

การคัดเลือกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* ที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุม
หนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม

Strain Selection of *Bacillus thuringiensis* for Controlling Cut Worm, *Spodoptera litura* and Beet army worm, *Spodoptera exigua* .

อิศเรศ เทียนทัต อัจฉรา ตันติโชค สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทำการแยกเชื้อ Bt ออกจากตัวอย่างดิน ที่เก็บรวบรวมได้จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือจากแหล่งที่ไม่มีการทำเกษตรกรรม จำนวน 165 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate ทั้งหมด 143 isolates นำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ผัก พบว่าเชื้อ Bt isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้หอมมีอัตราการตาย ตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 22 isolates, 11-20 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 12 isolates, 21-30 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 43 isolates, 31-40 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 20 isolates, 41-50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 18 isolates, 51-60 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 16 isolates, 61-70 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 isolates, 71-80 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 isolates และ 81 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จำนวน 3 isolates ส่วน เชื้อ Bt isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักมีอัตราการตาย ตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 6 isolates, 11-20 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 7 isolates, 21-30 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 17 isolates, 31-40 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 22 isolates, 41-50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 15 isolates, 51-60 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 30 isolates, 61-70 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 15 isolates, 71-80 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 11 isolates และ 81 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จำนวน 20 isolates

คำนำ

ปัจจุบันทุกฝ่ายได้ตระหนักถึงอันตรายจากสารฆ่าแมลงที่มีต่อสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภค ตลอดจนผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม จากการเข้าเป็นสมาชิกองค์การการค้าโลก ประเทศไทยต้องปฏิบัติตามข้อตกลงที่ว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phyto-sanitary Measures (SPS) โดยใช้สุขอนามัยผู้บริโภคและปริมาณสารพิษตกค้างของพืชผักและผลไม้เป็นตัวกำหนดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ประเทศไทยจึงได้รับผลกระทบโดยตรง เนื่องจากมีการใช้สารเคมีควบคุมศัตรูพืชมาก ปริมาณพิษตกค้างบนผลิตภัณฑ์ มักพบว่าสูงเกินค่าความปลอดภัยอยู่เสมอเป็นผลให้ผลิตภัณฑ์ไม่ได้คุณภาพตามที่ต้องการ ทำให้ไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศได้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ดำเนินการที่จะลดปัญหาดังกล่าวโดยการห้ามการจำหน่ายสารฆ่าแมลงที่มีฤทธิ์รุนแรงและมีฤทธิ์ตกค้างนาน ให้มีการตรวจสอบและออกใบรับรองพืช 12 ชนิดที่พบว่ามีพิษตกค้างสูงก่อนที่จะส่งออกไปต่างประเทศ เพื่อลดปัญหาดังกล่าวการค้นคว้าวิจัยและพัฒนาเพื่อนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทดแทนสารเคมีกำจัดแมลง จึงเป็นสิ่งที่จำเป็น เพื่อให้เกษตรกรได้มีทางเลือกนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เชื้อ *Bacillus thuringiensis* เป็นจุลินทรีย์ที่พบในประเทศไทย มีความเฉพาะเจาะจงสูงต่อแมลงเป้าหมายปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์ แมลงศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์และต่อสิ่งแวดล้อม ได้ผ่านการทดสอบจาก US Environmental Protection Agency ประเทศสหรัฐอเมริกาและเป็นที่ยอมรับและนำไปใช้ในประเทศที่พัฒนาแล้ว การนำเชื้อ *Bacillus thuringiensis* จะช่วยแก้ปัญหาลดผลกระทบของสารเคมีกำจัดแมลงต่อประชาชน ทำให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้เพื่อผลิตพืชที่ได้คุณภาพผลผลิตไม่ลดลงและต้นทุนการผลิตไม่เพิ่มขึ้น

วิธีดำเนินการ

ขั้นตอนที่ 1 ทำการ isolate เชื้อ BT ออกจากตัวอย่างดินที่เก็บรวบรวมมาจากแหล่งต่างๆ ของประเทศ

ขั้นตอนที่ 2 เพิ่มปริมาณของ Bt isolate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth

ขั้นตอนที่ 3 นำ Bt แต่ละ isolate ที่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้น (preliminary screening test) กับหนอนกระพุ่มผักและหนอนกระพุ่มหอมโดยวิธีการ diet plug method

ขั้นตอนที่ 4 คัดเลือก Bt isolates ที่ฆ่าหนอนได้เกิน 50 % นำมาศึกษาขนาดและน้ำหนักโมเลกุลของ Crystal protein โดยวิธี SDS-PAGE

ขั้นตอนที่ 5 นำ Bt isolate ที่ผ่านการทดสอบแล้ว มาทำการ bioassay กับหนอนกระทู้ฝักและหนอนกระทู้หอม เปรียบเทียบประสิทธิภาพด้วย Bt มาตรฐาน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ ใช้หนอน 20 ตัว/ซ้ำ

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ Bt แต่ละ isolate ที่ได้
- บันทึกคุณสมบัติและระดับความรุนแรงของเชื้อของ Bt แต่ละ isolate ที่แยกได้ใน การทดสอบประสิทธิภาพการทำลายแมลงกับทดสอบชนิดต่าง ๆ

- บันทึกขนาดและน้ำหนักโมเลกุลของ Crystal protein และ ขนาดของ DNA ของ Bt แต่ละ isolate

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทำการแยกเชื้อ Bt ออกจากตัวอย่างดิน ได้เชื้อ Bt isolate ทั้งหมด 143 isolates นำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ฝัก พบว่า เชื้อ Bt isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้หอมมีอัตราการตาย ตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 22 isolates, 11-20 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 12 isolates, 21-30 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 43 isolates, 31-40 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 20 isolates, 41-50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 18 isolates, 51-60 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 16 isolates, 61-70 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 isolates, 71-80 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 isolates และ 81 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จำนวน 3 isolates ส่วน เชื้อ Bt isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้ฝักมีอัตราการตาย ตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 6 isolates, 11-20 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 7 isolates, 21-30 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 17 isolates, 31-40 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 22 isolates, 41-50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 15 isolates, 51-60 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 30 isolates, 61-70 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 15 isolates, 71-80 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 11 isolates และ 81 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จำนวน 20 isolates