

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

แผนงานวิจัย	-
โครงการวิจัย	วิจัยและพัฒนาการใช้ชีวเคสียร์เทคนิคในการจัดการศัตรูพืชกักกันของพืชส่งออก
กิจกรรมที่ 1.	การผลิตขยายแมลงวันผลไม้ <i>Bactrocera</i> spp. ให้ได้ปริมาณมาก
การทดลองที่ 3.	การผลิตขยายแมลงวันผลไม้ <i>Bactrocera latifrons</i> (Hendel) ให้ได้ปริมาณมาก Mass rearing of <i>Bactrocera latifrons</i> (Hendel)

ผู้ดำเนินงาน

วัลัยกร รัตนเดชากุล¹ ปวีณา บุษชาติยาน¹ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์¹ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์¹

จารุรัตน์ เอี่ยมศิริ² สลักจิต พานคำ¹ ชัยณรัตน์ สนศิริ¹ ชุติมา อ้อมกิ่ง¹

Walaikorn Rattandechakul¹ Paweena Buchatian¹ Phuttipong Phangrerk¹ Pongsak Jinarite¹

Jaruratana Eamsiri² Saluckjit Phankum¹ Chainarat Sonsiri¹ Chutima Ormking¹

บทคัดย่อ

หนอนแมลงวันผลไม้ *Bactrocera latifrons* ที่เก็บมาจากแปลงพริกของเกษตรกร นำมาเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงแมลงอุณหภูมิ 25 – 26 องศาเซลเซียส หลังจากเจริญเป็นตัวเต็มวัยให้แมลงผสมพันธุ์และวางไข่ในผลพริกปลอดสารเคมีทุกสัปดาห์เพื่อเพิ่มปริมาณประชากรแมลงให้เพียงพอสำหรับทดสอบสูตรอาหารเทียม ตัวเต็มวัยที่ได้มีความอ่อนแอ แมลงรอดชีวิตต่ำ จึงไม่ได้ทำการศึกษาต่อ

คำสำคัญ: แมลงวันผลไม้ *Bactrocera latifrons* อาหารเทียม

Abstract

Larvae of Solanum fruit fly, *Bactrocera latifrons* were collected from Chili farm. The larvae are keep in insect rearing room at 25-26 °C. Adult fruit fly are lay their eggs in Jinda chili fruit pesticide free every week. This fruit fly are weak, low survival rate. Fruit fly population do not enough to test. Therefore terminate experiment.

Key words: fruit fly, *Bactrocera latifrons*, artificial diet

คำนำ

สินค้าเกษตรสำคัญของประเทศไทยหลายชนิดไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ ซึ่งมีความเข้มงวดด้านกักกันพืช เนื่องจากประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของแมลงศัตรูพืชสำคัญด้านกักกันพืชของต่างประเทศ และปัญหาที่ประเทศปลายทางตรวจพบไข่และหนอนแมลงวันผลไม้ เช่น การจับตาประเทศไทยอย่างใกล้ชิดเนื่องจากปัญหาตรวจพบหนอนแมลงวันผลไม้ *Bactrocera latifrons* (Hendel) ศัตรูพืชกักกันติดไปกับผลพริกสดส่งออกไปสหภาพยุโรป (European Union, EU) หลายครั้งทำให้สหภาพยุโรปออกมาตรการตรวจสอบอย่างเข้มงวดกับผัก 5 กลุ่ม 16 ชนิด พริกอยู่ในกลุ่มพืช *Capsicum* เป็นหนึ่งในผัก 5 กลุ่มที่มีปัญหา และสหภาพยุโรปแจ้งเตือนว่า หากตรวจพบแมลงศัตรูพืชที่ติดไปกับพืชผักเกิน 5 ครั้งภายในระยะเวลา 1 ปี จะระงับการนำเข้าผลผลิตทางการเกษตรจากประเทศไทย ซึ่งกระทบต่อรายได้ของเกษตรกรไทย และส่งผลเสียต่อชื่อเสียงและภาพลักษณ์ของไทย หากสหภาพยุโรประงับการนำเข้าพริก จำเป็นต้องมีผลการทดลองวิจัยทางวิทยาศาสตร์เพื่อเสนอเป็นมาตรการทางสุขอนามัยพืชของประเทศไทยต่อสหภาพยุโรป ดังนั้น จึงจำเป็นต้องทำการวิจัยเพื่อหาวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. latifrons* (Hendel) ศัตรูพืชกักกันในพริกก่อนส่งออก

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

สวนพริกของเกษตรกร จ. นครปฐม ราชบุรี ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 1 ห้อง กรงเลี้ยงแมลงวันผลไม้ ข้าวโพดปน รำข้าวสาลี น้ำตาลทราย Brewer's yeast Butyl p- hydroxybenzoate Methyl - p - hydroxybenzoate Sodium benzoate HCl น้ำกลั่น พู่กัน ปากคีบ เครื่องนับจำนวน (counter) งานทดลอง ขนาดเล็ก ถาดใส่ผลไม้ ถาดใส่อาหาร ถูผ้าตาข่าย ถูมือ มีดปอกผลไม้ ถูขยະด้าและอื่น ๆ

แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลอง โดยเปรียบเทียบ 2 กรรมวิธี กรรมวิธีที่ 1 สูตรข้าวโพดปน ของ Watanabe *et al.*, (1973) กรรมวิธีที่ 2 สูตรรำข้าวสาลี เป็นสูตรมาตรฐานของ USDA standard (Tanaka *et al.* 1969) ซึ่งเป็นสูตรที่สุซาดา และคณะ (2553) ใช้ในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ มีส่วนผสมต่างๆ ดังตารางที่ 1

วิธีการทดลอง

ศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ *B. latifrons* ให้มีคุณภาพ และปริมาณเพียงพอต่องานวิจัย เปรียบเทียบ 2 กรรมวิธี ประกอบด้วย กรรมวิธีที่ 1 สูตรข้าวโพดป่น ของ Watanabe *et al.*, (1973) กรรมวิธีที่ 2 สูตรรำข้าว เป็นสูตรมาตรฐานของ USDA standard (Vargas *et al.* 1993) ใช้ในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ มีส่วนผสมต่างๆ ดังตารางที่ 1

การสำรวจและเก็บรวบรวม สำรวจและเก็บรวบรวมหนอนแมลงวันผลไม้ *B. latifrons* ในแปลงปลูกพริก โดยสุ่มเก็บตัวอย่างผลพริกที่มีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ ทั้งหมด 5 สวน ในเขตจังหวัดเชียงใหม่ ราชบุรี กาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และเพชรบุรี ในการสุ่มแต่ละสวนจะสุ่ม สวนละ 10 ต้น แต่ละต้นสุ่มทุกทิศ ๆ ละ 10 ผล นำผลที่มีรอยการทำลายมาใส่กรงแยกเพื่อรอให้ตัวอ่อนเจริญเป็นตัวเต็มวัยแล้วทำการจำแนกชนิดคัดเฉพาะแมลงวันผลไม้ *B. latifrons* แล้วนำตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้เลี้ยงในสภาพห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง โดยห้องเลี้ยงแมลงมีขนาด 3.5 x 4.6 x 2.3 เมตร อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 ± 5 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่างภายในห้องได้จากหลอดไฟ ฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent lights) จำนวน 20 หลอด ติดตั้งบนเพดานห้องเลี้ยงแมลงมีระยะเวลาของความมืดและสว่าง (light - dark cycle) เป็น 12:12 ชั่วโมง ไฟจะสว่างในช่วงเวลา 6:00 - 18:00 นาฬิกา ภายในห้องเลี้ยงแมลงติดหลอดไฟขนาด 15 วัตต์ จำนวน 1 หลอด ให้แสงสลัว (dim light) เป็นเวลานาน 15 นาที ก่อนและหลังที่ไฟในห้องเลี้ยงแมลงจะสว่างเพื่อช่วยกระตุ้นให้แมลงวันผลไม้ผสมพันธุ์ เลี้ยงในกรงที่มีขนาด 35 x 50 x 35 เซนติเมตร ทำด้วยมุ้งลวดตาข่ายอลูมิเนียมขนาด 16 เมช ภายในกรงมีจานพลาสติกบรรจุอาหารสำหรับตัวเต็มวัย ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมโดยน้ำหนัก ดังนี้ น้ำตาล 10 ส่วน เอ็นไซม์โปรตีนไฮโดรไลเซส (Enzymatic protein hydrolysate; Amber series 100) 1 ส่วน และ ยีสต์เอ็กแทรก (Yeast extract) 1 ส่วน การให้น้ำใช้ขวดพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.0 เซนติเมตร สูง 7.5 เซนติเมตร ผาขวดเจาะรูขนาด 1 เซนติเมตร จำนวน 1 รู ใส่น้ำในกระบอกปิดฝากระบอก ทำสำลีให้เป็นแท่งยาวใส่เข้าไปที่รูฝากระบอกพลาสติก ส่วนสำลีที่ยาวเกินขึ้นมาแผ่กระจายตามรัศมีของกระบอกวางกระดาษกรองทับด้านบนสำลีนำเข้าไปวางอยู่ภายในกรงเลี้ยงแมลง

การเก็บไข่ เก็บไข่แมลงวันผลไม้ *B. latifrons* เมื่อตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 15 วัน โดยใช้กระบอกพลาสติกขนาด 7 x 17 เซนติเมตร ด้านข้างเจาะรูขนาด 0.4 มิลลิเมตร ประมาณ 80-100 รู เพื่อให้แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่ผ่านรูจากด้านข้างเข้าไปวางไข่ภายในกระบอกพลาสติก ในการเก็บไข่แต่ละครั้ง ใส่น้ำส้ม 30 มิลลิเมตร ไว้ในกระบอกเก็บไข่ เพื่อกระตุ้นให้แมลงวางไข่ในขณะเดียวกันยังเป็นการให้ความชื้นภายในกระบอกพลาสติกป้องกันไม่ให้ไข่ของแมลงแห้งและแตก รวบรวมไข่แมลงด้วยวิธีเติมน้ำสะอาดในกระบอกพลาสติกเก็บไข่ แล้วเขย่าเบาๆ เพื่อให้ไข่ที่ติดอยู่ด้านข้างภายในกระบอกหลุด ใช้ผ้ามีสลินขนาด 150 เมช แยกไข่ออกจากน้ำส้ม รวบรวมไข่ทั้งหมดที่ได้ใส่น้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิเมตร รวบรวมไข่ที่ได้วางไว้บนผ้าที่ชุ่มน้ำ เก็บไว้ในกล่องพลาสติกขนาด 12 x 18 x 4.5 เซนติเมตร แล้วนำไปไว้ในห้องเลี้ยงแมลง

เป็นเวลา 2 วัน เมื่อไข่ฟักออกเป็นหนอนวัย 1 ใช้ตะแกรงขนาด 80 เมช ร่อนแยกหนอนวัย 1 ออกจากเปลือกไข่ ย้ายหนอนวัย 1 ใส่ในน้ำกลั่น เก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิเมตร ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ขนาด 1 มิลลิเมตร ดูดหนอนวัย 1 นำไปใส่ไว้ในจานแก้ว (petri-dish) ขนาด 10 x 2 เซนติเมตร พร้อมทั้งนับหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อนำไปใส่ในอาหาร

การเตรียมอาหารเทียม เตรียมอาหารเทียมทั้ง 2 สูตร (ตารางที่1) โดยแต่ละสูตรผสมคลุกเคล้าส่วนผสมต่างๆให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นแบ่งอาหารใส่ภาชนะ ภาชนะละ 50 กรัม ทำสูตรละ 10 ภาชนะ ใส่หนอนวัย 1 ภาชนะละจำนวน 100 ตัว แล้วคลุมภาชนะด้วยผ้าในลอน นำไปวางเรียงบนชั้น ในห้องเลี้ยงแมลงที่อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 ± 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อหนอนเข้าสู่วัยที่ 3 นำหนอนใส่ในซีลี้อยเพื่อเข้าดักแด้ เมื่อดักแด้อายุ 6 วัน ร่อนดักแด้ออกจากซีลี้อย แล้วนำดักแด้ใส่ในกรงเลี้ยงแมลงที่มีขนาด $35 \times 50 \times 35$ เซนติเมตร เลี้ยงจนเป็นตัวเต็มวัย

การบันทึกข้อมูล

1. อัตราการฟักไข่ (hatching rate)
2. น้ำหนักของดักแด้ (pupae weight)
3. อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate)
4. อัตราส่วนของเพศผู้-เพศเมีย (sex ratio)

เวลา และ สถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ เดือน ตุลาคม 2559 – กันยายน 2560 รวม 1 ปี

สถานที่ทำการทดลอง

- สวนพริกจินดาของเกษตรกรที่จังหวัดนครปฐม ราชบุรี
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เก็บพริกจินดาที่มีร่องรอยแมลงทำลายจากสวนพริกจินดาของเกษตรกรที่จังหวัดนครปฐม ราชบุรี นำผลพริกใส่กล่องพลาสติกที่บรรจุซีลี้อยและบนฝากล่องมีช่องระบายอากาศที่ปิดทับด้วยผ้าตาข่าย นำแมลงไปเลี้ยงในห้องอุณหภูมิ 25-26 องศาเซลเซียสจนหนอนเข้าดักแด้ในซีลี้อย ทำการคัดแยกดักแด้และย้ายใส่กรงเลี้ยงแมลงรอจนเป็นตัวเต็มวัย

ทำการจำแนกชนิดโดยใช้หลักอนุกรมวิธานด้วยลักษณะสำคัญของสัณฐานวิทยาจากเอกสารคู่มือการจำแนกชนิดแมลงวันผลไม้ คัดเลือกเฉพาะแมลงวันผลไม้ *B. latifrons* จำนวนแมลงวันผลไม้ที่จำแนกชนิดแล้วได้น้อยจึงเก็บผลพริกจากสวนเกษตรกรอีกหลายครั้ง

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณและขยายพันธุ์แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัย ใช้ผลพริกจินดาสดเจาะรูให้แมลงวางไข่ในกรง ทำการเก็บไข่ทุกสัปดาห์ แมลงที่ได้จากการวางไข่บนผลพริกในห้องปฏิบัติการมีอัตราการรอดชีวิตต่ำ แมลงไม่แข็งแรง อายุสั้น ตายง่าย ดังนั้น การเพาะเลี้ยงเพื่อศึกษาสูตรอาหารเทียมจึงไม่ได้ทำการศึกษาต่อ

เมื่อเก็บพริกที่มีการลงทำลายของแมลงวันผลไม้ *B. latifrons* มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการพบว่ามีการรอดชีวิตของแมลงต่ำ และไม่สามารถเพิ่มปริมาณแมลงได้ จึงยังไม่ได้ทดสอบกับอาหารที่ Vargas et. al., 1993 ได้พัฒนาเทคนิค และใช้อุปกรณ์ที่มีต้นทุนต่ำแบบง่ายๆ เพื่อเพาะเลี้ยง *B. latifrons* Wingsanoi and Siri (2012) พบว่า *B. latifrons* มีการวางไข่จำนวนน้อยกว่า *Bactrocera* ชนิดอื่นๆ เมื่อเปรียบเทียบกับกัน เช่น *B. dorsalis* และ *B. cucurbitae*

สรุปผลการทดลอง

ไม่สามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ *B. latifrons* จากห้องปฏิบัติการ ดังนั้นการศึกษสูตรอาหารเทียมจึงไม่ได้ทำการศึกษาต่อ

เอกสารอ้างอิง

- Follett P. A. and Marisa M. W., Phytosanitary irradiation for export of fresh produce: commercial adoption in Hawaii and current issues, Journal of Radio analytical and Nuclear Chemistry, 296, 1, (517), (2013).
- Nelson, E.K. 1920. The constitutions of capsaicin, the pungency principle of Capsicum III. J. Am. Chem. Soc. 42 : 597-599.
- Vargas, I. R., Mitchell, S., Hsu, H.L. and Walsh, W.A. 1993. Evaluation of mass-rearing procedures for *Bactrocera latifrons* (Diptera:Tephritidae). Journal of Economic Entomology. 86, 1157-1161.
- Watanabe N., Ichinohe F., Sonda M. 1973. Improvement of corn flour medium for larval culture of oriental fruit fly. Res. Bull. Plant Prot. Japan 11: 57-58.

Wingsanoi, A. and N. Siri. 2012. The oviposition of the chili fruit fly (*Bactrocera latifrons* Hendel) (Diptera: Tephritidae) with reference to reproductive capacity. Songklanakarin Journal Science Technology. 34 (5), 475-478, Sep. - Oct. 2012

ภาคผนวกตาราง

ตารางที่ 1 สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ *Bactrocera latifrons* (Hendel)

กรรมวิธีที่ 1 สูตรข้าวโพดปน		กรรมวิธีที่ 2 สูตรแครอท	
ส่วนประกอบ	ปริมาณ	ส่วนประกอบ	ปริมาณ
ข้าวโพดปน	200 กรัม	รำข้าว	140 กรัม
น้ำตาล	20 กรัม	Nipagen	1.6 กรัม
Brewer's yeast	20 กรัม	Granular sugar	20 กรัม
กระดาศหิซซู่	12 กรัม	Torula yeast	35 กรัม
Butyl p- hydroxybenzoate	0.6 กรัม	Carrot powder	50 กรัม
HCl (conc.)	0.9 มิลลิลิตร	กรดซิตริก	35 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	340 มิลลิลิตร	น้ำกลั่น	750 มิลลิลิตร