

ผลของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM02 ต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ และการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae)

Effects of *Metarhizium anisopliae* PSUM02 on mating and surviving of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae)

ปาณิสรา ธรรมเสวตร¹ และ นริศ ท้าวจันทร์^{1*}
Panisa Thamsawet¹ and Narit Thaochan^{1*}

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของเชื้อราก่อโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* PSUM02 ที่ความหนาแน่น 1×10^6 สปอร์ต่อ มิลลิลิตร ต่อการจับคู่ผสมพันธุ์และการรอดชีวิตของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) พบว่า ตัวเต็มวัยแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราไม่เปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับเพศผู้ปกติในวันที่ 4 หลังจากการติดเชื้อ ตัวเต็มวัยของแมลงวันแตงเพศผู้ที่ติดเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่แมลงวันแตงเพศเมียปกติได้ และมีค่าการรอดชีวิตเฉลี่ยอยู่ที่ 6.16 ± 0.19 และ 11.10 ± 0.55 วัน ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมของตัวเต็มวัยของแมลงวันแตงเพศผู้และเพศเมียไม่มีการรอดชีวิตเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอยู่ที่ 14.26 ± 0.24 และ 14.48 ± 0.26 วัน ตามลำดับเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 มีผลให้การจับคู่ผสมพันธุ์และการรอดชีวิตของแมลงที่ติดเชื้อราลดลง

คำสำคัญ: *Bactrocera cucurbitae*, *Metarhizium anisopliae*, แมลงวันแตง, การผสมพันธุ์

ABSTRACT: The effects of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* PSUM02 at spore concentration at 1×10^6 spore/ml, on mating and surviving of *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) were studied. The infected adult male flies showed percentage of mating lower than healthy male flies at day four after treated. The infected ones transmitted the fungus to healthy adult female flies via their mating behaviour and gave average survival time (AST) value 6.16 ± 0.19 and 11.10 ± 0.55 days, respectively. While the healthy adult male and female flies in the control showed not significantly different in AST value 14.26 ± 0.24 and 14.48 ± 0.26 days, respectively. *M. anisopliae* PSUM02 reduced mating and surviving of infected flies.

Keywords: *Bactrocera cucurbitae*, *Metarhizium anisopliae*, melon fruit fly, mating

บทนำ

แมลงวันแตง (melon fruit fly) *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) เป็นแมลงวันผลไม้ชนิดหนึ่ง ที่ทำความเสียหายอย่างหนักให้กับผักและผลไม้ในเอเชีย (Nagappan *et al.*, 1971) แมลงวันแตงสามารถ

เข้าทำลายพืชผักได้มากกว่า 81 ชนิด (Dhillon *et al.*, 2005) โดยเฉพาะพืชตระกูลแตง เช่น แตงกวา แตงโม ตำลึง พัก แคนตาลูป และ บวบเหลี่ยม เป็นต้น (Shah *et al.*, 1948) ในประเทศไทยพบการแพร่กระจายของแมลงวันแตงทั่วทุกภาคของประเทศ (มนตรี, 2544; Allwood *et al.*, 1999) การป้องกันกำจัดแมลงวันแตง

¹ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

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

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

มีอยู่หลายวิธี ซึ่งการควบคุมโดยชีววิธี เช่น การใช้เชื้อราก่อโรคแมลง เป็นวิธีการหนึ่งที่ไม่ส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย และสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้เชื้อราก่อโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* ที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืช ปัจจุบันมีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย (Shan and Pell, 2003) ซึ่งเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 มีคุณสมบัติที่ดีในการเป็นเชื้อราก่อโรคแมลงและสามารถฆ่าแมลงวันผลไม้ได้ (นริศ, 2554) และความหนาแน่นที่เหมาะสมต่อการใช้เชื้อราโรคแมลงในการแพร่กระจายเชื้อราในประชากรของแมลงวันผลไม้ควรพิจารณาถึงความรุนแรงและสายพันธุ์ของเชื้อราด้วย (Toledo *et al.*, 2006) วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 ต่อการจับคู่ผสมพันธุ์และการรอดชีวิตของแมลงวันแดง *B. cucurbitae* เพื่อลดความเสียหายของผลผลิตจากการเข้าทำลายของแมลงวันแดง

วิธีการศึกษา

การเตรียมเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท PSUM02

นำเชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* PSUM02 ที่ได้จากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ศูนย์ภาคใต้ (นริศ, 2554) มาเพาะเลี้ยงในอาหาร Sabouraud Dextrose Agar plus Yeast (SDAY) ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 27.0±2.0 องศาเซลเซียส ในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ หรือจนกว่าเชื้อราสร้างสปอร์ จากนั้นเตรียมสปอร์เชื้อราแขวนลอยในน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ผสมสาร Tween 80 เข้มข้น 0.05% แล้วนับสปอร์ด้วย haemocytometer ให้ได้ความหนาแน่น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามวิธีการของ นริศ และอนุชิต (2551)

การเตรียมแมลงวันแดง *Bactrocera cucurbitae*

เก็บผลแดงที่ถูกแมลงวันแดงเข้าทำลายตามธรรมชาติมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ภาคใต้ จากนั้นนำแมลงวัน

แดงรุ่นลูก F1 ตัวเต็มวัยเพศผู้ และเพศเมีย อายุ 1 วัน หลังกออกจากดักแด้ แยกใส่กรงผ้าขนาด 30×30×30 เซนติเมตร จำนวนเพศละ 50 ตัว ภายในกรงมีน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำเป็นแหล่งอาหารของแมลง เลี้ยงแมลงวันให้ได้อายุ 10-15 วัน จึงนำไปทำการทดลอง

การถ่ายทอดเชื้อราผ่านการผสมพันธุ์ของแมลง

นำแมลงวันแดงเพศผู้ อายุ 10-15 วัน ที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ จำนวน 50 ตัว คลุกด้วยสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 ที่มีความหนาแน่น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด 11×11×6 เซนติเมตร ที่บริเวณฝาเจาะรูระบายอากาศ กล่องละ 1 ตัว จากนั้นนำแมลงวันแดงเพศเมีย จำนวน 1 ตัว ใส่เข้าไปในกล่องเดียวกับแมลงวันแดงเพศผู้ที่ผ่านการคลุกด้วยเชื้อรา ภายในกล่องมีน้ำตาลก้อน ยีสต์ และน้ำ เป็นแหล่งอาหารให้กับแมลง ส่วนชุดควบคุมคลุกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ

สังเกตการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแดงช่วงเวลา 18.00 - 21.00 น. (Dimbi *et al.*, 2009) โดยการใช้ไฟฉายหลอดฮาโลเจนแสงสีส้มในการส่องดูแมลงจับคู่ผสมพันธุ์ เป็นเวลา 5 วัน หลังจากปล่อยแมลงเข้ากล่องพลาสติก ในแต่ละวันบันทึกจำนวนแมลงวันแดงที่จับคู่ผสมพันธุ์กันอย่างสมบูรณ์ โดยต้องจับคู่ผสมพันธุ์นานอย่างน้อย 10 นาที (Dimbi *et al.*, 2009) และบันทึกการตายของแมลงทุกวัน เป็นเวลา 15 วัน สำหรับซากแมลงที่ตายนำไปฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 1% sodium hypochlorite ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อสามครั้งและซับด้วยกระดาษทิชชูปลอดเชื้อ วางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ที่รองด้วยกระดาษกรอง (Whatman® No. 1) ขึ้นที่ผ่านการฆ่าเชื้อเพื่อยืนยันว่าแมลงที่ตายมีสาเหตุมาจากเชื้อรา

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ระหว่างแมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อรากับแมลงวันแดงเพศผู้ปกติด้วยวิธี independent-samples *t* - test วิเคราะห์ค่า Kaplan-Meier analysis และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ภาคใต้ คณะทรัพยากรธรรมชาติมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา

ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

เดือนกันยายน ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2556

ผลการศึกษา

จากการเปรียบเทียบผลของเชื้อราก่อโรคแมลง *M. anisopliae* PSUM02 ต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ระหว่างแมลงวันแดง *B. cucurbitae* เพศผู้ที่ติดเชื้อรากับแมลงวันแดงเพศผู้ปกติ (Figure 1) พบว่า ในวันที่ 1 หลังจากการทดสอบ แมลงวันแดงเพศผู้ปกติมีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ที่แตกต่างจากแมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อราอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ 2 แมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อราและแมลงวันเพศผู้

ปกติมีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ในวันที่ 3 แมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ที่มากกว่าแมลงวันแดงเพศผู้ปกติ ($P < 0.05$) สำหรับวันที่ 4 แมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ที่ลดลงและไม่พบการจับคู่ผสมพันธุ์ในวันที่ 5 และ 6 หลังการทดสอบ แต่พบการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันแดงเพศผู้ปกติในวันดังกล่าว (Figure 1)

การวิเคราะห์ Kaplan-Meier ของค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของแมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อรา พบว่า มีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตต่ำที่สุด คือ 6.16 ± 0.19 วัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับชุดการทดลองอื่น ($P < 0.05$) (Table 1) รองลงมาคือ แมลงวันแดงเพศเมียที่อยู่ในกรงเดียวกับแมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อรามีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตเท่ากับ 11.10 ± 0.55 วัน ส่วนชุดควบคุมแมลงวันแดงเพศผู้และเพศเมียมีค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) เท่ากับ 14.26 ± 0.24 และ 14.48 ± 0.26 วัน ตามลำดับ โดยจำกัดจำนวนวันที่ทำการสำรวจ 15 วัน (Table 1)

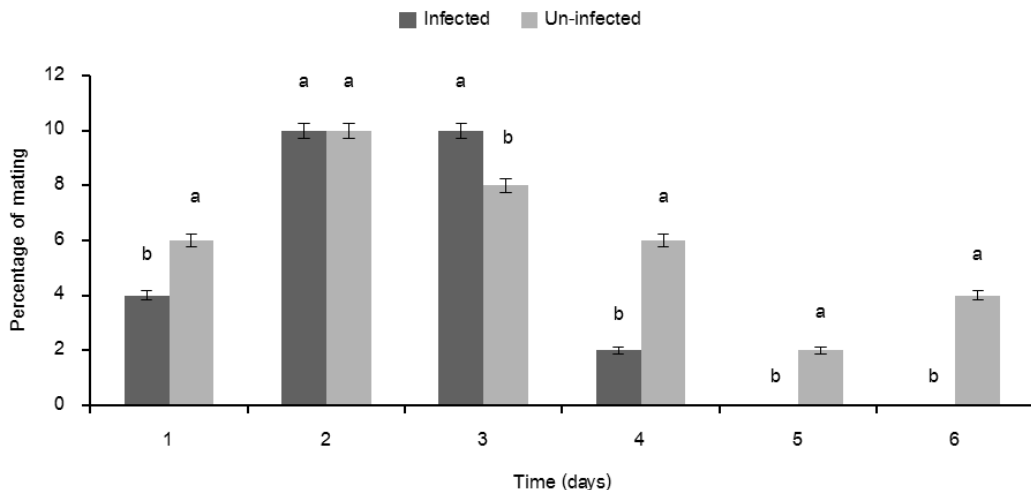


Figure 1 Percentage of mating (mean $\pm$ SEM) adult male fly, *Bactrocera cucurbitae* (Couquillet), infected and un-infected with *Metarhizium anisopliae* PSUM02. The percentage of mating in each day was compared with independence sample *t*-test.

Table 1 Kaplan-Meier analysis of average survival time (AST) of adult male and female *Bactrocera cucurbitae* (Couquillet) infected and un-infected with *Metarhizium anisopliae* PSUM02 in laboratory.

Assay	Insect	Average survival time (AST)	95% Confidence interval	
		(day) (mean $\pm$ SEM) ^{1/}	Lower	Upper
Treated cage	infected male	6.16 $\pm$ 0.19 ^a	5.82	6.54
	un-infected female	11.10 $\pm$ 0.55 ^b	10.19	12.40
Control cage	un-infected male	14.26 $\pm$ 0.24 ^c	13.56	14.95
	un-infected female	14.48 $\pm$ 0.26 ^c	13.93	15.03

^{1/}Data follow the same letter are not significantly different (DMRT test, $\alpha=0.05$). AST limited to 15 days

กราฟแสดงส่วนอัตราการรอดชีวิตของแมลงวันแดงเพศผู้และเพศเมีย พบว่า มีอัตราการรอดชีวิตลดลงตามระยะเวลาการติดเชื้อราที่เพิ่มมากขึ้น โดยไม่พบการรอดชีวิต ในวันที่ 8 หลังการติดเชื้อรา (Figure 2) ส่วนแมลงวันแดงเพศเมียที่อยู่ในกรงเดียวกับแมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อรา พบว่าแมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อราสามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่แมลงวันแดงเพศเมียได้

ทำให้แมลงวันแดงเพศเมียมีอัตราการรอดชีวิตลดลงโดยมีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 48% หลังการสำรวจเป็นเวลา 15 วัน ส่วนแมลงวันแดงเพศผู้และเพศเมียในชุดควบคุม มีอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกันเท่ากับ 86% และ 90% หลังการสำรวจ 15 วัน ตามลำดับ (Figure 2)

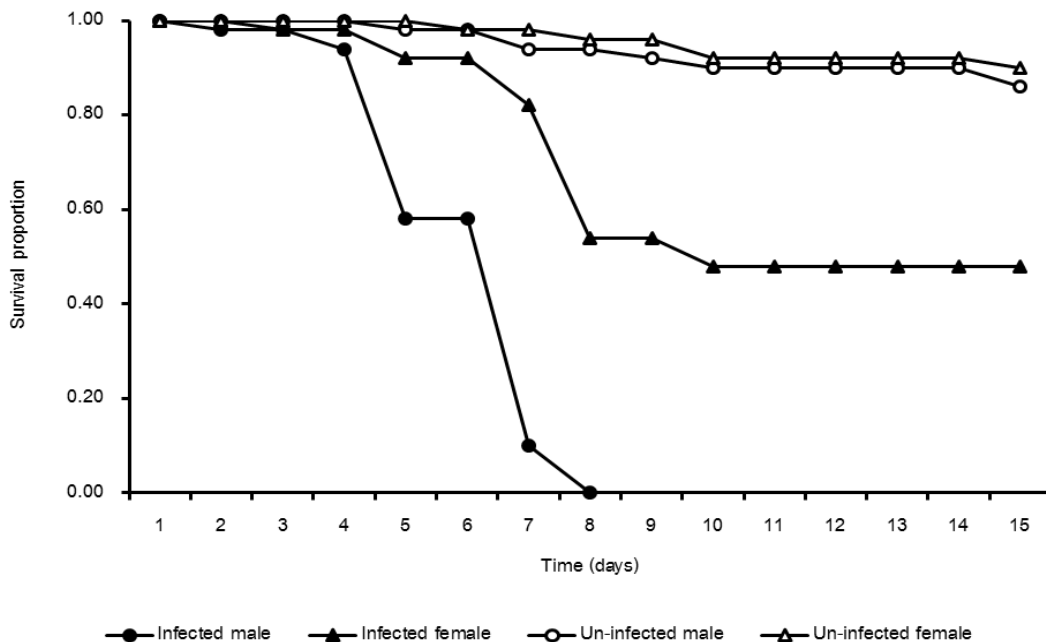


Figure 2 Kaplan-Meier curves analysis of adult male and female *Bactrocera cucurbitae* (Couquillet) infected and un-infected with *Metarhizium anisopliae* PSUM02 in laboratory.

วิจารณ์

เชื้อราก่อโรคแมลง *M. anisopliae* PSUM02 มีผลทำให้แมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อรา มีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Dimbi *et al.* (2009) ที่รายงานว่าแมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ติดเชื้อราเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์ช้ากว่าแมลงวันผลไม้เพศผู้ปกติ และมีผลต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ที่ลดลง นอกจากนี้เชื้อราส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของแมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อราและแมลงวันแดงเพศเมียที่อยู่ภายในกรงเดียวกันมีอัตราการรอดชีวิตลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ นริศ และคณะ (2554) พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. papayae* เพศผู้ที่ติดเชื้อราโรคแมลง *M. anisopliae* มีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์ลดลง นอกจากนี้พบแมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ผ่านมาการติดเชื้อรา 6 วัน มีเปอร์เซ็นต์การตาย 100% ส่วนแมลงวันผลไม้เพศเมียและเพศผู้ปกติที่อยู่ภายในกรงเดียวกันมีเปอร์เซ็นต์การตาย 84% และ 72% ตามลำดับ ในวันที่ 15 หลังการทดสอบ

สรุป

เชื้อราก่อโรคแมลง *M. anisopliae* PSUM02 มีผลทำให้แมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อรา มีเปอร์เซ็นต์การจับคู่ผสมพันธุ์และอัตราการรอดชีวิตของแมลงลดลง นอกจากนี้แมลงวันแดงเพศผู้ที่ติดเชื้อรา สามารถถ่ายทอดเชื้อราไปสู่แมลงวันแดงเพศเมีย โดยผ่านการจับคู่ผสมพันธุ์และทำให้แมลงวันแดงเพศเมียมีอัตราการรอดชีวิตลดลงเช่นกัน

คำขอขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถานีวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาติและบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ขอขอบคุณศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ภาคใต้ และภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และสถานที่ ตลอดจนการดำเนินการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- นริศ ท้าวจันทร์ และอนุชิต ชินาจริยวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพการควบคุมของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). วิทยาศาสตร์เกษตร (พิเศษ) 39: 21-25.
- นริศ ท้าวจันทร์ อนุชิต ชินาจริยวงศ์ และ วิวัฒน์ เลือะสะอาด. 2554. ผลของเชื้อราโรคแมลง *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ต่อพฤติกรรมผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera papayae* (Diptera: Tephritidae). วิทยาศาสตร์เกษตร (พิเศษ) 42: 339-342.
- นริศ ท้าวจันทร์. 2554. การคัดกรองเชื้อราโรคแมลงท้องถิ่นในเขตจังหวัดภาคใต้ตอนกลางเพื่อการควบคุมแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). รายงานการวิจัยภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- มนตรี จิรสรัตน์. 2544. แมลงวันผลไม้ที่สำคัญของประเทศไทยและการแพร่กระจาย. ใน: แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกัญและสัตววิทยา. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ ฯ.
- Allwood, A.J., A. Chinajariyawong, R.A.I. Drew, E.L. Hamacek, D.L. Hancock, C. Hengsawad, J.C. Jinapin, M. Jirasurat, C. Kong Krong, S. Kritsaneepaiboon, C.T.S. Leong and S. Vijaysegaran. 1999. Host plant records for fruit flies (Diptera: Tephritidae) in South-East Asia. Raffles B. Zool. 7: 1-99.
- Dhillon, M.K., R. Singh, J.S. Nareesh and H.C. Sharma. 2005. The melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae*: A review of its biology and management. J. Insect Sci. 5: 1-16.
- 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, *Ceratitidis capitata*, *Ceratitidis cosyra* and *Ceratitidis fasciventris*. Biol. Control. 50: 111-116.
- Nagappan, K., S. Kamalnathan, T. Santharaman and M.K. Ayyasamy. 1971. Insecticidal trials for the control of the melon fruit fly, *Dacus cucurbitae* Coq. infesting snake gourd, *Trichosanthes anguina*. Madras Agric. J. 58: 688-690.
- Shah, M.I., H.N. Batra and P.L. Ranjhen. 1948. Notes on the biology of *Dacus (Strumeta) ferrugineus* Fab. and other fruit flies in the North-West Frontier Province. Indian J. Entomol. 10: 249-266.
- Shan, P.A. and J.K. Pell. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. Appl. Microbiol. Biotechnol. 61: 413-423.
- Toledo, J., P. Liedo, S. Flores, S.E. Campos, A. Villaseñor and P. Montoya. 2006. Use of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for fruit fly control: A novel approach. Proceeding of the 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance 127-132.