การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae*

Selection and efficacy test of green muscadine fungus, *Metarhizium anisopliae*.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ เกรียงไกร จำเริญมา สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* โดยเน้นการควบคุมแมลงศัตรูมะพร้าว ได้แก่ หนอนด้วงแรดมะพร้าว, หนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว ได้ทำการวิจัยในช่วงเดือนตุลาคม 2550 - กันยายน 2553 (รวมระยะเวลา 3 ปี) ที่ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โดยแบ่งการดำเนินงานในปีต่างๆ ดังนี้

ปีที่ 1 ทดสอบประสิทธิภาพราเขียวกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว

ได้ทำการเก็บรวบรวมเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จากแหล่งต่างๆ ซึ่งในปัจจุบันมีเชื้อราเขียวในห้องปฏิบัติการจำนวนทั้งสิ้น 10 สายพันธุ์ ในจำนวนนี้ 3 สายพันธุ์เป็นเชื้อที่ได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยงานที่มีการใช้และเผยแพร่สู่ผู้สนใจรวมทั้งเกษตรกร ได้แก่ ศูนย์พันธุวิศวกรรม (M0), กรมส่งเสริมการเกษตรฯ (M2) และศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (M3) ส่วนอีก 7 สายพันธุ์ เป็นเชื้อที่เก็บในธรรมชาติได้จากแมลงเป็นโรคในพื้นที่ต่างๆกัน และนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ การดำเนินงานในครั้งแรกได้ทำการคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นตัวแทนเปรียบเทียบกับเชื้อราเขียวที่แยกได้จากธรรมชาติ โดยนำเชื้อราเขียว 3 สายพันธุ์ คือ M0, M2 และ M3 มาทดสอบกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว ผลการทดลองพบว่า ไอโซเลท M2 มีความเหมาะสมในการคัดเลือกเพื่อใช้เป็นเชื้อเปรียบเทียบ โดยทำให้หนอนด้วงแรดมะพร้าวมีอัตราการตายที่แท้จริง 100% ในวันที่ 12 ของการทดลอง ซึ่งใช้ระยะเวลาสั้นกว่าไอโซเลท M0 และ M3 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพเปรียบเทียบกับเชื้อราเขียวที่แยกได้จากธรรมชาติทั้ง 7 สายพันธุ์ พบว่า M5 มีความน่าสนใจในการใช้ควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าวมากที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบกับ control (M2) ยังพบว่ามีอัตราการเกิดโรคได้เร็วกว่า (ตารางที่ 3)

ปีที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวกับหนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว

ทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวทั้งหมดที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยวิธีจุ่มใบมะพร้าวในสารแขวนลอยโคนิเดียที่เตรียมไว้ โดยปรับกำลังโคนิเดียทุกไอโซเลทที่ 1×10^{7} โคนิเดีย/มล. เช็คผลทุก 2 วัน

รหัสการทดลอง 07-01-49-06-04-03-01-51

การทดสอบกับหนอนแมลงดำหนาม พบว่าไอโซเลท M4 มีความน่าสนใจเนื่องจากให้อัตราการเกิดโรคสูงสุด 98.25% ในระยะเวลาที่สั้นที่สุดคือวันที่ 4 ของการทดลอง ส่วนไอโซเลทที่มีความเหมาะสมกับหนอนหัวดำมะพร้าวคือ M8 เนื่องจากให้อัตราการ
ตายของหนอนสูงสุด 76.05% ในวันที่ 2 ของการทดลอง (ตารางที่ 4, ตารางที่ 5)

การเกิดโรคของแมลงขึ้นอยู่กับขนาดและผนังลำตัวของเหยื่อ โดยพบว่าแมลงที่ขนาดใหญ่หรือมีผนังลำตัวหนาจะเกิดการติดโรคได้ช้ากว่าแมลงที่ขนาดเล็ก หรือมีผนังลำตัวที่บางกว่า นอกจากนี้การเกิดโรคยังขึ้นกับประสิทธิภาพและความเฉพาะเจาะจงของเชื้อ ซึ่งมีความแตกต่างกันไปในแต่ละไอโซเลท

คำนำ

เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* จัดเป็นจุลินทรีย์ประเภทหนึ่งที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกรผู้ปลูกมะพร้าวและปาล์มน้ำมัน เป็นเชื้อราที่พบในดินใช้กำจัดแมลงในกลุ่มหนอนด้วงโดยเฉพาะด้วงแรดมะพร้าว ซึ่งในปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกมะพร้าวและปาล์มน้ำมันกันมากในเขตภาคใต้ การกองเศษซากพืช ขุยมะพร้าว หรือกากของปาล์มน้ำมันทิ้งไว้เป็นเวลานานๆจะกลายเป็นแหล่งขยายพันธุ์ของด้วงแรดชนิดนี้ การป้องกันกำจัดในปัจจุบันมักใช้วิธีการป้องกันกำจัดแบบผสมผสาน เชื้อราเขียวเป็นจุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจผลิตใช้ทางการค้าในหลายประเทศ ได้แก่ แอฟริกาใต้ ภายใต้ชื่อการค้า Green Muscle (Thomas *et al*., 2000) ออสเตรเลีย และอเมริกา ภายใต้ชื่อการค้า BioGreen และ BioBlast (Milner, 2000) เป็นต้น

จากผลงานค้นคว้าวิจัยตั้งแต่ปี 2525 -2539 ของมลิวัลย์ ปันยารชุน กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา ได้มีการเก็บรวบรวมและแยกเชื้อราเขียวจากสถานที่ต่างๆ และนำมาเลี้ยงขยายในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งการศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวที่แยกได้ ทำให้ทราบว่าเชื้อราดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิดได้แก่ ด้วงแรดมะพร้าว (*Oryctes rhinoceros*), มอดเจาะผลกาแฟ (*Hypothenemus hampei*) และ มวนโกโก้ (*Helopeltis* spp) (มลิวัลย์ และ สุรพล, 2537; มลิวัลย์, 2537 ก.; มลิวัลย์2537 ข.)

การศึกษาเชื้อราเขียวตั้งแต่ปี 2547 ถึงปัจจุบัน ได้เริ่มเก็บรวบรวมเชื้อราเขียวจากแหล่งต่างๆ รวมทั้งการขอความอนุเคราะห์เชื้อราเขียวจากหน่วยงานอื่นๆ ได้แก่ ศูนย์พันธุวิศวกรรม กรมส่งเสริมการเกษตรฯ และศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ เพื่อนำมาใช้เป็นเชื้อเปรียบเทียบ ปัจจุบันมีเชื้อราเขียวที่เก็บจากพื้นที่ต่างๆ และแยกเป็นไอโซเลทได้ในห้องปฏิบัติการจำนวน 7 ไอโซเลท ซึ่งไอโซเลทเหล่านี้ยังไม่ได้มีการทดสอบประสิทธิภาพกับแมลงศัตรูพืช

การดำเนินงานในปี 2552 จึงมุ่งเน้นการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวที่เก็บรวบรวมได้ในห้องปฏิบัติการเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่างๆ โดยจะเน้นการควบคุมแมลงศัตรู

มะพร้าว ได้แก่ หนอนด้วงแรดมะพร้าว, หนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตขยายต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราเขียวที่ได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยงานต่างๆ ศูนย์พันธุวิศวกรรม, กรมส่งเสริมการเกษตร และศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ
2. เชื้อราเขียว ที่แยกได้ในห้องปฏิบัติการจำนวน 7 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)
3. แมลงศัตรูพืชที่ต้องการทดสอบ ได้แก่ หนอนด้วงแรดมะพร้าว, หนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว
4. ข้าวโพดบดหยาบ
5. กล่องเลี้ยงแมลง
6. มะพร้าวสับ และใบมะพร้าว
7. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)

วิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพราเขียวกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> คัดเลือกสายพันธุ์ราเขียวเพื่อใช้เป็นตัวแทนเปรียบเทียบ

แผนการทดลอง: นำเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่มีการเผยแพร่ใช้อย่างแพร่หลายในหน่วยงานต่างๆ มาทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพการทำให้เกิดโรคกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว เพื่อใช้เป็นตัวแทนเปรียบเทียบกับเชื้อราเขียวมัสคาดีนจากธรรมชาติที่แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ในห้องปฏิบัติการ

วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 4 กรรมวิธี โดยใช้เชื้อราอายุ 14 วัน และอัตราความเข้มข้นของเชื้อราเขียวมัสคาดีนเท่าๆ กันที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. กรรมวิธีต่างๆได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากศูนย์พันธุวิศวกรรม (รหัส BCC 2841 = รหัส M0)

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากกรมส่งเสริมการเกษตร (รหัส M2)

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (รหัส M3)

กรรมวิธีที่ 4 ใช้น้ำเปล่าเป็น control

เลี้ยงเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ศูนย์พันธุวิศวกรรม กรมส่งเสริมการเกษตร และศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ บนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 50 กรัม เติมน้ำ 50 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 °ซ.) เป็นเวลา 14 วัน นำถุงเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่เลี้ยงได้มาเติมน้ำผสม tween ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด แล้วปรับกำลังโคนิเดียให้เท่ากันทุกไอโซเลทที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล.

เตรียมขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับโดยการแช่น้ำทิ้งไว้ข้ามคืน บีบน้ำออกแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งใส่กล่องเลี้ยงแมลงขนาดประมาณ 7 X 10 ซ.ม.ในอัตรากล่องละ 70 กรัม จากนั้นนำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาคลุกกับขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับในอัตรา 30 ม.ล./กล่อง ใส่หนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว อัตรา 1 ตัว/กล่อง/ซ้ำ (3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ตัว) ปิดฝาให้สนิทแล้ววางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้น เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากธรรมชาติ แผนการทดลอง: นำเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากธรรมชาติในห้องปฏิบัติการ มาทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพการทำให้เกิดโรคกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว โดยใช้ราเขียวที่ได้จาก ขั้นตอนที่ 1 เป็นตัวเปรียบเทียบ

วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 9 กรรมวิธี โดยใช้เชื้อราอายุ 14 วัน และอัตราความเข้มข้นของเชื้อราเขียวมัสคาดีนเท่าๆ กันที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. กรรมวิธีต่างๆ ใช้เชื้อราเขียวที่แยกได้จากธรรมชาติ ดังนี้ เชื้อราเขียวรหัส M1, M4, M5, M6, M7, M8, และ M9 ส่วนตัวเปรียบเทียบ (control) ใช้เชื้อราเขียวที่คัดเลือกได้จากขั้นตอนที่ 1 และน้ำเปล่า เพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบ

เตรียมการทดลองเช่นเดียวกับวิธีการในขั้นตอนที่ 1 โดยเลี้ยงเชื้อราเขียวมัสคาดีนแต่ละกรรมวิธีบนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ เตรียมสารแขวนลอยโคนิเดียที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. ใส่ในกล่องที่มีขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับโดยใส่ในอัตราสารแขวนลอยโคนิเดีย 30 ม.ล./ขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับ 70 กรัม จากนั้นใส่หนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว อัตรา 1 ตัว/กล่อง/ซ้ำ (3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ตัว) ปิดฝาให้สนิทแล้ววางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้น เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

การทดสอบประสิทธิภาพราเขียวกับหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว และหนอนหัวดำมะพร้าว

แผนการทดลอง: นำเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ มาทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพการทำให้เกิดโรคกับหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว และหนอนหัวดำมะพร้าว

วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยในแต่ละกรรมวิธีใช้เชื้อราเขียวเรียงตามตารางที่ 1 อายุเชื้อ 14 วัน และอัตราความเข้มข้นของเชื้อราเขียวมัสคาดีนเท่าๆ กันที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. ส่วนกรรมวิธีที่ 11 ใช้น้ำเปล่าเป็นตัวเปรียบเทียบ (control)

วิธีการทดลอง

เลี้ยงเชื้อราเขียวมัสคาดีนแต่ละกรรมวิธีบนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 50 กรัม เติมน้ำ 50 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 °ซ.) เป็นเวลา 14 วัน นำถุงเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่เลี้ยงได้มาเติมน้ำผสม tween ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ถุง เขย่า

ให้โคนิเดียหลุด แล้วปรับกำลังโคนิเดียให้เท่ากันทุกไอโซเลท (ประมาณ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล.) ตัดใบมะพร้าวแก่ขนาดความยาวประมาณ 4 นิ้ว จุ่มลงในสารแขวนลอยโคนิเดียที่เตรียมไว้ จากนั้นใส่กล่องพลาสติกขนาดประมาณ 7 X 10 ซ.ม. กล่องละ 5 ใบ

<u>แมลงดำหนามมะพร้าว</u> : เขี่ยหนอนแมลงดำหนามมะพร้าววัย 4 (อายุประมาณ 15 - 17 วัน) ขนาดลำตัวยาวประมาณ 0.8 ซ.ม. ลงบนใบมะพร้าว จำนวน 20 ตัว/กล่อง/ซ้ำ ปิดฝาให่สนิทวางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้น เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

<u>หนอนหัวดำมะพร้าว</u> : เขี่ยหนอนหัวดำมะพร้าวอายุประมาณ 30 - 40 วัน ขนาดลำตัวยาวประมาณ 1.0 – 1.5 ซ.ม. ลงบนใบมะพร้าว จำนวน 20 ตัว/กล่อง/ซ้ำ วางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้นเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

การบันทึกข้อมูล

: เก็บรวบรวมข้อมูล และจดบันทึกความผิดปกติทั้งหมดที่เกิดขึ้นระหว่างทำการทดลอง ได้แก่

- อาการและการเกิดโรคของแมลงที่ใช้ทดสอบ
- ระยะเวลาที่ทำให้เกิดโรค และจำนวนหนอนที่ติดเชื้อในแต่ละไอโซเลทที่ใช้ในการทดลอง

: วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT

เวลาสถานที่

: ตุลาคม 2550 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2553

: ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพราเขียวกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> คัดเลือกสายพันธุ์ราเขียวเพื่อใช้เป็นตัวแทนเปรียบเทียบ

จากตารางที่ 2 พบว่าไอโซเลท M2 ให้อัตราการตายที่แท้จริง 100% ในวันที่ 12 ของการทดลอง โดยใช้ระยะเวลาสั้นกว่าไอโซเลท M0 และ M3 ซึ่งใช้เวลาเกินกว่า 20 วัน จากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าเชื้อราเขียวไอโซเลท M2 ซึ่งแยกได้จากหนอนด้วงแรดมะพร้าวมีประสิทธิภาพดีเมื่อใช้ทดสอบกลับไปยังหนอนด้วงแรดมะพร้าว ส่วนไอโซเลท M0 เป็นเชื้อของศูนย์พันธุวิศวกรรมแยกจากกลุ่ม Coleoptera บนอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ และไอโซเลท M3เป็นเชื้อของศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติแยกจากหนอนด้วงหนวดยาวอ้อย ซึ่งในการทดลองนี้เลือกไอโซเลท M2 เพื่อใช้เป็นตัวแทนในการเปรียบเทียบ (control) ในงานทดลองหัวข้อถัดไป เนื่องจากเป็นไอโซเลทที่

ใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดในการในการทำให้หนอนเกิดโรค และเป็นไอโซเลทที่กรมส่งเสริมฯ ใช้แนะนำเกษตรกรเพื่อป้องกันกำจัดหนอนด้วงแรดมะพร้าวอยู่แล้ว

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากธรรมชาติ

จากตารางที่ 3 พบว่า เชื้อไอโซเลท M5, M6 และ M7 ให้อัตราการตายที่แท้จริง 100% ในวันที่ 12 ของการทดลอง ซึ่งไม่แตกต่างในทางสถิติกับ M2 (control) ที่ให้ผล 98.25% โดยในจำนวนนี้ไอโซเลท M5 มีความน่าสนใจ เนื่องจากมีอัตราการตายที่แท้จริงเกิน 50% ตั้งแต่วันที่ 8 ของการทดลอง ซึ่งสูงกว่าไอโซเลทอื่นๆที่เหลือในช่วงเวลาเดียวกัน และเมื่อเปรียบเทียบกับ M2 (control) พบว่าไอโซเลท M5 มีอัตราการตายที่แท้จริงสูงกว่า M2 ทั้งวันที่ 8 และ 10 และให้อัตราการตายที่แท้จริง 100% ในวันที่ 12 ในขณะที่ M2 ให้อัตราการตายที่แท้จริงในวันที่ 14 ของการทดลอง ส่วนไอโซเลท M1 M4 M8 และ M9 ทำให้หนอนเกิดอัตราการตายที่แท้จริงน้อยกว่า 50% เมื่อพิจารณาจากแหล่งที่มาของเชื้อพบว่า M5 และ M7 เป็นเชื้อที่แยกจากหนอนด้วงแรดมะพร้าวโดยตรง M6 แยกได้จากหนอนด้วงหนวดยาวอ้อย ส่วนเชื้อที่เหลือคือ M1 และ M4 แยกจากแมลงดำหนามมะพร้าว M8 และ M9 แยกจากแมลงนูนหลวง ซึ่งให้อัตราการตายที่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับ M5, M6 และ M7 ตั้งแต่วันที่ 10 ของการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพราเขียวกับหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว

จากตารางที่ 4 พบว่าไอโซเลท ที่ให้อัตราการตาย 100% ของการทดลอง ได้แก่ M1, M3, M4, M8, M9 ส่วนไอโซเลท M0, M2, M5 และ M6 ก็ให้อัตราการตายได้ดีไม่แตกต่างกันในทางสถิติ จากไอโซเลทที่กล่าวมาข้างต้นในจำนวนนี้ไอโซเลทที่น่าสนใจในการควบคุมหนอนแมลงดำหนามได้แก่ M4, M8 และ M9 โดยให้อัตราการเกิดโรคสูงเกิน 70% ตั้งแต่วันที่ 4 ของการทดลอง ซึ่งในจำนวนนี้ M4 มีความน่าสนใจมากกว่า เนื่องจากให้อัตราการเกิดโรคสูง 98.25% ในขณะที่ M8 และ M9 ให้อัตราการเกิดโรคที่ 87.72% และ 77.19% และเมื่อพิจารณาแหล่งที่มาพบว่า M4 แยกมาจากแมลงดำหนาม ส่วน M8 และ M9 แยกมาจากแมลงนูนหลวง

การทดสอบประสิทธิภาพราเขียวกับหนอนหัวดำมะพร้าว

จากตารางที่ 5 พบว่าไอโซเลท M1, M8 และ M9 ให้อัตราการตายของหนอน 100% ในวันที่ 4 ของการทดลอง ส่วนไอโซเลท M0, M2, M3 และ M7 ก็ให้ผลดีไม่แตกต่างในทางสถิติจากไอโซเลทที่กล่าวมาข้างต้น และในจำนวนนี้ไอโซเลทที่น่าสนใจในการนำไปใช้ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวคือ M8 เนื่องจากให้อัตราการตายของหนอนสูงสุด 76.05% ในวันที่ 2 ของการทดลอง

จากผลการทดลองทั้งหมดพบว่าระยะเวลาในการเกิดโรคของแมลงแต่ละตัวไม่เท่ากัน โดยพบว่าการเกิดโรคในหนอนด้วงแรดมะพร้าวใช้ระยะเวลาในการเกิดโรคส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 8 – 14 วัน ในหนอนแมลงดำหนามใช้ระยะเวลาในการเกิดโรคอยู่ในช่วง 4 – 8 วัน และหนอนหัวดำมะพร้าวใช้เวลาในการ

เกิดโรคสูงสุดไม่เกิน 4 วัน ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นว่าขนาด และผนังลำตัวของแมลงน่าจะมีผลต่อการเกิดโรค โดยแมลงที่มีขนาดใหญ่และมีผนังลำตัวหนาจะเกิดโรคช้ากว่าแมลงที่มีขนาดเล็กและมีผนังลำตัวบางกว่า ซึ่งในการทดลองนี้หนอนด้วงแรดมะพร้าวมีขนาดลำตัวใหญ่กว่าหนอนแมลงดำหนามและหนอนหัวดำมะพร้าว ทำให้พบการเกิดโรคช้ากว่า ส่วนหนอนแมลงดำหนามและหนอนหัวดำมะพร้าวมีขนาดลำตัวใกล้เคียงกัน แต่หนอนหัวดำมะพร้าวมีผนังลำตัวที่บางกว่าจึงติดโรคได้เร็วกว่า นอกจากนี้ไอโซเลทของเชื้อน่าจะมีความเฉพาะเจาะจงต่อการเกิดโรคแมลง โดยสังเกตจากเชื้อที่ไอโซเลทจากแมลงชนิดเดียวกันจะเกิดการติดเชื้อกลับไปในแมลงชนิดนั้นได้ดีกว่า เมื่อเทียบกับการทดสอบในแมลงชนิดอื่น เช่น ไอโซเลท M5 ที่แยกได้จากหนอนด้วงแรดมะพร้าวจะเกิดการติดโรคได้ดีเมื่อทดสอบกลับไปยังหนอนด้วงแรดมะพร้าว และในทำนองเดียวกัน ไอโซเลท M4 ที่แยกได้จากหนอนแมลงดำหนามก็เกิดการติดโรคได้ดีเมื่อทดสอบกลับไปยังหนอนแมลงดำหนาม เป็นต้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการหาเชื้อราเปรียบเทียบพบว่าเชื้อราเขียวจากกรมส่งเสริมการเกษตร (M2) มีความเหมาะสมในการคัดเลือกเพื่อใช้เป็นเชื้อเปรียบเทียบมากกว่าเชื้อราเขียวจากศูนย์พันธุวิศวกรรม (M0) และศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (M3) โดยทำให้หนอนด้วงแรดมะพร้าวมีอัตราการตายที่แท้จริง 100% ในวันที่ 12 ของการทดลอง ซึ่งใช้ระยะเวลาสั้นกว่าไอโซเลท M0 และ M3 ตามลำดับ และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพเปรียบเทียบกับเชื้อราเขียวที่แยกได้จากธรรมชาติ ทั้ง 7 สายพันธุ์ พบว่า M5 มีความน่าสนใจในการใช้ควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าวมากที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบกับ control (M2) ยังพบว่ามีอัตราการเกิดโรคได้เร็วกว่า การทดสอบกับหนอนแมลงดำหนาม พบว่าไอโซเลท M4 มีความน่าสนใจเนื่องจากให้อัตราการเกิดโรคสูงสุด 98.25% ในระยะเวลาที่สั้นที่สุดคือวันที่ 4 ของการทดลอง ส่วนไอโซเลทที่มีความเหมาะสมกับหนอนหัวดำมะพร้าวคือ M8 เนื่องจากให้อัตราการตายของหนอนสูงสุด 76.05% ในวันที่ 2 ของการทดลอง การเกิดโรคของแมลงขึ้นอยู่กับขนาดและผนังลำตัวของเหยื่อ โดยพบว่าแมลงที่ขนาดใหญ่ หรือมีผนังลำตัวหนาจะเกิดการติดโรคได้ช้ากว่าแมลงที่ขนาดเล็ก หรือมีผนังลำตัวที่บางกว่า นอกจากนี้การเกิดโรคยังขึ้นกับประสิทธิภาพและความเฉพาะเจาะจงของเชื้อ ซึ่งมีความแตกต่างกันไปในแต่ละไอโซเลท

เอกสารอ้างอิง

ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2528. สารฆ่าแมลง หลักการและวิธีการใช้. เอกสารประกอบการเรียนการสอน ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. จำนวน 256 หน้า.

มลิวัลย์ ปันยารชุน. 2537 ก. ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียวกำจัดมอดเจาะผลกาแฟ ในห้องปฏิบัติการ, น.1-6. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2537 กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

มลิวัลย์ ปันยารชุน. 2537 ข. รายงานผลวิจัยก้าวหน้าศึกษาเปรียบเทียบอัตราการใช้เชื้อราเขียวต่อมวนโกโก้ ในห้องปฏิบัติการ, น.16-19. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2537 กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

มลิวัลย์ ปันยารชุน และ สุรพล ตรุยานนท์. 2537. รายงานผลวิจัยก้าวหน้าการใช้เชื้อราเขียวควบคุมด้วงแรดมะพร้าวในท้องที่ประสบวาตะภัยจากพายุเกย์, น.6-15. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2537 กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

Milner, R.J. 2000. Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. *Biocontrol* News and Information. 21(2): 47N – 50N.

Thomas, M.B., J. Klass and S. Blanford. 2000. The year of the locust. Pesticide Outlook. 11:192-195.

<u>ตารางที่</u> 1 แสดงเชื้อราเขียวไอโซเลทต่างๆ ที่แยกจากแมลงอาศัยและแหล่งที่มาที่แตกต่างกัน

ไอโซเลทเชื้อราเขียว	แมลงอาศัย	แหล่งที่มา
M0	แมลงในกลุ่ม Coleoptera อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่	ศูนย์พันธุวิศวกรรม (รหัส BCC 2841)
M1	*Brontispa longissima* Gestro	จ. ประจวบคีรีขันธ์
M2	*Orytes rhinoceros* Linnaeus	กรมส่งเสริมการเกษตร
M3	*Dorysthenes buqueti* Guerin	ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ
M4	*Brontispa longissima* Gestro	จ. สมุทรปราการ
M5	*Orytes rhinoceros* Linnaeus	จ. ปทุมธานี
M6	*Dorysthenes buqueti* Guerin	จ. นครสวรรค์
M7	*Orytes rhinoceros* Linnaeus	จ. ราชบุรี
M8	*Lepidiota stigma* Fabricius	จ. ประจวบคีรีขันธ์
M9	*Lepidiota stigma* Fabricius	จ. ประจวบคีรีขันธ์

<u>ตารางที่</u> 2 ช่วงเวลาการเป็นโรคและอัตราการตายของหนอนด้วงแรดมะพร้าว จากการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม 3 สายพันธุ์ เพื่อคัดเลือกเป็นตัวแทนเปรียบเทียบในการทดลอง

ไอโซเลท	จำนวน (ตัว)	อัตราการตายที่แท้จริง(%)[1/]							
		วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12	วันที่ 14	วันที่ 16	วันที่ 18	วันที่ 20	วันที่ 22
M0	60	-1.98[2/]	-8.47	48.29	81.08	93.47	97.78	97.78	100
M2	60	32.71	87.85	100	-	-	-	-	-
M3	60	41.35	49.99	64.61	77.52	81.45	83.41	89.81	91.77
น้ำเปล่า (control)	60	-	-	-	-	-	-	-	-

[1/] อัตราการตายที่แท้จริง(%) คำนวณโดยใช้ สูตร Abbott : $\frac{x-y}{x} \times 100$ (ขวัญชัย,2528)

X = เปอร์เซ็นต์อยู่รอดใน untreated control

Y = เปอร์เซ็นต์อยู่รอดในแมลงทดลอง

[2/] ค่าติดลบเกิดจากตัวหนอนใน control มีการตายจากเชื้อแบคทีเรียมากกว่าหนอนใน treatment

<u>ตารางที่</u> 3 ช่วงเวลาการเป็นโรคและอัตราการตายของหนอนด้วงแรดมะพร้าวจากเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมสายพันธุ์ที่แยกได้จากธรรมชาติ

ไอโซเลท	**จำนวน (ตัว)**	**อัตราการตายที่แท้จริง(%)[1/]**					
		วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12	วันที่ 14
M1	60	0 a	1.67 b[2/]	8.60 c	25.61 c	35.70 b	49.47 b
M4	60	0 a	6.67 ab	12.02 bc	15.35 cd	17.11 cd	17.11 cd
M5	60	0 a	5.00 b	65.96 a	98.33 a	100 a	100 a
M6	60	1.67 a	8.33 ab	28.77 b	91.32 a	100 a	100 a
M7	60	1.67 a	16.67 a	28.68 b	89.65 a	100 a	100 a
M8	60	0 a	1.67 b	2.50 c	27.50 c	6.67 d	8.33 d
M9	60	1.67 a	8.33 ab	16.75 bc	25.18 c	31.84 bc	31.84 bc
M2[3/] (control)	60	0 a	5.00 b	20.00 bc	60.88 b	98.25 a	100 a
น้ำเปล่า (control)	60	0 a	0 b	0 c	0 d	0 d	0 d
CV		299.9%	101.4%	48.8%	26.3%	17.8%	21.7%

[1/] อัตราการตายที่แท้จริง(%) คำนวณโดยใช้ สูตร Abbott : $\frac{x-y}{x} \times 100$ (ขวัญชัย,2528)

X = เปอร์เซ็นต์อยู่รอดใน untreated control

Y = เปอร์เซ็นต์อยู่รอดในแมลงทดลอง

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ทดสอบโดยใช้ DMRT)

[3/] M2 = เชื้อที่เลือกจาก ตารางที่ 1 เพื่อใช้เป็นเชื้อราเปรียบเทียบ

<u>ตารางที่</u> 4 ช่วงเวลาการเป็นโรคและอัตราการตายของหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว จากเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมทั้ง 10 สายพันธุ์

ไอโซเลท	จำนวน (ตัว)	อัตราการตายที่แท้จริง(%)[1/]					
		วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12
M0	60	0 b [2/]	15.79 de	36.84 bc	78.95 ab	92.78 b	100 a
M1	60	0 b	54.38 bc	98.25 a	100 a	100 a	100 a
M2	60	3.33 a	47.37 cd	68.42 ab	94.74 a	100 a	100 a
M3	60	0 b	61.40 bc	98.25 a	100 a	100 a	100 a
M4	60	0 b	98.25 a	98.25 a	100 a	100 a	100 a
M5	60	1.67 ab	5.26 e	21.05 c	84.21 ab	96.29 ab	95.82 b
M6	60	0 b	5.27 e	17.55 c	94.74 a	96.29 ab	95.82 b
M7	60	0 b	7.90 de	2.63 c	61.40 b	86.11 c	91.65 c
M8	60	0 b	87.72 ab	100 a	100 a	100 a	100 a
M9	60	0 b	77.19 abc	68.42 ab	100 a	100 a	100 a
น้ำเปล่า (control)	60	0 b	0 e	0 c	0 c	0 d	0 d
CV		270.6%	44.8%	37.1%	17.4%	4.0%	2.1%

[1/] อัตราการตายที่แท้จริง(%) คำนวณโดยใช้ สูตร Abbott : $\frac{x-y}{x} \times 100$ (ขวัญชัย,2528)

X = เปอร์เซ็นต์อยู่รอดใน untreated control

Y = เปอร์เซ็นต์อยู่รอดในแมลงทดลอง

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ทดสอบโดยใช้ DMRT

<u>ตารางที่</u> 5 ช่วงเวลาการเป็นโรคและอัตราการตายของหนอนหัวดำมะพร้าว จากเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ทั้ง 10 สายพันธุ์

ไอโซเลท	จำนวน (ตัว)	อัตราการตายที่แท้จริง(%)[1/]				
		วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10
M0	60	23.33 bc [2/]	70.18 abc	87.72 c	100 a	100 a
M1	60	8.33 c	100 a	100 a	100 a	100 a
M2	60	16.93 bc	66.67 abc	92.98 bc	100 a	100 a
M3	60	20.18 bc	85.96 ab	100 a	100 a	100 a
M4	60	7.50 c	47.37 c	91.23 c	96.49 b	100 a
M5	60	8.33 c	56.14 bc	98.25 ab	100 a	100 a
M6	60	5.18 c	57.89 bc	92.98 bc	92.98 c	100 a
M7	60	40.35 b	85.96 ab	98.25 ab	100 a	100 a
M8	60	76.05 a	100 a	100 a	100 a	100 a
M9	60	42.72 b	100 a	100 a	100 a	100 a
น้ำเปล่า (control)	60	0 c	0 d	0 d	0 d	0 b
CV		66.3%	26.0%	4.1%	2.3%	0%

[1/] อัตราการตายที่แท้จริง(%) คำนวณโดยใช้ สูตร Abbott : $\frac{x-y}{x} \times 100$ (ขวัญชัย,2528)

X = เปอร์เซ็นต์อยู่รอดใน untreated control

Y = เปอร์เซ็นต์อยู่รอดในแมลงทดลอง

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ทดสอบโดยใช้ DMRT)