคือ *M. flavoviride* สายพันธุ์ 0501 และ *P. fumosoroseus* และเพื่อยืนยันผลการทดลอง จึงได้ทำการทดสอบอีกครั้งโดยคัดเลือกเชื้อรา *M. flavoviride* สายพันธุ์ 0501 และ *P. fumosoroseus* ทดสอบเปรียบเทียบกับ *M. anisopliae* สายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคต่อด้วงแรดมะพร้าว ในการทดสอบครั้งที่ 3 ผลการทดลองก็ยังเป็นเช่นเดิมคือ เชื้อราที่ทำให้อัตราส่วนการตายสะสมของแมลงสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่เชื้อรา *M. flavoviride* สายพันธุ์ 0501 และ *P. fumosoroseus* ในขณะที่เชื้อรา *M. anisopliae* ที่นำมาทดสอบนั้น ถึงแม้จะมีความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคต่อด้วงแรดมะพร้าว แต่ก็ไม่มีผลในการก่อให้เกิดโรคต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แสดงว่าเชื้อราแต่ละชนิดมีความจำเพาะเจาะจงในการก่อให้เกิดโรคต่อแมลง ดังนั้นแสดงว่าเชื้อรา 2 ชนิดดังกล่าวเป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล สำหรับประสิทธิภาพของ *M. flavoviride* นั้น Rombach และคณะ(1986b) ได้รายงานไว้ว่าสามารถควบคุมปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพไร่ได้ เมื่อฉีดพ่นเชื้อราในอัตราความเข้มข้น 4-5x10^{12} conidia/ha. ส่วนประสิทธิภาพของ *P. fumosoroseus* นั้น ยังไม่พบรายงานการทดสอบเพื่อใช้ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มีเพียงรายงานว่าพบแยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศฟิลิปปินส์

จากการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราต่อแมลงทั้ง 3 ครั้ง พบว่าเชื้อรา *M. flavoviride* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 สายพันธุ์นั้น มีความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคต่อเพลี้ยได้แตกต่างกัน ในสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคอย่างรุนแรงนั้นบางครั้งก็สูญเสียความสามารถในการก่อให้เกิดโรคไป ดังเช่นพบใน *M. flavoviride* สายพันธุ์ 0512 ที่มีความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในการทดสอบครั้งที่ 1 (ตารางที่ 2) แต่ในการทดสอบครั้งที่ 2 นั้นกลับพบว่าลดการก่อให้เกิดโรคต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลง

ถ้าพิจารณาถึงระดับความเข้มข้นของเชื้อราที่ใช้ จัดว่าอยู่ในระดับความเข้มข้นที่เพียงพอต่อการก่อให้เกิดโรค กล่าวคือมีสปอร์จำนวนมากที่สัมผัสตัวแมลงและติดอยู่ตามส่วนต่างๆของพืช ซึ่งแมลงมีโอกาสที่จะสัมผัสสปอร์เหล่านั้นได้ดังนั้นความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบน่าจะเพียงพอ ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว การใช้เชื้อราในการทดสอบโรคต่อแมลงในสภาพห้องปฏิบัติการมักใช้ในระดับความเข้มข้นระหว่าง 10^6-10^8 สปอร์/มิลลิลิตร (Ferron, 1981)

ส่วนปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการเกิดโรค ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และแสง ในการทดสอบนั้น ในกรณีของอุณหภูมิ ช่วงระยะเวลาที่ทำการฉีดพ่นจะอยู่ในช่วงเย็น ซึ่งอุณหภูมิเริ่มลดลงจึงไม่เป็นอันตรายต่อเชื้อรา การทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการได้เลี้ยงแมลงที่ถูกฉีดพ่นนั้นไว้ในหลอดทดลองที่มีน้ำปุ๋ยอยู่ และปิดหลอดด้วยผ้าขาวบางทำให้ภายในหลอดมีความชื้นสูงซึ่งจะเอื้ออำนวยต่อการงอกของเชื้อรา ส่วนปัจจัยด้านแสงมีผลต่อการคงชีวิตและการงอกของสปอร์ แสงอาทิตย์ฆ่าสปอร์ของเชื้อราได้ (Roberts and Yendol, 1971) การเลือกเวลาฉีดพ่นในเวลาเย็นจะช่วยลดความเสี่ยงจากการตายของสปอร์เนื่องจากถูกแสงได้ เกี่ยวกับการงอกของเชื้อรานั้น เชื้อราโรคแมลงมักงอกเมื่อมีความชื้นสูงเท่านั้น (Samuels et al., 1989) โดยเฉพาะเชื้อราโรคแมลงในกลุ่ม Deuteromycetes จะไม่งอกที่ความชื้นต่ำกว่า 93% (Walstad et al.,1962 : Gillespie and Jimenej, 1990) ดังนั้นจะเห็นว่าสิ่งสำคัญอันดับแรกในการงอกของเชื้อรานั้นเป็นความชื้น นอกจากความชื้นจะมีอิทธิพลต่อการงอกแล้วยังมีอิทธิพลต่อการสร้างสปอร์บนตัวแมลงที่ตาย ซึ่งจะทำให้โรคแพร่ระบาดไปยังแมลงตัวอื่นๆ ต่อไป (Schaerffenberg, 1964 ; Roberts and Yendol, 1971) และในกรณีของอุณหภูมิ ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อเชื้อราโรคแมลงมักอยู่ในช่วง 20-30^{0} C ซึ่งจะผันแปรไปตามชนิดของเชื้อรา

ในการศึกษาระดับความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ครั้ง พบว่าเชื้อรา *V. lecanii* ซึ่งมีรายงานว่าเป็นเชื้อโรคของแมลงหลายชนิดนั้น ไม่มีผลต่อ

อัตราส่วนการตายสะสมของแมลง ถึงแม้ว่าจะใช้สปอร์แขวนลอยในระดับความเข้มข้นสูงๆ ก็ไม่ทำให้อัตราส่วนการตายสะสมของแมลงสูงกว่าชุดควบคุม เกี่ยวกับเชื้อรา *V. lecani* Gillespie และ Jimenez (1990) ได้รายงานว่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีความต้านทานต่อ *V. lecani* สายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการเข้าทำลายเพลี้ยอ่อน แสดงว่า *V. lecanii* มีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของแมลง *V. lecani* ที่แยกได้นี้อาจไม่ใช่เชื้อราสาเหตุโรคของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลถึงแม้ว่าจะแยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลก็ตาม ข้อสันนิษฐานในที่นี้คือเนื่องจาก *V. lecanii* เป็น saprophyte อยู่ในดิน ปนเปื้อนมากับซากแมลง ซึ่ง Hall (1981) ได้รายงานว่า *V. lecanii* เป็น hyperparasite ของเชื้อราหลายชนิด รวมถึงเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงด้วย และจากการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพห้องปฏิบัติการทั้ง 3 ครั้งพบว่าความหนาแน่นของประชากรแมลงเป็นปัจจัยที่จะเอื้อต่อการระบาดของโรค ซึ่งก็เป็นไปตามที่ Fawcett (1944) ได้รายงานไว้ นั่นคือถ้าแมลงอยู่กันอย่างหนาแน่นก็จะมีโอกาสสัมผัสและแพร่เชื้อได้มากขึ้น เช่นในการทดสอบครั้งที่ 2 ซึ่งเป็นการทดลองที่ไม่ได้ควบคุมจำนวนแมลงในแต่ละหลอด พบว่าในชุดการทดลองที่ใช้ *M. flavoviride* สายพันธุ์ 0512 มีจำนวนแมลงเริ่มต้นมากที่สุด (ตารางผนวกที่ 1) ในขณะเดียวกันก็มีจำนวนแมลงตายหลังการฉีดพ่นจำนวนมากด้วย ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการใช้เชื้อราเพื่อการควบคุมปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวที่มีเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระบาด ตามปกติแล้วถ้าในนาข้าวมีปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระดับที่ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจก็จะไม่มีผลกระทบร้ายแรงต่อผลผลิตข้าว แต่ถ้าอยู่ในระดับที่สูงกว่าระดับเศรษฐกิจจะทำให้ผลผลิตข้าวเสียหาย ซึ่งในระดับปริมาณของแมลงที่มากๆ เราสามารถใช้เชื้อราในการควบคุมได้ เนื่องจากจำนวนแมลงที่หนาแน่นจะทำให้แมลงได้รับสปอร์ของเชื้อราทั้งจากการฉีดพ่นโดยตรงและการแพร่กระจายเชื้อจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ตายด้วยโรครา

นอกจากนี้ยังพบว่าวัยหรือระยะการเจริญเติบโตของแมลงมีส่วนสำคัญที่จะบ่งชี้ว่าการใช้ราในการควบคุมแมลงนั้นจะประสบความสำเร็จหรือไม่ จากการทดลองพบว่า แมลงในระยะใกล้เป็นตัวเต็มวัยจะถูกเชื้อราเข้าทำลายได้ดีกว่าแมลงที่อยู่ในระยะตัวอ่อน ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองของ Holdom และคณะ (1988) ซึ่งได้ทดสอบเชื้อรา *Erynia delphacis* ในการก่อให้เกิดโรคต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะตัวเต็มวัยจะถูกเชื้อรา *E. delphacis* เข้าทำลายได้ดีกว่าเพลี้ยที่อยู่ในระยะตัวอ่อน ซึ่งได้ให้เหตุผลไว้ว่าอาจเนื่องมาจากแมลงในระยะตัวอ่อนยังมีการลอกคราบ ทำให้สปอร์ของเชื้อราที่ติดอยู่ที่ผิวลำตัวของแมลงหลุดไปกับคราบของแมลงเมื่อมีการลอกคราบ โดยที่เชื้อรายังไม่มีการงอกแทงทะลุผ่านผิวลำตัวเข้าไปภายในช่องลำตัวแมลง ซึ่งเป็นกระบวนการที่สำคัญที่สุดในการเข้า

ทำลายแมลงของเชื้อรา และจากการทดลองในครั้งนี้พบว่า หลังการฉีดพ่นเชื้อราไปแล้ว แมลงมีการลอกคราบ ดังนั้นอาจแก้ปัญหานี้ได้โดยการฉีดพ่นซ้ำอีกครั้งหลังจากการฉีดพ่นครั้งแรก 1-2 วัน การฉีดพ่นเชื้อราจะช่วยลดปริมาณประชากรแมลงได้ ถึงแม้ผลการทดลองจะบ่งชี้ว่าแมลงในระยะใกล้เป็นตัวเต็มวัยจะถูกเชื้อราเข้าทำลายได้ดีกว่าแมลงในระยะตัวอ่อน ซึ่งปริมาณแมลงจะไม่ลดลงในทันทีทันใด แต่การตายของแมลงในระยะนี้จะช่วยลดประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในรุ่นต่อไป เนื่องจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะตายก่อนที่จะผสมพันธุ์และวางไข่

การทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการยังไม่สามารถบ่งชี้ได้ชัดเจนว่าเชื้อรา *M.flavoviride* สายพันธุ์ 0501 หรือเชื้อรา *P. fumosoroseus* สามารถใช้ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ การทดสอบในสภาพขยายขนาดหน่วยทดลองเป็นสิ่งที่จำเป็นเนื่องจาก มีบางครั้งที่พบเชื้อราที่สามารถก่อให้เกิดโรคต่อแมลงอย่างรุนแรงในห้องปฏิบัติการ แต่เมื่อทดสอบในสภาพเรือนทดลองหรือในสภาพไร่นากลับไม่ประสบผลสำเร็จ (Gillespie, 1986)

การทดสอบความสามารถของเชื้อราในการก่อให้เกิดโรคต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระดับขยายขนาดหน่วยทดลอง

จากผลการทดลอง พบว่าอัตราส่วนการตายสะสมของแมลงหลังการฉีดพ่น เริ่มมีความแตกต่างในวันที่ 7 โดยที่ *P. fumosoroseus* สายพันธุ์ 0515 มีอัตราการตายสะสมของแมลงสูงที่สุด เมื่อไม่คำนึงถึงความเข้มข้นของเชื้อราที่ใช้ และในวันที่ 7 เช่นเดียวกันที่ต้นข้าวที่ใช้เป็นอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในชุดควบคุมเริ่มแสดงอาการเหี่ยว ในขณะที่ชุดการทดลองอื่นๆ ยังไม่แสดงอาการ ในวันที่ 9 ของการทดลอง ต้นข้าวที่ใช้เลี้ยงแมลงในชุดควบคุมตายเนื่องจากการเข้าทำลายของแมลง ดังนั้นจึงทำให้ผลการทดลองนับจากวันที่ 9 ไม่สามารถเก็บข้อมูลตัวเลขที่เป็นจำนวนตัวตายของแมลงได้ ในการทดสอบความสามารถของเชื้อราในการก่อให้เกิดโรคในระดับขยายขนาดหน่วยทดลองไม่มีการเปลี่ยนต้นข้าวที่ใช้เลี้ยงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลดังเช่นในการทดสอบในห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตามอัตราส่วนการตายสะสมของแมลงเริ่มมีความแตกต่างในวันที่ 7 โดยที่ในชุดการทดลองที่ฉีดพ่นด้วย *P. fumosoroseus* สายพันธุ์ 0515 มีอัตราส่วนการตายสะสมของแมลงสูงกว่าชุดควบคุมและชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองสิ่งที่เห็นได้อย่างชัดเจนคือ ต้นข้าวที่ใช้เลี้ยงแมลงในชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ฉีดพ่นด้วยเชื้อราจะแห้งตายก่อนชุดทดลองอื่นที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อรา จึงอาจสันนิษฐานได้ว่าเชื้อราที่ฉีดพ่นมีผลต่อ

การกินอาหารของแมลง ทำให้แมลงดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นข้าวได้น้อยลงแต่จากผลการทดลองก็ยังไม่สามารถกล่าวได้ว่าเชื้อรา *P. fumosoroseus* สายพันธุ์ 0515 มีความรุนแรงในการก่อโรคต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงกว่า *M. flavoviride* สายพันธุ์ 0501 เนื่องจากความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยที่ใช้ไม่เท่ากัน ในการเตรียมสปอร์แขวนลอยได้เตรียมจากการใช้ภาชนะและปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อราที่เท่าๆ กัน และเชื้อราที่ใช้ก็มีอายุเท่า ๆ กัน แต่เนื่องจาก *P. fumosoroseus* มีขนาดสปอร์เล็กกว่า จึงทำให้เตรียมได้ความเข้มข้นสูงกว่า อย่างไรก็ตามหากจะทำการทดลองเปรียบเทียบความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อราทั้ง 2 ชนิด ควรใช้เชื้อราทั้ง 2 ชนิดในระดับความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยเท่าๆ กัน แต่จากการทดลอง เนื่องจากการเตรียมสปอร์แขวนลอยและนับต้องสุ่มนับหลายครั้ง แต่ละเชื้อราจะใช้เวลานาน ดังนั้นจึงเตรียมสปอร์โดยเริ่มจากปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อเท่า ๆ กัน จึงไม่สามารถระบุได้ว่าเชื้อราชนิดใดมีความรุนแรงในการก่อโรคมากกว่ากันแต่เชื้อราทั้ง 2 ชนิดมีแนวโน้มในการเข้าทำลายแมลงได้ อย่างไรก็ตามการใช้สปอร์แขวนลอย ในระดับความเข้มข้นสูงๆ ก็เป็นสิ่งที่พึงระมัดระวัง Bandara และ Ahangama (1994) ได้ทดสอบเปอร์เซนต์การตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Metarhizium* sp.. ในระดับความเข้มข้นต่างๆ กันพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น $6.4x10^5$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำให้แมลงมีเปอร์เซนต์การตายสูงที่สุด ความเข้มข้นที่ต่ำกว่านี้จะไม่เพียงพอต่อการเข้าทำลายแมลง ในขณะเดียวกันถ้าใช้ในความเข้มข้นสูงกว่านี้ จะทำให้เชื้อราเกิดภาวะแข่งขันซึ่งกันและกันในการเข้าทำลาย ทำให้เปอร์เซนต์การตายของแมลงต่ำ แต่ก็ขึ้นอยู่กับชนิดและความรุนแรงของสายพันธุ์ด้วย

การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อราเมื่อเลี้ยงเปรียบเทียบในอาหารเลี้ยงเชื้อรา 3 สูตร

จากการทดลองเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อรา 5 สายพันธุ์ได้แก่ *Metarhizium flavoviride* สายพันธุ์ 0501 , 0512 , 0513 *Paecilomyces fumosoroseus* และ *Verticillium lecanii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ potato sucrose agar (PSA) potato sucrose agar เติม peptone 1% (PSA+P) และ Sabouraud sucrose agar (SSA) ซึ่งในอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA+P และ SSA ต่างก็มี peptone เป็นส่วนประกอบ จากผลการทดลองพบว่าชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *M. flavoviride* แต่ในขณะเดียวกันพบว่าไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของ *P. fumosoroseus* และ *V. lecanii* ในเชื้อรา *M. flavoviride* ซึ่งสอดคล้องกับ Vouk และ Klas (1931) ซึ่งรายงานว่า *M. anisopliae* ซึ่งสร้างสปอร์ได้ดีบนวุ้นอาหารที่ประกอบ

ด้วย peptone โดย Barnes และคณะได้ทดลองเกี่ยวกับชนิดของ peptone ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์พบว่า Yeast extract เป็นแหล่ง peptone ที่ดีที่สุดของเชื้อรา *M. anisopliae* แต่ในการทดลองนี้มีจุดประสงค์ในการเปรียบเทียบระหว่างอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี peptone คือ PSA+P และ SSA กับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มี peptone คือ PSA จึงไม่ได้คำนึงถึงชนิดของ peptone ดังนั้นจึงเลือกใช้ Proteose peptone #3 (Difco) ซึ่งมีอยู่ในห้องปฏิบัติการ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า peptone มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *M. flavoviride* ในทางส่งเสริม ส่วนในเชื้อรา *P. fumosoroseus* และ *V. lecanii* นั้นมีอัตราการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ชนิดแสดงว่า peptone ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์

สำหรับอิทธิพลของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีต่อการสร้างสปอร์ พบว่าชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีผลต่อปริมาณการสร้างสปอร์ของ *P. fumosoroseus* และ *V. lecanii* ในขณะที่ปริมาณการสร้างสปอร์ของ *M. flavoviride* ทั้ง 3 สายพันธุ์ก็ไม่ขึ้นกับชนิดของอาหาร แต่ขึ้นกับสายพันธุ์และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อรา อย่างไรก็ตามการเตรียมสปอร์ของเชื้อราโดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งก็เป็นวิธีการที่เหมาะสมในระดับห้องปฏิบัติการ แต่ไม่เหมาะสมในกรณีที่ต้องการสปอร์ในปริมาณมาก ซึ่งในกรณีนี้อาจเตรียมได้โดยใช้วัสดุธรรมชาติแทนเช่น เมล็ดข้าวเปลือกนึ่งสุก ซึ่งจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการสร้างสปอร์ได้ (Ferron, 1981) หรืออาจใช้เมล็ดธัญพืชชนิดอื่นแทนก็สามารถใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อได้

แม้ว่า *M. flavoviride* ทั้ง 3 สายพันธุ์จะไม่มีความแตกต่างในอาหารทั้ง 3 สูตร และ *M. flavoviride* สายพันธุ์ 0512 จะมีการเจริญของเส้นใยเร็วที่สุด แต่สร้างสปอร์น้อยและไม่สามารถทำให้แมลงตายแตกต่างจากชุดควบคุม

สำหรับการรักษาระดับความรุนแรงของเชื้อรานั้น เป็นสิ่งที่ควรกระทำหลังจากได้เชื้อราที่มีแนวโน้มในการควบคุมแมลง การเก็บรักษาที่ดีเป็นสิ่งจำเป็น การเก็บรักษาเชื้อราในสภาพเยือกแข็งจะช่วยรักษาระดับความรุนแรงของเชื้อราไว้ได้ ซึ่ง Gillespie และ Jimenez (1990) ได้แนะนำว่าให้เก็บสายพันธุ์ราในไนโตรเจนเหลวให้เร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้ และเชื้อรานั้นไม่ควรผ่านการย้ายเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อหลายครั้ง เนื่องจากการย้ายเลี้ยงบ่อย ๆ จะทำให้เชื้อราสูญเสียความรุนแรงในการก่อโรค ถึงแม้ว่าในเชื้อราบางสายพันธุ์ จะสามารถทำให้ความรุนแรงในการก่อโรคกลับคืนมาสู่ระดับเดิมโดยการนำไปฉีดพ่นบนแมลงที่เป็นแมลงอาศัย ซึ่งจะทำให้เชื้อราผ่าน

ระยะการเป็น parasite ก็ตาม ก็ไม่แน่ว่าจะได้ผลเสมอไป ดังนั้นข้อพึงระวังในที่นี้คือควรเก็บรักษาสายพันธุ์ของเชื้อราในสภาพที่สามารถคงความรุนแรงให้คงอยู่หรือมีความผันแปรน้อยที่สุด

ในการทดลองนี้ได้เก็บ *P. fumosoroseus* และ *M. flavoviride* สายพันธุ์ 0501 ในสภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลว เพื่อประโยชน์การศึกษาในด้านอื่นๆ ต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย