รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **แผนงานวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ประโยชน์ของชีวภัณฑ์สู่เชิงพาณิชย์

2. **โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ

   กิจกรรม : การผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช

3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การเปรียบเทียบประสิทธิภาพรูปแบบการใช้ชีวภัณฑ์ราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงแรดในสภาพไร่

   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : The comparison of efficiency in Metarhizium biopesticide formulation for control Rhinoceros beetles in coconut plantations

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง	: เมธาสิทธิ์ คนการ	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้ร่วมงาน	: เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	ภัททิรา ศาตร์วงษ์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. **บทคัดย่อ**

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพรูปแบบการใช้ชีวภัณฑ์ราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงแรดในสภาพไร่ ทำการทดสอบในพื้นที่แปลงปลูกมะพร้าวน้ำหอมจำนวน 300 ไร่ ของเกษตรกร อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2560 ถึงเดือนกันยายน 2562 เพื่อหาวิธีการหรือรูปแบบการประยุกต์ใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *Metarhizium anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M5 ในสภาพไร่ ทำกองกับดักจำนวน 20 กอง วางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี โดยใช้วิธีการต่างๆ ได้แก่ การหว่านชีวภัณฑ์ราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบอัดเม็ด การพ่นเชื้อราเขียว การอัดเชื้อราเขียวลงกองกับดักโดยใช้เครื่อง Soil injection การ

ใส่เชื้อสด และการไม่ใส่เชื้อ ผลการทดสอบจากการเก็บข้อมูลในสภาพไร่ทั้ง 3 ครั้ง พบการติดเชื้อของหนอนด้วงแรดในสภาพธรรมชาติน้อยมาก โดยครั้งที่ 1 พบหนอนด้วงแรดติดเชื้อเมตาไรเซียมด้วยวิธีการพ่นเชื้อ 33.33 เปอร์เซ็นต์ ครั้งที่ 2 พบหนอนด้วงแรดติดเชื้อเมตาไรเซียมในการหว่านชีวภัณฑ์อัดเม็ด 2.04 เปอร์เซ็นต์ และการใส่เชื้อสด 3.85 เปอร์เซ็นต์ และในครั้งที่ 3 พบหนอนด้วงแรดติดเชื้อเมตาไรเซียมโดยวิธีพ่นเชื้อ 2.22 เปอร์เซ็นต์ วิธีการอัดเชื้อ 6.25 เปอร์เซ็นต์ และการใส่เชื้อสด 11.76 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามเมื่อนำหนอนจากกองกับดักแต่ละกรรมวิธีมาตรวจเชื้อแฝง (latent infection) พบว่าทุกกรรมวิธีที่เก็บมาติดเชื้อราเขียว 100 เปอร์เซ็นต์ ในห้องปฏิบัติการ ปัจจัยที่ทำให้หนอนด้วงแรดมีการติดเชื้อในสภาพธรรมชาติน้อยในการทดสอบครั้งนี้อาจเกิดจากหลายสาเหตุ ได้แก่ ขนาดกองกับดักไม่สัมพันธ์กับปริมาณเชื้อราเขียวที่ใส่ในกอง สภาพวัสดุในกองที่แห้งเกินไป ความชื้นในกองขณะทดสอบ รวมทั้งชนิดของด้วงแรดในพื้นที่ที่ทำการทดสอบ

Abstract

The comparison of efficiency in Metarhizium biopesticide formulation for control Rhinoceros beetles in coconut plantation which conducted in aroma coconut plantation 300 Rai in Cha-am, Phetchaburi Province during October 2560 - September 2562, for the suitable method for applied *Metarhizium anisopliae* strain DOA-M5. The experiment was conducted in artificial breeding sites (ABS) about 20 treatments on RCB with 4 replications following 5 treatment by using various treatment, for example, the scatter of Metarhizium BCA, spaying of Metarhizium spore solution, Soil injection by using spore solution from fresh culture and control. The results of 3 experiments were showed the low infected of larvae in the natural condition which first experiment was 33.3% by using spaying of spore solution treatment, second experiment was 2.04% by using the scatter of Metarhizium BCA treatment and 3.85% of fresh culture. The third experiment was 2.22% by using soil injection and 11.76%. However, the larvae which collected from all experiments were infected 100% in laboratory. The factors of infected larvae revealed very low number in the natural condition for this experiment which depended on the size of ABS interrelated with the number of fungal conidia, the condition of ABS which very dry and the relative humidity in ABS including the species of rhinoceros beetle in the area experiment.

6. คำนำ

การประยุกต์ใช้เชื้อราโรคแมลง (entomopathogenic fungi) ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อลดการใช้สารเคมีที่มีผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม เชื้อราเขียว *Metarhizium* spp. เป็นเชื้อราโรคแมลงที่มีความสามารถในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้และได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขว้างโดยทั่วไป สำหรับกรมวิชาการเกษตรนั้นได้มีรายงานการวิจัยผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M5 ที่มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันกำจัดด้วงแรดมะพร้าว (*Oryctes rhinoceros*) ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและอัตราการใช้ในสภาพไร่ (เสาวนิตย์ และคณะ, 2557) อย่างไรก็ตามงานวิจัยดังกล่าวยังขาดความสมบูรณ์ เนื่องจากยังไม่ได้นำไปประยุกต์ใช้ในสภาพไร่อย่างจริงจัง หรือรูปแบบ การนำไปใช้ในสภาพไร่ร่วมกับวิธีเกษตรผสมผสานแบบอื่นที่ถูกต้องมีประสิทธิภาพ และง่ายในการปฏิบัติงานของเกษตรกร

ดังนั้นการหาวิธีการหรือรูปแบบการปฏิบัติงานในการประยุกต์ใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M5 ในสภาพไร่เพื่อเป็นแนวทางลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชร่วมกับวีธีการต่างๆ โดยเฉพาะรูปแบบการฉีดพ่นสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เช่น Mist blower Soil injection และ Power sprayer จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อหาแนวทางที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม

7. วิธีดำเนินการ

- **อุปกรณ์**

1. เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *Metarhizium anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M5 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงแรด ในรูปแบบผง อัดเม็ด และเชื้อสด
2. Potato Dextrose Agar (PDA)
3. Potato Dextrose Broth (PDB)
4. เครื่องนับสปอร์ (Hemacytometer)
5. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)
6. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
7. ตู้เขี่ยเชื้อ
8. กล้องจุลทรรศน์
9. ที่ดูดสปอร์ (Micropipette)
10. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500 และ 1,000 มล.
11. กระบอกตวง ขนาด 250, 500 และ 1,000 มล.
12. ฟลาสก์ ขนาด 250 และ 500 มล.

- วิธีการ

1.การผลิตเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม

เลี้ยงขยายเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในอาหารเหลว (PDB) โดยตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราเขียวประมาณ 1 x 1 เซนติเมตร ถ่ายใส่ลงใน flask อาหารเหลว นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 180 รอบ/นาที เป็นเวลานาน 4 วัน ตรวจเช็คการปนเปื้อนของเชื้ออื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนจะนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบ โดยเตรียมข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27±3°ซ) เป็นเวลานาน 14 วัน

2. การเตรียมเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในรูปแบบผงอบแห้ง (dry conidia)

นำเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่เลี้ยงบนข้าวโพดบดหยาบ อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50±2°ซ เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นทำให้แห้งโดยวิธีดูดความชื้น (desiccator) ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 วัน แยกโดยใช้ตะแกรงร่อน นำเข้าเครื่องเขย่า เพื่อเก็บผงโคนิเดีย จากนั้นนำมาผงโคนิเดียผสมทัลคัมในอัตราส่วน (1 : 50) และเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น 7±2°ซ จนกว่าจะนำมาทดสอบ

3. การผลิตชีวภัณฑ์เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในรูปแบบอัดเม็ด

นำเชื้อราเขียวที่เลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณตามวิธีการในข้อที่ 1 มาผลิตในรูปแบบอัดเม็ดตามวิธีของ (เสาวนิตย์ และคณะ 2561) และเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น 7±2°ซ จนกว่าจะนำมาทดสอบ

แผนการทดลอง : วางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หว่านเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบเม็ด	อัตรา 400 กรัม/กองกับดัก
กรรมวิธีที่ 2 พ่นเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบผง โดยใช้เครื่องยนต์พ่นสารแบบสะพายหลัง	อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 อัดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบผงลงใน กองกับดัก โดยใช้เครื่อง Soil injection	อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 ใส่เชื้อสด	อัตรา 400 กรัม/กองกับดัก
กรรมวิธีที่ 5 ไม่ใส่เชื้อ	

หมายเหตุ : กรรมวิธีที่ 1 – 4 ความเข้มข้นโคนิเดียเชื้อ = 10^8 โคนิเดีย/กรัม

การทดสอบประสิทธิภาพ

ทำกองกับดัก โดยกั้นบ่อขนาดความจุ 2 x 2 x 0.50 เมตร ใส่เศษวัสดุจำพวกมะพร้าวสับและปุ๋ยคอกในอัตรา 2:1 ลงในบ่อให้เต็มคลุกส่วนผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 1-2 เดือน ตรวจนับจำนวนหนอนก่อนการใส่เชื้อราเขียวตามกรรมวิธีต่างๆ เมื่อพบหนอนจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพโดยใส่เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมตามกรรมวิธีต่างๆ หาวัสดุคลุมกองกับดักหลังจากพ่นเชื้อราเขียว ตรวจผลเดือนละ 1 ครั้ง (ประมาณ 1-2 เดือน)

การบันทึกข้อมูล

- นับจำนวนหนอนด้วงแรดที่ติดเชื้อเพื่อเปรียบเทียบในแต่ละกรรมวิธี
- บันทึกระยะเวลาในการทำให้หนอนด้วงแรดติดเชื้อในแต่ละกรรมวิธี
- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติที่เหมาะสม

- เวลาและสถานที่ : เริ่มต้น ตุลาคม 2560 สิ้นสุด กันยายน 2562

- กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
- แปลงปลูกมะพร้าวน้ำหอมของเกษตรกร อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพรูปแบบการใช้ชีวภัณฑ์ราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงแรดในสภาพไร่ ทำการทดสอบในพื้นที่แปลงปลูกมะพร้าวน้ำหอมจำนวน 300 ไร่ ของเกษตรกร อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี (รูปภาพที่ 1) จากการสำรวจพื้นที่เบื้องต้นโดยวิธีประเมินด้วยสายตา พบว่ามีการระบาดของด้วงแรดในแปลงมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ก่อนการทดสอบได้ข้อมูลจำนวนด้วงแรดในแปลงมะพร้าวจากการติดตั้งกับดักฟีโรโมนของเกษตรกรโดยใช้วิธีการ trapping pheromone ด้วยสารเคมี (ethyl-4-methyloctanoate) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการศึกษาจำนวนประชากรของด้วงแรดมะพร้าว และ Integrated Pest Management ในประเทศมาเลเซีย (Ramle *et al*., 2011 and Ramle and Kamarudin, 2014) เกษตรกรติดตั้งกับดักฟีโรโมน จำนวน 6 จุด รอบบริเวณแปลงปลูกมะพร้าว พบว่าในช่วงเดือนมกราคม – พฤษภาคม 2562 มีจำนวนประชากรด้วงแรดสร้างความเสียหายให้กับต้นมะพร้าวกระจายอยู่ทั่วพื้นที่ (ตารางที่ 1, รูปภาพที่ 2) และจากการตรวจสอบลักษณะพบเป็นด้วงแรดชนิดใหญ่ (large coconut beetle : *Oryctes gnu* Mohner) มากกว่าด้วงแรดชนิดเล็ก (coconut rhinoceros beetle : *Oryctes rhionoceros* L.) โดยพบเป็นด้วงแรดชนิดใหญ่ประมาณ 80-90 เปอร์เซ็นต์ และพบจำนวนด้วงแรดชนิดเล็กประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ (รูปภาพที่ 3) ซึ่งโดยปกติด้วงแรดชนิดใหญ่จะพบบริเวณจังหวัดชุมพรลงไปทางภาคใต้ (ซี.พี.ไอ, 2517)

การทดสอบวิธีการที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ดำเนินการทดสอบระหว่างเดือนตุลาคม 2560 ถึงเดือนกันยายน 2562 โดยการทำกองกับดัก (Artificial breeding site, ABC) จำนวน 20 กอง (รูปภาพที่ 4) กระจายในพื้นที่แปลงมะพร้าวเกษตรกร จากนั้นนำชีวภัณฑ์เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M5 (รูปภาพที่ 5) ทดสอบตามกรรมวิธีต่างๆ (รูปภาพที่ 6) วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี โดยใช้วิธีการต่างๆ ได้แก่ การหว่านชีวภัณฑ์เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบอัดเม็ด การพ่นเชื้อราเขียว (ตามรูปแบบกรรมวิธีการพ่นผงชีวภัณฑ์ Ramle *et al*. (2006)) การอัดเชื้อราเขียวลงกองกับดักโดยใช้เครื่อง Soil injection การใส่เชื้อสด และการไม่ใส่เชื้อ จากการเก็บข้อมูล 3 ครั้งในพื้นที่พบว่าหนอนด้วงแรดมีการติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในแต่ละกรรมวิธีมีจำนวนไม่มากทั้ง 3 ครั้ง (ตารางที่ 2) ดังนี้

ครั้งที่ 1 เก็บข้อมูลในวันที่ 26 กันยายน 2561 พบหนอนด้วงแรดติดเชื้อเมตาไรเซียมในกรรมวิธีที่ 2 (พ่นเชื้อผง) 33.33 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบการติดเชื้อของหนอนด้วงแรดในกรรมวิธีอื่นๆ ที่เหลือ

ครั้งที่ 2 เก็บข้อมูลในวันที่ 20 มิถุนายน 2562 พบหนอนด้วงแรดติดเชื้อเมตาไรเซียมในกรรมวิธีที่ 1 (ชีวภัณฑ์อัดเม็ด) 2.04 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่ 4 (เชื้อสด) 3.85 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบการติดเชื้อของหนอนด้วงแรดในกรรมวิธีอื่นๆ ที่เหลือ

ครั้งที่ 3 เก็บข้อมูลในวันที่ 8 สิงหาคม 2562 พบหนอนด้วงแรดติดเชื้อเมตาไรเซียมในกรรมวิธีที่ 2 (พ่นเชื้อผง) 2.22 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ 3 (อัดเชื้อผง) 6.25 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่ 4 (เชื้อสด) 11.76 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบการติดเชื้อของหนอนด้วงแรดในกรรมวิธีอื่นๆ ที่เหลือ

จากการเก็บข้อมูลทั้ง 3 ครั้ง พบหนอนด้วงแรดมีการติดเชื้อในสภาพธรรมชาติน้อยมาก การศึกษาในครั้งนี้จึงไม่สามารถนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบในแต่ละกรรมวิธีได้

และจากการเก็บข้อมูลในวันที่ 22 พฤษภาคม 2562 ไม่พบหนอนติดเชื้อในกองกับดักจึงได้เก็บตัวอย่างหนอนด้วงแรดที่ได้จากกองกับดักในสภาพธรรมชาติ กลับมาตรวจเชื้ออีกครั้งในห้องปฏิบัติการ โดยเก็บตัวอย่างในแต่ละกรรมวิธี จำนวน 20 ตัว/กรรมวิธี เพื่อตรวจสอบการติดเชื้อแฝง (latent infection) ในห้องปฏิบัติการ และพบว่าทุกๆ กรรมวิธีที่เก็บมาติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม 100 เปอร์เซ็นต์ในห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 3, รูปภาพที่ 7) โดยการติดเชื้อราเขียวจะเริ่มในวันที่ 7-8 หลังจากเก็บไว้ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าหนอนมีการติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในธรรมชาติแล้ว เพียงแต่ต้องการระยะเวลา อุณหภูมิ และความชื้น ในการพัฒนาของเชื้อในตัวแมลง

ผลการทดลองในครั้งนี้แตกต่างจากงานของเสาวนิตย์ และคณะ (2561) ซึ่งในครั้งนั้นได้ผลิตชีวภัณฑ์เมตาไรเซียมรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ด และมีการทดสอบใช้ในพื้นที่แปลงปลูกมะพร้าวใน จ.นครปฐม และจ.สมุทรสงคราม พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ด และเชื้อสด ในอัตรา 400 กรัม/กองกับดัก ขนาด 1.5 x 1.5 x 0.50 เมตร ทำให้หนอนด้วงแรดติดเชื้อราเขียวไม่แตกต่างกันที่ 63.7 และ 61.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการศึกษาในครั้งนี้ผลการทดลองพบหนอนมีการติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในธรรมชาติน้อยมาก และไม่สามารถเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละกรรมวิธีทดสอบได้ อาจเกิดจากสาเหตุต่างๆ ดังนี้

1. งานทดลองนี้ทำกองกับดักขนาด 2 x 2 x 0.50 เมตร ซึ่งมีความจุของกองกับดักมากกว่าขนาดกองกับดักในงานวิจัยของ เสาวนิตย์ และคณะ (2561) ที่ทำกองกับดักขนาด 1.5 x 1.5 x 0.50 เมตร เมื่อใส่เชื้อราเขียวในอัตรา 400 กรัม/กองกับดัก เท่ากับการทดลองเดิม อาจทำให้เชื้อที่ใส่กระจายได้ไม่ทั่วถึงทั่งกองกับดัก เนื่องจากขนาดกองที่ใหญ่กว่าเดิม

2. จากการเก็บข้อมูลในสภาพธรรมชาติ แปลงทดสอบเป็นมะพร้าวต้นเล็กไม่มีร่มเงา และมีการวางกองกับดักในพื้นที่โล่งกลางแจ้ง พบว่าเมื่อขุดลงไปในกองกับดัก กองกับดักในขณะที่ขุดมีสภาพค่อนข้างแห้งในกอง การให้น้ำเพิ่มความชื้นในกองกับดักเป็นแบบระบบน้ำหยด ซึ่งบางครั้งพบปัญหาการกระจายน้ำในกองไม่ทั่วถึง สภาพวัสดุในกองแห้ง ความชื้นน้อยไม่พอกระตุ้นให้เชื้อรางอกเข้าทำลายแมลง ซึ่งสภาพในแปลงทดลองครั้งนี้แตกต่างจากงานของเสาวนิตย์ และคณะ (2561) ซึ่งวางกองกับดักบริเวณแปลงมะพร้าวต้นใหญ่ บริเวณพื้นที่ที่วางกองกับดักมีร่มเงา วัสดุในกองมีความชื้นสูง และมีการคลุมกองด้วยทางมะพร้าวเพื่อรักษาความชื้นในกอง

3. การเก็บข้อมูลในสภาพไร่ ซึ่งมีสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องไม่สามารถตรวจสอบการติดเชื้อราเขียวได้ง่าย เนื่องจากเป็นการติดเชื้อราแบบแฝง (latent infection) บนตัวหนอนด้วงแรด หนอนอาจได้รับเชื้อแล้วแต่ยังไม่แสดงอาการติดเชื้อราให้เห็น หนอนในสภาพธรรมชาติมีความแข็งแรงสูง ดังนั้นการติดเชื้อตายในธรรมชาติต้องอาศัยระยะเวลาการเข้าทำลายมากกว่าในห้องปฏิบัติการ

4. ด้วงแรดที่พบในแปลงทดสอบครั้งนี้ส่วนใหญ่ที่พบเป็นด้วงแรดชนิดใหญ่ (large coconut beetle: *Oryctes gnu* Mohner) โดยปกติจะพบตั้งแต่จังหวัดชุมพรลงไปทางภาคใต้ (ซี.พี.ไอ, 2517) ซึ่งงานทดสอบชีวภัณฑ์ของ เสาวนิตย์ และคณะ (2561) เป็นงานทดสอบในเขตภาคกลางแถบ จ.นครปฐม และ จ.สมุทรสงคราม ซึ่งอาจมีความแตกต่างกันของชนิดด้วงที่ทำการทดสอบ ดังนั้นการใช้ปริมาณชีวภัณฑ์ตามอัตราที่กำหนดไว้เดิมที่แนะนำอาจต้องมีการปรับเปลี่ยนอัตราใหม่ให้เหมาะสมกับชนิดด้วงแรดที่ทำการศึกษา

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการเก็บข้อมูลทั้ง 3 ครั้ง พบหนอนด้วงแรดมีการติดเชื้อในสภาพธรรมชาติน้อยมาก การศึกษาในครั้งนี้ไม่สามารถนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบในแต่ละกรรมวิธีได้ ปัจจัยที่ทำให้หนอนด้วงแรดมีการติดเชื้อในสภาพธรรมชาติน้อยในการทดสอบครั้งนี้อาจเกิดจากหลายสาเหตุ ได้แก่ ขนาดกองกับดักไม่สัมพันธ์กับปริมาณเชื้อราเขียวที่ใส่ในกอง สภาพวัสดุในกองที่แห้งเกินไป ความชื้นในกองขณะทดสอบ รวมทั้งชนิดของด้วงแรดในพื้นที่ที่ทำการทดสอบ อย่างไรก็ตามเมื่อนำหนอนจากกองกับดักแต่ละกรรมวิธีมาตรวจเชื้อแฝง (latent infection) พบว่าทุกกรรมวิธีที่เก็บมาติดเชื้อราเขียว 100 เปอร์เซ็นต์ ในห้องปฏิบัติการ อาจเป็นเพราะหนอนในสภาพธรรมชาติมีความแข็งแรงสูง การติดเชื้อตายในธรรมชาติต้องอาศัยระยะเวลาการเข้าทำลายมากกว่าในห้องปฏิบัติการ และด้วงแรดในพื้นที่ที่ทำการทดสอบเป็นคนละชนิดกับที่เคยทดสอบในเขตภาคกลาง ดังนั้นอาจต้องมีการปรับเปลี่ยนอัตราการใส่เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมใหม่ให้มีความเหมาะสมกับชนิดด้วงแรดที่จะทำการศึกษาในโอกาสต่อไป

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ยังไม่สามารถให้คำแนะนำกับเกษตรกรได้ เนื่องจากยังขาดความสมบูรณ์ของข้อมูล จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงวิธีการประยุกต์ใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงแรดในสภาพไร่ ไม่ว่าจะเป็นกรรมวิธีใดๆ สิ่งสำคัญที่สุดคือ ขนาดกองกับดัก และปริมาณความเข้มข้นของชีวภัณฑ์ต้องมีความสัมพันธ์กัน นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงวัสดุที่ใส่ในกองกับดัก รวมทั้งความชื้นภายในกองกับดักที่มีความเหมาะสม จึงจะทำให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงแรดในสภาพธรรมชาติ

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาววรรณารัตน์ ตัญญะวังรัตน์ (ผู้จัดการแปลงบ้านมะพร้าวน้ำหอมชะอำ) ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่แปลงมะพร้าวน้ำหอมในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณนางสาวอุทุมพร จันสีทา ตำแหน่งนักวิชาการเกษตร และ นางสาวอาภรณ์รัตน์ ศรีสว่าง ตำแหน่งพนักงานประจำห้องทดลอง ที่ช่วยเก็บข้อมูลและทำให้งานวิจัยครั้งนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

12. เอกสารอ้างอิง

ซี.พี.ไอ. 2517. *ด้วงแรด ศัตรูปาล์มน้ำมัน ตัวฉกาจ*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล http://www.cpiagrotech.com/knowledge-009 (1 มีนาคม 2563) บริษัท ซีพีไอ อะโกรเทค จำกัด.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, ไพบูลย์ เปรียบยิ่ง, ประภาพร ฉันทานุมัติ, ยิ่งนิยม ริยาภันฑ์, ดารากร เป่าชู, อัมพร วิโนทัย และ ธีรชาติ วิชิตชลชัย. 2557. การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมและกับดักฟีโรโมนในการควบคุมด้วงแรดศัตรูมะพร้าวและปาล์มน้ำมัน. กรมวิชาการเกษตร. 17 หน้า.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, อิศเรส เทียนทัด, เมธาสิทธิ์ คนการ และ อนุสรณ์ พงษ์มี. 2561. การผลิตชีวภัณฑ์เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมแบบอัดเม็ดและการประยุกต์ใช้ในการกำจัดด้วงแรด (*Oryctes rhinoceros L*.). วารสารวิชาการเกษตร. 36(2): 199-210.

Ramle, M., M.B. Wahid, N. Kamarudin, S.R.A. Ali and N.H. Hamid. 2006. Research into the commercialization of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for biocontrol of oil palm rhinoceros beetle, *Oryctes rhinoceros* (Scarabaeidae), in oil palm. Journal of Oil Palm Research. Special Issue: 37-49.

Ramle, M., N.H. Kamarudin and B.W. Mohd. 2011. Trap for the auto dissemination of *Metarhizium anisopliae* in management of rhinoceros beetle, Oryctes rhinoceros. Journal of Oil Palm Research. 23: 1011-1017.

Ramle, M. and N. Kamarudin. 2014. The use of palm kernel cake in the production of conidia and blastospores of *Metarhizium anisopliae* var. major for control of Oryctes rhinoceros. Journal of Oil Palm Research. 26(2): 133-139.

ตารางที่ 1 จำนวนด้วงแรดมะพร้าวที่ได้จากการติดตั้งกับดักฟีโรโมนจำนวน 6 จุด รอบบริเวณแปลงปลูกมะพร้าวของเกษตรกร อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี ระหว่างเดือนมกราคม - พฤษภาคม 2562

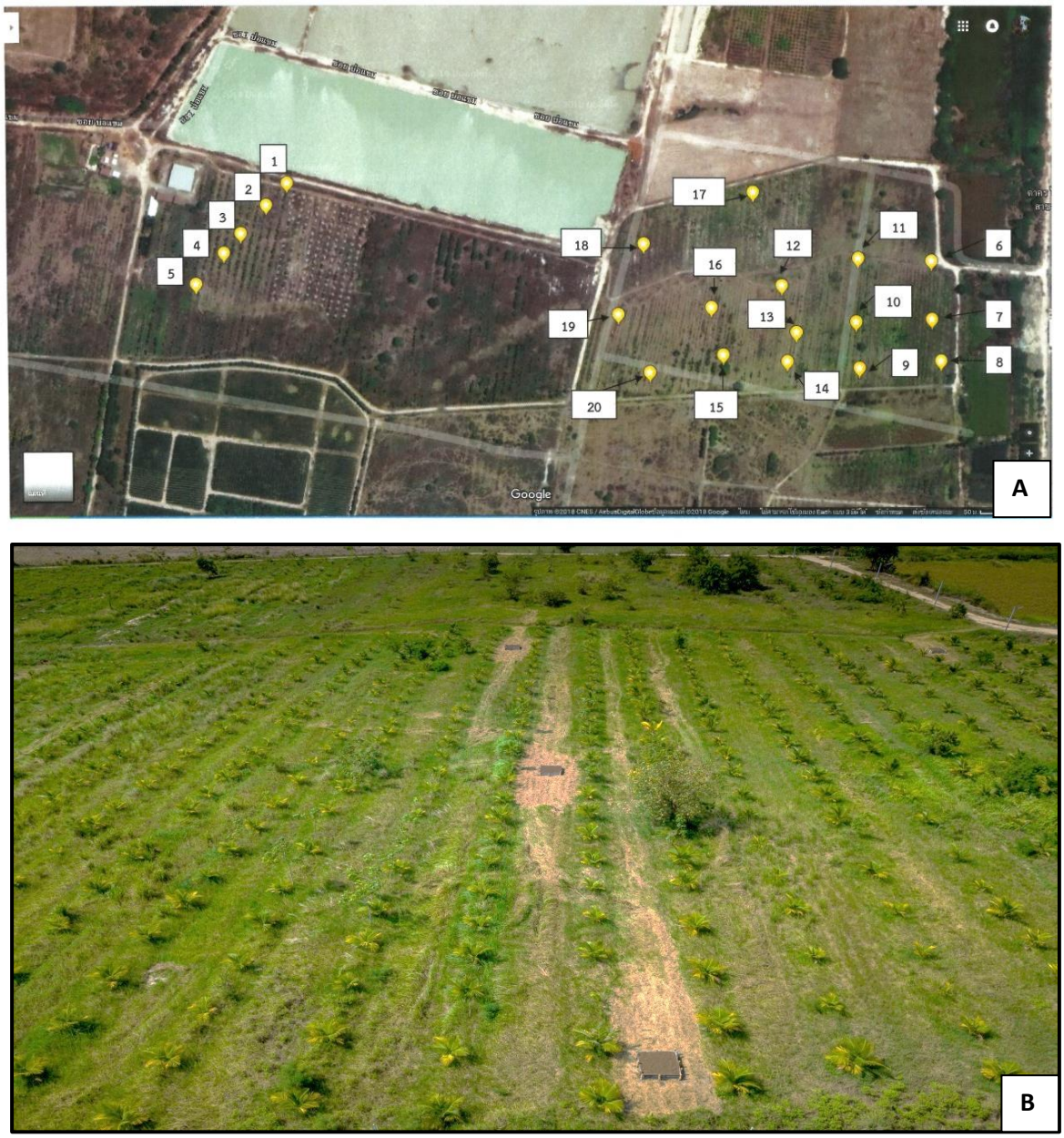
เดือน	**จำนวนตัวเต็มวัยด้วงแรด (ตัว)**
มกราคม	133
กุมภาพันธ์	29
มีนาคม	74
เมษายน	84
พฤษภาคม	70

ตารางที่ 2 ร้อยละของการพบหนอนด้วงแรดที่มีการติดเชื้อ จำแนกตามกรรมวิธีและลักษณะการติดเชื้อ จากการเก็บข้อมูล 3 ครั้ง ในพื้นที่แปลงมะพร้าวเกษตรกร อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี จำนวนกองกับดักทั้งหมด 20 กอง

กรรมวิธี	ครั้งที่ 1 (วันที่ 26 กันยายน 2561)				ครั้งที่ 2 (วันที่ 20 มิถุนายน 2562)				ครั้งที่ 3 (วันที่ 8 สิงหาคม 2562)			
	จำนวนหนอน (ตัว)	ไม่ติดเชื้อ	ติดเชื้อเมตาไรเซียม	ติดแบคทีเรีย	จำนวนหนอน (ตัว)	ไม่ติดเชื้อ	ติดเชื้อเมตาไรเซียม	ติดแบคทีเรีย	จำนวนหนอน (ตัว)	ไม่ติดเชื้อ	ติดเชื้อเมตาไรเซียม	ติดแบคทีเรีย
T1 ชีวภัณฑ์อัดเม็ด	1	1 (100%)	0	0	245	239 (97.55%)	5 (2.04%)	1 (0.41%)	2	2 (100%)	0	0
T2 พ่นเชื้อผง	6	3 (50%)	2 (33.33%)	1 (16.67%)	146	146 (100%)	0	0	45	41 (91.11%)	1 (2.22%)	3 (6.67%)
T3 อัดเชื้อผงลงกองกับดัก	30	30 (100%)	0	0	141	141 (100%)	0	0	32	30 (93.75%)	2 (6.25%)	0
T4 เชื้อสด	4	4 (100%)	0	0	78	75 (96.15%)	3 (3.85%)	0	17	15 (88.24%)	2 (11.76%)	0
T5 ไม่ใส่เชื้อ	25	25 (100%)	0	0	182	182 (100%)	0	0	8	8 (100%)	0	0

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (*M. anisoliae* สายพันธุ์ DOA-M5) ของหนอนด้วงแรดมะพร้าวหลังจากการเก็บตัวอย่างแต่ละกรรมวิธีในแปลง เมื่อวันที่ 22 พฤษภาคม 2562 มาตรวจสอบการติดเชื้อแฝงในห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	**จำนวนหนอนด้วงแรด**	**เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม**
T1 ชีวภัณฑ์อัดเม็ด	20	100
T2 พ่นเชื้อผง	20	100
T3 อัดเชื้อผงลงกองกับดัก	20	100
T4 เชื้อสด	20	100
T5 ไม่ใส่เชื้อ	20	0



รูปภาพที่ 1 ลักษณะแปลงมะพร้าวน้ำหอม จำนวน 300 ไร่

A = ตำแหน่งกองกับดัก จำนวน 20 กับดัก

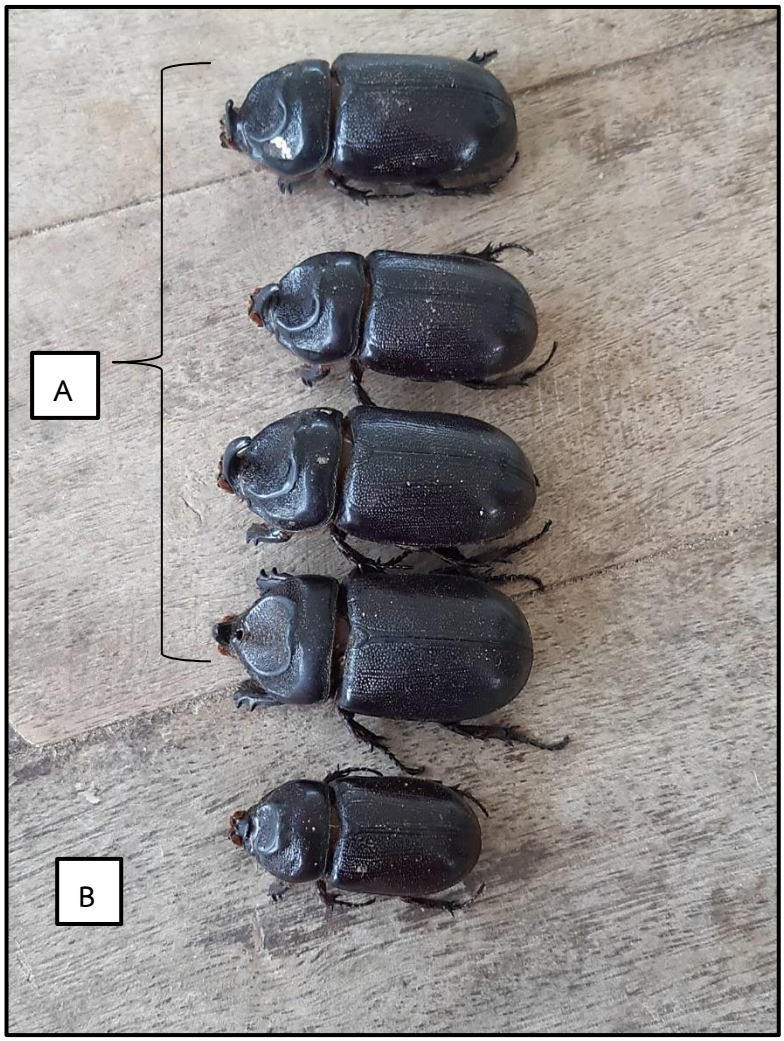
B = ลักษณะกองกับดัก

รูปภาพที่ 2 ลักษณะของต้นและใบมะพร้าวที่เสียหายจากการเข้าทำลายของตัวเต็มวัยด้วงแรดมะพร้าว

A และ B = ต้นมะพร้าวที่ถูกด้วงแรดเข้าทำลาย

C = ลักษณะตัวเต็มวัยด้วงแรดมะพร้าว

D = ใบมะพร้าวที่ถูกด้วงแรดเข้าทำลาย

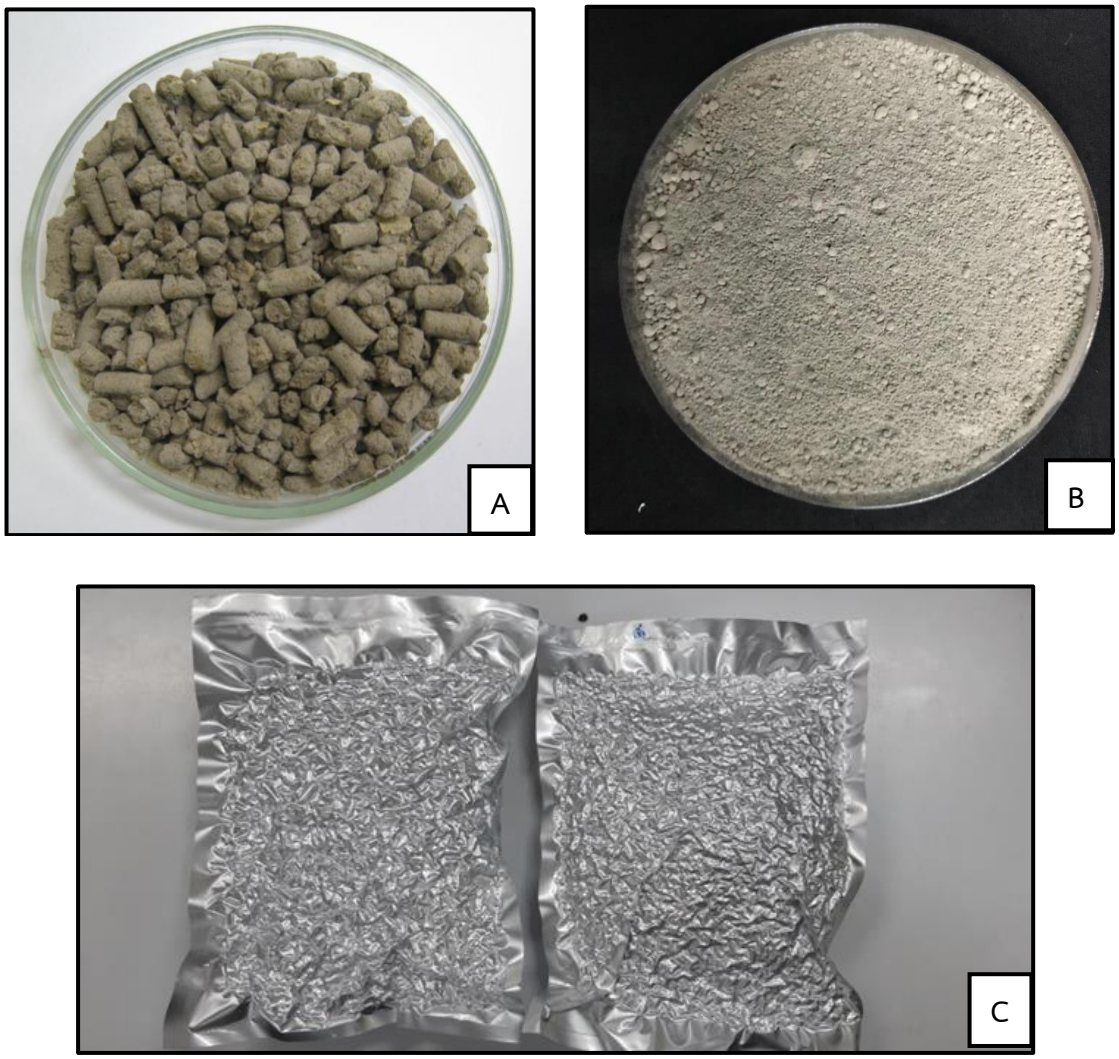


รูปภาพที่ 3 ลักษณะของด้วงแรดมะพร้าว

A. ด้วงแรดชนิดใหญ่ (Large coconut beetle: *Oryctes gnu* Mohner)

B. ด้วงแรดชนิดเล็ก (Coconut rhinoceros beetle: *Oryctes rhionoceros* L.)

รูปภาพที่ 4 ลักษณะกองกับดักตัวเต็มวัยด้วงแรดมะพร้าว



รูปภาพที่ 5 ชีวภัณฑ์เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M5

A = ลักษณะเชื้อสดอัดเม็ด

B = ลักษณะเชื้อผง

C = การเก็บรักษาชีวภัณฑ์เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ด

รูปภาพที่ 6 การประยุกต์ใช้เชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M5 ตามกรรมวิธีต่างๆ

A = กรรมวิธีอัดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบผงลงในกองกับดัก โดยใช้เครื่อง Soil injection

B = กรรมวิธีพ่นเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบผง โดยใช้เครื่องยนต์พ่นสารแบบสายหลัง

C = กรรมวิธีใส่เชื้อสด

D = กรรมวิธีหว่านเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบเม็ด

รูปภาพที่ 7 ลักษณะหนอนด้วงแรดมะพร้าวที่ติดเชื้อ *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA-M5