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 ป่วยเป็นอัมพฤต อัมพาต และโรคมะเร็ง ทำให้ประเทศต้องสูญเสียค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลจำนวนมากทุกปี ประชาชนในปัจจุบันจึงมีความตื่นตัวในการบริโภคอาหารที่ปลอดจากสารพิษเหล่านี้ นอกจากนั้นประเทศไทยมีการส่งออกสินค้าเกษตรเป็นรายได้หลัก มีการใช้นโยบายควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของผลผลิต เพื่อประโยชน์ในทางการค้าระหว่างประเทศซึ่งมีการแข่งขันการอย่างเสรีจากประเทศคู่ค้าที่สำคัญ 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: ฝ่ายวัตถุมีพิษ สำนักควบคุมพืชและวัสดุเกษตร กรมวิชาการเกษตร) ดังนั้น การค้นพบสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแมลงศัตรูพืชนั้นจึงเป็นงานวิจัยที่มีความสำคัญและเร่งด่วนต่อภาคเกษตรกรรมของประเทศในขณะนี้

จุลินทรีย์ในกลุ่มเอนโดไฟท์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชชั้นสูงเกือบทุกชนิดโดยมิได้ทำอันตรายแก่พืชที่ร่วมอาศัยอยู่ด้วย สามารถพบได้ในทุกเขตภูมิประเทศและภูมิอากาศ จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้โดยเฉพาะเชื้อราสามารถสร้างสารที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์จำนวนมากเช่น สารปฏิชีวนะที่ยับยั้งแบคทีเรียและรา สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง สารออกฤทธิ์ยับยั้งแมลง เป็นต้น นักวิทยาศาสตร์จึงมี

ความสนใจในการนำจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้มาใช้ผลิตสารที่สามารถออกฤทธิ์ดังกล่าวข้างต้นในช่วงระยะหลายปีมานี้ (Strobel, 2002)

รูปที่ 1 มูลค่าการนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชระหว่างปีพ.ศ. 2548-2553

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการคัดแยกราเอนโดไฟท์จากพืชในวงศ์ Stemonaceae หรือที่มีชื่อสามัญว่าหนอนตายหยากที่พบทั่วไปในประเทศไทย ซึ่งชาวบ้านใช้เป็นสารป้องกันแมลงศัตรูพืช ใช้เป็นสมุนไพร 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 ได้มีงานวิจัยเกี่ยวการปรับปรุงพันธุกรรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ชนิดนี้โดยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมเพื่อให้ได้ Bt ที่มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น เช่นสามารถฆ่าหนอนแมลงได้มากชนิดขึ้น 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. ไส้เดือนฝอยที่สามารถฆ่าแมลง (Entomopathogenic nematode) ได้แก่ *Steirnernema* และ *Heterorhabditis* (Denno และ Kappan, 2008) ซึ่งจะใช้ได้ผลดีเฉพาะในดินที่มีความชื้นสูง เนื่องจากไส้เดือนฝอยเหล่านี้อาศัยอยู่ในดิน

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 abamecin ที่ผลิตโดยแบคทีเรีย *Streptomyces avermitilis* สารชนิดนี้ออกฤทธิ์กับระบบประสาทของแมลงทำให้เป็นอัมพาตและกินอาหารน้อยลงและตายภายในเวลา 3-4 วัน

สารชนิดนี้สามารถซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชและคงอยู่ได้นาน 3-5 สัปดาห์ อย่างไรก็ตาม การใช้สารนี้ยังต้องคำนึงการดื้อต่อสารนี้เช่นเดียวกับที่มักจะพบในการใช้สารเคมีอื่น ๆ

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

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

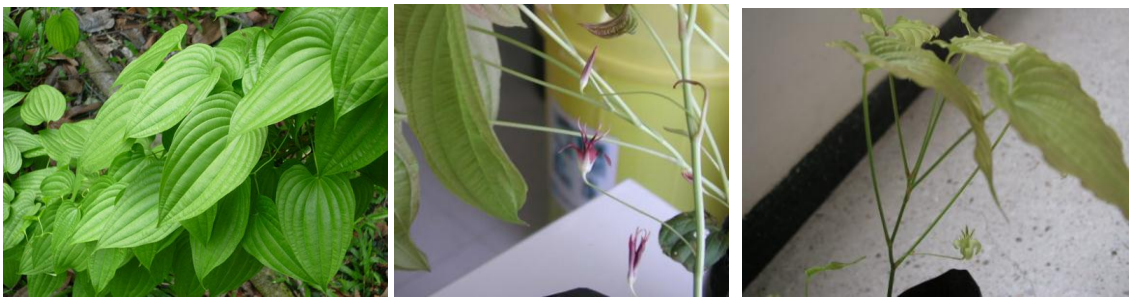
เราสามารถแยกจุลินทรีย์เพื่อใช้สำหรับวัตถุประสงค์ข้างต้นได้จากแหล่งธรรมชาติหลายแหล่ง เช่น จากดิน น้ำ พืช และสัตว์ต่าง ๆ ราเอนโดไฟท์เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชโดยไม่ทำอันตรายพืชแต่ให้ประโยชน์กับพืช แต่กลับมีความสัมพันธ์ในแบบเกื้อกูลกัน (symbiosis) โดยสามารถสร้างบางอย่าง (active compounds) ในการป้องกันพืชจากศัตรูทั้งที่เป็นแมลง จุลินทรีย์รวมทั้งสัตว์กินพืชเป็นอาหาร (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* นอกจากนั้นมีรายงานเกี่ยวกับราเอนโดไฟท์ *Cladosporium sphaerosperum* ช่วยป้องกันสน *Picea glauca* จากแมลงในกลุ่มHomoptera ชื่อ *Adelges abietis* (Lasota และคณะ, 1983) ส่วนรา *Balansia cyperi* สามารถป้องกันหญ้า *Lolium perenne* ที่อยู่ในวงศ์ *Cyperu*s 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* ลดลง แต่สาร loliterm เป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นอกจาก loliterm ราเอนโดไฟท์ยังสร้างสารหลายชนิด ที่สามารถยับยั้งแมลงได้ เช่น *Acremonium coenophialum* สร้างสาร loline และสารนี้สามารถสกัดได้จากพืชตระกูลหญ้าที่ราอาศัยอยู่ด้วย เมื่อเติม loline ที่สกัดด้วยเมทานอลลงในอาหารที่เลี้ยงหนอนแมลง *S. frugiperda* และ*O. nubilalis* ทำให้หนอนมีพฤติกรรมในการกินอาหารที่ผิดไป (Riedell และคณะ, 1991) ราเอนโดไฟท์ *Nigrospora* sp. ที่แยกจากต้น *Tinospora cordifolia* สร้างสารควบคุมหนอนแมลง *Spodoptera litura* ทำให้หนอนพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยช้าลง (Thakur และคณะ, 2012) ราเอนโดไฟท์นอกจากสร้างสารที่เป็นพิษที่ยับยั้งหนอนแมลงศัตรูพืชแล้ว ราเอนโดไฟท์บางชนิด เช่น *Muscodor albus* สามารถสร้างสารที่ระเหยได้ (volatile organic compounds) ที่สามารถยับยั้งแมลงศัตรูของมันฝรั่ง (potato tuber moth) (Lacey และ Neven, 2006)

นักวิจัยสามารถแยกราเอนโดไฟท์จากพืชเกือบทุกชนิดรวมทั้งสมุนไพร และในทุกพื้นที่ทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย (Strobel, 2002; Sopalun และคณะ, 2003) นักวิจัยมักแยกราเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพร เพราะเข้าใจว่าจะได้ราที่สามารถสร้างสารเมตาโบไลท์ทุติยภูมิชนิดเดียวหรือใกล้เคียงกับพืชที่ราชนิดนี้อาศัยอยู่ (Zhao และคณะ, 2010) รวมทั้งอาจสร้างสารชนิดใหม่ ๆ ที่สามารถออกฤทธิ์ได้ตามวัตถุประสงค์ ในประเทศไทยได้มีการแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากหนอนตายหยาก *S. tuberosa* เพียงชนิดเดียว เพื่อทดสอบความสามารถในการสร้างสารที่ยับยั้งเชื้อที่ทำให้เกิดโรคของคน รวมทั้งการยับยั้งเซลล์มะเร็ง (htpp://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) ได้คัดแยกราเอนโดไฟท์จำนวนหนึ่งที่มีความความสามารถในการสร้างสารยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชได้แก่ *Alternaria brassicola*, *Penicillum* 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) ในประเทศไทยพบพืชหลายชนิดในจีนัสนี้ 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 Stemona

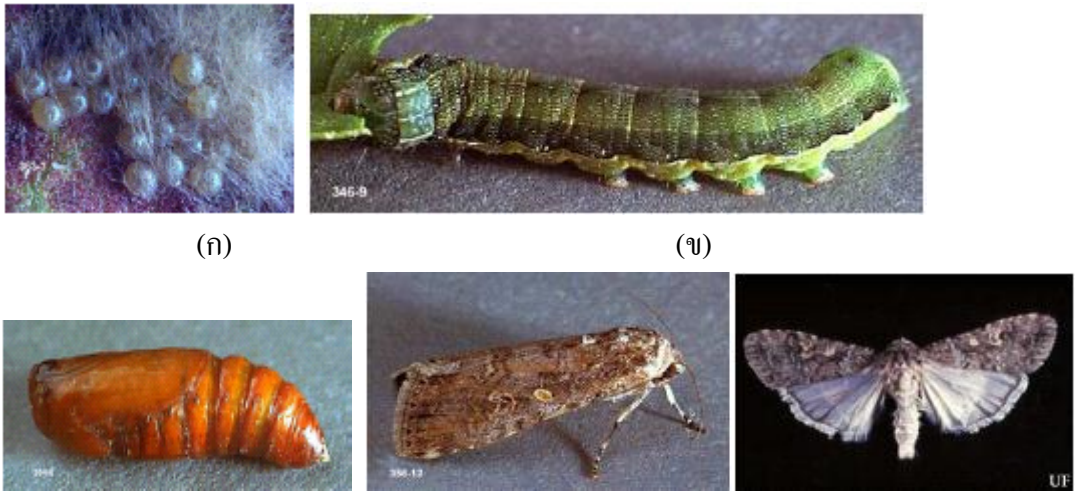
พืชในวงศ์ Stemonaceae เป็นพืชที่สร้างสารประเภท alkaloid มากกว่า 30 ชนิด (Pilli และ Oliveira, 2000) โดยแบ่งเป็นกลุ่มดังนี้ Stenine Stemoamide Tuberostemospironine Parvistemoline ในปัจจุบันสาร alkaloid ชนิดใหม่ยังถูกพบในพืชชนิดนี้อย่างต่อเนื่อง เช่น Dihydrophenanthrenes (Kostecki และคณะ, 2004) Sessilifoliamides (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 จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญอันดับต้นของประเทศไทย เพราะสามารถทำลายพืชจนเกิดความเสียหายต่อผลผลิตสูงมากมีอัตราการกินสูงและระยะเวลาทำลายรวดเร็ว ทั้งยังทำลายพืชได้กว้างหลายชนิดทั้งพืชผัก พืชไร่ และ ไม้ดอก (Capinera, 2005) ในประเทศไทยมีรายงานว่าหนอนกระทู้หอมเข้าทำลายพืชกว่า 200 ชนิดซึ่งลักษณะการทำลายขึ้นกับชนิดของพืชอาหาร เช่น หอมแดง หนอนจะเจาะเข้าไปกัดกินภายในใบจนถึงส่วนหัว หน่อไม้ฝรั่งจะกัดกินยอดอ่อน และไม้ดอกจะกัดกินดอกตูมและกลีบดอก เป็นต้น (อุทัย, 2544)

ลักษณะสำคัญของหนอนกระทู้หอม คือ มีผนังลำตัวเรียบ เมื่อหนอนโตเต็มที่ ลำตัวมีหลายสีขึ้นกับพืชอาหาร เช่น สีเขียวอ่อนสีน้ำตาลดำ หรือสีเทาปนดำ ด้านข้างลำตัวจะมีแถบสีขาวพาดยาวตลอดจนถึงปลายสุดของลำตัว แม่ผีเสื้อจะวางไข่เป็นกลุ่ม มีขนปกคลุมบางๆ จำนวนไข่ต่อกลุ่มตั้งแต่ 16-20 ฟอง ในธรรมชาติจะฟักภายใน 72 ชั่วโมง ฤดูร้อนจะฟักเร็วขึ้น เมื่อหนอนออกจากไข่จะกัดกินผิวใต้ใบ และในใบ ทำให้การพ่นสารกำจัดแมลงไม่โดนตัวหนอน หนอนจะกัดกินอาหาร ณ ตำแหน่ง

ใบพืชอาหารเดียวจนกว่าจะเข้าวัย 3 จึงจะเคลื่อนออกไปทำลายใบข้างเคียงต่อไป โดยมักกินอาหารเวลากลางคืนและหลบซ่อนตัวเวลากลางวัน หนอนวัย 4 และ 5 มีขนาดตัวโตจึงมีการทำลายพืชอย่างรุนแรงการใช้สารเคมีกำจัดหนอนวัย 4 และ 5 มักไม่ได้ผล เนื่องจากหนอนกระทู้หอมเป็นหนอนที่มีการปรับตัวหลีกหนีและทนทานต่อสารเคมีได้อย่างรวดเร็วจนสารเคมีส่วนใหญ่ในปัจจุบันไม่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมได้ 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

ในงานวิจัยนี้เป็นการแยกราเอนโดไฟท์จากต้นหนอนตายหยากในวงศ์ Stemnonaceae และจากหลายพื้นที่ ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งแมลงศัตรูพืช เช่นหนอนกระทู้หอม

วัตถุประสงค์

เพื่อคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชในวงศ์ Stemonaceae ที่พบในประเทศไทย และทดสอบความสามารถในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งหนอนกระทู้หอมของราเอนโดไฟท์ที่แยกได้

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ทำการเก็บตัวอย่างพืชในกลุ่ม Stemonaceae ได้แก่ชนิด (species) ต่าง ๆ เช่น *S. kerrii S. burkillii S. tuberose* และ *S. colinsae* โดยคัดเลือกพื้นที่ที่มีการพบพืชในกลุ่มนี้จากการตรวจเอกสารและการสำรวจล่วงหน้า โดยเก็บพืชในวงศ์ Stemonaceae ไม่น้อยกว่า 50 ตัวอย่าง และแยกราเอนโดไฟท์ไม่น้อยกว่า 50 morphotypes
2. เลี้ยงราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว modified M1D แล้วนำน้ำหมักของราเหล่านี้ไปทดสอบการยับยั้งหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exiqua*) วัยสอง