

ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ที่ผลิตด้วยวิธีต่างๆ

Efficacy Study on Sub Culture of *Bacillus thuringiensis* for Insect Pests

Control by Various Methods

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี อิศเรศ เทียนทัต ภัทรพร สรรพนุเคราะห์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ที่ผลิตด้วยวิธีต่างๆ โดยทดสอบการเพาะขยายเชื้อแบคทีเรีย บีที กำจัดแมลงด้วยวิธีธรรมดา ด้วยอาหารต่างๆที่หาได้ทั่วไป แล้วให้อากาศโดยเป่าอากาศที่ผ่านสารละลายฆ่าเชื้อลงในขวดหมัก เบื้องต้นพบว่า น้ํามะพร้าว และนมผงธรรมดา (skim milk) สามารถเพาะขยายเชื้อแบคทีเรีย บีที ได้ในระดับหนึ่งสามารถผลิตเชื้อมีความเข้มข้นของเซลล์เฉลี่ยสูงสุด 1.66×10^7 CFU/ml และ 1.80×10^8 CFU/ml ตามลำดับ ในเวลา 48 ชม. ซึ่งอยู่ในระดับความเข้มข้นมาตรฐานทั่วไปในการกำจัดหนอน คือ $3-5.0 \times 10^8$ CFU/ml แต่ยังมีปริมาณสปอร์ที่มีผลต่อการฆ่าหนอนค่อนข้างต่ำ ดังนั้นการทดลองในปี 2555 จึงจำเป็นต้องปรับสารอาหารจากวัตถุดิบที่ใช้อยู่ แล้วผลิตเชื้อตามสูตรต่างๆที่เกษตรกรปฏิบัติอยู่ มาทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดสอบต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-02-01-54



คำนำ

การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี เป็นอีกวิธีที่ยอมรับกันทั่วโลก บทบาทของการควบคุมโดยชีววิธีเป็นการนำสิ่งที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติมาประยุกต์ให้เกิดประโยชน์สูงสุด ดังนั้นการนำชีววินทรีย์ เช่น เชื้อแบคทีเรีย บีที *Bacillus thuringiensis* มาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีความเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ เนื่องจากมีความเฉพาะเจาะจงต่อแมลงศัตรูพืชเป้าหมาย มีความปลอดภัยสูงต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม และที่สำคัญ Bt ไม่มีพิษตกค้างอยู่บนพืชเหมือนสารเคมีกำจัดแมลง (Dulmage, 1981; อัจฉรา, 2534) จากข้อตกลงขององค์การการค้าโลกประเทศไทยต้องปฏิบัติตามมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช ดังนั้นการผลิตพืชให้ได้คุณภาพและมีความปลอดภัยตามมาตรฐานที่ถูกกำหนดขึ้น ส่งผลให้ไม่สามารถใช้สารเคมีกำจัดแมลงได้ตามที่เคยปฏิบัติในบางพืช โดยเฉพาะพืชส่งออกทั้งหลาย ดังนั้นการพัฒนาการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตได้ในประเทศมาใช้กำจัด โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย บีที จึงเป็นอีกวิธีหนึ่งของการแก้ปัญหา เพื่อใช้ทดแทนสารเคมีกำจัดแมลงในพืชชนิดต่างๆที่ประสบปัญหาการระบาดของแมลงศัตรูพืช (อัจฉราและคณะ, 2537) แต่ปัจจุบันพบว่าการแนะนำอย่างกว้างขวางให้เกษตรกรผลิตเชื้อไว้ใช้เองทั้งภาคเอกชนและภาครัฐ รวมถึงจากเกษตรกรด้วยกันเอง แม้ว่าจะเป็นสิ่งที่เป็นประโยชน์และสอดคล้องกับวิถีเกษตรกรพอเพียง แต่ก็เป็นไปได้ในลักษณะลองผิดลองถูก ขาดข้อมูลวิชาการที่เพียงพอในการสนับสนุนวิธีปฏิบัติดังกล่าว ทำให้เกษตรกรสูญเสียทั้งเวลาและทรัพย์สินโดยไม่จำเป็น ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษาการเพาะขยายเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีต่างๆ รวมทั้งชนิดของสารอาหารที่ใช้เพาะขยาย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้อง, มีประสิทธิภาพ และมีต้นทุนในการผลิตที่ยุติธรรม เพื่อให้เกษตรกรสามารถนำไปปรับใช้ได้ด้วยตนเอง ซึ่งจะช่วยให้เกษตรกรสามารถผลิตแบคทีเรีย บีที โดยวิธีง่ายๆ จากวัสดุอุปกรณ์ที่มีในท้องถิ่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

วิธีการ การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเชื้อแบคทีเรีย Bt สูตรต่างๆ

1. ทำการผลิตเชื้อแบคทีเรีย Bt ด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้

1.1 ผลิตด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรของกรมวิชาการเกษตร และอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (Nutrient broth) โดยผลิตในถังหมักเชื้อ (Fermenter)

1.2 ผลิตด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรของกรมวิชาการเกษตร และอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (Nutrient broth) โดยผลิตในเครื่องเขย่า (Shaker)

1.3 ผลิตด้วยวิธีการปั่นบ้าน ซึ่งใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่หาได้ง่าย เช่น นมผง น้ำมะพร้าว กากน้ำตาล (molass) น้ำของเสียจากปลา น้ำเต้าหู้ หรือไข่ไก่ เป็นต้น และเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีการหมักที่ไม่มีการฆ่าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนทำการเลี้ยง โดยผลิตในภาชนะพลาสติกหรือขวดพลาสติกทั่วไป

2. ตรวจสอบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ Bt และปริมาณของ crystal toxin ที่เชื้อ Bt ผลิตขึ้นมา

3. ตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเข้ามาในระหว่างขบวนการผลิต

4. ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ Bt ที่ผลิตได้กับหนอนผีเสื้อศัตรูพืชที่สำคัญ 3 ชนิด คือ หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก และหนอนเจาะสมอฝ้าย ทั้งในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Bioassay บนอาหารเทียม และแปลงทดลองพืชผักบางชนิด ขนาดแปลง 200 ตารางเมตร

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกอัตราการเจริญของเชื้อ Bt ในแต่ละวิธีการผลิต
- ตรวจสอบและวิเคราะห์ปริมาณของ crystal toxin ที่เชื้อ Bt สร้างขึ้น
- บันทึกปริมาณและชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในระหว่างขบวนการผลิต
- บันทึกประสิทธิภาพของเชื้อ Bt ที่ทำการทดสอบกับหนอนทดลองชนิดต่างๆ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการอาคารวิจัยและพัฒนาศัตรูธรรมชาติ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ที่ผลิตด้วยวิธีต่างๆ โดยทดสอบการเพาะขยายเชื้อแบคทีเรีย บีที กำจัดแมลงด้วยวิธีธรรมชาติ ด้วยอาหารต่างๆที่หาได้ทั่วไป แล้วให้อากาศโดยเป่าอากาศที่ผ่านสารละลายฆ่าเชื้อลงในขวดหมัก เบื้องต้นพบว่า น้ำมะพร้าว และนมผงธรรมดา (skim milk) สามารถเพาะขยายเชื้อแบคทีเรีย บีที ได้เชื้อมีความเข้มข้นของเซลล์เฉลี่ยสูงสุด 1.6×10^7 CFU/ml และ 1.80×10^8 CFU/ml ตามลำดับ ในเวลา 48 ชม. ซึ่งอยู่ในระดับความเข้มข้นมาตรฐานทั่วไปในการกำจัดหนอน คือ $3-5.0 \times 10^8$ CFU/ml แต่ยังมีปริมาณสปอร์ที่มีผลต่อการฆ่าหนอนค่อนข้างต่ำ ดังนั้นการทดลองในปี 2555 จึงจำเป็นต้องปรับสูตรอาหารจากวัตถุดิบที่ใช้อยู่ รวมถึงวิธีการเพาะขยายเชื้อ

แบบ solids state fermentation (SSF) เปรียบเทียบกับเชื้อสูตรต่างๆที่เกษตรกรปฏิบัติอยู่ มาทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดสอบต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Dulmage, H. T. 1981. Insecticidal activity of isolates of *Bacillus thuringiensis* and their Potential for pest control. pp. 193-222. In : H.D. Burges (ed.) Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. Academic Press, London.

อัจฉรา ตันติโชค. 2534. แบคทีเรียควบคุมแมลงศัตรูพืช. หน้า 148-166. ใน : เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

อัจฉรา ตันติโชค. 2537. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย. หน้า 9-37. ใน : การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกัญและสัตววิทยา และสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 จังหวัดเชียงใหม่. กรมวิชาการเกษตร.