

การคงอยู่ของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM04 บนต้นลองกอง เพื่อการควบคุมหนอนกินไม้ผิวเปลือกลำต้นลองกอง

Stability of *Metarhizium anisopliae* PSUM04 on longkong tree for controlling bark's eating caterpillars

นริศ ท้าวจันทร์^{1, 2*} และ ฤทธิพร เบญจอาหลี^{1, 2}

Narit Thaochan^{1, 2*} and Rittiporn Benarlee^{1, 2}

บทคัดย่อ: เชื้อราก่อโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* PSUM04 เป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพเบื้องต้นในการเข้าทำลาย หนอนกินไม้ผิวเปลือกลำต้นลองกอง จากการศึกษาความสามารถในการคงอยู่ของเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM04 บนต้นลองกองในสภาพธรรมชาติ พบว่าหลังจากการพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อราบนต้นลองกอง สามารถตรวจพบโคโลนีของเชื้อราบนลำต้น กิ่งใหญ่ และกิ่งย่อยของต้นลองกอง ในวันที่ 7, 14, 21 และ 28 วัน หลังจากการพ่นสปอร์แขวนลอย โดยพบโคโลนีของเชื้อราเป็นจำนวนมากในส่วนของลำต้น รองลงมาคือส่วนของกิ่งใหญ่และกิ่งย่อย ตามลำดับ จำนวนโคโลนีที่ตรวจพบมีจำนวนลดลงตามจำนวนวันที่เพิ่มมากขึ้น ส่วนต้นควบคุมที่พ่นด้วยน้ำเปล่า ไม่ตรวจพบโคโลนีของเชื้อรา

คำสำคัญ: การคงอยู่, *Metarhizium anisopliae*, หนอนกินไม้ผิวเปลือกลำต้นลองกอง, ต้นลองกอง

ABSTRACT: The preliminary test of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* PSUM04, showed high efficiency to control longkong's bark eating caterpillars. The study of stability of *M. anisopliae* PSUM04 on longkong tree in natural condition was investigated. After sprayed spore suspension onto stem, stick and branch of longkong tree, the colony of the fungus was detected on day 7, 14, 21 and 28 after treated. The detected fungal colony was higher in stem than stick and branch of longkong tree, respectively. The number of fungal colony was decreased when the observation time was increased. The fungal colony was not detected on control tree that sprayed with water.

Keywords: stability, *Metarhizium anisopliae*, longkong's bark eating caterpillars, longkong tree

บทนำ

ลองกอง (*Lansium domesticum* Corr.) เป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของภาคใต้ (กรมวิชาการเกษตร, 2550) ปัญหาการผลิตลองกองที่สำคัญ คือ การเข้าทำลายของหนอนกินไม้ผิวเปลือกลำต้นลองกอง ซึ่งมีรายงานไว้หลายชนิด ได้แก่ *Cossus chlorates* Swin-

hoe, *Decadarchis* sp., *Hypatima* sp., *Labdia semicoccinea* (Stainton) และ *Prasinoxema* sp. (รณกร, 2540; กรมวิชาการเกษตร, 2552) หากมีการระบาดและเข้าทำลายของหนอนกินไม้ผิวเปลือกลำต้นลองกองเป็นจำนวนมาก อาจทำให้ลำต้นทรุดโทรมจนไม่สามารถให้ผลผลิตหรืออาจทำให้กิ่ง และลำต้นแห้งตายได้ (รณกร, 2540)

¹ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Department of Pest Management, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University

² ศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ศูนย์ภาคใต้ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Natural Biological Control Research Center, Southern Region, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University

* Corresponding author: narit.t@psu.ac.th

การควบคุมหนอนกินผิวได้เปลือกลำต้นลองกองด้วยเชื้อราก่อโรคแมลงถือเป็นวิธีการทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชชนิดนี้ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ที่มีรายงานการนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ (นริศ และ อนุชิต, 2551; Petlamul and Prasertsan, 2012) จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM04 สามารถเข้าทำลายหนอนกินผิวได้เปลือกลำต้นลองกองในสภาพห้องปฏิบัติการได้ (นริศ, 2556) สำหรับการนำเชื้อราก่อโรคแมลงไปใช้ในสภาพธรรมชาติจำเป็นต้องคำนึงถึงความสามารถของเชื้อราต่อการคงอยู่บนต้นพืชด้วย (Richard and Roberto, 1986) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงได้มากยิ่งขึ้น

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาความสามารถในการคงอยู่บนลำต้นลองกองของเชื้อราก่อโรคแมลง *M. anisopliae* PSUM04 หลังจากพ่นลงบนต้นลองกองในสภาพธรรมชาติ เพื่อนำผลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมหนอนกินผิวได้เปลือกลำต้นลองกองในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรต่อไป

วิธีการศึกษา

การคงอยู่ของเชื้อราก่อโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* PSUM04 บนต้นลองกองในสภาพธรรมชาติ

นำเชื้อราก่อโรคแมลง *M. anisopliae* PSUM04 ที่มีศักยภาพในการเกิดโรคกับหนอนกินผิวได้เปลือกลำต้นลองกอง ที่ได้รับจากศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ศูนย์ภาคใต้ (นริศ, 2554) มาเพาะเลี้ยงในอาหาร Sabouraud dextrose agar plus yeast extract (SDAY) ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร บ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสในสภาพมืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์หรือจนกว่าเชื้อราจะสร้างสปอร์ เก็บสปอร์เชื้อราที่ได้มาเตรียมสปอร์แขวนลอยในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อที่ผสม Tween 80 (0.01%v/v) ปริมาตร 100 มิลลิลิตรใน

หลอดปิ๊กเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าด้วย vortex เป็นเวลา 60 วินาที แล้วนำสปอร์แขวนลอยไปกรองด้วยแผ่น polycarbonate membrane เส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร ขนาดรู 8 ไมโครเมตร เพื่อคัดแยกสปอร์ที่เกาะกันเป็นกลุ่มใหญ่ออกจากสปอร์เดี่ยว จากนั้นเตรียมสปอร์แขวนลอยให้มีความหนาแน่นสปอร์ 1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

ดำเนินการทดลอง ณ แปลงลองกองภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ช่วงวันที่ 10 พฤศจิกายน – 10 ธันวาคม 2556 โดยนำสปอร์แขวนลอยไปพ่นบนต้นลองกองด้วยถังพ่นสารขนาด 3 ลิตร โดยพ่นให้ทั่วทั้งกิ่งย่อย กิ่งใหญ่ และลำต้น ส่วนชุดควบคุมพ่นด้วยน้ำเปล่า ตรวจนับสปอร์ของเชื้อราหลังจากการพ่นที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน จากนั้นสุ่มเก็บกิ่งและเปลือกของลำต้นอย่างละ 1 กรัม แช่ในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อในหลอดทดลองขนาด 15×150 มิลลิเมตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าด้วย vortex เป็นเวลา 60 วินาที จากนั้นดูดสารละลายในหลอดทดลองปริมาตร 500 ไมโครลิตร เทลงในจานอาหาร SDAY + thiabendazole (0.5 g/l) + Chloramphenicol (0.001%) (ดัดแปลงจาก Fernandes et al., 2010) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เกลี่ยหน้าอาหารด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยมปลอดเชื้อจนหน้าอาหารแห้ง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสในสภาพมืดเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ตรวจดูเชื้อราโรคของแมลงที่เจริญบนจานอาหาร บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศตลอดการทดลอง ดำเนินการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ

ผลการศึกษา

จากการพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM04 บนต้นลองกองในสภาพธรรมชาติ เพื่อติดตามการคงอยู่ของเชื้อราบนต้นลองกอง ก่อนการพ่นสปอร์แขวนลอยได้ตรวจสอบต้นลองกอง ปรากฏว่าไม่พบโคโลนีของเชื้อรา *M. anisopliae* (Table 1

และ Figure 1A) หลังจากการพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อรา 7 วัน พบจำนวนโคโลนีของเชื้อรามากกว่า 5 โคโลนีบนลำต้น กิ่งใหญ่ และกิ่งย่อยของต้นลองกอง ส่วนต้นลองกองที่พ่นด้วยน้ำเปล่าไม่พบโคโลนีของเชื้อรา *M. anisopliae* (Table 1, Figure 1B) วันที่ 14 หลังจากพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อรา พบโคโลนีของเชื้อรา *M. anisopliae* มากกว่า 5 โคโลนีบนส่วนของลำต้นลองกอง ส่วนกิ่งใหญ่และกิ่งย่อยพบโคโลนีของเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 3-5 โคโลนี (Table 1, Figure 1C) วันที่ 21 หลังจากพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อรา พบโคโลนีของเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 3-5 โคโลนีบนส่วนของลำต้นลองกอง ส่วนกิ่งใหญ่และกิ่งย่อยพบโคโลนีของเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน

1-2 โคโลนี (Table 1, Figure 1D) สำหรับวันที่ 28 หลังจากพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อรา ยังคงพบโคโลนีของเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 1-2 โคโลนี ทุกส่วนของต้นลองกอง ส่วนชุดควบคุมไม่พบโคโลนีของเชื้อรา *M. anisopliae* (Table 1, Figure 1E) สำหรับอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ และปริมาณน้ำฝน ในช่วงที่ทำการทดลอง พบว่าเดือนพฤศจิกายนและธันวาคม มีอุณหภูมิเฉลี่ย 26.9 ± 0.8 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ $81.4 \pm 4.1\%$ และมีปริมาณน้ำฝน 9.4 ± 14.8 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (Figure 2) ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมต่างๆ เหล่านี้ พบว่าไม่มีผลต่อการคงอยู่ของเชื้อรา *M. anisopliae* บนต้นลองกองในสภาพธรรมชาติ

Table 1 Stability of *Metarhizium anisopliae* PSUM04 on longkong tree after sprayed with conidia suspension (1×10^8 spore/ml) .

Days	Treatments	Stem	Stick	Branch
0	T	-	-	-
	C	-	-	-
7	T	+++	++	+++
	C	-	-	-
14	T	+++	++	++
	C	-	-	-
21	T	++	+	+
	C	-	-	-
28	T	+	+	+
	C	-	-	-

T = the tree was sprayed with spore suspension of *Metarhizium anisopliae* PSUM04; C = the tree was sprayed with water; (-) = no fungal colony of *M. anisopliae* detection; (+) = 1-2 colony; (++) = 3-5 colony; (+++) = more than 5 colony

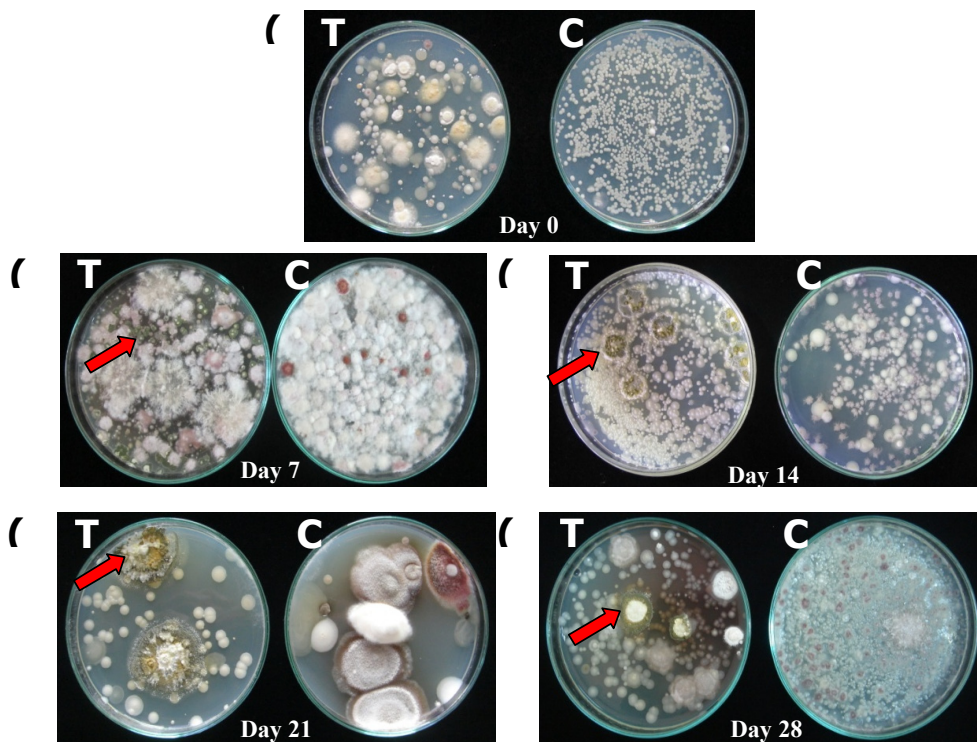


Figure 1 Colony of *Metarhizium anisopliae* PSUM04 on SDAY + fungicide + antibiotic medium after sprayed conidia suspension on longkong tree at day 0 (before spray) (A), 7 (B), 14 (C), 21 (D) and 28 (E) after treated. The *M. anisopliae* PSUM04 colony is indicated with the arrow. T= longkong tree was sprayed with *M. anisopliae* PSUM04 and C = longkong tree was sprayed with water (control).

วิจารณ์

เชื้อรา *M. anisopliae* PSUM04 สามารถคงอยู่บนลำต้น กิ่งใหญ่และกิ่งย่อยของต้นลองกองได้เป็นเวลา 4 สัปดาห์หลังจากการพ่นสปอร์แขวนลอย จากสภาพแวดล้อมระหว่างดำเนินการทดลองพบว่าเหมาะสมต่อการอยู่รอดของเชื้อรา สปอร์ของเชื้อรา *M. anisopliae* มีชีวิตรอดอยู่ได้ที่อุณหภูมิ 4-37 องศาเซลเซียส และมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศมากกว่า 75% (Daoust and

Roberts, 1983) นอกจากนี้การคงอยู่ของเชื้อราบนต้นลองกองที่ยาวนานอาจส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินได้ผิวเปลือกลำต้นลองกองได้มากยิ่งขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Sosa-Gómez *et al.* (2001) ที่รายงานว่า การคงอยู่ของเชื้อราก่อโรคแมลงบริเวณผิวใบพืช สามารถเพิ่มโอกาสในการเข้าทำลาย และลดจำนวนประชากรของแมลงศัตรูพืชลงได้

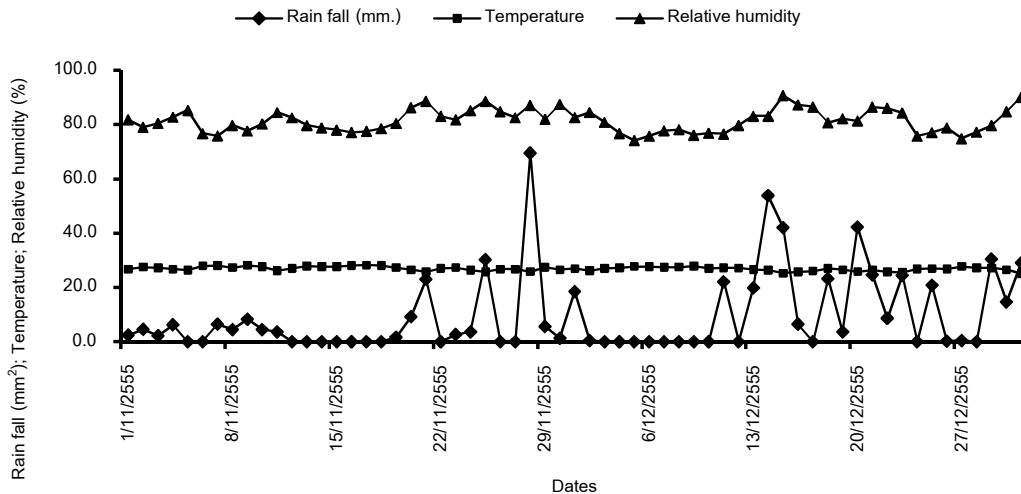


Figure 2 Rain fall, temperature and relative humidity in longkong orchard for study the stability of *Metarhizium anisopliae* PSUM04 on longkong tree during experiment tested on November to December 2012.

สรุป

เชื้อราก่อโรคแมลง *M. anisopliae* PSUM04 เป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพ สามารถคงอยู่บนต้นลองกองในสภาพธรรมชาติได้เป็นเวลา 4 สัปดาห์ที่ทำการทดสอบ เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ทดสอบในการควบคุม และลดจำนวนประชากรของหนอนกินได้ผิวเปลือกลำต้นลองกองในสภาพแปลงปลูกลองกองของเกษตรกรต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณภาควิชาการจัดการศัตรูพืช และศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ศูนย์ภาคใต้ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่เอื้อเฟื้อเงินทุนสำหรับการทำงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2550. ความสำคัญของลองกอง. แหล่งข้อมูล: http://www.doa.go.th/pl_data/02_LO-CAL/oard8/longgon/main.html.

กรมวิชาการเกษตร. 2552. แนวทางการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูลองกอง. แหล่งข้อมูล: <http://www.thethaifruit.com/journal.php?page=1>.

นริศ ท้าวจันทร์. 2554. การคัดกรองเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นในเขตจังหวัดภาคใต้ตอนกลางเพื่อการควบคุมแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). รายงานการวิจัยภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

นริศ ท้าวจันทร์. 2556. การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงที่มีศักยภาพเพื่อควบคุมหนอนกินได้ผิวเปลือกลำต้นลองกอง. รายงานการวิจัย ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ภาคใต้ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

นริศ ท้าวจันทร์และอนุชิต ชินาจริยวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพการควบคุมของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). วิทยาศาสตร์เกษตร (พิเศษ) 39:21-25.

รณกร โชชัยพันธุ์วงศ์. 2540. การศึกษาชีววิทยาของหนอนกินได้เปลือกลองกอง (*Cossus chlorates* Swinhoe) และแนวทางการควบคุม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

Daoust R.A. and W.R. Donald. 1983. Studies on the prolonged storage of *Metarhizium anisopliae* conidia: Effect of temperature and relative humidity on conidial viability and virulence against mosquitoes. J. Invert. Patho. 41:143-150.

- Fernandes E.K.K., C.A. Keyser, D.E.N. Rangel, R.N. Foster and D.W. Roberts. 2010. CTC medium: A novel dodine-free selective medium for isolating entomopathogenic fungi, especially *Metarhizium acridum*, from soil. *Biol. Control* 54:197-205.
- Petlamul, W. and P. Prasertsan. 2012. Evaluation of strains of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Spodoptera litura* on the basis of their virulence, germination rate, conidia production, radial growth and enzyme activity. *Mycobiology* 40:111-116.
- Richard, A.D. and M.P. Roberto. 1986. Sability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on beetle-attracting tubers and cowpea foliage in Brazil. *Environ. Entomol.* 15:1237-1243.
- Sosa-Gómez, D.R., K.E. Delpin, F. Moscardi and J.R.B. Farias. 2001. Natural occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium*, *Beauveria* and *Paezilomyces* in soybean under till and no-till cultivation systems. *Biol. Control.* 30:407-410.