

# ผลของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM02 ต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันฟริก *Bactrocera latifrons* (Hendel)(Diptera: Tephritidae) ในห้องปฏิบัติการ

## Effect of *Metarhizium anisopliae* PSUM02 on mating behaviour of *Bactrocera latifrons* (Hendel)(Diptera: Tephritidae) in laboratory

หงส์ฟ้า แซ่เตื่อง<sup>1\*</sup> และ นริศ ท้าวจันทร์<sup>1</sup>

Hongfa Saetueang<sup>1\*</sup> and Narit Thaochan<sup>1</sup>

**บทคัดย่อ:** แมลงวันฟริก *Bactrocera latifrons* (Hendel) เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญทางเศรษฐกิจเข้าทำลายพืชทั่วทุกภาคของประเทศไทย การควบคุมแมลงวันผลไม้โดยชีววิธีด้วยเชื้อราก่อโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยจากการศึกษาผลของเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 ต่อพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันฟริก *B. latifrons* ที่ความหนาแน่นสปอร์  $1 \times 10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร พบว่าอัตราการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันฟริก *B. latifrons* เพศผู้ที่ติดเชื้อราเมื่ออัตราการจับคู่ผสมพันธุ์ที่ลดลงเหลือ  $0.43 \pm 0.30\%$  เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม  $8.86 \pm 1.26\%$  หลังการติดเชื้อรา 4 วันนอกจากนี้ไม่พบการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันฟริก *B. latifrons* เพศผู้ที่ติดเชื้อราในวันที่ 5 และ 6 หลังการติดเชื้อ

**คำสำคัญ:** *Bactrocera latifrons*, *Metarhizium anisopliae*, ฟริก

**ABSTRACT:** Solanum fruit flies, *Bactrocera latifrons* (Hendel), is a major economic pest damaged chili all over the country. Biological control of fruit flies with the fungus, *Metarhizium anisopliae*, is an efficiency and environmentally friendly. A study of the effect of *M. anisopliae* PSUM02 ( $1 \times 10^6$  spores per ml) on mating behavior of *B. latifrons* showed that the percentage of mating of infected adult male flies was decreased to  $0.43 \pm 0.30\%$  while compared with the control  $8.86 \pm 1.26\%$  at day 4 after treated. Additionally, the percentage of mating of infected ones was not detected on day 5 and day 6 after treated.

**Keywords:** *Bactrocera latifrons*, *Metarhizium anisopliae*, chili

### บทนำ

แมลงวันฟริก [*Bactrocera latifrons* (Hendel) (Diptera: Tephritidae)] เป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ พบการแพร่กระจายทั่วทุกภาคของประเทศไทย (มนตรี, 2544) แมลงวันฟริกชอบเข้า

ทำลายพืชในวงศ์ Solanaceae เช่น พริกชี้ฟ้า พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า มะเขือเปราะ มะเขือยาว มะเขือกรอบ มะเขือพวง และมะแว้ง เป็นต้น (Hardy, 1973) การเข้าทำลายของแมลงวันฟริกส่งผลกระทบต่อคุณภาพผลผลิต จำนวนผลผลิตต่อพื้นที่ และการส่งออกผลผลิต (อโนทัย และนุชรี, 2554) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องป้องกัน

<sup>1</sup> ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Department of Pest Management, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University

\* Corresponding author: narit.t@psu.ac.th

การเข้ามาทำลายผลผลิตพริกของแมลงวันพริก *B. latifrons* เพื่อลดความเสียหายที่เกิดขึ้นจากการเข้าทำลายของแมลงวันชนิดนี้

การควบคุมส่วนใหญ่นิยมเลือกใช้สารเคมี ซึ่งส่งผลให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในสภาพแวดล้อม และก่อให้เกิดผลกระทบต่อสัตว์เลี้ยงรวมถึงคนด้วยการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีถือเป็นวิธีการที่ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมและรวมทั้งสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย โดยเฉพาะการใช้เชื้อราก่อโรคของแมลง เช่น เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ที่มีรายงานการนำไปใช้ควบคุมแมลงวันผลไม้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (นริศ และอนุชิต, 2551) และมีผลต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ด้วย (Dimbi et al., 2009) การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาถึงผลของเชื้อราก่อโรคแมลง *M. anisopliae* PSUM02 ต่อพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันพริก *B. latifrons* เพื่อใช้ในการควบคุมและป้องกันการเข้าทำลายของแมลงวันพริก

### วิธีการศึกษา

#### การเตรียมเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*

นำเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 ที่ได้รับจากศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ศูนย์ภาคใต้ (นริศ, 2554) ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Saouraud Dextrose Agar plus Yeast (SDAY) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ  $27.0 \pm 2.0$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน หรือจนกว่าเชื้อราสร้างสปอร์จนสมบูรณ์ จากนั้นเตรียมสปอร์เชื้อราแขวนลอยในน้ำกลั่นหนึ่งขวดเชื้อ 100 มิลลิลิตรที่ผสมสาร Tween 80 ที่ความเข้มข้น 0.01% แล้วนับสปอร์ด้วย haemocytometer ให้ได้ความหนาแน่น  $1 \times 10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตัดแปลงจากวิธีการของ นริศ และอนุชิต (2551)

#### การเตรียมแมลงวันพริก *Bactrocera latifrons*

นำแมลงวันพริกที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติศูนย์ภาคใต้ ระยะตัวเต็มวัยเพศผู้ และเพศเมียอายุ 1 วัน หลังออกจากดักแด้ จำนวนเพศละ 100 ตัว แยกแมลงแต่ละเพศใส่กรงผ้ามุ้งขนาด  $30 \times 30 \times 30$  เซนติเมตร เพื่อหลีกเลี่ยง

การจับคู่ผสมพันธุ์ภายในกรงจัดน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำเป็นแหล่งอาหารของแมลงเลี้ยงจนแมลงมีอายุ 10 วัน

#### การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* PSUM02 ต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันพริก *Bactrocera latifrons* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

นำตัวเต็มวัยแมลงวันพริกเพศผู้ อายุ 10 วันที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์จำนวน 10 ตัว มาคลุกกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 ที่ความหนาแน่น  $1 \times 10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปปล่อยในกรงผ้ามุ้งขนาด  $30 \times 30 \times 30$  เซนติเมตร จากนั้นนำแมลงวันพริกเพศเมียอายุ 10 วัน จำนวน 10 ตัว และไม่ได้คลุกกับสปอร์ของเชื้อราใส่เข้าไปภายในกรงเดียวกัน ภายในกรงจัดน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำเป็นแหล่งอาหารของแมลง

เฝ้าสังเกตการณ์การจับคู่ผสมพันธุ์กันของแมลงวันพริกที่เวลา 18.00 – 21.00 น. (สัญญาณี และคณะ, 2551; Dimbi et al., 2009) โดยการใช้ไฟฉายแสงสีส้มในการส่องดูแมลงจับคู่ผสมพันธุ์ทุกวันหลังจากเริ่มปล่อยแมลงเข้ากรง บันทึกจำนวนแมลงวันพริกที่จับคู่ผสมพันธุ์กันและระยะเวลาที่ใช้ในการจับคู่ผสมพันธุ์ แมลงวันพริกที่ถูกนับว่าผสมพันธุ์กันต้องจับคู่กันนานเป็นเวลา 10 นาทีถึงถือว่าผสมพันธุ์กันอย่างสมบูรณ์ (Dimbi et al., 2009) และบันทึกจำนวนการตายของแมลงทุกวันเป็นเวลา 15 วัน

สำหรับแมลงที่ตายนำซากของแมลงไปวางในจาน Petri dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ที่รองด้วยกระดาษกรอง (Whatman® # 1) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ขึ้น รอจนกว่าเชื้อราเจริญบนซากของแมลงแล้วนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อยืนยันการตายของแมลงว่ามีสาเหตุการตายจากเชื้อรา *M. anisopliae* ทำจำนวน 10 ซ้ำ สำหรับชุดควบคุมคลุกแมลงวันพริกเพศผู้ด้วยน้ำกลั่นหนึ่งขวดและดำเนินการทดลองเช่นเดียวกัน

#### การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA และ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย independent sample *t*-test เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง

### สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติภาคใต้คณะทรัพยากรธรรมชาติมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

### ระยะเวลาทำการทดลอง

เดือนเมษายน ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2556

### ผลการศึกษา

การศึกษามูลของเชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* PSUM02 ต่อพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันฟริก *B. latifrons* ที่ติดสปอร์เชื้อราที่ความหนาแน่น  $1 \times 10^6$  สปอร์ต่อมิลลิเมตร พบว่าเชื้อรามีผลต่อพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันฟริก *B. latifrons* จากการศึกษาการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันฟริก *B. latifrons* จำนวน 6 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันฟริก *B. latifrons* เพศผู้ที่ติดเชื้อราที่มีอัตราการจับคู่ผสมพันธุ์ที่ลดลงตามระยะเวลาติดเชื้อที่เพิ่ม

มากขึ้น และไม่พบการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันฟริก *B. latifrons* ในวันที่ 5 และวันที่ 6 หลังจากการทดลองสำหรับเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันฟริก *B. latifrons* เพศผู้ในชุดควบคุม (คลุกด้วยน้ำเปล่า) พบเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ทั้ง 6 วันที่ทำการสำรวจ (Figure 1)

สำหรับอัตราการตายเฉลี่ยสะสมของแมลงวันฟริก *B. latifrons* ที่ติดสปอร์เชื้อราที่ความหนาแน่น  $1 \times 10^6$  สปอร์ต่อมิลลิเมตร แมลงวันฟริก *B. latifrons* เพศผู้ที่ติดเชื้อราที่มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมที่สูงกว่าแมลงวันฟริกเพศเมียที่อยู่ภายในกรงเดียวกัน แมลงวันฟริก *B. latifrons* ทั้งสองเพศมีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการติดเชื้อราที่เพิ่มมากขึ้น และพบอัตราการตายเฉลี่ยสะสมของแมลงวันฟริก *B. latifrons* ทั้งสองเพศ 100% ในวันที่ 9 หลังจากการติดเชื้อรา (Figure 2) เมื่อเปรียบเทียบอัตราการตายเฉลี่ยสะสมของแมลงวันฟริก *B. latifrons* เพศผู้และเพศเมียในชุดควบคุม (คลุกด้วยน้ำเปล่า) พบว่ามีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมของแมลงวันฟริก *B. latifrons* เพศผู้และเพศเมียต่ำกว่า 20.0% (Figure 2)

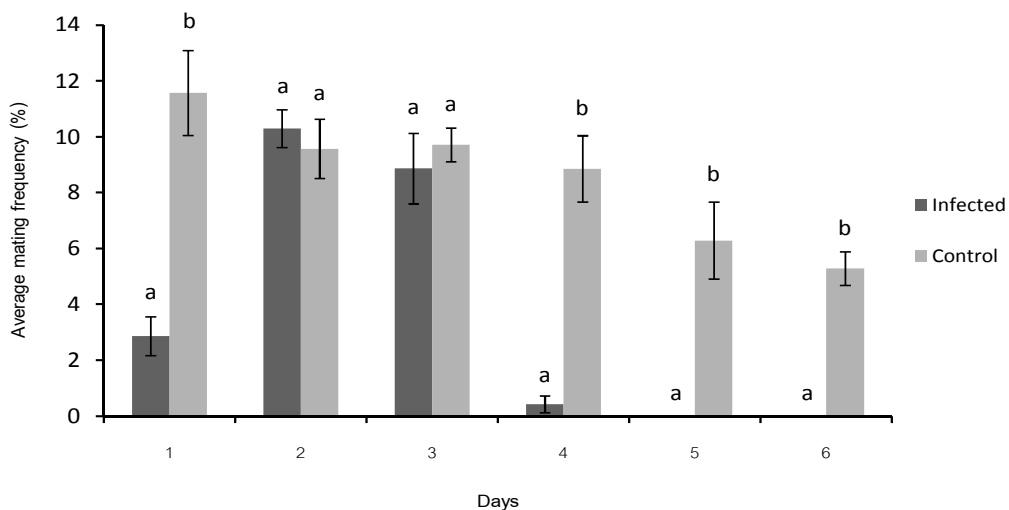


Figure 1 Percentage of mating (mean  $\pm$  SEM) adult male fly, *Bactrocera latifrons* Hendel, infected and uninfected (control) with *Metarhizium anisopliae* PSUM02. The percentage of mating was compared between infected and control flies of each observation day. The different letters are significantly different by independent sample *t*-test ( $P < 0.05$ ).

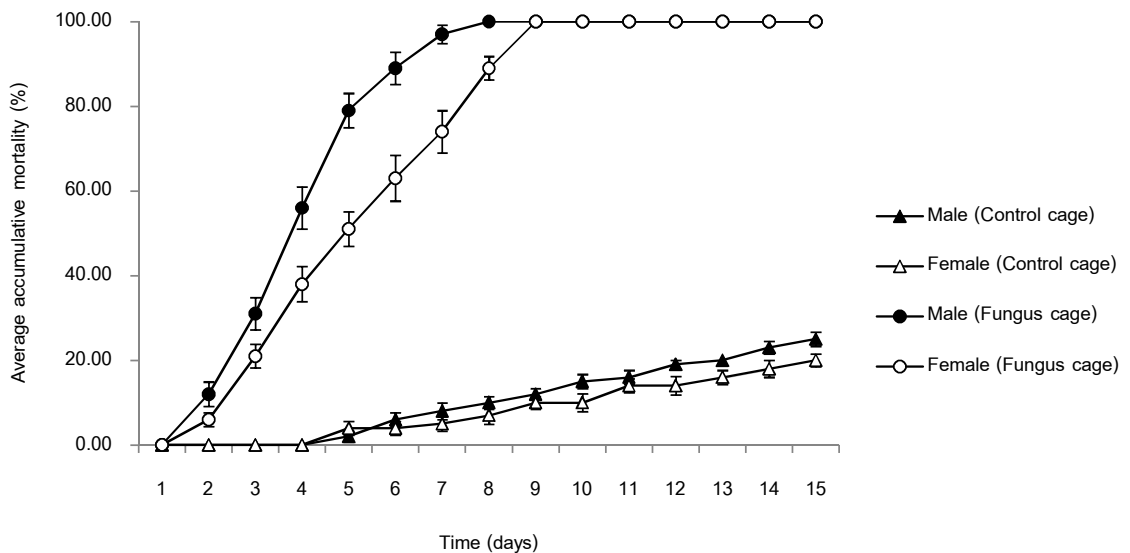


Figure 2 Average percentage accumulative mortality (mean  $\pm$  SEM) of adult male and female fly, *Bactrocera latifrons* Hendel, for each infected treatment (fungus cage) and uninfected treatment (control cage) with *Metarhizium anisopliae* PSUM02.

## วิจารณ์

เชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* PSUM02 ที่ความหนาแน่น  $1 \times 10^6$  สปอร์/มิลลิลิตรส่งผลต่อพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ที่ลดลงของแมลงวันฟริก *B. latifrons* เพศผู้ที่ติดเชื้อราเมื่อเปรียบเทียบกับเพศผู้ปกติของชุดควบคุมซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Dimbi et al., (2009) ที่นำเชื้อรา *M. anisopliae* ไปประยุกต์ใช้กับแมลงวันผลไม้ *Ceratitis capitata*, *C. cosyra* และ *C. fasciventris* โดยพบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ลดประสิทธิภาพในการจับคู่ผสมพันธุ์และเวลาที่ของการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ นอกจากนี้ยังพบว่าแมลงวันเพศผู้ที่ติดเชื้อราใช้ระยะเวลาในการเกี้ยวพาราสีก่อนจับคู่ผสมพันธุ์นานถึง 70-80 นาที ส่วนแมลงวันเพศผู้ปกติใช้ระยะเวลาในการเกี้ยวพาราสี 15-16 นาทีเท่านั้น ส่วนในแมลงวันผลไม้ *B. papaya* ที่ติดเชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* พบว่าความ

สามารถในการแข่งขันผสมพันธุ์กับแมลงวันผลไม้ปกติลดลงเช่นกัน (นริศ และคณะ, 2554) สาเหตุที่ทำให้แมลงวันผลไม้ที่ติดเชื้อราไม่เปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์และมีความสามารถในการแข่งขันผสมพันธุ์ลดลงใช้ระยะเวลาในการเกี้ยวพาราสีนานขึ้น เนื่องจากเชื้อราได้เข้าทำลายแมลง ทำให้แมลงมีการเคลื่อนไหวช้าลงหรือหยุดเคลื่อนไหว จึงส่งผลให้แมลงวันผลไม้ที่ติดเชื้อราไม่มีการผสมพันธุ์ ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับแมลงวันผลไม้ปกติ (ทิพย์วดี, 2533)

## สรุป

เชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 มีผลต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันฟริก *B. latifrons* เพศผู้ และแมลงวันฟริกเพศผู้ที่ติดเชื้อราสามารถแพร่กระจายเชื้อราไปสู่ประชากรเพศเมียปกติโดยผ่านการจับคู่ผสมพันธุ์ได้

### คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติคณะทรัพยากรธรรมชาติและบัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ขอขอบคุณศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติภาคใต้ และภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และสถานที่ตลอดการดำเนินการวิจัย

### เอกสารอ้างอิง

- ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2533. โรควิทยาของแมลง. ภาคกีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นริศ ท้าวจันทร์ และอนุชิต ชินาจริยวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพการควบคุมของเชื้อรา *Metarhiziumanisopliae* ในแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). วิทยาศาสตร์เกษตร(พิเศษ) 39:21-25.
- นริศ ท้าวจันทร์, อนุชิต ชินาจริยวงศ์ และ วิวัฒน์ เสือสะอาด. 2554. ผลของเชื้อราโรคแมลง *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ต่อพฤติกรรมการผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera papayae* (Diptera: Tephritidae). วิทยาศาสตร์เกษตร (พิเศษ) 42:339-342.
- มนตรี จิรสวรรค์. 2544. แมลงวันผลไม้ที่สำคัญของประเทศไทยและการแพร่กระจาย. ใน: แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด. กรุงเทพฯ.
- สัญญาณี ศรีคชา, วิภาดา ปลอดครบุรี และเกรียงไกร จำเริญมา. 2551. การศึกษาชีววิทยาของแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera latifrons* (Hendel). กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.
- อโนทัย วิงสระน้อย และ นุชรีย์ ศิริ. 2554. การทำลายของแมลงวันฟริก *Bactrocera latifrons* (Diptera: Tephritidae) ในผลฟริก 8 สายพันธุ์. แก่นเกษตร 39:25-32.
- Dimbi, S., N.K. Maniania, and S. Ekesi. 2009. Effect of *Metarhizium anisopliae* inoculation on the mating behavior of three species of African Tephritid fruit flies, *Ceratitis capitata*, *Certitis cosyra* and *Ceratitis fasciventris*. Biol. Control 50:111-116.
- Hardy, D.E. 1973. The fruit flies (Tephritidae – Diptera) of Thailand and bordering countries. Pac.Insects Monogr. 31:1-353.