ประสิทธิภาพของเชื้อราทำลายแมลงต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยจักจั่นสีเขียว

Pathogenicity of Entomopathogenic Fungi on Brown Planthopper (*Nilaparvata lugens)* and Green Leafhopper (*Nephotettix virescens)*

<u>เพชรหทัย ปฏิรูปานุสร</u> และ อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ

<u>Pethathai Patirupanusara</u> and Acharaporn Na Lampang Noenplab

บทคัดย่อ

ทดลองใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ซึ่งแยกได้จากหนอนด้วงแรดมะพร้าว และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเชื้อรา *Beauveria bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและตั๊กแตนปาทังกา ความเข้มข้น 10^8 สปอร์/มล. กับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยจักจั่นสีเขียวในห้องปฏิบัติการ แล้วคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพดี ไปทดสอบในแปลงทดลองใช้ความเข้มข้น 10^4-10^7 สปอร์/มล. จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ เชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตัวเต็มวัยเกิดโรคดีไม่ต่างกัน(75 และ 58.75%) สำหรับผลต่อตัวอ่อน เชื้อรา *M. anisopliae* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลดีที่สุด เกิดโรค 56.25% ผลต่อเพลี้ยจักจั่นสีเขียวตัวเต็มวัย เชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทำให้เกิดโรคดีไม่ต่างกัน (66.25 และ 62.50%) แต่กับตัวอ่อน เกิดโรคค่อนข้างต่ำทุกกรรมวิธี ในแปลงทดลอง เชื้อรา *M. anisopliae* เข้มข้น10^6-10^7 สปอร์/มล. เกิดโรคกับตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ (48.33-51.67%) แต่การเกิดโรคกับตัวอ่อน ความเข้มข้น 10^4-10^7 สปอร์/มล.ไม่ต่างกับ *B. bassiana* 10^6-10^7 สปอร์/มล. (33.33-50%) เมื่อทดสอบกับเพลี้ยจักจั่นสีเขียว เชื้อรา *M. anisopliae* ความเข้มข้น 10^6-10^7 สปอร์/มล. เกิดโรคกับตัวเต็มวัยดีที่สุด (43.33-48.33%) แต่กับตัวอ่อน ความเข้มข้น 10^5-10^7 สปอร์/มล. เกิดโรคดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ (38.33-45%) ต่อมาได้ทดลองเชื้อรา *M. anisopliae* และ *Hirsutella citriformis* ความเข้มข้น 10^8 สปอร์/มล. ร่วมกับสารสกัดจากสะเดาและหางไหล 5% ในห้องปฏิบัติการและแปลงทดลอง พบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิดไม่มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อราแต่อย่างใด

ABSTRACT

The efficiency of entomopathogenic fungi on the control of brown planthopper (BPH,*Nilaparvata lugens)* and green leafhopper (GLH,*Nephotettix virescens)* was studied in the laboratory and fields. Two entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* was isolated from the rhinoceros beetle larva and BPH while *Beauveria bassiana* was isolated from BPH and the Bombay locust (*Patanga succincta*), respectively. These fungi were inoculated on BPH and GLH at 10^8 conidia/ml. in the laboratory. Results showed that both *M. anisopliae* and *B. bassiana* isolated from BPH similarly affected the BPH adult (75 and 58.75%). The best effect on BPH nymph was obtained from *M. anisopliae* which was rather low being 56.25%. A similar trend was found for the test on GLH as *M. anisopliae* and *B. bassiana* isolated from BPH equally affected GLH adult (66.25 and 62.50%) However, both of them had little effect on the nymph. Results were slightly different with the field inoculation since the best effect was recorded when *M. anisopliae* was inoculated at 10^6 - 10^7 conidia/ml. on BPH adult (48.33 - 51.67%). Furthermore, the BPH nymph were similarly affected by 33.33 – 50.00 % when either *M. anisopliae* or *B. bassiana* was applied at 10^4 – 10^7 or 10^6 - 10^7

ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก อ.วังทอง จ. พิษณุโลก 65130

Phitsanulok Rice research Center, Wangthong, Phitsanulok 65130

conidia/ml., respectively. *M. anisopliae* at 10^6 - 10^7 conidia / ml. was also most effective against 33.33 – 50.00% when either *M. anisopliae* or *B. bassiana* was applied at 10^4 - 10^7 or 10^6 - 10^7 GLH adult (43.33 – 48.33%). A similar trend as for the adult was observed on the GLH nymph inoculated with *M. anisopliae* at 10^5 - 10^7 conidia/ml.(38.33 – 45.00%). Integration method between the use of *M. anisopliae* and the other entomopathogenic fungus, *Hirsutella citriformis*, at 10^8 conidia/ml. together with 5% crude extract from neem (*Azadirachta indica*) seed and *Derris elliptica* revealed no additive effect on the tested insects.

Key words : *Metarhizium anisopliae* ; *Beauveria bassiana* ; *Hirsutella citriformis* ; Brown planthopper; Green leafhopper
e-mail : psl_rrc@ricethailand.go.th

คำนำ

การใช้เชื้อจุลินทรีย์เป็นทางเลือกหนึ่งในการควบคุมแมลงศัตรูข้าว ที่จะช่วยลดการใช้สารฆ่าแมลงลงได้ ปัจจุบันได้มีการแยกเชื้อจุลินทรีย์ จาก แมลง และไรศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ มากกว่า 1,000 ชนิด และได้มีการค้นคว้านำมาใช้เป็นสารฆ่าแมลงที่เรียกว่า “ยาเชื้อ” (microbial insecticides) พบว่าเชื้อรา (fungi) เป็นจุลินทรีย์ที่พบมาก รองจากเชื้อไวรัส (virus) ซึ่งพบมากที่สุด (Poinar and Thomas, 1978) ข้อดีของเชื้อราก็คือ สามารถผลิตได้เป็นจำนวนมากในอาหารเทียมโดยวิธีการง่าย ๆ และประหยัดกว่าการผลิตเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ การใช้เชื้อราเพื่อควบคุมแมลงศัตรูข้าว ในต่างประเทศมีการทดลองเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. และเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. กับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยกระโดดหลังขาว เพลี้ยจักจั่นสีเขียว หนอนห่อใบข้าวและแมลงดำหนาม เป็นต้น โดยใช้ความเข้มข้น 10^6 – 10^8 สปอร์/มล. หรือประมาณ 10^6– 10^8 สปอร์/กรัม ได้ผลในการป้องกันกำจัดแมลงประมาณ 30 – 90 % ขึ้นอยู่กับชนิดของแมลงและสภาพแวดล้อม (Aguda *et al*., 1984 ; Aguda and Rombach, 1987 ; Hongke, 1986 ; Hazarika and Puzari, 1990 ; Bandara and Ahangama, 1994 ; Thuy *et al*., 1994) ส่วนเชื้อรา *Hirsutella citriformis* มีรายงานการใช้ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และแมลงหล่า (Aguda *et al*., 1988; Rombach, 1987) ในประเทศไทย จริยาและคณะ (2529)สำรวจเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงในนาข้าว พบเชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ทำลายเพลี้ยกระโดดและเพลี้ยจักจั่นหลายชนิด และในการเลี้ยงแมลง เพื่อใช้ในงานทดลองต่างๆของศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก พบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียวและแมลงสิง เป็นโรคเชื้อราตายตามธรรมชาติทุกปี ดังนั้นจึงได้ทำการเก็บตัวอย่างแมลงที่เกิดโรคเชื้อราตามธรรมชาติ มาแยกเชื้อและจำแนกชนิด นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการทำให้เกิดโรคกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยจักจั่นสีเขียว และใช้เชื้อราร่วมกับสารสกัดจากพืช เพื่อดูแนวโน้มในการที่จะพัฒนานำไปใช้ในไร่นาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์ : ตู้เขี่ยเชื้อและอุปกรณ์ในการเลี้ยงเชื้อ เชื้อรา *M. anisopliae, B. bassiana* และ *H. citriformis,* กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope), เครื่องนับเม็ดเลือด (Haemacytometer), เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยจักจั่นสีเขียว, กระถางปลูกข้าวและกรงเลี้ยงแมลงหลายขนาด, พันธุ์ข้าว สุพรรณบุรี60 และเจ้าหอมสุพรรณบุรี, เครื่องพ่นสารอัดความดันขนาดเล็ก และ Potter’s spray tower, ปุ๋ยสูตร 16-20-0 ปุ๋ยยูเรีย (46% N), สารสกัดด้วยน้ำจากเมล็ดสะเดาและรากหางไหล 5%, เครื่องวัดอุณหภูมิ และความชื้นบรรยากาศ

วิธีการ

I. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเพลี้ยจักจั่นสีเขียว

1. การทดลองในห้องปฏิบัติการ

1.1 ประสิทธิภาพของเชื้อราต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

1.2 ประสิทธิภาพของเชื้อราต่อเพลี้ยจักจั่นสีเขียว

ทั้ง 2 การทดลองวางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ประกอบด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *M. anisopliae* 2 ตัวอย่างที่แยกได้จากหนอนด้วงแรดมะพร้าวและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เชื้อรา *B. bassiana* 2 ตัวอย่างจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและตั๊กแตนปาทังกา ใช้ความเข้มข้น 10^8 สปอร์/มล. และใช้น้ำกลั่น เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

จัดเตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ความเข้มข้น 10^8 สปอร์/มล. ในน้ำกลั่นนึ่งที่มี 0.02 % Tween80 แล้วนำเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลหรือเพลี้ยจักจั่นสีเขียว ตัวอ่อนวัย 2 – 3 และ ตัวเต็มวัย อย่างละ 20 ตัว/กรรมวิธี ใส่จานเลี้ยงเชื้อที่รองด้วยกระดาษกรอง แล้วรองจานเลี้ยงเชื้อด้วยแผ่นโฟม นำเข้าตู้เย็นในช่องแช่แข็ง นาน 5 – 7 นาที เพื่อให้แมลงหยุดการเคลื่อนไหว แล้วนำมาพ่นสปอร์แขวนลอยตามกรรมวิธี โดยใช้เครื่อง Potter's spray tower หลังจากนั้นนำแมลงที่พ่นสารแล้วใส่ไว้บนต้นข้าวในกระถางที่ครอบด้วยหลอดพลาสติกใส ที่มีช่องระบายอากาศทำด้วยผ้าตาข่ายไนลอน ติดตั้งเครื่องวัดความชื้นไว้ภายในหลอดครอบต้นข้าว ตั้งไว้ในห้องปรับอากาศซึ่งมีอุณหภูมิระหว่าง 25 – 28° C หลังจากพ่นเชื้อราตรวจนับจำนวนแมลงตายทุกวันเป็นเวลา 15 วัน และแยกแมลงที่ตายแต่ละวันใส่จานเลี้ยงเชื้อที่มีกระดาษกรองชุบน้ำกลั่น และนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การตายเนื่องจากเชื้อราของแมลง ระหว่างทำการทดลอง บันทึกลักษณะอาการของแมลงที่ตาย ความชื้นสัมพัทธ์ภายในหลอดครอบต้นข้าว

2. การทดลองในแปลงทดลอง

2.1 ประสิทธิภาพของเชื้อราต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

2.2 ประสิทธิภาพของเชื้อราต่อเพลี้ยจักจั่นสีเขียว

ทั้ง 2 การทดลองวางแผนการทดลองแบบ RCB 3 ซ้ำ 9 กรรมวิธี โดยใช้เชื้อรา *M. anisopliae* และ *B.bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เชื้อราแต่ละชนิดใช้ 4 ความเข้มข้นคือ 10^4 - 10^7สปอร์/มล. และใช้น้ำกลั่น เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำแปลงทดลองมีขนาดแปลงย่อย 3 x 4 เมตร จำนวน 27 แปลงย่อย ปลูกข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี60 อายุกล้า 25 วัน ระยะปักดำ 25 x 25 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของทางราชการ หลังจากปักดำ 20 วันพ่นสารฆ่าแมลง cypermethrin ลงบนต้นข้าว 4 กอ ในแต่ละแปลงย่อย เพื่อกำจัดแมลงต่าง ๆ แล้วครอบด้วยมุ้งตาข่ายไนลอน หลังจากปักดำ 30 วัน นำตัวอ่อนวัย 2 – 3 และตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิดปีกสั้นหรือเพลี้ยจักจั่นสีเขียว อย่างละ 20 ตัว ใส่ในขวดพลาสติกซึ่งเจาะรูที่ฝาและก้นขวด แล้วจุ่มขวดที่ใส่แมลงลงในสปอร์แขวนลอย ความเข้มข้นต่าง ๆ ตามกรรมวิธี แล้วซับให้แห้งด้วยกระดาษซับที่ฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นนำแมลงไปปล่อยลงบนต้นข้าวในมุ้งตาข่ายไนลอนในแปลงทดลอง ตรวจนับจำนวนการตายของแมลงหลังจากพ่นเชื้อรา 7 และ 15 วัน นำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การตายของแมลง ระหว่างทำการทดลอง บันทึก ลักษณะอาการของแมลงที่ตาย อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณน้ำฝน

II. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราร่วมกับสารสกัดจากพืชในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

1. ประสิทธิภาพของเชื้อราร่วมกับสารสกัดจากพืชในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในเรือนทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB 3 ซ้ำ 9 กรรมวิธี โดยใช้เชื้อรา *M. anisopliae* และเชื้อรา *H. citriformis* แต่ละชนิดอย่างเดียวความเข้มข้น 10^8 สปอร์/มล. ใช้สารสกัดสะเดาและสารสกัดหางไหล แต่ละชนิดอย่างเดียว ความเข้มข้น 5 % และใช้เชื้อราแต่ละชนิดร่วมกับสารสกัดแต่ละชนิด และน้ำกลั่นเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ ทุกกรรมวิธีผสม Tween80 ให้ได้ความเข้มข้น 0.05 %

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ปลูกข้าวพันธุ์เจ้าหอมสุพรรณบุรีในกระถางซีเมนต์ขนาด 70 x 80 x 40 เซนติเมตร ในเรือนทดลองกันแมลง โดยวิธีหว่านน้ำตม ใช้อัตราเมล็ดพันธุ์ 20 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของทางราชการ ปิดล้อมต้นข้าวในกระถางด้วยพลาสติกใสเมื่อข้าวอายุ 45 วัน แล้วปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตัวเต็มวัยชนิดปีกสั้นจำนวน 20 คู่ต่อกระถาง หลังจากปล่อยแมลง 1 วันจึงพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราและสารสกัดจากพืช ตรวจนับการตายของแมลงหลังพ่นสาร 7 และ 15 วัน และแยกแมลงที่ตายใส่จานเลี้ยงเชื้อที่มีกระดาษกรองชุบน้ำกลั่น ดูการเจริญของเชื้อราบนตัวแมลง นำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การตายของแมลง

2. **ประสิทธิภาพของเชื้อราร่วมกับสารสกัดจากพืชในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแปลงนาหว่านที่อัตราเมล็ดพันธุ์ต่างกัน**

วางแผนการทดลองแบบ Split plot 3 ซ้ำ มีอัตราเมล็ดพันธุ์ 2 อัตรา คือ 10 และ 30 กิโลกรัมต่อไร่ เป็น Main plot สปอร์แขวนลอยและสารสกัด 9 กรรมวิธี เป็น Sub plot เช่นเดียวกับในเรือนทดลอง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ปลูกข้าวพันธุ์เจ้าหอมสุพรรณบุรี โดยวิธีหว่านน้ำตม อัตราเมล็ดพันธุ์ 10 และ 30 กิโลกรัมต่อไร่ แต่ละอัตรามี 9 แปลงย่อยต่อซ้ำ ขนาดแปลงย่อย 3 x 5 เมตร ใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของทางราชการ นำตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิดปีกสั้น ตัวอย่างละ 20 คู่ ใส่ขวดพลาสติกเจาะรูที่ฝาและก้นขวด จุ่มในสปอร์แขวนลอยของเชื้อราและสารสกัดตามกรรมวิธี แล้วซับให้แห้ง นำแมลงไปปล่อยลงบนต้นข้าว 1 กลุ่ม (10 ต้น) ในแปลงทดลองที่ครอบด้วยมุ้งตาข่ายไนลอน ตรวจนับการตายของแมลงหลังปล่อย 7 และ 15 วัน ระหว่างทำการทดลอง บันทึกอุณหภูมิ ความชื้น และปริมาณฝนในแปลงนาหว่านทั้ง 2 อัตรา

ผลการทดลองและวิจารณ์

I. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเพลี้ยจักจั่นสีเขียว

1. การทดลองในห้องปฏิบัติการ

1.1 ประสิทธิภาพของเชื้อราต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การทดลองกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตัวเต็มวัย พบว่า เชื้อราทำให้เกิดโรคกับแมลงค่อนข้างดี ทุกกรรมวิธีทำให้แมลงตายมากกว่าการใช้น้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เชื้อรา *M. anisopliae* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทำให้แมลงเป็นโรคสูง 75.00% ซึ่งไม่แตกต่างกับเชื้อ *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 58.75% รองลงมาคือ เชื้อ *M. anisopliae* จากหนอนด้วงแรดมะพร้าว 52.50% และเชื้อ *B. bassiana* จากตั๊กแตนปาทังกา 32.50% การใช้น้ำกลั่นแมลงตาย 3.75% (ตารางที่ 1)

การทดลองกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตัวอ่อน พบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำให้เกิดโรคได้สูงที่สุด 56.25% รองลงมาคือ เชื้อ *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 37.50%

1.2 ประสิทธิภาพของเชื้อราต่อเพลี้ยจักจั่นสีเขียว

การทดลองกับเพลี้ยจักจั่นสีเขียวตัวเต็มวัย ให้ผลในทำนองเดียวกับการทดลองกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล การเกิดโรคกับแมลงค่อนข้างดี เชื้อรา *M. anisopliae* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำให้แมลงเป็นโรค 66.25% ไม่แตกต่างทางสถิติกับเชื้อ *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 62.50% รองลงมาคือ เชื้อ *M .anisopliae* จากหนอนด้วงแรดมะพร้าว 41.25% ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับเชื้อ *B. bassiana* จากตั๊กแตนปาทังกา 36.25% การใช้น้ำกลั่นแมลงตาย 5.00% (ตารางที่1)

การทดลองเชื้อรากับเพลี้ยจักจั่นสีเขียวตัวอ่อน พบว่า เชื้อราทุกกรรมวิธีทำให้แมลงตายมากกว่าการใช้น้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เชื้อรา *M. anisopliae* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำให้เกิดโรคกับแมลง 47.50% ไม่แตกต่างทางสถิติกับเชื้อ *B . bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 38.75% และเชื้อ *M. anisopliae* จากหนอนด้วงแรดมะพร้าว 37.50% ส่วนเชื้อ *B. bassiana* จากตั๊กแตนปาทังกา ทำให้แมลงตาย 28.75% และน้ำกลั่น 2.50% (ตารางที่ 1)

การทดลองในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีอุณหภูมิ 25 – 28°C ความชื้นสัมพัทธ์ภายในหลอดครอบต้นข้าว 78 – 95% เชื้อรา *M. anisopliae* 10^8 สปอร์/มล. มีประสิทธิภาพสูง สอดคล้องกับการทดลองของ Bandara and Ahangama (1994) ที่ใช้เชื้อรา *M. anisopliae* 6.4×10^6 สปอร์/มล. กับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตัวเต็มวัยใน greenhouse แมลงตาย 64.80% ที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 4 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 60 – 75% การตายของแมลงทั้ง 2 ชนิดเป็นไปค่อนข้างช้า การตายของตัวอ่อนแมลงเริ่มขึ้นหลังจากได้รับเชื้อ 2 – 3 วัน เป็นต้นไป และเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ และหลังจาก 7 – 8 วัน การตายจะไม่ค่อยเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าตัวอ่อนที่ตายในระยะแรก ๆ เป็นตัวอ่อนที่เพิ่งลอกคราบใหม่ จึงอ่อนแอต่อการทำลายของเชื้อรา เนื่องจากผิวลำตัวยังอ่อนนุ่มและมีแผลที่ cuticle ซึ่งเกิดจากการลอกคราบ (Fargues and Vey, 1974) และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในระยะตัวอ่อนของแมลงทั้ง 2 ชนิดค่อนข้างต่ำ ซึ่ง Ferron (1981) อธิบายว่าแมลงในระยะตัวอ่อนสามารถหลีกเลี่ยงการเข้าทำลายของเชื้อราได้ โดยการลอกคราบที่มีชิ้นส่วนของเชื้อราติดอยู่ ออกทิ้งไป แต่การตายของตัวเต็มวัยนั้นพบว่า 3 วันแรก หลังจากได้รับเชื้อ แทบจะไม่มีการตายของแมลง แต่หลังจาก 5 วัน ไปแล้ว การตายของแมลงจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึง 2 สัปดาห์ และ 1 – 2 วัน ก่อนตาย แมลงจะเกาะนิ่งอยู่กับที่ หรือตกลงไปในน้ำ เนื่องจากมีอาการขาแข็ง ไม่มีแรงเกาะต้นข้าว เดินหรือบินไม่ไหว มีอาการเป็นอัมพาตและตายในเวลาต่อมา ซึ่ง Ferron (1981) รายงานว่าเชื้อราทั้ง 2 ชนิดสร้าง toxin และ enzyme หลายชนิด เชื้อรา *M. anisopliae* สร้าง toxin destruxins A, B, C, D และ enzyme ต่าง ๆ ส่วน *B. bassiana* ผลิต toxin ที่สำคัญ คือ beauvericin ซึ่ง toxin เหล่านี้จะทำให้แมลงเป็นอัมพาต เนื่องจาก toxin ไปรบกวนหรือขัดขวางการสื่อประสาทของแมลง นอกจากนี้เชื้อราใช้ toxin และ enzyme ต่าง ๆ สำหรับย่อยสลายเนื้อเยื่อแมลงเพื่อใช้ในการเจริญของเชื้อรา ทำให้แมลงสูญเสียความชื้น เพิ่มการเผาผลาญ และมีการใช้ออกซิเจนมากขึ้นทำให้สูญเสียพลังงาน สำหรับแมลงที่ตายเนื่องจากเชื้อราหลังจากเก็บใส่จานเลี้ยงเชื้อที่มีกระดาษกรองชุบน้ำกลั่นไว้ 2 – 3 วัน จะมีเชื้อราเจริญออกมาตามข้อต่อต่าง ๆ ของลำตัวและระยางค์ หลังจากนั้นก็สร้างสปอร์ซึ่งมีสีตามชนิดของเชื้อรา

2. การทดลองในแปลงทดลอง

2.1 ประสิทธิภาพของเชื้อราต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ผลการทดลองพบว่า เชื้อราทั้ง 2 ชนิด ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยตายมากกว่าการใช้น้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลต่อตัวเต็มวัย พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ความเข้มข้น 10^6–10^7 สปอร์/มล. ทำให้แมลงเกิดโรคไม่แตกต่างกัน 48.33 – 51.67% รองลงมาได้แก่เชื้อรา *M. anisopliae* 10^4–10^5 สปอร์/มล. ซึ่งไม่แตกต่างกับเชื้อ *B. bassiana* 10^5 – 10^7 สปอร์/มล. เกิดโรค 31.67 – 38.33 % ส่วนเชื้อรา *B. bassiana* 10^4 สปอร์/มล. 20.00 % และการใช้น้ำกลั่นแมลงตาย 5.00% ผลต่อตัวอ่อน พบว่าเชื้อ *M . anisopliae* ทุกความเข้มข้นและเชื้อ *B. bassiana* 10^6–10^7 สปอร์/มล. มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน ทำให้เกิดโรค 33.33 – 50.00% สำหรับเชื้อรา *B. bassiana* ทุกความเข้มข้นทำให้เกิดโรคกับแมลงค่อนข้างต่ำไม่แตกต่างกัน 20.00 – 33.33% ส่วนน้ำกลั่นแมลงตาย 3.33 % (ตารางที่ 2)

2.2 ประสิทธิภาพของเชื้อราต่อเพลี้ยจักจั่นสีเขียว

ผลการทดลองพบว่า เชื้อราทั้ง 2 ชนิด ทำให้เพลี้ยจักจั่นสีเขียวทั้งตัวอ่อนและเต็มวัย ตายมากกว่าการใช้น้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลต่อตัวเต็มวัยพบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* 10^6-10^7 สปอร์/มล. มีประสิทธิภาพสูงไม่แตกต่างกัน แมลงเกิดโรค 43.33 - 48.33 % รองลงมาคือ เชื้อรา *M. anisopliae* 10^4 - 10^5 สปอร์/มล. ซึ่งไม่แตกต่างกับ *B. bassiana* 10^6 - 10^7 สปอร์/มล. แมลงเกิดโรค 26.67 – 35.00 % และเชื้อรา *B. bassiana* 10^4 - 10^5 สปอร์/มล. ทำให้เกิดโรค 15.00 – 16.67 % การใช้น้ำกลั่นแมลงตาย 3.33 % ผลต่อตัวอ่อน เชื้อรา *M. anisopliae* ความเข้มข้น 10^5 - 10^7 สปอร์/มล. มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน แมลงเกิดโรค 38.33 - 45.00 % ส่วนกรรมวิธีอื่นๆ การเกิดโรคค่อนข้างต่ำ 16.67 – 30.00% (ตารางที่ 2)

การทดลองในแปลงทดลองที่ใช้ความเข้มข้นของจำนวนสปอร์ตั้งแต่ 10^4 – 10^7 สปอร์/มล. การเป็นโรคของแมลง ทั้ง 2 ชนิดค่อนข้างต่ำ สภาพอากาศในแปลงทดลองที่วัดได้พบว่า อุณหภูมิระหว่างกอข้าวในแปลงทดลองทั้ง 2 ครั้ง อุณหภูมิต่ำสุด อยู่ในช่วง 24 – 26 °C อุณหภูมิสูงสุด 26 – 34 °C (เฉลี่ย 30.4 - 32.2 °C) ความชื้นสัมพัทธ์ 75 – 95 % ซึ่งความชื้นสัมพัทธ์นั้นใกล้เคียงกับการทดลองในห้องปฏิบัติการ แต่อุณหภูมิช่วงกลางวันในแปลงทดลองค่อนข้างร้อน อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การงอกและการเจริญของเชื้อราไม่ดีเท่าที่ควร ซึ่ง Hussey and Tinsley (1981) รายงานว่า เชื้อรา *B. bassiana* สามารถเลี้ยงได้ที่อุณหภูมิ 8 – 30 °C แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อรา *B. bassiana* อยู่ที่ 23 – 25 °C ส่วนเชื้อ *M. anisopleae* อยู่ที่ 27 - 28°C ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 % (Latch, 1976 ; Ferron, 1981) และ Ferron (1977) ให้เหตุผลว่า แม้การงอกของสปอร์จะต้องการสภาพแวดล้อมหลัก (macroclimate) ที่เหมาะสม แต่บางทีก็ขึ้นอยู่กับสภาพความเหมาะสมเฉพาะที่ (microclimate) ในชั้นผิวแมลง นอกจากนี้แสงอุลตราไวโอเลตจากดวงอาทิตย์ ก็เป็นสาเหตุสำคัญในการยับยั้งการงอก การเจริญของเชื้อรา อาจทำให้การติดเชื้อของแมลงน้อยลง (Burges,1981) อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพโดยรวมแล้ว เชื้อราทั้ง 2 ชนิดยังมีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำกับแมลงในแปลงทดลอง ทั้งนี้ความเข้มข้นที่ใช้อาจน้อยเกินไปสำหรับสภาพอากาศในเมืองร้อน เพราะการใช้จำนวนสปอร์น้อยจะทำให้การติดเชื้อของแมลงช้า (Litvinenko, 1974)

II. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราร่วมกับสารสกัดจากพืชในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

1. ประสิทธิภาพของเชื้อราร่วมกับสารสกัดจากพืชในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในเรือนทดลอง

การใช้เชื้อรา *M. anisopliae* มีประสิทธิภาพดีไม่แตกต่างกับการใช้เชื้อรา *H. citriformis* หรือการใช้ *H. citriformis* ร่วมกับสารสกัดจากหางไหลทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 76.70 68.30 และ 65.80 % ตามลำดับ รองลงมาคือ การใช้สารสกัดจากหางไหล ทำให้แมลงตาย 63.30 % ซึ่งไม่แตกต่างกับการใช้ *M.anisopliae* ร่วมกับสารสกัดจากหางไหล แมลงตาย 62.50 % หรือ *M. anisopliae* ร่วมกับสารสกัดจากสะเดา แมลงตาย 58.30 % ส่วนการใช้ *H. citriformis* ร่วมกับสารสกัดจากสะเดา แมลงตาย 50.80 % สารสกัดจากสะเดา แมลงตาย 35.80 % และน้ำกลั่น 11.70 % (ตารางที่ 3) จะเห็นว่าการใช้เชื้อราแต่ละชนิดอย่างเดียวทำให้เกิดการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดี ซึ่งประสิทธิภาพใกล้เคียงกับการใช้ร่วมกับสารสกัดจากหางไหล แต่การใช้ร่วมกับสารสกัดจากสะเดาทำให้ประสิทธิภาพของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดลดลง ทั้งนี้สารสกัดจากสะเดาอาจมีสารบางอย่างที่สามารถยับยั้งการงอก การเจริญของเชื้อราได้

2. ประสิทธิภาพของเชื้อราร่วมกับสารสกัดจากพืชในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแปลงนาหว่านที่อัตราเมล็ดพันธุ์ต่างกัน

ในแปลงทดลอง การเกิดโรคของแมลงที่ 7 วัน มีน้อยจึงไม่ได้นำมาวิเคราะห์ผล และที่ 15 วัน การเกิดโรคของแมลงในแปลงที่ปลูกด้วยอัตราเมล็ดพันธุ์ 10 และ 30 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (46.69 และ 48.44% ตามลำดับ) การใช้เชื้อรา *H .citriformis* มีประสิทธิภาพดีไม่ต่างกับการใช้สารสกัดจากหางไหลอย่างเดียว หรือเชื้อราแต่ละชนิดร่วมกับสารสกัดจากหางไหล ทำให้แมลงตาย 61.67 – 65.92 % รองลงมาคือการใช้ *H. citriformis* ร่วมกับสารสกัดจากสะเดา ซึ่งไม่แตกต่างกับการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* หรือ สารสกัดจากสะเดา หรือ *M. anisopliae* ร่วมกับสารสกัดจากสะเดา ทำให้แมลงตาย 37.58 – 44.16 % ส่วนการใช้น้ำกลั่นแมลงตาย 9.58 % (ตารางที่ 4) นอกจากนี้ อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ระหว่างกอข้าวในแปลงทดลองที่ใช้อัตราเมล็ดพันธุ์ 10 และ 30 กิโลกรัมต่อไร่ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 5) การใช้เชื้อราทั้ง 2 ชนิดร่วมกับสารสกัดจากสะเดาและหางไหลให้ผลเช่นเดียวกับในเรือนทดลอง แต่เชื้อรา *M. anisopliae* ซึ่งใช้ได้ดีในเรือนทดลองกลับมีประสิทธิภาพลดต่ำลง เชื้อราทั้ง 2 ชนิดต่างยังมีข้อจำกัดในการใช้ป้องกันกำจัดแมลง โดยที่เชื้อรา *H. citriformis* นั้นสามารถเจริญในสภาพแปลงพืชได้ดี แต่การเลี้ยงขยายทำได้ยาก ส่วนเชื้อรา *M. anisopliae* สามารถเลี้ยงขยายได้ง่าย แต่ไม่ทนต่อสภาพในแปลงพืช

สรุป

จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ เชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตัวเต็มวัยเกิดโรคดีไม่ต่างกัน(75 และ 58.75%) สำหรับผลต่อตัวอ่อน *M. anisopliae* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลดีที่สุด เกิดโรค 56.25% ผลต่อเพลี้ยจักจั่นสีเขียวตัวเต็มวัย เชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทำให้เกิดโรคดีไม่ต่างกัน (66.25 และ 62.50%) แต่กับตัวอ่อน เกิดโรคค่อนข้างต่ำทุกกรรมวิธี ส่วนในแปลงทดลอง เชื้อรา *M. anisopliae* เข้มข้น10^{6}-10^{7} สปอร์/มล. เกิดโรคกับตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ (48.33-51.67%) แต่การเกิดโรคกับตัวอ่อน ความเข้มข้น 10^{4}-10^{7} สปอร์/มล.ไม่ต่างกับ *B.bassiana* 10^{6}-10^{7} สปอร์/มล. (33.33-50%) เมื่อทดสอบกับเพลี้ยจักจั่นสีเขียว

การทดลองเชื้อรา *M. anisopliae* และ *H. citriformis* ความเข้มข้น 10^8 สปอร์/มล. ร่วมกับสารสกัดจากสะเดาและหางไหล 5% ในห้องปฏิบัติการและแปลงทดลอง พบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิดไม่มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อราแต่อย่างใด

เชื้อรา *M. anisopliae* *B. bassiana* และ *H. citriformis* มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูข้าว แต่จะต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับอาหารที่เหมาะสมสำหรับเชื้อรา *H. citriformis* หรือทำอย่างไรให้ได้เชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* สายพันธุ์ที่ทนต่อสภาพแวดล้อมในแปลงพืชได้ รวมทั้งช่วงเวลาในการใช้ ปริมาณความหนาแน่นของจำนวนสปอร์/มล. และจำนวนครั้งในการพ่น

เอกสารอ้างอิง

จริยา จันทร์ไพแสง ทิพย์วดี อรรถธรรม และ วาลุลี โรจน์วงค์. 2529. การสำรวจโรคเชื้อราของเพลี้ยจักจั่นบางชนิดที่เป็นศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจ. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2529. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Aguda, R.M., J.A. Litsinger and D.W. Roberts. 1984. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* on brown planthopper (BPH), whitebacked planthopper (WBPH), and green leafhopper (GLH). *IRRN* 9 (6) : 20.

Aguda, R.M. and M.C. Rombach.1987. Bioassay of *Beauveria bassiana* and *Nomuraea rileyi* (Deuteromycotina : Hyphomycetes) against the rice leafolder (LF) *IRRN* 12 (3) : 36.

Aguda, R.M., M.C. Rombach and B.M. Shepard. 1988. Infection of brown planthopper (BPH) with insect fungi in the laboratory. *IRRN* 13 (5) : 34.

Bandara, J.M. R.S. and D. Ahangama. 1994. *Metarhizium* sp. : a new biocontrol agent for brown planthopper management in rice fields. *IRRN* 19 (4) : 19.

Burges, H.D. 1981. Strategy for the Microbial Control of Pests in 1980 and Beyond. p 797-836. *In* "Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970–1980" (H.D. Burges ed), Academic Press,London.

Fargues, J. and A. Vey. 1974. *Entomophaga* 19: 311- 323.

Ferron, P.1977. *Entomophaga*. 22 : 393 - 396.

Ferron, P. 1981. Pest Control by the Fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. p 465 – 482. *In* "Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970 – 1980" (H.D. Burges, ed), Academic Press, London.

Hazarika, L.K. and K.C. Puzari. 1990. *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. For biological control of rice hispa (RH) in Assam, India. *IRRN* 15 (1) : 31.

Hongke, Li. 1986. *Beauveria bassiana* for controlling brown planthopper (BPH) and green (GLH). *IRRN* 11 (3) : 22.

Hussey, N.W. and T.W. Tinsley. 1981. Impression of Insect Pathology in the People's Republic of China. p 785 – 795. *In* "Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970 – 1980" (H.D. Burges, ed), Academic Press, London.

Latch, G.C.M. 1976. *Entomophaga*. 21: 31 – 38.

Litvinenko, A.I. 1974. Biological Methods for Plant Protection. p. 20-21.*Kichinev, Inst. Bid. Met. Zash. Rast.*

Poinar, G.O. and G.M. Thomas. 1978. Diagnostic manual for the identification of insect pathogens. Plenum Press, N.Y. 218 p.

Rombach, M.C. 1987. Insect fungi for the control of brown planthopper *Nilaparvata lugens*, and Malayan rice bug, *Scotinophara coarctata* Summary, WAU dissertation no.1158. 4 p. Available at http://www.agralin.nl/wda/abstracts/ab1158.html.

Thuy, Pham Thi., Nguyen Thi Bac, Dong thanh and Tran Thanh Thap. 1994. Effects of *Beauveria bassiana* Vuill and *Metarhizium anisopliae* Sorok on brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal) in Vietnam. *IRRN* 19 (3) : 29.

Table 1 Effect of spraying conidia suspension of *M. anisopliae* and *B. bassiana* at 10^8 conidia/ml. on BPH and GLH in the laboratory, Phitsanulok Rice Research Center.

Treatment	BPH mortality (%)		GLH mortality (%)	
	Nymph	Adult	Nymph	Adult
M. anisopliae [1/]	56.25 a	75.00 a	47.50 a	66.25 a
M. anisopliae [2/]	33.75 bc	52.50 b	37.50 ab	41.25 b
B. bassiana [1/]	37.50 b	58.75 ab	38.75 ab	62.50 a
B. bassiana [3/]	22.50 c	32.50 c	28.75 b	36.25 b
Distilled water	1.25 d	3.75 d	2.50 c	5.00 c
CV (%)	18.37	17.08	19.06	12.49

Means in a column followed by a common letter are not significant different at the 5 % level by DMRT

[1/] From BPH [2/] From Rhinoceros beetle larva [3/] From *Patanga succincta*

Table 2 Effect of conidia suspension of *M. anisopliae* and *B. bassiana* at 10^4-10^7 conidia/ml. applied by dipping method on BPH and GLH in the field, Phitsanulok Rice Research Center.

Treatment	Concentration (conidia/ml.)	BPH mortality (%)		GLH mortality (%)	
		Nymph	Adult	Nymph	Adult
M. anisopliae	10^4	36.67 ab	36.67 bc	28.33 bc	30.00 c
	10^5	45.00 a	38.33 bc	38.33 ab	35.00 bc
	10^6	45.00 a	48.33 ab	45.00 a	43.33 ab
	10^7	50.00 a	51.67 a	45.00 a	48.33 a
B. bassiana	10^4	20.00 c	20.00 d	16.67 d	15.00 e
	10^5	26.67 bc	31.67 c	21.67 cd	16.67 de
	10^6	33.33 abc	35.00 c	28.33 bc	26.67 cd
	10^7	33.33 abc	36.67 bc	30.00 bc	33.33 bc
Distilled water	-	3.33 d	5.00 e	1.67 e	3.33 f
CV (%)		16.48	11.49	12.72	13.77

Means in a column followed by a common letter are not significant different at the 5 % level by DMRT

Table 3 Effect of spraying conidia suspension of *H. citriformis* and *M. anisopliae* at 10^8 conidia/ml. with 5% crude extract from neem seed and Derris on BPH in the green house, Phitsanulok Rice Research Center, 2002.

Treatment	BPH mortality (%)	
	7 days after treated	15 days after treated
Neem seed extracted (NE)	23.3 d	35.8 d
Derris extracted (DE)	60.8 a	63.3 b
M. anisopliae	45.0 bc	76.7 a
H. citriformis	43.3 c	68.3 ab
M. anisopliae + (NE)	28.3 d	58.3 bc
H. citriformis + (NE)	24.2 d	50.8 c
M. anisopliae + (DE)	58.3 ab	62.5 bc
H. citriformis + (DE)	62.5 a	65.8 ab
Distilled water	8.3 e	11.7 e
CV (%)	20.2	12.1

Means in a column followed by a common letter are not significant different at the 5 % level by DMRT

Table 4 Percentage of BPH mortality, inoculated with *H.citriformis* and *M.anisopliae* at 10^8 conidia/ml. suspened in 5% crude extract from neem seed and Derris on the BPH in the field, Phitsanulok Rice Research Center, 2003.

Suspensions (Sub plot)	Seeding rate (Main plot)		Sub plot - Mean	Difference
	10 Kg./rai	30 Kg./rai		
Neem seed extracted (NE)	44.17 b	35.83 b	40.00 b	8.33
Derris extracted (DE)	59.17 a	66.67 a	62.92 a	-7.50
M. anisopliae	41.67 b	43.33 b	42.50 b	-1.67
H. citriformis	64.17 a	67.67 a	65.92 a	-3.50
M. anisopliae + (NE)	36.00 b	39.17 b	37.58 b	-3.17
H. citriformis + (NE)	42.50 b	45.83 b	44.16 b	-3.33
M. anisopliae + (DE)	63.33 a	60.00 a	61.67 a	3.33
H. citriformis + (DE)	62.50 a	65.00 a	63.75 a	-2.50
Distilled water	6.67 c	12.50 c	9.58 c	-5.83
Main plot - Mean	46.69	48.44	47.56	-1.75

CV (a) = 5.7 % CV (b) = 16.1%

Means in a column followed by a common letter are not significant different at the 5 % level by DMRT

Table 5. Temperature, rainfall and relative humidity during the experiment in the field at Phitsanulok Rice Research Center, 2003.

Date	Rainfall (mm.)	Temperature (°C)				Relative humidity (%)	
		Maximum		Minimum			
		10 Kg./rai	30 Kg./rai	10 Kg./rai	30 Kg./rai	10 Kg./rai	30 Kg./rai
12 Sep. 03	28.9	29.6	29.4	23.3	23.3	94	94
13 Sep. 03	11.0	30.2	30.1	23.5	23.5	94	94
14 Sep. 03	4.2	28.7	28.7	22.4	22.4	94	94
15 Sep. 03	11.6	32.5	32.2	22.7	22.7	94	94
16 Sep. 03	-	34.4	34.1	23.5	23.5	92	92
17 Sep. 03	-	34.3	34.1	24.0	24.0	93	93
18 Sep. 03	48.9	34.8	34.5	24.8	24.9	92	92
19 Sep. 03	2.0	33.7	33.7	22.4	22.5	92	92
20 Sep. 03	-	34.2	34.0	24.1	24.1	90	90
21 Sep. 03	5.1	33.4	33.4	23.5	23.7	85	85
22 Sep. 03	-	31.7	31.5	23.3	23.3	83	83
23 Sep. 03	0.4	34.5	34.5	23.8	23.8	93	93
24 Sep. 03	0.8	31.8	31.7	24.0	24.2	88	88
25 Sep. 03	5.0	34.7	34.7	23.4	23.5	88	88
26 Sep. 03	-	34.2	34.0	23.7	23.7	91	91
$\bar{X} \pm$ SD	7.86±13.7	32.85±2.0	32.71±1.9	23.49±0.6	23.54±0.7	90.87±3.4	90.87±3.4
F-test		1.02^{NS}		1.07^{NS}		1.00^{NS}	
T-test		0.01^{NS}		0.08^{NS}		NS	

$F_{.05}$ (14 , 14) = 2.48 $t_{.05}$ (28) = 2.048