

## ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin

### ในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าว

Efficacy of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metsch)

Sorokin to control *Oryctes rhinoceros*.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์<sup>1/</sup> อิศเรศ เทียนทัด<sup>1/</sup> วิไลวรรณ เวชยันต์<sup>1/</sup> ยุทธนา แสงโชติ<sup>2/</sup>

<sup>1/</sup> กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

<sup>2/</sup> กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

### บทคัดย่อ

ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin ในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าว ได้ทำการวิจัยในช่วงเดือนตุลาคม 2553 - กันยายน 2554 (รวมระยะเวลา 1 ปี) ที่ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแหล่งปลูกมะพร้าวใน 2 พื้นที่คือ ต.สามเรือน อ. เมืองราชบุรี จ.ราชบุรี และ ต.โรงหีบ อ. บางคนที จ. สมุทรสงคราม โดยดำเนินการดังนี้ นำเชื้อราเขียวของกรมวิชาการเกษตร (DOA) ที่ผ่านการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าวมาเลี้ยงขยายเพื่อทดสอบในพื้นที่ที่เตรียมไว้ ศึกษาอัตราการใช้เชื้อที่เหมาะสมต่อหน่วยพื้นที่ โดยใช้เชื้อราเขียว DOA ในอัตรา 200, 400, 600, 800 และ 1,000 กรัม ต่อถังซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 ซม. สูง 50 ซม. ซึ่งมีความจุ 0.25 ลูกบาศก์เมตร ทำการเปรียบเทียบกับเชื้อราเขียวจากกรมส่งเสริมการเกษตร (DOAE) และการไม่ใส่เชื้อ (control) ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวในวันที่ 14 และ 28 ของการทดลอง ผลการทดสอบทั้ง 3 ครั้ง ที่จ.ราชบุรี พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวส่วนใหญ่ในวันที่ 28 ของการทดลอง เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวทั้ง 3 ครั้งค่อนข้างน้อย ส่วนใหญ่พบน้อยกว่า 50% จากการทดลองครั้งที่ 1 ในวันที่ 28 ของการทดลองมีแนวโน้มการใช้ที่เหมาะสมอยู่ที่อัตรา 200, 400 และ 800 กรัม โดยแสดงเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไม่แตกต่างกันที่ 13.69, 5.98 และ 5.19% ตามลำดับ การทดลองครั้งที่ 2 ในวันที่ 28 ของการทดลอง พบแนวโน้มการใช้เชื้อราเขียว DOA ที่เหมาะสมอยู่ที่อัตรา 200, 400 และ 600 กรัม โดยมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไม่แตกต่างกันที่ 34.66, 57.12 และ 39.30% ตามลำดับ ส่วนการทดลองครั้งที่ 3 พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไม่แตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ การติดเชื้อที่ 28 วันอยู่ในช่วง 14.98 – 28.43% การทดสอบประสิทธิภาพที่ จ.สมุทรสงครามพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อทั้งในวันที่ 14 และ 28 ของการทดลอง โดยพบการติดเชื้อมากที่สุดในวันที่ 28 ของการทดลอง การติดเชื้อราเขียวส่วนใหญ่จะพบมากกว่า 50% ผลการทดลองทั้ง 3 ครั้ง พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวของ DOA ไม่มีความแตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-03-02-55

ทดสอบ ทั้งในวันที่ 14 และ 28 ของการทดลอง โดยผลการทดลองครั้งที่ 1 การติดเชื้อราเขียวของ DOA ที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 46.89 – 68.96% ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างจากเชื้อของ DOAE ที่พบการติดเชื้อที่ 57.06% การทดลองครั้งที่ 2 การติดเชื้อราเขียวของ DOA ที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 64.88 – 83.42% ในขณะที่การติดเชื้อราเขียวของ DOAE อยู่ที่ 62.37% การทดลองครั้งที่ 3 การติดเชื้อราเขียวของ DOA ที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 46.24 – 67.43% ส่วนการติดเชื้อราเขียวของ DOAE อยู่ที่ 58.65% จากผลการทดลองทั้ง 2 พื้นที่พบว่า เชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOA มีความเฉพาะเจาะจงและมีแนวโน้มต่อการเกิดโรคกับหนอนด่างแรมมะพร้าวสูงกว่าเชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOAE โดยมีอัตราการใช้เหมาะสมที่ 200 กรัม ต่อ 0.25 ลูกบาศก์เมตร นอกจากนี้ยังพบว่าสภาพอากาศ อุณหภูมิในกองล่อ และปริมาณเชื้อที่ใส่เป็นปัจจัยซึ่งมีผลต่อการติดเชื้อของหนอนด้วย

## คำนำ

ปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจงานป้องกันกำจัดศัตรูพืชทางชีวภาพมากขึ้น การนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจนอกจากมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของตัวเกษตรกรผู้เข้าร่วมทั้งผู้บริโภคแล้ว ยังไม่ทำให้เกิดพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในสภาพแวดล้อม

เชื้อราเขียวเมตาโรเซียม (*M. anisopliae*) เป็นจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ จัดอยู่ใน Phylum Ascomycota ซึ่งเชื้อราในกลุ่มนี้มักจะเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรค “ muscadine ” ในแมลง โดยใน *M. anisopliae* มีการเรียกเชื้อราชนิดนี้ว่า “green muscadine” พบแพร่กระจายได้ทั่วไป สามารถใช้ควบคุมแมลงในกลุ่ม Diptera, Lepidoptera, Orthoptera, Coleoptera, Hemiptera และ Hymenoptera (Lezama-Gutiérrez และคณะ 2000; Kershaw และคณะ 1999; Rosa และคณะ 2000)

ในเมืองไทยมีการศึกษาการนำเชื้อราเขียวเมตาโรเซียมเพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชมากมาย จากรายงานผลงานค้นคว้าวิจัยตั้งแต่ปี 2525 -2539 โดยมีวัลลย์ ปันยารชุน กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา ได้ทำการศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราดังกล่าวกับแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ พบว่าสามารถนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดได้แก่ ด้วงแรมมะพร้าว (*Oryctes rhinoceros*), มอดเจาะผลกาแฟ (*Hypothenemus hampei*) มวนโกโก้ (*Helopeltis* spp) เป็นต้น เสาวนิตย์ และคณะ (2553) ได้ทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ในห้องปฏิบัติการ โดยเน้นการควบคุมแมลงศัตรูมะพร้าว ได้แก่ หนอนด่างแรมมะพร้าว ,หนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว จากการดำเนินงานที่ผ่านมาได้เก็บรวบรวมเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จากแหล่งต่างๆ จำนวนทั้งสิ้น 10 ไอโซเลท และได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพเพื่อคัดเลือกไอโซเลทที่มีความเหมาะสม ซึ่งการทดสอบในเบื้องต้นได้ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมแมลงศัตรูมะพร้าวดังกล่าว

การดำเนินงานในปี 2554 ได้นำเชื้อราเขียวไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมหนอนด่างแตรคัตรูมะพร้าวมาขยายผลทดสอบในสภาพไร่ โดยศึกษาอัตราการใช้ที่เหมาะสม ผลที่ได้จะรวบรวมผลงานที่ได้เพื่อเผยแพร่ให้แก่เกษตรกรและผู้สนใจต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *M. anisopliae* สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร (DOA) และ กรมส่งเสริมการเกษตร (DOAE)
2. หนอนด่างแตรมะพร้าว
3. ข้าวโพดบดหยาบ
4. Potato Dextrose Broth (PDB)
5. กล้องเลี้ยงแมลง
6. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
7. เครื่องนับสปอร์ (Hemocytometer)
8. ตู้อุ่นเชื้อ
9. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
10. กล้องจุลทรรศน์
11. ปีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.
12. กระจกบอทวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.
13. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.
14. ถังซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 80 ซม. สูง 50 ซม. พร้อมฝาปิด จำนวน 56 ถัง
15. วัสดุที่ใช้ทำกล่อง ได้แก่ ปุ๋ยคอก และ ขุยมะพร้าว

### วิธีการ

#### 1. เลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม

นำเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่ผ่านการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการว่ามีประสิทธิภาพดีมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณ โดยเริ่มต้นจากการเลี้ยงในอาหารเหลว (PDB) ตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราเขียวประมาณ 1 X 1 ซม. ภายใต้อ่างในฟลาสก์อาหารเหลว (PDB) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 180/นาที เป็นเวลานาน 4 วัน ตรวจเช็คการปนเปื้อนของเชื้ออื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนจะนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบ โดยเตรียมเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ในอัตรา 5 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ

กระจายทั่วอาหาร นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 3$  °ซ.) เป็นเวลานาน 14 วัน เชื้อราเขียวจะเจริญเติบโตและสร้างโคนิเดียจนเต็มถุง จึงนำเชื้อที่ได้ไปทดสอบกับแมลงศัตรูพืชต่อไป

## 2. ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียวเมตาโรเซียมที่เหมาะสม

สิ่งทดลอง : เชื้อราเขียวเมตาโรเซียม สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร (DOA) และ สายพันธุ์กรมส่งเสริมการเกษตร (DOAE) อายุเชื้อ 14 วัน

แบบและวิธีการทดลอง: วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวเมตาโรเซียม (DOA) อัตรา 200 กรัม / 0.25 ลูกบาศก์เมตร

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวเมตาโรเซียม (DOA) อัตรา 400 กรัม/ 0.25 ลูกบาศก์เมตร

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวเมตาโรเซียม (DOA) อัตรา 600 กรัม/ 0.25 ลูกบาศก์เมตร

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวเมตาโรเซียม (DOA) อัตรา 800 กรัม / 0.25 ลูกบาศก์เมตร

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราเขียวเมตาโรเซียม (DOA) อัตรา 1,000 กรัม/ 0.25 ลูกบาศก์เมตร

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราเขียวเมตาโรเซียม (DOAE) อัตรา 1,000 กรัม/ 0.25 ลูกบาศก์เมตร

กรรมวิธีที่ 7 ใช้น้ำเปล่าเป็น control

ทำการทดลองใน 2 พื้นที่ คือ ต.สามเรือน อ. เมืองราชบุรี จ. ราชบุรี และที่ ต.โรงหีบ อ. บางคนที จ. สมุทรสงคราม ระหว่างวันที่ 26 เมษายน - 14 กันยายน 2554 โดยผสมปุ๋ยคอก และขุยมะพร้าว ในอัตรา 0.5 : 1 ลงในถังซีเมนต์ขนาดกว้าง 80 ซม. สูง 50 ซม. รดน้ำให้ชุ่มทิ้งไว้ประมาณ 1 - 2 อาทิตย์หรือจนกว่าไม่มีความร้อนเกิดขึ้นในส่วนผสมดังกล่าว จากนั้นนำเชื้อราเขียวที่เตรียมไว้ใส่ตามกรรมวิธีต่างๆ คลุกเชื้อราเขียวให้กระจายทั่วถังถึง ใส่หนอนดั่งแรมมะพร้าวในอัตรา 30 ตัว/ถัง รดน้ำเพื่อให้เกิดความชุ่มชื้น หาวสดุได้แก่ ทางมะพร้าวคลุมปากถังเพื่อรักษาความชื้นสังเกตการเป็นโรค ของหนอนในวันที่ 14 และ 28 ของการทดลอง จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์ผล

การบันทึกข้อมูล : เก็บรวบรวมข้อมูล และจดบันทึกความผิดปกติทั้งหมดที่เกิดขึ้นระหว่างทำการทดลอง

ได้แก่ - อาการและการเกิดโรคของแมลงที่ใช้ทดสอบ

- ระยะเวลาที่ทำให้เกิดโรค

: วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT

## เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2553 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2554
- ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ และแหล่งปลูกมะพร้าว ในพื้นที่ จ.ราชบุรี และจ.สมุทรสงคราม

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวกับหนอนด้วงแรดมะพร้าวที่ จ.ราชบุรี

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวทั้ง 3 ครั้ง ที่ ต.สามเรือน อ. เมืองราชบุรี จ. ราชบุรี พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวส่วนใหญ่ในวันที่ 28 ของการทดลอง เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวทั้ง 3 ครั้งค่อนข้างน้อย ส่วนใหญ่พบน้อยกว่า 50% การทดลองครั้งที่ 1 ในวันที่ 28 ของการทดลอง พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคของราเขียว DOA ในทุกอัตราที่ทำการทดลอง มีแนวโน้มการใช้ที่เหมาะสมอยู่ที่อัตรา 200, 400 และ 800 กรัม โดยแสดงเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไม่แตกต่างกันที่ 13.69, 5.98 และ 5.19% ตามลำดับ การทดลองครั้งที่ 2 ในวันที่ 28 ของการทดลอง พบแนวโน้มการใช้เชื้อราเขียว DOA ที่เหมาะสมอยู่ที่อัตรา 200, 400 และ 600 กรัม โดยแสดงเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไม่แตกต่างกันที่ 34.66, 57.12 และ 39.30% ตามลำดับ ส่วนการทดลองในครั้งที่ 3 พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไม่แตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ โดยการติดเชื้อที่ 14 วันอยู่ระหว่าง 0.86 – 2.72% และการติดเชื้อที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 14.98 – 28.43%

### การทดสอบประสิทธิภาพพราเขียวกับหนอนด้วงแรดมะพร้าวที่จ.สมุทรสงคราม

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวทั้ง 3 ครั้ง ที่ ต.โรงหีบ อ. บางคนที จ. สมุทรสงคราม พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อทั้งในวันที่ 14 และ 28 ของการทดลอง โดยพบการติดเชื้อมากที่สุดในวันที่ 28 ของการทดลอง การติดเชื้อราเขียวส่วนใหญ่จะพบมากกว่า 50% และการติดเชื้อที่พบมักจะเป็นไปในทิศทางเดียวกัน จากการทดลองครั้งที่ 1 พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียว ไม่แตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ ทั้งในวันที่ 14 และ 28 ของการทดลอง โดยการติดเชื้อราเขียวของ DOA ที่ 14 วันอยู่ระหว่าง 3.83 – 16.30% ไม่แตกต่างจากเชื้อของ DOAE และการไม่ใส่เชื้อ (control) ที่พบการติดเชื้อที่ 3.51% และ 0 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวของ DOA ที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 46.89 – 68.96% ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างจากเชื้อของ DOAE ที่พบการติดเชื้อที่ 57.06% การทดลองครั้งที่ 2 ให้ผลคล้ายการทดลองครั้งที่ 1 โดยในวันที่ 14 ของการทดลอง ยังคงพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวของ DOA ไม่มีความแตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ทดสอบ การติดเชื้ออยู่ระหว่าง 44.87 – 62.19% ส่วนเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวของ DOAE ค่อนข้างน้อยกว่าโดยอยู่ที่ 26.50% การติดเชื้อราเขียวของ DOA ที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 64.88 – 83.42% ในขณะที่การติดเชื้อราเขียวของ DOAE อยู่ที่ 62.37% การทดลองครั้งที่ 3 ยังคงมีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวคล้ายผลการทดลองใน 2 ครั้งแรก โดยยังคงพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวไม่มีความแตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ทดสอบ การติดเชื้อราเขียวของ DOA ที่ 14 วันอยู่ระหว่าง 19.57 – 41.01% ซึ่งมากกว่าการติดเชื้อราเขียวของ DOAE ที่ 18.76% และการติดเชื้อราเขียวของ DOA ที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 46.24 – 67.43% ส่วนการติดเชื้อราเขียวของ DOAE อยู่ที่ 58.65%

จากผลการวิเคราะห์หาอัตราการใช้เชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOA ที่เหมาะสม พบว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวไม่มีความแตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ทดสอบ จากผลการทดลองนี้การใช้เชื้อราเขียวที่อัตรา 200 กรัมต่อพื้นที่ 0.25 ลูกบาศก์เมตร น่าจะมีความเหมาะสม เนื่องจากมีแนวโน้มของการเกิดโรคที่ดีไม่แตกต่างจากการใส่ในอัตราที่มากกว่า นอกจากนี้ยังเป็นการประหยัดเชื้อ และลดต้นทุนการผลิตเชื้อ ซึ่งผล

การทดสอบเป็นไปในทางเดียวกันกับ มลิวัลย์ และคณะ (2529) ที่ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา เชี่ยวต่อด้วงแรดมะพร้าวที่ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร โดยใช้เชื้อราเขียวที่อัตรา 200, 400, 600, 800 และ 1,000 กรัม ต่อกองปุ๋ยหมักขนาด  $2 \times 2 \times 0.5$  เมตร และได้สรุปว่า อัตราการใช้ที่เหมาะสม คือ 200 – 400 กรัม โดยทำให้หนอนด้วงแรดเป็นโรคได้ 77.55 – 96.35% และเชื้อยังคงประสิทธิภาพได้นาน 6 – 12 เดือน

ผลการทดลองใช้เชื้อราเขียว DOA ทั้ง 2 พื้นที่ พบว่าได้ผลการทดสอบมีแนวโน้มการติดเชื้อไปในทางเดียวกันคือสามารถทำให้หนอนด้วงแรดเกิดการติดเชื้อได้ในทุกอัตราที่ใช้ทดสอบ แต่จะมีความแตกต่างกันในเปอร์เซ็นต์การติดโรค โดยพบว่าที่ จ.ราชบุรี เกิดการติดโรคน้อยกว่าที่ จ.สมุทรสงคราม ทั้งนี้เนื่องจากสภาพพื้นที่ และสภาพอากาศที่มีความแตกต่างกันในช่วงเวลาทดลอง โดยพื้นที่ทำการทดลองในเขต จ.ราชบุรี เป็นที่โล่งไม่ได้เป็นสภาพสวน แต่อยู่ในแหล่งที่มีการรับซื้อยอดมะพร้าวมีการกองส่วนที่เหลือใช้จากการตัดแต่งยอดมะพร้าวทำให้กลายเป็นแหล่งขยายพันธุ์ของหนอนด้วงแรด สภาพอากาศในเวลากลางวันค่อนข้างร้อน วัดอุณหภูมิเฉลี่ยในกองล่อได้  $32.42^{\circ}\text{C}$  ส่วนสภาพพื้นที่ในเขต จ.สมุทรสงคราม อยู่ในแหล่งปลูกมะพร้าวมีลักษณะเป็นร่องสวน สภาพอากาศในเวลากลางวันค่อนข้างเย็นกว่า เนื่องจากอยู่ใต้ร่มเงาของต้นมะพร้าว วัดอุณหภูมิเฉลี่ยในกองล่อได้  $29.50^{\circ}\text{C}$  จากลักษณะดังกล่าว ทำให้ผลการทดลองที่ได้เกิดความแตกต่างกัน โดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวในแปลงทดสอบ จ.สมุทรสงคราม เกิดขึ้นมากกว่าแปลงทดสอบใน เขต จ.ราชบุรี

และจากการทดลองมีการลดส่วนผสมของ ปุ๋ยคอก : มะพร้าวสับ จากเดิมที่ใช้ 1: 1 ปรับลดลงเป็น 0.5: 1 เนื่องจากพบว่าการใช้ปุ๋ยคอกมากเกินไป ทำให้ขบวนการหมักใช้เวลานาน และส่วนผสมเกิดความร้อนสูง เมื่อลดอัตราส่วนปุ๋ยคอกลงทำให้ขบวนการหมักใช้เวลาเร็วขึ้น และความร้อนที่เกิดในกองล่อสลายตัวได้เร็วทำให้ลดระยะเวลาในการทำการทดสอบให้เร็วขึ้น อย่างไรก็ตามจากการทดลองยังพบว่า ปริมาณเชื้อของ DOA ที่ใส่ไม่ได้สัมพันธ์ต่อการเกิดโรคนัก เนื่องจากส่วนใหญ่พบว่าหนอนด้วงแรดเกิดการติดโรคไม่แตกต่างกันในแต่ละการทดลอง การติดเชื้อส่วนใหญ่จะเกิดจากการคลุกส่วนผสมทั้งหมด และเชื้อราเขียวในถังซีเมนต์ ให้เข้ากันเพื่อให้เชื้อกระจายทั่วถังและมีโอกาสสัมผัสกับหนอนด้วงแรดมากที่สุด นอกจากนี้การให้ความชื้นกับส่วนผสมมีส่วนช่วยกระตุ้นให้โคนเดี่ยวของเชื้อออกและ infect เข้าไปในตัวเหยื่อได้ดีขึ้น จากผลการทดลองที่ จ.ราชบุรี และจ.สมุทรสงคราม ทั้ง 3 ครั้ง พบว่า ปริมาณเชื้อราเขียวที่ใส่แปรผกผันกับเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียว การเพิ่มปริมาณเชื้อราเขียวมากขึ้นไม่ทำให้เกิดการติดเชื้อเพิ่มขึ้นเสมอไป เปรียบเทียบจากการใส่เชื้อราเขียวของ DOA ที่อัตรา 1,000 กรัม ไม่ได้ทำให้การติดเชื้อราเขียวของหนอนด้วงแรดแตกต่างในทางสถิติจากการใส่เชื้อราเขียวของ DOA ที่อัตรา 200 กรัม ในทางตรงกันข้ามกลับทำให้เปอร์เซ็นต์การติดโรคของหนอนลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากในธรรมชาติมีจุลินทรีย์อยู่หลายชนิดทั้งเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ เมื่ออยู่ในพื้นที่จำกัด ทำให้เกิดการแข่งขันกันเพื่อแย่งอาหารและที่อยู่อาศัย จากปรากฏการณ์นี้ทำให้เกิดความผันผวนในกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่อยู่ในพื้นที่ดังกล่าว โดยพบว่าในธรรมชาติจุลินทรีย์ที่มีการเจริญเติบโตได้เร็วกว่า จะมีความสามารถและมีศักยภาพในการแข่งขันที่สูงกว่าจุลินทรีย์ที่มีการเจริญเติบโตช้ากว่า

(Anonymous, 2012) ราเขียวเป็นเชื้อราที่พบในดิน ซึ่งโดยปกติดินจะช่วยปกป้องแสงแดดซึ่งเป็นอันตรายต่อโคนินเดีย ทำให้โคนินเดียสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ นอกจากนี้ยังช่วยปกป้องไม่ให้เกิดความแห้ง อันเกิดจากอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงจากภายนอก แต่อย่างไรก็ดีในดินประกอบไปด้วยจุลินทรีย์ชนิดอื่นมากมายซึ่งอาจผลิตสารที่สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของโคนินเดียได้ (Boucias and Pendland, 1998)

และจากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวของ DOA และ DOAE ทั้ง 3 ครั้ง พบว่าเชื้อราเขียวของ DOA มีแนวโน้มทำให้หนอนดั่งแรมมะพร้าวเกิดการติดเชื้อได้ดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบขนาดโคนินเดียพบว่าเชื้อราเขียวของ DOA มีความยาวของโคนินเดียเชื้อมากกว่า เชื้อราเขียวของ DOAE จากข้อมูลที่ได้พบว่ามีคุณสมบัติคล้ายกับ Boucias and Pendland (1998) ที่กล่าวว่า เชื้อราเขียว *M. anisopliae* แบ่งออกเป็น 2 varieties ตามขนาดความยาวของโคนินเดีย คือ *M. anisopliae* var. major เป็น varieties ที่มีความยาวถึง 18  $\mu\text{m}$  มีความเฉพาะเจาะจงสูงกว่า ส่วนใหญ่ใช้ควบคุมแมลงในดิน โดยเฉพาะกลุ่มหนอนดั่ง ได้แก่ หนอนดั่งแรมมะพร้าว และ *M. anisopliae* var. *anisopliae* เป็น varieties ที่มีความยาวของโคนินเดียสั้นกว่าไม่เกิน 9  $\mu\text{m}$  เชื้อราเขียวสายพันธุ์นี้สามารถใช้ควบคุมแมลงได้หลายกลุ่ม เช่น กลุ่มด้วง ฝีเสื้อ ตั๊กแตน มวน และเพลี้ยต่างๆ แต่อย่างไรก็ดีควรมีการจำแนกสายพันธุ์ให้เกิดความชัดเจนต่อไปในอนาคต

### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวใน 2 พื้นที่ ทั้ง จ.ราชบุรี และจ.สมุทรสงคราม พบว่า เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวของหนอนดั่งแรมมีความแตกต่างกันโดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวในแปลงทดสอบ จ.สมุทรสงคราม เกิดขึ้นมากกว่าแปลงทดสอบในเขต จ.ราชบุรี เนื่องจากสภาพพื้นที่ และสภาพอากาศที่มีความแตกต่างกันในช่วงเวลาที่ทำการทดลอง โดยพื้นที่ในเขต จ.สมุทรสงคราม อยู่ในแหล่งปลูกมะพร้าวมีลักษณะเป็นร่องสวน สภาพอากาศในเวลากลางวันค่อนข้างเย็นกว่าจึงเกิดการติดเชื้อได้ดีกว่าในเขต จ.ราชบุรี ซึ่งเป็นที่โล่ง และมีสภาพอากาศในเวลากลางวันค่อนข้างร้อนกว่าจึงพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวน้อยกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOA ไม่มีความแตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ทดสอบ จากผลการทดลองนี้การใช้เชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOA ที่อัตรา 200 กรัมต่อพื้นที่ 0.25 ลูกบาศก์เมตร มีความเหมาะสมมากกว่า เนื่องจากมีแนวโน้มของการเกิดโรคที่ดีไม่แตกต่างจากการใส่เชื้อในอัตราที่สูงกว่า นอกจากนี้ยังเป็นการประหยัดเชื้อ สามารถลดต้นทุนการผลิตเชื้อที่ใช้ได้

การใส่เชื้อราเขียว DOA ที่อัตราต่างๆกัน พบว่าปริมาณเชื้อราเขียวที่ใส่แปรผกผันกับเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียว โดยพบการเพิ่มปริมาณเชื้อราเขียวมากขึ้นไม่ทำให้เกิดการติดเชื้อเพิ่มขึ้นเสมอไป ความแปรปรวนอาจเกิดขึ้นจากการแข่งขันกันเพื่อแย่งอาหารและที่อยู่อาศัย ของเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ เมื่ออยู่ในพื้นที่จำกัด นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOA มีความเฉพาะเจาะจงและมีแนวโน้มต่อการเกิดโรคของหนอนดั่งแรมมะพร้าวสูงกว่าเชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOAE

เมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าทั้ง 2 สายพันธุ์มีความแตกต่างกันที่ขนาดความยาวของโคนิเดีย โดยพบว่าเชื้อราเขียวของ DOA มีความยาวของโคนิเดียเชื้อมากกว่า เชื้อราเขียวของ DOAE ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลจากเอกสารอ้างอิงที่กล่าวถึงเชื้อราเขียวที่โคนิเดียมีความยาวมากจะมีความเฉพาะเจาะจงต่อหนอนดั่งแรมมะพร้าว มากกว่าพวกที่มีความยาวของโคนิเดียสั้น แต่อย่างไรก็ดีควรมีการจำแนกสายพันธุ์ให้เกิดความชัดเจนต่อไปในอนาคต

### เอกสารอ้างอิง

- มลิวัลย์ ปันยารชุน, สุรพล ตรุษานนท์, คนอง คลอดเพ็ง, อานุภาพ ธีรกุล และอำนาจ อิศรางกูร ณ อยุธยา. 2529. การศึกษาประสิทธิภาพเชื้อราเขียวต่อด้วงแรมมะพร้าว, น.1-17. ใน รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2529 กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, เกรียงไกร จำเริญมา และสาทิพย์ มาลี. 2553. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae*. น.842-853. ใน รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 เล่ม 2 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 1/2554 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Anonymous. 2012. Ecological Association/Interactions among Soil Microorganisms. Available. <http://agriinfo.in/?page=topic&superid=5&topicid=172> (January 18, 2012).
- Boucias, D.G. and J.C. Pendland. 1998. Principles of Insect Pathology. Kluwer Academic Publishers. 537 p.
- Kershaw, M.J., E.R. Moorhouse, R. Bateman, S.E. Reynolds and A.K. Charnley. 1999. The role of destruxins in pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insect. J. Invertebr. Pathol. 74: 213-223.
- Lezama-Gutiérrez, R., A. Trujillo-De la Luz, J. Molina-Ochoa, O. Rebolledo-Dominguez, A.R. Pescador, M. López-Edwards and M. Aluja. 2000. Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on *Anastrepha*



ludens (Diptera: Tephritidae): Laboratory and Field Trials. J. Econ. Entomol. 93: 1080-1084.

Rosa, W. DE LA, R. Alatorre, J.F. Barrera and C. Toriello. 2000. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) upon the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) under field conditions. J. Econ. Entomol. 93: 1409-1414.

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยจากการติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่แปลงทดสอบ ต.สามเรือน  
อ. เมืองราชบุรี จ. ราชบุรี ระหว่างวันที่ 26 เมษายน – 14 กันยายน 2554

อัตราที่ใช้	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยจากการติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม					
	การทดลองครั้งที่ 1		การทดลองครั้งที่ 2		การทดลองครั้งที่ 3	
	14 วัน	28 วัน	14 วัน	28 วัน	14 วัน	28 วัน
DOA 200 กรัม	0.00	13.69 a	0.00	34.66 ab	2.72 a	26.13 ab
DOA 400 กรัม	0.00	5.98 ab	0.00	57.12 a	1.73 a	14.98 ab
DOA 600 กรัม	0.00	0.86 b	0.00	39.30 ab	0.86 a	28.43 a
DOA 800 กรัม	0.00	5.19 ab	0.00	21.00 bc	0.00 a	20.91 ab
DOA 1,000 กรัม	0.00	0.83 b	0.00	25.78 bc	0.00 a	24.05 ab
DOAE 1,000 กรัม	0.00	1.70 b	0.00	6.31 c	0.00 a	16.10 ab
Control =ไม่ใส่เชื้อ	0.00	0.83 b	0.00	1.04 c	0.00 a	0.00 b
CV (%)	-	140.3	-	65.5	260.3	89.5

<sup>1/</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทดสอบโดยใช้ DMRT)

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยจากการติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่แปลงทดสอบ ต.โรงหีบ  
อ. บางคนที จ. สมุทรสงคราม ระหว่างวันที่ 26 เมษายน – 14 กันยายน 2554

อัตราที่ใช้	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยจากการติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม					
	การทดลองครั้งที่ 1		การทดลองครั้งที่ 2		การทดลองครั้งที่ 3	
	14 วัน	28 วัน	14 วัน	28 วัน	14 วัน	28 วัน
DOA 200 กรัม	4.88 a	64.00 a	48.22 ab	83.42 a	35.99 a	67.43 a
DOA 400 กรัม	14.09 a	60.69 a	62.19 a	81.40 a	20.11 ab	57.37 a
DOA 600 กรัม	3.83 a	68.96 a	53.93 ab	82.42 a	41.01 a	59.81 a
DOA 800 กรัม	13.00 a	54.17 a	61.01 a	78.37 ab	19.85 ab	46.24 a
DOA 1,000 กรัม	16.30 a	46.89 a	44.87 ab	64.88 ab	19.57 ab	46.71 a
DOAE 1,000 กรัม	3.51 a	57.06 a	26.50 bc	62.37 b	18.76 ab	58.65 a
Control =ไม่ใส่เชื้อ	0.00 a	1.96 b	0.00 c	0.00 c	1.28 b	0.00 b
CV (%)	132	39.2	43.4	17.7	65.4	28

<sup>1/</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ทดสอบโดยใช้ DMRT)