

## บทที่ 2

### ตรวจเอกสาร

แมลงศัตรูพืช เป็นปัญหาที่สำคัญต่อการผลิตผักของประเทศ โดยเฉพาะหนอนโยผัก, หนอนกระทู้ผัก ที่เข้าทำลายผักตั้งแต่เริ่มพักจากไซ โดยตัวหนอนจะกัดกินใบ และระยะต่อมาจะเริ่มทำลายรุนแรงขึ้น สามารถกัดกินได้ทุกส่วนของต้น เช่น ใบ ก้าน ดอก สร้างความเสียหายต่อผลผลิตพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น กระน้ำ กวางตุ้ง กระหล่ำปลี ผักกาดขาว รวมถึงไม้ดอกไม้ประดับ และพืชไร่ เช่น ข้าวโพด ยาสูบ ถั่ว เนื่องจากหนอนศัตรูผักมีพืชอาหารหลากหลายชนิดทำให้ขยายพันธุ์ได้เกือบตลอดทั้งปี และพบการระบาดทุกปี ทำให้เกษตรกรประสบปัญหาการติดต่อสารปราบแมลง จึงทำให้การใช้สารปราบแมลงศัตรูพืชชนิดเดิมไม่ได้ผล ทำให้เกษตรกรต้องใช้สารฆ่าแมลงในปริมาณมากขึ้น ซึ่งปัญหาต่าง ๆ ก็เกิดตามขึ้นมา เพราะสารเคมีไม่เพียงแต่ทำลายหรือกำจัดแมลงศัตรูพืชเท่านั้น ยังทำลายแมลงที่มีประโยชน์และก่อให้เกิดปัญหาพิษตกค้างบน ดินพืช ในดิน ในน้ำ และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังเป็นอันตรายถึงชีวิตต่อคนและสัตว์เลี้ยง และทำให้ต้นทุนการผลิตสูง เนื่องจากสารฆ่าแมลงมีราคาแพง ดังนั้นจึงได้มีการคิดถึงการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีอื่นที่ให้ผลดีมีประสิทธิภาพ ปลอดภัย และประหยัด ใช้ได้อย่างถาวรในระยะยาว (กรมวิชาการเกษตร, 2539)

แนวทางที่จะช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าวข้างต้นได้อย่างยั่งยืน และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และตัวเกษตรกร รวมถึงรักษาสิ่งแวดล้อม มีผู้ทำการศึกษามากกว่า 100 ปี คือการใช้วิธีการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี (Biological control) อาทิเช่น การใช้แมลงตัวห้ำตัวเบียน การใช้สารสกัดธรรมชาติควบคุมแมลงศัตรูพืช และการใช้เชื้อจุลินทรีย์กำจัดแมลงศัตรูพืช

ในปี 1879 Metchnikoff ชาวรัสเซียพบโรคราเขียว (green muscardine fungus) เกิดจากเชื้อ *Metarhizium anisopliae* ทำให้เกิดโรคกับแมลงศัตรูข้าวสาลี (Wheat cockchafer) ในปีต่อมาเขาสามารถผลิตเชื้อรานี้ได้บนอาหารเทียมและนำไปควบคุมแมลงศัตรูข้าวสาลี ในปี 1886 ต่อมา เชื้อ *Metarhizium* sp. เป็นเชื้อราเขียวที่ได้รับความสนใจในการนำมาใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ซึ่งประสบความสำเร็จอย่างกว้างขวาง (มลิวัลย์, 2523; Zimmermann, 1992) และมีการรายงาน ว่าเชื้อราเขียว *M. anisopliae* สามารถมีชีวิตอยู่ในดินได้นานกว่า 3 ปี (Milner et al, 2003) สำหรับในประเทศไทย ได้มีการนำไปควบคุมด้วงแรดมะพร้าว (*Oryctes rhinoceros*) ตลอดจนมีการส่งเสริมให้มีการใช้และให้มีการผลิตขึ้นอย่างแพร่หลายมานานแล้ว (มลิวัลย์, 2523; มลิวัลย์ และสุรพล, 2526) หลังจากนั้นได้มีการศึกษาเชื้อรา *M. anisopliae* เพิ่มมากขึ้นทั้งในด้านการกำจัดแมลงในบ้านเรือน เช่น ปลวก (Krutmuang, 1996) ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ โดยการนำของ วิวัฒน์และคณะ (2548) ได้ทำการสำรวจและวิจัยเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติของหนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย *Dorystenes*

*buqueti* Guerin (Coleoptera: Cerambycidae) ซึ่งเชื้อดังกล่าวสามารถเข้าทำลายด้วงได้ทุกระยะตั้งแต่ระยะไข่จนถึงตัวเต็มวัย และสามารถลงทำลายหนอนได้ มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ งานวิจัยดังกล่าวได้ประสบผลสำเร็จเป็นอย่างดีและได้ถ่ายทอดเทคโนโลยีดังกล่าวสู่เกษตรกรผู้ปลูกอ้อยแล้ว จัดว่าการใช้เชื้อราเขียวควบคุมแมลงเป็นวิธีการทางชีววิธีที่มีประสิทธิภาพ

การนำเชื้อรามาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ในต่างประเทศนั้นมีการศึกษาเชื้อราชนิดนี้มาเป็นเวลานานมากกว่า 70 ปี โดยทำการศึกษาถึงศักยภาพในการป้องกันแมลงศัตรูพืช (Hashim *et al.*, 2003; Ibrahim *et al.*, 1999, 2001) เช่น แมลงที่เข้าทำลายต้นหญ้าในสนามกอล์ฟ พบว่าเมื่อมีการใช้เชื้อ *M. anisopliae* 2 ไอโซเลท ร่วมกันคือ ไอโซเลท CLO53 และ CLO54 จะทำให้แมลงตายได้มากถึง 90 % แต่ถ้าใช้เพียงไอโซเลทเดียวจะตายเพียง 10-62 % (Ansari *et al.*, 2004)

Scholte *et al.* (2004) ได้ทำการทดลองใช้เชื้อ *M. anisopliae* กับตัวอ่อนยุงวัยที่ 3 ผลปรากฏว่าหลังจากที่แมลงได้รับเชื้อ 48-72 ชั่วโมง ตัวอ่อนยุงวัยที่ 3 จะเริ่มตาย

Kao and Tsai (1989) ได้ทำการทดลองใช้เชื้อ *M. anisopliae* ร่วมกับ *B. bassiana* ซึ่งสามารถควบคุมหนอนกระทุ้มได้ดีกว่าการใช้สารฆ่าแมลงบางชนิด

Silva *et al.* (2003) รายงานว่า *M. anisopliae* ความเข้มข้น  $10^6$  conidia/ml ทำให้หนอนไผ่ระยะวัยที่ 2 มีอัตราการตายตั้งแต่ 57 % ถึง 96 %

Metchnikoff (1888) ได้ศึกษาการผลิตสปอร์ของเชื้อราเขียวและได้มีการประยุกต์ใช้เชื้อราในไร่ เพื่อควบคุมด้วงวงอ้อย ปรากฏว่ามีอัตราการตายของหนอน 55 ถึง 80%

Schabel (1976) ได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรียบางชนิดและเชื้อราที่พบบนผิวหนังของแมลง ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคได้ ในด้วงวงสนมีเชื้อราและแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนผิวหนังของด้วงที่ยับยั้งการสร้างเชื้อรา *M. anisopliae*

McCauley *et al.* (1968) ได้ทำการศึกษาเชื้อราที่สามารถทำให้เกิดโรคในแมลง โดยการผ่านเข้าทางรูอากาศและส่วนอื่นของร่างกายที่เปิดไว้ เชื้อ *M. anisopliae* บางครั้งสามารถทำให้เกิดโรคกับหนอนด้วงติดโดยผ่านเข้าไปทางรูอากาศและรูขุมขนของระบบร่างกาย ต่อมา Zacharuk (1973) รายงานว่าเชื้อ *M. anisopliae* สามารถประยุกต์ใช้กับหนอนด้วงติดในช่วงเวลาสั้นๆ ก่อนที่จะมีการลอกคราบ

Burodeos and Villacarlos (1989) ทดสอบเชื้อ *B. bassiana* 2 ไอโซเลท และเชื้อ *M. anisopliae* 5 ไอโซเลทกับด้วงมันเทศภายใต้ห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมอุณหภูมิ เชื้อ *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ใช้  $LC_{50}$  ที่  $1 \times 10^8$  spores/ml ทำให้มีอัตราการตาย 50 % หลังจากที่มีการทดลอง 3 และ 4 วัน ตามลำดับ

ในเคนยา Maniana (1992) ได้ศึกษาเชื้อ *B. bassiana* และ *M. anisopliae* กับ หนอนกอลายใหญ่และ หนอนกออเมริกันในห้องปฏิบัติการ เชื้อ *B. bassiana* สามารถทำให้หนอนกอลายใหญ่ มีอัตราการตาย 3 -100% และ หนอนกออเมริกัน มีอัตราการตาย 30 – 84 % เชื้อ *M. anisopliae* มีระดับความเป็นพิษสูงสำหรับแมลงศัตรูพืชทั้ง 2 ชนิด ซึ่งมีอัตราการตาย 65 -100% การเจริญของเชื้อราจะมีระยะเวลานานในหนอนกออเมริกัน (LT<sub>50</sub> เป็นเวลา 6.2-13.2 วัน) ซึ่งมากกว่าหนอนกอลายใหญ่ (LT<sub>50</sub> เป็นเวลา 1.9-5.4วัน) เชื้อราทั้ง 2 ชนิด มีศักยภาพในการควบคุมหนอนกอลายใหญ่และ หนอนกออเมริกัน

Hajek *et al.* (2006) รายงานว่า มีการใช้เชื้อ *M. anisopliae* และ *B. brongniartii* ในการควบคุม ตัวงหวอดยาว

Sabbour (2002) ทำการศึกษาเชื้อ *B. bassiana* และ *M. anisopliae* กับ หนอนผีเสื้อเจาะหัวมันฝรั่ง ซึ่ง LC<sub>50</sub> ของ *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ที่มีผลกับหนอน มีค่าเท่ากับ  $3.4 \times 10^6$  และ  $8.61 \times 10^7$  conidia/ml ตามลำดับ

Milner *et al.* (1997) รายงานว่าทดสอบเชื้อ *M. anisopliae* (ไอโซเลท FI610) กับ ปลวก 2 species คือ *Coptotermes acinaciformis* และ *Nasutitermes exitiosus* ที่ความชื้น ที่ลดลงถึง 86 % พบว่าเป็นความชื้นที่ต่ำสุดที่ปลวกจะมีชีวิตอยู่รอด แต่ถ้าความชื้นสูงกว่า 93% ทำให้ปลวกมีการตายเกิดขึ้น

Sosa *et al.* (1997) ศึกษา conidial ของเชื้อ *M. anisopliae* บนมวนเขียวพบว่าหลังจากที่มีการเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง มี conidial เพียง 5-20 % เท่านั้น

Bruck *et al.* (2005) รายงานว่าเชื้อ *M. anisopliae* 3 ไอโซเลท (F 52, ATCC62176 และ ARSEF5520) และ เชื้อ *B. bassiana* (GHA) ทดสอบกับแมลงวันหนอนชอนรากกะหล่ำ ้วย 2 พบว่าเชื้อ *M. anisopliae* (F52) ทำให้หนอน มีค่าเฉลี่ยอัตราการตาย 85 % และค่าเฉลี่ย LC<sub>50</sub> และ LC<sub>95</sub> ของ F52 ที่มีผลต่อหนอนวัย 2 เท่ากับ  $2.7 \times 10^6$  และ  $1.8 \text{ spores/g}$

Mullen and Goldsworthy (2005) มีการทดสอบเชื้อ *M. anisopliae* var. *acidum* 2 ไอโซเลท คือ IMI330189 และ ARSEF 728 กับ ตั๊กแตน พบว่า ไอโซเลท IMI330189 สามารถทำให้เกิดการเป็นโรคได้สูง ซึ่งอาจประยุกต์ใช้ในส่วนของ conidia หรือ การฉีด blastospores แต่ ไอโซเลท ARSEF 728 สามารถก่อให้เกิดโรค โดยการฉีด blastospores เท่านั้น ถ้ามีการฉีด blastospores ที่ได้จากไอโซเลท IMI330189 จะทำให้ เอนไซม์ phenoloxidase ที่อยู่ในระบบเลือดเพิ่มขึ้น ซึ่งพบในตัวอ่อนวัย 5 และ ตัวเต็มวัยของตั๊กแตน

Uma *et al.* (2006) ได้ทำการทดลองเชื้อ *B. bassiana* และ *Nomuraea rileyi* กับ หนอนกระทู้ผักวัย 2 พบว่าเชื้อ *B. bassiana* สามารถทำให้หนอนเป็นโรคได้ ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  องศาเซลเซียสและเชื้อ *N. rileyi* สามารถทำให้หนอนเป็นโรคได้ ที่อุณหภูมิ  $32 \pm 2$  องศาเซลเซียส (8 ชั่วโมง) สลับกับอุณหภูมิ  $21 \pm 2$  องศาเซลเซียส (16 ชั่วโมง)

สำหรับการนำเอาเชื้อ *M. anisopliae* มาใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ในประเทศไทยนั้น เมื่อปี พ.ศ. 2521 มลิวัลย์ และอัจฉรา ได้ทำการศึกษาเชื้อรา *M. anisopliae* เพื่อควบคุมตัวอ่อนของตัวแรมมะพร้าว

Pongpanich (1992) ได้ทดลอง เชื้อ *Beauveria* sp. และ *Metarhizium* sp. กับ หนอนกินใบสัก โดยวิธี dipping และ topical method ปรากฏว่าวิธี dipping มีประสิทธิภาพดีกว่า topical method ต่อมา Sakchoowong (1994) ได้ทำการศึกษาเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* กับ หนอนกินใบสัก พบว่า เชื้อ *B. Bassiana* ทำให้เกิดโรคและมีประสิทธิภาพที่ดีกว่า *M. anisopliae* ซึ่งเชื้อ *B. bassiana* ทำให้หนอนตาย 60.24 % และเชื้อ *M. anisopliae* ทำให้หนอนตาย 37.69 %

Kirtibutr (1994) รายงานว่า ได้มีการเลี้ยงเชื้อ *M. anisopliae* บนอาหาร Latch's medium ระยะเวลา 30 วัน และ 45 วัน จากนั้นมีการนำเชื้อเข้าสู่ปลวก โดยการกินและสัมผัส spores ซึ่งผลปรากฏว่าระยะเวลา 45 วัน สามารถควบคุมปลวกได้ดีกว่าระยะเวลา 30 วัน ด้วย  $LC_{50}$  ที่  $2.27 \times 10^7$  spore/cm<sup>2</sup> / mg ต่อมา Krutmuang (1996) ทำการทดลองเชื้อ *M. anisopliae* var. *anisopliae* และ *M. anisopliae* var. *majus* กับปลวก *Coptotermes* sp. และ *Microcerotermes* sp. พบว่า *M. anisopliae* var. *anisopliae* สามารถทำให้เกิดโรคได้มากกว่า *M. anisopliae* var. *majus* และเปอร์เซ็นต์การตายของปลวกขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ spore suspension และ generation ของเชื้อราและรวมทั้ง variety ของเชื้อรา

Youngchaitrakul (1999) รายงานว่า *M. anisopliae* var. *anisopliae* ที่ระดับความเข้มข้น  $2 \times 10^8$  สปอร์/ มล. ทำให้หนอนแมลงวันบ้านวัย 3 มีอัตราการตายเฉลี่ย 84.88 %

ศิริวัลย์ และคณะ (2544) ได้ทำการศึกษา *M. anisopliae* spp. จำนวน 5 ไอโซเลท พบว่าการเข้าทำลายตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ดัดแปลงตามวิธีของ Samules, 1986) โดยไอโซเลท 5MfKK มีค่าสูงสุด คือ 88.78 % ส่วนการผลิตมวลชีวภาพของเชื้อพบว่าอาหาร SDB (Sabouraud dextrose broth) ให้ผลผลิตของน้ำหนักแห้งของเส้นใยสูงสุด

ทิพย์วดี และคณะ (2546) ได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ พบว่าเพลี้ยแป้งอ่อนแอต่อเชื้อรา *M. anisopliae* และ *Fusarium solani*

การนำเชื้อราเขียวไปใช้ประโยชน์นั้น จำเป็นต้องทราบคุณสมบัติของเชื้อเพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลและเพื่อประสิทธิภาพในการควบคุม เนื่องจากเชื้อราเขียวมีความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity) ทั้งในแง่ชนิด (species) และสายพันธุ์ (variety) ฉะนั้นการนำไปใช้จึงจำเป็นต้องทราบชนิดและสายพันธุ์ที่แน่นอน เนื่องจากแต่ละสายพันธุ์จะเข้าทำลายแมลงได้อย่างเฉพาะเจาะจง ดังนั้นการศึกษาค้นหาสายพันธุ์ของเชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์ต่าง ๆ ที่พบในประเทศไทย ที่มีศักยภาพต่อการทำลายแมลงศัตรูพืช จึงมีความจำเป็นอย่างเร่งด่วนสอดคล้องกับนโยบายของรัฐบาลให้เป็นปีแห่งความปลอดภัยด้านอาหาร ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงเป็น

หนทางที่จะช่วยให้เกษตรกรไทย มีความเป็นอยู่ที่ดีขึ้น มีสุขภาพที่ดี ซึ่งวิธีดังกล่าวจะใช้ควบคู่กับวิธีการกำจัดแมลงโดยชีววิธีอื่น ๆ เพื่อเป็นการลดการใช้ปริมาณสารเคมีลงหรือทดแทนสารเคมีไปในที่สุด