รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **ชุดโครงการวิจัย** : โครงการวิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี
2. **โครงการวิจัย** : การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช
   กิจกรรม : การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืช
3. **การทดลอง** : การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม; *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก; *Phyllotreta sinuata* Stephens)
   : Efficacy test of a green muscadine fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin to control *Phyllotreta sinuata* (Stephens)

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

ชื่อหัวหน้าโครงการ	อัมพร วิโนทัย	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ชื่อ หัวหน้าการทดลอง	เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ชื่อผู้ร่วมงาน	อิศเรส เทียนทัด	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	วิไลวรรณ เวชยันต์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. **บทคัดย่อ**

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก *Phyllotreta sinuata* (Stephens) ทำการวิจัยในช่วงในเดือนตุลาคม 2554 - กันยายน 2556 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร การดำเนินงานในปีงบประมาณ 2555 ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพราเขียวเมตาไรเซียมจำนวน 10 ไอโซเลท ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการในการควบคุมด้วงหมัดผัก วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 11 กรรมวิธี 4 ซ้ำ (1 ซ้ำ = ใช้ด้วง 20 ตัว/กล่อง) เตรียมกล่องเลี้ยงแมลงขนาด 7 x 10 ซ.ม. จำนวน 44 กล่อง ใส่ฟองน้ำและต้นอ่อนกวางตุ้งลงในแต่ละกล่อง เตรียมสารแขวนลอยโคนิเดียราเขียวไอโซเลท M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 และM9 โดยปรับความเข้มข้นโคนิเดียให้เท่ากันทุกไอโซเลทที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. พ่นเชื้อไอโซเลทละ 4 กล่อง (4 ซ้ำ) ส่วนกรรมวิธีควบคุมพ่นด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ผลการทดสอบพบว่าราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M3, M5, M7, M8, M2, M9, M1, M0 และ M6 มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อราเขียวได้ดีไม่แตกต่างกันในทางสถิติ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เฉลี่ย 100, 100, 100, 97.50, 95, 91.25, 90, 88.75 และ 85% ตามลำดับ ส่วนไอโซเลท M4 ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อราเขียวน้อยที่สุดที่ 73.75%

ต่อมาในปีงบประมาณ 2556 ได้เลือกราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M3 เพื่อใช้ขยายผลหาอัตราการใช้ที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักในสภาพไร่ โดยทำการทดลองใน 2 พื้นที่คือที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี และแปลงเกษตรกรที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 5

กรรมวิธี 4 ซ้ำ ผลการดำเนินงานในเบื้องต้นพบว่าการใช้ราเขียวไอโซเลท M3 ยังไม่สามารถควบคุมประชากรด้วงหมัดผักได้ทั้ง 2 พื้นที่ ซึ่งอาจเกิดจากระยะเวลาและเทคนิคการใช้ที่ไม่เหมาะสม ในอนาคตน่าจะได้มีการทดลองซ้ำ ซึ่งอาจจะต้องเพิ่มระยะเวลาและเพิ่มอัตราการใช้ราเขียวเมตาไรเซียมให้มากขึ้น ตลอดจนการเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสมในการใช้เชื้อราชนิดนี้

6. คำนำ

ปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจงานด้านการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชทางชีวภาพมากขึ้น วิธีการหนึ่งที่ได้รับความสนใจคือการนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ซึ่งนอกจากมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของตัวเกษตรกรผู้ใช้รวมทั้งผู้บริโภคแล้ว ยังไม่ทำให้เกิดพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในสภาพแวดล้อม

ราเขียวเมตาไรเซียม (*Metarhizium anisopliae*) (Metsch) Sorokin เป็นจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ อยู่ใน Phylum: Ascomycota เชื้อราในกลุ่มนี้มักจะเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรค “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)

ในเมืองไทยมีการศึกษาการนำเชื้อราเขียวมัสคาดีนในการควบคุมแมลงศัตรูพืชมากมาย จากรายงานผลงานค้นคว้าวิจัยตั้งแต่ปี 2525 -2539 โดยมลิวัลย์ ปันยารชุน กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา ได้ทำการศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราดังกล่าวกับแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ พบว่าสามารถนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดได้แก่ ด้วงแรดมะพร้าว; *Oryctes rhinoceros*, มอดเจาะผลกาแฟ; *Hypothenemus hampei*, มวนโกโก้; *Helopeltis* spp. เป็นต้น การดำเนินงานที่ผ่านมาได้เก็บรวบรวมเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จากแหล่งต่างๆ จำนวนทั้งสิ้น 10 ไอโซเลท และได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพเพื่อคัดเลือกไอโซเลทที่มีความเหมาะสม งานวิจัยของ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 - กันยายน 2553 ได้ทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพราเขียวเมตาไรเซียม *Metarhizium anisopliae* ในห้องปฏิบัติการ โดยเน้นการควบคุมแมลงศัตรูมะพร้าว ได้แก่ หนอนด้วงแรดมะพร้าว, หนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว ซึ่งผลการทดสอบ ทำให้ได้ไอโซเลทเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมแมลงศัตรูมะพร้าวดังกล่าว (เสาวนิตย์ และคณะ, 2553) ในปี 2554 ได้มีการขยายผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว ในแหล่งปลูกมะพร้าว 2 พื้นที่คือ ต.สามเรือน อ. เมืองราชบุรี จ.ราชบุรี และ ต.โรงหีบ อ. บางคนที จ. สมุทรสงคราม โดยทำการทดสอบ 3 ครั้ง ผลการทดสอบพบว่าการใช้ราเขียวอัตรา 200 กรัม/ถังซีเมนต์ (ความจุ 0.25 ลูกบาศก์เมตร) มีความเหมาะสมในการใช้ นอกจากจะประหยัดเชื้อแล้ว ยังเป็นการลดการใช้เชื้อราเขียวเกินความจำเป็น และยังสามารถลดต้นทุนค่าใช้จ่ายและแรงงานในการผลิตเชื้ออีกด้วย (เสาวนิตย์ และคณะ, 2554)

การดำเนินงานในปี 2555 - 2556 จะได้นำราเขียวในห้องปฏิบัติการทั้ง 10 ไอโซเลทมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชอื่นๆ โดยในปี 2555 ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพราเขียวทั้ง 10 ไอโซเลท กับด้วงหมัดผักในห้องปฏิบัติการ และในปี 2556 ได้คัดเลือกเชื้อราเขียวที่มีประสิทธิภาพดีมาขยายผลทดสอบต่อในสภาพไร่

วัตถุประสงค์ของการทดลอง

- เพื่อคัดเลือกไอโซเลทเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *(Metarhizium anisopliae)* ที่มีในห้องปฏิบัติการ จำนวน 10 ไอโซเลท ในการควบคุมด้วงหมัดผัก; *Phyllotreta sinuata* (Stephens) ในห้องปฏิบัติการ
- เพื่อทดสอบประสิทธิภาพไอโซเลทเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *M. anisopliae* ที่ผ่านการคัดเลือกจากห้องปฏิบัติการในปี 2555 มาขยายผลหาอัตราการใช้ที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักในสภาพไร่

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์
    1. เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *M. anisopliae* จำนวน 10 ไอโซเลท คือ M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 และM9
    2. แมลงศัตรูพืช ได้แก่ ด้วงหมัดผัก
    3. ข้าวโพดบดหยาบ
    4. Potato Dextrose Broth (PDB)
    5. กล่องเลี้ยงแมลง
    6. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
    7. เครื่องนับสปอร์ (Hemacytometer)
    8. ตู้เขี่ยเชื้อ
    9. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
    10. กล้องจุลทรรศน์
    11. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.
    12. กระบอกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.
    13. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.
    14. สารกำจัดแมลง fipronil 5% SC 50 มล./ น้ำ 20 ลิตร
    15. แปลงเกษตรกรที่พบการระบาดของด้วงหมัดผัก
    16. ใบกวางตุ้ง
    17. เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัว

การดำเนินงานในปี 2555

การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในห้องปฏิบัติการ

แบบและวิธีการทดลอง: วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ11 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M0

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M1

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M2

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M3

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M4

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M5

กรรมวิธีที่ 7 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M6

กรรมวิธีที่ 8 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M7

กรรมวิธีที่ 9 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M8

กรรมวิธีที่ 10 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M9

กรรมวิธีที่ 11 น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

เตรียมอาหาร PDA และ PDB เลี้ยงเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ทั้ง 10 ไอโซเลท เพื่อใช้เป็น stock วางแผนการทดลองแบบ CRD 11 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ใช้ด้วงหมัดผักในการทดสอบซ้ำละ 20 ตัว เลี้ยงขยายเชื้อราเขียวบนข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 2 มล./ถุง คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 °ซ.) เป็นเวลา 14 วัน นำถุงเชื้อราเขียวที่เลี้ยงได้มาเติมน้ำผสม tween ปริมาตร 200 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด ใช้ผ้าขาวบางกรองเศษอาหารที่ปะปนกับสารแขวนลอยโคนิเดีย จากนั้นนำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาตรวจนับความเข้มข้นและปรับกำลังโคนิเดียเท่ากับ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. สำรวจและเก็บตัวอย่างด้วงหมัดผักในแหล่งที่มีการระบาดของด้วง นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เตรียมการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวไอโซเลทต่างๆ โดยเตรียมกล่องเลี้ยงแมลงขนาด 7 X 10 ซ.ม. จำนวน 44 กล่อง ใส่ฟองน้ำและต้นอ่อนกวางตุ้งลงในแต่ละกล่อง นำสำลีชุบน้ำหุ้มส่วนรากเพื่อป้องกันต้นเหี่ยว จากนั้นนำสารแขวนลอยโคนิเดียราเขียวที่เตรียมไว้ฉีดพ่นใส่ต้นอ่อนกวางตุ้ง 4 กล่อง/ไอโซเลท ปล่อยด้วงหมัดผักลงในกล่องที่เตรียมอัตรา 20 ตัว/กล่อง ปิดฝาสังเกตการเป็นโรคทุกวัน จดบันทึกข้อมูล

การบันทึกข้อมูล :

- ตรวจเช็คการเป็นโรคของด้วงหมัดผักทุกวัน เปรียบเทียบกันในแต่ละกรรมวิธี
- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT

การดำเนินงานในปี 2556

การหาอัตราการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักในสภาพไร่

แบบและวิธีการทดลอง: วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม อัตรา 300 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 fipronil 5% SC 50 มล./ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 น้ำเปล่า

การหาอัตราการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักในสภาพไร่

นำเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่ผ่านการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการว่ามีประสิทธิภาพดีมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณ โดยเริ่มต้นจากการเลี้ยงในอาหารเหลว (PDB) ตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราเขียวประมาณ 1X1 ซม. ถ่ายใส่ลงในฟลาสค์อาหารเหลว (PDB) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 180/นาที เป็นเวลานาน 4 วัน ตรวจเช็คการปนเปื้อนของเชื้ออื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนจะนำมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบ โดยเตรียมเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 5 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 °ซ) เป็นเวลานาน 14 วัน เชื้อราเขียวจะเจริญเติบโตและสร้างโคนิเดียจนเต็มถุง นำถุงเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่เลี้ยงได้มาล้างโคนิเดียออกโดยเติมน้ำผสม tween เขย่าให้โคนิเดียหลุด กรองแยกโคนิเดียออกจากสารแขวนลอยโคนิเดียนำมาใส่ถาดเกลี่ยให้บางนำไปอบที่อุณหภูมิไม่เกิน 50 °ซ อบจนแห้งใช้เวลาประมาณ 10 ชั่วโมง เก็บใส่ขวดทึบแสงป้องกันความชื้น เพื่อนำไปใช้ในแปลงต่อไป

ติดต่อพื้นที่เพื่อทำแปลงทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมกับด้วงหมัดผัก จำนวน 2 แปลง โดยแปลงแรกติดต่อกับศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรีเพื่อขอใช้พื้นที่บริเวณแปลงศูนย์เรียนรู้ทฤษฎีใหม่ตามแนวพระราชดำริฯในศวพ.สุพรรณบุรี ส่วนแปลงที่ 2 ติดต่อหาแปลงเกษตรกรในพื้นที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี ดำเนินการโดยเตรียมแปลงปลูกผักกาดหัวใช้พื้นที่ประมาณ 600 ตารางเมตร ปรับพื้นที่แบ่งเป็น 4 ร่อง (ซ้ำ) ในแต่ละร่องแบ่งพื้นที่เป็นแปลงย่อย โดยมีขนาดแปลงย่อย 15 ตารางเมตร (5X3) ปลูกผักกาดหัวโดยวิธีหยอดเมล็ด 8 แถว/แปลงย่อย แต่ละหลุมปลูกห่างกัน 25 ซม. แต่ละแปลงย่อยมีหลุมปลูกทั้งหมด 80 หลุม (8X10) วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ โดยกรรมวิธีที่ 1, 2 และ 3 ใช้ราเขียวเมตาไรเซียมในรูปผงปริมาตร 100, 200 และ 300 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 4 ใช้ Fipronil 5% SC 50 มล./น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 ใช้น้ำเปล่า เป็นตัวเปรียบเทียบตามลำดับ ทำการทดสอบโดยผสมสารจับใบ (ตามอัตราแนะนำ) ฉีดพ่นเชื้อในแปลงทุก 7 วัน ติดต่อกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ หรือเท่ากับอายุเก็บเกี่ยวพืช 45 วัน เมื่อครบอายุเก็บเกี่ยว 45 วัน นำผลผลิตมาชั่งน้ำหนัก และเช็ครอยทำลายของตัวอ่อนด้วงหมัดผักบนหัวผักกาด จดบันทึกข้อมูล

การบันทึกข้อมูล :

- ตรวจเช็คการเป็นโรคของด้วงหมัดผักทุก 7 วัน
- บันทึกจำนวนด้วงหมัดผักที่พบในแต่ละกรรมวิธี
- เมื่อครบอายุเก็บเกี่ยว 45 วัน ชั่งน้ำหนักผลผลิต และเช็ครอยทำลายของตัวอ่อนด้วงหมัดผักบนหัวผักกาด
- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT

- เวลาและสถานที่

: ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2556

- ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- แปลงเกษตรกร อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี
- แปลงศูนย์เรียนรู้ทฤษฎีใหม่ตามแนวพระราชดำริฯ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี

8. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การดำเนินงานในปี 2555

ผลการทดสอบประสิทธิภาพราเขียวเมตาไรเซียมทั้ง 10 ไอโซเลทได้แก่ M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 และM9 กับด้วงหมัดผักในห้องปฏิบัติการ พบว่าราเขียวเมตาไรเซียมที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการทั้ง 10 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อ โดยพบว่าราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M3, M5, M7, M8, M2, M9, M1, M0 และ M6 มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อราเขียวได้ดีไม่แตกต่างกันในทางสถิติ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เฉลี่ย 100, 100, 100, 97.50, 95, 91.25, 90, 88.75 และ 85% ตามลำดับ ส่วนไอโซเลท M4 ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อราเขียวน้อยที่สุดที่ 73.75% (ตารางที่ 1)

จากผลการทดลองพบว่าราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M3, M5 และ M7 มีความน่าสนใจในการใช้ควบคุมด้วงหมัดผักเนื่องจากให้ผลการทดสอบ 100% ในห้องปฏิบัติการ การทดลองในปีงบประมาณ 2556 ได้เลือกราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M3 ไปขยายผลทดสอบต่อในสภาพไร่เนื่องจากใช้ระยะเวลาสั้นในการทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อในห้องปฏิบัติการ

การดำเนินงานในปี 2556

ในช่วงแรกของการปลูกทั้ง 2 พื้นที่ เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวเกิดการงอกไม่พร้อมกันต้องมีการปลูกซ่อมทำให้ต้นผักกาดหัวโตไม่สม่ำเสมอกันในบางแปลง และการทดลองที่ศวพ.สุพรรณบุรี พบการระบาดของด้วงหมัดผักมากกว่าที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี ผลการทดลองที่ศวพ.สุพรรณบุรี พบว่าด้วงหมัดผักมีประชากรเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 8 ในทุกกรรมวิธีที่ใช้ และเมื่อพิจารณาในแต่ละสัปดาห์พบว่าจำนวนด้วงหมัดผักหลังปลูกไม่มีความแตกต่างกันในทุกกรรมวิธีที่ใช้ โดยในสัปดาห์ที่ 8 พบปริมาณด้วงหมัดผักในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม อัตรา 100, 200 และ 300 กรัม ที่ 57.25, 42.75 และ 40.75 ตัว/แปลงย่อย ในกรรมวิธีที่ใช้ fipronil 5% SC 50 มล./ น้ำ 20 ลิตร พบปริมาณด้วงหมัดผัก 52.50 ตัว/แปลงย่อย ส่วนแปลงควบคุมพบปริมาณด้วงหมัดผัก 57.75 ตัว/แปลงย่อย (ตารางที่ 2)

ผลการทดลองที่แปลงเกษตรกร อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี ให้ผลใกล้เคียงกับที่ศวพ.สุพรรณบุรี และพบความแปรปรวนในประชากรด้วงหมัดผัก โดยมีการเพิ่มขึ้นและลดลงสลับกันตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 – 8 โดยในสัปดาห์ที่ 8 พบปริมาณด้วงหมัดผักในกรรมวิธีที่ใช้ fipronil 5% SC 50 มล./ น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ใส่เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม

อัตรา 100 กรัม และกรรมวิธีที่ใส่ น้ำเปล่าที่ 6, 4 และ 3.75 ตัว/แปลงย่อย ส่วนกรรมวิธีที่ใส่เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม อัตรา 200 กรัม และ 300 กรัม พบปริมาณด้วงหมัดผัก 15 และ 14 ตัว/แปลงย่อย (ตารางที่ 3)

เมื่อครบอายุเก็บเกี่ยว 45 วัน (สัปดาห์ที่ 8) สุ่มผักกาดหัวในแปลงจำนวน 64 หัว/พ.ท. 4 ม^2 มาชั่งน้ำหนักผลผลิต และในจำนวนนี้แบ่งหัวผักกาดจำนวน 20 หัวมาเช็ครอยทำลายที่เกิดจากตัวอ่อนด้วงหมัดผัก เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบน้ำหนักผักกาดหัว (ก.ก./พ.ท. 4 ม^2) ของศวพ.สุพรรณบุรี พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทุกกรรมวิธีที่ใช้ทดสอบ (ตารางที่ 4) ส่วนในพื้นที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี พบว่า กรรมวิธีที่ใช้ Fipronil 5% SC 50 มล./ น้ำ 20 ลิตร ให้น้ำหนักผักกาดหัวมากกว่าในกรรมวิธีอื่น 19.35 ก.ก./พ.ท. 4 ม^2 (ตารางที่ 5)

เมื่อพิจารณาระดับการทำลายผักกาดหัวของด้วงหมัดผักพบว่า ที่ศวพ.สุพรรณบุรี กรรมวิธีที่ใช้ Fipronil 5% SC 50 มล./ น้ำ 20 ลิตร พบร่องรอยการทำลายผักกาดหัวมากกว่าในกรรมวิธีอื่นโดยอยู่ที่ระดับ 2.4 ส่วนกรรมวิธีที่เหลือระดับการทำลายไม่มีความแตกต่างกัน ในพื้นที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี พบว่าการใช้ราเขียว 100 กรัม มีร่องรอยการทำลายผักกาดหัวที่ระดับ 2.288 ส่วนกรรมวิธีที่เหลือระดับการทำลายไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 6)

จากการทดลองทั้ง 2 พื้นที่ผลการทดลองเบื้องต้นพบว่า การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M3 ไม่สามารถควบคุมปริมาณประชากรด้วงหมัดผักได้ เนื่องจากในแต่ละกรรมวิธีมีจำนวนด้วงหมัดผักไม่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมคือการใช้น้ำเปล่า การทดลองในสภาพไร่ครั้งนี้ถือเป็นการทดลองเบื้องต้น การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวไอโซเลท M3 ในสภาพไร่ให้ผลในการทดสอบประสิทธิภาพแตกต่างจากในห้องปฏิบัติการ ซึ่งน่าจะมาจากหลายสาเหตุ ได้แก่ การพ่นเชื้ออาจไม่ได้สัมผัสกับแมลงโดยตรง การไม่สามารถควบคุมความชื้นในระหว่างการทดลอง ปริมาณความเข้มข้นของเชื้อที่ใช้อาจจะน้อยเกินไป เชื้อกระจายตัวไม่ทั่วถึง ฯลฯ และเนื่องจากการทดลองนี้มีระยะเวลาที่ค่อนข้างจำกัดถึงแม้จะทำใน 2 พื้นที่ แต่ทำในช่วงฤดูปลูกเดียว ซึ่งมีระยะเวลาค่อนข้างสั้นและไม่ได้มีการทดลองซ้ำในพื้นที่เดิม การทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับประภาพรและคณะ (2556) ที่ได้คัดเลือกเชื้อราขาว (*Beauveria bassiana*) ที่มีประสิทธิภาพดีในการใช้ควบคุมมอดเจาะผลกาแฟในห้องปฏิบัติการ และได้นำเชื้อดังกล่าวมาขยายผลทดสอบประสิทธิภาพต่อในสภาพไร่ ผลการทดสอบในครั้งนั้นพบว่า เชื้อราขาว (*B. bassiana*) ที่นำมาทดสอบสามารถลดการระบาดของมอดเจาะผลกาแฟได้ดีในปีที่ 2 ของการทดลอง ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากเกิดการสะสมของเชื้อราที่เพิ่มขึ้นเมื่อมีการฉีดพ่นในปีที่ 2 ของการทดลอง สอดคล้องกับ Ruales (1997) ที่กล่าวว่าโคนิเดียเชื้อรา *B. bassiana* สามารถมีชีวิตรอดได้ข้ามฤดูเก็บเกี่ยว จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการนำเชื้อราโรคแมลงไปใช้ในสภาพไร่จำเป็นต้องให้เชื้อราในปริมาณที่มากพอที่เชื้อจะสามารถอยู่รอดและสถาปนาตัวเองอยู่ได้ในธรรมชาติ การทดลองในครั้งแรกทำในพื้นที่ที่ไม่เคยมีการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมมาก่อน ดังนั้นเชื้อที่ใช้อาจน้อยเกินไป และช่วงที่พ่นเชื้ออาจจะไม่ถูกตัวแมลงเป้าหมายโดยตรง ดังนั้นจึงให้ผลตรงข้ามกับการทดสอบในห้องปฏิบัติการ

ในอนาคตน่าจะต้องทำการทดลองซ้ำเพื่อหาเทคนิคการใช้เชื้อที่เหมาะสม ซึ่งอาจจะเพิ่มระยะเวลาในการทดลอง และเพิ่มอัตราการใช้ราเขียวเมตาไรเซียมให้มากขึ้น การให้น้ำเพื่อเพิ่มความชื้นในดินก่อนการใส่เชื้อราเขียว รวมทั้งการเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสมในการใช้เชื้อราชนิดนี้ และการทดสอบเชื้อราโรคแมลงในสภาพไร่ควร

ได้รับระยะเวลาในการทดลองไม่น้อยกว่า 2 ปี เพื่อพิสูจน์ผลการทดลอง เนื่องจากเชื้อไอโซเลทที่เลือกมาให้ผลการทดสอบประสิทธิภาพที่ดีในการควบคุมด้วงหมัดผักในห้องปฏิบัติการ แต่เมื่อนำไปใช้ในสภาพไร่กลับให้ผลที่แตกต่าง ซึ่งอาจเกิดจากระยะเวลาและเทคนิคการใช้ที่ไม่เหมาะสม และน่าจะมีการทดสอบเชื้อที่เหลืออีก 2 ไอโซเลทคือ M5 และ M7 ด้วยในอนาคต

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพราเขียวเมตาไรเซียมทั้ง 10 ไอโซเลทได้แก่ M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 และM9 กับด้วงหมัดผักในห้องปฏิบัติการ พบว่าราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M3, M5, M7, M8, M2, M9, M1, M0 และ M6 มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อราเขียวได้ดีไม่แตกต่างกันในทางสถิติ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เฉลี่ย 100, 100, 100, 97.50, 95, 91.25, 90, 88.75 และ 85% ตามลำดับ แต่เมื่อเลือกไอโซเลท M3 ไปขยายผลทดสอบต่อในสภาพไร่กลับให้ผลที่แตกต่างจากห้องปฏิบัติการ โดยไอโซเลท M3 ไม่สามารถควบคุมปริมาณประชากรด้วงหมัดผักในสภาพไร่ได้ ซึ่งอาจจะเกิดจากระยะเวลาและเทคนิคการใช้ที่ไม่เหมาะสม ในอนาคตน่าจะได้มีการทดลองซ้ำ ซึ่งอาจจะเพิ่มระยะเวลาในการทดลอง และเพิ่มอัตราการใช้ราเขียวเมตาไรเซียมให้มากขึ้น รวมทั้งการเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสมในการใช้เชื้อราชนิดนี้

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

☐ พัฒนาต่อ ☐ เผยแพร่ วารสารวิชาการเกษตร ☑ นำไปขยายผลในพื้นที่

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์แปลงทดลองในพื้นที่ศูนย์เรียนรู้ทฤษฎีใหม่ตามแนวพระราชดำริฯ สำหรับงานทดลองครั้งนี้

12. เอกสารอ้างอิง

ประภาพร ฉันทานุมัติ ทิพยา ไกรทอง และยุพิน กสินเกษมพงษ์. 2556. การพัฒนาการใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin เพื่อป้องกันกำจัดมอดเจาะผลกาแฟในแปลงกาแฟ. *ใน* รวมงานวิจัย “กาแฟโรบัสต้า” ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร เล่ม 1 หน้า 231 – 237.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, เกรียงไกร จำเริญมา และ สาทิพย์ มาลี. 2553. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae*. หน้า 842-853. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 เล่ม 2 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 1/2554 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, อิศเรส เทียนทัด, วิไลวรรณ เวชยันต์ และ ยุทธนา แสงโชติ. 2554. ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียว *M. anisopliae* (Metsch) Sorokin ในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าว. หน้า 2104 - 2113.

ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 เล่ม 4. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 1/2555 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ

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. Trujilo-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.

Ruales C. 1997. The Use of Entomopathogenic Fungi for the Control of Coffee Berry Borer in Nicaragua. Coffee & Cocoa: News. Vol. 2 (2): 3 – 7 pp.

<u>ตารางที่ 1</u> แสดงค่าเฉลี่ยการติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลทต่างๆกับด้วงหมัดผักหลังการทดสอบ 4 วัน ที่ความเข้มข้นของสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อที่ $1X10^9$ โคนิเดีย/มล.

ไอโซเลทเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลทต่างๆ	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม
Mo	88.75 [1/] ab
M1	90.00 ab
M2	95.00 a
M3	100 a
M4	73.75 b
M5	100 a
M6	85.00 ab
M7	100 a
M8	97.50 a
M9	91.25 ab
น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ	0 c
CV	14.1%

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT (ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว)

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนด้วงหมัดผักในพื้นที่แปลงศูนย์เรียนรู้ทฤษฎีใหม่ตามแนวพระราชดำริฯ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี ในช่วงเดือนเมษายน – มิถุนายน 2556

กรรมวิธี	จำนวนด้วงหมัดผักหลังปลูก							
(/ น้ำ 20 ลิตร)	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์	5 สัปดาห์	6 สัปดาห์	7 สัปดาห์	8 สัปดาห์
ราเขียว 100 กรัม	0 a	1.500 a	3.250 ab	5.000 a	8.000 a	28.250 a	48.500 a	57.250 ab
ราเขียว 200 กรัม	0.500 a	1.000 a	2.250 ab	8.750 a	7.250 a	30.500 a	43.750 a	42.750 ab
ราเขียว 300 กรัม	0.250 a	2.500 a	4.250 b	7.000 a	9.000 a	32.500 a	44.500 a	40.750 a
Fipronil5% SC 50 มล.	0 a	1.000 a	1.500 ab	6.500 a	7.500 a	38.750 a	33.000 a	52.500 ab
น้ำเปล่า	0 a	1.750 a	0.250 a	9.500 a	7.000 a	43.500 a	47.750 a	57.750 b
CV	344.1%	90.1%	87.1%	57.6%	55.3%	35%	25.2%	20%

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT (ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น)

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนด้วงหมัดผัก อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี ในช่วงเดือนเมษายน – มิถุนายน 2556

กรรมวิธี	จำนวนด้วงหมัดผักหลังปลูก							
(/ น้ำ 20 ลิตร)	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์	5 สัปดาห์	6 สัปดาห์	7 สัปดาห์	8 สัปดาห์
ราเขียว 100 กรัม	2.500 ab	3.253 a	2.500 a	4.000 ab	14.000 a	9.500 a	8.000 a	4.000 a
ราเขียว 200 กรัม	2.000 ab	0.250 a	2.000 a	3.750 ab	8.000 a	12.500 a	11.750 ab	15.000 b
ราเขียว 300 กรัม	2.250 ab	1.500 a	1.500 a	1.500 a	8.750 a	12.250 a	16.500 b	14.000 b
Fipronil5% SC 50 มล.	4.250 b	1.250 a	4.250 a	3.500 ab	9.250 a	8.500 a	6.000 a	6.000 ab
น้ำเปล่า	1.750 a	0.750 a	2.750 a	6.250 b	10.500 a	13.500 a	6.750 a	3.750 a
CV	58.1%	137.9%	94.4%	58.2%	38.2%	38.9%	37.1%	67%

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT (ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น)

ตารางที่ 4 ตารางเก็บผลผลิต ผักกาดหัวจำนวน 64 หัวในพื้นที่สุ่ม 4 ตารางเมตร ในพื้นที่ศวพ.สุพรรณบุรี

กรรมวิธี (/ น้ำ 20 ลิตร)	น.น.ผักกาดหัว (ก.ก./พ.ท. 4 ม^2)
ราเขียว 100 กรัม	12.275[1/] a
ราเขียว 200 กรัม	12.525 a
ราเขียว 300 กรัม	12.025 a
Fipronil5% SC 50 มล.	13.925 a
น้ำเปล่า	14.175 a
CV	12.4%

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT (ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น)

ตารางที่ 5 ตารางเก็บผลผลิต ผักกาดหัวจำนวน 64 หัวในพื้นที่สุ่ม 4 ตารางเมตร ในพื้นที่อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี

กรรมวิธี	น.น.ผักกาด (ก.ก./พ.ท. 4 ม^2)
ราเขียว 100 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร	10.125[1/] b
ราเขียว 200 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร	10.250 b
ราเขียว 300 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร	9.150 b
Fipronil5% SC 50 มล./ น้ำ 20 ลิตร	19.350 a
น้ำเปล่า	13.300 b
CV	22.4%

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT (ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น)

ตารางที่ 6 แสดงระดับการทำลายผักกาดหัวของด้วงหมัดผัก

กรรมวิธี	ระดับการทำลายผักกาดหัวของด้วงหมัดผัก[1/]	
	ศวพ.สุพรรณบุรี	อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี
ราเขียว 100 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร	1.975[2/] a	2.288 b
ราเขียว 200 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร	2.113 a	1.975 a
ราเขียว 300 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร	1.900 a	1.975 a
Fipronil5% SC 50 มล./ น้ำ 20 ลิตร	2.400 b	2.075 ab
น้ำเปล่า	2.050 a	2.175 ab
CV	7.3%	6.9%

[1/] ระดับการทำลายผักกาดหัวของด้วงหมัดผัก แบ่งเป็น 7 ระดับ ตามร่องรอยการทำลาย

ระดับที่ 1 ไม่พบร่องรอยการทำลาย 0%

ระดับที่ 2 พบร่องรอยการทำลายในช่วง 1 – 10%

ระดับที่ 3 พบร่องรอยการทำลายในช่วง 11 – 20%

ระดับที่ 4 พบร่องรอยการทำลายในช่วง 21 – 30%

ระดับที่ 5 พบร่องรอยการทำลายในช่วง 31 – 40%

ระดับที่ 6 พบร่องรอยการทำลายในช่วง 41 – 50%

ระดับที่ 7 พบร่องรอยการทำลายในช่วง >50%

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT (ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 20 หัว)