

รายงานโครงการวิจัย

สารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงจากราเอนโดไฟท์ที่อยู่ร่วมกับพืชในวงศ์ *Stemonaceae*

Insecticidal compounds from endophytic fungi of *Stemonaceae*

บทนำ

ประเทศไทยมีการขยายตัวของเกษตรกรรมอย่างต่อเนื่อง จากการเพิ่มพื้นที่ชลประทานและการใช้สารเคมีในการเพิ่มผลผลิตซึ่งได้แก่ปุ๋ยและยากำจัดศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้น นอกจากนั้นภาวะโลกร้อนส่งผลให้แมลงศัตรูพืชมีการระบาดมากขึ้น เนื่องจากสภาพแวดล้อมเอื้อต่อการเจริญพันธุ์ของแมลงเพราะทำให้วงจรชีวิตของแมลงเปลี่ยนแปลงไป ปัจจุบันเกษตรกรนิยมใช้สารฆ่าแมลงในการกำจัดแมลงศัตรูพืชมากขึ้นและมีแนวโน้มการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืชมากขึ้น ปริมาณสารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชจึงเพิ่มสูงขึ้น การใช้สารเคมีเหล่านี้ทำให้เกิดอันตรายแก่ทั้งเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภคและผู้อยู่อาศัยในบริเวณพื้นที่การเกษตร โดยทำให้เกิดพิษร้ายแรงทั้งชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง พิษเฉียบพลันจะเกิดกับระบบประสาท ทำให้ปวดศีรษะ มึนงง คลื่นไส้ อาเจียน ส่วนพิษเรื้อรังอาจทำให้เสื่อมสมรรถภาพทางเพศ เป็นหมัน ป่วยเป็นอัมพฤกษ์ อัมพาต และโรคมะเร็ง ทำให้ประเทศต้องสูญเสียค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลจำนวนมากทุกปี ประชาชนในปัจจุบันจึงมีความตื่นตัวในการบริโภคอาหารที่ปลอดจากสารพิษเหล่านี้ นอกจากนั้นประเทศไทยมีการส่งออกสินค้าเกษตรเป็นรายได้หลัก มีการใช้นโยบายควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของผลผลิต เพื่อประโยชน์ทางการค้าระหว่างประเทศซึ่งมีการแข่งขันกันอย่างเสรีจากประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ทำให้เกิดแนวคิดเกษตรอินทรีย์โดยการใช้สารที่มาจากธรรมชาติเช่นจากพืช หรือจุลินทรีย์เป็นทางเลือกทดแทนการใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืช รวมทั้งการใช้การกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (integrated pest management) ที่ลดการใช้สารเคมีและใช้ชีววิธี (biocontrol) ในการควบคุมโรคศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้น ประเทศไทยต้องนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชทั้งหมดเนื่องจากไม่มีอุตสาหกรรมชนิดนี้ในประเทศ ทำให้ประเทศไทยสูญเสียเงินในการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้ ในช่วง 2548 -2553 เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (รูปที่ 1) ในปี 2552 ประเทศไทยนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืช 118,152 ตัน คิดเป็นมูลค่า 16,816 ล้านบาท ซึ่งเป็นสารเคมีกำจัดแมลง 19,709 ตัน มูลค่า 3,972 ล้านบาท (ที่มา: ฝ่ายวัตถุดิบพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุเกษตร กรมวิชาการเกษตร) ดังนั้น การค้นพบสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแมลงศัตรูพืชนั้นจึงเป็นงานวิจัยที่มีความสำคัญและเร่งด่วนต่อภาคเกษตรกรรมของประเทศไทยขณะนี้

จุลินทรีย์ในกลุ่มเอนโดไฟท์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชชั้นสูงเกือบทุกชนิดโดยมิได้ทำอันตรายแก่พืชที่ร่วมอาศัยอยู่ด้วย สามารถพบได้ในทุกเขตภูมิประเทศและภูมิอากาศ จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้โดยเฉพาะเชื้อราสามารถสร้างสารที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์จำนวนมากเช่น สารปฏิชีวนะที่ยับยั้งแบคทีเรียและรา สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง สารออกฤทธิ์ยับยั้งแมลง เป็นต้น นักวิทยาศาสตร์จึงมี

ความสนใจในการนำจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้มาใช้ผลิตสารที่สามารถออกฤทธิ์ดังกล่าวข้างต้นในช่วงระยะหลายปีมานี้ (Strobel, 2002)



รูปที่ 1 มูลค่าการนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชระหว่างปีพ.ศ. 2548-2553

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการคัดแยกราเอนโดไฟท์จากพืชในวงศ์ Stemonaceae หรือที่มีชื่อสามัญว่าหนอนตายหยากที่พบทั่วไปในประเทศไทย ซึ่งชาวบ้านใช้เป็นสารป้องกันแมลงศัตรูพืชใช้เป็นสมุนไพร โดยใช้เป็นยาขับพยาธิ แก้ไอ แก้โรคมะเร็ง ในการศึกษาเบื้องต้นของผู้วิจัย พบว่ามีราเอนโดไฟท์ที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในพืชเช่นเดียวกับที่สกัดได้จากพืช ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้สูงที่ราเอนโดไฟท์จากพืชในกลุ่มนี้สามารถสร้างสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแมลง โดยเฉพาะหนอนกระทู้หอมที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญในระดับต้น ที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตอย่างมาก

ทฤษฎี

การใช้ชีววิธีในการกำจัดศัตรูพืชได้รับความสนใจกันมานานหลายสิบปี เนื่องจากประชาชนเริ่มตระหนักถึงพิษภัยจากการใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชโดยเฉพาะแมลงที่ทำให้พืชผลทางการเกษตรเสียหายมากที่สุดในแต่ละปี ชีววิธีที่ใช้กำจัดศัตรูพืชมักใช้ได้แก่จุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย ไวรัส และรา โปรโตซัว และพืช สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการกำจัดศัตรูพืชที่ได้รับการยอมรับและใช้กันในสหรัฐอเมริกา ได้แก่

1. แบคทีเรีย เช่น *Bacillus thuringiensis* (Bt) ซึ่งผลิตโปรตีนที่เป็นพิษต่อแมลงในระยะที่เป็น larvae ได้มีงานวิจัยเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุกรรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ชนิดนี้โดยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมเพื่อให้ได้ Bt ที่มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น เช่นสามารถฆ่าหนอนแมลงได้มากขึ้น มีความเป็นพิษต่อแมลงสูงขึ้น ทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดีขึ้น แบคทีเรียชนิดนี้ได้รับการยอมรับให้ใช้ได้ทั่วไปและสามารถผลิตเป็นสินค้าในสหรัฐอเมริกาแม้ว่าจะยังมีคำถามเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ที่ช้า และความคงตัวของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมนี้ นอกจากนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมนี้ไม่เป็นที่ยอมรับสำหรับระบบเกษตรอินทรีย์ สำหรับในประเทศไทยนั้นยังไม่มีกฎหมายอนุญาตให้ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมในธรรมชาติ นอกจากแบคทีเรียชนิดนี้แล้วยังมีแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นอีก เช่น *Paenbacillus popilliae* และ *Bacillus sphaericus* ที่มีศักยภาพคล้ายกับ Bt แต่ยังไม่ได้รับการยอมรับกันมากนัก

2. ไวรัส Nucleopolyhedrovirus (NPV) รวมทั้งไวรัสในกลุ่มนี้ที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมสามารถฆ่าหนอนในกลุ่ม lepidopterous เช่นหนอนกระทู้หอม แต่การใช้ NPV ยังมีปัญหาเช่น การออกฤทธิ์ที่ช้าเนื่องจากไวรัสออกฤทธิ์ในลำไส้ของหนอน (gut) และฆ่าหนอนแมลงได้ในเฉพาะกลุ่ม ต้องฉีดพ่นไวรัสบ่อยครั้งเนื่องจากความไม่คงตัวในธรรมชาติ ถ้าหนอนเจาะไชเข้าไปในผลไม้แล้วจะใช้ไวรัสชนิดนี้ไม่ได้

3. ไร้เดือนฝอยที่สามารถฆ่าแมลง (Entomopathogenic nematode) ได้แก่ *Steirnernema* และ *Heterorhabditis* (Denno และ Kappan, 2008) ซึ่งจะใช้ได้ผลดีเฉพาะในดินที่มีความชื้นสูง เนื่องจากไร้เดือนฝอยเหล่านี้อาศัยอยู่ในดิน

4. สารเคมีจากพืช มีหลายชนิดเช่น

4.1 pyrethrum จากต้นเบญจมาศ (chrysanthemums) สามารถทำให้แมลงเป็นอัมพาตในเวลาเพียงไม่กี่นาที และตายในที่สุด อย่างไรก็ตามแมลงหลายชนิดสามารถสร้างเอ็นไซม์เพื่อป้องกันตัวเอง ทำให้รอดจากพิษของสารชนิดนี้ จึงต้องเพิ่มปริมาณการใช้สารนี้เพื่อให้มั่นใจว่าครอบคลุมการกำจัดแมลง

4.2 azadiractin สกัดจากสะเดา (neem tree) สารชนิดนี้มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายฮอร์โมน ecdysones ของแมลง ทำให้แมลงกินอาหารและวางไข่ได้น้อยลง การใช้สารนี้ยังไม่แพร่หลายเนื่องจากมีการออกฤทธิ์กับแมลงไม่กี่ชนิดและต้องพ่นสารบ่อยครั้ง

4.3 rotenone สกัดจากพืชในกลุ่มพืชตระกูลถั่ว (pea) มีฤทธิ์ฆ่าแมลงหลายชนิด แต่มีพิษกับสัตว์น้ำจึงห้ามใช้ในพื้นที่ใกล้แหล่งน้ำ

5. สารที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ ได้แก่

5.1 abamectin ที่ผลิตโดยแบคทีเรีย *Streptomyces avermitilis* สารชนิดนี้ออกฤทธิ์กับระบบประสาทของแมลงทำให้เป็นอัมพาตและกินอาหารน้อยลงและตายภายในเวลา 3-4 วัน

สารชนิดนี้สามารถซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชและคงอยู่ได้นาน 3-5 สัปดาห์ อย่างไรก็ตาม การใช้สารนี้ยังต้องคำนึงการติดต่อสารนี้เช่นเดียวกับที่มักจะพบในการใช้สารเคมีอื่น ๆ

5.2 spinosad ผลิตโดยแบคทีเรียในกลุ่ม actinomyces ได้แก่ *Saccharopolyspora spinosa* สารชนิดนี้ออกฤทธิ์กับระบบประสาทของแมลงเช่นกัน ทำให้แมลงเป็นอัมพาตและตายในเวลาที่ยาวนานขึ้นคือ 1-2 วัน แต่ไม่สามารถอยู่ได้นานในธรรมชาติทำให้ต้องพ่นสารบ่อยครั้ง

จากปัญหาของสารที่นำมาใช้เช่นการออกฤทธิ์ช้า การออกฤทธิ์เฉพาะกลุ่มแมลง ที่อาจมีข้อดีต่อแมลงอื่นในธรรมชาติแต่ทำให้การนำมาใช้เป็นไปได้อย่าง ความคงตัวของสารในธรรมชาติต่ำทำให้ต้องฉีดพ่นบ่อยครั้ง ทำให้งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการค้นหาสารที่สามารถกำจัดศัตรูพืชยังคงมีความสำคัญ จากงานวิจัยข้างต้นจะเห็นได้ว่าแต่ละชีววิธีมีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกัน จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการกำจัดแมลงนั้นส่วนใหญ่เป็นศัตรูของแมลงอยู่แล้วในธรรมชาติ แต่นักวิทยาศาสตร์สามารถเลี้ยงจุลินทรีย์เหล่านี้ให้เพิ่มจำนวนในถังปฏิกรณ์ได้ โดยเฉพาะการใช้สารที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้ในถังหมักมีข้อได้เปรียบมากกว่าการใช้พืชและจุลินทรีย์แบบอื่นๆ เนื่องจากสามารถควบคุมการผลิตสารให้ได้มาตรฐานทั้งปริมาณและคุณภาพของสารในถังหมัก นอกจากนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มาจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่มีการดัดแปลงพันธุกรรมยังเป็นที่ยอมรับของประชาชน เพราะไม่ได้นำจุลินทรีย์ไปใช้ในธรรมชาติโดยตรง

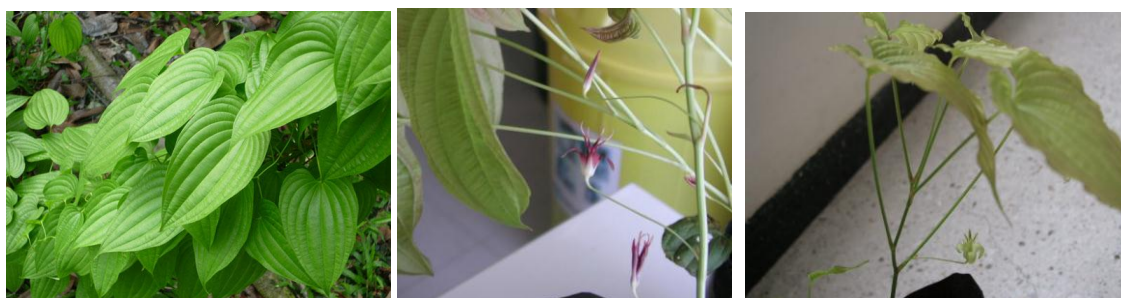
เราสามารถแยกจุลินทรีย์เพื่อใช้สำหรับวัตถุประสงค์ข้างต้นได้จากแหล่งธรรมชาติหลายแหล่ง เช่น จากดิน น้ำ พืช และสัตว์ต่าง ๆ ราเอนโดไฟท์เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชโดยไม่ทำอันตรายพืชแต่ให้ประโยชน์กับพืช แต่กลับมีความสัมพันธ์ในแบบเกื้อกูลกัน (symbiosis) โดยสามารถสร้างบางอย่าง (active compounds) ในการป้องกันพืชจากศัตรูทั้งที่เป็นแมลง จุลินทรีย์ รวมทั้งสัตว์กินพืชเป็นอาหาร (Azevedo, 2000; Strobel, 2002) และเข้าใจว่ารา ชนิดนี้มีส่วนร่วมหรือเป็นผู้สร้างสารเหล่านี้ในพืช ดังนั้น เชื้อในกลุ่มนี้เป็นเชื้อที่ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์ที่ต้องการศึกษาสารจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติพิเศษเช่นเดียวกับที่พบในพืช

รายงานเกี่ยวกับราเอนโดไฟท์ที่สามารถป้องกันพืชที่ราอาศัยอยู่ด้วยจากแมลงนั้น เริ่มมีมาตั้งแต่ปี 1981 โดย Webber รายงานว่าราเอนโดไฟท์ *Phomopsis oblonga* ที่พบในต้น elm สามารถควบคุมแมลงปีกแข็ง *Physocnemum brevilineum* ได้ ต่อมา Claydon และคณะ (1985) พบว่าราในวงศ์ Xylariaceae ที่อาศัยอยู่ในต้นสน *Fagus* สามารถควบคุมแมลงปีกแข็ง *P. brevilineum* นอกจากนั้นมียางานเกี่ยวกับราเอนโดไฟท์ *Cladosporium sphaerospermum* ช่วยป้องกันสน *Picea glauca* จากแมลงในกลุ่ม Homoptera ชื่อ *Adelges abietis* (Lasota และคณะ, 1983) ส่วนรา *Balansia cyperi* สามารถป้องกันหญ้า *Lolium perenne* ที่อยู่ในวงศ์ *Cyperus* จากแมลง *Spodoptera frugiperda*, (Clay และคณะ, 1985a; 1985b; Hardy และคณะ, 1985) กลไกหนึ่งในการควบคุมแมลงของราเอนโดไฟท์คือการสร้างสารที่เป็นพิษต่อแมลง ซึ่งมีรายงานในปี 1988 Prestidge และ Gallagher พบว่าราเอนโดไฟท์ *Acremonium lolii* ในหญ้า *Lolium perenne* สร้างสาร loliterm B ที่ทำให้การเจริญเติบโตและการกิน

ของหนอน *Listronotus bonariensis* ถดลง แต่สาร loliterm เป็นพืชต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นอกจาก loliterm ราเอนโดไฟท์ยังสร้างสารหลายชนิด ที่สามารถยับยั้งแมลงได้ เช่น *Acremonium coenophialum* สร้างสาร loline และสารนี้สามารถสกัดได้จากพืชตระกูลหญ้าที่ราอาศัยอยู่ด้วย เมื่อเติม loline ที่สกัดด้วยเมทานอลลงในอาหารที่เลี้ยงหนอนแมลง *S. frugiperda* และ *O. nubilalis* ทำให้หนอนมีพฤติกรรมในการกินอาหารที่ผิดปกติไป (Riedell และคณะ, 1991) ราเอนโดไฟท์ *Nigrospora* sp. ที่แยกจากต้น *Tinospora cordifolia* สร้างสารควบคุมหนอนแมลง *Spodoptera litura* ทำให้หนอนพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยช้าลง (Thakur และคณะ, 2012) ราเอนโดไฟท์นอกจากสร้างสารที่เป็นพืชที่ยับยั้งหนอนแมลงศัตรูพืชแล้ว ราเอนโดไฟท์บางชนิด เช่น *Muscodor albus* สามารถสร้างสารที่ระเหยได้ (volatile organic compounds) ที่สามารถยับยั้งแมลงศัตรูของมันฝรั่ง (potato tuber moth) (Lacey และ Neven, 2006)

นักวิจัยสามารถแยกราเอนโดไฟท์จากพืชเกือบทุกชนิดรวมทั้งสมุนไพร และในทุกพื้นที่ทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย (Strobel, 2002; Sopalun และคณะ, 2003) นักวิจัยมักแยกราเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพร เพราะเข้าใจว่าจะได้ราที่สามารถสร้างสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิชนิดเดียวหรือใกล้เคียงกับพืชที่รานั้นอาศัยอยู่ (Zhao และคณะ, 2010) รวมทั้งอาจสร้างสารชนิดใหม่ ๆ ที่สามารถออกฤทธิ์ได้ตามวัตถุประสงค์ ในประเทศไทยได้มีการแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากหนอนตายหยาก *S. tuberosa* เพียงชนิดเดียว เพื่อทดสอบความสามารถในการสร้างสารที่ยับยั้งเชื้อที่ทำให้เกิดโรคของคน รวมทั้งการยับยั้งเซลล์มะเร็ง (<http://www.mahidol.ac.th/scmi>) นักวิจัยในกลุ่มนี้สามารถแยกราเอนโดไฟท์ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียและราที่ก่อโรคในคน เชื้อวัณโรค ไวรัส และเซลล์มะเร็ง ที่แตกต่างกัน ส่วนชัยวัฒน์ และคณะ (2550) แยกราเอนโดไฟท์จากใบ ลำต้น และราก ของ *S. colinsae*, *S. bukillii*, *S. tuberosa*, และ *S. kerii* ที่สามารถสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในพืชเศรษฐกิจของไทยได้ 3 ชนิด ได้แก่ *Erwinia carotorora*, *Pseudomonas solanacearum* และ *Xanthomonas citri* นลิน และคณะ (2553) ได้คัดแยกราเอนโดไฟท์จำนวนหนึ่งที่มีความสามารถในการสร้างสารยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชได้แก่ *Alternaria brassicola*, *Penicillium* sp., *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการใช้สารชีวภาพจากเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นหนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

พืชในวงศ์ *Stemonaceae* เป็นไม้เลื้อยจนถึงไม้พุ่ม บางชนิดมีรากมีลักษณะเป็นหัว (tuber) แบ่งออกเป็น 32 ชนิด (species) ใน genus *Stemona* และ *Croomia* พบในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่นประเทศไทย เวียดนาม และยังพบในจีน ญี่ปุ่น แถบ tropical ของออสเตรเลีย และทางตะวันออกเฉียงเหนือของทวีปอเมริกา genus *Stemona* ประกอบด้วย 25 ชนิด (species) ในประเทศไทยพบพืชหลายชนิดในจีนนี้ ได้แก่ *S. burkillii*, *S. kerii*, *S. tuberosa*, *S. collinsae*, *S. curtisii*, *S. aphylla*, *S. hutanguriana* และ *S. phyllantha* โดยเฉพาะ 4 ชนิด (species) แรกสามารถพบได้ในหลายพื้นที่ของประเทศไทย



รูปที่ 2 พืชในสกุล *Stemonon*

พืชในวงศ์ Stemonaceae เป็นพืชที่สร้างสารประเภท alkaloid มากกว่า 30 ชนิด (Pilli และ Oliveira, 2000) โดยแบ่งเป็นกลุ่มดังนี้ Stenine Stemoamide Tuberostemospironine Parvistemoline ในปัจจุบันสาร alkaloid ชนิดใหม่ยังถูกพบในพืชชนิดนี้อย่างต่อเนื่อง เช่น Dihydrophenanthrenes (Kostecki และคณะ, 2004) Sessilifoliamides (Kakuta และคณะ, 2003) 11(S), 12(R)-dihydrostemfoline stemoburkillin *S. burkillii* (Mungkornasawakul และคณะ, 2004) เป็นต้น

สารที่ออกฤทธิ์เหล่านี้พบมากที่ส่วนหัวและเป็นสารออกฤทธิ์ในการรักษาโรคทางเดินหายใจ ขับพยาธิ รักษาโรคมะเร็ง และชาวบ้านบางแห่งใช้สารสกัดจากใบเพื่อฆ่าหนอนแมลงศัตรูพืช นักวิจัยสามารถแยกสารที่ฆ่าแมลงศัตรูในพืชนี้และพบว่าสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารเหล่านี้มีหลายชนิดเช่น didehydrostemfolin ใน *S. tuberosa* และ *S. collinsae* (Brem และคณะ, 2002) 16, 17 didehydro16 (E) stemfolin ใน *S. collinsae* (Jiwajinda และคณะ, 2001) และ pyridol (1,2-a) azepin ใน *S. curtisii* ที่สามารถฆ่าลูกน้ำยุง (Kaltenegger และคณะ, 2003) ส่วน Dihydrophenanthrenes ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อรา *Cladosporium herbarum*

หนอนกระทู้หอม (beet armyworm: *Spodoptera exigua* Hübner) เป็นผีเสื้อกลางคืน อันดับ Lepidoptera วงศ์ Noctuidae จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญอันดับต้นๆของประเทศไทย เพราะสามารถทำลายพืชจนเกิดความเสียหายต่อผลผลิตสูงมากมีอัตราการกินสูงและระยะเวลาทำลายรวดเร็ว ทั้งยังทำลายพืชได้กว้างหลายชนิดทั้งพืชผัก พืชไร่ และ ไม้ดอก (Capinera, 2005) ในประเทศไทยมีรายงานว่าหนอนกระทู้หอมเข้าทำลายพืชกว่า 200 ชนิดซึ่งลักษณะการทำลายขึ้นกับชนิดของพืชอาหาร เช่น หอมแดง หนอนจะเจาะเข้าไปกัดกินภายในใบจนถึงส่วนหัว หนอนไม่ฝรั่งจะกัดกินยอดอ่อน และไม้ดอกจะกัดกินดอกตูมและกลีบดอก เป็นต้น (อุทัย, 2544)

ลักษณะสำคัญของหนอนกระทู้หอม คือ มีผนังลำตัวเรียบ เมื่อหนอนโตเต็มที่ ลำตัวมีหลายสี ขึ้นกับพืชอาหาร เช่น สีเขียวอ่อนสีน้ำตาลดำ หรือสีเทาปนดำ ด้านข้างลำตัวจะมีแถบสีขาวพาดยาวตลอดจนถึงปลายสุดของลำตัว แมผีเสื้อจะวางไข่เป็นกลุ่ม มีขนปกคลุมบางๆ จำนวนไข่ต่อกลุ่มตั้งแต่ 16-20 ฟอง ในธรรมชาติจะฟักภายใน 72 ชั่วโมง ฤดูร้อนจะฟักเร็วขึ้น เมื่อหนอนออกจากไข่จะกัดกินผิวได้ใบ และในใบ ทำให้การพ่นสารกำจัดแมลงไม่โดนตัวหนอน หนอนจะกัดกินอาหาร ณ ตำแหน่ง

ใบพืชอาหารเดียวจนกว่าจะเข้าวัย 3 จึงจะเคลื่อนออกไปทำลายใบข้างเคียงต่อไป โดยมักกินอาหารเวลากลางคืนและหลบซ่อนตัวเวลากลางวัน หนอนวัย 4 และ 5 มีขนาดตัวโตจึงมีการทำลายพืชอย่างรุนแรงการใช้สารเคมีกำจัดหนอนวัย 4 และ 5 มักไม่ได้ผล เนื่องจากหนอนกระทู้หอมเป็นหนอนที่มีการปรับตัวหลีกเลี่ยงและทนทานต่อสารเคมีได้อย่างรวดเร็วจนสารเคมีส่วนใหญ่ในปัจจุบันไม่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมได้ ขนาดหนอนตัวโตเต็มที่ ยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร และเข้าสู่ระยะดักแด้ วงจรชีวิตของหนอนกระทู้หอมประมาณ 35 วัน มีระยะไข่ 2-3 วัน (รูปที่ 3ก) ระยะหนอน 12-15 วัน (รูปที่ 3ข) ระยะดักแด้ 7-9 วัน (รูปที่ 3ค) ตัวเต็มวัย 4-8 วัน (รูปที่ 3ง) ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนมีขนอ่อนสีน้ำตาลปนเทา กางปีกกว้าง 2.5 เซนติเมตร กลางปีกคู่หน้าจะมีจุดสีน้ำตาลปนเหลือง 1 คู่ ปีกคู่หลังบางและมีสีขาวปนน้ำตาลอ่อน (อุทัย, 2544)



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

รูปที่ 3 ลักษณะหนอนกระทู้หอมในวัยต่างๆ ก. ไข่ของหนอนกระทู้หอม

ข. หนอนกระทู้หอม ค. ดักแด้หนอนกระทู้หอม ง. ตัวเต็มวัยของหนอนกระทู้หอม

ในงานวิจัยนี้เป็นการแยกราเอนโดไฟท์จากดินหนอนตายหยากในวงศ์ Stemmonaceae และจากหลายพื้นที่ ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งแมลงศัตรูพืช เช่น หนอนกระทู้หอม

วัตถุประสงค์

เพื่อคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชในวงศ์ Stemmonaceae ที่พบในประเทศไทย และทดสอบความสามารถในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งหนอนกระทู้หอมของราเอนโดไฟท์ที่แยกได้

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ทำการเก็บตัวอย่างพืชในกลุ่ม Stemonaceae ได้แก่ชนิด (species) ต่าง ๆ เช่น *S. kerrii* *S. burkillii* *S. tuberosa* และ *S. colinsae* โดยคัดเลือกพื้นที่ที่มีการพบพืชในกลุ่มนี้จากการตรวจเอกสารและการสำรวจล่วงหน้า โดยเก็บพืชในวงศ์ Stemonaceae ไม่น้อยกว่า 50 ตัวอย่าง และแยกราเอนโดไฟท์ไม่น้อยกว่า 50 morphotypes
2. เลี้ยงราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว modified MID แล้วนำน้ำหมักของราเหล่านี้ไปทดสอบการยับยั้งหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua*) วิทยสง