

บทนำ

เชื้อ *Metarhizium* เป็นสกุล (genus) หนึ่งของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่รู้จักกันดี โดยทั่วไปรู้จักกันในชื่อของเชื้อราเขียว (green muscardine fungus) เชื้อราชนิดนี้มีความสำคัญมากชนิดหนึ่งเมื่อเทียบกับบรรดาเชื้อราและจุลินทรีย์ทั้งหลายที่มีการนำมาใช้เพื่อควบคุมแมลงศัตรู โดยพบว่าเชื้อ *M. anisopliae* สามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูได้มากมายหลายชนิด ประมาณ 7 อันดับ (order) มากกว่า 200 ชนิด (species) เช่น ค้างแรมมะพร้าว หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกินรังผึ้ง ค้างสนามหญ้าญี่ปุ่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตั๊กแตน แมลงสาบ และปลวก เป็นต้น (มลิวัลย์ และคณะ, 2517; Samuels, 1986; Samuels et al., 1989; Zimmermann, 1992; Villani and Krueger, 1994) ซึ่งสามารถเกิดการระบาดได้ในสภาพธรรมชาติ และมีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลก ทั้งนี้เพราะประสิทธิภาพ การเพาะเลี้ยงที่ง่าย และพบได้ทั่วไป ตลอดจนสะดวกต่อการนำไปใช้ ดังนั้นจึงมีการผลิตเป็นรูปการค้าในต่างประเทศ เช่น Biogreen®, Metaquino®, Bio-Path®, Bio-Blast® และ Cobican® เป็นต้น (Butt et al., 2001) สำหรับในประเทศไทยนั้นได้รับความนิยมอย่างมากในการนำมาใช้เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ค้างแรมมะพร้าว (มลิวัลย์ และสุรพล, 2526) ซึ่งประสบความสำเร็จสูง และได้รับการส่งเสริมสนับสนุนให้มีการศึกษาวิจัย และนำไปส่งเสริมให้เกษตรกรใช้อย่างแพร่หลายมานานจนถึงปัจจุบัน (กลุ่มวิจัยกัญและสัตววิทยา, 2547)

อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาใดๆ ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา ไอโซเลต (isolate) และการบ่งชี้เชื้อราชนิดนี้ยังเป็นรูปธรรมในประเทศมาก่อน การศึกษาเท่าที่ผ่านมาในแง่อนุกรมวิธานเป็นไปในลักษณะพึ่งพาต่างชาติ ซึ่งเน้นทางด้านลักษณะทางสัณฐานวิทยาจึงเป็นอุปสรรคและมีความยุ่งยาก ขาดความมั่นใจในการบ่งชี้ตัวอย่างเชื้อราดังกล่าว ประกอบกับยังขาดฐานข้อมูลของเชื้อทั้งในแง่ประสิทธิภาพและความแม่นยำในการบ่งชี้ การนำเชื้อ *Metarhizium* spp. มาใช้ประโยชน์นั้น จำเป็นต้องทราบคุณสมบัติของเชื้อราในเบื้องต้นเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน เนื่องจากความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity) ของเชื้อราทั้งในแง่ชนิดและสายพันธุ์ (strain) จึงจะสามารถเข้าทำลายแมลงและมีความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงอาศัยแตกต่างกัน ฉะนั้นการนำไปใช้จำเป็นต้องทราบชนิดและสายพันธุ์ที่แน่นอน เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรู ซึ่งการบ่งชี้เชื้อราชนิดนี้โดยทั่วไปสามารถอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ แต่วิธีการ

ดังกล่าวนี้มีข้อจำกัด เนื่องจากปัจจัยต่างๆ เช่น สภาพแวดล้อมสามารถทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ปรากฏผันแปรไป (ศรีสุข และคณะ, 2544) และโดยที่เชื้อราบางชนิดบางสายพันธุ์มีความคล้ายคลึงกันมากทางลักษณะสัณฐานวิทยาการบ่งชี้ ปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการในการบ่งชี้เชื้อโดยอาศัยเทคนิคทางชีวโมเลกุล ตัวอย่างเช่น การใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA finger print) การวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอ (DNA sequence analysis) ร่วมกับการบ่งชี้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าวิธีการดังกล่าวสามารถใช้ในการบ่งชี้ได้ดีและแม่นยำกว่าการบ่งชี้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว รวมทั้งทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของเชื้อราหรือวิวัฒนาการของเชื้อได้อีกด้วย จึงเป็นที่น่าสนใจยิ่งในการศึกษาการบ่งชี้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงสกุล *Metarhizium* โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบสของไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (ribosomal DNA; rDNA) เพื่อเป็นการจัดอุปสรรคในการบ่งชี้ สร้างความแม่นยำ รวมทั้งเป็นฐานข้อมูลของ ความหลากหลายทางพันธุกรรม ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสัณฐานวิทยากับข้อมูลลำดับเบสของไรโบโซมอลดีเอ็นเอของเชื้อชนิดนี้ และการศึกษาประสิทธิภาพเพื่อใช้เป็นแนวทางในการนำไอโซเลตต่างๆ ดังกล่าว ไปพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อให้สูงขึ้น หรือเพื่อการนำไปพัฒนาต่อในด้านการควบคุมแมลงศัตรูโดยชีววิธี สร้างพืชแปรพันธุ์ (genetically modified plant) การผลิตและการนำสารพิษจากเชื้อราไปใช้ประโยชน์โดยให้มีประสิทธิภาพกว้างขวางขึ้น อันจะเป็นแนวทางในการอนุรักษ์สภาพแวดล้อม เพื่อช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลงศัตรูต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2.1 เพื่อบ่งชี้เชื้อ *Metarhizium* spp. จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลลำดับเบสของไรโบโซมอลดีเอ็นเอ

2.2 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานวิทยากับข้อมูลลำดับเบสของไรโบโซมอลดีเอ็นเอของเชื้อ *Metarhizium* spp.

2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Metarhizium* spp. ไอโซเลตที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

3. ขอบเขตของการวิจัย

เป็นงานวิจัยเพื่อสำรวจและรวบรวมเชื้อ *Metarhizium* spp. ที่พบในดินเขตเกษตรกรรม, ดินป่า และ/หรือตัวแมลง ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และการบ่งชี้ชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบสของไรโบโซมอลดีเอ็นเอ รวมทั้งศึกษา

ความสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานวิทยากับข้อมูลลำดับเบสของไรโบโซมอลดีเอ็นเอเพื่อให้ได้ฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อ และศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Metarhizium* spp. ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นแนวทางการศึกษาและนำไปขยายผลในวงกว้างสำหรับป้องกันกำจัดแมลงศัตรูต่อไป

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

4.1 ได้ไอโซเลตของเชื้อ *Metarhizium* spp. ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคในแมลง ซึ่งเชื้อราสกุลนี้มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายทั่วโลก รวมทั้งในประเทศเพื่อควบคุมแมลงศัตรูที่สำคัญ

4.2 ได้ฐานข้อมูลของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลลำดับเบสของไรโบโซมอลดีเอ็นเอของเชื้อ *Metarhizium* spp. รวมทั้งความสัมพันธ์ของลักษณะดังกล่าว และความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อ ซึ่งยังไม่มีการศึกษาใดๆ มาก่อนเลยในประเทศไทย และเพื่อเป็นแนวทางการศึกษารวมทั้งการประยุกต์ใช้ในการบ่งชี้ต่อไป

4.3 ได้แนวทางคัดเลือกหาไอโซเลตของเชื้อ *Metarhizium* spp. ที่มีประสิทธิภาพ และได้ฐานข้อมูลเพื่อนำไปใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อและขยายผลในวงกว้างสำหรับควบคุมแมลงศัตรูชนิดอื่น

4.4 เพื่อเป็นแนวทางในการค้นหาไอโซเลตของเชื้อชนิดนี้ ที่มีศักยภาพในการทำลายแมลงศัตรู แต่ไม่ทำให้แมลงอุตสาหกรรม เช่น ไหม เป็นโรค

4.5 ได้แนวทางและทางเลือกเพิ่มขึ้นในการลดการใช้สารเคมีเพื่อควบคุมแมลงศัตรู หากค้นพบไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพสูง ด้วยการนำไปใช้โดยตรง ผสมผสาน หรือการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมเพื่อทำพืชแปรพันธุ์ต่อไป