การใช้ราในการควบคุมปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูข้าว

Nilaparvata lugens

นางสาวนฤมล ศุภวนานุสรณ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2539

ISBN 974-635-464-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I17162361

USE OF FUNGI FOR BIOLOGICAL CONTROL OF RICE BROWN PLANTHOPPER *Nilaparvata lugens*

Miss Narumol Supawananusorn

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Programme of Biotechnology
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 1996

ISBN 974-635-464-7

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้ราในการควบคุมปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูข้าว *Nilaparvata lugens* (Stal)
โดย	นางสาวนฤมล ศุภวนานุสรณ์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. อรุณี จันทรสนิท

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....รักษาราชการแทนคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ศุภวัฒน์ ชุติวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ปรีดา บุญ-หลง)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. อรุณี จันทรสนิท)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พิชญางกูร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทรรษา ปุณณะพยัคฆ์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นฤมล ศุภวนานุสรณ์ : การใช้เชื้อราในการควบคุมปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูข้าว (USE OF FUNGI FOR BIOLOGICAL CONTROL OF RICE BROWN PLANTHOPPER *Nilaparvata lugens* Stal.) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร.อรุณี จันทรสนิท, 75 หน้า ISBN 974-635-464-7

เชื้อราจำนวน 15 สกุล แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เป็นโรค ซึ่งรวบรวมจากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี เมื่อทดสอบเชื้อราที่พบบ่อยครั้งและ/หรือเชื้อราที่มีรายงานว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง จากผลการทดลองพบว่าเชื้อรา *Metarhizium flavoviride* 1 สายพันธุ์ และเชื้อรา *Paecilomyces fumosoroseus* 1 สายพันธุ์ ทำให้อัตราการตายสะสมของแมลงสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต่อแมลงในการทดสอบระดับขยายขนาดหน่วยทดลอง พบว่ามีเพียงเชื้อ *P.fumosoroseus* เท่านั้นที่มีแนวโน้มที่ดีในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หลังจากฉีดพ่นเชื้อรา 7 วัน

การศึกษาการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Metarhizium flavoviride* 3 สายพันธุ์ *P. fumosoroseus* และ *V. lecanii* ชนิดละ 1 สายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 สูตร คือ potato sucrose agar (PSA) potato sucrose agar ที่เติม peptone 1% (PSA+P) และ Sabouraud sucrose agar (SSA) พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร PSA+P และ SSA ซึ่งมี peptone เป็นองค์ประกอบ มีผลในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อรา *M. flavoviride* ทั้ง 3 สายพันธุ์ แต่ไม่มีผลต่ออัตราการสร้างสปอร์ ในขณะที่เชื้อรา *P. fumosoroseus* และ *V. lecanii* นั้นมีอัตราการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ไม่มีความแตกต่างกันในอาหารทั้ง 3 ชนิด

ภาควิชา ..... ลายมือชื่อนิสิต นฤมล ศุภวนานุสรณ์

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

C626754 : : MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD: *Nilaparvata lugens* / BIOLOGICAL CONTROL / ENTOMOPATHOGENIC FUNGI / RICE
NARUMOL SUPAWANANUSORN : USE OF FUNGI FOR BIOLOGICAL CONTROL OF RICE BROWN PLANTHOPPER *Nilaparvata lugens* (Stal). THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. ARUNI CHANTARASNIT, Ph.D. 75 pp. ISBN 974-635-464-7

Fifteen genera of fungi were isolated from diseased brown planthopper collected at Pathum Thani Rice Research Center. Of these , fungi which were often found and/or those reported to be entomopathogenic fungi were tested for insect pathogenicity in the laboratory. The results showed that one isolate of *Metarhizium flavoviride* and another isolate of *Paecilomyces fumosoroseus* were highly significant in insect accumulative mortality rate. In the larger experimental unit-scale in insect pathogenicity test, only *P.fumosoroseus* showed promising trend to control brown planthopper 7 days after fungal application.

Fungal growth and sporulation studies of the three strains of *M. flavoviride* , *P. fumosoroseus* and *V. lecanii* were compared in three different media namely potato sucrose agar (PSA), potato sucrose agar added peptone 1% (PSA+P) and Sabouraud sucrose agar (SSA). The results showed that mycelial growth of all three isalates of *M. flavoviride* were accelerated in peptone-added medium (PSA+P and SSA) with no effect on sporulation. No significant difference of growth rate and sporulation were observed in *P.fumosoroseus* and *V.lecanii*.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา - ลายมือชื่อนิสิต นฤมล ศุภวนานุสรณ์

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา อรุณี จันทรสนิท

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีโดยการอนุเคราะห์จากหลายฝ่าย ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อรุณี จันทรสนิท อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสำเร็จ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ปรีดา บุญ-หลง ประธานกรรมการ รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พิชญางกูร และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อบฉันท์ ไทยทอง ที่กรุณาให้คำแนะนำในการถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ รองศาสตราจารย์ มุกดา ภูหิรัญ ที่ได้แนะนำเทคนิค single spore isolation กราบขอบพระคุณ คุณสาทิศ ทยาพัชร นักวิชาการเกษตร ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เก็บตัวอย่างเพลี้ยที่เป็นโรคและเพลี้ยที่ใช้สำหรับทดลอง อาจารย์เสาวนีย์ พิสิฐฏพันธ์ แห่งกองแผนงาน กรมวิชาการเกษตร ที่ได้ช่วยเหลือให้คำแนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ คุณมลิวัลย์ ปันยารชุน ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อรา *M. anisopliae* สำหรับศึกษาเปรียบเทียบ Dr. Nigel L.Hywel-Jones ที่ได้ช่วย identify เชื้อราบางตัว รองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช วนิตย์ธนาคม คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้อนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อรา *B. haptosporus* เพื่อการศึกษาเปรียบเทียบ อาจารย์ทรงศักดิ์ สำราญสุข ที่ได้ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือด้านการถ่ายภาพ

ขอขอบพระคุณหน่วยปฏิบัติการวิจัยพรรณไม้ประเทศไทย ที่ได้เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ในการถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์

ขอขอบพระคุณโครงการผลิตและพัฒนาอาจารย์ (UDC) ทบวงมหาวิทยาลัย ศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ และบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ทุนวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาพฤกษศาสตร์ ที่ได้อำนวยความสะดวกจนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จ

ขอขอบคุณเพื่อน พี่และน้อง ภาควิชาพฤกษศาสตร์และสาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ ที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือสนับสนุนข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา

ท้ายสุด ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา ที่ได้สนับสนุนช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา ทำให้งานวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ

กิตติกรรมประกาศ.....ฉ

สารบัญตาราง.....ช

สารบัญตารางภาคผนวก.....ญ

สารบัญภาพ.....ฎ

คำอธิบายสัญญลักษณ์และคำย่อ.....ฐ

บทที่

1. บทนำ.....1
2. อุปกรณ์และวิธีทดลอง.....17
3. ผลการทดลอง.....22
4. วิจารณ์ผลการทดลอง.....48
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....58

รายการอ้างอิง.....61

ภาคผนวก.....68

ประวัติผู้เขียน.....69

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ชนิดและความถี่ของเชื้อราที่พบและแยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล.....22

2 อัตราส่วนการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ฉีดพ่น
ด้วยเชื้อรา 5 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control)
ในการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคครั้งที่ 1 33

3 เปรียบเทียบอัตราส่วนการตายสะสมของแมลงตั้งแต่วันที่ 7
ของการทดลองระหว่างชุดควบคุม (control) กับชุดทดลองที่
ฉีดพ่นด้วยเชื้อราแต่ละสายพันธุ์.....34

4 อัตราส่วนการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ฉีดพ่น
ด้วยเชื้อรา 8 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control)
ในการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคครั้งที่ 2 35

5 เปรียบเทียบอัตราส่วนการตายสะสมของแมลงเฉพาะในวันที่ 13
หลังการฉีดพ่น ระหว่างชุดควบคุม (control) กับชุดทดลองที่
ฉีดพ่นด้วยเชื้อราแต่ละสายพันธุ์.....36

6 อัตราส่วนการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ฉีดพ่น
ด้วยเชื้อรา 3 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control)
ในการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคครั้งที่ 3.....37

7 เปรียบเทียบอัตราส่วนการตายสะสมของแมลงระหว่างแมลง
ที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อรา *Metarhizium flavoviride* สายพันธุ์ 0501
และเชื้อ *Paecilomyces fumosoroseus* สายพันธุ์ 0515
กับชุดควบคุม (control).....38

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

8 อัตราส่วนการตายสะสมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ฉีดพ่น
ด้วยเชื้อรา *M. flavoviride* สายพันธุ์ 0501 และ *P. fumosoroseus*
สายพันธุ์ 0515 กับชุดควบคุม (control) ในการทดสอบความ
สามารถในการก่อให้เกิดโรคในระดับขยายขนาดหน่วยทดลอง.....40
9 เปรียบเทียบอัตราส่วนการตายสะสมของแมลงเฉพาะในวันที่ 7
หลังการฉีดพ่นระหว่างแมลงที่ได้รับเชื้อ *M. flavoviride*
สายพันธุ์ 0501 และ *P. fumosaroseus* สายพันธุ์ 0515
กับชุดควบคุม (control).....41
10 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา
5 สายพันธุ์ (มม.) ในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตร เมื่ออายุ 9 วัน.....43
11 ค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราแต่ละ
สายพันธุ์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 สูตร เมื่ออายุ 9 วัน.....44
12 เปรียบเทียบปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา 5 สายพันธุ์
เมื่ออายุ 7 วัน.....45

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวกที่		หน้า
1	จำนวนแมลงตายสะสมเริ่มจากวันฉีดพ่น ในการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ครั้งที่ 1	69
2	จำนวนแมลงตายสะสมเริ่มจากวันฉีดพ่น ในการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ครั้งที่ 2	69
3	จำนวนแมลงตายสะสมเริ่มจากวันฉีดพ่น ในการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ครั้งที่ 3	70
4	จำนวนแมลงตายสะสมเริ่มจากวันฉีดพ่น ในการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อราต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในระดับขยายขนาดหน่วยทดลอง	70
5	ตารางวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา 5 สายพันธุ์ที่เลี้ยงเปรียบเทียบในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 สูตร	71

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1 เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะตัวเต็มวัย....4

2 การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคในห้องปฏิบัติการ....20

3 แสดง conidial head ของ *Aspergillus clavatus* 24

4 แสดง conidial head ของ *Aspergillus flavus*....24

5 แสดง conidia รูปกลม และ zygospore ที่มีผนังหนา ของ *Basidiobolus haptosporus* 24

6 แสดง perithecium ที่มี sterile hypha และ ascospore ของ *Chaetomium globosum* (ก) *Ch. cupreum* (ข)....25

7 แสดง sporangium ที่แตกเห็น sporangiospore ที่อยู่ภายในของ *Choanephora* sp. 26

8 *Curvularia lunata* แสดง conidia ที่สร้างอยู่บนปลาย conidiophore....27

9 แสดง macroconidia ของ *Fusarium lateritium* ที่มีรูปร่าง fusiform และ chlamydospore รูปร่างกลม....28

10 *Metarhizium flavoviride* แสดงรูปร่างของสปอร์....28

11 *Nigrospora* sp. แสดง conidia กลม สีดำ....30

12 *Oedocephalum* sp. แสดง conidia ที่เกิดรอบๆ vesicle....30

13 *Paecilomyces fumosoroseus* แสดง phialide รูปร่าง flask shape ที่แตกกิ่งออกด้านข้าง และสร้าง conidia ตรงปลาย....30

14 *Rhizoctonia* sp. แสดงเส้นใยสีน้ำตาล ไม่สร้างสปอร์....31

15 *Rhizopus* sp. แสดง sporangium ที่มี columella กลม และมี rhizoid....32

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

16 *Trichoderma* sp.แสดง phialide ที่แตกกิ่งและ phialospore รูปไข่สีเขียว....32

17 *Verticillium lecanii* แสดงสปอร์ และการแตกกิ่งแบบ verticillate ของ phialide....32

18 แมลงที่ตายจากการฉีดพ่น *P. fumosoroseus* สายพันธุ์ 0515 เมื่อได้รับความชื้นจะมีการสร้างสปอร์ปกคลุมลำตัวของแมลง....39

19 สภาพต้นข้าวที่ใช้เลี้ยงแมลงในการทดสอบการเกิดโรคในระดับขยายขนาดหน่วยทดลองหลังการฉีดพ่น 5 วัน....42

20 สภาพต้นข้าวที่ใช้เลี้ยงแมลงในการทดสอบการเกิดโรคในระดับขยายขนาดหน่วยทดลองหลังการฉีดพ่น 7 วัน....42

21 เชื้อรา *M. flavoviride* 3 สายพันธุ์เมื่อเลี้ยงเปรียบเทียบในอาหาร 3 สูตร เมื่ออายุ 7 วัน....46

22 เชื้อรา *M. anisopliae* (ก) *P. fumosoroseus* สายพันธุ์ 0515 (ข) และ *V. lecanii* (ค) ที่เลี้ยงเปรียบเทียบในอาหาร 3 สูตร เมื่ออายุ 7 วัน....47

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญญลักษณ์และคำย่อ

%	=	เปอร์เซนต์
มล.	=	มิลลิลิตร
g.	=	กรัม
ha	=	หนึ่งหมื่นตารางเมตร
kg.	=	กิโลกรัม
LD_{50}	=	ความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50%
ppm	=	หนึ่งส่วนในล้านส่วน
µg	=	ไมโครกรัม
in vitro	=	การทดลองในหลอดแก้ว
pH	=	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
°C	=	องศาเซลเซียส
V/V	=	ปริมาตรต่อปริมาตร
χ^2	=	Chi-square

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย