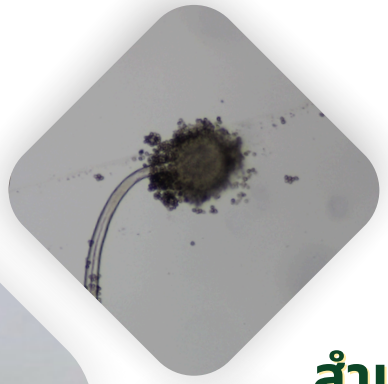
เล่มที่ ๑

ผลงานวิจัย ประจำปี ๒๕๖๗



สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

PLANT PROTECTION RESEARCH AND DEVELOPMENT OFFICE

เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๖๘

รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๖๗
เล่ม ๑

เอกสารวิชาการลำดับที่ ๑/๒๕๖๘

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

วิสัยทัศน์

กรมวิชาการเกษตรเป็นองค์กรที่เป็นเลิศด้านการวิจัยและพัฒนาด้านพืช เครื่องจักรกลการเกษตร และเป็นศูนย์กลางรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตรด้านพืชในระดับสากล บนพื้นฐานการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ภายใต้สมดุลวัฒนธรรมองค์กร ภายในปี พ.ศ. ๒๕๗๐

ค่านิยม

ซื่อสัตย์ โปร่งใส งานวิจัยมีคุณภาพ

วัฒนธรรมองค์กร

รักองค์กร ทำงานอย่างมีเป้าหมาย และมุ่งผลสัมฤทธิ์

พันธกิจ

๑. สร้างและถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยด้านพืชและเครื่องจักรกลการเกษตรสู่กลุ่มเป้าหมาย
๒. กำหนดและกำกับดูแลมาตรฐานระบบการผลิตและผลิตพันธุ์พืชและปัจจัยการผลิตพัฒนาระบบตรวจรับรองสินค้าการเกษตรด้านพืชให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
๓. อนุรักษ์และพัฒนาการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพด้านพืช แมลง และจุลินทรีย์
๔. สนับสนุนการขับเคลื่อนการลดก๊าซเรือนกระจกของประเทศไทย มุ่งสู่เศรษฐกิจสังคมคาร์บอนต่ำอย่างยั่งยืน
๕. กำกับ ดูแล และพัฒนากฎหมายที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบ

คำนำ

ปีงบประมาณ 2567 งานวิจัยของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประกอบด้วยแผนงานวิจัย โครงการวิจัย และการทดลอง รวม 14 แผนงานวิจัย 36 โครงการ และ 154 การทดลอง ซึ่งรวมถึงแผนงานวิจัยภายใต้สังกัดสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จำนวน 5 แผนงานวิจัย 23 โครงการวิจัย แผนงานวิจัยงานบูรณาการส่งเสริมวิจัยและนวัตกรรมปี พ.ศ. 2565-2567 อยู่ภายใต้แผนปฏิบัติการวิจัยและนวัตกรรม กรมวิชาการเกษตร ปี 2564-2569 และภายใต้ทิศทางการดำเนินงานวิจัยกรมวิชาการเกษตรปี 2565-2567 ซึ่งแผนงานวิจัยของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เป็นแผนงานวิจัยที่รองรับและสนับสนุนการขับเคลื่อนประเทศด้วยโมเดลเศรษฐกิจ BCG (BCG Model)

แผนงานวิจัยที่สนับสนุนเศรษฐกิจสีเขียว (Green Economy) ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประกอบด้วย 3 แผนงานวิจัย ได้แก่ (1) แผนงานวิจัยนวัตกรรมการผลิตและเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชเพื่อการอารักขาพืชอย่างยั่งยืน จำนวน 5 โครงการวิจัย (2) แผนงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีด้านอารักขาพืชเพื่อการเพิ่มขีดความสามารถในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช จำนวน 3 โครงการวิจัย และ (3) แผนงานวิจัยอนุกรมวิธานเชิงลึกมุ่งแก้ปัญหาท้าทายด้านศัตรูพืชเพื่อสนับสนุนและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร จำนวน 6 โครงการวิจัยรวมถึง 3 โครงการวิจัย ได้แก่ โครงการวิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชผัก โครงการวิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไม้ผล และโครงการวิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยสังกัดสถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

แผนงานวิจัยที่สนับสนุนเศรษฐกิจชีวภาพ (Bio Economy) ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประกอบด้วยการทดลองในโครงการวิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ โครงการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขากัญชาในสภาพการปลูกภายในอาคาร อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยสังกัดสำนักผู้เชี่ยวชาญ โครงการวิจัยนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม ขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยสังกัดสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

แผนงานวิจัยที่สนับสนุนการปฏิบัติงานตามพระราชบัญญัติที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประกอบด้วย 2 แผนงานวิจัยได้แก่ (1) แผนงานวิจัยและพัฒนาการกักกันพืชเพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืชระหว่างประเทศ จำนวน 7 โครงการวิจัย และ (2) แผนงานวิจัยการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) เพื่อการผลิตที่ยั่งยืน จำนวน 2 โครงการวิจัย นอกจากนี้ยังประกอบด้วยการทดลองในแผนงานวิจัยอื่นๆ ที่นักวิจัยเป็นหัวหน้าการทดลองและเป็นนักวิจัยผู้ร่วมการทดลอง

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2567 เป็นผลงานวิจัยที่นักวิจัยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช มีความมุ่งมั่นดำเนินการ สนับสนุนการนำไปใช้ประโยชน์ในกลุ่มเป้าหมาย เพื่อก่อให้เกิดผลกระทบในวงกว้าง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ขอขอบคุณในความตั้งใจ ความมุ่งมั่นของนักวิจัย และขอบคุณที่ได้รับความร่วมมืออย่างดีเสมอมา

(นางช่อทิพย์ ศัลยพงษ์)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กันยายน 2568

สารบัญ

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2567 เล่มที่ 1..... 1-735
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2567 เล่มที่ 2..... 736-1442
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2567 เล่มที่ 3..... 1443-2178
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2567 เล่มที่ 4..... 2178-2894

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

โครงการวิจัย การวิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

กิจกรรมที่ 6 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขากัญชาในสภาพการปลูกแบบภายในอาคาร

กิจกรรมย่อยที่ -

➢ 6.3 การใช้มวนตัวห้ำเอ็กซีกูอัส *Cardiastethus*..... 1
exiguus Poppius ในการควบคุม แมลงศัตรูกัญชา
FF65-01-01-65-06-03-66
❖ อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

➢ 6.4 คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลง..... 18
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชในกัญชา✪
FF65-01-01-65-06-04-66
❖ ภัททิรา ศาตร์วงษ์ และคณะ

➢ 6.5 สำรวจชนิดแมงมุมในพืชกัญชาในระบบโรงเรือน..... 33
และปลูกแบบโล่งแจ้ง
FF65-01-01-65-06-05-67
❖ วิมลวรรณ โชติวงศ์ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการสร้างมูลค่าเพิ่มจากความหลากหลายทางชีวภาพของพืช เห็ด จุลินทรีย์ และศัตรูธรรมชาติ เพื่อการอนุรักษ์ใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

โครงการวิจัย นวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน (Orthoptera) เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม ขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ

กิจกรรมที่ -

กิจกรรมย่อยที่ –

➢ 2. การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงขยายตั๊กแตนจากวัตถุดิบ..... 47
เหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก
FF65-02-05-65-00-02-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ
➢ 5. การสร้างแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลาย..... 60
ทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อเพิ่มมูลค่า ใช้ประโยชน์และ
อนุรักษ์อย่างยั่งยืน
FF65-02-05-65-00-04-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยนวัตกรรมการผลิตและเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชเพื่อการอารักขาพืชอย่างยั่งยืน

โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาการผลิตและการใช้ตัวห้ำตัวเบียนเพื่อควบคุมศัตรูพืชในการผลิตพืชปลอดภัย

กิจกรรมที่ 1.วิจัยการผลิตขยายแมลงห้ำแมลงเบียนเพื่อพัฒนาศักยภาพเป็นชีวภัณฑ์ใหม่ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายด้วงเต่าและมวนตัวห้ำชนิดใหม่ที่มีศักยภาพควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ

การทดลอง ➢ 1.1.1 พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่ม..... 73
ปริมาณด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius)
FF65-10-01-65-01-01-65
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ
➢ 1.1.2 พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ.. 93
ด้วงเต่าลายหยัก *Coccinella transversalis* Fabricius
FF65-10-01-65-01-02-65
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ
➢ 1.1.3 พัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ..... 113
Cryptolaemus montrouzieri Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) ด้วยเหยื่ออาหารเพื่อใช้ควบคุมเพลี้ยแป้ง
FF65-10-01-65-01-03-65
❖ ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ และคณะ

➢ 1.1.5 การศึกษาประสิทธิภาพของ..... 136
มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)
FF65-10-01-65-01-05-65
❖ อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงแตนเบียนที่มีศักยภาพควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ (มะพร้าว มะเขือ)

การทดลอง ➢ 1.2.1 การพัฒนาวิธีการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้..... 153
Brachymeria nephantidis Gahan และศักยภาพการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker
FF65-10-01-65-01-06-65
❖ ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ และคณะ

➢ 1.2.2 การศึกษาศักยภาพ การผลิตขยาย 181
และผลกระทบของสารเคมีต่อแตนเบียน *Encarsia sophia* (Girault & Dodd) (Hymenoptera: Aphelinidae) ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) ✪
FF65-10-01-65-01-07-65
❖ สุพรรณี ภูคะฮาด และคณะ

กิจกรรมที่ 2. การใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* (Steph) ควบคุมเพลี้ยอ่อนในคะน้าในโรงเรือน

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 2.3 การใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea*..... 207
ควบคุมเพลี้ยอ่อนในการปลูกคะน้าในโรงเรือน
FF65-10-01-65-02-03-66
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

กิจกรรมที่ 3. การใช้มวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn ควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาว

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 3.2 ศึกษาช่วงการระบาดที่เหมาะสมและอัตรา..... 214
การปล่อยมวนเพชฌฆาตควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุด
ในถั่วฝักยาว
FF65-10-01-65-03-02-66
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ
➢3.3 ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช..... 222
ที่ใช้ในถั่วฝักยาวที่มีต่อมวนเพชฌฆาต
FF65-10-01-65-03-03-67
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ

กิจกรรมที่ 4. การใช้แมลงหางหนีบขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucus) ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลี

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 4.3 ศึกษาอัตราการใช้และวิธีการปล่อยแมลงหางหนีบ..... 231
ขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucus) เพื่อควบคุม
เพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลีในสภาพแปลงเกษตรกร
FF65-10-01-65-04-03-66
❖ นันทนัช พินศรี และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาการผลิตและการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมที่ 1. เทคโนโลยีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและไวรัส NPV ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 1.1 การศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอย..... 246
ศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียม
FF65-10-02-65-01-01-65
❖ อัจฉรียา นิจจรัลกุล และคณะ

➢ 1.2 การพัฒนาสูตรสำเร็จไวรัส NPV 268
หนอนกระทู้หอมในรูปผงละลายน้ำ
FF65-10-02-65-01-02-65
❖ อนุสรณ์ พงษ์มี และคณะ

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูผัก

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 2.1 การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม; *Metarhizium*..... 287
anisopliae (Metsch) Sorokin เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย; *Phyllotreta sinuata* Stephens ในผักกาดหัว✪
FF65-10-02-65-02-01-65
❖ ทิภาพร นวลเนตร และคณะ

➢ 2.2 การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae*..... 314
Beauveria bassiana และ *Isaria javanica* ควบคุมแมลงหวี่ขาว *(Bemisia tabasi* (Gennadius)) ในมะเขือเปราะ
FF65-10-02-65-02-02-65
❖ทิภาพร นวลเนตร และคณะ

➢ 2.3 การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* 345
และ *Beauveria bassiana* ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* (Koch)) ในถั่วฝักยาว
FF65-10-02-65-02-03-65
❖ ภัททิรา ศาตร์วงษ์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืชเพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมที่ 1. การพัฒนานวัตกรรมการผลิตและการใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคพืชเพื่อเพิ่มผลผลิต

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย..... 369
Bacillus subtilis ในการควบคุมโรคผลเน่า (bacterial fruit blotch) ของพืชตระกูลแตง
FF65-10-03-65-01-01-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ

➢ 1.2 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย 385
Bacillus subtilis ในการควบคุมโรคใบติดทุเรียน
FF65-10-03-65-01-02-65
❖ นพพล สัทยาสัย และคณะ
➢ 1.4 การพัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 404
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-10-03-65-01-04-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 1.5 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ 418
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า
FF65-10-03-65-01-05-65
❖ ณัฐธิดา เติมสังข์ และคณะ
➢ 1.6 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 431
Bacillus spp. เพื่อควบคุมโรคราแป้งพืชตระกูลแตง
FF65-10-03-65-01-06-65
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ
➢ 1.7 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 459
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคแคงเคอร์ในมะนาว
FF65-10-03-65-01-07-65
❖ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ
➢ 1.8 พัฒนารูปแบบการผลิตและการใช้ชีวภัณฑ์..... 478
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วง
FF65-10-03-65-01-08-65
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ
➢ 1.9 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย..... 499
Bacillus subtilis ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora*
FF65-10-03-65-01-09-65
❖มะลิดา ชูรินทร์ และคณะ

กิจกรรม 2. วิจัยพัฒนาชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราใน พริก หอม และมะเขือเทศ เพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง

➢ 2.1 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ..... ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*

FF65-10-03-65-02-01-65

❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

➢ 2.2 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. 525
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

FF65-10-03-65-02-02-65

❖ อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว และคณะ

➢ 2.3 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. 548
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria porri*

FF65-10-03-65-02-03-65

❖ หทัยภัทร เจษฎารมย์ และคณะ

➢ 2.4 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC..... 564
2550 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

FF65-10-03-65-02-04-66

❖ จุฬารัตน์ หน่อแก้ว และคณะ

➢ 2.5 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC..... 577
2550 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

FF65-10-03-65-02-05-66

❖ จุฬารัตน์ หน่อแก้ว และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนานวัตกรรมเพื่อเพิ่มมูลค่าสารสกัดพืช (Plant extract) ควบคุมศัตรูพืช เพื่อเกษตรปลอดภัย

กิจกรรมที่ 2. วิจัยและพัฒนาสารสกัดและสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน สำหรับควบคุมแมลงศัตรูพืชในพืชผักตระกูลกะหล่ำ

การทดลอง

➢ 2.2 ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดและสูตร..... 589
ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในคะน้า
FF65-10-04-65-02-02-66

❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

➢ 2.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดและสูตร..... 605
ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปกากเมล็ดชาน้ำมัน เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในกะหล่ำปลี
FF65-10-04-65-02-03-66

❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากและหนูศัตรูพืช

กิจกรรมที่ 1. เทคโนโลยีการผลิตชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 1.1 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพ..... 621
ของหอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-02-65

❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ 638

➢ 1.2 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของ.....
สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-04-66

❖ ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล และคณะ

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการผลิตชีวินทรีย์ควบคุมหนูศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 2.2 การทดสอบประสิทธิภาพความรุนแรงก่อโรค..... 671
ของโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria*
FF65-10-05-65-02-02-66
❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ

➢ 2.3 การพัฒนาต้นแบบและทดสอบประสิทธิภาพ..... 681
เหยื่อพิษหางไหลในรูปแบบเม็ดแกรนูล
FF65-10-05-65-02-03-66
❖ ทัสดาว เกตุเนตร และคณะ

➢ 2.4 ศึกษาผลกระทบของโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล..... 691
Eimeria ต่อสัตว์ชนิดอื่น
FF65-10-05-65-02-04-67
❖ สมเกียรติ กล้าแข็ง และคณะ

➢2.5 การทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษา..... 701
เหยื่อพิษหางไหล
FF65-10-05-65-02-05-67
❖ สมเกียรติ กล้าแข็ง และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและแก้ปัญหาท้าทายด้านการผลิตพืชปลอดภัย

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชไร่ (อ้อย มันสำปะหลัง และข้าวโพด)

กิจกรรมที่ 2. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชไร่ (อ้อย มันสำปะหลัง และข้าวโพด)

การทดลอง ➢ 2.1 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 709
ในอ้อย เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืช
ปลอดภัย
FF65-11-01-65-02-01-67
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ

➢ 2.2 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 736
ในมันสำปะหลัง เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-01-65-02-02-67
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชผัก (ผักกาดขาวปลี ผักกาดหอม กะหล่ำปลี คะน้า และพริก)

กิจกรรมที่ 2.วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชผัก (ผักกาดขาวปลี ผักกาดหอม คะน้า และกะหล่ำปลี)

การทดลอง ➢ 2.1 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 754
ในผักกาดขาวปลี เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-02-01-67
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ
➢ 2.2 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 769
ในผักกาดหอม เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-02-02-67
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ
➢ 2.3 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานใน..... 781
คะน้าเพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-02-03-67
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ
➢ 2.4 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 797
ในกะหล่ำปลีเพื่อเพิ่มศักยภาพในการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-02-04-67
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไม้ผล (มะม่วง ส้มโอ ทุเรียน)

กิจกรรมที่ 2. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไม้ผล (มะม่วง ส้มโอ ทุเรียน)

การทดลอง

➢ 2.1 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 809
ในมะม่วง เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-03-65-02-01-67
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

➢ 2.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในส้มโอ..... 832
เพื่อทดแทนสารกำจัดวัชพืช paraquat✪
FF65-11-03-65-02-02-67
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

➢ 2.3 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 854
ในทุเรียนเพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-03-65-02-03-67
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม (ปาล์มน้ำมัน ยางพารา มะพร้าว และกาแฟ)

กิจกรรมที่ 2. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม (ปาล์มน้ำมัน ยางพารา มะพร้าว และกาแฟ)

การทดลอง

➢ 2.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในปาล์มน้ำมัน..... 874
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัยปลอดภัย✪
FF65-11-04-65-02-01-67
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ

➢ 2.2 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 898
ในยางพารา เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-02-02-67
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

➢ 2.3 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 918
ในมะพร้าว เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืช
ปลอดภัย
FF65-11-04-65-02-03-67
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ
➢ 2.4 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในกาแฟ..... 944
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย✪
FF65-11-04-65-02-04-67
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีด้านอารักขาพืชเพื่อการเพิ่มขีดความสามารถในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการชักนำภูมิต้านทานของพืชต่อศัตรูพืชเพื่อประยุกต์ใช้ร่วมกับระบบการผลิตพืชปลอดภัย

กิจกรรมที่ 1. การใช้สารประกอบอินทรีย์ในการชักนำภูมิต้านทานของพืช

การทดลอง ➢ 1.1 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์บางชนิด..... 962
ในการชักนำภูมิต้านทานของพริกต่อไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-12-01-65-01-01-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 1.2 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์..... 990
บางชนิดในการชักนำภูมิต้านทานของคะน้า ต่อแบคทีเรีย
Xanthomonas campestris pv. *campestris*
FF65-12-01-65-01-02-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ
➢ 1.3 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์..... 1010
บางชนิดในการชักนำภูมิต้านทานของมะนาวต่อแบคทีเรีย
Xanthomonas citri subsp. *citri*
FF65-12-01-65-01-03-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ

กิจกรรมที่ 2. การใช้จุลินทรีย์ในการชักนำภูมิต้านทานของพืช

การทดลอง ➢ 2.3 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 1030
ในการชักนำภูมิต้านทานของพริกต่อไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-12-01-65-02-03-65

❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

โครงการวิจัย การเพิ่มขีดความสามารถการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยลดการใช้สารเคมีเพื่อเกษตรดีที่เหมาะสมอย่างยั่งยืน

กิจกรรมที่ 1. พัฒนาเทคโนโลยีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง และสัตว์ฟันแทะเพื่อใช้เป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อเกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนารูปแบบการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ร่วมกับสารชีวภัณฑ์และสารธรรมชาติ เพื่อการผลิตสินค้าพืชปลอดภัย

การทดลอง ➢ 1.1.5 การใช้สารฆ่าแมลงร่วมกับการใช้..... 1051
ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในการป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก *Phyllotreta* spp. ในผักกาดหัว✪
FF65-12-02-65-01-05-66

❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 วิจัยประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงเพื่อเป็นคำแนะนำรองรับปัญหาศัตรูพืชสร้างความต้านทาน

การทดลอง ➢ 1.2.7 ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงและสารสกัด..... 1065
จากธรรมชาติ ในการป้องกันกำจัดแมลงวันหนอนชอนใบหอม ในหอมแดง
FF65-12-02-65-01-11-66

❖ ยุทธนา แสงโชติ และคณะ

➢ 1.2.8 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงกลุ่ม..... 1085
กลไกการออกฤทธิ์ต่างๆ ในการป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้ *Contarinia maculipennis* Felt ในมะลิ
FF65-12-02-65-01-12-66

❖ ไกรวิชญ์ เรืองสุข และคณะ

กิจกรรมที่ 2. พัฒนาเทคโนโลยีการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช เพื่อเป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดโรคพืชสำหรับเกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ 2.2 วิจัยสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่เพื่อเป็นคำแนะนำสำหรับเกษตรดีที่เหมาะสม

การทดลอง ➢ 2.2.5 ประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช..... 1099
ในการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย *Radopholus similis*
ในพืช Monstera
FF65-12-02-65-02-07-66
❖ ทมิตา โชคปิยธนากุล และคณะ

กิจกรรมที่ 3. วิจัยและพัฒนาการใช้สารกำจัดวัชพืช เพื่อการผลิตพืชปลอดภัยสู่เกษตรกร

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 3.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1113
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในโกโก้
FF65-12-02-65-03-02-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ
➢ 3.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1133
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในมะละกอ
FF65-12-02-65-03-03-65
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ
➢ 3.5 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1170
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในฟักทอง
FF65-12-02-65-03-05-65
❖สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
➢ 3.6 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อใช้เป็น..... 1198
คำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในแตงโม
FF65-12-02-65-03-06-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ

➢ 3.7 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1247
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในแกลดิโอลัส
FF65-12-02-65-03-07-65
❖ ภัทร์พิชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

กิจกรรมที่ 4. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสู่เกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢4.2 เทคนิคการใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด..... 1281
เพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) ในเมล่อนด้วยระบบการให้น้ำแบบน้ำหยด
FF65-12-02-65-04-06-66
❖ สุภางคนา ถิรวุธ และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการอารักขาพืชเพื่อแก้ปัญหาศัตรูพืชต้านทานและการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเกินความจำเป็นในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการอารักขาพืชเพื่อแก้ปัญหาแมลงศัตรูพืชต้านทานและการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเกินความจำเป็นในพืชไร่ พืชผัก และไม้ผลในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 2.3 การจัดการสารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนกลุ่ม.....
กลไกการออกฤทธิ์เพื่อป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hubner) ในหอมแดง
FF65-12-03-65-02-03-65
❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ

➢ 2.4 การใช้สารแบบหมุนเวียนในการป้องกันกำจัด..... 1306
เพลี้ยจักจั่นฝ้าย *Amrasca biguttula biguttula* (Ishida) ในกระเจี๊ยบเขียวเพื่อลดปัญหาความต้านทานสารฆ่าแมลง
FF65-12-03-65-02-04-65
❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ

➢ 2.5 การจัดการความต้านทานต่อสารกำจัด..... 1327
ศัตรูพืชในเพลี้ยไฟ (*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายแตงโม
โดยการใช้สารกำจัดแมลงแบบหมุนเวียน
FF65-12-03-65-02-05-65
❖ ธีราทัย บุญญะประภา และคณะ

กิจกรรมที่ 3. ประเมินความต้านทานของวัชพืชต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในนาข้าวในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่และเทคโนโลยีในการจัดการปัญหาความต้านทาน

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 3.1 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืช..... 1349
กลุ่มยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl) ต่อ ผักปอด (*Sphenoclea zeylanica*) เพื่อการจัดการวัชพืช
FF65-12-03-65-03-01-65
❖ จรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ
➢ 3.2 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม..... 1374
ยับยั้งการสร้างไขมัน (cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl) ในหญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis*) เพื่อการจัดการวัชพืช
FF65-12-03-65-03-02-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ
➢ 3.3 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม..... 1413
ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (metsulfuron-methyl และ pyrazosulfuron-ethy) ในหนวดปลาดุก (*Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth) เพื่อการจัดการวัชพืช✪
FF65-12-03-65-03-03-65
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ

➢ 3.4 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม..... 1443
ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl) ในกกขนาก (*Cyperus difformis*) เพื่อการจัดการวัชพืช
FF65-12-03-65-03-04-65
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยอนุกรมวิธานเชิงลึกมุ่งแก้ปัญหาท้าทายด้านศัตรูพืชเพื่อสนับสนุนและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

โครงการวิจัย อนุกรมวิธาน ชีววิทยาแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมที่ 1. อนุกรมวิธานแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชเศรษฐกิจโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การทดลอง ➢ 1.3 อนุกรมวิธานเพลี้ยไฟที่พบในไม้ดอก..... 1475
FF65-20-01-65-01-03-65
❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ
➢ 1.4 อนุกรมวิธานของผีเสื้อหนอนกระทู้ สกุล..... 1522
Spodoptera Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae)
FF65-20-01-65-01-04-65
❖ อาทิตย์ รักกสิกร และคณะ

กิจกรรมที่ 2. ชีววิทยาของแมลง ไรศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพในการควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง ➢ 2.3 การจำแนกชนิดและชีววิทยามวนตัวห้ำ..... 1552
สกุล *Nesidiocoris* (Hemiptera: Miridae)
FF65-20-01-65-02-03-65
❖ จอมสุรางค์ ดวงธิสาร และคณะ

โครงการวิจัย การจำแนกชนิดแมลง สัตว์ศัตรูพืชที่สำคัญด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 4. การจำแนกชนิดและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ..... 1566
ของเพลี้ยแป้ง cryptic species สกุล *Planococcus* Ferris 1950 ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-04-65
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➢ 5. การจำแนกไบโอไทป์ของแมลงหวี่ขาวยาสูบ..... 1578
Bemisia tabaci ในแหล่งปลูกพริกอินทรีย์และแหล่งปลูกพริกใช้สารเคมีในภาคตะวันออกเฉียงเหนือในประเทศไทยโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล✪
FF65-20-02-65-00-05-65
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ
➢ 6. การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด ความสัมพันธ์ทาง..... 1596
วิวัฒนาการ และมอร์โฟเมทริกส์ของแมลงวันหนอนชอนใบ (Diptera: Agromyzidae) ในพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย✪
FF65-20-02-65-00-06-65
❖ ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ

โครงการวิจัย การจำแนกชนิดและคุณลักษณะชีวโมเลกุลของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่สำคัญ

กิจกรรมที่ -

การทดลอง
➢ 1.การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1630
Hirschmanniella (Nematoda : Pratylenchidae) ในพรรณไม้น้ำ
FF65-20-03-65-00-01-65
❖ ทมิตา โชคปิยธนากุล และคณะ
➢ 2 การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1642
Xiphinema (Nematoda: Longidoridae)
FF65-20-03-65-00-02-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 3 การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1655
Scutellonema (Nematoda: Hoplolaimidae)
FF65-20-03-65-00-03-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 4. อนุกรมวิธานของราน้ำค้างในพืชตระกูลแตง..... 1664
และพืชตระกูลกะหล่ำ
FF65-20-03-65-00-04-65
❖ มะโนรัตน์ สุดสงวน และคณะ

➢ 5. การจำแนกชนิดและคุณลักษณะชีวโมเลกุล..... 1685
ของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคในมันเทศ
FF65-20-03-65-00-05-65
❖ ณฐมน แก้วนุ้ย และคณะ

โครงการวิจัย การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่มีความซับซ้อน (complex species)

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 2. การจำแนกชนิดของเชื้อรา..... 1715
Fusarium oxysporum f.sp. *cubense* race 1 complex สาเหตุโรคตายพรายกล้วย
FF65-20-04-65-00-02-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢ 3. การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย..... 1728
Xanthomonas spp. สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-20-04-65-00-03-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ

โครงการวิจัย การศึกษาชนิดวัชพืชที่สำคัญเพื่อแก้ปัญหาท้าทายด้านวัชพืชและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

กิจกรรมที่ –

การทดลอง ➢ 2. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล..... 1745
Fimbristylis Vahl
FF65-20-05-65-00-02-65
❖ ธัญชนก ศรีเมือง และคณะ
➢ 3. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล 1772
Spilanthes Jacq.
FF65-20-05-65-00-03-66
❖ วัชระ สังข์ทอง และคณะ
➢ 4. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล..... 1790
Merremia Dennst. ex Endl.
FF65-20-05-65-00-04-67
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ

โครงการวิจัย การศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของวัชพืชที่สำคัญเพื่อแก้ปัญหาท้าทายด้านวัชพืชและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

กิจกรรมที่ –

การทดลอง

- 1. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของผักกระฉูด..... 1812
  (*Neptunia plena* (L.) Benth) วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่ชุ่มน้ำทางการเกษตร
  FF65-20-06-65-00-01-65
  - ❖ ธัญชนก ศรีเมือง และคณะ
- 2. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของโทงเทงประดับ..... 1846
  (*Nicandra physalodes* (L.) Gaertn) วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ
  FF65-20-06-65-00-02-65
  - ❖ ธัญชนก ศรีเมือง และคณะ
- 3. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของ *Oxalis*..... 1866
  debilis. Kunth วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ
  FF65-20-06-65-00-03-65
  - ❖ วัชระ สังข์ทอง และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อผลผลิตและคุณภาพสูงสำหรับอุตสาหกรรม

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อการควบคุมโรคใบด่างมันสำปะหลัง

กิจกรรมที่ 1. การปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง (ระยะที่ 1)

การทดลอง

- 1.6 ทดสอบความต้านทานต่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง..... 1882
  ในมันสำปะหลังโดยการเสียบยอด
  FF65-23-02-65-01-04-65
  - ❖ วานิช คำพานิช และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชไร่ตระกูลถั่วและข้าวโพดฝักสดเพื่อความมั่นคงทางอาหาร

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดฝักสดเพื่อความมั่นคงทางอาหาร

กิจกรรมที่ 1.วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดฝักสด

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาข้าวโพดฝักสด

การทดลอง

- 1.2.6 ผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 1893
  ใช้ทางใบต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดหวาน
  FF65-45-04-65-01-10-65
  - ❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ
- 1.2.7 ผลของน้ำบาดาลและน้ำผิวดิน ต่อประสิทธิภาพ..... 1907
  การกำจัดวัชพืชในพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวาน
  FF65-45-04-65-01-11-65
  - ❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการกักกันพืชเพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืชระหว่างประเทศ

โครงการวิจัย การศึกษาชนิดของศัตรูพืชในประเทศเพื่อการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

กิจกรรมที่ –

การทดลอง

- 1. การศึกษาชนิดของแมลงศัตรู อินทผลัม มันเทศ 1929
  ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
  FF65-55-01-65-00-01-65
  - ❖ เกศสุดา สนศิริ และคณะ
- 2. การศึกษาชนิดของไรศัตรู อินทผลัม มันเทศ..... 1952
  ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
  FF65-55-01-65-00-02-65
  - ❖ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ

➢ 3. การศึกษาชนิดของโรค อินทผลัม มันเทศ ลิลลี่..... 1981
กล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-03-65
❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 4. การศึกษาชนิดของวัชพืชใน อินทผลัม มันเทศ..... 2001
ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-04-65
❖ ธัญชนก ศรีเมือง และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาความเสี่ยงศัตรูพืชที่สัมพันธ์กับการนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

➢ 1. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2025
บลูเบอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-01-65
❖วรัญญา มาลี และคณะ

➢ 2. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2047
แก้วมังกรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-02-65
❖ คมศร แสงจินดา และคณะ

➢ 3. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2061
เชอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-03-65
❖ ชวลิต จิตนันท์ และคณะ

➢ 4. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2103
สับปะรดจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-04-65
❖ ณัฐสุดา บรรเลงสวรรค์ และคณะ

➢ 5. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2139
อินทผลัมจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-05-65
❖ อมรพร คุณะพันธ์ และคณะ

➢ 6. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2163
ส่วนขยายพันธุ์องุ่นจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-06-65
❖ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และคณะ

➢ 7. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2178
ลิลลี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-07-65
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ

➢ 8. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2197
กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-08-65
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ

➢ 9. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการ..... 2233
นำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-09-65
❖ อลงกต โพธิ์ดี และคณะ

โครงการวิจัย การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักและหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 5. การตรวจวินิจฉัยและจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์..... 2247
ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า✪
FF65-55-03-65-00-05-66
❖ วาสนา รุ่งสว่าง และคณะ

➢ 6. การตรวจวินิจฉัย *Potato spindle tuber viroid*..... 2262
(PSTVd) ที่ติดมาหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า
FF65-55-03-65-00-06-66
❖ สุรศักดิ์ แสนโคตร และคณะ
➢ 7. การตรวจและศึกษาชนิดเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับ..... 2282
เมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้า
FF65-55-03-65-00-07-66
❖ จันทร์พิศ เดชหามาตย์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและชีวภัณฑ์เพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืช

กิจกรรมที่ 1. พัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช

การทดลอง ➢ 1.1 การพัฒนา การตรวจสอบ..... 2293
แมลงวันทองฝรั่ง *Bactrocera correcta* และ แมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) เพื่อการนำเข้าและส่งออกด้วย multiplex PCR จากไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง
FF65-55-04-65-01-01-65
❖ ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ
➢ 1.2 การตรวจ Cucumber mosaic virus .....
ในพริกด้วยเทคนิค Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification
FF65-55-04-65-01-02-65
❖ เยาวภา ตันติวานิช และคณะ
➢ 1.3 พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย..... 2326
Xanthomonas perforans สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-55-04-65-01-03-65
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➢ 1.4 พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย 2337
Xanthomonas vesicatoria สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-55-04-65-01-04-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ
➢ 1.5 การเปรียบเทียบและประเมินประสิทธิภาพ..... 2352
การตรวจไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ด้วยเทคนิค LAMP PCR และ Real-time PCR
FF65-55-04-65-01-05-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

กิจกรรมที่ 2. พัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยชีวภัณฑ์นำเข้าภายใต้พระราชบัญญัติวัตถุอันตราย

การทดลอง
➢ 2.1 พัฒนาเทคนิค Polymerase Chain Reaction..... 2366
เพื่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา *Trichoderma asperellum*
FF65-55-04-65-02-01-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢ 2.2 การพัฒนาเทคนิคสำหรับตรวจสอบเชื้อรา..... 2380
Metarhizium anisopliae ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ
FF65-55-04-65-02-02-65
❖ ทิภาพร นวลเนตร และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอและมะม่วงเพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออก

กิจกรรมที่ -

การทดลอง
➢ 1. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้น..... 2406
สัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-01-65
❖ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และคณะ

➢ 2. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้น..... 2430
สัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในผลมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-02-65
❖ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และคณะ

➢ 3. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน..... 2453
เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงมันเดือนเก้าเพื่อการส่งออก✪
FF65-55-05-65-00-03-65
❖ ชัยณรัตน์ สนศิริ และคณะ

➢ 4. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน..... 2509
เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงน้ำดอกไม้มันเพื่อการส่งออก✪
FF65-55-05-65-00-04-65
❖ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ และคณะ

➢ 5. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 2549
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงแดงจักรพรรดิเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-05-65
❖ ปวีณา บูชาเทียน และคณะ

➢ 6. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้น..... 2563
สัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* ในผลมะม่วงอกร่องเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-06-65
❖ ศิริพร คงทวี และคณะ

โครงการวิจัย การสำรวจ และเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันของพืชและผลผลิตพืชในประเทศไทย

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

➢ 1. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย 2574
Pseudomonas corrugata ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-01-65
❖ วานิช คำพานิช และคณะ

➢ 2. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย..... 2584
Xanthomonas vesicatoria ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-02-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ
➢ 4. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย.....
Xanthomonas perforans ในประเทศไทย 2604
FF65-55-06-65-00-04-65
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
➢ 5. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา..... 2621
Pseudocercospora angolensis ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-05-65
❖ วานิช คำพานิช และคณะ
➢ 6. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา..... 2631
Verticillium albo-atrum ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-06-65
❖ ธิดาวรรณ ชมเดช และคณะ
➢ 7. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย..... 2640
Ditylenchus destructor ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-07-65
❖ นภลภัส บุษบงก์ และคณะ
➢ 8. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย..... 2652
Ditylenchus dipsaci ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-08-65
❖ ทมิตา โชคปิยธนากุล และคณะ
➢ 9. การสำรวจและเฝ้าระวังแมลงวันผลไม้..... 2671
Bactrocera minax (Enderlein)(Chinese citrus fly) ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-09-65
❖ ดนัย ชัยเรือนแก้ว และคณะ

➢ 10. การสำรวจและเฝ้าระวังตั๊กแตนไผ่..... 2683
Ceracris kiangsu Tsai ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-10-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ
➢ 11. การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช..... 2706
Raphanus raphanistrum ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-11-65
❖ ชุติมา อ้อมกิ่ง และคณะ
➢ 12. การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช..... 2717
Galium aparine L. ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-12-65
❖ พรรณิภา เปชัยศรี และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชอุบัติใหม่ในข้าวโพดและกล้วยเพื่อการส่งออก

กิจกรรมที่ 1. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพด

การทดลอง ➢1.3 การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* 2732
ร่วมกับสารป้องกันกำจัดแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน
FF65-55-07-65-01-03-66
❖ อิศเรส เทียนทัด และคณะ
➢ 1.4 ศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติ..... 2746
ร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน
FF65-55-07-65-01-04-66
❖ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ และคณะ
➢ 1.5 ศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติ..... 2768
ร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดฝักอ่อน
FF65-55-07-65-01-05-66
❖ สุพรรณี ภูคะฮาด และคณะ

กิจกรรมที่ 2. ศึกษาโรคตายพราย (Panama disease) tropical race 4 ของกล้วย และการป้องกันกำจัด

การทดลอง

➢ 2.1 การศึกษาชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย..... 2789
TR4 ในกล้วยคาเวนดิช ของประเทศไทย
FF65-55-07-65-02-01-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ

➢ 2.2 การตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย..... 2803
TR4 กล้วยในประเทศไทยด้วยเทคนิค SIX genes
FF65-55-07-65-02-02-65
❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 2.3 การศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย..... 2815
ต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4
FF65-55-07-65-02-03-65
❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 2.4 การทดสอบการใช้ยูเรียและปูนขาวอบดินร่วม.....
กับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการควบคุมโรคตายพราย
TR4 ของกล้วย
FF65-55-07-65-02-04-65
❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

แผนงานวิจัย การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) เพื่อการผลิตที่ยั่งยืน

โครงการวิจัย การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักเศรษฐกิจ เพื่อส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU)

กิจกรรมที่ –

การทดลอง

➢ 4. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสาน..... 2827
ในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
FF65-57-02-65-00-04-66
❖ หทัยภัทร เจษฎารมย์ และคณะ

➢ 5. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือน..... 2844
เพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
FF65-57-02-65-00-05-66
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ
➢ 6. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูกะเพรา/โหระพา..... 2862
ในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
FF65-57-02-65-00-06-66
❖ กรกต ดำรักษ์ และคณะ
➢ 7. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูมะระจีนสำหรับ..... 2881
การส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
FF65-57-02-65-00-07-66
❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

หมายเหตุ ✪ ชื่อการทดลองที่นักวิจัยแจ้งไม่ตรงกับชื่อการทดลองจากกองแผนงาน

การใช้มวนตัวห้ำเอ็กซีกูอัส *Cardiastethus exiguus* Poppius ในการควบคุมแมลงศัตรูกัญชา

Utilization of Predatory *Cardiastethus exiguus* (Hemiptera: Anthocoridae) to Control Insect Pests of Cannabis

อทิติยา แก้วประดิษฐ์[1/] วีระชัย สมศรี[1/] พลอยชมพู กรวิภาสเรือง[1/] อิทธิพล บรรณาการ[1/] สมคิด ดำน้อย[2/] ทรงเมท สังข์น้อย[3/] สุรกิตติ ศรีกุล[4/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]รักษาการในตำแหน่งผู้เชี่ยวชาญด้านระบบการปลูกพืช สำนักผู้เชี่ยวชาญ

[3/]กลุ่มวิจัยกัญชากัญชงและกระท่อม กองวิจัยพัฒนาพืชเศรษฐกิจใหม่และการจัดการก๊าซเรือนกระจกสำหรับภาคเกษตร

[4/]ผู้ทรงคุณวุฒิด้านการผลิตพืช สำนักผู้เชี่ยวชาญ

Abstract

Cannabis sativa has been considered as a new economic crop in Thailand, promoted by the government for commercial use. However, its cultivation faces challenges from insect and mite pests, and concerns over pesticide use and residue in the products. The objective of this research aims at the feasibility study of using the predatory *Cardiastethus exiguus* to control insect and mite pests of cannabis carried out from October 2022 to September 2024. The experiment was conducted at two locations, the first one at the experimental greenhouses at the Department of Agriculture (DoA) in Bangkok, and the second one at the grower greenhouses at the Phan Buri Ram Community Enterprise in Buri Ram. The first experiment was to compare three pest control methods: the traditional farming, the organic farming, and the DoA method (a combination of chemical pesticide and predatory bug). The results showed that using 3-5 predatory bugs per plant, together with chemical pesticides, could reduce the average number of red mites per leaf by up to 80%. The DoA method achieved the highest net income of 733.57 baht (per 9 plants). The results from the DoA method from the first experiment was further conducted at the grower greenhouses at the Phan Buri Ram Community

รหัสการทดลอง FF65-01-01-65-06-03-66

Enterprise in Buri Ram to compare the use with lower cost and higher cost pesticides. The result showed that the DoA method using low-cost pesticides yielded a return on investment comparable to using high-cost pesticides, with a net profit of ca. 112,000 baht (per 200 plants). This indicates the feasibility of using predatory *C. exiguus* as a pest management strategy to control insect and mite pests of cannabis and as a technology transferrable to the growers.

Keywords : *Cardiastethus exiguus*, cannabis, insect and mite pests

บทคัดย่อ

กัญชา (*Cannabis sativa*, Cannabaceae) ถูกจัดให้เป็นพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ของประเทศไทย ที่รัฐบาลส่งเสริมให้นำมาใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ แต่การเพาะปลูกยังประสบกับปัญหาด้านแมลงและไรศัตรูพืช อีกทั้งยังมีข้อกังวลเกี่ยวกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและพิษตกค้างในผลผลิต โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* มาใช้ควบคุมแมลงและไรศัตรูพืชของกัญชา ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2565 - กันยายน 2567 โดยแบ่งการทดลองในสภาพโรงเรือน เป็น 2 การทดลอง คือการทดลองที่ 1 ที่โรงเรือนทดลอง กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ และการทดลองที่ 2 ที่โรงเรือนเกษตรกร วิสาหกิจชุมชน พันธุ์บุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์ ในการทดลองที่ 1 เปรียบเทียบวิธีการควบคุมแมลงและไรศัตรูพืช 3 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีเกษตรอินทรีย์ กรรมวิธีเกษตรกร และกรรมวิธี DoA (การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช กับการใช้มวนตัวห้ำ) พบว่า กรรมวิธี DoA การใช้มวนตัวห้ำจำนวน 3-5 ตัวต่อต้น ร่วมกับสารเคมี สามารถลดจำนวนไรแดงเฉลี่ยต่อใบลงได้ถึง 80% และมีรายได้สุทธิสูงสุดถึง 733.57 บาท (ต่อ 9 ต้น) แล้วนำผลของกรรมวิธี DoA ในการทดลองที่ 1ไปศึกษาเป็นการทดลองที่ 2 ที่โรงเรือนเกษตรกร วิสาหกิจชุมชน พันธุ์บุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์ เพื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธี DoA ที่ใช้สารเคมีราคาถูก และกรรมวิธี DoA ที่ใช้สารเคมีราคาแพง พบว่า กรรมวิธี DoA ที่ใช้สารเคมีราคาถูกมีผลตอบแทนจากการลงทุน ไม่แตกต่างกันกับการใช้สารเคมีราคาแพง มีกำไรสุทธิ 112,000 บาท (ต่อ 200 ต้น) แสดงให้เห็นถึง ความเป็นไปได้ในการที่จะนำมวนตัวห้ำ *C. exiguus* มาใช้เป็นยุทธวิธีหนึ่งของการบริหารจัดการศัตรูพืช มาใช้ควบคุมแมลงและไรศัตรูพืชกัญชา และ เป็นเทคโนโลยีที่สามารถนำไปถ่ายทอดให้เกษตรกร นำไปใช้ประโยชน์ได้

คำหลัก : มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus*, กัญชา, แมลงและไรศัตรูพืช

คำนำ

กัญชา (*Cannabis sativa*, Cannabaceae) เป็นพืชชนิดหนึ่งที่ถูกจัดให้เป็นพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ของประเทศไทย ที่รัฐบาลผลักดันให้นำมาใช้ในเชิงพาณิชย์ ที่สอดรับกรอบแผนยุทธศาสตร์โมเดลเศรษฐกิจ BCG พ.ศ. 2564-2569 หรือ Bio-Circular-Green (BCG) Economy Model 2564-2569 เพราะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ทั้งในทางการแพทย์ การอุตสาหกรรม และอื่น ๆ (Bonini *et al*., 2018 และ Chandra *et al*. 2016) และในการเพาะปลูกกัญชาเพื่อวัตถุประสงค์ต่าง ๆ ทั้งในสภาพเปิดในภาคสนาม หรือในสภาพปิดในโรงเรือน ปัญหาหนึ่งที่จะพบเสมอ คือการลงทำลายโดยโรคและแมลงศัตรูพืช ที่ก่อให้เกิดความเสียหายในระดับต่างๆ ที่อาจจะต่ำกว่าหรือสูงกว่าระดับความเสียหายทางเศรษฐกิจ (economic injury level) ที่ทำให้ต้องมีการตัดสินใจว่าไม่ต้องมีการควบคุมหรือจะต้องควบคุมด้วยวิธีใดวิธีหนึ่ง ตามแนวทางของการบริหารจัดการศัตรูพืชแบบบูรณภาพ (Integrated pest management - IPM) (Kogan, 1998) ที่การเลือกและการใช้วิธีการควบคุม อาจเป็นวิธีเดี่ยว หรือหลายวิธีรวมกัน หรือวิธีที่มีและไม่มีการใช้สารเคมี ด้วยเหตุนี้ กรมวิชาการเกษตร (2564) จึงได้จัดทำคู่มือสำหรับเกษตรกร เรื่องการผลิตพืชสกุลกัญชา (*Cannabis sativa* L.) เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์และอุตสาหกรรม โดยในคู่มือมีการระบุว่ามีแมลง 7 ชนิด คือ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้ง หนอนแมลงวันชอนใบ หนอนกระทู้ผัก และหนอนเจาะสมอฝ้าย และไร 1 ชนิด คือ ไรแมงมุม ที่ทำให้เกิดอาการผิดปกติที่พบในการปลูกพืชสกุลกัญชา ส่วนการสำรวจไรศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในแปลงปลูกกัญชาในพื้นที่ 61 อำเภอ 33 จังหวัด ในประเทศไทย พลอยชมพู และคณะ (2024) รายงานว่าพบไรและแมลงในแปลงปลูกกัญชาทั้งหมด 19 ชนิด เป็นไรศัตรูพืช 15 ชนิด ไรตัวห้ำ 2 ชนิด ไรกินเชื้อรา 1 ชนิด และเพลี้ยไฟตัวห้ำ 1 ชนิด และ อทิติยา และคณะ (2565) รายงานว่าศัตรูพืชหลักที่พบในการปลูกกัญชาคือ ไรแดงหม่อน เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง หนอนกระทู้ผัก และหนอนเจาะสมอฝ้าย คำแนะนำในการควบคุมแมลงและไรศัตรูพืชเหล่านี้ในกรมวิชาการเกษตร (2564) ส่วนใหญ่เป็นการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ไม่มีคำแนะนำการควบคุมโดยการใช้ศัตรูธรรมชาติที่เป็นตัวห้ำหรือตัวเบียน มีเพียงคำแนะนำให้ใช้มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* ในการควบคุมเพลี้ยไฟ และใช้มวนเพชฌฆาต *Sycanus collaris* ในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย เท่านั้น

อทิติยาและคณะ (2557) รายงานว่าพบมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* เป็นครั้งแรกในประเทศไทย ในแปลงมันสำปะหลังในจังหวัดกาญจนบุรี และรายงานว่ามวนตัวห้ำ *C. exiguus* เป็นตัวห้ำทั่วไป (generalist predator) สามารถกินไข่และตัวอ่อนของแมลงศัตรูพืชหลายชนิด มีอุปนิสัยเป็นตัวห้ำในระยะตัวอ่อนทั้ง 5 วัย และตัวเต็มวัย กินแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด เช่น เพลี้ยไฟฝ้าย (cotton thrips) (*Thrips palmi*, Thysanoptera: Thripidae) เพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง (cassava mealybug) (*Phenacoccus manihoti*, Hemiptera: Pseudococcidae) ไรขาวพริก (broad mite) (*Polyphagotarsonemus latus*,

Acari: Tarsonemidae) และ ไรแดงหม่อน (mulberry red mite) (*Tetranychus truncatus*, Acari: Tetranychidae) นอกจากนั้นในอินเดีย Thakre (2006) ได้ศึกษาชีววิทยาและศักยภาพของ *C. exiguus* ในการกินไข่ของหนอนใยผัก (diamondback moth) (*Plutella xylostella*, Lepidoptera: Plutellidae) และรายงานว่านอกจากหนอนใยผักและผีเสื้อข้าวสาร มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ยังกินไข่ของหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*, Lepidoptera: Noctuidae) หนอนหัวดำมะพร้าว (coconut black-headed caterpillar) (*Opisina arenosella*, Lepidoptera: Oecophoridae) เพลี้ยอ่อน และ เพลี้ยไฟ ด้วยเช่นกัน

ในการศึกษาเบื้องต้น อทิติยา และคณะ (2557, 2562, 2565) รายงานว่ามวนตัวห้ำ *C. exiguus* เป็นตัวห้ำที่มีศักยภาพสูง สามารถกินไข่และตัวอ่อนของแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด นำไปสู่สมมติฐานว่ามีความเป็นไปได้ ที่จะนำมวนตัวห้ำชนิดนี้มาทดสอบ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงและไรศัตรูพืช ที่พบว่าลงทำความเสียหายในการปลูกกัญชาในโรงเรือน

วัตถุประสงค์ของโครงการนี้คือ ทำการศึกษาเพื่อทดสอบความเป็นไปได้ (feasibility) ในการนำมวนตัวห้ำ *C. exiguus* มาใช้ควบคุมแมลงและไรศัตรูพืชกัญชา โดยเป็นการทดลองในโรงเรือนเพาะปลูก 2 แห่ง คือโรงเรือนทดลอง กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ และ โรงเรือนเกษตรกร วิสาหกิจชุมชนพันธุ์บุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์ และนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ ความเป็นไปได้ เพื่อการนำมวน *C. exiguus* มาใช้ประโยชน์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus*
- ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica*
- กล้องจุลทรรศน์ผ่าตัด (dissecting microscope)
- กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 10x14.5x6 เซนติเมตร
- กระดาษทิชชูอเนกประสงค์ Maxmo
- ถังพ่นยาแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง
- สารป้องกันกำจัดแมลง : ไดโนทีฟูแรน (dinotefuran) เมทอกซีฟีโนไซด์+สไปนีโทแรม (methoxyfenozide + spinetoram)
- สารป้องกันกำจัดไร : ไบฟีนาเซต (bifenazate) ทีบูเฟนไพแรด (tebufenpyrad) สไปโรมีซิเฟน (spiromesifen) ซัลเฟอร์ (sulfur) หรือ กำมะถัน ไพริดาเบน (pyritaben) และ เฮกซีไทอะซอกส์ (hexythiazox)

วิธีการ

ศึกษาการใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ในการควบคุมแมลงและไรศัตรูกัญชา

การศึกษานี้ เป็นการทดลองเพื่อทดสอบความเป็นไปได้ (feasibility) ในการนำมวนตัวห้ำ *C. exiguus* มาใช้ควบคุมแมลงและไรศัตรูพืชกัญชาในโรงเรือนเพาะปลูก โดยทำการทดลองที่ โรงเรือนทดลอง กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ และนำผลที่ได้รับไปศึกษาต่อที่โรงเรือนเกษตรกร วิสาหกิจชุมชนพันธุ์บุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์

การทดสอบประกอบด้วย 2 การทดลอง ตามขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

การทดลองที่ 1

ศึกษาการใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ในโรงเรือนทดลอง กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ เพื่อเปรียบเทียบวิธีการป้องกันกำจัดระหว่าง 3 โรงเรือน ที่มี 3 กรรมวิธีคือ

กรรมวิธีที่ 1: กรรมวิธีเกษตรกร (Traditional farming method)

กรรมวิธีที่ 2: กรรมวิธีเกษตรอินทรีย์ (Organic farming method)

กรรมวิธีที่ 3: กรรมวิธี DoA (DoA method)

โรงเรือนทดลอง กรมวิชาการเกษตร เป็นโรงเรือนมุ้งตาข่ายสีขาวขนาด 32 ตา โรงเรือนทดลองขนาด 3x3x5 เมตร วางต้นกัญชาเป็นแถว 3 แถว แถวละ 3 ต้น ทั้งหมด 9 ต้น (Figure 1) เก็บตัวอย่างโดยใช้วิธีการสุ่มแบบแบบเจาะจง (purposive sampling) เป็นการเลือกกลุ่มตัวอย่างให้ตรงตามหลักเกณฑ์หรือจุดมุ่งหมาย โดยสุ่มต้นที่พบการเข้าทำลายของแมลงและไรศัตรูพืช และการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชใน Table 1-3 (สุภราดา และคณะ, 2563)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

ทำการบันทึกข้อมูลโดยเก็บตัวอย่างใบกัญชาจากทุกต้นในโรงเรือน ต้นละ 3 ใบ (1 ต้น คือ 1 ตัวอย่าง) ต่อโรงเรือน นำมานับจำนวนแมลงและไรศัตรูพืชใต้กล้องจุลทรรศน์ ทุก 7 วัน

- นำข้อมูลทั้ง 3 แปลง มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณ คุณภาพ และต้นทุนการผลิตต่อแปลง
- นับจำนวนแมลงและไรศัตรูพืช และ ศัตรูธรรมชาติชนิดอื่น ๆ ที่พบ
- วิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของประชากร 3 กลุ่ม โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน หรือ Analysis of Variance (ANOVA)

การทดลองที่ 2

ศึกษาการใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ควบคุมแมลงและไรศัตรูกัญชาในโรงเรือนเกษตรกร วิสาหกิจชุมชนพันธุ์บุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์ เพื่อเปรียบเทียบต้นทุนวิธีการป้องกันกำจัดระหว่าง 2 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธี DoA ใช้สารเคมีราคาถูก

กรรมวิธีที่ 2 กรรมวิธี DoA ใช้สารเคมีราคาแพง

โรงเรือนเกษตรกร วิสาหกิจชุมชนพันธุ์บุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์ เป็นโรงเรืองมุ้งตาข่ายสีขาวขนาด 32 ตา โรงเรือนทดลองขนาด 6x30x5 เมตร วางเป็นแถว 4 แถว แถวละ 50 ต้น ทั้งหมด 200 ต้น (Figure 2) เก็บตัวอย่างโดยใช้วิธีการสุ่มแบบเจาะจง (purposive sampling) เป็นการเลือกกลุ่มตัวอย่างให้ตรงตามหลักเกณฑ์หรือจุดมุ่งหมาย โดยสุ่มต้นที่พบการเข้าทำลายของแมลงและไรศัตรูกัญชา และการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชใน Table 4-5 (สุภราดา และคณะ, 2563)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- ทำการตรวจนับไรแดงทุกสัปดาห์โดยการสุ่มนับ 3 ใบ/ต้น จำนวน 20 ต้นต่อโรงเรือน นำมานับจำนวนแมลงและไรศัตรูพืชใต้กล้องจุลทรรศน์ ทุก 7 วัน
- นำข้อมูลทั้ง 3 แปลง มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณ คุณภาพ และต้นทุนการผลิตต่อแปลง
- นับจำนวนแมลงและไรศัตรูพืช และ ศัตรูธรรมชาติชนิดอื่นๆ ถ้าพบ

เวลาและสถานที่

เวลา ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2565 ถึง กันยายน 2567

สถานที่ 1. โรงเรือนทดลอง กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

2. โรงเรือนเกษตรกร วิสาหกิจชุมชนพันธุ์บุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาการใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ในโรงเรือนทดลอง กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ เพื่อเปรียบเทียบวิธีการป้องกันกำจัดระหว่าง 3 โรงเรือน ที่มี 3 กรรมวิธี

จากการทดลองพบว่า ในกรรมวิธีเกษตรอินทรีย์มีการฉีดพ่นซัลเฟอร์ (sulfur) 80% WG อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทั้งหมด 6 ครั้ง เมื่อพบการระบาดของไรศัตรูพืชในสัปดาห์ที่ 3, 4, 5, 6 และ 18 พบว่าในสัปดาห์ที่ 3, 4, 5, 6 มีการฉีดพ่นซัลเฟอร์ ติดต่อกัน เนื่องจากจำนวนไรแดงเฉลี่ยต่อใบไม่ลดลงและลดปริมาณลงหลังจากฉีดพ่นในสัปดาห์ที่ 6 และฉีดพ่นซัลเฟอร์ ครั้งสุดท้ายในสัปดาห์ที่ 18 เพื่อควบคุมในช่วงเวลาที่กัญชาสร้างดอก (Figure 3)

ในกรรมวิธีเกษตรกรมีการฉีดพ่นทีบูเฟนไพแรด (tebufenpyrad) 36% W/V EC อัตรา 3 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร สัปดาห์ที่ 6 ฉีดพ่นไบฟีนาเซต (bifenazate) 48% SC อัตรา 5 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร สัปดาห์ที่ 11 ฉีดพ่นสไปโรมีซิแฟน (spiromesifen) 24% W/V SC อัตรา 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ครั้งสุดท้ายในสัปดาห์ที่ 17 พบว่าหลังการฉีดพ่นทีบูเฟนไพแรด (tebufenpyrad) 36% W/V EC อัตรา 3 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ในสัปดาห์ที่ 6 จำนวนไรแดงเฉลี่ยต่อใบมีปริมาณลดลง ฉีดพ่นไบฟีนาเซต (bifenazate) 48% SC อัตรา 5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ในสัปดาห์ที่ 11 เมื่อพบการระบาดของไรศัตรูพืช

และฉีดพ่นสไปโรมีซิแฟน (spiromesifen) 24% W/V SC อัตรา 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ในสัปดาห์ที่ 17 เพื่อควบคุมในช่วงระยะสร้างดอก (Figure 3)

ในกรรมวิธี DoA มีการฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดไรไพริดาเบน (pyridaben) 20% WP อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สัปดาห์ที่ 4 ฉีดพ่นสไปโรมีซิแฟน (spiromesifen) 24% W/V SC อัตรา 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สัปดาห์ที่ 11 ฉีดพ่นไบฟีนาเซต (bifenazate) 48SC อัตรา 5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สัปดาห์ที่ 14 พบว่าหลังการฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดไรไพริดาเบน (pyridaben) 20% WP อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรในสัปดาห์ที่ 4 จำนวนไรแดงเฉลี่ยต่อใบมีปริมาณลดลง และฉีดพ่นพ่นสไปโรมีซิแฟน (spiromesifen) 24% W/V SC อัตรา 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ในสัปดาห์ที่ 11 เมื่อพบการระบาดของไรศัตรูพืช และฉีดพ่นไบฟีนาเซต (bifenazate) 48% SC อัตรา 5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ในสัปดาห์ที่ 14 เมื่อพบการระบาดของไรศัตรูพืชอีกครั้ง (Figure 3)

จากการเก็บผลผลิตกรรมวิธีที่เกษตรอินทรีย์ กรรมวิธีเกษตรกร และกรรมวิธี DoA ได้ช่อดอกแห้ง จำนวน 0.381, 0.375 และ 0.407 กิโลกรัม ตามลำดับ ราคาช่อดอกกัญชาแห้ง กิโลกรัมละ 3,210 บาท ในกรรมวิธีที่เกษตรอินทรีย์ กรรมวิธีเกษตรกร และกรรมวิธี DoA มีรายได้ 1,223.01 กับ 1,203.75 และ 1,306.47 บาท ตามลำดับ (Table 6) ในกรรมวิธีเกษตรอินทรีย์ และกรรมวิธี DoA ปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus* 6 สัปดาห์รวม 300 ตัว ที่ราคาตัวละ 0.155 บาท (อทิติยา และคณะ 2565) (Table 7) ส่วนกรรมวิธีเกษตรอินทรีย์ กรรมวิธีเกษตรกร และกรรมวิธี DoAได้ค่าตอบแทนต่อการลงทุน 630.51 กับ 666.50 และ 733.57 บาท ตามลำดับ (Table 8) และจากการเก็บข้อมูลพบศัตรูพืช คือ เพลี้ยไฟถั่วลิสง *Caliothrips phaseoli* (Thysanoptera: Thripidae) แต่เนื่องจากพบเป็นจำนวนน้อย จึงเก็บออกมาทำลาย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jones and Smith (2022) ที่รายงานว่า การใช้ตัวห้ำร่วมกับการใช้สารเคมีสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมศัตรูพืชและให้ผลผลิตที่สูงขึ้น และ Nguyen *et al.* (2021) ยังพบว่าในระบบการปลูกพืชในโรงเรือน การใช้ตัวห้ำเป็นเครื่องมือสำคัญในการลดการใช้สารเคมีและส่งเสริมการปลูกพืชอย่างยั่งยืน

Kahan and McGowan (2021) รายงานว่าบทบาทและประสิทธิภาพของ *Phytoseiulus persimilis* ซึ่งเป็นไรตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรแดงในสภาพโรงเรือน และสามารถลดจำนวนประชากรไรแดงอย่างมีนัยสำคัญ ในการบริหารจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาภาพ (IPM) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจ เช่น มะเขือเทศและพริก และ Smith *et al.* (2016) รายงานว่า การใช้ไรตัวห้ำ *Neoseiulus californicus* ในโรงเรือน มีประสิทธิภาพในการลดประชากรไรแดงในพืชชนิดต่าง ๆ จากการศึกษาเหล่านี้ พบว่า มีไรตัวห้ำหลายชนิดที่สามารถใช้ควบคุมไรแดงได้ แต่มีกรรมวิธีการเพาะเลี้ยงที่มีหลายขั้นตอน การศึกษานี้จึงนำมวนตัวห้ำ *C. exiguus* มาทำการทดลอง จากรายงานของ อทิติยา และคณะ (2562) มีการเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica*

เป็นอาหาร และกระดาษเช็ดมือเป็นที่วางไข่ ซึ่งเป็นวัสดุที่หาง่าย มีกรรมวิธีเพาะเลี้ยงมีขั้นตอนการปฏิบัติน้อยกว่า และสามารถควบคุมทั้งแมลงและไรศัตรูพืชในพืชสกุลกัญชาได้

การทดลองที่ 2 ศึกษาการใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ควบคุมแมลงและไรศัตรูกัญชา ในโรงเรือนเกษตรกรวิสาหกิจชุมชนพันธุ์บุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์ เพื่อเปรียบเทียบต้นทุนวิธีการป้องกันกำจัดระหว่าง 2 กรรมวิธี

จากการทดลองที่ 1 พบว่ากรรมวิธี DoA มี น้ำหนักช่อดอกแห้ง รายได้ และกำไรสูงสุด นำมาทำการทดลองเปรียบเทียบต้นทุนระหว่าง กรรมวิธี DoA สารเคมีราคาถูก และกรรมวิธี DoA สารเคมีราคาแพง ที่โรงเรือนเกษตรกร วิสาหกิจชุมชนพันธุ์บุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์

จากการทดลองพบว่า กรรมวิธี DoA สารเคมีราคาถูก มีการหยดไดโนทีแรน (dinotefuran drop) อัตรา 2 กรัมต่อต้น เพื่อป้องกันกำจัดแมลงปากดูดขนาดเล็ก และฉีดพ่นไพริดาเบน (pyridaben spray) 20% WP อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทั้งหมด 2 ครั้ง เมื่อพบการระบาดของไรศัตรูพืชในสัปดาห์ที่ 1 และ 3 ฉีดพ่นเฮกซีไทอะซอกส์ (hexythiazox) 1.8% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทั้งหมด 2 ครั้ง เมื่อพบการระบาดของไรศัตรูพืชในสัปดาห์ที่ 5 และครั้งสุดท้ายในสัปดาห์ที่ 7 และสัปดาห์ที่ 8, 9, 10 และ 11 ปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus* จำนวน 500 ตัวต่อโรงเรือน เพื่อควบคุมในช่วงระยะสร้างดอก (Figure 4 และ Table 9)

จากการทดลองพบว่า กรรมวิธี DoA สารเคมีราคาแพงมีการหยดไดโนทีแรน (dinotefuran drop) อัตรา 2 กรัมต่อต้น เพื่อป้องกันกำจัดแมลงปากดูดขนาดเล็ก และฉีดพ่นไบฟีนาเซต (bifenazate spray) อัตรา 5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทั้งหมด 2 ครั้ง เมื่อพบการระบาดของไรศัตรูพืชในสัปดาห์ที่ 1 และ 4 ฉีดพ่นสไปโรมีซิเฟน (spiromesifen) 24% SC อัตรา 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เป็นครั้งสุดท้ายในสัปดาห์ที่ 7 และสัปดาห์ที่ 8, 9, 10 และ 11 ปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus* จำนวน 500 ตัวต่อโรงเรือน เพื่อควบคุมในช่วงของการสร้างดอก (Figure 4 และ Table 9)

จากการเก็บผลผลิตกรรมวิธี DoA สารเคมีราคาถูก และกรรมวิธี DoA สารเคมีราคาแพง ได้น้ำหนักแห้งของดอกใหญ่ 5.767 และ 5.728 กิโลกรัม ตามลำดับ ขณะที่น้ำหนักแห้งของดอกเล็กเป็น 4.066 และ 4.067 กิโลกรัม ตามลำดับ ราคาผลผลิตแห้งดอกใหญ่ กิโลกรัมละ 20,000 บาท และราคาน้ำหนักแห้งดอกเล็ก กิโลกรัมละ 5,000 บาท การใช้กรรมวิธี DoA สารเคมีราคาถูกมีรายได้ 135,670 บาท และกรรมวิธี DoA สารเคมีราคาแพง มีรายได้ 134,895 บาท (Table 10) ในกรรมวิธี DoA สารเคมีราคาถูก มีต้นทุนสารที่ใช้94.05 บาท และค่าแรงฉีดพ่น 450 บาท ส่วนกรรมวิธี DoA สารเคมีราคาแพง มีต้นทุนสารที่ใช้ 196.50 บาท และค่าแรงฉีดพ่นสาร 300 บาท ซึ่งกรรมวิธี DoA สารเคมีราคาถูก และกรรมวิธี DoA สารเคมีราคาแพง ได้ผลตอบแทนการลงทุน 112,705.95 และ 111,978.50 บาท ตามลำดับ (Table 11) และจากการเก็บข้อมูลพบแมลงศัตรูพืช คือหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* ในจำนวนน้อย จึงเก็บออกมาทำลาย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* เพื่อควบคุมแมลงและไรศัตรูกัญชาในโรงเรือนทดลอง กรมวิชาการเกษตร มีการเปรียบเทียบวิธีการควบคุม 3 กรรมวิธี พบว่า กรรมวิธีเกษตรอินทรีย์ สามารถควบคุมศัตรูพืชได้ดี แต่จะมีรอบการฉีดพ่นสารเคมีที่บ่อยกว่ากรรมวิธีอื่น กรรมวิธีเกษตรกร มีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช มีการลดศัตรูพืชที่ค่อนข้างดี แต่จะมีปัญหาเรื่องการระบาดของศัตรูพืชในช่วงระยะที่กัญชาสร้างดอก ที่ทำให้ไม่สามารถพ่นสารเคมีได้ เป็นกรรมวิธี DoA มีผลที่ดีที่สุดในการลดจำนวนไรแดง โดยเฉพาะช่วงระยะการสร้างดอก และในการทดสอบในโรงเรือนเกษตรกรที่บุรีรัมย์ มีการเปรียบเทียบระหว่างสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชราคาถูกและแพง พบว่าทั้งสองวิธีมีประสิทธิภาพในการควบคุมใกล้เคียงกัน แต่ต้นทุนสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและค่าแรงงานต่างกันเล็กน้อย แต่กำไรสุทธิจากการใช้สารเคมีราคาถูกและราคาแพงไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้ การใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* มีบทบาทสำคัญในลดการระบาดของแมลงและไรศัตรูพืช และสามารถช่วยลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในกระบวนการปลูกพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ดังนั้นผลจากการทดลองเพื่อทดสอบความเป็นไปได้ (feasibility) ในการนำมวนตัวห้ำ *C. exiguus* มาใช้ควบคุมแมลงและไรศัตรูพืชกัญชาในโรงเรือนเพาะปลูก สามารถสรุปในเบื้องต้นได้ว่า เราสามารถนำมวนตัวห้ำชนิดนี้ มาใช้เป็นยุทธวิธีหรือทางเลือกหนึ่งของการบริหารจัดการแมลงและไรศัตรูกัญชาในโรงเรือน ที่มีประสิทธิภาพ และมีผลกระทบที่ดีต่อสภาพแวดล้อม มีความคุ้มทุนและคุ้มค่าทางเศรษฐกิจและสังคม และสามารถนำไปถ่ายทอดให้เกษตรกรนำไปใช้เป็นยุทธวิธีการควบคุมหนึ่ง ตามแนวทางของการบริหารจัดการศัตรูพืชแบบบูรณภาพ (IPM) ที่สามารถนำไปถ่ายทอดให้เกษตรนำไปใช้ประโยชน์ได้

คำขอบคุณ

คณะนักวิจัยขอแสดงความขอบคุณต่อกรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ และ เกษตรกรวิสาหกิจชุมชนพันธุ์บุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือในการใช้สถานที่และโรงเรือนทำการวิจัย และความช่วยเหลือต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง ในการดำเนินการวิจัยของโครงการนี้ มา ณ โอกาสนี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2564. การผลิตพืชสกุลกัญชา (*Cannabis sativa* L.) เพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ และอุตสาหกรรม. คู่มือสำหรับเกษตรกร. กรุงเทพฯ. 151 หน้า.

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง, วิมลวรรณ โชติวงศ์, อทิติยา แก้วประดิษฐ, ณพชรกร ธไภษัชย และ วีระชัยสมศรี. 2567. ชนิดของไรศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในกัญชา. วารสารวิชาการเกษตร. 42(2): 203-216.

สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง, เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และพฤทธิชาติ ปุญวัฒโท. 2563. เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันแมลง-สัตว์ศัตรูพืช อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย. งานวิจัยกลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 230 หน้า.

อทิตียา แก้วประดิษฐ์, พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์, พลอยชมพู กรวิภาสเรือง, อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล และรจนา ไวยเจริญ. 2557 การศึกษาชีววิทยาและความชอบของมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) ที่มีต่อเหยื่อ. หน้า 31-43. ใน: รายงานการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 3-5 กันยายน 2557 ณ เดอะกรีนเนอรี่ รีสอร์ท นครราชสีมา.

อทิตียา แก้วประดิษฐ์, พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์, พลอยชมพู กรวิภาสเรือง, อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล, ณพชรกร ธไภษัชย์ และ วิมลวรรณ โชติวงศ์. 2562. ชีววิทยา การเพาะเลี้ยง ประสิทธิภาพการกินเหยื่อและผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae). วารสารวิชาการเกษตร. 37(2): 112.

อทิตียา แก้วประดิษฐ์, พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์, พลอยชมพู กรวิภาสเรือง, อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล, ณพชรกร ธไภษัชย์ และ วิมลวรรณ โชติวงศ์. 2565. การทดลองศึกษาและการประยุกต์ใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ในการควบคุมแมลงและไรศัตรูกัญชา. วารสารการเกษตรอินทรีย์. 24(2): 123-145.

Bonini, S.A., M. Premoli, S. Tambaro, A. Kumar, G. Maccarinelli, M. Memo, and A. Mastinu. 2018.*Cannabis sativa*: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. Journal of Ethnopharmacology 227: 300-315. DOI: 10.1016/j.jep.2018.09.004.

Chandra, S., H. Lata and M.A. ElSohly. 2016. Chapter 1. The botany of *Cannabis sativa*. In B.F.Thomas and M.A. ElSohly, The analytical chemistry of Cannabis (pp. 1-26).Elsevier and RTI. Jones, R., & Smith, T. 2022. The efficiency of predatory bugs in controlled cannabis cultivation: A Comparative approach. International Journalof Agricultural Sciences 20(3): 205-220.

Kahan, N. J. and J. McGowan. 2021. *Phytoseiulus persimilis*: a biological control agent for spider mites. HortScience, 56(5): 515-520. DOI: 10.21273/HORTSCI15862-21.Kogan, M. 1998. Integrated pest management: Historical perspectives and contemporary development. Annual Review of Entomology 43:243-270.

Nguyen, L. et al. (2021). Sustainable pest control in cannabis cultivation using biological agents. Journal of Biological Control 33(4): 335-349.

Smith, C. M., D.D.R. Lindgren and B.L. Kelsey. 2016. Biological control of spider mites in greenhouse crops. Biological Control 94: 49-56. DOI: 10.1016/j.biocontrol. 2015.12.014.

Thakre, P.D. 2006. Studies on biology and feeding potential of *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) on *Plutella xylostella* (Linnaeus). M.Sc. (Agriculture) thesis. Dr.Balasaheb Sawant Konkan Krishi Vidyapeeth, Dapoli (Agricultural University). Ratnagiri, Maharashtra, India. 83 pp.

Table 1 Pesticides tested in the traditional farming method at the experimental greenhouses at Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok

Pesticides	Pest	Rate of application
dinotefuran	Small sucking insect	2-4 g per hill (a/c to plant size)
bifenazate	red mite	5 ml in 20L of water
tebufenpyrad	red mite	3 ml in 20L of water
spiromesifen	red mite	6 ml in 20L of water

Table 2 Sulfur and predator tested in the organic farming method at the experimental greenhouses at Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok

Materials used	Pest	Rate of application
sulfur	red mite	80 g in 20L of water
Cardiastethus exiguus	red mite	3-5 predators/plant

Table 3 Pesticides and predator tested in the DoA method at the experimental greenhouses at Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok

Pesticides and predator	Pest	Rate of application
dinotefuran	Small sucking insect	2-4 g per hill (a/c to plant size)
bifenazate	red mite	5 ml in 20L of water
pyritaben	red mite	10-15 g in 20L of water
spiromesifen	red mite	6 ml in 20L of water
Cardiastethus exiguus	red mite	3-5 predators/plant

Table 4 Pesticides tested in the DoA method using low-cost pesticides at the grower greenhouses at Phan Buriram Community Enterprise, Buriram

Pesticides	Pest	Rate of application
dinotefuran	Small sucking insect	2-4 g per hill (a/c to plant size)
pyritaben	red mite	15 g in 20L of water
hexythiazox	red mite	30 ml in 20L of water

Table 5 Pesticides tested in the DoA methods using high-cost pesticides at the grower greenhouses at Phan Buriram Community Enterprise, Buriram

Pesticides	Pest	Rate of application
dinotefuran	Small sucking insect	2-4 g per hill (a/c to plant size)
bifenazate	red mite	5 ml in 20L of water
spiromesifen	red mite	6 ml in 20L of water
methoxyfenozide + spinetoram	caterpillar	15 ml in 20L of water

Table 6 Comparison of product cost between the organic farming, traditional farming and DoA methods at the experimental greenhouses at Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok

Methods	Weight of dry flower (kg)	Income (baht)*
Traditional farming	0.375	1,203.75
Organic farming	0.381	1,223.01
DoA	0.407	1,306.47

*Cost of dry cannabis flower = 3,200 baht per kilogram

Table 7 Expenditure on the production of predatory *Cardiastethus exiguus*

Expenditure	Cost (baht)	
Eggs of rice moth (*Corcyra cephalonica*), 100 g	3,000.00	
Multipurpose tissue paper, Maxmo, 6 rolls at 20 baht each	120.00	
Plastic boxes, 10x14.5x6 cm, 12 boxes at 50 baht each	600.00	
Labor cost (1 technician at no cost)		
		------- A
Total	3,720.00	
Capacity of rearing *C. exiguus* = 24,000 individuals per an insectary		------- B
Basic cost of producing *C. exiguus* = (A / B) = 0.155 baht each		

Table 8 Cost of production between the organic farming, traditional farming and DoA methods under the experimental greenhouses at Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok

Methods	Cost (baht)				Returns (baht)	
	Planting materials	Materials used	*C. exiguus**	Expenses	Income	Profit
Organic farming	450.00	96.00	46.50	592.50	1,223.01	630.51
Traditional farming	450.00	87.25	0	537.25	1,203.75	666.50
DoA	450.00	76.60	46.50	573.10	1,306.47	733.57

*Cost of *C. exiguus* = 0.155 baht each

Table 9 Use of pesticides between the DoA methods using low-cost and high-cost pesticides at the grower greenhouses at Phan Buriram Community Enterprise, Buriram

Weeks	DoA low-cost pesticides	DoA high-cost pesticides
1.	dinotefuran drop + pyritaben spray	dinotefuran drop + bifenazate spray
2.		
3.	pyritaben spray	
4.		bifenazate spray
5.	hexythiazox spray	
6.		
7.	hexythiazox spray	spiromesifen spray
8.	500 predators per greenhouse	500 predators per greenhouse
9.	500 predators per greenhouse	500 predators per greenhouse
10.	500 predators per greenhouse	500 predators per greenhouse
11.	500 predators per greenhouse	500 predators per greenhouse

Table 10 Comparison of cost of production between the DoA methods using low-cost and high-cost pesticides at the grower greenhouses at Phan Buriram Community Enterprise, Buriram

Methods	Dry weight (kilogram)		Income* (baht)
	Large flowers	Small flowers	
DoA low-cost pesticides	5.767	4.066	135,670
DoA high-cost pesticides	5.728	4.067	134,895

*Cost of dry large flowers = 20,000 baht per kilogram; Cost of dry small flowers = 5,000 baht per kilogram

Table 11 Cost of production between DoA low-cost pesticides and DoA high-cost pesticides at the grower greenhouses at Phan Buriram Community Enterprise, Buriram

Methods	Cost (baht)					Returns (baht)	
	Planting materials	Materials used	Cost of spraying	*C. exiguus**	Expenses	Income	Profit
DoA low-cost pesticides	21,800	94.05	450.00	620.00	22,964.05	135,670	112,705.95
DoA high-cost pesticides	21,800	196.50	300.00	620.00	22,916.50	134,895	111,978.50

*Cost of production of C. *exiguus* = 0.155 baht each

Figure 1 Cannabis greenhouses under the experimental greenhouses at Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok

Figure 2 Cannabis greenhouses under the experimental greenhouses at Phan Buriram Community Enterprise, Buriram

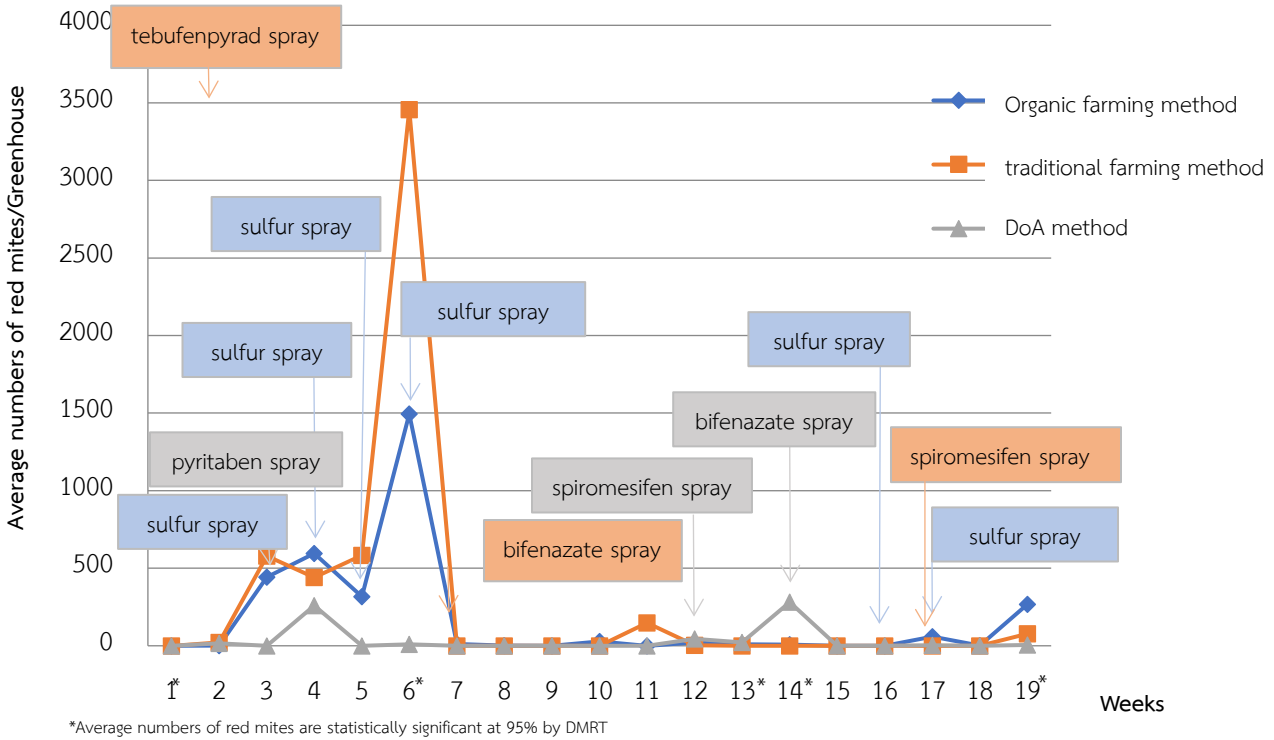


Figure 3 Comparison of the average numbers of red mites between the organic farming and DoA methods the traditional farming, the organic farming, and the DoA method

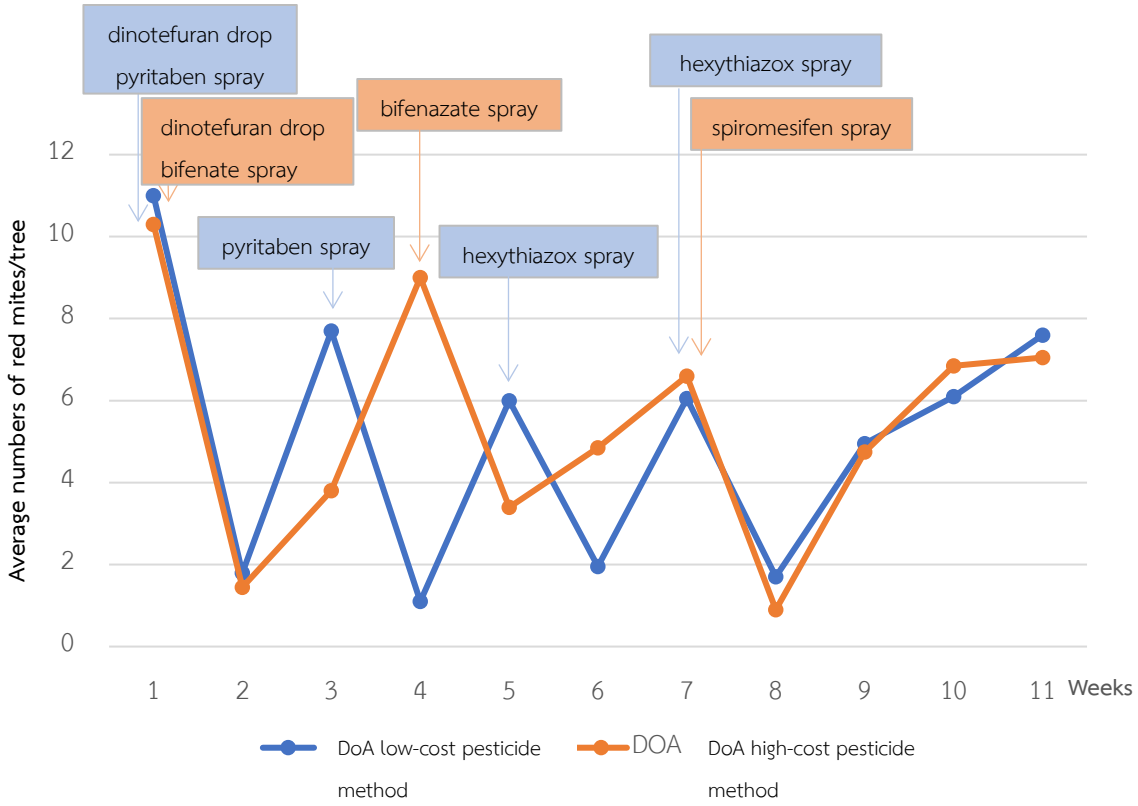


Figure 4 Comparison of the average numbers of red mites between the DoA low-cost and DoA high-cost pesticides methods

คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชในกัญชา

Selecting the Effective Entomopathogenic Fungi Strains for Controlling Mites Pest in Cannabis

ภัททิรา ศาตร์วงษ์[1/] ทิภาพร นวลเนตร[1/] เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[2/]
พลอยชมพู กรวิภาสเรือง[1/] วีระชัย สมศรี[1/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The selection and application of effective entomopathogenic fungi for controlling mite pests in cannabis (*Cannabis sativa* L.) were conducted from October 2022 to September 2024. The objective of the study was to evaluate the efficacy and determine the optimal application rates of entomopathogenic fungi for effective control of mite pests in cannabis cultivation. Experiments were carried out at the Entomopathogenic Fungi Laboratory, Biological Pest Control Research Group, Division of Entomology and Zoology, Plant Protection Research and Development Office. The study was divided into three phases: (1) selection the effective entomopathogenic fungal species for controlling cannabis mite pests under laboratory conditions, (2) determination of effective application rates of the selected fungi under laboratory conditions, and (3) evaluation of fungal efficacy against mite pests under greenhouse conditions. The target pest was mulberry red spider mite, *Tetranychus truncatus* Ehara, the most prevalent mite species found in cannabis cultivation areas. Results revealed that *Metarhizium anisopliae* isolate DOA-M42, applied at a rate of 1,400 g per 20 liters of water (10^9 conidia ml^{-1}), controlled *Aphis craccivora* by 73.30–92.09% and an infection rate was 70.44%. Similarly, *Beauveria bassiana* isolate DOA-B4, applied at a rate of 1,000 g per 20 liters of water (10^9 conidia ml^{-1}), controlled *Aphis craccivora* by 70.15–95.30% and an infection rate was 46.81%. From this study provide a foundation for further field research to develop suitable application methods and dosages for integrated mite pest management in cannabis cultivation.

Keywords : *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Tetranychus truncates*, Cannabis

รหัสการทดลอง FF65-01-01-65-06-04-66

บทคัดย่อ

การคัดเลือกและการใช้เชื้อราเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชในกัญชา ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2565-กันยายน 2567 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและอัตราการใช้เชื้อราเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมไรศัตรูพืชในกัญชา ทดสอบ ณ ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ดำเนินการจำนวน 3 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในห้องปฏิบัติการ ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาหาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในห้องปฏิบัติการ และขั้นตอนที่ 3 การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยทดสอบกับไรแดงหม่อน *Tetranychus truncatus* Ehara ซึ่งเป็นชนิดที่พบมากที่สุดในทุกพื้นที่ที่ปลูกกัญชา จากผลการทดลองได้เชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M42 อัตรา 1,400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) มีประสิทธิภาพควบคุมไร *T. truncatus* 73.30-92.09 เปอร์เซ็นต์ ติดเชื้อที่ 70.44 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *B. bassiana* DOA-B4 อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) มีประสิทธิภาพควบคุมไร *T. truncatus* 70.15-95.30 เปอร์เซ็นต์ ติดเชื้อที่ 46.81 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษานครั้งนี้สามารถนำไปศึกษาวิจัยต่อยอดในการนำไปปรับใช้เพื่อหาอัตราและวิธีการใช้ที่เหมาะสมในสภาพไร่ต่อไป

คำหลัก: เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไรแดงหม่อน กัญชา

คำนำ

ไรศัตรูพืช (Mites Pest) สามารถพบกระจายได้ทั่วไปตามธรรมชาติ โดยอาศัยพาหนะต่างๆ เป็นตัวช่วยในการกระจายตัว เช่น ลมพัดพา ติดไปกับแมลง และตัวของมนุษย์เอง ส่วนใหญ่ไรศัตรูพืชจะอาศัยอยู่ใต้ใบพืช และใช้ stylet แทงทะลุเข้าสู่เซลล์พืชเพื่อดูดกินของเหลวภายในใบพืช จากนั้นจะเห็นเป็นจุดด่างขาวเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วใบ ถ้าหากพบการเข้าทำลายเป็นจำนวนมากจะทำให้ใบเหลือง ซีด บางชนิดหงิกงอ บางชนิดมีเส้นใยขึ้นปกคลุม จากนั้นใบจะร่วงและตายในที่สุด (กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม, 2544) ซึ่งพบการระบาดของไรศัตรูพืชตลอดทั้งปี เกษตรกรจึงนิยมนำสารเคมีมาใช้ในการป้องกันกำจัด แต่ไรศัตรูพืชมีการปรับตัวสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าไรมากขึ้น เกษตรกรจึงมีการฉีดพ่นบ่อยขึ้น และเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้น สารเคมีเหล่านั้นจึงสร้างมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมและต่อตัวเกษตรกรเอง

การควบคุมศัตรูพืชทางชีววิธีจึงเริ่มนิยมนำมาใช้มากขึ้น การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลง เช่น เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (*Metarhizium anisopliae*) และเชื้อราบิวเวอเรีย (*Beauveria bassiana*) เป็นจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้และสามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด เช่น หนอนด้วงแรดมะพร้าว

หนอนแมลงดำหนามมะพร้าว หนอนหัวดำมะพร้าว หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย หนอนกระทู้ข้าวโพด ลายจุด ตั๊กแตน เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่น มอดเจาะผลกาแฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ เพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง และไรศัตรูพืช นอกจากนี้แล้วมีนักวิชาการหลายท่านได้ทดสอบประสิทธิภาพในการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ได้แก่ *Neozygites* spp., *Verticillium lecanii*, *Entomophthora* spp., *Paecilomyces* spp., *Hirsutella thompsonii*, *M. anisopliae* และ *B. bassiana*) สามารถใช้ควบคุมไรแมงมุมสองจุดได้ (ภัทรา, 2550; Chandler *et al*., 2005; Dogan *et al*., 2017)

ดังนั้นการนำเชื้อราโรคแมลงมาใช้ควบคุมไรศัตรูพืชนั้นจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยแก้ปัญหาการระบาดของไรศัตรูพืชได้ การทดลองครั้งนี้จึงทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราโรคแมลงในการควบคุมไรศัตรูพืชที่ส่งผลกระทบต่อระบบการผลิตกัญชา ซึ่งปัจจุบันมีการนำมาผลิตใช้ในทางการแพทย์มากขึ้น เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพที่ดี มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสามารถพบแพร่กระจายได้ทั่วไป จึงเป็นที่สนใจในการนำไปใช้ควบคุมไรศัตรูพืช เพื่อทดแทนการใช้สารเคมี และเกษตรกรผู้ใช้สามารถนำไปผลิตขยายใช้ได้ง่าย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 10 ไอโซเลท ได่แก่ เชื้อรา *M. anisopliae* 8 ไอโซเลท (DOA-M3, DOA-M5, DOA-M8, DOA-M14, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M145, DOA-M165) และเชื้อรา *B. bassiana* 2 ไอโซเลท (DOA-B4, DOA-B18)
2. ไรแดงหม่อน
3. ข้าวโพดบดหยาบ
4. ใบหม่อน
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Broth (PDB)
6. ที่นับสปอร์ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer)
7. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)
8. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
9. กระดาษกรองเบอร์ 1
10. กล้องจุลทรรศน์
11. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
12. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
13. ฟลาสก์ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
14. จานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร

วิธีการ

แผนการดำเนินงาน แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ปี 2566 : ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาหาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในห้องปฏิบัติการ

ปี 2567 : ขั้นตอนที่ 3 การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในสภาพโรงเรือนทดลอง

การทดลองในห้องปฏิบัติการ ปี 2566

คัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เก็บรักษาสายพันธุ์ไว้ในห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จำนวน 10 ไอโซเลท ได่แก่ เชื้อรา *M. anisopliae* 8 ไอโซเลท (DOA-M3, DOA-M5, DOA-M8, DOA-M14, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M145, DOA-M165) และเชื้อรา *B. bassiana* 2 ไอโซเลท (DOA-B4, DOA-B18) มาทดสอบประสิทธิภาพ ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในสภาพห้องปฏิบัติการ (ปี 2566)

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 11 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3
กรรมวิธีที่ 2 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M5
กรรมวิธีที่ 3 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8
กรรมวิธีที่ 4 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M14
กรรมวิธีที่ 5 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M22
กรรมวิธีที่ 6 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M42
กรรมวิธีที่ 7 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M145
กรรมวิธีที่ 8 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M165
กรรมวิธีที่ 9 เชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4
กรรมวิธีที่ 10 เชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท DOA-B18
กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ (Control)

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1.1 การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เลี้ยงขยายเชื้อราสาเหตุโรคแมลง บนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม ต่อน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงตัดชิ้นวุ้น PDA ที่เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคแมลง ขนาด 1x1 เซนติเมตร ใส่ลงในถุงอาหารข้าวโพดบดหยาบ

คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27±3 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน เมื่อเชื้อเจริญจนเต็มถุง นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท มาปรับความเข้มข้นที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เพื่อทดสอบต่อไป

1.2 การทดสอบในห้องปฏิบัติการ

1.2.1 จากงานวิจัยของกลุ่มงานไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้สำรวจไรศัตรูพืชในแปลงกัญชา พบว่า ไรแดงหม่อน *Tetranychus truncatus* Ehara สามารถเข้าทำลายกัญชาเกือบทุกพื้นที่ที่มีการสำรวจ จึงคัดเลือกไร *T. truncatus* เป็นตัวแทนในการทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมไรศัตรูพืชในกัญชา

1.2.2 ตัดใบหม่อนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร จำนวน 4 ใบ วางบนจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่รองด้วยสำลีชุบน้ำ จากนั้นเขี่ยตัวเต็มวัยของไร *T. truncatus* ลงบนใบหม่อน 20 ตัว/ใบ

1.2.3 นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เตรียมไว้ ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ในแต่ละกรรมวิธีพ่นลงบนใบหม่อน

1.2.4 สังเกตการเป็นโรคของไร *T. truncatus* ทำการตรวจนับจำนวนไรศัตรูพืชทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน หรือจนกว่าตัวเต็มวัยจะตายหมด

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนไร *T. truncatus* ที่ตาย
- จำนวนไร *T. truncatus* ที่ติดเชื้อจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ
- ระยะเวลาการติดเชื้อของไร *T. truncatus*

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ</u>

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีการทางสถิติที่เหมาะสม
- ในกรณีที่มีแมลงทดลองตายในกรรมวิธีควบคุม จะคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925)

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาหาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในห้องปฏิบัติการ (ปี 2566)

คัดเลือกกรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไร *T. truncatus* ที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการจากขั้นตอนที่ 1 จำนวน 2 ไอโซเลท มาศึกษาอัตราการใช้ที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย 10 อัตรา ได้แก่ 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วยไอโซเลทละ 11 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว มีน้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อเป็นกรรมวิธีควบคุม

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

2.1 การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

ปฏิบัติเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1.1

2.2 การทดสอบในห้องปฏิบัติการ

ปฏิบัติเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1.2

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนไร *T. truncatus* ที่ตาย
- จำนวนไร *T. truncatus* ที่ติดเชื้อจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ
- ระยะเวลาการติดเชื้อของไร *T. truncatus*

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ</u> :

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีการทางสถิติที่เหมาะสม
- ในกรณีที่มีแมลงทดลองตายในกรรมวิธีควบคุม จะคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925)

ขั้นตอนที่ 3 การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในสภาพโรงเรือนทดลอง (ปี 2567)

คัดเลือกอัตราการใช้ที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 2 จำนวน 2 อัตรา และเพิ่มอัตราการใช้เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในโรงเรือนทดลอง

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u> : วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆ ละ 2 กระถาง

กรรมวิธีที่ 1 พ่นเชื้อราไอโซเลท A อัตรา W กรัม/น้ำ 20 ลิตร (10^8 โคนิเดีย/มล.)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นเชื้อราไอโซเลท A อัตรา X กรัม/น้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มล.)

กรรมวิธีที่ 3 พ่นเชื้อราไอโซเลท B อัตรา Y กรัม/น้ำ 20 ลิตร (10^8 โคนิเดีย/มล.)

กรรมวิธีที่ 4 พ่นเชื้อราไอโซเลท B อัตรา Z กรัม/น้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มล.)

กรรมวิธีที่ 5 พ่นน้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

3.1 การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

ปฏิบัติเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1.1

3.2 การทดสอบในสภาพโรงเรือนทดลอง

ปลูกต้นกัญชาสายพันธุ์ไทยในกระถางเส้นผ่านศูนย์ 8 นิ้ว จำนวน 40 กระถาง ระยะห่างระหว่างแถว 1 เมตร ระหว่างต้น 30 เซนติเมตร และระยะห่างระหว่างกรรมวิธี 30 เซนติเมตร เริ่มดำเนินการทดสอบเมื่อต้นกัญชาอายุ 45 วันหลังย้ายกล้า สูง 30 เซนติเมตร ปล่อยไร *T. truncates* จำนวน 100 ตัวต่อต้น ปล่อยให้ไร *T. truncates* เจริญบนต้นกัญชา 7 วัน เริ่มฉีดพ่นเมื่อพบจำนวน *T. truncates* เฉลี่ยไม่น้อยกว่า 40 ตัวต่อต้น โดยพ่นเชื้อราทุก 4 วัน ติดต่อกัน 4 ครั้ง อัตราการใช้น้ำ 150 มิลลิลิตรต่อต้น ประเมินผลการทดลองโดยสุ่มตรวจนับจำนวนไร *T. truncates* ก่อนพ่นเชื้อราและ 4 วันหลังพ่นเชื้อราจำนวน 4 ครั้ง โดยนับจำนวนไร *T. truncates* ที่มีชีวิตทั่วทั้งต้น จากนั้นตัดเก็บใบกัญชาทุกต้นทุกกรรมวิธีมาบ่มเชื้อในห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจนับตัวติดเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนไร *T. truncates* ก่อนพ่นและหลังพ่นเชื้อราในแต่ละกรรมวิธี
- จำนวนไร *T. truncates* ติดเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีการทางสถิติที่เหมาะสม
- ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ ถ้าจำนวนไร *T. truncates* ก่อนพ่นเชื้อราไม่แตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นเชื้อด้วยวิธี analysis of variance ถ้าจำนวนไร *T. truncates* ก่อนพ่นเชื้อราแตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นด้วยวิธี analysis of covariance จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT คำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (% Efficacy) ตามวิธีการของ Henderson-Tilton (Henderson and Tilton, 1955; Puntener, 1992) โดยใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

$$\% \text{ Efficacy} = [1 - (Ta.Cb/Ca.Tb)] \times 100$$

โดยที่ Tb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา
Ta = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา
Cb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นเชื้อรา
Ca = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นเชื้อรา

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2565 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ
2. ห้องปฏิบัติการเลี้ยงไรศัตรูพืช กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม
3. โรงเรือนทดลองกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในสภาพห้องปฏิบัติการ (ปี 2566)

สำรวจและเก็บตัวอย่างไรศัตรูพืชกัญชาในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ และส่งตัวอย่างให้กลุ่มไรและแมงมุมจำแนกชนิด พบชนิด *Tetranychus truncatus* เป็นส่วนใหญ่ จึงทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดสอบกับเชื้อราสาเหตุโรคแมลง และได้คัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เก็บรักษาไว้ในห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม

(*Metarhizium anisopliae*) 8 ไอโซเลท (DOA-M3, DOA-M5, DOA-M8, DOA-M14, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M145, DOA-M165) และเชื้อราบิวเบอเรีย (*Beauveria bassiana*) 2 ไอโซเลท (DOA-B4, DOA-B18) (Table 1) เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ (PDA) เพื่อเป็นหัวเชื้อ และเลี้ยงขยายในอาหารธัญพืช (ข้าวโพดบดหยาบและข้าวสาร) เพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพ

ทดสอบจำนวน 2 ครั้ง ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มล. พบว่า ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกัน หลังการทดสอบ 2 วัน ไร *T. truncatus* เริ่มเคลื่อนที่ช้าลง หลังการทดสอบ 3 วัน เริ่มเห็นเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงขึ้นปกคลุมลำตัวไร *T. truncatus* หลังการทดสอบ 5-7 วัน เห็นโครงสร้างโคนิเดียเป็นสีเขียวและสีขาวชัดเจน (Figure 1) ผลการทดลองเฉลี่ยทั้ง 2 ครั้ง หลังการทดสอบ 7 วัน พบว่า เชื้อรา DOA-M42 ควบคุมไร *T. truncatus* ได้สูงสุด เท่ากับ 94.66 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ DOA-B4 เท่ากับ 83.82 เปอร์เซ็นต์ (Table 2)

ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ จิตรานนท์ (2550) ได้ศึกษาประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 12 สายพันธุ์ ในการป้องกันกำจัดไรขาวพริกในหม่อน พบว่า *M. anisopliae* (CKMO48) เข้มข้น $2x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ไม่สามารถเข้าทำลายระยะไข่ของไรขาวพริกได้ แต่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมตัวอ่อนได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และตัวเต็มวัย 71.67 เปอร์เซ็นต์ หลังการฉีดพ่น 4 วัน และพบค่า LT_{50} ของตัวอ่อน เท่ากับ 2.04 และตัวเต็มวัย 4.01 วัน

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาหาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในห้องปฏิบัติการ (ปี 2566)

คัดเลือกเชื้อรา 2 ไอโซเลท (DOA-M42 และ DOA-B4) ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดจากขั้นตอนที่ 1 มาศึกษาหาอัตราการใช้ที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงเพิ่มปริมาณ DOA-M42 ลงบนข้าวโพดบดหยาบ และ DOA-B4 ลงบนข้าวสาร จำนวน 10 อัตรา ได้แก่ 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1,000 กรัม/ถุง จากนั้นจึงนับสารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท พบโคนิเดียของเชื้อรา DOA-M42 เท่ากับ $1.50x10^7$, $3.00x10^7$, $4.50x10^7$, $6.00x10^7$, $7.50x10^7$, $9.00x10^7$, $1.05x10^8$, $1.20x10^8$, $1.35x10^8$ และ $1.50x10^8$ โคนิเดีย/มล. ตามลำดับ และพบโคนิเดียของเชื้อรา DOA-B4 เท่ากับ $2.04x10^7$, $4.08x10^7$, $6.12x10^7$, $8.16x10^7$, $1.02x10^8$, $1.22x10^8$, $1.43x10^8$, $1.63x10^8$, $1.84x10^8$ และ $2.04x10^8$ โคนิเดีย/มล. ตามลำดับ จากนั้นจึงคัดเลือกเชื้อรา DOA-M42 อัตรา 700 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($1.05x10^8$ โคนิเดีย/มล.) และเชื้อรา DOA-B4 อัตรา 500 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($1.02x10^8$ โคนิเดีย/มล.) ไปใช้ควบคุมไร *T. truncatus* ในสภาพโรงเรือนทดลอง (Table 3)

ผลการทดลองสอดคล้องกับการรายงานของ Hassan *et al*. (2017) ได้รายงานว่า *B. bassiana* สามารถควบคุมระยะไข่ของไรแมงมุมสองจุดได้ 25.2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (99 เปอร์เซ็นต์) และพบ LC_{50} เท่ากับ 1.14×10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร และสามารถทำให้ตัวเต็มวัยตายได้ 88.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร และ LC_{50} ที่ $6.61x10^6$ โคนิเดีย/

มิลลิลิตร และยังพบว่า *B. bassiana* ไม่เป็นพิษต่อไรแมงมุมตัวห้ำ *Phytoseiulus persimilis* แต่เป็นพิษเล็กน้อยต่อ *Neoseiulus californicus*

ขั้นตอนที่ 3 การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในสภาพโรงเรือนทดลอง (ปี 2567)

คัดเลือกอัตราการใช้ที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการจากขั้นตอนที่ 2 จำนวน 2 อัตรา ได้แก่ เชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M42 อัตรา 700 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($1.05x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) และเชื้อรา *B. bassiana* DOA-B4 อัตรา 500 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($1.02x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) จากนั้นจึงเพิ่มอัตราการใช้เป็น 10 เท่าจะได้เชื้อรา DOA-M42 อัตรา 1,400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) และเชื้อรา DOA-B4 อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) ทดสอบระหว่างเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม 2567 อุณหภูมิเฉลี่ย 29-33 องศาเซลเซียส ความชื้นในแปลงเฉลี่ย 50-70 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 34.9 มิลลิเมตร

ผลการตรวจนับจำนวนไร *T. truncatus* ในโรงเรือนทดลอง (Table 4)

ก่อนพ่น พบจำนวนไร *T. truncatus* เฉลี่ย 51.25-59.63 ตัวต่อต้น ซึ่งทุกกรรมวิธีไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 กรรมวิธีพ่น DOA-M42 อัตรา 1,400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) พบจำนวนไร *T. truncatus* น้อยสุดที่ 19.38 ตัวต่อต้น รองลงมาคือกรรมวิธีพ่น DOA-B4 อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) พบที่ 24.88 ตัวต่อต้น ซึ่งทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 2 กรรมวิธีพ่น DOA-M42 อัตรา 1,400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) และกรรมวิธีพ่น DOA-B4 อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) พบจำนวนไร *T. truncatus* ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ 8.85 และ 11.61 ตัวต่อต้น ตามลำดับแต่แตกต่างกับกรรมวิธีอื่นๆ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 กรรมวิธีพ่น DOA-M42 อัตรา 1,400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) และกรรมวิธีพ่น DOA-B4 อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) พบจำนวนไร *T. truncatus* ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ 8.51 และ 5.80 ตัวต่อต้น ตามลำดับแต่แตกต่างกับกรรมวิธีอื่นๆ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 4 กรรมวิธีพ่น DOA-B4 อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) พบจำนวนไร *T. truncatus* น้อยสุดที่ 11.51 ตัวต่อต้น รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่น DOA-M42 อัตรา 1,400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) พบที่ 19.92 ตัวต่อต้น ซึ่งทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการเก็บไร *T. truncatus* ในโรงเรือนทดลองมาบ่มเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในห้องปฏิบัติการ (Table 4)

ผลการบ่มเชื้อในห้องปฏิบัติการหลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 4 จำนวน 7 วัน พบว่ากรรมวิธีพ่น DOA-M42 อัตรา 1,400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) พบไร *T. truncatus* ติดเชื้อสูงสุด 70.44 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่น DOA-B4 อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) พบที่ 46.81 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ (% Efficacy) ตามวิธีของ Henderson-Tilton พบว่าหลังจากพ่นเชื้อราครั้งที่ 1 จนถึงครั้งที่ 4 กรรมวิธีพ่น DOA-M42 อัตรา 1,400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) และกรรมวิธีพ่น DOA-B4 อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) มีประสิทธิภาพในการควบคุม *T. truncatus* ในสภาพโรงเรือนทดลองใกล้เคียงกัน พบที่ 73.30-92.09 และ 70.15-95.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 5)

ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดสอบของ Dogan *et al*. (2017) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *Metarhizium brunneum* (สายพันธุ์ ARSEF, 4556 และ V275), *Metarhizium flavoviride* UPH-0288, *Lecanicillium lecanii* UPH-0241 และ *B. bassiana* UPH-1103 ที่ความเข้มข้น $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร พบว่า เชื้อราทุกไอโซเลทสามารถเข้าทำลายไรแมงมุมสองจุดได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น *M. flavoviride* พบอัตราการตายเพียง 67 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นได้คัดเลือก *M. brunneum* V275 ซึ่งมีประสิทธิภาพการเข้าทำลายสูงสุดนำมาทดสอบผลกระทบกับไรตัวห้ำ จำนวน 2 ชนิด คือ *Phytoseiulus persimilis* และ *Neoseiulus californicus* ที่ความเข้มข้น 1×10^6, 1×10^7 และ 1×10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร พบอัตราการตายของ *P. persimilis* เท่ากับ 57.5, 80.5 และ 99.5 เปอร์เซ็นต์ และ *N. californicus* ที่ 51.5, 75.0 และ 90.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตาม *M. brunneum* V275 ไม่ส่งผลกระทบต่อระยะไข่และตัวอ่อนของไรตัวห้ำทั้ง 2 ชนิด ซึ่งสามารถขยายเพิ่มปริมาณได้ 3-9 ชั่วรุ่น ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเชื้อรา *M. brunneum* V275 สามารถนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับไรตัวห้ำได้อย่างปลอดภัย

สอดคล้องกับการทดลองของ Chandler *et al*. (2005) รายงานว่า เชื้อรา *M. anisopliae, B. bassiana, Hirsutella thompsonii* และ *Verticillium lecanii* สามารถนำมาใช้ในการควบคุมไรแมงมุมสองจุดในมะเขือเทศได้ในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยสาร fenbutatin oxide สามารถลดอัตราการอยู่รอดของไรแมงมุมได้ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกับเชื้อรา *B. bassiana* สามารถลดอัตราการอยู่รอดได้สูงถึง 98 เปอร์เซ็นต์ และยังสามารถนำมาใช้ควบคุมได้ทั้งระยะไข่ ระยะพักตัว และระยะตัวเต็มวัยได้อีกด้วย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมไร *T. truncatus* ที่เหมาะสมในสภาพโรงเรือนทดลอง ได้เชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M42 อัตรา 1,400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) มีประสิทธิภาพควบคุมไร *T. truncatus* 73.30-92.09 เปอร์เซ็นต์ ติดเชื้อที่ 70.44 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *B. bassiana* DOA-B4 อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร)

มีประสิทธิภาพควบคุมไร *T. truncatus* 70.15-95.30 เปอร์เซ็นต์ ติดเชื้อที่ 46.81 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษานครั้งนี้สามารถนำไปศึกษาวิจัยต่อยอดในการนำไปปรับใช้เพื่อหาอัตราและวิธีการใช้ที่เหมาะสมในสภาพไร่ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.เกรียงไกร จำเริญมา และคุณพุฒนา รุ่งระวี ที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับแผนการดำเนินงานทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง และขอขอบคุณคณะทำงานกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม. 2544. ไรศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด.

จิตรานนท์ สินประเสริฐ์. 2550. การใช้เชื้อราก่อโรคกับแมลงเพื่อควบคุมไรขาวพริก *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) ในหม่อน *Morus alba* Linn. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 95 หน้า.

ภัทรา อุปดิษฐ์. 2550. ประสิทธิภาพของสารเมทาโบไลท์จากเชื้อราก่อโรคในแมลงในการควบคุมไรแมงมุมสองจุด, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 145 หน้า.

Chandler, D., G. Davidson and R.J. Jacobson. 2005. Laboratory and glasshouse evaluation of entomopathogenic fungi against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), on tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Biocontrol Sci. Technol*. 15: 37-54.

Hassan, Dalia M.A., M.A. Rizk, H.M. Sobhy, W.Z.A. Mikhail and M.S. Nada. 2017. Virulent Entomopathogenic Fungi against The Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* and some Associated Predator Mites as Non Target Organisms. *J. Biolog. Sci*. 10(6): 37–56.

Henderson. C.F. and E.W. Tilton. 1955. Tests with acaricides against the brow wheat mite. *J.Econ. Entomol.* 48: 157-161.

Dogan, Y.O., S. Hazir, A. Yildiz, T.M. Butt and I. Cakmak. 2017. Evaluation of entomopathogenic fungi for the control of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and the effect of *Metarhizium brunneum* on the predatory mites (Acari: Phytoseiidae). *Biological Control*. 111: 6-12.

Puntener, M. 1992. Manual for Field Trials in Plant Protection. 3rd ed. *In:* Agricultural Division, Ciba-Geigy Limited. Switzerland. 271 pp.

Table 1 Entomopathogenic fungi strains used in this studies

Fungi	Isolate	Insect host	Crop	Location
M. anisopliae	DOA-M3	Sugarcane longhorn beetle	Sugarcane	Biological Control Center, Nakhon Pathom province.
M. anisopliae	DOA-M5	Coconut rhinoceros beetle	Coconut	Lam Luk Ka district, Pathum Thani province
M. anisopliae	DOA-M8	White Grub	Pineapple	Huai Sai sub-district, Mueang district, Prachuap Khiri Khan province.
M. anisopliae	DOA-M14	Sugarcane longhorn beetle	Sugarcane	Plant Protection Research and Development Office, Suphan Buri province
M. anisopliae	DOA-M22	Sugarcane longhorn beetle	Sugarcane	Nong Phai subdistrict, Dan Makham Tia district, Kanchanaburi province
M. anisopliae	DOA-M42	Sugarcane longhorn beetle	Sugarcane	Nong Kwang subdistrict, Photharam district, Ratchaburi province
M. anisopliae	DOA-M145	Rice Weevil	Soil, Plant of Coffee	Chumphon Agricultural Researce and Development Center, Chumphon province.
M. anisopliae	DOA-M165	Coconut rhinoceros beetle	Coconut rhinoceros beetle	Mae Klong subdistrict, Mueang Samut Songkhram district, Samut Songkhram province
B. bassiana	DOA-B4	Coffee Borer Beetle	Coffee	Thep Sadet sub-district, Doi Saket district, Chiang Mai province.
B. bassiana	DOA-B18	Coffee Borer Beetle	Coffee	Tak Agricultural Researce and Development Center, Tak province.

Table 2 Mortality of *Tetranychus truncatus* caused by infection with 10 fungal isolates using a concentration of 1 x1 0 ^{8} conidia ml^{-1} at 7 days after treatment; tested for 2 times

Isolate	Mortality of *T. truncatus*[1/] (%)		
	Test 1st	Test 2nd	Average
DOA-M3	66.46 ab	76.25 abc	71.36 b
DOA-M5	23.89 c	38.98 d	31.44 c
DOA-M8	85.93 ab	61.19 c	73.56 b
DOA-M14	74.99 ab	79.08 abc	77.03 b
DOA-M22	59.83 ab	79.55 abc	69.69 b
DOA-M42	89.32 a	100.00 a	94.66 a
DOA-M145	57.81 b	81.62 abc	69.72 b
DOA-M165	68.83 ab	67.54 bc	68.18 b
DOA-B4	81.02 ab	86.62 ab	83.82 ab
DOA-B18	55.79 b	83.23 abc	69.51 b
Control	0.00 c	0.00 e	0.00 d
C.V. (%)	**30.9**	**21.6**	**15.8**

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication. Mean in the same column, followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

Table 3 Application rates of *Metarhizium* DOA-M42 and *Beauveria* DOA-B4 for controlling of *Tetranychus truncatus* under laboratory conditions

Experimental	Rate (gram)/ 20 liter	conidia ml^{-1}	
		DOA-M42	DOA-B4
1	100	$1.50x10^{7}$	$2.04x10^{7}$
2	200	$3.00x10^{7}$	$4.08x10^{7}$
3	300	$4.50x10^{7}$	$6.12x10^{7}$
4	400	$6.00x10^{7}$	$8.16x10^{7}$
5	500	$7.50x10^{7}$	$1.02x10^{8}$
6	600	$9.00x10^{7}$	$1.22x10^{8}$
7	700	$1.05x10^{8}$	$1.43x10^{8}$
8	800	$1.20x10^{8}$	$1.63x10^{8}$
9	900	$1.35x10^{8}$	$1.84x10^{8}$
10	1000	$1.50x10^{8}$	$2.04x10^{8}$
11	Control	-	-

Table 4 Mean Number of *Tetranychus truncatus* Found on cannabis plants after spraying with entomopathogenic fungi under greenhouse conditions, and infection rates post-treatment at the plant protection research and development office, department of agriculture, during November – December 2024

Experimental	Concentration (Conidia ml^{-1})	Rate (gram)/ 20 liter	Mean Number of *T. truncatus* (per Plant)[1/]					Infection Rate after 4th Application (%)
			Before spraying	After 1st spraying	After 2nd spraying	After 3rd spraying	After 4th spraying	
1. *M. anisopliae* DOA-M42	10^8	700	51.25 a	73.75 d	71.23 c	77.37 c	66.14 d	13.69 bc
2. *M. anisopliae* DOA-M42	10^9	1,400	51.38 a	19.38 a	8.85 a	8.51 a	19.92 b	70.44 a
3. *B. bassiana* DOA-B4	10^8	500	57.75 a	37.75 c	23.97 b	26.22 b	36.54 c	24.90 bc
4. *B. bassiana* DOA-B4	10^9	1,000	59.00 a	24.88 b	11.61 a	5.80 a	11.51 a	46.81 ab
5. Spraying plain water (Control)	-	-	59.63 a	84.25 e	129.84 d	124.72 d	77.83 d	0.00 c
C.V. (%)	**-**	**-**	**16.9**	**7.0**	**9.9**	**11.8**	**4.5**	**70.1 -**
R.E. (%)[2/]					**3.7**	**3.3**	**3.4**	**- -**

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/]Relative efficiency of covariance analysis (ANCOVA) after the application of treatments, in cases where significant differences in treatment means were observed prior to spraying.

Table 5 Efficacy of entomopathogenic fungi for controlling *Tetranychus truncatus* under greenhouse conditions during November – December 2024

Experimental	Concentration (Conidia ml^{-1})	Rate (gram)/ 20 liter	Evaluation of efficacy in controlling *T. truncatus* (% Efficacy)				
			Before spraying	After 1st spraying	After 2nd spraying	After 3rd spraying	After 4th spraying
1. *M. anisopliae* DOA-M42	10^8	700	-	1.63	36.17	27.82	38.30
2. *M. anisopliae* DOA-M42	10^9	1,400	-	73.30	92.09	92.08	81.46
3. *B. bassiana* DOA-B4	10^8	500	-	53.73	80.94	78.29	69.75
4. *B. bassiana* DOA-B4	10^9	1,000	-	70.15	90.96	95.30	90.67

Figure 1 Characteristic of infected *Tetranychus truncatus* by different species of entomopathogenic fungi (magnification: 20 times):

A, B) *Metarhizium anisopliae* Isolate DOA-M42

C, D) *Beauveria bassiana* Isolate DOA-B4

E) Uninfected

สำรวจชนิดแมงมุมในพืชกัญชาในระบบโรงเรือนและปลูกแบบโล่งแจ้ง

Survey the spider species on cannabis: *Cannabis sativa* L. subsp. Indica in the greenhouse system and outdoor system.

วิมลวรรณ โชติวงศ์ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง อทิติยา แก้วประดิษฐ์
ณพชรกร ธไภษัชย์ วีระชัย สมศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Survey of spider species in the cannabis greenhouse system and outdoor system from 5 provinces in Thailand from October, 2023 to September, 2024 was conducted. The results of identification revealed that there were 6 genera 7 species of including *Argiope pulchella* Thorell, 1881 *Argiope dang* Jäger & Praxaysombath, 2009 *Oxyopes javanus* Thorell, 1887 *Neoscona theisi* (Walckenaer, 1841) *Theridion* sp. *Salticus* sp. and *Tetragnatha keyserlingi* Simon, 1890. The taxonomic character are used for identification such as eyes arrangement , endite, tooth arrangement and number on chelicerae, hair arrangement on legs, length legs, shape, pattern and marking on abdomen, the shape of palpus and epigyne etc.

Keywords : spider, taxonomy, cannabis

รหัสการทดลอง FF65-01-01-65-06-05-67

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมงมุมในพืชกัญชาในระบบโรงเรือนและปลูกแบบโล่งแจ้งตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2566 สิ้นสุด กันยายน 2567 บนพื้นที่ 5 จังหวัด ผลจากการศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานพบแมงมุมทั้งหมด 6 สกุล 7 ชนิดได้แก่ *Argiope pulchella* Thorell, 1881 *Argiope dang* Jäger & Praxaysombath, 2009 *Oxyopes javanus* Thorell, 1887 *Neoscona theisi* (Walckenaer, 1841) *Theridion* sp. *Salticus* sp. and *Tetragnatha keyserlingi* Simon, 1890. ลักษณะอนุกรมวิธานที่สำคัญที่นำมาใช้ในการจำแนกชนิด เช่น ลักษณะการจัดเรียงของตา ลักษณะของ endite ลักษณะการจัดเรียงของฟันและจำนวนฟันบน chelicerae การจัดเรียงของเส้นขนบนขา ความยาวของขา ลักษณะรูปร่างและลวดลายบนส่วนหลัง ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย ฯลฯ

คำหลัก : แมงมุม, อนุกรมวิธาน, พืชกัญชา

คำนำ

กัญชา เป็นพืชในวงศ์ Cannabidaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ ว่า *Cannabis sativa* L. Subsp. *Indica* เป็นไม้ล้มลุกที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชีย กัญชาจัดเป็นยาเสพติดให้โทษประเภท 5 ตามพ.ร.บ. ยาเสพติดให้โทษ แต่ปัจจุบันกัญชา ได้รับข้อยกเว้นในกรณีจำเป็น โดยสภานิติบัญญัติแห่งชาติ (สนช.) ได้ผ่านร่างพระราชบัญญัติ (พ.ร.บ.) ยาเสพติดให้โทษ อนุญาตให้นำกัญชา (เมื่อวันที่ 25 ธันวาคม 2561) เพื่อไปศึกษาวิจัยเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์และรักษาโรคภายใต้การดูแลของแพทย์ หรือเพื่อการศึกษาวิจัยและพัฒนา ทั้งนี้ให้รวมถึงการเกษตรกรรม พาณิชยกรรม วิทยาศาสตร์ หรืออุตสาหกรรมเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ ตามพระราชบัญญัติ ยาเสพติดให้โทษ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2562

ปัจจุบันมีความร่วมมือด้านการศึกษาวิจัยและพัฒนาการนำกัญชามาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์แผนไทย ระหว่างกรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กับสำนักงานสภาเกษตรกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล(มทร.)อีสาน และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์(มก.) วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร โดยมีแหล่งปลูกกระจายทั้ง 4 ภูมิภาค โดยแหล่งปลูกและผลิตกัญชาสดได้แก่จังหวัดลำปาง บุรีรัมย์ สกลนคร กาญจนบุรี ปทุมธานี และ สุราษฎร์ธานี โดยได้ใช้จังหวัดสกลนครเป็นพื้นที่นำร่องในการปลูกจำนวน 5,000 ไร่ ถือว่าเป็นการปลูกพืชชนิดเดียวเป็นบริเวณกว้างหรือการปลูกพืชแบบ monocrop มักมีปัญหาเรื่องแมลงศัตรูพืชระบาดอย่างรุนแรงและรวดเร็วเนื่องจากเป็นการปลูกพืชชนิดเดียวเนื่องจากแมลงเหล่านี้มีพืชอาหารมากมายสามารถแพร่ขยายพันธุ์ครบวงจรชีวิตได้รวดเร็ว ดังนั้นจึงต้องมีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลายชนิด หลายอัตรา และใช้เป็นปริมาณมาก โดยแมลงศัตรูที่สำคัญในกัญชามีรายงานหลายชนิดด้วยกัน เช่น หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน และแมลงหวี่ขาว เป็นต้น แมลงศัตรูเหล่านี้เป็นแมลงศัตรูที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการปลูกกัญชา ทำลายพืชโดยการกัดกินทำลายส่วนต่างๆของพืช หรือดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณใบและลำต้น ทำให้ต้นพืชเจริญเติบโตช้า ชะงักการ

เจริญเติบโต เนื่องจากกัญชาได้ถูกนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์จึงเป็นพืชที่ต้องระมัดระวังในเรื่องการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ดังนั้นการใช้ศัตรูธรรมชาติในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชหรือการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีจึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมสำหรับพืชชนิดนี้

แมงมุมเป็นตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพมากสามารถกินเหยื่อได้หลากหลาย และเป็นตัวห้ำที่มีปริมาณมากในไร่ นา ป่า ในสวนผัก และสวนผลไม้ โดยเฉพาะสวนที่ไม่ได้ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช หรือใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชปริมาณน้อย โดยพบว่าแมงมุมมีบทบาทที่สำคัญในการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญเช่น เพลี้ยไฟ, ไรแดง, หนอนผีเสื้อ, แมลงวันผลไม้และเพลี้ยหอย เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติเด่นของพฤติกรรมการเป็นตัวห้ำของแมงมุมคือการฆ่าไม่เลือกและไม่ได้กินเหยื่อทุกตัวที่ถูกฆ่า และสามารถฆ่าเหยื่อได้ปริมาณมาก จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้แมงมุมมีประสิทธิภาพในการนำมาพัฒนาใช้ร่วมกับการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานและการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีสำหรับพืชกัญชาต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง หลอดแก้วทดลอง ขวดดองตัวอย่างแมงมุมขนาดต่างๆ กัน กล่องพลาสติกใสขนาดต่างๆ กัน กระดาษทิชชู่ ปากคีบ พู่กัน ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ กัน

2. อุปกรณ์ในการจำแนกชนิด ได้แก่ จานแก้ว ซิลิกาเจล กล้องจุลทรรศน์ (stereomicroscope) หลอดแก้วขนาดเล็ก เอกสารด้านอนุกรมวิธานแมงมุมที่เกี่ยวข้อง สารเคมีได้แก่ alcohol 95%, proteinase K, 10% KOH, chloroform, ethyl acetate

3 อุปกรณ์ในการเขียนผลงานวิจัยและเผยแพร่ ได้แก่ อุปกรณ์ในการถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์ ติดตั้งด้วยกล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์คอมพิวเตอร์ วัสดุสำนักงาน

วิธีการ

1.การเก็บตัวอย่างแมงมุม

การศึกษาครั้งนี้มีแผนการปฏิบัติการเก็บตัวอย่างแมงมุมจากพืชกัญชาที่ปลูกในระบบโรงเรือนและปลูกแบบกลางแจ้ง เก็บรวบรวมตัวอย่างจากพื้นที่ 5 จังหวัดได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน นครราชสีมา บุรีรัมย์ และกาญจนบุรี โดยใช้วิธีการการมองหา (visual search) จับโดยตรง (hand picking) และการใช้สวิงโฉบ (sweep net) จะทำให้ทราบรายละเอียดต่าง ๆ เกี่ยวกับแมงมุมแต่ละชนิดที่อาศัยหากินในสถานที่แตกต่างกัน เมื่อพบตัวแมงมุมใช้หลอดพลาสติกช้อนอยู่ใต้ตัวแมงมุมและใช้ฝาหลอดช่วยดันให้แมงมุมเดินเข้าไปในหลอด

การเก็บรักษาตัวอย่างแมงมุมจะเก็บเฉพาะตัวเต็มวัยเท่านั้น ถ้าจับได้ระยะตัวอ่อนจะต้องนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการให้เป็นระยะตัวเต็มวัยก่อน จึงจะสามารถนำมาจำแนกชนิดได้ นำตัวอย่างที่เป็นระยะตัวเต็มวัยมาทำให้สลบและฆ่าด้วย chloroform และ ethyl acetate เก็บรักษาตัวอย่าง

แมงมุมในหลอดแก้วที่บรรจุแอลกอฮอล์ 75% และนำไปเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม ซึ่งแต่ละหลอดบันทึกชื่อแมงมุม วันที่จับ สถานที่จับ ชื่อผู้เก็บ และค่าพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) โดยใช้ปากกาคอแร้งและใช้หมึก idian ink บันทึกลงในป้ายกระดาษขาวแผ่นเล็ก ๆ แล้วใส่ลงในหลอดแก้วที่ดองแมงมุม

ส่วนถุงไข่ที่เก็บได้นำมาใส่ไว้ในกล่องพลาสติกในห้องปฏิบัติการจนกระทั่งตัวอ่อนฟักออกมา จากนั้นนำไปแยกเลี้ยงเดี่ยวโดยนำตัวอ่อน 1 ตัวต่อกล่องพลาสติก 1 กล่องและให้แมลงหวี่เป็นอาหาร จนกระทั่งตัวอ่อนเจริญเป็นตัวเต็มวัยจึงนำมาเก็บรักษาตัวอย่างแมงมุมในขวดที่บรรจุแอลกอฮอล์ 75% เพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงในพิพิธภัณฑ์

2. การศึกษาอนุกรมวิธาน

- วิธีการเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างออกจากขวดจากนั้นใช้พู่กัน forceps และ needles ยืดขาแมงมุมให้กางออกให้ตรง จากนั้นนำตัวอย่างมาวางไว้ในจาน petridish ที่มีทรายวิทยาศาสตร์สีขาวที่ถูกแช่ด้วยแอลกอฮอล์ 95 % ให้เต็ม นำไปตั้งไว้ใต้กล้อง Olympus SZH-ILLD stereomicroscope สำหรับ epigynum (อวัยวะเพศเมีย) จะใช้ needles เจาะรอบๆ epigynum จากนั้นจึงดึงออกมาแล้วแล้วนำไปแช่ในเอนไซม์ proteinase K ประมาณ 2-3 ชั่วโมง เพื่อกำจัดเนื้อเยื่อส่วนที่ไม่ต้องการออกไป แล้วจึงนำไปล้างในน้ำสะอาด เมื่อจำแนกชนิดเรียบร้อยแล้วจึงนำไปใส่ในสไลด์หลุมแล้วปิดด้วย cover slip แล้วนำไปแช่ในขวดตัวอย่างเดิม สำหรับ pedipalps (อวัยวะเพศผู้) จะถูกดึงออกทางด้านซ้าย จากนั้นจึงแล้วนำไปต้มด้วย 10% KOH ที่อุณหภูมิ 60 ^{0}C ประมาณ 5-10 นาที จนกระทั่ง pedipalp ขยายออก จึงนำไปศึกษาดูรายละเอียดใต้กล้อง stereomicroscope เมื่อจำแนกชนิดเรียบร้อยแล้วจะนำ pedipalps (อวัยวะเพศผู้) ใส่ใน tube ขนาดเล็กแล้วนำไปแช่ในขวดตัวอย่างเดิม

- การจำแนกชนิด

นำตัวอย่างแมงมุม epigynum (อวัยวะเพศเมีย) และ pedipalps (อวัยวะเพศผู้) มาเปรียบเทียบจากตำราต่างๆ โดยเฉพาะจากเอกสารเกี่ยวกับการศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมในแถบทวีปเอเชีย ได้แก่ The Spiders of China (Song *et al*. 1999) The Spiders of Japan (Ono, 2009) Spiders from Laos (Jäger and Praxaysombath 2009 จากนั้นบรรยายลักษณะทางอนุกรมวิธาน วัดความยาวของทั้งลำตัว ความยาวและความกว้างของ carapace (ส่วนหัวรวมกับส่วนอก) ความยาวและความกว้างของ abdomen (ส่วนท้อง) ความยาวของขาทั้งหมด femur, patella, tibia, metatarsus, tarsus ถ่ายรูปและบรรยายลักษณะทางอนุกรมวิธาน เก็บและรักษาตัวอย่างแมงมุมไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม สำนักวิจัยและพัฒนาอารักขาพืช

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2566-กันยายน 2567

สถานที่ โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างบนพื้นที่ 5 จังหวัดได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน นครราชสีมา บุรีรัมย์ และกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมงมุม

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างแมงมุมในแปลงกัญชาในพื้นที่ปลูกแบบโรงเรือนและปลูกแบบโล่งแจ้ง จากแปลงเกษตรกรและวิสาหกิจชุมชนที่ได้รับอนุญาตปลูกกัญชาในประเทศไทย 5 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ลำพูน นครราชสีมา บุรีรัมย์ และกาญจนบุรี สามารถเก็บรวบรวมตัวอย่างแมงมุมตัวห้ำในแปลงกัญชาได้ 38 ตัวอย่าง พบแมงมุมจำนวน 6 สกุล 7 ชนิด ได้แก่ แมงมุมนุ่งซิ่น *Argiope dang* จำนวน 4 ตัวอย่าง แมงมุมนุ่งซิ่น *Argiope pulchella* จำนวน 7 ตัวอย่าง แมงมุมตาหกเหลี่ยม *Oxyopes javanus* จำนวน 15 ตัวอย่าง แมงมุมใยกลม *Neoscona theisi* จำนวน 3 ตัวอย่าง แมงมุมขาหวี *Theridion* sp. จำนวน 2 ตัวอย่าง แมงมุมกระโดด *Salticus* sp. จำนวน 2 ตัวอย่าง และ แมงมุมเขี้ยวยาว *Tetragnatha keyserlingi* จำนวน 5 ตัวอย่าง

- กัญชาที่ปลูกแบบระบบโรงเรือน พบแมงมุม จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ แมงมุมนุ่งซิ่น *Argiope pulchella* แมงมุมนุ่งซิ่น *Argiope dang* แมงมุมใยกลม *Neoscona theisi* แมงมุมตาหกเหลี่ยม *Oxyopes javanus* และแมงมุมเขี้ยวยาว *Tetragnatha keyserlingi*
- กัญชาที่ปลูกแบบพื้นที่โล่งแจ้ง พบแมงมุม จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ แมงมุมตาหกเหลี่ยม *Oxyopes javanus* แมงมุมขาหวี *Theridion* sp. และแมงมุมกระโดด *Salticus* sp.
- แมงมุมที่ไม่สร้างเส้นใย พบจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ แมงมุมตาหกเหลี่ยม (lynx spiders) แมงมุมกระโดด (jumping spiders) และแมงมุมสุนัขป่า (wolf spiders)
- แมงมุมที่สร้างเส้นใย พบจำนวน 3 ชนิด ได้แก่แมงมุมนุ่งซิ่น (yellow garden spider) แมงมุมขาหวี (comb-footed spiders) และแมงมุมเขี้ยวยาว (long jawed spiders)

จากการสำรวจพบชนิดแมงมุมในแปลงกัญชาที่ปลูกแบบระบบโรงเรือนมากกว่ากัญชาที่ปลูกแบบพื้นที่โล่งแจ้งเนื่องจากกัญชา หรือ เฮมพ์ (Hemp) เป็นพืชที่ออกดอกในช่วงวันสั้น (Short-day plant) ดังนั้นแสงสว่างจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้กัญชามีการเจริญเติบโตได้ดีและให้ผลผลิตช่อดอกที่มีปริมาณและคุณภาพที่ดี นอกจากนี้กัญชาเป็นพืชต้องการแสงมากถึง 14 ชั่วโมงต่อวัน กัญชาที่ปลูกแบบระบบโรงเรือนจึงมีการเปิดไฟโดยใช้แสงจากหลอดไฟเป็นหลัก ดังนั้นในช่วงเวลากลางคืนที่เปิดไฟจึงพบแมลงจำนวนมากมาเล่นแสงไฟส่งผลทำให้พบแมงมุมชักใยดักเหยื่อมากด้วยเช่นกันซึ่งสอดคล้องกับการสำรวจชนิดแมงมุมในแปลงกัญชาที่ปลูกแบบระบบโรงเรือนพบชนิดของแมงมุมที่สร้างเส้นใยมากกว่าแปลงกัญชาที่ปลูกแบบพื้นที่โล่งแจ้ง

2. การศึกษาอนุกรมวิธาน

จากการศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของแมงมุมในแปลงกัญชาในพื้นที่ปลูกแบบโรงเรือนและปลูกแบบโล่งแจ้ง โดยการใช้ลักษณะที่สำคัญในการจำแนกชนิด เช่น ลักษณะการจัดเรียงของตา ระยะห่างระหว่างตา ลักษณะของ carapace endite fovea sternum labium maxillae ความยาวของขา ลักษณะรูปร่างและลวดลายบนด้านหลังของส่วนท้อง อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย และแหล่งที่อยู่อาศัย พบแมงมุมจำนวน 6 สกุล 7 ชนิด ได้แก่ *Argiope pulchella* Thorell, 1881 *Argiope dang* Jäger & Praxaysombath, 2009 *Oxyopes javanus* Thorell, 1887 *Neoscona theisi* (Walckenaer, 1841) *Theridion* sp. *Salticus* sp. และ *Tetragnatha keyserlingi* Simon, 1890

***Argiope dang* Jäger & Praxaysombath, 2009 (Figure 1)**

วงศ์: Araneidae

ชื่อพ้อง:

Argiope dang Jäger & Praxaysombath, 2009

Argiope dang Jäger, 2012

Argiope dang Chotwong & Tanikawa, 2013

ชื่อสามัญ: Dang's cross spider

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description)

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย: เพศเมีย 13.47 มิลลิเมตร

หัวและอก (Cephalothorax): มีขนอ่อนสีเงินปกคลุม ความยาวมากกว่าความกว้าง ส่วนหัวและอกแบน แต่ส่วนหัวนูนกว่าเล็กน้อย เห็น cervical groove แยกส่วนหัวและอกชัดเจน ตาจำนวน 8 ตา ลักษณะแบบ diurnal eyes เรียงตัวเป็น 2 แถว (4-4) แถวหน้าเรียงแบบ recurve (ตาแถวด้านหน้าเรียงตัวโค้งลงเล็กน้อย) แถวหลังแบบ procurve (ตาแถวด้านหลังเรียงตัวโค้งขึ้น) ตาข้างแถวหน้าและหลังติดกัน clypeus แคบ chelicerae (ฐานเขี้ยว) เห็น boss ชัด มีฟันแถวหน้าจำนวน 4 ซี่ แถวหลังจำนวน 3 ซี่ sternum (แผ่นแข็งด้านล่าง) สีน้ำตาลเหลืองอ่อน (ในแอลกอฮอล์) เขี้ยวมีสีน้ำตาลเหลืองอ่อนและมีสีดำลาย (ในแอลกอฮอล์) Labium ความกว้างมากกว่าความยาว

ท้อง (Abdomen): สีเงินสดใส ในช่วงด้านหลังทางตอนท้ายจะมีสีเข้มแต้ม มีความยาวมากกว่าความกว้าง

เขตการแพร่กระจาย (Distribution): ลาวและประเทศไทย ในประเทศไทยสามารถพบที่จังหวัดเชียงใหม่ และนครราชสีมา

***Argiope pulchella* Thorell, 1881 (Figure 2)**

วงศ์: Araneidae

ชื่อพ้อง:

Argiope pulchella Thorell, 1881

Argiope undulata Thorell, 1887

Argiope pulchella Thorell, 1887

Argiope undulata Thorell, 1895

Argiope pulchella Gravely, 1921

Argiope pulchella Jäger & Praxaysombath, 2009

ชื่อสามัญ: Garden cross spider

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description)

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย: เพศเมีย 17.9 มิลลิเมตร

หัวและอก (Cephalothorax): มีขนอ่อนสีเงินปกคลุม ความกว้างเท่ากับความยาว ส่วนหัวและอกแบน แต่ส่วนหัวนูนกว่าเล็กน้อย เห็น cervical groove แยกส่วนหัวและอกชัดเจน ตาจำนวน 8 ตา ลักษณะแบบ diurnal eyes เรียงตัวเป็น 2 แถว (4-4) แถวหน้าเรียงแบบ recurve เล็กน้อย แถวหลังแบบ procurve (ตาแถวด้านหลังเรียงตัวโค้งขึ้น) ตาข้างแถวหน้าและหลังติดกัน clypeus แคบ chelicerae (ฐานเขี้ยว) เห็น boss ชัด มีฟันแถวหน้าจำนวน 3 ซี่ แถวหลังจำนวน 4 ซี่

ท้อง (Abdomen): มีรูปร่างของส่วนท้องและสีสันคล้าย *A. versicolor* มาก แต่มีขนาดรูปร่างที่แตกต่างกันมากซึ่งปกติจะมีขนาดใหญ่กว่า *A. versicolor* อวัยวะเพศของเพศเมียจะมีลักษณะหนากว่าเป็นรูปตัว V หรือ ตัว U

เขตการแพร่กระจาย (Distribution): ปากีสถาน อินเดียไปสู่จีนและอินโดนีเซีย ในประเทศไทยสามารถพบที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และนครราชสีมา

***Neoscona theisi* (Walckenaer, 1841) (Figure 3)**

วงศ์: Araneidae

ชื่อพ้อง:

Epeira theis Walckenaer, 1841

Epeira mangareva Walckenaer, 1847

Epeira assidua Vinson, 1863

Epeira braminica Stoliczka, 1869

Epeira mangareva L. Koch, 1871

Epeira theisii Thorell, 1877

Epeira theisii Thorell, 1878

Epeira eclipsis Marx, 1893

Epeira ventricosa Rainbow, 1897

Epeira longispina Rainbow, 1897

Epeira multispina Rainbow, 1897

Epeira etheridgei Rainbow, 1897

Epeira festiva Rainbow, 1897

Epeira obscura Rainbow, 1897

Epeira distincta Rainbow, 1897

Epeira hoggi Rainbow, 1897

Araneus mangarevus Pocock, 1897

Araneus theis Pocock, 1898

Neoscona theisi F. O. Pickard-Cambridge, 1904

ชื่อสามัญ: Orb weavers spider

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description)

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย: เพศเมีย 9.4 มิลลิเมตร

หัวและอก (Cephalothorax): เพศเมีย; สีน้ำตาลเหลือง มีความยาวมากกว่าความกว้าง พื้นที่ของส่วนหัวยกขึ้นเล็กน้อย thoracic groove มีลักษณะตามยาว ตาจำนวน 8 ตา สีเหมือนกัน และเป็นแบบ diurnal eyes ตาแถวหน้าเรียงแบบ recurve (ตาแถวด้านหน้าเรียงตัวโค้งลง) ตาแถวด้านหลัง แบบ procurved (ตาแถวด้านหลังเรียงตัวโค้งขึ้น) มีการจัดเรียงตา 2 แถว คือ 4-4 ฐานเขี้ยว (chelicerae) มีสีน้ำตาล มีฟันแถวหน้าจำนวน 4 ซี่ แถวหลังจำนวน 3 ซี่ ขาสีน้ำตาล มีขนและหนามกระจาย

ท้อง (Abdomen): เพศเมีย; รูปร่างเป็นรูปไข่โดยมีลักษณะป่องตรงกลางและเรียวลงทางด้านปลายท้อง สีน้ำตาล มีความยาวมากกว่าความกว้าง ด้านหลังมีสัญลักษณ์คล้ายรูปทรงเรขาคณิตบริเวณด้านหน้าของส่วนท้องจนถึงปลายของส่วนท้อง

เขตการแพร่กระจาย (Distribution): ไซปรัส อิสราเอล จอร์เจีย รัสเซีย อิหร่าน ปากีสถาน อินเดีย เนปาล ฟิลิปปินส์ จีนไปสู่อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย เซเชลส์ และ หมู่เกาะแปซิฟิก ในประเทศไทยสามารถพบที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน

***Oxyopes javanus* Thorell, 1887 (Figure 4)**

วงศ์: Oxyopidae

ชื่อพ้อง:

Oxyopes lineatipes Simon, 1885

Oxyopes javanus Thorell, 1887

Oxyopes javanus Nentwig *et al.*, 2019

ชื่อสามัญ: Lynx spider

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description)

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย: เพศเมีย 7-8 มิลลิเมตร

หัวและอก (Cephalothorax): เพศเมีย; สีเหลืองแกมเขียว มีความยาวมากกว่าความกว้าง พื้นที่ของส่วนหัวยกขึ้นเล็กน้อยโดยไม่มีเส้น fovea ตาจำนวน 8 ตา สีเหมือนกันและเป็นแบบ diurnal eyes ตาแถวหน้าเรียงแบบ recurve (ตาแถวด้านหน้าเรียงตัวโค้งลง) ตาแถวด้านหลัง แบบ procurved (ตาแถวด้านหลังเรียงตัวโค้งขึ้น) มีการจัดเรียงตา 3 แถว คือ 2-4-4 โดยตาแถวแรกมีขนาดตาที่เล็กที่สุดจำนวน 1 คู่ แถวที่ 2 และ 3 เรียงเป็นรูปหกเหลี่ยม clypeus (พื้นที่ระหว่างตาแถวหน้าและฐานเขี้ยว) ลักษณะยาวมีเส้นสีดำ 2 เส้นลากจากตากลางคู่หน้าจนถึงฐานของเขี้ยว และมีเส้นสีน้ำตาลแดง 2 เส้นลากจากตาข้างคู่หลังไปจนถึงขอบด้านหลังของ cephalothorax มีเส้นรอยริ้วสีน้ำตาลเข้มที่ด้านข้างของ cephalothoraxทั้ง 2 ด้าน chelicerae (ฐานเขี้ยว) มีสีน้ำตาล มีฟันแถวหน้าจำนวน 1 ซี่ แถวหลังจำนวน 1 ซี่ maxillae สีน้ำตาลอ่อนมีความยาวมากกว่าความกว้าง labium สีน้ำตาลอ่อน sternum (แผ่นแข็งด้านล่าง) มีความยาวมากกว่าความกว้างและมีรูปร่างคล้ายรูปหัวใจ ขาสีเหลืองทอง มีหนามแข็งแรงสีดำกระจายอยู่ทั่วทุกขา โดยเรียงลำดับความยาวของขาจากมากที่สุดไปน้อยที่สุดดังนี้ 1423

ท้อง (Abdomen): เพศเมีย; รูปร่างคล้ายทรงกระบอก สีเหลืองแกมเขียว มีความยาวมากกว่าความกว้าง ด้านหลังมีสัญลักษณ์คล้ายปลายหอกบริเวณด้านหน้าของส่วนท้องจนถึงกึ่งกลางของส่วนท้อง มีริ้วสีน้ำตาลเข้มที่ด้านข้างของส่วนท้อง epigynum และ vulva ลักษณะคล้ายรูปตัว V

เขตการแพร่กระจาย (Distribution): อินเดีย บังคลาเทศ อินโดนีเซีย (จาวา) ฟิลิปปินส์ จีน ในประเทศไทยสามารถพบที่จังหวัดเชียงใหม่ นครราชสีมา กาญจนบุรี

***Salticus* sp. (Figure 5)**

วงศ์: Salticidae

ชื่อสามัญ: Jumping spiders

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description)

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย: เพศเมีย 5 มิลลิเมตร

หัวและอก (Cephalothorax): เพศเมีย; สีน้ำตาลเข้ม ไม่มี thoracic groove ตาจำนวน 8 ตา เป็นแบบ diurnal eyes มีการจัดเรียงตา 3 แถว มองดูแล้วเกือบเป็นเส้นวงกลม มีการจัดเรียงตาคือ 4 – 2 - 2 แบบ ตาแถวหน้าเรียงแบบ recurve (ตาแถวด้านหน้าเรียงตัวโค้งลง) ตากลางคู่หน้า

จะมีขนาดใหญ่มากกว่าคู่อื่นๆ ซึ่งตาหลังคู่กลางและตาหลังด้านข้างจะมีขนาดเล็กมาก maxillae มีลักษณะขนานกัน labium เคลื่อนไหวอิสระ มีเล็บ 2 อัน และมีขนปุยที่ปลายเล็บ ความยาวขา 4 ขา เรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้ 4, 1, 3, 2

ท้อง (Abdomen): เพศเมีย; สีน้ำตาลดำ มีเส้นสีขาว 2 เส้นลากยาวที่บริเวณกลางหลังด้านบนไปจนถึงด้านปลายท้อง มีความยาวมากกว่าความกว้างเล็กน้อย

เขตการแพร่กระจาย (Distribution): ในประเทศไทยสามารถพบที่จังหวัดเชียงใหม่ นครราชสีมา กาญจนบุรี

***Tetragnatha keyserlingi* Simon, 1890 (Figure 6)**

วงศ์: Tetragnathidae

ชื่อพ้อง:

Tetragnatha keyserlingi Simon, 1890

Tetragnatha kochi Thorell, 1895b

Tetragnatha maxillosa Thorell, 1895

Tetragnatha japonica Bösenberg & Strand, 1906

Tetragnatha listeri Gravely, 1921

Tetragnatha conformans Chamberlin, 1924

Tetragnatha japonica Saitō, 1933

Tetragnatha ethodon Chamberlin & Ivie, 1936

Tetragnatha propioides Schenkel, 1936

Tetragnatha cliens Yin, 1976

Tetragnatha keyserlingi Dippenaar-Schoeman *et al*., 2023

ชื่อสามัญ: Long jawed spiders

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description)

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย: เพศเมีย 7.6 มิลลิเมตร

หัวและอก (Cephalothorax): เพศเมีย; สีน้ำตาล มีความยาวมากกว่าความกว้าง ส่วนหัวนูน ส่วนอกแบนกว่า ส่วนหัวแยกจากส่วนอกโดย cervical groove thoracic groove เป็นวงกลมลึกกลางอก ตา 8 ตาสีดำแบบ diurnal eyes ตาแถวหน้าเรียงแบบ recurve (ตาแถวด้านหน้าเรียงตัวโค้งลง) แถวหลังเรียงเส้นตรง ตากลางแถวหน้า และแถวหลังมีขนาดใหญ่กว่าตาอื่น ความยาวฐาน chelicerae ของเพศผู้มากกว่าความยาวหัวและอก ส่วนของเพศเมียจะเท่ากับความยาวหัวและอก ปลาย locking apophysis ของเพศผู้ มีรอยหยัก maxillae ผอม ยาว 2 อัน ขนานกัน labium มีความกว้างเท่ากับความยาว ขอบหนา sternum มีความยาวมากกว่าความกว้างด้านหน้าปลายตัด ด้านปลายแหลม เพศผู้มีฟันแถวหน้าจำนวน 10 ซี่ แถวหลังจำนวน 10 ซี่ เพศเมีย

มีฟันแถวหน้าจำนวน 6 ซี่ แถวหลังจำนวน 10 ซี่ ฟันซี่แรกของแถวหน้าและแถวหลังมีลักษณะพิเศษแตกต่างจากชนิดอื่นโดยมีขนาดใหญ่และชี้ตรงขนานกัน ขนาดฟันแถวหลังเล็กกว่าแถวหน้า ความยาวขา 4 ขา เรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้ 1, 2, 4, 3

ท้อง (Abdomen): เพศเมีย; สีเทา มีจุดสีเงินทั่วไป ท้อง ผอม ยาว

เขตการแพร่กระจาย (Distribution): อเมริกากลาง หมู่เกาะแคริบเบียน บราซิล แอฟริกา เกาหลี จีน อินเดียไปสู่ฟิลิปปินส์ นิวเฮบริดีส์ โพลินีเซีย ในประเทศไทยสามารถพบที่จังหวัดบุรีรัมย์

Theridion **sp. (Figure 7)**

วงศ์: Theridiidae

ชื่อสามัญ: Comb-footed spiders

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description)

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย: เพศเมีย 4.1 มิลลิเมตร

หัวและอก (Cephalothorax): เพศเมีย; สีน้ำตาล มีความยาวเท่ากับความกว้าง รูปร่างคล้ายสามเหลี่ยมด้านเท่า ไม่มี thoracic groove ตาจำนวน 8 ตา ตาแถวหน้าเรียงแบบ recurve (ตาแถวด้านหน้าเรียงตัวโค้งลง) ตาแถวด้านหลัง แบบ procurved (ตาแถวด้านหลังเรียงตัวโค้งขึ้นเล็กน้อย) ตาข้างแถวหน้าและหลังติดกัน มีการจัดเรียงตา 2 แถว คือ 4-4 chelicerae (ฐานเขี้ยว) มีสีน้ำตาล sternum (แผ่นแข็งด้านล่าง) เป็นรูปหัวใจ ขาสีน้ำตาล โดยเรียงลำดับความยาวของขาจากมากที่สุดไปน้อยที่สุดดังนี้ 1423

ท้อง (Abdomen): เพศเมีย; รูปร่างกลมป่อง สีดำมีลวดลายคล้ายก้างปลาที่แนวตรงกลางของส่วนท้องด้านบน

เขตการแพร่กระจาย (Distribution): ในประเทศไทยสามารถพบที่จังหวัดลำพูน เชียงใหม่ บุรีรัมย์ อุทัยธานี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากเก็บรวบรวมตัวอย่างแมงมุมแมงมุมจากพืชกัญชาที่ปลูกในระบบโรงเรือนและปลูกแบบกลางแจ้ง เก็บรวบรวมตัวอย่างจากพื้นที่ 5 จังหวัดได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน นครราชสีมา บุรีรัมย์ และกาญจนบุรี พบแมงมุมจำนวน 38 ตัวอย่าง นำไปศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ โดยการใช้ลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญในการจำแนกชนิด เช่น การจัดเรียงตัวของตา ระยะห่างระหว่างตา เส้นขนที่ตา ลักษณะรูปร่าง และลวดลายบนส่วนหลัง ความยาวและความกว้างของส่วนหัว ส่วนอก และส่วนท้อง ความยาวของขา จำนวนขนและหนามที่ขา ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย ผลจากการจำแนกพบแมงมุม 6 สกุล 7

ชนิด ได้แก่ *Argiope pulchella* จำนวน 7 ตัวอย่าง *Argiope dang* จำนวน 4 ตัวอย่าง *Oxyopes javanus* จำนวน 15 ตัวอย่าง *Neoscona theisi* จำนวน 3 ตัวอย่าง *Theridion* sp. จำนวน 2 ตัวอย่าง *Salticus* sp. จำนวน 2 ตัวอย่าง และ *Tetragnatha keyserlingi* จำนวน 5 ตัวอย่าง

การสำรวจแมงมุมตัวห้ำในแปลงกัญชาครั้งนี้เป็นการศึกษาระยะสั้นเพียงหนึ่งปี ทำให้ได้ข้อมูลทั้งเรื่องปริมาณและจำนวนชนิดของแมงมุมในแปลงกัญชาไม่สมบูรณ์ จึงจำเป็นต้องเก็บข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น โดยข้อมูลแมงมุมตัวห้ำจากแปลงกัญชาที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญในการพัฒนาองค์ความรู้เพื่อการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานและการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีสำหรับพืชชนิดนี้ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุมที่ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Jäger, P. & Praxaysombath, B. 2009. Spiders from Laos: new species and new records (Arachnida: Araneae). *Acta Arachnologica*, 58 (1), 27–51.

Ono, H. 2009. The spiders of Japan with keys to the families and genera and illustrations of the species. Tokai University Press. 558-588 p.

Simon, E. 1890. Etudes arachnologiques. 22e Mémoire. XXXVI. Arachnides recueillis aux îles Mariannes par M. A. Marche. Annales de la Société Entomologique de France (6) 10:131-136.

Song, D.X., Zhu, M.S. & Chen, J. 1999. *The Spiders of China*. Hebei Science and Technology Publishing House, Shijiazhuang. 640 pp.

Thorell, T. 1881. Studi sui Ragni Malesi e Papuani. III. Ragni dell'Austro Malesia e del Capo York, conservati nel Museo civico di storia naturale di Genova. Annali del Museo Civico di Storia Naturale di Genova 17: 1-720.

Thorell, T. 1887. Viaggio di L. Fea in Birmania e regioni vicine. II. Primo saggio sui ragni birmani. Annali del Museo Civico di Storia Naturale di Genova 25: 5-417.

Walckenaer, C. A. 1841. Histoire naturelle des Insects. Aptères. Tome deuxième. Roret, Paris, 549 pp., pl. 16-22. (not published in 1837, see pp. 430, 452, 505; plates in second pdf of Walckenaer, 1837) doi:10.5962/bhl.title.61095

Figure 1 *Argiope dang*

Figure 2 *Argiope*

Figure 3 *Neoscona theisi*

Figure 4 *Oxyopes javanus*

Figure 5 *Salticus* sp.

Figure 7 *Theridion* sp.

Figure 6 *Tetragnatha keyserlingi*

การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงขยายตั๊กแตนจากวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตร เพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก

Study on Mass Rearing Techniques of Grasshoppers Using Agricultural Waste Materials for Commercial Production

จารุวัตถ์ แต้กุล ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ
อิทธิพล บรรณาการ เกศสุดา สนศิริ อาทิตย์ รักกสิกร
จอมสุรางค์ ดวงธิสาร สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Food security challenges directly impact the economy and agricultural production sectors. Future food, particularly edible grasshoppers, represents a promising solution to address these issues. This study on mass rearing techniques of grasshoppers using agricultural waste materials for large-scale production aims to develop techniques for rearing edible grasshoppers from agricultural waste materials to achieve high-volume production. The result includes: after analyzing the species, the Chinese Patangka grasshopper was identified using molecular techniques (DNA barcoding) as *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758), Nanjing strain from China. This strain demonstrates superior mass production efficiency compared to other strains due to its feeding behavior, reproductive capacity, and survival characteristics, making it highly suitable for industrial-scale production. The species contains high protein content of 72.73±0.22 grams per 100 grams dry weight, exhibits rapid growth rates, and can be reared on agricultural waste materials such as corn leaves alternated with cricket feed. Additionally, efficient greenhouse technology was developed using wooden cages covered with plastic mesh measuring 50 × 50 × 100 centimeters, which increased grasshopper survival rates to 89.5% and reduced environmental dispersal. The study also found that temperature and humidity

รหัสการทดลอง FF65-02-05-65-00-02-65

control in the greenhouse directly affects grasshopper survival rates. The optimal temperature for rearing is 28-32°C with relative humidity of 50-70%, which reduces grasshopper mortality by 15-20% compared to uncontrolled temperature and humidity conditions. The development of grasshopper rearing technology using agricultural waste materials not only reduces production costs but also enables sustainable and cost-effective industrial-scale protein production from grasshoppers. The project studied and developed grasshopper cultivation techniques using agricultural waste materials as primary feed, finding that the most suitable feed formula combines corn leaves with cricket feed, which can reduce costs by up to 40% while maintaining good grasshopper growth rates. Furthermore, the development of greenhouse systems with appropriate temperature and humidity control can effectively increase survival rates and enhance grasshopper productivity.

Keywords : Edible grasshoppers, Short-horned grasshopper rearing, Grasshopper feed, Grasshopper farm, Insect industry

บทคัดย่อ

จากปัญหาความมั่นคงด้านอาหาร ส่งผลกระทบโดยตรงต่อภาคเศรษฐกิจและภาคการผลิตทางการเกษตร อาหารแห่งอนาคต (Future Food) โดยเฉพาะตั๊กแตนกินได้ถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีแนวโน้มแก้ปัญหาดังกล่าว การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงขยายตั๊กแตนจากวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากมีวัตถุประสงค์หลักคือ เพื่อพัฒนาเทคนิคการเลี้ยงตั๊กแตนกินได้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก ผลการทดลองพบว่าจากการศึกษาชนิดที่เหมาะสมโดยวิเคราะห์ชนิดตั๊กแตนปาทังกาสายพันธุ์จีนโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล (ดี เอ็น เอ บาร์โค้ด) พบว่าเป็นตั๊กแตน *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) สายพันธุ์หนานจิง ประเทศจีน ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตขยายมากกว่าสายพันธุ์อื่นเนื่องจาก พฤติกรรมการกินการขยายพันธุ์และการดำรงชีวิต มีศักยภาพสูงสุดสำหรับการผลิตในระดับอุตสาหกรรม มีปริมาณโปรตีนสูงถึง 72.73±0.22 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม อัตราการเติบโตเร็ว และสามารถเลี้ยงได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ใบข้าวโพดสลับกับอาหารจิ้งหรีด นอกจากนี้ ได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีโรงเรือนที่มีประสิทธิภาพ โดยใช้กรงไม้บุมุ้งพลาสติกขนาด 50 × 50 × 100 เซนติเมตร ซึ่งช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของตั๊กแตนได้ 89.5% และลดการแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อม ผลจากการศึกษายังพบว่า การควบคุมอุณหภูมิและความชื้นในโรงเรือนมีผลโดยตรงต่ออัตราการรอดชีวิตของตั๊กแตน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงอยู่ที่ 28-32°C และความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมคือ 50-70% ซึ่งช่วยลดอัตราการตายของตั๊กแตนลง 15-20%

เมื่อเทียบกับสภาวะที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้น การพัฒนาเทคโนโลยีการเลี้ยงตั๊กแตนโดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ไม่เพียงแต่ช่วยลดต้นทุนการผลิตเท่านั้น แต่ยังช่วยให้สามารถผลิตโปรตีนจากตั๊กแตนในระดับอุตสาหกรรมได้อย่างยั่งยืนและคุ้มค่า โครงการได้ศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงตั๊กแตนโดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเป็นอาหารหลัก พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดคือ ใบข้าวโพดร่วมกับอาหารจิ้งหรีด ซึ่งสามารถลดต้นทุนได้มากถึง 40% ในขณะที่ยังคงรักษาอัตราการเจริญเติบโตของตั๊กแตนได้ดี นอกจากนี้ การพัฒนาระบบโรงเรือนที่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสมสามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตและเพิ่มผลผลิตของตั๊กแตนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำหลัก : ตั๊กแตนกินได้, การเลี้ยงตั๊กแตนหนวดสั้น, อาหารตั๊กแตน, ฟาร์มตั๊กแตน, อุตสาหกรรมแมลง

คำนำ

จากปัญหาความมั่นคงด้านอาหาร ส่งผลกระทบโดยตรงต่อภาคเศรษฐกิจและภาคการผลิตทางการเกษตร ทางเลือกการพัฒนาอาหารจากแมลงถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่สำคัญแก้ปัญหาด้านอาหารที่กำลังขาดแคลน และสามารถขยายตลาดเกษตรของประเทศ ทั้งยังสอดคล้องกับนโยบาย **“อาหารแห่งอนาคต (Future Food)”** ของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โครงการวิจัยนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน ตอบสนองโอกาสทางธุรกิจตลอดจนมีปัจจัยความสำเร็จที่ชัดเจน โดยเป้าหมายของโครงการวิจัยคือ เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มจากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนแหล่งโปรตีนใหม่ ซึ่งสอดคล้องกับเป้าหมายของแผนงาน คือการสร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจที่เกิดจากความหลากหลายทางชีวภาพของพืช เห็ด จุลินทรีย์และศัตรูธรรมชาติบนพื้นฐานการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน เพิ่มขึ้นไม่ต่ำกว่าร้อยละ 1 ของ GDP โดยโครงการวิจัยประกอบด้วย 5 กระบวนการทดลองตั้งแต่ต้นน้ำจนถึงปลายน้ำ ได้แก่ 1) การสำรวจศึกษาสายพันธุ์ตั๊กแตนที่มีคุณค่าทางโภชนาการและมีศักยภาพในการผลิตขยาย 2) ศึกษาเทคโนโลยีการเลี้ยงผลิตขยายจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร 3) วิจัยเทคโนโลยีการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนสู่อาหารสำหรับเด็ก และผู้ป่วยที่ขาดสารอาหาร รวมถึงการเติมเต็มคุณค่าของอาหารที่บริโภค 4) วิจัยผลิตภัณฑ์ต้นแบบเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา และ 5) การจัดการฐานข้อมูลตั๊กแตนในประเทศสู่การใช้ประโยชน์ในอนาคต ซึ่งผลการดำเนินการและผลผลิตตามคำรับรอง (key output) ในปี 2565 ที่ได้คือ ตัวอย่างพันธุ์ตั๊กแตนและแมลงกินได้รวมถึงข้อมูลทางโภชนาการเบื้องต้น ชนิดและรูปแบบการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณตั๊กแตน ได้กรรมวิธีการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนรวมถึงคุณค่าทางโภชนาการของตั๊กแตนที่มีศักยภาพ ได้ระบบการจัดเก็บตัวอย่างอ้างอิงโดยใช้ QR-Code เพื่อการจัดทำฐานข้อมูล นำไปสู่แผนการดำเนินงานในปี 2566 และ 2567 คือ การวินิจฉัยชนิดและคัดเลือกตัวอย่างพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตระดับอุตสาหกรรม การศึกษากรรมวิธีการเลี้ยงจากอาหารและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร แผนการทำแป้งโปรตีนเพื่อได้ขนมปัง Sourdough เสริมโปรตีนจากแมลงรวมถึง

การเติมเต็มคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร (fortified insect protein) และแผนการสร้างฐานข้อมูลตั๊กแตนกินได้โดยเชื่อมโยงตัวอย่างอ้างอิงและระบบการจัดเก็บผ่าน QR-Code ทั้งนี้ความคาดหวังหลังเสร็จสิ้นโครงการ คือการได้สายพันธุ์ตั๊กแตนโปรตีนสูง มีศักยภาพในการผลิตขยาย ได้ระบบการผลิตที่ปลอดภัยได้มาตรฐาน ได้เทคโนโลยีการสกัดโปรตีนและบรรจุภัณฑ์โปรตีนตั๊กแตน และได้แอพพลิเคชั่นระบบการเข้าถึงข้อมูลออนไลน์ที่รวดเร็ว ซึ่งมีผู้รับเทคโนโลยีต้นแบบเหล่านี้ไปใช้ได้จริง ได้แก่ ตั๊กแตนปาทังก้าฟาร์ม อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย ในการผลิตขยายตั๊กแตนให้ได้ปริมาณมากเพื่อการค้า และบริษัททุ่งสุวรรณออร์แกนิคฟาร์มจำกัด อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณภาพ ผลกระทบที่เกิดขึ้นคือเกิดการลงทุนใหม่ เกิดการจ้างงานเพิ่ม นำไปสู่การพัฒนารูปแบบธุรกิจใหม่ สร้างรายได้ที่มั่นคงทำให้มีการพัฒนา นวัตกรรมการแปรรูปแหล่งโปรตีนใหม่จากแมลงในประเทศมากขึ้น เป็นการปฏิบัติงานเชิงรุกสู่ตลาดเป้าหมาย ก่อให้เกิดข้อได้เปรียบในการแข่งขันและสร้างความเข้มแข็งของการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพในภูมิภาค อีกทั้งสร้างมาตรฐานการผลิตที่ปลอดภัยสู่ความมั่นคงทางอาหารที่ยั่งยืน

แมลงเป็นสัตว์ที่มีมากที่สุดในโลก มีทั้งกลุ่มที่มีประโยชน์และกลุ่มที่เป็นโทษ อย่างไรก็ตามแมลงยังเป็นอาหารของมนุษย์ที่สืบทอดกันมาตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบัน พบว่า มีแมลงมากกว่า 500 ชนิด ที่เป็นอาหารมนุษย์ ซึ่งนิยมรับประทานในแถบทวีปเอเชีย ออสเตรเลีย แอฟริกา อเมริกา และยุโรป สำหรับประเทศไทยเป็นอีกประเทศหนึ่งที่นิยมรับประทานแมลงกันอย่างแพร่หลายในทั่วทุกภูมิภาค (Sihamala *et al.,* 2010) องค์การสหประชาชาติได้ระบุว่า โลกกำลังเผชิญกับปัญหาความมั่นคงด้านอาหาร โดยในปี 2050 ความต้องการอาหารของโลกจะมากกว่าปัจจุบันถึง 2 เท่าแต่พื้นที่เพาะปลูกไม่เพียงพอ ทางเลือกการพัฒนาอาหารจากแมลงถือเป็นทางออกตอบสนองความต้องการและสามารถขยายตลาดเกษตรของประเทศ แนวโน้มความต้องการบริโภคแมลงเพิ่มมากขึ้น โดยธุรกิจแมลงทั่วโลกมีมูลค่าเพิ่มขึ้นถึง 20,000 ล้านบาท (ศูนย์วิจัยธนาคารกรุงเทพ,2563) โดยตลาดเอเชียมีสัดส่วนถึงร้อยละ 30 – 40 ของตลาดโลก ใน 5 ปีที่ผ่านมาอุตสาหกรรมแมลงเติบโตขึ้นอย่างน้อยร้อยละ 20 ในแต่ละปี โดยประเทศไทยถือเป็นตลาดหลักที่มีการส่งออกแมลงไปขายยังต่างประเทศ มีกำลังการผลิตโดยเฉพาะจิ้งหรีดกว่า 7,000 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่า 1,000 ล้านบาท ปัจจุบันมีการทำธุรกิจแมลงส่งออกไปทั่วโลกผ่านระบบออนไลน์ทั้งแบบปลีกและส่งและโรงงานได้มาตรฐานอุตสาหกรรมเพิ่มขึ้นโดยส่วนใหญ่จะเป็นการแปรรูปอย่างง่ายเช่นแมลงอบแห้งและแมลงทอด คุณค่าทางโภชนาการจากแมลงประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน เกลือแร่ วิตามิน โดยกลุ่มที่นิยมนำมาแปรรูปแบ่งเป็นแมลงในกลุ่มด้วง (Coleoptera) ร้อยละ 31 แมลงในกลุ่มผีเสื้อ (Lepidoptera) ร้อยละ 18 และแมลงในกลุ่ม ผึ้ง ต่อแตน (Hymenoptera) ร้อยละ 14 และในกลุ่มแมลงกระชอน จิ้งหรีด ตั๊กแตน (Orthoptera) ร้อยละ 13 (Jongema, 2015) อย่างไรก็ตามกลุ่มแมลงที่สามารถผลิตชีวมวลได้สูงสุดและธาตุอาหารมากที่สุดคือกลุ่ม Orthoptera ในประเทศไทยมีธุรกิจการเลี้ยงและ

ส่งออกผลิตภัณฑ์จากจิ้งหรีดกันอย่างกว้างขวาง ถึงแม้จิ้งหรีดผลิตได้รวดเร็วปริมาณมากและมีวงจรชีวิตสั้น แต่ยังมีข้อจำกัดหลายประการ ได้แก่ การจัดการในโรงเรือนทำได้ยาก คือเมื่อพบจิ้งหรีดที่เป็นโรคจะติดต่อได้ง่ายทำความเสียหายทั้งโรงเรือน มีปริมาณไขมันที่ค่อนข้างสูง อาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นอาหารสำเร็จรูปที่ส่งผลเสียต่อสภาพแวดล้อม อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาวิจัย กระบวนการเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากตั๊กแตนอย่างกว้างขวางในประเทศไทย ทั้งที่คุณค่าทางโภชนาการ โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนสูงกว่าจิ้งหรีด จากการวิเคราะห์สารอาหารทั้งหมดของตั๊กแตนพบว่ามีโปรตีนเป็นส่วนประกอบระหว่างร้อยละ 57 – 77 ไขมันเพียงร้อยละ 4 – 22 และยังพบใยอาหาร (Crude fiber) กว่าร้อยละ 7 – 12 โดยผลจากการรายงานในประเทศแมกซิโก อินเดียและไทยมีความเห็นตรงกันถึงศักยภาพในการนำตั๊กแตนมาพัฒนาเป็นโปรตีน โครงการนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อสร้างมูลค่า เป็นการศึกษาถึงชนิด เทคโนโลยีการเลี้ยงผลิตขยายจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (zero waste) พัฒนาการสกัดโปรตีนตั๊กแตนและผลิตภัณฑ์ต้นแบบและส่งเสริมต่อยอดองค์ความรู้สู่เกษตรกรและผู้ประกอบการ รวมถึงเป็นการตั้งต้นงานวิจัยด้านโปรตีนจากตั๊กแตนกินได้ในประเทศไทย ซึ่งผลสำเร็จของโครงการจะส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคม ได้แก่ เกิดการลงทุนใหม่ เกิดการจ้างงานเพิ่ม นำไปสู่การพัฒนารูปแบบธุรกิจใหม่ สร้างรายได้ที่มั่นคงทำให้มีการพัฒนา นวัตกรรมการแปรรูปแหล่งโปรตีนใหม่จากแมลง เป็นการปฏิบัติงานเชิงรุกสู่ตลาดเป้าหมาย ก่อให้เกิดข้อได้เปรียบในการแข่งขันและสร้างความเข้มแข็งในการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพ

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อพัฒนาเทคนิคการเลี้ยงตั๊กแตนกินได้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรงเลี้ยงตั๊กแตนขนาด 50x50x100 เซนติเมตร สำหรับเลี้ยงตั๊กแตน
2. วัสดุสำหรับรองพื้นเพื่อศึกษาสภาพเหมาะสมสำหรับการวางไข่ของตั๊กแตน
3. วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเช่นซังข้าวโพด ใบอ้อยแห้ง ซังหญ้าเนเปียแห้ง เป็นต้น
4. อาหารเสริมเพื่อเพิ่มคุณภาพโปรตีนเช่น อาหารไก่ ปลาป่น เป็นต้น
5. โรงเรือนสำหรับเลี้ยงตั๊กแตนและวัสดุสำหรับการดูแลโรงเรือน
6. เครื่องมือสำหรับช่างน้ำหนักและนับจำนวน

วิธีการ

การจัดการเลี้ยงตั๊กแตนภายในโรงเรือนระบบปิด (ดำเนินการปี 2565)

สถานที่ควรเป็นที่ร่มมีหลังคากันแดดและฝน มีแสงแดดส่องถึงช่วงตอนเช้าและตอนบ่าย กรงมุ้งลวด โครงเป็นอะลูมิเนียมขนาดกรง กว้างx ยาว x สูง = 50 x 50 x 100 เซนติเมตร ขากรงสูง 15 เซนติเมตร บุกรงด้วยมุ้งลวด ประตูด้านหน้ามี 2 ตอน คือ ครึ่งหนึ่งของด้านบนเป็นประตูบุลวดมีหูจับ ส่วนครึ่งล่างเป็นประตูทึบเพื่อป้องกันไม่ให้ตั๊กแตนออกขณะเปิดปิด พื้นกรงปูด้วยตะแกรงลวดตาข่ายและมีลิ้นชักความสูง 10 เซนติเมตร ถอดเข้าออกได้ เพื่อรองรับมูลของตั๊กแตนและง่ายต่อการดึงออกมาทำความสะอาด การพัฒนาระบบการทำความสะอาด การถ่ายมูลตั๊กแตน ในกรงมุ้งไนลอนเปลี่ยนกระดาษที่ปูพื้นกรงทุกวัน ส่วนในกรงมุ้งลวดดึงลิ้นชักที่รองรับมูลออกมาล้าง ล้างทำความสะอาดกระบอกที่ใส่อาหารและจานใส่น้ำทุกวัน

การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงตั๊กแตนจากวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก (ดำเนินการปี 2565 และ ปี 2566)

แผนการทดลอง วางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely randomized design (CRD) ทั้งหมด 7 กรรมวิธี โดยแต่ละกรรมวิธีมี 20 ซ้ำ โดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่แตกต่างกันดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หญ้าเนเปียร์

กรรมวิธีที่ 2 ต้นอ่อนข้าวสาลี

กรรมวิธีที่ 3 ต้นอ่อนข้าวสาลี อาหารจิ้งหรีดและน้ำ

กรรมวิธีที่ 4 ใบข้าวโพดอ่อน อาหารจิ้งหรีดและน้ำ

กรรมวิธีที่ 5 ใบข้าวโพด

กรรมวิธีที่ 6 ใบข้าวโพด และแหนแดง

กรรมวิธีที่ 7 ใบข้าวโพดหลังเก็บฝัก

กรรมวิธีที่ 8 ใบข้าวโพดอ่อน และเปลือกสับปะรดหลังการแปรรูป

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

ดำเนินการทดลองในโรงเรือนแบบปิดโดยใช้กรงเลี้ยงตั๊กแตนขนาด 60x60x100 เซนติเมตร เลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณตั๊กแตนโดยปล่อยตั๊กแตนวัย 1 จำนวน 100 ตัวต่อกรง

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

ให้อาหารตามกรรมวิธีทุกวันเช้าเย็นพร้อมบันทึกปริมาณอาหารทุกครั้งที่ให้รวมถึงพฤติกรรมการกิน สุ่มตั๊กแตนในแต่ละซ้ำชั่งน้ำหนักและวัดขนาดลำตัวทุกสัปดาห์ จนกระทั่งตั๊กแตนทั้งหมดเป็นตัวเต็มวัยระยะสุดท้าย นำข้อมูลที่ได้รับ นำไปวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 - กันยายน 2566

สถานที่ ณ โรงเรือนระบบปิด กลุ่มเกษตรกรและวิสาหกิจชุมชน ตำบลแปลงยาว อำเภอแปลงยาว จังหวัดฉะเชิงเทรา หัวหน้ากลุ่มเกษตรกรชื่อ นายกิติพงษ์ สุมังคะ และ ฟาร์มตั๊กแตน 150 หมู่ 2 ตำบลบ้านดู่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร

การศึกษาวัสดุวางไข่ที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มปริมาณตั๊กแตน (ดำเนินการปี 2567)

แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely randomized design (CRD) ทั้งหมด 7 กรรมวิธี โดยแต่ละกรรมวิธีมี 4 ซ้ำ โดยใช้วัสดุรองพื้นเพื่อให้ตั๊กแตนวางไข่ที่แตกต่างกัน

กรรมวิธีที่ 1 วัสดุปลูกเวอร์มิคูไลท์

กรรมวิธีที่ 2 ดินพีทมอส

กรรมวิธีที่ 3 ขี้เลื่อยบดละเอียดผสมขุยมะพร้าว

กรรมวิธีที่ 4 ซังอ้อยหรือซังข้าวโพดบดละเอียด

กรรมวิธีที่ 5 ดินร่วนปนทราย

กรรมวิธีที่ 6 ขี้เท้าแกรบผสมดินเบา

กรรมวิธีที่ 7 ปล่อยพื้นว่างไม่มีวัสดุวางไข่

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

เลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณตั๊กแตนให้ได้ปริมาณมากในโรงเรือนแบบปิดเพื่อใช้ในการทดลอง ดำเนินการทดลองโดยปล่อยตั๊กแตนจำนวน 20 ตัวต่อซ้ำ (เพศผู้ 10 ตัวและเพศเมีย 10 ตัว)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกจำนวนไข่ที่วางบนวัสดุการวางไข่ในแต่ละกรรมวิธี และเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ จนกระทั่งตั๊กแตนทั้งหมดตาย นำข้อมูลที่ได้รับ นำไปวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2566 - กันยายน 2567

สถานที่ ณ ฟาร์มตั๊กแตน 150 หมู่ 2 ตำบลบ้านดู่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร

การป้องกันกำจัดศัตรูของตั๊กแตนในโรงเลี้ยง

ศัตรูที่สำคัญ ได้แก่ มด ซึ่งจะเข้ามากินไข่และซากตั๊กแตนหรือตัวที่ลอกคราบใหม่ ๆ ซึ่งไม่แข็งแรง การป้องกันโดยใช้ชอล์กกันมดและการดูแลความสะอาด ถ้าเป็นกรงมุ้งลวดระวังอย่าให้มีเศษหญ้าตกหล่นถึงพื้นอันจะเป็นสะพานให้มดเข้าไปในกรง ศัตรูอื่น ๆ ได้แก่ แมงมุม จิ้งเหลน กิ้งก่า และหนู

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาชนิดของตั๊กแตนกินได้ และคุณค่าทางโภชนาการ

จากการสำรวจและวิเคราะห์สายพันธุ์ตั๊กแตนใน 33 จังหวัดทั่วประเทศไทย พบว่าตั๊กแตนหนวดสั้นมีความหลากหลายสูง โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันตก สายพันธุ์ที่พบมากที่สุด ได้แก่ *Atractomorpha crenulata*, *Acrida willemsei* และ *Oxya hyla intricata* อย่างไรก็ตาม มีเพียง 8 ชนิดที่สามารถนำมาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการได้ ผลการวิเคราะห์พบว่าตั๊กแตนหนวดสั้นมีโปรตีนสูงถึง **69.46-79.83%** สูงกว่าจิ้งหรีดและแมลงกินได้ชนิดอื่น ไขมันต่ำ และมีแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์ เช่น แคลเซียมและฟอสฟอรัส ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของตั๊กแตนในการเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกที่มีคุณภาพสูง จากการศึกษาเปรียบเทียบศักยภาพในการผลิตของสายพันธุ์ตั๊กแตน พบว่า *Locusta migratoria* เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตขยายเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากมีข้อดีที่สำคัญหลายประการ ได้แก่ :

- อัตราการเจริญเติบโตเร็ว: ตั๊กแตนสายพันธุ์นี้สามารถเจริญเติบโตเต็มที่ได้ภายใน **28-32 วัน** ซึ่งเร็วกว่าสายพันธุ์อื่น ทำให้สามารถหมุนเวียนการผลิตได้หลายรอบต่อปี

- ปริมาณโปรตีนสูง: มีโปรตีนสูงถึง **72.73±0.22 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม** ซึ่งสูงกว่าค่าเฉลี่ยของแมลงกินได้ชนิดอื่นและใกล้เคียงกับโปรตีนจากสัตว์ปีก

- ความสามารถในการขยายพันธุ์สูง: สามารถวางไข่ได้มากถึง **12,000 ฟองต่อแม่พันธุ์ 1 ตัว** ซึ่งช่วยให้สามารถขยายการผลิตได้อย่างรวดเร็ว

- ความทนทานและความสามารถในการปรับตัวสูง: ตั๊กแตน *Locusta migratoria* สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันได้ดี และมีอัตราการรอดชีวิตสูงเมื่อเทียบกับตั๊กแตนสายพันธุ์อื่นที่นำมาทดลองเลี้ยง

- ความสามารถในการบริโภคอาหารจากพืชที่หลากหลาย: สามารถใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ใบข้าวโพดและเศษพืชอาหารสัตว์อื่น ๆ เป็นแหล่งอาหารหลัก ซึ่งช่วยลดต้นทุนการผลิตได้มากกว่า **40%** จากผลการศึกษาดังกล่าว *Locusta migratoria* จึงเป็นสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงสุดสำหรับการผลิตโปรตีนจากตั๊กแตนในระดับอุตสาหกรรม โดยสามารถรองรับการขยายตลาดโปรตีนจากแมลงในอนาคต และมีโอกาสสูงในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนทางเลือกที่มีความยั่งยืนและเป็นมิตรต่อ

สิ่งแวดล้อม จากการสำรวจและวิเคราะห์สายพันธุ์ตั๊กแตนใน 33 จังหวัดทั่วประเทศไทย พบว่าตั๊กแตนหนวดสั้นมีความหลากหลายสูง โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันตก สายพันธุ์ที่พบมากที่สุด ได้แก่ *Atractomorpha crenulata*, *Acrida willemsei* และ *Oxya hyla intricata* อย่างไรก็ตาม มีเพียง 8 ชนิดที่สามารถนำมาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการได้ ผลการวิเคราะห์พบว่าตั๊กแตนหนวดสั้นมีโปรตีนสูงถึง **69.46-79.83%** สูงกว่าจิ้งหรีดและแมลงกินได้ชนิดอื่น ไขมันต่ำ และมีแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์ เช่น แคลเซียมและฟอสฟอรัส ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของตั๊กแตนในการเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกที่มีคุณภาพสูง

การพัฒนาเทคโนโลยีการเลี้ยงตั๊กแตนจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร

โครงการได้ศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงตั๊กแตนโดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเป็นอาหารหลัก พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดคือ **ใบข้าวโพดร่วมกับอาหารจิ้งหรีด** ซึ่งสามารถลดต้นทุนได้มากถึง **40%** เมื่อเทียบกับอาหารสำเร็จรูป และยังให้ผลผลิตที่มีคุณภาพสูง การทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารแสดงให้เห็นว่า ตั๊กแตนที่เลี้ยงด้วยใบข้าวโพดและอาหารจิ้งหรีดมีอัตราการรอดชีวิตสูงถึง **89.5%** ซึ่งใกล้เคียงกับตั๊กแตนที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีอัตรารอดชีวิต **92.3%** นอกจากนี้ การออกแบบโรงเรือนและกรงเลี้ยงที่มีโครงสร้างเหมาะสม พบว่ากรงไม้บุพลาสติกตาข่ายละเอียดขนาด **50 x 50 x 100 เซนติเมตร** และให้กรงสูงจากพื้น **20 เซนติเมตร** เพื่อการระบายอากาศที่ดี สามารถลดอัตราการติดเชื้อจากเชื้อราและปรสิตได้ถึง **30%** เมื่อเทียบกับระบบเลี้ยงแบบดั้งเดิมที่ใช้ภาชนะเปิดโล่ง

ด้านประสิทธิภาพการเจริญเติบโต พบว่า *Locusta migratoria* ที่เลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมสามารถเจริญเติบโตเต็มที่ภายใน **28-32 วัน** โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวอยู่ที่ **2.1-2.5 กรัม** และสามารถวางไข่ได้สูงถึง **12,000 ฟองต่อแม่พันธุ์ 1 ตัว** ซึ่งช่วยให้สามารถผลิตขยายในระดับอุตสาหกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ผลจากการศึกษายังพบว่า การควบคุมอุณหภูมิและความชื้นในโรงเรือนมีผลโดยตรงต่ออัตราการรอดชีวิตของตั๊กแตน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงอยู่ที่ **28-32°C** และความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมคือ **50-70%** ซึ่งช่วยลดอัตราการตายของตั๊กแตนลง **15-20%** เมื่อเทียบกับสภาวะที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้น

จากผลการทดลองดังกล่าว พบว่าการพัฒนาเทคโนโลยีการเลี้ยงตั๊กแตนโดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ไม่เพียงแต่ช่วยลดต้นทุนการผลิตเท่านั้น แต่ยังช่วยให้สามารถผลิตโปรตีนจากตั๊กแตนในระดับอุตสาหกรรมได้อย่างยั่งยืนและคุ้มค่า โครงการได้ศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงตั๊กแตนโดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเป็นอาหารหลัก พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดคือ **ใบข้าวโพดร่วมกับอาหารจิ้งหรีด** ซึ่งสามารถลดต้นทุนได้มากถึง **40%** ในขณะที่ยังคงรักษาอัตราการเจริญเติบโตของตั๊กแตนได้ดี

นอกจากนี้ การพัฒนาระบบโรงเรือนที่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตและเพิ่มผลผลิตของตั๊กแตนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงขยายตั๊กแตนจากวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก หลังจากวิเคราะห์ชนิด ตั๊กแตนปาทังกาสายพันธุ์จีน โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล (ดี เอ็น เอ บาร์โค้ด) พบว่าเป็นตั๊กแตน *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) สายพันธุ์หนานจิง ประเทศจีน ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตขยายมากกว่าสายพันธุ์อื่นเนื่องจาก พฤติกรรมการกิน การขยายพันธุ์ขและการดำรงชีวิต ได้รูปแบบการเลี้ยงขยายตั๊กแตนที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพโดยโช้กรงไม้บุมุ้งพลาสติกตาข่ายละเอียด ขนาด 50 x 50 x 100 เซนติเมตร และให้กรงสูงจากพื้น 20 เซนติเมตรเพื่อการระบายอากาศและกันมด กรงสามารถต่อกันได้เป็นแนวสูง ควรเลี้ยงในโรงเรือนที่มีอากาศถ่ายเทไม่อับชื้น ศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงตั๊กแตนจากวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากได้สูตรที่เหมาะสมได้แก่ ใบข้าวโพดและอาหารจิ้งหรีด

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ด้านสังคม ผู้ใช้ประโยชน์ได้แก่ นักวิชาการ นักวิจัย เกษตรกรในพื้นที่เป้าหมายได้แก่ อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ และ อ.แม่สรวย อ. เมือง จ. เชียงราย และ ผู้ประกอบการทำให้เกิดการเรียนรู้ร่วมกันระหว่างเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงตั๊กแตนและนักวิชาการ ทำให้กลุ่มชุมชนสร้างรายได้สร้างอาชีพใหม่ เกษตรกรเล็งเห็นถึงคุณค่าของความหลากหลายทางชีวภาพ เกิดความรักและหวงแหนระบบนิเวศ ลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ลดช่องว่างระหว่างนักวิชาการและเกษตรกร ในด้านเศรษฐกิจคือ ผู้ใช้ประโยชน์ได้แก่ บริษัทผู้ผลิตและจำหน่วยผลิตภัณฑ์ หน่วยงานสนับสนุนทุนวิจัย วิสาหกิจชุมชน เกษตรกร.โดยได้รับความร่วมมือหรือหุ้นส่วนความร่วมมือในการลงทุนขยายผลเทคโนโลยีการเลี้ยงตั๊กแตนกินได้ ด้านวิชาการ นักวิจัย นักวิชาการเกษตร บัณฑิตศึกษา อาจารย์มหาวิทยาลัย นำผลงานด้านนวัตกรรมต้นแบบโปรตีนใหม่จากตั๊กแตนเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการวิจัยพัฒนาในระดับอุตสาหกรรม ขยายฐานการผลิตตั๊กแตน ใช้เป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยนวัตกรรมการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของแมลงกินได้ชนิดอื่นต่อไป

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยย่อยเรื่อง "นวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน (Orthoptera) เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม ขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ" ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565-2567

การทดลองนี้ไม่สามารถเสร็จลุล่วงไปได้หากขาดความร่วมมือของหลายหน่วยงานที่ให้ความช่วยเหลือ ให้ความร่วมมือทั้งในการค้นคว้าความรู้ การดำเนินงาน ให้ข้อคิดเห็น และให้ข้อมูลในการดำเนินงานจนประสบผลสำเร็จซึ่งหน่วยงานเหล่านี้ประกอบด้วย สาขาวิจัยและพัฒนาการเกษตร ภาควิชากีฏวิทยา ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดนครปฐม

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริม วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่จัดสรรงบประมาณเพื่อสนับสนุนโครงการวิจัยย่อยครั้งนี้ และ คณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิและผู้เชี่ยวชาญทุกท่าน ที่ได้เสียสละเวลาในการให้ข้อเสนอแนะ ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ และแนวทางปรับปรุงแก้ไข จนสามารถดำเนินงานได้ตามวัตถุประสงค์

ขอขอบคุณ นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ ผู้ทรงคุณวุฒิด้านอารักขาพืช และที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตร ด้านอนุรักษ์และเทคโนโลยี ซึ่งให้คำแนะนำที่มีคุณค่าและการสนับสนุนทางวิชาการอย่างเต็มที่ตลอดการดำเนินงาน

ขอขอบคุณผู้อำนวยการแผน และทีมนักวิจัยทุกท่านซึ่งไม่อาจกล่าวนามได้หมด ที่ช่วยประสานงาน รวบรวม และจัดทำสรุปผลการทดลองของนักวิจัย ภายในโครงการวิจัยย่อย

ขอขอบคุณสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช บุคคลากรกองแผนงานและวิชาการ และกรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความร่วมมือและให้การสนับสนุนงานวิจัย ทั้งครุภัณฑ์ทางด้านวิทยาศาสตร์ และสาธารณูปโภคตลอดในการ ดำเนินการวิจัยจนลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Allen, L., D. Benoist, O. Dary, and R. Hurrell. 2010. Guidelines on food fortification with micronutrients. WHO/FAO 341 pp.

Belluco, S., C. Losasso, M. Maggioletti, C. C. Alonzi, M. G. Paoletti, and A. RicciEdible. 2013. Insects in a food safety and nutritional perspective: a critical review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 12: 296 – 312.

European Food Safety Authority : EFSA. 2015. Insects as food and feed: what are the risks? Annual Accounts European Food Safety Authority. Available at: https://www.efsa.europa.eun/en/press/ news/151008a.

FAO. 2021. Looking at edible insects from a food safety perspective. Challenges and opportunities for the sector. Rome. https://doi.org/10.4060/cb4094en.

Hemery, Y. M., L. Fontan, A. Laillou, V. Jallier, R. Moench-Pfanner, S. Avallone, and J. Berger. 2020. Influence of storage conditions and packaging of fortified wheat flour on microbial load and stability of folate and vitamin B12. Food Chemistry: X. 5: doi.org/10.1016/j.fochx.2019.100076.

Jongema, Y., 2015. List of edible insects of the world. Wageningen UR, Wageningen, the Netherlands. Available at: http://tinyurl.com/mestm6p.

Kinyuru J.N., G. M. Kenji, S. N. Muhoho, and M. Ayieko. 2011. Nutritional potential of longhorn grasshopper (Ruspolia differens) consumed in Siaya district, Kenya. Journal of Agriculture Science and Technology. 12: 32 – 46.

Msangi, S. and M. W. Rosegrant. 2011. Feeding the future's changing diets: implication for agriculture markets, nutrition and policy. pp. 65 – 71. *In*: Fan S., Pandya-Lorch R. (Eds), Reshaping Agriculture for Nutrition and Health. International Food Policy Research Institute, Washington DC, USA.

ภาพที่ 1 ผลจากการวินิจฉัยชนิดตั๊กแตนที่มีศักยภาพในการผลิตขยายเพื่อทดลอง ได้แก่ *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) สายพันธุ์หนานจิง ประเทศจีน

ภาพที่ 2 สภาพโรงเรือนสำหรับผลิตขยายตั๊กแตนเพื่อทดลองเลี้ยงโดยใช้วัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร

ภาพที่ 3 การศึกษาวัสดุวางไข่ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณของตั๊กแตน

การสร้างแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อเพิ่มมูลค่าใช้ประโยชน์และอนุรักษ์อย่างยั่งยืน

Development of a Grasshopper Biodiversity Database Application for Value Enhancement, Utilization and Sustainable Conservation

จารุวัตถ์ แต้กุล ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ
อิทธิพล บรรณาการ เกศสุดา สนศิริ อาทิตย์ รักกสิกร
จอมสุรางค์ ดวงธิสาร สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Food security challenges directly impact the economy, and future food, particularly edible grasshoppers, represents a promising solution to address these issues. However, studies on grasshopper species for consumption are not yet widespread in Thailand, and there is no systematic database storage system. The development of a grasshopper biodiversity database application for value enhancement, utilization, and sustainable conservation aims to address these gaps. The main objective of this experiment is to develop a grasshopper biodiversity database application that provides easy and efficient access to information, including the development of reference specimen collection processes and database management systems that meet international standards. The project has developed a grasshopper biodiversity database system accessible through mobile applications and websites. Currently, the system contains records of more than 1,300 specimens with detailed information about nutritional value, growth rates, and habitat locations of each grasshopper species. Field trials with farmer groups found that the system can reduce data recording time by 50% and help farmers track grasshopper growth rates more accurately, with less than 5% deviation. The system features QR code scanning functionality and feeding and harvesting reminder systems, resulting in a 15-20% increase in productivity within 6 months. The study results demonstrate that the database

รหัสการทดลอง FF65-02-05-65-00-04-65

system can help make grasshopper farm management more efficient, reduce costs, and increase productivity, serving as an important tool for sustainable development of the edible insect industry.

Keywords : Database application, Grasshopper biodiversity, Database, Grasshopper species, Edible, Museum insect storage system

บทคัดย่อ

จากปัญหาความมั่นคงด้านอาหาร ส่งผลกระทบโดยตรงต่อภาคเศรษฐกิจ อาหารแห่งอนาคต โดยเฉพาะตั๊กแตนกินได้ถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีแนวโน้มแก้ปัญหาดังกล่าว อย่างไรก็ตามการศึกษาชนิดของตั๊กแตนเพื่อการบริโภค ยังไม่เป็นที่แพร่หลายในประเทศไทยและไม่มีฐานข้อมูลจัดเก็บอย่างเป็นระบบ การสร้างแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อเพิ่มมูลค่า ใช้ประโยชน์และอนุรักษ์อย่างยั่งยืน การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อพัฒนาแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน ที่สามารถเข้าถึงข้อมูลได้ง่ายและมีประสิทธิภาพ รวมถึงพัฒนากระบวนการจัดเก็บตัวอย่างอ้างอิงและการจัดการฐานข้อมูลสู่ระบบสากล โครงการได้พัฒนาระบบฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนที่สามารถเข้าถึงได้ผ่านแอปพลิเคชันและเว็บไซต์ ปัจจุบันระบบมีการบันทึกตัวอย่างมากกว่า 1,300 รายการ พร้อมรายละเอียดเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการ อัตราการเจริญเติบโต และแหล่งที่พบของตั๊กแตนแต่ละสายพันธุ์ การทดลองใช้งานในกลุ่มเกษตรกรพบว่า ระบบสามารถลดเวลาการบันทึกข้อมูลลงได้ 50% และช่วยให้เกษตรกรติดตามอัตราการเจริญเติบโตได้แม่นยำขึ้น โดยมีความคลาดเคลื่อนต่ำกว่า 5% ระบบมีฟังก์ชันการสแกน QR Code และระบบแจ้งเตือนการให้อาหารและเก็บเกี่ยว ส่งผลให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 15 – 20% ใน 6 เดือน ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าระบบฐานข้อมูลสามารถช่วยให้การจัดการฟาร์มตั๊กแตนมีประสิทธิภาพมากขึ้น ลดต้นทุนและเพิ่มผลผลิต ซึ่งเป็นเครื่องมือสำคัญในการพัฒนาอุตสาหกรรมแมลงกินได้อย่างยั่งยืน

คำหลัก : แอปพลิเคชันฐานข้อมูล, ความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน, ฐานข้อมูล, ชนิดของตั๊กแตนกินได้, ระบบการจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์แมลง

คำนำ

ความมั่นคงด้านอาหารถือเป็นหนึ่งในความท้าทายที่สำคัญที่สุดของโลกในศตวรรษที่ 21 องค์การสหประชาชาติได้คาดการณ์ว่าภายในปี 2050 โลกจะต้องเผชิญกับความต้องการอาหารที่เพิ่มขึ้นถึง 2 เท่าของปัจจุบัน ขณะที่พื้นที่เกษตรกรรมที่มีอยู่ไม่เพียงพอต่อการรองรับความต้องการดังกล่าว ปัจจัยสำคัญที่

ส่งผลต่อปัญหานี้ ได้แก่ การเติบโตของประชากรโลก การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ การลดลงของพื้นที่เกษตรกรรม และการเสื่อมสภาพของดิน ปัญหาเหล่านี้ส่งผลกระทบโดยตรงต่อความมั่นคงทางเศรษฐกิจและสังคมของทุกประเทศ จึงจำเป็นต้องหาแหล่งโปรตีนทางเลือกใหม่ที่สามารถตอบสนองความต้องการของประชากรโลกได้อย่างยั่งยืน อาหารแห่งอนาคต (Future Food) โดยเฉพาะแมลงกินได้ ได้รับการยอมรับจากนักวิทยาศาสตร์และองค์กรระหว่างประเทศว่าเป็นทางเลือกที่มีศักยภาพสูงในการแก้ไขปัญหาความมั่นคงด้านอาหาร การเลี้ยงแมลงใช้ทรัพยากรน้อยกว่าการเลี้ยงสัตว์เศรษฐกิจแบบดั้งเดิม ใช้พื้นที่น้อยกว่า ปล่อยก๊าซเรือนกระจกน้อยกว่า และมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนอาหารเป็นโปรตีนสูงกว่า นอกจากนี้ แมลงยังสามารถเลี้ยงได้ด้วยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ซึ่งช่วยลดปัญหาขยะและสร้างระบบเศรษฐกิจหมุนเวียน ตลาดแมลงกินได้ทั่วโลกกำลังเติบโตอย่างรวดเร็ว โดยมีมูลค่าเพิ่มขึ้นถึง 20,000 ล้านบาท (ศูนย์วิจัยธนาคารกรุงเทพ, 2563) ตลาดเอเชียมีสัดส่วนถึง 30-40% ของตลาดโลก และในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา อุตสาหกรรมแมลงเติบโตขึ้นอย่างน้อย 20% ในแต่ละปี ประเทศไทยถือเป็นผู้นำในตลาดแมลงกินได้ของเอเชีย โดยมีกำลังการผลิตจิ้งหรีดกว่า 7,000 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่า 1,000 ล้านบาท ปัจจุบันมีการขยายธุรกิจแมลงส่งออกไปทั่วโลกผ่านระบบออนไลน์ทั้งแบบปลีกและส่ง พร้อมทั้งมีโรงงานที่ได้มาตรฐานอุตสาหกรรมเพิ่มขึ้น คุณค่าทางโภชนาการของแมลงมีความโดดเด่นด้วยโปรตีนคุณภาพสูง ไขมันดี เกลือแร่ และวิตามินที่จำเป็นต่อร่างกาย ตามรายงานของ Jongema (2015) พบว่าแมลงที่นิยมนำมาแปรรูปแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ ได้แก่ แมลงในกลุ่มด้วง (Coleoptera) 31%, แมลงในกลุ่มผีเสื้อ (Lepidoptera) 18%, แมลงในกลุ่มผึ้ง ต่อ แตน (Hymenoptera) 14%, และแมลงในกลุ่มแมลงกระชอน จิ้งหรีด ตั๊กแตน (Orthoptera) 13% อย่างไรก็ตาม กลุ่ม Orthoptera เป็นกลุ่มที่สามารถผลิตชีวมวลได้สูงสุดและให้ธาตุอาหารมากที่สุด

ในประเทศไทย ธุรกิจการเลี้ยงและส่งออกผลิตภัณฑ์จากจิ้งหรีดได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากจิ้งหรีดมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว ผลิตได้ปริมาณมาก และมีวงจรชีวิตที่สั้น แต่ยังคงมีข้อจำกัดหลายประการ ได้แก่ การจัดการในโรงเรือนที่ทำได้ยาก เมื่อพบโรคสามารถแพร่กระจายได้รวดเร็วและทำความเสียหายทั้งโรงเรือน มีปริมาณไขมันที่ค่อนข้างสูง และการใช้อาหารสำเร็จรูปที่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ข้อจำกัดเหล่านี้ทำให้เกิดความจำเป็นในการหาทางเลือกใหม่ที่มีศักยภาพสูงกว่า
ตั๊กแตนเป็นแมลงอีกกลุ่มหนึ่งที่มีศักยภาพสูงในการเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือก แต่ยังไม่ได้รับการศึกษาวิจัยและพัฒนาอย่างกว้างขวางในประเทศไทย คุณค่าทางโภชนาการของตั๊กแตนมีความโดดเด่น โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าจิ้งหรีด จากการวิเคราะห์สารอาหารพบว่าตั๊กแตนมีโปรตีนเป็นส่วนประกอบ 57-77%, ไขมันเพียง 4-22%, และยังมีใยอาหาร (Crude fiber) 7-12% ผลการรายงานจากประเทศแมกซิโก อินเดีย และไทย ต่างมีความเห็นตรงกันถึงศักยภาพในการนำตั๊กแตนมาพัฒนาเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพสูง

ข้อได้เปรียบสำคัญของตั๊กแตนเมื่อเปรียบเทียบกับแมลงชนิดอื่น ได้แก่ ความทนทานต่อโรคที่สูงกว่า การจัดการในฟาร์มที่ง่ายกว่า สามารถเลี้ยงด้วยอาหารธรรมชาติและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร มีปริมาณไขมันที่เหมาะสม และให้ปริมาณโปรตีนที่สูง นอกจากนี้ ตั๊กแตนยังมีรสชาติที่ยอมรับได้ง่ายสำหรับผู้บริโภค และมีความหลากหลายทางชีวภาพที่สูง ซึ่งเปิดโอกาสสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย โครงการนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อสร้างมูลค่า เป็นการศึกษาที่ครอบคลุมตั้งแต่การศึกษาชนิดพันธุ์ การพัฒนาเทคโนโลยีการเลี้ยงและผลิตขยายจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (Zero Waste) การพัฒนาเทคนิคการสกัดโปรตีน การสร้างผลิตภัณฑ์ต้นแบบ และการถ่ายทอดองค์ความรู้สู่เกษตรกรและผู้ประกอบการ โครงการนี้เป็นการตั้งต้นงานวิจัยด้านโปรตีนจากตั๊กแตนกินได้ในประเทศไทยอย่างจริงจัง

ผลสำเร็จของโครงการคาดว่าจะส่งผลกระทบเชิงบวกต่อเศรษฐกิจและสังคมไทยในหลายด้าน ได้แก่ การเกิดขึ้นของการลงทุนใหม่ในสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ การสร้างโอกาสการจ้างงานใหม่ การพัฒนารูปแบบธุรกิจนวัตกรรม การสร้างรายได้ที่มั่นคงให้กับเกษตรกร การพัฒนานวัตกรรมการแปรรูปแหล่งโปรตีนใหม่ การสร้างความเข้มแข็งในการแข่งขันในตลาดโลก และการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพอย่างยั่งยืน อย่างไรก็ตาม การศึกษาชนิดของตั๊กแตนเพื่อการบริโภคยังไม่เป็นที่แพร่หลายในประเทศไทย และที่สำคัญคือยังไม่มีระบบฐานข้อมูลที่จัดเก็บข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนอย่างเป็นระบบและครอบคลุม การขาดแคลนข้อมูลพื้นฐานนี้เป็นอุปสรรคสำคัญต่อการพัฒนาอุตสาหกรรมตั๊กแตนกินได้ เนื่องจากเกษตรกร นักวิจัย และผู้ประกอบการไม่สามารถเข้าถึงข้อมูลที่จำเป็นสำหรับการตัดสินใจในการเลือกสายพันธุ์ การจัดการฟาร์ม การพัฒนาผลิตภัณฑ์ และการวางแผนการตลาด

ในยุคดิจิทัลที่การเข้าถึงข้อมูลมีความสำคัญสูงสุด การพัฒนาเทคโนโลยีสารสนเทศเพื่อรองรับการจัดการความรู้กลายเป็นเครื่องมือที่ขาดไม่ได้ แอปพลิเคชันและฐานข้อมูลออนไลน์สามารถช่วยให้ผู้ใช้เข้าถึงข้อมูลได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ และทันสมัย นอกจากนี้ ระบบเหล่านี้ยังสามารถรองรับการวิเคราะห์ข้อมูล การทำนายแนวโน้ม และการสนับสนุนการตัดสินใจทางธุรกิจได้อย่างมีประสิทธิภาพ การสร้างแอปพลิเคชันฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อเพิ่มมูลค่า ใช้ประโยชน์ และอนุรักษ์อย่างยั่งยืน จึงเป็นโครงการที่มีความสำคัญยิ่งต่อการพัฒนาอุตสาหกรรมแมลงกินได้ในประเทศไทย โครงการนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อพัฒนาแอปพลิเคชันฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนที่สามารถเข้าถึงข้อมูลได้ง่ายและมีประสิทธิภาพ รวมถึงการพัฒนากระบวนการจัดเก็บตัวอย่างอ้างอิงและการจัดการฐานข้อมูลที่เป็นไปตามมาตรฐานสากล ระบบฐานข้อมูลที่จะพัฒนาขึ้นจะประกอบด้วยข้อมูลครอบคลุมหลายด้าน ได้แก่ ข้อมูลทางอนุกรมวิธาน (Taxonomic data) ข้อมูลทางนิเวศวิทยาและการกระจายพันธุ์ ข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการ ข้อมูลเทคนิคการเลี้ยงและการจัดการฟาร์ม ข้อมูลผลิตภัณฑ์และการแปรรูป

และข้อมูลตลาดและเศรษฐศาสตร์ ระบบจะได้รับการออกแบบให้สามารถใช้งานผ่านหลายแพลตฟอร์ม ทั้งเว็บไซต์และแอปพลิเคชันบนสมาร์ทโฟน เพื่อให้ผู้ใช้สามารถเข้าถึงได้สะดวกและรวดเร็ว

ความคาดหวังจากโครงการนี้คือการสร้างองค์ความรู้ที่เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาอุตสาหกรรมตั๊กแตนกินได้ในประเทศไทย การเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันของผู้ประกอบการไทยในตลาดโลก การสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับผลิตภัณฑ์เกษตร การลดการพึ่งพาการนำเข้าโปรตีนจากต่างประเทศ และการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทยอย่างยั่งยืน โครงการนี้จะเป็นก้าวสำคัญในการวางรากฐานสำหรับอุตสาหกรรมอาหารแห่งอนาคตของประเทศไทย และเป็นส่วนหนึ่งของการแก้ไขปัญหาความมั่นคงด้านอาหารของโลก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ฐานข้อมูลเบื้องต้น Excel จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
2. ตัวอย่างอ้างอิง Voucher Specimens
3. กระดาษคุณภาพสูง (acid free) เพื่อการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งในระยะยาว
4. อุปกรณ์บันทึกเขตการแพร่กระจายในระดับละเอียด (GPS)
5. Forceps ขนาดเล็ก
6. โปรแกรมเสริมที่ใช้สำหรับการเขียนโปรแกรม

วิธีการ

การเตรียมตัวอย่างแห้งเพื่อจัดเก็บลงฐานข้อมูล (Database acquisition material of dry specimens) (ดำเนินการปี 2565 – 2566)

นำตัวอย่างแมลงที่เก็บได้จะบันทึกเข้าระบบฐานข้อมูลท้องถิ่นหรือฐานข้อมูลเบื้องต้นของพิพิธภัณฑ์ แมลงแต่ละตัวอย่างจะมี รหัสหรือ QR code เฉพาะตัว ซึ่งในแต่ละโค้ดสามารถตรวจสอบไปถึงรายละเอียดของฐานข้อมูล โดยระบุ แหล่งที่เก็บ ชีววิทยา พืชอาหาร และผู้เก็บ รวมถึงข้อมูลการจัดการในพิพิธภัณฑ์ เช่น การวินิจฉัย หีบ กล่องหรือชั้นที่เก็บแมลงตัวอย่างนั้น ลักษณะรหัสโค้ด ที่พิพิธภัณฑ์แมลงใช้ เป็นรหัสสากลซึ่งได้ขึ้นทะเบียนไว้แล้วใน Global Register of Biodiversity Repositories (http://grbio.org/) โดยใช้รหัส EMBT ซึ่งย่อมาจาก Entomology and Zoology Museum, Bangkok, Thailand และทางพิพิธภัณฑ์แมลงได้นำมาปรับปรุงและเพิ่มเป็น EMBT ENT ซึ่งใช้บ่งบอกถึงส่วนของพิพิธภัณฑ์แมลงโดยตรง ทั้งนี้มีตัวเลขแสดงถึงเลขที่ของแมลงตัวอย่าง ซึ่งในแต่ละหมายเลขมีได้ตัวอย่างเดียวเท่านั้น เสมือนกับตัวเลขบาร์โค้ดแสดงสินค้าในห้างสรรพสินค้า และทำการจัดเก็บในฐานข้อมูลท้องถิ่น ซึ่งระบบการจัดเก็บแมลงดังกล่าวนี้สอดคล้องกันกับระบบ Universally Unique Identifier

(UUID) นักวิจัยหรือนักอนุกรมวิธานสามารถใช้รหัสข้อมูลดังกล่าว เป็นข้อมูลอ้างอิงโดยตรงในการตีพิมพ์ผลงานและจดทะเบียนต่อ ZooBank หรือ BigDataในอนาคต

การเตรียมตัวอย่างจากการสกัด ดี เอ็น เอ เพื่อจัดเก็บลงฐานข้อมูล (Database acquisition material of DNA sequencing) (ดำเนินการปี 2566)

การบันทึกข้อมูลการเก็บตัวอย่าง สามารถดำเนินการได้ 2 วิธีการประกอบด้วย

1) การระบุเลขรหัสเพื่อใช้อ้างอิงในห้องปฏิบัติการ (Ref. code) รหัสดังกล่าวเป็น ตัวเลขที่ใช้อ้างอิงเฉพาะในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ เฉพาะผู้ดำเนินการทดลองเท่านั้น

2) การติดตั้งบาร์โค้ดตัวอย่างที่ได้หลังจากการสกัด DNA (Museum voucher ID หรือรหัส QR code) บาร์โค้ดดังกล่าวขึ้นต้นด้วยรหัสของพิพิธภัณฑ์แมลง EMBT ENT ซึ่งตามด้วยรหัสตัวเลขหรือ “BARCODE” ซึ่งแต่ละตัวอย่างมีรหัสตัวเลขที่ไม่ซ้ำกัน และให้บันทึกลายพิมพ์ ดี เอ็น ลงในฐานข้อมูลเบื้องต้น

การเขียนโปรแกรม (Software generating) (ดำเนินการปี 2566)

ดำเนินการเขียนโปรแกรมโดยระบุรายละเอียดที่อยู่บนหน้า website ได้แก่ แผนที่ที่สามารถระบุพิกัดภูมิศาสตร์กำกับ ประวัติทางอนุกรมวิธาน พืชอาหาร แหล่งที่เก็บรักษาตัวอย่าง และ เอกสารวิชาการที่สามารถสืบค้นรายละเอียดของชนิดของตัวอย่าง

การจัดทำแอพพลิเคชั่นบนสมาร์ทโฟน และเวบไซต์ (ดำเนินการปี 2567)

จัดทำโครงร่างแอพลิเคชั่น แบบจำลองชิ้นงาน (Mockups) ออกแบบกราฟฟิกที่ใช้ทั้งบนเวปไซต์และบนสมาร์ทโฟน จัดทำแพลตฟอร์มเพื่อลงฐานข้อมูล backend และ frontend โดยมีระบบแม่ข่าย (Server) ซึ่งจะใช้เป็น Cloud Server โดยระบบจะทำหน้าเก็บข้อมูลเนื้อหาต่างๆ ของ Application เป็นฐานข้อมูลสำหรับเก็บข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ แหล่งที่เก็บตัวอย่างโดยระบุเป็น พิกัดภูมิศาสตร์ ชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาศัย แนวทางการวินิจฉัย ภาพถ่ายและ QR-Code หมายเลขทะเบียนที่ตั้งขึ้น หนึ่งตัวอย่างต่อหนึ่งหมายเลข จัดทำเวบไวด์เพื่อรองรับการเข้าถึงข้อมูลต่างๆ ด้วย ระบบโดเมน ตัวอย่าง : www.domainname.com รองรับการเข้าถึงฐานข้อมูลด้วย ส่วน API (Application Programming Interface หรือ Web Service) ติดตั้งส่วนบริหารจัดการข้อมูล ผ่านระบบ Web Admin Application ดำเนินการจัดทำ application ติดตั้งบน IOS และ Android

การจัดทำแอพพลิเคชั่นบนสมาร์ทโฟน และเวปไซต์ (ดำเนินการปี 2567)

ดำเนินการทดสอบการใช้แอพพลิเคชั่นทั้งในระดับห้องปฏิบัติการคือ การกำหนดบุคคลเป้าหมายเพื่อใช้ประโยชน์ ทดลองการสื่อสารทั้งทางตรงและย้อนกลับ คือการพิมพ์ชื่อศัตรูธรรมชาติในแอพพลิเคชั่น และหน้าจอจะแสดงรายละเอียด แหล่งที่เก็บตัวอย่าง แผนที่ รายละเอียดทางวิชาการ QR-Code และ แหล่งที่ตัวอย่างถูกเก็บรักษา (collection depository) ทดสอบย้อนกลับคือ การนำตัวอย่าง

ที่เก็บรักษาอยู่ในพิพิธภัณฑ์แมลงมาสแกน QR-Code หน้าจอจะแสดงรูปแบบแสดงผลเช่นเดียวกัน ทดสอบภาคสนามโดยการติดตั้งใน App Store และ

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่ ดำเนินการทดลอง ณ พิพิธภัณฑ์แมลง กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

โครงการได้พัฒนา **ฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน** ซึ่งสามารถเข้าถึงได้ผ่านแอปพลิเคชันบนสมาร์ทโฟนและเว็บไซต์ โดยปัจจุบันระบบมีการบันทึกตัวอย่างมากกว่า **1,300 รายการ** พร้อมรายละเอียดเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการ อัตราการเจริญเติบโต และแหล่งที่พบของตั๊กแตนแต่ละสายพันธุ์ จากการทดลองใช้แอปพลิเคชันในกลุ่มเกษตรกร พบว่าการนำระบบฐานข้อมูลเข้ามาช่วยในการบริหารจัดการฟาร์มสามารถ **ลดเวลาการบันทึกข้อมูลลงได้ถึง 50%** และช่วยให้เกษตรกรสามารถติดตามอัตราการเจริญเติบโตของตั๊กแตนได้แม่นยำยิ่งขึ้น โดยมีความคลาดเคลื่อนต่ำกว่า **5%** เมื่อเทียบกับการบันทึกข้อมูลแบบดั้งเดิม

ฟังก์ชันที่พัฒนาเพิ่มเติม ได้แก่ **การสแกน QR Code** เพื่อให้เกษตรกรสามารถตรวจสอบข้อมูลของตั๊กแตนแต่ละรุ่นได้อย่างรวดเร็ว และ **ระบบแจ้งเตือนการให้อาหารและเก็บเกี่ยว** ที่ช่วยให้สามารถบริหารจัดการฟาร์มได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ส่งผลให้ผลผลิตโดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้น **15-20%** ภายในช่วงระยะเวลา 6 เดือนของการทดลองใช้งาน

จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าการพัฒนาฐานข้อมูลและแอปพลิเคชันสามารถช่วยให้การจัดการฟาร์มตั๊กแตนเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ลดต้นทุนการดำเนินงาน และเพิ่มผลผลิตได้อย่างเป็นรูปธรรม ซึ่งเป็นเครื่องมือสำคัญที่ช่วยขยายศักยภาพของอุตสาหกรรมโปรตีนจากแมลงในอนาคต โครงการได้พัฒนา **ระบบฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน** ที่สามารถเข้าถึงได้ผ่านแอปพลิเคชันบนสมาร์ทโฟนและเว็บไซต์ ปัจจุบันฐานข้อมูลมีตัวอย่างมากกว่า **1,300 รายการ** พร้อมรายละเอียดเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการของตั๊กแตนแต่ละสายพันธุ์ ระบบนี้ช่วยให้เกษตรกรและนักวิจัยสามารถติดตามข้อมูล ต้นทุนการผลิต และแนวโน้มตลาดได้แบบเรียลไทม์ ซึ่งเป็นเครื่องมือสำคัญในการบริหารจัดการฟาร์มและพัฒนาอุตสาหกรรมแมลงกินได้ในประเทศไทย

การพัฒนาฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนในการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีสารสนเทศในการยกระดับอุตสาหกรรมโปรตีนทางเลือก ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า การจัดการข้อมูลอย่างเป็นระบบสามารถนำไปสู่การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและ

การลดต้นทุนการดำเนินงานได้อย่างมีนัยสำคัญ ความสำเร็จของระบบนี้ไม่เพียงแต่สะท้อนถึงความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี แต่ยังเป็นการวางรากฐานสำคัญสำหรับการพัฒนาอุตสาหกรรมแมลงกินได้ในประเทศไทยให้มีความทันสมัยและสามารถแข่งขันได้ในตลาดโลก การมีฐานข้อมูลที่ครอบคลุมและเข้าถึงได้ง่ายจะเป็นเครื่องมือสำคัญในการส่งเสริมการวิจัยและพัฒนา การถ่ายทอดเทคโนโลยี และการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับผลิตภัณฑ์จากตั๊กแตนในอนาคต

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลสำคัญที่ได้จากการศึกษาได้แก่ประสิทธิภาพในการจัดการข้อมูล: ระบบฐานข้อมูลที่พัฒนาขึ้นสามารถลดเวลาการบันทึกข้อมูลลง 50% และเพิ่มความแม่นยำในการติดตามการเจริญเติบโตของตั๊กแตนให้มีความคลาดเคลื่อนต่ำกว่า 5% การเพิ่มผลผลิตเกษตรกรที่ใช้ระบบมีผลผลิตเพิ่มขึ้น 15-20% ภายในระยะเวลา 6 เดือน ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มรายได้และลดต้นทุนการผลิต การพัฒนา นวัตกรรมฟีเจอร์ QR Code scanning และระบบแจ้งเตือนอัตโนมัติช่วยยกระดับการจัดการฟาร์มให้เป็นระบบที่ทันสมัยและแม่นยำ การสร้างฐานข้อมูลครอบคลุม มีข้อมูลตั๊กแตนกว่า 1,300 รายการ ที่สามารถเป็นแหล่งอ้างอิงสำคัญสำหรับการวิจัยและพัฒนาในอนาคต คำแนะนำสำหรับการศึกษาต่อไป การพัฒนาระยะสั้น (1-2 ปี) ได้แก่การขยายฐานข้อมูล: เพิ่มข้อมูลสายพันธุ์ตั๊กแตนในภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปรับปรุงระบบแจ้งเตือน: พัฒนาอัลกอริทึม machine learning เพื่อทำนายโรคและศัตรูพืชในตั๊กแตนได้แม่นยำยิ่งขึ้น การบูรณาการข้อมูลโดยการเชื่อมโยงกับฐานข้อมูลสภาพอากาศและตลาดเพื่อให้คำแนะนำที่ครอบคลุมมากขึ้น การพัฒนาระยะกลาง (2-5 ปี)ได้แก่ การวิจัยเชิงลึก: ศึกษาผลกระทบของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อคุณภาพโปรตีนและสารอาหารในตั๊กแตน การพัฒนาตลาด: สร้างระบบติดตามห่วงโซ่อุปทาน (traceability system) เพื่อเพิ่มความเชื่อมั่นของผู้บริโภค การถ่ายทอดเทคโนโลยี: จัดทำโปรแกรมฝึกอบรมและพัฒนาบุคลากรในอุตสาหกรรมแมลงกินได้ การพัฒนาระยะยาว (5-10 ปี) ได้แก่การวิจัยพันธุกรรมศึกษา genomics ของตั๊กแตนเพื่อปรับปรุงพันธุ์ให้มีคุณภาพและผลผลิตสูงขึ้น การขยายสู่ระดับอุตสาหกรรมพัฒนามาตรฐานสากลและระบบรับรองคุณภาพสำหรับผลิตภัณฑ์จากตั๊กแตน การส่งออกเทคโนโลยี: ขยายการใช้ระบบไปยังประเทศในภูมิภาคเพื่อสร้างเครือข่ายความร่วมมือทางวิชาการ ข้อเสนอแนะเชิงนโยบายประกอบด้วย การสนับสนุนจากภาครัฐ: ควรมีนโยบายส่งเสริมการใช้เทคโนโลยีดิจิทัลในการเกษตรและการสนับสนุนทางการเงินสำหรับเกษตรกรรายย่อย การพัฒนาโครงสร้างพื้นฐาน: ปรับปรุงโครงข่ายอินเทอร์เน็ตในพื้นที่ชนบทเพื่อให้เกษตรกรเข้าถึงระบบได้อย่างสะดวก การสร้างมาตรฐาน: จัดทำมาตรฐานการผลิตและการจัดการคุณภาพสำหรับอุตสาหกรรมแมลงกินได้ บทสรุป การศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีสารสนเทศในการยกระดับอุตสาหกรรมตั๊กแตนให้มีประสิทธิภาพและความยั่งยืน ระบบฐานข้อมูลที่พัฒนาขึ้นไม่เพียงแต่

ช่วยเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุน แต่ยังเป็นการสร้างรากฐานสำคัญสำหรับการพัฒนาอุตสาหกรรมโปรตีนทางเลือกในประเทศไทย ความสำเร็จของโครงการนี้จึงเป็นต้นแบบที่มีศักยภาพในการขยายผลไปยังอุตสาหกรรมแมลงกินได้ชนิดอื่น ๆ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในบริบทสากลได้

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยย่อยเรื่อง "นวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน (Orthoptera) เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม ขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ" ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565-2567

การทดลองนี้ไม่สามารถเสร็จลุล่วงไปได้หากขาดความร่วมมือของหลายหน่วยงานที่ให้ความช่วยเหลือ ให้ความร่วมมือทั้งในการค้นคว้าความรู้ การดำเนินงาน ให้ข้อคิดเห็น และให้ข้อมูลในการดำเนินงานจนประสบผลสำเร็จซึ่งหน่วยงานเหล่านี้ประกอบด้วย สาขาวิจัยและพัฒนาการเกษตร ภาควิชากีฏวิทยา ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดนครปฐม

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริม วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่จัดสรรงบประมาณเพื่อสนับสนุนโครงการวิจัยย่อยครั้งนี้ และ คณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิและผู้เชี่ยวชาญทุกท่าน ที่ได้เสียสละเวลาในการให้ข้อเสนอแนะ ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ และแนวทางปรับปรุงแก้ไข จนสามารถดำเนินงานได้ตามวัตถุประสงค์

ขอขอบคุณ นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ ผู้ทรงคุณวุฒิด้านอารักขาพืช และที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตร ด้านอนุรักษ์และเทคโนโลยี ซึ่งให้คำแนะนำที่มีคุณค่าและการสนับสนุนทางวิชาการอย่างเต็มที่ตลอดการดำเนินงาน

ขอขอบคุณผู้อำนวยการแผน และทีมนักวิจัยทุกท่านซึ่งไม่อาจกล่าวนามได้หมด ที่ช่วยประสานงาน รวบรวม และจัดทำสรุปผลการทดลองของนักวิจัย ภายในโครงการวิจัยย่อย

ขอขอบคุณสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช บุคคลากรกองแผนงานและวิชาการ และกรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความร่วมมือและให้การสนับสนุนงานวิจัย ทั้งครุภัณฑ์ทางด้านวิทยาศาสตร์ และสาธารณูปโภคตลอดในการ ดำเนินการวิจัยจนลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Allen, L., D. Benoist, O. Dary, and R. Hurrell. 2010. Guidelines on food fortification with micronutrients. WHO/FAO 341 pp.

Belluco, S., C. Losasso, M. Maggioletti, C. C. Alonzi, M. G. Paoletti, and A. RicciEdible. 2013. Insects in a food safety and nutritional perspective: a critical review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 12: 296 – 312.

European Food Safety Authority : EFSA. 2015. Insects as food and feed: what are the risks? Annual Accounts European Food Safety Authority. Available at: https://www.efsa. europa.eun/en/press/ news/151008a.

FAO. 2021. Looking at edible insects from a food safety perspective. Challenges and opportunities for the sector. Rome. https://doi.org/10.4060/cb4094en.

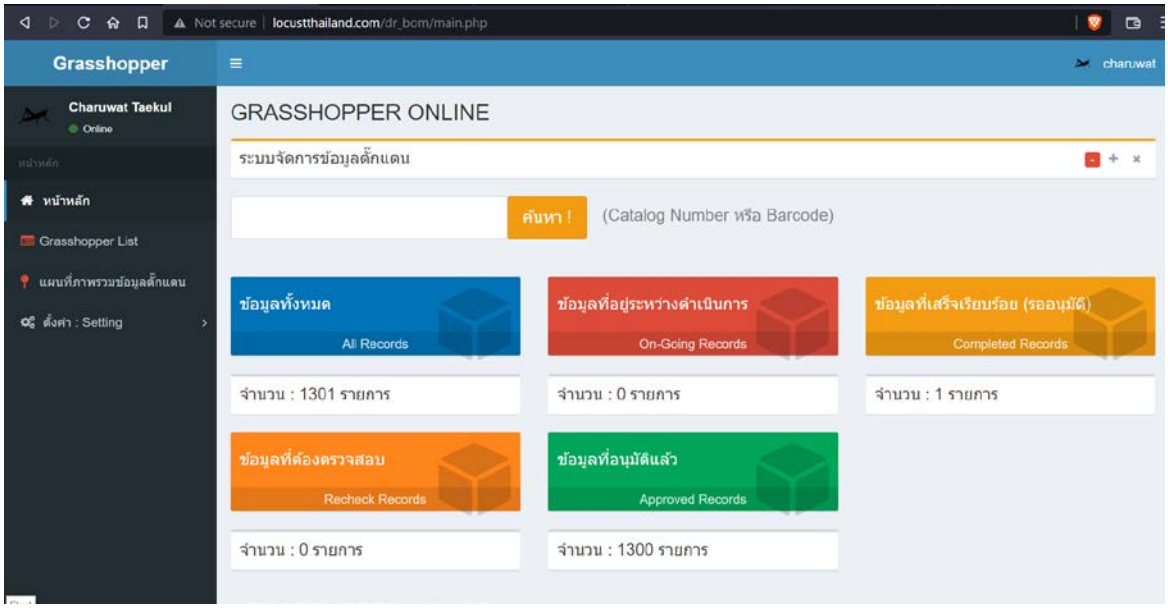
Hemery, Y. M., L. Fontan, A. Laillou, V. Jallier, R. Moench-Pfanner, S. Avallone, and J. Berger. 2020. Influence of storage conditions and packaging of fortified wheat flour on microbial load and stability of folate and vitamin B12. Food Chemistry: X. 5: doi.org/10.1016/j.fochx.2019.100076.

Jongema, Y., 2015. List of edible insects of the world. Wageningen UR, Wageningen, the Netherlands. Available at: http://tinyurl.com/mestm6p.

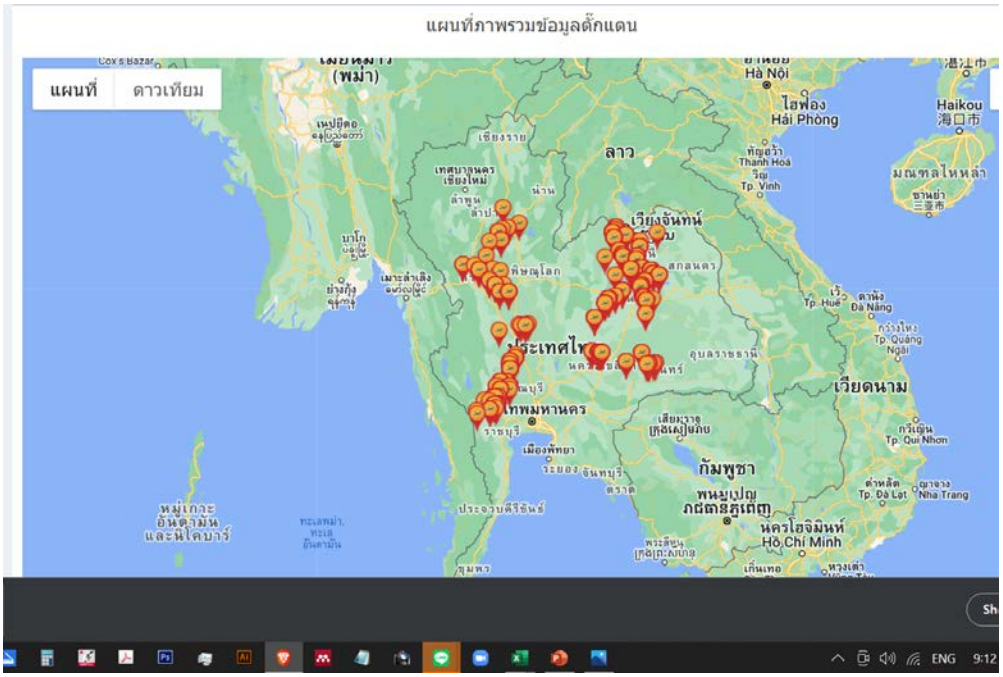
Kinyuru J.N., G. M. Kenji, S. N. Muhoho, and M. Ayieko. 2011. Nutritional potential of longhorn grasshopper (Ruspolia differens) consumed in Siaya district, Kenya. Journal of Agriculture Science and Technology. 12: 32 – 46.

Msangi, S. and M. W. Rosegrant. 2011. Feeding the future's changing diets: implication for agriculture markets, nutrition and policy. pp. 65 – 71. *In*: Fan S., Pandya-Lorch R. (Eds), Reshaping Agriculture for Nutrition and Health. International Food Policy Research Institute, Washington DC, USA.

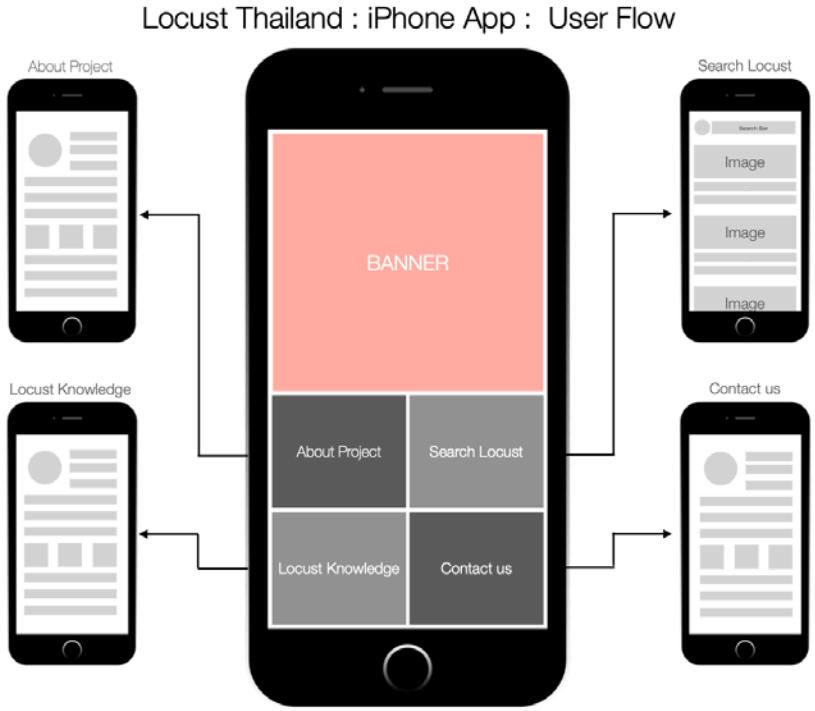
ภาพที่ 1 การติดตั้งคิวอาร์โค้ดในตัวอย่างตั๊กแตน และการจัดการฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพ



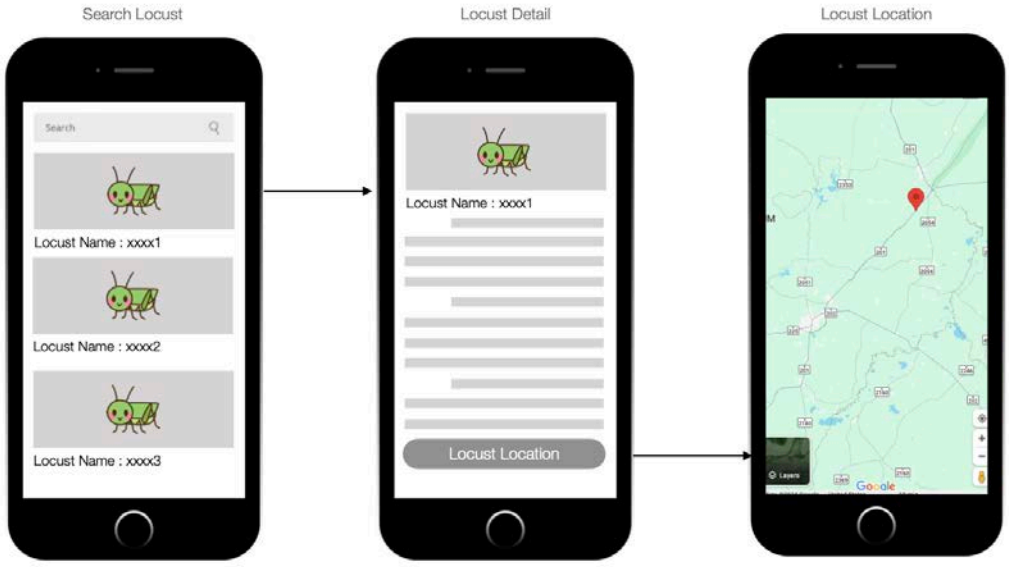
ภาพที่ 2 การใส่ชุดฐานข้อมูลบนเว็บไซต์จากตัวอย่าง ตั๊กแตนในพิพิธภัณฑ์แมลง



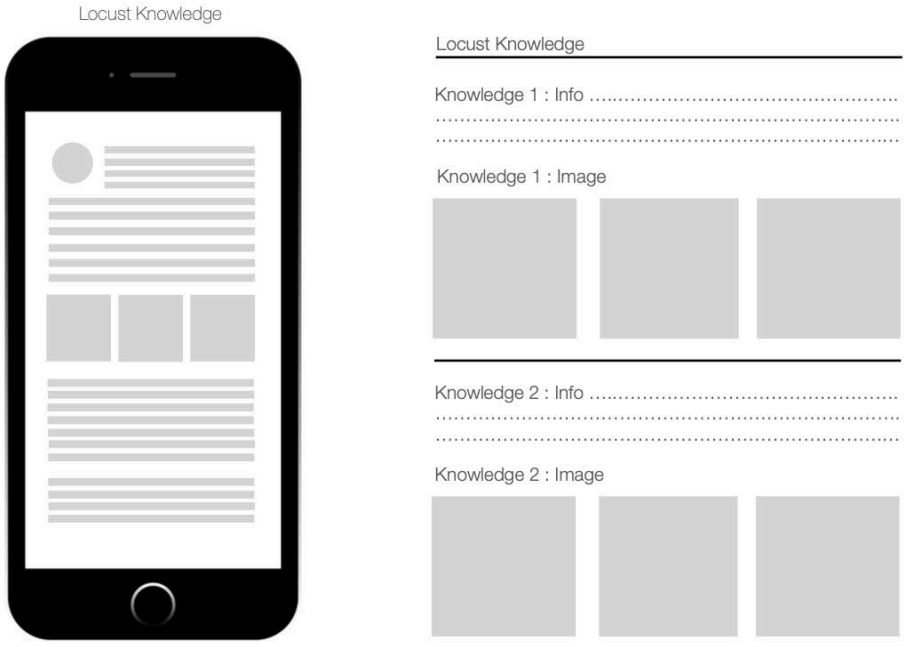
ภาพที่ 3 การเชื่อมต่อระหว่าง ชุดฐานข้อมูล และแหล่งที่เก็บตัวอย่างจริงภายในประเทศ



ภาพที่ 4 การออกแบบ Font End รูปแบบของแอพพลิเคชั่นเพื่อเชื่อมต่อกับระบบฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน



ภาพที่ 5 การออกแบบ Font End รูปแบบโครงร่างเพื่อเชื่อมต่อกับฐานข้อมูล



ภาพที่ 6 โครงร่างและองค์ประกอบรายละเอียดของตั๊กแตนแต่ละชนิด

พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius)

Artificial Diet for Mass Rearing Lady Beetle, *Micarpis discolor* (Fabricius)

ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ นันทนัช พินศรี ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ สาทิพย์ มาลี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การพัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่าสีส้ม *Micarpis discolor* (Fabricius) ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2567 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสูตรอาหารเทียมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของด้วงเต่าสีส้ม *Micarpis discolor* (Fabricius) เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยเพลี้ยอ่อน ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช การเตรียมอาหารเทียมสูตรต่างๆ ได้อัตราส่วนที่เหมาะสม คือ โปรตีน 50 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร ผงวุ้น 6 กรัม ยีสต์ 4 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร โดยใช้โปรตีนจากผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน โปรตีนหางนม ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่ว จิ้งหรีดอบแห้ง ดักแด้หนอนไหม เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยเพลี้ยอ่อนผักกาด พบว่าวงจรชีวิตของด้วงเต่าสีส้มจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมสูตรดักแด้หนอนไหมมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยมีระยะไข่ 3.35±0.48 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.26±0.44 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 4.05±0.76 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 5.26±0.71 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 5.42±0.75 วัน ระยะดักแด้ 4.21±0.61 วัน ตัวเต็มวัยอายุ 42.26±6.61 วัน ตัวเต็มวัยมีอายุสั้นกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยเพลี้ยอ่อนผักกาดซึ่งมีระยะไข่ 3.50±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.58±0.49 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 4.21±0.77 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 5.74±0.71 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 5.79±0.61 วัน ระยะดักแด้ 4.26±0.44 วัน ตัวเต็มวัยอายุ 64.58±5.77 วัน ส่วนอาหารเทียมสูตรอื่นๆ พบว่าอาหารเทียมสูตรเคซีนโปรตีน และโปรตีนหางนม ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 3 และ 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตรผงไข่ขาว ผงไข่แดง โปรตีนถั่ว และจิ้งหรีดอบแห้ง ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตรผงถั่วเหลืองด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ การศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อตัวเต็มวัยด้วงเต่าสีส้ม *M. Discolor* หลังเคลือบสารแล้ว 1 3 5 7 และ 14 วัน พบว่าสารคลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ลูเฟนนูรอน 5%EC และบูโพรเฟซิน 40%SC จัดเป็นสารที่ไม่มีพิษต่อตัวเต็มวัยของด้วงเต่าสีส้ม

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-01-65

สารโทลเฟนไพเรด 16%EC เดลทาเมทริน 3%EC สไปนีโทแรม 12%SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC มีพิษปานกลางและมีพิษน้อยเมื่อเคลือบสารไว้นานขึ้น สารฟิโปรนิล 5%SC EC มีพิษปานกลาง และจัดเป็นสารที่ไม่มีพิษเมื่อเคลือบสารไว้ 14 วัน อินด็อกซาคาร์บ 15%SC จัดเป็นสารที่มีพิษร้ายแรง และมีพิษปานกลางถึงมีพิษน้อยเมื่อเคลือบสารไว้ 14 วัน สารอีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC จัดเป็นสารที่มีพิษปานกลางถึงพิษร้ายแรง ส่วนสารไดโนทีฟลูแรน 10%WP จัดเป็นสารที่มีพิษร้ายแรงต่อตัวเต็มวัยด้วงเต่าสีส้ม

คำหลัก : ด้วงเต่าสีส้ม, ตัวห้ำ, การควบคุมโดยชีววิธี, อาหารเทียม

คำนำ

ด้วงเต่าเป็นแมลงปีกแข็งในอันดับ Coleoptera วงศ์ Coccinellidae ชื่อสามัญ Lady beetle ทั่วโลกพบด้วงเต่า 490 สกุล 4,200 ชนิด (Sasaji, 1971) ในประเทศไทยพบด้วงเต่า 36 สกุล 75 ชนิด (Chunram and Sasaji, 1980) สมหมาย (2545) ได้รวบรวมด้วงเต่าจำนวน 133 ชนิด พบว่าเป็นด้วงเต่าตัวห้ำ 112 ชนิด และเป็นด้วงเต่าศัตรูพืช 21 ชนิด ด้วงเต่าตัวห้ำสามารถทำลายศัตรูพืชได้หลายชนิด ได้แก่ ไข่ของผีเสื้อ เพลี้ยแป้ง หนอนขนาดเล็ก เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย แมลงหวี่ขาว เพลี้ยจักจั่น เป็นต้น (กุศล, 2550) นอกจากกินแมลงศัตรูพืชเป็นอาหารแล้วเมื่ออยู่ในสภาวะขาดแคลนอาหารด้วงเต่าตัวห้ำสามารถกินน้ำหวานที่แมลงกลั่นออกมา (honeydew) จากดอกไม้และเกสรเพื่อดำรงชีวิตอยู่ได้ ด้วงเต่าตัวห้ำสามารถกินแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด แต่หากจะให้มีการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้ดีนั้น จะต้องได้กินแมลงศัตรูพืชที่เหมาะสมเป็นอาหาร นอกจากความชอบอาหารที่แตกต่างกันแล้วยังมีปัจจัยอีกหลายอย่างที่มีผลกระทบต่อชนิดอาหารที่กินแตกต่างกัน เช่น การมีอยู่ของเหยื่ออาหารชนิดอื่นในบริเวณเดียวกัน หรือการมีอยู่ร่วมกันของเหยื่ออาหารและพืชอาหารที่ด้วงเต่าสามารถกินได้ในกรณีที่เป็นพวก omnivorous (Harmon *et al*., 2000) รจนาและคณะ (2553) สำรวจและเก็บรวบรวมด้วงเต่าตัวห้ำจากแปลงมันสำปะหลังที่พบการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ได้มากกว่า 12 ชนิด ชนิดที่พบมากที่สุด ได้แก่ ด้วงเต่าลายหยัก *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) รองลงมา ได้แก่ *Micarpis discolor* (Fabricius), *Brumoides suturalis* (Fabricius), *Scymnus rectoides* Sasaji, *Nephus ryuguus* (H.Kamiya) และ *Coccinella transversalis* Fabricius เป็นต้น ชนิดอื่นๆ ที่พบ ได้แก่ ด้วงเต่า *N. ryuguus*, *B. suturalis* และ *S. rectoides* ด้วงเต่าตัวห้ำที่พบในประเทศไทย หลายชนิดมีแนวโน้มที่สามารถจะนำมาเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการได้ เช่น ด้วงเต่าลายกินเพลี้ยแป้ง *Cryptolaemus, Scymnus* และ *Nephus* ด้วงเต่าลายกินเพลี้ยหอย *Chilocorus* ด้วงเต่าลายกินเพลี้ยอ่อน *Coccinella*, *Coelophora*, *Menochilus* และ *Micraspis* การสำรวจและศึกษาประสิทธิภาพการเลี้ยงขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณด้วงเต่าตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพสูง ก่อนนำไปปล่อยเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช จะเป็นการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีอีกวิธีการหนึ่งที่ช่วยให้เกิดความปลอดภัยในการบริโภคของมนุษย์

ด้วงเต่าสีส้ม เป็นศัตรูธรรมชาติที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งที่สามารถกินแมลงศัตรูพืชได้ทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการโดยใช้แมลงศัตรูพืชเป็นอาหารทำให้มีข้อจำกัดเนื่องจากต้องเพาะเลี้ยงแมลงอาหารควบคู่ไปด้วย การใช้อาหารเทียมในการเพาะเลี้ยงด้วงเต่าสีส้มจะช่วยให้เกิดความสะดวก สามารถผลิตขยายเพิ่มปริมาณได้มากขึ้น จะเป็นการช่วยส่งเสริมการใช้ศัตรูธรรมชาติในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เมื่อสามารถผลิตได้ในปริมาณที่เพียงพอและต่อเนื่อง จะส่งผลให้การนำไปใช้มีประสิทธิภาพ สามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชให้อยู่ในระดับที่ไม่ส่งผลเสียหายทางเศรษฐกิจ ควบคุมประชากรแมลงศัตรูพืชให้อยู่ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ หรือสามารถผลิตขยายเพื่อปล่อยได้ทันทีที่พบการระบาด ไม่มีผลตกค้างในพืชผักที่ผลิต ส่งผลต่อการยอมรับวิธีการควบคุมโดยชีววิธีโดยใช้แมลงตัวห้ำจากเกษตรกร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ ถุงพลาสติก ปากคีบ ตะกร้า กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 19x28x11 เซนติเมตร กล้องบันทึกภาพ

2. อุปกรณ์เพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ ได้แก่ กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 22x15x5 เซนติเมตร ถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ ปากคีบ น้ำผึ้ง น้ำกลั่น พู่กัน

3. อุปกรณ์ทำอาหารเทียม ได้แก่ เครื่องปั่นอาหาร กระทะไฟฟ้า บีกเกอร์ ตาชั่ง กระบอกตวง เข็มฉีดยา ผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน โปรตีนหางนม ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่ว จิ้งหรีดอบแห้ง ดักแด้หนอนไหม เพลี้ยอ่อนถั่ว น้ำผึ้ง ฟอร์มาลีน วิตามิน ผงวุ้น ยีสต์

4. สารป้องกันกำจัดแมลง ได้แก่ โทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC เดลทาเมทริน 3%EC ไดโนทีฟลูแรน 10%WP ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ฟิโปรนิล 5%SC อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC ลูเฟนนูรอน 5%EC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC สไปนีโทแรม 12%SC บูโพรเฟซิน 40%SC คลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC และสารจับใบ

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 เก็บรวบรวมด้วงเต่าสีส้ม *M. discolor* (Fabricius) จากแปลงเกษตรกร และเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่าสีส้มในห้องปฏิบัติการ (2565)

1.1 เก็บรวบรวมด้วงเต่าสีส้ม จากแปลงเกษตรกร ได้แก่ นนทบุรี ปทุมธานี อยุธยา ลพบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี และกาญจนบุรี ในพืชต่างๆ เช่น พริก มะเขือ ข้าวโพด มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

1.2 นำตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียมาเพาะเลี้ยงรวมกันในกล่องเลี้ยงพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 19x28x11 เซนติเมตร รองด้วยกระดาษทิชชู กล่องละ 1 คู่ เจาะรูระบายอากาศด้านบน ใส่ต้นอ่อนทานตะวันเป็นที่หลบซ่อนและวางไข่ ให้ไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นอาหาร มุมกล่องใส่สำลีชุบน้ำในถ้วยพลาสติกเล็ก 1 ก้อน เพื่อให้ความชื้นภายในกล่องเลี้ยง

1.3 เมื่อตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ จึงแยกไข่ไปเพาะเลี้ยงในกล่องเลี้ยงพลาสติกมีฝาปิดขนาด 5.5x2.7x3.7 เซนติเมตร ให้ผีเสื้อข้าวสาร เพลี้ยอ่อน และน้ำผึ้งเป็นอาหาร เพาะเลี้ยงจนครบวงจรชีวิต และได้ปริมาณมาก

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

- บันทึกข้อมูล จำนวนด้วงเต่าสีส้มที่เก็บได้ วันที่เก็บ สถานที่เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลจำนวนด้วงเต่าสีส้มที่เพาะเลี้ยง

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาและทดสอบสูตรและชนิดของอาหารที่สามารถเพาะเลี้ยงด้วงเต่าสีส้ม *M. discolor* (Fabricius) ได้ครบวงจรชีวิต (2565-2566)

2.1 ศึกษาข้อมูลสูตรอาหารเทียมต่างๆ เพื่อนำมาพัฒนาและปรับปรุงสูตรอาหารเทียมและคัดเลือกอาหารเทียมที่มีส่วนผสมชนิดต่างๆ โดยดัดแปลงจากสูตรของ Tan *et al*., 2014 วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 9 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 อาหารเทียมสูตรผงไข่ขาว
กรรมวิธีที่ 2 อาหารเทียมสูตรผงไข่แดง
กรรมวิธีที่ 3 อาหารเทียมสูตรเคซีนโปรตีน
กรรมวิธีที่ 4 อาหารเทียมสูตรโปรตีนหางนม
กรรมวิธีที่ 5 อาหารเทียมสูตรผงถั่วเหลือง
กรรมวิธีที่ 6 อาหารเทียมสูตรโปรตีนถั่ว
กรรมวิธีที่ 7 อาหารเทียมสูตรจิ้งหรีดอบแห้ง
กรรมวิธีที่ 8 อาหารเทียมสูตรดักแด้หนอนไหม
กรรมวิธีที่ 9 เพลี้ยอ่อนถั่ว (Control)

2.2 นำโปรตีนชนิดต่างๆ มาทำอาหารเทียม โดยเคี่ยววุ้นแล้วนำไปปั่นผสมกับโปรตีนชนิดต่างๆ ผสมกับวิตามินซี ยีสต์ น้ำตาลกลูโคส ฟอร์มาลีน และน้ำกลั่น เมื่อผสมเข้ากันดีแล้วนำไปเทใส่กล่องพลาสติกขนาด 16x11x4 เซนติเมตร ให้อาหารสูงประมาณ 1 เซนติเมตร ทิ้งให้เย็นและคงรูป

2.3 นำอาหารเทียมที่ได้ไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่าให้ครบวงจรชีวิต โดยนำด้วงเต่าสีส้มระยะตัวอ่อนวัย 1 ถึงระยะตัวเต็มวัย วัยละ 20 ตัว มาเลี้ยงในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ รองด้วยกระดาษทิชชู ใส่ต้นอ่อนทานตะวันสำหรับเป็นที่อาศัย ให้อาหารเทียมสูตรต่างๆ บันทึกข้อมูลการกินอาหารทุกวัน จนกระทั่งด้วงเต่าสีส้มเจริญครบวงจรชีวิต หรือตาย นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

-บันทึกข้อมูลการกินอาหารเทียมและการเจริญเติบโตของด้วงเต่าสีส้ม
-การเจริญเติบโตของด้วงเต่าสีส้มที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 3 การศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อด้วงเต่าสีส้ม *M. discolor*

3.1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มีทั้งหมด 4 ซ้ำ 13 กรรมวิธี ดังนี้

1. โทลเฟนไพเรด 16%EC	อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
2. คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC	อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
3. เดลทาเมทริน 3%EC	อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
4. ไดโนทีฟลูแรน 10%WP	อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
5. ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG	อัตรา 6 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
6. ฟิโปรนิล 5%SC	อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
7. อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC	อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
8. ลูเฟนนูรอน 5%EC	อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
9. อินด็อกซาคาร์บ 15%SC	อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
10. สไปนีโทแรม 12%SC	อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
11. บูโพรเฟซิน 40%SC	อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
12. คลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC	อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
13. กรรมวิธีควบคุม	

3.2 เก็บด้วงเต่าสีส้มจากแปลงข้าวโพด แปลงผักของเกษตรกรในจังหวัดลพบุรี นครปฐม และกาญจนบุรี มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยให้ใบหม่อน ต้นอ่อนทานตะวันเป็นที่อยู่อาศัยและวางไข่ และให้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร น้ำผึ้งผสมยีสต์เป็นอาหาร เมื่อได้ด้วงเต่าปริมาณมากนำตัวเต็มวัยด้วงเต่าสีส้มไปศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง

3.3 เตรียมสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชตามกรรมวิธีต่างๆ ทำการทดสอบแบบ dry film method โดยเคลือบสารป้องกันกำจัดแมลงแต่ละชนิดปริมาณ 0.3 มิลลิลิตรต่อถ้วย ในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ ภายในพื้นผิวด้านในทั้งหมด ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง ทิ้งไว้ 0 1 3 5 7 และ 14 วัน

3.4 ใส่เพลี้ยอ่อน น้ำผึ้ง และด้วงเต่าลงในถ้วยพลาสติกตามข้อ 2 ถ้วยละ 3 ตัว ปิดฝา จำนวนสารละ 5 ถ้วย

3.5 ตรวจนับจำนวนด้วงเต่าที่ตายที่ 24 48 72 96 และ 120 ชั่วโมง วิเคราะห์ข้อมูลโดยจัดระดับความเป็นพิษของ ICBC ตามกรรมวิธีของ Hassan (1994)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

ตรวจนับจำนวนด้วงเต่าที่ตายหลังการทดสอบที่ 24 48 72 96 และ 120 ชั่วโมง จัดระดับความเป็นพิษของสารฯ ตามวิธีการจัดลำดับความเป็นพิษของ IOBC ดังนี้

ไม่มีพิษ (Harmless) มีเปอร์เซ็นต์การตาย < 30%

มีพิษน้อย (Slightly Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 30-79%

มีพิษปานกลาง (Moderately Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 80-99%

มีพิษร้ายแรง (Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย > 99%

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตรวจนับจำนวนด้วงเต่าที่ตาย มาวิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564-กันยายน 2567

สถานที่ ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกรในเขตภาคกลาง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงด้วงเต่าสีส้มที่เก็บจากแปลงข้าวโพดของเกษตรกรในจังหวัดนครปฐม และกาญจนบุรี ในห้องปฏิบัติการ โดยให้ใบหม่อน ต้นอ่อนทานตะวันเป็นที่อยู่อาศัยและวางไข่ และให้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร น้ำผึ้งผสมยีสต์เป็นอาหาร เมื่อได้ด้วงเต่าปริมาณมากนำไปศึกษาวงจรชีวิตโดยเพาะเลี้ยงด้วยเพลี้ยอ่อนผักกาดเปรียบเทียบกับอาหารเทียมสูตรต่างๆ การเตรียมอาหารเทียมโดยใช้ผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน โปรตีนหางนม ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่ว จิ้งหรีด ดักแด้หนอนไหม โดยโปรตีนที่อยู่ในรูปผงสำเร็จรูปสามารถนำมาทำอาหารเทียมได้โดยตรง ยกเว้นโปรตีนจากจิ้งหรีดและดักแด้หนอนไหมต้องนำไปปั่นละเอียดก่อนนำมาทำอาหารเทียม โดยปริมาณส่วนผสมต่างๆ ที่ใส่ในอาหารเทียมได้มีการปรับเปลี่ยนเพื่อให้อาหารเทียมมีความเหมาะสม เช่น ปรับปริมาณน้ำให้เพิ่มขึ้นเนื่องจากการเคี่ยววุ้นทำให้น้ำระเหยไปในปริมาณมากจำเป็นต้องเพิ่มปริมาณน้ำ ปรับปริมาณฟอร์มาลีนเนื่องจากเกิดปัญหาอาหารเทียมเน่าเสียจากแบคทีเรีย และเก็บรักษาได้ในระยะเวลาสั้นๆ โดยสังเกตุการเน่าเสียของอาหารเทียมซึ่งควรเก็บในตู้เย็นได้นาน 4-6 สัปดาห์ จึงเพิ่มปริมาณฟอร์มาลีน ผงวุ้นมีการปรับเพิ่มปริมาณเพื่อให้อาหารเทียมมีการคงตัวมากขึ้น การใช้น้ำผึ้งทดแทนการใช้น้ำตาลเพื่อให้อาหารเทียมมีอายุการเก็บรักษานานขึ้น และเมื่อได้สูตรอาหารเทียมที่เหมาะสมคือ โปรตีน 50 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร ผงวุ้น 6 กรัม ยีสต์ 4 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร จึงปั่นผสมอาหารเทียมตามสูตรต่างๆ และนำไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่าสีส้ม *M. discolor* เพื่อศึกษาวงจรชีวิต

วงจรชีวิตของด้วงเต่าสีส้มจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมสูตร**ผงไข่ขาว**ระยะไข่ 3.35±0.48 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.50±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 4.25±0.54 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 3.67±1.76 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**ผงไข่แดง**ระยะไข่ 3.45±0.45 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.45±0.59 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 4.35±0.73 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 3.46±1.95 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**เคซีนโปรตีน**ระยะไข่ 3.40±0.49 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.50±0.59 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 4.41±2.43 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 3 และ 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**โปรตีนหางนม**ระยะไข่ 3.35±0.48 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.60±0.49 วัน ตัว

อ่อนวัย 2 อายุ 2.12±1.32 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 3 และ 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**ผงถั่วเหลือง**ระยะไข่ 3.40±0.49 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.55±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 5.00±0.71 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 4.67±1.81 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 6.00±2.16 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**โปรตีนถั่ว**ระยะไข่ 3.40±0.49 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 4.15±0.57 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 5.00±0.77 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 3.73±1.21 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**จิ้งหรีดอบแห้ง**ระยะไข่ 3.35±0.48 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.50±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 5.10±0.99 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 3.90±1.76 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**ดักแด้หนอนไหม**ระยะไข่ 3.35±0.48 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.26±0.44 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 4.05±0.76 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 5.26±0.71 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 5.42±0.75 วัน ระยะดักแด้ 4.21±0.61 วัน ตัวเต็มวัยอายุ 42.26±6.61 วัน การเพาะเลี้ยงด้วย**เพลี้ยอ่อนผักกาด**ระยะไข่ 3.50±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.58±0.49 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 4.21±0.77 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 5.74±0.71 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 5.79±0.61 วัน ระยะดักแด้ 4.26±0.44 วัน ตัวเต็มวัยอายุ 64.58±5.77 วัน อาหารเทียมสูตรดักแด้หนอนไหมสามารถนำไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่าสีส้มให้ครบวงจรชีวิตได้ แต่ตัวเต็มวัยมีอายุสั้นกว่าการเพาะลี้ยงด้วยเพลี้ยอ่อนผักกาด

การศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงต่อด้วงเต่าสีส้ม *M. discolor* โดยคัดเลือกสารเคมีที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในแปลงปลูกพืชผักจำนวน 12 ชนิด ได้แก่ โทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC เดลทาเมทริน 3%EC ไดโนทีฟลูแรน 10%WP ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ฟิโปรนิล 5%SC อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC ลูเฟนนูรอน 5%EC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC สไปนีโทแรม 12%SC บูโพรเฟซิน 40%SC คลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC หลังจากเคลือบสารตามอัตราที่กำหนดแล้วปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งและใส่ตัวเต็มวัยด้วงเต่าสีส้ม เมื่อทำการตรวจเช็คหลังเคลือบสารที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่า**หลังเคลือบสาร 1 วัน** สารคลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ลูเฟนนูรอน 5%EC และบูโพรเฟซิน 40%SC จัดเป็นสารที่ไม่มีพิษ สารเดลทาเมทริน 3%EC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC มีพิษน้อย สารโทลเฟนไพเรด 16% สารฟิโปรนิล 5%SC EC สารอีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC และสไปนีโทแรม 12%SC มีพิษปานกลาง ส่วนสารไดโนทีฟลูแรน 10%WP และอินด็อกซาคาร์บ 15%SC จัดเป็นสารที่มีพิษร้ายแรงต่อตัวเต็มวัยของด้วงเต่าสีส้ม **หลังเคลือบสาร 3 วัน** สารคลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ลูเฟนนูรอน 5%EC และบูโพรเฟซิน 40%SC จัดเป็นสารที่ไม่มีพิษ สารฟิโปรนิล 5%SC EC และสไปนีโทแรม 12%SC มีพิษน้อย สารโทลเฟนไพเรด 16% เดลทาเมทริน 3%EC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC มีพิษปานกลาง ส่วนสารไดโนทีฟลูแรน 10%WP และอีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC จัดเป็นสารที่มีพิษร้ายแรงต่อตัวเต็มวัยของด้วงเต่าสีส้ม **หลังเคลือบสาร 5 วัน** สารคลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ลูเฟนนูรอน 5%EC และบูโพรเฟซิน 40%SC จัดเป็นสารที่ไม่มีพิษ สารเดลทาเมทริน 3%EC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC จัดเป็นสารที่ไม่

มีพิษ สารโทลเฟนไพเรด 16% สารฟิโปรนิล 5%SC EC และสไปนีโทแรม 12%SC มีพิษน้อย สารเดลทาเมทริน 3%EC และอินด็อกซาคาร์บ 15%SC มีพิษปานกลาง ส่วนสารไดโนทีฟลูแรน 10%WP และอีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC จัดเป็นสารที่มีพิษร้ายแรงต่อตัวเต็มวัยของด้วงเต่าสีส้ม **หลังเคลือบสาร 7 วัน** สารคลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ลูเฟนนูรอน 5%EC และบูโพรเฟซิน 40%SC จัดเป็นสารที่ไม่มีพิษ สารโทลเฟนไพเรด 16% เดลทาเมทริน 3%EC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC มีพิษน้อย สารฟิโปรนิล 5%SC EC อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC และสไปนีโทแรม 12%SC มีพิษปานกลาง ส่วนสารไดโนทีฟลูแรน 10%WP จัดเป็นสารที่มีพิษร้ายแรงต่อตัวเต็มวัยของด้วงเต่าสีส้ม **หลังเคลือบสาร 14 วัน** สารคลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ฟิโปรนิล 5%SC EC ลูเฟนนูรอน 5%EC และบูโพรเฟซิน 40%SC จัดเป็นสารที่ไม่มีพิษ สารโทลเฟนไพเรด 16% เดลทาเมทริน 3%EC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC สไปนีโทแรม 12%SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC มีพิษน้อย ส่วนสารไดโนทีฟลูแรน 10%WP และอีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC จัดเป็นสารที่มีพิษร้ายแรงต่อตัวเต็มวัยของด้วงเต่าสีส้ม

จากผลการศึกษาพบว่าสารในกลุ่ม 28 เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มไดอะไมด์ ได้แก่ สารคลอแรนทรานิลิโพรล และฟลูเบนไดอะไมด์ สารในกลุ่ม 15 เป็นสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งการทำสร้างไคตินได้แก่ สารลูเฟนนูรอน และสารในกลุ่ม 16 เป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการลอกคราบ ได้แก่สารบูโพรเฟซิน จัดเป็นสารที่ไม่มีพิษต่อตัวเต็มวัยด้วงเต่าสีส้ม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ด้วงเต่าสีส้ม *M. discolor* (Fabricius) สามารถเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมากในห้องปฏิบัติการได้ โดยใช้เพลี้ยอ่อน และน้ำผึ้งเป็นอาหาร การเตรียมอาหารเทียมสูตรต่างๆ มีอัตราส่วนที่เหมาะสม คือ โปรตีน 50 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร ผงวุ้น 6 กรัม ยีสต์ 4 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร โดยสามารถใช้โปรตีนจากผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่ว จิ้งหรีดอบแห้ง ดักแด้หนอนไหม ยกเว้นโปรตีนหางนมซึ่งเกิดการเสียสภาพและไม่จับตัวเป็นก้อนอาหาร วงจรชีวิตของด้วงเต่าสีส้มจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมสูตรดักแด้หนอนไหมมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยมีระยะไข่ 3.35±0.48 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.26±0.44 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 4.05±0.76 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 5.26±0.71 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 5.42±0.75 วัน ระยะดักแด้ 4.21±0.61 วัน ตัวเต็มวัยอายุ 42.26±6.61 วัน ตัวเต็มวัยมีอายุสั้นกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยเพลี้ยอ่อนผักกาดซึ่งมีระยะไข่ 3.50±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.58±0.49 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 4.21±0.77 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 5.74±0.71 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 5.79±0.61 วัน ระยะดักแด้ 4.26±0.44 วัน ตัวเต็มวัยอายุ 64.58±5.77 วัน ส่วนอาหารเทียมสูตรอื่นๆ สามารถเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวอ่อนวัย 1 2 และ 3 เท่านั้น ด้วงเต่าไม่สามารถเข้าดักแด้ หรือเป็นตัวเต็มวัยได้

การศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อด้วงเต่าสีส้ม *M. discolor* โดยทดสอบพิษของสารป้องกันกำจัดแมลงจำนวน 12 ชนิด ได้แก่ โทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนท

รานิลิโพรล 5.17%SC เดลทาเมทริน 3%EC ไดโนทีฟลูแรน 10%WP ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ฟิโปรนิล 5%SC อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC ลูเฟนนูรอน 5%EC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC สไปนีโทแรม 12%SC บูโพรเฟซิน 40%SC คลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC หลังจากเคลือบสารตามอัตราที่กำหนด แล้วปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งพบว่า คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ลูเฟนนูรอน 5%EC และบูโพรเฟซิน 40%SC จัดเป็นสารที่**ไม่มีพิษ**ต่อด้วงเต่าสีส้ม เดลทาเมทริน 3%EC **มีพิษน้อย** ฟิโปรนิล 5%SC EC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC สไปนีโทแรม 12%SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC **มีพิษปานกลาง** ส่วนโทลเฟนไพเรด 16%EC ไดโนทีฟลูแรน 10%WP และอีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC **มีพิษร้ายแรง**ต่อตัวเต็มวัยด้วงเต่าสีส้ม

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนางสาววิภาวดี เครือวงศ์ นางสาวกษมา นามแดง นางสาวโสภา สนแย้ม และเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กุศล ถมมา. 2550. ด้วงเต่าลายในสวนพริก. นสพ.กสิกร 80(2): 64-65.

พิมลพร นันทะ. 2545. ศัตรูธรรมชาติ หัวใจของ IPM. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 215 หน้า.

รจนา ไวยเจริญ อัมพร วิโนทัย และประภัสสร เชยคำแหง. 2553. ศึกษาพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 735-750.

สมหมาย ชื่นราม. 2545. ด้วงเต่าในประเทศไทย. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 211 หน้า.

Chunram, S., H. Sasaji. 1980. A contribution to the Coccinellidae (Coleoptera) of Thailand. Oriental Insects. 14(4): 473-491.

Harmon, J.P., A.R. Ives, J.E. Losey, A.C. Olson and K.S. Rauwald. 2000. *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae) predation on pea aphids promoted by proximity to dandelions. Oecologia 125(4): 543-548.

Roongfar, R. 1980. Study on the coccinellid, *Menochilus sexmaculata* (F.) (Coleoptera: Coccinellidae), and its roles as biological control agents. M.S. Thesis. Kasetsart University. 749 p.

SASAJI, H. 1971. Fauna Japonica, Coccinellidae (Insecta: Coleoptera). Academic Press of Japan, Tokyo, Japan. 340 pp.

Soybean powder

Whey protein

Pupa of silk worm

Cricket

Yeast

Figure 1 Ingredient for artificial diet

Figure 2 Artificial diet

Figure 3 Mass rearing *Micraspis discolor* (Fabricius) with artificial diet

Figure 4 Larvae of *Micraspis discolor* (Fabricius) with artificial diet

Figure 5 Adult of *Micraspis discolor* (Fabricius) with artificial diet

Figure 6 Insecticide test with adult of *Micraspis discolor* (Fabricius)

Table 1 Life cycle of *Micraspis discolor* (Fabricius) mass on artificial diet of white egg powder in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.35±0.48	3-4
1st Larva	3.50±0.50	3-4
2nd Larva	4.25±0.54	3-5
3rd Larva	3.67±1.76	1-7
4th Larva	-	-
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 2 Life cycle of *Micraspis discolor* (Fabricius) mass on artificial diet of egg yolk powder in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.45±0.50	3-4
1st Larva	3.45±0.59	3-5
2nd Larva	4.35±0.73	3-5
3rd Larva	3.46±1.95	1-7
4th Larva	-	-
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 3 Life cycle of *Micraspis discolor* (Fabricius) mass on artificial diet of casein in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.40±0.49	3-4
1st Larva	3.50±0.59	3-5
2nd Larva	4.41±2.43	1-7
3rd Larva	-	-
4th Larva	-	-
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 4 Life cycle of *Micraspis discolor* (Fabricius) mass on artificial diet of whey protein in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.35±0.48	3-4
1st Larva	3.60±0.49	3-4
2nd Larva	2.12±1.32	1-4
3rd Larva	-	-
4th Larva	-	-
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 5 Life cycle of *Micraspis discolor* (Fabricius) mass on artificial diet of pupa of soybean powder in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.40±0.49	3-4
1st Larva	3.55±0.50	3-4
2nd Larva	5.00±0.71	5-7
3rd Larva	4.67±1.81	1-6
4th Larva	6.00±2.16	3-8
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 6 Life cycle of *Micraspis discolor* (Fabricius) mass on artificial diet of soy protein in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.40±0.49	3-4
1st Larva	4.15±0.57	3-5
2nd Larva	5.00±0.77	3-7
3rd Larva	3.73±1.21	2-5
4th Larva	-	-
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 7 Life cycle of *Micraspis discolor* (Fabricius) mass on artificial diet of cricket in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.35±0.48	3-4
1st Larva	3.50±0.50	3-4
2nd Larva	5.10±0.99	3-7
3rd Larva	3.90±1.76	2-7
4th Larva	-	-
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 8 Life cycle of *Micraspis discolor* (Fabricius) mass on artificial diet of pupa of silk worm in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.35±0.48	3-4
1st Larva	3.26±0.44	3-4
2nd Larva	4.05±0.76	3-5
3rd Larva	5.26±0.71	4-7
4th Larva	5.42±0.75	4-7
Pupa	4.21±0.61	3-5
Adult	42.26±6.61	32-54

Table 9 Life cycle of *Micraspis discolor* (Fabricius) mass on aphids and egg of rice moth in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.50±0.50	3-4
1st Larva	3.58±0.49	3-4
2nd Larva	4.21±0.77	3-5
3rd Larva	5.74±0.71	5-7
4th Larva	5.79±0.61	5-7
Pupa	4.26±0.44	4-5
Adult	64.58±5.77	53-73

Table 10 Percent mortality of adult stages of *Micraspis discolor* (Fabricius) at 120 hours after 0 day exposure to each of insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	% mortality[1/] (days)	IOBC category[2/]
1. Tolfenpyred 16%EC	100 c	4
2. Chlorantraniliprole 5.17%SC	0 a	1
3. Deltamethrin 3%EC	73.33 b	2
4. Dinotefuron 10%WP	100 c	4
5. Flubendiamide 20%WG	6.67 a	1
6. Fipronyl 5%SC	86.67 bc	3
7. Emamectin benzoate 1.92%EC	100 c	4
8. Lufenuron 5%EC	0 a	1
9. Indoxacarb 15%SC	93.33 c	3
10. Spinetoram 12%SC	93.33 c	3
11. Buprofezin 40%SC	6.67 a	1
12. Chlorfenapy 10%SC	86.67 bc	3
13. Control	0 a	1

[1/] means in the same column followed by the different characters are significantly different ($p<0.05$) by DMRT

[2/] 1=harmless (<30%), 2=slightly harmful (30-79%), 3=moderately harmful (80-99%), 4=harmful (>99%) Hassan *et al*. (1994)

Table 11 Percent mortality of adult stages of *Micraspis discolor* (Fabricius) at 120 hours after 1 3 5 7 and 14 days exposure to each of insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	% mortality[1/] (days)				
	1	3	5	7	14
1. Tolfenpyred 16%EC	93.33 d	80 bc	60 bc	53.33 bc	40 bc
2. Chlorantraniliprole 5.17%SC	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
3. Deltamethrin 3%EC	66.67bc	80 bc	80 cd	60 bcd	66.67 cd
4. Dinotefuron 10%WP	100 d	100 c	100 d	100 e	100 d
5. Flubendiamide 20%WG	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
6. Fipronyl 5%SC	80 bcd	60 b	40 b	80 cde	13.33 ab
7. Emamectin benzoate 1.92%EC	93.33 d	100 c	100 d	93.33 de	100 d
8. Lufenuron 5%EC	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
9. Indoxacarb 15%SC	100 d	93.33 c	80 cd	86.67 cde	73.33 d
10. Spinetoram 12%SC	86.67 cd	73.33 bc	66.67 bcd	80 cde	66.67 cd
11. Buprofezin 40%SC	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
12. Chlorfenapy 10%SC	60 b	80 bc	66.67 bcd	33.33 ab	33.33 ab
13. Control	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a

[1/] means in the same column followed by the different characters are significantly different ($p<0.05$) by DMRT

Table 12 IOBC category of adult stages of *Micraspis discolor* (Fabricius) at 120 hours after 1 3 5 7 and 14 days exposure to each of insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	IOBC category[1/]				
	1	3	5	7	14
1. Tolfenpyred 16%EC	3	3	2	2	2
2. Chlorantraniliprole 5.17%SC	1	1	1	1	1
3. Deltamethrin 3%EC	2	3	3	2	2
4. Dinotefuron 10%WP	4	4	4	4	4
5. Flubendiamide 20%WG	1	1	1	1	1
6. Fipronyl 5%SC	3	2	2	3	1
7. Emamectin benzoate 1.92%EC	3	4	4	3	4
8. Lufenuron 5%EC	1	1	1	1	1
9. Indoxacarb 15%SC	4	3	3	3	2
10. Spinetoram 12%SC	3	2	2	3	2
11. Buprofezin 40%SC	1	1	1	1	1
12. Chlorfenapy 10%SC	2	3	2	2	2
13. Control	1	1	1	1	1

[1/]1=harmless (<30%), 2=slightly harmful (30-79%), 3=moderately harmful (80-99%), 4=harmful (>99%) Hassan *et al*. (1994)

พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่าลายหยัก *Coccinella transversalis* Fabricius

Artificial Diet for Mass Rearing Lady Beetle, *Coccinella transversalis* Fabricius

ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ นันทนัช พินศรี ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ สาทิพย์ มาลี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การพัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่า *Coccinella transversalis* Fabricius ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2567 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสูตรอาหารเทียมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของด้วงเต่า *C. transversalis* เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยเพลี้ยอ่อน ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช การเตรียมอาหารเทียมสูตรต่างๆ ที่อัตราส่วนโปรตีน 50 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร ผงวุ้น 6 กรัม ยีสต์ 4 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร โดยใช้โปรตีนจากผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่ว โปรตีนหางนม จิ้งหรีดอบแห้ง และดักแด้หนอนไหม วงจรชีวิตของด้วงเต่าที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมสูตรโปรตีนหางนม ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 2 3 และ 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตรผงไข่แดง เคซีนโปรตีน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 3 และ 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตรผงไข่ขาว โปรตีนถั่ว จิ้งหรีดอบแห้ง ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตรผงถั่วเหลือง และดักแด้หนอนไหม ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ เมื่อปรับสูตรอาหารเทียมเป็นดักแด้หนอนไหม 50 กรัม + ผงถั่วเหลือง 50 กรัม ผสมกับผงวุ้น 6 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร ยีสต์ 4 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร และน้ำ 300 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* พบว่าระยะไข่ 3.45±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 2.95±0.74 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 3.90±0.77 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 3.35±0.79 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 3.75±0.89 วัน ระยะดักแด้อายุ 4.05±0.74 วัน ตัวเต็มวัยอายุ 24.10±5.80 วัน ซึ่งสามารถเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* ได้ครบวงจรชีวิตแต่อายุแต่ตัวเต็มวัยมีอายุสั้นกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยเพลี้ยอ่อนผักกาด

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-02-65

การศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อตัวอ่อนวัย 3 ของด้วงเต่า *C. transversalis* จำนวน 12 ชนิด หลังจากเคลือบสารตามอัตราที่กำหนดและใส่ด้วงเต่าที่เวลา 1 3 5 7 และ 14 วัน พบว่าโทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC และเดลทาเมทริน 3%EC มีพิษน้อยในวันที่ 1 และจัดเป็นสารที่ไม่มีพิษต่อตัวอ่อนวัย 3 ของด้วงเต่า *C. transversalis* Fabricius ในวันที่ 3 5 7 และ 14สารสไปนีโทแรม 12%SC มีพิษน้อยในวันที่ 1 และ 3 และไม่มีพิษในวันที่ 5 7 และ 14 สารฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC มีพิษปานกลาง ในวันที่ 1 และมีพิษน้อยในวันที่ 3 5 7 และ 14 สารลูเฟนนูรอน 5%EC จัดเป็นสารพี่มีพิษน้อย-ปานกลาง สารบูโพรเฟซิน 40%SC จัดเป็นสารที่มีพิษปานกลาง ส่วนสารไดโนทีฟลูแรน 10%WP ฟิโปรนิล 5%SC EC อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC จัดเป็นสารที่มีพิษร้ายแรงและมีพิษปานกลางถึงมีพิษน้อยเมื่อเคลือบสารทิ้งไว้นานขึ้น

คำหลัก : ด้วงเต่า *Coccinella transversalis* Fabricius ตัวห้ำ อาหารเทียม การควบคุมโดยชีววิธี

คำนำ

ด้วงเต่าเป็นแมลงปีกแข็งในอันดับ Coleoptera วงศ์ Coccinellidae ชื่อสามัญ Lady beetle ทั่วโลกมีด้วงเต่า 4,200 ชนิด 490 สกุล (Sasaji, 1971) ในประเทศไทยพบด้วงเต่า 75 ชนิด 36 สกุล (Chunram and Sasaji, 1980) สมหมาย (2545) ได้รวบรวมด้วงเต่าจำนวน 133 ชนิด เป็นด้วงเต่าตัวห้ำ 112 ชนิด และเป็นด้วงเต่าศัตรูพืช 21 ชนิด ด้วงเต่าตัวห้ำสามารถทำลายศัตรูพืชได้หลายชนิด ได้แก่ ไข่ของผีเสื้อ เพลี้ยแป้ง หนอนขนาดเล็ก เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย แมลงหวี่ขาว เพลี้ยจักจั่น เป็นต้น (กุศล, 2550) นอกจากกินแมลงศัตรูพืชเป็นอาหารแล้วเมื่ออยู่ในสภาวะขาดแคลนอาหารด้วงเต่าตัวห้ำสามารถกินน้ำหวานที่แมลงกลั่นออกมา (honeydew) จากดอกไม้และเกสรเพื่อดำรงชีวิต รจนาและคณะ (2553) สำรวจและเก็บรวบรวมด้วงเต่าตัวห้ำจากแปลงมันสำปะหลังที่พบการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ได้มากกว่า 12 ชนิด ชนิดที่พบมากที่สุด ได้แก่ ด้วงเต่า *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) รองลงมา ได้แก่ *Micarpis discolor* (Fabricius), *Brumoides suturalis* (Fabricius), *Scymnus rectoides* Sasaji, *Nephus ryuguus* (H.Kamiya) และ *Cocciniella transversalis* Fabricius เป็นต้น ชนิดอื่นๆ ที่พบ ได้แก่ ด้วงเต่า *N. ryuguus*, *B. suturalis* และ *S. rectoides* ด้วงเต่าตัวห้ำที่พบในประเทศไทย หลายชนิดมีแนวโน้มที่สามารถจะนำมาเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการได้ เช่น ด้วงเต่าลายกินเพลี้ยแป้ง *Cryptolaemus, Scymnus* และ *Nephus* ด้วงเต่าลายกินเพลี้ยหอย *Chilocorus* ด้วงเต่าลายกินเพลี้ยอ่อน *Coccinella*, *Coelophora*, *Menochilus* และ *Micraspis* การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่าในห้องปฏิบัติการโดยใช้แมลงศัตรูพืชเป็นอาหารทำให้มีข้อจำกัดเนื่องจากต้องเพาะเลี้ยงแมลงอาหารควบคู่ไปด้วย การใช้อาหารเทียมในการเพาะเลี้ยงจะช่วยให้เกิดความสะดวก สามารถผลิตขยายเพิ่ม

ปริมาณได้มากขึ้น เมื่อสามารถผลิตได้ในปริมาณที่เพียงพอและต่อเนื่อง จะส่งผลให้สามารถนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ ถุงพลาสติก ตะกร้า กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 19x28x11 เซนติเมตร กล้องบันทึกภาพ

2. อุปกรณ์เพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* ได้แก่ กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 22x15x5 เซนติเมตร ถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ ปากคีบ น้ำผึ้ง น้ำกลั่น พู่กัน ไข่ผีเสื้อข้าวสาร

3. อุปกรณ์ทำอาหารเทียม ได้แก่ เครื่องปั่นอาหาร กระทะไฟฟ้า บีกเกอร์ ตาชั่ง กระบอกตวง เข็มฉีดยา ผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน โปรตีนหางนม ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่ว จิ้งหรีดอบแห้ง ดักแด้หนอนไหม เพลี้ยอ่อนผักกาด น้ำผึ้ง ฟอร์มาลีน วิตามิน ผงวุ้น ยีสต์

4. สารป้องกันกำจัดแมลง ได้แก่ โทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC เดลทาเมทริน 3%EC ไดโนทีฟลูแรน 10%WP ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ฟิโปรนิล 5%SC อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC ลูเฟนนูรอน 5%EC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC สไปนีโทแรม 12%SC บูโพรเฟซิน 40%SC คลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC และสารจับใบ

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 เก็บรวบรวมด้วงเต่า *C. transversalis* Fabricius จากแปลงเกษตรกร และเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ (2565)

1.1 เก็บรวบรวมด้วงเต่าจากแปลงเกษตรกร ได้แก่ นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี และกาญจนบุรี ในพืชต่างๆ เช่น พริก มะเขือ ข้าวโพด มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

1.2 นำตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียมาเพาะเลี้ยงรวมกันในกล่องเลี้ยงพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 19x28x11 เซนติเมตร รองด้วยกระดาษทิชชู กล่องละ 1 คู่ เจาะรูระบายอากาศด้านบน ใส่ต้นอ่อนทานตะวันเป็นที่หลบซ่อนและวางไข่ ให้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร และเพลี้ยอ่อนเป็นอาหาร ใส่สำลีชุบน้ำ 1 ก้อน เพื่อให้ความชื้นภายในกล่องเลี้ยง

1.3 เมื่อตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ จึงแยกไข่ไปเพาะเลี้ยงในกล่องเลี้ยงพลาสติกมีฝาปิดขนาด 5.5x2.7x3.7 เซนติเมตร ให้ผีเสื้อข้าวสาร เพลี้ยอ่อน และน้ำผึ้งเป็นอาหาร เพาะเลี้ยงจนครบวงจรชีวิต และได้ปริมาณมาก

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

- บันทึกข้อมูล จำนวนด้วงเต่า *C. transversalis* ที่เก็บได้ วันที่เก็บ สถานที่เก็บตัวอย่าง

- บันทึกข้อมูลจำนวนด้วงเต่า *C. transversalis* ที่เพาะเลี้ยง

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาและทดสอบสูตรและชนิดของอาหารที่สามารถเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* Fabricius ได้ครบวงจรชีวิต (2565-2566)

2.1 ศึกษาข้อมูลสูตรอาหารเทียมต่างๆ เพื่อนำมาพัฒนาและปรับปรุงสูตรอาหารเทียมและคัดเลือกอาหารเทียมที่มีส่วนผสมชนิดต่างๆ โดยดัดแปลงจากสูตรของ Tan *et al*., 2014 วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 9 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 อาหารเทียมสูตรผงไข่ขาว

กรรมวิธีที่ 2 อาหารเทียมสูตรผงไข่แดง

กรรมวิธีที่ 3 อาหารเทียมสูตรเคซีนโปรตีน

กรรมวิธีที่ 4 อาหารเทียมสูตรโปรตีนหางนม

กรรมวิธีที่ 5 อาหารเทียมสูตรผงถั่วเหลือง

กรรมวิธีที่ 6 อาหารเทียมสูตรโปรตีนถั่ว

กรรมวิธีที่ 7 อาหารเทียมสูตรจิ้งหรีดอบแห้ง

กรรมวิธีที่ 8 อาหารเทียมสูตรดักแด้หนอนไหม

กรรมวิธีที่ 9 เพลี้ยอ่อนผักกาด (Control)

2.2 ทำอาหารเทียม โดยเคี่ยววุ้นกับน้ำสะอาดแล้วนำไปปั่นผสมกับโปรตีนชนิดต่างๆ วิตามินซี ยีสต์ น้ำตาลกลูโคส และฟอร์มาลีน เมื่อผสมเข้ากันดีแล้ว นำไปเทใส่กล่องพลาสติกใส่อาหารขนาด 16x11x4 เซนติเมตร ให้สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ทิ้งให้เย็นและคงรูป

2.3 นำอาหารเทียมที่ได้ไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่าให้ครบวงจรชีวิต โดยนำด้วงเต่า *C. transversalis* ระยะตัวอ่อนวัย 1 ถึงระยะตัวเต็มวัย วัยละ 30 ตัว มาเลี้ยงในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ ใส่ต้นอ่อนทานตะวันสำหรับเป็นที่อาศัย ให้อาหารเทียมสูตรต่างๆ บันทึกข้อมูลการกินอาหารทุกวัน จนกระทั่งด้วงเต่า *C. transversalis* เจริญครบวงจรชีวิต หรือตาย นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

-บันทึกข้อมูลการกินอาหารเทียมและการเจริญเติบโตของด้วงเต่า *C. transversalis*

-การเจริญเติบโตของด้วงเต่า *C. transversalis* ที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 3 การศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อด้วงเต่า *C. transversalis*

3.1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มีทั้งหมด 4 ซ้ำ 13 กรรมวิธี ดังนี้

1.	โทลเฟนไพเรด 16%EC	อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
2.	คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC	อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
3.	เดลทาเมทริน 3%EC	อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

4. ไดโนทีฟลูแรน 10%WP	อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
5. ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG	อัตรา 6 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
6. ฟิโปรนิล 5%SC	อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
7. อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC	อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
8. ลูเฟนนูรอน 5%EC	อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
9. อินด็อกซาคาร์บ 15%SC	อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
10. สไปนีโทแรม 12%SC	อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
11. บูโพรเฟซิน 40%SC	อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
12. คลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC	อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
13. กรรมวิธีควบคุม	

3.2 เก็บด้วงเต่า *C. transversalis* จากแปลงเผือก ผักกาดขาว ในแปลงเกษตรกรในจังหวัดนครปฐม และกาญจนบุรี นำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยให้ใบหม่อนเป็นที่อยู่อาศัยและวางไข่ และให้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร และน้ำผึ้งผสมยีสต์เป็นอาหาร เมื่อได้ด้วงเต่าวัย 3 ปริมาณมากเพื่อนำไปศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง

3.3 เตรียมสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชตามกรรมวิธีต่างๆ ทำการทดสอบแบบ dry film method โดยเคลือบสารป้องกันกำจัดแมลงแต่ละชนิดปริมาณ 0.3 มิลลิลิตรต่อถ้วย ในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ ภายในพื้นผิวด้านในทั้งหมด ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง ทิ้งไว้ 0 1 3 5 7 และ 14 วัน

3.4 ใส่เพลี้ยอ่อน น้ำผึ้ง และด้วงเต่าลงในถ้วยพลาสติกตามข้อ 2 ถ้วยละ 1 ตัว ปิดฝา

3.5 ตรวจนับจำนวนด้วงเต่าที่ตายที่ 24 48 72 96 และ 120 ชั่วโมง วิเคราะห์ข้อมูลโดยจัดระดับความเป็นพิษของ ICBC ตามกรรมวิธีของ Hassan (1994)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

ตรวจนับจำนวนด้วงเต่าที่ตายหลังการทดสอบที่ 24 48 72 96 และ 120 ชั่วโมง

จัดระดับความเป็นพิษของสารฯ ตามวิธีการจัดลำดับความเป็นพิษของ IOBC ดังนี้

ไม่มีพิษ (Harmless) มีเปอร์เซ็นต์การตาย < 30%

มีพิษน้อย (Slightly Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 30-79%

มีพิษปานกลาง (Moderately Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 80-99%

มีพิษร้ายแรง (Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย > 99%

<u>การวิเคราะห์ทางสถิติ</u>

ตรวจนับจำนวนด้วงเต่าที่ตาย มาวิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564-กันยายน 2567

สถานที่ ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกรในเขตภาคกลาง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากเก็บด้วงเต่า *C. transversalis* จากแปลงเผือกในจังหวัดกาญจนบุรี นำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยให้ต้นอ่อนทานตะวัน และกกตุ้มหู (*Rhynchospora colorata* (L.) H.Pfeiff.) เป็นที่อยู่อาศัยและวางไข่ ให้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร และน้ำผึ้งผสมยีสต์เป็นอาหารเมื่อได้ด้วงเต่าปริมาณมาก นำไปศึกษาวงจรชีวิตโดยเพาะเลี้ยงด้วยเพลี้ยอ่อนผักกาดเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมจำนวน 8 สูตร ได้แก่ ผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน โปรตีนหางนม ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่ว จิ้งหรีด ดักแด้หนอนไหม จำนวน 50 กรัม ปั่นผสมกับผงวุ้น 6 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร ยีสต์ 4 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร และน้ำ 250 มิลลิลิตร เมื่อนำอาหารเทียมสูตรต่างๆ ไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* เพื่อศึกษาวงจรชีวิต พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมสูตร**ผงไข่ขาว**ระยะไข่ 3.55±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 2.75±0.70 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 3.50±0.81 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 2.89±0.99 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**ผงไข่แดง**ระยะไข่ 3.45±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 2.85±0.73 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 3.90±0.83 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 3 และ 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**เคซีนโปรตีน**ระยะไข่ 3.50±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.20±0.68 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 3.91±1.16 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 3 และ 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**โปรตีนหางนม**ระยะไข่ 3.35±0.48 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.05±0.67 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 2 3 และ 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**ผงถั่วเหลือง**ระยะไข่ 3.50±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.05±0.74 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 3.55±0.74 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 3.36±1.15 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 3.43±1.29 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**โปรตีนถั่ว**ระยะไข่ 3.35±0.48 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 2.85±0.65 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 3.55±0.97 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 3.63±1.11 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**จิ้งหรีดอบแห้ง**ระยะไข่ 3.40±0.49 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.500±0.71 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 3.80±0.98 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 3.58±1.26 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนวัย 4 ดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ อาหารเทียมสูตร**ดักแด้หนอนไหม**ระยะไข่ 3.30±0.46 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 3.10±0.70 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 3.30±0.71 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 3.35±0.73 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 3.44±1.06 วัน ด้วงเต่าไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นดักแด้ และตัวเต็มวัยได้ การเพาะเลี้ยงด้วย**เพลี้ยอ่อนผักกาด**ระยะไข่ 3.50±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 2.68±0.46 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 3.16±0.67 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 2.37±0.48 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 3.16±0.59 วัน ระยะดักแด้อายุ 3.58±0.59 วัน ตัวเต็มวัยอายุ 33.21±4.74 วัน

การเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* ด้วยอาหารเทียมสูตรต่างๆ จำนวน 8 สูตรพบว่าไม่มีอาหารเทียมสูตรใดที่สามารถเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* ได้ครบวงจรชีวิต จึงปรับสูตรอาหารเทียมเป็นดักแด้หนอนไหม 50 กรัม + ผงถั่วเหลือง 50 กรัม ปั่นผสมกับผงวุ้น 6 กรัม วิตามินรวม 2

มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร ยีสต์ 4 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร และน้ำ 300 มิลลิลิตร เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* เพื่อศึกษาวงจรชีวิตพบว่าระยะไข่ 3.45±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 2.95±0.74 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 3.90±0.77 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 3.35±0.79 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 3.75±0.89 วัน ระยะดักแด้อายุ 4.05±0.74 วัน ตัวเต็มวัยอายุ 24.10±5.80 วัน ซึ่งสามารถเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* ได้ครบวงจรชีวิตแต่อายุแต่ตัวเต็มวัยมีอายุสั้นกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยเพลี้ยอ่อนผักกาด การเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* ในห้องปฏิบัติการจึงควรเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมสูตรดักแด้หนอนไหม + ผงถั่วเหลือง และให้เพลี้ยอ่อนและไข่ผีเสื้อข้าวสารร่วมด้วยเพื่อให้ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยสมบูรณ์และมีอายุยืนยาวขึ้น

การศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อตัวอ่อนวัย 3 ของด้วงเต่า *C. transversalis* โดยคัดเลือกสารเคมีที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในแปลงปลูกพืชผักจำนวน 12 ชนิด ได้แก่ โทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC เดลทาเมทริน 3%EC ไดโนทีฟลูแรน 10%WP ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ฟิโปรนิล 5%SC อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC ลูเฟนนูรอน 5%EC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC สไปนีโทแรม 12%SC บูโพรเฟซิน 40%SC คลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC หลังจากเคลือบสารตามอัตราที่กำหนดแล้วปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง พบว่า**หลังเคลือบสาร 1 วัน** สารโทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC เดลทาเมทริน 3%EC ลูเฟนนูรอน 5%EC และสไปนีโทแรม 12%SC จัดเป็นสารที่มีพิษน้อย สารฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG บูโพรเฟซิน 40%SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC มีพิษปานกลาง ส่วนไดโนทีฟลูแรน 10%WP ฟิโปรนิล 5%SC อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC และอินด็อกซาคาร์บ 15%SC จัดเป็นสารที่มีพิษร้ายแรงต่อตัวอ่อนวัย 3 ของด้วงเต่า *C. transversalis* **หลังเคลือบสาร 3 วัน** สารโทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC และเดลทาเมทริน 3%EC จัดเป็นสารที่ไม่มีพิษ สารฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG สไปนีโทแรม 12%SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC มีพิษน้อย สารไดโนทีฟลูแรน 10%WP ลูเฟนนูรอน 5%EC และบูโพรเฟซิน 40%SC มีพิษปานกลาง ส่วนสารฟิโปรนิล 5%SC อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC และอินด็อกซาคาร์บ 15%SC จัดเป็นสารที่มีพิษร้ายแรงต่อตัวอ่อนวัย 3 ของด้วงเต่า *C. transversalis* **หลังเคลือบสาร 5 วัน** สารโทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC เดลทาเมทริน 3%EC สารลูเฟนนูรอน 5%EC และสไปนีโทแรม 12%SC จัดเป็นสารที่ไม่มีพิษ สารฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG 40%SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC มีพิษน้อย สารอีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC อินด็อกซาคาร์บ 15%SCและบูโพรเฟซิน 40%SC มีพิษปานกลาง ส่วนสารไดโนทีฟลูแรน 10%WP และฟิโปรนิล 5%SC จัดเป็นสารที่มีพิษร้ายแรงต่อตัวอ่อนวัย 3 ของด้วงเต่า *C. transversalis* **หลังเคลือบสาร 7 วัน** สารโทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC เดลทาเมทริน 3%EC สารลูเฟนนูรอน 5%EC และสไปนีโทแรม 12%SC จัดเป็นสารที่ไม่มีพิษ สารฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG ฟิโปรนิล 5%SC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC บูโพรเฟซิน 40%SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC มีพิษน้อย สารไดโนทีฟลูแรน 10%WP และอีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC มีพิษปานกลางต่อตัวอ่อนวัย 3 ของด้วงเต่า *C. transversalis*

หลังเคลือบสาร 14 วัน สารโทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC เดลทาเมทริน 3%EC และสไปนีโทแรม 12%SC จัดเป็นสารที่ไม่มีพิษ สารไดโนทีฟลูแรน 10%WP ฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC ลูเฟนนูรอน 5%EC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC มีพิษน้อย สารฟิโปรนิล 5%SC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC และบูโพรเฟซิน 40%SC จัดเป็นสารที่มีพิษปานกลางต่อตัวอ่อนวัย 3 ของด้วงเต่า *C. transversalis*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ด้วงเต่า *C. transversalis* สามารถเพาะเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการโดยใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร เพลี้ยอ่อน และน้ำผึ้งเป็นอาหาร อาหารเทียมสูตรที่เหมาะสมคือดักแด้หนอนไหม 50 กรัม + ผงถั่วเหลือง 50 กรัม ปั่นผสมกับผงวุ้น 6 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร ยีสต์ 4 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร และน้ำ 300 มิลลิลิตร เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* เพื่อศึกษาวงจรชีวิตพบว่าระยะไข่ 3.45±0.50 วัน ตัวอ่อนวัย 1 อายุ 2.95±0.74 วัน ตัวอ่อนวัย 2 อายุ 3.90±0.77 วัน ตัวอ่อนวัย 3 อายุ 3.35±0.79 วัน ตัวอ่อนวัย 4 อายุ 3.75±0.89 วัน ระยะดักแด้อายุ 4.05±0.74 วัน ตัวเต็มวัยอายุ 24.10±5.80 วัน ซึ่งสามารถเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* ได้ครบวงจรชีวิต แต่อายุแต่ตัวเต็มวัยมีอายุสั้นกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยเพลี้ยอ่อนผักกาด การเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. transversalis* ในห้องปฏิบัติการจึงควรเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมสูตรดักแด้หนอนไหม + ผงถั่วเหลือง และให้เพลี้ยอ่อนและไข่ผีเสื้อข้าวสารร่วมด้วย เพื่อให้ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยสมบูรณ์และมีอายุยืนยาวขึ้น

การศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อตัวอ่อนวัย 3 ของด้วงเต่า *C. transversalis* โดยคัดเลือกสารเคมีที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในแปลงปลูกพืชผักจำนวน 12 ชนิด หลังจากเคลือบสารตามอัตราที่กำหนดแล้วปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งและใส่ด้วงเต่าตามระยะเวลา 1 3 5 7 และ 14 วัน พบว่าโทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC และเดลทาเมทริน 3%EC มีพิษน้อยในวันที่ 1 และจัดเป็นสารที่ไม่มีพิษต่อตัวอ่อนวัย 3 ของด้วงเต่า *C. transversalis* Fabricius ในวันที่ 3 5 7 และ 14สารสไปนีโทแรม 12%SC มีพิษน้อยในวันที่ 1 และ 3 และไม่มีพิษในวันที่ 5 7 และ 14 สารฟลูเบนไดอะไมด์ 20%WG และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10%SC มีพิษปานกลาง ในวันที่ 1 และมีพิษน้อยในวันที่ 3 5 7 และ 14 สารลูเฟนนูรอน 5%EC จัดเป็นสารพี่มีพิษน้อย-ปานกลาง สารบูโพรเฟซิน 40%SC จัดเป็นสารที่มีพิษปานกลาง ส่วนสารไดโนทีฟลูแรน 10%WP ฟิโปรนิล 5%SC EC อีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92%EC อินด็อกซาคาร์บ 15%SC จัดเป็นสารที่มีพิษร้ายแรงและมีพิษปานกลางถึงมีพิษน้อยเมื่อเคลือบสารทิ้งไว้นานขึ้น การปล่อยตัวอ่อนด้วงเต่า *C. transversalis* เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชควรปล่อยหลังจากพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงแล้วอย่างน้อย 3 วันหากเป็นสารที่ปลอดภัยต่อด้วงเต่า *C. transversalis* เช่น โทลเฟนไพเรด 16%EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17%SC และเดลทาเมทริน 3%EC และควรเลือกใช้สารป้องกันกำจัดแมลงที่มีพิษน้อยต่อด้วงเต่า

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนางสาววิภาวดี เครือวงศ์ นางสาวกษมา นามแดง นางสาวโสภา สนแย้ม และเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กุศล ถมมา. 2550. ด้วงเต่าลายในสวนพริก. นสพ.กสิกร 80(2): 64-65.

พิมลพร นันทะ. 2545. ศัตรูธรรมชาติ หัวใจของ IPM. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 215 หน้า.

รจนา ไวยเจริญ อัมพร วิโนทัย และประภัสสร เชยคำแหง. 2553. ศึกษาพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 735-750.

สมหมาย ชื่นราม. 2545. ด้วงเต่าในประเทศไทย. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 211 หน้า.

Chunram, S., H. Sasaji. 1980. A contribution to the Coccinellidae (Coleoptera) of Thailand. Oriental Insects. 14(4): 473-491.

Harmon, J.P., A.R. Ives, J.E. Losey, A.C. Olson and K.S. Rauwald. 2000. *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae) predation on pea aphids promoted by proximity to dandelions. Oecologia 125(4): 543-548.

Roongfar, R. 1980. Study on the coccinellid, *Menochilus sexmaculata* (F.) (Coleoptera: Coccinellidae), and its roles as biological control agents. M.S. Thesis. Kasetsart University. 749 p.

SASAJI, H. 1971. Fauna Japonica, Coccinellidae (Insecta: Coleoptera). Academic Press of Japan, Tokyo, Japan. 340 pp.

a. White egg powder

b. Egg yolk powder

c. Casein

d. Whey protein

e. Soybean powder

f. Soybean powder

g. cricket

h. Silk worm

Figure 1 Artificial diet

Figure 2 Mass rearing *Coccinella transversalis* Fabricius by artificial diet

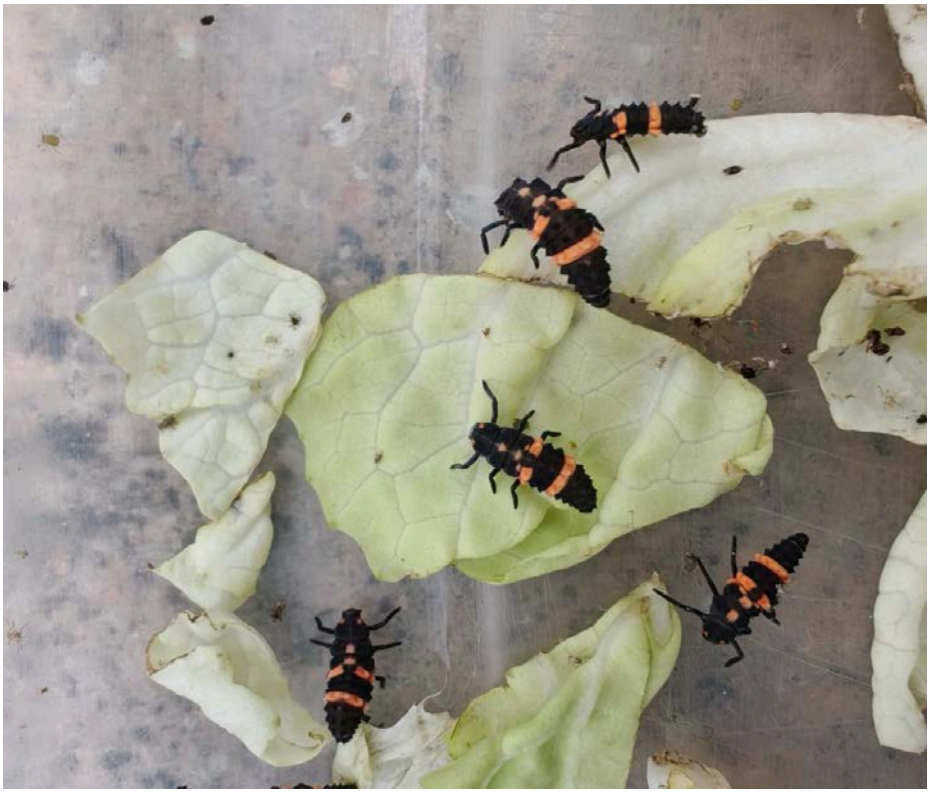


Figure 3 Mass rearing *Coccinella transversalis* Fabricius

Figure 5 *Coccinella transversalis* Fabricius insecticide test

Table 1 Life cycle of *Coccinella transversalis* Fabricius mass on artificial diet of white egg powder in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.55±0.50	3-4
1st Larva	2.75±0.70	2-4
2nd Larva	3.50±0.81	2-5
3rd Larva	2.89±0.99	2-5
4th Larva	-	-
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 2 Life cycle of *Coccinella transversalis* Fabricius mass on artificial diet of egg yolk powder in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.45±0.50	3-4
1st Larva	2.85±0.73	2-4
2nd Larva	3.90±0.83	2-6
3rd Larva	-	-
4th Larva	-	-
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 3 Life cycle of *Coccinella transversalis* Fabricius mass on artificial diet of casein in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.50±0.50	3-4
1st Larva	3.20±0.79	2-4
2nd Larva	3.91±1.16	2-6
3rd Larva	-	-
4th Larva	-	-
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 4 Life cycle of *Coccinella transversalis* Fabricius mass on artificial diet of whey protein in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.35±0.48	3-4
1st Larva	3.05±0.67	2-4
2nd Larva	-	-
3rd Larva	-	-
4th Larva	-	-
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 5 Life cycle of *Coccinella transversalis* Fabricius mass on artificial diet of pupa of soybean powder in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.50±0.50	3-4
1st Larva	3.05±0.74	2-4
2nd Larva	3.55±0.74	2-5
3rd Larva	3.36±1.15	2-5
4th Larva	3.43±1.29	2-5
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 6 Life cycle of *Coccinella transversalis* Fabricius mass on artificial diet of soy protein in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.35±0.48	3-4
1st Larva	2.85±0.65	2-4
2nd Larva	3.55±0.97	2-6
3rd Larva	3.63±1.11	2-5
4th Larva	-	-
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 7 Life cycle of *Coccinella transversalis* Fabricius mass on artificial diet of cricket in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.40±0.49	3-4
1st Larva	3.00±0.71	2-4
2nd Larva	3.80±0.98	2-6
3rd Larva	3.58±1.26	2-6
4th Larva	-	-
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 8 Life cycle of *Coccinella transversalis* Fabricius mass on artificial diet of pupa of silk worm in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.30±0.46	3-4
1st Larva	3.10±0.70	2-4
2nd Larva	3.30±0.71	2-4
3rd Larva	3.35±0.73	2-5
4th Larva	3.44±1.06	2-5
Pupa	-	-
Adult	-	-

Table 9 Life cycle of *Coccinella transversalis* Fabricius mass on aphids and egg of rice moth in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.50±0.50	3-4
1st Larva	2.68±0.46	2-3
2nd Larva	3.16±0.67	2-4
3rd Larva	2.37±0.48	2-3
4th Larva	3.16±0.59	2-4
Pupa	3.58±0.59	3-5
Adult	33.21±4.74	27-42

Table 10 Life cycle of *Coccinella transversalis* Fabricius mass on artificial diet of pupa of silk worm and soybean powder in laboratory at 27±3°C and 65±10% RH

Life cycle stage	Developmental period (in day; Mean ± SD)	Range (days)
Egg	3.45±0.50	3-4
1st Larva	2.95±0.74	2-4
2nd Larva	3.90±0.77	3-5
3rd Larva	3.35±0.79	2-5
4th Larva	3.75±0.89	2-5
Pupa	4.05±0.74	3-5
Adult	24.10±5.80	14-35

Table 11 Percent mortality of adult stages of *Coccinella transversalis* Fabricius at 120 hours after 0 day exposure to each of insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	% mortality[1/] (days)	IOBC category[2/]
1. Tolfenpyred 16%EC	90 b	3
2. Chlorantraniliprole 5.17%SC	85 b	3
3. Deltamethrin 3%EC	10 a	1
4. Dinotefuron 10%WP	85 b	3
5. Flubendiamide 20%WG	75 b	2
6. Fipronyl 5%SC	90 b	3
7. Emamectin benzoate 1.92%EC	90 b	3
8. Lufenuron 5%EC	10 a	1
9. Indoxacarb 15%SC	90 b	3
10. Spinetoram 12%SC	65 b	2
11. Buprofezin 40%SC	65 b	2
12. Chlorfenapy 10%SC	90 b	3
13. Control	0 a	1

[1/] means in the same column followed by the different characters are significantly different ($p<0.05$) by DMRT

[2/] 1=harmless (<30%), 2=slightly harmful (30-79%), 3=moderately harmful (80-99%), 4=harmful (>99%) Hassan *et al*. (1994)

Table 12 Percent mortality of adult stages of *Coccinella transversalis* Fabricius at 120 hours after 1 3 5 7 and 14 days exposure to each of insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	% mortality[1/] (days)				
	1	3	5	7	14
1. Tolfenpyred 16%EC	60 cd	20 ab	5 a	25 ab	0 a
2. Chlorantraniliprole 5.17%SC	45 bc	25 bc	15 a	5 ab	0 a
3. Deltamethrin 3%EC	35 b	25 bc	5 a	10 ab	0 a
4. Dinotefuron 10%WP	100 f	95 f	100 c	90 d	75 c
5. Flubendiamide 20%WG	80 def	55 d	40 b	30 b	40 b
6. Fipronyl 5%SC	100 f	100 f	100 c	70 cd	90 c
7. Emamectin benzoate 1.92%EC	100 f	100 f	90 c	90 d	75 c
8. Lufenuron 5%EC	70 de	85 ef	10 a	10 ab	35 b
9. Indoxacarb 15%SC	100 f	100 f	90 c	65 cd	85 c
10. Spinetoram 12%SC	65 cd	45 cd	5 a	0 a	0 a
11. Buprofezin 40%SC	95 f	90 f	80 c	60 c	95 c
12. Chlorfenapy 10%SC	90 ef	65 de	50 b	75 cd	30 b
13. Control	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a

[1/] means in the same column followed by the different characters are significantly different ($p<0.05$) by DMRT

Table 13 IOBC category of adult stages of *Coccinella transversalis* Fabricius at 120 hours after 1 3 5 7 and 14 days exposure to each of insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	IOBC category[1/]				
	1	3	5	7	14
1. Tolfenpyred 16%EC	2	1	1	1	1
2. Chlorantraniliprole 5.17%SC	2	1	1	1	1
3. Deltamethrin 3%EC	2	1	1	1	1
4. Dinotefuron 10%WP	4	3	4	3	2
5. Flubendiamide 20%WG	3	2	2	2	2
6. Fipronyl 5%SC	4	4	4	2	3
7. Emamectin benzoate 1.92%EC	4	4	3	3	2
8. Lufenuron 5%EC	2	3	1	1	2
9. Indoxacarb 15%SC	4	4	3	2	3
10. Spinetoram 12%SC	2	2	1	1	1
11. Buprofezin 40%SC	3	3	3	2	3
12. Chlorfenapy 10%SC	3	2	2	2	2
13. Control	1	1	1	1	1

[1/] 1=harmless (<30%), 2=slightly harmful (30-79%), 3=moderately harmful (80-99%), 4=harmful (>99%) Hassan *et al*. (1994)

พัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) ด้วยเหยื่ออาหารเพื่อใช้ควบคุมเพลี้ยแป้ง

Development on mass rearing of Coccinellid Predator, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) with different food for controlling mealybug

ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ ประภัสสร เชยคำแหง
สาทิพย์ มาลี ชมัยพร บัวมาศ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The coccinellid predator, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) is an important natural enemy of mealybug which can be used to control several mealybug species and small insect pest. As a biological control agent, it is necessary to produce large quantities of coccinellid predator to control insect pest continuously. The study aimed to select the suitable mealybug species, efficiency to control mealybug, suitable food for rearing adults, and effects of some pesticides to *C. montrouzieri.* The experiment was conducted at Entomology and Zoology Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture between October 2022 and September 2024.

The suitable mealybug species for mass rearing *C. montrouzieri* was using *Planococcus minor*, *Phenacoccus manihoti* and *Maconellicoccus hirsutus* as food. The results revealed that life cycle of *C. montrouzieri* the average egg, larva and pupa periods were 3-5 19-25 7-8 and 7-8 days, respectively. The average age of male was 81-160, 31-109 and 89-176 days, respectively. The average age of female was 102-172, 63-116 and 104-181 days, respectively. Adult female fed *P. minor* was *laid* eggs average 805.86±29.80 eggs, follow by *M. hirsutus* and *P. manihoti* were 791.14±25.29 and 446.86±29.97, respectively. The biology life tables were examined by feeding on three pest species, *P. minor*, *P. manihoti* and *M. hirsutus.* The results showed that rearing of *C. montrouzieri* with *M. hirsutus* was net reproductive rate (R_o) highest (137.35). Therefore, we chose *M. hirsutus* for mass rearing *C. montrouzieri.*

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-03-65

The efficiency of *C. montrouzieri* larvae consumed eggs nymph and adults of *M. hirsutus* averaging 3,535.35 3,994.45 and 49.25, respectively. In the adult stage, female consumed eggs nymph and adults of *M. hirsutus* averaging 12,097.95, 6,953.60 and 713.80, respectively, male consumed eggs nymph and adults of *M. hirsutus* averaging 8,125.21, 5,983.11 and 563.26, respectively. Adults female of *C. montrouzieri* consumed *M. hirsutus* more than male and age of female longer than male.

The suitable food for rearing adults of *C. montrouzieri* showed that food suitable for mass rearing adults was using mealybug+honey 50%+jelly (food 5) because the progeny was highest.

The study to test the lethal effect of 13 insecticides to *C. montrouzieri* when treated by dry-film method showed that 9 insecticides (thiamethoxam, imidacloprid dinotefuran, buprofezin, fipronil, petroleum oil, prothiofos, profenofos and acetamiprid) were harmless. In case of perimiphos-methyl, carbaryl, malathion and lambda-cyhalothrin the toxicity was moderately harmful to harmful. Therefore, the parasitoid can be safely led into the field with 14 days after spraying of chemical insecticides in order to minimize *C. montrouzieri* mortality.

Keywords : mass rearing, coccinellid predator, *Cryptolaemus montrouzieri,* mealybug

บทคัดย่อ

ด้วงเต่าตัวห้ำ *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่สำคัญชนิดหนึ่ง ด้วงเต่าทั้งระยะหนอนและตัวเต็มวัยเป็นตัวห้ำที่มีศักยภาพสามารถนำไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งและแมลงที่มีขนาดเล็ก การนำด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีจึงต้องผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากและต่อเนื่อง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดเพลี้ยแป้งที่เหมาะสม ศักยภาพการกินเพลี้ยแป้ง อาหารที่ใช้เลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำที่เหมาะสม และผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ดำเนินการที่กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2565 ถึงเดือนกันยายน 2567

การศึกษาชนิดเพลี้ยแป้งที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* พบว่าการเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก *Planococcus minor* เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *Phenacoccus manihoti* และเพลี้ยแป้งชบา *Maconellicoccus hirsutus* มีระยะการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน ระยะไข่ ระยะหนอน และระยะดักแด้มีอายุ 3-5 19-25 และ 7-8 วัน ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุ 81-160 31-109 และ 89-176 วัน ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุ 102-172 63-116

และ 104-181 วัน ตามลำดับ การเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก ตัวเต็มวัยด้วงเต่าวางไข่ได้มากที่สุดเฉลี่ย 805.86±29.80 ฟอง รองลงมาคือเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชบาและเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู วางไข่เฉลี่ย 791.14±25.29 และ 446.86±29.97 ฟอง ตามลำดับ ตารางชีวิตแบบ biological life table ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* การเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำด้วยเพลี้ยแป้งชบา มีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (R_o) สูงที่สุด คือ 137.35 จึงเลือกเพลี้ยแป้งชบาไปใช้เพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

การศึกษาศักยภาพการกินของหนอนและตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* พบว่าระยะหนอนด้วงเต่าตัวห้ำ กินไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบาได้เฉลี่ย 3,535.35 3,994.45 และ 49.25 ตัว ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียกินไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 12,097.95 6,953.60 และ 713.80 ตัว ตามลำดับ ส่วนตัวเต็มวัยเพศผู้กินไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 8,125.21 5,983.11 และ 563.26 ตัว ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียกินเพลี้ยแป้งได้มากกว่าตัวเต็มวัยเพศผู้และมีอายุนานกว่าตัวเต็มวัยเพศผู้

การศึกษาอาหารที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* พบว่าเพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 50%+เยลลี่สำเร็จรูป (อาหารชนิดที่ 5) เป็นอาหารที่เหมาะสมที่สุดสำหรับเพาะเลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เนื่องจากมีจำนวนรุ่นลูกสูงที่สุด

การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* จำนวน 13 ชนิด พบว่าสารกำจัดแมลง 9 ชนิด ได้แก่ thiamethoxam imidacloprid dinotefuran buprofezin fipronil petroleum oil prothiofos profenofos และ acetamiprid ไม่มีพิษต่อด้วงเต่า *C. montrouzieri* ส่วนสารกำจัดแมลง perimiphos-methyl carbaryl malathion และ lambda-cyhalothrin มีพิษปานกลางถึงมีพิษร้ายแรงกับด้วงเต่า *C. montrouzieri* จึงไม่แนะนำให้ปล่อยด้วงเต่าในแปลงที่มีการพ่นสารกำจัดแมลง 2 ชนิดนี้ เพื่อความปลอดภัยของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

คำหลัก : การเพาะเลี้ยง ด้วงเต่าตัวห้ำ *Cryptolaemus montrouzieri* เพลี้ยแป้ง

คำนำ

ด้วงเต่าตัวห้ำ *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่สำคัญชนิดหนึ่งช่วยควบคุมประชากรของเพลี้ยแป้งได้หลายชนิดและทุกระยะการเจริญเติบโต ด้วงเต่าทั้งระยะหนอนและตัวเต็มวัยเป็นตัวห้ำที่มีศักยภาพสามารถนำไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งในพืชชนิดต่างๆ เช่น เพลี้ยแป้งสับปะรด *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) เพลี้ยแป้งชบาสีชมพู *Maconellicoccus hirsutus* (Green) เพลี้ยแป้งสำลี *Nipaecoccus viridis* (Newstead) เพลี้ยแป้งนุ่น *Rastrococcus iceryoides* (Green) เพลี้ยแป้งมังคุด *Pseudococcus cryptus* Hempel เพลี้ยแป้งส้ม *Planococcus citri* (Risso) เพลี้ยแป้งกาแฟ *Planococcus lilacinus* (Cockerell) เพลี้ยแป้งหางยาว *Pseudococcus adonidum* (Linnaeus) เพลี้ยแป้งโกศล

Icerya aegyptica (Douglas) และตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอ้อยสีชมพู *Saccharicoccus sacchari* (Cockerell) (บุปผา และชลิดา, 2543; สมหมาย, 2545) เป็นต้น มีการนำด้วงเต่า *C. montrouzieri* ไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งอย่างแพร่หลายในหลายประเทศซึ่งช่วยลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสวนส้ม ฝรั่ง และองุ่น (Mani and Krishnamoorthy, 2008; Mani and Krishnamoorthy, 2007) สามารถนำไปใช้ป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งร่วมกับศัตรูธรรมชาติชนิดอื่นๆ ได้ อีกทั้งด้วงเต่า *C. montrouzieri* สามารถผลิตขยายให้มีปริมาณมากได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ (รจนา และคณะ, 2558) และมีแนวโน้มในการนำไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งโดยชีววิธีในสภาพไร่ การนำด้วงเต่าไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งในสภาพไร่นั้นจำเป็นต้องศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่าให้เพียงพอต่อการนำไปใช้ประโยชน์ รวมทั้งหาสารป้องกันกำจัดแมลงที่ไม่เป็นพิษต่อด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เพื่อนำไปใช้ประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพและเป็นคำแนะนำให้กับเกษตรกร งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาชนิดเพลี้ยแป้งที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* 2) ศึกษาศักยภาพการกินเพลี้ยแป้งของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* 3) ศึกษาอาหารที่ใช้เลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เหมาะสม 4) ศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แมลงที่ใช้ศึกษา
   1) ด้วงเต่าตัวห้ำ *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant
   2) เพลี้ยแป้งแปซิฟิก *Planococcus minor* (Maskell)
   3) เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero
   4) เพลี้ยแป้งชบา *Maconellicoccus hirsutus* (Green)
2. พืชอาหาร/อาหารเลี้ยงแมลง
   1) ผลฟักทอง
   2) ต้นชบา
   3) ต้นมันสำปะหลัง
   4) น้ำผึ้ง
   5) เยลลี่สำเร็จรูป
   6) honey-agar medium
3. อุปกรณ์เลี้ยงแมลง
   1) กล่องพลาสติก ขนาด 8.5X13X7 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงลวดละเอียด
   2) กล่องพลาสติกกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร

3) กรงผ้าตาข่าย ขนาด 30x30x30 เซนติเมตร

4) กรงผ้าตาข่าย ขนาด 55x75x55 เมตร

5) ตะกร้าพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร

6) ฟองน้ำอเนกประสงค์

7) ปากคีบ

8) พู่กัน

4. สารป้องกันกำจัดแมลง

1) thiamethoxam 25% WG (กลุ่มย่อย 4A)

2) imidacloprid 70% WG (กลุ่มย่อย 4A)

3) dinotefuran 20% WG (กลุ่มย่อย 4A)

4) pirimiphos-methyl 50% EC (กลุ่มย่อย 1B)

5) buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16)

6) carbaryl 85% WP (กลุ่มย่อย 1A)

7) fipronil 5% SC (กลุ่ม 2)

8) petroleum oil 83.9% EC

9) prothiofos 50% EC (กลุ่มย่อย 1B)

10) profenofos 50% EC (กลุ่มย่อย 1B)

11) malathion 83% EC (กลุ่มย่อย 1B)

12) acetamiprid 2.85% EC (กลุ่มย่อย 4A)

13) lambda-cyhalothrin 25% EC (กลุ่มย่อย 3A)

วิธีการ

การเตรียมแมลงสำหรับใช้ในการทดลอง

1) การเลี้ยงเพลี้ยแป้งแปซิฟิก *P. minor*

เก็บรวบรวมเพลี้ยแป้งจากแปลงปลูกน้อยหน่า ทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณโดยนำผลน้อยหน่าที่มีเพลี้ยแป้งมาวางลงบนผลฟักทองที่วางบนตะกร้าพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร ที่ใส่ไว้ในกรงผ้าตาข่ายขนาด 55x75x55 เซนติเมตร ปล่อยให้เพลี้ยแป้งเจริญเติบโตบนผลฟักทอง 3-4 สัปดาห์ จึงนำไปใช้ในการทดลอง

2) การเลี้ยงเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti*

เก็บรวบรวมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูจากแปลงปลูกมันสำปะหลัง ทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณโดยนำยอดและใบมันสำปะหลังที่มีเพลี้ยแป้งมาวางลงบนผลฟักทองที่วางบนตะกร้าพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร ที่ใส่ไว้ในกรงผ้าตาข่ายขนาด 55x75x55 เซนติเมตร ปล่อยให้เพลี้ยแป้งเจริญเติบโตบนผลฟักทอง 3-4 สัปดาห์ จึงนำไปใช้ในการทดลอง

3) การเลี้ยงเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus*

เก็บรวบรวมเพลี้ยแป้งชบาจากต้นชบา ทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ โดยนำใบและยอดชบาที่มีเพลี้ยแป้งมาวางลงบนผลฟักทองที่วางบนตะกร้าพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร ที่ใส่ไว้ในกรงผ้าตาข่ายถี่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร ปล่อยให้เพลี้ยแป้งเจริญเติบโตบนผลฟักทอง 3-4 สัปดาห์ จึงนำไปใช้ในการทดลอง

4) การเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

นำผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งเต็มผลจำนวน 5-7 ผล ใส่ในกรงผ้าตาข่ายขนาด 55x75x55 เซนติเมตร ใส่ตัวเต็มวัยด้วงเต่าจำนวน 50 คู่ ภายในกรงเลี้ยงแมลงมีน้ำผึ้ง 20% เป็นอาหารเพิ่มเติม ปล่อยไว้ 1 สัปดาห์ ตัวเต็มวัยด้วงเต่าจะจับคู่ผสมพันธุ์และวางไข่บริเวณที่มีเพลี้ยแป้งบนผลฟักทอง นำตัวเต็มวัยออกใส่กรงตาข่ายกรงใหม่ภายในมีฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งเต็มผลทุก 7 วัน กรงเดิมไข่ด้วงเต่าจะฟักออกเป็นหนอน หนอนด้วงเต่าจะกินเพลี้ยแป้งและเจริญเติบโตเข้าดักแด้บนผลฟักทองจากนั้นจึงออกเป็นตัวเต็มวัย ทำการเปลี่ยนฟักทองเมื่อด้วงเต่ากินเพลี้ยแป้งหมดหรือฟักทองเริ่มเน่า

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาชนิดเพลี้ยแป้งที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

ศึกษาเพลี้ยแป้งที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ได้แก่ เพลี้ยแป้งแปซิฟิก *P. minor* เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus*

1.1 ศึกษาระยะการเจริญเติบโตของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชนิดต่างๆ

รวบรวมไข่ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จำนวน 20 ฟอง วางบนกระดาษกรองในกล่องพลาสติก 8.5x13x7 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงลวดละเอียด เมื่อไข่ฟักเป็นหนอนใช้พู่กันเขี่ยหนอนด้วงเต่าแต่ละตัวไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร ให้ไข่เพลี้ยแป้งจำนวน 600 ฟอง หรือจำนวนมากกว่าที่ด้วงเต่าจะกินหมด ตามความเหมาะสมเป็นอาหารทุกวัน จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยให้น้ำผึ้ง 20% เป็นอาหารกับตัวเต็มวัยเพิ่มเติม บันทึกข้อมูลช่วงอายุการเจริญเติบโตของด้วงเต่าในแต่ละระยะการเจริญเติบโต อัตราส่วนเพศผู้และเพศเมีย จำนวนไข่ที่ตัวเต็มวัยเพศเมียวางได้จนกระทั่งตัวเต็มวัยตายหมด

1.2 ศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

รวบรวมไข่ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จำนวน 300 ฟอง วางบนกระดาษกรองในกล่องพลาสติก 8.5x13x7 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงลวดละเอียด เมื่อไข่ฟักเป็นหนอน นำหนอนด้วงเต่าตัวห้ำไปเลี้ยงในกรงผ้าตาข่ายขนาด 30x30x30 เซนติเมตร ภายในกรงผ้าตาข่ายถี่มีเพลี้ยแป้งที่เจริญเติบโตบนผลฟักทองเต็มผล เปลี่ยนผลฟักทองเมื่อฟักทองเริ่มเน่าหรือเพลี้ยแป้งหมด เลี้ยงจนด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เป็นตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมียมาผสมพันธุ์และวางไข่ บันทึกข้อมูลจำนวนไข่ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ทุกวันจนกระทั่งด้วงเต่าตัวห้ำตาย นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างตารางชีวิตแบบ biological life table

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาศักยภาพการกินเพลี้ยแป้งของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

เลือกชนิดเพลี้ยแป้งจากขั้นตอนที่ 1 ที่ด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ขยายพันธุ์ได้ดีที่สุด 1 ชนิด มาศึกษาศักยภาพการกินเพลี้ยแป้งของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

2.1 ศึกษาศักยภาพการกินไข่ ตัวอ่อน ตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งของหนอนด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

นำหนอนด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เพิ่งออกจากไข่ จำนวน 30 ตัว ใส่ในกล่องพลาสติก ขนาด 8.5x13x7 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงลวดละเอียด กล่องละ 1 ตัว ให้เพลี้ยแป้งแต่ละวัย (เพลี้ยแป้งระยะไข่ 600 ฟอง หรือตัวอ่อน 600 ตัว หรือตัวเต็มวัย 30 ตัว) หรือมากกว่าที่ด้วงเต่าจะกินหมดเป็นอาหารกับหนอนด้วงเต่าตัวห้ำทุกวัน บันทึกข้อมูลจำนวนเพลี้ยแป้งที่หนอนด้วงเต่าแต่ละวัยกิน อายุหนอนด้วงเต่าจนกระทั่งหนอนด้วงเต่าเข้าดักแด้ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

2.2 ศึกษาศักยภาพการกินไข่ ตัวอ่อน ตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งของตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

นำตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เพศเมียและเพศผู้ที่เพิ่งออกจากดักแด้ชนิดละ 30 ตัว ใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 8.5x13x7 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงลวดละเอียด กล่องละ 1 ตัว ให้เพลี้ยแป้งแต่ละวัย (เพลี้ยแป้งระยะไข่ 600 ฟอง หรือตัวอ่อน 600 ตัว หรือตัวเต็มวัย 30 ตัว) หรือมากกว่าที่ด้วงเต่าจะกินหมดเป็นอาหารกับตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำทุกวัน และให้น้ำผึ้ง 20% เป็นอาหารกับตัวเต็มวัยเพิ่มเติม บันทึกข้อมูลจำนวนเพลี้ยแป้งที่ด้วงเต่ากิน อายุด้วงเต่าจนกระทั่งด้วงเต่าตัวห้ำตาย นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอาหารที่ใช้เลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เหมาะสม

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เพลี้ยแป้ง
กรรมวิธีที่ 2 เพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 20%
กรรมวิธีที่ 3 เพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 20%+เยลลี่สำเร็จรูป
กรรมวิธีที่ 4 เพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 50%
กรรมวิธีที่ 5 เพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 50%+เยลลี่สำเร็จรูป
กรรมวิธีที่ 6 เพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 50%+honey-agar medium

นำตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เพิ่งออกจากดักแด้ จำนวน 40 ตัว (เพศผู้ 20 ตัว เพศเมีย 20 ตัว) ใส่ในกรงผ้าตาข่าย ขนาด 55x75x55 เซนติเมตร ภายในกรงผ้าตาข่ายมีอาหารตัวเต็มวัยแต่ละกรรมวิธี ปล่อยให้ตัวเต็มวัยจับคู่ผสมพันธุ์ 7 วัน ให้อาหารตัวเต็มวัยตามแต่กรรมวิธี ในกรรมวิธีที่ 6 นำน้ำตาลทราย 20 กรัม ต้มในน้ำ 100 มิลลิลิตร จากนั้นใส่ผงวุ้น 1 กรัม และน้ำผึ้ง 40 มิลลิลิตร ลงไปคนให้เข้ากัน นำไปใส่ถ้วย รอให้อาหารเย็น นำไปเลี้ยงตัวเต็มวัย เมื่อครบทุก 1 สัปดาห์ นำผลฟักทองที่มีหนอนด้วงเต่าย้ายไปใส่กรงใหม่ เปลี่ยนผลฟักทองเมื่อฟักทองเริ่มเน่าหรือเพลี้ยแป้ง

หมด บันทึกข้อมูลอายุตัวเต็มวัยพ่อแม่พันธุ์ จำนวนรุ่นลูกระยะหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยด้วงเต่าที่ได้เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารแต่ละกรรมวิธี จนกระทั่งตัวเต็มวัยด้วงเต่าพ่อแม่พันธุ์ตายหมด นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 4 ผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) มีทั้งหมด 10 ซ้ำ 14 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 thiamethoxam 25% WG (กลุ่มย่อย 4A) อัตรา 4 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 imidacloprid 70% WG (กลุ่มย่อย 4A) อัตรา 4 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 dinotefuran 20% WG (กลุ่มย่อย 4A) อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 pirimiphos-methyl 50% EC (กลุ่มย่อย 1B) อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5. buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 carbaryl 85% WP (กลุ่มย่อย 1A) อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 fipronil 5% SC (กลุ่ม 2) อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 8 petroleum oil 83.9% EC อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 9 prothiofos 50% EC (กลุ่มย่อย 1B) อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 10 profenofos 50% EC (กลุ่มย่อย 1B) อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 11 malathion 83% EC (กลุ่มย่อย 1B) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 12 acetamiprid 2.85% EC (กลุ่มย่อย 4A) อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 13 lambda-cyhalothrin 25% EC (กลุ่มย่อย 3A) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 14. น้ำเปล่า (ชุดควบคุม)

วิธีการ

1. เตรียมสารละลายสารป้องกันกำจัดแมลงตามกรรมวิธีต่างๆ ทำการทดสอบแบบ dry film method โดยใส่สารป้องกันกำจัดแมลงปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในแก้วพลาสติกขนาด 6 ออนซ์ ที่มีฝาที่เจาะรูระบายอากาศ ให้สารเคลือบผิวแก้วภายในให้ทั่ว ส่วนกรรมวิธีควบคุมใช้น้ำเปล่าเคลือบผิวแก้วพลาสติก

2. วางแก้วพลาสติกทิ้งไว้ให้แห้งพ้นจากแสงแดด โดยทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง 1 วัน 7 วัน และ 14 วัน หลังเคลือบสารป้องกันกำจัดแมลง

3. เมื่อครบกำหนดวันหลังเคลือบสารตามกำหนด ปล่อยตัวเต็มวัยด้วงเต่า *C. montrouzieri* เข้าไปในแก้วพลาสติกที่เตรียมไว้ จำนวนแก้วละ 10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว เพศเมีย 5 ตัว) ภายในแก้วพลาสติกมีฟองน้ำชุปน้ำผึ้ง 50% เป็นอาหารให้ด้วงเต่า

4. ตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยด้วงเต่า *C. montrouzieri* ที่ตาย หลังทิ้งด้วงเต่าไว้ในแก้วพลาสติกเคลือบสารแล้ว 24 48 และ 72 ชั่วโมง วิเคราะห์ข้อมูลโดยจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994)

การบันทึกข้อมูล

1. ตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยด้วงเต่า *C. montrouzieri* ที่ตายหลังการทดสอบ 24 48 และ 72 ชั่วโมง มาวิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบผลทางสถิติ

2. จัดระดับความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดแมลง ตามวิธีการจัดลำดับความเป็นพิษของ IOBC Hassan (1994) ดังนี้

ไม่มีพิษ (Harmless) มีเปอร์เซ็นต์การตาย < 30%

มีพิษน้อย (Slightly Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 30-79%

มีพิษปานกลาง (Moderately Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 80-99%

มีพิษร้ายแรง (Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย > 99%

3. เมื่อพบด้วงเต่า *C. montrouzieri* ในชุดควบคุม (control) ตาย 5-20% ทำการปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายโดยใช้ค่า Abbott's formula (Abbott, 1925) แต่ถ้าตายเกิน 20% ต้องทำการทดลองใหม่

$$\text{อัตราการตายที่แท้จริง} = \frac{\text{อัตราการตายของแมลง} - \text{อัตราการตายของชุดควบคุม}}{100 - \text{อัตราการตายของชุดควบคุม}} \times 100$$

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565 – กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาชนิดเพลี้ยแป้งที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

1.1 ศึกษาระยะการเจริญเติบโตของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งแปซิฟิก *P. minor* เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* พบว่าด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* สามารถเจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตได้ในเพลี้ยแป้งทั้ง 3 ชนิด

การเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก *P. minor* ระยะไข่อายุ 3-5 วัน เฉลี่ย 4.20±0.77 วัน ระยะหนอนมี 4 วัย หนอนวัยที่ 1-4 มีอายุเฉลี่ย 3.32±0.48 3.06±0.24 3.06±0.24 และ 7.17±0.38 วัน ตามลำดับ รวมระยะหนอนมีอายุ 16-20 วัน เฉลี่ย 20.67±1.61 วัน ระยะก่อนเข้าดักแด้ อายุ 1-2 วัน เฉลี่ย 1.06±0.24 วัน ระยะดักแด้อายุ 7-8 วัน เฉลี่ย 7.28±0.46 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้อายุ 81-160 วัน เฉลี่ย 108.71±29.70 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 102-172 วัน เฉลี่ย 129.86±25.99 วัน (Table 1) รวมระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยอายุ 27-35 วัน เฉลี่ย 29.00±2.17 วัน มีระยะก่อนวางไข่ 6-7 วัน อัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.571 ด้วงเต่าเพศเมีย 1 ตัว วางไข่ได้ 779-854 ฟอง เฉลี่ย 805.86±29.80 ฟอง

การเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ด้วยเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* พบว่า ระยะไข่อายุ 3-5 วัน เฉลี่ย 4.15±0.75 วัน ระยะหนอน มี 4 วัย หนอนวัยที่ 1-4 มีอายุเฉลี่ย 3.42±0.51 3.12±0.33 3.06±0.24 และ 7.71± 0.47 วัน ตามลำดับ รวมระยะหนอนอายุ 16-20 วัน เฉลี่ย 21.24±1.79วัน ระยะก่อนเข้าดักแด้อายุ 1-2 วัน เฉลี่ย 1.12±0.33 วัน ระยะดักแด้อายุ 7-8 วัน เฉลี่ย 7.47±0.51 วันตัวเต็มวัยเพศผู้อายุ 31-109 วัน เฉลี่ย 75.57±24.76 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 63-116 วัน เฉลี่ย 95.57±18.88 วัน (Table 2) รวมระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยอายุ 27-35 วัน เฉลี่ย 29.82±2.43 วัน มีระยะก่อนวางไข่ 6-7 วัน อัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.43 ด้วงเต่าเพศเมีย 1 ตัว วางไข่ได้ 398-501 ฟอง เฉลี่ย 446.86±29.97 ฟอง

การเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ด้วยเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* พบว่าระยะไข่อายุ 3-5 วัน เฉลี่ย 4.70±0.57 วัน ระยะหนอน มี 4 วัย หนอนวัยที่ 1-4 มีอายุเฉลี่ย 3.06±0.24 3.88±0.33 3.06±0.24 และ 7.06±0.24 วัน ตามลำดับ รวมระยะหนอนอายุ 16-20 วัน เฉลี่ย 21.88±0.49 วัน ระยะก่อนเข้าดักแด้อายุ 1-2 วัน เฉลี่ย 1.06±0.24 วัน ระยะดักแด้อายุ 7-8 วัน เฉลี่ย 7.06±0.24 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้อายุ 89-176 วัน เฉลี่ย 113.86±28.86 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 104-181 วัน เฉลี่ย 127.71±27.75 วัน (Table 3) รวมระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย 32-61 วัน เฉลี่ย 34.88±0.78 วัน มีระยะก่อนวางไข่ 6-7 วัน อัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.13 ด้วงเต่าเพศเมีย 1 ตัว วางไข่ได้ 750-827 ฟอง เฉลี่ย 791.14±25.29 ฟอง

การเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก *P. minor* เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* มีการเจริญเติบโตระยะไข่ ระยะหนอน ระยะดักแด้ใช้ระยะเวลาใกล้เคียงกัน ซึ่งด้วงเต่าตัวห้ำที่เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก และเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุเฉลี่ย 129.86±25.99 และ 127.71±27.75 วัน ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุเฉลี่ย 108.71±29.70 และ 113.86±28.86 วัน ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกัน ส่วนด้วงเต่าตัวห้ำที่เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* มีอายุสั้นที่สุด ตัวเต็มวัยเพศเมียและเพศผู้ มีอายุเฉลี่ย 95.57±18.88 และ 75.57±24.76 วัน ตามลำดับ

1.2 ศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งแปซิฟิก *P. minor* เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* พบว่าเมื่อเลี้ยงด้วงเต่าด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก มีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (Net reproductive rate of increase, Ro) เท่ากับ 75.580 เท่า ชั่วอายุขัยของกลุ่ม (Cohort generation time, T_C) เท่ากับ 49.972 วัน อัตราการเพิ่มโดยกรรมพันธุ์ (Capacity for increase, r_c) เท่ากับ 0.087 อัตราการเพิ่มที่แท้จริง (Finite rate of increase, λ) เท่ากับ 1.090 (Table 4) การเลี้ยงด้วงเต่าด้วยเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู มีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิเท่ากับ 67.900 เท่า ชั่วอายุขัยของกลุ่มเท่ากับ 47.937 วัน อัตราการเพิ่มโดยกรรมพันธุ์เท่ากับ 0.088 อัตราการเพิ่มที่แท้จริงเท่ากับ 1.092 ในขณะที่เลี้ยงด้วงเต่าด้วยเพลี้ยแป้งชบา มีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ

เท่ากับ 137.350 เท่า ชั่วอายุขัยของกลุ่มเท่ากับ 49.657 วัน อัตราการเพิ่มโดยกรรมพันธุ์เท่ากับ 0.099 อัตราการเพิ่มที่แท้จริงเท่ากับ 1.104

ตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำที่เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิกเริ่มวางไข่ในวันที่ 30 และวางไข่สูงสุด หลังจากนั้นจะลดลงเรื่อยๆ ช่วงเวลาการวางไข่ใช้เวลา 135 วัน การเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำด้วยเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ตัวเต็มวัยเริ่มวางไข่ในวันที่ 27 และวางไข่สูงสุด หลังจากนั้นจะลดลงเรื่อยๆ ช่วงเวลาการวางไข่ใช้เวลา 120 วัน ส่วนตัวเต็มวัยที่เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชบาเริ่มวางไข่ในวันที่ 30 และวางไข่สูงสุดในวันที่ 39 หลังจากนั้นจะลดลงเรื่อยๆ ช่วงเวลาการวางไข่ใช้เวลา 135 วัน (Figure 1)

จากการศึกษาตารางชีวิตแบบแบบ biological life table ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ซึ่งค่าอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (R_o) บ่งบอกว่าด้วงเต่าตัวห้ำที่เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชบาสามารถผลิตลูกรุ่นต่อไปได้สูงกว่าเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิกและเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู 1.817 และ 2.023 เท่าตามลำดับ มีอัตราการเพิ่มโดยกรรมพันธุ์ (r_c) อัตราการเพิ่มที่แท้จริง (λ) สูงกว่าการเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิกและเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู มีชั่วอายุขัยของกลุ่ม (T_c) เท่ากับ 49.657 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับการเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิกและเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู 49.972 และ 47.937 วัน ตามลำดับ ดังนั้น เพลี้ยแป้งชบามีความเหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* มากที่สุด แต่สามารถนำเพลี้ยแป้งแปซิฟิกและเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูมาใช้เพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำได้เช่นกัน

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาศักยภาพการกินเพลี้ยแป้งของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

จากการศึกษาในขั้นตอนที่ 1 เพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* มีความเหมาะสมสำหรับใช้เลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เนื่องจากให้ค่าอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (R_o) ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* สูงที่สุด จึงนำไปศึกษาศักยภาพการกินเพลี้ยแป้งของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

2.1 ศึกษาศักยภาพการกินไข่ ตัวอ่อน ตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* ของหนอนด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

ศักยภาพการกินของหนอนด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* วัยที่ 1 2 3 และ 4 ในการกินเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* พบว่ากินไข่เพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 144.25 652.75 716.95 และ 2,023.40 ฟอง ตามลำดับ รวมระยะหนอนวัยที่ 1-4 กินไข่เพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 3,535.35 ฟอง และกินไข่เพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 48.08 217.58 238.98 และ 285.50 ฟองต่อวัน การกินตัวอ่อนเพลี้ยแป้งของหนอนด้วงเต่าวัยที่ 1 2 3 และ 4 กินตัวอ่อนเพลี้ยแป้งชบา 22.65 404.10 947.30 และ 2,620.40 ตัว ตามลำดับ รวมระยะหนอนวัยที่ 1-4 กินตัวอ่อนเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 3,994.45 ตัว และกินตัวอ่อนเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 7.55 134.13 315.77 และ 345.52 ตัวต่อวัน ส่วนการกินตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งของหนอนด้วงเต่าวัยที่ 1 2 3 และ 4 พบว่ากินตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 4.55 7.40 11.40 และ 25.90 ตัว ตามลำดับ รวมระยะหนอนวัยที่ 1-4 กินตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 49.25 ตัว และกินตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 1.52 2.43 3.80 และ 3.70 ตัวต่อวัน ตามลำดับ (Table 5)

2.2 ศึกษาศักยภาพการกินไข่ ตัวอ่อน ตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* ของตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

ศักยภาพการกินไข่ ตัวอ่อน ตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งของตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* พบว่าตัวเต็มวัยเพศเมียและเพศผู้กินไข่เพลี้ยแป้งเฉลี่ย 12,097.95 และ 8,125.21 ฟอง ตามลำดับ และกินไข่เพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 91.95 และ 70.61 ฟองต่อวัน กินตัวอ่อนเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 6,953.60 และ 5,983.11 ตัว ตามลำดับ และกินตัวอ่อนเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 54.83 และ 49.74 ตัวต่อวัน และกินตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 713.80 และ 563.26 ตัว ตามลำดับ และกินตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 5.22 และ 4.31 ตัวต่อวัน ตามลำดับ (Table 5)

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอาหารที่ใช้เลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เหมาะสม

การศึกษาอาหารที่ใช้เลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เหมาะสมโดยใช้อาหาร 6 ชนิด ได้แก่ อาหารชนิดที่ 1 เพลี้ยแป้ง อาหารชนิดที่ 2 เพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 20% อาหารชนิดที่ 3 เพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 20%+เยลลี่สำเร็จรูป อาหารชนิดที่ 4 เพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 50% อาหารชนิดที่ 5 เพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 50%+เยลลี่สำเร็จรูป และอาหารชนิดที่ 6 เพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 50%+honey agar medium พบว่ามีจำนวนรุ่นลูกระยะหนอนเฉลี่ย 9,609.50 13,091.25 18,272.00 22,189.25 22,247.00 และ 19,040.25 ตัว ตามลำดับ ซึ่งการเลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำด้วยอาหารชนิดที่ 3 4 5 และ 6 มีจำนวนรุ่นลูกระยะหนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับจำนวนรุ่นลูกระยะดักแด้เฉลี่ย 17,668.25 21,599.50 21,782.25 และ 18,789.25 ตัว ตามลำดับ

การเลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำด้วยอาหารชนิดที่ 1 2 3 4 5 และ 6 มีจำนวนตัวเต็มวัยเพศผู้รุ่นลูกเฉลี่ย 4,231.75 5,841.50 8,393.25 10,474.75 10,559.75 และ 8,978.25 ตัว ตามลำดับ การเลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำด้วยอาหารชนิดที่ 4 5 และ 6 มีจำนวนรุ่นลูกเพศผู้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับจำนวนรุ่นลูกตัวเต็มวัยทั้งหมด มีจำนวนรุ่นลูกเฉลี่ย 20,463.50 21,650.50 และ 18,600.75 ตัว ตามลำดับ ส่วนการเลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำด้วยอาหารชนิดที่ 1 2 3 4 5 และ 6 มีจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียรุ่นลูกเฉลี่ย 4,645.50 6,552.75 9,007.25 11,017.75 11,082.25 และ 9,647.50 ตามลำดับ การเลี้ยงด้วยอาหารชนิดที่ 3 4 5 และ 6 มีจำนวนรุ่นลูกเพศเมียไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้น จึงเลือกอาหารชนิดที่ 5 เพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 50%+เยลลี่สำเร็จรูป ไปใช้เพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เนื่องจากให้จำนวนรุ่นลูกเฉลี่ยระยะหนอน ดักแด้ ตัวเต็มวัยเพศผู้ ตัวเต็มวัยเพศเมีย และจำนวนตัวเต็มวัยทั้งหมดสูงที่สุด คือ 22,247.00 21,782.25 10,559.75 11,082.25 และ 21,650.50 ตัว ตามลำดับ (Table 6)

ขั้นตอนที่ 4 ผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

การทดสอบสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงต่อด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ตรวจผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 1 ชนิด ได้แก่ carbaryl สามารถทำให้ด้วงเต่าตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ malathion (97%) lambda-cyhalothrin (88%) perimiphos-methyl (31%) imidacloprid (11%) thiamethoxam (7%) dinotefuran (3%)

prothiofos (2%) buprofezin (1%) fiprnil (1%) profenofos (1%) และ petroleum oil (1%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น thiamethoxam (7%) dinotefuran (3%) prothiofos (2%) acetamiprid (2%) buprofezin (1%) fipronil (1%) petroleum oil (1%) และ profenofos (1%) ผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ carbaryl perimiphos-methyl malathion และ lambda-cyhalothrin สามารถทำให้ด้วงเต่าตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ thiamethoxam (18%) imidacloprid (11%) dinotefuran (11%) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น acetamiprid (6%) buprofezin (5%) fipronil (3%) และ petroleum oil (2%) prothiofos (2%) และ profenofos (2%) ส่วนผลการทดลองที่ 72 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ perimiphos-methyl carbaryl malathion และ lambda-cyhalothrin สามารถทำให้ด้วงเต่าตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ thiamethoxam (23%) dinotefuran (23%) imidacloprid (17%) acetamiprid (13%) fipronil (12%) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น buprofezin (7%) และ petroleum oil (3%) prothiofos (2%) และ profenofos (2%)

ผลของการจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994) พบว่า สารที่มีพิษร้ายแรง (harmful) ทำให้ด้วงเต่าตาย >99% มีจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ carbaryl perimiphos-methyl malathion และ lambda-cyhalothrin และสารเคมีไม่มีพิษ (harmless) ที่ทำให้ด้วงเต่าตาย <30% (harmless) มีจำนวน 9 ชนิด คือ thiamethoxam imidacloprid dinotefuran buprofezin fipronil petroleum oil prothiofos profenofos และ acetamiprid (Table 7)

การทดสอบสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงต่อด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 1 วัน ตรวจผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 1 ชนิด ได้แก่ carbaryl สามารถทำให้ด้วงเต่าตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ lambda-cyhalothrin (87%) malathion (76%) perimiphos-methyl (64%) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น Imidacloprid (8%) thiamethoxam (4%) fipronil (3%) และ buprofezin (1%) และ prothiofos (1%) โดยที่ petroleum oil (0%) profenofos (0%) dinotefuran (0%) และ acetamiprid (0%) ไม่ทำให้ด้วงเต่าตาย ผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ carbaryl และ malathion สามารถทำให้ด้วงเต่าตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ perimiphos-methyl (99%) lambda-cyhalothrin (98%) thiamethoxam (9%) imidacloprid (9%) fipronil (7%) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น buprofezin (4%) acetamiprid (3%) dinotefuran (2%) และ prothiofos (2%) profenofos (1%) โดยที่ petroleum oil (0%) ไม่ทำให้ด้วงเต่าตาย ผลการทดลองที่ 72 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ carbaryl malathion และ lambda-cyhalothrin สามารถทำให้ด้วงเต่าตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ perimiphos-methyl (99%) imidacloprid (28%) thiamethoxam (15%) acetamiprid (10%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น dinotefuran (8%) fipronil (7%), buprofezin (5%) prothiofos (3%) และ profenofos (2%) โดยที่ petroleum oil (0%) ไม่ทำให้ด้วงเต่าตาย

ผลของการจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994) พบว่าสารที่มีพิษร้ายแรง (harmful) ทำให้ด้วงเต่าตาย (>99%) มีจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ carbaryl malathion และ lambda-cyhalothrin สารที่มีพิษปานกลาง (moderately harmful) ทำให้ด้วงเต่าตาย 80-99% มีจำนวน 1 ชนิด คือ perimiphos-methyl และสารเคมีไม่มีพิษ (harmless) ที่ทำให้ด้วงเต่าตาย <30% มีจำนวน 9 ชนิด คือ thiamethoxam imidacloprid dinotefuran buprofezin fipronil petroleum oil prothiofos profenofos และ acetamiprid (Table 8)

การทดสอบสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงต่อด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 7 วัน ตรวจผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 1 ชนิด ได้แก่ carbaryl สามารถทำให้ด้วงเต่าตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ lambda-cyhalothrin (92%) malathion (83%) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น acetamiprid (5%) fipronil (3%) thiamethoxam (2%) buprofezin (2%) perimiphos-methyl (2%) และ dinotefuran (1%) โดยที่ petroleum oil (0%) Imidacloprid (0%) prothiofos (1%) และ profenofos (0%) ไม่ทำให้ด้วงเต่าตาย ผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ carbaryl และ lambda-cyhalothrin สามารถทำให้ด้วงเต่าตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ malathion (99%) perimiphos-methyl (83%) thiamethoxam (11%) buprofezin (8%) acetamiprid (8%) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น fipronil (6%) Imidacloprid (4%) dinotefuran (4%) profenofos (3%) และ prothiofos (2%) โดยที่ petroleum oil (0%) ไม่ทำให้ด้วงเต่าตาย ผลการทดลองที่ 72 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ carbaryl lambda-cyhalothrin และ malathion สามารถทำให้ด้วงเต่าตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ perimiphos-methyl (99%) thiamethoxam (23%) buprofezin (9%) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น fipronil (6%) imidacloprid (5%) dinotefuran (5%) profenofos (4%) acetamiprid (2%) และ prothiofos (2%) โดยที่ petroleum oil (0%) ไม่ทำให้ด้วงเต่าตาย

ผลของการจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994) พบว่า สารที่มีพิษร้ายแรง (harmful) ทำให้ด้วงเต่าตาย (>99%) มีจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ carbaryl lambda-cyhalothrin และ malathion สารที่มีพิษปานกลาง (moderately harmful) ทำให้ด้วงเต่าตาย 80-99% มีจำนวน 1 ชนิด คือ perimiphos-methyl และสารเคมีไม่มีพิษ (harmless) ที่ทำให้ด้วงเต่าตาย <30% มีจำนวน 9 ชนิด คือ thiamethoxam imidacloprid dinotefuran buprofezin fipronil profenofos prothiofos acetamiprid และ petroleum oil (Table 9)

การทดสอบสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงต่อด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 14 วัน ตรวจผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่า carbaryl สามารถทำให้ด้วงเต่าตายสูงที่สุด 91% รองลงมาคือ lambda-cyhalothrin (98%) malathion (32%) perimiphos-methyl (18%)

มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น thiamethoxam (7%) imidacloprid (7%) fipronil (1%) และacetamiprid (1%) โดยที่ dinotefuran (0%) buprofezin (0%) petroleum oil (0%) profenofos (0%) และ prothiofos (0%) ไม่ทำให้ด้วงเต่าตาย ผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง พบว่า carbaryl สามารถทำให้ด้วงเต่าตาย 99% รองลงมาคือ คือ lambda-cyhalothrin (93%) malathion (91%) perimiphos-methyl (57%) thiamethoxam (11%) มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น imidacloprid (9%) acetamiprid (2%) buprofezin (1%) และ fipronil (1%) โดยที่ dinotefuran (0%) petroleum oil (0%) profenofos (0%) และ prothiofos (0%) ไม่ทำให้ด้วงเต่าตาย ผลการทดลองที่ 72 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ carbaryl malathion และ lambda-cyhalothrin สามารถทำให้ด้วงเต่าตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ perimiphos-methyl (84%) thiamethoxam (11%) imidacloprid (9%) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น acetamiprid (2%) buprofezin (1%) fipronil (1%) โดยที่ dinotefuran (0%) และ petroleum oil ((0%) profenofos (0%) และ prothiofos ไม่ทำให้ด้วงเต่าตาย

ผลของการจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994) พบว่า สารที่มีพิษร้ายแรง (harmful) ทำให้ด้วงเต่าตาย (>99%) มีจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ carbaryl lambda-cyhalothrin และ malathion สารที่มีพิษปานกลาง (moderately harmful) (80-99%) มีจำนวน 1 ชนิด คือ perimiphos-methyl และสารเคมีไม่มีพิษ (harmless) ที่ทำให้ด้วงเต่าตาย <30% มีจำนวน 9 ชนิด ได้แก่ thiamethoxam imidacloprid dinotefuran buprofezin fipronil petroleum oil acetamiprid profenofos และ prothiofos (Table 10)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดเพลี้ยแป้งที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งแปซิฟิก *P. minor* เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* พบว่าด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* สามารถเจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตได้ และมีวงจรชีวิตใกล้เคียงกัน การเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก ตัวเต็มวัยด้วงเต่าวางไข่ได้มากที่สุด เฉลี่ย 805.86±29.80 ฟอง รองลงมาคือเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชบา และเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูวางไข่เฉลี่ย 791.14±25.29 และ 446.86±29.97 ฟอง ตามลำดับ ตารางชีวิตแบบ biological life table ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* พบว่าด้วงเต่าตัวห้ำที่เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชบามีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (R_o) สูงที่สุด รองลงมาคือเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก และเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู เพลี้ยแป้งชบาจึงมีความเหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* มากที่สุด

การศึกษาศักยภาพการกินเพลี้ยแป้งของหนอนและตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* พบว่าระยะหนอนด้วงเต่าตัวห้ำ กินไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบาได้เฉลี่ย 3,535.35

3,994.45 และ 49.25 ตัว ตามลำดับ ระยะตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ เพศเมียกินไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 12,097.95 6,953.60 และ 713.80 ตัว ตามลำดับ ส่วนตัวเต็มวัยเพศผู้กินไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งชบาเฉลี่ย 8,125.21 5,983.11 และ 563.26 ตัว ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียกินเพลี้ยแป้งได้มากกว่าตัวเต็มวัยเพศผู้และมีอายุนานกว่าตัวเต็มวัยเพศผู้

การศึกษาอาหารที่ใช้เลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เหมาะสม พบว่าการเลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำด้วยเพลี้ยแป้ง+น้ำผึ้ง 50%+เยลลี่สำเร็จรูป มีจำนวนรุ่นลูกระยะหนอนดักแด้ ตัวเต็มวัยเพศผู้ ตัวเต็มวัยเพศเมียและจำนวนตัวเต็มวัยทั้งหมดสูงที่สุด จึงนำไปใช้เพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ให้มีปริมาณมาก

การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* จำนวน 13 ชนิด พบว่าสารกำจัดแมลง 9 ชนิด ได้แก่ thiamethoxam imidacloprid dinotefuran buprofezin fipronil petroleum oil prothiofos profenofos และ acetamiprid ไม่มีพิษต่อด้วงเต่า *C. montrouzieri* สามารถปล่อยด้วงเต่าหลังการพ่นสารกำจัดแมลง 2 ชั่วโมงขึ้นไป ส่วนสารกำจัดแมลง perimiphos-methyl carbaryl malathion และ lambda-cyhalothrin มีพิษปานกลางถึงมีพิษร้ายแรงกับด้วงเต่า *C. montrouzieri* จึงไม่แนะนำให้ปล่อยด้วงเต่าในแปลงที่มีการพ่นสารกำจัดแมลง 2 ชนิดนี้ เพื่อความปลอดภัยของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri*

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนายสมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น ผู้อำนวยกลุ่มกีฏและสัตววิทยา บริษัท โซตัส อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด และบริษัท ซินเจนทา ครอป โปรเทคชั่น จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์สารป้องกันกำจัดแมลง ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัยคุณสุณิสา ชมชิด กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยเก็บข้อมูลงานวิจัยทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงเป็นไปตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

บุปผา เหล่าสินชัย และชลิดา อุณหวุฒิ. 2543. เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอยศัตรูพืชที่สำคัญ. เอกสารวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 70 หน้า.

รจนา ไวยเจริญ อัมพร วิโนทัย และประภัสสร เชยคำแหง. 2558. พัฒนาการเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant เป็นปริมาณมากเพื่อควบคุมเพลี้ยแป้ง. หน้า 565-584. *ใน :* รายงานผลการวิจัย ประจำปี 2558. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

สมหมาย ชื่นราม. 2545. ด้วงเต่าในประเทศไทย. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 211 หน้า.

Abbott, W. S. 1925. Method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology. 18: 256-267.

Hassan, S.A., F. Bigler, H. Bogenschutz, E. Boller, J. Brun, M. Calis, J. Coremamspelseneer, C. Duso, A. Grove, U. Heimbach, N. Helyer, H. Hokkanen, G.B. Lewis, F. Mansour, L. Moreth, L. Polgar, L. Samsoe-petersen, B. Sauphanor, A. Staubli, G. Sterk, A. Vainio, M. Van De Veire, G Viggiani and H. Vogt. 1994. Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS-working group "pesticides and beneficial organisms". Entomophaga. 39: 107-119.

Mani, M. and A. Krishnamoorthy. 2007. Recent trends in the biological suppression of guava pests in India. *Acta Horticulturae*. 735: 469-482.

Mani, M. and A. Krishnamoorthy. 2008. Biological suppression of the mealybugs *Planococcus citri* (Risso), *Ferrisia virgata* and *Nipaecoccus viridis* on pummelo with *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant in India. *Journal of Biological Control*. 22(1): 169-172.

Table 1 Developmental stage of *Cryptolaemus montrouzieri* when fed with *Planococcus minor* under laboratory condition (25±2 °C and 65±2 % RH).

Stage of development	No. of insects	Mean±SD (days)	Range (days)
Egg:	20	4.20±0.77	3-5
Larva:			
I Instar	19	3.32±0.48	3-4
II Instar	18	3.06±0.24	3-4
III Instar	18	3.06±0.24	3-4
Iv Instar	18	7.17±0.38	7-8
Total period:	18	20.67±1.61	16-20
Prepupa:	18	1.06±0.24	1-2
Pupa:	18	7.28±0.46	7-8
Adult:			
Male	7	108.71±29.70	81-160
Female	11	129.86±25.99	102-172

Table 2 Developmental stage of *Cryptolaemus montrouzieri* when fed with *Phenacoccus manihoti* under laboratory condition (25±2 °C and 65±2 % RH)

Stage of development	No. of insects	Mean±SD (days)	Range (days)
Egg:	20	4.15±0.75	3-5
Larva:			
I Instar	19	3.42±0.51	3-4
II Instar	17	3.12±0.33	3-4
III Instar	17	3.06±0.24	3-4
Iv Instar	17	7.71± 0.47	7-8
Total period:	17	21.24±1.79	16-20
Prepupa:	17	1.12±0.33	1-2
Pupa:	17	7.47±0.51	7-8
Adult:	17		
Male	7	75.57±24.76	31-109
Female	10	95.57±18.88	63-116

Table 3 Developmental stage of *Cryptolaemus montrouzieri* when fed with *Maconellicoccus hirsutus* under laboratory condition (25±2 °C and 65±2 % RH)

Stage of development	No. of insects	Mean±SD (days)	Range (days)
Egg:	20	4.70±0.57	3-5
Larva:			
I Instar	18	3.06±0.24	3-4
II Instar	17	3.88±0.33	3-4
III Instar	17	3.06±0.24	3-4
Iv Instar	17	7.06± 0.24	7-8
Total period:	17	21.88±0.49	16-20
Prepupa:	17	1.06±0.24	1-2
Pupa:	17	7.06±0.24	7-8
Adult:	17		
Male	8	113.86±28.86	89-176
Female	9	127.71±27.75	104-181

Table 4 Biological attributes of *Cryptolaemus montrouzieri* when fed with *Planococcus minor*, *Phenacoccus manihoti* and *Maconellicoccus hirsutus* under laboratory condition (25±2 °C and 65±2 % RH)

Bioloical attributes	Prey		
	P. minor	*P. manihoti*	*M. hirsutus*
Net reproductive rate of increase (R_o)	75.580	67.900	137.350
Cohort generation time (T_c) (days)	49.972	47.937	49.657
Capacity for increase (r_c)	0.087	0.088	0.099
Finite rate of increase (λ)	1.090	1.092	1.104

Table 5 Feeding capacity of larva stages and adult stages of *Cryptolaemus montrouzieri* when fed with *Maconellicoccus hirsutus* under laboratory condition (25±2 °C and 65±5% RH).

Stage of development	No. of *M. hirsutus* was consumed (Mean)					
	egg		nymph		adult	
	total	per day	total	per day	total	per day
Larva stage						
I Instar	144.25	48.08	22.65	7.55	4.55	1.52
II Instar	652.75	217.58	404.10	134.13	7.40	2.43
III Instar	716.95	238.98	947.30	315.77	11.40	3.80
Iv Instar	2,023.40	285.50	2,620.40	345.52	25.90	3.70
Total	**3,535.35**		**3,994.45**		**49.25**	
Adult stage						
Female	12,097.95	91.95	6,953.60	54.83	713.80	5.22
Male	8,125.21	70.61	5,983.11	49.74	563.26	4.31

Table 6 Number of progeny of *Cryptolaemus montrouzieri* when fed with different food under laboratory condition (25±2 °C and 65±5% RH)

Food	No. of *C. montrouzieri* [1/]				
			Adult		
	Larva	Pupa	Male	Female	Total
1. Mealybug	9,609.50 b	9,272.25 b	4,231.75 c	4,654.50 b	8,886.25 c
2. Mealybug+honey 20%	13,091.25 b	12,700.00 b	5,841.50 c	6,552.75 b	12,495.00 c
3. Mealybug+honey 20%+jelly	18,272.00 a	17,668.25 a	8,393.25 b	9,007.25 a	17,382.00 b
4. Mealybug+honey 50%	22,189.25 a	21,599.50 a	10,474.75 a	11,017.75 a	20,463.50 ab
5. Mealybug+honey 50%+jelly	22,247.00 a	21,782.25 a	10,559.75 a	11,082.25 a	21,650.50 a
6. Mealybug+honey 50% +honey-agar medium	19,040.25 a	18,789.25 a	8,978.25 ab	9,647.50 a	18,600.75 ab
C.V. (%)	**15.68**	**15.80**	**16.36**	**16.09**	**15.37**

[1/] In a column, means followed by the same letters are not significantly different at the 5% level by DMRT.

Table 7 Percent mortality of adult stages of *Cryptolaemus montrouzieri* after 2 hours exposure to each of 13 insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	% mortality[1/]			IOBC category [2/]
	24 hours	48 hours	72 hours	
thiamethoxam 25% WG	7 ab	18 c	23 e	1
imidacloprid 70% WG	11 b	11 b	17 de	1
dinotefuran 20% WG	3 a	11 b	23 e	1
perimiphos-methyl 50% EC	31 c	100 d	100 f	4
buprofezin 40%SC	1 a	5 ab	7 abc	1
carbaryl 85% WP	100 e	100 d	100 f	4
fipronil 5% SC	1 a	3 a	12 bcd	1
petroleum oil 83.9% EC	1 a	2 a	3 ab	1
prothiofos 50% EC	2 a	2 a	2 a	1
profenofos 50%EC	1 a	2 a	2 a	1
malathion 83% EC	97 e	100 d	100 f	4
acetamiprid 2.85% EC	2 a	6 ab	13 cd	1
lambda-cyhalothrin 25% EC	88 d	100 d	100 f	4
control	0 a	0 a	0 a	
C.V. (%)	**34.77**	**20.86**	**28.04**	

[1/] Means in the same column followed by the different characters are significantly different (P<0.05) by DMRT

[2/] 1 = harmless (<30%), 2 = slightly harmful (30–79%), 3 = moderately harmful (80–99%), 4 = harmful (>99%), Hassan *et al*. (1994)

Table 8 Percent mortality of adult stages of *Cryptolaemus montrouzieri* after 1 day exposure to each of 13 insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	% mortality[1/]			IOBC category [2/]
	24 hours	48 hours	72 hours	
thiamethoxam 25% WG	4 a	9 c	15 c	1
imidacloprid 70% WG	8 a	9 c	28 d	1
dinotefuran 20% WG	0 a	2 ab	8 abc	1
perimiphos-methyl 50% EC	64 b	99 d	99 e	3
buprofezin 40%SC	1 a	4 abc	5 ab	1
carbaryl 85% WP	100 c	100 d	100 e	4
fipronil 5% SC	3 a	7 bc	7 abc	1
petroleum oil 83.9% EC	0 a	0 a	0 a	1
prothiofos 50% EC	1 a	2 ab	3 ab	1
profenofos 50% EC	0 a	1 a	2 ab	1
malathion 83% EC	76 c	100 d	100 e	4
acetamiprid 2.85% EC	0 a	3 ab	10 bc	1
lambda-cyhalothrin 25% EC	87 c	98 d	100 e	4
control	0 a	0 a	0 a	
C.V. (%)	**51.38**	**18.84**	**24.93**	

[1/] Means in the same column followed by the different characters are significantly different (P<0.05) by DMRT

[2/] 1 = harmless (<30%), 2 = slightly harmful (30–79%), 3 = moderately harmful (80–99%), 4 = harmful (>99%), Hassan *et al*. (1994)

Table 9 Percent mortality of adult stages of *Cryptolaemus montrouzieri* after 7 days exposure to each of 13 insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	% mortality[1/]			IOBC category [2/]
	24 hours	48 hours	72 hours	
thiamethoxam 25% WG	2 a	11 c	23 d	1
imidacloprid 70% WG	0 a	4 abc	5 ab	1
dinotefuran 20% WG	1 a	4 abc	5 ab	1
perimiphos-methyl 50% EC	2 a	83 d	99 e	3
buprofezin 40%SC	2 a	8 bc	9 bc	1
carbaryl 85% WP	100 d	100 d	100 e	4
fipronil 5% SC	3 a	6 abc	6 abc	1
petroleum oil 83.9% EC	0 a	0 a	0 a	1
prothiofos 50% EC	0 a	2 ab	2 a	1
profenofos 50%EC	0 a	3 ab	4 ab	1
malathion 83% EC	83 b	99 e	100 e	4
acetamiprid 2.85% EC	5 a	8 bc	2 ab	1
lambda-cyhalothrin 25% EC	92 c	100 e	100 a	4
control	0 a	0 a	0 a	
C.V. (%)	**24.33**	**22.95**	**20.58**	

[1/] Means in the same column followed by the different characters are significantly different (P<0.05) by DMRT

[2/] 1 = harmless (<30%), 2 = slightly harmful (30–79%), 3 = moderately harmful (80–99%), 4 = harmful (>99%), Hassan *et al*. (1994)

Table 10 Percent mortality of adult stages of *Cryptolaemus montrouzieri* after 14 days exposure to each of 13 insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	% mortality[1/]			IOBC category [2/]
	24 hours	48 hours	72 hours	
thiamethoxam 25% WG	7 a	11 b	11 b	1
imidacloprid 70% WG	7 a	9 ab	9 bc	1
dinotefuran 20% WG	0 a	0 a	0 a	1
perimiphos-methyl 50% EC	18 b	57 c	84 d	3
buprofezin 40%SC	0 a	1 a	1 a	1
carbaryl 85% WP	91 e	99 d	100 e	4
fipronil 5% SC	1 a	1 ab	1 a	1
petroleum oil 83.9% EC	0 a	0 a	0 a	1
prothiofos 50% EC	0 a	0 a	0 a	1
profenofos 50% EC	0 a	0 a	0 a	1
malathion 83% EC	32 c	91 d	100 e	4
acetamiprid 2.85% EC	1 a	2 a	2 ab	1
lambda-cyhalothrin 25% EC	78 d	93 d	100 e	4
control	0 a	0 a	0 a	
C.V. (%)	**51.37**	**35.14**	**28.28**	

[1/] Means in the same column followed by the different characters are significantly different (P<0.05) by DMRT

[2/] 1 = harmless (<30%), 2 = slightly harmful (30–79%), 3 = moderately harmful (80–99%), 4 = harmful (>99%), Hassan *et al*. (1994)

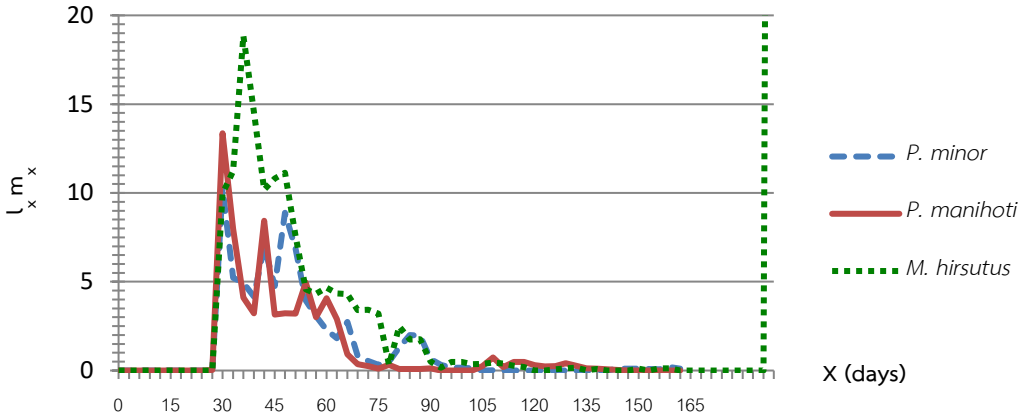


Figure 1 Mean number of *Cryptolaemus montrouzieri* egg when fed with *Planococcus minor*, *Phenacoccus manihoti* and *Maconellicoccus hirsutus* under laboratory condition (25±2 °C and 65±5% RH)

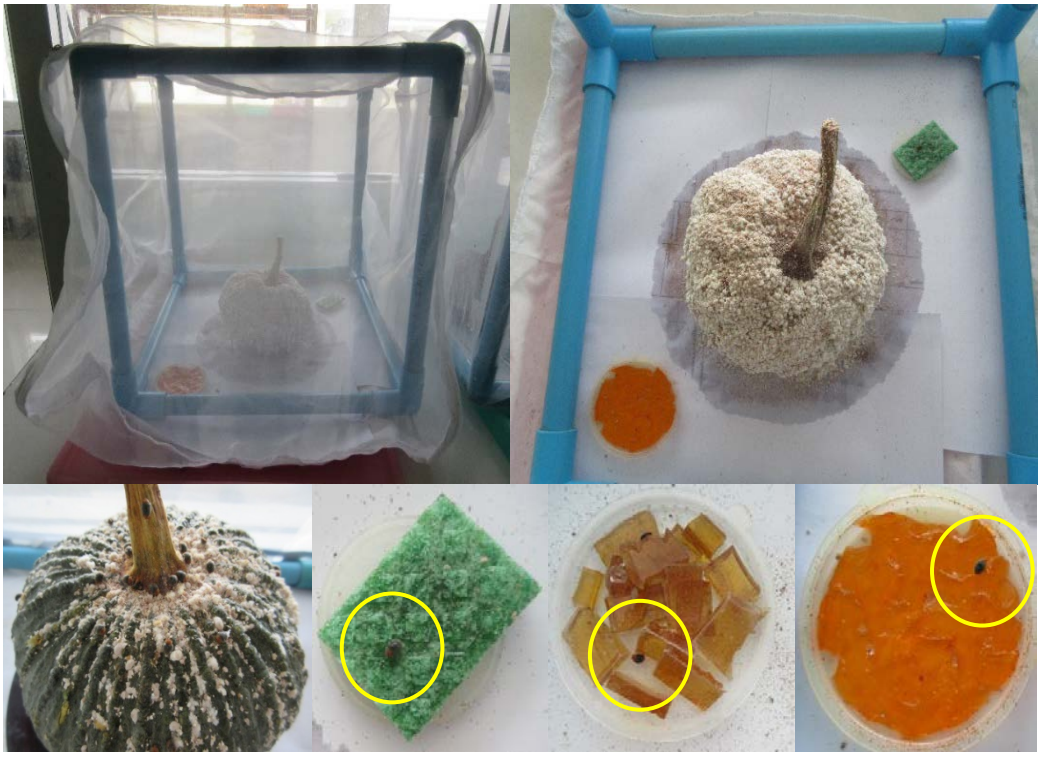


Figure 2 Adults of *Cryptolaemus montrouzieri* when fed with different food under laboratory condition (25±2 °C and 65±5% RH)

การศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)

Potential of *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) for control *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)

อทิติยา แก้วประดิษฐ์ สุนัดดา เชาวลิต ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ วีระชัย สมศรี
ณพชรกร ธไภษัชย์ วิมลวรรณ โชติวงศ์ สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Cardiastethus exiguus is a natural predator that is highly beneficial for controlling various pest species, particularly thrips, red mites, and whiteflies, which cause significant damage to many economic crops. This research aimed to explore the feasibility of using *C. exiguus* to control tobacco whiteflies. The study was conducted from October 2021 to November 2023. The biological characteristics of *C. exiguus* were examined, revealing an average egg duration of 3.48±0.50 days and five nymphal stages with average durations of 5.40±0.96, 4.28±0.81, 5.09±0.87, 5.13±0.89, and 5.62±0.96 days, respectively. The average duration of the nymphal stages 1-5 was 25.52±0.50 days. Females lived longer than males, with males averaging 7.45+1.84 days and females 8.25+1.82 days. The biological life table study indicated that *C. exiguus* could develop into an adult when fed with tobacco whiteflies but could not lay eggs. The predation efficiency of *C. exiguus* on tobacco whiteflies was also studied, revealing that nymphs of all stages consumed an average of 2.43+1.04, 4.84+1.32, 5.61+1.41, 7.33+1.72, and 9.85+2.31 whiteflies, respectively, while adult males and females consumed an average of 84.45+32.84 and 52.66+20.33 whiteflies, respectively. In Experiment 1, the efficiency of different stages of *C. exiguus* in controlling tobacco whiteflies was tested across four methods: releasing 3rd-instar nymphs, releasing

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-05-65

4th-instar nymphs, releasing adults, and not releasing predators. The results showed that releasing *C. exiguus* was effective in controlling tobacco whiteflies, and this method was further tested in Experiment 2. In Experiment 2, three methods were compared: the farmer's method, organic farming method, and DOA method (using chemical pesticides with *C. exiguus*). The DOA method, which involved releasing 3-5 predators per plant combined with chemical pesticides, effectively reduced tobacco whitefly populations and resulted in the highest net income of 820.99 THB (per 9 plants). This study demonstrates the feasibility of using *C. exiguus* as a management strategy for pest control and highlights its potential for application in pest management in cannabis cultivation. The findings can be disseminated to farmers to utilize *C. exiguus* as a pest control technology.

Keywords : *Cardiastethus exiguus, Bemisia tabaci*, Pest control Cannabis pest management

บทคัดย่อ

มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด โดยเฉพาะเพลี้ยไฟ ไรแดง และแมลงหวี่ขาวยาสูบ ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่ทำความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจหลายชนิด โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้มวนตัวห้ำควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ การศึกษาดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - พฤศจิกายน 2566 ผลการศึกษาคุณลักษณะทางชีววิทยาของมวนตัวห้ำ พบว่า ระยะไข่ใช้เวลาเฉลี่ย 3.48±0.50 วัน และระยะตัวอ่อนมีทั้งหมด 5 วัย โดยมีระยะเฉลี่ย 5.40±0.96, 4.28±0.81, 5.09±0.87, 5.13±0.89 และ 5.62±0.96 วันตามลำดับ ระยะตัวอ่อนวัยที่ 1-5 ใช้เวลาเฉลี่ย 25.52±0.50 วัน โดยเพศเมียมีอายุยืนยาวกว่าเพศผู้ เพศผู้มีอายุเฉลี่ย 7.45+1.84 วัน และเพศเมียมีอายุเฉลี่ย 8.25+1.82 วัน การศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table พบว่ามวนตัวห้ำสามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยได้เมื่อเลี้ยงด้วยแมลงหวี่ขาวยาสูบ แต่ไม่สามารถวางไข่ได้ จากการศึกษาประสิทธิภาพในการกินแมลงหวี่ขาวยาสูบ พบว่ามวนตัวห้ำทุกวัยสามารถกินแมลงหวี่ขาวยาสูบได้เฉลี่ย 2.43+1.04, 4.84+1.32, 5.61+1.41, 7.33+1.72 และ 9.85+2.31 ตัว ตามลำดับ และตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียสามารถกินได้เฉลี่ย 84.45+32.84 และ 52.66+20.33 ตัว ตามลำดับ ในการทดลองที่ 1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำแต่ละวัยในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ 4 กรรมวิธี พบว่า กรรมวิธีที่ใช้มวนตัวห้ำมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ โดยผลของการทดลองที่ 1 นำไปสู่การทดลองที่ 2 ซึ่งศึกษาเปรียบเทียบ 3 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีเกษตรกร กรรมวิธีเกษตรอินทรีย์ และกรรมวิธี DOA (การใช้สารเคมีร่วมกับการใช้มวนตัวห้ำ) พบว่า กรรมวิธี DOA ใช้มวนตัวห้ำจำนวน 3-5 ตัวต่อต้น ร่วมกับสารเคมี สามารถลดปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบได้และมีรายได้สุทธิสูงสุดถึง 820.99

บาท (ต่อ 9 ต้น) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการใช้มวนตัวห้ำเป็นหนึ่งในยุทธวิธีในการบริหารจัดการศัตรูพืชและสามารถนำไปถ่ายทอดให้เกษตรกรเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงและไรศัตรูพืชในพืชเศรษฐกิจ เช่น กัญชา

คำหลัก : มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* แมลงหวี่ขาวยาสูบ การควบคุมศัตรูพืช การจัดการศัตรูพืชสกุลกัญชา

คำนำ

ในยุคที่การเกษตรไทยต้องเผชิญกับความท้าทายจากศัตรูพืชปากดูดหลายชนิด เช่น เพลี้ยไฟ ไรแดง และ แมลงหวี่ขาว การใช้สารเคมีกลายเป็นทางเลือกแรกที่เกษตรกรคุ้นเคย แต่ทว่า วิธีการนี้กลับนำมาซึ่งผลกระทบที่ซับซ้อน ทั้งการดื้อยาของศัตรูพืช การตกค้างของสารพิษในผลผลิต และความเสื่อมโทรมของสิ่งแวดล้อม ซึ่งท้ายที่สุดแล้ว ผู้บริโภคต้องแบกรับความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างเหล่านี้ ท่ามกลางปัญหาดังกล่าว การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีจึงเป็นทางออกที่ยั่งยืนและปลอดภัยกว่า การใช้ประโยชน์จากศัตรูธรรมชาติที่มีอยู่ในระบบนิเวศอย่างมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* ไม่เพียงแต่ช่วยควบคุมประชากรศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ยังลดการพึ่งพาสารเคมีที่เป็นอันตรายอีกด้วย มวนตัวห้ำซึ่งเป็นนักล่าตามธรรมชาติ สามารถจัดการศัตรูพืชได้หลากหลายชนิด ทั้งเพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้ง และไรแดง ซึ่งขณะนี้ได้มีการใช้ควบคุมเพลี้ยไฟในโรงเรือนเมล่อนและมะเขือเทศได้ผลเป็นอย่างดี งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการต่อยอดการใช้มวนตัวห้ำ *C exiguus* เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาว ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายอย่างมากต่อพืชเศรษฐกิจของไทย โดยหวังว่าผลจากการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรในการลดการใช้สารเคมี และผลิตผลผลิตทางการเกษตรที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus*
2. ต้นมะเขือเปราะพันธุ์หยดน้ำ/ต้นกัญชา
3. กล้องจุลทรรศน์
4. โรงเรือนตาข่ายขนาด 3*3*5 เมตร
5. กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 9.5x14.5x5.5 เซนติเมตร
6. ไข่ผีเสื้อข้าวสาร
7. กระดาษทิชชู่อเนกประสงค์

วิธีการ

การเตรียมเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ C. exiguus

นำมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ระยะตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จำนวน 50 คู่ ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 9.5x14.5x5.5 เซนติเมตร ใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นอาหารปริมาณ 0.5 กรัมต่อกล่อง ให้อาหารสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ตัดกระดาษชำระขนาด 8x10 เซนติเมตร จำนวน 5 แผ่น วางใส่ลงในกล่อง เพื่อให้มวนตัวห้ำวางไข่บนกระดาษ จากนั้นจึงนำมวนตัวห้ำในแต่ละวัยไปใช้ในการทดลองต่อไป (Figure 1)

เตรียมพ่อแม่พันธุ์แมลงหวี่ขาวยาสูบ และเตรียมต้นมะเขือเปราะ/ต้นกัญชา

นำมาเลี้ยงเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณโดยใช้ต้นกล้ามะเขือเปราะอายุ 2 เดือน จำนวน 100 ต้น นำมาปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15เซนติเมตร วางบนถาดรองพลาสติกกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร เพื่อสะดวกในการให้น้ำกับต้นมะเขือเปราะ ใส่ในกรงขนาด 50x50x70 เซนติเมตร ทุกด้านปิดด้วยผ้าตาข่ายถี่ นำใบมะเขือเปราะที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบจากแปลงมะเขือเปราะที่เก็บมาจากตำบลท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี มาวางบนต้นมะเขือเปราะที่เตรียมไว้ในแต่ละกรง เพื่อให้ขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณ เพื่อนำมาใช้ในการทดลอง (Figure 2)

1. การศึกษาคุณลักษณะทางชีววิทยาของมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus*

1.1 การศึกษาคุณลักษณะทางชีววิทยาของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

รวบรวมไข่ของมวนตัวห้ำ จำนวน 50 ฟองใส่กล่องพลาสติกใสขนาดกว้าง 8.5x13x7 เซนติเมตร วางกระดาษชำระขนาด 8x10 เซนติเมตร เมื่อไข่ฟักเป็นตัวอ่อน แยกตัวอ่อนโดยใช้พู่กันเบอร์ 0 เขี่ยตัวอ่อนแต่ละตัวไปเพาะเลี้ยงใน Petri-dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 1 เซนติเมตรซึ่งมีฝาปิดสนิท กล่องละ 1 ตัว และใส่ใบมะเขือขนาด 3x3 เซนติเมตร รองด้วยกระดาษกรองชื้นให้แมลงหวี่ขาว เป็นอาหารทุกวัน วันละ 20 ตัว บันทึกรายละเอียดลักษณะทั่วไปแต่ละระยะการเจริญเติบโตขนาดและช่วงอายุการเจริญเติบโตของมวนตัวห้ำ ในแต่ละระยะตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย

1.2 การศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table

รวบรวมไข่มวนตัวห้ำที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จำนวน 100 ฟอง ใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด 8.5x13x7 เซนติเมตร วางกระดาษชำระขนาด 8x10 เซนติเมตร เมื่อไข่ฟักเป็นตัวอ่อน แยกตัวอ่อนแต่ละตัวไปเลี้ยงในจานขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร สูง 1 เซนติเมตร มีฝาปิดสนิท จานละ 1 ตัว จำนวน 5 จาน ภายในจานใส่ใบมะเขือเปราะขนาด 3x3 เซนติเมตร โดยให้เหยื่อแมลงหวี่ขาวยาสูบ จานละ 20 ตัว เติมเหยื่อให้ครบ 20 ตัวทุกวัน รองด้วยกระดาษกรองชื้นแล้วเปลี่ยนใบมะเขือใหม่ทุกวันเช่นกัน เลี้ยงมวนตัวห้ำเป็นตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียมาผสมพันธุ์และวางไข่

การบันทึกข้อมูล

- ข้อมูลจำนวนไข่ของมวนตัวห้ำทุกวัน จนกระทั่งมวนตัวห้ำตาย นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างตารางชีวิตแบบ biological life table

2. ศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* ในการกินแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* ในห้องปฏิบัติการ

การทดลองนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำ ในแต่ละวัยในการกินจำนวนเหยื่อชนิดต่าง ๆ นำมวนตัวห้ำ ทุกระยะของการเจริญเติบโต ระยะละ 20 ตัว โดยแยกเลี้ยงใน Petri dish ซึ่งมีฝาปิดสนิทกล่องละ 1 ตัว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 1 เซนติเมตร และใส่ใบมะเขือเปราะขนาด 3x3 เซนติเมตร รองด้วยกระดาษกรองชื้น จำนวน 20 ซ้ำ หน่วยการทดลองคือ 1 petris dish (มวนตัวห้ำ 1 ตัวต่อ 1 petri dish ที่มีเหยื่อ 20 ตัว) ต่อทรีทเมนต์ต่อซ้ำ เป็นการทดลองแบบไม่มีการให้เลือก (no-choice test) โดยให้เหยื่อในเวลาเดียวกันทุกวัน ให้เหยื่อวันละ 20 ตัว

การบันทึกข้อมูล

- ข้อมูลจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่มวนตัวห้ำกินทั้งหมดในแต่ละระยะการเจริญเติบโต นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

3. ศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* บนพืชสกุลกัญชาในสภาพโรงเรือน

3.1 วางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยตัวอ่อนของมวนตัวห้ำวัยที่ 3

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยตัวอ่อนของมวนตัวห้ำวัยที่ 4

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยตัวเต็มวัยของมวนตัวห้ำ

กรรมวิธีที่ 4 ไม่ปล่อยมวนตัวห้ำ

ปล่อยมวนตัวห้ำจำนวน 1 ตัวต่อต้นกัญชา 1 ต้น เป็น 1 หน่วยการทดลองต่อกรรมวิธีต่อซ้ำ ใส่แมลงหวี่ขาวระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย จำนวน 20 ตัวต่อต้นกัญชา ทุกกรรมวิธี นำต้นกัญชาอายุ 1 เดือน จำนวน 1 ต้น วางบนถาดรองพลาสติก โดยทุกต้นอยู่ในแก้วและคลุมด้วยผ้าขาวบาง เพื่อป้องกันมวนตัวห้ำหลบหนีออกไปต้นอื่น

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนแมลงหวี่ขาวหลังจากทำการปลดปล่อยมวนตัวห้ำทุก 24 ชั่วโมง จนกระทั่งแมลงหวี่ขาวยาสูบตายหมด และความชื้นและอุณหภูมิภายในโรงเรือนทุกวันตลอดระยะเวลาทดลอง

- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

3.2 วางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 3 โรงเรือน แต่ละโรงเรือนมี 3 กรรมวิธี ดังนี้

โรงเรือนที่ 1 กรรมวิธีเกษตรกร

โรงเรือนที่ 2 กรรมวิธีเกษตรอินทรีย์

โรงเรือนที่ 3 กรรมวิธี DOA

ศึกษาในโรงเรือนปลูกกัญชา ที่โรงเรือนทดสอบความปลอดภัยทางชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร เป็นโรงเรือนมุ้งตาข่ายสีขาวขนาด 32 ตา โรงเรือนทดลองขนาด 3x3x5 เมตร วางเป็นแถว 3 แถว แถวละ

3 ต้น ทั้งหมด 9 ต้น เก็บตัวอย่างโดยใช้วิธีการสุ่มแบบแบบเจาะจง (Purposive sampling) เป็นการเลือกกลุ่มตัวอย่างให้ตรงตามหลักเกณฑ์หรือจุดมุ่งหมาย โดยสุ่มต้นที่พบการเข้าทำลายของแมลงหวี่ขาวยาสูบ และการใช้สารป้องกันกำจัด

การบันทึกข้อมูล

- ทำการตรวจนับแมลงหวี่ขาวยาสูบทุกสัปดาห์โดยการสุ่มนับ 3 ใบต่อต้น จำนวน 9 ต้นต่อโรงเรือน นำมาตรวจนับใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจนับจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบทุก 7 วัน
- นำข้อมูลทั้ง 3 แปลง มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณ คุณภาพ และต้นทุนการผลิตต่อแปลง

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2564 สิ้นสุดเดือนพฤศจิกายน 2566

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. โรงเรือนทดลองของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

3. โรงเรือนทดสอบความปลอดภัยทางชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาคุณลักษณะทางชีววิทยาของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

1.1 ระยะการเจริญเติบโตของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เมื่อเลี้ยงด้วยแมลงหวี่ขาวยาสูบ *B. tabaci*

ระยะการเจริญเติบโตของมวนตัวห้ำ เมื่อเลี้ยงด้วยแมลงหวี่ขาวยาสูบ แสดงใน (Table 1) มีระยะไข่ 3.48±0.50 วัน และมีการเจริญเติบโตแบบ paurometabola หรือ gradual metamorphosis ตัวอ่อนมี 5 วัย ระยะตัวอ่อนวัยที่ 1-5 มีระยะเฉลี่ย 25.52±0.50 วัน เพศเมียมีอายุยืนยาวกว่าเพศผู้เป็นตัวเต็มวัยเพศผู้เฉลี่ย 7.45+1.84 วัน และเพศเมียเฉลี่ย 8.25+1.82 วัน

Efe D.(2015) ได้การศึกษาชีววิทยาของมวนตัวห้ำ *Orius minutus* (L.) (Hemiptera: Anthocoridae) ที่กิน *B. tabaci* เป็นอาหาร ภายใต้สภาวะในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 1°C ความชื้นสัมพัทธ์ 65 ± 10% และให้แสงประดิษฐ์เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน โดย *B. tabaci* ที่ใช้เป็นเหยื่อถูกเพาะเลี้ยงบนต้นฝ้าย จากผลการศึกษาพบว่า ระยะเวลาการเจริญเติบโตทั้งหมด เพศเมียและเพศผู้เท่ากับ 19.80 และ 20.54 วัน ตามลำดับ อายุขัยเฉลี่ยของ *O. minutus* เพศเมียและเพศผู้เฉลี่ย 57.40 วัน และ 29.98 วัน ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากการทดลองนี้เนื่องจากมวน *O. minutus* เพศเมียและเพศผู้มีอายุขัยที่มากกว่ามวนตัวห้ำ *C. exiguus* และแมลงหวี่ขาวที่เลี้ยงมาจากต้นมะเขือเปราะ

1.2 การศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table

ผลจากการศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table ของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เมื่อเลี้ยงด้วยแมลงหวี่ขาวยาสูบ สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยได้ แต่ไม่สามารถวางไข่ได้ (Table 2)

อทิติยา (2553) เลี้ยงมวนตัวห้ำ *Orius maxidentex* Ghauri ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกับมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ด้วย แมลงหวี่ขาวยาสูบสามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยและสามารถวางไข่ได้ซึ่งมีความแตกต่างกับการทดลองนี้

Arnó et al (2008) การศึกษานี้ประเมินศักยภาพของ *Orius laevigatus* และ *O. majusculus* ในการควบคุมทางชีวภาพของ *Bemisia tabaci* (แมลงหวี่ขาว) มวนทั้งสองชนิดสามารถกินไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยของแมลงหวี่ขาว และสามารถพัฒนาได้ด้วยตัวอ่อนของแมลงหวี่ขาวเพียงอย่างเดียว ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ตัวอ่อนในการเลี้ยงมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เช่นเดียวกัน

2. ศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ในการกินแมลงหวี่ขาวยาสูบ *B. tabaci* ในห้องปฏิบัติการ

จากการศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำในการกินแมลงหวี่ขาวยาสูบพบว่า มวนตัวห้ำวัยที่ 1-5 สามารถกินแมลงหวี่ขาวยาสูบได้เฉลี่ย 2.43+1.04 4.84±1.32 5.61±1.41 7.33±1.72 และ 9.85±2.31 ตัว ตามลำดับ และตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียกินแมลงหวี่ขาวยาสูบได้เฉลี่ย 84.45±32.84 และ52.66±20.33 ตามลำดับ (Table 3) (Figure 3)

3. ศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *B. tabaci* บนพืชสกุลกัญชาในสภาพโรงเรือน

3.1 วางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ในห้องปฏิบัติการ

จากการศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำในการกินแมลงหวี่ขาวยาสูบ หลังปล่อยมวนตัวห้ำที่ 1 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ปล่อยมวนตัวห้ำระยะตัวอ่อนวัยที่ 4 และระยะตัวเต็มวัย พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 19 และ 14.8 ตัว ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับกรรมวิธีไม่ปล่อยมวนตัวห้ำ

หลังปล่อยมวนตัวห้ำที่ 2 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ปล่อยมวนตัวห้ำ มีจำนวนแมลงหวี่ขาวเฉลี่ยระหว่าง 5.0-9.4 ตัว น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ปล่อยมวนตัวห้ำ ที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 26.8 ตัว เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีปล่อยมวนตัวห้ำ ทั้ง 3 กรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ

หลังปล่อยมวนตัวห้ำที่ 3 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ปล่อยมวนตัวห้ำ มีจำนวนแมลงหวี่ขาวเฉลี่ยระหว่าง 0.25-3.22 ตัว น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ปล่อยมวนตัวห้ำที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 26.39 ตัว กรรมวิธีปล่อยมวนตัวห้ำระยะตัวเต็มวัย และระยะตัวอ่อนวัยที่ 3 พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 0.52 และ 0.25 ตัว ตามลำดับ น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีปล่อยมวนตัวห้ำวัยที่ 4 ที่พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 3.22 ตัว ตาม (Table 4)

3.2 วางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 3 โรงเรือน แต่ละโรงเรือนมี 3 กรรมวิธี (โรงเรือนตาข่าย)

จากการทดลองพบว่า ในกรรมวิธีเกษตรกรมีการฉีดพ่นสไปโรเตตระแมท (spirotetramat) 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทั้งหมด 2 ครั้ง เมื่อพบการระบาดของแมลงหวี่ขาวยาสูบในสัปดาห์ที่ 1 พบว่าหลังฉีดพ่นมีการระบาดของแมลงหวี่ขาวยาสูบลดลง และครั้งสุดท้ายในสัปดาห์ที่ 7 เพื่อลดปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบและควบคุมในช่วงเวลาที่กัญชาสร้างดอก (Figure 4)

ในกรรมวิธีเกษตรอินทรีย์มีการปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus* จำนวน 50 ตัวต่อโรงเรือน ทุกสัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1-12) เพื่อควบคุมการระบาดของแมลงหวี่ขาวยาสูบ

ในกรรมวิธี DOA มีการใช้ไดโนทีฟูแลนรองก้นหลุม อัตรา 2-4 กรัมต่อหลุม เพื่อป้องกันกำจัดแมลงปากดูดขนาดเล็ก มีการฉีดพ่นบูโพรเฟซิน (buprofezin) 40% SC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทั้งหมด 2 ครั้ง เมื่อพบการระบาดของแมลงหวี่ขาวยาสูบในสัปดาห์ที่ 1 และ 7 พบว่าหลังฉีดพ่นมีการระบาดของแมลงหวี่ขาวยาสูบลดลง หลังจากนั้นในสัปดาห์ที่ 8-12 มีการปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus* จำนวน 50 ตัวต่อโรงเรือน เพื่อควบคุมในช่วงเวลาที่กัญชาสร้างดอก (Table 5)

จากการเก็บผลผลิตกรรมวิธีเกษตรกร กรรมวิธีเกษตรอินทรีย์ และกรรมวิธี DOA ได้ช่อดอกแห้งจำนวน 0.374, 0.378 และ 0.414 กิโลกรัม ตามลำดับ ราคาช่อดอกกัญชาแห้ง กิโลกรัมละ 3,210 บาท ในกรรมวิธีเกษตรกร กรรมวิธีเกษตรอินทรีย์ และกรรมวิธี DOA มีรายได้ 1,200.54 กับ 1,213.38 และ 1,328.94 บาท ตามลำดับ (Table 6) ในกรรมวิธีเกษตรอินทรีย์ ปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus* 12 สัปดาห์ รวม 600 ตัว และกรรมวิธี DOA ปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus* 5 สัปดาห์ รวม 250 ตัว ที่ราคาตัวละ 0.155 บาท (อทิติยา และคณะ 2565) (Table 7) ส่วนกรรมวิธีกรรมวิธีเกษตรกร กรรมวิธีเกษตรอินทรีย์ และกรรมวิธี DOA ได้ค่าตอบแทนต่อการลงทุน 594.54 กับ 670.38 และ 820.99 บาท ตามลำดับ (Table 8) และจากการเก็บข้อมูลพบศัตรูพืช คือ เพลี้ยไฟถั่วลิสง *Caliothrips phaseoli* (Thysanoptera: Thripidae) แต่เนื่องจากพบเป็นจำนวนน้อย จึงเก็บออกมาทำลาย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jones and Smith (2022) ที่รายงานว่า การใช้ตัวห้ำร่วมกับการใช้สารเคมีสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมศัตรูพืชและให้ผลผลิตที่สูงขึ้น และ Nguyen et al. (2021) ยังพบว่าในระบบการปลูกพืชในโรงเรือน การใช้ตัวห้ำเป็นเครื่องมือสำคัญในการลดการใช้สารเคมีและส่งเสริมการปลูกพืชอย่างยั่งยืน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เมื่อเลี้ยงมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ด้วยตัวอ่อนของแมลงหวี่ขาวยาสูบ พบว่า มวนตัวห้ำมีตัวอ่อน 5 วัยระยะตัวอ่อนวัยที่ 1-5 มีระยะเฉลี่ย 25.52 วัน เพศเมียมีอายุยืนยาวกว่าเพศผู้ โดยตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุเฉลี่ย 7.45 วัน และเพศเมียมีอายุเฉลี่ย 8.25 วัน มวนตัวห้ำสามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยได้ แต่ไม่สามารถวางไข่ได้ จากการศึกษาประสิทธิภาพในการกินแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ พบว่ามวนตัวห้ำวัยที่ 1-5 สามารถกินแมลงหวี่ขาวยาสูบได้เฉลี่ย 2.43, 4.84, 5.61, 7.33 และ 9.85 ตัว ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียกินแมลงหวี่ขาวยาสูบได้เฉลี่ย 84.45 และ 52.66 ตัว ตามลำดับ การศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในโรงเรือนพบว่าการปล่อยมวนตัวห้ำระยะตัวอ่อนวัยที่ 4 และระยะตัวเต็มวัย มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ปล่อยมวนตัวห้ำ หลังปล่อยมวนตัวห้ำ 3 วัน กรรมวิธีปล่อยมวนตัวห้ำระยะตัวเต็มวัยและระยะตัวอ่อนวัยที่ 3 มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ดีที่สุด การศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำ เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ

มีการเปรียบเทียบวิธีการควบคุม 3 กรรมวิธี พบว่า กรรมวิธีเกษตรอินทรีย์ สามารถควบคุมศัตรูพืชได้ดี แต่จะมีปล่อยมวนตัวห้ำทุกสัปดาห์ กรรมวิธีเกษตรกร มีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช มีการลดศัตรูพืชที่ค่อนข้างดี แต่จะมีปัญหาเรื่องการระบาดของศัตรูพืชในช่วงระยะที่กัญชาสร้างดอก ที่ทำให้ไม่สามารถพ่นสารเคมีได้ และกรรมวิธี DOA มีผลที่ดีที่สุดในการลดจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบ โดยเฉพาะช่วงระยะการสร้างดอก ทั้งนี้ การใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* มีบทบาทสำคัญในลดการระบาดของแมลงและไรศัตรูพืช และสามารถช่วยลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในกระบวนการปลูกพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัยและเจ้าหน้าที่ของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ทุกๆท่าน ที่ช่วยทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงเป็นไปตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

อทิติยา แก้วประดิษฐ์. 2553. การศึกษาชีววิทยาและวิสัยการกินของมวนตัวห้ำ *Orius maxidentex* Ghauri (Hemiptera: Anthocoridae). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อทิติยา แก้วประดิษฐ์, พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์, พลอยชมพู กรวิภาสเรือง, อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล, ณพชรกร ธไภษัชย์ และ วิมลวรรณ โชติวงศ์. 2565. การทดลองศึกษาและการประยุกต์ใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ในการควบคุมแมลงและไรศัตรูกัญชา. วารสารการเกษตรอินทรีย์. 24(2): 123-145.

Arnó Judit, Job Roig, Jordi Riudavets. 2008. Evaluation of *Orius majusculus* and *O. laevigatus* as predators of *Bemisa tabaci* and estimation of their prey preference. Biological Control 44(1) : 1-6

Efe Davut Mehmet Salih Özgökçe and Ismail Karaca. 2015 Life table characteristics of *Orius minutus* (L.) (Hemiptera: Anthocoridae) feeding on *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) at the laboratory conditions. Fresenius environmental bulletin 21(11).

Jones, R., & Smith, T. 2022. The efficiency of predatory bugs in controlled cannabis cultivation: A Comparative approach. International Journal of Agricultural Sciences 20(3): 205-220.

Nguyen, L. et al. (2021). Sustainable pest control in cannabis cultivation using biological agents. Journal of Biological Control 33(4): 335-349.

Table 1 Duration of various stages of developmental of *Cardiastethus exiguus* when fed with larvae of *Bemisia tabaci* under laboratory condition (27 ± 2° C and 75 ± 2 % RH)

Stage of development	N	Mean ± S.D. (Day)	Range (Day)
Egg	50	3.48±0.50	3-4
Nymph:			
Instar 1	45	5.40±0.96	5-6
Instar 2	44	4.28±0.81	4-5
Instar 3	44	5.09±0.87	5-6
Instar 4	44	5.13±0.89	5-6
Instar 5	44	5.62±0.96	4-5
Total Nymph	44	25.52±0.50	24-28
Adult:			
Male	20	7.45+1.84	4-10
Female	24	8.25+1.82	5-12

Table 2 Biological attributes of *Cardiastethus exiguus* when fed on *Bemisia tabaci* under laboratory condition (27 ± 2 °C and 75 ± 2 % RH)

Biological attribute	*B. tabaci*
Net reproductive rate of increase (Ro)	0
Cohort generation time (Tc)	0
Capacity for increase (rc)	0
Finite rate of increase (λ)	0

Table 3 Efficiency of the predatory bug *Cardiastethus exiguus* on the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* under under laboratory condition (27 + 2° C and 75 + 2 % RH)

Stage of development		Mean ± S.D.
Nymph:	Instar 1	2.43+1.04
	Instar 2	4.84±1.32
	Instar 3	5.61±1.41
	Instar 4	7.33±1.72
	Instar 5	9.85±2.31
Total Nymph		30.06±3.27
Adult:	Male	84.45±32.84
	Female	52.66±20.33

Table 4. Comparison of the efficiency of the predatory bug *Cardiastethus exiguus* in controlling the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* on cannabis plants in the experimental greenhouse of the Mite and Spider Research Group, Department of Agriculture.

Treatment	Number of remaining tobacco whiteflies (B. tabaci)				
	Before release	1 Day	2 Day	3 Day	4 Day
Instar 3	28.6	11.8 a	7.2 a	0.25 a	0
Instar 4	23.4	19 b	9.4 a	3.22 a	0
Adult	23.2	14.8 ab	5.0 a	0.52 a	0
Non release	27.8	26.6 c	26.8 b	26.39 b	27.2 a
C.V. (%)	25.7	29.6	49.9	40	18.8

Table 5 Control of the tobacco whitefly (*Bemisia tabaci*) on cannabis plants using the farmer's method, organic farming method, and DOA method in the biosafety testing greenhouse, Department of Agriculture

Week	Farmer's Method	Organic Farming Method	DOA Method
1	Sprayed spirotetramat	Released 50 predatory bugs per greenhouse	Applied dinotefuran
2	-	Released 50 predatory bugs per greenhouse	-
3	-	Released 50 predatory bugs per greenhouse	-
4	-	Released 50 predatory bugs per greenhouse	Sprayed buprofezin
5	-	Released 50 predatory bugs per greenhouse	-
6	-	Released 50 predatory bugs per greenhouse	-
7	Sprayed spirotetramat	Released 50 predatory bugs per greenhouse	Sprayed buprofezin
8	-	Released 50 predatory bugs per greenhouse	Released 50 predatory bugs per greenhouse
9	-	Released 50 predatory bugs per greenhouse	Released 50 predatory bugs per greenhouse
10	-	Released 50 predatory bugs per greenhouse	Released 50 predatory bugs per greenhouse
11	-	Released 50 predatory bugs per greenhouse	Released 50 predatory bugs per greenhouse
12	-	Released 50 predatory bugs per greenhouse	Released 50 predatory bugs per greenhouse

Table 6 Comparison of product prices between the farmer's method, organic farming method, and DOA method under net-house conditions in the biosafety testing greenhouse, Department of Agriculture

Treatment	Dry Flower Weight (kg)	Revenue[1] (THB)
Farmer's	0.374	1,200.54
Organic Farming	0.378	1,213.38
DOA	0.414	1,328.94

[1]Price of dry flowers: 3,210 THB per kilogram.

Table 7 Production costs of the predatory bug *Cardiastethus exiguus*

Item	Cost (THB)
Rice moth (*Corcyra cephalonica*) eggs, 100 g	3,000
Maxmo multipurpose tissue paper, 6 rolls (20 THB per roll)	120
Plastic boxes (10×14.5×6 cm), 12 boxes (50 THB per box)	600
Labor cost (1 existing worker)	
Total	3,720 ------- A
Production capacity: 24,000 *C. exiguus* per greenhouse.	------- B
Cost of producing *C. exiguus* = (A / B) = 0.155 THB per bug.	

Table 8 Production costs comparison between the farmer's method, organic farming method, and DOA method under net-house conditions in the biosafety testing greenhouse, Department of Agriculture

Treatments	Production Cost (THB)				Compensation (THB)	
	Growing Materials	Used Substances	*C. exiguus*[1/]	Total Expenses	Revenue	Profit
Farmer's	450	156	0	606	1,200.54	594.54
Organic Farming	450	0	93	543	1,213.38	670.38
DOA Method	450	19.20	38.75	507.95	1,328.94	820.99

[1] Cost of *C. exiguus*: 0.155 THB per bug.

Figure 1 Preparing the stock of *Cardiastethus exiguus* Poppius in the laboratory

Figure 2 Preparing the stock of tobacco whiteflies and preparing eggplant/cannabis plants

Figure 3 The predatory bug *Cardiastethus exiguus* Poppius is feeding on the tobacco whitefly by sucking its body fluids

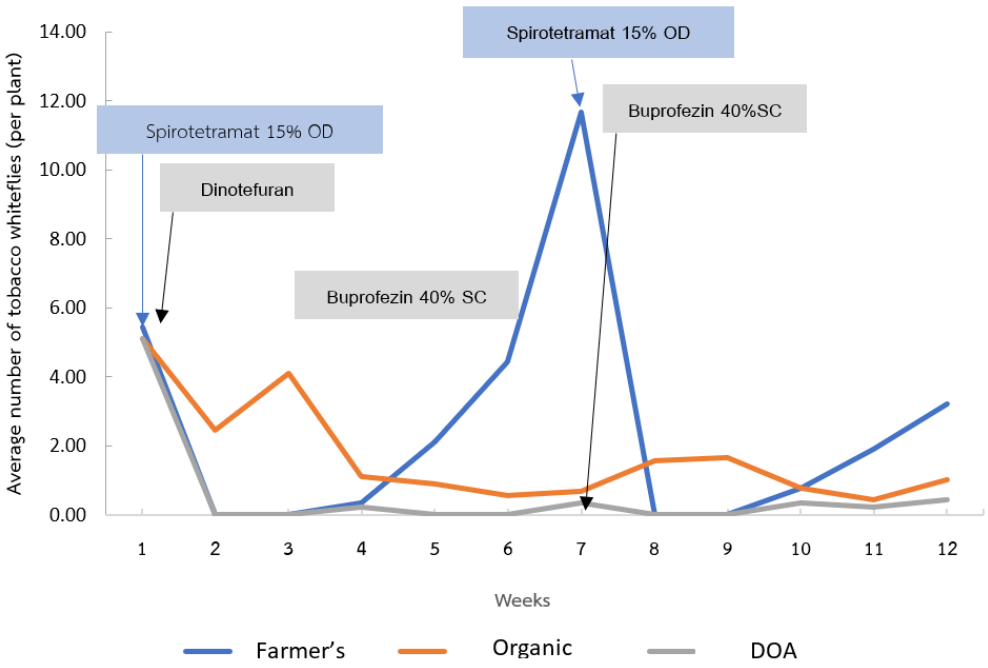


Figure 4 compares the average number of tobacco whiteflies and pesticide spraying between organic farming practices and DOA practices

ภาคผนวก

Biological life table of the predatory bug *Cardiastethus exiguus* when fed on the tobacco whitefly Bemisia tabaci under laboratory conditions at an average temperature of 25±2°C and a relative humidity of 75±2%.

Stage of development	*Pivotal age in day*	*Proportion at birth of female being alive ai age x*	*Age-specific fecundity (egg//XX)*	*Egg curve*
	(X)	*(l_x)*	*(m_x)*	*(l_xm_x)*
Egg:	*0*	*1.0000*	-	-
	1	1.0000	-	-
	2	1.0000	-	-
Nymph:	3	1.0000	0.0000	0.0000
Instar 1	4	1.0000	0.000	0.000
Instar 2	5	1.0000	0.000	0.000
Instar 3	6	1.0000	0.000	0.000
Instar 4	7	1.0000	0.000	0.000
Instar 5	8	0.9750	0.000	0.000
Adult:	9	0.9750	0.000	0.000
	10	0.9750	0.000	0.000
	11	0.9300	0.000	0.000
	12	0.8950	0.000	0.000
	13	0.8600	0.000	0.000
	14	0.6200	0.000	0.000
	15	0.5600	0.000	0.000
	16	0.4900	0.000	0.000
	17	0.4400	0.000	0.000
	18	0.3900	0.000	0.000
	19	0.3600	0.000	0.000
	20	0.3000	0.000	0.000

Stage of development	*Pivotal age in day*	*Proportion at birth of female being alive ai age x*	*Age-specific fecundity (egg//XX)*	*Egg curve*
	(X)	*(l_x)*	*(m_x)*	*($l_x m_x$)*
	21	*0.2800*	*0.000*	*0.000*
	22	*0.2750*	*0.000*	*0.000*
	23	*0.2750*	*0.000*	*0.000*
	24	*0.2750*	*0.000*	*0.000*
	25	*0.2750*	*0.000*	*0.000*
	26	*0.2750*	*0.000*	*0.000*
	27	*0.2750*	*0.000*	*0.000*
	28	*0.2750*	*0.000*	*0.000*
	29	*0.2750*	*0.000*	*0.000*
	30	*0.2750*	*0.000*	*0.000*
	31	*0.2700*	*0.000*	*0.000*
	32	*0.2450*	*0.000*	*0.000*
	33	*0.2450*	*0.000*	*0.000*
			$R_o=\sum l_x m_x$= 0.0000	

การพัฒนาวิธีการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan และศักยภาพการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker

Development on mass rearing of the pupal parasitoid, *Brachymeria nephantidis* Gahan and its potential to parasitization on coconut black headed caterpillar, *Opisina arenosella* Walker

ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ สาทิพย์ มาลี สุพรรณี ภูคะฮาด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Brachymeria nephantidis Gahan (Hymenoptera: Chalcididae) is natural enemy that can be used to control coconut black-headed caterpillar, *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae). It is necessary to produce large quantities of parasitoids to control the black-headed caterpillar continuously including to apply in the fields. The study aimed to mass rearing of *B. nephantidis* when fed with rice moth pupae (*Corcyra cephalonica*) and wax moth pupae (*Galleria mellonella*), efficacy of *B. nephantidis* to control *O. arenosella* pupae in the greenhouse, coconut fields and effects of 11 pesticides on *B. nephantidis.* The experiment was conducted at Entomology and Zoology Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, and coconut field at Photharam District and 2 locations at Wat Phleng, District, Ratchaburi Province between October 2022 and September 2024.

The study on the parasitism potential of *B. nephantidis* when fed with rice moth pupae and wax moth pupae could produce progeny of *B. nephantidis* averaging 43.80±9.60 and 47.70±11.44 individuals, respectively. The average number of females was 28.74±6.31 and 29.24±8.80 individuals, respectively, and the average number of males was 15.06±4.83 and 18.46±4.45 individuals, respectively. The average number of progeny and females showed no significant difference, but the number of males was significant difference. The age of adults when fed with rice moth pupae was less than wax moth pupae. The percentage parasitism of *B. nephantidis* on rice moth pupae and wax moth pupae was 57.36% and 61.70% , respectively. The pupal parasitoid *B. nephantidis*,

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-06-65

when fed with rice moth pupae and wax moth pupae, can be parasitized on the black-headed caterpillar.

The efficiency of *B. nephantidis* to control *O. arenosella* in the greenhouse showed that the percentage parasitism of *B. nephantidis* 15 and 20 individuals after release was 76.81 and 7 6 .5 8 , respectively, no significant difference release with 25 individuals. The average number of female male and progeny averaging were 8.60 6.20 and 14.80 individuals, respectively.

The efficiency of *B. nephantidis* to control *O. arenosella* in the greenhouse showed that percentage parasitism of *B. nephantidis* when release with 15 and 20 individuals were no significant difference which both rates can be used to control pupa of coconut black-headed caterpillar in coconut fields. The further release much more *B. nephantidis* there would be faster and succeed in the control.

The study to test the lethal effect of 11 insecticides to *B. nephantidis* when treated by dry-film method showed that 4 insecticides (chlorantraniliprole, flubendiamide lufenuron and spinosad) was harmless to *B. nephantidis* at 2 hours, follow by emamectin benzoate and abamectin were found to be harmless at 1, 7 and 1 4 days. In case of thiamethoxam, imdacloprid, carbaryl, diazinon and carbosulfan, the toxicity was moderately harmful to harmful at 2 hours, 1, 7 and 14 days. Therefore, the parasitoid can be safely led into the field with 14 days after spraying of chemical insecticides in order to minimize *B. nephantidis* mortality.

Keywords : mass rearing, pupal parasitoid, *Brachymeria nephantidis*, coconut black headed caterpillar, *Opisina arenosella*

บทคัดย่อ

แตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่สำคัญช่วยทำลายดักแด้ของหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker จึงจำเป็นต้องมีการผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากอย่างต่อเนื่อง รวมทั้งวิธีการนำแตนเบียน *B. nephantidis* ไปใช้ประโยชน์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* โดยใช้ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* ประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในโรงเรือนทดลองและแปลงมะพร้าว และผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ดำเนินการที่กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และแปลงมะพร้าว อำเภอโพธาราม อำเภอวัดเพลง จังหวัดราชบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม 2565 ถึงเดือนกันยายน 2567

การศึกษาการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* โดยใช้ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* สามารถผลิตแตนเบียนรุ่นลูกเฉลี่ย 43.80±9.60 และ 47.70±11.44 ตัว ตามลำดับ เป็นแตนเบียนเพศเมียเฉลี่ย 28.74±6.31 และ 29.24±8.80 ตัว ตามลำดับ แตนเบียนเพศผู้เฉลี่ย 15.06±4.83 และ 18.46±4.45 ตัว ตามลำดับ ซึ่งจำนวนแตนเบียนรุ่นลูกและแตนเบียนเพศเมียไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนจำนวนแตนเบียนเพศผู้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตัวเต็มวัยแตนเบียนที่เบียนด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารมีอายุสั้นกว่าเบียนด้วยดักแด้หนอนกินรังผึ้ง มีเปอร์เซ็นต์การเบียน 57.36 และ 61.70 ตามลำดับ โดยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ที่เบียนด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารและดักแด้หนอนกินรังผึ้งสามารถลงเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวได้

การทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ในโรงเรือนทดลอง พบว่าการปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 20 ตัวต่อต้น มีจำนวนรุ่นลูกเพศเมีย เพศผู้ และรุ่นลูกทั้งหมดเฉลี่ย 8.60 6.20 และ 14.80 ตัว ตามลำดับ มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 76.81 และเปอร์เซ็นต์การเบียน 76.58 ไม่แตกแตกต่างกันทางสถิติกับการปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 25 ตัวต่อต้น

การทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในแปลงมะพร้าวที่ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 15 และ 20 ตัวต่อต้น มีเปอร์เซ็นต์การเบียนไม่แตกแตกต่างกันทางสถิติ สามารถนำอัตราการปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 15 และ 20 ตัวต่อต้น ไปใช้ควบคุมดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในแปลงมะพร้าวได้ ขึ้นกับความเหมาะสม หากปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ได้มากจะทำให้เห็นผลการควบคุมเร็วขึ้น

การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* พบว่าสารกำจัดแมลงจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ chlorantraniliprole flubendiamide lufenuron และ spinosad
ไม่มีพิษต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* เมื่อเคลือบสารทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง สารกำจัดแมลง 2 ชนิด ได้แก่ emamectin benzoate และ abamectin ไม่มีพิษต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* เมื่อเคลือบสารทิ้งไว้ 1 7 และ 14 วัน ส่วนสารกำจัดแมลง thiamethoxam imidacloprid carbaryl diazinon และ carbosulfan มีพิษปานกลางถึงมีพิษร้ายแรงกับแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ดังนั้น หากมีความจำเป็นต้องใช้สารกำจัดแมลง 5 ชนิดนี้ ไม่ควรปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในช่วงเวลา 14 วัน เพื่อความปลอดภัยของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis*

คำหลัก : การผลิตขยาย แตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella*

คำนำ

หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบเอเชียใต้ ได้แก่ อินเดียและศรีลังกา หนอนหัวดำมะพร้าวเข้ามาระบาดทำความเสียหายให้กับมะพร้าวในประเทศไทย ตั้งแต่ปี 2550 พบครั้งแรกที่อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และระบาดแพร่ขยายวงกว้างออกไปในหลายจังหวัด ใบมะพร้าวที่ถูกทำลายมีลักษณะแห้งสีน้ำตาล ใบย่อยแต่ละใบถูกยึดติดกันเป็นแพ หากปล่อยไว้ไม่กำจัดหนอนหัวดำมะพร้าวอาจทำให้ต้นมะพร้าวตาย ซึ่งยังคงพบการระบาดของหนอนหัวดำมะพร้าวมาจนถึงปัจจุบัน

การป้องกันกำจัดหนอนหัวดำมะพร้าวโดยชีววิธีเป็นวิธีการที่ปลอดภัยต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม มีการนำชีวภัณฑ์มาใช้ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวหลายชนิด เช่น การพ่นด้วยชีวภัณฑ์บีที และการปล่อยแตนเบียน *Goniozus nephantidis* (Muesebeck) การควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวในระยะดักแด้เป็นอีกทางหนึ่งที่ช่วยลดจำนวนประชากรหนอนหัวดำมะพร้าวตัดวงจรการพัฒนาไปเป็นผีเสื้อ ซึ่งแตนเบียนดักแด้ที่มีการนำไปใช้ควบคุมระยะดักแด้ของหนอนหัวดำมะพร้าวในประเทศไทย ได้แก่ แตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan แตนเบียนดักแด้ชนิดนี้ถูกนำเข้ามาในประเทศไทยเมื่อเดือนกุมภาพันธ์ 2559 โดยความอนุเคราะห์ของประเทศศรีลังกา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้ศึกษาประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการนำแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ไปใช้ประโยชน์ โดยสามารถเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวได้ 1-6 ตัวต่อวัน แตนเบียนเพศเมีย 1 ตัว ตลอดชั่วอายุขัยสามารถทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวให้แตนเบียนรุ่นลูกเฉลี่ย 81.80 ตัว เป็นแตนเบียนเพศเมียและแตนเบียนเพศผู้เฉลี่ย 49.20 และ 32.60 ตัว ตามลำดับ มีเปอร์เซ็นต์การเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว 42.98-55.13 ในห้องปฏิบัติการ (ณัฏฐิณี และคณะ, 2560) จัดเป็นแตนเบียนที่มีประสิทธิภาพชนิดหนึ่งในการนำมาใช้ควบคุมดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว

นอกจากนี้มีการศึกษาวิธีการเลี้ยงขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ให้ได้เป็นปริมาณมาก เพื่อนำไปใช้ควบคุมระยะดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว โดยศึกษาชนิดและอายุแมลงอาศัยที่เหมาะสมสำหรับผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* วิธีการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ในห้องปฏิบัติการและที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* (ณัฏฐิณี และคณะ, 2564) แต่เนื่องจากยังไม่มีข้อมูลแมลงอาศัยที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็นแนวทางในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณ วิธีการนำแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ไปใช้ประโยชน์ รวมทั้งสารป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ดังนั้น การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* โดยใช้ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* 2) ทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในโรงเรือนทดลอง 3) ทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในแปลงมะพร้าว 4) ศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* เพื่อใช้เป็นคำแนะนำต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แมลงที่ใช้ในการศึกษา

1) แตนเบียน *Brachymeria nephantidis* Gahan

2) ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton)

3) หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* L.

2. พืชอาหาร/อาหารเลี้ยงแมลง

1) รำละเอียด

2) ปลายข้าว

3) น้ำตาลทราย

4) น้ำผึ้ง

3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเลี้ยงแมลง

1) กรงเลี้ยงแมลง ขนาด 30x30x30 เซนติเมตร

2) ขวดพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 2.5 เซนติเมตร สูง 6 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด

3) กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม ขนาด 8.5x13x7 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงลวดละเอียด

4) กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม ขนาด 23x34x7 เซนติเมตร

5) กล่องพลาสติกกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร ฝากล่องด้านบนกรุด้วยตาข่ายถี่

6) กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม ขนาด 10x14x6 เซนติเมตร ฝากล่องด้านบนกรุด้วยตาข่ายถี่

7) ตะกร้าที่บุด้วยตาข่ายไนล่อน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 27 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร

8) โหลพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16.5 เซนติเมตร สูง 17 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด

9) กระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 เซนติเมตร

10) กรงผ้าตาข่าย ขนาด 3x4.5x2 เมตร

11) ฟองน้ำอเนกประสงค์

12) กระดาษทิชชู

13) ถาดอลูมิเนียม ขนาด 60x40 เซนติเมตร

14) ตู้อบลมร้อน

4. สารป้องกันกำจัดแมลง จำนวน 11 ชนิด

1) thiamethoxam 25% WG (กลุ่มย่อย 4A)

2) imidacloprid 70% WS (กลุ่มย่อย 4A)

3) carbaryl 85% WP (กลุ่มย่อย 1A)

4) chlorantraniliprole 5.17% SC (กลุ่ม 28)

5) flubendiamide 20% WG (กลุ่ม 28)

6) lufenuron 5% EC (กลุ่ม 15)

7) emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 6)

8) abamectin 1.8% EC (กลุ่ม 6)

9) spinosad 12% SC (กลุ่ม 5)

10. diazinon 60% EC (กลุ่มย่อย 1B)

11) carbosulfan 20% EC (กลุ่มย่อย 1A)

วิธีการ

การเตรียมแมลงสำหรับใช้ในการทดลอง

1) การเลี้ยงหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella*

เก็บรวบรวมหนอนหัวดำมะพร้าวจากธรรมชาติมาเลี้ยงด้วยใบมะพร้าวในกล่องพลาสติกกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด เปลี่ยนใบมะพร้าวทุก 3 วัน จนกระทั่งหนอนพัฒนาเป็นดักแด้และออกเป็นผีเสื้อ นำผีเสื้อใส่โหลพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16.5 เซนติเมตร สูง 17 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด ให้น้ำผึ้ง 10% ทาบนกระดาษทิชชูที่ตัดเป็นเส้นขนาด 2x10 เซนติเมตร จำนวน 5 ชิ้น และตัดกระดาษทิชชูจำนวน 2 ชิ้น ทาด้วยน้ำสะอาดวางติดผนังด้านในโหลพลาสติก นำผีเสื้อจำนวน 25 คู่ ใส่ในโหลพลาสติกปล่อยไว้ 1-2 วัน เพื่อให้ผีเสื้อเพศเมียวางไข่บนกระดาษทิชชู นำกระดาษทิชชูที่มีไข่สอดในใบมะพร้าวแล้วนำไปวางในกล่องพลาสติก ประมาณ 4-5 วันหนอนจะฟักออกจากไข่ เปลี่ยนใบมะพร้าวทุก 3-4 วัน เป็นเวลา 32-48 วัน หนอนหัวดำมะพร้าวจะเข้าดักแด้ ระยะดักแด้ใช้เวลา 9-10 วัน นำดักแด้ไปใช้ในการทดลอง

2) การเลี้ยงหนอนผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica*

นำหนอนผีเสื้อข้าวสารมาเลี้ยงให้เป็นผีเสื้อ เก็บผีเสื้อข้าวสารใส่ตะกร้าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 27 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร ที่บุด้วยตาข่ายไนล่อน ปล่อยให้ผีเสื้อข้าวสารผสมพันธุ์ 1 วันจึงเริ่มวางไข่ ใช้แปรงปัดบริเวณตาข่ายไนลอนเพื่อแยกเอาไข่ผีเสื้อข้าวสารออกและเก็บรวบรวมไข่ผีเสื้อข้าวสาร ทำการผสมอาหารเลี้ยงหนอนผีเสื้อข้าวสาร โดยใช้รำละเอียด 60 กิโลกรัม ปลายข้าว 3 กิโลกรัม และน้ำตาลทราย 1 กิโลกรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8-9 ชั่วโมง จากนั้นนำอาหารที่อบแล้วใส่ในกล่องพลาสติกกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด กล่องละ 1 กิโลกรัม โรยไข่ผีเสื้อข้าวสาร 0.05 กรัม (ประมาณ 1,000 ฟอง) ให้ทั่วกล่องและปิดฝาให้สนิท นำไปเลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40-45 วัน จะได้ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร ระยะดักแด้

ใช้เวลา 9-10 วัน แบ่งดักแด้เป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำไปเลี้ยงแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ส่วนที่ 2 ปล่อยดักแด้ให้เจริญเติบโตเป็นผีเสื้อข้าวสารเพื่อเก็บไข่ผีเสื้อข้าวสารไปเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์

3) การเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella*

นำหนอนกินรังผึ้งมาเลี้ยงให้เป็นผีเสื้อ จากนั้นนำผีเสื้อมาใส่กล่องพลาสติกกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร ภายในกรุด้วยกระดาษและมีสำลีชุบน้ำพอหมาดที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด ปล่อยให้ผีเสื้อผสมพันธุ์วางไข่ประมาณ 3-4 วัน ทำการผสมอาหารสำหรับเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง โดยใช้รำข้าวสาลีและน้ำเชื่อม อัตราส่วน 1: 1 ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน จากนั้นตัดกระดาษที่มีไข่จำนวน 500 ฟอง ใส่ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 8.5x13x7 เซนติเมตร ที่มีอาหารสำหรับเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง 100 กรัม เลี้ยงหนอนกินรังผึ้งประมาณ 14 วัน จึงแบ่งหนอนกินรังผึ้งออกเป็น 4 ส่วน นำไปใส่ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 23x34x7 เซนติเมตร ที่มีอาหาร 300 กรัม จำนวน 4 กล่อง เลี้ยงหนอนกินรังผึ้งไปอีก 7 วัน จึงเติมอาหาร 300 กรัม/กล่อง จนหนอนพัฒนาเป็นดักแด้ ระยะดักแด้ใช้เวลา 9-10 วัน แบ่งดักแด้หนอนกินรังผึ้งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำดักแด้ไปใช้ในการทดลอง ส่วนที่ 2 เลี้ยงดักแด้ให้เป็นผีเสื้อนำไปเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์

4) การเลี้ยงแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis*

นำแตนเบียนดักแด้เพศเมียและเพศผู้ชนิดละ 50 ตัว ใส่ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 24x40x24 เซนติเมตร ภายในกรงมีฟองน้ำอเนกประสงค์ขนาด 2x2 เซนติเมตร ชุบน้ำผึ้ง 50% ปล่อยให้แตนเบียนผสมพันธุ์ 7 วัน นำดักแด้ผีเสื้อข้าวสารจำนวน 100 ตัว วางบน petri-dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร สูง 1.5 เซนติเมตร ใส่ในกรงเลี้ยงแมลงปล่อยให้แตนเบียนดักแด้เพศเมียลงเบียนดักแด้ผีเสื้อข้าวสารจำนวน 6 ชั่วโมง จากนั้นนำดักแด้ผีเสื้อข้าวสารออกจากกรงเลี้ยงแมลงใส่ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 10x14x6 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด บันทึกวัน เดือน ปี ที่เบียน (นำดักแด้ผีเสื้อข้าวสารวางบน petri-dish ใส่ในกรงเลี้ยงแมลงเช่นเดิมในวันถัดมาจนกระทั่งแตนเบียนตาย) หลังจากนั้น 15-20 วัน แตนเบียนจะออกเป็นตัวเต็มวัย นำแตนเบียนที่ได้ไปใช้ในการทดลอง

ขั้นตอนการศึกษาแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* โดยใช้ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella*

ศึกษาการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* โดยใช้ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* มี 50 ซ้ำ จำนวน 2 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica*

กรรมวิธีที่ 2 เลี้ยงด้วยดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella*

นำแตนเบียนเพศเมียและเพศผู้ที่ได้จากการเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารและดักแด้หนอนกินรังผึ้งชนิดละ 50 คู่ ใส่ขวดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร สูง 6 เซนติเมตร ขวดละ 1 คู่ ให้น้ำผึ้งเข้มข้น 50% เป็นอาหารกับแตนเบียน ปล่อยให้แตนเบียนผสมพันธุ์ 7 วัน จากนั้นนำดักแด้แมลง

อาศัยอายุที่เหมาะสม (ดักแด้ผีเสื้อข้าวสารอายุ 7 วัน ดักแด้หนอนกินรังผึ้งอายุ 5 วัน) (ณัฏฐิณี และคณะ, 2567) จำนวน 10 ตัว ใส่ในขวดที่มีแตนเบียน ปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนดักแด้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำดักแด้แมลงอาศัยออกใส่ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 10x1x6 เซนติเมตร ฝากล่องด้านบนกรุด้วยตาข่ายถี่ ใส่ดักแด้แมลงอาศัยให้แตนเบียนลงเบียนทุกวันจนกระทั่งแตนเบียนตาย บันทึกจำนวนดักแด้แมลงอาศัยที่แตนเบียนแต่ละตัวสามารถเบียนได้ อัตราส่วนเพศผู้และเพศเมีย อายุแตนเบียนเพศผู้และเพศเมีย และอัตราการเบียน วิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลที่ได้ด้วย T-test

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในโรงเรือนทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 5 ตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 10 ตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 15 ตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 4 ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 20 ตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 5 ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 25 ตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 6 ไม่ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis*

คัดเลือกต้นมะพร้าวสูงประมาณ 1.5 เมตร ปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 เซนติเมตร นำไปไว้ในกรงผ้าตาข่ายขนาด 3x4.5x2 เมตร จำนวน 1 ต้นต่อกรงผ้าตาข่าย ในโรงเรือนทดลอง ปล่อยหนอนหัวดำมะพร้าววัยที่ 8 จำนวน 20 ตัวต่อต้น ให้เข้าดักแด้บนใบมะพร้าว (หนอนมีระยะก่อนเข้าดักแด้ 1 วัน ดักแด้มีอายุ 9-10 วัน) ปล่อยให้ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวมีอายุ 3 วัน (ณัฏฐิณี และคณะ, 2567) จึงปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* เพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้วในช่วงเวลา 16.00 น. ตามแต่ละกรรมวิธี ปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนดักแด้ของหนอนหัวดำมะพร้าว ภายในกรงมีฟองน้ำชุบน้ำผึ้งเข้มข้น 50% เป็นอาหารแตนเบียน หลังจากปล่อยแตนเบียนแล้ว 5 วัน เก็บดักแด้ของหนอนหัวดำมะพร้าวใส่กล่องพลาสติกขนาด 10x14 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด รอจนแตนเบียนออกเป็นตัวเต็มวัยหรือออกเป็นผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าว บันทึกข้อมูลจำนวนแตนเบียนที่ออกจากดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว จำนวนดักแด้ที่ถูกเบียน และอุณหภูมิในโรงเรือนทดลอง นำข้อมูลที่บันทึกมาวิเคราะห์และเปรียบเทียบผลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 3 ทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในแปลงมะพร้าว

เลือกอัตราการปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ที่มีประสิทธิภาพจากขั้นตอนที่ 2 จำนวน 2 อัตรา ไปทดสอบประสิทธิภาพการทำลายดักแด้ของหนอนหัวดำมะพร้าวในแปลงมะพร้าว

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 10 ซ้ำ 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 อัตราปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ที่มีประสิทธิภาพดี

กรรมวิธีที่ 2 อัตราปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ที่ประสิทธิภาพดีที่สุด

กรรมวิธีที่ 3 ไม่ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis*

คัดเลือกแปลงมะพร้าวของเกษตรกรที่พบการทำลายของหนอนหัวดำมะพร้าว ระดับความเสียหายของต้นมะพร้าวน้อยถึงปานกลาง (ระดับน้อย ทางใบเขียวมากกว่า 13 ทางใบ ระดับปานกลาง ทางใบเขียว 6-13 ทางใบ) โดยมีระดับความเสียหายใกล้เคียงกันและไม่เคยปล่อยแตนเบียนชนิดใดมาก่อนในพื้นที่จำนวน 3 แปลง แปลงละ 3 ไร่ ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ตามแต่ละกรรมวิธี ทุก 7 วัน โดยปล่อยให้กระจายทั่วแปลง ช่วงเวลา 16.00 น. สุ่มตรวจนับจำนวนดักแด้ของหนอนหัวดำมะพร้าวจากต้นมะพร้าวจำนวน 10 แถวๆ ละ 40 ใบย่อย (6-7 ต้นต่อแถว) ทุก 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน บันทึกข้อมูล จำนวนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว จำนวนแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ที่พบ จำนวนแตนเบียนที่ออกจากดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อัตราส่วนเพศผู้: เพศเมีย และอุณหภูมิในสภาพแปลง นำข้อมูลที่บันทึกได้มาวิเคราะห์และเปรียบเทียบผลทางสถิติ และประเมินระดับความเสียหายของต้นมะพร้าว (นับทางใบเขียวที่ไม่ถูกทำลาย) ระดับรุนแรง < 6 ทางใบ ระดับปานกลาง 6-13 ทางใบ ระดับน้อย > 13 ทางใบ และไม่มีการระบาด คือไม่พบทางใบที่ถูกทำลาย ตามวิธีการใน Proceeding of the Dissemination Workshop on the CFC/ DFID/ APCC/ FAO Project on Coconut Integrated Pest Management held in Colombo Sri Lanka 12th- 20th October 2006

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis*

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Rondomized Design, CRD) มีทั้งหมด 10 ซ้ำ 12 กรรมวิธี ดังนี้

1. thiamethoxam 25% WG (กลุ่มย่อย 4A)	อัตรา 8 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
2. imidacloprid 70% WS (กลุ่มย่อย 4A)	อัตรา 5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
3. carbaryl 85% WP (กลุ่มย่อย 1A)	อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
4. chlorantraniliprole 5.17% SC (กลุ่ม 28)	อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
5. flubendiamide 20% WG (กลุ่ม 28)	อัตรา 5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
6. lufenuron 5% EC (กลุ่ม 15)	อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
7. emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 6)	อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
8. abamectin 1.8% EC (กลุ่ม 6)	อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
9. spinosad 12% SC (กลุ่ม 5)	อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
10. diazinon 60% EC (กลุ่มย่อย 1B)	อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
11. carbosulfan 20% EC (กลุ่มย่อย 1A)	อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
12. น้ำเปล่า (ชุดควบคุม)	

วิธีการ

1. เตรียมสารละลายสารป้องกันกำจัดแมลงตามกรรมวิธีต่างๆ ทำการทดสอบแบบ dry film method โดยใส่สารป้องกันกำจัดแมลงปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในแก้วพลาสติกขนาด 6 ออนซ์ ที่มีฝา

ที่เจาะรูระบายอากาศ ให้สารเคลือบผิวแก้วภายในให้ทั่ว ส่วนกรรมวิธีควบคุมใช้น้ำเปล่าเคลือบผิวแก้วพลาสติก

2. วางแก้วพลาสติกทิ้งไว้ให้แห้งพ้นจากแสงแดด โดยทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง 1 วัน 7 วัน และ 14 วัน หลังเคลือบสารป้องกันกำจัดแมลง

3. เมื่อครบกำหนดวันหลังเคลือบสารตามกำหนด ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* เข้าไปในแก้วพลาสติกที่เตรียมไว้ จำนวนแก้วละ 10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว เพศเมีย 5 ตัว) ภายในแก้วพลาสติกมีฟองน้ำชุปน้ำผึ้ง 50% เป็นอาหารให้แตนเบียนดักแด้

4. ตรวจนับจำนวนแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ที่ตาย หลังทิ้งแตนเบียนดักแด้ไว้ในในแก้วพลาสติกเคลือบสารแล้ว 24 48 และ 72 ชั่วโมง วิเคราะห์ข้อมูลโดยจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994)

การบันทึกข้อมูล

1. ตรวจนับจำนวนแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ที่ตายหลังการทดสอบ 24 48 และ 72 ชั่วโมง มาวิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบผลทางสถิติ

2. จัดระดับความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดแมลง ตามวิธีการจัดลำดับความเป็นพิษของ IOBC Hassan (1994) ดังนี้

ไม่มีพิษ (Harmless) มีเปอร์เซ็นต์การตาย < 30%

มีพิษน้อย (Slightly Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 30-79%

มีพิษปานกลาง (Moderately Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 80-99%

มีพิษร้ายแรง (Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย > 99%

3. เมื่อพบแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในชุดควบคุม (control) ตาย 5-20% ทำการปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายโดยใช้ค่า Abbott's formula (Abbott, 1925) แต่ถ้าตายเกิน 20% ต้องทำการทดลองใหม่

$$\text{อัตราการตายที่แท้จริง} = \frac{\text{อัตราการตายของแมลง} - \text{อัตราการตายของชุดควบคุม}}{100 - \text{อัตราการตายของชุดควบคุม}} \times 100$$

เวลาและสถานที่

เวลา ดำเนินการทดลองเดือนตุลาคม 2565 – กันยายน 2567

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. แปลงมะพร้าวของเกษตรกร

- นางสาวจารุวรรณ เหลืองชัยพัฒนา ตำบลท่าชุมพล อำเภอโพธาราม จังหวัดราชบุรีตำแหน่งที่ตั้งแปลง 13.691606, 99.796574

- นายแหวน ศรีโชติ ตำบลจอมประทัด อำเภอวัดเพลง จังหวัดราชบุรี ตำแหน่งที่ตั้งแปลง 13.422883, 99.859979
- นายบุญลือ สงเคราะห์สุข ตำบลจอมประทัด อำเภอวัดเพลง จังหวัดราชบุรี ตำแหน่งที่ตั้งแปลง 13.415832, 99.854523

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* โดยใช้ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella*

การศึกษาการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* โดยใช้ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* พบว่าแตนเบียนดักแด้ *B. Nephantidis* ที่เบียนดักแด้ผีเสื้อข้าวสารมีจำนวนแตนเบียนเพศเมียรุ่นลูกและจำนวนรุ่นลูกเฉลี่ย 28.74±6.31 และ 43.80±9.60 ตัว ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการเบียนดักแด้หนอนกินรังผึ้ง ซึ่งมีจำนวนแตนเบียนเพศเมียรุ่นลูกและจำนวนรุ่นลูกเฉลี่ย 29.24±8.80 และ 47.70±11.44 ตัว ตามลำดับ แต่แตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ที่เบียนดักแด้ผีเสื้อข้าวสารมีจำนวนแตนเบียนเพศผู้รุ่นลูกเฉลี่ย 15.06±4.83 ตัว มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเบียนดักแด้หนอนกินรังผึ้ง ซึ่งมีจำนวนแตนเบียนเพศผู้รุ่นลูกเฉลี่ย 18.46±4.45 ตัว

ส่วนอายุตัวเต็มวัยแตนเบียนที่เบียนดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร พบว่าแตนเบียนเพศเมียและแตนเบียนเพศผู้มีอายุเฉลี่ย 28.30±7.14 และ 23.54±7.71 วัน ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเบียนดักแด้หนอนกินรังผึ้ง แตนเบียนเพศเมียและแตนเบียนเพศผู้มีอายุเฉลี่ย 41.10±14.77 และ 33.56±11.74 วัน ตามลำดับ โดยตัวเต็มวัยแตนเบียนที่เบียนดักแด้ผีเสื้อข้าวสารมีอายุสั้นกว่าตัวเต็มวัยแตนเบียนที่เบียนหนอนกินรังผึ้ง แต่จำนวนแตนเบียนเพศเมียรุ่นลูกและจำนวนรุ่นลูกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงประหยัดเวลา แรงงาน และอาหารในการเลี้ยง แม้ว่าการเบียนด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารและดักแด้หนอนกินรังผึ้งมีเปอร์เซ็นต์การเบียน 57.36 และ 61.70 ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีอัตราส่วนเพศผู้: เพศเมียเท่ากับ 1: 2.11 และ 1: 1.63 ตามลำดับ (Table 1)

ทั้งนี้ แตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ที่เบียนดักแด้ผีเสื้อข้าวสารและดักแด้หนอนกินรังผึ้งสามารถลงเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวได้ มีเปอร์เซ็นต์การเบียนระหว่าง 55-78 และ 54-81 ตามลำดับ (ณัฏฐิณี และคณะ, 2567) อย่างไรก็ตาม การเลือกใช้ดักแด้ผีเสื้อข้าวสารในการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* เนื่องจากมีจำนวนแตนเบียนเพศเมียรุ่นลูกและจำนวนรุ่นลูกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการเลี้ยงด้วยดักแด้หนอนกินรังผึ้ง และมีอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียมากกว่าเลี้ยงด้วยดักแด้หนอนกินรังผึ้ง ซึ่งการเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารสามารถใช้ดักแด้ที่อยู่ภายในรังดักแด้ผลิตขยายแตนเบียนได้โดยไม่ต้องนำรังดักแด้ออก ส่วนการเลี้ยงด้วยดักแด้หนอนกินรังผึ้งต้องนำรังดักแด้ออกเพราะดักแด้หนอนกินรังผึ้งค่อนข้างหนามีผลต่อการวางไข่ของแตนเบียนจึงต้องใช้เวลา

และแรงงานมากกว่าดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร อีกทั้งผีเสื้อข้าวสารสามารถเลี้ยงขยายเป็นปริมาณมากได้ง่าย ใช้แรงงานน้อยและมีการเลี้ยงเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงศัตรูธรรมชาติหลายชนิดอย่างกว้างขวาง

การเลี้ยงดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* พัชรีวรรณและอุณากุล (2565) รายงานว่าการเลี้ยงหนอนผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และหนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* มีต้นทุนการเลี้ยง 0.02 และ 0.12 บาทต่อตัว ตามลำดับ ซึ่งการเลี้ยงดักแด้ผีเสื้อข้าวสารมีต้นทุนต่ำกว่าดักแด้หนอนกินรังผึ้ง จึงเลือกใช้ดักแด้ผีเสื้อข้าวสารไปใช้ผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis*

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในโรงเรือนทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ในโรงเรือนทดลอง พบว่าการปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 5 10 15 20 และ 25 ตัวต่อต้น ได้แตนเบียนรุ่นลูกเฉลี่ย 5.00 7.80 12.40 14.80 และ 5.60 ตัว ตามลำดับ การปล่อยแตนเบียนดักแด้ 20 ตัวต่อต้น มีจำนวนรุ่นลูกเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 14.80 ตัว รองลงมาคือการปล่อยแตนเบียนดักแด้ 15 ตัวต่อต้น มีจำนวนรุ่นลูกเฉลี่ย 12.40 ตัว ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนเปอร์เซ็นต์การเบียน พบว่าการปล่อยแตนเบียนดักแด้ 20 และ 25 ตัวต่อต้น มีเปอร์เซ็นต์การเบียน 76.58 และ 82.79 ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการปล่อยแตนเบียนดักแด้ 15 ตัวต่อต้น ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเบียน 64.68 การปล่อยแตนเบียนดักแด้ 25 ตัวต่อต้น มีจำนวนรุ่นลูกเฉลี่ย 5.60 ตัว น้อยกว่าการปล่อยแตนเบียนดักแด้ 15 และ 20 ตัวต่อต้น สำหรับผลการทดสอบประสิทธิภาพการเบียน พบว่าการปล่อยแตนเบียนดักแด้ 20 ตัวต่อต้น มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพสูงที่สุดคือ 76.81 รองลงมาคือการปล่อยแตนเบียนดักแด้ 15 และ 25 ตัวต่อต้น มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 63.79 และ 58.42 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ถึงแม้ว่าการปล่อยแตนเบียนดักแด้ 25 ตัวต่อต้น มีเปอร์เซ็นต์การเบียน 82.79 แต่มีจำนวนรุ่นลูกเฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพน้อยกว่าการปล่อยแตนเบียนดักแด้ 15 และ 20 ตัวต่อต้น จึงเลือกการปล่อยแตนเบียนดักแด้ 15 และ 20 ตัวต่อต้น ไปทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในแปลงมะพร้าว (Table 2)

ขั้นตอนที่ 3 ทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในแปลงมะพร้าว

การทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในแปลงมะพร้าว จำนวน 3 แปลง ได้แก่ แปลงที่ 1 ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 15 ตัวต่อต้น (375 ตัวต่อไร่) (Figure 1) แปลงที่ 2 ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 20 ตัวต่อต้น (500 ตัวต่อไร่) (Figure 2) และแปลงที่ 3 ไม่ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* (Figure 3) ตั้งแต่เดือนเมษายนถึงพฤษภาคม 2567 อุณหภูมิเฉลี่ยในแปลงมะพร้าว

33-38 องศาเซลเซียส โดยปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ทุก 7 วัน จำนวน 8 ครั้ง ทำการตรวจนับจำนวนหนอนหัวดำมะพร้าวและดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว จำนวน 10 แถว (6-7 ต้นต่อแถว) แถวละ 40 ใบย่อย จากการประเมินความเสียหายต้นมะพร้าวจากการทำลายของหนอนหัวดำมะพร้าวก่อนทำการทดลองทั้ง 3 แปลง มีความเสียหายระดับปานกลางมีทางใบเขียว 6-13 ทางใบ

ก่อนปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในแปลงปล่อยแตนเบียนดักแด้ 15 20 ตัวต่อต้น และไม่ปล่อยแตนเบียนดักแด้ พบดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวเฉลี่ย 5.00 3.40 และ 5.40 ตัว ตามลำดับ(Figure 4) โดยแปลงปล่อยแตนเบียนดักแด้ 15 ตัวต่อต้น และไม่ปล่อยแตนเบียนดักแด้ มีจำนวนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแปลงที่ปล่อยแตนเบียนดักแด้ 20 ตัวต่อต้น แม้ว่าจะมีการประเมินความเสียหายจากการทำลายของหนอนหัวดำมะพร้าวใกล้เคียงกันก็ตาม

แปลงที่ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 15 ตัวต่อต้น มีจำนวนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวก่อนปล่อยแตนเบียนดักแด้ และสัปดาห์ 1- 9 เฉลี่ย 5.00 4.50 2.70 2.10 2.20 1.60 1.20 1.50 0.00 และ 0.00 ตัว ตามลำดับ มีจำนวนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวลดลงหลังจากปล่อยแตนเบียนดักแด้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแปลงที่ไม่ปล่อยแตนเบียนดักแด้ จำนวนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวเฉลี่ย 5.40 4.50 3.70 4.90 4.60 3.80 3.90 7.10 5.20 และ 4.50 ตัว ตามลำดับ ยกเว้นในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 (Figure 4) ตรวจพบแตนเบียนดักแด้รุ่นลูกหลังปล่อยแตนเบียนดักแด้ 1 สัปดาห์ ในสัปดาห์ที่ 1-7 พบแตนเบียนดักแด้รุ่นลูกเฉลี่ย 0.20 0.40 0.70 0.90 0.50 0.70 และ 0.80 ตัว ตามลำดับ (Figure 5) มีเปอร์เซ็นต์การเบียน 11.83-55.00 (Figure 6) ทั้งนี้ สัปดาห์ที่ 4 ต้นมะพร้าวเริ่มมีการฟื้นตัวมีการแตกยอดใหม่และมีทางใบเขียวเพิ่มขึ้น ไม่พบดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในสัปดาห์ที่ 8 และ 9 ส่งผลให้ไม่พบแตนเบียนดักแด้รุ่นลูกตามไปด้วย การปล่อยแตนเบียนดักแด้จำนวน 15 ตัวต่อต้น สามารถช่วยควบคุมดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวให้ลดลงได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 หลังปล่อยแตนเบียนดักแด้ การประเมินความเสียหายต้นมะพร้าวจากการทำลายของหนอนหัวดำมะพร้าวหลังปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าระดับการทำลายไม่มีการระบาดคือ ไม่พบทางใบถูกทำลาย

ส่วนแปลงที่ปล่อยแตนเบียนดักแด้จำนวน 20 ตัวต่อต้น มีจำนวนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวก่อนปล่อยแตนเบียนดักแด้ และสัปดาห์ 1- 9 เฉลี่ย 3.40 2.40 3.40 5.90 6.80 5.80 4.90 5.00 3.60 และ 2.40 ตัว ตามลำดับ จำนวนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวลดลงในสัปดาห์ที่ 5 หลังจากปล่อยแตนเบียนดักแด้ (Figure 4) ตรวจพบแตนเบียนดักแด้รุ่นลูกหลังปล่อยแตนเบียนดักแด้ 3 สัปดาห์ สัปดาห์ที่ 1-9 พบแตนเบียนดักแด้รุ่นลูกเฉลี่ย 0.00 0.00 2.00 3.30 2.00 2.20 2.30 1.80 และ 1.10 ตัว ตามลำดับ (Figure 5) เนื่องจากก่อนปล่อยแตนเบียนประชากรหนอนหัวดำมะพร้าวส่วนใหญ่เป็นระยะหนอน แตนเบียนดักแด้ไม่สามารถทำลายได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเบียน 8.33-60.10 (Figure 6) ทั้งนี้ สัปดาห์ที่ 7 ต้นมะพร้าวเริ่มมีการฟื้นตัว มีการแตกยอดใหม่ และมีทางใบเขียวเพิ่มขึ้น ซึ่งสัปดาห์ที่ 9 พบดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวเฉลี่ย 2.40 ตัว ซึ่งจะมีการพัฒนาไปเป็นผีเสื้อวางไข่ การประเมิน

ความเสียหายต้นมะพร้าวจากการทำลายของหนอนหัวดำมะพร้าวหลังปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบระดับการทำลายระดับน้อยคือ มีใบมะพร้าวที่ยังไม่ถูกทำลายมากกว่า 13 ทางใบ

ถึงแม้ว่าแปลงที่ปล่อยแตนเบียนดักแด้จำนวน 20 ตัวต่อต้น พบจำนวนแตนเบียนดักแด้รุ่นลูกและมีเปอร์เซ็นต์การเบียนมากกว่าแปลงที่ปล่อยแตนเบียนดักแด้จำนวน 15 ตัวต่อต้น เนื่องจากแปลงที่ปล่อยแตนเบียนดักแด้จำนวน 20 ตัวต่อต้น ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 พบจำนวนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว (5.90 ตัว)มากกว่าแปลงที่ปล่อยแตนเบียนดักแด้จำนวน 15 ตัวต่อต้น (2.10 ตัว) และจำนวนแตนเบียนดักแด้ที่ปล่อยในแต่ละสัปดาห์มากกว่า จึงมีโอกาสพบแตนเบียนดักแด้รุ่นลูกสูงตามไปด้วย ซึ่งหลังจากปล่อยแตนเบียนดักแด้ครบจำนวน 8 ครั้ง แปลงที่ปล่อยแตนเบียนดักแด้จำนวน 20 ตัวต่อต้น ตรวจพบดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว (2.40 ตัว) มากกว่าแปลงที่ปล่อยแตนเบียนดักแด้จำนวน 15 ตัวต่อต้น (0.00 ตัว) (Figure 4) จึงควรปล่อยแตนเบียนดักแด้อย่างต่อเนื่องอีก 2-3 เดือน

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis*

การทดสอบสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ตรวจผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ thiamethoxam carbaryl diazinon และ carbosulfan สามารถทำให้แตนเบียนดักแด้ตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ imidacloprid (84%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น chlorantraniliprole (6 %) โดยที่ flubendiamide lufenuron emamectin benzoate abamectin และ spinosad ไม่ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย ผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ thiamethoxam carbaryl diazinon และ carbosulfan สามารถทำให้แตนเบียนดักแด้ตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ imidacloprid (99%) และ emamectin benzoate (33%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น chlorantraniliprole (10%) abamectin (7%) spinosad (4%) flubendiamide (2%) และ lufenuron (2%) ส่วนผลการทดลองที่ 72 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ thiamethoxam imidacloprid carbaryl diazinon และ carbosulfan สามารถทำให้แตนเบียนดักแด้ตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ emamectin benzoate (48%) abamectin (32%) spinosad (16%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น chlorantraniliprole (10%) lufenuron (3%) และ flubendiamide (2%)

ผลของการจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994) พบว่าสารที่มีพิษร้ายแรง (harmful) ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย >99% มีจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ thiamethoxam imidacloprid carbaryl diazinon และ carbosulfan สารที่มีพิษน้อย (slightly harmful) ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย 30-79% มีจำนวน 2 ชนิด คือ emamectin benzoate และ abamectin และสารเคมี

ไม่มีพิษ (harmless) ที่ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย <30% มี 4 ชนิด คือ chlorantraniliprole flubendiamide lufenuron และ spinosad (Table 3)

การทดสอบสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 1 วัน ตรวจผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่า diazinon และ carbosulfan สามารถทำให้แตนเบียนดักแด้ตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ imidacloprid (90%) carbaryl (88%) thiamethoxam (77%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น chlorantraniliprole (8 %) emamectin benzoate (6 %) และ abamectin (5 %) โดยที่ flubendiamide lufenuron และ spinosad ไม่ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย ผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ carbaryl diazinon และ carbosulfan สามารถทำให้แตนเบียนดักแด้ตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ thiamethoxam (93%) imidacloprid (93%) abamectin (14%) chlorantraniliprole (12%) emamectin benzoate (11%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น spinosad (4%) flubendiamide (2%) และ lufenuron (1%) ส่วนผลการทดลองที่ 72 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ carbaryl diazinon และ carbosulfan สามารถทำให้แตนเบียนดักแด้ตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ imidacloprid (96 %) thiamethoxam (95 %) abamectin (20 %) spinosad (16 %) chlorantraniliprole (14%) emamectin benzoate (12%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น flubendiamide (6%) และ lufenuron (3%)

ผลของการจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994) พบว่า สารที่มีพิษร้ายแรง (harmful) ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย >99% มีจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ carbaryl diazinon และ carbosulfan สารที่มีพิษปานกลาง (moderately harmful) ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย 80-99% มีจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ thiamethoxam และ imidacloprid และสารเคมีไม่มีพิษ (harmless) ที่ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย <30% มีจำนวน 6 ชนิด คือ chlorantraniliprole flubendiamide lufenuron emamectin benzoate abamectin และ spinosad (Table 4)

การทดสอบสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 7 วัน ตรวจผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ diazinon และ carbosulfan สามารถทำให้แตนเบียนดักแด้ตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ thiamethoxam (97%) carbaryl (87%) imidacloprid (81%) chlorantraniliprole (8%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น emamectin benzoate (3%) และ lufenuron (1%) โดยที่ flubendiamide abamectin และ spinosad ไม่ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย ผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ diazinon และ carbosulfan สามารถทำให้แตนเบียนดักแด้ตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ thiamethoxam (98%) carbaryl (96%) imidacloprid (85%) chlorantraniliprole (10%) emamectin benzoate (8%) abamectin (7%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น lufenuron (1%) โดยที่

flubendiamide และ spinosad ไม่ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย ส่วนผลการทดลองที่ 72 ชั่วโมง พบว่า สารจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ diazinon และ carbosulfan สามารถทำให้แตนเบียนดักแด้ตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ thiamethoxam (98%) carbaryl (97%) imidacloprid (92%) emamectin benzoate (26%) abamectin (15%) และ chlorantraniliprole (12%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น lufenuron (4%) %) และ spinosad (4%) โดยที่ flubendiamide ไม่ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย

ผลของการจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994) พบว่า สารที่มีพิษร้ายแรง (harmful) ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย >99% มีจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ diazinon และ carbosulfan สารที่มีพิษปานกลาง (moderately harmful) ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย 80-99% มีจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ thiamethoxam imidacloprid และ carbaryl และสารเคมีไม่มีพิษ (harmless) ที่ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย <30% มีจำนวน 6 ชนิด คือ chlorantraniliprole flubendiamide lufenuron emamectin benzoate abamectin และ spinosad (Table 5)

การทดสอบสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 14 วัน ตรวจผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ diazinon และ carbosulfan สามารถทำให้แตนเบียนดักแด้ตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ thiamethoxam (90%) imidacloprid (74%) carbaryl (58%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น emamectin benzoate (7%) และ lufenuron (4%) และ abamectin (1%) โดยที่ chlorantraniliprole flubendiamide และ spinosad ไม่ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย ผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง พบว่าสารจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ diazinon และ carbosulfan สามารถทำให้แตนเบียนดักแด้ตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ thiamethoxam (99%) imidacloprid (94%) carbaryl (79%) emamectin benzoate (24%) และ abamectin (12%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) ยกเว้น lufenuron (9%) โดยที่ chlorantraniliprole flubendiamide และ spinosad ไม่ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย ส่วนผลการทดลองที่ 72 ชั่วโมง พบว่า สารจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ diazinon และ carbosulfan สามารถทำให้แตนเบียนดักแด้ตายสูงสุดถึง 100% รองลงมาคือ thiamethoxam (99%) imidacloprid (94%) carbaryl (82%) emamectin benzoate (29%) abamectin (23%) และ lufenuron (12%) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (0%) โดยที่ chlorantraniliprole flubendiamide และ spinosad ไม่ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย

ผลของการจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994) พบว่า สารที่มีพิษร้ายแรง (harmful) ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย >99% มีจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ diazinon และ carbosulfan สารที่มีพิษปานกลาง (moderately harmful) ทำให้แตนเบียนดักแด้ตาย 80-99% มีจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ thiamethoxam imidacloprid และ carbaryl และสารเคมีที่ทำให้แตน

เบียนดักแด้ตาย <30% มีจำนวน 6 ชนิด คือ chlorantraniliprole flubendiamide lufenuron emamectin benzoate abamectin และ spinosad (Table 6)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* โดยใช้แมลงอาศัย 2 ชนิด ได้แก่ ดักแด้ผีเสื้อข้าวสารและดักแด้หนอนกินรังผึ้ง พบว่าการเบียนดักแด้ผีเสื้อข้าวสารมีแตนเบียนรุ่นลูกเฉลี่ย 43.80±9.60 และ 47.70±11.44 ตัว ตามลำดับ เป็นแตนเบียนเพศเมียเฉลี่ย 28.74±6.31 และ 29.24±8.80 ตัว ตามลำดับ แตนเบียนเพศผู้เฉลี่ย 15.06±4.83 และ18.46±4.45 ตัว ตามลำดับ โดยตัวเต็มวัยแตนเบียนที่ได้จากการเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารมีอายุสั้นกว่าเลี้ยงด้วยดักแด้หนอนกินรังผึ้ง การเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารและดักแด้หนอนกินรังผึ้ง มีเปอร์เซ็นต์การเบียน 57.36 และ 61.70 ตามลำดับ การเลี้ยงดักแด้ผีเสื้อข้าวสารมีต้นทุนต่ำกว่าหนอนกินรังผึ้ง จึงเลือกดักแด้หนอนผีเสื้อข้าวสารไปใช้ผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ให้มีปริมาณมาก

การทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ในโรงเรือนทดลอง พบว่าการปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 20 ตัวต่อต้น มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 76.81 และเปอร์เซ็นต์การเบียน 76.58 ไม่แตกแตกต่างกันทางสถิติกับการปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 25 ตัวต่อต้น มีจำนวนรุ่นลูกเพศเมีย เพศผู้ และรุ่นลูกทั้งหมดเฉลี่ย 8.60 6.20 และ 14.80 ตัว ตามลำดับ

การทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในแปลงมะพร้าวที่ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 15 และ 20 ตัวต่อต้น มีเปอร์เซ็นต์การเบียนไม่แตกแตกต่างกันทางสถิติ สามารถนำอัตราการปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 15 และ 20 ตัวต่อต้น ไปใช้ควบคุมดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในแปลงมะพร้าวได้ ขึ้นกับความเหมาะสม หากปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ได้มากจะทำให้เห็นผลการควบคุมเร็วขึ้น โดยก่อนปล่อยแตนเบียนดักแด้ให้ตัดทางใบมะพร้าวที่มีการทำลายของหนอนหัวดำมะพร้าวออกจากแปลงไปทำลายเพื่อลดการทำลายหนอนหัวดำมะพร้าวและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพแตนเบียนดักแด้ ซึ่งหลังปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* 2 เดือน ควรมีการสำรวจประชากรหนอนหัวดำมะพร้าว หากพบดักแด้ของหนอนหัวดำมะพร้าวให้ปล่อยแตนเบียนดักแด้ต่อเนื่อง 2-3 เดือน หรือตามความเหมาะสม เพื่อควบคุมดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวไม่ให้พัฒนาเป็นผีเสื้อไปวางไข่สามารถตัดวงจรชีวิตช่วยลดจำนวนหนอนหัวดำมะพร้าวลงได้

การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จำนวน 11 ชนิด พบว่าสารกำจัดแมลง chlorantraniliprole flubendiamide lufenuron spinosad และ emamectin benzoate, abamectin ไม่มีพิษต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* เมื่อปล่อยแตนเบียนดักแด้หลังการพ่นสารกำจัดแมลง 2 วัน และ 1 วันขึ้นไป ตามลำดับ สำหรับสารกำจัดแมลง thiamethoxam imdacloprid carbaryl diazinon และ carbosulfan มีพิษปานกลางถึงมีพิษร้ายแรง

กับแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* จึงไม่แนะนำให้ปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในแปลงที่มีการพ่นสารกำจัดแมลง 5 ชนิดนี้ เพื่อความปลอดภัยของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis*

การนำผลงานวิจัยใช้ประโยชน์

1. นำชนิดแมลงอาศัยที่เหมาะสมสำหรับนำไปผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ไปใช้ในการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ให้มีปริมาณมาก

2. แตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* สามารถนำไปใช้ร่วมกับการปล่อยศัตรูธรรมชาติชนิดอื่นๆ ได้ เช่น แตนเบียนหนอนหัวดำมะพร้าว *Goniozus nephantidis* ทำลายระยะหนอนของหนอนหัวดำมะพร้าว ซึ่งช่วยควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวได้ในเวลาเดียวกันเพื่อให้การป้องกันกำจัดหนอนหัวดำมะพร้าวเห็นผลเร็วมากขึ้น

3. สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีวิธีการผลิตขยายปริมาณแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* เทคโนโลยีการใช้แตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ควบคุมระยะดักแด้ของหนอนหัวดำมะพร้าวในแปลงมะพร้าว และชนิดสารป้องกันกำจัดแมลงที่มีความปลอดภัยต่อแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* เพื่อเป็นคำแนะนำให้กับเจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร หรือเจ้าหน้าที่หน่วยงานภาครัฐอื่นๆ และถ่ายทอดเทคโนโลยีส่งต่อให้กับเกษตรกรชาวสวนมะพร้าวเพื่อให้เกิดความเข้าใจในการใช้ประโยชน์ของแตนเบียนดักแด้เพื่อควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวโดยชีววิธี

4. จัดทำผลงานวิจัยเรื่องเต็มในเอกสารผลงานวิจัยสิ้นสุดประจำปีงบประมาณ 2567 ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

5. นำองค์ความรู้ไปพัฒนาต่อยอดงานวิจัยต่างๆ เช่น ศึกษาการปล่อยดักแด้ *B. nephantidis* ร่วมกับแมลงศัตรูธรรมชาติชนิดอื่นๆ ศึกษาพัฒนาวิธีการปล่อยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวโดยใช้อากาศยานไร้คนขับเพื่อใช้เป็นคำแนะนำและเป็นทางเลือกให้กับเกษตรกร

6. การใช้แตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวเป็นทางเลือกที่ดีในการลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลงศัตรูมะพร้าว ปลอดภัยต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และสภาพแวดล้อม ตรงตามนโยบายของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้ความอนุเคราะห์โรงเรือนทดลอง ขอบคุณนางสาวจารุวรรณ เหลืองชัยพัฒนา ที่ให้ความอนุเคราะห์แปลงทดลอง ตำบลท่าชุมพล อำเภอโพธาราม จังหวัดราชบุรี ขอบคุณนายบุญลือ สงเคราะห์สุข และนายแหวน ศรีโชติ ที่ให้ความอนุเคราะห์แปลงทดลอง ตำบลจอมประทัด อำเภอวัดเพลง จังหวัดราชบุรี ขอบคุณนายสมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น ผู้อำนวยกลุ่มกีฏและสัตววิทยา บริษัท โซตัส อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด และบริษัท ซินเจนทา ครอป โปรเทคชั่น จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์สารป้องกันกำจัด

แมลง ขอบคุณกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ (งานไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง) ที่ให้ความอนุเคราะห์ดักแด้หนอนกินรังผึ้ง ขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัยนางสาวสุณิสา ชมชิด กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ช่วยเก็บข้อมูลทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงเป็นไปตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ รจนา ไวยเจริญ และนงนุช ช่างสี. 2560. การนำเข้าแตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan (Hymenoptera: Chalcididae) เพื่อควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae) โดยชีววิธี. หน้า 79-80. *ใน: การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 13*. 21-23 พฤศจิกายน 2560 ณ โรงแรมเรือรัษฎา อำเภอเมือง จังหวัดตรัง.

ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ รจนา ไวยเจริญ และนงนุช ช่างสี. 2564. การศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae) ชนิดท้องถิ่นและนำเข้า. หน้า 824-847. *ใน* : ผลงานวิจัยประจำปี 2563 เล่ม 2. เอกสารวิชาการเลขที่ 1/2564. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ และสาทิพย์ มาลี. 2567. การผลิตขยายแตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan โดยใช้ดักแด้ของหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton) และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* L.. วารสารกีฏและสัตววิทยา 42(1-2): 17-29.

พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ และอุณากุล จันทร์ภู่. 2565. การเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง หนอนผีเสื้อข้าวสารเป็นแมลงอาศัยเพื่อเลี้ยงขยายปริมาณแตนเบียนและศัตรูธรรมชาติ. จดหมายข่าวผลิใบ. 25 (3): 8-15.

Abbott, W. S. 1925. Method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology. 18: 256-267.

Hassan, S.A., F. Bigler, H. Bogenschutz, E. Boller, J. Brun, M. Calis, J. Coremamspelseneer, C. Duso, A. Grove, U. Heimbach, N. Helyer, H. Hokkanen, G.B. Lewis, F. Mansour, L. Moreth, L. Polgar, L. Samsoe-petersen, B. Sauphanor, A. Staubli, G. Sterk, A. Vainio, M. Van De Veire, G Viggiani and H. Vogt. 1994. Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS-working group "pesticides and beneficial organisms". Entomophaga. 39: 107-119.

Table 1 Mean number of progeny, age and percent of parasitism of *Brachymerianephantidis*, when fed with *Corcyra cephalonica* and *Galleria mellonella* pupae under laboratory condition (25±2 ℃ and 65±2% RH)

Host	No. of *B. nephantidis* (Mean±SD)			Age of adult (day) (Mean±SD)		% parasitism	Sex ratio (male: female)
	Female	Male	Total	Female	Male		
C. cephalonica	28.74±6.31	15.06±4.83	43.80±9.60	28.30±7.14	23.54±7.71	57.36	1: 2.11
G. mellonella	29.24±8.80	18.46±4.45	47.70±11.44	41.10±14.77	33.56±11.74	61.70	1: 1.63
t-test	**ns**	*****	**ns**	*****	*****	*****	

* = significant at 5% level

ns = not significant

Table 2 Mean number of progeny, percent of parasitism and percentage of efficacy of *Brachymeria nephantidis* when release for controlling *Opisina arenosella* in the greenhouse (35±2 ºC and 65±2% RH)

No. of *B. nephantidis*	No. of progeny of *B. nephantidis* (mean±SD)[1/]			% parasitism [1/]	% efficacy [1/]
	female	male	total		
5	2.60 cd	2.40 cd	5.00 b	30.37 c	26.84 c
10	4.60 bc	3.20 bc	7.80 b	43.58 c	41.05 bc
15	7.20 ab	5.20 ab	12.40 a	64.68 b	63.79 ab
20	8.60 a	6.20 a	14.80 a	76.58 ab	76.81 a
25	3.60 c	2.00 cd	5.60 b	82.79 a	58.42 ab
non release	0.00 d	0.00 cd	0.00 c	0.00 d	0.00 d
C.V. (%)	**45.96**	**58.93**	**38.92**	**26.33**	**35.45**

[1/] In a column, means followed by the same letters are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 3 Percent mortality of *Brachymeria nephantidis* after 2 hours exposure to each of 11 insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	% mortality[1/]			OBC category [2/]
	24 hours	48 hours	72 hours	
thiamethoxam 25% WG	100 c	100 c	100 e	4
imidacloprid 70% WG	84 b	99 c	100 e	4
carbaryl 85% WP	100 c	100 c	100 e	4
chlorantraniliprole 5.17% SC	6 a	10 a	10 ab	1
flubendiamide 20% WG	0 a	2 a	2 a	1
lufenuron 5% EC	0 a	2 a	3 a	1
emamectin benzoate 1.92% EC	0 a	33 b	48 d	2
abamectin 1.8% EC	0 a	7 a	32 c	2
spinosad 12% SC	0 a	4 a	16 b	1
diazinon 60% EC	100 c	100 c	100 e	4
carbosulfan 20% EC	100 c	100 c	100 e	4
water	0 a	0 a	0 a	1
C.V. (%)	**22.46**	**25.24**	**28.34**	

[1/] Means in the same column followed by the different characters are significantly different (P<0.05) by DMRT

[2/] 1 = harmless (<30%), 2 = slightly harmful (30–79%), 3 = moderately harmful (80–99%), 4 = harmful (>99%), Hassan *et al*. (1994)

Table 4 Percent mortality of *Brachymeria nephantidis* after 1 day exposure to each of 11 insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	% mortality[1/]			IOBC category [2/]
	24 hours	48 hours	72 hours	
thiamethoxam 25% WG	77 b	93 e	95 d	3
imidacloprid 70% WG	90 cd	93 e	96 d	3
carbaryl 85% WP	88 c	100 e	100 d	4
chlorantraniliprole 5.17% SC	8 a	12 cd	14 bc	1
flubendiamide 20% WG	0 a	2 ab	6 ab	1
lufenuron 5% EC	0 a	1 ab	1 a	1
emamectin benzoate 1.92% EC	6 a	11 bcd	12 bc	1
abamectin 1.8% EC	5 a	14 d	20 c	1
spinosad 12% SC	0 a	4 abc	16 bc	1
diazinon 60% EC	100 d	100 e	100 d	4
carbosulfan 20% EC	100 d	100 e	100 d	4
water	0 a	0 a	0 a	1
C.V. (%)	**24.14**	**20.59**	**24.28**	

[1/] Means in the same column followed by the different characters are significantly different (P<0.05) by DMRT

[2/] 1 = harmless (<30%), 2 = slightly harmful (30–79%), 3 = moderately harmful (80–99%), 4 = harmful (>99%), Hassan *et al*. (1994)

Table 5 Percent mortality of *Brachymeria nephantidis* after 7 days exposure to each of 1 insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	% mortality[1/]			IOBC category [2/]
	24 hours	48 hours	72 hours	
thiamethoxam 25% WG	97 d	98 d	98 e	3
imidacloprid 70% WG	81 c	85 c	92 e	3
carbaryl 85% WP	87 c	96 d	97 e	3
chlorantraniliprole 5.17% SC	8 b	10 b	12 bc	1
flubendiamide 20% WG	0 a	0 a	0 a	1
lufenuron 5% EC	1 a	1 a	4 ab	1
emamectin benzoate 1.92% EC	3 ab	8 b	26 d	1
abamectin 1.8% EC	0 a	7 b	15 c	1
spinosad 12% SC	0 a	0 a	4 ab	1
diazinon 60% EC	100 d	100 d	100 e	4
carbosulfan 20% EC	100 d	100 d	100 e	4
water	0 a	0 a	0 a	1
C.V. (%)	**13.85**	**16.02**	**18.92**	

[1/] Means in the same column followed by the different characters are significantly different (P<0.05) by DMRT

[2/] 1 = harmless (<30%), 2 = slightly harmful (30–79%), 3 = moderately harmful (80–99%), 4 = harmful (>99%), Hassan *et al*. (1994)

Table 6 Percent mortality of *Brachymeria nephantidis* after 14 days exposure to each of 11 insecticides by dry film method

Insecticides and formulation	% mortality[1/]			IOBC category [2/]
	24 hours	48 hours	72 hours	
thiamethoxam 25% WG	90 d	99 e	99 f	3
imidacloprid 70% WG	74 c	94 e	94 f	3
carbaryl 85% WP	58 b	79 d	82 e	3
chlorantraniliprole 5.17% SC	0 a	0 a	0 a	1
flubendiamide 20% WG	0 a	0 a	0 a	1
lufenuron 5% EC	4 a	9 ab	12 b	1
emamectin benzoate 1.92% EC	7 a	24 c	37 d	1
abamectin 1.8% EC	1 a	12 bc	23 c	1
spinosad 12% SC	0 a	0 a	0 a	1
diazinon 60% EC	100 d	100 e	100 f	4
carbosulfan 20% EC	100 d	100 e	100 f	4
water	0 a	0 a	0 a	1
C.V. (%)	**30.96**	**22.23**	**8.49**	

[1/] Means in the same column followed by the different characters are significantly different (P<0.05) by DMRT

[2/] 1 = harmless (<30%), 2 = slightly harmful (30–79%), 3 = moderately harmful (80–99%), 4 = harmful (>99%), Hassan *et al*. (1994)

Figure 1 Releasing *Brachymeria nephantidis* 15 adults per tree in the coconut plantation

A) - B) before release *B. nephantidis*

C) - D) 8 weeks after release *B. nephantidis*

E) - G) releasing method of *B. nephantidis*

Figure 2 Releasing *Brachymeria nephantidis* 20 adults per tree in the coconut plantation

A) - B) before release *B. nephantidis*

C) - D) 8 weeks after release *B. nephantidis*

E) - F) releasing method of *B. nephantidis*

Figure 3 Non Release *Brachymeria nephantidis* in the coconut plantation

A) - B) before Application

C) - D) 8 weeks after Application

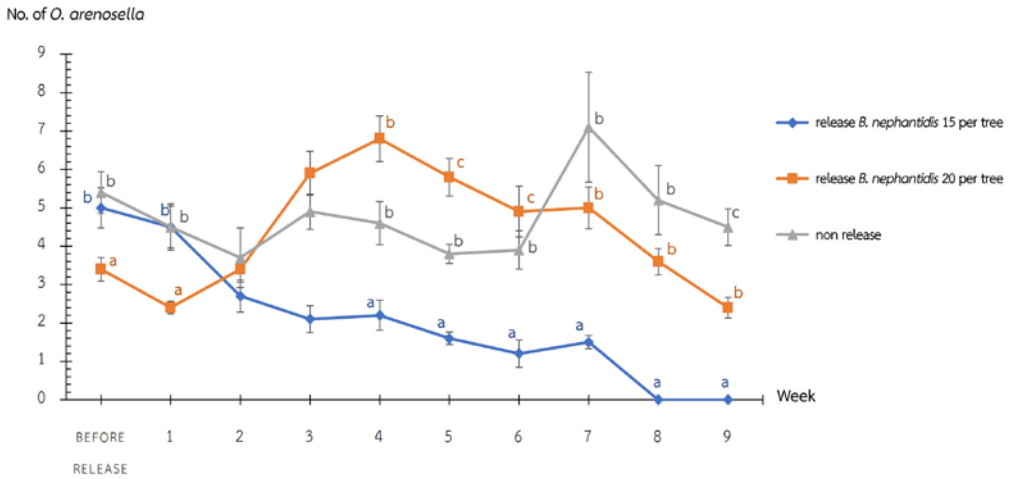


Figure 4 Mean of *Opisina arenosella* pupae when release and non release *Brachymeria nephantidis* in coconut field at Photharam District and 2 locations at Wat Phleng, District, Ratchaburi Province

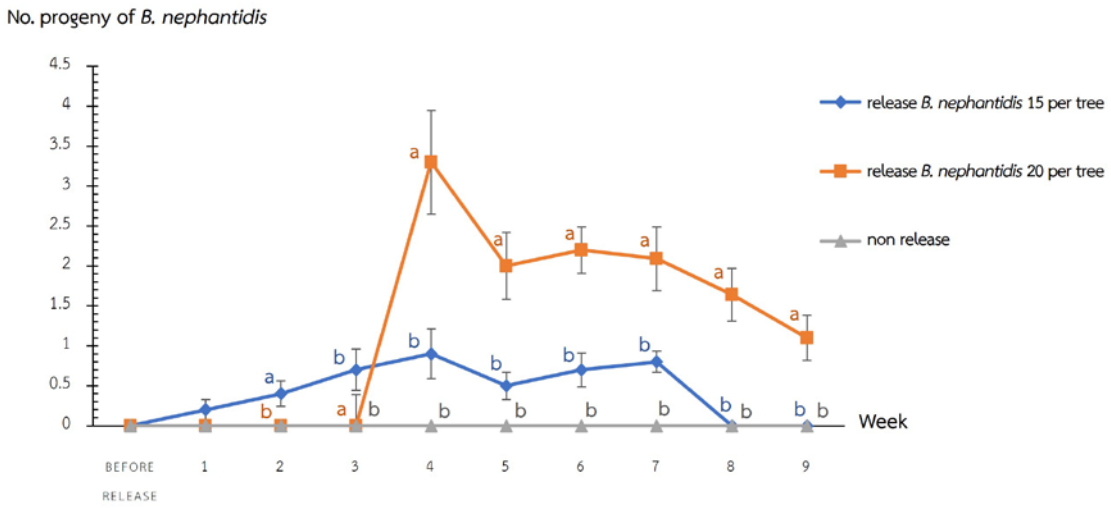


Figure 5 Mean number of progeny of *Brachymeria nephantidis* when release and non release in coconut field at Photharam District and 2 locations at Wat Phleng, District, Ratchaburi Province

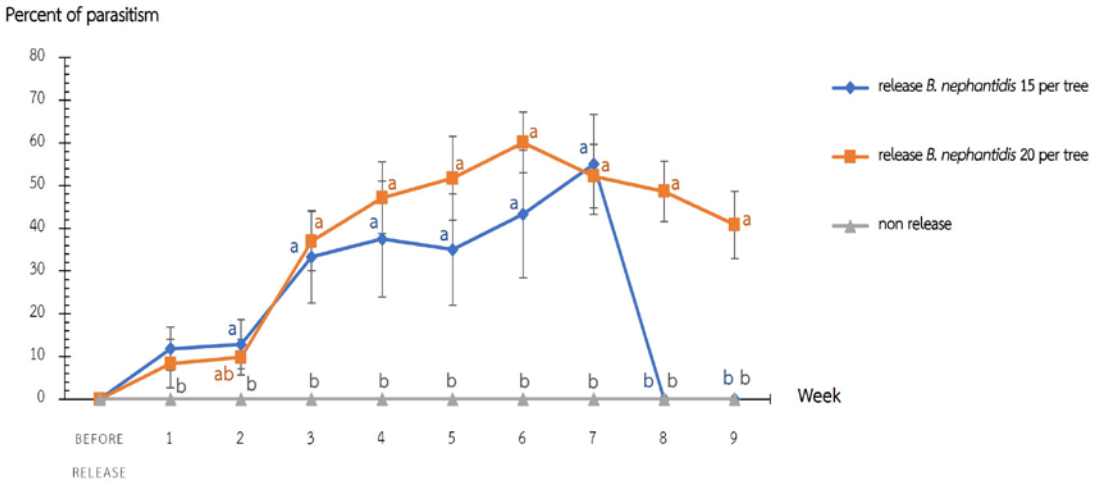


Figure 6 Percent of parasitism of *Brachymeria nephantidis* when release and non release in coconut field at Photharam District and 2 locations at Wat Phleng, District, Ratchaburi Province

การศึกษาศักยภาพ การผลิตขยาย และผลกระทบของสารเคมีต่อแตนเบียน *Encarsia sophia* (Girault & Dodd) (Hymenoptera: Aphelinidae) ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)

Potential, Mass Rearing and Impact of Insecticides to the parasitoid *Encarsia sophia* (Girault & Dodd) (Hymenoptera: Aphelinidae) for Controlling Whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)

สุพรรณี ภูคะฮาด พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์
สาทิพย์ มาลี สุนัดดา เชาวลิต
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Study on the potential, mass rearing and impact of insecticides to the parasitoid *Encarsia sophia* for controlling Whitefly *Bemisia tabaci*. The objective of this study is to evaluate the parasitism potential of the parasitoid wasp *E. sophia* for controlling the tobacco whitefly *B. tabaci*, to develop a mass-rearing method, and to assess the impact of insecticides on the parasitoid. The research was conducted from October 2022 to September 2024. Results showed that *E. sophia* most effectively parasitized 4th instar whitefly nymphs, with statistically significant differences compared to earlier instars (1st to 3rd). While exposed to varying densities of host nymphs, parasitism potential increased with host abundance, peaking on days 2 and 3 after release before gradually declining. However, in trials releasing different numbers of *E. sophia* (1 to 8 individuals) to parasitize 80 whitefly nymphs, the highest parasitism rate was observed when 5 parasitoids were released. In greenhouse trials, releasing 15 parasitoids per cage resulted in the highest parasitism rate at 51.63%. Mass-rearing in mesh cages (30×30×30 cm) showed that releasing 100 parasitoids yielded the highest production, averaging 955.20 offspring, or 46.98% emergence rate.

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-07-65

The impact of 11 insecticides on *E. sophia* was assessed using the dry film method after 1, 7, and 14 days of residue aging. Dinotefuran, Thiamethoxam, Cypermethrin,Emamectin benzoate, Methomyl, Fipronil, and Imidacloprid were found to be harmful, causing 100% mortality. Therefore, a residue period should be studied more than 14 days to ensure parasitoid safety before releasing the parasitoid for controlling whitefly. This research provides a foundation for further development of *E. sophia* as a sustainable tool in managing tobacco whitefly populations.

Keywords : *Bemisia tabaci*, *Encarsia sophia*, parasitoids, whitefly

บทคัดย่อ

การศึกษาศักยภาพ การผลิตขยาย และผลกระทบของสารเคมีต่อแตนเบียน *Encarsia sophia* ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพการเบียนของแตนเบียน *E. sophia* ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณแตนเบียน *E. sophia* และผลกระทบของสารเคมีกำจัดแมลงต่อแตนเบียนชนิดนี้ ดำเนินการวิจัยตั้งแต่เดือนตุลาคม 2565 - เดือนกันยายน 2567 จากผลการวิจัย พบว่า แตนเบียน *E. sophia* ชอบเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่เริ่มเข้าวัย 4 มากที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1-3 สำหรับการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบในจำนวนที่แตกต่างกัน พบว่า เมื่อจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบมากขึ้น ศักยภาพการเบียนก็มากขึ้นตามไปด้วย โดยแตนเบียนมีศักยภาพการเบียนได้มากในวันที่ 2 และ 3 แล้วจะค่อยๆ ลดลง อย่างไรก็ตาม การปล่อยแตนเบียนในจำนวนที่แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 5 6 7 และ 8 ตัว ให้เบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จำนวน 80 ตัว พบว่า การปล่อยแตนเบียนจำนวน 5 ตัว ต่อตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 80 ให้ผลอัตราการเบียนมากที่สุด สำหรับการศึกษาอัตราการใช้แตนเบียน *E. sophia* ในการลดประชากรแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพโรงเรือน พบว่า การปล่อยแตนเบียนที่ 15 ตัวต่อกรง ให้อัตราการเบียนสูงสุด 51.63 เปอร์เซ็นต์ ในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแตนเบียน *E. sophia* ในกรงตาข่ายขนาด 30x30x30 เซนติเมตร พบว่า การปล่อยแตนเบียนจำนวน 100 ตัว ให้ผลผลิตแตนเบียนมากที่สุด 955.20 ตัว คิดเป็น 46.98 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงจำนวน 11 ชนิด ต่อแตนเบียน *E. sophia* โดยใช้วิธีการ dry film method หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 1 วัน 7 วัน และ 14 พบว่า Dinotefuran Thiamethoxam Cypermethrin Emamectin benzoate Methomyl Fipronil และ Imidacloprid มีพิษร้ายแรงทำให้แตนเบียนตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ควรทำการทดสอบเพิ่มระยะเวลาเคลือบสารทิ้งไว้มากกว่า 14 วัน เพื่อศึกษาระยะเวลาที่ปลอดภัยต่อแตนเบียนสำหรับ

ปล่อยควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ ผลการทดลองนี้จะเป็นความรู้พื้นฐานสำหรับการนำแตนเบียน *E. sophia* ไปใช้ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบอย่างยั่งยืนต่อไป

คำหลัก : แตนเบียน แมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci*, *Encarsia sophia*, parasitoids, whitefly

คำนำ

แมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญและระบาดรุนแรงทั่วโลก โดยมีวงจรชีวิต 31-48 วัน ระยะไข่ 4-5 วัน ระยะตัวอ่อน 12-13 วัน และระยะตัวเต็มวัย 15-30 วัน (สุพรรณี และพัชรีวรรณ, 2568) สามารถเข้าทำลายพืชโดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบและยอดอ่อนของพืชทำให้พืชชะงักการเจริญเติบโต แคระแกร็น และขับถ่ายมูลหวาน (honey dew) ออกมาเป็นอาหารของราดำ ส่งผลให้คุณภาพผลผลิตลดลง นอกจากนี้ตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบยังเป็นแมลงพาหะนำเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบด่างในพืชต่าง ๆ กว่า 150 ชนิด (Lin *et al*., 2018) ในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบกันอย่างกว้างขวาง แต่กลับพบว่า แมลงหวี่ขาวยาสูบสร้างความต้านทานต่อสารเคมี ซึ่งการใช้สารเคมีมากเกินความจำเป็นไม่ถูกต้องตามวิธีหรืออัตราการใช้ ทำให้แมลงหวี่ขาวยาสูบระบาด (Khalid *et al*., 2021) การใช้แมลงศัตรูธรรมชาติในการควบคุมประชากรของแมลงหวี่ขาวยาสูบให้ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจก่อให้เกิดความยั่งยืนต่อการควบคุมในสภาพธรรมชาติ ซึ่งแมลงศัตรูธรรมชาติของแมลงหวี่ขาวยาสูบที่พบมีทั้งตัวห้ำ และแตนเบียน ได้แก่ แมลงช้างปีกใส *Chrysopa basalis* Walker ด้วงเต่า *Serangium* sp. แมงมุมสกุลไลคอซา (*Lycoza dispersa*) และออกซีออพิส (*Oxyopes dispersa*) และแตนเบียน *Encarsia* sp. (สัจจะ, 2557)

แตนเบียน *Encarsia* sp. เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่สำคัญของแมลงหวี่ขาว มีบทบาทเป็นทั้งตัวห้ำและตัวเบียนแมลงหวี่ขาว เป็นตัวห้ำโดยการที่เพศเมียใช้อวัยวะวางไข่แทงผนังลำตัวของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว และใช้ปากทำให้เป็นแผล เพื่อกินน้ำเลี้ยงที่ออกมาจากตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโดยตรง สามารถทำลายตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวได้ทุกระยะโดยเฉพาะตัวอ่อนวัย 2 สำหรับบทบาทการเป็นตัวเบียน ตัวเต็มวัยแตนเบียน *E. formosa* จะเข้าทำลายแมลงหวี่ขาวยาสูบโดยวางไข่ในตัวอ่อนวัย 3 และวัย 4 เมื่อตัวหนอนแตนเบียนฟักออกจากไข่แล้ว จะอาศัยเจริญเติบโตจนเข้าดักแด้อยู่ภายในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว และเจาะผนังลำตัวแมลงหวี่ขาวออกเป็นแตนเบียนตัวเต็มวัย (Weeden and Hoffman, 2009) รจนา และคณะ (2556) ได้สำรวจแตนเบียน *Encarsia* sp. จากแปลงปลูกมันสำปะหลังในช่วงเดือนต่าง ๆ โดยเก็บแมลงหวี่ขาวใยเกลียวมาเลี้ยง และตรวจสอบการเบียนในห้องปฏิบัติการ พบว่า มีเปอร์เซ็นต์เบียน 0-57.14% โดยพบมากที่สุดในเดือนกรกฎาคม แตนเบียนที่ออกมาในช่วงหน้าแล้งเดือนมีนาคมถึงพฤษภาคม พบว่าแตนเบียนทั้งหมดเป็นแตนเบียนชนิดสีเหลือง *Encarsia* sp. นอกจากนี้ยังมีการศึกษาประสิทธิภาพการทำลายแมลงหวี่ขาวโรงเรือน *Trialeurodes vaporariorum* พบว่า แตนเบียน *Encarsia* sp. สามารถเข้าเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนได้ตั้งแต่วัย 1 ถึง วัย 3 โดยเบียนวัย 1 ได้มากที่สุดเฉลี่ย 15.304 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือวัย 2 และวัย 3 เฉลี่ย 14.256 และ 10.326 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (อุษณีย์ และคณะ, 2549)

แตนเบียน *E. sophia* มีศักยภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ โดยมีวงจรชีวิต 35.5 วัน ระยะไข่-หนอน 6.4 วัน ระยะดักแด้ 6.5 วัน และระยะตัวเต็มวัย 20.6 วัน (Xu *et al.*, 2018) จากงานวิจัยที่ผ่านมา การศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับศักยภาพการเบียนของแตนเบียน *E. sophia* เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาที่แน่ชัด ดังนั้น การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพการเบียนของแตนเบียน *E. sophia* ในการเบียนแมลงหวี่ขาวยาสูบ *B. tabaci* การเพาะเลี้ยงขยายแตนเบียน *E. sophia* และผลกระทบของสารเคมีที่มีต่อแตนเบียนชนิดนี้ เพื่อเป็นประโยชน์ในการนำไปใช้ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แมลงที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ แตนเบียน *Encarsia sophia* (Girault & Dodd) แมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius)

2. อุปกรณ์สำหรับปลูกมะเขือเปราะ เช่น กระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 นิ้ว จานรองกระถาง พีทมอส ปุ๋ยสูตร 15-15-15 เมล็ดพันธุ์มะเขือเปราะ

3. ต้นมะเขือเปราะ อายุ 1 เดือนหลังย้ายกล้า

4. อุปกรณ์เลี้ยงแมลง เช่น กรงตาข่ายผ้าขนาด 60x90x60 เซนติเมตร กรงตาข่ายผ้าขนาด 30x30x30 เซนติเมตร กล่องเลี้ยงแมลง พู่กัน กล่องพลาสติก aspirator แว่นขยาย พู่กัน น้ำผึ้ง หลอดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.7x6 เซนติเมตร

5. อุปกรณ์สำหรับใช้ทดสอบ เช่น กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope โคมไฟแว่นขยาย (กำลังขยาย 10 เท่า) จานทดลองพลาสติกเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร สำลีแผ่น เหล็กตอกเจาะรูขนาด 30 มิลลิเมตร ปากคีบ พลาสติก หลอดทดลอง ไมโครปิเปต บีกเกอร์ และแผ่นพาราฟิน ฯลฯ

6. สารป้องกันกำจัดแมลง จำนวน 11 ชนิด ได้แก่ Buprofezin Imidacloprid Dinotefuran Thiamethoxam Fipronil Cypermethrin Pymetrozine Cyantraniliprole Emamectin benzoate Methomyl และ Flubendiamide

7. เครื่องวัดอุณหภูมิ-ความชื้น

วิธีการ

1. การทดสอบศักยภาพแตนเบียน *Encarsia sophia* ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci*

การเลี้ยงขยายปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบ และแตนเบียน *Encarsia sophia* สำหรับการทดลอง

เก็บรวบรวมใบมะเขือเปราะที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ และแตนเบียน *E. sophia* จากแปลงมะขือเปราะมาเพาะเลี้ยงให้มีปริมาณมาก โดยนำใบมะเขือเปราะที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบใส่ในกรงตาข่ายผ้าที่มีต้นมะเขือเปราะอายุ 1 เดือนหลังย้ายกล้า สำหรับเป็นอาหารให้แมลงหวี่ขาวยาสูบที่ออกเป็นตัวเต็มวัย ปล่อยให้แมลงหวี่ขาวยาสูบวางไข่บนต้นมะเขือเปราะที่เตรียมไว้ แมลงหวี่ขาวยาสูบจะ

เจริญเติบโตบนต้นมะเขือเปราะนั้นจนกระทั่งออกเป็นตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยที่ได้ไปปล่อยในกรงตาข่ายผ้าใหม่ เพื่อเลี้ยงขยายปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบ สำหรับแตนเบียน *E. sophia* ที่ออกจากตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่เก็บจากแปลง นำแตนเบียนมาเลี้ยงขยายพันธุ์สำหรับการทดลองต่อไป

การเลี้ยงขยายปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบ ทำได้โดยปล่อยตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 3,000 ตัว ให้วางไข่บนต้นมะเขือเปราะอายุ 1 เดือนหลังย้ายกล้า จำนวน 6 ต้น ในกรงตาข่ายผ้าขนาด 60x90x60 เซนติเมตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบออก เมื่อตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบเจริญเติบโตเข้าวัย 3 แบ่งต้นมะเขือเปราะออกเป็นสองส่วน นำไปเลี้ยงแตนเบียน *E. sophia* จำนวน 3 ต้น และอีก 3 ต้น สำหรับนำไปใช้ในการทดลอง

การเลี้ยงขยายปริมาณแตนเบียน *E. sophia* ทำได้โดยปล่อยตัวเต็มวัยแตนเบียนให้เบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 3 บนต้นมะเขือเปราะอายุ 1 เดือน จำนวน 3 ต้น หลังจากนั้นประมาณ 10 วัน (ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและสภาพแวดล้อม) จะได้ดักแด้แตนเบียน ทำการเก็บดักแด้แตนเบียนโดยใช้พู่กันปัดดักแด้จำนวน 500 ตัว ลงในหลอดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.7 เซนติเมตร สูง 6 เซนติเมตร ภายในหลอดพลาสติกป้ายน้ำผึ้ง 10% ปิดด้วยฝาเจาะระบายอากาศ สำหรับใช้ขยายพันธุ์และนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาช่วงวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบต่อการชอบวางไข่ของแตนเบียน *Encarsia sophia*

1) ทดสอบแบบไม่ให้ทางเลือก (no-choice test)

ศึกษาการเบียนของแตนเบียน *E. sophia* ในแต่ละช่วงวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 จำนวน 60 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 2 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 2 จำนวน 60 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 3 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 3 จำนวน 60 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 4 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 จำนวน 60 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 5 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 (puparium) จำนวน 60 ตัว/จาน

วิธีปฏิบัติทดลอง

ทำการทดลองในจานทดลองพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ภายในมีสำลีแผ่นชุ่มน้ำจำนวน 1 แผ่น ตัดใบมะเขือเปราะที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยต่างๆ ตามกรรมวิธีที่ 1-5 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร วางลงบนสำลี โดยแต่ละจานประกอบด้วยตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 1 วัย/จาน จากนั้นปล่อยแตนเบียน *E. sophia* เพศเมีย (แตนเบียนเพศเมียมีลำตัวสีเหลือง ส่วนเพศผู้มีลำตัวสีน้ำตาลอ่อน (Hernandez-Suarez *et al.*, 2003)) อายุ 2 วัน ที่ผสมพันธุ์แล้ว จำนวน 2 ตัว/จาน ปิดด้วยฝาเจาะระบายอากาศซึ่งปิดทับด้วยผ้าขาวบางวางไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65±10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชม. จากนั้นนับจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยต่างๆ

ที่ถูกเบียนในแต่ละกรรมวิธี เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีเพื่อหาความแตกต่างของความชอบวางไข่

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยต่างๆ ที่ถูกเบียนในแต่ละกรรมวิธี เพื่อหาอัตราการเบียน นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ

2) ทดสอบแบบให้ทางเลือก (choice test)

วิธีปฏิบัติทดลอง

ทำการทดลองในจานทดลองพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ภายในมีสำลีแผ่นชุ่มน้ำจำนวน 1 แผ่น ตัดใบมะเขือเปราะที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 2 3 และ 4 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร วางลงบนสำลี โดยแต่ละจานประกอบด้วยตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ ทั้ง 4 วัย จำนวน 60 ตัว/จาน จากนั้นปล่อยแตนเบียน *E. sophia* เพศเมียอายุ 2 วัน ที่ผสมพันธุ์แล้ว จำนวน 2 ตัว/จาน ปิดด้วยฝาเจาะระบายอากาศซึ่งปิดทับด้วยผ้าขาวบางวางไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65±10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชม. ทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ นับจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยต่างๆ ที่ถูกเบียนในแต่ละจาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียนในแต่ละวัย เพื่อหาระยะตัวอ่อนของแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียนชอบวางไข่

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยต่างๆ ที่ถูกเบียนในแต่ละจาน เพื่อหาอัตราการเบียน นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบศักยภาพการเบียนของแตนเบียน *Encarsia sophia* ต่อตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่จำนวนแตกต่างกัน

ศึกษาศักยภาพการเบียนของแตนเบียน *E. sophia* ในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่มีจำนวนแตกต่างกัน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จำนวน 10 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 2 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จำนวน 20 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 3 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จำนวน 40 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 4 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จำนวน 60 ตัว/จาน

วิธีปฏิบัติทดลอง

ทำการทดลองโดยเลือกระยะตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียนเลือกวางไข่มากที่สุดจากขั้นตอนที่ 1 มาทำการทดสอบในจานทดลองพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ภายในมีสำลีแผ่นชุ่มน้ำจำนวน 1 แผ่น ตัดใบมะเขือเปราะที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร วางลงบนสำลี โดยแต่ละจานมีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 10 20 40 และ 60 ตัว/จาน ตามกรรมวิธีที่ 1-4 จากนั้นปล่อยแตนเบียนเพศเมียอายุ 2 วัน ที่ผสมพันธุ์แล้ว จำนวน 1

ตัว/จาน ปิดด้วยฝาเจาะระบายอากาศโดยปิดทับด้วยผ้าขาวบางวางไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65±10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชม. แล้วใช้ aspirator ดูดแตนเบียนออก

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาศักยภาพของแตนเบียน *Encarsia sophia* ในการเบียนแมลงหวี่ขาวยาสูบ

วิธีปฏิบัติทดลอง

ทำการทดลองโดยเลือกระยะตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียนเลือกวางไข่มากที่สุดจากขั้นตอนที่ 1 มาทำการทดสอบในจานทดลองพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ภายในมีสำลีแผ่นชุ่มน้ำจำนวน 1 แผ่น ตัดใบมะเขือเปราะที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร วางลงบนสำลี จากนั้นปล่อยแตนเบียนเพศเมียอายุ 1 วัน ที่ผสมพันธุ์แล้วจำนวน 1 ตัว/จาน ปิดด้วยฝาเจาะรูระบายอากาศโดยปิดทับด้วยผ้าขาวบางวางไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65±10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วย้ายแตนเบียนนั้นปล่อยในจานทดลองพลาสติกอื่นที่เตรียมตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบเช่นเดียวกันในทุก ๆ วัน เป็นเวลา 12 วัน ทำการตรวจนับจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียนหลังจากปล่อยแตนเบียน 5 วัน ภายใต้กล้องสเตอริโอไมโคสโคป ทำการทดสอบจำนวน 10 ซ้ำ บันทึกข้อมูลค่าเฉลี่ยจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียน

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียนในแต่ละวัน นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาอัตราแตนเบียนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตขยายปริมาณแตนเบียน *Encarsia sophia*

ศึกษาอัตราที่เหมาะสม โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 8 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แตนเบียนเพศเมีย จำนวน 1 ตัว/ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 80 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 แตนเบียนเพศเมีย จำนวน 2 ตัว/ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 80 ตัว

กรรมวิธีที่ 3 แตนเบียนเพศเมีย จำนวน 3 ตัว/ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 80 ตัว

กรรมวิธีที่ 4 แตนเบียนเพศเมีย จำนวน 4 ตัว/ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 80 ตัว

กรรมวิธีที่ 5 แตนเบียนเพศเมีย จำนวน 5 ตัว/ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 80 ตัว

กรรมวิธีที่ 6 แตนเบียนเพศเมีย จำนวน 6 ตัว/ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 80 ตัว

กรรมวิธีที่ 7 แตนเบียนเพศเมีย จำนวน 7 ตัว/ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 80 ตัว

กรรมวิธีที่ 8 แตนเบียนเพศเมีย จำนวน 8 ตัว/ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 80 ตัว

วิธีปฏิบัติทดลอง

ทำการทดลองโดยเลือกระยะตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียนเลือกวางไข่มากที่สุดจากขั้นตอนที่ 1 มาทำการทดสอบในจานทดลองพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ภายในมีสำลีแผ่นชุ่มน้ำจำนวน 1 แผ่น ตัดใบมะเขือเปราะที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร วางลงบนสำลี โดยแต่ละจานมีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 80 ตัว/จาน จากนั้นปล่อยแตนเบียน *E. sophia* เพศเมียอายุ 2 วัน ที่ผสมพันธุ์แล้วในจานทดลองตามกรรมวิธีที่ 1-8 ปิดด้วยฝาเจาะรูระบายอากาศโดยปิดทับด้วยผ้าขาวบางวางไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65±10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นย้ายแตนเบียนออกจากจานทดลอง บันทึกจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียน

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียน นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบอัตราการเบียน และอัตราการกินตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบในแต่ละกรรมวิธี

ขั้นตอนที่ 5 ศึกษาอัตราการใช้แตนเบียน *Encasia sophia* ในการลดประชากรแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพโรงเรือน

ศึกษาอัตราการใช้แตนเบียน *E. sophia* โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยแตนเบียน 5 ตัว/กรง

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยแตนเบียน 10 ตัว/กรง

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยแตนเบียน 15 ตัว/กรง

กรรมวิธีที่ 4 ไม่ปล่อยแตนเบียน (กรรมวิธีควบคุม)

วิธีปฏิบัติทดลอง

ทำการทดลองในกรงตาข่ายผ้าขนาด 30x30x30 เซนติเมตร โดยภายในกรงมีต้นมะเขือเปราะอายุ 1 เดือนหลังย้ายปลูก จำนวน 1 ต้น ปล่อยตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบ จำนวน 30 ตัวต่อกรง (มะเขือเปราะ 1 ต้นมี 5 ใบ มีตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบใบละ 6 ตัว) ในกรงตาข่ายผ้าเป็นเวลา 3 วัน เพื่อให้แมลงหวี่ขาวยาสูบวางไข่ แล้วใช้ aspirator ดูดตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบออก เมื่อแมลงหวี่ขาวยาสูบเจริญเติบโตจนเริ่มเข้าวัย 4 ซึ่งใช้เวลาประมาณ 12 วัน ที่อุณหภูมิ 34±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75±10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นปล่อยตัวเต็มวัยแตนเบียน *E. sophia* ตามกรรมวิธีที่ 1-3 เข้าไปในกรงตาข่ายผ้านั้น หลังปล่อยแตนเบียนที่ 10 วัน ทำการนับจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียนในแต่ละกรรมวิธี (จะได้ดักแด้แตนเบียนซึ่งง่ายต่อการนับจำนวน เพราะมองเห็นได้ชัด) ภายใต้โคมไฟแว่นขยาย (กำลังขยาย 10 เท่า) จากนั้นบันทึกจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียน

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียน นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาอัตราการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ และวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2. การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณแตนเบียน *Encarsia sophia*

ศึกษาการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแตนเบียน *E. sophia* ในโรงเรือนทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยแตนเบียน 1 ตัว ต่อ แมลงหวี่ขาวยาสูบ 40 ตัว (แตนเบียน 25 ตัว)

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยแตนเบียน 1 ตัว ต่อ แมลงหวี่ขาวยาสูบ 20 ตัว (แตนเบียน 50 ตัว)

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยแตนเบียน 1 ตัว ต่อ แมลงหวี่ขาวยาสูบ 10 ตัว (แตนเบียน 100 ตัว)

กรรมวิธีที่ 4 ปล่อยแตนเบียน 1 ตัว ต่อ แมลงหวี่ขาวยาสูบ 5 ตัว (แตนเบียน 200 ตัว)

วิธีปฏิบัติทดลอง

ทำการศึกษาอัตราส่วนของแตนเบียน *E. sophia* : ตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบ ในอัตราส่วนต่างๆ ตามกรรมวิธี 1-4 โดยนำต้นมะเขือเปราะอายุ 1 เดือนหลังย้ายปลูก ใส่ในกรงตาข่ายผ้าขนาด 30x30x30 เซนติเมตร ปล่อยตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบ จำนวน 1,000 ตัว/กรง ให้วางไข่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วย้ายต้นมะเขือเปราะที่มีไข่แมลงหวี่ขาวยาสูบไปไว้ในกรงอื่น เมื่อตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบเจริญเติบโตจนเริ่มเข้าวัย 4 นำไปทดสอบเลี้ยงเพิ่มปริมาณแตนเบียน โดยปล่อยแตนเบียน 25 50 100 และ 200 ตัว ตามกรรมวิธีที่ 1-4 ให้เบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบในกรงตาข่ายผ้าขนาด 30x30x30 เซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 34±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75±10 เปอร์เซ็นต์ ทำการนับจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียนและจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบทั้งหมดในแต่ละกรรมวิธีหลังปล่อยแตนเบียนที่ 10 วัน (จะได้ดักแด้แตนเบียนซึ่งง่ายต่อการนับจำนวนเพราะมองเห็นได้ชัด) ภายใต้โคมไฟแว่นขยาย (กำลังขยาย 10 เท่า) จากนั้นบันทึกจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียน และจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบทั้งหมดบนต้นมะเขือเปราะ

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลจำนวนแตนเบียนที่ผลิตได้ในแต่ละกรรมวิธี และจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบทั้งหมดบนต้นมะเขือเปราะ นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณอัตราการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ และวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3. การศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงต่อแตนเบียน *Encarsia sophia*

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มีทั้งหมด 4 ซ้ำ 12 กรรมวิธี ดังนี้

1. Buprofezin 40% SC	อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
2. Imidacloprid 70% WG	อัตรา 12 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
3. Dinotefuran 10% wp	อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
4. Thiamethoxam 25% WG	อัตรา 6 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

5. Fipronil 5% SC	อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
6. Cypermethrin 35% EC	อัตรา 10 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร
7. Pymetrozine 50% WG	อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
8. Cyantraniliprole 20% SC	อัตรา 3 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร
9. Emamectin benzoate 5%WG	อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
10.Methomyl 90% SP	อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
11. Flubendiamide 20%WG	อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
12. Control	

วิธีปฏิบัติทดลอง

เตรียมสารละลายสารป้องกันกำจัดแมลง ทำการทดสอบ dry film method โดยการเทสารป้องกันกำจัดแมลงลงในหลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิเมตร ให้เต็มหลอดทดลอง ทิ้งไว้ 5 นาที เพื่อให้สารเคลือบพื้นผิวหลอดภายในทั้งหมด จากนั้นเทสารออกจากหลอดทดลอง วางหลอดทดลองทิ้งไว้ให้แห้ง ทิ้งไว้ 1 วัน 7 วัน 14 วัน เมื่อครบกำหนดวันหลังเคลือบสาร ใช้พู่กันปลายเล็กป้ายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์ไว้ภายในหลอดทดลองเป็นขีดยาวประมาณหนึ่งเซนติเมตร แล้วปล่อยตัวเต็มวัยแตนเบียน *E. sophia* เข้าไปในหลอดทดลองที่เตรียมไว้ จากนั้นปิดด้วยสำลีหุ้มด้วยผ้าตาข่าย ตรวจนับจำนวนแตนเบียน *E. sophia* ที่ตาย หลังทิ้งไว้ 24 และ 48 ชั่วโมง วิเคราะห์ข้อมูลโดยจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994)

จัดระดับความเป็นพิษของสารฯ ตามวิธีการจัดลำดับความเป็นพิษของ IOBC ดังนี้

ไม่มีพิษ (Harmless) มีเปอร์เซ็นต์การตาย < 30%

มีพิษน้อย (Slightly Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 30-79%

มีพิษปานกลาง (Moderately Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 80-99%

มีพิษร้ายแรง (Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย > 99%

การบันทึกข้อมูล

ตรวจนับจำนวนแตนเบียน *E. sophia* ที่ตายหลังทดลองที่ 24 และ 48 ชั่วโมง นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์และเปรียบเทียบผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เวลา ดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564 – เดือนกันยายน 2567

สถานที่ ณ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การทดสอบศักยภาพแตนเบียน *Encarsia sophia* ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci*

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาช่วงวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบต่อการชอบวางไข่ของแตนเบียน *Encarsia sophia*

1) ทดสอบแบบไม่ให้ทางเลือก (no-choice test)

ผลการทดสอบช่วงวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียน *E. sophia* ชอบวางไข่ ทดสอบแบบไม่ให้ทางเลือก (no-choice test) โดยปล่อยแตนเบียนเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้วจำนวน 2 ตัว ให้เบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 2 3 4 และวัย 4 (puparium) จำนวนวัยละ 60 ตัว ในแต่ละกรรมวิธี เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า ค่าเฉลี่ยการเบียนแมลงหวี่ขาวยาสูบ เท่ากับ 0.00 0.60 5.20 10.20 และ 1.20 ตัว ตามลำดับ ซึ่งในแต่ละวัยมีอัตราการเบียนเท่ากับ 0.00 1.00 8.67 17.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเบียนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยต่าง ๆ พบว่า ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่เริ่มเข้าวัย 4 มีค่าเฉลี่ยการเบียนสูงที่สุด รองลงมาคือ วัย 3 ซึ่งให้ผลการเบียนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการทดสอบไม่พบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 ถูกเบียน อย่างไรก็ตามแม้ว่าตัวอ่อนวัย 4 จะถูกเบียนมากที่สุด แต่แมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 (puparium) กลับถูกเบียนน้อย โดยมีค่าเฉลี่ยการเบียนไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตัวอ่อนวัย 1 และ 2 (Table 1) ซึ่งเป็นไปได้ว่าภายในแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 (puparium) ไม่เหมาะกับการวางไข่และการเจริญเติบโตของแตนเบียน *E. sophia* ดังนั้นจึงพบแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 (puparium) ถูกเบียนน้อย ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Hoddle (n.d) ซึ่งกล่าวว่า แตนเบียน *E. formosa* ชอบวางไข่ในแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 3 และ 4 และสอดคล้องกับ Weeden and Hoffman (2009) ซึ่งรายงานว่า ตัวเต็มวัยแตนเบียน *E. formosa* จะเข้าทำลายแมลงหวี่ขาวยาสูบโดยวางไข่ในตัวอ่อนวัย 3 วัย 4 และ prepupal nymphs

2) ทดสอบแบบให้ทางเลือก (choice test)

การทดสอบช่วงวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียน *E. sophia* ชอบวางไข่ ทดสอบแบบให้ทางเลือก (choice test) โดยให้แตนเบียนเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้วจำนวน 2 ตัว เลือกเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 2 3 และ 4 ในจานทดลองพลาสติก เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งการทดสอบนี้ไม่ใช้แมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 (puparium) ในการทดสอบ เนื่องจากผลการทดสอบแบบไม่ให้ทางเลือกชี้ให้เห็นว่าอัตราการเบียนต่ำ ซึ่งให้ผลไปในทางเดียวกันกับแตนเบียน *E. transvena* ที่มีอัตราการเบียนสูงสุดในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 3 และ 4 และมีอัตราการเบียนต่ำในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 และ puparium (Antony *et al*., 2003) จากการทดสอบพบว่า แตนเบียน *E. sophia* เลือกเบียนตัวอ่อนวัย 3 และวัย 4 โดยมีค่าเฉลี่ยการเบียน เท่ากับ 1.80 และ 8.60 ตัว ตามลำดับ และมีอัตราการเบียนคิดเป็น 3.00 และ 14.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2) ผลการทดลองนี้ไม่สอดคล้องกับรายงานของ อุษณีย์ และคณะ (2549) ซึ่งได้รายงานว่า แตนเบียน *Encarsia* sp. สามารถเข้าเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวชนิด *Trialeurodes vaporariorum* ได้ตั้งแต่วัย 1 ถึง วัย 3

โดยเบียนวัย 1 ได้มากที่สุดเฉลี่ย 15.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือวัย 2 และวัย 3 เฉลี่ย 14.3 และ 10.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Ostim *et al*. (2018) รายงานว่า แตนเบียน *E. sophia* เริ่มผลิตไข่หลังจากออกเป็นตัวเต็มวัยได้ภายใน 24 ชั่วโมง เฉลี่ย 3±0.02 ฟอง/ตัว โดยมีช่วงอายุในการวางไข่เฉลี่ย 13.8 วัน แตนเบียนชนิดนี้จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบที่มีปริมาณความหนาแน่นต่ำ Zhou *et al.* (2010) ได้รายงานว่า แตนเบียน *E. sophia* เพศเมียมีอายุขัยเฉลี่ย 21.9 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถวางไข่ในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบได้เฉลี่ย 79.1 ฟอง นอกจากนี้แตนเบียนชนิดนี้สามารถวางไข่ในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่บนใบฝ้ายได้เฉลี่ย 101.6 ฟอง (Xu *et al*., 2018) ทั้งนี้ จำนวนไข่ที่ถูกวางขึ้นอยู่กับพืชอาศัย ลักษณะใบ ความหนาแน่นของเส้นขนบนใบพืช รวมถึงลักษณะของแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ไม่ได้แบนราบไปกับใบพืชก็ทำให้แตนเบียนเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ง่ายขึ้น (Otim *et al*., 2018) ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จึงพบว่า แตนเบียน *Encarsia* sp. เลือกเบียนตัวอ่อนวัย 4 มากที่สุด ซึ่งให้ผลแตกต่างกันทางสถิติกับตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 2 และ 3 (Table 2) เนื่องจากตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 มีขนาดใหญ่ และเหมาะสมในการเจริญเติบโตของตัวอ่อนแตนเบียน

จากการทดสอบแบบไม่ให้ทางเลือก แตนเบียน *E. sophia* สามารถเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 มากที่สุด รองลงมาได้แก่ วัย 3 และ วัย 2 ตามลำดับ แต่เมื่อทำการทดลองแบบมีทางเลือกให้แตนเบียน ปรากฏว่าแตนเบียนเลือกเบียนวัย 3 และ 4 เท่านั้น โดยพบเบียนวัย 4 มากที่สุด แต่ไม่พบการเบียนในวัย 1 และ 2 ดังนั้นการเลี้ยงขยายแตนเบียน *E. sophia* แนะนำให้เลือกตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่เริ่มเข้าวัย 4 สำหรับการเลี้ยงเพิ่มปริมาณ

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบศักยภาพการเบียนของแตนเบียน *Encarsia sophia* ต่อตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่จำนวนแตกต่างกัน

การทดสอบศักยภาพการเบียนของแตนเบียน *E. sophia* โดยเลือกตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่เริ่มเข้าวัย 4 ซึ่งถูกเบียนมากที่สุดจากผลการทดสอบขั้นตอนที่ 1 ทำการทดสอบโดยปล่อยแตนเบียนเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้วจำนวน 1 ตัว ให้เบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่เริ่มเข้าวัย 4 จำนวนแตกต่างกัน 10 20 40 และ 60 ตัว เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากผลการทดสอบ พบว่า อัตราการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ เท่ากับ 20.00 9.00 11.50 และ 13.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียน เท่ากับ 2.00 1.80 4.60 และ 8.00 ตัว ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเบียน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อเปรียบเทียบจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 ที่ถูกเบียนในแต่ละกรรมวิธี พบว่า เมื่อจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบมากขึ้น จำนวนตัวอ่อนที่ถูกเบียนก็มีแนวโน้มมากขึ้น โดยตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 60 ตัว มีจำนวนที่ถูกเบียนมากที่สุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ รองลงมา คือ ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 40 ตัว ซึ่งมีจำนวนที่ถูกเบียนมากกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับตัวอ่อนจำนวน 10 และ 20 ตัว (Table 3) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Lin *et al*. (2018) ซึ่งได้รายงานว่าแตนเบียน *E. bimaculate* แตนเบียน *E. sophia* และแตนเบียน *Eretmocerus* sp. nr. *Furuhashii* มีศักยภาพใน

การเบียนมากขึ้น เมื่อความหนาแน่นของแมลงหวี่ขาวยาสูบเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่มากเกินไป ทำให้ขับถ่ายมูลหวานออกมามาก เป็นอุปสรรคในการเดินหาแมลงอาศัยของแตนเบียน ส่งผลให้ศักยภาพการเบียนลดลง (Hoddle, n.d.)

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาศักยภาพของแตนเบียน *Encarsia sophia* ในการเบียนแมลงหวี่ขาวยาสูบ

จากการทดสอบศักยภาพของแตนเบียน *E. sophia* จำนวน 1 ตัว ในการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบในแต่ละวัน เป็นเวลา 12 วัน พบว่า แตนเบียน *E. sophia* มีศักยภาพในการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 2.70 4.90 5.10 2.70 1.70 0.60 0.20 0.00 0.30 0.20 0.00 และ 0.00 ตัว ตามลำดับ โดยในวันที่ 1 2 3 และ 4 ให้ผลการเบียนไม่แตกต่างกันทางสถิติ วันที่ 1 4 5 6 และ 9 ให้ผลการเบียนไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยแตนเบียน 1 ตัว ตลอดชั่วอายุขัยมีศักยภาพในการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 18.40 ตัว พบการเบียนมากในวันที่ 2 และ 3 จากนั้นศักยภาพในการเบียนจะค่อยๆ ลดลง ซึ่งไม่พบการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบในวันที่ 11 และ 12 (Figure 1) ดังนั้นในการผลิตขยายปริมาณหรือการนำแตนเบียน *E. sophia* ไปใช้ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบสามารถปล่อยแตนเบียนได้ทันทีหลังแตนเบียนออกจากดักแด้เป็นตัวเต็มวัย

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาอัตราแตนเบียนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตขยายปริมาณแตนเบียน *Encarsia sophia*

จากการศึกษาอัตราแตนเบียนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตขยายปริมาณแตนเบียน *E. sophia* โดยทดสอบปล่อยแตนเบียนเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้วในจำนวนที่แตกต่างกัน ได้แก่ 1 2 3 4 5 6 7 และ 8 ตัว ให้เบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จำนวน 80 ตัว ผลการทดสอบพบว่า อัตราการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ เท่ากับ 6.75 14.50 20.50 18.75 21.75 21.75 11.50 และ 10.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยการปล่อยแตนเบียน 2 - 8 ตัวต่อตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 80 ตัว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อัตราการเบียนมีแนวโน้มน้อยลงเมื่อปล่อยแตนเบียน 7-8 ตัว ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าแตนเบียนมีจำนวนมากเกินไปเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จึงทำให้เกิดการแข่งขันแตนเบียนมีการวางไข่น้อยลง การทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Saljoqi and He YuRong (2004) ซึ่งได้ศึกษาจำนวนของแตนเบียนไข่ไตรโครแกรมมา *Trichogramma* sp. ต่อการเบียนไข่ผีเสื้อข้าวสาร โดยได้นำแตนเบียนไข่ไตรโคแกรมมาจำนวนแตกต่างกัน (1 2 4 และ 8 ตัว) ให้เบียนไข่ผีเสื้อข้าวสารจำนวน 400 ฟอง จากการศึกษาพบว่า แตนเบียน 8 ตัวให้อัตราการเบียนมากกว่าแตนเบียนที่ปล่อยจำนวนอื่น ๆ โดยศักยภาพในการเบียนของแตนเบียนเพศเมีย 1 ตัว จะลดลงเมื่อปล่อยจำนวนมากขึ้น กล่าวคือ เมื่อจำนวนของแตนเบียนเพิ่มขึ้นจาก 1-8 ตัว อัตราการเบียนของเพศเมีย 1 ตัว ก็จะลดลง Lin *et al*. (2018) กล่าวว่า เมื่อจำนวนของแมลงอาศัยคงที่ และจำนวนของแตนเบียนเพิ่มขึ้น ศักยภาพในการเบียนของแตนเบียนก็จะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดหนึ่งอัตราการเบียนจะค่อยๆ ลดลง จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า การปล่อยแตนเบียนจำนวน 5 ตัวต่อตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 80 ตัว ในพื้นที่ใบ 7.07 ตารางเซนติเมตร (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใบพืช 3 เซนติเมตร) แตนเบียนมีอัตราการเบียนมากที่สุด และคุ้มค่าที่สุด จากผลการทดลองนี้จะนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแตนเบียนต่อไป อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองยังพบว่า

นอกจากแตนเบียน *E. sophia* จะเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบแล้ว ยังมีการกินตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบด้วย โดยการปล่อยแตนเบียน 1-8 ตัว มีอัตราการกินเท่ากับ 3.00 6.75 11.25 16.25 20.50 21.25 22.50 และ 22.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตนเบียนมีแนวโน้มกินตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบมากขึ้นเมื่อปล่อยแตนเบียนมากขึ้น โดยการปล่อยแตนเบียน 4-8 ตัว ให้ผลอัตราการกินไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการปล่อยแตนเบียน 1-3 ตัว การปล่อยแตนเบียน 3-5 ตัว ให้ผลอัตราการกินไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการปล่อยแตนเบียน 1-2 ตัว (Table 4)

ขั้นตอนที่ 5 ศึกษาอัตราการใช้แตนเบียน *Encasia sophia* ในการลดประชากรแมลงหวี่ขาวยาสูบใน สภาพโรงเรือน

จากผลการทดลองขั้นตอนที่ 4 การทดสอบปล่อยแตนเบียนจำนวน 5 ตัวต่อตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 80 ตัว ในห้องปฏิบัติการ ให้อัตราการเบียนมากที่สุด จึงนำมาใช้ทดสอบอัตราการใช้แตนเบียน *E. sophia* ในการลดประชากรแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพโรงเรือน (จากตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบ 30 ตัวต่อกรง) ทำการทดสอบโดยปล่อยตัวเต็มวัยแตนเบียนจำนวน 5 10 และ 15 ตัวต่อกรง ให้เบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ และไม่ปล่อยแตนเบียน (ชุดควบคุม) ผลการทดสอบพบว่าการปล่อยแตนเบียนที่จำนวน 5 10 และ 15 ตัวให้ผลการเบียนเท่ากับ 14.80 23.60 และ 152.40 ตัว ตามลำดับ และมีอัตราการเบียนเท่ากับ 5.26 7.26 และ 51.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การปล่อยแตนเบียนที่ 15 ตัวต่อกรง ให้อัตราการเบียนสูงสุดซึ่งมากกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการปล่อยแตนเบียน 5 และ 10 ตัวต่อกรง (Table 5) จากการทดลองเมื่อปล่อยแตนเบียนมากขึ้นจะสามารถควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้เพิ่มขึ้น การปล่อยแตนเบียน 15 ตัว เมื่อพบตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบ 30 ตัวต่อต้น (6 ตัวต่อใบ) จะสามารถควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ ผลการทดลองนี้จะเป็นพื้นฐานสำหรับการนำแตนเบียนไปปล่อยควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในโรงเรือนปลูกพืชต่อไป

2. การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณแตนเบียน *Encarsia sophia*

จากการทดสอบเลี้ยงเพิ่มปริมาณแตนเบียน *E. sophia* โดยปล่อยตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 1,000 ตัว ให้วางไข่บนต้นมะเขือเปราะ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบเริ่มเข้าวัย 4 ปล่อยแตนเบียนในจำนวนที่แตกต่างกัน คือ 25 50 100 และ 200 ตัว จากผลการทดสอบพบว่า การปล่อยแตนเบียนที่ 25 50 100 และ 200 ตัว ให้ผลผลิตแตนเบียนเฉลี่ย 346.40 566.40 906.00 และ 955.20 ตัว ตามลำดับ ซึ่งมีอัตราการเบียน เท่ากับ 17.04 27.86 46.98 และ 44.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยการปล่อยแตนเบียนจำนวน 100 และ 200 ตัว ให้ผลผลิตแตนเบียนไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ให้ผลผลิตมากกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการปล่อยแตนเบียนที่ 25 และ 50 ตัว (Table 6) จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติ การปล่อยแตนเบียนจำนวน 100 ตัว ให้ผลผลิตแตนเบียนมากที่สุด 955.20 ตัว คิดเป็น 46.98 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ในการผลิตแตนเบียนโดยใช้ต้นมะเขือเปราะอายุ 1 เดือนหลังย้ายปลูก จำนวน 1 ต้น ที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ ในกรงตาข่ายผ้าขนาด 30x30x30 เซนติเมตร ควรปล่อยแตนเบียนจำนวน 100 ตัว เพื่อให้ได้ผลผลิตแตน

เบียนมากที่สุด และคุ้มค่าที่สุด การทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองในขั้นตอนที่ 4 กล่าวคือ เมื่อปล่อยแตนเบียนมากขึ้น จำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียนก็จะมากขึ้นตามไปด้วย จนถึงจุดหนึ่งก็จะลดลงด้วยจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่มีจำกัด

3. การศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงต่อแตนเบียน *Encarsia sophia*

จากการศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงต่อแตนเบียน *E. sophia* โดยใช้วิธีการ dry film method หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 1 วัน บันทึกผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่า Dinotefuran Thiamethoxam Cypermethrin Emamectin benzoate และ Methomyl สามารถทำให้แตนเบียนตายได้สูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ Fipronil Imidacloprid และ Pymetrozine ทำให้แตนเบียนตาย 97.50 82.50 และ 77.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกับชุดควบคุมซึ่งไม่พบแตนเบียนตาย ส่วน Cyantraniliprole และ Buprofezin ทำให้แตนเบียนตาย 67.50 และ 12.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง พบว่า Dinotefuran Thiamethoxam Cypermethrin Emamectin benzoate Methomyl Fipronil Imidacloprid และ Buprofezin ทำให้แตนเบียนตายได้สูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ Cyantraniliprole Pymetrozine และ Flubendiamide ตามลำดับ ซึ่งให้ผลการตายสูงกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม

ผลของการจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994) พบว่า สารที่มีพิษร้ายแรงทำให้แตนเบียนตาย >99% (harmful) มีจำนวน 8 ชนิด ได้แก่ Dinotefuran Thiamethoxam Cypermethrin Emamectin benzoate Methomyl Fipronil Imidacloprid และ Buprofezin สารที่มีพิษปานกลางมีเปอร์เซ็นต์การตาย 80-99% (moderately harmful) มี 2 ชนิด คือ Cyantraniliprole และ Pymetrozine และสารที่มีพิษน้อยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 30-79% (slightly harmful) พบ 1 ชนิด ได้แก่ Flubendiamide (Table 7)

หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 7 วัน บันทึกผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่า Dinotefuran Thiamethoxam Cypermethrin Methomyl และ Fipronil ทำให้แตนเบียนตายได้สูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ Emamectin benzoate Imidacloprid Cyantraniliprole และPymetrozine ทำให้แตนเบียนตาย 94.60 97.30 91.90 และ 91.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ยกเว้น Buprofezin (16.30%) และ Flubendiamide (0.00%) พบการตายของแตนเบียนไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม สำหรับผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง พบว่า Dinotefuran Thiamethoxam Cypermethrin Emamectin benzoate Methomyl Fipronil Imidacloprid Cyantraniliprole และ Pymetrozine ทำให้แตนเบียนตายได้สูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ Buprofezin (46.30%) และ Flubendiamide (22.30%) ให้ผลการตายของแตนเบียนสูงกว่าแต่ไม่แตกต่างกับชุดควบคุม

ผลของการจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC พบว่า สารที่มีพิษร้ายแรงทำให้แตนเบียนตาย >99% มีจำนวน 9 ชนิด ได้แก่ Dinotefuran Thiamethoxam Cypermethrin Emamectin benzoate Methomyl Fipronil Imidacloprid Cyantraniliprole และ Pymetrozine สารที่มีพิษ

น้อยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 30-79% พบ 1 ชนิด คือ Buprofezin และสารเคมีที่ทำให้แตนเบียนตาย <30% มีจำนวน 1 ชนิด ได้แก่ Flubendiamide (Table 8)

หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 14 วัน ตรวจผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่า Dinotefuran Thiamethoxam Cypermethrin Methomyl และ Fipronil ทำให้แตนเบียนตายได้สูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ Emamectin benzoate Imidacloprid Cyantraniliprole และ Pymetrozine ทำให้แตนเบียนตาย 82.50 95.00 90.00 75.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ยกเว้น Flubendiamide (16.70%) และ Buprofezin (0.00%) ให้ผลการตายของแตนเบียนไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม สำหรับผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง พบว่า Dinotefuran Thiamethoxam Cypermethrin Emamectin benzoate Methomyl Fipronil Imidacloprid Cyantraniliprole และ Pymetrozine ทำให้แตนเบียนตายได้สูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น Flubendiamide (35.70%) และ Buprofezin (21.70%) ให้ผลการตายของแตนเบียนไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม

ผลของการจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC พบว่า สารที่มีพิษร้ายแรงทำให้แตนเบียนตาย >99% มีจำนวน 9 ชนิด ได้แก่ Dinotefuran Thiamethoxam Cypermethrin Emamectin benzoate Methomyl Fipronil Imidacloprid Cyantraniliprole และ Pymetrozine สารที่มีพิษน้อยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 30-79% พบ 1 ชนิด คือ Flubendiamide และสารเคมีที่ทำให้แตนเบียนตาย <30% มีจำนวน 1 ชนิด ได้แก่ Buprofezin (Table 9)

จากผลการทดลองข้างต้น สารเคมีกำจัดแมลงส่วนใหญ่มีพิษร้ายแรงต่อแตนเบียน *E. sophia* แม้ว่าเคลือบสารผ่านไปแล้ว 2 สัปดาห์ ยกเว้น สาร Buprofezin และ Flubendiamide Jones *et al.* (1998) และ Beevi *et al*. (1992) กล่าวว่า Buprofezin มีความปลอดภัยต่อตัวเต็มวัยแตนเบียน แต่มีระดับความเป็นพิษในระยะหนอน ซึ่งจะมีพิษมากขึ้นในระยะหนอนวัยแรกๆ เนื่องจากสาร Buprofezin จะไปยับยั้งการสร้างไคติน การทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Sugiyama *et al*. (2011) ที่ได้ทำการทดลองหาผลกระทบของสารกำจัดแมลงต่อตัวเต็มวัยแตนเบียน *Eretmocerus mundus E. eremicus* และ *E. formosa* ด้วยวิธี residual film method จากผลการทดลอง พบว่า สาร Dinotefuran Imidacloprid และ Emamectin benzoate มีระดับความเป็นพิษทำให้แตนเบียนตาย 100% อย่างไรก็ตาม Oliveira *et al.* (2019) ได้ศึกษาความเป็นพิษของสารตกค้างต่อแตนเบียน *E. hispida* พบว่า สาร Thiamethoxam และ Imidacloprid มีพิษน้อยต่อระยะดักแด้ของแตนเบียน แต่มีพิษร้ายแรงในระยะตัวเต็มวัย อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า หลังจากการเคลือบสารผ่านไป 14 วัน ยังมีผลทำให้แตนเบียนตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ควรทำการทดสอบเพิ่มระยะเวลาเคลือบสารทิ้งไว้มากกว่า 14 วัน เพื่อศึกษาระยะเวลาที่ปลอดภัยต่อแตนเบียนสำหรับปล่อยควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาช่วงวัยของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียน *E. sophia* ชอบวางไข่ พบว่า แตนเบียน *E. sophia* ชอบวางไข่ในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่เริ่มเข้าวัย 4 มากที่สุด รองลงมา คือ ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 3 แต่ในการเลี้ยงขยายแตนเบียน แนะนำให้ใช้ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่เริ่มเข้าวัย 4 สำหรับการเลี้ยงขยาย เพื่อให้แตนเบียนเบียนแมลงหวี่ขาวยาสูบได้มากขึ้น เมื่อศึกษาศักยภาพการเบียนของแตนเบียน *E. sophia* โดยให้แตนเบียนวางไข่ในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่จำนวนแตกต่างกัน คือ 10 20 40 และ 60 ตัว พบว่า ให้ผลการเบียนเฉลี่ย 2 1.8 4.6 และ 8 ตัว ตามลำดับ เมื่อจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบมากขึ้น ศักยภาพการเบียนก็มากขึ้นตามไปด้วย จากการทดสอบศักยภาพของแตนเบียนในการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบในแต่ละวัน พบว่า แตนเบียนเพศเมีย 1 ตัว ตลอดชั่วอายุขัยมีศักยภาพในการเบียนเฉลี่ย 18.40 ตัว โดยมีศักยภาพการเบียนมากในวันที่ 2 และ 3 จากนั้นจะค่อยๆ ลดลง การปล่อยแตนเบียนเพื่อความคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบสามารถทำได้ทันทีหลังแตนเบียนออกจากดักแด้เป็นตัวเต็มวัย เมื่อทดสอบแตนเบียนในจำนวนที่แตกต่างกัน คือ 1 2 3 4 5 6 7 และ 8 ตัว โดยให้เบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 80 ตัว พบว่า แตนเบียนเพศเมียมีอัตราการเบียนน้อยลงเมื่อปล่อยแตนเบียน 7-8 ตัว ซึ่งการปล่อยแตนเบียนจำนวน 5 ตัวต่อตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 80 ตัว ให้ผลอัตราการเบียนมากที่สุด และคุ้มค่าที่สุด อย่างไรก็ตาม จากผลการทดสอบยังพบว่า นอกจากแตนเบียน *E. sophia* จะเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบแล้ว ยังมีการกินตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบด้วย โดยแตนเบียนมีแนวโน้มกินตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบมากขึ้นเมื่อปล่อยแตนเบียนมากขึ้น

การศึกษาอัตราการใช้แตนเบียน *E. sophia* ในการลดประชากรแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพโรงเรือน โดยปล่อยตัวเต็มวัยแตนเบียนจำนวน 5 10 และ 15 ตัวต่อกรง ให้เบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบในกรงตาข่ายขนาด 30x30x30 เซนติเมตร พบว่า การปล่อยแตนเบียนที่ 15 ตัวต่อกรง ให้อัตราการเบียนสูงสุด 51.63 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเมื่อพบตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 30 ตัวต่อต้น (6 ตัวต่อใบ) แนะนำให้ปล่อยแตนเบียนจำนวน 15 ตัวต่อต้น จึงจะสามารถควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้

สำหรับการทดสอบการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแตนเบียน *E. sophia* ในกรงตาข่ายขนาด 30x30x30 เซนติเมตร โดยปล่อยตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 1,000 ตัวต่อกรง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากการทดลอง พบว่า การปล่อยแตนเบียนจำนวน 100 ตัว ให้ผลผลิตแตนเบียนมากที่สุด 955.20 ตัว คิดเป็น 46.98 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ในการผลิตแตนเบียนโดยใช้ต้นมะเขือเปราะอายุ 1 เดือน หลังย้ายปลูก จำนวน 1 ต้น ที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบประมาณ 2,000 ตัว ควรปล่อยแตนเบียนจำนวน 100 ตัวต่อกรง เพื่อให้ได้ผลผลิตแตนเบียนมากที่สุด และคุ้มค่าที่สุด

การศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงจำนวน 11 ชนิด ต่อแตนเบียน *E. sophia* โดยใช้วิธีการ dry film method หลังเคลือบสารทิ้งไว้ 14 วัน พบว่า Dinotefuran Thiamethoxam Cypermethrin Emamectin benzoate Methomyl Fipronil Imidacloprid Cyantraniliprole และ Pymetrozine มีพิษร้ายแรงทำให้แตนเบียนตาย 100% ส่วนสารที่มีพิษน้อยภายหลังการเคลือบ

สาร 14 วัน (เปอร์เซ็นต์การตาย 30-79%) พบ 1 ชนิด คือ Flubendiamide และสารเคมีที่ทำให้แตนเบียนตาย <30% มีจำนวน 1 ชนิด ได้แก่ Buprofezin ดังนั้น ควรทำการทดสอบเพิ่มระยะเวลาเคลือบสารทิ้งไว้มากกว่า 14 วัน เพื่อศึกษาระยะเวลาที่ปลอดภัยต่อแตนเบียนสำหรับปล่อยควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนางสาวปฏิมา ประกายทอง นายกนกรส กองนิมิตร และสมาชิกในห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ช่วยปฏิบัติงานการทดลองครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

รจนา ไวยเจริญ อัมพร วิโนทัย และประภัสสร เชยคำแหง. 2556. เทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้แตนเบียนสกุล *Encarsia* เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาว. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

สัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2557. *แมลงหวี่ขาวยาสูบ*. (ระบบออนไลน์) แหล่งข้อมูล: http://hort.ezathai.org/?p=3510 (30 มิถุนายน 2563)

สุพรรณี ภูคะฮาด และพัชรีวรรณ จงจิตเมตต์. 2568. การผลิตขยายแมลงหวี่ขาวยาสูบเพื่อใช้ในการทดลอง. *หนังสือพิมพ์กสิกร* 98(3): 31-35.

อุษณีย์ ฉัตรตระกูล อัมพร วิโนทัย อัญชัญ ชมพูพวง และอุเทน แก้วควายงาม. 2549. การควบคุมแมลงหวี่ขาว (Greenhouse whitefly) ชนิด *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) ด้วยวิธีการต่างๆ. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยที่ 3060 – 3363 งบประมาณปี 2546-2548.

Antony, B., M.S. Palaniswami and T.J. Henneberry. 2003. *Encarsia transvena* (Hymenoptera: Aphelinidae) Development on different *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) instars. *Biological control-parasitoids and predators* 32(3): 584-591.

Beevi, S.P. and M. Balasubramanian. 1992. Relative safety of Buprofezin and insecticides to *Encarsia shafeei* a parasite of cotton whitefly *Bemisia tabaci* Genn. *Journal of Biological Control* 6 (2): 59-63.

Hernandez-Suarez, E.M., A. Carnero, A. Aguiar, G. Prinsloo, J.L. Salle and A. Polaszek. 2003. Parasitoids of whiteflies (Hymenoptera: Aphelinidae, Eulophidae, Platygastridae; Hemiptera: Aleyrodidae) from the Macaronesian archipelagos of the Canary Islands, Madeira and the Azores. *Systematics and Biodiversity* 1(1): 55-108.

Hassan, S.A., F. Bigler, H. Bogenschutz, E. Boller, J. Brun, M. Calis, J. Coremamspelseneer, C. Duso, A. Grove, U. Heimbach, N. Helyer, H. Hokkanen, G.B. Lewis, F. Mansour, L. Moreth, L. Polgar, L. Samsoe-petersen, B. Sauphanor, A. Staubli, G. Sterk, A. Vainio, M. Van De Veire, G Viggiani and H. Vogt. 1994. Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS-working group "pesticides and beneficial organisms". *Entomophaga* 39: 107-119.

Hoddle, M. n.d. *A guide to natural enemies in north America.* (Online). Available: https://biocontrol.entomology.cornell.edu/parasitoids/encarsia.php (January17, 2023).

Jones, W.A., M.A. Ciomperlik and D.A. Wolfenbarger. 1998. Lethal and sublethal effects of insecticides on two parasitoids attacking *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). *Biological Control* 11(1): 70-76.

Khalid M.Z., S. Ahmed, I. Al-Ashkar, A.E. Sabagh, L. Liu and G. Zhong. 2021. Evaluation of resistance development in *Bemisia tabaci* Genn. (Homoptera: Aleyrodidae) in cotton against different insecticides. *Insects* 12(11): 996.

Lin, L., S. Ali and J. Wu. 2018. Influences of varying host: parasitoid ratios on parasitism of whitefly by three different parasitoid species. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 28(59): 1-8.

Oliveira, D.R.., M.D.S.D. Souza, G.D.S. Nunes, J.D.L. Batista and C.H.D. Brito. 2019. Selectivity Of Insecticides to *Encarsia Hispida* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Revista Caatinga, Mossoro* 32(2): 312-317.

Otim, M., S. Kyamanywa, P. Asiimwe, J. Legg, M. Guershon and D. Gerling. 2018. Development duration, longevity and fertility of *Eretmocerus mundus* Mercet and *Encarsia sophia* (Girault & Dodd) (Hymenoptera: Aphelinidae) on *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) attacking cassava in Uganda. *Israel Journal of Entomology* 48(2): 141–155.

Saljoqi, A.U.R. and H.Y.R.H. YuRong. 2004. Effect of host and parasite density on *Trichogramma ostrinae*. Journal of South China Agricultural University 25(3): 120–122.

Sugiyama, K., H. Katayama and T. Saito. 2011. Effect of insecticides on the mortalities of three whitefly parasitoid species, *Eretmocerus mundus*, *Eretmocerus eremicus* and *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Applied Entomology and Zoology* 46(3): 311-317.

Weeden, C.R., A.M. Shelton and M.P. Hoffman. 2009. *Biological Control: A guide to natural enemies in North America*. (Online). Available: http: www.nysaes. cornell.edu/ent/biocontrol/accessed (June 30, 2020).

Xu, H.Y., N. Yang, H. Chi, G. Ren, and F. Wan. 2018. Comparison of demographic fitness and biocontrol effectiveness of two parasitoids, *Encarsia sophia* and *Eretmocerus hayati* (Hymenoptera: Aphelinidae), against *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest management science* 74: 2116-2124.

Zhou, C.Q., Y.X. Li, T.X. Liu, F. Zhang, and C. Luo. 2010. Development and morphology of female immature of *Encarsia sophia* and their longevity and fecundity. *Chinese Journal of Biological Control* 26: 113–118.

Table 1 Parasitism of *Encarsia sophia* on different nymphal instar of *Bemisia tabaci* in no-choice test

Host instars	Quantity which parasitized (Mean±SE) [1/]	Parasitism (%)
1st instar	0.00 ± 0.00 c	0.00
2nd instar	0.60 ± 0.24 c	1.00
3rd instar	5.20 ± 0.73 b	8.67
4th instar	10.20 ± 1.59 a	17.00
4th instar (puparium)	1.20 ± 0.58 c	2.00

[1/] Means in column with the same letter are not significantly different at 0.05 levels (Tukey's HSD test)

Table 2 Parasitism of *Encarsia sophia* on different nymphal instar of *Bemisia tabaci* in choice test

Host instars	Quantity which parasitized (Mean±SE) [1/]	Parasitism (%)
1st instar	0.00 ± 0.00 b	0.00
2nd instar	0.00 ± 0.00 b	0.00
3rd instar	1.80 ± 0.58 b	3.00
4th instar	8.60 ± 1.47 a	14.30

[1/] Means in column with the same letter are not significantly different at 0.05 levels (Tukey's HSD test)

Table 3 Mean number of parasitism and parasitism rate of *Encarsia sophia* parasitoid in different density of *Bemisia tabaci* nymph

Host density	Mean number of parasitized (Mean±SE) [1/]	Parasitism rate (%) (Mean±SE) [1/]
10	2.00 ± 0.55 c	20.00 ± 5.48 a
20	1.80 ± 0.58 c	9.00 ± 2.92 a
40	4.60 ± 0.24 b	11.50 ± 0.61 a
60	8.00 ± 0.77 a	13.30 ± 1.29 a

[1/] Means in column with the same letter are not significantly different at 0.05 levels (Tukey's HSD test)

Table 4 Parasitism rate and feeding rate in varying parasitoid of *Encarsia sophia* on 80 *Bemisia tabaci* nymphs

Number of parasitoids	Parasitism rate (%) (Mean ± SE) [1/]	Feeding rate (%) (Mean ± SE) [1/]
1	6.75 ± 1.88 b	3.00 ± 0.50 c
2	14.50 ± 2.61 ab	6.75 ± 1.02 c
3	20.50 ± 2.55 a	11.25 ± 1.25 bc
4	18.75 ± 2.82 a	16.25 ± 2.88 ab
5	21.75 ± 2.26 a	20.50 ± 1.88 ab
6	21.75 ± 3.76 a	21.25 ± 1.12 a
7	11.50 ± 2.03 ab	22.50 ± 3.33 a
8	10.50 ± 1.16 ab	22.75 ± 2.69 a

[1/] Means in column with the same letter are not significantly different at 0.05 levels (Tukey's HSD test)

Table 5 Release of different numbers of *Encarsia sophia* parasitoids on parasitism of *Bemisia tabaci* nymphs in mesh cage under greenhouse conditions.

Releasing number	Number of whitefly nymph	Mean of Parasitism (Mean ± SE) [1/]	Parasitism rate (%) (Mean ± SE) [1/]
0 (control)	302	0.00 ± 0.00 b	0.00 ± 0.00 b
5	284	14.80 ± 3.81 b	5.26 ± 1.41 b
10	329	23.60 ± 3.08 b	7.26 ± 1.05 b
15	301	152.40 ± 32.73 a	51.63 ± 11.50 a

[1/] Means in column with the same letter are not significantly different at 0.05 levels (Tukey's HSD test)

Table 6 Mean number of parasitism and parasitism rate of *Encarsia sophia* parasitoid in different number of parasitoid releasing

Releasing number	Mean of parasitism[1/]	Parasitism rate (%)
25	346.40 b	17.04
50	566.40 b	27.86
100	955.20 a	46.98
200	906.00 a	44.56
CV (%)	**40.97**	

[1/] Means in column with the same letter are not significantly different at 0.05 levels (Tukey's HSD test)

Table 7 Percent mortality of *Encarsia sophia* adults, after 1 day exposure to each insecticide by dry film method

IOBC category[2/]	Insecticides and formulation	% mortality[1/]	
		24 hours	48 hours
harmful	Dinotefuran 10% WP	100.00 a	100.00 a
	Thiamethoxam 25% WG	100.00 a	100.00 a
	Cypermethrin 35% EC	100.00 a	100.00 a
	Emamectin benzoate 5% WG	100.00 a	100.00 a
	Methomyl 90% SP	100.00 a	100.00 a
	Fipronil 5% SC	97.50 a	100.00 a
	Imidacloprid 70% WG	82.50 ab	100.00 a
	Buprofezin 40% SC	12.50 c	100.00 a
moderately harmful	Cyantraniliprole 20% SC	67.50 b	97.50 a
	Pymetrozine 50% WG	77.50 ab	95.00 a
slightly harmful	Flubendiamide 20% WG	0.00 c	45.00 b
Control		0.00 c	0.00 c
C.V. (%)		63.68	38.87

[1/] Means in column with the same letter are not significantly different at 0.05 levels (Tukey's HSD test)

[2/] harmless (<30%), slightly harmful (30–79%), moderately harmful (80–99%), harmful (>99%), Hassan *et al*. (1994)

Table 8 Percent mortality of *Encarsia sophia* adults, after 7 days exposure to each insecticide by dry film method

IOBC category[2/]	Insecticides and formulation	% mortality[1/]	
		24 hours	48 hours
harmful	Dinotefuran 10% WP	100.00 a	100.00 a
	Thiamethoxam 25% WG	100.00 a	100.00 a
	Cypermethrin 35% EC	100.00 a	100.00 a
	Emamectin benzoate 5% WG	94.60 a	100.00 a
	Methomyl 90% SP	100.00 a	100.00 a
	Fipronil 5% SC	100.00 a	100.00 a
	Imidacloprid 70% WG	97.30 a	100.00 a
	Cyantraniliprole 20% SC	91.90 a	100.00 a
	Pymetrozine 50% WG	91.90 a	100.00 a
slightly harmful	Buprofezin 40% SC	16.30 b	46.30 ab
harmless	Flubendiamide 20% WG	0.00 b	22.30 b
Control		0.00 b	0.00 b
C.V. (%)		54.67	46.54

[1/] Means in column with the same letter are not significantly different at 0.05 levels (Tukey's HSD test)

[2/] harmless (<30%), slightly harmful (30–79%), moderately harmful (80–99%), harmful (>99%), Hassan *et al*. (1994)

Table 9 Percent mortality of *Encarsia sophia* adults, after 14 days exposure to each insecticide by dry film method

IOBC category[2/]	Insecticides and formulation	% mortality[1/]	
		24 hours	48 hours
harmful	Dinotefuran 10% WP	100.00 a	100.00 a
	Thiamethoxam 25% WG	100.00 a	100.00 a
	Cypermethrin 35% EC	100.00 a	100.00 a
	Emamectin benzoate 5% WG	82.50 a	100.00 a
	Methomyl 90% SP	100.00 a	100.00 a
	Fipronil 5% SC	100.00 a	100.00 a
	Imidacloprid 70% WG	95.00 a	100.00 a
	Cyantraniliprole 20% SC	90.00 a	100.00 a
	Pymetrozine 50% WG	75.00 a	100.00 a
slightly harmful	Flubendiamide 20% WG	16.70 b	35.70 b
harmless	Buprofezin 40% SC	0.00 b	21.70 b
Control		0.00 b	0.00 b
C.V. (%)		59.98	49.60

[1/] Means in column with the same letter are not significantly different at 0.05 levels (Tukey's HSD test)

[2/] harmless (<30%), slightly harmful (30–79%), moderately harmful (80–99%), harmful (>99%), Hassan *et al*. (1994)

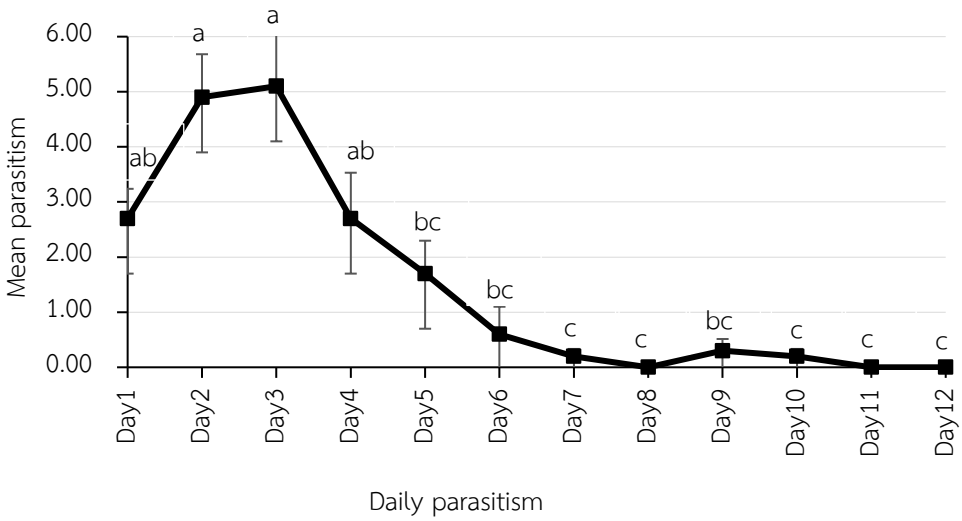
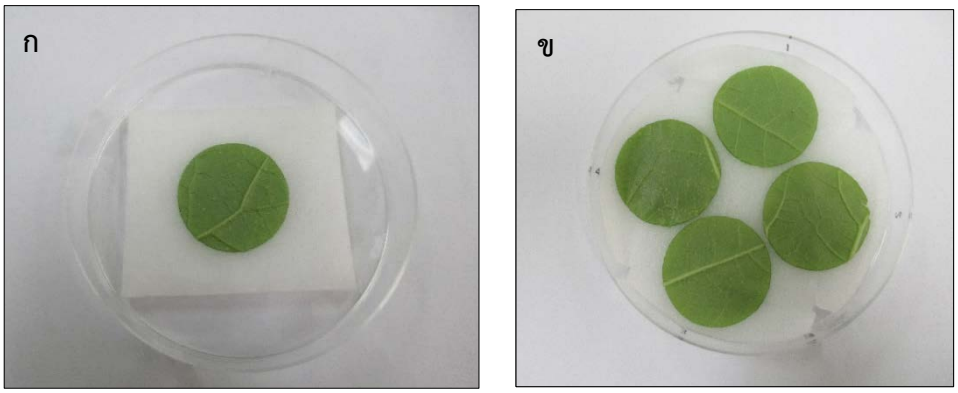
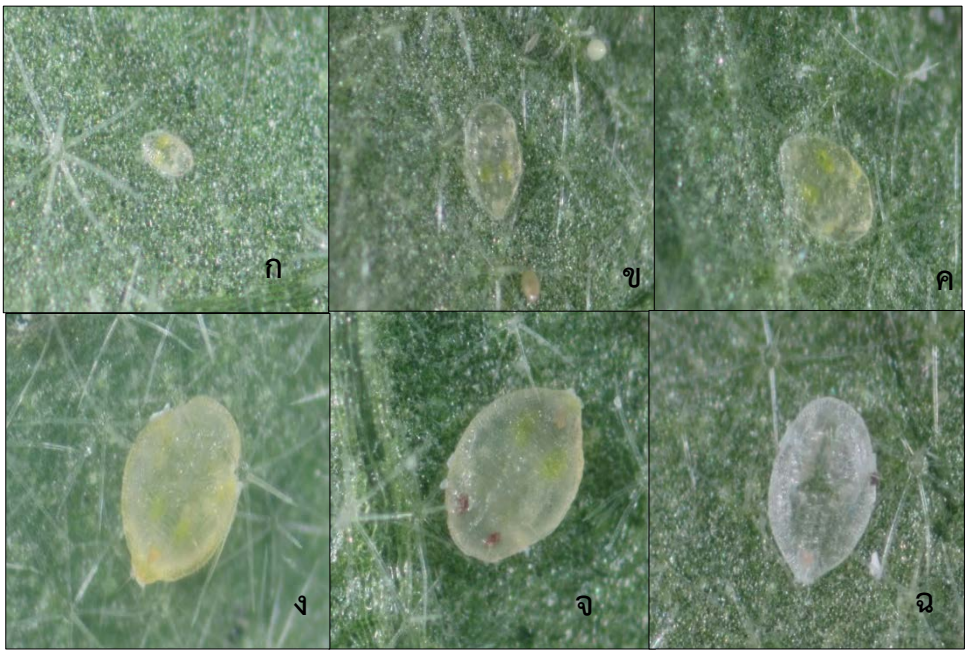


Figure 1 Mean number of parasitism of *Encarsia sophia* on fourth instar nymphs of *Bemisia tabaci* in each day. Line with different letters show significant differences among daily parasitism

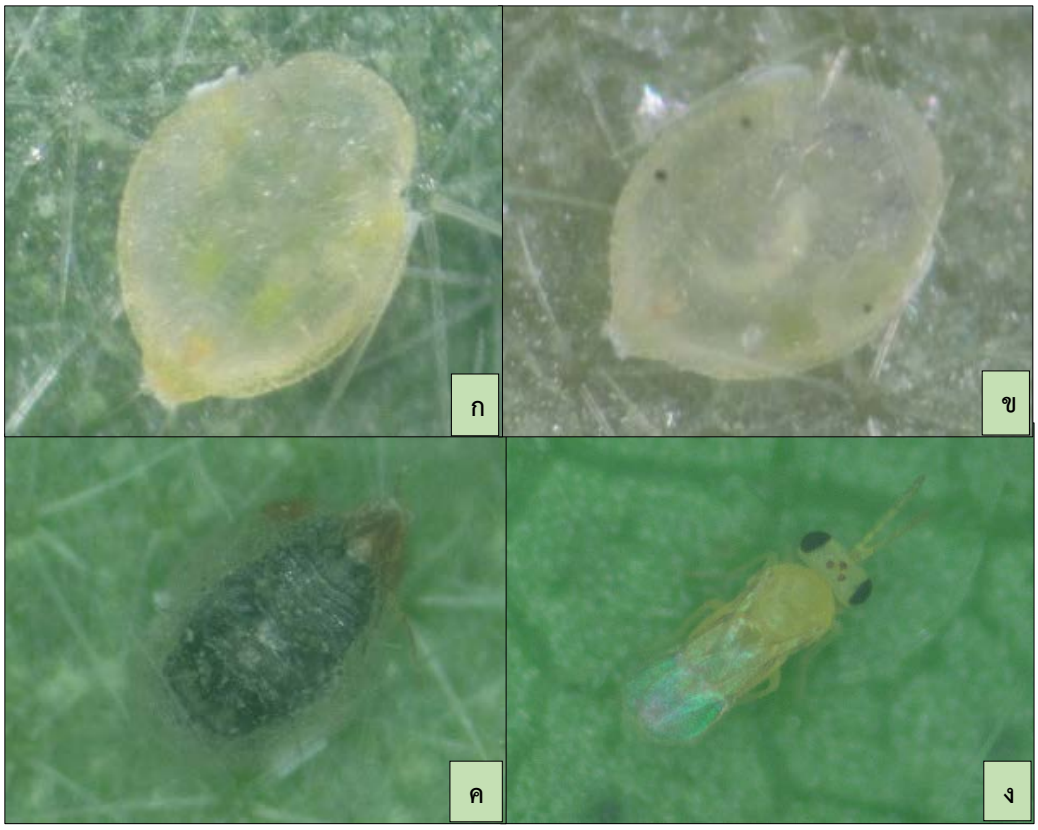
ภาคผนวก



ภาพที่ 1 การศึกษาช่วงวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบต่อการชอบวางไข่ของแตนเบียน *Encarsia sophia*;
ก. ทดสอบแบบไม่ให้ทางเลือก (no-choice test)
ข. ทดสอบแบบให้ทางเลือก (choice test)



ภาพที่ 2 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) ในระยะต่างๆ
(กำลังขยายของภาพ 50 เท่า);
ก. ตัวอ่อนวัย 1 ข. ตัวอ่อนวัย 2
ค. ตัวอ่อนวัย 3 ง. ตัวอ่อนวัย 4
จ. ตัวอ่อนวัย 4 (puparium)
ฉ. คราบ (Exuviae) ของตัวอ่อนวัย 4



ภาพที่ 3 ลักษณะแตนเบียน *Encarsia sophia* ในระยะต่างๆ;

ก. ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 ที่สมบูรณ์

ข. ระยะหนอนแตนเบียน *Encasia sophia* ในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 ที่ถูกเบียน 5 วัน

ค. ระยะดักแด้แตนเบียน *Encasia sophia* ในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 ที่ถูกเบียน 10 วัน

ง. ตัวเต็มวัยแตนเบียน *Encarsia sophia*

การใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* ควบคุมเพลี้ยอ่อนในการปลูกคะน้าในโรงเรือน

Using the Green Lacewing Chrysoperla *carnea* for aphid Control in Kale on Screen-house

ประภัสสร เชยคำแหง สาทิพย์ มาลี ณัฏฐินี ศิริมาจันทร์

กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The present research aimed to study Using the Green Lacewing for aphid control in Kale on screen- house. The population reduction release as compared non- release in screen – house. During May 2023 to July 2023 at Suphanburi province. The rates of release were fixed as 25 second larval instar per square meter total of 4 releases were made at 7 days interval, with first release at appearance of the aphid and after release mean number of aphids were 15.66, 6.26, 6.12 and 1.56 respectively and non- release were 53.24, 61.20, 70.34 and 63.08 respectively, which can reduce the aphid significantly.

Keywords : *Chrysoperla carnea*, Aphis, Release methods, Biological control

รหัสการทดลอง FF 65-10-01-65-02-03-66

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา การใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* ควบคุมการระบาดของเพลี้ยอ่อนในการปลูกคะน้าในโรงเรือน วางแผนการทดลองแบบ t-test มี 2 กรรมวิธี กรรมวิธีที่ 1ปล่อยแมลงช้างปีกใส กรรมวิธีที่ 2 ไม่ปล่อยแมลงช้างปีกใส ดำเนินการทดลองในโรงเรือนของเกษตร จำนวน 2 โรงเรือน ในจังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนพฤษภาคม – กรกฎาคม 2567 อัตราที่แนะนำให้ใช้ในสภาพโรงเรือน ใช้แมลงช้างปีกใส วัย 2 อัตรา 25 ตัวต่อตารางเมตร ปล่อยทุกๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง เมื่อพบการระบาดเกิน 20 เปอร์เซ็นต์ต่อโรงเรือน และเกิน 20 ตัวต่อต้น ควรปล่อยแมลงช้างปีกใสทันทีพบว่าสามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนให้ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับโรงเรือนที่ไม่มีการปล่อยแมลงช้างปีกใส ทั้ง 2 โรงเรือน มีค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อน เริ่มต้น เท่ากับ 22.78 และ 20.78 ตัวต่อต้น ตามลำดับจำนวนเพลี้ยอ่อนไม่มีความแตกต่างกัน เริ่มปล่อย ครั้งที่ 1 2 3 และ 4 ค่าเฉลี่ยของเพลี้ยอ่อน เป็น 15.66 6.26 , 6.12 และ 1.56 ตัวต่อต้น ตามลำดับในโรงเรือนที่มีการปล่อย และในโรงเรือนที่ไม่มีการปล่อยแมลงช้างปีกใส มีค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อนเป็น 53.24, 61.20, 70.34 และ 63.08 ตัวต่อต้น ตามลำดับ

คำหลัก : แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea*, เพลี้ยอ่อน, อัตราการปล่อย, การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

คำนำ

คะน้า จัดอยู่ใน พืชผักตระกูลกะหล่ำ ซึ่งเป็นผักที่มีความสำคัญต่อการบริโภค เป็นแหล่งของธาตุอาหารใยอาหาร และวิตามินต่างๆ มากมายอีกทั้งเป็นผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกด้วย เกษตรกรผู้ปลูกคะน้า จำเป็นต้องผลิตผักคะน้าให้มีตลอดฤดูกาล การระบาดของแมลงศัตรูพืชจึงเพิ่มมากขึ้น จำเป็นต้องใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในปริมาณมาก เพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชต่างๆที่จะเข้ามาทำลาย เพลี้ยอ่อน (aphids) อยู่ในวงศ์ (Family) Aphididae อันดับ (Order) Hemiptera เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงปากดูดขนาดเล็กมีลำตัวอ่อนนุ่ม เคลื่อนไหวช้า ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยของเพลี้ยอ่อนทำลายพืชโดยใช้ส่วนปากดูดกินน้ำเลี้ยง จากเซลล์พืชบริเวณใต้ใบ หรือส่วนอ่อนๆของพืช เช่น ยอดอ่อน ตาอ่อน ใบ ดอกและผล เพลี้ยอ่อนใช้ปากที่พัฒนาเป็นท่อยาว (Rostrum) แทงเข้าไปในเนื้อเยื่อพืชระหว่างเซลล์พืช ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะทำให้ชะงักการเจริญเติบโต หรือบางครั้งทำให้ต้นตายได้ ทั่วโลกมีเพลี้ยอ่อนอยู่ประมาณ 4,000 ชนิดเพลี้ยอ่อนส่วนใหญ่ที่พบอยู่ในวงศ์ย่อย Aphidinae และประมาณ 250 ชนิด เป็นศัตรูที่สำคัญของพืชหลายชนิด ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบเพลี้ยอ่อนทั้งหมด 182 ชนิด เพลี้ยอ่อน ที่พบลงทำลาย คะน้ามีทั้งหมด 4 ชนิด คือ เพลี้ยอ่อนฝ้าย (cotton aphid) *Aphis gossypii* Glover เพลี้ยอ่อนผัก (cabbage aphid) *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (aphid) *Myzus persicae* (Sulzer) และ เพลี้ยอ่อนข้าวโพด (corn leaf aphid) *Rhopalosiphum maidis* (ลักขณา และชฎาภรณ์ 2554) แมลงศัตรูพืชชนิดนี้มี

การขยายพันธุ์รวดเร็ว เป็นแมลงศัตรูพืชที่พบระบาดในการปลูกผักคะน้าทั้งในระบบโรงเรือน และในสภาพสวนผัก การป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากตัวเพลี้ยอ่อนจะอยู่บริเวณใต้ใบ การใช้สารป้องกันกำจัดแมลงบางครั้งไม่ได้ผล และส่งผลเสียหลายๆด้าน ทั้งต่อสภาพแวดล้อม และสุขภาพของผู้ผลิต รวมถึงผู้บริโภค ในปัจจุบันการบริโภคพืชผักที่ปลอดภัยต่อสุขภาพเช่น ผักปลอดสาร หรือ ผักปลอดภัยที่ได้รับเครื่องหมายของกรมวิชาการเกษตร ก็นิยมปลูกคะน้าเหล่านี้ในโรงเรือน ผลผลิตที่ได้ มีความต้องการ และได้รับความนิยมในหมู่ผู้บริโภคค่อนข้างมาก การปลูกคะน้าในโรงเรือน สามารถปลูกได้ตลอดปี ดังนั้นการระบาดของแมลงศัตรูพืชขนาดเล็ก เช่น เพลี้ยอ่อน ก็สามารถเกิดขึ้นได้ตลอดอายุการปลูก การใช้แมลงศัตรูธรรมชาติ มาช่วยป้องกันกำจัด จึงเป็นแนวทางเลือกที่สำคัญ ที่จะช่วยให้ คะน้า เป็นพืชผักปลอดภัย แมลงช้างปีกใส (Green Lacewings) เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์มากชนิดหนึ่ง จัดอยู่ในอันดับ Neroptera วงศ์ Chrysopidae. เป็นตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากสามารถทำลายเหยื่อศัตรูพืชได้หลายชนิด เช่น ไข่ และตัวอ่อนของผีเสื้อบางชนิด เพลี้ยอ่อน, ไรแมงมุม, เพลี้ยหอย, เพลี้ยแป้ง, เพลี้ยไก่แจ้, เพลี้ยจักจั่น, ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว และเหยื่อศัตรูพืชอีกหลายชนิดที่ลำตัวอ่อนนุ่ม จึงทำให้แมลงช้างปีกใสเป็นแมลงห้ำที่ได้รับความสนใจในหลายๆประเทศ และ พิมลพร นันทะ, 2545. รายงานว่า เหยื่อที่แมลงช้างปีกใสชอบมากที่สุดคือ เพลี้ยอ่อน แมลงช้างปีกใส 1 ตัว สามารถกินเพลี้ยอ่อนได้ 100-600 ตัวถึงแม้ว่าช่วงเวลานั้นจะหาเหยื่อได้ยากหรือพืชมีขนปกคลุมหรือมีสารเหนียวก็ตาม แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* จัดเป็นแมลงช้างปีกใส ที่มีประสิทธิภาพมากชนิดหนึ่งเป็นแมลงห้ำที่ได้รับสมญานามว่า“สิงห์นักล่าเพลี้ยอ่อน” ทั่วโลกพบแมลงช้างปีกใสอยู่หลายสายพันธุ์ เช่นประเทศจีน พบแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla sini-ca* ในสหรัฐอเมริกาพบ แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* และ *Chrysoperla rufilabris* ซึ่งแมลงช้างปีกใสทั้ง 2 ชนิด มีรายงานว่าสามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ Tulisalo, 1984 ได้รายงานว่าแมลงช้างปีกใส ใน สกุล Chrysoperla เช่น *Chrysoperla carnea*, *Chrys-opa septempunctata* Wesmael, *Chrysopa formosa* Brauer และ *Chrysoperla perla* สามารถใช้ ควบคุมเพลี้ยอ่อน ได้ดีในพืชที่ปลูกในโรงเรือน เช่น สามารถใช้ควบคุมเพลี้ยอ่อน ได้ดีในพืชที่ปลูกในโรงเรือน เช่น พริก แตงกวา มะเขือ และผักกาดหอม เป็นต้น นอกจากนั้น Nordlund el al., 2001 ได้รายงานว่า แมลงช้างปีกใส ใน สกุล Chrysoperla ได้เคยถูกใช้เพื่อควบคุม เพลี้ยอ่อน ในพริก และ ถั่วลันเตา และยังใช้เพื่อ ควบคุม หนอนผีเสื้อ Leptinotarsa decemlineata ใน มะเขือ และ มะเขือเทศ ใช้ควบคุม หนอนผีเสื้อ Panonychus ulmi ใน ไร่แอปเปิ้ล และใช้ ควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย Heliothis uirescens ในไร่ฝ้าย อีกด้วย นอกจากนั้นมีรายงานว่า ในแถบทวีปอเมริกาเหนือใช้ C. carnea ควบคุม เพลี้ยแป้ง เพลี้ยจักจั่น และเพลี้ยอ่อน แมลงช้างปีกใส C. rufilabris ใช้ควบคุม เพลี้ยหอย ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว เพลี้ยอ่อน และเพลี้ยจักจั่น และ Chrysoperla externa (Hagen) เป็นแมลงช้างปีกใสชนิดที่สามารถควบคุมไข่ของผีเสื้อกลางคืนได้ (Daane and Hagen, 2001) ในออสเตรเลีย New, 2002 รายงานว่าแมลงช้างปีกใสชนิด Mallada signata (Schneider) มีความสำคัญมากที่จะใช้ในโปรแกรมการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี สอดคล้อง

กับในประเทศจีน รายงานว่า แมลงช้างปีกใส Chrysoperla sinica (Tjeder) ประสบความสำเร็จในการใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช เช่นกัน รวมทั้งยังสามารถใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชปากดูดขนาดเล็กได้หลายชนิด เช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว ตัวอ่อนเพลี้ยไฟ เพลี้ยหอย ไรแดง รวมทั้งไข่ และหนอนศัตรูพืชขนาดเล็ก สามารถนำแมลงช้างปีกใสไปใช้ได้ทั้งในระบบการปลูกพืชแบบโรงเรือน หรือแบบปล่อยในแปลงทั้ง ในพืชผักไม้ดอก และพืชไร่ ในแถบประเทศแถบยุโรป และอเมริกา มีการใช้ C. *carnea* เพื่อควบคุม เพลี้ยอ่อน ชนิดต่างๆในพืชที่ปลูกในเรือนกระจกและในสภาพสวน นอกจากนั้นยังผลิตแมลงช้างปีกใสชนิดนี้เป็นการค้าอีกด้วย (Shrestha, 2011) ในประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ สามารถผลิตแมลงช้างปีกใสได้ในปริมาณมาก มีขั้นตอนการผลิตที่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นงานวิจัยที่จะต่อยอด และสำคัญที่สุดคือการวิจัยเกี่ยวกับการนำแมลงช้างปีกใสที่ผลิตได้ไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชอย่างเป็นระบบ และให้เป็นรูปธรรมที่เห็นผล นอกจากนั้น จะต้องมีการพัฒนาบรรจุภัณฑ์ในการขนส่งแมลงช้างปีกใส เพื่อนำไปใช้ได้ง่ายขึ้น หากบรรลุเป้าหมายที่วางไว้ ก็สามารถที่จะนำองค์ความรู้ที่ได้นำแมลงศัตรูธรรมชาติชนิดนี้ไปสู่เกษตรกรเพื่อการผลิตพืชปลอดภัยได้อย่างยั่งยืนต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส วัย 2
2. โรงเรือนตาข่าย จำนวน 2 โรงเรือน
3. ต้นคะน้า
4. ที่นับแมลง พู่กัน

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ t-test มี 2 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยแมลงช้างปีกใส

กรรมวิธีที่ 2 ไม่ปล่อยแมลงช้างปีกใส

ปลูกคะน้าในโรงเรือน 2 โรงเรือน ขนาด 2 x 7 เมตร อ. อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี ระหว่างวันที่ 20 พฤษภาคม 2567 ถึง วันที่ 23 กรกฎาคม 2567 วางแผนการทดลองแบบ ต้นคะน้า ประมาณโรงเรือนละ 150 ต้น วางแผนการทดลองแบบ t-test มี 2 กรรมวิธี ทำการสำรวจเพลี้ยอ่อน หลัง คะน้างอกแล้ว 2 สัปดาห์ สำรวจ 10 จุดๆจุด ละ 5 ต้น ให้ตรวจนับเพลี้ยอ่อนทั่วทั้งต้น เมื่อพบการระบาด เกิน 20 ตัวต่อต้น หรือ 20 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนที่ตรวจนับให้เริ่มปล่อยแมลงช้างปีกใส (กรรมวิธีที่ 1) กรรมวิธีที่ 2 ไม่ปล่อยแมลงช้างปีกใส

เวลาและสถานที่

เวลา ทำการทดลองระหว่างวันที่ 20 พฤษภาคม 2567 ถึง วันที่ 19 กรกฎาคม 2567

สถานที่ อ. อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เตรียมแปลงปลูกคะน้า ในโรงเรือนขนาด 2 x 7 เมตร จำนวน 2 โรงเรือน อ. อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี ระหว่างวันที่ 20 พฤษภาคม 2567 ถึง วันที่ 23 กรกฎาคม 2567 วางแผนการทดลองแบบ t-test หลังจากปลูก 2 สัปดาห์ เมื่อต้นคะน้างอก ทำการสำรวจการระบาดของเพลี้ยอ่อนทุกๆ 3 วัน เมื่อสำรวจพบเพลี้ยอ่อนเกิน 20 เปอร์เซ็นต์ ต่อ โรงเรือน เริ่มดำเนินการทดลอง โดยในโรงเรือนที่ปล่อยแมลงช้างปีกใส ให้เริ่มปล่อยแมลงช้างปีกใสวัย 2 ในอัตรา 25 ตัวต่อตารางเมตร ปล่อยทุกๆ 7 วัน ปล่อยในจุดที่มีการระบาดของเพลี้ยอ่อน และตรวจนับจำนวนเพลี้ยอ่อน ทั้งก่อน และหลังปล่อยแมลงช้างปีกใส ส่วนในโรงเรือนที่ไม่มีการปล่อยแมลงช้างปีกใส จะดำเนินการตรวจนับและบันทึกปริมาณการระบาดของเพลี้ยอ่อนเช่นกัน จากการตรวจนับเพลี้ยอ่อนก่อนปล่อยแมลงช้างปีกใส ทั้ง 2 โรงเรือน มีค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อน เริ่มต้น เท่ากับ 22.78 และ 20.78 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อนไม่มีความแตกต่างกัน ต่อจากนั้นดำเนินการปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส วัย 2 จำนวน 4 ครั้ง ในโรงเรือนที่มีการปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส ปล่อยแต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน (ตารางที่ 1) เปรียบเทียบกับโรงเรือนที่ไม่มีการปล่อยแมลงช้างปีกใส พบว่า หลังการปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 ครั้งที่ 1 โรงเรือนที่มีการปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส จำนวนค่าเฉลี่ยเพลี้ยอ่อนเป็น 15.66 และโรงเรือนที่ไม่มีการปล่อยแมลงช้างปีกใส มีค่าเฉลี่ยเพลี้ยอ่อน เป็น 53.24 ตัวต่อต้น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่การปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสในครั้งที่ 1 หลังการปล่อย ครั้งที่ 2 จำนวนค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อน เป็น 6.26 และ61.20 ตัวต่อต้น หลังการปล่อยครั้งที่ 3 จำนวนค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อน เป็น 6.12 และ 70.34 ตัวต่อต้น และ หลังการปล่อยครั้งที่ 4 จำนวนค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อน เป็น 1.56 และ 63.08 ตัวต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าอัตราการปล่อยตัวอ่อน 25 ตัวต่อตารางเมตร เพียงพอที่จะช่วยควบคุมการระบาดของเพลี้ยอ่อนได้ และเห็นประสิทธิภาพการใช้แมลงช้างปีกใสในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในโรงเรือนตั้งแต่การปล่อยครั้งแรกในทันที และการทดลองการใช้ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส ครั้งนี้ได้ทำการปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส ได้รวดเร็ว ปล่อยในขณะเริ่มการระบาด ทำให้สามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนได้ผล ประสิทธิภาพในการใช้งแมลงช้างปีกใส มีหลายๆปัจจัยร่วมด้วย จากการจัดการสภาพแวดล้อมที่ดี จำนวนครั้งในการปล่อยระดับของศัตรูพืชที่มีการระบาด และอายุของพืชที่ปลูกด้วย ปริมาณการใช้ C. *carnea* ขึ้นอยู่กับสภาพอากาศ ชนิดของพืช และความหนาแน่นของแมลงศัตรูพืช ควรปรับให้เหมาะสมกับสถานการณ์ เริ่มใช้ทันทีที่สำรวจพบศัตรูพืช สอดคล้องกับ รายงานของ Senior LJ, McEwen PK.,2001 ได้กล่าวว่า มีการใช้แมลงช้างปีกใส (*Chrysoperla* species) ในรัฐวอชิงตัน

ปล่อยควบคุมเพลี้ยอ่อนในแอบเปิ้ล และ ในรัฐแคลิฟอเนีย ใช้ควบคุมเพลี้ยแป้ง และเพลี้ยจักจั่นลายในองุ่น อย่างได้ผล

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* ควบคุมเพลี้ยอ่อนในการปลูกคะน้าในโรงเรือน วางแผนการทดลองแบบ t-test มี 2 กรรมวิธี ปล่อยแมลงช้างปีกใส และไม่ปล่อยแมลงช้างปีกใส ดำเนินการทดลองในโรงเรือนของเกษตร จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนพฤษภาคม – กรกฎาคม 2567 พบว่า โรงเรือนที่ปล่อยแมลงช้างปีกใส ใช้แมลงช้างปีกใส วัย 2 อัตรา 25 ตัวต่อตารางเมตร ปล่อยทุกๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง ปล่อยในจุดที่มีการระบาดของเพลี้ยอ่อน สามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนให้ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับโรงเรือนที่ไม่มีการปล่อยแมลงช้างปีกใส ทั้ง 2 โรงเรือน มีค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อน เริ่มต้น เท่ากับ 22.78 และ 20.78 ตัวต่อต้น ตามลำดับจำนวนเพลี้ยอ่อนไม่มีความแตกต่างกัน เริ่มปล่อย ครั้งที่ 1 2 3 และ 4 ค่าเฉลี่ยของเพลี้ยอ่อน เป็น 15.66 6.26 , 6.12 และ 1.56 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ในโรงเรือนที่ไม่มีการปล่อยแมลงช้างปีกใส มีค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อนเป็น 53.24, 61.20, 70.34 และ 63.08 ตัวต่อต้น ตามลำดับ

คำขอบคุณ

-

เอกสารอ้างอิง

พิมลพร นันทะ. 2554 ศัตรูธรรมชาติ หัวใจของ IPM กองกีฏ และสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ISBN 974-436-065-8

ลักขณา บำรุงศรี และชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร. 2554 การเก็บตัวอย่างและการจำแนกเพลี้ยอ่อน. *ใน* เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตร “การเก็บและจำแนกตัวอย่างแมลงจำพวกปากดูดศัตรูสำคัญของพืชนำเข้าและส่งออก” ครั้งที่ 4, 24-26 พฤษภาคม 2554 สำนักวิจัยพัฒนาการ กรมวิชาการเกษตร

Benuzzi, M.,Manzaroli,&Nicoli,G.(1992) Biological control in protected strawberry in Noththern Itally. OEPP/EPPO Bulletin 22,445-448.

Daan,K.M. and K.S. Hagen, 2001 An Environment of lacewing Releases in North America.In: Lacewings in the Crop Environment, McEwen P.K., T.R., New and A.E. Whittington (Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, pp: 398-407.

Liu,T-x & Chen, Tian-ye (2001) Effect of Three aphid species (Homoptera:Aphididae) on Development.survival and predation of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera :

Chrysopidae) Applied Entomology and Zoology – APPL ENTOMOL ZOOL 36.361-366.

Nordlund, D.A., A.C. Cohen and R.A. Smith, 2001. Mass-Rearing, Release Techniques and Augmentation.In: lacewings in the Crop Environment, McEwen P.K., T.R., New and A.E. Whittington (Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, pp: 303-319.

Senior LJ, McEwen PK. The used of lacewing in biological control. In: P. McEwen,T.R. New, and A.E. Whittington (eds.), Lacewings in the Crop Environment.Cambridge University Press Cambridge, United Kingdom.2001, 296-302.

Shrestha G, 2011. Investigation of potential of the green lacewing, *Chrysoperla carnea* Stephens, (Neuroptera: Chrysopidae) in biocontrol of lettuce aphid, *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) (Hemiptera: Aphididae) in field-grown lettuce. MSc Thesis, Aarhus University; 2011.

Tulisalo, U., 1984. Biological Control in the Greenhouse. In: Biology of Chrysopidae,Canard, M., Y.Semeria andT.R.New (Eds.). Dr.W.Junk,The Hague, pp: 228-233.

Table 1 Mean number of aphids after application Stage 2 Larvae Green Lawings comparison between releasing and not releasing Green Lawings at Suphanburi province

Treatments	Before treatment	Populations of Aphid (Number /plant) After treatment			
		Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
Releasing	22.78	15.66	6.26	6.12	1.56
Not Releasing	20.74	53.24	61.20	70.34	63.08
T-test	1.782	-11.084	-13.162	-17.091	-13.980
	Ns	**	**	**	**

ศึกษาช่วงการระบาดที่เหมาะสมและอัตราการปล่อยมวนเพชฌฆาตควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาว

Study on outbreak level and release rate of assassin bugs to control bean pod borer in yardlong beans.

สาทิพย์ มาลี ประภัสสร เชยคำแหง ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์
นันทนัช พินศรี ภัทรพร สรรพนุเคราะห์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Study on the appropriate infestation threshold and release rate of assassin bugs, *Sycanus versicolor* Dohrn for controlling the bean pod borer in yardlong bean. The experiment was conducted in farmers' fields in Phanat Nikhom District, Chonburi Province, from October 2022 to September 2024. Results indicated that releasing fourth-instar *S. versicolor* when 5% of yardlong bean flowers were damaged significantly reduced bean pod borer infestation compared to the untreated control. Release rates of 500–3,000 4th assassin bug nymph per rai were effective, with the highest control efficiency and yield obtained at 2,000–3,000 4th assassin bug nymph per rai. These findings suggest that biological control using *S. versicolor* at the appropriate threshold and release rate is an environmentally friendly and effective strategy for managing bean pod borer in yardlong bean production.

Keywords : Bean pod borer, Assassin bug, Yardlong beans

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-03-02-66

บทคัดย่อ

ศึกษาช่วงการระบาดที่เหมาะสมและอัตราการปล่อยมวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn ควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาว ทำการศึกษาในแปลงปลูกถั่วฝักยาวอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม 2565 - กันยายน 2567 เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาวโดยชีววิธี ผลการทดลองพบว่าเมื่อพบการทำลายดอกถั่วฝักยาว 5 เปอร์เซ็นต์ การปล่อยมวนเพชฌฆาตวัย 4 อัตรา 500 – 3,000 ตัวต่อไร่ สามารถลดปริมาณการระบาดของหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาวได้ดีกว่าการไม่ปล่อยมวนเพชฌฆาต โดยอัตราการปล่อยมวนเพชฌฆาต 2,000-3,000 ตัวต่อไร่ สามารถควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาวได้ดีและให้ผลผลิตสูงที่สุด

คำหลัก : หนอนเจาะฝักถั่วลายจุด, มวนเพชฌฆาต, ถั่วฝักยาว

คำนำ

ถั่วฝักยาว yardlong bean, (*Vigna unguiculata* (L.) var sesquiedalis เป็นพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ใช้ปรุงอาหารและบริโภคสดในประเทศและส่งออกต่างประเทศ ทั้งในรูปผลผลิตสดและแปรรูป ถั่วฝักยาวสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี ในทุกภาคของประเทศ แมลงศัตรูพืชเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้ผลผลิตถั่วฝักยาวลดลง ถั่วฝักยาวมีแมลงศัตรูหลายชนิด ได้แก่ หนอนแมลงวันเจาะต้นถั่ว หนอนเจาะฝักถั่วลายจุด หนอนผีเสื้อสีน้ำเงิน หนอนกระทู้หอม เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ และไรขาว เกิดความเสียหายต่อผลผลิตอย่างโดยลดลงได้ถึง 20-25 % แมลงศัตรูสำคัญที่มากชนิดหนึ่งได้แก่ หนอนเจาะฝักถั่วลายจุด (bean pod borer) *Maruca testulalis* (Hubner) เนื่องจากหนอนจะเข้าไปกัดกินในระยะดอก ทำให้ดอกร่วง เมื่อหนอนโตขึ้นจะเจาะเข้าไปกินภายในฝัก ทำให้ฝักและเมล็ดลีบ ผลผลิตลดลง ปัจจุบันเกษตรกรมักใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด ซึ่งหากใช้ไม่ถูกวิธีอาจทำให้เกิดปัญหาสารตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม ส่งผลกระทบต่อเกษตรกร และผู้บริโภค (กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2554.)

มวนเพชฌฆาต (assassin bug) (Hemiptera: Reduviidae) เป็นมวนตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายหนอนศัตรูพืช สามารถอดอาหารได้เป็นเวลานานเมื่อไม่มีเหยื่อ Grundy,P.R. และ D.A. Maelzer (2002) กล่าวว่าตัวอ่อนมวนเพชฌฆาต, *Pristhesancus plagipennis*(Walker) สามารถกินหนอนเจาะสมอฝ้ายที่มีขนาดเล็ก - กลาง มากกว่า 160 ตัว/ 9-12 อาทิตย์/ มวน 1 ตัว สามารถเลี้ยงขยายปริมาณ และ นำไปปล่อยเพื่อควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในอัตรา 1 ตัว/ แถวยาว 1 เมตร Grundy (2007) รายงานว่ามวนเพชฌฆาต, *Pristhesancus plagipennis* (Walker) เป็นศัตรูธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพที่ใช้ควบคุมหนอน *Helicoverpa* และ *Creontiades* สำหรับในประเทศไทย รัตนาและคณะ (2548) รายงานว่ามวนเพชฌฆาตสกุล *Sycanus* ที่พบมากในประเทศไทยมี 3 สกุล คือ *Sycanus versicolor* Dohrn., *Sycanus collaris* Fabricius และ *Sycanus croceovittatus*

Dohrn. ซึ่ง สามารถพบได้ทั่วไป สำหรับ *Sycanus versicolor* Dohrn เป็นชนิดที่พบบ่อยและพบมากกว่าอีก 2 ชนิด การผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากเพื่อใช้เป็นชีวะภัณฑ์สามารถทำได้ง่ายและต้นทุนการผลิตต่ำ

จึงได้ทำการศึกษาอัตราการปล่อยมวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn เพื่อเป็นข้อมูลประกอบในการนำมวนเพชฌฆาตไปใช้ควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วในถั่วฝักขาวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูถั่วฝักยาวและเป็นแนวทางในการลดการใช้สารฆ่าแมลงในถั่วฝักยาวอีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงถั่วฝักยาว
2. มวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn
3. กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม ขนาด 10x14 เซนติเมตร
4. พู่กัน

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

1. ปล่อยมวนเพชฌฆาต อัตรา 500 ตัวต่อไร่
2. ปล่อยมวนเพชฌฆาต อัตรา 1000 ตัวต่อไร่
3. ปล่อยมวนเพชฌฆาต อัตรา 2,000 ตัวต่อไร่
4. ปล่อยมวนเพชฌฆาต อัตรา 3,000 ตัวต่อไร่
5. ไม่ปล่อยมวนเพชฌฆาต

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

ดำเนินการทดลองโดยปลูกถั่วฝักยาวขนาดแปลงย่อย 5x6 เมตร จำนวน 20 แปลงย่อย โดยเว้นระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1.5 เมตร ระยะแถว 75 เซนติเมตร ระยะระหว่างหลุม 50 เซนติเมตร เมื่อถั่วฝักยาวเริ่มติดดอกออกฝัก(ถั่วฝักยาวอายุประมาณ 40 วัน) สุ่มตรวจนับจำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในดอกและในฝักถั่วฝักยาว จำนวน 20 ดอก และ20 ฝัก เมื่อพบการระบาดของหนอนเจาะฝักถั่วลายจุด 5 เปอร์เซ็นต์ เริ่มปล่อยมวนเพชฌฆาต วัย 4 ตามกรรมวิธีที่กำหนด และตรวจนับหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดหลังจากปล่อยมวนเพชฌฆาตทุก 7 วัน นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ(%Efficacy) ตามวิธีการของ Henderson-Tilton โดยใช้สูตรในการคำนวณดังนี้

$$\%Efficacy = [1-(Ta.Cb/Ca.Tb)] \times 100$$

บันทึกผลการทดลอง

จำนวนดอกถูกทำลายจากหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดก่อนปล่อยมวนเพชฌฆาต และหลังปล่อยมวนมวนเพชฌฆาต 7 วัน

จำนวนแมลงศัตรูธรรมชาติอื่นที่พบทั้งก่อนและหลังการปล่อยมวนเพชฌฆาต

จำนวนหนอนในฝักที่ถูกทำลาย

น้ำหนักผลผลิต ในระยะส่งตลาด

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2565 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ แปลงเกษตรกร อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ดำเนินการทดสอบอัตราการปล่อยมวนเพชฌฆาตควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาวในแปลงถั่วฝักยาว ในอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี เมื่อถั่วฝักยาวเริ่มออกดอก ตรวจนับหนอนเจาะฝักถั่วลายจุด เมื่อพบการระบาดของหนอนเจาะฝักถั่วลายจุด 5 เปอร์เซ็นต์ เริ่มปล่อยมวนเพชฌฆาต วัย 4 อัตรา 500 1,000 2,000 และ 3,000 ตัวต่อไร่ จำนวน 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 14 วัน เปรียบเทียบกับการไม่ปล่อยมวนเพชฌฆาต ตรวจนับหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในดอกและฝัก ก่อนปล่อยมวนเพชฌฆาตและหลังจากปล่อยมวนเพชฌฆาตทุก 7 วัน

จำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในดอกถั่วฝักยาว

ก่อนการปล่อยมวนเพชฌฆาต ตรวจนับจำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุด พบการระบาดของหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในดอกเฉลี่ย 17.00-18.50 ตัวต่อ 20 ดอก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี

หลังปล่อยมวนเพชฌฆาตครั้งที่ 1 แล้ว 7 วัน จำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในดอกในกรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตลดลงทุกกรรมวิธี โดยพบหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดเฉลี่ย 8.00-14.75 ตัวต่อ 20 ดอก น้อยกว่ากรรมวิธีไม่ปล่อยมวนที่พบหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในดอก 18.75 ตัวต่อ 20 ดอก

หลังปล่อยมวนเพชฌฆาตครั้งที่ 1 แล้ว 14 วัน ในกรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตจำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในดอกลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยจำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในดอกในกรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตเฉลี่ย 1.25-4.75 ตัวต่อ 20 ดอก น้อยกว่ากรรมวิธีไม่ปล่อยมวนที่พบหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในดอก 8.75 ตัวต่อ 20 ดอก

หลังปล่อยมวนเพชฌฆาตครั้งที่ 2 แล้ว 7 วัน จำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในดอกในกรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตเฉลี่ย 0.75-3.75 ตัวต่อ 20 ดอก น้อยกว่ากรรมวิธีไม่ปล่อยมวนที่พบหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในดอก 7.75 ตัวต่อ 20 ดอก

หลังปล่อยมวนเพชฌฆาตครั้งที่ 2 แล้ว 14 วัน จำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในดอกในกรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตเฉลี่ย 0.55-3.25 ตัวต่อ 20 ดอก น้อยกว่ากรรมวิธีไม่ปล่อยมวนที่พบหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในดอก 6.75 ตัวต่อ 20 ดอก (Table 1)

จำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในฝักถั่วฝักยาว

ก่อนการปล่อยมวนเพชฌฆาต ตรวจนับจำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลาย พบการระบาดของหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในฝักเฉลี่ย 9.00-10.75 ตัวต่อ 20 ฝัก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี

หลังปล่อยมวนเพชฌฆาตครั้งที่ 1 แล้ว 7 วัน จำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในฝักในกรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตเฉลี่ย 3.50-9.25 ตัวต่อ 20 ฝัก น้อยกว่ากรรมวิธีไม่ปล่อยมวนที่พบหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในฝัก 23.50 ตัวต่อ 20 ฝัก

หลังปล่อยมวนเพชฌฆาตครั้งที่ 1 แล้ว 14 วัน จำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในฝักในกรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตเฉลี่ย 2.25-8.75 ตัวต่อ 20 ฝัก น้อยกว่ากรรมวิธีไม่ปล่อยมวนที่พบหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในฝัก 11.50 ตัวต่อ 20 ฝัก

หลังปล่อยมวนเพชฌฆาตครั้งที่ 2 แล้ว 7 วัน จำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในฝักในกรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตเฉลี่ย 0.25-2.00 ตัวต่อ 20 ฝัก น้อยกว่ากรรมวิธีไม่ปล่อยมวนที่พบหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในฝัก 6.75 ตัวต่อ 20 ฝัก

หลังปล่อยมวนเพชฌฆาตครั้งที่ 2 แล้ว 14 วัน จำนวนหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในฝักในกรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตเฉลี่ย 0.25-1.25 ตัวต่อ 20 ฝัก น้อยกว่ากรรมวิธีไม่ปล่อยมวนที่พบหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดที่พบในฝัก 8.00 ตัวต่อ 20 ฝัก (Table 3)

จากการศึกษาอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดของมวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn. ระยะต่างๆ ในปี 2565 พบว่า ตัวอ่อนของมวนเพชฌฆาตระยะที่ 2 3 4 และ 5 มีอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดเฉลี่ย 2.65 3.55 3.71 และ 4.69 ตัวต่อวัน ตามลำดับ ส่วนตัวเต็มวัยของมวนเพชฌฆาต สามารถกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดได้เฉลี่ย 6.10 ตัวต่อวันนั้น จะเห็นได้ว่าอัตราการปล่อยมวนเพชฌฆาตที่มากขึ้นจะสามารถลดปริมาณหนอนได้เร็วกว่าการปล่อยมวนเพชฌฆาตในปริมาณที่น้อย เนื่องจากมวนเพชฌฆาตปริมาณมากก็จะกินหนอนได้ปริมาณมากกว่านั่นเอง

จากการดำเนินการทดลองในปี 2566 และ 2567 พบว่าประสิทธิภาพการควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุด(% efficacy) จากการปล่อยมวนเพชฌฆาตในอัตราสูงจะมีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในดอกได้สูงและเร็วกว่าการปล่อยในอัตราต่ำ โดยการปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 3,000 ตัวต่อไร่จะมีประสิทธิภาพควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในดอก ได้ถึง 80.00 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 7-14 วัน แต่การปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 1,000-2,000 ตัวต่อไร่ จะมีประสิทธิภาพควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในดอก ได้เกิน 80.00 เปอร์เซ็นต์ นั้นต้องปล่อยมวนเพชฌฆาตถึง 2 ครั้ง

ผลผลิตถั่วฝักยาว

ผลผลิตถั่วฝักยาวระยะส่งตลาด พบว่า กรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 2,000 และ3,000 ตัวต่อไร่ ได้ผลผลิตมากที่สุด 12.18 และ12.55 กิโลกรัมต่อแปลงย่อย รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีปล่อย

มวนเพชฌฆาตอัตรา 1,000 ตัวต่อไร่ ได้ผลผลิต 11.30 กิโลกรัมต่อแปลงย่อย ส่วนกรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 500 ตัวต่อไร่ และกรรมวิธีไม่ปล่อยมวนเพชฌฆาตได้ผลผลิต 9.60 และ 8.90 กิโลกรัมต่อแปลงย่อย (Table 5)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เมื่อพบการระบาดของหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในดอกและฝัก ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ การปล่อยมวนเพชฌฆาตวัย 4 อัตรา 500 – 3,000 ตัวต่อไร่ สามารถลดปริมาณการระบาดของหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาวได้ดีกว่าการไม่ปล่อยมวนเพชฌฆาต โดยอัตราการปล่อยมวนเพชฌฆาต 2,000-3,000 ตัว ต่อไร่สามารถควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาวได้ดีและให้ผลผลิตสูงที่สุด

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2554. แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพมหานคร. 74 หน้า.

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์, ปิยรัตน์ เขียนมีสุข และวินัย รัชตปกรณ์ชัย. 2534. แมลงศัตรูผักตระกูลถั่ว. การอบรมหลักสูตร แมลง สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 6 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร 17-28 มิถุนายนย 2534. หน้า 33-40.

รัตนา นชะพงษ์ ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ พรรณเพ็ญ ชโยภาส สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม และ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์. 2548. อนุกรมวิธานมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae และการเก็บรักษา. หน้า 53-69. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2548 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2563. เอกสารวิชาการ ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช. กรมวิชาการเกษตร. บริษัทนิวธรรมดาการพิมพ์ (ประเทศไทย) จำกัด. 240 หน้า.

Grundy, P.R. 2007. Utilizing the assassin big, *Pristhesancus plagipennis* (Hemiptera: Reduviidae), as a biological control agent within an integrated pest management programme for *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) *Creontiades* spp. (Hemiptera: Miridae) in cotton (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก http//journals.cambridge.org. สืบค้น 8 มีนาคม 2550.

Grundy, P.R., and D.A. Maelzer. 2002. Augmentation of the assassin bug *Pristhesancus plagipennis* (Walker) (Hemiptera: Reduviidae) as a biological control agent for *Helicoverpa* spp. in cotton (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก http//www.blackwell-synergy.com. สืบค้น 24 กันยายน2550.

Table 1 Number of bean pod borers in yardlong bean flowers before and after release of assassin bug ,*Sycanus versicolor* Dohrn at Phanat Nikhom district Chonburi province. April- June 2024

Treatment	Number of bean pod borers /20 yardlong bean flowers				
	Before release	After 1st release		After 2st release	
		7 day	14 day	7 day	14 day
1. 500 assassin bugs/rai	18.50	14.75 c	4.75 b	3.75 b	3.25 c
2. 1,000 assassin bugs/rai	17.75	11.00 b	4.50 b	2.25 ab	2.00 bc
3. 2,000 assassin bugs/rai	17.00	8.25 ab	3.00 ab	1.00 a	1.00 ab
4. 3,000 assassin bugs/rai	17.00	8.00 a	1.25 a	0.75 a	0.50 a
5. control	17.75	18.75 d	8.75 c	7.75 c	6.75 d
CV(%)	**8.4**	**14.9**	**29.2**	**50.3**	**34.3**

Table 2 Percent efficacy after release of assassin bugs, *Sycanus versicolor* Dohrn for control bean pod borers in yardlong bean flowers at Phanat Nikhom district Chonburi province. April- June 2024

Treatment	Efficacy (%)			
	After 1st release		After 2st release	
	7 day	14 day	7 day	14 day
1. 500 assassin bugs/rai	24.52	47.92	53.57	53.80
2. 1,000 assassin bugs/rai	41.33	48.57	70.97	70.37
3. 2,000 assassin bugs/rai	54.06	64.20	86.53	84.53
4. 3,000 assassin bugs/rai	55.45	85.08	89.90	92.27
5. control	-	-	-	-

Table 3 Number of bean pod borers in yardlong bean pods before and after release of assassin bugs, *Sycanus versicolor* Dohrn at Phanat Nikhom district Chonburi province. April- June 2024

Treatment	Number of bean pod borers /20 yardlong bean pods				
	Before release	After 1st release		After 2st release	
		7 day	14 day	7 day	14 day
1. 500 assassin bugs/rai	9.00	8.50 b	8.75 bc	2.00 a	1.50 b
2. 1,000 assassin bugs/rai	9.25	9.50 b	7.50 bc	1.50 a	0.75 ab
3. 2,000 assassin bugs/rai	10.75	6.25 ab	5.25 ab	1.50 a	0.75 ab
4. 3,000 assassin bugs/rai	10.00	3.50 a	2.25 a	0.25 a	0.25 a
5. control	10.75	23.50 c	11.50 c	6.75 b	8.00 c
CV(%)	**20.9**	**28.6**	**37.7**	**48.0**	**38.0**

Table 4 Percent efficacy after release of assassin bugs, *Sycanus versicolor* Dohrn for control bean pod borers in yardlong bean pods at Phanat Nikhom district Chonburi province. April- June 2024

Treatment	Efficacy (%)			
	After 1st release		After 2st release	
	7 day	14 day	7 day	14 day
1. 500 assassin bugs/rai	56.80	9.12	64.61	77.60
2. 1,000 assassin bugs/rai	53.02	24.21	74.17	89.10
3. 2,000 assassin bugs/rai	73.40	54.35	77.78	90.63
4. 3,000 assassin bugs/rai	83.99	78.97	96.02	96.64
5. control	-	-	-	-

Table 5 Yield of yardlong bean after release of assassin bugs, *Sycanus versicolor* Dohrn for control bean pod borers at Phanat Nikhom district Chonburi province. April-June 2024

Treatment	Yield of yardlong bean (kg./plot)
1. 500 assassin bugs/rai	9.60 c
2. 1,000 assassin bugs/rai	11.30 b
3. 2,000 assassin bugs/rai	12.18 a
4. 3,000 assassin bugs/rai	12.55 a
5. control	8.90 c
CV(%)	**9.00**

ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในถั่วฝักยาวที่มีต่อมวนเพชฌฆาต
Study the effects of pesticides used in yardlong beans on assassin bugs.

สาทิพย์ มาลี ประภัสสร เชยคำแหง ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์
นันทนัช พินศรี ภัทรพร สรรพนุเคราะห์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

This study was conducted at the Plant Protection Research and Development Office laboratory from October 2023 to September 2024 to evaluate the effects of insecticides commonly used in yardlong bean cultivation on the predatory assassin bug (*Sycanus* spp.). The objective was to assess the compatibility of these insecticides with the natural enemy, providing scientific information to support its application in the biological control of pod borer (*Maruca vitrata*) in yardlong bean. Laboratory bioassays revealed that eleven insecticides were non-toxic to the assassin bug under the test conditions. These included beta-cyfluthrin 2.5% EC, tolfenpyrad 16% EC, deltamethrin 3% EC, fipronil 5% SC, etofenprox 20% EC, spinetoram 12% SC, chlorantraniliprole 5.17% SC, flubendiamide 20% WG, indoxacarb 15% EC, emamectin benzoate 1.92% EC, and dinotefuran 10% WP. The findings indicate that assassin bugs can be integrated with selected insecticides in an integrated pest management (IPM) program, offering an effective and environmentally friendly approach to sustainable pod borer control in yardlong bean production.

Keywords : Insectide, yard long bean, Assassin bug, Pod borer

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-03-03-67

บทคัดย่อ

การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในถั่วฝักยาวต่อมวนเพชฌฆาต ดำเนินการในห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2566 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2567 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดแมลงที่ใช้ในถั่วฝักยาวต่อมวนเพชฌฆาต เพื่อใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการนำมวนเพชฌฆาตมาใช้ในการควบคุมหนอนเจาะฝักลายจุดในแปลงปลูกถั่วฝักยาว ผลการทดลองพบว่า สารป้องกันกำจัดแมลงที่ไม่ก่อให้เกิดพิษต่อมวนเพชฌฆาตภายใต้เงื่อนไขการทดสอบในห้องปฏิบัติการ มีจำนวน 11 ชนิด ได้แก่ เบตาไซฟลูทริน (beta-cyfluthrin) 2.5% EC, โทลเฟนไพแรด (tolfenpyrad) 16% EC, เดลทาเมทริน (deltamethrin) 3% EC, ฟิโพรนิล (fipronil) 5% SC, อีโทเฟนพรอกซ์ (etofenprox) 20% EC, สไปนีโทแรม (spinetoram) 12% SC, คลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) 5.17% SC, ฟลูเบนไดอะไมด์ (flubendiamide) 20% WG, อินดอกซาคาร์บ (indoxacarb) 15% EC, อีมาเมกตินเบนโซเอต (emamectin benzoate) 1.92% EC และไดโนทีฟูแรน (dinotefuran) 10% WP ผลการศึกษาดังกล่าวสะท้อนให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการบูรณาการใช้มวนเพชฌฆาตร่วมกับสารป้องกันกำจัดแมลงบางชนิด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมหนอนเจาะฝักลายจุดในถั่วฝักยาวอย่างยั่งยืนและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

คำหลัก : สารฆ่าแมลง, ถั่วฝักยาว, มวนเพชฌฆาต, หนอนเจาะฝักลายจุด

คำนำ

ถั่วฝักยาว (*Vigna unguiculata* (L.) var sesquiedalis เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ แมลงศัตรูพืชเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้ผลผลิตถั่วฝักยาวลดลง ถั่วฝักยาวมีแมลงศัตรูหลายชนิด ได้แก่ หนอนแมลงวันเจาะต้นถั่ว หนอนเจาะฝักถั่วลายจุด หนอนผีเสื้อสีน้ำเงิน หนอนกระทู้หอม เพลี้ยอ่อนถั่วฝักยาว เพลี้ยไฟดอกถั่ว ไรขาวและไรแดง เกิดความเสียหายต่อผลผลิตอย่างโดยลดลงได้ถึง 20-25 % โดยศัตรูพืชเข้าทำลายในทุกระยะการเจริญเติบโตของถั่วฝักยาว แมลงศัตรูที่สำคัญและเป็นสาเหตุทำให้ผลผลิตถั่วฝักยาวลดลงมี 8 ชนิด คือ หนอนแมลงวันเจาะต้นถั่ว หนอนเจาะฝักถั่วลายจุด หนอนผีเสื้อสีน้ำเงิน หนอนกระทู้หอม เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ ไรขาว และไรแดง (กอบเกียรติ์และคณะ 2534)

หนอนเจาะฝักลายจุด เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของถั่วฝักยาวทำความเสียหายและมีผลกระทบต่อผลผลิต หนอนชนิดนี้เมื่อฟักออกจากไข่จะเจาะเข้าไปกัดกินภายในดอกอ่อน ต่อมาจะกัดส่วนของดอกและเกสรทำให้ดอกร่วง เมื่อหนอนโตขึ้นจะเจาะเข้าไปกัดกินภายในฝัก ส่วนที่เป็นเมล็ดอ่อนทำให้ฝักและเมล็ดลีบผลผลิตลดลงหนอนเจาะฝักชนิดนี้พบระบาดในพืชตระกูลถั่วทั่วไปในแหล่งปลูกผักที่สำคัญของประเทศ เช่น จังหวัดนครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี จะพบหนอนชนิดนี้ระบาดอย่างรุนแรงในช่วงฤดูแล้งระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงมีนาคมของทุกปี

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ตัวเต็มวัยของหนอนเจาะฝักลายจุดเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็ก กางปีกเต็มที่วัดได้ 2.5 ซม. ปีกคู่หน้าสีน้ำตาลดำ ตรงกลางปีกคู่หลังเป็นแผ่นใสมากกว่าปีกคู่หน้า วางไข่เป็นฟองเดี่ยวหรือซ้อนกัน 2-3 ฟอง ตามกลีบดอก ลักษณะของไข่เป็นเกล็ดขาว ขนาดเล็กประมาณ 0.5-0.8 มม. มองด้วยตาเปล่าเห็นได้ค่อนข้างยาก ระยะไข่ประมาณ 3 วัน หนอนเมื่อฟักออกจากไข่แล้วจะแทรกตัวเข้าไประหว่างรอยต่อของกลีบดอก และเข้าไปอาศัยกินเกสร หนอนระยะแรกมีขนาดประมาณ 1.3 มม.ลำตัวมีสีขาวนวล คอด้านบนมีแผ่นแข็งสีน้ำตาลดำสังเกตง่าย หนอนเจริญเติบโตโดยกัดกินเกสรภายในดอก ในระยะที่หนอนทำลายอย่างรุนแรงจะมีขนาดประมาณ 5 มม.ขึ้นไป ลักษณะการทำลายจะกัดก้านเกสรและเคลื่อนย้ายจากดอกหนึ่งไปยังอีกดอกหนึ่ง หนอนเจริญเต็มที่มีขนาด 1.5-1.7 ซม.จะพบการทำลายโดยกัดกินและเจาะรูเข้าไปในฝักถั่ว ก่อนเข้าดักแด้หนอนจะเคลื่อนย้ายจากฝักหนึ่งไปยังอีกฝักหนึ่ง พบหนอนมากกว่าหนึ่งตัวในฝักเดียวกัน ดักแด้จะพบตามใบแห้ง หรือซอกกลีบดอกแห้งที่ติดตามต้นและฝัก ระยะดักแด้ 7 วัน ตัวเต็มวัยมีลักษณะของลำตัวเป็นลายประสีน้ำตาลเข้มลักษณะเช่นนี้จึงเรียกว่าหนอนเจาะฝักลายจุด

<u>การป้องกันกำจัด</u>

1. วิธีกล ก่อนปลูกพืชประมาณ 2 สัปดาห์ ควรทำการไถพรวน และตากดินเพื่อกำจัดดักแด้ของแมลงศัตรูที่อาจหลงเหลืออยู่ในแปลงปลูก

2. การใช้สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพป้องกันกำจัด เช่น เบต้าไซฟลูทริน 2.5% อีซี หรือเดลทาเมทริน 3% อีซี อัตรา 30 และ 20 มล./น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ

มวนเพชฌฆาต (assassin bug) (Hemiptera: Reduviidae) เป็นมวนตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายหนอนศัตรูพืช สามารถอดอาหารได้เป็นเวลานานเมื่อไม่มีเหยื่อ Grundy,P.R. และ D.A. Maelzer (2002) กล่าวว่าตัวอ่อนมวนเพชฌฆาต, *Pristhesancus plagipennis*(Walker) สามารถกินหนอนเจาะสมอฝ้ายที่มีขนาดเล็ก - กลาง มากกว่า 160 ตัว/ 9-12 สัปดาห์/ มวน 1 ตัว สามารถเลี้ยงขยายปริมาณ และ นำไปปล่อยเพื่อควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในอัตรา 1 ตัว/ แถวยาว 1 เมตร Grundy (2007) รายงานว่ามวนเพชฌฆาต, *Pristhesancus plagipennis* (Walker) เป็นศัตรูธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพที่ใช้ควบคุมหนอน *Helicoverpa* และ *Creontiades* สำหรับในประเทศไทย รัตนาและคณะ (2548) รายงานว่ามวนเพชฌฆาตสกุล *Sycanus* ที่พบมากในประเทศไทยมี 3 สกุล คือ *Sycanus versicolor* Dohrn., *Sycanus collaris* Fabricius *และ Sycanus croceovittatus* Dohrn. ซึ่ง สามารถพบได้ทั่วไป สำหรับ *Sycanus versicolor* Dohrn เป็นชนิดที่พบบ่อยและพบมากกว่าอีก 2 ชนิด การผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากเพื่อใช้เป็นชีวะภัณฑ์สามารถทำได้ง่ายและต้นทุนการผลิตต่ำ

จากการทดลองประสิทธิภาพของมวนเพชฌฆาตในการการป้องกันกำจัดหนอนเจาะฝัก ในปี 2566 พบว่าการปล่อยมวนเพชฌฆาต อัตรา 2,000-3,000 ตัวต่อไร่ สามารถควบคุมการระบาดของหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาวได้ดีและให้ผลผลิตสูงที่สุด

ในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบถึงผลของสารกำจัดแมลงที่ใช้ในถั่วฝักยาวต่อมวนเพชฌฆาต เพื่อนำไปประยุกต์ใช้การป้องกันกำจัดหนอนเจาะฝักถั่ว เพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 สารฆ่าแมลง จำนวน 12 ชนิด ได้แก่

- เบต้าไซฟลูทริน(betacyfluthrin)2.5%EC
- โทลเฟนไพแรด(tolfenpyrad) 16%EC
- เดลทาเมทริน(deltamethrin) 3%EC
- ฟิโพรนิล(fipronil) 5%SC
- ไซเพอร์มีทริน(cypermethrin) 35%EC
- อีโทเฟนพรอกซ์(etofenprox) 20%EC
- สไปนีโทแรม(spinetoram) 12%SC
- คลอแรนทรานิลิโพรล(chlorantraniliprole) 5.17%SC
- ฟลูเบนไดอะไมด์(flubendiamide) 20%WG
- อินดอกซาคาร์บ(indoxacarb) 15%EC
- อีมาเมกตินเบนโซเอต(emamectin benzoate) 1.92%EC
- ไดโนทีฟูแรน(dinotefuran) 10%WP

2. กล่องเลี้ยงแมลง

3. แก้วพลาสติก

4. มวนเพชฌฆาต

วิธีการ

ทดสอบผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 13 ชนิด ที่ใช้ในถั่วฝักยาวกับตัวอ่อนมวนเพชฌฆาตระยะที่ 4 แบบ dry film method จำนวน 10 ซ้ำ โดยใช้มวนเพชฌฆาตจำนวน 10 ตัว/ซ้ำ หยดสารฆ่าแมลง ผสมน้ำตามอัตราที่แนะนำของกรมวิชาการเกษตร ในแก้วพาสติกทดลอง เอียงแก้วไปมาให้สารสัมผัสพื้นที่ด้านในแก้วให้ทั่ว แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนาน 2 และ 24 ชั่วโมง ใส่มวนเพชฌฆาตระยะตัวอ่อนวัย 4 จำนวน 10 ตัว/แก้ว พร้อมใส่ดักแด้หนอนนกเพื่อเป็นอาหารแก่มวนเพชฌฆาต และตรวจนับมวนเพชฌฆาตที่ตายที่ 24 และ 48 ชั่วโมง และนำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์โดยจัดระดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

จำนวนมวนเพชฌฆาตที่ตายในแต่ละซ้ำหลังการทดสอบ

จัดระดับความเป็นพิษของสารฯ ตามวิธีการจัดลำดับความเป็นพิษของ IOBC ดังนี้

ไม่มีพิษ (Harmless) มีเปอร์เซ็นต์การตาย < 30%
มีพิษน้อย (Slightly Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 30-79%
มีพิษปานกลาง (Moderately Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 80-99%
มีพิษร้ายแรง (Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย > 99%

การบันทึกข้อมูล

ตรวจนับจำนวนมวนพิฆาตและมวนเพชฌฆาตที่ที่ตายหลังทดลอง 48 ชั่วโมง

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2566 สิ้นสุด กันยายน 2567 (รวม 1 ปี)

สถานที่ กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทดสอบผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 13 ชนิด ที่ใช้ในถั่วฝักยาวกับตัวอ่อนมวนเพชฌฆาตระยะที่ 4 แบบ dry film method จำนวน 10 ซ้ำ โดยใช้มวนเพชฌฆาตจำนวน 10 ตัว/ซ้ำ หยดสารฆ่าแมลง ในแก้วพาสติกทดลอง โดยผสมสารตามอัตราที่แนะนำให้ใช้ในถั่วฝักยาว ดังนี้

สารฆ่าแมลงเบต้าไซฟลูทริน(betacyfluthrin) 2.5%EC อัตรา 20 มล/น้ำ 20 ลิตร
สารฆ่าแมลงโทลเฟนไพแรด(tolfenpyrad) 16%EC อัตรา 20 มล/น้ำ 20 ลิตร
สารฆ่าแมลงเดลทาเมทริน(deltamethrin) 3%EC อัตรา 20 มล/น้ำ 20 ลิตร
สารฆ่าแมลงฟิโพรนิล(fipronil) 5%SC อัตรา 20 มล/น้ำ 20 ลิตร
สารฆ่าแมลงไซเพอร์มีทริน(cypermethrin) 35%EC อัตรา 10 มล/น้ำ 20 ลิตร
สารฆ่าแมลงอีโทเฟนพรอกซ์(etofenprox) 20%EC อัตรา 40 มล/น้ำ 20 ลิตร
สารฆ่าแมลงสไปนีโทแรม(spinetoram) 12%SC อัตรา20 มล/น้ำ 20 ลิตร
สารฆ่าแมลงคลอแรนทรานิลิโพรล(chlorantraniliprole) 5.17%SC อัตรา 20มล/น้ำ 20 ลิตร
สารฆ่าแมลงฟลูเบนไดอะไมด์(flubendiamide) 20%WG อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
สารฆ่าแมลงอินดอกซาคาร์บ(indoxacarb) 15%EC อัตรา 15มล/น้ำ 20 ลิตร
สารฆ่าแมลงอีมาเมกตินเบนโซเอต(emamectin benzoate) 1.92%EC อัตรา 20มล/น้ำ 20 ลิตร
สารฆ่าแมลงไดโนทีฟูแรน(dinotefuran) 10%wp อัตรา 20 มล/น้ำ 20 ลิตร

เอียงแก้วไปมาให้สารสัมผัสพื้นที่ด้านในแก้วให้ทั่ว แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนาน 2 และ 24 ชั่วโมง ใส่มวนเพชฌฆาตระยะตัวอ่อนวัย 4 จำนวน 10 ตัว/แก้ว พร้อมใส่ดักแด้หนอนนกเพื่อเป็นอาหารแก่มวนเพชฌฆาต และตรวจนับมวนเพชฌฆาตที่ตายหลังทดสอบ 48 ชั่วโมง พบว่า หลังเคลือบสารทดสอบนาน 2 ชั่วโมงแล้วปล่อยมวนเพชฌฆาต และตรวจนับมวนเพชฌฆาตที่ตายหลังทดสอบ 48 ชั่วโมง พบว่า อัตราการตายของมวนเพชฌฆาตจากสารฆ่าแมลงเบต้าไซฟลูทริน(betacyfluthrin) 2.5%EC จำนวน 0.00 เปอร์เซ็นต์ โทลเฟนไพแรด(tolfenpyrad) 16%EC จำนวน 0.00 เปอร์เซ็นต์

คลอแรนทรานิลิโพรล(chlorantraniliprole) 5.17%SC จำนวน 1 เปอร์เซ็นต์ ฟิโพรนิล(fipronil) 5%SC จำนวน 2 เปอร์เซ็นต์ สไปนีโทแรม(spinetoram) 12%SC จำนวน 2 เปอร์เซ็นต์ เดลทาเมทริน (deltamethrin) 3%EC จำนวน 3 เปอร์เซ็นต์ อินดอกซาคาร์บ(indoxacarb) 15%EC จำนวน 3 เปอร์เซ็นต์ อีมาเมกตินเบนโซเอต(emamectin benzoate) 1.92%EC จำนวน 5 เปอร์เซ็นต์ ฟลูเบนไดอะไมด์(flubendiamide) 20%WG จำนวน 8 เปอร์เซ็นต์ อีโทเฟนพรอกซ์(etofenprox) 20%EC จำนวน 12 เปอร์เซ็นต์ ไดโนทีฟูแรน(dinotefuran) 10%wp จำนวน 16 เปอร์เซ็นต์ และไซเพอร์มีทริน(cypermethrin) 35%EC จำนวน 33 เปอร์เซ็นต์ (Table 1)

หลังเคลือบสารทดสอบนาน 24 ชั่วโมงแล้วปล่อยมวนเพชฌฆาต และและตรวจนับมวนเพชฌฆาตที่ตายหลังทดสอบ 48 ชั่วโมง พบว่า สารฆ่าแมลงที่นำมาทดสอบ ทั้ง 12 ชนิด ไม่มีพิษต่อมวนเพชฌฆาต โดยมีอัตราการตายของมวนเพชฌฆาตในสารฆ่าแมลงเบต้าไซฟลูทริน (betacyfluthrin) 2.5%EC จำนวน 0.00เปอร์เซ็นต์ โทลเฟนไพแรด(tolfenpyrad) 16%EC จำนวน 0.00เปอร์เซ็นต์ คลอแรนทรานิลิโพรล(chlorantraniliprole) 5.17%SC จำนวน 1 เปอร์เซ็นต์ ฟิโพรนิล(fipronil) 5%SC จำนวน 0 เปอร์เซ็นต์ สไปนีโทแรม(spinetoram) 12%SC จำนวน 0 เปอร์เซ็นต์ เดลทาเมทริน(deltamethrin) 3%EC จำนวน 0 เปอร์เซ็นต์ อินดอกซาคาร์บ(indoxacarb) 15%EC จำนวน 1 เปอร์เซ็นต์ อีมาเมกตินเบนโซเอต(emamectin benzoate) 1.92%EC จำนวน 1 เปอร์เซ็นต์ ฟลูเบนไดอะไมด์(flubendiamide) 20%WG จำนวน 0 เปอร์เซ็นต์ อีโทเฟนพรอกซ์(etofenprox) 20%EC จำนวน 8 เปอร์เซ็นต์ ไดโนทีฟูแรน(dinotefuran) 10%WP จำนวน 10 เปอร์เซ็นต์ และ ไซเพอร์มีทริน(cypermethrin) 35%EC จำนวน 20 เปอร์เซ็นต์ (Table 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดแมลงที่ใช้ในถั่วฝักยาวจำนวน 12 ชนิด ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรต่อมวนเพชฌฆาต พบว่า สารป้องกันกำจัดแมลง 11 ชนิด ได้แก่ เบต้าไซฟลูทริน(betacyfluthrin)2.5%EC โทลเฟนไพแรด(tolfenpyrad) 16%EC เดลทาเมทริน (deltamethrin) 3%EC ฟิโพรนิล(fipronil) 5%SC อีโทเฟนพรอกซ์(etofenprox) 20%EC สไปนีโทแรม(spinetoram) 12%SC คลอแรนทรานิลิโพรล(chlorantraniliprole) 5.17%SC ฟลูเบนไดอะไมด์ (flubendiamide) 20%WG อินดอกซาคาร์บ(indoxacarb) 15%EC อีมาเมกตินเบนโซเอต (emamectin benzoate) 1.92%EC และไดโนทีฟูแรน(dinotefuran) 10%WP ไม่มีพิษกับมวนเพชฌฆาต ส่วนสารฆ่าแมลงไซเพอร์มีทริน 35%EC มีพิษน้อยต่อมวนเพชฌฆาต

แสดงให้เห็นว่าสารป้องกันกำจัดแมลงที่ใช้ในถั่วฝักยาวนั้นมีจำนวนถึง 11 ชนิดที่ไม่มีพิษต่อมวนเพชฌฆาต ดังนั้นการใช้มวนเพชฌฆาตควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วสามารถใช้ร่วมกับการใช้สารฆ่าแมลงโดยเลือกสารฆ่าแมลงที่ไม่มีผลกระทบกับมวนเพชฌฆาต หรืออาจใช้การปล่อยมวนเพชฌฆาตหลังการใช้สารฆ่าแมลง 1-2 วัน จะลดผลการทบของสารฆ่าแมลงต่อมวนเพชฌฆาตลงได้อีก

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์, ปิยรัตน์ เขียนมีสุข และวินัย รัชตปกรณ์ชัย. 2534. แมลงศัตรูผักตระกูลถั่ว. การอบรมหลักสูตร แมลง สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 6 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร 17-28 มิถุนายนย 2534. หน้า 33-40.

รัตนา นชะพงษ์ ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ พรรณเพ็ญ ชโยภาส สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม และ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์. 2548. อนุกรมวิธานมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae และการเก็บรักษา. หน้า 53-69. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2548 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

รัตนา นชะพงษ์. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้แมลงห้ำ. หน้า 22 - 35 *ใน*: เอกสารประกอบการอบรม “แมลง-สัตว์ศัตรูพืช และการป้องกันกำจัด” ครั้งที่ 11, 19-30 มีนาคม 2544. กองกีฏและสัตววิทยา,กรมวิชาการเกษตร,กรุงเทพฯ.

Grundy, P.R. 2007. Utilizing the assassin big, *Pristhesancus plagipennis* (Hemiptera: Reduviidae), as a biological control agent within an integrated pest management programme for *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) *Creontiades* spp. (Hemiptera: Miridae) in cotton (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก http//journals.cambridge.org. สืบค้น 8 มีนาคม 2550.

Grundy, P.R., and D.A. Maelzer. 2002. Augmentation of the assassin bug *Pristhesancus plagipennis* (Walker) (Hemiptera: Reduviidae) as a biological control agent for *Helicoverpa* spp. in cotton (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก http//www.blackwell-synergy.com. สืบค้น 24 กันยายน 2550.

Table 1 Percent mortality of assassin bug *(Sycanus versicolor)*, after 2 hours insecticide application in laboratory of Plant Protection Research and Development office, 2024

insecticide	%mortality	IOBC category[1]
betacyfluthrin 2.5%EC	0	1
tolfenpyrad 16%EC	0	1
chlorantraniliprole 5.17%SC	1	1
fipronil 5%SC	2	1
spinetoram 12%SC	2	1
deltamethrin 3%EC	3	1
indoxacarb 15%EC	3	1
emamectin benzoate 1.92%EC	5	1
flubendiamid) 20%WG	8	1
etofenprox 20%EC	12	1
dinotefuran 10%wp	16	1
cypermethrin 35%EC	33	2

[1/]1 = harmless (<30%), 2 = slightly harmful (30-79%), 3 = moderately harmful (80-99%), 4 = harmful (>99%) Hassan *et al.* (1994).

Table 2 Percent mortality of assassin bug *(Sycanus versicolor)*, after 24 hours insecticide application in laboratory of Plant Protection Research and Development office, 2024.

insecticide	%mortality	IOBC category[1]
betacyfluthrin 2.5%EC	0	1
tolfenpyrad 16%EC	0	1
chlorantraniliprole 5.17%SC	1	1
fipronil 5%SC	0	1
spinetoram 12%SC	0	1
deltamethrin 3%EC	0	1
indoxacarb 15%EC	1	1
emamectin benzoate 1.92%EC	1	1
flubendiamid 20%WG	0	1
etofenprox 20%EC	8	1
dinotefuran 10%wp	10	1
cypermethrin 35%EC	20	2

[1/]1 = harmless (<30%), 2 = slightly harmful (30-79%), 3 = moderately harmful (80-99%), 4 = harmful (>99%) Hassan *et al.* (1994).

ศึกษาอัตราการใช้และวิธีการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucas) เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลีในสภาพแปลงปลูกเกษตรกร

The efficiency of Ring-legged Earwigs released for controlling aphids in Chinese cabbage

นันทนัช พินศรี ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ สาทิพย์ มาลี
ปาริชาติ จำรัสศรี อัจฉรียา นิจจรัลกุล
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Study the application rate and release method of the ring-legged insect *Euborellia annulipes* (Lucas) to control aphids on Chinese cabbage in farmers' fields. The experiment was conducted between January and February 2024 to study the potential, efficiency, and methods of using ring-legged earwigs insect control to eliminate aphids on Chinese cabbage. This study was performed in randomized complete block design (RCB) with 4 replications of 5 treatments. Five treatments were indicated as followed: 1. releasing ring-legged earwigs 250 insect per rai 2. releasing ring-legged earwigs 500 insect per rai 3. releasing ring-legged earwigs 750 insect per rai 4. releasing ring-legged earwigs 1,000 insect per rai 5. Non-releasing insect used as a control. The results show that the method of releasing ring-legged earwigs 500, 750, and 1,000 insect per rai found fewer aphids and was significantly different from the method that did not releasing ring-legged earwigs were effective for controlling. By releasing ring-legged earwigs should be released near the Chinese cabbage plants during the evening hours

Keywords : Ring-legged earwig, aphids, Chinese cabbage

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-04-03-66

บทคัดย่อ

ศึกษาอัตราการใช้และวิธีการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucas) เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลีในสภาพแปลงปลูกเกษตรกร ดำเนินการระหว่างเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2567 เพื่อศึกษาศักยภาพ ประสิทธิภาพ และวิธีการใช้แมลงหางหนีบขาวงแหวนควบคุมกำจัดเพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลี วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250, 500, 750 และ 1,000 ตัวต่อไร่ และ กรรมวิธีไม่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน พบว่า กรรมวิธีปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 500 750 และ 1,000 ตัวต่อไร่ ทุก 7 วัน ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนเมื่อเริ่มพบเพลี้ยอ่อนเข้าทำลาย ตามการระบาดของเพลี้ยอ่อน พบจำนวนเพลี้ยอ่อนน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน และมีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัด วิธีการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน ควรปล่อยใกล้กับต้นผักกาดขาวปลีในช่วงเวลาเย็น

คำหลัก : แมลงหางหนีบขาวงแหวน, เพลี้ยอ่อน, ผักกาดขาวปลี

บทนำ

ประเทศไทยมีแหล่งปลูกผักกาดขาวปลีที่มีความหลากหลายทั่วทั้งประเทศ ปัญหาที่มาพร้อมกับการปลูกผัก คือ แมลงศัตรูพืช เป็นปัญหาที่สำคัญ เพราะเมื่อมีการระบาดสามารถเข้าทำลายได้อย่างรวดเร็วและรุนแรง ทำให้ผลผลิตเสียหาย อีกทั้งยังสามารถพัฒนาความต้านทานสารฆ่าแมลงได้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพลี้ยอ่อนเพราะนอกจากทำลายพืชให้เกิดความเสียหายแล้วยังพบว่าเพลี้ยอ่อนสามารถเป็นพาหะนำโรคไวรัสได้อีกด้วย แต่ส่วนใหญ่เกษตรกรจะเลือกใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด ซึ่งสามารถลดประชากรของแมลงศัตรูพืชได้ระยะสั้นเท่านั้น เนื่องมาจากเพลี้ยอ่อนมีวงจรชีวิตที่สั้นสามารถปรับตัวต้านทานต่อสารเคมีได้อย่างรวดเร็ว เพลี้ยอ่อนก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชตระกูลกะหล่ำทั้งทางตรงและทางอ้อม ในทางตรงเพลี้ยอ่อนทำลายพืชได้ทุกส่วน ส่วนมากเป็นจุดเจริญของพืช ลำต้น ใบ ช่อดอก ผล ด้วยการดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณยอดอ่อน ใบอ่อน และดอก ในทางอ้อมนั้นเมื่อเพลี้ยอ่อนดูดน้ำเลี้ยงจากพืชแล้วขับถ่ายออกมาเป็นมูลของเพลี้ยอ่อนเป็นน้ำหวาน (honey dew) ปกคลุมบนใบพืชเป็นสาเหตุของโรคราดำ (sooty mold) ส่งผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช (Ruktikanga *et.al*., 2012) และยังเป็นพาหะนำโรคไวรัสได้ (Damiri *et al*., 2013)

การใช้วิธีการควบคุมที่จะจัดการกับศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืนนั้น คือ วิธีการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี เป็นทางเลือกที่สำคัญวิธีการหนึ่งในการจัดการศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน แมลงหางหนีบเป็นแมลงห้ำ (Predators) ชนิดหนึ่งที่ดำรงชีวิตอยู่อย่างอิสระ ไม่ต้องอาศัยอยู่ภายในเหยื่อ โดยทั่วไปตัวห้ำจะกินเหยื่อได้หลายชนิดและสามารถกินได้ทุกวัย แมลงห้ำส่วนมากจะกินเหยื่อในระยะตัวอ่อนเป็นจำนวนมาก (บรรพต, 2525) แมลงหางหนีบอยู่ในอันดับ Dermaptera พบมากกว่า 2,000 ชนิด มีลำตัวค่อนข้างแบน และยาวรี ลักษณะที่เด่นชัดคือ มีแพนหางเป็นรูปคีมใช้

สำหรับการจับเหยื่อ เพื่อการป้องกันตัว สร้างรัง และช่วยในการผสมพันธุ์ อาจะพบแมลงหางหนีบได้ทั้งประเภทที่มีปีกและไม่มีปีก (สมชัยและคณะ, 2561)

แมลงหางหนีบขาวงแหวน (Ring-legged earwigs) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Euborellia annulipes* (Lucas) มีพฤติกรรมการทำลายเหยื่อ แมลงหางหนีบมีนิสัยว่องไว เข้าทำลายเหยื่อได้ดีโดยใช้แพนหางหนีบเหยื่อจนตาย จากนั้นจะกัดกินเหยื่อเป็นอาหารแต่ในกรณีที่เหยื่อมีขนาดเล็ก เช่น กลุ่มไข่ผีเสื้อหนอนกออ้อย หรือเพลี้ยอ่อน จะทำการกัดกินโดยตรง ไม่ใช้แพนหางหนีบเหยื่อ และมีประสิทธิภาพในการกินเพลี้ยอ่อน โดยสามารถกินเพลี้ยอ่อนได้ตั้งแต่วัยที่ 2 ไปจนถึงตัวเต็มวัย (นันทนัชและคณะ, 2567)

การศึกษานี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาหาประสิทธิภาพ อัตราการใช้แมลงหางหนีบขาวงแหวนในสภาพแปลงปลูกเกษตรกร ช่วงเวลาที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีทั้งปริมาณและคุณภาพ รวมทั้งต้องปลอดภัยต่อผู้ใช้และผู้บริโภคไม่มีสารพิษตกค้าง เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งไม่ก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม

วิธีการดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. กล่องเลี้ยงแมลงขนาดกว้าง 18 เซนติเมตร ยาว 28 ซนติเมตร.และสูง 7.5 เซนติเม
2. แกลบ
3. อาหารแมว
4. ขวดน้ำ
5. ฟาง
6. ตาข่ายคลุมแปลง
7. เมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลี
8. ป้ายปักแปลง

วิธีการ

ศึกษาอัตราการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนในสภาพแปลงปลูกผักของเกษตรกร

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 ตัว/ไร่

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 500 ตัว/ไร่

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 750 ตัว/ไร่

กรรมวิธีที่ 4 ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 1,000 ตัว/ไร่

กรรมวิธีที่ 5 ไม่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน

<u>วิธีการปฏิบัติการทดลอง</u>

โดยใช้แปลงย่อยขนาด 1.2X 5.0 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงประมาณ 50 เซนติเมตร และระยะห่างระหว่างต้นที่ 30 เซนติเมตร ระยะระหว่างแปลงย่อย 1.0 เมตร เมื่อผักกาดขาวปลีเริ่มห่อหัว (ผักกาดขาวปลีอายุประมาณ 20 วัน) สุ่มตรวจนับประชากรเพลี้ยอ่อน โดยสุ่มจำนวน 20 ต้นต่อหนึ่งแปลงย่อย หากพบการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนจึงเริ่มทำการปล่อยแมลงหางหนีบขาวแหวน โดยเลือกแมลงหางหนีบตัวเต็มวัย นำไปปล่อยตามกรรมวิธีที่กำหนด โดยวิธีการปล่อยแมลงหางหนีบดัดแปลงวิธีการที่ใช้การปล่อยในไร่อ้อยของณัฐกฤตและสุพจน์, 2550 คือ ควรปล่อยใกล้ๆ ต้นผักกาดขาวปลี เพื่อป้องกันความร้อนและให้แมลงหางหนีบปรับตัวในสภาพไร่ได้ก่อน เป็นเทคนิคการปล่อยที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด บันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อนในสัปดาห์แรกก่อนปล่อยแมลงหางหนีบและหลังการปล่อยแมลงหางหนีบไปแล้วจนเก็บเกี่ยวผลผลิต สำรวจการระบาดทุกๆ 7 วัน ถ้าพบการระบาดเกิน 10 เปอร์เซ็นต์ทำการปล่อยซ้ำ

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- ตรวจนับจำนวนเพลี้ยอ่อนที่พบก่อนและหลังการปล่อยแมลงหางหนีบ
- จำนวนแมลงหางหนีบที่พบแปลงหลังการปล่อยแมลงหางหนีบ
- บันทึกข้อมูลน้ำหนักผลผลิต

<u>การวิเคราะห์ผล</u>

- นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (% Efficacy) ตามวิธีการของ Henderson-Tilton (Henderson and Tilton, 1955) โดยใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

$$\% \text{ Efficacy} = [1 - (Ta \cdot Cb / Ca \cdot Tb)] \times 100$$

โดยที่ Ta = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นสาร

Tb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นสาร

Ca = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร

Cb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร

- นำข้อมูลเพลี้ยอ่อนที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ
- กรณีข้อมูลจำนวนหนอนก่อนการพ่นสารไม่แตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance
- กรณีข้อมูลจำนวนหนอนก่อนการพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Covariance เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่กรรมวิธีโดยวิธี DMRT มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565 – กันยายน 2567

สถานที่ - ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- แปลงปลูกผักกาดขาวปลี จ. กาญจนบุรี จ.ลพบุรี

ผลและวิจารณ์การทดลอง

แปลงที่ 1 แปลงผักกาดขาวปลี ตำบลตะคร้ำเอน อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี

การทดสอบอัตราการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนในปลูกผักกาดขาวปลีของเกษตรกร แปลงที่ 1 ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม พ.ศ. 2567 (Table 1) ได้ดำเนินการทดสอบอัตราการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนในสภาพแปลงผักกาดขาวปลีของเกษตรกร เมื่อผักกาดขาวปลีอายุประมาณ 19 วัน ตรวจนับจำนวนเพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลีพบการระบาดของเพลี้ยอ่อน จึงทำการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน

ก่อนการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนพบเพลี้ยอ่อนในกรรมวิธีต่างๆ มีค่าเฉลี่ย 18.25-19.53 ตัวต่อต้น ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี

หลังการปล่อยครั้งที่ 1 กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 500 750 และ 1,000 ตัวต่อไร่ พบจำนวนเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 18.02 13.13 17.48 และ 12.26 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันระหว่างกรรมวิธี แต่พบเพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลีน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ปล่อย แมลงหางหนีบขาวงแหวนพบเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 39.96 ตัวต่อต้น

หลังการปล่อยครั้งที่ 2 กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 500 750 และ 1,000 ตัวต่อไร่ พบจำนวนเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 20.66 25.40 และ 18.30 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 ตัวต่อไร่ และกรรมวิธีไม่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน พบเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 53.28 และ 70.77 ตัวต่อต้น ตามลำดับ

หลังการปล่อยครั้งที่ 3 กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 500 750 และ 1,000 ตัวต่อไร่ พบเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 28.83 27.29 และ 21.37 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนพบเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 93.66 ตัวต่อต้น และไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 ตัวต่อไร่ พบเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 62.30 ตัวต่อต้น

จากการใช้สูตร Henderson and Tilton, 1995 (Table 3) เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด หลังการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนครั้งที่ 1 กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 750 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ 73.39 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 500 1,000 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ 72.98 71.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพเท่ากับ 24.86 เปอร์เซ็นต์

หลังการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนครั้งที่ 2 กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ 53.29 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 500 750 และ 1,000 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ 43.11 42.02 และ 36.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

หลังการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนครั้งที่ 3 กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 750 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ 36.23 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 500 และ 1,000 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ 30.14 25.36 และ 29.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

จากการเก็บผลผลิตเปรียบเทียบน้ำหนักผักกาดขาวปลีในระยะส่งตลาด (Table 5) พบว่าทุกกรรมวิธีมีน้ำหนักผลผลิตไม่แตกต่างกัน โดยในกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 500 ตัวต่อไร่ ได้น้ำหนักผลผลิตผักกาดขาวปลีเฉลี่ย 6.60 กิโลกรัมต่อตารางเมตรสูงที่สุด และกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 750 และ 1,000 ตัวต่อไร่ ได้น้ำหนักผลผลิตผักกาดขาวปลีเฉลี่ย 5.72 6.03 และ 6.28 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ในส่วนกรรมวิธีที่ไม่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนได้น้ำหนักผลผลิตผักกาดขาวปลีเฉลี่ย 5.99 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ซึ่งในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

แปลงที่ 2 ตำบลซับจำปา อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี

การทดสอบอัตราการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนในปลูกผักกาดขาวปลีของเกษตรกร แปลงที่ 2 ระหว่างระหว่างเดือนธันวาคม 2567-มกราคม 2568 (Table 2) ได้ดำเนินการทดสอบอัตราการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนในสภาพแปลงผักกาดขาวปลีของเกษตรกร เมื่อผักกาดขาวปลีอายุประมาณ 18 วัน ตรวจนับจำนวนเพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลีพบการระบาดของเพลี้ยอ่อน จึงทำการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน

ก่อนการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนพบเพลี้ยอ่อนในกรรมวิธีต่างๆ มีค่าเฉลี่ย 117.50-222.25 ตัวต่อต้น ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี

หลังการปล่อยครั้งที่ 1 กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 500 750 และ 1,000 ตัวต่อไร่ พบจำนวนเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 924.25 788.75 702.00 และ 508.25 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันระหว่างกรรมวิธี แต่พบเพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลีน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน พบเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 1,126.25 ตัวต่อต้น

หลังการปล่อยครั้งที่ 2 กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 1,000 ตัวต่อไร่ พบเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 2,464.80 ตัวต่อต้นซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 ตัวต่อไร่และกรรมวิธีไม่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน พบเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 6,028.00 และ 8,745.50 ตัวต่อต้นตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 500 และ 750 ตัวต่อไร่ พบเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 3,070.00 และ 3,676.50 ตัวต่อต้น ตามลำดับ

หลังการปล่อยครั้งที่ 3 กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 500 750 และ 1,000 ตัวต่อไร่ พบเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 5,176.80 5,053.10 และ 5,635.90 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 ตัวต่อไร่ พบจำนวนเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 7,722.40 ตัวต่อต้น และในทุกกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน พบเพลี้ยอ่อนน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนับสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน พบเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 11,033.50 ตัวต่อต้น

จากการใช้สูตร Henderson and Tilton, 1995 (Table 4) เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด หลังการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนครั้งที่ 1 กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 750 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ 50.25 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 1,000 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ 20.38 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 500 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ 9.98 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพเท่ากับ 5.85 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ

หลังการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนครั้งที่ 2 กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 1,000 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ 32.30 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ 24.53 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 500 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ 15.28 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 750 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพเท่ากับ 12.80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ

หลังการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนครั้งที่ 3 กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 1,000 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ -4.83 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 750 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ -14.68 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 500 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพ -41.98 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 ตัวต่อไร่ มีประสิทธิภาพเท่ากับ -94.13 เปอร์เซ็นต์ซึ่งในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ

จากการเก็บผลผลิตเปรียบเทียบน้ำหนักผักกาดขาวปลีในระยะส่งตลาด (Table 6) พบว่า กรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 500 และ 1,000 ตัวต่อไร่ มีน้ำหนักผลผลิตได้น้ำหนักผลผลิตผักกาดขาวปลีเฉลี่ย 3.11 3.08 และ 3.25 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มากกว่าและแตกต่างกับกรรมวิธีไม่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนที่ได้น้ำหนักผลผลิตผักกาดขาวปลีเฉลี่ย 2.08 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันกับกรรมวิธีที่ปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 750 ตัวต่อไร่ น้ำหนักผลผลิตได้น้ำหนักผลผลิตผักกาดขาวปลีเฉลี่ย 2.50 กิโลกรัมต่อตารางเมตร

ในปี 2565 ได้ศึกษาประสิทธิภาพการกินเพลี้ยอ่อนผักวัยต่างๆ ของแมลงหางหนีบขาวงแหวน วัยที่ 2, 3, 4, 5 ตัวเต็มวัยเพศผู้และตัวเต็มวัยเพศเมีย ในส่วนของตัวอ่อนของแมลงหางหนีบ พบว่า แมลงหางหนีบขาวงแหวนวัยที่ 5 สามารถกินตัวอ่อนของเพลี้ยอ่อนผักและตัวเต็มวัยของเพลี้ยอ่อนผักได้สูงสุด โดยสามารถกินเพลี้ยอ่อนผักวัย 1-3 ได้เฉลี่ย 51.23 ตัวต่อวัน และสามารถกินเพลี้ยอ่อนผักวัย 4 ถึงระยะตัวเต็มวัยได้สูงสุดกว่าทุกวัยเฉลี่ย 13.38 ตัวต่อวัน และในส่วนของตัวเต็มวัยของแมลงหางหนีบขาวงแหวน พบว่าเพศเมียของแมลงหางหนีบขาวงแหวนสามารถกินตัวอ่อนเพลี้ยอ่อนผักได้มากกว่าเพศผู้เฉลี่ย 79.92 ตัวต่อต้น และสามารถกินเพลี้ยอ่อนผักวัย 4 ถึงตัวเต็มวัยได้มากกว่าเพศผู้เช่นเดียวกันเฉลี่ย 15.10 ตัวต่อวัน ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ใช้ตัวเต็มวัยของแมลงหางหนีบขาวง

แหวนมาใช้ควบคุมเพลี้ยอ่อนในแปลงผักกาดขาวปลีได้ ซึ่งในแปลงที่ 1 พบการระบาดแรกก่อนปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนเฉลี่ย 18.25-19.53 ตัวต่อต้น ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนน้อยกว่าในแปลงที่ 2 เป็นอย่างมากถึง 6 เท่า โดยในแปลงที่ 2 พบการระบาดของเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 117.50-222.25 ตัวต่อต้น โดยแมลงหางหนีบขาวงแหวนตัวเต็มวัยสามารถกินเพลี้ยอ่อนได้เฉลี่ยเพียง 40 ตัวต่อวัน จึงไม่สามารถควบคุมการระบาดของเพลี้ยอ่อนได้ในตั้งแต่ครั้งแรกของการปล่อย สอดคล้องกับ Pedigo และ Rice, (2014) ได้บอกเหตุผลของการควบคุมศัตรูพืชด้วยชีวิธีที่ จำเป็นต้องดำเนินการในระยะที่การระบาดยังน้อย เนื่องจากศัตรูพืชสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วกว่าศัตรูธรรมชาติ หากรอจนระบาดรุนแรงแล้วอาจไม่สามารถลดจำนวนศัตรูพืชได้ทันเวลา ซึ่งเป็นไปตามหลักของตามหลัก logistic growth ประชากรศัตรูพืชมักเพิ่มขึ้นแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล (exponential growth) ในช่วงแรก ทำให้ยากต่อการควบคุมหากไม่เริ่มตั้งแต่ระยะต้น (van Driesche, และ Bellows, 1996)

งานวิจัยนี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Carla และคณะ 2012 แมลงหางหนีบ *F. auricularia* มีวัตถุประสงค์หลัก คือ การตรวจสอบบทบาทที่สัมพันธ์กันของแมลงหนีบในฐานะศัตรูพืชเทียบกับนักล่าเพลี้ยอ่อนในต้นส้มในประเทศสเปน ทำการเปรียบเทียบการระบาดของเพลี้ยอ่อน การอยู่รอดของต้นส้ม และผลผลิตของต้นส้ม เก็บข้อมูล 2 ปี โดยมีกรรมวิธีต้นส้มที่มีแมลงหางหนีบ ต้นส้มที่ไม่มีแมลงหางหนีบ ผลทดลองพบว่า การระบาดของเพลี้ยอ่อนในต้นส้มที่มีแมลงหนีบไม่รุนแรงเท่ากับการระบาดของเพลี้ยอ่อนในต้นส้มที่ไม่มีแมลงหนีบ นอกจากนี้พบว่าจำนวนตัวของเพลี้ยอ่อนมีความสัมพันธ์เชิงลบกับจำนวนตัวของแมลงหนีบ อีกทั้งไม่พบความแตกต่างในด้านผลผลิตของส้มจากการทดลองทั้งสอง ดังนั้น แมลงหนีบจะควบคุมประชากรเพลี้ยอ่อนได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตของผลไม้

ในปี 2019 Robert และคณะ ได้มีการศึกษาพบว่าประเทศแถบยุโรป เริ่มมีการใช้ประโยชน์ของแมลงหางหนีบยุโรป *Forficula auricularia L*. (Dermaptera: Forficulidae) มีบทบาทเชิงบวกเป็นประโยชน์ในสวนแอปเปิ้ลและลูกแพร์ เนื่องจากกินศัตรูพืชและไม่ค่อยสร้างความเสียหายให้กับผลไม้ ปัจจุบันมีการจัดการให้แมลงหางหนีบยุโรปมีชีวิตอาศัยอยู่มากขึ้น โดยเลือกพ่นยาฆ่าแมลงหรือการลดการไถพรวนเพื่อไม่รบกวนการอยู่อาศัยของตัวอ่อนในดิน เกษตรกรได้รับความรู้ที่พบว่าแมลงหางหนีบยุโรป เป็นศัตรูธรรมชาติ ช่วยควบคุมทางชีวภาพอาจ ช่วยลดการใช้ยาฆ่าแมลงและเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันศัตรูพืชได้

อีกทั้งหากมีการควบคุมการระบาดของเพลี้ยอ่อนด้วยศัตรูธรรมชาติหลายๆ ชนิดพร้อมกันยิ่งสามารถควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืชได้อย่างรวดเร็วยิ่งขึ้น มีการศึกษาของ Hazem และคณะ, 2011 มีวัตถุประสงค์ คือ การเปรียบเทียบแมลงศัตรูธรรมชาติ 2 ชนิด ของเพลี้ยอ่อนแอปเปิ้ลสีชมพู (RAA) *Dysaphis plantaginea* ในสภาพห้องปฏิบัติการ ได้แก่ แมลงหางหนีบ *Forficula auricularia* ซึ่งเป็นแมลงห้ำที่ไม่เฉพาะเจาะจง และ ด้วงเต่า *Episyrphus balteatus* ซึ่งเป็นตัวห้ำที่เฉพาะเจาะจงกับเพลี้ยแป้งสีชมพู โดยใช้ *E. balteatus* ในตัวอ่อนระยะที่ 2 และ 3 และ *F. auricularia* ใช้ตัวอ่อนระยะที่ 3 และ 4 ในการทดสอบ ซึ่งทำการทดสอบ ได้รับทีละตัวเป็นเวลา 24 ชั่วโมงในจานเพาะเชื้อ

ให้ตัวอ่อนระยะที่ 1 หรือ 3 ของ เพลี้ยอ่อนแอปเปิ้ลสีชมพูจำนวนต่างกัน 5 ระดับ (ระดับที่ 1 ให้ 25 ตัว, ระดับที่ 2 ให้ 50 ตัว, ระดับที่ 3 ให้ 75 ตัว, ระดับที่ 4 ให้ 100 ตัว และ ระดับที่ 5 ให้ 200 ตัว) ได้รับการฟักที่อุณหภูมิ 3 ระดับที่แตกต่างกัน (15, 20 และ 25 ℃) ผลการทดลองพบว่า ในวัยที่ 3 ของ *E. balteatus* และวัยที่ 4 ของ *F. auricularia* สามารถห้ำได้มากกว่าวัยที่น้อยกว่า ซึ่งทั้งด้วงเต่าและแมลงหางหนีบทั้งสองชนิดไม่ได้มีปฏิสัมพันธ์เชิงลบ แต่เมื่อความหนาแน่นของเพลี้ยอ่อนแอปเปิ้ลสีชมพูไม่จำกัด ทั้งด้วงเต่าและแมลงหางหนีบกลับมีผลเสริมฤทธิ์กัน ซึ่งพบว่าสามารถมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นจากเดิม 1.8 ถึง 2.7 เท่า การทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าในทางทฤษฎีแล้ว แมลงห้ำทั้งสองชนิดจะมีประสิทธิภาพในการควบคุมจำนวน เพลี้ยอ่อนแอปเปิ้ลสีชมพูในช่วงต้นฤดูใบไม้ผลิ โดยมีการทดสอบร่วมกันของสารเคมีและชีวภัณฑ์ชนิดต่างๆ ในไร่อ้อน เนื่องจากมีการใช้ สารกำจัดแมลง คลอแรนทรานิลิโพรลและเชื้อราก่อโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* และแมลงหางหนีบขาวงแหวน *Euborellia annulipes* เพื่อควบคุมหนอนเจาะลำต้นอ้อย (*Diatraea saccharalis*) การศึกษาครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อประเมินผลทางตรงและทางอ้อมของชีวภัณฑ์ราเขียว *M. anisopliae* (Metarril®) และสารเคมีกำจัดแมลง คลอแรนทรานิลิโพรล (Altacor®) ต่อการตายของตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของ E. annulipes การล่าเหยื่อและความชอบในการกินของแมลงหนีบขาวงแหวน โดยใช้ไข่ของหนอนเจาะลำต้นอ้อยที่มีกรรมวิธีดังกล่าว เก็บข้อมูลผลการทดลอง 7 วัน พบว่า ไข่เหยื่อที่มีชีวภัณฑ์ราเขียว *M. anisopliae* (Metarril®) และสารเคมีกำจัดแมลง คลอแรนทรานิลิโพรล (Altacor®) อยู่นั้น ทำให้แมลงหางหนีบขาวงแหวนมีการตาย ≤ 2% และไม่ส่งผลกระทบต่อการล่าเหยื่อ การใช้ *M. anisopliae* กับไข่หนอนเจาะลำต้นอ้อยช่วยให้ตัวอ่อนระยะที่สี่ ตัวผู้ และตัวเมียของของแมลงหางหนีบขาวงแหวนชอบอาหารมากขึ้น ซึ่งในผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้ Metarril® และ Altacor®

เพื่อควบคุม *D. saccharalis* รวมกันกับการใช้แมลงหางหนีบขาวงแหวนได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาอัตราการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนในสภาพแปลงปลูกผักกาดขาวปลีของเกษตรกร กรรมวิธีปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน 250 500 750 และ 1,000 ตัวต่อไร่ พบว่าการใช้แมลงหางหนีบขาวงแหวนอัตรา 500 - 1,000 ตัวต่อไร่ ทุก 7 วัน โดยปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวนเมื่อเริ่มพบเพลี้ยอ่อนเข้าทำลาย ตามการระบาดของเพลี้ยอ่อนจะมีประสิทธิภาพควบคุมการระบาดของเพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลีได้ดีที่สุด โดยวิธีการปล่อยแมลงหางหนีบขาวงแหวน ควรปล่อยใกล้กับต้นผักกาดขาวปลีในช่วงเวลาเย็น

คำขอบคุณ

ทีมงานนางสาวสุธาธิณี ปานแก้ว นางสาวกษมา นามแดง นางสาวโสภา สนแย้ม นางสาววาสนา เริงรมย์ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขา ที่ให้ความร่วมมือและช่วยปฏิบัติงานทดลองครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง

เอกสารอ้างอิง

บรรพต ณ ป้อมเพชร 2525. *การควบคุมแมลงศัตรูพืชและวัชพืชโดยชีววิธี*. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววินทรีย์แห่งชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นันทนัช พินศรี ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ สาทิพย์ มาลี และณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์. 2567. การศึกษาชีววิทยาและประสิทธิภาพของแมลงหางหนีบขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucas) ในการกินเพลี้ยอ่อนผัก *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach). *ว.เกษตรรำไพ* 2(1): 1-12.

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ภัทรพร สรรพนุเคราะห์และ นันทนัช พินศรี. 2561 *แมลงหางหนีบขาวงแหวน* [แผ่นพับ]. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

Carla R. D., P. Josep and Espadaler X. 2012. Friend or foe? The role of earwigs in a Mediterranean organic citrus orchard. In *Biological Control*. 63(2): 143-149.

Damiri, B. V., Al-Shahwan, I. M., Al-Saleh, M. A., Abdalla, O. A. and Amer, M. A. 2013. Identification andcharacterization of Cowpea aphid-borne mosaic virus isolates in Saudi Arabia Journal *plantpathology.* 95(1):79-85.

Hazem D., M. Jamont, B. Sauphanor. and Y. Capowiez, 2011,Predation potency and intraguild interactions between generalist (*Forficula auricularia*) and specialist (*Episyrphus balteatus*) predators of the rosy apple aphid (*Dysaphis plantaginea*), In: *Biological Control,*Volume 59, Issue 2n Pages 90-97,

Moerkens, R., Leirs, H., Peusens, G. and Beliën, T. 2010. Dispersal and foraging behavior of European earwigs in Belgian apple orchards. *Insect Science*, 17(5), 533-539.

Pedigo, L. P., and Rice, M. E. 2014. *Entomology and Pest Management* (6th ed.). Waveland Press.

Robert J O., D. W. Crowder. And Vincent P J., 2019. Biology and Management of European Earwig in Orchards and Vineyards. In: *Journal of Integrated Pest Management*, Volume 10, Issue 1, 21,

Rutikanga, A., Uwamahoro, F. and Rukundo, A. 2012. *Cabbage aphids*. [online] Avilable https://www.plantwise.org/knowledgebank/searchresults?q=aphids 10 March 2022

van Driesche, R. G., and Bellows, T. S. 1996. *Biological Control*. Springer Science & Business Media

Table 1 Number of aphids on Chines cabbage (*Brassica rapa* L.) before and after release of *Euborellia annulipes* (Lucas) at Takham En sub-district, Tha Muang district, Kanchanaburi province, between January and February 2024

Treatment	Rate of application (insect/rai)	Before release	Average Number of aphid (nymphs/tree) [1/]		
			After 1st release	After 2nd release	After 3rd release
Euborellia annulipes	250	18.93	18.02 a[2/]	53.28 b	62.30 ab
Euborellia annulipes	500	18.25	13.13 a	20.66 a	28.83 a
Euborellia annulipes	750	19.25	17.48 a	25.40 a	27.29 a
Euborellia annulipes	1000	19.21	12.26 a	18.30 a	21.37 a
Control		19.53	39.96 b	70.77 b	93.66 b
CV (%)		**14.0**	**27.7**	**37.7**	**71.4**

[1/]Average from 4 replication (20 trees per replication)

[2/] Means in the same column followed by the different characters are significantly different (P<0.05) by DMRT

Table 2 Number of aphids on Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.) before and after release of *Euborellia annulipes* (Lucas) at Sap Champa sub-district, Tha Luang District, Lopburi province, between December 2024 and January 2025

Treatment	Rate of application (insect/rai)	Before release	Average Number of aphid (nymphs/tree) [1/]		
			After 1st release	After 2nd release	After 3rd release
Euborellia annulipes	250	194.75	924.25 a[2/]	6,028.00 bc	7,722.40 b
Euborellia annulipes	500	198.75	788.75 a	3,070.00 ab	5,176.80 a
Euborellia annulipes	750	222.25	702.00 a	3,676.50 ab	5,053.10 a
Euborellia annulipes	1000	117.50	508.25 a	2,464.80 a	5,635.90 a
Control		183.25	1,126.25 b	8,745.50 c	11,033.50 c
CV (%)		**39.3**	**59.2**	**42.4**	**9.91**

[1/]Average from 4 replication (20 trees per replication)

[2/] Means in the same column followed by the different characters are significantly different (P<0.05) by DMRT

Table 3 Efficacy percentage of *Euborellia annulipes* (Lucas) to control aphids on Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.) Takham En sub-district, Tha Muang district, Kanchanaburi province, between January and February 2024

Treatment	Rate of application (insect/rai)	Efficacy percentage of *Euborellia annulipes* (Lucas)		
		After app. 1st	After app. 2nd	After app. 3rd
Euborellia annulipes	250	24.86 b	53.29 a	30.14 a
Euborellia annulipes	500	72.98 a	43.11 a	25.36 a
Euborellia annulipes	750	73.39 a	42.02 a	36.23 a
Euborellia annulipes	1000	71.68 a	36.83 a	29.90 a
CV (%)		**11.2**	**65.5**	**60.2**

1/Average from 4 replication (10 leaves per 2 trees per replication)

2/In columns, means followed by a common letter are not significantly different at the 0.05 level by DMRT

Table 4 Efficacy percentage of *Euborellia annulipes* (Lucas) to control aphids on Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.) at Sap Champa sub-district, Tha Luang District, Lopburi province, between December 2024 and January 2025

Treatment	Rate of application (insect/rai)	Efficacy percentage of *Euborellia annulipes* (Lucas)		
		After app. 1st	After app. 2nd	After app. 3rd
Euborellia annulipes	250	5.85 a	24.53 a	-94.13 a
Euborellia annulipes	500	9.98 a	15.28 a	-41.98 a
Euborellia annulipes	750	50.25 a	12.80 a	-14.68 a
Euborellia annulipes	1000	20.38 a	32.30 a	-4.83 a
CV (%)		**212.6**	**133.2**	**-135.3**

1/Average from 4 replication (10 leaves per 2 trees per replication)

2/In columns, means followed by a common letter are not significantly different at the 0.05 level by DMRT

Table 5 Marketable yield of Chinese cabbage after release *Euborellia annulipes* (Lucas) at Takham En sub-district, Tha Muang district, Kanchanaburi province, between January and February 2024

Treatment	Rate of application (insect/rai)	Average yield (Kg/m^2)
Euborellia annulipes	250	5.72 a
Euborellia annulipes	500	6.60 a
Euborellia annulipes	750	6.03 a
Euborellia annulipes	1000	6.28 a
Control	-	5.99 a
CV (%)		**15.40**

Table 6 Marketable yield of Chinese cabbage after release *Euborellia annulipes* (Lucas) at Sap Champa sub-district, Tha Luang District, Lopburi province, between December 2024 and January 2025

Treatment	Rate of application (insect/rai)	Average yield (Kg/m^2)
Euborellia annulipes	250	3.11 a
Euborellia annulipes	500	3.08 a
Euborellia annulipes	750	2.50 ab
Euborellia annulipes	1000	3.25 a
Control	-	2.08 b
CV (%)		**19.50**

Figure 1 Outbreak at the experimental plot, Takham En Subdistrict, Tha Maka District, Kanchanaburi 71130 (14.0142902, 99.7607091)

Figure 2 Outbreak at the experimental plot, Sap Champa sub-district, Tha Luang District, Lopburi province

Figure 3 Release ring-legged insects in Chinese cabbage plots

Figure 4 Release ring-legged insects in Chinese cabbage plots

การศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียม

Study on Mass Rearing Method of the Entomopathogenic Nematode *Steinernema glaseri*

อัจฉรียา นิจจรัลกุล[1/] ปาริชาติ จำรัสศรี[1/] สุวิมล วงศ์พลัง[2/]

อิศเรส เทียนทัด[1/] สาทิพย์ มาลี[1/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8 จังหวัดสงขลา

Abstract

Entomopathogenic nematodes (EPNs) are potential biological agents for the control of insect pests. Among them, *Steinernema glaseri* has demonstrated specificity and high efficacy against Coleopteran insects, which are key agricultural pests. However, large-scale field application of *S. glaseri* is currently limited by constraints in mass production and formulation efficiency. This study aimed to develop suitable artificial media for the mass production of *S. glaseri*, utilizing two media formulations : semi-solid media and liquid media (shake flask level). Additionally, the study examined effective Shelf-life extension methods for nematodes produced in each format. Results revealed that the semi-solid medium, composed of synthetic sponge, Brewer's yeast, dried egg yolk, cornmeal, corn oil, and water, when inoculated with 70,000 infective juveniles (IJs) and *Xenorhabdus poinarii* at concentrations 1 × 10^8 cells/mL, yielded up to12.43 × 10^6 IJs/45 g of medium. This output was significantly higher than the previous semi-solid medium, which propagated only 1.30 × 10^6 IJs per 45 g. However, nematodes obtained from the semi-solid medium exhibited low survival rates after storage, making them more suitable for field application immediately. For the liquid shake-flask medium, which consisted of meat extract, yeast extract, corn starch, egg, corn oil, lard, and water, production using 10,000 IJs and *X. poinarii* at 1 × 10^7 cells/mL resulted in a yield of 2.56 × 10^6 IJs/45 mL of medium. These nematodes could be preserved in synthetic sponge pieces (1 × 1 × 1 cm) for up to nine months while maintaining survival rates

รหัสการทดลอง FF65-10-02-65-01-01-65

above 70%. The findings highlight effective strategies for the production and storage of *S. glaseri*, contributing to the advancement of sustainable pest management practices in agriculture through the use of biological control agents.

Keywords : Entomopathogenic nematode, *Steinernema glaseri*, Mass rearing, Storage

บทคัดย่อ

การศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียม เริ่มดำเนินการทดลองในเดือน ตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2567 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรอาหารเทียมที่เหมาะสมสำหรับการผลิตขยายปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ในสองรูปแบบ ได้แก่ อาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) และอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า (liquid media) รวมถึงการศึกษาวิธีการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ได้จากการผลิตทั้งสองรูปแบบ ผลการทดลองพบว่า เมื่อผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงด้วยสูตรอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลวที่ประกอบด้วยฟองน้ำสังเคราะห์, Brewer's yeast, ไข่แดงอบแห้ง, แป้งข้าวโพด, น้ำมันข้าวโพด และน้ำ โดยใช้ต้นเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 70,000 IJs (ตัว) และแบคทีเรีย *Xenorhabdus poinarii* ในความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร สามารถผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ได้สูงถึง 12.43×10^6 IJs/อาหาร 45 กรัม ซึ่งสูงกว่าการผลิตขยายด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวสูตรเดิม ที่ผลิตได้ 1.30×10^6 IJs/อาหาร 45 กรัม อย่างไรก็ตามไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ผลิตได้จากอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลวมีอัตราการรอดชีวิตต่ำหลังจากการเก็บรักษาหลังจากผ่านไป 1 เดือน จึงมีความเหมาะในการใช้ควบคุมและกำจัดแมลงทันทีหลังการผลิต สำหรับสูตรอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า ที่ประกอบด้วย meat extract yeast extract แป้งข้าวโพด ไข่ น้ำมันข้าวโพด น้ำมันหมู และน้ำ นำมาผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง โดยใช้ต้นเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 10,000 IJs และความเข้มข้นของ *X. poinarii* ที่ 1×10^7 เซลล์/มิลลิลิตร สามารถผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ได้ 2.56×10^6 IJs/อาหาร 45 มิลลิลิตร และสามารถเก็บรักษาในใช้ชิ้นฟองน้ำสังเคราะห์ขนาด 1×1×1 ซม. ได้นานถึง 9 เดือน และผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงแนวทางที่มีประสิทธิภาพในการผลิตขยายและเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ซึ่งจะมีส่วนสำคัญในการสนับสนุนการใช้ชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืชในระบบเกษตรกรรมอย่างยั่งยืน

คำหลัก : ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง, *Steinernema glaseri*, การผลิตขยาย, การเก็บรักษา

คำนำ

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เป็นหนึ่งในชีวภัณฑ์ที่ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการควบคุมแมลง ซึ่งในด้านการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผ่านมากรมวิชาการเกษตรมุ่งเน้นพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* ในรูปแบบสูตรผงละลายน้ำ และได้เผยแพร่ให้เกษตรกรใช้ ซึ่งประสบความสำเร็จในการใช้ควบคุมหนอนแทะเปลือกลองกอง ด้วงหมัดผักแถบลาย ด้วงสนามหญ้า ด้วงงวงมันเทศ หนอนกระทู้หอม และหนอนผีเสื้อในโรงเห็ด เป็นต้น จึงทำให้มีความสนใจที่จะศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

สายพันธุ์อื่น ด้วยอาหารเทียม เพื่อเป็นอีกหนึ่งตัวเลือกในการใช้ควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืช ดังนั้นในโครงการวิจัยนี้อยู่ภายใต้โครงการนวัตกรรมการผลิตและเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชเพื่อการอารักขาพืชอย่างยั่งยืน จึงเพิ่มทางเลือกโดยหาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดอื่นที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลง โดยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ซึ่งมีศักยภาพในการควบคุมด้วงปีกแข็งซึ่งเป็นแมลงในอันดับ Coleoptera งานวิจัยที่ผ่านมาของกรมวิชาการเกษตรเคยศึกษาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยแมลงอาศัยและอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวสูตรที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ทำให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการผลิตขยายไส้เดือนฝอยชนิดนี้ การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาสูตรอาหารเทียม และวิธีการที่เหมาะสมต่อการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ให้ได้ปริมาณมากและมีคุณภาพ โดยศึกษาทั้งวิธีการที่เกษตรกรสามารถผลิตได้เอง (ผลิตในอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว) และวิธีการที่ผลิตในปริมาณมาก (ผลิตในอาหารเทียมรูปแบบเหลว) เพื่อเป็นต้นแบบในเชิงการค้า ดังนั้นการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* จะช่วยเพิ่มโอกาสในการใช้เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชเป้าหมายได้กว้างขึ้น ทำให้เกษตรกรสามารถเข้าถึงชีวภัณฑ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้มากขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri*
2. หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella*
3. แบคทีเรีย *X. poinarii*
4. อาหารเทียมหนอนกินรังผึ้ง
5. อาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว (Semi-solid culture)
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ NBTA (nutrient bromothymol blue triphenyl tetrazolium chloride agar)
7. Yeast salts broth (YS broth)
8. จานเลี้ยงเชื้อ
9. ขวดแก้วชมพู่
10. ถาด Micro-well plate 24 หลุม
11. ขวดเพาะเลี้ยงเซลล์
12. กล่องพลาสติกสำหรับเลี้ยงแมลง และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง
13. ไมโครปิเปต
14. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
15. หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
16. ขวดแก้ว ขนาด 500 มิลลิลิตร
17. ฟองน้ำสังเคราะห์

18. กล้องจุลทรรศน์8

วิธีการ

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> ศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) (ปี 2565)

1.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ด้วยอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ได้จากการผลิต

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 8 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ฟองน้ำสังเคราะห์ + กากถั่วเหลือง + ไข่แดงอบแห้ง + น้ำมันข้าวโพด + น้ำ

กรรมวิธีที่ 2 ฟองน้ำสังเคราะห์ + กากถั่วเหลือง + หนอนกินรังผึ้ง + น้ำมันข้าวโพด + น้ำ

กรรมวิธีที่ 3 ฟองน้ำสังเคราะห์ + Brewer's yeast + ไข่แดงอบแห้ง + corn meal + น้ำมันข้าวโพด + น้ำ

กรรมวิธีที่ 4 ฟองน้ำสังเคราะห์ + dry whole yeast + ไข่แดงอบแห้ง + corn meal + น้ำมันข้าวโพด + น้ำ (Lunau *et al*, 1993)

กรรมวิธีที่ 5 ฟองน้ำสังเคราะห์ + อาหารสุนัขสูตรตับ + หนอนกินรังผึ้ง + น้ำมันหมู + น้ำ (วัชรี และสุทธิชัย, 2544)

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

เตรียมอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลวตามกรรมวิธีต่างๆ บรรจุในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละ 45 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที หลังจากเย็นสนิทเติมแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ YS broth ลงในอาหารเทียมปริมาณ 3 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมต้นเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ในอัตรา 5,000 IJs/อาหาร 45 กรัม และเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการตรวจสอบพัฒนาการ และจำนวนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นวัยต่างๆ ทุก 24 ชั่วโมง ตั้งแต่วันที่ 10 จนถึงวันที่มีระยะ IJs มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ เก็บผลผลิตเมื่อพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJs มากกว่า 95เปอร์เซ็นต์ และนำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงตามวิธีการของ Miller (1999) โดยการหยดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจำนวน 1 ตัว/น้ำ 30 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของถาด multi-well plates 24 well ที่รองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำหนอนกินรังผึ้งวัย 5 ใส่ลงในหลุมๆ ละ 1 ตัว ปิดฝาให้สนิท จำนวน 7 ซ้ำ (ถาด)ของแต่ละกรรมวิธี เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และตรวจนับจำนวนหนอนที่ตาย

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJs ที่ผลิตได้ในแต่ละกรรมวิธี
- ระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจนได้ระยะ IJs
- ต้นทุนการผลิต
- จำนวนหนอนที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. Glaseri*

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

1.2 ศึกษาอัตราส่วนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* และแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เหมาะสมในอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ได้จากการผลิต

เลือกสูตรอาหารที่เหมาะสม ในการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* จากขั้นตอนที่ 1.1 มาทำการศึกษาอัตราส่วนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* และแบคทีเรีย *X. poinarii* ตั้งต้นที่เหมาะสม

แบบและวิธีการทดลอง

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 20 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่แบคทีเรีย + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 5,000 IJs
กรรมวิธีที่ 2 ไม่ใส่แบคทีเรีย + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 10,000 IJs
กรรมวิธีที่ 3 ไม่ใส่แบคทีเรีย + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 30,000 IJs
กรรมวิธีที่ 4 ไม่ใส่แบคทีเรีย + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 50,000 IJs
กรรมวิธีที่ 5 ไม่ใส่แบคทีเรีย + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 70,000 IJs
กรรมวิธีที่ 6 แบคทีเรีย $1x10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 5,000 IJs
กรรมวิธีที่ 7 แบคทีเรีย $1x10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 10,000 IJs
กรรมวิธีที่ 8 แบคทีเรีย $1x10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 30,000 IJs
กรรมวิธีที่ 9 แบคทีเรีย $1x10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 50,000 IJs
กรรมวิธีที่ 10 แบคทีเรีย $1x10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 70,000 IJs
กรรมวิธีที่ 11 แบคทีเรีย $1x10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 5,000 IJs
กรรมวิธีที่ 12 แบคทีเรีย $1x10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 10,000 IJs
กรรมวิธีที่ 13 แบคทีเรีย $1x10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 30,000 IJs
กรรมวิธีที่ 14 แบคทีเรีย $1x10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 50,000 IJs
กรรมวิธีที่ 15 แบคทีเรีย $1x10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 70,000 IJs
กรรมวิธีที่ 16 แบคทีเรีย $1x10^8$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 5,000 IJs
กรรมวิธีที่ 17 แบคทีเรีย $1x10^8$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 10,000 IJs
กรรมวิธีที่ 18 แบคทีเรีย $1x10^8$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 30,000 IJs
กรรมวิธีที่ 19 แบคทีเรีย $1x10^8$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 50,000 IJs
กรรมวิธีที่ 20 แบคทีเรีย $1x10^8$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 70,000 IJs

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลวตามกรรมวิธีที่คัดเลือกบรรจุในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละ 45 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที หลังจากเย็นสนิทเติมแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ YS broth ตามอัตราที่กำหนด ลงในอาหารเทียมปริมาณ 3 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมต้นเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ระยะ IJs ตามอัตราที่กำหนดในปริมาณ 2 มิลลิลิตร และเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการตรวจสอบพัฒนาการ และ

จำนวนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นวัยต่างๆ ทุก 24 ชั่วโมง ตั้งแต่วันที่ 10 จนถึงวันที่มีระยะ IJs มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ เก็บผลผลิตเมื่อพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJs มากกว่า 95เปอร์เซ็นต์ และนำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงตามวิธีการของ Miller (1999) เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจนับจำนวนหนอนที่ตาย

การบันทึกข้อมูล

- ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJs ที่ผลิตได้ในแต่ละกรรมวิธี
- ระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจนได้ระยะ IJs
- จำนวนหนอนที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri*

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า (liquid media) (ปี 2566)

2.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ด้วยอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า (liquid media) และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ได้จากการผลิต

แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 8 ซ้ำ 6 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 แป้งถั่วเหลือง + yeast + แป้งข้าวโพด + ไข่ + น้ำมันข้าวโพด + น้ำ

กรรมวิธีที่ 2 meat extract + yeast extract + แป้งข้าวโพด + ไข่ + น้ำ

กรรมวิธีที่ 3 meat extract + yeast extract + แป้งข้าวโพด + ไข่ + น้ำมันข้าวโพด + น้ำมันหมู + น้ำ

กรรมวิธีที่ 4 meat extract + yeast extract + ไข่ + น้ำมันข้าวโพด + น้ำ

กรรมวิธีที่ 5 meat extract + yeast extract + peptone from casein c + soy-peptone + K2HPO4 + KCl + CaCl + NaCl + น้ำมันข้าวโพด + น้ำ (Lunau *et al.*, 1993)

กรรมวิธีที่ 6 tryptic soy broth+ yeast + ไข่ + น้ำมันข้าวโพด + น้ำมันหมู + น้ำ (วัชรี และสุทธิชัย, 2544)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวตามกรรมวิธีต่างๆ บรรจุในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละ 45 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที หลังจากเย็นสนิทเติมแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ YS broth ลงในอาหารเทียมปริมาณ 3 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมต้นเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ในอัตรา 10,000 IJs/อาหาร 45 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการตรวจสอบพัฒนาการ และจำนวนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นวัยต่างๆ ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นวัยต่างๆ ทุก 24 ชั่วโมง ตั้งแต่วันที่ 10 จนถึงวันที่มีระยะ IJs มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ เก็บผลผลิตเมื่อพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJs มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ และนำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงตามวิธีการของ Miller (1999) เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจนับจำนวนหนอนที่ตาย

การบันทึกข้อมูล

- ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJs ที่ผลิตได้ในแต่ละกรรมวิธี
- ระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจนได้ระยะ IJs
- ต้นทุนการผลิต
- จำนวนหนอนที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri*

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

2.2 ศึกษาอัตราส่วนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* และแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เหมาะสมในอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า (liquid media) และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ได้จากการผลิต

เลือกสูตรอาหารที่เหมาะสม ในการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* จากขั้นตอนที่ 2.1 มาทำการศึกษาอัตราส่วนการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* และแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เหมาะสม

แบบและวิธีการทดลอง

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 16 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่แบคทีเรีย + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 5,000 IJs
กรรมวิธีที่ 2 ไม่ใส่แบคทีเรีย + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 10,000 IJs
กรรมวิธีที่ 3 ไม่ใส่แบคทีเรีย + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 15,000 IJs
กรรมวิธีที่ 4 ไม่ใส่แบคทีเรีย + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 20,000 IJs
กรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรีย $1x10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 5,000 IJs
กรรมวิธีที่ 6 แบคทีเรีย $1x10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 10,000 IJs
กรรมวิธีที่ 7 แบคทีเรีย $1x10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 15,000 IJs
กรรมวิธีที่ 8 แบคทีเรีย $1x10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 20,000 IJs
กรรมวิธีที่ 9 แบคทีเรีย $1x10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 5,000 IJs
กรรมวิธีที่ 10 แบคทีเรีย $1x10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 10,000 IJs
กรรมวิธีที่ 11 แบคทีเรีย $1x10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 15,000 IJs
กรรมวิธีที่ 12 แบคทีเรีย $1x10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 20,000 IJs
กรรมวิธีที่ 13 แบคทีเรีย $1x10^8$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 5,000 IJs
กรรมวิธีที่ 14 แบคทีเรีย $1x10^8$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 10,000 IJs
กรรมวิธีที่ 15 แบคทีเรีย $1x10^8$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 15,000 IJs
กรรมวิธีที่ 16 แบคทีเรีย $1x10^8$ เซลล์/มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 20,000 IJs

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวตามกรรมวิธีที่คัดเลือก บรรจุในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละ 45 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที หลังจากเย็นสนิทเติมแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ YS broth ตามอัตราที่กำหนด ลงในอาหารเทียมปริมาณ 3 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที

อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมต้นเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ระยะ IJs ตามอัตราที่กำหนด ในปริมาณ 2 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และทำการตรวจสอบพัฒนาการ และจำนวนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นวัยต่างๆ ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นวัยต่างๆ ทุก 24 ชั่วโมง ตั้งแต่วันที่ 10 จนถึงวันที่มีระยะ IJs มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ เก็บผลผลิตเมื่อพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJs มากกว่า 95เปอร์เซ็นต์ และนำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงตามวิธีการของ Miller (1999) เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจนับจำนวนหนอนที่ตาย

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJs ที่ผลิตได้ในแต่ละกรรมวิธี
- ระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจนได้ระยะ IJs
- จำนวนหนอนที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri*

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ</u>

- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

<u>ขั้นตอนที่ 3</u> ศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* (ปี 2567)

3.1 ศึกษาวัสดุการเก็บรักษาที่เหมาะสมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ผลิตได้จากอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่เก็บในวัสดุการเก็บรักษาต่างๆ

นำไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ผลิตจากขั้นตอนที่ 1 มาทดสอบวัสดุการเก็บรักษาชนิดต่างๆ

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 8 5 กรรมวิธี
กรรมวิธีที่ 1 เก็บในชิ้นฟองน้ำสังเคราะห์ขนาด 1x1x1 เซนติเมตร จำนวน 24 ชิ้น
กรรมวิธีที่ 2 เก็บในแผ่นฟองน้ำสังเคราะห์ขนาด 8x10x1 เซนติเมตร
กรรมวิธีที่ 3 ดิน attapulgite + ดิน pumice + สารกันบูด 5 กรัม
กรรมวิธีที่ 4 เวอมิคูไรท์ + polyaceramide gel 5 กรัม (Leite *et al*., 2018)
กรรมวิธีที่ 5 เก็บในน้ำกลั่น

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

นำไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ผลิตได้จากอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลว ปริมาณ $1.5x10^5$ IJs บรรจุลงในถุงขนาด 4x6 นิ้ว โดยในแต่ละกรรมวิธีต้องใช้ปริมาณน้ำกลั่นที่แตกต่างกัน โดยรรมวิธีที่ 1, 2 และ 5 ใส่น้ำกลั่นปริมาณ 10 มิลลิลิตร ส่วนกรรมวิธีที่ 3 และ 4 ใส่น้ำกลั่นปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร และจัดเก็บทุกกรรมวิธีที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ทำการตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิต ด้วยวิธี dilution counting ทุกๆ เดือน เป็นเวลา 12 เดือน และนำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงตามวิธีการของ Miller (1999) เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจนับจำนวนหนอนที่ตาย

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิตทุกเดือน เป็นเวลา 12 เดือน

-.จำนวนหนอนที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 12 เดือน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

3.2 ศึกษาวัสดุการเก็บรักษาที่เหมาะสมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ผลิตได้จากอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า (liquid media) และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่เก็บในวัสดุการเก็บรักษาต่างๆ

นำไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ผลิตจากขั้นตอนที่ 2 มาทดสอบวัสดุการเก็บรักษาชนิดต่างๆ

แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 8 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เก็บในชิ้นฟองน้ำสังเคราะห์ขนาด 1x1x1 เซนติเมตร จำนวน 24 ชิ้น

กรรมวิธีที่ 2 เก็บในแผ่นฟองน้ำสังเคราะห์ขนาด 8x10x1 เซนติเมตร

กรรมวิธีที่ 3 ดิน attapulgite + ดิน pumice + สารกันบูด 5 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 เวอมิคูไรท์ + polyaceramide gel 5 กรัม (Leite *et al*., 2018)

กรรมวิธีที่ 5 เก็บในน้ำกลั่น

วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ผลิตได้จากอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวระดับขวดเขย่า ปริมาณ $1.5x10^5$ IJs บรรจุลงในถุงขนาด 4x6 นิ้ว โดยในแต่ละกรรมวิธีต้องใช้ปริมาณน้ำกลั่นที่แตกต่างกัน โดยกรรมวิธีที่ 1, 2 และ 5 ใส่น้ำกลั่นปริมาณ 10 มิลลิลิตร ส่วนกรรมวิธีที่ 3 และ 4 ใส่น้ำกลั่นปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร และจัดเก็บทุกกรรมวิธีที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ทำการตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิต ด้วยวิธี dilution counting ทุกๆ เดือน เป็นเวลา 12 เดือน และนำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงตามวิธีการของ Miller (1999) เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจนับจำนวนหนอนที่ตาย

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิตทุกเดือน เป็นเวลา 12 เดือน

-.จำนวนหนอนที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 12 เดือน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2565 สิ้นสุด กันยายน 2567 ณ ห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลการทดลองและวิจารณ์

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> ศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) (ปี 2565)

1.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ด้วยอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ได้จากการผลิต

การศึกษาสูตรอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลวเพื่อเลี้ยงเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* พบว่า สูตรอาหารในกรรมวิธีที่ 3 ประกอบด้วย ฟองน้ำสังเคราะห์ Brewer's yeast ไข่แดงอบแห้ง corn meal น้ำมันข้าวโพด และ น้ำ สามารถเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้สูงที่สุด คือ 8.10×10^6 IJs/อาหารเทียม 45 กรัม และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงใช้เวลาในการพัฒนาเข้าสู่ระยะเข้าทำลาย (Infective Juvenile) ประมาณ 17 - 19 วัน ส่วนประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผลิตขยายจากอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลวทุกกรรมวิธีมีค่าอยู่ระหว่าง 33.75 - 42.08 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกับค่ามาตรฐานของ Miller (1999) ที่มีผลอยู่ระหว่าง 28.50 - 44.10 เปอร์เซ็นต์ และราคาอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลวพบว่ากรรมวิธีที่ 1 - 5 มีราคาอยู่ที่ 5, 26, 13, 11 และ 26 บาทต่ออาหารเทียม 45 กรัม ตามลำดับ (Table 1) (Figure 1)

1.2 ศึกษาอัตราส่วนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* และแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เหมาะสมในอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ได้จากการผลิต

จากศึกษาอัตราส่วนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* และแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เหมาะสมในอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) พบว่า กรรมวิธีที่ 20 ที่มีปริมาณ *S. glaseri* ตั้งต้นที่ 70,000 IJs และความเข้มข้นของ *X. poinarii* ที่ 1×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร สามารถผลิตระยะ IJs ได้มากที่สุดเท่ากับ 1.24×10^7 IJs ต่ออาหารเทียม 45 กรัม และรองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 15 ที่ใช้ปริมาณ *S. glaseri* ตั้งต้นที่ 70,000 IJs และความเข้มข้นของ *X. poinarii* ที่ 1×10^7 เซลล์/มิลลิลิตร สามารถผลิตระยะ IJs ได้มากที่สุดเท่ากับ 1.22×10^7 IJs/อาหารเทียม 45 มิลลิลิตร ซึ่งทั้งสองกรรมวิธีมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งตามค่ามาตรฐานของ Miller (1999) ที่มีค่าอยู่ระหว่าง 28.50 - 44.10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมี 13 กรรมวิธี ที่มีเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งอยู่ในช่วงค่ามาตรฐาน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 31.66 – 37.50 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่มีเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งสูงที่สุด คือ กรรมวิธีที่ 7 มีค่า 37.50 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) ผลการทดลองดังกล่าวให้ผลแตกต่างกับ สาทิพย์และวิไลวรรณ (2556) ที่ใช้สูตรอาหารเทียมที่ประกอบด้วย อาหารสุนัข+น้ำมันหมู+หนอนกินรังผึ้ง+น้ำ ใส่ปริมาณต้นเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* จำนวน 5,000 IJs ต่ออาหารเทียม 45 กรัม เป็นเวลา 15 วัน ได้ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* เฉลี่ยที่ 1.30×10^6 IJs/อาหารเทียม 45 กรัม

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> ศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า (liquid media) (ปี 2566)

2.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ด้วยอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า (liquid media) และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ได้จากการผลิต

ผลการศึกษาสูตรอาหารเทียมแบบเหลวรูปแบบขวดเขย่า (liquid media) เพื่อเลี้ยงเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* พบว่า กรรมวิธีที่ 3 ประกอบด้วย meat extract yeast extract แป้งข้าวโพด ไข่ น้ำมันข้าวโพด น้ำมันหมู และ น้ำ สามารถเพิ่มจำนวน *S. glaseri* ได้สูงที่สุด คือ 2.83 × 10^6 IJs/อาหารเทียม 45 มิลลิลิตร และใช้เวลาในการพัฒนาเข้าสู่ระยะเข้าทำลายระหว่าง 12-18 วัน สำหรับประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งทุกกรรมวิธี ยกเว้นกรรมวิธีที่ 5 มีค่าระหว่าง 35.00-40.80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในช่วงค่ามาตรฐานของ Miller (1999) ที่มีผลอยู่ระหว่าง 28.50 - 44.10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่ 5 มีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐาน คือ 21.60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคำนวณราคาของอาหารเทียมแบบเหลวรูปแบบขวดเขย่า (liquid media) สูตรต่างๆ พบว่า กรรมวิธีที่ 1 – 6 มีราคาอยู่ที่ 0.96, 3.05, 3.13, 3.09, 6.43 และ 1.53 บาท/อาหารเทียม 45 มิลลิลิตร ตามลำดับ (Table 3) (Figure 2)

2.2 ศึกษาอัตราส่วนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* และแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เหมาะสมในอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า (liquid media) และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ได้จากการผลิต

จากการศึกษาอัตราส่วนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* และแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เหมาะสมในอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า พบว่า กรรมวิธีที่ 10 ที่มีปริมาณ *S. glaseri* ตั้งต้นที่ 10,000 IJs และความเข้มข้นของ *X. poinarii* ที่ 1 x 10^7 เซลล์/มิลลิลิตร สามารถผลิตระยะ IJs ได้มากที่สุดเท่ากับ 2.56x10^6 IJs/อาหารเทียม 45 มิลลิลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5, 6, 7, 9 และ 13 ส่วนประสิทธิภาพการเข้าทำลายของหนอนกินรังผึ้งในทุกกรรมวิธียกเว้น กรรมวิธีที่ 3 มีค่าอยู่ระหว่าง 29.10-54.17 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในช่วงค่ามาตรฐานของ Miller (1999) ที่มีค่าอยู่ระหว่าง 28.50 - 44.10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมที่ 3 ที่ค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐาน คือ 24.17 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่านี้ ได้ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง มากกว่าสูตรอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่าของ Abu *et al*., (1998) ที่ผลิตได้ 1.44 x10^6 IJs/อาหารเทียม 45 มิลลิลิตร ซึ่งสาทิพย์ และวิไลวรรณ (2556) ทดสอบแล้วพบว่า สูตรอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวระดับขวดเขย่า ของวัชรี (2544) ที่ใช้ผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ไม่สามารถผลิตขยายไส้เดือนศัตรูแมลง *S. glaseri* ได้ (Table 4)

<u>ขั้นตอนที่ 3</u> ศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* (ปี 2567)

3.1 ศึกษาวัสดุการเก็บรักษาที่เหมาะสมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ผลิตได้จากอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่เก็บในวัสดุการเก็บรักษาต่างๆ

การทดสอบวัสดุการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ผลิตด้วยอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลว พบว่าในกรรมวิธีที่ 1 ชิ้นฟองน้ำสังเคราะห์ขนาด 1x1x1 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต สูงสุดในเดือนที่ 1 มีค่า 70.81 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในเดือนถัดไปและ กรรมวิธีอื่น มี

เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ต่ำกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงอย่าง (Table 5) (Figure 3) ส่วนประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง พบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในกรรมวิธีที่ 1 ในเดือนที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง สูงที่สุด คือ 49.17 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าสูงกว่าค่ามาตรฐานของ Miller (1999) ที่มีค่าอยู่ระหว่าง 28.50 - 44.10 เปอร์เซ็นต์ (Table 6) โดยสาทิพย์ และวิไลวรรณ (2556) สามารถเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่เลี้ยงด้วยแมลงอาศัยในชิ้นฟองน้ำขนาดเล็กได้นาน 4 เดือน

3.2 ศึกษาวัสดุการเก็บรักษาที่เหมาะสมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ผลิตได้จากอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า (liquid media) และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่เก็บในวัสดุการเก็บรักษาต่างๆ

การทดสอบวัสดุการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ผลิตด้วยอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า พบว่าในกรรมวิธีที่ 1 ชิ้นฟองน้ำสังเคราะห์ขนาด 1x1x1 เซนติเมตร ในเดือนที่ 1 - 4 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* สูงสุด ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ และในเดือนที่ 5 - 9 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ดังนี้ 99.96, 97.75, 96.3,3 93.42 และ 84.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ 2 ชิ้นฟองน้ำสังเคราะห์ขนาด 8x10x1 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* รองลงมา โดยในเดือนที่ 1 -6 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ดังนี้ 91.08, 90.79, 89.42, 88.96, 82.25 และ 83.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 7) ส่วนประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง พบว่าในทุกกรรมวิธี มีเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง อยู่ระหว่าง 11.67 – 49.67 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าต่ำกว่าจนไปถึงสูงกว่าค่ามาตรฐานของ Miller (1999) ที่มีค่าอยู่ระหว่าง 28.50 - 44.10 เปอร์เซ็นต์ (Table 9) โดย วัชรี และคณะ (2550) ได้ทดสอบแล้ว พบว่าชิ้นฟองน้ำสังเคราะห์ขนาด 1x1x1 เซนติเมตร สามารถเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ได้นาน 6 เดือน โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ แต่สูตรดินผงสามารถเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ได้นาน 6 เดือน โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ด้วยอาหารเทียม พบว่าอาหารเทียมรูปแบบแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) ที่ประกอบด้วย ฟองน้ำสังเคราะห์ Brewer's yeast ไข่แดงอบแห้ง corn meal น้ำมันข้าวโพด น้ำ เมื่อทำการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง โดยใช้ปริมาณต้นเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* 70,000 IJs กับแบคทีเรียร่วมอาศัย *X. poinarii* 1 x 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร สามารถผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ระยะ IJs ได้ 12.43 x 10^6 IJs/อาหารเทียม 45 กรัม ส่วนวัสดุการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* สามารถเก็บในชิ้นฟองน้ำสังเคราะห์ขนาด 1x1x1 เซนติเมตร ได้นาน 1 เดือน จึงมีความเหมาะในการใช้ควบคุมและกำจัดแมลงทันทีหลังการผลิต และอาหารเทียมรูปแบบอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า (liquid media) ที่ประกอบด้วย meat extract yeast extract แป้งข้าวโพด ไข่ น้ำมันข้าวโพด น้ำมันหมู น้ำ เมื่อทำการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง โดยใช้ปริมาณต้นเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* 10,000 IJs กับ

แบคทีเรียร่วมอาศัย *X. poinarii* 1x10^{7}เซลล์ต่อมิลลิลิตร สามารถผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ระยะ IJs ได้ 2.56 x 10^{6} IJs/อาหารเทียม 50 มิลลิลิตร สามารถเก็บรักษาในชิ้นฟองน้ำสังเคราะห์ขนาด 1x1x1 เซนติเมตร ได้นานถึง 9 เดือน และยังคงมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่า 70 เปอร์เซ็นต์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณกลุ่มงานบักเตรีวิทยา ภายใต้กลุ่มวิจัยโรคพืช ในการอนุเคราะห์เครื่องมือวิทยาศาสตร์เพื่อใช้ในงานวิจัย ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ผลการทดลอง และขอขอบคุณคณะทำงานห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

วัชรี สมสุข และสุทธิชัย สมสุข. 2544. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่องผลงานวิจัยโครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับการค้า กรมวิชาการเกษตร. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 172 หน้า

วัชรี สมสุข วิไลวรรณ เวชยันต์และสาทิพย์ มาลี 2550 การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในรูปผงรายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. หน้า 799-810.

สาทิพย์ มาลี และวิไลวรรณ เวชยันต์. 2556. วิจัยและพัฒนาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. หน้า721-731.

Abu Hatab, M., Gaugler R., Ehlers R.U. 1998. Influence of culture method on *Steinernema glaseri* lipids. J Parasitol. 84(2): 215-221. PMID: 9576490.

Converse. V. and W. Miller. 1999 Development of the One-on-One Quality Assessment Assay for Entomopathogenic Nematodes. Journal of Invertebrate Pathology 74, 143–148.

Leite, L. G., D. I. Shapiro-Ilan, S. Hazir. 2018 Survival of Steinernema feltiae in different formulation substrates: Improved longevity in a mixture of gel and vermiculite. Biological Control. 126: 192-197

Lunau, S.S.S., A.J.S. Peisker and R-U. Ehlers. 1993. Establishment of Monoxenic Inocula for Scaling-up in Vitro Cultures of the Entomopathogenic Nematodes *Steinernema* spp. And *Heterorhabditis* spp. Nematologica. 39: 385-393.

Miller, R.W. 1999. Novel Pathogenicity Assessment Techniquae for *Steinernema* and *Heterorhabditis* Entomopathogenic Nematodes. J. Nematol. 21: 574.

Table 1 Table shows the quantity of the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri* and the efficacy in infecting wax moth larvae (*Galleria mellonella*) produced from five different semi-solid media formulations, along with the cost of each diet

Treatment	Number of nematodes produced (IJs[1/]/45 g of media)	Percentage of wax moth larvae mortality (%)	Cost of artificial diet (Baht/flask, 45 mL)
Treatment 1	5.35×10^6 ab	34.58	5
Treatment 2	4.70×10^6 c	37.08	26
Treatment 3	8.10×10^6 a	35.00	13
Treatment 4	2.42×10^6 d	42.08	11
Treatment 5	6.49×10^6 b	33.75	26
CV (%)	**16.5**		

***** Ingredients of semi-solid media

- Treatment 1: Synthetic sponge + soybean meal + dried egg yolk + corn oil + water
- Treatment 2: Synthetic sponge + soybean meal + wax moth larvae + corn oil + water
- Treatment 3: Synthetic sponge + Brewer's yeast + dried egg yolk + cornmeal + corn oil + water
- Treatment 4: Synthetic sponge + dry whole yeast + dried egg yolk + corn oil + water (Lunau et al, 1993)
- Treatment 5: Synthetic sponge + liver-flavored dog food + wax moth larvae + lard + water (Wacharee, 2001)

[1/]IJs: Number of infective juvenile nematodes

Comparison of the number of nematodes produced from the five semi-solid media using DMRT at a 95% confidence level.

Table 2 Table shows the quantity of *Steinernema glaseri* nematodes produced from the study of the optimal ratio of *Steinernema glaseri* and the initial concentration of the symbiotic bacterium *Xenorhabdus poinarii* in semi-solid media and the percentage of wax moth larvae mortality

Treatment	symbiotic bacteria concentration cell/mL	Number of nematodes (IJs) [1/]	Quantity of nematode produced (IJs[1/]/45 g of media)	Percentage of wax moth larvae mortality (%)
Treatment 1	No-added	5,000	$1.03X10^6$ g	22.50
Treatment 2		10,000	$2.47 X10^6$ fg	22.58
Treatment 3		30,000	$1.35 X10^6$ g	20.00
Treatment 4		50,000	$2.47 X10^6$ fg	33.33
Treatment 5		70,000	$1.53 X10^6$ G	23.33
Treatment 6	$1X10^6$	5,000	$1.13 X10^6$ g	31.66
Treatment 7		10,000	$2.97 X10^6$ fg	37.50
Treatment 8		30,000	$2.55 X10^6$ fg	35.83
Treatment 9		50,000	$2.93 X10^6$ g	34.16
Treatment 10		70,000	$5.47 X10^6$ ef	20.83
Treatment 11	$1X10^7$	5,000	$6.43 X10^6$ de	36.66
Treatment 12		10,000	$9.87 X10^6$ abc	35.83
Treatment 13		30,000	$1.00 X10^7$ ab	35.83
Treatment 14		50,000	$1.04 X10^7$ ab	35.83
Treatment 15		70,000	$1.22 X10^7$ a	34.16
Treatment 16	$1X10^8$	5,000	$6.93 X10^6$ cde	35.83
Treatment 17		10,000	$6.15 X10^6$ de	23.33
Treatment 18		30,000	$9.02 X10^6$ bcd	31.66
Treatment 19		50,000	$1.09 X10^7$ ab	28.33
Treatment 20		70,000	$1.24 X10^7$ a	35.83
	CV (%)		23.1%	

[1/] IJs: Number of infective juvenile nematodes

Comparison of the quantity of entomopathogenic nematodes produced from different initial inoculum levels of *Steinernema glaseri* and initial concentrations of the symbiotic bacterium *Xenorhabdus poinarii*, using DMRT at a 95% confidence level.

Table 3 Table shows the quantity of the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri* and the efficacy in infecting wax moth larvae (*Galleria mellonella*) produced from five different liquid media formulations, along with the cost of each diet

Treatment	Number of nematodes produced (IJs[1/]/45 g of media)	Percentage of wax moth larvae mortality (%)	Cost of artificial diet (Baht/flask, 45 mL)
Treatment 1	$8.50x10^5$ c	37.50	0.96
Treatment 2	$2.09x10^6$ b	40.00	3.05
Treatment 3	$2.83x10^6$ a	40.80	3.13
Treatment 4	$6.21x10^5$ cd	35.00	3.09
Treatment 5	$5.00x10^3$ d	21.60	6.43
Treatment 6	$8.13x10^5$ c	40.80	1.53
CV (%)	35.3		

***** Ingredients of Liquid Media

- Treatment 1: Soybean flour + yeast + cornmeal + egg + corn oil + water
- Treatment 2: Meat extract + yeast extract + cornmeal + egg + wate
- Treatment 3: Meat extract + yeast extract + cornmeal + egg + corn oil + lard + water
- Treatment 4: Meat extract + yeast extract + egg + corn oil + water
- Treatment 5: Meat extract + yeast extract + peptone from casein C + soy peptone + K_2HPO_4 + KCl + $CaCl_2$ + NaCl + corn oil + water
- Treatment 6: Tryptic soy broth + yeast + egg + corn oil + lard + water

[1/] IJs: Number of infective juvenile nematodes

Comparison of the quantity of entomopathogenic nematodes produced from all 6 liquid media formulations at the shake flask level using DMRT at a 95% confidence level.

Table 4 Table showing the quantity of *Steinernema glaseri* nematodes and produced from the study of the optimal ratio of *Steinernema glaseri* and the initial concentration of the symbiotic bacterium *Xenorhabdus poinarii* in liquid media the Percentage of wax moth larvae mortality

Treatment	symbiotic bacteria concentration cell/mL	Number of nematodes (IJs)[1/]	Quantity of nematode produced (IJs/45 g of media)	Percentage of wax moth larvae mortality (%)
Treatment 1	No-added	5,000	2,027.78 f	31.00
Treatment 2		10,000	4,750.00 f	29.10
Treatment 3		15,000	6,277.78 f	24.17
Treatment 4		20,000	9,500.00 f	30.00
Treatment 5	$1X10^6$	5,000	$2.12X10^6$ abc	54.10
Treatment 6		10,000	$2.40X10^6$ ab	43.33
Treatment 7		15,000	$2.23X10^6$ abc	44.17
Treatment 8		20,000	$1.53X10^6$ b-e	40.00
Treatment 9	$1X10^7$	5,000	$1.69X10^6$ a-e	45.83
Treatment 10		10,000	$2.56X10^6$ a	54.17
Treatment 11		15,000	$1.43X10^6$ cde	45.83
Treatment 12		20,000	$7.58X10^5$ ef	45.00
Treatment 13	$1X10^8$	5,000	$1.97X10^6$ a-d	50.83
Treatment 14		10,000	$1.50X10^6$ b-e	49.17
Treatment 15		15,000	$1.06X10^6$ de	52.50
Treatment 16		20,000	$8.75X10^5$ ef	44.17
	CV (%)		56.5%	

[1/] IJs: Number of infective juvenile nematodes

Comparison of the quantity of entomopathogenic nematodes produced from different initial inoculum levels of *Steinernema glaseri* and initial concentrations of the symbiotic bacterium *Xenorhabdus poinarii*, using DMRT at a 95% confidence level.

Table 5 Percentage survival of *Steinernema glaseri* produced by semi-solid artificial media and stored in different materials for 12 months

Treatments	Survival rate of the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri* in each month (%)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Treatment 1: Synthetic sponge (size 1×1×1 cm)	70.81	53.31	49.62	49.12	42.62	42.62	29.93	16.91	14.46	10.46	7.46	0.00
Treatment 2: Synthetic sponge (size 8×10×1 cm)	43.68	41.93	38.31	36.00	37.81	38.56	22.31	9.69	7.87	8.87	4.14	0.00
Treatment 3: Attapulgite + pumice + preservative	31.12	21.81	21.31	19.87	19.12	19.75	16.37	7.81	8.93	6.33	3.63	0.00
Treatment 4: Vermiculite + polyacrylamide gel	39.25	38.62	37.18	36.62	31.12	32.87	16.00	1.63	1.89	1.89	1.90	0.00
Treatment 5: Distilled water (control)	14.68	9.00	6.50	5.06	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Table 6 Infectivity of *Steinernema glaseri* against greater wax moth larvae after being mass-produced using semi-solid media and stored in different materials for 12 months

Treatments	Mortality of wax moth larvae (*Galleria mellonella*) in each month (%)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Treatment 1: Synthetic sponge (size 1×1×1 cm)	49.17	21.67	47.50	28.33	27.50	35.83	35.83	27.50	20.83	25.00	16.67	N/A
Treatment 2: Synthetic sponge (size 8×10×1 cm)	37.50	25.83	43.33	28.33	30.83	25.00	50.83	25.00	27.50	25.00	23.33	N/A
Treatment 3: Attapulgite + pumice + preservative	25.00	28.33	27.50	34.17	28.33	34.17	30.83	29.17	26.67	19.17	17.50	N/A
Treatment 4: Vermiculite + polyacrylamide gel	31.67	20.83	25.83	41.67	17.50	34.17	18.33	25.00	24.17	19.17	30.83	N/A
Treatment 5: Distilled water (control)	38.33	18.33	35.00	38.33	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

Table 7 Percentage survival of *Steinernema glaseri* produced by liquid media in shake flasks and stored in different materials for 12 months

Treatments	Survival rate of the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri* in each month (%)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Treatment 1: Synthetic sponge (size 1×1×1 cm)	100.00	100.00	100.00	100.00	99.96	97.75	96.33	93.42	84.25	68.67	65.79	35.92
Treatment 2: Synthetic sponge (size 8×10×1 cm)	91.08	90.79	89.42	88.96	82.25	83.79	78.50	77.25	68.63	49.54	47.17	46.79
Treatment 3: Attapulgite + pumice + preservative	78.33	77.67	75.58	74.63	75.83	73.17	70.75	67.71	60.33	58.79	56.71	33.54
Treatment 4: Vermiculite + polyacrylamide gel	85.00	78.54	71.71	68.21	66.88	63.71	60.33	61.00	57.79	54.42	52.88	16.38
Treatment 5: Distilled water (control)	80.54	74.42	N/A	50.46	48.58	23.29	23.25	25.63	10.67	5.83	5.54	5.29

Table 8 Infectivity of *Steinernema glaseri* against greater wax moth larvae after being mass-produced using liquid media in shake flasks and stored in different materials for 12 months

Treatments	Mortality of wax moth larvae (*Galleria mellonella*) in each month (%)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Treatment 1: Synthetic sponge (size 1×1×1 cm)	35.83	38.33	33.33	26.67	17.50	26.67	16.67	29.167	40.00	35.00	44.17	44.17
Treatment 2: Synthetic sponge (size 8×10×1 cm)	36.67	36.67	43.33	34.17	15.83	29.17	25.00	31.67	40.00	40.83	42.50	27.50
Treatment 3: Attapulgite + pumice + preservative	26.67	24.167	26.67	37.50	19.17	31.67	23.33	11.67	45.00	46.67	34.17	29.17
Treatment 4: Vermiculite + polyacrylamide gel	30.83	22.50	24.17	30.83	20.83	22.50	30.00	25.00	27.50	46.67	35.83	35.00
Treatment 5: Distilled water (control)	35.00	35.00	N/A	33.33	23.33	26.67	32.50	26.67	39.17	49.17	37.50	43.33

Figure 1 Equipment and procedures of semi-solid media for mass production of the *Steinernema glaseri*

- A. Preparation of different semi-solid media ingredient mixtures
- B. Preparation of different semi-solid media formulations
- C. Cultivation of symbiotic bacterium *X. poinarii*
- D. Inoculation of *S. glaseri* into different semi-solid medias
- E. Bottles containing different semi-solid media and showing the development of *S. glaseri*
- F. Washing process of *S. glaseri* from semi-solid media

Figure 2 Equipment and procedures of liquid media for mass production of the *Steinernema glaseri* in shaking flask level

- A. Preparation of the symbiotic bacterium *X. poinarii*
- B. Inoculation of *X. poinarii* into the liquid media
- C. Different liquid media before inoculation with *S. glaseri* and *X. poinarii*
- D. Different liquid media after 12 days of shaking
- E. Shaking liquid media at 120 rpm
- F. *S. glaseri* developed in liquid media

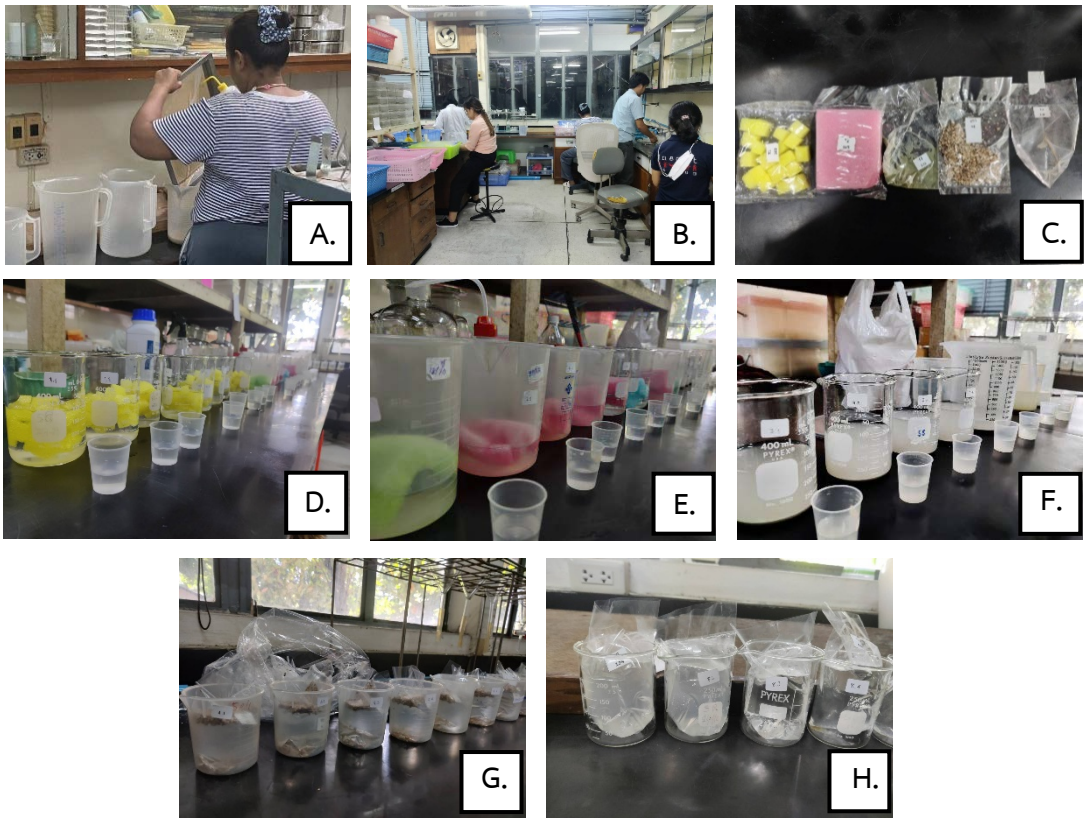


Figure 3 Equipment and procedures for storage materials testing for preserving the *Steinernema glaseri*

- A. Collecting *S. glaseri* nematodes from the media
- B. Preparation of storage materials
- C. Five different storage materials for *S. glaseri*
- D.-Z. Preparation the samples before counting the survival of *S. glaseri* after stored in five materials

การพัฒนาสูตรสำเร็จไวรัส NPV หนอนกระทู้หอมในรูปผงละลายน้ำ

Development on Water-soluble Powder Formulation of SeNPV

อนุสรณ์ พงษ์มี อิศเรส เทียนทัด

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The study of the NPV virus formulation for beet armyworm (SeNPV) in water-soluble powder form was conducted at the Entomology and Zoology group's laboratory, Plant Protection Research and Development Office and in the asparagus fields at Kranuan District, Khon Kaen Province from October 2021 to September 2024. The objective focuses to developing of a formulation of SeNPV from a liquid formula to a water-soluble powder formulation. The results showed that the mixture of the SeNPV virus + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal at a ratio of 5:1.66:1.66:1.66, with a concentration of 3 x 10^9 PIBs/ml, can stored at a temperature of 25±3 ^{o}C and 10±3 ^{o}C, could be preserved for a period of 12 months. The SeNPV virus in a water-soluble powder form at a rate of 15 grams per 20 liters of water can effectively control the beet armyworm comparable to the DOA BIO-V1 at a rate of 20 milliliters per 20 liters of water, and spinetoram 12% SC at a rate of 20 milliliters per 20 liters of water. However, the SeNPV in water-soluble powder form has advantages over the DOA BIO-V1 biopesticide in liquid form regarding longer shelf life, lighter product weight, and greater convenience in use.

Keywords : water-soluble powder formulation of *Spodoptera exigua* nucleopolyhedrovirus (SeNPV), beet armyworm, asparagus

รหัสการทดลอง FF65-10-02-65-01-02-65

บทคัดย่อ

การศึกษาสูตรสำเร็จไวรัส NPV หนอนกระทู้หอม (SeNPV) ในรูปผงละลายน้ำ ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร อำเภอกระนวน จังหวัดขอนแก่น ตั้งแต่เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึง กันยายน พ.ศ. 2567 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรสำเร็จของไวรัส NPV หนอนกระทู้หอมจากสูตรน้ำเป็นสูตรผงละลายน้ำ ผลการทดลองพบว่า สูตรผสม ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66 ที่ความเข้มข้น 3 x 10^9 PIBs/ml สามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25±3 องศาเซลเซียส และในที่อุณหภูมิ 10±3 องศาเซลเซียส ได้เป็นระยะเวลา 12 เดือน และจากการทดสอบประสิทธิภาพในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง พบว่า ไวรัส SeNPV รูปผงละลายน้ำ อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ดีเทียบเท่ากรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ DOA BIO-V1 อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร แต่สูตรสำเร็จไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำจะมีข้อดีกว่าชีวภัณฑ์ DOA BIO-V1 ที่เป็นสูตรน้ำในเรื่องของอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานกว่า น้ำหนักของผลิตภัณฑ์ที่น้อยกว่าและมีความสะดวกในการใช้มากขึ้น

คำหลัก : ไวรัส SeNPV รูปแบบผงละลายน้ำ, หนอนกระทู้หอม, หน่อไม้ฝรั่ง

คำนำ

หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ที่สร้างความเสียหายให้กับพืชปลูกมาอย่างยาวนานและต่อเนื่อง สามารถพบการระบาดของหนอนกระทู้หอมได้ตลอดเวลา ทั้งนี้เพราะหนอนมีพืชอาหารกว้าง (อิศเรส, 2552) สำหรับประเทศไทยหนอนกระทู้หอมสามารถทำลายพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้ 33 ชนิด บทบาทความสำคัญทางเศรษฐกิจจากการเข้าทำลายหอมแดงอย่างรุนแรงเริ่มขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2516 เป็นต้นมา (กองกีฏและสัตววิทยา, 2538)

โดยปกติไวรัส NPV (Nucleopolyhedrovirus) ที่เป็นจุลินทรีย์ของแมลงหลากหลายชนิด สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งบนผิวของต้นพืช ใต้ผิวดิน และออกมาจากตัวแมลงอาศัย มีความทนทานต่อความชื้น ความแห้งแล้ง และแรงกดดัน แต่จะถูกทำลายเมื่อถูกแสงแดดและรังสีอัลตร้าไวโอเลต (UV) ที่มีความยาวคลื่นในช่วง 280-320 นาโนเมตร (Mondal *et al.,* 2021) ในปี ค.ศ. 1968 Hunter and Hall ได้ศึกษารูปร่างของผลึกโปรตีนที่ห่อหุ้มนิวคลีโอแคปสิดของไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) พบว่ามีลักษณะเป็นรูปหลายเหลี่ยมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 1-6 ไมโครเมตร มีนิวคลีโอแคปสิดประกอบด้วย virion 2-3 อนุภาค โดยไวรัส NPV เป็นจุลินทรีย์ชนิดที่มีความเฉพาะเจาะจงสูงต่อแมลงเป้าหมาย จึงปลอดภัยต่อแมลงศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์ มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อมสูง เหมาะสมในการใช้ควบคุม

ศัตรูพืช สามารถใช้ร่วมกับวิธีการป้องกันกำจัดอื่นๆ ในระบบการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management) และลดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช (กรมวิชาการเกษตร, 2542)

ปัจจุบันการผลิตไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม (SeNPV) สามารถผลิตได้ทั้งวิธีการปลูกเชื้อในแมลงอาศัยและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยสิ่งที่มีอิทธิพลต่อการเพิ่มจำนวนของผลึกไวรัสคือสภาวะแวดล้อมต้องมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ใกล้เคียงค่า 6.5 (Jakubowska, 2009) ในปัจจุบันการปลูกเชื้อในแมลงอาศัยเป็นวิธีที่นิยมและผลิตได้ง่ายด้วยการบังคับให้หนอนกระทู้หอมกินไวรัส SeNPV ในปริมาณเล็กน้อยจากนั้นนำมาเลี้ยงด้วยอาหารเทียม เมื่อหนอนกระทู้หอมเจริญเติบโต ไวรัส SeNPV จะเพิ่มจำนวนผลึกเป็นทวีคูณทำให้หนอนตายจึงเก็บรวบรวมหนอนตายไปใช้ผลิตเชื้อสดต่อไป

ปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรมีชีวภัณฑ์ไวรัส NPV หนอนกระทู้หอมในรูปแบบน้ำที่สามารถป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมได้อย่างมีประสิทธิภาพอยู่แล้ว แต่ผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV ยังมีสิ่งที่ต้องปรับปรุง เช่น การเกิดก๊าซภายในขวดบรรจุภัณฑ์ อายุการเก็บรักษาที่สั้น รวมไปถึงน้ำหนักของบรรจุภัณฑ์ที่มากทำให้ค่าใช้จ่ายในการขนส่งสูง ดังนั้นการทำสูตรสำเร็จไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำจึงเป็นการพัฒนาเพื่อแก้ปัญหาข้างต้นและสามารถนำไปใช้ได้สะดวกมากขึ้นในแปลงเกษตรกร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไวรัส NPV หนอนกระทู้หอม (SeNPV)
2. ชีวภัณฑ์ไวรัส NPV หนอนกระทู้หอม (DOA BIO-V1)
3. อาหารเทียมเลี้ยงแมลง
4. หนอนกระทู้หอม
5. เครื่อง freeze dryer
6. เครื่องปั่นขนาด 2.5 ลิตร
7. kaolin clay
8. Titanium dioxide
9. Carbon charcoal
10. Skim milk
11. ถ้วยพลาสติกใสแบบมีฝาปิด ขนาด 1 ออนซ์
12. Micropipette
13. Haemacytometer
14. pH meter
15. กล้องจุลทรรศน์

16. หลอดไฟรังสีอัลตร้าไวโอเลต UVB (Phillips TL/01)
17. เครื่องคนสารละลายอัตโนมัติ (Magnetic stirrers)
18. บีกเกอร์

วิธีการ

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> ศึกษาคุณสมบัติของสูตรสำเร็จไวรัส NPV หนอนกระทู้หอม (SeNPV) ในรูปแบบผงละลายน้ำในสูตรต่างๆ มี 2 ขั้นตอน ดังนี้ (ปี 2565)

1.1 ศึกษาคุณสมบัติของ SeNPV ที่ทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration)

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

เตรียมสูตรสำเร็จโดยนำสารประกอบต่างๆ ได้แก่ kaolin clay, Titanium dioxide, Carbon charcoal และ Skim milk ผสมกับไวรัส SeNPV ที่ความเข้มข้น $1x10^{10}$ PIBs/มิลลิลิตร ในอัตราส่วนต่างๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal + Skim milk (อัตราส่วน 5 : 1.25 : 1.25 : 1.25 : 1.25)

กรรมวิธีที่ 2 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66)

กรรมวิธีที่ 3 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Skim milk (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66)

กรรมวิธีที่ 4 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide (อัตราส่วน 5 : 2.5 : 2.5)

กรรมวิธีที่ 5 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal + Skim milk (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66)

กรรมวิธีที่ 6 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal (อัตราส่วน 5 : 2.5 : 2.5)

กรรมวิธีที่ 7 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Skim milk (อัตราส่วน 5 : 2.5 : 2.5)

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

ผสมสารทดลองในแต่ละกรรมวิธีให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration) จากนั้นทำการบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นแบบปั่นละเอียด ทำการตรวจสอบและบันทึกลักษณะทางกายภาพของสูตรสำเร็จที่บดละเอียดเป็นผงแห้งแล้ว

จากนั้นทำการศึกษาความสามารถในการละลายน้ำและความเป็นกรด-ด่าง ของสูตรสำเร็จแต่ละกรรมวิธี โดยชั่งสูตรสำเร็จ 1 กรัม ใส่ในน้ำกลั่น 99 มิลลิลิตร แล้วนำมาละลายโดยใช้แท่งแม่เหล็กคนที่ความเร็ว 200 รอบ/วินาที นาน 30 วินาที บันทึกผลการละลายน้ำ และทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ pH meter ในการวัด โดยทำการวัด 5 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ย

จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้หอม ของสูตรสำเร็จแต่ละกรรมวิธี ด้วยการใช้วิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 1 ออนซ์ หยดด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเทียม ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนกระทู้หอมวัย 3 ใส่ถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอน 10 ตัวต่อซ้ำ ตรวจนับและบันทึกผลการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยหนอนที่ไม่ตอบสนองต่อการเขี่ยของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตาย หากพบหนอนตายใน control มากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ให้ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925) ทำการทดลองเปรียบเทียบกับ ชีวภัณฑ์ ไวรัส SeNPV ของกรมวิชาการเกษตร (DOA BIO-V1) ตรวจนับและบันทึกการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 7 วัน

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนหนอนกระทู้หอมที่ตาย

1.2 ศึกษาผลกระทบของรังสีอัลตร้าไวโอเลต ที่มีต่อไวรัส SeNPV รูปผงละลายน้ำในในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

นำไวรัส SeNPV แต่ละสูตรผสมตามกรรมวิธีที่ 1.1 หยดลงบนอาหารเทียมที่เตรียมไว้ในถ้วยพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 1 ออนซ์ ถ้วยละ 30 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้ง นำไปวางใต้แสงจากหลอดไฟรังสีอัลตร้าไวโอเลตชนิด B (UVB) ที่ให้แสงที่ความยาวคลื่น 311 นาโนเมตร เป็นระยะเวลาตั้งแต่ 0-8 ชั่วโมง จากนั้นนำอาหารเทียมที่ที่ผ่านรังสี UVB ที่ระยะเวลาต่างๆ ให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 กิน ทำการทดสอบจำนวน 4 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ซ้ำละ 10 ตัว บันทึกเปอร์เซ็นต์การตายเป็นระยะเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับชีวภัณฑ์ ไวรัส DOA BIO-V1 บันทึกและวิเคราะห์ผลการทดลองเพื่อคัดเลือกสูตรสำเร็จไปใช้เป็นไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนหนอนกระทู้หอมที่ตาย

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> การศึกษาอัตราการใช้และวิธีการเก็บรักษาไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ (ปี 2566)

2.1 ทดสอบอัตราการใช้ของสูตรสำเร็จไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ

คัดเลือกสูตรสำเร็จไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุดจากขั้นตอนที่ 1.2 มาทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมวัย 3 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวนด้วย 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ชีวภัณฑ์ไวรัส SeNPV (DOA BIO-V1) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ไม่ใช้สารทดลอง (control)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนกระทู้หอมวัย 3 ด้วยวิธี ทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนกระทู้หอมวัย 3 ด้วยวิธี Diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 1 ออนซ์ หยดด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเทียม ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนกระทู้หอมวัย 3 ใส่ถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอน 10 ตัวต่อซ้ำ ตรวจนับและบันทึกผลการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยหนอนที่ไม่ตอบสนองต่อการเขี่ยของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตาย หากพบหนอนตายใน control มากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ให้ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนหนอนกระทู้หอมที่ตาย

2.2 ศึกษาการมีชีวิตรอดและประสิทธิภาพของไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ ด้วยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น

ทำการเก็บรักษาไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ โดยนำไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ แบ่งบรรจุใส่ซองพลาสติกทึบแสงที่ปิดสนิท ปริมาณ 1 กรัม จำนวน 20 ซอง นำไปเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นทีมีอุณหภูมิ 10±3 องศาเซลเซียส และเก็บในห้องปกติที่มีอุณหภูมิ 25±3 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลา 1 เดือน นำตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้มาทำการนับจำนวนผลึกไวรัส SeNPV ในสูตรสำเร็จโดยใช้ haemacytometer รวมทั้งนำมาทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนกระทู้หอมวัย 3 ด้วยวิธี Diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 1 ออนซ์ หยดด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเทียม ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนกระทู้หอมวัย 3 ใส่ถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอน 10 ตัวต่อซ้ำ จำนวน 4 ซ้ำ ตรวจนับและบันทึกผลการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยหนอนที่ไม่ตอบสนองต่อการเขี่ยของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตาย หากพบหนอนตาย ทำการทดสอบทุกเดือน เป็นเวลา 12 เดือน

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนหนอนกระทู้หอมที่ตาย
- จำนวนผลึกไวรัส SeNPV ในสูตรสำเร็จ

ขั้นตอนที่ 3 การทดลองประสิทธิภาพการใช้ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำในสภาพไร่ (ปี 2567)

คัดเลือกอัตราการใช้ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ ที่เหมาะสมจากการขั้นตอนที่ 2 มาทำการทดลองในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ อัตรา 15 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ชีวภัณฑ์ไวรัส SeNPV (DOA BIO-V1) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 spinetoram 12 เปอร์เซ็นต์ SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ไม่ใช้สารทดลอง (control)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงหน่อไม้ฝรั่ง ที่มีระยะห่างระหว่างต้น 30 เซนติเมตร ระยะห่างระหว่างแปลง 170 เซนติเมตร แปลงย่อยขนาด 5 x 6 เมตร ใช้เครื่องพ่นเครื่องยนต์สะพายหลังชนิดแรงดันน้ำสูง ทำการพ่นสารทดลองทุก 7 วัน เริ่มพ่นสารทดลองเมื่อพบกลุ่มไข่ของหนอนกระทู้หอมมากกว่า 0.5 กลุ่มต่อตารางเมตร หรือพบการทำลายของหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 3 กอต่อตารางเมตร ทำการตรวจนับเปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอน โดยสุ่มนับแปลงย่อยละ 10 กอ

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนหนอนกระทู้หอมที่พบ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567
- ห้องปฏิบัติการไวรัส NPV กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
- แปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร ตำบลหัวนาคำ อำเภอกระนวน จังหวัดขอนแก่น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาคุณสมบัติของสูตรสำเร็จไวรัส NPV หนอนกระทู้หอม (SeNPV) ในรูปแบบผงละลายน้ำในสูตรต่างๆ

1.1 ศึกษาคุณสมบัติของ SeNPV ที่ทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration)

นำสูตรสำเร็จไวรัส NPV สูตรต่างๆ มาทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer เมื่อสูตรสำเร็จไวรัส NPV แห้งสนิท นำมาบดเป็นผงละเอียด (Figure 1A) พบว่ามีความเข้มข้น 3 x 10^9 PIBs/ml จากนั้นทดสอบการละลายของสูตรสำเร็จแต่ละกรรมวิธี พบว่า ทุกกรรมวิธีสามารถละลายน้ำได้ และพบว่าสูตรสำเร็จแต่ละกรรมวิธี รวมทั้งชีวภัณฑ์ไวรัส DOA BIO-V1 มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.72 – 6.95 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บไวรัส SeNPV (Table 1) สอดคล้องกับ Jakubowska, 2009 ที่รายงานว่าสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต้องมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ใกล้เคียงค่า 6.5

ประสิทธิภาพการกำจัดหนอนกระทู้หอมของสูตรสำเร็จแต่ละกรรมวิธี พบว่าทุกกรรมวิธีสามารถทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตายมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 7 วัน (Figure 1B) นับตั้งแต่หนอนกระทู้หอมได้รับไวรัส SeNPV (Table 2)

1.2 ศึกษาผลกระทบของรังสีอัลตร้าไวโอเลต ที่มีต่อไวรัส SeNPV รูปผงละลายน้ำในในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ทำการศึกษาประสิทธิภาพความทนทานต่อแสงอัลตร้าไวโอเลต (UV) ของไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ เปรียบเทียบกับชีวภัณฑ์ ไวรัส DOA BIO-V1 โดยใช้หลอดไฟรังสีอัลตร้าไวโอเลต ชนิด B (UVB) ที่มีความยาวคลื่น 311 นาโนเมตร (Figure 2) ที่ระยะเวลาต่างๆ จากผลการทดลอง (Table 3) พบว่า เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ PIBs/ml โดยไม่ได้รับแสงจากหลอดไฟ UVB กับหนอนกระทู้หอมวัย 3 พบว่าทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพที่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธี ชีวภัณฑ์ ไวรัส DOA BIO-V1 โดยทำให้หนอนกระทู้หอม วัย 3 ตายในอัตรา 85.00 – 100 เปอร์เซ็นต์

เมื่อให้แสง UVB นาน 1 ชั่วโมง กับไวรัส SeNPV รูปผงละลายน้ำสูตรต่างๆ พบว่า หนอนกระทู้หอมวัย 3 มีอัตราการตายลดลง โดยทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตายได้ไม่แตกต่างกับกรรมวิธี ชีวภัณฑ์ ไวรัส DOA BIO-V1 โดยมีประสิทธิภาพในการทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตาย อยู่ในช่วง ระหว่าง 65.00 – 85.00 เปอร์เซ็นต์

เมื่อให้แสง UVB นาน 2 ชั่วโมง กับไวรัส SeNPV รูปผงละลายน้ำสูตรต่างๆ พบว่า ทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกระทู้หอมวัย 3 ได้ไม่แตกต่างกับกรรมวิธี ชีวภัณฑ์ ไวรัส DOA BIO-V1 โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้หอมวัย 3 อยู่ในช่วง 55.00 – 80.00 เปอร์เซ็นต์

เมื่อให้แสง UVB นาน 3 ชั่วโมง กับไวรัส SeNPV รูปผงละลายน้ำสูตรต่างๆ พบว่า หนอนกระทู้หอมวัย 3 มีอัตราการตายลดลงมาก โดยไวรัส SeNPV แบบผงกรรมวิธีต่างๆ ทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตายได้น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธี ชีวภัณฑ์ ไวรัส DOA BIO-V1 ที่ทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตาย 72.50 เปอร์เซ็นต์

เมื่อให้แสง UVB นาน 4 ชั่วโมง กับไวรัส SeNPV รูปผงละลายน้ำสูตรต่างๆ พบว่าทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธี ชีวภัณฑ์ ไวรัส DOA BIO-V1 โดยมีประสิทธิภาพในการทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตาย อยู่ในช่วงระหว่าง 34.65 – 52.95 เปอร์เซ็นต์

เมื่อให้แสง UVB นาน 5 - 8 ชั่วโมง กับไวรัส SeNPV รูปผงละลายน้ำสูตรต่างๆ พบว่า หนอนกระทู้หอมวัย 3 มีอัตราการตายลดลงมากในแต่ละกรรมวิธี ไปจนถึงไม่สามารถทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตายได้

จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อไวรัส SeNPV รูปผงละลายน้ำสูตรต่างๆ ถูกแสงจากหลอดไฟ UVB ที่มีความยาวคลื่น 311 นาโนเมตร เป็นระยะเวลานาน ประสิทธิภาพของไวรัส SeNPV รูปผงละลายน้ำสูตรต่างๆ ในการทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตาย จะมีอัตราที่ลดลงไปด้วย การเลือกสารผสมในสูตรต่างๆ เพื่อใช้ในการป้องกันรังสี UVB จึงมีความสำคัญ โดยการรายงานของ Çakmak และคณะ (2021) พบว่า charcoal และ iron ioxide มีคุณสมบัติในการเพิ่มประสิทธิภาพในการปกป้องผลึกไวรัส ในกลุ่ม Alphabaculovirus ของ *Chrysodeixis chalcites* (ChchNPV-TF1) จากรังสี UV ที่มีความเข้มข้น 200 J/cm^2 ได้เพิ่มขึ้น 87 – 100 เปอร์เซ็นต์ และยังสอดคล้องกับรายงานของ สมชัย

และคณะ (2560) ที่พบว่าสาร Titanium dioxide ช่วยให้ไวรัส SeNPV อยู่รอดได้ไม่น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์เมื่อได้รับรังสี UVB นานถึง 24 ชั่วโมง ดังนั้นจึงได้คัดเลือกไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำที่มีส่วนผสมของ charcoal ซึ่งมีคุณสมบัติในการป้องกันรังสี UV ได้ดี คือสูตร ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66 เพื่อใช้ในการทดลองในขั้นตอนต่อไป

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> การศึกษาอัตราการใช้และวิธีการเก็บรักษาไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ

2.1 ทดสอบอัตราการใช้ของสูตรสำเร็จไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ

นำไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66 ในรูปผงละลายน้ำในอัตราต่างๆ ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมวัย 3 เปรียบเทียบกับชีวภัณฑ์ไวรัส DOA BIO-V1 พบว่าหนอนกระทู้หอมที่กินไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำอัตรา 10 ,15 และ 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ ชีวภัณฑ์ DOA BIO-V1 อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 เปอร์เซ็นต์การตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ได้ในระยะเวลา 6 วัน (Table 4)

2.2 ศึกษาการมีชีวิตรอดและประสิทธิภาพของไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ ด้วยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น

จากการนับจำนวนผลึกไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66 ในรูปผงละลายน้ำ เริ่มต้นจำนวนเท่ากับ 3×10^9 PIBs/ml เมื่อเก็บรักษาไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25±3 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า SeNPV ในรูปผงละลายน้ำมีจำนวนผลึก เท่ากับ 2.87×10^9 PIBs/ml โดยมีประสิทธิภาพในการทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตาย 100.0 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 7 วัน และ เมื่อเก็บรักษาในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 10±3 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า มีจำนวนผลึกเท่ากับ 3.1×10^9 PIBs/ml โดยมีประสิทธิภาพในการทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตาย ที่ 97.5 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 7 วัน (Table 5)

<u>ขั้นตอนที่ 3</u> การทดลองประสิทธิภาพการใช้ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำในสภาพไร่

ทำการทดลองในสภาพไร่ ในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งอายุต้นประมาณ 1 ปี ของเกษตรกรในตำบลหัวนาคำ อำเภอกระนวน จังหวัดขอนแก่น (Figure 3A) ทำการพ่นสารทดลองเมื่อพบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ยมากกว่า 1 ตัวต่อต้น ก่อนพ่นสารทดลองพบว่ามีหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 0.78-1.25 ตัวต่อต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุกกรรมวิธี

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์เริ่มพบหนอนตายด้วยไวรัส SeNPV (Figure 3B) และพบว่า ในทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง มีจำนวนหนอนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.10-0.48 ตัวต่อต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีจำนวนหนอนเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองซึ่งมีจำนวนหนอนเฉลี่ย 1.28 ตัวต่อต้น

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 พบว่า ในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุกกรรมวิธีมีจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย อยู่ระหว่าง 0.08-0.40 ตัวต่อต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีจำนวนหนอนกระทู้หอมน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งมีจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 1.20 ตัวต่อต้น และพบว่า กรรมวิธี ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ อัตรา 15 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีชีวภัณฑ์ไวรัส DOA BIO-V1 อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธี spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 0.10, 0.08 และ 0.10 ตัวต่อต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีจำนวนหนอนน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธี ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีจำนวนหนอนเฉลี่ย 0.40 ตัวต่อต้น

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 พบว่า ในทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง มีจำนวนหนอนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.01-0.10 ตัวต่อต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีจำนวนหนอนเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองซึ่งมีจำนวนหนอนเฉลี่ย 0.66 ตัวต่อต้น (Table 6)

ซึ่งจากผลการทดลองข้างต้นไม่สามารถสรุปกรรมวิธีที่ดีที่สุดได้ชัดเจน เนื่องจากหลังการพ่นครั้งที่ 1 และ 3 กรรมวิธีที่ใช้ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ อัตรา 10 และ 15 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ไวรัส SeNPV (DOA BIO-V1) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่ใช้เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ จึงต้องทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยการคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (%Efficacy) ตามวิธีของ Henderson-Tilton (1955) โดยใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

$$\% \text{ Efficacy} = [1 - (Ta.Cb/Ca.Tb)] \times 100$$

โดยที่ Tb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง
Ta = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง
Cb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารทดลอง
Ca = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารทดลอง

จากการทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดสูงคือ กรรมวิธีที่ใช้ SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ อัตรา 15 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพหลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 และหลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 87.48, 86.65 และ 95.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมใกล้เคียงกับชีวภัณฑ์ DOA BIO-V1 อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (Table 7) จึงคัดเลือก SeNPV ในรูปผงละลายน้ำ อัตรา 15 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร เพื่อนำไปใช้ในการแนะนำการใช้ไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำแก่เกษตรกรต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพัฒนาสูตรสำเร็จไวรัส NPV หนอนกระทู้หอมในรูปผงละลายน้ำสูตรที่เหมาะสมคือ ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66 ในรูปผงละลายน้ำ มีความเข้มข้น 3 x 10^9 PIBs/ml สามารถเก็บรักษาไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25±3 องศาเซลเซียส และในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 10±3 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยประสิทธิภาพไม่ลดลง และในการทดสอบในสภาพไร่ พบว่า การใช้ SeNPV รูปผงละลายน้ำอัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมสูง ตั้งแต่หลังการพ่นสารทดลองครั้งแรกและมีแนวโน้มในการลดจำนวนหนอนกระทู้หอมในแปลงหน่อไม้ฝรั่งได้รวดเร็วเทียบเท่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ DOA BIO-V1 อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นอกจากนี้สูตรสำเร็จไวรัส SeNPV ในรูปผงละลายน้ำมีข้อดีกว่าชีวภัณฑ์ DOA BIO-V1 ที่เป็นสูตรน้ำในเรื่องของอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานกว่า น้ำหนักของผลิตภัณฑ์ที่น้อยกว่าและมีความสะดวกในการใช้มากขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณปณิชา พัตตาจารุ และคุณนันทพรรณ สรวงศิริ เกษตรกรเจ้าของแปลงหน่อไม้ฝรั่งตำบลหัวนาคำ อำเภอกระนวน จังหวัดขอนแก่นที่อนุเคราะห์แปลงหน่อไม้ฝรั่งเพื่อใช้ในการทดลอง ขอขอบคุณ คุณมยุรา พงษ์ชวาล คุณปานนภา ภู่ทอง คุณจิราพร เอี่ยมงาม คุณอำไพ หาญมนตรี คุณรัญทม นำทวี คุณจันทร์ โยธาแก้ว และทีมงานทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือและช่วยปฏิบัติงานทดลองครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2542. นโยบายการอารักขาพืชของกรมวิชาการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 20 หน้า.

กองกีฏและสัตววิทยา. 2538. ประมวลประวัตการระบาดของแมลงและสัตวศัตรูพืชที่สำคัญ. น.ส.พ. กสิกร 68(3): 271-278.

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์. 2560. ความทนทานของอนุภาคไวรัส เอ็นพีวี ต่อแสงยูวีด้วยเทคนิค Starch-encapsulation. หน้า 205-212. *ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55: สาขาพืช, สาขาสัตว์, สาขาสัตวแพทยศาสตร์, สาขาประมง, สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55*. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

อิศเรส เทียนทัด. 2552. ประสิทธิภาพการฆ่าหนอนกระทู้หอมด้วยเชื้อแบคทีเรีย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 82 หน้า.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

Çakmak T., O. Simón, M. B. Kaydan, D. A. Tange, A. M. González Rodríguez, A. Piedra-Buena Díaz, P. C. Murillo and E. H. Suárez. 2021. Effects of several UV-protective substances on the persistence of the insecticidal activity of the Alphabaculovirus of *Chrysodeixis chalcites* (ChchNPV-TF1) on banana (*Musa acuminata*, Musaceae, Colla) under laboratory and open field conditions. Plos One. May, 1-15.

Henderson, C.F. and E. W. Tilton, 1955. Tests with acaricides against the brow wheat mite, J. Econ. Entomol. 48: 157-161.

Hunter, D.K. and I. M. Hall. 1968. Pathoginicity of a nuclear polyhedrosis virus of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner). J. Insect. Pathol. 12(1): 83-85.

Jakubowska A., J. Ferré and S. Herrero. 2009. Enhancing the multiplication of nucleopolyhedrovirus *in vitro* by manipulation of the pH. Journal of Virological Methods. 161(2): 254-258.

Mondal P., A. Kumar and Tammana. 2021. Nuclear polyhedrosis virus (NPV): An overview. Bull. Env. Pharmacol. Life Sci. 10(6): 12-19.

Table 1 Water solubility and pH value of water-soluble powder SeNPV in different mixture

Treatment	Water solubility	pH value
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal + Skim milk (5: 1.25: 1.25: 1.25: 1.25)	✓	6.92 – 6.94
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (5: 1.66: 1.66: 1.66)	✓	6.89 – 6.92
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Skim milk (5: 1.66: 1.66: 1.66)	✓	6.86 – 6.92
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide (5: 2.5: 2.5)	✓	6.94 – 6.96
SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal + Skim milk (5: 1.66: 1.66: 1.66)	✓	6.82 – 6.85
SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal (5: 2.5: 2.5)	✓	6.93 – 6.95
SeNPV + kaolin clay + Skim milk (5: 2.5: 2.5)	✓	6.72 – 6.75
SeNPV (DOA BIO-V1)	✓	6.74 – 6.80
distilled water	-	6.85

Table 2 Corrected mortality of 3rd instar beet armyworm after eating artificial food coated with SeNPV water-soluble powder in 7 days

Treatment	Percentage of 3rd instar beet armyworm mortality (%) 1/						
	1 day	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days	7 days
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal + Skim milk (5: 1.25: 1.25: 1.25: 1.25)	0	0	0 b	10.00 b	80.00 a	95.00 a	100.00 a
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (5: 1.66: 1.66: 1.66)	0	0	4.57 a	47.50 ab	62.50 b	75.00 b	85.00 b
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Skim milk (5: 1.66: 1.66: 1.66)	0	0	22.69 a	50.00 ab	92.50 a	95.00 a	100.00 a
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide (5: 2.5: 2.5)	0	0	0 b	55.00 ab	85.00 a	95.00 a	95.00 a
SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal + Skim milk (5: 1.66: 1.66: 1.66)	0	0	0 b	0 c	95.00 a	95.00 a	100.00 a
SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal (5: 2.5: 2.5)	0	0	2.32 a	45.00 ab	85.00 a	87.50 a	87.50 a
SeNPV + kaolin clay + Skim milk (5: 2.5: 2.5)	0	0	28.34 a	67.50 a	95.00 a	100.00 a	100.00 a
SeNPV (DOA BIO-V1)	0	0	14.20 a	55.00 ab	95.00 a	100.00 a	100.00 a
untreated (control)	0	0	0 b	0 c	0 c	0 c	0 c
CV%	**-**	**-**	**66.0**	**40.3**	**44.4**	**33.4**	**26.0**

1/ Means followed by the same letter in the column do not significantly different at 95 % by DMRT

Table 3 Corrected mortality of 3rd instar beet armyworm mortality after eating artificial diet coated with each formula of water-soluble powder SeNPV by $1x10^6$ PIBs/ml. by exposure to UVB light for 0-8 hours in 7 days

Treatment	Percentage of 3rd instar beet armyworm mortality (%) 1/								
	0 Hr	1 Hr	2 Hrs	3 Hrs	4 Hrs	5 Hrs	6 Hrs	7 Hrs	8 Hrs
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal + Skim milk (5: 1.25: 1.25: 1.25: 1.25)	100.00 a	65.00 a	55.00 a	45.00 b	38.76 a	37.5 cde	3.40 b	5.00 b	5.00 a
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (5: 1.66: 1.66: 1.66)	85.00 b	70.00 a	75.00 a	22.50 bcd	34.65 a	45.00 cd	14.02 ab	2.50 b	12.50 a
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Skim milk (5: 1.66: 1.66: 1.66)	100.00 a	75.00 a	75.00 a	30.00 bcd	34.65 a	47.50 c	10.07 b	2.50 b	15.00 a
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide (5: 2.5: 2.5)	95.00 a	67.50 a	60.00 a	15.00 cd	49.01 a	22.50 e	3.40 b	0.00	2.50 a
SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal + Skim milk (5: 1.66: 1.66: 1.66)	100.00 a	75.00 a	62.50 a	32.50 bc	38.76 a	55.00 b	4.77 b	5.00 b	2.50 a
SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal (5: 2.5: 2.5)	87.50 a	77.50 a	60.00 a	25.00 bcd	34.65 a	45.00 cd	6.30 b	12.50 b	2.50 a
SeNPV + kaolin clay + Skim milk (5: 2.5: 2.5)	100.00 a	85.00 a	75.00 a	27.50 bcd	34.65 a	25.00 de	4.77 b	0.00	0.00
SeNPV (DOA BIO-V1)	100.00 a	85.00 a	80.00 a	72.50 a	52.95 a	65.00 a	35.32 a	32.50 a	12.50 a
untreated (control)	0 c	0	0	2.50 d	0 b	2.50 f	3.40 b	0.00	0.00
CV%	**26.0**	**20.3**	**19.6**	**59.2**	**6.8**	**31.0**	**54.7**	**85.0**	**107.9**

1/ Means followed by the same letter in the column do not significantly different at 95 % by DMRT

Table 4 Percentage of 3rd instar beet armyworm mortality after eating artificial diet coated with water-soluble powder SeNPV and DOA BIO-V1 in 7 days

Treatment	rate	water (litre)	3rd instar beet armyworm corrected mortality (%) 1/						
			1 day	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days	7 days
1. SeNPV in water-soluble powder	5	20	0.0	0.0 b	2.5 d	2.5 c	20.0 c	32.5 b	65.0 b
2. SeNPV in water-soluble powder	10	20	0.0	0.0 b	30.0 b	67.5 b	97.5 a	100.0 a	100.0 a
3. SeNPV in water-soluble powder	15	20	0.0	0.0 b	42.5 a	65.0 b	92.5 a	100.0 a	100.0 a
4. SeNPV in water-soluble powder	20	20	0.0	5.0 a	25.0 b	75.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a
5. DOA BIO-V1	20	20	0.0	0.0 b	15.0 c	77.5 a	82.5 b	100.0 a	100.0 a
6. untreated (control)			0.0	0.0 b	0.0 e	0.0 d	0.0 d	0.0 c	0.0 c
CV%									**9.12**

1/ Means followed by the same letter in the column do not significantly different at 95 % by DMRT

Table 5 The concentration of SeNPV water-soluble powder stored at temperature 25±3 °C and 10±3 °C and mortality test of 3rd instar beet armyworm in 7 days for period of 12 months

Treatment	result	Water-soluble powder SeNPV polyhedral inclusion body's count (PIBs/ml) and percentage of 3rd instar beet armyworm mortality (%)												
		Day 1	1st month	2nd month	3rd month	4th month	5th month	6th month	7th month	8th month	9th month	10th month	11th month	12th month
Water-soluble powder SeNPV	PIBs/ml	3×10^9	3.2×10^9	2.95×10^9	2.95×10^9	3.12×10^9	3.1×10^9	3.1×10^9	2.82×10^9	3×10^9	2.8×10^9	3.15×10^9	2.95×10^9	2.87×10^9
stored at room temperature	mortality	100.0	100.0	100.0	92.5	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	92.5	95.0	97.5	100.0
Water-soluble powder SeNPV	PIBs/ml	3×10^9	2.88×10^9	3.15×10^9	3.1×10^9	2.98×10^9	2.9×10^9	2.92×10^9	3×10^9	3.12×10^9	2.8×10^9	3.2×10^9	3.3×10^9	3.1×10^9
stored at 10 °C	mortality	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	97.5	100.0	100.0	100.0	100.0	97.5	97.5

Table 6 Average number of beet armyworm after using SeNPV water-soluble powder in asparagus fields at Kranuan District, Khon Kaen Province

Treatment	rate	water (L.)	Number of beet armyworm (no./plant) 1/			
			Before application	After application (time)		
				1st	2nd	3rd
water-soluble powder of SeNPV	10 g	20	1.10	0.48 a	0.40 b	0.10 a
water-soluble powder of SeNPV	15 g	20	0.78	0.10 a	0.10 a	0.02 a
DOA BIO-V1	20 ml	20	1.08	0.25 a	0.08 a	0.01 a
spinetoram 12% SC	20 ml	20	0.83	0.35 a	0.10 a	0.10 a
untreated (control)	-	-	1.25	1.28 b	1.20 c	0.66 b
CV (%)			**47.6**	**56.8**	**47.1**	**46.4**
R.E. (%)			**-**	**92.1**	**50.7**	**27.8**

1/ In a column, means followed by common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 7 Efficacy percentage of SeNPV water-soluble powder for controlling beet armyworm (*Spodoptera exigua* HÜbner) on asparagus at Kranuan District, Khon Kaen Province

Treatment	rate	water (L.)	Efficacy percentage		
			After application (time)		
			1st	2nd	3rd
water-soluble powder of SeNPV	10 g	20	57.39	63.25	82.78
water-soluble powder of SeNPV	15 g	20	87.48	86.65	95.14
DOA BIO-V1	20 ml	20	77.39	92.28	98.25
spinetoram 12% SC	20 ml	20	58.82	87.45	77.18

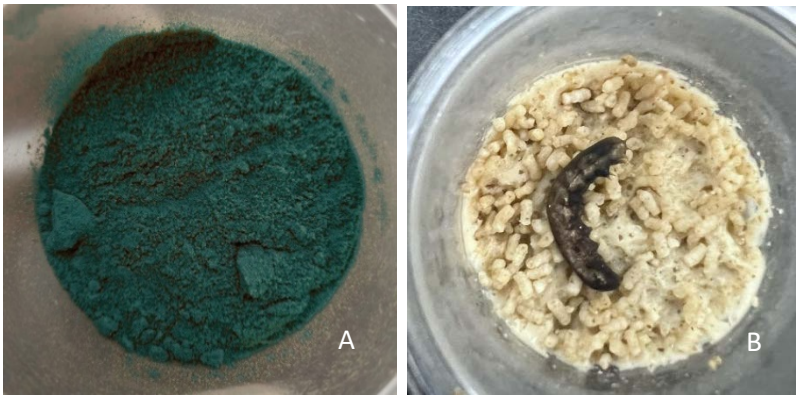


Figure 1 A. The characteristics of SeNPV in water-soluble powder form
B. The 3rd instar of Spodoptera that died SeNPV infection

Figure 2 The artificial diet coated with SeNPV water-soluble powder under UVB light bulbs exposure

Figure 3 A. The experiment in the asparagus field at Kranuan District, Khon Kaen Province
B. Beet armyworm (*Spodoptera exigua*) that died by SeNPV infection

การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม; *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย (*Phyllotreta sinuata* Stephens) ในผักกาดหัว

Utilization of *Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorokin* for controlling Flea Beetle (*Phyllotreta sinuata* Stephens) in Chinese Radish

ทิภาพร นวลเนตร[1/] ภัททิรา ศาตร์วงษ์[1/] เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[1/]
ปาริชาติ จำรัสศรี[1/] ช่ออ้อย กาฬภักดี[2/] สุวัฒน์ พูลพาน[2/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

Abstracts

Utilization of *Metarhizium anisopliae* for controlling *Phyllotreta sinuata* in Chinese radish. The research was conducted from October 2021 to September 2024. This research aimed to efficacy and appropriate utilization rates for maximum efficiency in controlling *P. sinuata* in Chinese radish. In 2022, At the Entomopathogenic Fungi Laboratory, Biological Control Research Group, Division of Entomology and Zoology, Plant Protection Research and Development Office. The isolates of these fungi were selected for their effectiveness and appropriate application rates in laboratory conditions. Results indicated that *M. anisopliae* DOA-M3 at 1,800 gram per 20 liters of water (1.00×10^9 conidia per milliliter), which achieved infection rates of 58.37–60.31%, and DOA-M115 at 6,000 gram per 20 liters of water (1.02×10^9 conidia per milliliter), which achieved 73.75–85.00%. In 2023, Both fungal isolates were tested under field conditions at Suphan Buri Field Crops Research Center. After four applications, no statistically significant differences in *P. sinuata* numbers were observed between treatments. Adult of *P. sinuata* infestation ranged from 0–2 per plant, with no natural enemies and phytotoxic effects on Chinese radish plants were observed. In 2024, A field test conducted in Tha Maka District, Kanchanaburi Province. The results showed that *M. anisopliae* DOA-M115 achieved a control efficacy of 45.68% against the *P. sinuata*, second only to the chemical standard Fipronil 5% W/V SC (Ascend), which exhibited an efficacy of 62.82%. These findings suggest that *M. anisopliae*

รหัสการทดลอง FF65-10-02-65-02-01-65

DOA-M115 has promising potential as a biological control agent for managing *P. sinuata* populations under field conditions.

Keywords : *Metarhizium anisopliae, Phyllotreta sinuata*, Chinese Radish

บทคัดย่อ

การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม; *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย; *Phyllotreta sinuata* Stephens ในผักกาดหัว ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2567 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและอัตราการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในผักกาดหัว เริ่มศึกษาในปี 2565 ที่ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการทดสอบประสิทธิภาพได้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3 อัตรา 1,800 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($1.00x10^9$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร) ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อได้ในช่วง 58.37-60.31 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M115 อัตรา 6,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($1.02x10^9$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร) ทำให้ด้วงหมัดผักแถบลายติดเชื้อได้ในช่วง 73.75-85.00 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาปี 2566 (ปีที่ 1) ได้นำเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมทั้ง 2 อัตรา มาทดสอบในสภาพไร่ ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี หลังการพ่นครั้งที่ 1 – 4 ทุกกรรมวิธีพบจำนวนด้วยหมัดผักแถบลายไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งตลอดการทดลองพบการระบาดของตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักแถบลายระหว่าง 0-2 ตัวต่อต้น ไม่พบศัตรูธรรมชาติชนิดอื่นๆ และไม่พบความเป็นพิษของเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมต่อต้นผักกาดหัว และในปี 2567 (ปีที่ 2) ทำการทดสอบซ้ำ ที่ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี พบว่า การใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M115 มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายได้ 45.68 เปอร์เซ็นต์ รองจากการใช้สารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend) ที่มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 62.82 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M115 เป็นเชื้อราที่มีแนวโน้มในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายได้ดี

คำหลัก : เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม, ด้วงหมัดผักแถบลาย, ผักกาดหัว

คำนำ

พืชผักตระกูลกะหล่ำ (*Brassica* spp.; Cruciferaceae) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย มีการปลูกเป็นการค้าจำนวนมาก เนื่องจากพืชผักอายุการเก็บเกี่ยวค่อนข้างสั้น และแมลงสามารถเข้าทำความเสียหายได้ในทุกระยะของการเจริญเติบโต เกษตรกรส่วนใหญ่จึงมักใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด ทำให้เกิดปัญหาการตกค้างของสารเคมี ส่งผลต่อเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภค

ด้วงหมัดผักแถบลาย; *Phyllotreta sinuata* Stephens เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญในพืชผักหลายชนิด โดยเฉพาะในพืชตระกูลกะหล่ำ ที่ผ่านมาเกษตรกรมีการใช้สารเคมีในการควบคุมอย่าง

ต่อเนื่องสม่ำเสมอ แมลงจึงมีโอกาสพัฒนาตัวเองทำให้เกิดความต้านทานต่อสารเคมี จึงควรหาวิธีการอื่นๆ มาช่วยสลับกับการใช้สารเคมีในแปลงผัก การหาชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมเพื่อเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการควบคุมแมลงศัตรูพืชแบบผสมผสาน ซึ่งปัจจุบันเริ่มมีผู้ให้ความสนใจมากขึ้นเนื่องจากคำนึงถึงความปลอดภัยต่อสุขภาพทั้งตัวผู้ใช้และผู้บริโภค และยังไม่มีพิษตกค้างกับสิ่งแวดล้อม

สืบเนื่องจากการดำเนินงานในปี 2555 ที่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม จำนวน 10 ไอโซเลท คือ DOA-M0, DOA-M1, DOA-M2, DOA-M3, DOA-M4, DOA-M5, DOA-M6, DOA-M7, DOA-M8 และ DOA-M9 โดยทำการทดสอบที่ความเข้มข้น $1x10^9$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ควบคุมด้วงหมัดผักในห้องปฏิบัติการ ผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการในครั้งนั้นพบว่าเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม จำนวน 3 ไอโซเลท คือ DOA-M3, DOA-M5 และ DOA-M7 มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งต่อมาในปี 2556 ได้คัดเลือกเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท DOA-M3 ไปขยายผลทดสอบต่อในสภาพไร่ เนื่องจากใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดในการทำให้ติดเชื้อในห้องปฏิบัติการ การทดสอบในขณะนั้นใช้เวลาในการทดสอบ 1 ปี และทำการทดลองใน 2 พื้นที่ คือ ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี และแปลงเกษตรกรที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี ผลการดำเนินงานเบื้องต้นในครั้งนั้น พบว่าการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมทั้ง 2 ไอโซเลท ยังไม่สามารถควบคุมประชากรด้วงหมัดผักได้ทั้ง 2 พื้นที่ ซึ่งอาจเกิดจากระยะเวลาทดสอบค่อนข้างสั้น เทคนิคการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมและการเก็บข้อมูลในแปลงทดสอบอาจยังไม่ดีพอทำให้ได้ข้อมูลไม่ชัดเจน ไม่สามารถแนะนำการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมควบคุมด้วงหมัดผักในสภาพไร่ได้ ปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีมากขึ้น และด้วงหมัดผักเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญในพืชผักแทบทุกชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชตระกูลกะหล่ำ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อยอดจากงานวิจัยปี 2555 โดยงานวิจัยในปี 2565-2567 จะเลือกเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพ 3 ไอโซเลท คือ DOA-M3, DOA-M5 และ DOA-M7 ที่ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในห้องปฏิบัติการ มาเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอโซเลทอื่นๆ ที่ได้จากการเก็บรวบรวมเพิ่มเติมจนถึงปัจจุบันของห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพรวมทั้งหาอัตราและวิธีการใช้ที่เหมาะสม เพื่อคัดเลือกไอโซเลทที่เหมาะสมสำหรับใช้ในสภาพไร่ ข้อมูลที่ได้ดังกล่าวจะนำไปแนะนำหน่วยงานในส่วนภูมิภาค รวมทั้งไปใช้ขยายผล หรือถ่ายทอดต่อเกษตรกรต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3, DOA-M5, DOA-M7, DOA-M14, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115, DOA-M165, *Beauveria bassiana* ไอโซเลท DOA-B19 และ DOA-B20

2. ด้วงหมัดผักแถบลาย (*Phyllotreta sinuata* Stephens)
3. ข้าวโพดบดหยาบ
4. ข้าวสาร
5. ต้นผักกาดหัว
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Broth (PDB)
7. ที่นับสปอร์ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer)
8. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)
9. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
10. กระดาษกรองเบอร์ 1
11. กล้องจุลทรรศน์
12. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
13. บีกเกอร์ ขนาด 250 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
14. ฟลาสก์ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
15. จานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร

วิธีการ

แผนการดำเนินงาน แบ่งเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

ปี 2565 : ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ

ปี 2566-2567 : ขั้นตอนที่ 4 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่

การทดลองในห้องปฏิบัติการ ปี 2565

นำเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงหมัดผักแถบลายติดเชื้อตาย 100 เปอร์เซ็นต์ในห้องปฏิบัติการ จากงานทดลองของ เสาวนิตย์ และคณะ (2556) จำนวน 3 ไอโซเลท คือ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3, DOA-M5 และ DOA-M7 มาศึกษาเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอโซเลทอื่นๆ ที่เลี้ยงขยายไว้ในห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ จำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M14, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115, DOA-M165, *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B19 และ DOA-B20

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ (ปี 2565)

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u> : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 10 กรรมวิธี ด้วงหมัดผักแถบลายซ้ำละ 20 ตัว ทดสอบที่ความเข้มข้น $1x10^9$ โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 1 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3

กรรมวิธีที่ 2 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M5

กรรมวิธีที่ 3 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M7

กรรมวิธีที่ 4 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M14

กรรมวิธีที่ 5 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M22

กรรมวิธีที่ 6 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M42

กรรมวิธีที่ 7 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M115

กรรมวิธีที่ 8 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M165

กรรมวิธีที่ 9 *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B19

กรรมวิธีที่ 10 *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B20

กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เตรียมอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3, DOA-M5, DOA-M7, DOA-M14, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115, DOA-M165, *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B19 และ DOA-B20 สำหรับใช้เป็นหัวเชื้อ (inoculum) จากนั้นตัดชิ้นวุ้น PDA หัวเชื้อที่เตรียมไว้ขนาด 1x1 เซนติเมตร ใส่ลงในฟลาสค์อาหารเหลว (PDB) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 180 รอบ/นาที เป็นเวลานาน 4 วัน ตรวจเช็คการปนเปื้อนของเชื้ออื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนนำมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณบนอาหารธัญพืช โดยใช้ข้าวโพดบดหยาบในการเลี้ยงขยายเชื้อรา *M. anisopliae* และข้าวสารเสาไห้ในการเลี้ยงขยายเชื้อรา *B. bassiana*

เตรียมอาหารธัญพืช โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบหรือข้าวสารเสาไห้ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายหัวเชื้อ PDB ที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มิลลิลิตร/ถุง ลงในถุงข้าวโพดบดหยาบหรือข้าวสารเสาไห้ที่เตรียมไว้ คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (25±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน เมื่อเชื้อเจริญจนเต็มอาหารที่เลี้ยง นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ใช้ทดสอบแต่ละไอโซเลท มาปรับความเข้มข้นที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ก่อนทำการทดสอบ

2. วิธีการเตรียมพืชอาศัย

ปลูกผักกวางตุ้งในกระถางขนาด 26 เซนติเมตร ใส่ไว้ในกรงมุ้งตาข่ายที่สามารถกันแมลงเข้าออกได้ เพื่อนำมาใช้เลี้ยงด้วงหมัดผักแถบลาย และใช้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

3. วิธีการเตรียมแมลงทดสอบ

เก็บด้วงหมัดผักแถบลายในแหล่งปลูกผักที่มีการระบาดของด้วง นำมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ จากนั้นเตรียมการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอโซเลทต่างๆ โดยเตรียมกล่องเลี้ยงแมลงขนาด 7x10 เซนติเมตร ใส่ฟองน้ำและใบกวางตุ้งลงในแต่ละกล่อง นำสำลีชุบน้ำหุ้มที่ก้านเพื่อป้องกันใบเหี่ยว ปล่อยด้วงหมัดผักแถบลายลงในกล่อง จำนวน 20 ตัว/ซ้ำ แล้วนำสารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อราที่เตรียมไว้ฉีดพ่นใส่ใบกวางตุ้งและบนตัวด้วงหมัดผักแถบลาย ปิดฝาสังเกตการเป็นโรคทุกวัน บันทึกการตายและการติดเชื้อของด้วงหมัดผักแถบลายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7-14 วัน

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ (ปี 2565)

คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายจากขั้นตอนที่ 1 จำนวน 5 ไอโซเลท มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการที่ความเข้มข้น 10^6-10^9 โคนิเดีย/มล.

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u> : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 21 กรรมวิธี โดยใช้ด้วงหมัดผักแถบลายซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 *M. anisopliae* ไอโซเลท A ที่ $1x10^6$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 2 *M. anisopliae* ไอโซเลท A ที่ $1x10^7$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 3 *M. anisopliae* ไอโซเลท A ที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 4 *M. anisopliae* ไอโซเลท A ที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 5 *M. anisopliae* ไอโซเลท B ที่ $1x10^6$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 6 *M. anisopliae* ไอโซเลท B ที่ $1x10^7$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 7 *M. anisopliae* ไอโซเลท B ที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 8 *M. anisopliae* ไอโซเลท B ที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 9 *M. anisopliae* ไอโซเลท C ที่ $1x10^6$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 10 *M. anisopliae* ไอโซเลท C ที่ $1x10^7$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 11 *M. anisopliae* ไอโซเลท C ที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 12 *M. anisopliae* ไอโซเลท C ที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 13 *M. anisopliae* ไอโซเลท D ที่ $1x10^6$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 14 *M. anisopliae* ไอโซเลท D ที่ $1x10^7$ โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 15 *M. anisopliae* ไอโซเลท D ที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 16 *M. anisopliae* ไอโซเลท D ที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 17 *M. anisopliae* ไอโซเลท E ที่ $1x10^6$ โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 18 *M. anisopliae* ไอโซเลท E ที่ $1x10^7$ โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 19 *M. anisopliae* ไอโซเลท E ที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 20 *M. anisopliae* ไอโซเลท E ที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 21 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ดำเนินการเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย (ปี 2565)

คัดเลือกไอโซเลทและความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายจากขั้นตอนที่ 2 จำนวน 3 ไอโซเลท มาศึกษาหาอัตราการใช้ที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ

3.1 ทดสอบอัตราการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท A

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยใช้ด้วงหมัดผักแถบลายซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 อัตรา A กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 อัตรา B กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 อัตรา C กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อัตรา D กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 อัตรา E กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 อัตรา F กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 อัตรา G กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 อัตรา H กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 อัตรา I กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 อัตรา J กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

3.2 ทดสอบอัตราการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท B

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยใช้ด้วงหมัดผักแถบลายซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 อัตรา A กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 อัตรา B กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 อัตรา C กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อัตรา D กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 อัตรา E กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 อัตรา F กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 อัตรา G กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 อัตรา H กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 อัตรา I กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 อัตรา J กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

3.3 ทดสอบอัตราการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท C

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยใช้ด้วงหมัดผักแถบลายซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 อัตรา A กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 อัตรา B กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 อัตรา C กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อัตรา D กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 อัตรา E กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 อัตรา F กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 อัตรา G กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 อัตรา H กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 อัตรา I กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 อัตรา J กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 3.1, 3.2 และ 3.3 ดำเนินการทดสอบเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนโคนิเดียต่อกรรมวิธี
- จำนวนด้วงหมัดผักแถบลายที่ตายติดเชื้อจากการทดลอง
- ระยะเวลาการติดเชื้อของด้วงหมัดผักแถบลายจากการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ Duncan's news multiple range test (DMRT)

ขั้นตอนที่ 4 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่ (ปี 2566 - 2567)

นำอัตราการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ ปี 2565 จำนวน 2 อัตรา คือ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3 อัตรา 1,800 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($1.00x10^9$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร) และ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M115 อัตรา 6,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($1.02x10^9$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร) มาทดสอบอัตราการใช้ในสภาพไร่

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3 อัตรา 1,800 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M115 อัตรา 6,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร Fipronil 5% W/V SC (Ascend) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นน้ำเปล่า

กรรมวิธีที่ 5 ไม่พ่นเชื้อรา และน้ำเปล่า (Control)

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

เลือกแปลงผักกาดหัวที่มีด้วงหมัดผักแถบลายระบาดสม่ำเสมอ จำนวน 1 แปลงทดลอง ขนาดแปลงย่อย 12 ตารางเมตร จำนวน 20 แปลงย่อย ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 0.5 เมตร เริ่มทำการทดสอบเมื่อพบจำนวนด้วงหมัดผักแถบลายเฉลี่ย 1 ตัวต่อต้น โดยพ่นเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมทุก 4 วัน ติดต่อกัน และพ่นสารเปรียบเทียบทุก 7 วัน ติดต่อกันจนถึงระยะเก็บเกี่ยว ด้วยเครื่องพ่นสารแบบสะพายหลังที่สามารถควบคุมแรงดันได้ อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ ตามเอกสารคำแนะนำแผนการทดลองประสิทธิภาพสารกำจัดแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช 2564 (ฉบับปรับปรุง) (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา และกลุ่มบริหารศัตรูพืช, 2564) ประเมินผลการทดลองโดยสุ่มตรวจนับจำนวนด้วงหมัดผักแถบลาย ก่อนพ่นสารและ 4 วันหลังพ่นสารทุกครั้ง โดยสุ่มนับจำนวนด้วงหมัดผักแถบลายที่มีชีวิต จำนวน 20 ต้นต่อแปลงย่อย (เว้นหัวและท้ายแปลง) และสุ่มเก็บด้วงหมัดผักแถบลายแต่ละแปลงย่อยๆ ละ 20 ตัว ก่อนพ่นสารและหลังพ่นสารทุกครั้ง เพื่อมาบ่มเชื้อในห้องปฏิบัติการ เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยว สุ่มเก็บผลผลิตในพื้นที่ 4 ตารางเมตรต่อแปลงย่อย มาตรวจนับระดับการทำลาย โดยให้คะแนนระดับการทำลาย (เสาวนิตย์ และคณะ, 2556) จากนั้นเก็บผลผลิตที่ได้ มาชั่งน้ำหนักรวม และนำระดับการทำลายที่ตรวจนับได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลาย โดยใช้สูตรของ Townsend and Heuberger (1943) และนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิต

ระดับการทำลายผักกาดหัวของด้วงหมัดแถบลายผัก แบ่งเป็น 7 ระดับ ตามร่องรอยการทำลาย (เสาวนิตย์ และคณะ, 2556)

ระดับที่ 1 ไม่พบร่องรอยการทำลาย 0 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 2 พบร่องรอยการทำลายในช่วง 1 – 10 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 3 พบร่องรอยการทำลายในช่วง 11 – 20 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 4 พบร่องรอยการทำลายในช่วง 21 – 30 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 5 พบร่องรอยการทำลายในช่วง 31 – 40 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 6 พบร่องรอยการทำลายในช่วง 41 – 50 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 7 พบร่องรอยการทำลายในช่วง >50 เปอร์เซ็นต์

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนโคนิเดียต่อกรรมวิธี
- จำนวนด้วงหมัดผักแถบลายที่พบในแต่ละกรรมวิธี
- จำนวนด้วงหมัดผักแถบลายที่ติดเชื้อจากการทดสอบในสภาพไร่
- ระดับการทำลายของด้วงหมัดแถบลายผักบนหัวผักกาด
- น้ำหนักสดที่มีคุณภาพตลาด (Marketable Yield)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ :

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีการทางสถิติที่เหมาะสม

ระยะเวลาดำเนินการ : เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567 (3 ปี)

สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ และแปลงปลูกผักกาดหัว ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จังหวัดสุพรรณบุรี และแปลงเกษตรกรปลูกผักกาดหัว จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ (ปี 2565)

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3, DOA-M5, DOA-M7, DOA-M14, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115, DOA-M165, *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B19 และ DOA-B20 ที่ความเข้มข้น $1x10^9$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ ผลการทดสอบประสิทธิภาพเฉลี่ยหลังการทดลอง 10 วัน พบว่า DOA-M3, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115 และ DOA-M165 ที่ $1x10^9$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ทำให้ด้วงหมัดผักแถบลายติดเชื้อในช่วง 83.16-88.15 เปอร์เซ็นต์ และไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1) จากนั้นได้คัดเลือกเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (DOA-M3, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115, DOA-M165) มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ (ปี 2565)

จากการทดสอบประสิทธิภาพขั้นตอนที่ 1 ได้คัดเลือกเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ DOA-M3, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115, DOA-M165 มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในช่วง 10^6-10^9 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ทดสอบจำนวน 2 ครั้ง ผลการทดลองพบว่า DOA-M115, DOA-M42, DOA-M3, DOA-M22 และ DOA-M165 ที่ความเข้มข้น $1x10^9$ โคนิเดียต่อ

มิลลิลิตร ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อสูงสุดที่ 82.50, 68.75, 68.13, 63.75 และ 42.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2) จากนั้นได้คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุด จำนวน 3 ไอโซเลท คือ DOA-M115, DOA-M42 และ DOA-M3 ที่ความเข้มข้น $1x10^9$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร มาศึกษาอัตราการใช้เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย (ปี 2565)

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา DOA-M3 พบอัตราการใช้ในช่วง 1,800-2,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อเฉลี่ยในช่วง 55.88-59.34 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 3)

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา DOA-M42 พบอัตราการใช้ในช่วง 5,600-7,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อเฉลี่ยในช่วง 17.61-39.36 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 4)

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา DOA-M115 พบอัตราการใช้ที่ 6,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อได้เฉลี่ย 79.38 เปอร์เซ็นต์ (Table 5)

ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม คือ *M. anisopliae* DOA-M3 และ *M. anisopliae* DOA-M115 มาทดสอบประสิทธิภาพการใช้ในสภาพไร่

ขั้นตอนที่ 4 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่ (ปี 2566 - 2567)

การทดลองในสภาพไร่ ปี 2566 (ปีที่ 1)

จากการทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่ ที่ ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จำนวน 2 แปลงทดลอง ทดสอบระหว่างเดือนเมษายน-พฤษภาคม 2566 อุณหภูมิเฉลี่ย 30.37 องศาเซลเซียล ความชื้นในแปลงเฉลี่ย 66.00 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 126.52 มิลลิเมตร เริ่มทำการทดสอบเมื่อผักกาดหัวอายุ 15 วัน หลังการพ่นครั้งที่ 1 – 4 ทุกกรรมวิธีพบจำนวนด้วงหมัดผักแถบลายไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งตลอดการทดลองพบการระบาดของตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักแถบลายระหว่าง 0-2 ตัวต่อต้น ไม่พบศัตรูธรรมชาติชนิดอื่นๆ และไม่พบความเป็นพิษของเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมต่อต้นผักกาดหัว (Table 6, 7)

การทดลองในสภาพไร่ ปี 2567 (ปีที่ 2)

จากการทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่ ที่ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี จำนวน 1 แปลงทดลอง ทดสอบระหว่างเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2567 อุณหภูมิเฉลี่ย 29.80 องศาเซลเซียล ความชื้นในแปลงเฉลี่ย 72.00 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 16.30 มิลลิเมตร เริ่มทำการทดสอบเมื่อพบจำนวนด้วงหมัดผักแถบลายเฉลี่ย 3.42 ตัวต่อต้น

ผลการตรวจนับจำนวนด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่ (Table 8)

ก่อนการพ่นเชื้อครั้งที่ 1, หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 และหลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 2 พบจำนวนด้วงหมัดผักแถบลายเฉลี่ย 2.81-4.01, 2.07-2.77 และ 2.30-2.90 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M3, *M. anisopliae* DOA-M115 และสาร Fipronil 5% W/V SC (Ascend) มีค่าเฉลี่ยจำนวนด้วงหมัดผักแถบลาย 2.77, 2.41 และ 1.88 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างจากกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (Control) และกรรมวิธีไม่พ่นสาร (Un-treat)

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 4 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M3, *M. anisopliae* DOA-M115 และสาร Fipronil 5% W/V SC (Ascend) มีค่าเฉลี่ยจำนวนด้วงหมัดผักแถบลาย 2.98, 2.94 และ 2.48 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างจากกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (Control) และกรรมวิธีไม่พ่นสาร (Un-treat)

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 5 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M3, *M. anisopliae* DOA-M115 และสาร Fipronil 5% W/V SC (Ascend) มีค่าเฉลี่ยจำนวนด้วงหมัดผักแถบลาย 6.15, 6.36 และ 5.06 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างจากกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (Control) และกรรมวิธีไม่พ่นสาร (Un-treat)

เปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (*M. anisopliae*) ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่ (Table 9)

การทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงครั้งนี้ พบว่าจำนวนด้วงหมัดผักแถบลายก่อนพ่นสารไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีไม่เท่ากันเนื่องจากเป็นการทดลองในสภาพไร่ จึงจำเป็นต้องคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในแต่ละกรรมวิธี ตามวิธีการของ Henderson – Tilton (Puntener, 1992) โดยใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

% Efficacy = [(Ca.Tb – Ta.Cb)/Ca.Tb] x 100

Ta = Number of aphids in the treated plot after application

Tb = Number of aphids in the treated plot before application

Ca = Number of aphids in the untreated plot after application

Cb = Number of aphids in the untreated plot before application

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend) มีประสิทธิภาพเท่ากับ 20.23 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M115 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 12.09 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend) มีประสิทธิภาพเท่ากับ 30.18 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M115 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 11.79 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend) มีประสิทธิภาพเท่ากับ 54.16 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M115 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 31.69 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 4 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend) มีประสิทธิภาพเท่ากับ 50.83 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M115 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 32.25 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 5 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend) มีประสิทธิภาพเท่ากับ 62.82 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M115 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 45.68 เปอร์เซ็นต์

จากการพ่นสารในกรรมวิธีต่างๆ ทุก 4 วัน ติดต่อกัน 5 ครั้ง พบว่า กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend) มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M115 ในทุกครั้ง

การทำลายผักกาดหัวของด้วงหมัดแถบลายผัก (Table 10)

ระดับการทำลายผักกาดหัวของด้วงหมัดแถบลายผัก โดยการสุ่มเก็บผลผลิตในพื้นที่ 4 ตารางเมตร/แปลงย่อย ให้คะแนนระดับการทำลาย ตั้งแต่ระดับ 1-7 พบว่า มีระดับการทำลายผักกาดหัวของด้วงหมัดผักแถบลายผักระหว่าง 5.60-6.37 ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธีที่ทำการทดสอบ

น้ำหนักของผักกาดหัว (Table 11)

น้ำหนักของผักกาดหัว โดยการสุ่มเก็บผลผลิตในพื้นที่ 4 ตารางเมตร/แปลงย่อย พบว่า น้ำหนักของผักกาดหัวอยู่ระหว่าง 118.16-151.00 กรัม/หัว ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธีที่ทำการทดสอบ

จากผลการทดลองพบว่า การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมสามารถควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่ได้ แต่เนื่องจากเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M3 อัตรา 1,800 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M115 อัตรา 6,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เป็นอัตราที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ความชื้น ให้เหมาะสมกับการเกิดโรคกับแมลงได้ดี เมื่อนำอัตราการใช้ดังกล่าวไปทดสอบในสภาพไร่ ที่ไม่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้ จึงทำให้ประสิทธิภาพต่ำกว่าในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นควรเพิ่มอัตราการใช้ในสภาพไร่ เพื่อให้การใช้เชื้อรามีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายได้ดียิ่งขึ้น

ผลการทดลองดังกล่าวใกล้เคียงกับการทดลองของ Tullu *et al.* (2011) ได้พัฒนาสูตรและทดสอบการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ในการควบคุมตัวอ่อนยุงก้นปล่อง พบว่า

สูตรที่มี ShellSol T เป็นสารพา ช่วยให้สปอร์ของเชื้อราคงความอยู่รอดได้ดี และเมื่อทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการ โดยใช้สปอร์ของเชื้อราปริมาณ 10 มิลลิกรัมผสมสารพา (ShellSol T) ทำให้ตัวอ่อนยุงก้นปล้องตายได้ดีที่สุด จากนั้นทดสอบในภาคสนาม โดยใช้สปอร์ของเชื้อราปริมาณ 10 และ 20 มิลลิกรัม พบว่าการใช้สปอร์ปริมาณ 20 มิลลิกรัม ทำให้ประชากรของตัวอ่อนยุงก้นปล่องลดลง และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งประสิทธิภาพการก่อโรคในภาคสนามจะต่ำกว่าในห้องปฏิบัติการ จึงจำเป็นต้องใช้สปอร์ของเชื้อราในปริมาณที่สูงกว่า เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกัน แต่แตกต่างจากการทดลองของเบญจพร และคณะ (2565) ได้ศึกษาการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในกวางตุ้ง พบว่า จำนวนประชากรด้วงหมัดผักในแปลงชีวภัณฑ์ที่ใช้เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* และไส้เดือนฝอย *Steinernema siamkayai* แสดงค่าเฉลี่ยของประชากรด้วงหมัดผักบนต้นพืชและบนกับดักกาวเหนียวอยู่ที่ 0.33 ตัว/ต้น และ 35.06 ตัว/กับดัก
และความเสียหายของใบพืชอยู่ที่ระดับ 1 เมื่อเทียบกับแปลงวิถีปฏิบัติของเกษตรกรที่มีค่าเฉลี่ยสูงถึง 0.92 ตัว/ต้น และ 43.59 ตัว/กับดัก และความเสียหายของใบพืชอยู่ที่ระดับ 2

แตกต่างจากการทดลองของChen *et al.* (2023) ทำการทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* strain MaGX19S02 ร่วมกับสาร Chlorfenapyr ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในผักกวางตุ้ง ณ กว่างโจว ประเทศจีน ระหว่างเดือนกันยายน-พฤศจิกายน โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มีแปลงย่อยขนาด 20 ตารางเมตร หลังการพ่น 7 วัน พบว่าด้วงหมัดผักแถบลายมีอัตราการตาย 93.33 เปอร์เซ็นต์ และมีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย 61.3 เปอร์เซ็นต์

แตกต่างจากการทดลองของนาวิน และคณะ (2559) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในเบบี้ฮ่องเต้ ในแปลงปลูกภายใต้โรงเรือน พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* ทางการค้าเมทาซาน มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย โดยมีค่าเฉลี่ยของแมลงที่พบเท่ากับ 0.51 ตัวต่อต้น ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี acetamiprid

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M3 และเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M115 มีอัตราการใช้ที่เหมาะในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย คือ อัตรา 1,800 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และอัตรา 6,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และทำการทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่ ปี 2566 (ปีที่ 1) ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จำนวน 2 แปลงทดลอง หลังการพ่นครั้งที่ 1 – 4 ทุกกรรมวิธีพบจำนวนด้วงหมัดผักแถบลายไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งตลอดการทดลองพบการระบาดของตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักแถบลายระหว่าง 0-2 ตัวต่อต้น ไม่พบศัตรูธรรมชาติชนิดอื่นๆ และไม่พบความเป็นพิษของเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมต่อต้นผักกาดหัว และในปี 2567 (ปีที่ 2) ทดสอบในสภาพไร่ ณ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี หลังพ่นเชื้อครั้งที่ 5 พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา

M. anisopliae DOA-M3, *M. anisopliae* DOA-M115 และสาร Fipronil 5% W/V SC (Ascend) มีค่าเฉลี่ยจำนวนด้วงหมัดผักแถบลาย 6.15, 6.36 และ 5.06 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างจากกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (Control) และกรรมวิธีไม่พ่นสาร (Un-treat)

เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ (% Efficacy) พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร Fipronil 5% W/V SC (Ascend) มีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผักได้ดีหลังพ่นครั้งที่ 2 เป็นต้นไป (30.18-62.82 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M115 ควบคุมด้วงหมัดผักได้หลังพ่นเชื้อครั้งที่ 3 เป็นต้นไป (31.69-45.68 เปอร์เซ็นต์)

ระดับการทำลายผักกาดหัวของด้วงหมัดแถบลายผัก พบว่า มีระดับการทำลายผักกาดหัวของด้วงหมัดผักแถบลายผักระหว่าง 5.60-6.37 ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธีที่ทำการทดสอบ และน้ำหนักของผักกาดหัวอยู่ระหว่าง 118.16-151.00 กรัม/หัว ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธีที่ทำการทดสอบ

จากผลการทดลองพบว่า การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายประสิทธิภาพในสภาพไร่ได้ แต่เนื่องจากเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M3 อัตรา 1,800 กรัม/น้ำ 20ลิตร และเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M115 อัตรา 6,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เป็นอัตราที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ความชื้น ให้เหมาะสมกับการเกิดโรคกับแมลงได้ดี เมื่อนำอัตราการใช้ดังกล่าวไปทดสอบในสภาพไร่ ที่ไม่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้ จึงทำให้ประสิทธิภาพต่ำกว่าในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นควรเพิ่มอัตราการใช้ในสภาพไร่ โดยพ่นเชื้อราทุก 4 วันติดต่อกันจนกระทั่งสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ควรพ่นในช่วงเวลาเย็น และขณะใช้ควรมีความชื้นมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้การใช้เชื้อรามีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายได้ดียิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม จังหวัดนครปฐม ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จังหวัดสุพรรณบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการติดต่อประสานงานกับเกษตรกรในพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างด้วงหมัดผักแถบลายเพื่อใช้ในการทดสอบ และพื้นที่ในการทดสอบประสิทธิภาพ ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ผลการทดลอง และขอขอบคุณคณะทำงานกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา และกลุ่มบริหารศัตรูพืช. 2564. *เอกสารคำแนะนำแผนการทดลองประสิทธิภาพสารกำจัดแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช 2564 (ฉบับปรับปรุง)*. กลุ่มกีฏและสัตว

วิทยา และกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 312 หน้า.

นาวิน สุขเลิศ จิราพร กุลสาริน ไสว บรูณพานิชพันธุ์ และวีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2559. *ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในเบบี้ฮ่องเต้บนพื้นที่สูงของจังหวัดเชียงใหม่*. วารสารเกษตร. 32(2): 171-180

เบญจพร ชำนาญ ขวัญฤดี สุวะไกร ทิพย์สุคนธ์ อนุภาพ ทัศนีย์ แจ่มจรรยา นุชรีย์ ศิริ ยุวธิดา ศรีพล แท่น อุบล ตังควานิช และประกายจันทร์ นิ่มกิ่งรัตน์. 2565. *การใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย (Phyllotreta sinauta Stephen) (Coleoptera: Chrysomelidae) ในกวางตุ้ง*. วารสารแก่นเกษตร. 50(4): 932-944.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ นายอิศเรส เทียนทัด และ นางสาววิไลวรรณ เวชยันต์. 2556. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม; *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก; *Phyllotreta sinuata* Stephens). หน้า 693-703. *ใน*: ผลงานวิจัยประจำปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. เอกสารวิชาการเลขที่ 1/2557 เล่มที่ 2 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Chen, W., W. Yuan, R. He, X. Pu, Q. Hu and Q. Weng. 2023. Screening of Fungal Strains and Formulations of *Metarhizium anisopliae* to Control *Phyllotreta striolata* in Chinese Flowering Cabbage. *Insects*. 14(6): 567.

EZGarden. มปป. ค่า EC และ pH สำหรับพืชแต่ละชนิด. แหล่งข้อมูล http://www.ezgarden.net/. สืบค้น: 28 ธันวาคม 2566.

Puntener, M. 1992. Manual for Field Trials in Plant Protection. 3rd ed. Agricultural Division, Ciba – Geigy Limited. Switzerland. 271 pp.

Townsend, G.R. and J.W. Heuberger. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experi ments. *The Plant Disease Reporter*. 27: 340-343.

Tullu, B., W. Takken, and C.J. Koenraadt. 2011. Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae. *Parasites & vectors*. 4: 1-14.

Table 1 Mortality of *P. sinuata* caused by infection with entomopathogenic fungi using a concentration of $1x10^9$ conidia ml^{-1} at 10 days after treatment; test 3 times, between January-April 2022

	Isolate	No. of *P. sinuata*[1/]	Mortality of *P. sinuata* (%)[2/]							
			Experiment 1		Experiment 2		Experiment 3		Average	
1.	DOA-M3	80	90.00	a	87.50	ab	77.97	abc	85.16	a
2.	DOA-M5	80	77.50	a	61.25	cd	60.12	cd	66.29	b
3.	DOA-M7	80	15.00	cd	15.00	fg	45.83	de	25.28	d
4.	DOA-M14	80	55.00	b	46.25	de	34.56	e	45.27	c
5.	DOA-M22	80	92.50	a	80.00	abc	91.94	a	88.15	a
6.	DOA-M42	80	93.75	a	88.75	ab	80.54	abc	87.68	a
7.	DOA-M115	80	86.25	a	97.50	a	65.76	bcd	83.17	a
8.	DOA-M165	80	83.75	a	90.00	ab	87.81	ab	87.19	a
9.	DOA-B19	80	28.75	c	67.50	bcd	83.53	abc	59.93	b
10.	DOA-B20	80	31.25	c	28.75	ef	64.58	bcd	41.53	c
11.	Control (water)	80	0.00	d	0.00	g	0.00	f	0.00	e
	C.V. (%)		**24.5**		**25.2**		**24.7**		**16.4**	

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

[2/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 2 Mortality of *P. sinuata* caused by infection with *M. anisopliae* using a concentration of 10^6-10^9 conidia ml^{-1} at 10 days after treatment; test 2 times, between April-July 2022

Isolate	Concentration (Conidia ml^{-1})	No. of *P. sinuata*[1/]	Experiment 1[2/]		Experiment 2[2/]		Average	
DOA-M3	10^6	80	3.75	e	0.00	f	1.88	g
	10^7	80	12.50	e	0.00	f	6.25	fg
	10^8	80	51.25	bcd	77.50	abc	64.38	bc
	10^9	80	63.75	ab	72.50	bc	68.13	b
DOA-M22	10^6	80	1.25	e	0.00	f	0.63	g
	10^7	80	2.50	e	0.00	f	1.25	g
	10^8	80	33.75	d	85.00	ab	59.38	bc
	10^9	80	56.25	abc	71.25	bc	63.75	bc
DOA-M42	10^6	80	2.50	e	0.00	f	1.25	g
	10^7	80	1.25	e	0.00	f	0.63	g
	10^8	80	33.75	d	46.25	d	40.00	e
	10^9	80	56.25	abc	81.25	abc	68.75	b
DOA-M115	10^6	80	0.00	e	0.00	f	0.00	g
	10^7	80	0.00	e	0.00	f	0.00	g
	10^8	80	40.00	cd	66.25	c	53.13	cd
	10^9	80	72.50	a	92.50	a	82.50	a
DOA-M165	10^6	80	7.50	e	7.50	ef	7.50	fg
	10^7	80	11.25	e	2.50	f	6.88	fg
	10^8	80	13.75	e	20.00	e	16.87	f
	10^9	80	48.75	bcd	36.25	d	42.50	de
Control (water)		80	0.00	e	0.00	f	0.00	g
C.V. (%)			**48.3**		**34.0**		**29.1**	

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

[2/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 3 Mortality of *P. sinuata* caused by infection with *M. anisopliae* DOA-M3 using a concentration of 200-2,000 gram per 20 liters of water at 10 days after treatment; test 2 times, between July-October 2022

Rate (gram per 20 liters of water)[1/]	Concentration (Conidia ml^{-1})	No. of *P. sinuata*[2/]	Mortality of *P. sinuata* (%)[3/]					
			Experiment 1		Experiment 2		Average	
200[1/]	$1.12x10^8$	80	17.14	ab	14.60	bcd	15.87	bc
400	$2.24x10^8$	80	8.71	bc	6.67	cd	7.69	cd
600	$3.36x10^8$	80	2.90	cd	5.64	d	4.27	d
800	$4.48x10^8$	80	42.18	ab	14.27	bcd	28.23	ab
1,000	$5.60x10^8$	80	62.67	a	45.32	ab	54.00	a
1,200	$6.72x10^8$	80	18.84	ab	24.95	abc	21.90	ab
1,400	$7.84x10^8$	80	48.02	a	21.94	a-d	34.98	a
1,600	$8.96x10^8$	80	42.47	ab	38.79	ab	40.63	a
1,800	**$1.00x10^9$**	**80**	**60.31**	**a**	**58.37**	**a**	**59.34**	**a**
2,000	**$1.12x10^9$**	**80**	**40.85**	**ab**	**70.92**	**a**	**55.88**	**a**
Control (water)	0.00	80	0.00	d	0.00	e	0.00	e
	C.V. (%)		32.3		28.5		15.5	

[1/] Each bag of *M. anisopliae* weighed 200 grams.

[2/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

[3/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 4 Mortality of *P. sinuata* caused by infection with *M. anisopliae* DOA-M42 using a concentration of 700-7,0 00 gram per 20 liters of water at 10 days after treatment; test 2 times, between July-October 2022

Rate (gram per 20 liters of water)[1/]	Concentration (Conidia ml^{-1})	No. of *P. sinuata*[2/]	Mortality of *P. sinuata* (%)[3/]					
			Experiment 1		Experiment 2		Average	
700	$1.05x10^8$	80	3.46	cd	4.78	b	4.12	cd
1,400	$2.10x10^8$	80	2.32	d	4.19	b	3.26	d
2,100	$3.15x10^8$	80	8.55	bcd	12.64	ab	10.60	bc
2,800	$4.20x10^8$	80	18.71	ab	37.87	a	28.29	ab
3,500	$5.25x10^8$	80	14.44	ab	10.56	ab	12.50	abc
4,200	$6.30x10^8$	80	19.31	ab	32.62	a	25.97	ab
4,900	$7.35x10^8$	80	12.41	abc	9.90	ab	11.16	bc
5,600	**$8.40x10^8$**	**80**	**37.95**	**a**	**40.77**	**a**	**39.36**	**a**
6,300	$9.45x10^8$	80	24.81	ab	10.41	ab	17.61	ab
7,000	**$1.05x10^9$**	**80**	**22.68**	**ab**	**31.28**	**a**	**26.98**	**ab**
Control (water)	0.00	80	0.00	e	0.00	c	0.00	e
	C.V. (%)		30.4		40.0		23.3	

[1/] Each bag of *M. anisopliae* weighed 200 grams.

[2/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

[3/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 5 Mortality of *P. sinuata* caused by infection with *M. anisopliae* DOA-M115 using a concentration of 600-6,000 gram per 20 liters of water at 10 days after treatment; test 2 times, between July-October 2022

Rate (gram per 20 liters of water)[1/]	Concentration (Conidia ml^{-1})	No. of *P. sinuata*[2/]	Mortality of *P. sinuata* (%)[3/]					
			Experiment 1		Experiment 2		Average	
600	$1.02x10^8$	80	3.75	cd	30.00	bcd	16.88	cde
1,200	$2.04x10^8$	80	7.50	cd	43.75	b	25.63	bcd
1,800	$3.06x10^8$	80	5.00	cd	10.00	de	7.50	ef
2,400	$4.08x10^8$	80	15.00	bcd	7.50	de	11.25	def
3,000	$5.10x10^8$	80	6.25	cd	21.25	cde	13.75	c-f
3,600	$6.12x10^8$	80	12.50	bcd	37.50	bc	25.00	bcd
4,200	$7.14x10^8$	80	10.00	cd	47.50	b	28.75	bc
4,800	$8.16x10^8$	80	31.25	b	11.25	de	21.25	cde
5,400	$9.18x10^8$	80	25.00	bc	48.75	b	36.88	b
6,000	**$1.02x10^9$**	**80**	**85.00**	**a**	**73.75**	**a**	**79.38**	**a**
Control (water)	0.00	80	0.00	d	0.00	e	0.00	f
	C.V. (%)		72.5		47.0		40.1	

[1/] Each bag of *M. anisopliae* weighed 200 grams.

[2/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

[3/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 6 The average number of *P. sinuata* found on Chinese radish after spraying with *M. anisopliae* at Suphan Buri Field Crops Research Center, between April–May 2023 (Experimental Plot 1)

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	No. of *P. sinuata*[1/] (per plant)				
		Before the experiment	After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying
1. *M. anisopliae* DOA-M3	1,800	0.19 a[1/]	1.42 a	1.48 a	1.75 bc	1.52 ab
2. *M. anisopliae* DOA-M115	6,000	0.19 a	0.97 a	1.43 a	2.57 d	2.48 b
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	0.17 a	0.80 a	1.87 a	2.36 cd	2.72 b
4. Water	-	0.23 a	0.93 a	1.99 a	1.58 b	1.25 ab
5. Control (untreated)	-	0.09 a	1.14 a	1.84 a	0.74 a	0.47 a
C.V. (%)	-	162.60	37.50	56.90	24.70	40.00
R.E. (%)[2/]	-	-	304.80	91.30	100.40	50.90

[1/] In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Table 7 The average number of *P. sinuata* found on Chinese radish after spraying with *M. anisopliae* at Suphan Buri Field Crops Research Center, between April–May 2023 (Experimental Plot 2)

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	No. of *P. sinuata*[1/] (per plant)				
		Before the experiment	After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying
1. *M. anisopliae* DOA-M3	1,800	0.45 a	1.00 a	1.65 b	1.08 a	1.61 a
2. *M. anisopliae* DOA-M115	6,000	0.33 a	0.92 a	1.84 b	1.19 ab	1.20 a
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	0.53 a	1.54 a	0.94 a	1.83 b	1.28 a
4. Water	-	0.23 a	1.46 a	1.65 b	0.94 a	1.26 a
5. Control (untreated)	-	0.25 a	1.11 a	1.85 b	1.06 a	0.78 a
C.V. (%)	-	80.00	25.10	26.40	36.90	40.80
R.E. (%)[2/]	-	-	86.80	226.30	102.00	102.60

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Table 8 The average number of *P. sinuata* found on Chinese radish after spraying with *M. anisopliae* in Tha Maka District, Kanchanaburi Province, between January-February 2024

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	No. of *P. sinuata*[1/] (per plant)					
		Before the experiment	After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying	After the 5th spraying
1. *M. anisopliae* DOA-M3	1,800	2.81	2.07	2.67	2.77 ab	2.98 a	6.15 a
2. *M. anisopliae* DOA-M115	6,000	3.45	2.38	2.50	2.41 a	2.94 a	6.36 a
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	4.01	2.51	2.30	1.88 a	2.48 a	5.06 a
4. Water	-	3.31	2.54	2.56	3.40 b	4.34 b	14.18 b
5. Control (untreated)	-	3.53	2.77	2.90	3.61 b	4.44 b	11.98 b
C.V.(%)	-	33.5	11.2	24.2	20.4	26.1	29.0
R.E.(%)[2/]	-	-	-	-	88.9	59.0	70.3

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Table 9 Percentage efficacy of *M. anisopliae* in controlling *P. sinuata* in Chinese radish in Tha Maka District, Kanchanaburi Province, between January-February 2024

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	Efficacy in controlling *P. sinuata* (% Efficacy) [1/]				
		After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying	After the 5th spraying
1. *M. anisopliae* DOA-M3	1,800	6.12	0.00	3.61	15.69	35.51
2. *M. anisopliae* DOA-M115	6,000	12.09	11.79	31.69	32.25	45.68
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	20.23	30.18	54.16	50.83	62.82
4. Water	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

[1/] % Efficacy was calculated using the Henderson–Tilton formula (Puntener, 1992)

Table 10 Damage level of Chinese radish caused by *P. sinuata* after spraying with *M. anisopliae* in Tha Maka District, Kanchanaburi Province, between January – February 2024

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	Damage level of Chinese radish caused by *P. sinuata* [1/]
1. *M. anisopliae* DOA-M3	1,800	5.60
2. *M. anisopliae* DOA-M115	6,000	6.26
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	6.10
4. Water	-	6.36
5. Control (untreated)	-	6.37
C.V.(%)[2/]	-	5.20

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Table 11 Weight of Chinese radish after spraying with *M. anisopliae* in Tha Maka District, Kanchanaburi Province, between January–February 2024

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	Weight of Chinese radish (grams per plant)[1/]
1. *M. anisopliae* DOA-M3	1,800	121.84
2. *M. anisopliae* DOA-M115	6,000	118.16
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	151.00
4. Water	-	135.16
5. Control (untreated)	-	137.27
C.V.(%)[2/]	-	15.40

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Figure 1 Characteristic of infected *P. sinuata* by different species of entomopathogenic fungi:
A : *M. anisopliae* DOA-M115,
B : *B. bassiana* DOA-B4
C : *P. sinuata* (control)

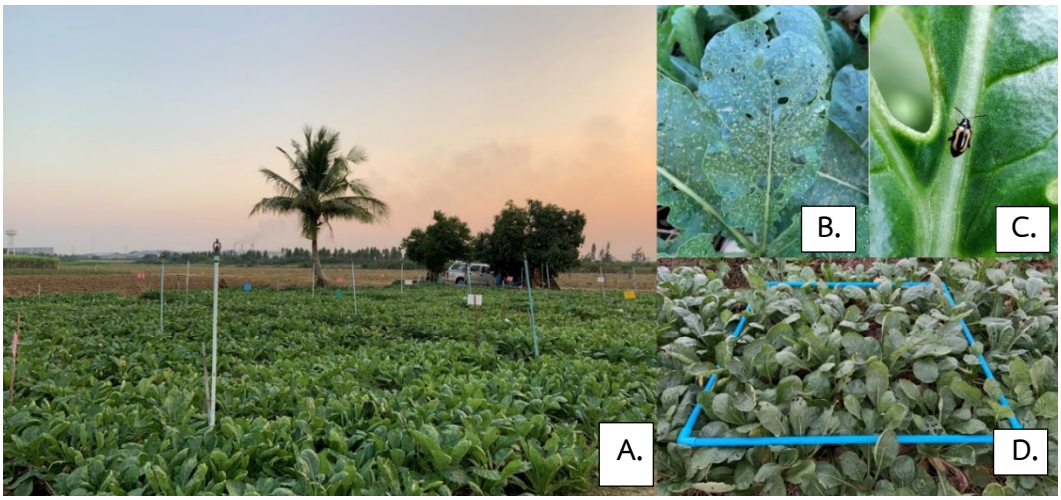


Figure 2 Field test of the efficacy of *M. anisopliae* in controlling *P. sinuata* in Tha Maka District, Kanchanaburi Province.
A : Experimental plot for efficacy testing.
B : Characteristics of Chinese Radish damaged by *P. sinuata*.
C : *P. sinuata* found in the experimental plot.
D : Sampling method.

การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* และ *Isaria javanica* ควบคุมแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabasi* (Gennadius)) ในมะเขือเปราะ

Utilization of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Isaria javanica* for Controlling *Bemisia tabasi* (Gennadius) in Thai Eggplant

ทิภาพร นวลเนตร[1/] ภัททิรา ศาตร์วงษ์[1/] เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[1/]
อดุลย์รัตน์ แคล้วคลาด[2/] สุภัค กาญจนเกษร[2/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

Abstracts

Utilization of *Metarhizium anisopliae, Beauveria bassiana* and *Isaria javanica* for controlling *Bemisia tabasi* (Gennadius) in Thai eggplant. The research was conducted from 2022 to 2024. This study aimed to evaluate the efficacy and optimal application rates of entomopathogenic fungi for controlling tobacco whitefly (*Bemisia tabaci*) in Thai eggplant. Beginning in 2022 at the Entomopathogenic Fungi Laboratory, Biological Control Research Group, Division of Entomology and Zoology, Plant Protection Research and Development Office. The isolates of these fungi were selected for their effectiveness and appropriate application rates in laboratory conditions. Results indicated that *B. bassiana* isolate DOA-B4 at a rate of 200 gram per 20 liters of water (4.08×10^7 conidia per milliliter) controlled tobacco whitefly by 85.63%, while isolate DOA-B18 at 700 gram per 20 liters of water (9.38×10^7 conidia per milliliter) controlled it by 90.94%. In 2023, Both fungal isolates were tested under field conditions in Tha Muang District, Kanchanaburi Province, where *B. bassiana* isolate DOA-B4 and isolate DOA-B18 effectively controlled the tobacco whitefly with minimal infestations of larvae (1-4 per leaf) and adults (1-2 per leaf). No natural enemies and phytotoxic effects on eggplant plants were observed. In 2024, A field test conducted in Tha Maka District, Kanchanaburi Province. The results showed that application of the fungal isolate resulted in an average of 5.49 nymphs and 0.93 adults per leaf. The control efficacy against nymphs and adults was 29.42% and 23.58%, respectively.

รหัสการทดลอง FF65-10-02-65-02-02-65

These findings indicate that *B. bassiana* isolate DOA-B4 shows promising potential as a biological control agent for managing *Bemisia tabasi* populations under field conditions.
Keywords : Entomopathogenic fungi, *Bemisia tabasi,* Thai eggplant

บทคัดย่อ

การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* และ *Isaria javanica* ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabasi* (Gennadius)) ในมะเขือเปราะ ดำเนินการระหว่างปี 2565-2567 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและอัตราการใช้ที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในมะเขือเปราะ เริ่มศึกษาในปี 2565 ที่ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ทำการคัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพ และอัตราการใช้ที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อรา *B. bassiana* DOA-B4 อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($4.08x10^7$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร) ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ 85.63 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *B. bassiana* DOA-B18 อัตรา 700 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($9.38x10^7$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร) ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ 90.94 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาปี 2566 (ปีที่ 1) ได้นำเชื้อราทั้ง 2 อัตรา มาทดสอบในสภาพไร่ ที่ อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี พบว่าการใช้เชื้อรา *B. bassiana* DOA-B4 และ DOA-B18 สามารถควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ ตลอดการทดลองพบการระบาดของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 1-4 ตัวต่อต้น และตัวเต็มวัย 1-2 ตัวต่อต้น ตลอดการทดลองไม่พบศัตรูธรรมชาติชนิดอื่นๆ และไม่พบความเป็นพิษของเชื้อราบิวเวอเรียต่อต้นมะเขือเปราะ และในปี 2567 (ปีที่ 2) ทดสอบในสภาพไร่ ที่ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี พบว่า การใช้เชื้อรา *B. bassiana* DOA-B4 พบจำนวนตัวอ่อนเฉลี่ย 5.49 ตัวต่อใบ และตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.93 ตัวต่อใบ และมีประสิทธิภาพการควบคุมตัวอ่อนและตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ 29.42 และ 23.58 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 เป็นเชื้อราที่มีแนวโน้มในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ดี

คำหลัก : เชื้อราสาเหตุโรคแมลง แมลงหวี่ขาวยาสูบ มะเขือเปราะ

คำนำ

ประเทศไทยส่งสินค้าทางการเกษตรจำพวกพืชผักเพื่อการส่งออกเป็นจำนวนมาก และมักจะประสบปัญหาแมลงศัตรูพืชติดไปกับผลผลิตอยู่เสมอ แมลงศัตรูพืชที่พบเป็นปัญหาสำคัญต่อการส่งออกคือแมลงหวี่ขาวยาสูบ; *Bemisia tabasi* (Gennadius) จัดอยู่อันดับ Hemiptera วงศ์ Aleyrodidae เป็นแมลงประเภทปากดูดขนาดเล็ก โดยตัวเต็มวัยมีขนาดความยาว 1 มิลลิเมตร ปีกสีขาวและลำตัวสีเหลืองอ่อน ส่วนใหญ่พบเกาะอยู่ใต้ใบพืช หนึ่งรอบวงจรชีวิตของแมลงหวี่ขาวยาสูบใช้เวลาประมาณ 30-40 วัน ซึ่งในหนึ่งปี มี 10-12 รุ่น เพศเมีย 1 ตัว วางไข่ได้เฉลี่ย 200 ฟอง ทำให้เกิดการแพร่ระบาดได้

อย่างรวดเร็ว โดยวงจรชีวิตของแมลงหวี่ขาวยาสูบ ประกอบด้วยระยะไข่ 3-7 วัน ระยะตัวอ่อน 11-18 วัน ระยะดักแด้ 5-7 วัน และระยะตัวเต็มวัย 2-11 วัน ทำให้เกิดการแพร่ระบาดได้อย่างรวดเร็ว การป้องกันกำจัดส่วนใหญ่เกษตรกรนิยมใช้สารเคมี เช่น พ่นด้วยสาร imidacloprid 70% WG หรือ bifenthrin 2.5% EC ซึ่งเห็นผลเร็วแต่มีข้อเสียในด้านพิษตกค้าง ส่งผลต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้รวมทั้งผู้บริโภคด้วย หรือการป้องกันกำจัดด้วยการเขตกรรมทำความสะอาดแปลงและบริเวณรอบๆแปลง เพื่อไม่ให้มีแหล่งที่อยู่อาศัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบ นอกจากนี้ยังมีการใช้ศัตรูธรรมชาติของแมลงหวี่ขาวยาสูบ ได้แก่ แมลงช้างปีกใส ด้วงเต่าตัวห้ำ มวนโอเรียส (*Orius* sp.) และแตนเบียนเอ็นคาเซีย (*Encarsia* sp.) ซึ่งการหาชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมเพื่อเป็นทางเลือกในการควบคุมแมลงศัตรูพืชแบบผสมผสาน เริ่มมีผู้ให้ความสนใจมากขึ้น เนื่องจากคำนึงถึงความปลอดภัยต่อสุขภาพทั้งตัวผู้ใช้และผู้บริโภค และยังไม่มีพิษตกค้างกับสิ่งแวดล้อม

ปี 2558 เสาวนิตย์และเมธาสิทธิ์ ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง 4 ชนิด ได้แก่ *M. anisopliae* DOA-M3, *B. bassiana* DOA-B4, *I. javanica* และ *Paecilomyces lilacinus* ที่ความเข้มข้น $1X10^8$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ จากการทดสอบทั้ง 3 ครั้ง พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคแมลงทั้ง 4 ชนิด ทำให้แมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อใกล้เคียงกันที่ 60.67, 61.67, 63.33 และ 67.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีการติดเชื้อหลังการทดสอบ 3-4 วัน แต่จากการรายงานของ Luangsa-ard *et al*. (2011) พบว่าเชื้อ *P. lilacinus* สามารถติดต่อได้ในคน และสัตว์มีกระดูกสันหลัง ดังนั้นจึงไม่ได้นำมาทำการศึกษาต่อ

จากงานวิจัยในปี 2557-2558 ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ ซึ่งผลการทดสอบถึงแม้จะไม่สูงมากในห้องปฏิบัติการ แต่ในปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีมากขึ้น จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ และแมลงหวี่ขาวยาสูบเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญในพืชหลายชนิด ในพืชผัก ได้แก่ มะเขือเปราะ มะเขือเทศ กระเพรา โหระพา และพืชตระกูลแตง เป็นต้น ในพืชไร่ ได้แก่ มันสำปะหลัง อีกทั้งยังเป็นพาหะในการก่อโรคในพืชอีกด้วย เช่น เป็นพาหะในการก่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง โรคใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ และพริก ดังนั้นจึงศึกษาต่อยอดจากงานวิจัยปี 2558 เพื่อหาเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีความเหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่ รวมทั้งหาอัตราและวิธีการใช้ที่เหมาะสม เพื่อนำไปแนะนำหน่วยงาน ในส่วนภูมิภาค เพื่อขยายผล หรือถ่ายทอดต่อเกษตรกรในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M1, DOA-M3, DOA-M8, DOA-M9, เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B4, DOA-B18 และ *Isaria javanica*

2. แมลงหวี่ขาวยาสูบ *(Bemisia tabasi* (Gennadius))

3. ข้าวโพดบดหยาบ

4. ข้าวสาร

5. ต้นมะเขือเปราะ

6. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Broth (PDB)

7. ที่นับสปอร์ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer)

8. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)

9. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)

10. ตู้เขี่ยเชื้อ

11. กล้องจุลทรรศน์

12. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)

13. บีกเกอร์ ขนาด 250 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

14. กระบอกตวง ขนาด 250 และ 1,000 มิลลิลิตร

15. ฟลาสก์ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

16. จานเลี้ยงเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร

วิธีการ

แผนการดำเนินงาน แบ่งเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

ปี 2565 : ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ

ปี 2566 : ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ

ปี 2566-2567 : ขั้นตอนที่ 4 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่

การทดลองในห้องปฏิบัติการ ปี 2565-2566

นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการจากงานทดสอบของเสาวนิตย์และเมธาสิทธิ์ (2558) จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M3, เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B4 และ *I. javanica* มาเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับเชื้อราสาเหตุโรคแมลงชนิดอื่นในห้องปฏิบัติการ จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M1, DOA-M8, DOA-M9 และ เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B18 แบ่งการทดลองเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยใช้แมลงหวี่ขาวซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M1

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M3

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M8

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M9

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B4

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B18

กรรมวิธีที่ 7 *I. Javanica*

กรรมวิธีที่ 8 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เตรียมอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคแมลง ทั้ง 7 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* DOA-M1, *M. anisopliae* DOA-M3, *M. anisopliae* DOA-M8, *M. anisopliae* DOA-M9, *B. bassiana* DOA-B4, *B. bassiana* DOA-B18 และ *I. javanica* สำหรับใช้เป็นหัวเชื้อ (inoculum) จากนั้นตัดชิ้นวุ้น PDA หัวเชื้อที่เตรียมไว้ขนาด 1x1 เซนติเมตร ใส่ลงในฟลาสก์อาหารเหลว (PDB) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 180 รอบ/นาที เป็นเวลานาน 4 วัน ตรวจเช็คการปนเปื้อนของเชื้ออื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนนำมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณบนอาหารธัญพืช โดยใช้ข้าวโพดบดหยาบในการเลี้ยงขยายเชื้อรา *M. anisopliae* และข้าวสารเสาไห้ในการเลี้ยงขยายเชื้อรา *B. bassiana* และ *I. javanica* เตรียมอาหารธัญพืช โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบหรือข้าวสารเสาไห้ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายหัวเชื้อ PDB ที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มิลลิลิตร/ถุง ลงในถุงอาหารธัญพืชที่เตรียมไว้ คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27±3 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน เมื่อเชื้อเจริญจนเต็มอาหารที่เลี้ยง นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ใช้ทดสอบแต่ละไอโซเลท มาปรับความเข้มข้นที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร แบ่งสารแขวนลอยโคนิเดีย แต่ละชุดที่เตรียมไว้ออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำมาเลี้ยงบนอาหารเทียมเพื่อตรวจนับปริมาณการงอก (cfu) ส่วนที่ 2 นำมาใช้ทดสอบกับแมลงหวี่ขาวยาสูบ

2. วิธีการเตรียมพืชอาศัย

ปลูกมะเขือเปราะในกระถางขนาด 26 เซนติเมตร ใส่ไว้ในกรงมุ้งตาข่ายที่สามารถกันแมลงเข้าออกได้ เพื่อนำมาเป็นพืชอาหารให้กับแมลงหวี่ขาวยาสูบและใช้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

3. วิธีการเตรียมแมลงทดสอบในห้องปฏิบัติการ

3.1 เก็บแมลงหวี่ขาวยาสูบ ในแหล่งปลูกผักที่มีการระบาดของแมลงหวี่ขาวยาสูบ นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการบนต้นมะเขือเปราะที่เตรียมไว้

3.2 เตรียมจานเลี้ยงเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร โดยใส่กระดาษกรองจำนวน 1 แผ่น/จานเลี้ยงเชื้อ หยดน้ำลงบนกระดาษกรองเพื่อให้ความชื้น

3.3 นำสำลีจุ่มน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อพันที่ปลายก้านใบมะเขือ วางลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้

3.4 นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เตรียมไว้ในแต่ละกรรมวิธีพ่นลงบนใบมะเขือ

3.5 ปล่อยแมลงหวี่ขาวลงในจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ จากนั้นปิดจานเลี้ยงเชื้อและพันทับด้วยพาราฟิน

3.6 สังเกตการเป็นโรคของแมลง ทำการตรวจนับจำนวนแมลงทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน หรือจนกว่าแมลงหวี่ขาวจะตายหมด

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- ปริมาณการงอก (cfu) ของสารแขวนลอยโคนิเดียแต่ละกรรมวิธี
- จำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ตาย
- จำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ติดเชื้อจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ
- ระยะเวลาการติดเชื้อของแมลงหวี่ขาวยาสูบจากการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ</u>

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีการทางสถิติที่เหมาะสม
- ในกรณีที่มีแมลงทดลองตายในกรรมวิธีควบคุม จะคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925)

ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในขั้นตอนที่ 1 จำนวน 3 ไอโซเลท มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 13 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท DOA-M8 ความเข้มข้น $1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท DOA-M8 ความเข้มข้น $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท DOA-M8 ความเข้มข้น $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท DOA-M8 ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท DOA-B4 ความเข้มข้น $1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท DOA-B4 ความเข้มข้น $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 7 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท DOA-B4 ความเข้มข้น $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 8 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท DOA-B4 ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 9 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท DOA-B18 ความเข้มข้น $1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 10 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท DOA-B18 ความเข้มข้น $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 11 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท DOA-B18 ความเข้มข้น $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 12 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท DOA-B18 ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 13 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบหรือข้าวสารเส้าไห้ตามขั้นตอนที่ 1 เมื่อเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเจริญเติบโตจนเต็มถุงใช้เวลาประมาณ 14 วัน จากนั้นนำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่จะใช้ทดสอบแต่ละไอโซเลท มาปรับความเข้มข้นที่ $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$ และ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ แบ่งสารแขวนลอยแต่ละชุดที่เตรียมออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำมาเลี้ยงบนอาหารเทียมเพื่อตรวจนับปริมาณการงอก (cfu) ส่วนที่ 2 นำมาใช้ทดสอบกับแมลงหวี่ขาวยาสูบ โดยดำเนินการตามขั้นตอนที่ 1

การบันทึกข้อมูล

- ปริมาณการงอก (cfu) ของสารแขวนลอยโคนิเดียแต่ละกรรมวิธี
- จำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ตาย
- จำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ติดเชื้อจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ
- ระยะเวลาการติดเชื้อของแมลงหวี่ขาวยาสูบจากการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีการทางสถิติที่เหมาะสม
- ในกรณีที่มีแมลงทดลองตายในกรรมวิธีควบคุม จะคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925)

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ (ปี2566)

คัดเลือกกรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการจากขั้นตอนที่ 2 (ปี 2565) จำนวน 2 ไอโซเลท คือ *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 และ *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B18 มาศึกษาอัตราการใช้ที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย 10 อัตรา ได้แก่ 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 11 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 300 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 500 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 600 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 700 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 800 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 900 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่คัดเลือกมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณบนข้าวสารเสาไห้ เมื่อเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเจริญเติบโตจนเต็มถุงใช้เวลาประมาณ 14 วัน นำมาผสมน้ำ 20 ลิตร ตามกรรมวิธีต่างๆ ก่อนนำมาใช้ทดสอบกับแมลงหวี่ขาวยาสูบ

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนโคนิเดียต่อกรรมวิธี
- จำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ตาย
- จำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ติดเชื้อ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีการทางสถิติที่เหมาะสม
- ในกรณีที่มีแมลงทดลองตายในกรรมวิธีควบคุม จะคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925)

ขั้นตอนที่ 4 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่ (ปี 2566-2567)

นำอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงจากในขั้นตอนที่ 3 จำนวน 2 อัตรา ได้แก่ *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B18 อัตรา 700 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มาทดสอบอัตราการใช้ในสภาพไร่

แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 พ่นเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B18 อัตรา 700 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร Fipronil 5% W/V SC (Ascend) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นน้ำเปล่า

กรรมวิธีที่ 5 ไม่พ่นเชื้อรา และน้ำเปล่า (Control)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เลือกแปลงมะเขือเปราะที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบระบาดสม่ำเสมอ จำนวน 1 แปลงทดลอง ขนาดแปลงย่อย 25 ตารางเมตร จำนวน 20 แปลงย่อย ระยะห่างระหว่างแถว 1 เมตร ระหว่างต้น 70 เซนติเมตร และระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร เริ่มทำการทดสอบเมื่อพบจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 2 ตัวต่อใบ โดยพ่นเชื้อราทุก 4 วัน ติดต่อกัน 4 ครั้ง และพ่นสารเปรียบเทียบทุก 7 วัน ติดต่อกัน 2 ครั้ง ด้วยเครื่องพ่นสารแบบสะพายหลังที่สามารถควบคุมแรงดันได้ อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ ตามเอกสารคำแนะนำแผนการทดลองประสิทธิภาพสารกำจัดแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช 2564 (ฉบับปรับปรุง) (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา และกลุ่มบริหารศัตรูพืช, 2564) ประเมินผลการทดลองโดยสุ่มตรวจนับจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบ ก่อนพ่นสารและ 4 วันหลังพ่นสารจำนวน 4 ครั้ง โดยสุ่มนับจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบทุกวัยที่มีชีวิต จำนวน 10 ต้นๆ ละ 10 ใบ (ช่อใบ) รวม 100 ใบต่อแปลงย่อย (เว้นหัวและท้ายแปลงด้านละ 1 ต้น) และสุ่มเก็บแมลงหวี่ขาวยาสูบแต่ละแปลงย่อยๆ ละ 10 ใบ ก่อนพ่นสารและหลังพ่นสารจำนวน 4 ครั้ง เพื่อมาบ่มเชื้อในห้องปฏิบัติการ

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนโคนิเดียต่อกรรมวิธี
- จำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่พบในแต่ละกรรมวิธี
- จำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ติดเชื้อจากการทดสอบในสภาพไร่
- ระยะเวลาการติดเชื้อของแมลงหวี่ขาวยาสูบจากการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีการทางสถิติที่เหมาะสม

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567 (3 ปี)

สถานที่ ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร และแปลงเกษตรกรปลูกมะเขือเปราะ จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ (ปี 2565)

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม จำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M1, DOA-M3, DOA-M8, DOA-M9, เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B4, DOA-B18 และเชื้อรา *I. javanica* ไอโซเลท DOA-I ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้ง พบว่า หลังการ

ทดสอบ 4-5 วัน เริ่มเห็นเส้นใยสีขาวของเชื้อราบิวเวอเรีย และเส้นใยสีเขียวของเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ปกคลุมลำตัวแมลงหวี่ขาวยาสูบ และหลังการทดสอบ 7 วัน เห็นโคนิเดียสีขาวของเชื้อราบิวเวอเรีย และสีเขียวของเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมชัดเจนขึ้น และเชื้อรา DOA-M8, DOA-B4 และ DOA-B18 ทำให้แมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ในทุกครั้งที่ทำการทดสอบ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ (ปี 2565)

คัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจากขั้นตอนที่ 1 จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M8 และ เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B4, DOA-B18 มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบที่ความเข้มข้น $1x10^5$-$1x10^8$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร และคำนวณค่า LC_{50} และ LC_{90} จากผลการทดสอบทั้ง 6 ครั้ง (Table 2, 3) พบว่า

เชื้อรา DOA-M8 ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ทำให้แมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อ 78.75-93.75 เปอร์เซ็นต์ พบค่า LC_{50} ที่ $5.77x10^5$-$1.89x10^6$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร และพบค่า LC_{90} ที่ $4.57x10^7$-$7.00x10^8$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

เชื้อรา DOA-B4 ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ทำให้แมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อ 97.50-100 เปอร์เซ็นต์ พบค่า LC_{50} ที่ $1.48x10^5$-$5.01x10^5$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร และพบค่า LC_{90} ที่ $3.53x10^6$-$2.29x10^7$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

เชื้อรา DOA-B18 ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ทำให้แมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อ 97.50-100 เปอร์เซ็นต์ พบค่า LC_{50} ที่ $4.39x10^4$-$3.01x10^5$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร และพบค่า LC_{90} ที่ $2.31x10^6$-$7.56x10^7$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

จากข้อมูลดังกล่าว ทำให้ทราบได้ว่าเชื้อรา DOA-B4 และ DOA-B18 เป็นเชื้อราที่มีความรุนแรงสูงสามารถทำให้แมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อได้สูงเมื่อเทียบกับเชื้อรา DOA-M8 เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด จึงคัดเลือกเชื้อรา DOA-B4 และ DOA-B18 มาทดสอบหาอัตราการใช้ในห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่ต่อไป

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ (ปี2566)

จากขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกเชื้อรา จำนวน 2 ไอโซเลท คือ DOA-B4 และ DOA-B18 มาศึกษาหาอัตราการใช้เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในห้องปฏิบัติการ ทดสอบจำนวน 4 ครั้ง ในช่วงเดือนธันวาคม 2565 - กุมภาพันธุ์ 2566 โดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อหลังการฉีดพ่น 7 วัน ดังนี้

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา DOA-B4 ทั้ง 4 ครั้ง พบอัตราการใช้ในช่วง 200-1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทำให้แมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อเฉลี่ยในช่วง 84.69-96.88 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 4)

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา DOA-B18 ทั้ง 4 ครั้ง พบอัตราการใช้ในช่วง 700-1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทำให้แมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อเฉลี่ยในช่วง 88.44-98.13 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 5)

จึงคัดเลือกอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ คือ เชื้อรา *B. bassiana* DOA-B4 อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($4.08x10^7$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร) ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ 85.63 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *B. bassiana* DOA-B18 อัตรา 700 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($9.38x10^7$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร) ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ 90.94 เปอร์เซ็นต์ และนำมาทดสอบต่อในสภาพไร่

ขั้นตอนที่ 4 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่ (ปี 2566-2567)

การทดลองในสภาพไร่ ปี 2566 (ปีที่ 1)

จากการทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในมะเขือเปราะในสภาพไร่ ที่ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ทดสอบระหว่างเดือน มิถุนายน-สิงหาคม 2566 อุณหภูมิเฉลี่ย 30.10 องศาเซลเซียส ความชื้นในแปลงเฉลี่ย 70.00 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 148.89 มิลลิเมตร เริ่มทำการทดสอบเมื่อพบจำนวนตัวอ่อนและตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 1.39 ตัวต่อต้น

สำหรับการใช้เชื้อราบิวเวอเรียควบคุมตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบในเบื้องต้นนั้น พบจำนวนตัวเต็มวัยตลอดการทดลองค่อนข้างน้อยจึงเห็นผลไม่ชัดเจน เมื่อพิจารณาที่เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อพบว่าการใช้เชื้อรา DOA-B4 อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เริ่มพบการติดเชื้อหลังการพ่นครั้งที่ 1 ที่ 38.27 เปอร์เซ็นต์ (Table 7) แต่การใช้เชื้อรา DOA-B18 อัตรา 700 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เริ่มพบการติดเชื้อหลังการพ่นครั้งที่ 4 ที่ 41.90 เปอร์เซ็นต์ (Table 9) โดยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อค่อนข้างน้อยเช่นเดียวกับตัวอ่อน เนื่องจากการทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อราในสภาพไร่ ปีที่ 1 นั้น ก่อนการทดลองพบจำนวนตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่เฉลี่ย 2 ตัวต่อต้น (Table 6, 8) ซึ่งน้อยเกินไป การวิเคราะห์ผลทางสถิติจึงเห็นความแตกต่างต้องระบาดมากกว่า 2 ตัวต่อต้น เพื่อให้เห็นผลการทดลองที่ชัดเจนขึ้นในแต่ละกรรมวิธี

จากผลการทดลองดังกล่าวนี้พบตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบในกรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ พ่นน้ำเปล่า และไม่พ่นเชื้อราและน้ำเปล่าติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงอาจเนื่องมาจากแมลงหวี่ขาวยาสูบมีปีกสามารถบินได้ในระยะทาง 2-7 กิโลเมตรต่อวัน ขึ้นอยู่กับแรงลม เมื่อเชื้อราตกลงไปที่ผนังลำตัวแล้วใช้เวลาในการเกิดโรค 1-2 วัน จึงมีโอกาสที่แมลงหวี่ขาวยาสูบจะบินไปในกรรมวิธีอื่นๆ (สุนัดดา, 2554) การทดสอบนี้ทำให้ทราบได้ว่าการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่นั้น เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยลดจำนวนประชากรของแมลงได้

การทดลองในสภาพไร่ ปี 2567 (ปีที่ 2)

จากการทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในมะเขือเปราะ ในสภาพไร่ ที่ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ทดสอบระหว่างเดือนธันวาคม 2566 - มีนาคม 2567 อุณหภูมิเฉลี่ย 30.10 องศาเซลเซียล ความชื้นในแปลงเฉลี่ย 70.00 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 16.30 มิลลิเมตร เริ่มทำการทดสอบเมื่อพบจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 9.43 ตัวต่อใบ และตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 5.10 ตัวต่อใบ

ผลการตรวจนับจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่ (Table 10)

ก่อนพ่น, หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 และ 2 พบจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 8.31-10.19, 7.23-12.89 และ 7.39-8.81 ตัวต่อใบ ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ในทุกกรรมวิธีที่ทำการทดสอบ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบต่ำที่สุดที่ 4.20 ตัวต่อใบ ซึ่งไม่แตกต่างกับกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 พบที่ 5.26 ตัวต่อใบ กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend) พบที่ 5.70 ตัวต่อใบ และกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อราและน้ำเปล่า พบที่ 4.91 ตัวต่อใบ แต่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า พบที่ 6.05 ตัวต่อใบ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 4 กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบต่ำที่สุดที่ 5.49 ตัวต่อใบ ซึ่งไม่แตกต่างกับกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 พบที่ 7.60 ตัวต่อใบ กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend) พบที่ 7.74 ตัวต่อใบ และกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อราและน้ำเปล่า พบที่ 6.49 ตัวต่อใบ แต่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า พบที่ 9.10 ตัวต่อใบ

ผลการเก็บจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่มาบ่มเชื้อในห้องปฏิบัติการ (Table 11)

ก่อนการพ่นเชื้อ พบว่า ทุกกรรมวิธีไม่พบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในธรรมชาติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 พบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวติดเชื้อสูงสุด 8.41 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบที่ 2.40 เปอร์เซ็นต์ พบความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 2 พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวติดเชื้อสูงสุด 13.22 เปอร์เซ็นต์ พบความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 พบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวติดเชื้อสูงสุด21.78 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบที่ 9.30 เปอร์เซ็นต์ พบความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นเชื้อราครั้งที่ 4 กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 พบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวติดเชื้อสูงสุด 19.88 เปอร์เซ็นต์ พบความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น

เปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพของเชื้อราบูเวเรีย บัสเซียน่า (*Beauveria bassiana*) ในการควบคุมตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่ (Table 12)

การทดลองทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงครั้งนี้ พบว่าจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบก่อนพ่นสารไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีไม่เท่ากันเนื่องจากเป็นการทดลองในสภาพไร่ จึงจำเป็นต้องคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในแต่ละกรรมวิธี ตามวิธีการของ Henderson – Tilton (Puntener, 1992) โดยใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

% Efficacy = [(Ca.Tb – Ta.Cb)/Ca.Tb] x 100

Ta = Number of aphids in the treated plot after application

Tb = Number of aphids in the treated plot before application

Ca = Number of aphids in the untreated plot after application

Cb = Number of aphids in the untreated plot before application

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend) มีประสิทธิภาพเท่ากับ 33.80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 16.39 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 24.81 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 19.54 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 28.63 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 12.64 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 4 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 29.42 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 4.50 เปอร์เซ็นต์

จากการพ่นสารในกรรมวิธีต่างๆ ทุก 4 วัน ติดต่อกัน 4 ครั้ง พบว่า หลังการพ่นครั้ง 2, 3 และ 4 กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบต่ำที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบสูงที่สุด

ผลการตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่ (Table 13)

ก่อนการพ่นเชื้อ พบจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 4.67-5.76 ตัวต่อใบ ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ในทุกกรรมวิธีที่ทำการทดสอบ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.11 ตัวต่อใบ ซึ่งไม่แตกต่างกับกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อราและน้ำเปล่า พบที่ 3.33 ตัวต่อใบ แต่แตกต่างกับกรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend) พบที่ 5.60 ตัวต่อใบ และกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 พบที่ 4.43 ตัวต่อใบ ซึ่งไม่แตกต่างกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า พบที่ 4.03 ตัวต่อใบ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 2 พบจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 2.17-2.97 ตัวต่อใบ ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ในทุกกรรมวิธีที่ทำการทดสอบ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบต่ำที่สุดที่ 0.77 ตัวต่อใบ ซึ่งไม่แตกต่างกับกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 พบที่ 1.78 ตัวต่อใบ กรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า พบที่ 1.74 ตัวต่อใบ และกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อราและน้ำเปล่า พบที่ 0.91 ตัวต่อใบ แต่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend) พบที่ 2.16 ตัวต่อใบ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 4 พบจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.93-1.37 ตัวต่อใบ ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ในทุกกรรมวิธีที่ทำการทดสอบ

<u>ผลการเก็บจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่มาบ่มเชื้อในห้องปฏิบัติการ</u> (Table 14)

ก่อนพ่นเชื้อ พบว่า ทุกกรรมวิธีไม่พบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในธรรมชาติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 พบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อสูงสุดที่ 20.87 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบที่ 16.50 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกับกรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งพบระหว่าง 0.40-1.61 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 2 พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อสูงสุด 55.84 เปอร์เซ็นต์ พบความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งพบระหว่าง 0.58-7.04 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 พบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อสูงสุดที่ 28.54 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบที่ 25.36 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกับกรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งพบระหว่าง 4.98-7.42 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 4 พบว่า กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ Fipronil 5% W/V SC (Ascend), กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 และกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อ 22.51, 21.88 และ 14.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกับกรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งพบระหว่าง 3.05-3.91 เปอร์เซ็นต์

<u>เปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพของเชื้อราบูเวเรีย บัสเซียน่า (*Beauveria bassiana*) ในการควบคุมตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่</u> (Table 15)

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 5.61 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 10.48 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B18 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 7.02 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 14.48 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 4 พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 มีประสิทธิภาพเท่ากับ 23.58 เปอร์เซ็นต์

จากการพ่นสารในกรรมวิธีต่างๆ ทุก 4 วัน ติดต่อกัน 4 ครั้ง พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 พบจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบต่ำที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบสูงที่สุดในทุกครั้ง

จากผลการทดลอง พบว่า การแปลผลข้อมูลจากตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบให้ข้อมูลที่ถูกต้องชัดเจน เนื่องจากตัวอ่อนไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ส่วนตัวเต็มวัยสามารถบินได้ จึงอาจจะเกิดความคลาดเคลื่อนในการแปลผลข้อมูลได้สูงกว่าตัวอ่อน จึงเลือกใช้ข้อมูลจากตัวอ่อนเป็นหลักในการสรุปผลการทดลอง ทั้งนี้ควรใช้ข้อมูลทั้งสองส่วนประกอบกัน เพื่อให้สามารถสรุปผลการทดลองได้อย่างถูกต้อง

ผลการทดลองดังกล่าวใกล้เคียงกับการทดลองของ Tullu *et al.* (2011) ได้พัฒนาสูตรและทดสอบการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ในการควบคุมตัวอ่อนยุงก้นปล้อง พบว่าสูตรที่มี ShellSol T เป็นสารพา ช่วยให้สปอร์ของเชื้อราคงความอยู่รอดได้ดี และเมื่อทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการ โดยใช้สปอร์ของเชื้อราปริมาณ 10 มิลลิกรัมผสมสารพา (ShellSol T) ทำให้ตัวอ่อนยุงก้นปล้องตายได้ดีที่สุด จากนั้นทดสอบในภาคสนาม โดยใช้สปอร์ของเชื้อราปริมาณ 10 และ 20 มิลลิกรัม พบว่า การใช้สปอร์ปริมาณ 20 มิลลิกรัม ทำให้ประชากรของตัวอ่อนยุงก้นปล่องลดลง และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งประสิทธิภาพการก่อโรคในภาคสนามจะต่ำกว่าในห้องปฏิบัติการ จึงจำเป็นต้องใช้สปอร์ของเชื้อราในปริมาณที่สูงกว่า เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกัน

ผลการทดลองดังกล่าวแตกต่างกับการทดลองของ Wraight *et al.* (2000) ได้ทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อรา *B. bassiana* ที่ $5x10^{13}$ โคนิเดีย/น้ำ 180 ลิตร (ต่อพื้นที่ 1 เฮกตาร์) ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในสภาพไร่ โดยพ่นเชื้อราทุก 4 วัน ติดต่อกัน 3 ครั้ง พบว่า สามารถควบคุมตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ แต่ควบคุมตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวได้เพียงเล็กน้อย และใกล้เคียงกับการทดลองของ Maketon *et al.* (2009) ได้ทดสอบอัตราการใช้เชื้อรา *B. bassiana* CKB-048 ความเข้มข้น $1x10^{9}$ โคนิเดียต่อกรัม อัตรา 600, 800 และ 1,000 กรัมต่อน้ำ 200 ลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวที่จังหวัดสระบุรี และนครราชสีมา พบว่า ทุกอัตราสามารถควบคุมแมลงหวี่ขาวได้เทียบเท่ากับสาร Buprofezin 10% WP

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้เชื้อรา *M. anisopliae*, *B. bassiana* และ *I. javanica* ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabasi* (Gennadius)) ในมะเขือเปราะ โดยการทดสอบในห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 และ DOA-B18 ที่ความเข้มข้น $1x10^{8}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร สามารถทำให้แมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อได้ 97.50-100% เมื่อนำมาศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อรา *B. bassiana* DOA-B4 อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($4.08x10^{7}$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร) ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ 85.63 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา

B. bassiana DOA-B18 อัตรา 700 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ($9.38x10^7$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร) ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ 90.94 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อราบิวเวอเรียควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบในมะเขือเปราะในสภาพไร่ พบว่าการใช้เชื้อรา *B. bassiana* DOA-B4 พบจำนวนตัวอ่อนเฉลี่ย 5.49 ตัวต่อใบ และตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.93 ตัวต่อใบ และมีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการควบคุมตัวอ่อนและตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ 29.42 และ 23.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อัตราการติดเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 และ DOA-B18 พบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อระหว่าง 2.40-13.22 เปอร์เซ็นต์ และ 1.71-21.78 เปอร์เซ็นต์ และตัวเต็มวัยติดเชื้อระหว่าง 14.50-55.85 เปอร์เซ็นต์ และ 7.04-28.54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดลองพบว่า การใช้เชื้อราบิวเวอเรียในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบประสิทธิภาพในสภาพไร่ มีแนวโน้มค่อนข้างดี แต่เนื่องจากใช้ *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B18 อัตรา 700 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งเป็นอัตราที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ โดยสามารถควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ความชื้นให้เหมาะสมกับการเกิดโรคกับแมลงได้ดี เมื่อนำอัตราการใช้ดังกล่าวไปทดสอบในสภาพไร่ ซึ่งไม่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้ ดังนั้นควรเพิ่มอัตราการใช้ในสภาพไร่ เพื่อให้การใช้เชื้อรามีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ดียิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม จังหวัดนครปฐม ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการติดต่อประสานงานกับเกษตรกรในพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างแมลงหวี่ขาวยาสูบเพื่อใช้ในการทดสอบ ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ผลการทดลอง และขอขอบคุณคณะทำงานกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา และกลุ่มบริหารศัตรูพืช. 2564. *เอกสารคำแนะนำแผนการทดลองประสิทธิภาพสารกำจัดแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช 2564 (ฉบับปรับปรุง)*. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา และกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 312 หน้า.

สุนัดดา เชาวลิต. 2554. *แมลงหวี่ขาวยาสูบพาหะโรคใบด่างมันสำปะหลัง (แผ่นพับ)*. กรุงเทพมหานคร. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และเมธาสิทธิ์ คนการ. 2558. ประสิทธิภาพของราสาเหตุโรคแมลงบางชนิดในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ (white fly). หน้า 659-668. *ใน*: ผลงานวิจัยประจำปี 2558

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. เอกสารวิชาการเลขที่ 5/2559 เล่มที่ 2 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Luangsa-Ard, J., J. Houbraken, T. van Doorn, S.B. Hong, A.M. Borman, N.L. Hywel-Jones and R.A. Samson. 2011. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS microbiology letters*. 321(2): 141-149.

Maketon, M., P. Orosz-Coghlan and D. Hotaga. 2009. Laboratory and field evaluation of *Beauveria bassiana* for controlling Mulberry whitefly *Pealius mori* Takahashi (Homoptera: Aleyrodidae) in mulberry (*Morus alba* Linn). *Journal of pest science*. 82: 251-259.

Puntener, M. 1992. Manual for Field Trials in Plant Protection. 3rd ed. Agricultural Division, Ciba – Geigy Limited. Switzerland. 271 pp.

Tullu, B., W. Takken, and C.J. Koenraadt. 2011. Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae. *Parasites & vectors*. 4: 1-14.

Wraight, S.P., R.I. Carruthers, S.T. Jaronski, C.A. Bradley, C.J. Garza and S. Galaini-Wraight. 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological control*. 17(3): 203-217.

Table 1 Mortality of *Bemisia tabasi* caused by infection with 7 fungal isolates using a concentration of $1x10^8$ conidia ml^{-1} at 7 days after treatment; test 3 times, between January-February 2022

Isolate	No. of *Bemisia tabasi*[1/]	Experiment 1[2/]	Experiment 2[2/]	Experiment 3[2/]
DOA-M1	80	88.68ab	51.40c	49.24c
DOA-M3	80	77.91b	75.53b	48.33c
DOA-M8	80	93.33a	94.17a	95.23a
DOA-M9	80	77.44b	77.61b	79.45ab
DOA-B4	80	92.86a	98.22a	92.71a
DOA-B18	80	86.67ab	92.69a	82.54ab
DOA-I1	80	74.62b	86.53ab	65.36bc
Control (water)	80	0.00c	0.00d	0.00c
C.V. (%)		**13.20**	**11.58**	**19.87**

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

[2/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 2 Mortality of *Bemisia tabasi* caused by infection with 3 fungal isolates using a concentration of 10^5-10^8 conidia ml^{-1} at 7 days after treatment; test 6 times, between July-September 2022

Isolate	Concentration (Conidia ml^{-1})	No. of *Bemisia tabasi*[1/]	Experiment 1[2/]	Experiment 2[2/]	Experiment 3[2/]	Experiment 4[2/]	Experiment 5[2/]	Experiment 6[2/]
DOA-M8	$1x10^5$	80	15.00d	11.25d	23.75c	12.50g	27.50g	20.00h
DOA-M8	$1x10^6$	80	50.00c	51.25c	63.75b	73.75cd	63.75de	55.00f
DOA-M8	$1x10^7$	80	63.75bc	76.25b	66.25b	80.00bcd	76.25bc	86.25bc
DOA-M8	$1x10^8$	80	93.75a	87.50ab	78.75ab	91.25ab	93.75a	90.00b
DOA-B4	$1x10^5$	80	15.00d	38.75c	30.00c	46.25f	35.00fg	42.50g
DOA-B4	$1x10^6$	80	85.00ab	85.00ab	75.00b	65.00de	57.50e	65.00e
DOA-B4	$1x10^7$	80	85.00ab	93.75ab	81.25ab	97.50a	82.50b	91.25b
DOA-B4	$1x10^8$	80	100.00a	98.75a	100.00a	100.00a	97.50a	100.00a
DOA-B18	$1x10^5$	80	53.75c	37.50c	37.50c	51.25ef	42.50f	53.75f
DOA-B18	$1x10^6$	80	82.50ab	92.50ab	65.00b	73.75cd	70.00cd	73.75d
DOA-B18	$1x10^7$	80	93.75a	96.25a	80.00ab	88.75abc	76.25bc	81.25c
DOA-B18	$1x10^8$	80	97.50a	100.00a	100.00a	100.00a	97.50a	100.00a
Control (water)		80	0.00d	0.00d	0.00d	0.00g	0.00h	0.00i
C.V. (%)			21.34	18.42	22.45	15.44	9.06	6.50

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

[2/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 3 Lethal Concentration (LC_{50}, LC_{90}) for entomopathogenic fungi strains during laboratory bioassay of *Bemisia tabasi* at 7 days after treatment; test 6 times

Isolate	Experiment[1/]	LC_{50} (Conidia ml^{-1})	95% Confidence limit		LC_{90} (Conidia ml^{-1})	95% Confidence limit	
			Lower	Upper		Lower	Upper
DOA-M8	1	$1.75x10^6$	$4.87x10^5$	$6.28x10^6$	$6.95x10^7$	$1.94x10^7$	$2.50x10^8$
	2	$1.89x10^6$	$5.10x10^5$	$7.03x10^6$	$9.10x10^7$	$2.45x10^7$	$3.38x10^8$
	3	$1.07x10^6$	$1.38x10^5$	$8.31x10^6$	$7.00x10^8$	$9.01x10^7$	$5.44x10^9$
	4	$8.71x10^5$	$2.28x10^5$	$3.32x10^6$	$4.59x10^7$	$1.20x10^7$	$1.75x10^8$
	5	$5.77x10^5$	$1.28x10^5$	$2.61x10^6$	$4.57x10^7$	$1.01x10^7$	$2.06x10^8$
	6	$8.83x10^5$	$2.19x10^5$	$3.56x10^6$	$5.50x10^7$	$1.36x10^7$	$2.22x10^8$
DOA-B4	1	$5.01x10^5$	$1.64x10^5$	$1.54x10^6$	$1.05x10^7$	$3.42x10^6$	$3.21x10^7$
	2	$1.48x10^5$	$3.94x10^4$	$5.57x10^5$	$3.92x10^6$	$1.04x10^6$	$1.47x10^7$
	3	$3.30x10^5$	$7.40x10^4$	$1.47x10^6$	$2.29x10^7$	$5.14x10^6$	$1.02x10^8$
	4	$1.90x10^5$	$5.77x10^4$	$6.32x10^5$	$3.53x10^6$	$1.07x10^6$	$1.17x10^7$
	5	$4.30x10^5$	$1.09x10^5$	$1.70x10^6$	$1.96x10^7$	$4.96x10^6$	$7.72x10^7$
	6	$2.15x10^5$	$5.11x10^4$	$9.02x10^5$	$9.86x10^6$	$2.35x10^6$	$4.14x10^7$
DOA-B18	1	$4.74x10^4$	$7.37x10^3$	$3.05x10^5$	$5.68x10^6$	$8.82x10^5$	$3.65x10^7$
	2	$1.26x10^5$	$3.70x10^4$	$4.32x10^5$	$2.31x10^6$	$6.76x10^5$	$7.89x10^6$
	3	$3.01x10^5$	$5.27x10^4$	$1.72x10^6$	$4.89x10^7$	$8.56x10^6$	$2.79x10^8$
	4	$8.70x10^4$	$1.39x10^4$	$5.46x10^5$	$1.28x10^7$	$2.64x10^6$	$8.04x10^7$
	5	$2.39x10^5$	$4.86x10^4$	$1.17x10^6$	$2.31x10^7$	$4.69x10^6$	$1.13x10^8$
	6	$4.39x10^4$	$3.42x10^3$	$5.63x10^5$	$7.56x10^7$	$5.89x10^6$	$9.70x10^8$

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

Table 4 Mortality of *Bemisia tabasi* caused by infection with *B. bassiana* DOA-B4 using a concentration of 100-1,000 gram per 20 liters of water at 7 days after treatment; test 4 times, between December 2022 - February 2023

Rate (gram per 20 liters of water)	No. of *Bemisia tabasi*[1/]	Concentration (Conidia ml^{-1})	Mortality of *Bemisia tabasi* (%)[2/]				
			Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3	Experiment 4	Average
100	80[1/]	$2.04x10^7$	95.00 a	90.00 c	68.75 bc	57.50 b	77.81 b
200	80	$4.08x10^7$	95.00 a	98.75 ab	66.25 c	82.50 ab	85.63 ab
300	80	$6.12x10^7$	100.00 a	93.75 bc	82.50 abc	82.50 ab	89.69 ab
400	80	$8.16x10^7$	96.25 a	96.25 ab	86.25 abc	60.00 b	84.69 ab
500	80	$1.02x10^8$	100.00 a	97.50 ab	90.00 a	68.75 ab	89.06 ab
600	80	$1.22x10^8$	98.75 a	100.00 a	87.50 ab	83.75 ab	92.50 ab
700	80	$1.43x10^8$	100.00 a	98.75 ab	83.75 abc	88.75 a	92.81 ab
800	80	$1.63x10^8$	100.00 a	100.00 a	91.25 a	91.25 a	95.63 ab
900	80	$1.84x10^8$	100.00 a	100.00 a	90.00 a	93.75 a	95.94 a
1,000	80	$2.04x10^8$	100.00 a	100.00 a	93.75 a	93.75 a	96.88 a
control	80	0	0.00 b	0.00 d	0.00 d	0.00 c	0.00 c
C.V. (%)			3.83	4.17	16.69	22.75	13.22

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

[2/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 5 Mortality of *Bemisia tabasi* caused by infection with *B. bassiana* DOA-B18 using a concentration of 100-1,000 gram per 20 liters of water at 7 days after treatment; test 4 times, between December 2022 - February 2023

Rate (gram per 20 liters of water)	No. of *Bemisia tabasi*[1/]	Concentration (Conidia ml^{-1})	Mortality of *Bemisia tabasi* (%)[2/]				
			Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3	Experiment 4	Average
100	80[1/]	$1.34x10^7$	8.75 c	1.25 c	0.00 f	6.25 d	9.06 e
200	80	$2.68x10^7$	6.25 c	2.50 b	7.50 e	6.25 c	3.13 d
300	80	$4.02x10^7$	1.25 bc	5.00 b	2.50 de	5.00 bc	8.44 cd
400	80	$5.36x10^7$	7.50 c	8.75 b	8.75 cde	3.75 bc	9.69 cd
500	80	$6.70x10^7$	2.50 abc	7.50 b	1.25 bc	8.75 bc	7.50 bc
600	80	$8.04x10^7$	2.50 abc	7.50 b	8.75 bcd	8.75 ab	9.38 bc
700	80	$9.38x10^7$	6.25 ab	5.00 a	1.25 ab	1.25 a	0.94 a
800	80	$1.07x10^8$	8.75 a	0.00 a	1.25 bc	3.75 a	8.44 ab
900	80	$1.21x10^8$	3.75 a	6.25 a	1.25 ab	0.00 a	2.81 a
1,000	80	$1.34x10^8$	8.75 a	00.00 a	00.00 a	3.75 a	8.13 a
control	80		.00 d	.00 d	.00 g	.00 e	.00 f
C.V. (%)			4.06	.10	6.14	8.90	0.34

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

[2/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 6 The average number of *Bemisia tabaci* (nymphs) found on Thai eggplant leaves after spraying with *B. bassiana* in Tha Muang District, Kanchanaburi Province, between June-August 2023

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	No. of *Bemisia tabasi* (per leaf)[1/]				
		Before the experiment	After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying
1. *Beauveria bassiana* DOA-B4	200	2.10 a	2.46 a	1.87 ab	2.33 a	1.19 ab
2. *Beauveria bassiana* DOA-B18	700	1.99 a	3.52 a	1.77 a	2.43 a	1.10 ab
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	2.82 a	3.29 a	2.77 b	2.22 a	0.87 a
4. Water	-	2.11 a	3.34 a	1.86 ab	2.16 a	1.19 ab
5. Control (untreated)	-	1.70 a	2.37 a	2.53 ab	2.21 a	1.67 b
C.V. (%)	-	49.70	35.00	25.40	31.80	29.80
R.E. (%)[2/]	-		89.20	125.00	134.00	195.20

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Table 7 Mortality of *Bemisia tabasi* (nymphs) caused by infection with *B. bassiana* from field collection and incubated in the laboratory

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	Mortality of *Bemisia tabasi* (%)[1/]				
		Before the experiment	After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying
1. *Beauveria bassiana* DOA-B4	200	-	37.54 a[1/]	9.46 c	14.72 a	0.78 a
2. *Beauveria bassiana* DOA-B18	700	-	16.76 b	30.66 a	10.78 a	0.70 a
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	-	0.00 c	4.28 c	0.05 b	0.55 a
4. Water	-	-	31.31 a	23.52 ab	0.02 b	1.42 a
5. Control (untreated)	-	-	10.04 bc	11.16 bc	0.03 b	0.22 a
C.V. (%)	-	-	34.30	51.40	77.70	149.50
R.E. (%)[2/]	-	-	-	33.00	52.40	44.70

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Table 8 The average number of *Bemisia tabaci* (adult) found on Thai eggplant leaves after spraying with *B. bassiana* in Tha Muang District, Kanchanaburi Province, between June-August 2023

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	No. of *Bemisia tabasi* (per leaf)[1/]				
		Before the experiment	After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying
1. *Beauveria bassiana* DOA-B4	200	0.65 a	0.36 a	0.18 a	0.43 a	0.07 a
2. *Beauveria bassiana* DOA-B18	700	0.56 a	0.40 a	0.15 a	0.36 a	0.07 a
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	0.69 a	0.54 a	0.23 a	0.30 a	0.21 a
4. Water	-	0.58 a	0.52 a	0.37 a	0.39 a	0.17 a
5. Control (untreated)	-	0.69 a	0.44 a	0.25 a	0.38 a	0.13 a
C.V. (%)	-	60.10	38.10	62.20	42.20	107.00
R.E. (%)[2/]	-	-	93.20	87.80	181.90	88.60

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Table 9 Mortality of *Bemisia tabasi* (adult) caused by infection with *B. bassiana* from field collection and incubated in the laboratory

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	Mortality of *Bemisia tabasi* (%)[1/]				
		Before the experiment	After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying
1. *Beauveria bassiana* DOA-B4	200	-	38.27 a	35.02 a	21.65 a	2.09 b
2. *Beauveria bassiana* DOA-B18	700	-	22.21 b	3.05 b	1.54 b	41.90 a
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	-	3.13 c	0.81 b	0.19 b	11.33 ab
4. Water	-	-	38.10 a	12.70 a	0.07 b	2.02 b
5. Control (untreated)	-	-	26.27 ab	4.97 b	0.00 b	1.47 b
C.V. (%)	-	-	30.40	117.10	128.80	68.30
R.E. (%)[2/]	-	-	-	47.20	121.70	79.30

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Table 10 The average number of *Bemisia tabaci* (nymphs) found on Thai eggplant leaves after spraying with *B. bassiana* in Tha Maka District, Kanchanaburi Province, between December 2023 and March 2024

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	No. of *Bemisia tabasi* (per leaf)[1/]				
		Before the experiment	After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying
1. *Beauveria bassiana* DOA-B4	200	9.96	12.89	7.39	4.20 a	5.49 a
2. *Beauveria bassiana* DOA-B18	700	10.19	10.55	8.09	5.26 ab	7.60 ab
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	8.82	7.23	8.81	5.70 ab	7.74 ab
4. Water	-	9.87	10.39	8.75	6.05 b	9.10 b
5. Control (untreated)	-	8.31	10.29	8.20	4.91 ab	6.49 ab
C.V. (%)	-	13.6	48.40	33.10	17.30	26.80
R.E. (%)[2/]	-	-	83.00	86.90	124.30	79.60

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Table 11 Mortality of *Bemisia tabasi* (nymphs) caused by infection with *B. bassiana* from field collection and incubated in the laboratory

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	Mortality of *Bemisia tabasi* (%)[1/]				
		Before the experiment	After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying
1. *Beauveria bassiana* DOA-B4	200	-	2.40 b	13.22 a	9.30 b	7.79 b
2. *Beauveria bassiana* DOA-B18	700	-	8.41 a	1.71 b	21.78 a	19.88 a
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	-	0.00 c	0.39 b	0.76 c	7.65 b
4. Water	-	-	0.00 c	0.00 b	1.00 c	0.49 b
5. Control (untreated)	-	-	0.00 c	1.90 b	0.00 c	0.00 b
C.V. (%)	-	-	97.14	77.11	64.10	106.90
R.E. (%)[2/]	-	-	-	-	-	-

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Table 12 Percentage efficacy of *B. bassiana* in controlling *Bemisia tabaci* (nymphs) in Thai eggplant in Tha Maka District, Kanchanaburi Province, between December 2023 and March 2024

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	Efficacy in controlling *Bemisia tabaci*; nymphs (% Efficacy) [1/]			
		After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying
1. *Beauveria bassiana* DOA-B4	200	-4.52	24.81	28.63	29.42
2. *Beauveria bassiana* DOA-B18	700	16.39	19.54	12.64	4.50
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	33.80	-1.23	-9.38	-12.36
4. Water	-	14.99	10.16	-3.74	-18.05
5. Control (untreated)	-	-	-	-	-

[1/] % Efficacy was calculated using the Henderson–Tilton formula (Puntener, 1992)

Table 13 The average number of *Bemisia tabaci* (adult) found on Thai eggplant leaves after spraying with *B. bassiana* in Tha Maka District, Kanchanaburi Province, between December 2023 and March 2024

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	No. of *Bemisia tabasi* (per leaf)[1/]				
		Before the experiment	After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying
1. *Beauveria bassiana* DOA-B4	200	4.67 a	3.11 a	2.17	0.77 a	0.93
2. *Beauveria bassiana* DOA-B18	700	5.76 ab	4.43 ab	2.78	1.78 ab	1.37
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	5.08 ab	5.60 b	2.97	2.16 b	1.29
4. Water	-	5.27 ab	4.03 ab	2.78	1.74 ab	1.20
5. Control (untreated)	-	4.72 a	3.33 a	2.45	0.91 ab	1.23
C.V. (%)	-	12.00	12.13	24.00	51.60	27.80
R.E. (%)[2/]	-	-	82.70	84.80	75.50	86.80

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Table 14 Mortality of *Bemisia tabasi* (adult) caused by infection with *B. bassiana* from field collection and incubated in the laboratory

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	Mortality of *Bemisia tabasi* (%)[1/]				
		Before the experiment	After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying
1. *Beauveria bassiana* DOA-B4	200	-	16.50 a	55.85 a	25.36 a	14.50 ab
2. *Beauveria bassiana* DOA-B18	700	-	20.87 a	7.04 b	28.54 a	21.88 ab
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	-	0.94 b	4.28 bc	7.42 b	22.51 a
4. Water	-	-	0.40 b	0.58 c	5.05 b	3.05 b
5. Control (untreated)	-	-	1.61 b	5.45 b	4.98 b	3.91 b
C.V. (%)	-	-	59.66	42.79	75.60	89.10
R.E. (%)[2/]	-	-	-			

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance (ANCOVA) after spraying, in cases where the pre-spraying means differ statistically across treatments.

Table 15 Percentage efficacy of *B. bassiana* in controlling *Bemisia tabaci* (nymphs) in Thai eggplant in Tha Maka District, Kanchanaburi Province, between December 2023 and March 2024.

Treatment	Rate (gram or milliliter per 20 liters of water)	Efficacy in controlling *Bemisia tabaci*; adult (% Efficacy) [1/]			
		After the first spraying	After the second spraying	After the third spraying	After the fourth spraying
1. *Beauveria bassiana* DOA-B4	200	5.61	10.48	14.48	23.58
2. *Beauveria bassiana* DOA-B18	700	-9.01	7.02	-60.29	8.73
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	-56.25	-12.63	-120.54	2.55
4. Water	-	-8.39	-1.63	-71.25	12.62
5. Control (untreated)	-	-	-	-	-

[1/] % Efficacy was calculated using the Henderson–Tilton formula (Puntener, 1992)

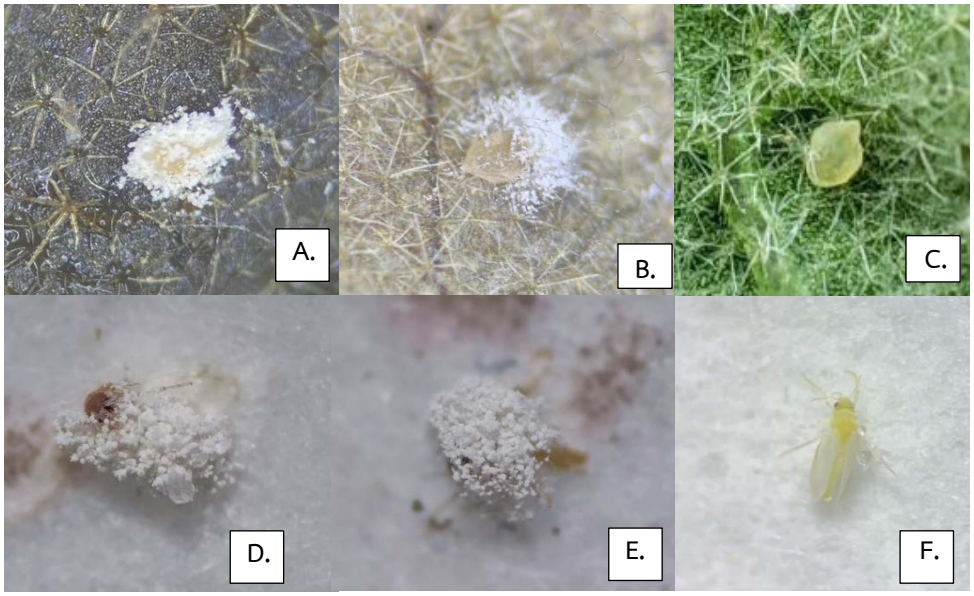


Figure 1 Characteristics of *Bemisia tabaci* infected with *B. bassiana*.

A: Characteristics of *Bemisia tabaci* (nymph) infected with *B. bassiana* DOA-B4.

B: Characteristics of *Bemisia tabaci* (nymph) infected with *B. bassiana* DOA-B18.

C: Characteristics of *Bemisia tabaci* (nymph); Control.

D: Characteristics of *Bemisia tabaci* (adult) infected with *B. bassiana* DOA-B4.

E: Characteristics of *Bemisia tabaci* (adult)) infected with *B. bassiana* DOA-B18.

F: Characteristics of *Bemisia tabaci* (adult); Control.

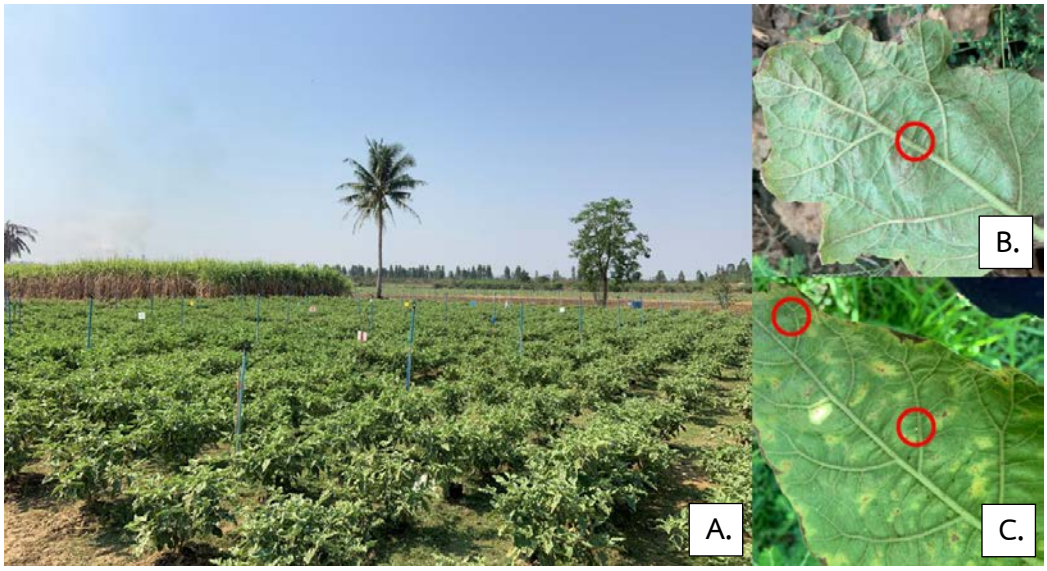


Figure 2 Field test of the efficacy of *B. bassiana* in controlling *Bemisia tabaci*

A: Experimental plot for efficacy testing.

B and C: *Bemisia tabaci* (adult) infected with *B. bassiana* under field conditions

การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* Koch) ในถั่วฝักยาว

Utilization of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* for Controlling Cowpea Aphid (*Aphis craccivora* Koch) in Yardlong Bean

ภัททิรา ศาตร์วงษ์[1/] ทิภาพร นวลเนตร[1/] เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[1/]
อดุลย์รัตน์ แคล้วคลาด[2/] สุภัค กาญจนเกษร[2/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

Abstract

The use of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* for controlling cowpea aphid (*Aphis craccivora* Koch) in yardlong beans was studied from October 2021 to September 2024. The objective of this study was to determine the optimal fungal isolates and application rates for effective aphid control. In 2022, at the Entomopathogenic Fungi Laboratory, Biological Control Research Group, Division of Entomology and Zoology, Plant Protection Research and Development Office, revealed that *M. anisopliae* isolate DOA-M8 at 200 g/20 L of water (5.42×10^7 conidia ml^{-1}) caused infection rates 97.82%, while *B. bassiana* isolate DOA-B4 at 400 g/20 L (8.16×10^7 conidia ml^{-1}) caused infection rates 93.13%. In 2023, both isolates were tested under field conditions at Tha Muang District, Kanchanaburi Province, during August–September. After the first three sprayings, no significant differences in aphid populations in all treatments, with infection rates ranging from 0.02% to 38.84%. I n 2024, further field trials were conducted in the same location from February to March, applying fungal sprays every four days for a total of four applications. After the fourth application, aphid populations in all fungal treatments (40.54–46.59 aphids/plant) were significantly lower than control treatment (70.25 aphids/plant). The most effective treatment was *B. bassiana* isolate DOA-B4 at 600 g/20 L (1×10^8 conidia ml^{-1}), showing a 52.42% effectiveness rate.

Keyword : *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, Cowpea Aphid, Yardlong Bean

---

รหัสการทดลอง FF65-10-02-65-02-03-65

บทคัดย่อ

การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* Koch) ในถั่วฝักยาว ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2567 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาว ในปี 2565 ทดสอบที่ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัย-พัฒนาการอารักขาพืช ผลการทดลองได้ชนิดและอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ คือ เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($5.42x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) ควบคุมเพลี้ยอ่อนได้ 97.82 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($8.16x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) ควบคุมเพลี้ยอ่อนได้ 93.13 เปอร์เซ็นต์ ปี 2566 (ปีที่ 1) ได้นำเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลทมาทดสอบในสภาพไร่ที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี ระหว่างเดือนสิงหาคม-กันยายน 2566 หลังฉีดพ่นครั้งที่ 1-3 จำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วที่พบไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี มีอัตราการติดเชื้อ 0.02-38.84 เปอร์เซ็นต์ ปี 2567 (ปีที่ 2) ทดสอบในสภาพไร่ที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี ระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ - มีนาคม 2567 โดยพ่นเชื้อทุก 4 วัน ติดต่อกัน 4 ครั้ง หลังพ่นเชื้อครั้งที่ 1-3 จำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วไม่มีความแตกต่างกันในทุกกรรมวิธี ยกเว้นหลังพ่นเชื้อครั้งที่ 4 ทุกกรรมวิธีที่พ่นเชื้อไม่พบความแตกต่างกัน (40.54-46.59 ตัว/ต้น) แต่ต่างกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (70.25 ตัว/ต้น) โดยกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 (10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) อัตรา 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ พบที่ 52.42 เปอร์เซ็นต์

คำหลัก : เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม, เชื้อราบิวเวอเรีย, เพลี้ยอ่อนถั่ว, ถั่วฝักยาว

คำนำ

เพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora*) เป็นแมลงที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ที่สามารถเข้าทำลายพืชตระกูลถั่วและพืชผักได้หลายชนิด สามารถเข้าทำลายได้ทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย โดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน ช่อดอก และฝักอ่อนของพืช ส่งผลให้พืชมีอาการผิดปกติ เช่น ต้นพืชชะงักการเจริญเติบโต แคระแกร็น ช่อดอกร่วง ฝักอ่อนบิดเบี้ยว เมล็ดลีบ และใบเหลือง จึงส่งผลกระทบต่อผลผลิตพืชทั้งทางด้านปริมาณและคุณภาพลดลง ราคาตกต่ำ เกษตรกรจึงนิยมใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นหลัก ทำให้เกิดสารพิษตกค้างในพืชผักเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการใช้วิธีทางธรรมชาติจึงเข้ามามีบทบาทมากขึ้น เช่น การใช้วิธีทางเขตกรรม สารสกัดจากธรรมชาติ การใช้ตัวห้ำ ตัวเบียน ไส้เดือนฝอย และจุลินทรีย์ เป็นต้น

การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลง (Entomopathogenic fungi) เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถช่วยควบคุมเพลี้ยอ่อนได้ ปัจจุบันเกษตรกรและนักวิจัยได้ให้ความสนใจในการนำเชื้อราโรคแมลงมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชทางเกษตรมากขึ้น เพื่อเป็นทางเลือกในการลดสารพิษตกค้างในพืชผล

ทางการเกษตร การทดลองในครั้งนี้เป็นการศึกษาวิจัยต่อยอดจากงานวิจัยของเสาวนิตย์และเมธาสิทธิ์ (2559) ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*A. craccivora*) พบว่า *M. anisopliae* DOA-M8 และ *B. bassiana* DOA-B4 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพกึ่งโรงเรือนทดลอง งานวิจัยในปี 2565-2567 มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงดังกล่าวมาปรับใช้ในสภาพไร่ โดยจะศึกษาประสิทธิภาพและอัตราการใช้ที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาว เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตขยายเชื้อราสาเหตุโรคแมลงและต้นแบบในการขยายผลสู่เกษตรกรเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาวและสามารถนำไปใช้ร่วมกับการควบคุมศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน (IPM)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* DOA-M8 และ *Beauveria bassiana* DOA-B4
2. เพลี้ยอ่อนถั่ว
3. ข้าวโพดบดหยาบ, ข้าวสาร
4. ต้นถั่วฝักยาว
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Broth (PDB)
6. ที่นับสปอร์ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer)
7. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)
8. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
9. กระดาษกรองเบอร์ 1
10. กล้องจุลทรรศน์
11. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
12. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
13. ฟลาสก์ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
14. จานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร

วิธีการ

แผนการดำเนินงาน แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ปี 2565: ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ

ปี 2566-2567: ขั้นตอนที่ 3 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่

การทดลองในห้องปฏิบัติการ ปี 2565

นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อตายสูงสุดในห้องปฏิบัติการ จากงานทดลองของเสาวนิตย์และเมธาสิทธิ์ (2559) จำนวน 2 ไอโซเลท คือ เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 และ *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 นำมาศึกษา โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกไอโซเลทที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u> : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 9 กรรมวิธี โดยใช้เพลี้ยอ่อนถั่วซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 เข้มข้น $1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 เข้มข้น $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 เข้มข้น $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 เข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 เข้มข้น $1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 เข้มข้น $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 7 เชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 เข้มข้น $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 8 เชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 เข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 9 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เตรียมอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อราเหตุโรคแมลง จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 และ *B. Bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 สำหรับใช้เป็นหัวเชื้อ (inoculum) จากนั้นตัดชิ้นวุ้น PDA ที่เตรียมไว้ขนาด 1x1 เซนติเมตร ใส่ลงในฟลาสก์อาหารเหลว (PDB) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบ/นาที เป็นเวลานาน 4 วัน ตรวจเช็คการปนเปื้อนของเชื้ออื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนนำมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบ

เตรียมข้าวโพดบดหยาบโดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายหัวเชื้อ PDB ที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มิลลิลิตร/ถุง ลงในถุงข้าวโพดบดหยาบที่เตรียมไว้ คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (25±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน เมื่อเชื้อเจริญจนเต็มถุง นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท มาปรับความเข้มข้นที่ $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$ และ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

2. วิธีการเตรียมพืชอาศัย

ปลูกถั่วฝักยาวลงกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 นิ้ว ใส่ไว้ในกรงมุ้งตาข่ายที่สามารถกันแมลงเข้าออกได้ เพื่อนำมาเป็นพืชอาหารให้กับเพลี้ยอ่อนถั่วเพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพ

3. วิธีการเตรียมแมลงทดสอบในห้องปฏิบัติการ

3.1 เก็บเพลี้ยอ่อนถั่วในธรรมชาติที่มีการระบาดของเพลี้ยอ่อนถั่ว นำมาเลี้ยงบนต้นถั่วฝักยาวที่เตรียมไว้

3.2 เตรียมจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ใส่กระดาษกรองเบอร์ 1 จำนวน 1 แผ่น/จานเลี้ยงเชื้อ หยดน้ำลงบนกระดาษกรองเพื่อให้ความชื้น

3.3 นำสารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เตรียมไว้ในแต่ละกรรมวิธีพ่นลงบนใบถั่วฝักยาวที่มีเพลี้ยอ่อนเข้าทำลาย

3.4 นำสำลีจุ่มน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อโดยพันที่ปลายก้านใบถั่วฝักยาว จากนั้นวางลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ ปิดฝาและพันทับด้วยพาราฟิน

3.5 สังเกตการเป็นโรคของเพลี้ยอ่อน ทำการตรวจนับจำนวนแมลงทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว

คัดเลือกไอโซเลทและความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วจากขั้นตอนที่ 1 มาศึกษาหาอัตราการใช้ที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u> : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยใช้เพลี้ยอ่อนถั่วซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 อัตรา 300 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 อัตรา 500 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 อัตรา 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 อัตรา 700 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 8 อัตรา 800 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 9 อัตรา 900 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 10 อัตรา 1,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

ดำเนินการทดสอบเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนโคนิเดียต่อกรรมวิธี

- จำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วที่ตายติดเชื้อจากการทดลอง
- ระยะเวลาการติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนถั่วจากการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1. วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ Duncan's news multiple range test (DMRT)

2. นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนถั่วมาคำนวณค่า Lethal Concentration (LC_{50} และ LC_{90}) โดยใช้วิธี Probit Analysis

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

สถานที่ ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ขั้นตอนที่ 3 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่ (ปี 2566-2567)

3.1 การทดลองในสภาพไร่ ปี 2566 (ปีที่ 1)

นำอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ดีที่สุดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ ปี 2565 จำนวน 2 อัตรา ได้แก่ *M. anisopliae* DOA-M8 อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ *B. bassiana* DOA-B4 อัตรา 400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มาทดสอบอัตราการใช้ในสภาพไร่

แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 พ่นเชื้อ DOA-M8 อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นเชื้อ DOA-B4 อัตรา 400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร Fipronil 5% W/V SC (Ascend) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นน้ำเปล่า

กรรมวิธีที่ 5 ไม่พ่นเชื้อราสาเหตุโรคแมลง และน้ำเปล่า (Control)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เลือกแปลงถั่วฝักยาวที่มีเพลี้ยอ่อนถั่วระบาดสม่ำเสมอ จำนวน 1 แปลงทดลอง ขนาดแปลงย่อย 30 ตารางเมตร จำนวน 20 แปลงย่อย ระยะห่างระหว่างแถว 1 เมตร ระหว่างหลุม 50 เซนติเมตร และระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1.50 เมตร เริ่มทำการทดสอบเมื่อพบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเฉลี่ยมากกว่า 10 ตัวต่อต้น โดยพ่นเชื้อราสาเหตุโรคแมลงทุก 4 วัน ติดต่อกัน 4 ครั้ง และพ่นสารเปรียบเทียบทุก 7 วัน ติดต่อกัน 2 ครั้ง ด้วยเครื่องพ่นสารแบบสะพายหลังที่สามารถควบคุมแรงดันได้ อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ ตามเอกสารคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัยจากงานวิจัย ปี 2564 (สุภรดา และคณะ, 2564) ประเมินผลการทดลองโดยสุ่มตรวจนับจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว ก่อนพ่นสารและ 4 วันหลังพ่นสารจำนวน 4 ครั้ง โดยสุ่มนับจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว

ทุกวัยที่มีชีวิตที่ใบหรือยอด จำนวน 25 ต้นๆ ละ 2 ใบหรือยอด รวม 50 ใบหรือยอดต่อแปลงย่อย (เว้นหัวและท้ายแปลงด้านละ 2 ต้น) และสุ่มเก็บเพลี้ยอ่อนถั่วแต่ละแปลงย่อยๆ ละ 100 ตัว ก่อนพ่นสารและหลังพ่นสารจำนวน 4 ครั้ง เพื่อมาบ่มเชื้อในห้องปฏิบัติการ

3.2 การทดลองในสภาพไร่ ปี 2567 (ปีที่ 2)

เนื่องจากผลการทดลองปี 2566 เพลี้ยอ่อนถั่วมีอัตราการติดเชื้อในสภาพไร่ค่อนข้างน้อย จึงปรับกรรมวิธีและอัตราการใช้ในสภาพไร่ใหม่ ดังนี้

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 พ่นเชื้อ DOA-M8 อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (เข้มข้น 10^7 โคนิเดีย/มล.)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นเชื้อ DOA-M8 อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (เข้มข้น 10^8 โคนิเดีย/มล.)

กรรมวิธีที่ 3 พ่นเชื้อ DOA-B4 อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (เข้มข้น 10^7 โคนิเดีย/มล.)

กรรมวิธีที่ 4 พ่นเชื้อ DOA-B4 อัตรา 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (เข้มข้น 10^8 โคนิเดีย/มล.)

กรรมวิธีที่ 5 พ่นน้ำเปล่า (Control)

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

ดำเนินการทดสอบเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 3.1

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนโคนิเดียต่อกรรมวิธี
- จำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วที่พบในแต่ละกรรมวิธี
- จำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วที่ติดเชื้อจากการทดสอบในสภาพไร่
- ระยะเวลาการติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนถั่วจากการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ</u>

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีการทางสถิติที่เหมาะสม
- ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ ถ้าจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วก่อนพ่นเชื้อราไม่แตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นเชื้อด้วยวิธี analysis of variance ถ้าจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วก่อนพ่นเชื้อราแตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of covariance จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT คำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (% Efficacy) ตามวิธีการของ Henderson-Tilton (Henderson and Tilton, 1955; Puntener, 1992) โดยใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

$$\% \text{ Efficacy} = [1 - (Ta.Cb/Ca.Tb)] \times 100$$

โดยที่ Tb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา

Ta = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา

Cb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นเชื้อรา

Ca = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นเชื้อรา

<u>เวลาและสถานที่</u>

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2565 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ แปลงเกษตรกรปลูกถั่วฝักยาว อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองในห้องปฏิบัติการ ปี 2565

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกไอโซเลทที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว

จากการคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อสูงสุดในห้องปฏิบัติการจากงานทดลองของเสาวนิตย์และเมธาสิทธิ์ (2559) จำนวน 2 ไอโซเลท คือ เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 และ *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบที่ความเข้มข้น $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$ และ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร จำนวน 4 ครั้ง ในช่วงเดือน มกราคม-พฤษภาคม 2565 จากนั้นตรวจสอบการติดเชื้อโดยใช้หลัก Koch's postulates เพื่อยืนยันการเกิดโรค โดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในเพลี้ยอ่อนถั่วหลังการฉีดพ่น 7 วัน ดังนี้ (Table 1)

ผลการทดสอบครั้งที่ 1 พบว่า ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้สูงสุด 98.75% รองลงมาคือ DOA-B4 ที่ 96.25% และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 2 พบว่า ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้สูงสุด 97.40% รองลงมาคือ DOA-M8 ที่ 10^7-10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร (78.70, 73.89%) และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 3 พบว่า ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้สูงสุดถึง 100.00% รองลงมาคือ DOA-M8 ที่ 98.75% และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 4 พบว่า ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้สูงสุด 88.29% รองลงมาคือ DOA-M8 ที่ 10^7-10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร (61.51, 76.98%) และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

จากผลการทดสอบทั้ง 4 ครั้ง สังเกตได้ว่า หลังการทดลอง 2-3 วัน เพลี้ยอ่อนถั่วเริ่มเคลื่อนไหวช้าลง และเริ่มพบเส้นใยของเชื้อรา DOA-B4 ขึ้นปกคลุมเพลี้ยอ่อนถั่วที่ตาย หลังการทดลอง 4-5 วัน พบเพลี้ยอ่อนถั่วที่ตายด้วยเชื้อราบิวเวอเรียเพิ่มขึ้น และเริ่มพบเส้นใย DOA-M8 บนเพลี้ยอ่อนถั่วที่ตาย หลังการทดลอง 6-7 วัน เห็นโคนิเดียของเชื้อราโรคแมลงชัดเจนขึ้น (Figure 1) ซึ่งผลการทดสอบทั้ง 4 ครั้ง พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเป็นไปในทิศทางเดียวกัน เมื่อความเข้มข้นของเชื้อราสาเหตุ

โรคแมลงสูงขึ้นอัตราการติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนถั่วเพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกัน สอดคล้องกับการรายงานของ Pegu *et al.* (2016) ทดสอบเชื้อรา *M. anisopliae* ที่ความเข้มข้น $1x10^{3}$-$1x10^{11}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ ตรวจผลการทดลองทุกวันเป็นเวลา 5 วัน พบว่า อัตราการติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนถั่วเพิ่มขึ้นทุกวัน และพบอัตราการตายสูงสุดที่ $1x10^{11}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร (83.88%) รองลงมาคือ $1x10^{10}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร (64.72%) และ $1x10^{9}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร (52.96%) และที่ $1x10^{3}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร พบอัตราการตายต่ำสุด เท่ากับ 17.65%

จากผลการทดลองพบแนวโน้นประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยอ่อนถั่วของเชื้อรา DOA-M8 และเชื้อรา DOA-B4 ที่ความเข้มข้น 10^{7}-10^{8} โคนิเดีย/มิลลิลิตร สามารถทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ระหว่าง 61.51-98.75% และ 26.25-100.00% สอดคล้องกับการรายงานของกนกกาญจน์และนริศ (2557) รายงานว่า เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท PSUM04 เข้มข้น 10^{8}-10^{9} โคนิเดีย/มิลลิลิตร หลังการทดสอบ 5 วัน สามารภทำให้เพลี้ยอ่อน *L. erysimi* ตายได้ 98.00-100.00% สอดคล้องกับ Saranya *et al.* (2010) ได้ศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Verticillium lecanii*, *Hirsutella thompsonii* และ *Cladosporium oxysporum* เข้มข้น $1x10^{8}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อ *V. lecanii* และ *H. thompsonii* ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อสูงสุด 100.00% รองลงมา คือ *B. bassiana*, *M. anisopliae* และ *C.oxysporum* (96.66, 80.76 และ 77.50% ตามลำดับ) และแตกต่างกับการรายงานของ Abdel-Rahman and Faragalla (2019) ทดสอบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. bassiana, M. anisopliae* และ *V. lecanii* เข้มข้น $2x10^{5}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร หลังการทดสอบ 8 วัน พบว่า *V. lecanii* และ *B. bassiana* ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้ 100% รองลงมาคือ *M. anisopliae*

นอกจากนี้เมื่อคำนวณค่า LC_{50}, LC_{90} ของเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท พบว่า DOA-M8 มีค่าต่ำกว่า DOA-B4 ซึ่งค่า LC_{50} ของเชื้อรา DOA-M8 มีความเข้มข้นต่ำสุดอยู่ในช่วง $1.21x10^{6}$-$1.24x10^{7}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 พบในช่วง $6.20x10^{6}$-$1.44x10^{7}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร และค่า LC_{90} ของเชื้อรา DOA-M8 อยู่ในช่วง $2.36x10^{7}$-$4.27x10^{8}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 พบในช่วง $7.70x10^{7}$-$2.80x10^{9}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร (Table 2) จากข้อมูลดังกล่าวทำให้ทราบได้ว่าเชื้อรา DOA-M8 เป็นเชื้อราที่มีความรุนแรงสูงสามารถทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้สูงเมื่อเทียบกับ DOA-B4 ผลการทดลองสอดคล้องกับแก้วบัวสอนและสุกัญญา (2560) ได้รายงานว่า เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท PSON1 ที่ความเข้มข้น $5x10^{8}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนกระหล่ำถึง 96% ที่ 96 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท BJ6, BJ3, SN1 (50.00-63.75%) แต่ด้วยหลายๆ ปัจจัย เช่น อุณหภูมิ ความชื้น และแสงที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง (Shah and Pell, 2003) เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดจึงคัดเลือกความเข้มข้นในช่วง 10^{7}-10^{8} โคนิเดีย/มิลลิลิตร ที่ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้สูงสุดมาทำการทดสอบหาอัตราการใช้ในห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่ต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว

จากผลการทดลองในขั้นตอนที่ 1 ได้คัดเลือกเชื้อรา DOA-M8 และ DOA-B4 ความเข้มข้นในช่วง 10^7-10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร มาศึกษาหาอัตราการใช้เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ ทดสอบจำนวน 2 ครั้ง ในช่วงเดือน มิถุนายน 2565 - กันยายน 2565 จากนั้นตรวจสอบการติดเชื้อโดยใช้หลัก Koch's postulates เพื่อยืนยันการเกิดโรค โดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในเพลี้ยอ่อนถั่วหลังการฉีดพ่น 7 วัน ดังนี้

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา DOA-M8 ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่า อัตราการใช้ในช่วง 200-1,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้ 94.96-100.00% และ 94.46-100.00% ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 3)

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา DOA-B4 ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่า อัตราการใช้ในช่วง 100-1,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้ 83.75-100.00% และ 85.00-100.00% ตามลำดับ ชุดข้อมูลส่วนใหญ่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 4)

เมื่อเปรียบเทียบค่า LC_{90} พบว่า เชื้อรา DOA-M8 มีอัตราการใช้ต่ำสุดในช่วง 129-295 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เชื้อรา DOA-B4 ในช่วง 46-649 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (Table 5)

จากผลการศึกษาครั้งนี้ได้คัดเลือก DOA-M8 อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($5.42x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) และ DOA-B4 อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($6.12x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) เพื่อนำไปศึกษาประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่ ปี 2566 ต่อไป

ขั้นตอนที่ 3 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่ (ปี 2567)

3.1 การทดลองในสภาพไร่ ปี 2566 (ปีที่ 1)

ทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาวในสภาพไร่ที่อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ทดสอบระหว่างเดือนสิงหาคม-กันยายน 2566 อุณหภูมิเฉลี่ย 30-35 องศาเซลเซียส ความชื้นในแปลงเฉลี่ย 50-70 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 148.89 มิลลิเมตร เริ่มทำการทดสอบเมื่อพบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเฉลี่ยมากกว่า 30 ตัวต่อต้น (ถั่วฝักยาวอายุ 25 วัน)

<u>ผลการตรวจนับจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่</u> (Table 6)

ก่อนพ่นครั้งที่ 1 พบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเฉลี่ย 32.59-49.82 ตัวต่อต้น ซึ่งทุกกรรมวิธีไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-M8, DOA-B4 เปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า และกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อราและน้ำเปล่า พบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเฉลี่ย 38.13, 30.55, 37.09 และ 34.62 ตัวต่อต้น ทั้ง 4 กรรมวิธีไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนสูงกว่าและแตกต่างกับกรรมวิธีพ่นสาร Fipronil เฉลี่ย 6.44 ตัวต่อต้น

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 2 พบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเฉลี่ย 6.00-33.30 ตัวต่อต้น ซึ่งทุกกรรมวิธีไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 พบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเฉลี่ย 1.07-11.25 ตัวต่อต้น ซึ่งทุกกรรมวิธีไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ (% Efficacy) ตามวิธีของ Henderson-Tilton (1992) พบว่า หลังจากพ่นเชื้อราครั้งที่ 1 ในกรรมวิธีพ่นสาร Fipronil มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ พบที่ 80.61 เปอร์เซ็นต์ (Table 7) หลังการพ่นสารครั้งที่ 2 เริ่มพบด้วงเต่าลายหยักเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพจึงไม่ชัดเจน

<u>ผลการเก็บเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่มาบ่มเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในห้องปฏิบัติการ</u> (Table 8)

ก่อนพ่นครั้งที่ 1 ทุกกรรมวิธีไม่พบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในธรรมชาติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 ทุกกรรมวิธีไม่พบเพลี้ยอ่อนติดเชื้อในห้องปฏิบัติการ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 2 พบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อ 0.71-1.61 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทุกกรรมวิธีไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-M8 มีจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อสูงสุด 38.84 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 ที่ 33.59 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

จากการทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อรา DOA-M8 และเชื้อรา DOA-B4 ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาวในสภาพไร่ ปีที่ 1 ก่อนการพ่นสารพบการระบาดของเพลี้ยอ่อนถั่ว มากกว่า 30 ตัวต่อต้น หลังการตรวจนับครั้งที่ 3 พบด้วงเต่าลายหยัก 5-15 ตัวต่อต้น ซึ่งเป็นแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อน ส่งผลให้จำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วลดลงและในบางแปลงย่อยไม่พบเพลี้ยอ่อนถั่วเลย จึงไม่สามารถดำเนินการทดลองต่อได้ จึงยุติการทดลอง และตลอดการทดลองไม่พบความเป็นพิษของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงต่อต้นถั่วฝักยาว การใช้เชื้อรา DOA-M8 และเชื้อรา DOA-B4 ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในเบื้องต้นพบจำนวนเพลี้ยอ่อนลดลงแต่ยังเห็นผลไม่ชัดเจน เมื่อพิจารณาที่อัตราการติดเชื้อพบว่าการพ่นเชื้อรา DOA-M8 อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (เข้มข้น 5.42×10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) และการพ่นเชื้อรา DOA-B4 อัตรา 400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (เข้มข้น 8.16×10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) เริ่มพบการติดเชื้อหลังการพ่นครั้งที่ 3 ประมาณ 33.59-38.84 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อค่อนข้างน้อย ผลการทดลองแตกต่างกับการทดลองของ Janu *et al*. (2018) ได้ทดลองประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเปรียบเทียบกับสารเคมี ควบคุมเพลี้ยอ่อน *L. erysimi* ในสภาพไร่ ตรวจผลการทดลองที่ 7 วัน หลังการฉีดพ่น พบว่า สารเคมี Oxy-demeton methyl 25 EC 0.025 เปอร์เซ็นต์ พบอัตราการตายของ *L. erysimi* สูงสุด 94.97 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ เชื้อรา *V. lecanii* (เข้มข้น 2.7×10^7, 10^6 และ 10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร พบที่ 75.24, 69.86 และ 68.28 เปอร์เซ็นต์), *B. bassiana* (เข้มข้น 2.4×10^8, 10^7 และ 10^6 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ที่ 74.06, 70.59 และ 65.51 เปอร์เซ็นต์), Nimbecidine พบ 44.00 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม 0.00 เปอร์เซ็นต์

3.2 การทดลองในสภาพไร่ ปี 2567 (ปีที่ 2)

จากผลการทดลองปี 2566 เพลี้ยอ่อนถั่วมีอัตราการติดเชื้อในสภาพไร่ค่อนข้างน้อยจึงปรับกรรมวิธีและอัตราการใช้ใหม่ โดยเพิ่มอัตราการใช้ไอโซเลทละ 200 กรัม (เปรียบเทียบระหว่างความเข้มข้น 10^7 และ 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) ดำเนินการทดสอบที่อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ทดสอบระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม 2567 อุณหภูมิเฉลี่ย 30.10 องศาเซลเซียล ความชื้นในแปลงเฉลี่ย 70.00 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 16.30 มิลลิเมตร เริ่มทำการทดสอบเมื่อพบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเฉลี่ยมากกว่า 30 ตัวต่อต้น (ถั่วฝักยาวอายุ 45 วัน)

ผลการตรวจนับจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่ (Table 9)

ก่อนพ่น พบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเฉลี่ย 45.25-54.38 ตัวต่อต้น ซึ่งทุกกรรมวิธีไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 พบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเฉลี่ย 44.12-73.18 ตัวต่อต้น ทุกกรรมวิธีไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 2 พบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเฉลี่ย 55.51-70.06 ตัวต่อต้น ทุกกรรมวิธีไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 พบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเฉลี่ย 39.97-60.67 ตัวต่อต้น ทุกกรรมวิธีไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 4 พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นเชื้อราพบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเฉลี่ย 40.54 - 46.59 ตัวต่อต้น ทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า พบที่ 70.25 ตัวต่อต้น

เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ (% Efficacy) ตามวิธีของ Henderson-Tilton (1992) พบว่าหลังจากพ่นเชื้อราครั้งที่ 4 ในกรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 (10^8 โคนิเดีย/มล.) 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ พบที่ 52.42 เปอร์เซ็นต์ (Table 10)

ผลการเก็บเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่มาบ่มเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในห้องปฏิบัติการ (Table 11)

ก่อนพ่น ทุกกรรมวิธีไม่พบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในธรรมชาติ

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 พบเพลี้ยอ่อนติดเชื้อในห้องปฏิบัติการ 0.29-6.15 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 2 พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 (10^8 โคนิเดีย/มล.) 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อสูงสุดถึง 88.73 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างกับกรรมวิธีพ่น DOA-B4 (10^7 โคนิเดีย/มล.) 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (52.33 เปอร์เซ็นต์) ส่วนกรรมวิธีพ่น DOA-M8 และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า พบเพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อ 2.52-5.03 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 (10^8 โคนิเดีย/มล.) 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่น DOA-B4 (10^7 โคนิเดีย/มล.) 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อ 36.98 และ 15.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีพ่น DOA-M8 และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า พบเพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อ 0.00-0.25 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 4 พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อรา DOA-B4 (10^8 โคนิเดีย/มล.) 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อสูงสุด 54.19 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น DOA-B4 (10^7 โคนิเดีย/มล.) 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่น DOA-M8 (10^7 โคนิเดีย/มล.) 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่น DOA-M8 (10^8 โคนิเดีย/มล.) 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อ 34.03, 26.96 และ 20.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทุกกรรมวิธีแตกต่างกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า พบที่ 1.05 เปอร์เซ็นต์

จากการทดสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M8 และ *B. bassiana* DOA-B4 ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาวในสภาพไร่ ปีที่ 2 ก่อนพ่นพบการระบาดของเพลี้ยอ่อนถั่วระหว่าง 33.63-54.38 ตัวต่อต้น หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 1 และ 2 พบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วสูงขึ้น 44.12-73.18 และ 55.51-70.06 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีไม่พบความแตกแต่งกันทางสถิติ แต่หลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 3 และ 4 จำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วมีแนวโน้มลดลง 39.97-60.67 และ 40.54-46.59 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีไม่พบความแตกแต่งกันทางสถิติ ยกเว้นหลังการพ่นเชื้อครั้งที่ 4 กรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าพบเพลี้ยอ่อนถั่วสูงสุด 70.25 ตัวต่อต้น และแตกต่างกับกรรมวิธีอื่นๆ

ผลการทดลองคล้ายกับการศึกษาของ Akrich *et al*. (2023) โดยใช้เชื้อรา *B. bassiana* BBAA ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*A. craccivora*) ในโรงเรือนทดลอง ทดสอบจำนวน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ $1x10^4$, $1x10^6$ และ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อ 56.08, 60.09 และ 70.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

แตกต่างกับการทดลองของ Mweke *et al*. (2020) ทดสอบโดยพ่นเชื้อรา *M. anisopliae* ICIPE 62 ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*A. craccivora*) ในแปลงปลูกถั่วเขียวเชิงเดี่ยวเปรียบเทียบกับแปลงปลูกถั่วเขียวสลับกับข้าวโพด ผลการทดลองพบอัตราการตายของเพลี้ยอ่อนในแปลงปลูกถั่วเขียวเชิงเดี่ยว 80.4-88.1 เปอร์เซ็นต์ เพลี้ยอ่อนติดเชื้อที่ 75-82 เปอร์เซ็นต์ ในแปลงปลูกถั่วเขียวสลับกับข้าวโพดพบอัตราการตายของเพลี้ยอ่อน 79-88 เปอร์เซ็นต์ ติดเชื้อที่ 72-84 เปอร์เซ็นต์ และทั้ง 2 แปลงไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ และยังแตกต่างกับการทดลองของ Sayed *et al*. (2019) ศึกษาการใช้เชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 1, 2, 3 และ 4 เปรียบเทียบกับเชื้อราการค้า Naturalis® ควบคุมเพลี้ยอ่อนกุหลาบ (*Macrosiphum rosae*) ในแปลงปลูกกุหลาบ ทดสอบจำนวน 2 ความเข้มข้น คือ $2.3x10^6$ และ $4.6x10^6$ โคนิเดีย/มล. โดยพ่นทุก 10 วัน ติดต่อกัน 4 ครั้ง ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีพ่นเชื้อราที่ความเข้มข้น $2.3x10^6$ โคนิเดีย/มล. พบเพลี้ยอ่อนระหว่าง 6.5-9.17 ตัว/ใบ และกรรมวิธีที่พ่นเชื้อราความเข้มข้น $4.6x10^6$ โคนิเดีย/มล. พบระหว่าง 0.47-0.83 ตัว/ใบ และชุดควบคุมพบที่ 32.9 ตัว/ใบ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* Koch) ในถั่วฝักยาว ได้เชื้อรา *B. bassiana* DOA-B4 อัตรา 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่ที่ 52.42 เปอร์เซ็นต์ โดยพ่นเชื้อทุก 4 วัน ติดต่อกัน 4 ครั้ง ควรพ่นในช่วงเวลาเย็น ขณะใช้แปลงควรมีความชื้น 70-80 เปอร์เซ็นต์

เนื่องจากการใช้ในสภาพไร่มีข้อกำจัดของอุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง การนำไปใช้ควรเพิ่มอัตราการใช้และความเข้มข้นให้สูงขึ้นมากกว่า 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) เพื่อให้การใช้ในสภาพไร่มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม จังหวัดนครปฐมที่ให้ความอนุเคราะห์ในการติดต่อประสานงานกับเกษตรกรในพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนถั่วเพื่อใช้ในการทดสอบ ขอขอบคุณ ดร.เกรียงไกร จำเริญมา คุณพุฒนา รุ่งระวี ที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับแผนการดำเนินงานทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง และขอขอบคุณคณะทำงานกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กนกกาญจน์ ตลึงผล และนริศ ท้าวจันทร์. 2557. การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM04 ควบคุมเพลี้ยอ่อนผัก *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Homoptera: Aphididae). *วารสารแก่นเกษตร*. 42 ฉบับพิเศษ (3): 634-638.

แก้วบัวสอน ราชขันติ และสุกัญญา คลังสินศิริกุล. 2560. การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีศักยภาพเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำ. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*. 35(2): 65-75.

สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง พฤทธิชาติ ปุณวัฒโท เสาวินตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา. 2564. *เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัยจากงานวิจัย ปี 2564*. กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 280 หน้า

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และเมธาสิทธิ์ คนการ. 2559. ศักยภาพของราสาเหตุโรคแมลงบางชนิดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch). หน้า 564-571. *ใน : ผลงานวิจัยประจำปี 2559 เอกสารวิชาการเลขที่ 1/2559 เล่มที่ 2*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Abdel-Rahman, I.E. and F.H. Faragalla. 2019. Using of entomopathogenic fungi against fabae bean Aphid, *Aphis craccivora* (Koch). *International Journal of ChemTech Research*. 12(1): 216-222.

Akrich, A., K. Righi, F.A. Righi and A. Elouissi. 2023. Characterization of a new isolate of *Beauveria bassiana* in Algeria and evaluation of its pathogenicity against the cowpea aphid (*Aphis craccivora* Koch). Egyptian Journal of Biological Pest Control. 33(73): 8.

Henderson. C.F. and E.W. Tilton. 1955. Tests with acaricides against the brow wheat mite. *J.Econ. Entomol.* 48: 157-161.

Janu, A., G.S. Yadav, H.D. Kaushik and P. Jakhar. 2018. Bioefficacy of *Verticillium lecanii* and *Beauveria bassiana* against mustard aphid, *Lipaphis erysimi* under field conditions. *Plant Archives.* 18(1): 288-290.

Mweke, A., K.S. Akutse, C. Ulrichs, K.K.M. Fiaboe, N.K. Maniania and S. Ekesi. 2020. Integrated Management of *Aphis craccivora* in Cowpea Using Intercropping and Entomopathogenic Fungi under Field Conditions. J. Fungi. 6(60): 16.

Pegu, J., P. Dutta, K.C. Puzari and A. Das. 2016. Bioefficacy of *Metarhizium anisopliae* on *Aphis craccivora* Koch. *Indian Journal of Entomology*. 78(4): 353-355.

Puntener, M. 1992. Manual for Field Trials in Plant Protection. 3rd ed. *In:* Agricultural Division, Ciba-Geigy Limited. Switzerland. 271 pp.

Saranya, S., R. Ushakumari, S. Jacob and B. M. Philip. 2010. Efficacy of different entomopathogenic fungi against cowpea aphid, *Aphis craccivora* (Koch). *Journal of Biopesticides*. 3(1): 138-142.

Shah, P.A. and J.K. Pell. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Appl Microbiol Biotechnol.* 61: 413-423.

Table 1 Mortality of *Aphis craccivora* caused by two fungal isolates at concentrations ranging from 10^5-10^8 conidia ml^{-1} for 7 days after treatment; tested for 4 times. (January-May 2022)

Isolate	Concentration (Conidia ml^{-1})	No. of *Aphis*	Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3	Experiment 4
DOA-M8	$1x10^5$	80	3.75 d[1/]	1.85 c	12.50 de	9.38 c
	$1x10^6$	80	10.00 d	1.38 b	52.50 c	39.69 ab
	$1x10^7$	80	63.75 b	78.70 a	80.00 b	61.51 a
	$1x10^8$	80	98.75 a	73.89 a	98.75 a	76.98 a
DOA-B4	$1x10^5$	80	1.25 d	1.85 c	11.25 de	20.64 bc
	$1x10^6$	80	11.25 d	11.20 b	26.25 d	9.10 c
	$1x10^7$	80	26.25 c	37.29 a	46.25 c	46.09 ab
	$1x10^8$	80	96.25 a	97.40 a	100.00 a	88.29 a
Control		80	0.00 d	0.00 d	0.00 e	0.00 d
C.V. (%)			26.0	24.6	28.5	18.1

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 2 Lethal Concentrations (LC_{50}, LC_{90}) of entomopathogenic fungi strains against *Aphis craccivora*, evaluated 7 days after treatment; tested for 4 times. (January-May 2022)

Isolate	Experiment[1/]	LC_{50} (Conidia ml^{-1})	95% Confidence limit		LC_{90} (Conidia ml^{-1})	95% Confidence limit	
			Lower	Upper		Lower	Upper
DOA-M8	1	$6.81x10^6$	$2.36x10^6$	$1.96x10^7$	$1.15x10^8$	$3.98x10^7$	$3.31x10^8$
	2	$1.24x10^7$	$4.35x10^6$	$3.52x10^7$	$2.28x10^8$	$8.02x10^7$	$6.49x10^8$
	3	$1.21x10^6$	$3.98x10^5$	$3.67x10^6$	$2.36x10^7$	$7.77x10^6$	$7.15x10^7$
	4	$5.01x10^6$	$1.15x10^6$	$2.18x10^7$	$4.27x10^8$	$9.81x10^7$	$1.86x10^9$
DOA-B4	1	$9.55x10^6$	$3.66x10^6$	$2.49x10^7$	$1.10x10^8$	$4.22x10^7$	$2.87x10^8$
	2	$6.96x10^6$	$2.72x10^6$	$1.78x10^7$	$7.70x10^7$	$3.01x10^7$	$1.97x10^8$
	3	$1.44x10^7$	$2.51x10^6$	$8.23x10^7$	$2.80x10^9$	$4.89x10^8$	$1.61x10^{10}$
	4	$6.20x10^6$	$1.54x10^6$	$2.49x10^7$	$6.75x10^8$	$1.68x10^8$	$2.71x10^9$

Table 3 Mortality of *Aphis craccivora* caused by *Metarhizium anisopliae* isolate DOA-M8 at concentrations of 100-1,000 gram/2 0 liter evaluated 7 days after treatment; tested for 2 times. (June-October 2022)

Rate (gram)/ 20 liter	Concentration (Conidia ml^{-1})	No. of Aphid	Experiment 1	Experiment 2
100 g.	$2.71x10^7$	80	72.86 b[1/]	85.29 b
200 g.	$5.42x10^7$	80	98.91 a	96.73 a
300 g.	$8.13x10^7$	80	100.00 a	100.00 a
400 g.	$1.08x10^8$	80	100.00 a	100.00 a
500 g.	$1.36x10^8$	80	97.50 a	98.61 a
600 g.	$1.63x10^8$	80	95.55 a	94.46 ab
700 g.	$1.90x10^8$	80	94.96 a	94.57 ab
800 g.	$2.17x10^8$	80	100.00 a	96.23 a
900 g.	$2.44x10^8$	80	100.00 a	100.00 a
1,000 g.	$2.71x10^8$	80	100.00 a	99.00 a
control	0	80	0.00 c	0.00 c
C.V. (%)			10.1	7.8

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 4 Mortality of *Aphis craccivora* caused by *Beauveria bassiana* Isolate DOA-B4 using a concentration of 100-1,000 gram/20 liter evaluated 7 days after treatment; testecd for 2 times. (June-October 2022)

Rate (gram)/ 20 liter	Concentration (Conidia ml^{-1})	No. of Aphid	Experiment 1	Experiment 2
100 g.	$2.04x10^7$	80	93.75 ab[1/]	97.50 a
200 g.	$4.08x10^7$	80	87.50 ab	71.25 b
300 g.	$6.12x10^7$	80	100.00 a	98.75 a
400 g.	$8.16x10^7$	80	97.50 ab	88.75 ab
500 g.	$1.02x10^8$	80	95.00 ab	100.00 a
600 g.	$1.22x10^8$	80	87.50 ab	83.75 ab
700 g.	$1.43x10^8$	80	98.75 a	93.75 a
800 g.	$1.63x10^8$	80	92.50 ab	85.00 ab
900 g.	$1.84x10^8$	80	92.50 ab	100.00 a
1,000 g.	$2.04x10^8$	80	83.75 b	100.00 a
control	0	80	0.00 c	0.00 c
C.V. (%)	$2.04x10^7$		10.9	15.4

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 5 Lethal Concentration (LC_{90}) for entomopathogenic fungi strains of *Aphis craccivora* at 7 days after treatment; tested for 2 times. (June-October 2022)

Isolate	Experiment	LC_{90} (Conidia ml^{-1})	95% Confidence limit	
			Lower	Upper
DOA-M8	1	295	159	550
	2	129	24	704
DOA-B4	1	649	17	24,493
	2	46	11	200

Table 6 The mean number of cowpea aphids observed on yardlong bean plants following the application of entomopathogenic fungi in Tha Muang District, Kanchanaburi Province, during August - September 2023

Experimental	Rate (gram)/ 20 liter	Number of cowpea aphids (individuals per plant)[1/]			
		Before spraying	After 1st spraying	After 2nd spraying	After 3rd spraying
1. *Metarhizium anisopliae* DOA-M8	200	49.82 a	38.13 b	25.37 a	9.83 a
2. *Beauveria bassiana* DOA-B4	400	32.59 a	30.55 b	17.31 a	1.82 a
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	38.26 a	6.44 a	9.46 a	1.07 a
4. Spraying plain water	-	40.65 a	37.09 b	6.00 a	1.28 a
5. Without spraying fungi or plain water (Control)	-	39.88 a	34.62 b	33.30 a	11.25 a
C.V. (%)	-	44.0	25.5	42.3	70.4
R.E. (%)[2/]	-	-	-	111.8	-

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/]Relative efficiency of covariance analysis (ANCOVA) after the application of treatments, in cases where significant differences in treatment means were observed prior to spraying.

Table 5 Lethal Concentration (LC_{90}) for entomopathogenic fungi strains of *Aphis craccivora* at 7 days after treatment; tested for 2 times. (June-October 2022)

Isolate	Experiment	LC_{90} (Conidia ml^{-1})	95% Confidence limit	
			Lower	Upper
DOA-M8	1	295	159	550
	2	129	24	704
DOA-B4	1	649	17	24,493
	2	46	11	200

Table 6 The mean number of cowpea aphids observed on yardlong bean plants following the application of entomopathogenic fungi in Tha Muang District, Kanchanaburi Province, during August - September 2023

Experimental	Rate (gram)/ 20 liter	Number of cowpea aphids (individuals per plant)[1/]			
		Before spraying	After 1st spraying	After 2nd spraying	After 3rd spraying
1. *Metarhizium anisopliae* DOA-M8	200	49.82 a	38.13 b	25.37 a	9.83 a
2. *Beauveria bassiana* DOA-B4	400	32.59 a	30.55 b	17.31 a	1.82 a
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	38.26 a	6.44 a	9.46 a	1.07 a
4. Spraying plain water	-	40.65 a	37.09 b	6.00 a	1.28 a
5. Without spraying fungi or plain water (Control)	-	39.88 a	34.62 b	33.30 a	11.25 a
C.V. (%)	**-**	**44.0**	**25.5**	**42.3**	**70.4**
R.E. (%)[2/]	**-**	**-**	**-**	**111.8**	**-**

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

[2/]Relative efficiency of covariance analysis (ANCOVA) after the application of treatments, in cases where significant differences in treatment means were observed prior to spraying.

Table 7 The efficacy percentage of entomopathogenic fungi in the control of cowpea aphids on yardlong bean plants in Tha Maka District, Kanchanaburi Province, during August - September 2023

Experimental	Rate (gram)/ 20 liter	Evaluation of efficacy in controlling cowpea aphids (% Efficacy)			
		Before spraying	After 1st spraying	After 2nd spraying	After 3rd spraying
1. *Metarhizium anisopliae* DOA-M8	200	0	11.84	39.01	30.06
2. *Beauveria bassiana* DOA-B4	400	0	0	36.39	80.20
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	0	80.61	70.39	90.09
4. Spraying plain water	-	0	0	82.32	88.84

Table 8 The infection percentage of cowpea aphids by entomopathogenic fungi, determined from aphid samples collected in yardlong bean plots and subsequently incubated under laboratory conditions, during August - September 2023

Experimental	Rate (gram)/ 20 liter	Infection rate of cowpea aphids (%)			
		Before spraying	After 1st spraying	After 2nd spraying	After 3rd spraying
1. *Metarhizium anisopliae* DOA-M8	200	-	-	7.61 a[1/]	38.84 a
2. *Beauveria bassiana* DOA-B4	400	-	-	5.13 a	33.59 a
3. Fipronil 5% W/V SC (Ascend)	40	-	-	1.97 a	0.02 b
4. Spraying plain water	-	-	-	1.44 a	0.35 b
5. Without spraying fungi or plain water (Control)	-	-	-	0.71 a	0.05 b
C.V. (%)	**-**	**-**	**-**	**86.3**	**32.40**

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 9 The mean number of cowpea aphids observed on yardlong bean plants following the application of entomopathogenic fungi in Tha Muang District, Kanchanaburi Province, during February – March 2024

Experimental	Concentration (Conidia ml^{-1})	Rate (gram)/ 20 liter	Number of cowpea aphids (individuals per plant)[1/]				
			Before spraying	After 1st spraying	After 2nd spraying	After 3rd spraying	After 4thspraying
1. *M. anisopliae* DOA-M8	10^7	200	54.38	62.50	70.06	44.22	42.00 a
2. *M. anisopliae* DOA-M9	10^8	400	45.80	73.18	69.70	43.56	46.59 a
3. *B. bassiana* DOA-B4	10^7	400	54.08	61.03	59.86	49.94	45.16 a
4. *B. bassiana* DOA-B4	10^8	600	54.88	53.42	55.51	39.97	40.54 a
5. Spraying plain water (Control)	-	-	45.25	44.12	56.40	60.67	70.25 b
C.V. (%)	**-**	**-**	**63.0**	**38.0**	**40.3**	**11.5**	**6.0**

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

Table 10 The efficacy percentage of entomopathogenic fungi in the control of cowpea aphids on yardlong bean plants in Tha Maka District, Kanchanaburi Province, during February – March 2024

Experimental	Concentration (Conidia ml^{-1})	Rate (gram)/ 20 liter	Evaluation of efficacy in controlling cowpea aphids (% Efficacy)				
			Before spraying	After 1st spraying	After 2nd spraying	After 3rd spraying	After 4th spraying
1. *M. anisopliae* DOA-M8	10^7	200	0	0	0	39.35	50.25
2. *M. anisopliae* DOA-M9	10^8	400	0	0	0	29.06	34.48
3. *B. bassiana* DOA-B4	10^7	400	0	0	11.19	31.13	46.21
4. *B. bassiana* DOA-B4	10^8	600	0	0.17	18.85	45.68	52.42

Table 11 The infection percentage of cowpea aphids by entomopathogenic fungi, determined from aphid samples collected in yardlong bean plots and subsequently incubated under laboratory conditions, during February – March 2024

Experimental	Concentration (Conidia ml^{-1})	Rate (gram)/ 20 liter	Infection rate of cowpea aphids (%)[1/]				
			Before spraying	After 1st spraying	After 2nd spraying	After 3rd spraying	After 4th spraying
1. *M. anisopliae* DOA-M8	10^7	200	0.00	2.04 ab	2.52 c	0.00 c	26.96b
2. *M. anisopliae* DOA-M9	10^8	400	0.00	0.29 b	5.03 c	0.23 b	20.23b
3. *B. bassiana* DOA-B4	10^7	400	0.00	2.98 ab	52.33 b	15.85 a	34.03b
4. *B. bassiana* DOA-B4	10^8	600	0.00	6.15 ab	88.73 a	36.98 a	54.19a
5. Spraying plain water (Control)	-	-	0.00	0.74 b	2.88 c	0.25 b	1.05c
C.V. (%)	**-**	**-**	**-**	**80.0**	**16.6**	**44.4**	**38.6**

[1/]In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

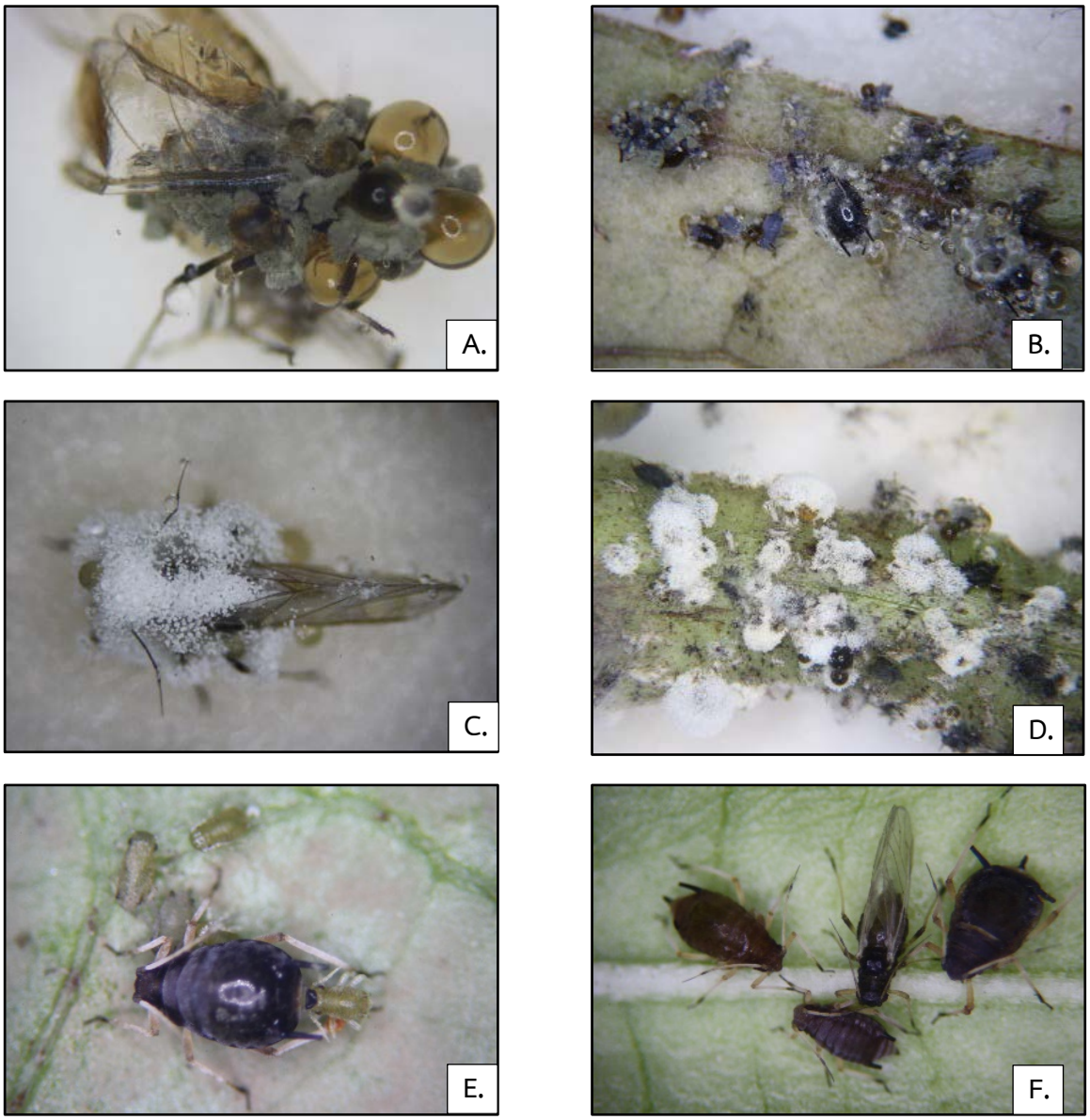


Figure 1 Characteristic of infected *Aphis craccivora* by different species of entomopathogenic fungi:

A., B.; *Metarhizium anisopliae* Isolate DOA-M8

C., D.; *Beauveria bassiana* Isolate DOA-B4

E., F.; Control

Figure 2 The characteristics of yardlong bean cultivation plots under field conditions

A.; Counting cowpea aphids on yardlong bean plants

B., C.; Cowpea aphids present on the terminal shoots and foliage of yardlong bean plants

Figure 3 Natural enemies of insect pests recorded in yardlong bean cultivation plots

A.; Larva of Coccinellidae

B.; *Micraspis discolor*

C.; *Menochilus sexmaculatus*

ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคผลเน่า (bacterial fruit blotch) ของพืชตระกูลแตง

Study and Evaluation of the Efficiency of *Bacillus subtilis* in Controlling Bacterial Fruit Blotch (BFB) in Cucurber

รุ่งนภา ทองเครั็ง ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์
ทิพวรรณ กันหาญาติ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Study and Evaluation of the Efficiency of *Bacillus subtilis* in Controlling Bacterial Fruit Blotch (BFB) in Cucurber. The experiment was conducted between October 2022 - March 2025, with the objective of studying the potential of new strains of *Bacillus subtilis* to control bacterial fruit blotch in cucurbit. A total of 100 isolates of *Bacillus* spp. were obtained from soil or planting material samples and various parts of cucurbit plants. In addition, 120 isolates of *Bacillus* spp. preserved at the Microbial Germplasm Center, Department of Agriculture, were included in the selection process to identify strains with potential to inhibit the growth of *A. avenae* subsp. *citrulli* in laboratory conditions. As a result, five isolates of *Bacillus* spp. with promising potential were identified: BF-1, BF-2, BF-3, BF-4, and BF-5. When these five isolates were identified based on morphological characteristics and biochemical properties, all were found to be *B. subtilis*. These isolates were then tested for their effectiveness in controlling BFB disease in watermelon and melon under greenhouse conditions. The test involved spraying a suspension of *B. subtilis* cells for each isolate uniformly on the whole plant (50 milliliters per plant) every 7 days for a total of five applications. Disease severity was assessed before each spray. The results showed that the treatments using *B. subtilis* strains BF-2 and BF-4 had significantly lower disease severity indices compared to those using strains BF-1, BF-3, and BF-5. Furthermore, all treatments with *B. subtilis* had significantly lower disease severity indices than the water spray control treatment.

Keywords : Bacterial Fruit Blotch, Biological control, Cucumber

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-01-65

บทคัดย่อ

การศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคผลเน่า (bacterial fruit blotch) ของพืชตระกูลแตง ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2565 - มีนาคม 2568 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ใหม่ในการควบคุมโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตง ได้ดำเนินการแยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากตัวอย่างดินหรือวัสดุปลูกและส่วนต่าง ๆ ของพืชตระกูลแตง ได้จำนวน 100 ไอโซเลท และนำแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่เก็บรักษาไว้ในศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์กรมวิชาการเกษตร จำนวน 120 ไอโซเลท มาคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าได้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในห้องปฏิบัติการจำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ BF-1, BF-2, BF-3, BF-4 และ BF-5 เมื่อทำการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่าเป็นแบคทีเรีย *B. subtilis* ทุกไอโซเลท จึงนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของแตงโมและเม่ล่อนในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง โดยการพ่นเซลล์เขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* ทุกไอโซเลทตามกรรมวิธีให้ทั่วทั้งต้น (ปริมาตร 50 มิลลิลิตร/ต้น) ทุก ๆ 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง และประเมินระดับการเกิดโรคก่อนพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* ทุกครั้ง ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-2 และ BF-4 มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้ *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-1 BF-3 และ BF-5 และทุกกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม)

คำหลัก : ผลเน่าพืชตระกูลแตง, ชีววิธี, พืชตระกูลแตง

คำนำ

โรคผลเน่าของพืชตระกูลแตง (bacterial fruit blotch) มีสาเหตุจากแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad *et al*.) Willems *et al.* พบระบาดและสร้างความเสียหายต่อผลผลิตของแตงโม เมล่อน แคนตาลูป และพืชตระกูลแตงชนิดอื่น ซึ่งความรุนแรงในการระบาดของโรคขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและระยะการเจริญเติบโตของพืชขณะที่เกิดการระบาดของโรค โรคนี้จะพบในระยะกับต้นกล้าและผลของพืชตระกูลแตง พบระบาดครั้งแรกเมื่อปี 1989 ในพื้นที่ปลูกแตงโมเชิงพาณิชย์ในสหรัฐอเมริกา ซึ่งพบการระบาดในช่วงต้นฤดูการเก็บเกี่ยวผลผลิตจึงทำให้ผลผลิตเสียหายทั้งหมด และยังส่งผลกระทบรุนแรงต่อพื้นที่ลูกที่อยู่ใกล้เคียงทำให้สูญเสียผลผลิตตั้งแต่ 5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 50 เปอร์เซ้นต์ ลักษณะอาการเด่นของโรคนี้คือ จะพบรอยเปื้อนสีเขียวมะกอกเข้มบนผิวผลแตงโมที่ติดเชื้อ ในระยะแรก รอยเปื้อนอาจมีขนาดไม่ถึง 1 เซนติเมตร แต่จะขยายตัวอย่างรวดเร็วภายใน 7-10 วัน จนครอบคลุมพื้นผิวของผลแตงโม เมื่อ

รอยเปื้อนขยายใหญ่ขึ้น จุดที่ติดเชื้อเริ่มแรกจะกลายเป็นเนื้อตาย (necrotic) และในระยะท้ายของโรค เปลือกแตงโมจะแตกออกและมีสารเหนียวใสสีเหลืองไหลออกมา อย่างไรก็ตาม แผลที่เกิดขึ้นมักไม่ลุกลามเข้าไปถึงเนื้อของแตงโมโดยตรง แต่จะเป็นแหล่งให้เชื้อราและจุลินทรีย์อื่น ๆ เข้าไปทำให้ผลเน่าเสียในที่สุดในแคนตาลูป โรคนี้มักทำให้เกิดจุดฉ่ำน้ำบนผิวผล นอกจากผลแล้วใบของแตงโมก็อาจมีแผลขนาดเล็ก สีน้ำตาลเข้ม และมีลักษณะแผลไหม้เป็นเหลี่ยมๆ ในสภาพอากาศที่ชื้นขอบของแผลที่เกิดบนใบจะดูเป็นรอยฉ่ำน้ำ เมื่อตรวจดูจากด้านล่างของใบ ลักษณะอาการของโรคในต้นกล้าแตงโม เชื้อแบคทีเรียนี้ยังสามารถทำให้ต้นกล้าแตงโมเกิดโรคได้ อาการเริ่มแรกปรากฏเป็นจุดแฉะน้ำบริเวณใต้ใบเลี้ยงของต้นกล้า (cotyledons) ในระยะต้นอ่อน แผลที่เกิดบนก้านต้น (hypocotyl) อาจทำให้ต้นอ่อนล้มตายได้ เมื่อใบเลี้ยงขยายออก แผลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มและลามไปตามเส้นกลางใบ แผลบนใบจริงที่เกิดขึ้นในระยะต้นอ่อนมีขนาดเล็ก สีน้ำตาลเข้ม และมักจะมีขอบสีเหลืองล้อมรอบ โดยส่วนใหญ่อาการจะเกิดขึ้นตามเส้นใบหลักของใบต้นกล้า

การควบคุมโรคนี้ทำได้ค่อนข้างยากเนื่องจากไม่มีสารเคมีสำหรับใช้ในการป้องกันกำจัดโรคและเชื้อสาเหตุโรคสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ การควบคุมโรคโดยชีววิธีจึงเป็นทางเลือกที่ควรศึกษาเพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดโรคได้ กลไกหลักของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยทั่วไป คือ การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชทั้งในลักษณะการผลิตสารยับยั้ง (antibiosis) และการเจริญแข่งขันครอบครองพื้นที่ (competition) กับเชื้อสาเหตุโรคที่ผิวพืช (Campbell, 1989; Suwanto *et al*., 1996) นอกจากนี้ยังความสามารถในการอยู่อาศัยร่วมกับรากพืชและไม่เป็นโทษกับพืช (mutualism หรือ symbiosis) เพื่อส่งเสริมการใช้ธาตุอาหารของพืช ตลอดจนกระตุ้นให้พืชผลิตสารต่างๆ ออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อโรคในกลไก systemic acquired resistance (SAR) และ induced system resistance (ISR) รวมทั้งการผลิตสารกระตุ้นให้พืชเจริญเติบโตได้เต็มศักยภาพทางพันธุกรรมที่จัดเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Prathuangwong, 2016) แบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. เป็นกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยมในอันดับต้น ๆ เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นหลายประการ เช่น พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม สารเคมี รังสี และความร้อนได้ดีกว่าเซลล์ปกติ สามารถทนต่ออุณหภูมิช่วงกว้างตั้งแต่ -5 ถึง 75 องศาเซลเซียสได้ เจริญได้ใน pH 2-8 ทนความเค็มเกลือ NaCl ได้ถึง 25% (El-Hassan and Gowen, 2006) แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติยังยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด เช่น bacillomycin, iturin, mycosubtilin, bacilysin, fengymycin และ mycobacillin เป็นต้น นอกจากนั้นยังสามารถสร้างเอนไซม์ที่สำคัญ ได้แก่ glucanase ที่สามารถย่อยสลาย glucans และ chitinase ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราได้ (นิตยา, 2549) แบคทีเรีย *Bacillus* spp. บางชนิดเมื่ออยู่ในสภาพที่ขาดธาตุเหล็ก จะสร้างสาร siderophore เพื่อไปจับกับ ferric iron แล้วเคลื่อนย้ายสู่ตัวรับ (receptor) ที่บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรียเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ (Hu and

Boyer, 1996) ซึ่งจะรบกวนกระบวนการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่อยู่ในบริเวณเดียวกัน ส่งผลให้การเกิดโรคของพืชลดลงได้ (Shoda, 2000)

ในประเทศไทยมีรายงานการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สุกล *Bacillus* มาใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชค่อนข้างหลากหลาย มีรายงานการคัดเลือก การทดสอบศักยภาพในโรงเรือนปลูกพืชทดลองและแปลงเกษตรกร และการผลิตเป็นชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลากหลายชนิด โดยณัฏฐิมา และคณะ (2547) ได้แยกเชื้อ *Bacillus* spp. จากดินรากพืชและปุ๋ยคอก 525 ไอโซเลท ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* พบว่ามี 4 ไอโซเลท ที่สามารถควบคุมและลดการเกิดโรคเหี่ยวของขิงได้ประมาณ 70-100% ในสภาพโรงเรือน ต่อมาณัฏฐิมา และคณะ (2557) ได้ทดสอบประสิทธิภาพ *B. subtillis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 ควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในสภาพแปลงเกษตรกร อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ 60% ในสภาพแปลง บูรณี และคณะ (2554) ทดสอบประสิทธิภาพของ *B. subtillis* สายพันธุ์ UB No.2 แ ละ UB No.25 ควบคุมโรคเหี่ยวของพริกในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าสามารถควบคุมโรคได้ 60 และ 66.67% บุษราคัม และณัฏฐิมา (2550) ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* spp. ไอโซเลท 2G4, 22W10, 20W12, 17G18 และ 20W4 มีศักยภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ 100% และไอโซเลท 17G18 มีศักยภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และ *F. solani* นอกจากนั้นบุษราคัม และคณะ (2555) ยังพบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W1, 20W4, 17G18 และ 20W5 สามารถลดการเกิดโรคใบจุดคะน้าเท่ากับ 32.88, 34.70, 34.97 และ 38.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในแปลงคะน้าได้ดี เทียบเคียงกับการควบคุมโรคโดยการใช้ mancozeb 80% WP Juma *et al.* (2015) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ *B. subtilis* BS-01 และ *Trichoderma asperellum* TRC-900 ในการยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดินในผักตระกูลคะน้า (ethiopian kale) โดยการเคลือบเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกด้วย *B. subtilis* BS-01 และ *T. asperellum* TRC-900 ผลการทดลอง พบว่าสามารถลดความสูญเสียจากสาเหตุโรคเน่าคอดินของเมล็ดพันธุ์ก่อนงอกได้ 11 -25.4% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการเคลือบเมล็ดซึ่งเป็นโรคถึง 64.8% (Juma *et al* ,.2015) ปิติพงษ์ (2559) พบว่า เมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิ 105 ที่เคลือบด้วยสารชีวภาพ ต้นกล้ามีความแข็งแรง เจริญเติบโตดี และพัฒนาระบบรากได้ดี จักรพงษ์และคณะ (2561) ทำ Seed Treatment ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อความงอกและการเติบโตของผักกาดหอม พบว่าการพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ช่วยส่งเสริมความยาวของรากผักกาดหอม มีรายงานของ Kim *et al.* (2018) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *B. toyonensis* ไอโซเลท CAB12243-2 มาควบคุมเชื้อ *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* สาเหตุโรคเน่าเละของผักกาดขาวในสภาพแปลง พบว่ามีประสิทธิภาพการควบคุมโรคเน่าเละเท่ากับ 73.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับ Issazadeh *et al.* (2012) ได้นำเอาเชื้อแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ได้แก่ *B. thuringiensis, B. cereus,*

B. subtilis, B. megaterium และ *B. pumilus* มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv .*campestris* สาเหตุโรคเน่าดำ และเชื้อ *P. carotovorum* subsp .*carotovorum* สาเหตุโรคเน่าเละ พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทุกไอโซเลท สามารถควบคุมโรคเน่าดำและโรคเน่าเละได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ตู้อบ (Hot air oven) ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) เครื่องเขย่า (Shaker) เครื่องชั่ง เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) อุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่น ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ และวัสดุเกษตร เช่น กระถาง วัสดุปลูก อุปกรณ์รดน้ำ

วิธีการ

1. การแยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากตัวอย่างดินหรือวัสดุปลูกและส่วนต่าง ๆ ของพืชตระกูลแตง

เก็บตัวอย่างดิน วัสดุปลูก และตัวอย่างพืชตระกูลแตง ในพื้นที่ปลูกแตงโม แคนตาลูปหรือเมล่อน ที่สำคัญ เช่น จ.กาญจนบุรี จ.ราชบุรี จ.สุพรรณบุรี จ.นครสวรรค์ เป็นต้น โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินหรือวัสดุปลูก รวมทั้งส่วนของใบ ต้น หรือผล ในแปลงที่พบการระบาดของโรคใบผลเน่าและแปลงที่ไม่พบการระบาดของโรค นำตัวอย่างที่ได้ไปแยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในห้องปฏิบัติการ

1.1 การแยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากดินหรือวัสดุปลูก

ชั่งตัวอย่างดินหรือวัสดุปลูกจำนวน 10 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที วางทิ้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณ 15 นาที นำมาทำให้เจือจางโดยวิธี tenfold serial dilution ตั้งแต่ 10^{-1}-10^{-6} จากนั้นนำสารละลายที่ได้ 0.1 มิลลิลิตร ของความเข้มข้นที่ 10^{-2}, 10^{-4} และ 10^{-6} มากระจายบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกเก็บลักษณะโคโลนีที่อยู่ในกลุ่มแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.2 การแยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากส่วนต่าง ๆ ของพืช

นำตัวอย่างส่วนราก ใบ ผล หรือส่วนของต้น มาแยกแบคทีเรียด้วยวิธี leaf wash technique โดยหั่นส่วนต่าง ๆ ของกล้วยไม้ให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ประมาณ 10 กรัม ใส่ลงใน 0.85% NaCl ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร นำไปเขย่านาน 30 นาที จากนั้นจึงนำสารแขวนลอยในแต่ละส่วนมาทำให้เจือจางโดยวิธี tenfold serial dilution และดูดสารแขวนลอยที่ความเข้มข้น 10^{-3} และ

10^{-4} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มากระจายบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกเก็บลักษณะโคโลนีที่อยู่ในกลุ่มแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.3 การเตรียมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่เก็บรักษาไว้ในศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร

นำแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่เก็บรักษาไว้มาเลี้ยงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) เขย่าเป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำมาเลี้ยงบน Tryptic Soy Agar (TSA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้เชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. การคัดเลือก *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ในห้องปฏิบัติการ

2.1 การเตรียมแบคทีเรีย Aac และอาหารทดสอบ

นำแบคทีเรีย Aac สาเหตุโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตง (จากศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ ของกรมวิชาการเกษตร) มาเลี้ยงบนอาหารเอียง Wakimoto's medium (PSA) บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 5 มิลลิลิตร ละลายเชื้อให้เข้ากันจะได้เซลล์แขวนลอย ใช้ปิเปตดูดเซลล์แขวนลอย 250 ไมโครลิตร เติมลงในอาหาร PSA แบบกึ่งแข็งปริมาตร 7 มิลลิลิตร ที่หลอมละลายไว้โดยใส่เชื้อในขณะที่อาหารไม่ร้อนเกินไป ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปเททับในจานเลี้ยงเชื้อที่ได้เทอาหาร PSA เป็นชั้นล่างรอไว้ เอียงจานอาหารเลี้ยงเชื้อให้ส่วนบนกระจายคลุมหน้าอาหารชั้นล่าง วางทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัวและหน้าอาหารแห้ง

2.2 การเตรียมแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

นำแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่แยกได้เป็นเชื้อบริสุทธิ์และเก็บรักษาไว้มาเลี้ยงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) เขย่าเป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer

ให้มีค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density) 0.1 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แบคทีเรียจะมีความเข้มข้นประมาณ 1.0×10^8 cfu/ml สำหรับนำไปใช้ในการทดสอบ

2.3 ทดสอบศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย Aac

ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย Aac ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี disc diffusion method โดยหยดสารแขวนลอยของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่เตรียมไว้แล้วตามข้อ 2.2 แต่ละไอโซเลทปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษแผ่นกรองที่เจาะให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร แล้วนำมาวางบนผิวหน้าอาหารที่ เตรียมไว้ตามข้อ 2.1 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาวัดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) จากขอบโคโลนีของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ถึงขอบบริเวณใส

3. การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

นำแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย Aac ได้ดีที่สุดจำนวน 5 ไอโซเลท มาทดสอบแกรม ลักษณะเอ็นโดสปอร์ เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีโดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป api 50 CHB เพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ควบคุมโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตงในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

4.1 การเตรียมพืชทดลอง

นำเมล็ดแตงโมบรรจุลงถุงพลาสติกหรือถุงชิบที่เจาะรูพรุน แช่น้ำนาน 4-6 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาซับน้ำโดยใช้กระดาษทิชชูห่อไว้ประมาณ 1-2 วัน เมล็ดแตงโมหรือแคนตาลูปจะเริ่มงอกราก นำไปหยอดลงถุงดินสำหรับเพาะเมล็ด เมื่ออายุต้นกล้าประมาณ 12-14 วัน และมีใบจริง 4-6 ใบ จึงจะใช้ทำการทดลองชุดที่ 1

นำเมล็ดแคนตาลูปบรรจุลงถุงพลาสติกหรือถุงชิบที่เจาะรูพรุน แช่น้ำนาน 4-6 ชั่วโมง และนำเมล็ดแคนตาลูปแช่ด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อ Aac นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาซับน้ำโดยใช้กระดาษทิชชูห่อไว้ประมาณ 1-2 วัน เมล็ดแคนตาลูปจะเริ่มงอกราก นำไปหยอดลงถุงดินสำหรับเพาะเมล็ดทำการทดลองชุดที่ 2

4.2 เตรียมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย Aac

เลี้ยงแบคทีเรีย Aac บนอาหาร Wakimoto's medium (PSA) บ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ละลายแบคทีเรียในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ปรับให้ได้ค่า OD เท่ากับ 0.2 ($1.0x10^8$ หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร)

4.3 การเตรียมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

เลี้ยงแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ได้คัดเลือกจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการจำนวน 5 ไอโซเลท บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นนำแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไปเขย่าในอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ได้ไปผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ให้ได้ประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ควบคุมโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตงในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง (ทำการทดลอง 2 ชุดการทดลอง)

ชุดการทดลองที่1 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ควบคุมโรคผลเน่าของแตงโม: วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ๆ ละ 15 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 2

กรรมวิธีที่ 3 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 3

กรรมวิธีที่ 4 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 4

กรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 5

กรรมวิธีที่ 6 ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม)

สเปรย์เซลล์เขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ตามกรรมวิธีในแผนการทดลองให้ทั่วทั้งต้น (ปริมาตร 50 มิลลิลิตร/ต้น) เมื่อครบ 5 วัน จึงปลูกเชื้อ Aac โดยสเปรย์ด้วยเซลล์เขวนลอยแบคทีเรีย Aac ให้ทั่วทั้งต้น และสเปรย์เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทุก ๆ 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง ประเมินระดับการเกิดโรค ก่อนสเปรย์เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทุกครั้ง

ชุดการทดลองที่2 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ควบคุมโรคผลเน่าของแคนตาลูป: วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ๆ ละ 15 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 2

กรรมวิธีที่ 3 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 3

กรรมวิธีที่ 4 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 4

กรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 5

กรรมวิธีที่ 6 ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม)

สเปรย์เซลล์เขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ตามกรรมวิธีในแผนการทดลองให้ทั่วทั้งต้น (ปริมาตร 50 มิลลิลิตร/ต้น) ตั้งแต่ระยะกล้า (หลักเพาะเมล็ด 5วัน) และสเปรย์ทุก ๆ 7 วัน จำนวน 7 ครั้ง ประเมินระดับการเกิดโรค ก่อนสเปรย์เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทุกครั้ง

ประเมินระดับการเกิดโรคตามวิธีการของ Ofir *et al.* (2009) ที่ได้แบ่งระดับการเกิดโรคออกเป็น 6 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 ไม่แสดงอาการของโรค

ระดับ 1 แสดงอาการของโรค 1-10%

ระดับ 2 แสดงอาการของโรค 11-25%

ระดับ 3 แสดงอาการของโรค 26-50%

ระดับ 4 แสดงอาการของโรค 51-75%

ระดับ 5 แสดงอาการของโรค 76-90%

ระดับ 6 แสดงอาการของโรค > 90%

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease Severity Index, DSI)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นพืชแต่ละระดับอาการ} \times \text{คะแนนของระดับอาการ)}}{\text{จำนวนต้นพืชทดสอบทั้งหมด} \times \text{คะแนนสูงสุดของระดับอาการ}} \times 100$$

นำข้อมูลการประเมินระดับการเกิดโรคมาคำนวณหาค่า ดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease Severity Index, DSI)

การบันทึกข้อมูล

- การประเมินระดับการเกิดโรคทุก 7 วัน จำนวน 7 ครั้ง

การวิเคราะห์ข้อมูล

- นำข้อมูลการประเมินระดับการเกิดโรคมาคำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI) และวิเคราะห์ค่าดัชนีการเกิดโรคด้วย ANOVA และเปรียบเทียบความความแตกต่างของค่าดัชนีการโรคโดย DMRT

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากตัวอย่างดินหรือวัสดุปลูกและส่วนต่าง ๆ ของพืชตระกูลแตง

ได้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่แยกจากตัวอย่างดิน วัสดุปลูก และส่วนต่าง ๆ ของพืช 100 ไอโซเลท และเตรียมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่เก็บรักษาไว้ในศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์กรมวิชาการเกษตร 120 ไอโซเลท

2. การคัดเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบศักยภาพแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จำนวน 220 ไอโซเลท เพื่อคัดเลือกไอโซเลทที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี disc diffusion method พบว่าได้เชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* ได้ดี จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BF-1, BF-2, BF-3, BF-4 และ BF-5 มีความกว้างของบริเวณใส (clear zone) ดังนี้ 10, 9, 8.5, 7 และ 7 มิลลิเมตร ตามลำดับ (Table 1) โดยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BF-1 และ BF-2 มีความกว้างของบริเวณใส (clear zone) มากที่สุด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* ในห้องปฏิบัติการได้ดีที่สุด แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลท มีการสร้างสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* สอดคล้องกับที่ Baker and Cork (1974) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

3. การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

นำแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทั้ง 5 ไอโซเลท ได้แก่ BF-1, BF-2, BF-3, BF-4 และ BF-5 มาทดสอบแกรม ลักษณะเอ็นโดสปอร์ เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท เป็นเชื้อแบคทีเรียติดสีแกรมบวก เซลล์มีลักษณะเป็นท่อนตรง (rod shaped) สร้างเอ็นโดสปอร์บริเวณกลางเซลล์ ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีโดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป api 50® CHB พบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถใช้แหล่งคาร์บอน L-arabinose, D-ribose, D-glucose, D-fructose, D-Mannose, D-Mannitol, D-Sorbitol, D-Cellobiose, D-trehalose, D-Saccharose ได้ เมื่อนำผลการทดสอบไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลพบว่า เชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท เป็นเชื้อ *Bacillus subtilis* (Table 1) ซึ่งจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่าตรงตามลักษณะของเชื้อ *Bacillus subtilis* ของ Bergey's Manual of Systemic Bacteriology

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ควบคุมโรคผลเน่าของแตงโมในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

นำแบคทีเรีย *B. subtilis* 5 สายพันธุ์ ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตงในห้องปฏิบัติการ มาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคผลเน่าของแตงโมในสภาพโรงเรือน โดยเตรียมแบคทีเรีย *B. subtilis* ทั้ง 5 สายพันธุ์ ในรูปแบบเซลล์แขวนลอยโดยเขย่าในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* ให้ได้ประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomize Design (CRD) มี 6 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ๆ ละ 15 ต้น คือ กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-1, BF-2, BF-3, BF-4 และ BF-5 เปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) โดยพ่นเซลล์เขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* ให้ทั่วทั้งต้น (ปริมาตร 50 มิลลิลิตร/ต้น) หลังพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อครบ 5 วัน จึงปลูกเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* โดยพ่นเซลล์เขวนลอยเชื้อให้ทั่วทั้งต้น และพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* ซ้ำทุก ๆ 7 วัน หลังจากพ่นครั้งแรก จำนวน 5 ครั้ง ประเมินความรุนแรงของการเกิดโรค ก่อนพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* ทุกครั้ง และหลังพ่นครั้งสุดท้าย 7 และ 14 วัน ผลการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-2 และสายพันธุ์ BF-4 มีประสิทธิภาพในการควบบคุมโรคผลเน่าของแตงโมได้ดีที่สุด มีดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (Table 2) และจะดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของเมล่อนในสภาพโรงเรือนซ้ำในปีถัดไป

5. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ควบคุมโรคผลเน่าของเมล่อนในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

นำแบคทีเรีย *B. subtilis* 5 สายพันธุ์ ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตงในห้องปฏิบัติการ มาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคผลเน่าของเมล่อนในสภาพโรงเรือน โดยเตรียมแบคทีเรีย *B. subtilis* ทั้ง 5 สายพันธุ์ ในรูปแบบเซลล์แขวนลอยโดยเขย่าในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) เป็นเวลา

48 ชั่วโมง แล้วนำไปผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* ให้ได้ประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomize Design (CRD) มี 6 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ๆ ละ 15 ต้น คือ กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-1, BF-2, BF-3, BF-4 และ BF-5 เปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) โดยพ่นเซลล์เขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* ให้ทั่วทั้งต้น (ปริมาตร 50 มิลลิลิตร/ต้น) หลังพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อครบ 5 วัน จึงปลูกเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* โดยพ่นเซลล์เขวนลอยเชื้อให้ทั่วทั้งต้น และพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* ซ้ำทุก ๆ 7 วัน หลังจากพ่นครั้งแรก จำนวน 5 ครั้ง ประเมินความรุนแรงของการเกิดโรค ก่อนพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* ทุกครั้ง และหลังพ่นครั้งสุดท้าย 7 และ 14 วัน ผลการทดลองพบว่าหลังพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* ครั้งที่ 1, 2 และ3 ทุกกรรมวิธีมีดัชนีความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ หลังพ่นครั้งที่ 4 พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-2 BF-3 และ BF-4 มีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 19.15 20.24 และ 18.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-1 และ BF-5 มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 25.40 และ 24.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกกรรมวิธีมีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 34.45 เปอร์เซ็นต์ (Table 3)

หลังพ่นครั้งที่ 5 พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-2 BF-3 และ BF-4 มีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 21.24 23.54 และ 20.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-1 และ BF-5 มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 29.25 และ 28.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกกรรมวิธีมีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 39.20 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

หลังพ่นครั้งสุดท้าย 7 วัน พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-2 และ BF-4 มีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 23.14 และ 21.19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-1 BF-3 และ BF-5 มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 32.12 28.60 และ 32.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกกรรมวิธีมีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 47.10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

หลังพ่นครั้งสุดท้าย 14 วัน พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-2 และ BF-4 มีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 23.80 และ 22.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-1 BF-3 และ BF-5 มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 36.50 33.67 และ

34.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกกรรมวิธีมีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 54.85 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

จากผลการทดลองพบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-2 และ BF-4 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตงในสภาพโรงเรือนปลูกพืชได้ 76.20 และ 77.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจะนำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-2 และ BF-4 ไปพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สูตรพร้อมใช้และทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

แยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากตัวอย่างดินหรือวัสดุปลูกและส่วนต่าง ๆ ของพืชตระกูลแตง ได้จำนวน 100 ไอโซเลท และแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่เก็บรักษาไว้ในศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์กรมวิชาการเกษตร จำนวน 120 ไอโซเลท มาคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ในห้องปฏิบัติการ ได้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในห้องปฏิบัติการจำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ BF-1, BF-2, BF-3, BF-4 และ BF-5 ผลการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่าเป็นแบคทีเรีย *B. subtilis* ทุกไอโซเลท นำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของแตงโมในโรงเรือนปลูกพืชทดลองพบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-2 และสายพันธุ์ BF-4 มีประสิทธิภาพในการควบบคุมโรคผลเน่าของแตงโมได้ดีที่สุด มีดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า และผลการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของเมล่อนในสภาพโรงเรือน พบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BF-2 และ BF-4 มีประสิทธิภาพในการควบบคุมโรคผลเน่าของเมล่อนได้ดีที่สุด ซึ่งให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของแตงโมในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำเชื้อ *Bacillus subtilis* สายพันธ์ BF-2 และ BF-4 ไปพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สูตรพร้อมใช้และทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคใผลเน่าของพืชตระกูลแตงในสภาพแปลงของเกษตรกรได้ต่อไป เพื่อจะได้มีชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตงสำหรับแนะนำให้เกษตรกรได้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จักรพงษ์ กางโสภา R.K. Hynes และบุญมี ศิริ. 2561. ผลของการทำ Seed Treatment ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อความงอกและการเติบโตของผักกาดหอม. *วารสารเกษตร*. 34(3): 385-397.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2557. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum*. *วารสารกรมวิชาการเกษตร*. 32(3): 234-251.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล อรพรรณ วิเศษสังข์ และทัศนาพร ทัศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. หน้า 507-525. *ใน : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2547*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

นิตยา สุขทวี. 2549. *การโคลนยีนไคติเนสจากเชื้อ Bacillus spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 98 หน้า.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล สุรีย์พร บัวอาจ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และรสสุคนธ์ รุ่งแจ้ง. 2555.ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์จากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ 20W1 ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola*. *วารสารวิชาการเกษตร*. 35 (1): 1-13.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. การคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศและแตงกวา. หน้า 210-211. *ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่8*. 20-22 พฤศจิกายน 2550. ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน จ. พิษณุโลก.

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2554. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุม *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในพริก. *วารสารโรคพืช*. 25: 70-78.

ปิติพงษ์ โตบันลือภพ. 2559. *งานวิจัยสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ชีวภาพ เพื่อการปลูกข้าวหอมมะลิอินทรีย์*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: https://www.kehakaset.com/new sactivities_details.php?view_ item=187 (4 มีนาคม 2563)

Baker, K.F. and R.J. Cook. 1974. Biological Control of Soil-Borne Pathogens. W.H. Freeman and Co., San Francisco 433.

Campbell, R. 1989. *Biological control of Microbial Plant pathogens*. Cambridge University Press, Cambridge. 218 p.

El-Hassan, S.A. and S.R. Gowen. 2006. Formulation and delivery of the bacterial antagonist *Bacillus subtilis* for management of lentil vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*. *J. Phytopath*. 154: 148-155.

Hu, X. and G.L. Boyer. 1996. Siderophore-mediated aluminum uptake by bacillus megaterium ATTCC 19213. *Appl. Environ. Microbiol*. 11: 4044-4048.

Issazadeh, K., S.K. Rad, S. Zarrabi and M.R. Rahimibashar. 2012. Antagonism of *Bacillus* species against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. *African Journal of Microbiology Research*. 6(7): 1615-1620.

Juma, P., L. Murungi and T. Losenge. 2015. Biological Control of *Pythium aphanidermatum* causing dampling off disease in Ethiopian Kales. *Journal of Agriculture Technology*. 16(2): 231-243.

Kim, B.R., M.S. Park, K.S. Han, S.S. Hahm, I. Park, H. Song and J. Kyeong. 2018. Biological control using *Bacillus toyonensis* strain CAB12243-2 against soft rot on Chinese cabbage. *Korean Journal of Organic Agriculture*. 26(1): 129-140.

Kloepper, J.W., C.M. Ryu and S. Zhang. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*. 94: 1259-1266.

Prathuangwong, S. 2016. Biological Pest Management as Alternative and Supplemented-Pesticide Use in IPM Program. Pages 8-26. *In : Con. Proc. ASEAN+6 Organic Agriculture Forum 2016 Sustainable Agriculture*. June 28-30, 2016. The Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai, Thailand.

Schaad, N. W., G. Sowell, R.W. Goth, R.R. Colwell, and R.E. Webb. 1978. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* subsp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol*. 28:117-125.

Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant disease. *J. Biosci. Bioeng*. 85: 515-521.

Suwanto, A., H. Friska and I. Sudirman. 1996. Characterization of *Pseudomonas fluorescens* B 29 and B39 DNA Profile, Hypersensitivity Test, and Assay of Bioactive Compound. *HAYATI J. Biosci*. 31(1): 15-20.

Willems, A., M. Goar, S. Thielemans, M. Gills, K. Kersters and J. DeLey. 1992. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli, Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae,* and *Acidovorax konjaci*. *Int. J. Syst. Bacteriol*. 42: 107-119.

Table 1 *Bacillus* spp. with the potential to inhibit the growth of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, the the causal agent of bacterial fruit blotch in cucurbits, under laboratory conditions

Isolates	Clear zone (mm.)	api 50® CHB
BF-1	10 mm.	*Bacillus subtilis*
BF-2	9 mm.	*Bacillus subtilis*
BF-3	8.5 mm.	*Bacillus subtilis*
BF-4	7 mm.	*Bacillus subtilis*
BF-5	7 mm.	*Bacillus subtilis*

Table 2 Evaluation of the efficacy of *Bacillus subtilis* in controlling bacterial fruit blotch in watermelon under greenhouse conditions

Treatments	Disease Index, DI (%(						
	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th
1. BF-1	15.50a	18.20a	25.60a	30.95b	35.60b	37.50b	38.00b
2. BF-2	14.25a	17.30a	24.34a	27.34a	30.20a	32.25a	33.30a
3. BF-3	13.30a	18.00a	25.50a	30.70a	35.30b	38.30b	40.60b
4. BF-4	16.10a	18.10a	23.50a	27.00a	29.50a	31.00a	32.17a
5. BF-5	15.20a	19.20a	26.33a	31.25a	34.25b	37.20b	38.30b
6. control	13.20a	19.50a	28.75b	35.85b	40.05c	47.20c	52.83c
CV (%)	**13.17**	**12.57**	**12.40**	**8.45**	**9.15**	**14.60**	**10.50**

1/ Vertical numbers followed by the same letters are not significantly different at the 95% confidence level according to the DMRT method.

Table 3 Evaluation of the efficacy of *Bacillus subtilis* in controlling bacterial fruit blotch in cantaloup under greenhouse conditions

treatments	Disease Index, DI (%(						
	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th
1. BF-1	16.20a	19.20a	22.15ab	25.40b	29.25b	32.12b	36.50b
2. BF-2	15.50a	16.40a	17.20a	19.15a	21.24a	23.14a	23.80a
3. BF-3	16.30a	18.35a	19.18a	20.24a	23.54a	28.60b	33.67b
4. BF-4	14.70a	15.30a	16.20a	18.16a	20.82a	21.90a	22.12a
5. BF-5	15.10a	18.42a	20.14a	24.30b	28.12b	32.40b	34.20b
6. control	15.35a	19.60a	227.30b	31.45c	39.20c	47.10c	54.85c
CV (%)	**14.17**	**13.60**	**12.12**	**12.38**	**10.64**	**13.15**	**10.45**

1/ Vertical numbers followed by the same letters are not significantly different at the 95% confidence level according to the DMRT method.

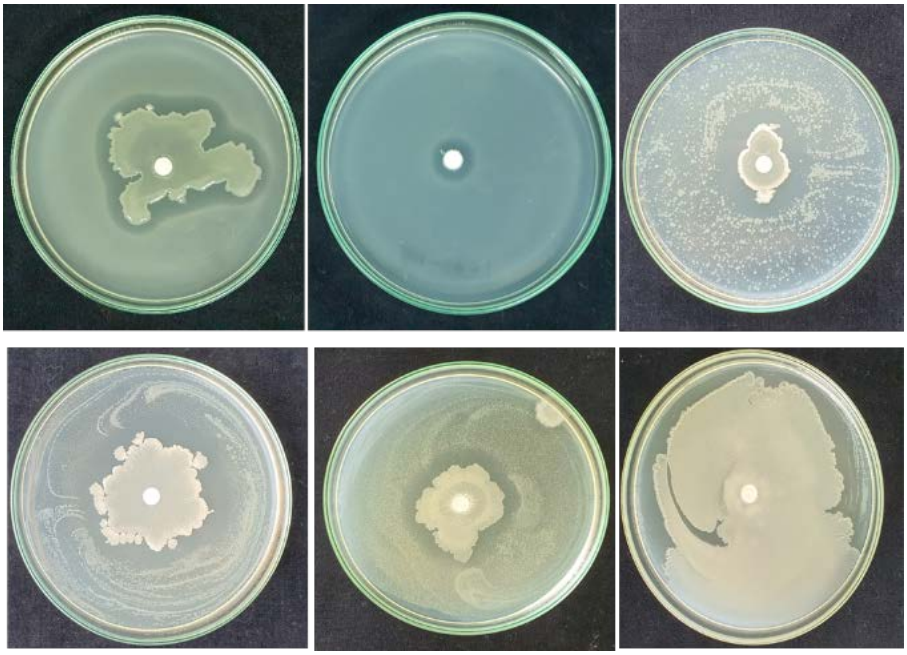


Figure 1 *Bacillus* spp. with potential to inhibit the growth of *A. avenae* subsp. *citrulli* in the laboratory

ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคใบติดทุเรียน

Efficacy test of *Bacillus subtilis* for controlling Leaf blight on Durian

นพพล สัทยาสัย[1/] หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/] บุษราคัม อุดมศักดิ์[2/]

ธารทิพย ภาสบุตร[2/] กาญจนา ศรีไม้[2/]

[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

This study aimed to evaluate the efficacy of *Bacillus subtilis* (Bs.) in controlling durian leaf blight caused by the *Rhizoctonia solani* (Rs.) The inhibition of Rs. growth was tested using the Dual Culture Plate Technique, with Bs. isolates collected from soil near durian trunks, durian roots, durian leaves, and microbial storage facilities. The six most effective isolates in inhibiting fungal growth were identified as TL12, TL11, TL26, TL22, TL24, and 20W1. Greenhouse experiments were conducted from June to July 2023 and from July to August 2024 in Khao Saming District, Trat Province, using a Complete Randomized Design with four replications of two plants per treatment. The treatments included spraying suspensions of Bs. isolates TL11, TL12, TL22, TL24, TL26, and 20W1 at a cell concentration of approximately 10^9 CFU/mL, compared to copper oxychloride 85% WP at a rate of 30 grams per 20 liters of water, and distilled water as the control. Disease severity was assessed before each spraying and at 5 and 10 days after the final application, with disease severity levels calculated into a disease index. The results showed that Bs. isolates TL11, TL12, and 20W1 were the most effective in controlling the disease, exhibiting significantly lower disease severity indices compared to the distilled water control. However, their performance was significantly less effective than the chemical fungicide treatment with copper oxychloride. Further field trials are recommended to confirm the efficacy of Bs. in controlling durian leaf blight and to promote its use as an alternative for commercial disease management.

Keywords : Leaf Blight Disease of Durian, *Bacillus subtilis*

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-02-65

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของ *Bacillus subtilis* (Bs.) ในการควบคุมโรคใบติดทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* (Rs.) โดยการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Rs. ด้วยวิธี Dual Culture Plate Technique dual ที่คัดแยกเชื้อ Bs. จากดินบริเวณโคนต้นทุเรียน รากทุเรียน ใบทุเรียน และคลังเก็บรักษาจุลินทรีย์ ได้เชื้อที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด 6 อันดับแรก ได้แก่ไอโซเลท TL12 TL11 TL26 TL22 TL24 และ 20W1 เมื่อดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคสภาพโรงเรือน ในเดือนมิถุนายน - กรกฎาคม พ.ศ. 2566 และในเดือนกรกฎาคม - สิงหาคม พ.ศ. 2567 ที่ อ.เขาสมิง จ.ตราด และวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomize Design 4 ซ้ำๆ ละ 2 ต้น 8 กรรมวิธี คือกรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ Bs. ไอโซเลท TL11, TL12, TL22, TL24 TL26 และ 20W1 ความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นสาร copper oxychloride 85% wp อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ประเมินความรุนแรงของโรคก่อนพ่นทุกครั้งและหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 5 และ 10 วัน โดยแบ่งระดับความรุนแรงของโรคแล้วนำคำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค ผลการทดลองพบว่าเชื้อ Bs. ไอโซเลท TL11 TL12 และ 20W1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด มีดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า แต่มีดัชนีความรุนแรงของโรคสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช (copper oxychloride) อย่างไรก็ตามควรการทดสอบในสภาพแปลงปลูกจริงจะช่วยยืนยันประสิทธิภาพในการควบคุมโรคและส่งเสริมการใช้ Bs. เป็นทางเลือกในการควบคุมโรคใบติดทุเรียนในเชิงพาณิชย์ต่อไป

คำหลัก : โรคใบติดทุเรียน บาซิลลัส ซับทิลิส

คำนำ

ทุเรียน (Durian) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Durio zibethinus* Murr อยู่ในวงศ์ (Family) Bombacaceae เป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจจนได้รับการยกย่องให้เป็นราชาแห่งผลไม้ (นายดำ, 2535) ปัจจุบันประเทศไทยเป็นประเทศผู้ผลิตทุเรียนรายใหญ่ของโลก มีพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจาก 970,726 ไร่ ในปี 2561 เป็น 1,340,692 ไร่ ในปี 2565 โดยมีผลผลิตเพิ่มขึ้นจาก 764,304 ตัน เป็น 1,246,098 ตัน ในปี 2561 และ ปี 2565 ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) พื้นที่ปลูกที่สำคัญส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออก และภาคใต้ ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้เกิดการขยายพื้นที่ปลูกคือความต้องการส่งออกไปยังต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศจีน ซึ่งเป็นตลาดหลัก การผลิตทุเรียนมักประสบปัญหาด้านศัตรูพืช ทั้งโรคและแมลงศัตรูพืช โรคพืชเป็นปัญหาที่สำคัญปัญหาหนึ่ง ซึ่งถ้าพืชเป็นโรคแล้วทำให้ต้นทุเรียนทรุดโทรมไม่สมบูรณ์ ส่งผลให้ผลิตผลิตไม่ได้คุณภาพ โรคพืชที่มักพบเป็นประจำ คือ“โรคใบติดทุเรียน” (หรือโรคใบไหม้) ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา

Rhizoctonia solani โรคดังกล่าวสร้างความเสียหายต่อใบและกิ่งทุเรียน เนื่องจากทุเรียนเป็นไม้ผลที่มีทรงต้นสูง เมื่อมีการระบาดรุนแรงจะส่งผลให้ใบแห้งร่วงหล่น ลดพื้นที่สังเคราะห์แสง และทำให้ต้นทรุดโทรม ส่งผลกระทบต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิต ถ้าสวนใดจัดการแต่งกิ่งไม่ดี ทรงพุ่มทึบ การระบายอากาศภายในทรงพุ่มก็จะไม่ถ่ายเท (หิรัญ และคณะ, 2535) ก็จะเกิดโรคใบติดได้ง่าย เมื่อทุเรียนเป็นโรคดังกล่าวแล้วใบทุเรียนแสดงอาการคล้ายโดนน้ำร้อนลวกหลังจากนั้นเชื้อราจะสร้างเส้นใยทำให้ใบทุเรียนแต่ติดกันเป็นหย่อมๆ และหลุดร่วงไป ในปัจจุบัน เกษตรกรหลายรายยังคงพึ่งพาวิธีการป้องกันกำจัดด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม ตลอดจนการต้านทานสารเคมีของเชื้อสาเหตุโรคพืช จึงมีแนวทางส่งเสริมการลดใช้สารเคมีและให้ความสำคัญกับการควบคุมโรคโดยชีววิธี (biological control) ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งในการควบคุมโรคพืชต่าง ๆ ได้อย่างปลอดภัย ในจำนวนนี้ “เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*” ถือเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคหลายชนิด เช่น โรคใบจุดคะน้า โรคเหี่ยวในพริก และโรคกาบใบแห้งข้าว เป็นต้น ทั้งยังมีรายงานถึงความสำเร็จในการควบคุมเชื้อรา *R. solani* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคใบติดทุเรียนได้ในพืชอื่น จากความสำคัญดังกล่าว งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นทำการคัดเลือกเชื้อ *B. subtilis* จากรากและดินบริเวณรากต้นทุเรียน ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคใบติดเขตภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดระยอง จันทบุรี และตราด เพื่อนำมาทดสอบศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *R. solani* ในห้องปฏิบัติการ โรงเรือนทดลอง และสภาพแปลงจริง เมื่อได้สายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงแล้ว จะนำไปศึกษาอัตราการใช้และพัฒนาต่อยอดเป็นชีวภัณฑ์ ซึ่งจะเป็นแนวทางในการลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เพิ่มความปลอดภัยต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม ตลอดจนช่วยแก้ไขปัญหาโรคใบติดทุเรียนได้อย่างยั่งยืนในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato dextrose agar (PDA), Potato sucrose agar (PSA)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Tryptic Soy Agar (TSA)
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดันฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ ฯลฯ
4. ถังพลาสติก กระบอกตวง และ บีกเกอร์
5. ต้นกล้าทุเรียน
6. โรงเรือนทดลอง
7. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

วิธีการ

1. การคัดแยกรวบรวมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเชื้อรา *Rhizoctonia solani*

1.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

เก็บตัวอย่างดินรอบโคนต้นทุเรียน รากทุเรียน และใบทุเรียน ในภาคตะวันออก โดยสุ่มเก็บทั้งแปลงทุเรียนที่พบการระบาดของโรคใบติดและแปลงที่ไม่พบการระบาดของโรค นำตัวอย่างที่ได้ไปแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ตามวิธีการต่างๆ ดังนี้

1.1.1 การแยกเชื้อจากดินรอบโคนต้นทุเรียน

ชั่งตัวอย่างดินจำนวน 10 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที นำมาทำให้เจือจางโดยวิธี tenfold serial dilution ตั้งแต่ 10^{-1}- 10^{-6} จากนั้นนำสารละลายที่ได้ 0.1 มิลลิลิตร ของความเข้มข้นที่ 10^{-2} 10^{-4} และ 10^{-6} มากระจายบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร คัดเลือกเฉพาะเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* sp. เก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.1.2 การแยกเชื้อจากส่วนต่างๆ ของทุเรียน

นำตัวอย่างส่วนรากทุเรียน และใบทุเรียน แยกด้วยวิธี leaf wash technique โดยหั่นส่วนต่างๆ ของตัวอย่างให้เป็นชิ้นเล็กๆ ประมาณ 5 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร หยด tween 80 1-2 หยด นำไปเขย่านาน 30 นาที จากนั้นจึงนำสารแขวนลอยในแต่ละส่วนมาทำให้เจือจางโดยวิธี tenfold serial dilution และดูดสารแขวนลอยที่ความเข้มข้น 10^{-3} และ 10^{-4} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มากระจายบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร คัดเลือกเฉพาะเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* sp. เก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.1.3 การฟื้นฟูเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก culture collection

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก ข้อ1.1.1 และ 1.1.2 มาทำการเลี้ยงใหม่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA โดยใช้ loop แตะเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ แล้ว streak ลงบนผิวหน้าอาหาร TSA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อมีเชื้อเจริญที่บริเวณผิวหน้าอาหาร นำไป streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ใหม่อีกครั้ง หลังจากนั้นจึงนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

1.2 การแยกเชื้อราสาเหตุโรค และการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคใบติดทุเรียน

1.2.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรคใบติดทุเรียน

เก็บตัวอย่างใบทุเรียนที่เป็นโรคใบติดทุเรียนจากแหล่งปลูกต่างๆ นำมาการแยกเชื้อราสาเหตุโรควิธี tissue transplanting method การแยกเชื้อจากบริเวณใบที่แสดงอาการของโรค โดยตัดชิ้นส่วนบริเวนขอบแผลของโรคฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 5.25% sodium hypochlorite แล้วนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณภูมิห้องเป็นเวลา 7 - 14 วัน ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี hyphal tip isolation บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในหลอดแก้ว เก็บเชื้อไว้เป็น stock culture ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป (ชลิดา, 2557) ก่อน

1.2.2 ทดสอบความสามารถในการเกิดโรคใบติดทุเรียน

นำเชื้อราสาเหตุโรคใบติดทุเรียนจาก stock culture ข้อ 1.2.1 เลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 5-7 วัน ทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค ด้วยชิ้นวุ้น (agar disc) ที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญข้างต้น วางลงบนใบทุเรียนที่เป็นใบเพสลาด ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Park *et al*. (2008) ใบเปรียบเทียบทำเช่นเดียวกันแต่ใช้ชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่ไม่มีการเลี้ยงเชื้อสาเหตุ สังเกตอาการของโรคทุกวันหลังปลูกเชื้อ

2. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบด้วยวิธี Dual Culture Plate Technique dual วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 39 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 จานเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ cock borer ที่ผ่านการลนไฟ เจาะเส้นใยของเชื้อราที่เตรียมไว้ข้างต้น (จาก stock culture ข้อ 1.1.3 มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 5 - 7 วัน) มาวางบนอาหาร PDA ห่างจากขอบจานอาหาร 2 เซนติเมตร จากนั้น ใช้ ลูปที่ลนไฟ แตะเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ข้อ 1.1.3 มาขีดขีดยาวประมาณ 3 เซนติเมตร ตรงข้ามกันในแนวขนานให้หางจากเชื้อรา 3 เซนติเมตร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 27 $\pm$2 องศาเซลเซียส โดยมีกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 วัน แล้วมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth (PIRG) ของเชื้อสาเหตุจากสูตร

$$PIRG = (R1 - R2)/ R1 \times 100$$

โดย R1 คือรัศมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุในชุดควบคุม

R2 คือรัศมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุในชุดทดลอง

นำค่าที่บันทึกมาวิเคราะห์โดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

3. การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* ได้ดีที่สุด 6 ไอโซเลท มาทดสอบแกรม ลักษณะเอ็นโดสปอร์ เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีโดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป api 50 CHB เพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียปฏิปักษ์

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบของทุเรียนในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

4.1 เตรียมต้นทุเรียน

นำต้นกล้าทุเรียนที่ปราศจากโรคและแมลงมีอายุประมาณ 1 ปี มาปลูกใส่กระถางขนาด 57×42 ซม. กรรมวิธีละ 2 ต้น จำนวน 4 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomize Design (CRD) บำรุงต้นทุเรียนให้สมบูรณ์โดยให้มีใบเพสลาดก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรค

4.2 การเตรียมเชื้อรา *R. solani* เพื่อใช้ในการปลูกเชื้อ

นำเชื้อรา *R. solani* ที่ทำเป็นสต๊อกไว้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 7 วัน หรือจนกระทั่งโคโลนีเต็มจานเลี้ยงเชื้อ

4.3 การเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ใช้ในการทดสอบบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปเขย่าในอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ได้ไปผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้มีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบติดทุเรียนในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomize Design (CRD) มี 7 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆ ละ 2 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท ที่ 1
กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท ที่ 2
กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท ที่ 3
กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท ที่ 4
กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท ที่ 5
กรรมวิธีที่ 6 พ่นสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท ที่ 6
กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร copper oxychloride
กรรมวิธีที่ 8 พ่นน้ำเปล่า (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

ดำเนินการปลูกเชื้อรา *R. solani* ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Park *et al*. (2008) โดยใช้ cork borer เจาะชิ้นวุ้นอาหารที่มีเชื้อรา *R. solani* เจริญเต็มจาน ที่เตรียมไว้ข้อ 4.2 เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ไปวางบนใบทุเรียนที่เป็นใบเพสลาด หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ทำการพ่นสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ สารป้องกันกำจัดโรคพืชและน้ำเปล่าตามกรรมวิธีให้ทั่วทั้งต้น (ปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อต้น) ทุกๆ 5 วัน จำนวน 3 ครั้ง ประเมินระดับความรุนแรงของโรคก่อนพ่นสารทดลองทุกครั้งและหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 5 และ 10 วัน โดยประเมินความรุนแรงของโรคจากใบทุเรียนที่ปลูกเชื้อ แบ่งระดับความรุนแรงของโรคออกเป็น 6 ระดับ ดังนี้ (Horsfall and Barratt, 1945)

ระดับ 1 บริเวณที่ปลูกเชื้อปรากฏอาการโรค
ระดับ 2 บริเวณที่ปลูกเชื้อแสดงอาการโรคขยายออกมาไม่เกิด 1 เซ็นติเมตร
ระดับ 3 บริเวณที่ปลูกเชื้อแสดงอาการโรคขยายออกมาไม่เกิด 1 - 2 เซ็นติเมตร
ระดับ 4 บริเวณที่ปลูกเชื้อแสดงอาการโรคขยายออกมาไม่เกิด 2 - 3 เซ็นติเมตร
ระดับ 5 บริเวณที่ปลูกเชื้อแสดงอาการโรคขยายออกมาไม่เกิด 3 - 4 เซ็นติเมตร
ระดับ 6 บริเวณที่ปลูกเชื้อแสดงอาการโรคขยายออกมาเกิด 4 เซ็นติเมตร

นำข้อมูลระดับการเกิดโรคมาคำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI)

ดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI) = $\frac{\text{ผลรวมของ (ระดับ x จำนวนใบของแต่ละระดับบ) x 100}}{\text{จำนวนใบทั้งหมด x ระดับสูงสุด}}$

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI) มาวิเคราะห์โดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เวลาและสถานที่

เวลา 1. เดือน กันยายน - ตุลาคม 2566
2. มิถุนายน 2566 - ตุลาคม 2567

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช
2. โรงเรือนกล้าทุเรียน ตำบลเขาสมิง และตำบลเทพนิมิต อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การคัดแยก รวบรวมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเชื้อรา *Rhizoctonia solani*

1.1 การเก็บตัวอย่างดิน ราก ใบทุเรียน และการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากตัวอย่างดินบริเวณโคนต้นทุเรียน รากและใบทุเรียนที่เก็บจากสวนทุเรียนในจังหวัดตราด ทั้งหมด 36 ตัวอย่าง โดยคัดเลือกแบคทีเรียแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีลักษณะโคโลนีเชื้อ *Bacillus sp.* (Figure 1) ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งหมด 76 ไอโซเลท แยกได้จากดินบริเวณโคนต้นจำนวน 33 ไอโซเลท แยกได้จากรากทุเรียนจำนวน 10 ไอโซเลท และแยกได้จากใบทุเรียนจำนวน 15 ไอโซเลท และจากคลังเก็บรักษาไอโซเลท จุลินทรีย์จำนวน 18 ไอโซเลท (Table 1)

1.2 การแยกเชื้อราสาเหตุโรค และการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคใบติดทุเรียน

แยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี tissue transplanting method จากตัวอย่างใบทุเรียนที่เป็นโรคใบติด จากสวนทุเรียนใน ต.เทพนิมิต อ.เขาสมิง จ.ตราด (Figure 2) และนำมาทดสอบความสามารถในการเกิดโรค พบว่าเชื้อราที่แยกได้ สามารถทำให้ใบทุเรียนเกิดโรค (Figure 3)

2. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* ด้วยวิธี Dual Culture Plate Technique dual บนอาหาร PDA พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งหมด 38 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *R. solani* มีค่าเฉลี่ยของความกว้างของ Inhibition zone อยู่ ระหว่าง 1.78 - 2.87เซนติเมตร (Figure 4) โดยพบว่า 6 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ TL12 TL11 TL26 TL22 TL24 และ 20W1 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคเท่ากับ 60.0 57.9 57.4 55.3 54.9 และ 54.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2)

3. การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *R. solani* ดีที่สุด 6 ไอโซเลท มาจัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียด้วยการทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมี พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 6 ไอโซเลท เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ใช้อากาศในการดำรงชีวิต (aerobic bacteria) มีรูปร่างเป็นท่อนตรง (rod shape) มีหางรอบตัว (peritrichous flagella) สร้างสปอร์เพียงสปอร์เดียว เป็นรูปไข่ (oval shape) ภายในเซลล์ (endospores) (Figure 5) และจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียร่วมกับการใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป api® 50 CHB พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ทั้ง 6 ไอโซเลท คือเชื้อ *Bacillus subtilis* (Figure 6)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบของทุเรียนในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

โรงเรือนที่ 1 ดำเนินการทดลองในโรงเรือนอำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ระหว่างเดือนมิถุนายน ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ.2566 โดยหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* หรือสารเคมีตามกรรมวิธีที่ 5 วัน ทำการประเมินความรุนแรงของโรคก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 6.83 - 10.44 ซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 33.96 แต่สูงกว่ากรรมวิธีพ่นสาร copper oxychloride ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 6.83 เมื่อพิจารณากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* พบว่าทุกกรรมวิธีมีดัชนีความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 หลังการพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* และสารเคมีตามกรรมวิธีแล้ว 10 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 7.32 - 15.80 ซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 45.0 แต่สูงกว่ากรรมวิธีพ่นสาร copper oxychloride ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 7.24 เมื่อพิจารณากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* พบว่ากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL11 TL12 และ 20W1 มีดัชนีความรุนแรงของโรค 7.32 8.38 และ 7.67 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL22 TL24 และ TL26 ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรค 15.8 14.96 และ 13.92 ตามลำดับ

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 4 หลังการพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* และสารเคมีตามกรรมวิธีแล้ว 15 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 7.42 - 17.44 ซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 55.51 แต่สูงกว่ากรรมวิธีพ่นสาร copper oxychloride ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 7.27 เมื่อพิจารณากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* พบว่ากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL11 TL12 และ 20W1 มีดัชนีความรุนแรงของโรค 7.42 8.25 และ 7.70 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL22 TL24 และ TL26 ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรค 17.44 15.93 และ 14.40 ตามลำดับ

หลังการพ่นสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 5 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 7.42 - 17.44 ซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 71.06 แต่สูงกว่ากรรมวิธีพ่นสาร copper oxychloride ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 7.27 เมื่อพิจารณากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* พบว่ากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL11 TL12 และ 20W1 มีดัชนีความรุนแรงของโรค 7.42 8.25 และ 7.70 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL22 TL24 และ TL26 ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรค 17.44 16.42 และ 15.33 ตามลำดับ

หลังการพ่นสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 10 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 7.42 - 17.44 ซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 87.22 แต่สูงกว่ากรรมวิธีพ่นสาร copper oxychloride ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 7.27 เมื่อพิจารณากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* พบว่ากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL11 TL12 และ 20W1 มีดัชนีความรุนแรงของโรค 7.42 8.25 และ 7.70 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL22 TL24 และ TL26 ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรค 17.44 16.42 และ 15.33 ตามลำดับ (Table3)

โรงเรือนที่ 2 ดำเนินการทดลองในโรงเรือนอำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ระหว่างเดือนมิถุนายน ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ.2567 โดยหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* หรือสารเคมีตามกรรมวิธีที่ 5 วัน ทำการประเมินความรุนแรงของโรคก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 5.46 - 11.49 ซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 36.74 แต่สูงกว่ากรรมวิธีพ่นสาร copper oxychloride ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 4.74 เมื่อพิจารณากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* พบว่ากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL11 TL12 TL12 และ 20W1 มีดัชนีความรุนแรงของโรค 5.46 5.92 7.94 และ 5.16 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL24 และ TL26 ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรค 11.49 และ 10.90 ตามลำดับ

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 หลังการพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* และสารเคมีตามกรรมวิธีแล้ว 10 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 5.79 - 13.46 ซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 76.07 แต่สูงกว่ากรรมวิธีพ่นสาร copper oxychloride ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 5.46 เมื่อพิจารณากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* พบว่ากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL11 TL12 และ 20W1 มีดัชนีความรุนแรงของโรค 5.79 6.39

และ 5.92 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL22 TL24 และ TL26 ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรค 11.45 13.46 และ 13.39 ตามลำดับ

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 4 หลังการพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* และสารเคมีตามกรรมวิธีแล้ว 15 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 6.24 - 13.97 ซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 90.12 แต่สูงกว่ากรรมวิธีพ่นสาร copper oxychloride ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 6.24 เมื่อพิจารณากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* พบว่ากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL11 TL12 และ 20W1 มีดัชนีความรุนแรงของโรค 6.26 6.83 และ 6.24 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL22 TL24 และ TL26 ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรค 11.96 13.97 และ 14.04 ตามลำดับ

หลังการพ่นสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 5 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 6.34 - 14.46 ซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 98.54 แต่สูงกว่ากรรมวิธีพ่นสาร copper oxychloride ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 5.92 เมื่อพิจารณากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* พบว่ากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL11 TL12 และ 20W1 มีดัชนีความรุนแรงของโรค 6.48 6.97 และ 6.34 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL22 TL24 และ TL26 ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรค 13.85 14.46 และ 14.40 ตามลำดับ

หลังการพ่นสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 10 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 6.34 - 14.46 ซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 98.54 แต่สูงกว่ากรรมวิธีพ่นสาร copper oxychloride ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 5.92 เมื่อพิจารณากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* พบว่ากรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL11 TL12 และ 20W1 มีดัชนีความรุนแรงของโรค 6.48 6.97 และ 6.34 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท TL22 TL24 และ TL26 ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรค 13.85 14.46 และ 14.40 ตามลำดับ (Table 4)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบติดทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani* โดยการคัดแยกเชื้อจากดินบริเวณโคนต้นทุเรียน รากทุเรียน ใบทุเรียน และคลังเก็บรักษาไอโซเลทจุลินทรีย์ ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด 38 ไอโซเลท จากทั้งหทด 76 ไอโซเลทที่แยกได้ โดยไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของ

เชื้อราได้ดีที่สุด 6 อันดับแรก ได้แก่ TL12 TL11 TL26 TL22 TL24 และ 20W1 เมื่อนำมาจัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียแล้วพบว่าเชื้อทั้ง 6 ไอโซเลท เป็นเชื้อ *Bacillus subtilis*

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคใบติดทุเรียนในสภาพโรงเรือน โดยการพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *B. subtilis* พบว่าไอโซเลท TL11 TL12 และ 20W1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด มีดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า แต่มีดัชนีความรุนแรงของโรคสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช (copper oxychloride) อย่างไรก็ตาม การทดลองในสภาพแปลงปลูกจริงจะช่วยยืนยันประสิทธิภาพในการควบคุมโรคและส่งเสริมการใช้ *B. subtilis* เป็นทางเลือกในการควบคุมโรคใบติดทุเรียนในเชิงพาณิชย์ ซึ่งสามารถลดการใช้สารเคมีและเสริมสร้างความยั่งยืนในการเกษตรได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนายปิยะนันท์ บรรจง เกษตรกรเจ้าของโรงเรือน จังหวัดตราด ที่อนุเคราะห์ให้ดำเนินการทดลองในโรงเรือน และขอขอบคุณนักวิชาการเกษตร กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ช่วยดำเนินการเก็บและรวบรวมข้อมูลเบื้องต้น จึงทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ชลิดา เล็กสมบูรณ์. 2557. *โรคพืชและการวินิจฉัย*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 296 หน้า.

นายดำ ฉิ่งสุวรรณโรจน์. 2535. *การผลิตผลไม้นอกฤดูกาลและการบำรุงรักษา*. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย. 128 หน้า.

Baker, K.F. and R.J. Cook. 1974. *Biological Control of Soil-Borne Pathogens*. W.H.Freeman and Co., San Francisco. 433 p.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. *ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร : ทุเรีย*น. (ระบบออนไลน์) https://mis-app.oae.go.th/product/ทุเรียน (5 มกราคม 2566)

หิรัญ หิรัญประดิษฐ์, สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก และเสริมสุข สลักเพ็ชร์. 2541. *เทคโนโลยีการผลิตทุเรียน*. พิมพ์ครั้งที่ 1 สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 190 หน้า.

Park, D.S., R.J. Sayler, Y.G. Hong, M.H. Nam and Y.Yang. 2008. A method for inoculation and evaluation of rice sheath blight disease. *Plant Disease* 92: 25-29.

Saoussen, B.K., O.K. Feki, M. Dammak, H. J. Khiareddine, M. D. Remadi, S. Tounsi. 2015. Efficacy of Bacillus subtilis V26 as a biological control agent against *Rhizoctonia solani* on potato. *Comptes Rendus Biologies*. Volume 338, Issue 12, December 2015, Pages 784-792.

Table 1 Antagonistic bacteria with colony characteristics similar to *Bacillus sp.* isolated from soil around durian tree bases, roots, and leaves in Trat Province

Location	Source	Number of Isolates
Thep Nimit Subdistrict,	Soil around tree base	7
Khao Saming District	Roots	3
	Leaves	5
Khao Saming Subdistrict,	Soil around tree base	9
Khao Saming District	Roots	3
	Leaves	4
Thung Nonsi Subdistrict,	Soil around tree base	7
Khao Saming District	Roots	1
	Leaves	1
Chang Thun Subdistrict,	Soil around tree base	2
Bo Rai District	Roots	1
	Leaves	2
Nong Bon Subdistrict,	Soil around tree base	1
Bo Rai District	Roots	1
	Leaves	1
Huong Nam Khao	Soil around tree base	3
Subdistrict, Mueang District	Roots	1
	Leaves	2
Microbial Isolate Repository	-	18
Total		**76**

Table 2 Percent inhibition of *Rhizoctonia solani* growth, the causal agent of durian leaf blight, by selected antagonistic bacteria isolates in the laboratory

Isolate	Average Inhibition Zone Width (cm)	Percent Inhibition (%)
TS18	2.13	50.5
TS15	2.56	40.5
TS17	2.58	40.0
TS26	1.96	54.1
TS28	2.05	52.3
TS25	2.73	36.5
TS36	2.7	37.2
TS35	2.69	37.4
TS42	2.85	33.7
TS53	2.71	37.0
TS62	2.68	37.7
TL11	1.81	57.9
TL12	1.72	60.0
TL21	1.95	54.1
TL22	1.92	55.3
TL23	2.1	51.2
TL24	1.94	54.9
TL25	1.96	54.4
TL26	1.83	57.4
TL27	2.1	51.2
15G8	2.1	51.2
19W10	2.56	40.5
18G8(2)	2.76	35.8
11G3	2.55	40.7
BS15	2.77	35.6
18G8(-1)	2.73	36.5
UB-2(-2)	2.8	34.9
18G28	2.65	38.4
18G4	2.76	35.8
18G16	2.65	38.4
18G39	2.87	33.3
UB14	2.87	33.3
BS4	2.6	39.5
11W2	2.84	34.0
24W6	2.78	35.3
BS16	2.61	39.3
16G10	2.78	35.3
BS13	2.52	41.4
20W1	1.95	54.5

Table 3 Efficacy of *Bacillus subtilis* for controlling leaf blight on durian in greenhouse at Khoa Saming Subdistrict, Khoa Saming District, Trat Province, June - July 2023

Treatment	% percentage severity index [1/]				
	After app. 1st (days)			After app. 4th(days)	
	5	10	15	5	10
Bacillus subtilis (TL11)	6.83 a	7.32 a	7.42 a	7.42 a	7.42 a
Bacillus subtilis (TL12)	7.84 a	8.38 a	8.25 a	8.25 a	8.25 a
Bacillus subtilis (TL22)	8.87 a	15.80. b	17.44 b	17.44 b	17.44 b
Bacillus subtilis (TL24)	10.44 a	14.96 b	15.93 b	16.42 b	16.42 b
Bacillus subtilis (TL26)	9.44 a	13.92 b	14.40 b	15.33 b	15.33 b
Bacillus subtilis (20W1)	7.25 a	7.67 a	7.70 a	7.70 a	7.70 a
copper oxychloride	6.83 a	7.24 a	7.27 a	7.27 a	7.27 a
Water	33.96 b	45.0 c	55.51 c	71.06 c	87.22 c
CV	**24.8**	**16.1**	**13.2**	**9.2**	**12.7**
R.E.	**-**	**42.1**	**40.0**	**74.1**	**24.3**

[1/] *Disease severity was assessed by scoring based on severity levels and analyzed using the Percentage Severity Index (PSI).*

[2/] Means followed by different letter in the same column are significantly different at the 5% level by DMRT

Table 4 Efficacy of *Bacillus subtilis* for controlling leaf blight on durian in greenhouse at Khoa Saming Subdistrict, Khoa Saming District, Trat Province, July- August 2024

Treatment	% percentage severity index [1/]				
	After app. 1st (days)			After app. 4th(days)	
	5	10	15	5	10
Bacillus subtilis (TL11)	5.46 a[2/]	5.79 a	6.26 a	6.48 a	6.48 a
Bacillus subtilis (TL12)	5.92 a	6.39 a	6.83 a	6.97 a	6.97 a
Bacillus subtilis (TL22)	7.94 ab	11.45 b	11.96 b	13.85 b	13.85 b
Bacillus subtilis (TL24)	11.49 b	13.46 b	13.97 b	14.46 b	14.46 b
Bacillus subtilis (TL26)	10.90 b	13.39 b	14.04 b	14.40 b	14.40 b
Bacillus subtilis (20W1)	5.16.5 a	5.92 a	6.24 a	6.34 a	6.34 a
copper oxychloride	4.74 a	5.46 a	5.92 a	5.92 a	5.92 a
Water	36.97 c	76.07 c	90.12 c	98.54 c	98.54 c
CV	20.6	12.7	6.9	8.2	10.9
R.E.	-	22.5	17.5	7.2	24.3

[1/] *Disease severity was assessed by scoring based on severity levels and analyzed using the Percentage Severity Index (PSI).*

[2/] Means followed by different letter in the same column are significantly different at the 5% level by DMRT

Figure 1 Colony characteristics of *Bacillus sp.*

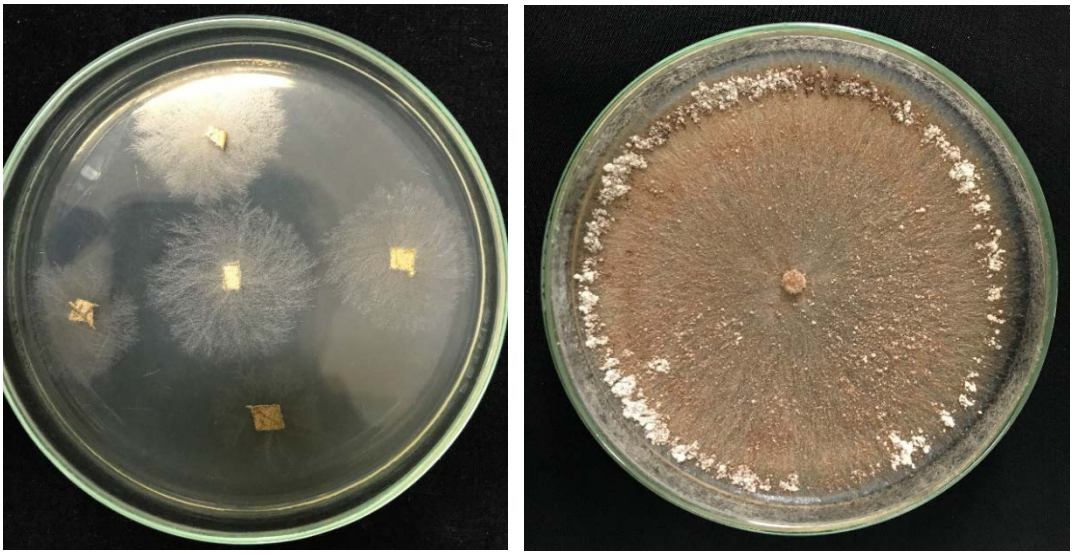


Figure 2 Isolation of *Rhizoctonia solani*, the causal agent of durian leaf blight

Figure 3 Testing the pathogenicity of durian leaf blight disease

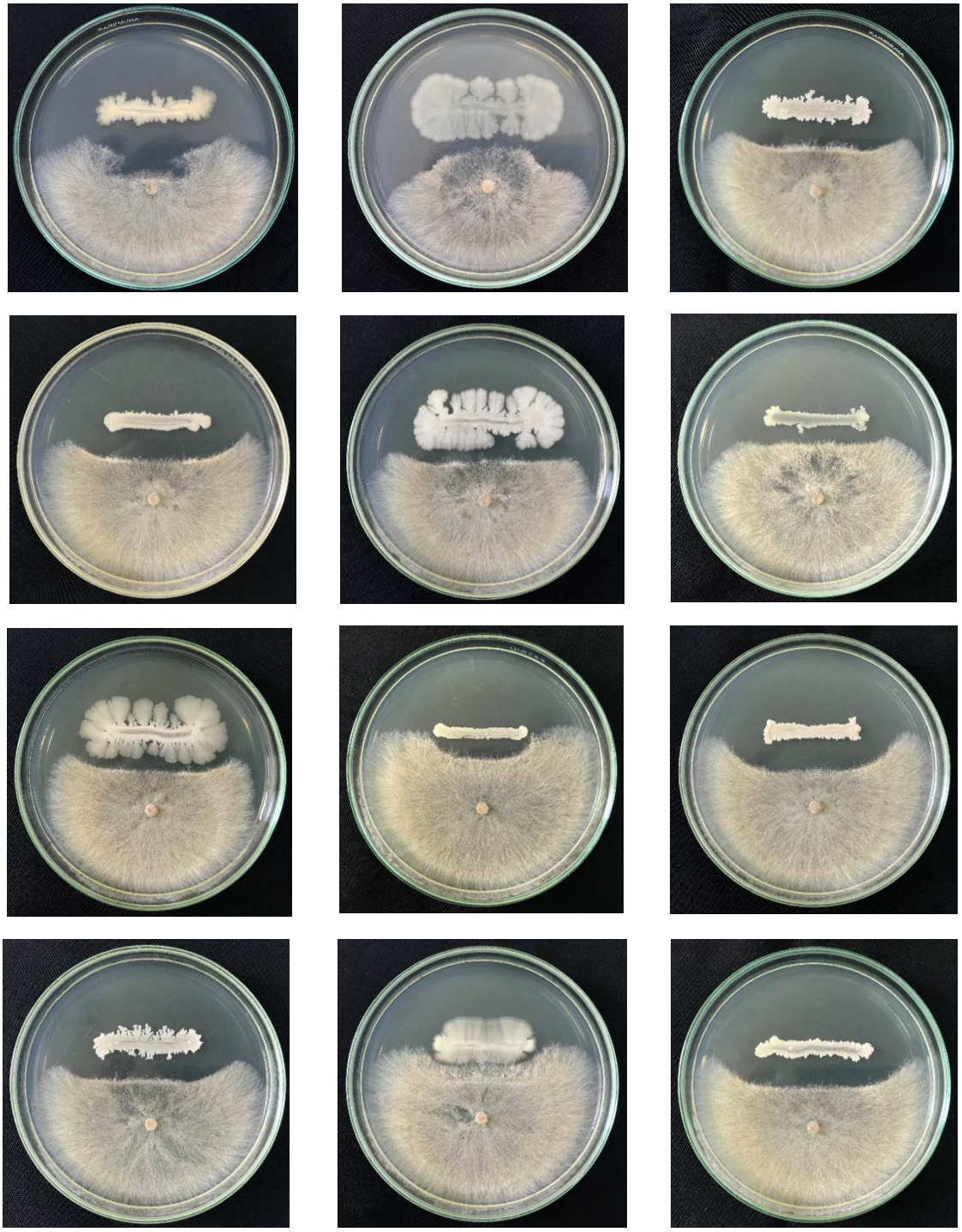


Figure 4 Inhibitory effect of Bacillus sp. on the mycelial growth of *Rhizoctonia solani*

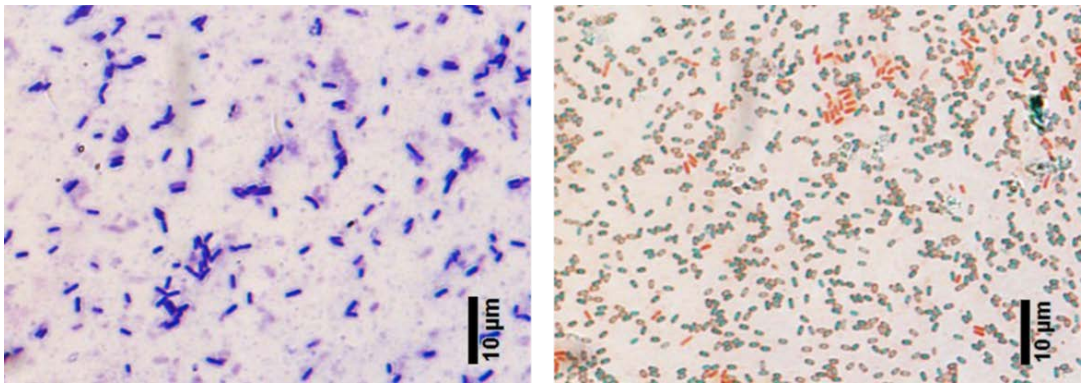


Figure 5 Characteristics of the six antagonistic bacterial isolates, which are Gram-positive, rod-shaped bacteria that produce a single oval-shaped spore within the cell

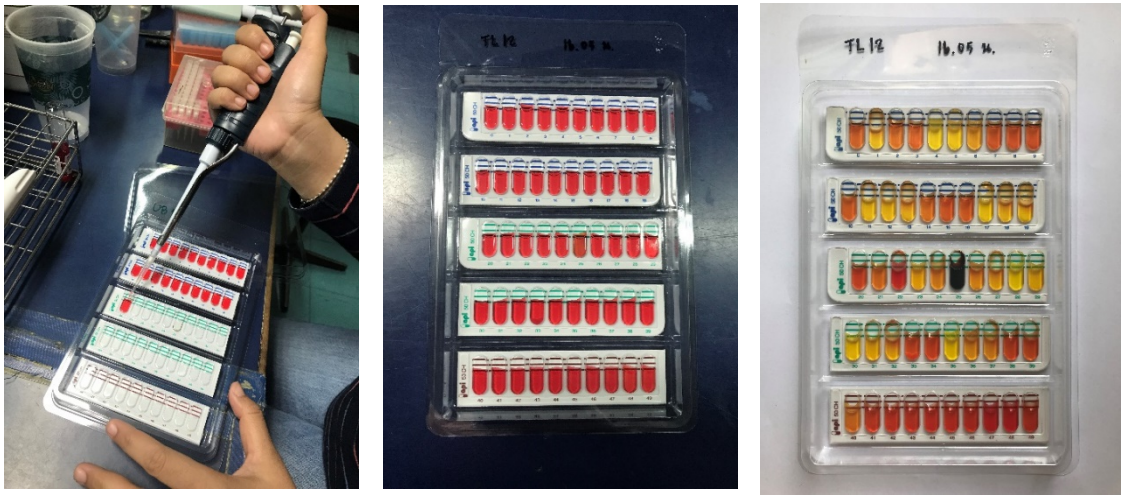


Figure 6 Bacterial species identification using the api® 50 CHB test kit

พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม

Development of production methods and application of biopesticide *Bacillus subtilis* for root-knot nematode control

ไตรเดช ข่ายทอง[1/] รุ่งนภา ทองเครั่ง[1/] บูรณี พั่ววงษ์แพทย์[1/]
ทมิตา โชคปิยธนากุล[1/] นภลภัส บุษบงก์[1/] วีรกรณ์ แสงไสย์[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

Abstract

The development of production methods and application of the biopesticide Bacillus subtilis BS-DOA37rkn was conducted from October 2021 to March 2025. The results demonstrated that yeast extract glucose broth (YGB) is the most suitable medium for B. subtilis BS-DOA37rkn and can be used to develop low-cost liquid and solid media, thereby reducing biopesticide production costs. The liquid media formulation consisted of yeast extract, glucose, di-potassium hydrogen phosphate, and milk, while the solid media formulation included yeast extract, glucose, di-potassium hydrogen phosphate, milk, and agar. For the ready-to-use powder formulation, a zeolite:diatomite (1:1) mixture was identified as the optimal carrier, achieving a concentration of 9.6 x 10^{10} cfu/g. Shelf-life experiments revealed that the biopesticide could be stored for 10 months at refrigeration temperature (approximately 5°C) with bacterial viability of 1.9×10^{8} cfu/g, and for 9 months at room temperature (approximately 28 ± 2°C) with bacterial viability of 1.60×10^{8} cfu/g. Field efficacy trials conducted in Nong Tak Ya subdistrict, Tha Muang district, Kanchanaburi province showed that drenching seedlings in trays twice weekly with the BS-DOA37rkn biopesticide solution at an application rate of 80 g/L, soaking them for 30 minutes prior to transplanting, and subsequently drenching weekly for six weeks post-transplantation effectively controlled root-knot nematodes in chili.

Keywords : root-knot nematode, biopesticide, root knot disease in chili

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-04-65

บทคัดย่อ

การพัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ Bs-DOA 37rkn เพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568 ดำเนินการคัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn พบว่าอาหาร Yeast extract glucose broth (YGB) เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณและการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย นำไปปรับเป็นสูตรอาหารที่มีต้นทุนต่ำกว่าอาหารทางการค้าทั้งรูปแบบอาหารเหลวและอาหารแข็ง เพื่อลดต้นทุนการผลิตชีวภัณฑ์ ได้สูตรอาหารเหลว 1 สูตร มีส่วนผสมของ yeast extract, glucose, di-potassium hydrogen phosphate และนมวัวรสจืด และสูตรอาหารแข็ง 1 สูตร มีส่วนผสมของ yeast extract, glucose, di-potassium hydrogen phosphate, นมวัวรสจืด และผงวุ้น เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรใหม่ที่มีต้นทุนต่ำกว่าสูตรอาหารทางการค้าเหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 37rkn ในปริมาณมากเพื่อนำไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์สูตรพร้อมใช้ ในการผลิตชีวภัณฑ์สูตรพร้อมใช้พบว่า zeolite ผสม diatomite (อัตรา 1:1) เป็นสารพาที่มีความเหมาะสม ได้ปริมาณเชื้อเท่ากับ 9.6×10^{10} หน่วยโคโลนี/กรัม การทดสอบการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ (shelf life) พบว่าสามารถเก็บในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส) ได้นานถึง 10 เดือน มีปริมาณเชื้อ 1.9×10^8 หน่วยโคโลนี/กรัม และสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28$\pm$2 องศาเซลเซียส) ได้นาน 9 เดือน มีปริมาณเชื้อ 1.60×10^8 หน่วยโคโลนี/กรัม การทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ที่เหมาะสมในการควบคุมโรครากปมในสภาพแปลงทดลอง ทำการทดลองที่ตำบลหนองตากยา อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร รดต้นกล้าพริกจำนวน 2 ครั้งก่อนย้ายปลูกห่างกัน 1 สัปดาห์ แช่กล้าพริกด้วยชีวภัณฑ์อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 30 นาที ก่อนย้ายปลูก และรดชีวภัณฑ์ลงในหลุมปลูกก่อนย้ายกล้าและรดบริเวณโคนต้นทุกสัปดาห์ รวม 6 ครั้ง โดยใช้ปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อต้น มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค

คำหลัก : ไส้เดือนฝอยรากปม, ชีวภัณฑ์, โรครากปมพริก

คำนำ

ไส้เดือนฝอยรากปม (Root-knot nematodes: *Meloidogyne* spp.) มีพืชอาศัยมากกว่า 2,000 ชนิด แพร่ระบาดและทำลายพืชปลูกหลายชนิดในประเทศไทย เช่น พริก มะเขือเทศ มันฝรั่ง ปทุมมา ขิง ฝรั่ง พริกไทย เป็นต้น โดยไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* เป็นชนิดที่มีการแพร่กระจายมากที่สุด ในปทุมมาไส้เดือนฝอยรากปมเข้าทำลายรากโดยตัวอ่อนระยะที่สองสามารถเข้าไปภายในรากและตุ้มสะสมอาหาร พัฒนาเป็นตัวเต็มวัยและวางไข่ ทำให้รากและตุ้มสะสมอาหารมีลักษณะเป็นปุ่มปม (ยุทธศักดิ์, 2542; มนตรี, 2538) การเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมกระทบต่อระบบลำเลียงน้ำและอาหารของปทุมมาทำให้ต้นแคระแกร็นผลผลิตลดลง เหง้าปทุมมาที่ถูกเข้าทำลาย

เสียหายไม่สามารถนำมาทำเป็นหัวพันธุ์ได้ การเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมในขิงจะคล้ายคลึงกับปทุมมา มนตรี (2534) รายงานการเกิดโรคแง่งหูดของขิงที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* มีลักษณะอาการที่บริเวณผิวของแง่งขิงที่พองนูนออก บางครั้งแตกเป็นสะเก็ด โดยเฉพาะขิงแก่ที่มีอายุเก็บเกี่ยว 9-10 เดือน อาการจะเกิดร่วมกับอาการรากปมซึ่งไส้เดือนฝอยรากปมจะทำลายทั้งรากฝอย รากสะสมอาหารและแง่ง ไส้เดือนฝอยจะเข้าทำลายแง่งขิงตั้งแต่เริ่มสร้าง โดยเข้าไปอยู่ในส่วนชั้นนอก คือ ground tissue layer ตั้งแต่ epidermis ไปจนถึง medulla หรือ pith ลึก 1-5 มิลลิเมตร มองเห็นเป็นจุดฉ่ำน้ำสีน้ำตาลซึ่งบริเวณนั้นจะมีไส้เดือนฝอยรากปมอาศัยอยู่ได้ทุกระยะ การที่ไส้เดือนฝอยอาศัยอยู่ไม่ลึกจะทำให้ผิวของแง่งขิงมีอาการบวมนูนออกมามีลักษณะคล้ายหูด ซึ่งชาวบ้านจะเรียกอาการนี้ว่าขิงหูดหรือขี้ทูต ไส้เดือนฝอยรากปมสามารถแพร่ระบาดโดยติดไปกับแง่งขิง ไหลไปกับน้ำ หรือติดไปกับเครื่องมือเครื่องใช้ต่าง ๆ และวัสดุปลูก โรครากปมหรือแง่งหูดของขิง นอกจากจะทำให้ผลผลิตลดลงแล้ว จะทำให้ระยะเวลาการเก็บรักษาของแง่งพันธุ์ขิงลดลง คุณภาพของขิงลดลงไม่เป็นที่ต้องการของตลาดอีกด้วย มนตรีและคณะ (2533) ศึกษาเปรียบเทียบการปลูกขิงในดินปกติกับดินที่มีตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองจำนวน 2000 ตัวต่อดิน 500 กรัม พบว่าเมื่อเก็บเกี่ยวเป็นขิงอ่อนอายุ 4 เดือนน้ำหนักแง่งสูญเสียไป 23.40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บเป็นขิงแก่อายุ 9 เดือน น้ำหนักแง่งสูญเสียไปถึง 36.40 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าแง่งขิงที่เก็บไว้ทำพันธุ์จะสูญเสียน้ำหนักไป 22.50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 1 เดือน เมื่อนำแง่งขิงที่เป็นโรคหูดไปปลูกจะพบว่าตัวอ่อนไส้เดือนฝอยจะเคลื่อนที่ลงสู่ดิน ภายใน 1 เดือน จะมีความหนาแน่นของตัวอ่อน 350 ตัวต่อดิน 500 กรัม มนตรีและคณะ (2531) ทำการทดลองในสภาพไร่ที่มีตัวอ่อนระยะที่2 ของไส้เดือนฝอยรากปมประมาณ 2,000 ตัว/ดิน500 กรัม พบว่าพริกขี้หนูห้วยสีทน-1 สูญเสียผลผลิตเป็นน้ำหนักสดประมาณ 26% และความสูงลดลง 16% และเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในดินหลังปลูกเป็น 3,000 ตัว/ดิน 500 กรัม

แบคทีเรีย *B. subtilis* ได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชหลายชนิด รวมทั้งมีการศึกษาในการนำมาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมเช่นกัน Basyony and Abo-Zaid. (2018) ทดสอบประสิทธิภาพของ *B. subtilis* ไอโซเลต B10 และ B8 ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง พบว่ามีผลในการยับยั้งการฟักของไข่ไส้เดือนฝอยรากปม และควบคุมโรคได้ถึง 89.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม Mokbel and Alharbi. (2014) ทดสอบการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์หลายชนิดในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* ในมะเขือเทศ พบว่า *B. subtilis* สามารถควบคุมโรคได้ 56.5 เปอร์เซ็นต์ และพืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น 50.9 เปอร์เซ็นต์ Jonathan *et al.* (2009) ทดสอบการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* และไส้เดือนฝอยเรนิฟอร์ม *R. reniformis* ในมะเขือเทศในสภาพแปลงปลูก โดยใช้ *Pseudomonas fluorescens* ร่วมกับ *B. subtilis* ในการคลุกเมล็ดก่อนปลูก พบว่าสามารถลดการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย และยังเพิ่มความสูง น้ำหนักต้น ความยาวราก น้ำหนักราก และผลผลิต ด้วย El-Nagdi *et al*. (2018) ทดสอบการใช้ *B. subtilis* และ *B. pumilus* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในถั่วลันเตา พบว่าสามารถลดจำนวนประชากรตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม

ในดินและราก จำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียในราก จำนวนกลุ่มไข่บนรากได้ Roy *et al*. (2015) ทดสอบจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในมะเขือเทศ พบว่าการใช้ *B. subtilis* ร่วมกับปุ๋ยคอกสามารถลดการเกิดโรคและปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมในดิน และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นอีกด้วย ยุวดี และคณะ (2559) ทดสอบการใช้เชื้อ *Bacillus* spp. 3 สายพันธุ์ ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ในแปลงปลูกพริกขี้หนูผลใหญ่สายพันธุ์หัวเรือ พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถลดประชากรไส้เดือนฝอยได้ 31.3-35.0 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การใช้สารเคมีคาร์โบฟูราน ลดประชากรไส้เดือนฝอยรากปมได้ 43.0 เปอร์เซ็นต์ การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. 3 สายพันธุ์ร่วมกันให้ผลผลิตสูงสุด วีรกรณ์ และคณะ (2561) ได้รวบรวมและคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ของไส้เดือนฝอยรากปม และได้แบคทีเรีย *B. subtilis* ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมของพริกในเรือนทดลอง สามารถควบคุมโรคได้ดีถึง 90 เปอร์เซ็นต์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ, หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ, ตู้อบ ลมร้อน, ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ, เครื่องเขย่า, เครื่องชั่ง, เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง, อุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่น ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ

วิธีการ

1. เตรียมแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

นำแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn เก็บไว้ในศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร ซึ่งที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากพริกและมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมในพริก (วีรกรณ์และคณะ, 2561) มาเลี้ยงบนอาหาร Tryptic soy agar (TSA) เพื่อนำมาใช้ในการทดลอง

2. คัดเลือกอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 Yeast extract glucose broth (YGB)

กรรมวิธีที่ 2 Difco Sporulation Medium (DSM)

กรรมวิธีที่ 3 Tryptone glucose yeast extract

กรรมวิธีที่ 4 Tryptic soy broth (TSB) สูตรเปรียบเทียบ

นำแบคทีเรีย BS-DOA37rkn ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร TSA 36 ชั่วโมง มาขูดเชื้อลงในอาหารสูตรต่าง ๆ ตามกรรมวิธีการทดลองแล้วนำไปเขย่า ตรวจเช็คปริมาณเชื้อที่ระยะเวลา 24, 30, 36 และ 40 ชั่วโมงตามลำดับ

การบันทึกข้อมูล

ตรวจเช็คปริมาณเชื้อที่ระยะเวลา 24, 30, 36 และ 40 ชั่วโมงตามลำดับ ด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA บ่มเชื้อ 48 ชั่วโมง จึงตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์สถิติ เพื่อคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย BS-DOA37rkn

3. ปรับสูตรอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn เพื่อลดต้นทุนการผลิตชีวภัณฑ์

เมื่อได้อาหารที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรียจากขั้นตอนที่ 2 แล้ว นำอาหารสูตรดังกล่าวมาเป็นแนวทางในการปรับสูตรอาหารใหม่เพื่อให้มีต้นทุนที่ลดลง แต่ยังคงมีประสิทธิภาพดีต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย โดยเลี้ยงแบคทีเรีย BS-DOA37rkn บนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 36 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อลงในอาหารสูตรต่าง ๆ ที่ได้จากการปรับสูตรใหม่ นำไปเขย่าเป็นเวลา 24, 36, และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 อาหารสูตรที่ 1
กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตรที่ 2
กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตรที่ 3
กรรมวิธีที่ 4 อาหารสูตรที่ 4

การบันทึกข้อมูล

ตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย คัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรียมากที่สุด

4. ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

ใช้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือกได้จากการทดสอบในขั้นตอนที่ 3 มาใช้ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

4.1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรียในรูปแบบอาหารเหลว

เลี้ยงแบคทีเรีย BS-DOA37rkn บนอาหาร TSA เป็นเวลา 30-36 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อลงในอาหารสูตรที่ได้จากการทดสอบในขั้นตอนที่ 3 นำไปเขย่าเป็นเวลา 30, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ แบ่งเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียที่บ่มไว้แต่ละระยะเวลาใส่หลอดทดลอง นำไปต้มในอ่างน้ำร้อน (water bath) ที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส เวลา 10-15 นาที ตรวจนับจำนวนเซลล์ด้วยวิธี ten-fold serial dilution 10^{-1}-10^{-8} และนำไปเกลี่ยให้ทั่วบนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งเป็นเซลล์แขวนลอยเชื้อที่ไม่ได้นำไปต้มในอ่างน้ำร้อน

4.2 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรียในรูปแบบอาหารแข็ง

เลี้ยงแบคทีเรีย BS-DOA37rkn บนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 36 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้ไป streak บนอาหารสูตรที่ได้จากการทดสอบในขั้นตอนที่ 3 ในจานเลี้ยงเชื้อ แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 30, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ ตรวจเช็คการสร้างเอนโดสปอร์ของเชื้อ ด้วยการย้อมเอนโดสปอร์ตามวิธีการของ Schaeffer-Fulton และนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การบันทึกข้อมูล

ตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย

5. คัดเลือกชนิดสารตัวพา (carrier) และวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn (ดัดแปลงจากวิธีการของณัฏฐิมา และคณะ, 2551)

เลี้ยงแบคทีเรีย BS-DOA37rkn บนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 36 ชั่วโมง เพื่อนำไปใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารที่ได้คัดเลือกจากขั้นตอนที่ 3 โดยเลี้ยงทั้งในรูปแบบอาหารเหลวด้วยวิธีการเขย่า และรูปแบบอาหารแข็งในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อไว้ตามระยะเวลาที่เหมาะสม ตามขั้นตอนที่ 4 เติมสารละลาย $MgSO_4.7H_2O$ และสารละลาย CMC (carboxymethyl cellulose) ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปคลุกผสมกับสารตัวพาชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. Kaolin
2. Diatomite
3. Pumice sulfate + Kaolin
4. Pumice sulfate + Diatomite + kaolin

หลังผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว นำไปตากให้แห้งและบดให้ละเอียด ตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย และตรวจเช็คปริมาณเชื้ออีกครั้งเมื่อครบ 30 วัน เพื่อเลือกชนิดสารตัวพา (carrier) และวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด

การบันทึกข้อมูล

ตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย และตรวจเช็คปริมาณเชื้ออีกครั้งเมื่อครบ 30 วัน

6. ตรวจสอบความอยู่รอด (shelf life) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

นำชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้ไปเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้อง 27± 2 องศาเซลเซียส และเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส ตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี ten-fold serial dilution บนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี ซึ่งการตรวจเช็คความอยู่รอดของเชื้อจะทำทุก ๆ เดือน เป็นระยะเวลา 12 เดือน

7. ทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ที่เหมาะสมในการควบคุมโรครากปมในสภาพแปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 120 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 รองก้นหลุมก่อนปลูกด้วยสาร fipronil 0.3% G อัตรา 2 กรัมต่อหลุม

กรรมวิธีที่ 7 ไม่ใช้ชีวภัณฑ์และสารเคมี

<u>การเตรียมแปลงที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม</u>

เลือกพื้นที่ที่มีประวัติการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม เก็บตัวอย่างดินและรากพืชจากแปลงนำมาแยกไส้เดือนฝอยรากปม ตรวจสอบชนิดและเพิ่มในต้นมะเขือเทศ เตรียมกล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดาในถุงเพาะกล้า เมื่อต้นกล้าอายุ 4 สัปดาห์ปลูกเชื้อด้วยไข่ไส้เดือนฝอยรากปมที่เลี้ยงไว้อัตรา 300 ฟองต่อต้น เมื่อต้นกล้าอายุ 6 สัปดาห์ นำไปปลูกลงในแปลง ระยะปลูก 50 x 50 เซนติเมตร จากนั้น 2 เดือนหลังปลูก ตรวจสอบการเกิดปมและสร้างกลุ่มไข่บริเวณรากมะเขือเทศ ตัดต้นมะเขือเทศและไถพลิกดินเพื่อคลุกเคล้ารากมะเขือเทศลงในดิน และเตรียมแปลงปลูกพริก

<u>การเตรียมแปลงทดลองและปฏิบัติการทดลอง</u>

เตรียมแปลงทดลองพริก ขนาดแปลงทดลองย่อย 1.5 x 5.0 เมตร ระยะปลูกระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ระหว่างแถว 100 เซนติเมตร ปลูกพริก 20 ต้นต่อแปลง ก่อนปลูกเก็บตัวอย่างดินจากแต่ละหลุมปลูกรวม 20 จุดต่อแปลง เพื่อตรวจนับจำนวนตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองในดิน เพาะกล้าพริกในถาดเพาะกล้า สำหรับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ให้รดต้นกล้าพริกด้วยชีวภัณฑ์อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้งก่อนย้ายปลูกห่างกัน 1 สัปดาห์ แช่กล้าพริกด้วยชีวภัณฑ์ อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 30 นาที ก่อนย้ายปลูก และพ่นชีวภัณฑ์ลงในหลุมปลูกก่อนย้ายกล้า และพ่นบริเวณโคนต้นทุกสัปดาห์ รวม 6 ครั้ง โดยใช้หัวพ่นแบบพัด อัตราน้ำ 100 ลิตรต่อไร่

ตรวจผลการการทดลอง 120 วันหลังปลูกพริก วัดความสูง ชั่งน้ำหนักต้น ชั่งน้ำหนักราก น้ำหนักผลผลิตพริก ประเมินระดับการเกิดปมที่รากโดยการให้คะแนน ระดับ 0 = ไม่เกิดปม, 1 = เกิดปมเล็กน้อย (<10%), 2 =เกิดปม 11-25% ของระบบราก, 3 = เกิดปม 26-50% ของระบบราก, 4 = เกิดปม 51-75% ของระบบราก, 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก (Kinloch, 1990) คำนวณดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease Severity Index, DSI) โดยใช้สูตร

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease Severity Index, DSI)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นพืชแต่ละระดับอาการ x คะแนนของระดับอาการ)}}{\text{จำนวนต้นพืชทดสอบทั้งหมด x คะแนนสูงสุดของระดับอาการ}} \times 100$$

วัดปริมาณตัวอ่อนระยะที่สองในดิน โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจากแปลงทดลองย่อย 5 จุดต่อแปลง คลุกเคล้าเข้าด้วยกัน ตรวจนับปริมาณตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมในดิน จากดิน 250 กรัม

โดยแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินโดยการกวนในน้ำปริมาตร 2 ลิตร กรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่าง และนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรองที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด (Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique) เก็บตัวไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำสะอาด ไปตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช แปลงทดลองจังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การคัดเลือกอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

พบว่ากรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร Yeast extract glucose broth (YGB) เหมาะสมต่อการการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn จึงคัดเลือกอาหารสูตรนี้ไปปรับเป็นสูตรอาหารที่มีต้นทุนต่ำกว่าอาหารทางการค้า ทั้งรูปแบบอาหารเหลวและอาหารแข็ง

การปรับสูตรอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn เพื่อลดต้นทุนการผลิตชีวภัณฑ์

การพัฒนาสูตรอาหารใหม่สำหรับเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn เพื่อลดต้นทุนการผลิตชีวภัณฑ์ ได้สูตรอาหารเหลว 1 สูตร ที่มีส่วนผสมของ yeast extract, glucose, di-potassium hydrogen phosphate และนมวัวรสจืด และสูตรอาหารแข็ง 1 สูตร ที่มีส่วนผสมของ yeast extract, glucose, di-potassium hydrogen phosphate, นมวัวรสจืด และผงวุ้น ซึ่งเป็นอาหารสูตรใหม่ที่มีต้นทุนต่ำกว่าสูตรอาหารทางการค้า และเหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn ในปริมาณมาก

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

พบว่าการเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรใหม่และเขย่าเป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถเพิ่มปริมาณเซลล์แบคทีเรียได้สูงที่สุด สำหรับการเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหารแข็งสูตรใหม่พบว่าที่ 48 ชั่วโมง แบคทีเรียสามารถเจริญได้เต็มหน้าอาหารในจานเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกัน

การคัดเลือกชนิดสารตัวพา (carrier) และวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

คัดเลือกชนิดสารตัวพา (carrier) และวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn พบว่าการใช้ Zeolite + Diatomite (อัตรา 1:1) เป็นสารพาที่มีความเหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์สูตรพร้อมใช้รูปแบบผง *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn มากที่สุด

การตรวจสอบความอยู่รอด (shelf life) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

การตรวจสอบความอยู่รอด (shelf life) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn จากการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นจำนวน 5 สูตรที่สภาพอุณหภูมิห้อง 28± 2 องศาเซลเซียส และเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยพบว่าชีวภัณฑ์สูตรพร้อมใช้รูปแบบผงที่ใช้ Zeolite + Diatomite (1:1) เป็นสารพามีปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn เริ่มต้น 9.6 x 10^{10} หน่วยโคโลนี/กรัม สามารถเก็บรักษาชีวภัณฑ์ในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส) ได้นานถึง 10 เดือน ซึ่งจะมีปริมาณเชื้อ 1.9x10^{8} หน่วยโคโลนี/กรัม และสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) ได้นาน 9 เดือน มีปริมาณเชื้อ 1.60x10^{8} หน่วยโคโลนี/กรัม

การทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ที่เหมาะสมในการควบคุมโรครากปมในสภาพแปลงทดลอง

ปีที่ 1

เลือกพื้นที่ที่มีประวัติการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม เก็บตัวอย่างดินและรากพืชจากแปลงนำมาแยกไส้เดือนฝอยรากปม ทำการทดลองที่ตำบลหนองตากยา อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี วางแผนการทดลองแบบแบบ RCB 7 กรรมวิธี 4 ซ้ำ เตรียมแปลงปลูกพริก ให้มีขนาดแปลงทดลองย่อย 1.5 x 5.0 เมตร ระยะปลูกระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ระหว่างแถว 100 เซนติเมตร ปลูกพริก 20 ต้นต่อแปลง จำนวน 28 แปลงทดลองย่อย ก่อนปลูกเก็บตัวอย่างดินจากแต่ละหลุมปลูกรวม 20 จุดต่อแปลง เพื่อตรวจนับจำนวนตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองในดิน เพาะกล้าพริกในถาดเพาะกล้า สำหรับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ให้รดต้นกล้าพริกด้วยชีวภัณฑ์ อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้งก่อนย้ายปลูกห่างกัน 1 สัปดาห์ แช่กล้าพริกด้วยชีวภัณฑ์อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 30 นาที ก่อนย้ายปลูก และราดชีวภัณฑ์ลงในหลุมปลูกก่อนย้ายกล้า และรดบริเวณโคนต้นทุกสัปดาห์ รวม 6 ครั้ง โดยใช้ปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อต้น จากผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn ในทุกอัตรามีดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมที่ไม่ใช้ชีวภัณฑ์ (ควบคุม) และกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn ทุกอัตรามีดัชนีความรุนแรงของเกิดโรคไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้สารเคมี fipronil 0.3% G อัตรา 2 กรัมต่อหลุม

ปีที่ 2

การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn ในการควบคุมโรครากปมของพริกพันธุ์จินดาแดงที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ทำการทดลองที่ ต.หนองตากยา อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี พบว่าความสูง และน้ำหนักผลผลิตของพริก ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกรรมวิธีต่าง ๆ อย่างไรก็ตามความรุนแรงของการเกิดโรครากปมมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการใช้ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตราต่าง ๆ มีค่าดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรคต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยเมื่อพ่นโคนต้นพริกด้วยชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 80 100 120 150 และ 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 44.0 43.3 42.3 46.5 และ 44.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การไม่ใช้ชีวภัณฑ์และสารเคมีมีดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 58.8 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็

ตามดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรคระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตราต่าง ๆ ไม่แตกต่างกัน การใช้สาร fipronil 0.3%G รองก้นหลุมก่อนปลูกพริกอัตรา 2 กรัมต่อหลุมมีดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรคต่ำที่สุดคือ 23.8 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากทุกกรรมวิธี

อัตราการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยรากปมในกรรมวิธีต่าง ๆ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการใช้ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตราต่าง ๆ อัตราการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยรากปมต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยกรรมวิธีที่พ่นโคนต้นพริกด้วยชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 80 100 120 150 และ 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยรากปมเท่ากับ 2.0 2.3 2.1 2.8 และ 2.0 ตามลำดับ ในขณะที่การไม่ใช้ชีวภัณฑ์และสารเคมีมีอัตราการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยรากปมเท่ากับ 4.12 นอกจากนั้นกรรมวิธีที่พ่นโคนต้นพริกด้วยชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 80 100 120 และ 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีอัตราการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยรากปมไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้สาร fipronil 0.3%G รองก้นหลุมก่อนปลูกพริกอัตรา 2 กรัมต่อหลุม ซึ่งมีอัตราการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยรากปมเท่ากับ 1.6

จากผลการทดลองที่ได้การใช้ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn ในการควบคุมโรครากปมในพริกสามารถลดความรุนแรงของโรคและลดการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยรากปมได้ ถึงแม้ว่าในการทดลองนี้ความสูง และผลผลิตของต้นพริกจะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใช้ชีวภัณฑ์ แต่ในระยะยาวผลผลิตของพริกในกรรมวิธีที่ไม่ใช้ชีวภัณฑ์ น่าจะลดลงเนื่องจากรากพริกมีความรุนแรงของโรคสูงกว่า ซึ่งจะทำให้ต้นโทรมและมีผลผลิตลดลงในที่สุด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การคัดเลือกอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn พบว่าอาหาร Yeast extract glucose broth (YGB) เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณและการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 37rkn จึงคัดเลือกอาหารสูตรนี้ไปปรับเป็นสูตรอาหารที่มีต้นทุนต่ำกว่าอาหารทางการค้าทั้งรูปแบบอาหารเหลวและอาหารแข็ง เพื่อลดต้นทุนการผลิตชีวภัณฑ์จึงได้สูตรอาหารเหลว 1 สูตร ที่มีส่วนผสมของ yeast extract, glucose, di-potassium hydrogen phosphate และนมวัวรสจืด และสูตรอาหารแข็ง 1 สูตร ที่มีส่วนผสมของ yeast extract, glucose, di-potassium hydrogen phosphate, นมวัวรสจืด และผงวุ้น ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรใหม่ที่มีต้นทุนต่ำกว่าสูตรอาหารทางการค้าและเหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 37rkn ในปริมาณมากสำหรับนำไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์สูตรพร้อมใช้ การผลิตชีวภัณฑ์โดยใช้ zeolite ผสม diatomite (อัตรา 1:1) เป็นสารพาที่มีความเหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์สูตรพร้อมใช้รูปแบบผง มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 9.6×10^{10} หน่วยโคโลนี/กรัม การตรวจสอบความอยู่รอด (shelf life) พบว่าสามารถเก็บรักษาชีวภัณฑ์ในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส) ได้นานถึง 10 เดือน ซึ่งจะมีปริมาณเชื้อ 1.9×10^{8} หน่วยโคโลนี/กรัม และสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 2 องศาเซลเซียส) ได้นาน 9 เดือน มีปริมาณเชื้อ 1.60×10^{8} หน่วยโคโลนี/กรัม

การทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ที่เหมาะสมในการควบคุมโรครากปมในสภาพแปลงทดลอง เลือกพื้นที่ที่มีประวัติการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม เก็บตัวอย่างดินและรากพืชจากแปลงนำมาแยกไส้เดือนฝอยรากปม ทำการทดลองที่ตำบลหนองตากยา อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร รดต้นกล้าพริกจำนวน 2 ครั้งก่อนย้ายปลูกห่างกัน 1 สัปดาห์ แช่กล้าพริกด้วยชีวภัณฑ์อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 30 นาที ก่อนย้ายปลูก และราดชีวภัณฑ์ลงในหลุมปลูกก่อนย้ายกล้า และรดบริเวณโคนต้นทุกสัปดาห์ รวม 6 ครั้ง โดยใช้ปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อต้น มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมพริกที่มีสาเหตุจากไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพแปลงทดลอง มีดัชนีความรุนแรงของเกิดโรคต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมที่ไม่ใช้ชีวภัณฑ์ (ควบคุม) และกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ BS-DOA 37rkn ทุกอัตรามีดัชนีความรุนแรงของเกิดโรคไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้สารเคมี fipronil 0.3% G อัตรา 2 กรัมต่อหลุม

เอกสารอ้างอิง

มนตรี เอี่ยมวิมังสา จรัส ชื่นราม และวิชิต จรัสเจษฎา. 2531. ศึกษาการสูญเสียผลผลิตของพริกห้วยสีทน-1 เนื่องจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* (Kofo.& Whit.) Chit. หน้า 62-66. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2532*. สาขาไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา วิชิต จรัสเจษดา และจรัส ชื่นราม. 2533. อิทธิพลของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและอายุการเก็บรักษาของขิง. หน้า 17-25. *ใน : รายงานผลงานวิจัย ปี 2533*. กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา. 2534. โรคแง่งหูดขิง. *กสิกร* 64 (6): 614-615.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา. 2538. *เอกสารวิชาการ ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช*. กรมวิชาการเกษตร 190 หน้า.

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี. 2542. โรครากปมของปทุมมาและกระเจียว. *กสิกร*. 72(2): 121-125.

ยุวดี ชูประภาวรรณ สุภาวดี แก้วระหัน และสมชาย คำแน่น. 2559. การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมพริกในสภาพแปลงปลูก. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์* 3: 118-124.

วีรกรณ์ แสงไสย์ ไตรเดช ข่ายทอง ธิติยา สารพัฒน์ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2561. การคัดเลือกเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในพริก. หน้า 2525-2534. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจาปี 2561 เล่ม 4*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Basyony, A.G. and G.A. Abo-Zaid. 2018. Biocontrol of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, using an eco-friendly formulation from *Bacillus subtilis*, lab. and greenhouse studies. Egyptian *Journal of Biological Pest Control*. 28: 87

El-Nagdi, W.M.A., H. Abd-El-Khair and M.G. Dawood. 2018. Nematocidal Effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* Against *Meloidogyne incognita* infecting Pea. *Advances in Agricultural Science*. 6: 52-59.

Jonathan, E.I., T. Raguchander, M.Z. Bagam and S. Sundaramoorthy. 2009. Field efficacy of biocontrol agents for the management of root knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitw. and reniform nematode *Rotylenchulus reniformis* (Linford & Oliviera) in tomato. *Journal of Biological Control*. 23: 311-316.

Mokbel, A.A. and A.A. Alharbi. 2014. Suppressive effect of some microbial agents on root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* infected eggplant. *Australian Journal of Crop Science*. 8: 428-1434.

Roy, S., A. Rathod and A. Pramanik. 2015. Bioefficacy of *Bacillus subtilis* against root knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood in tomato. *Journal of Applied and Natural Science* 7: 1012-1015.

Table 1 Shelf life of biopesticide *Bacillus subtilis* BS-DOA37rkn at different temperature

Month	at 5°C (cfu/g)	at 28±2°C (cfu/g)
1	$9.60x10^{10}$	$8.10x10^{10}$
2	$3.80x10^{10}$	$1.95x10^{10}$
3	$1.40x10^{10}$	$3.40x10^{9}$
4	$8.80x10^{9}$	$7.10x10^{9}$
5	$5.50x10^{9}$	$4.90x10^{9}$
6	$3.10x10^{9}$	$2.70x10^{9}$
7	$3.05x10^{9}$	$2.80x10^{8}$
8	$3.30x10^{8}$	$2.10x10^{8}$
9	$2.70x10^{8}$	$1.60x10^{8}$
10	$1.90x10^{8}$	$2.70x10^{7}$
11	$2.10x10^{7}$	$1.80x10^{7}$
12	$1.60x10^{7}$	$1.60x10^{7}$

Table 2 Average height, plant weight, yield, number of root-knot nematode second stage juvenile in the soil, amount of *B. subtilis* in the soil and root-knot disease index in the efficacy trial of biopesticide *B. subtilis* BS-DOA37rkn for root knot disease control in chili field

Treatment	Height (cm)	Plant weight (g)	Yield (g/plant)	umber of oot-knot ematode	mount of S	Disease Index[1/]
S-DOA37rkn 80 g	86.2 ab	161	580.0	155	4.88 x10^4	28.1b
S-DOA37rkn 100 g	88.2 a	158.5	573.7	335	4.76 x10^4	23.8b
S-DOA37rkn 120 g	88.5 a	208.5	437.5	135	4.98 x10^4	26.9b
S-DOA37rkn 150 g	90.5 a	170.7	469.2	253	6.27 x10^4	25.3b
S-DOA37rkn 200 g	87.7 ab	151	481.2	108	10.55 x10^4	23.9b
ipronil 0.3% G 2 g	84.0 ab	137.2	306.5	79	-	24.9b
ontrol	81.0 b	145	538.0	139	-	40.2a
F-test	*	ns	ns	ns	-	**
CV	5.11	50.38	41.28	104.7	-	18.80

[1/] numbers in the same column with the same letter are not statically different at 95% by DMRT

Table 3 Average height, plant weight, yield, number of root-knot nematode second stage juvenile in the soil, amount of *B. subtilis* in the soil and root-knot disease index in the efficacy trial of biopesticide *B. subtilis* BS-DOA37rkn for root knot disease control in chili field

Treatment	Height (cm)	Yield (g/plant)	Nematode reproduction factor	Disease Index[1/]
BS-DOA37rkn 80 g	107.9	825	2.0ab	44.0b
BS-DOA37rkn 100 g	108.6	900	2.3ab	43.3b
BS-DOA37rkn 120 g	107.1	865	2.1ab	42.3b
BS-DOA37rkn 150 g	106.8	780	2.8b	46.5bc
BS-DOA37rkn 200 g	109.7	825	2.0ab	44.3b
Fipronil 0.3% G 2 g	103.7	780	1.6a	23.8a
Control	107.7	810	4.12c	58.8c
F-test	ns	ns	**	**
CV	53.54	71.9	132.25	34.11

[1/] numbers in the same column with the same letter are not statically different at 95% by DMRT

Figure 1 Screening of low-cost formulation for *B. subtilis* Bs-DOA 37rkn culture

Figure 2 Different *B. subtilis* Bs-DOA 37rkn biopesticide formulation

Figure 3 Efficacy trial field (A) mild root knot symptoms
(B) severe root knot symptoms (C)

การพัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า

Formulation and Application of *Bacillus subtilis* to Control Black Rot Disease on Kale

ณัฐธิดา เติมสังข์ กาญจนา ศรีไม้ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รุ่งนภา ทองเครั่ง
บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Formulation and application of *Bacillus subtilis* to control black rot disease on kale. This research aims to develop a bioproduct from *B. subtilis* strain B10 by studying the appropriate carriers, storage period of the bioproduct under various temperatures and application of *B. subtilis* strain B10 in experimental field conditions. This is to effectively and safely control black rot disease in kale caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, while ensuring environmental safety. Experiments were conducted between October 2021 to September 2024. To study the appropriateness of the carrier, it was found that the method using kaolin as a carrier was well soluble in water, suspended in water for a long time, and sedimented slowly, which completely sedimented within 30-60 minutes. It is suitable for bioproduct of *Bacillus subtilis* strain B10 in wettable powder formulation. When checking the shelf life of bioproduct could be stored at room temperature (28±2 ℃) for 7 months (1.65×10^8 cfu/g) and stored at refrigerator (4-15 ℃) for 8 months (2.00×10^8 cfu/g). The experiment was conducted in farmer fields in Tha Muang district, Kanchanaburi province. The experiment was designed as a randomized complete block design (RCB) with 4 replications and 6 treatments. It was found that all spraying treatments had a lower and significantly different result with the spraying water method (control). In addition, it was found that spraying the bioproduct of *Bacillus subtilis* strain B10 at 100 g/20 L of water (1 day before inoculation) had a disease severity with 43.67%, which was higher and not different from the spraying method of zinc thiazole 20% W/V SC at the rate of 60 ml/20 L of water, which had a disease severity with 40.17% (chemical treatment). This result can be used as a guideline for farmers.

Keywords : black rot, bioproduct, kale

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-05-65

บทคัดย่อ

การพัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนารูปแบบการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 โดยการศึกษาสารพาที่เหมาะสม ระยะเวลาการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ และวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ในสภาพแปลงทดลองสำหรับการควบคุมโรคเน่าดำของคะน้าที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อมดำเนินการทดลองระหว่างตุลาคม 2564 - กันยายน 2567 โดยการศึกษาสารพาที่เหมาะสม พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เกาลิน (kaolin) เป็นสารพานั้น สามารถละลายน้ำได้ดี มีการแขวนลอยในน้ำได้นาน ตกตะกอนช้า ซึ่งตกตะกอนหมดภายใน 30-60 นาที เหมาะสำหรับนำไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 รูปแบบสูตรผงพร้อมใช้ และเมื่อตรวจสอบความอยู่รอด (shelf life) ของชีวภัณฑ์ พบว่าสามารถเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง (28±2 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 7 เดือน ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ 1.65×10^{8} โคโลนี/กรัม และสามารถเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 4-15 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 8 เดือน ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ 2.00×10^{8} โคโลนี/กรัม สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์สูตรผงในสภาพแปลงทดลอง ณ อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCB) จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารทดลอง มีดัชนีความรุนแรงของโรคเน่าดำต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน (กรรมวิธีควบคุม) นอกจากนั้นยังพบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ก่อนปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน มีดัชนีความรุนแรงของโรคเน่าดำเท่ากับ 43.67 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าและไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสาร zinc thiazole 20% W/V SC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรคเน่าดำเท่ากับ 40.17 เปอร์เซ็นต์ และสามารถใช้เป็นคำแนะนำแก่เกษตรกรผู้ปลูกคะน้าได้

คำหลัก : โรคเน่าดำ, ชีวภัณฑ์, คะน้า

คำนำ

โรคเน่าดำ (black rot) หรือโรคขอบใบทองที่มีสาเหตุจากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) สามารถเข้าทำลายและสร้างความเสียหายต่อพืชตระกูลกะหล่ำเป็นอย่างมาก โดยเชื้อสามารถเข้าทำลายพืชทางช่องคายน้ำที่บริเวณขอบใบ ปากใบ ต่อมคายน้ำ (hydathodes) หรือบาดแผลของพืช จากนั้นจะเจริญเข้าไปในเนื้อเยื่อท่อลำเลียงน้ำของใบ ลำต้น หรือราก ซึ่งลักษณะอาการของโรคส่วนใหญ่จะพบที่ใบล่างก่อน โดยใบพืชจะมีสีเหลืองจากขอบใบเข้าไปในเนื้อใบจนถึงแกนกลางของใบเป็นรูปตัววี (V) เส้นใบบริเวณที่เชื้อเข้าทำลายมีสีน้ำตาลดำ จากนั้นบริเวณ

ขอบใบที่เชื้อเข้าทำลายจะแห้งตาย ใบเหี่ยวเฉาและหลุดจากต้น ส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อท่อลำเลียงน้ำพบลักษณะเน่ามีสีดำ ในระยะกล้าอาการเน่าดำจะพบที่ขอบใบเลี้ยงของพืช โดยใบเลี้ยงแสดงอาการเหี่ยวและตายในที่สุด ซึ่งเชื้อสามารถแพร่กระจายโดยติดไปกับเมล็ดพันธุ์ เศษซากพืชในแปลงปลูก การให้น้ำ ฝน ลม รวมถึงอุปกรณ์ทางการเกษตร เป็นต้น ในการจัดการกับโรคเน่าดำควรดำเนินการตั้งแต่ต้นโดยลดการแพร่ระบาดโรคผ่านทางเมล็ด ลดการสะสมของเชื้อสาเหตุโรคพืชในแปลงปลูก และการใช้สารเคมีหรือชีววิธีในการควบคุมโรค เป็นต้น (นิพนธ์, 2553; Vicente and Holub, 2013)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control of plant pathogen) คือ การลดปริมาณประชากรของเชื้อโรคพืชหรือลดกิจกรรมของเชื้อก่อโรคที่จะก่อให้เกิดโรคกับพืชให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืช โดยปัจจุบันการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืชได้รับความสนใจและนำมาปรับใช้ควบคุมโรคพืชทดแทนการใช้สารเคมี ซึ่งมีการรายงานว่าเชื้อจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์มีประสิทธิภาพทัดเทียมการใช้สารเคมี (Prathuangwong, 2016)

แบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. เป็นกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยมในอันดับต้น ๆ ในการใช้ควบคุมโรคพืชแบบชีววิธี เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นหลายประการ เช่น พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม สารเคมี รังสี และความร้อนได้ดีกว่าเซลล์ปกติ สามารถทนต่ออุณหภูมิช่วงกว้างตั้งแต่ -5 ถึง 75 องศาเซลเซียสได้ สามารถเจริญได้ใน pH 2-8 ทนความเค็มเกลือ NaCl ได้ถึง 25% (El-Hassan and Gowen, 2006) สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลากหลายชนิด เช่น bacillomycin, iturin, mycosubtilin, bacilysin, fengymycin และ mycobacillin เป็นต้น (นิตยา, 2549) ในประเทศไทยมีรายงานการนำแบคทีเรีย *Bacillus* spp มาใช้ควบคุมแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชค่อนข้างหลากหลาย มีรายงานการคัดเลือก การทดสอบศักยภาพในโรงเรือนปลูกพืชทดลองและแปลงเกษตรกร และการผลิตเป็นชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลากหลายชนิด โดยณัฏฐิมา และคณะ (2547) สามารถแยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากดินรากพืชและปุ๋ยคอก 525 ไอโซเลท ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* พบว่ามี 4 ไอโซเลท ที่สามารถควบคุมและลดการเกิดโรคเหี่ยวของขิงได้ประมาณ 70-100% ในสภาพโรงเรือน ต่อมาณัฏฐิมา และคณะ (2557) ทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *B. subtillis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 ควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในสภาพแปลงเกษตรกร อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ 60% ในสภาพแปลง บูรณี และคณะ (2554) ทดสอบประสิทธิภาพของ *B. subtillis* สายพันธุ์ UB No.2 และ UB No.25 ควบคุมโรคเหี่ยวของพริกในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าสามารถควบคุมโรคได้ 60 และ 66.67% บุษราคัม และคณะ (2555) ศึกษาการใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W1, 20W4, 17G18 และ 20W5 ซึ่งสามารถลดการเกิดโรคใบจุดคะน้าได้ดี เทียบเคียงกับการควบคุมโรคโดยการใช้ mancozeb 80% WP นอกจากนี้ Kim *et al*. (2018) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *B. toyonensis* ไอโซเลท CAB12243-2 สำหรับควบคุมเชื้อ *Pectobacterium carotovorum* subsp.

carotovorum สาเหตุโรคเน่าเละของผักกาดขาวในสภาพแปลง พบว่ามีประสิทธิภาพการควบคุมโรคเน่าเละเท่ากับ 73.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Issazadeh *et al.* (2012) นำเอาแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ได้แก่ *B. thuringiensis, B. cereus, B. subtilis, B. megaterium* และ *B. pumilus* มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคเน่าดำ และเชื้อ *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* สาเหตุโรคเน่าเละ พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทุกไอโซเลท สามารถควบคุมโรคเน่าดำและโรคเน่าเละได้ งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ได้แก่ การศึกษาสารพา การตรวจสอบความอยู่รอด (shelf life) ในการเก็บรักษา และทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในสภาพแปลงทดลอง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ตู้อบ (Hot air oven) ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) เครื่องเขย่า (Shaker) เครื่องชั่ง เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) ตะเกียงแอลกอฮอล์ อุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่น ๆ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ และวัสดุเกษตร เช่น กระถาง วัสดุปลูก อุปกรณ์รดน้ำ

วิธีการ

1. ศึกษาสารพา *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า

1.1 การเตรียมแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10

เลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 (จากงานทดลองการควบคุมโรคเน่าดำของคะน้าในสภาพโรงเรือนทดลอง) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar (TSA) ให้ได้โคโลนีเดี่ยวอายุ 24-36 ชั่วโมง นำห่วงเขี่ยเชื้อขูดแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 จำนวน 1 ห่วงเขี่ยเชื้อ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) ในการเพิ่มเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรียในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้งเก็บตะกอนของเซลล์แบคทีเรียเพื่อใช้ในการพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์

1.2 การศึกษาสารพาที่เหมาะสมของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10

ทำการศึกษาสารพา (ดัดแปลงจากณัฏฐิมาและคณะ, 2557; กฤติเดชและดุสิต, 2559; พงศธรและคณะ, 2561) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เกาลิน (Kaolin)

กรรมวิธีที่ 2 เกาลิน + ผงถ่านชีวภาพ
กรรมวิธีที่ 3 เกาลิน + ดินเบา (Diatomaceous earth)
กรรมวิธีที่ 4 เกาลิน + โดโลไมต์ (Dolomite)
กรรมวิธีที่ 5 เกาลิน + ผงถ่านชีวภาพ + กรดอะมิโน (Amino acid)
กรรมวิธีที่ 6 เกาลิน + ดินเบา + กรดอะมิโน
กรรมวิธีที่ 7 เกาลิน + โดโลไมต์ + กรดอะมิโน

นำตะกอนแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ที่เตรียมไว้ในข้อ 1.1 ผสมให้เข้ากันใน 2.47% Magnesium Sulphate Heptahydrate (2.47% $MgSO_4.7H_2O$) จากนั้นเติม 2.5% carboximethyl cellulose (2.5% CMC) ในอัตราส่วน 2:1 นำไปผสมลงในสารพาตามกรรมวิธี ตากให้แห้งในที่ร่มแล้วบดให้เป็นผงละเอียดเก็บไว้ในถุงพลาสติก ตรวจปริมาณแบคทีเรียโดยวิธี serial dilution method ที่ค่าการเจือจาง 10^{-1}-10^{-8} บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA โดยใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 พร้อมคำนวณหาปริมาณของแบคทีเรียแต่ละกรรมวิธี เพื่อคัดเลือกสูตรสารพาที่มีความเหมาะสมอย่างน้อย 1 สูตร เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลองต่อไป

1.3 ศึกษาลักษณะการละลายน้ำและการตกตะกอนของชีวภัณฑ์สูตรต่างๆ

ลักษณะการละลายน้ำและการตกตะกอนของชีวภัณฑ์สูตรต่างๆตามกรรมวิธี โดยประเมินความสามารถในการละลายน้ำหลังผสมน้ำทันทีโดยใช้อัตราของสารพาผสมแบคทีเรียปฏิปักษ์ 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จับเวลาการละลายน้ำ แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ละลายน้ำภายใน 1-5 นาที ระดับ 2 ละลายน้ำภายใน 6-10 นาที ระดับ 3 ละลายน้ำภายใน 11-30 นาที ระดับ 4 ละลายน้ำภายใน 30-60 นาที และระดับ 5 ไม่ละลายน้ำ เกาะตัวเป็นกลุ่มด้านบนผิวน้ำ (กฤติเดชและดุสิต, 2559) และจับเวลาการตกตะกอนของสารพาผสมแบคทีเรียปฏิปักษ์ แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 12 ชั่วโมง ระดับ 2 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 30-60 นาที ระดับ 3 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 11-30 นาที ระดับ 4 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 5-10 นาที และระดับ 5 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 1-5 นาที

2. การตรวจสอบความอยู่รอด (shelf life) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิในตู้เย็นตามระยะเวลาต่าง ๆ

นำชีวภัณฑ์แต่ละสูตรแบ่งใส่ถุงพลาสติกถุงละ 20 กรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 28+2 องศาเซลเซียส) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 4-15 องศาเซลเซียส) จากนั้นสุ่มตัวอย่างชีวภัณฑ์แต่ละสูตรมาจำนวน 1 ถุง ตรวจนับปริมาณของแบคทีเรียทุกๆ 1 เดือน เป็นระยะเวลา 12 เดือน (ณัฏฐิมาและคณะ, 2557) โดยวิธี serial dilution method ที่ค่าการเจือจาง 10^{-1}-10^{-8} บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA โดยใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 พร้อมคำนวณหาปริมาณของแบคทีเรีย เพื่อทำการ

คัดเลือกชีวภัณฑ์ที่มีเหมาะสมมากที่สุดจำนวน 1 สูตร สำหรับนำไปทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงทดลองต่อไป

3. ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์สูตรผงในสภาพแปลงทดลอง

3.1 การเตรียมแปลงปลูกพืช

เตรียมแปลงปลูกคะน้าขนาดแปลงย่อย 1×5 เมตร เว้นระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย นำเมล็ดคะน้ามาหว่านลงบนแปลงปลูกที่เตรียมไว้กลบด้วยดินละเอียดบาง ๆ อัตรา 7.5 กรัมต่อแปลงย่อย โดยเปรียบเทียบจากการใช้เมล็ดคะน้าอัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ และรดน้ำให้ทั่วแปลงปลูก คลุมด้วยฟางหรือหญ้าแห้งเพื่อป้องกันต้นอ่อนจากแสงแดด และรักษาความชื้นของผิวดินหลังคะน้างอกประมาณ 10-15 วัน หรือต้นสูงประมาณ 10 เซนติเมตร ให้เริ่มถอนแยกต้นที่ไม่สมบูรณ์ออก (ตามวิธีเกษตรกร) เพื่อเว้นระยะให้ต้นกล้าได้เจริญเติบโต จากนั้นดูแลรดน้ำใส่ปุ๋ยตามขั้นตอนปกติ

3.2 การเตรียมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

เลี้ยงแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *campestris* (Xcc) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำไปผสมน้ำกลั่นอัตราเซลล์แขวนลอย 1 ส่วน: น้ำกลั่น 2 ส่วน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร โดยปรับค่าความขุ่นของเซลล์ให้มีความเข้มข้นเซลล์ประมาณ 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร นำไปปลูกเชื้อลงบนต้นคะน้าที่มีอายุประมาณ 25-30 วัน โดยวิธีพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียลงบนใบคะน้าให้ทั่วต้นในสภาพแปลงทดลอง

3.3 ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ในการควบคุมโรคเน่าดำของคะน้าในสภาพแปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นชีวภัณฑ์อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ก่อนปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน
กรรมวิธีที่ 2 พ่นชีวภัณฑ์อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ก่อนปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน
กรรมวิธีที่ 3 พ่นชีวภัณฑ์อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน
กรรมวิธีที่ 4 พ่นชีวภัณฑ์อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน
กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร zinc thiazole 20% W/V SC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)
กรรมวิธีที่ 6 พ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน (กรรมวิธีควบคุม)

เมื่อต้นคะน้าอายุ 25 วัน ปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc ให้ทั่วทั้งต้น หลังจากนั้น 1 วัน พ่นชีวภัณฑ์และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อตามกรรมวิธี พ่นให้ทั่วต้นทุก ๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง ประเมินความ

รุนแรงของโรคเน่าดำก่อนพ่นชีวภัณฑ์ทุกครั้ง โดยสุ่มคะน้าจำนวน 15 ต้น/แปลงย่อย ประเมินแต่ละใบในต้นจำนวน 4 ใบ/ต้น

แบ่งระดับความรุนแรงของโรคเป็น 6 ระดับ (ดัดแปลงจาก Henz and Melo,1994; Da Silva *et al*.,2015) ดังนี้

0 = ใบพืชไม่แสดงอาการของโรค

1 = ใบพืชแสดงอาการของโรค 1-15% ของพื้นที่ใบ หรือพบอาการของโรค 1-2 แผลบนใบ (แผลมีเส้นผ่าศูนย์กลาง <1.5 เซนติเมตร)

2 = ใบพืชแสดงอาการของโรค 16-30% ของพื้นที่ใบ หรือพบอาการของโรค 3-5 แผลบนใบ (แผลมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5-4.0 เซนติเมตร)

3 = ใบพืชแสดงอาการของโรค 31-50% ของพื้นที่ใบ หรือพบอาการของโรคมากกว่า 5 แผลบนใบ (แผลมีเส้นผ่าศูนย์กลาง >4.0 เซนติเมตร)

4 = ใบพืชแสดงอาการของโรค 51-75% ของพื้นที่ใบ หรือพบอาการเนื้อเยื่อตาย แผลขยายลุกลามและใบไหม้

5 = ใบพืชแสดงอาการของโรค 76-100% ของพื้นที่ใบ หรือพบอาการใบร่วง ต้นตาย

นำค่าระดับความรุนแรงที่ประเมินได้มาคำนวณหาดัชนีความรุนแรงของโรค จากสูตร

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease Severity Index, DSI)} = \left(\frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนใบพืชแต่ละระดับอาการ x คะแนนของระดับอาการ)}}{\text{จำนวนใบพืชที่ทดสอบทั้งหมด x คะแนนสูงสุดของระดับอาการ}} \right) \times 100$$

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

ประเมินความรุนแรงของโรคก่อนพ่นชีวภัณฑ์ทุกครั้ง

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 - กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาสารพา *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า

จากการศึกษาชนิดของสารพาที่เหมาะสมของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า จำนวน 7 กรรมวิธี พบว่ากรรมวิธีที่ 1 การใช้เกาลิน (Kaolin) เป็นสารพานั้น มีปริมาณแบคทีเรียสูง เหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 รูปแบบสูตรผงพร้อมใช้ สำหรับการศึกษาความสามารถในการละลายน้ำของชีวภัณฑ์สูตรต่างๆ พบว่าชีวภัณฑ์สูตรที่ใช้เกาลินเป็นสารพาสามารถละลายน้ำได้ดี ส่วนการศึกษาลักษณะการตกตะกอนของชีวภัณฑ์สูตรต่างๆ พบว่าชีวภัณฑ์สูตรที่ใช้เกาลินเป็นสารพามีการแขวนลอยในน้ำได้

นานตกตะกอนช้า ซึ่งตกตะกอนหมดภายในระยะเวลา 30-60 นาที (Figure 1) ซึ่งสอดคล้องกับกาญจนาและคณะ (2564) โดยทำการศึกษาสารพาของแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลท BVS-37 จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ทาลคัม (Talcum) และเกาลิน (Kaolin) เพื่อควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *Cattleyae* พบว่าชีวภัณฑ์สูตร Kaolin, Kaolin+Potassium humate, Kaolin+amino acid และ Kaolin+Potassium humate+amino acid ละลายน้ำภายใน 5 นาที และเริ่มตกตะกอนหมดภายใน 30-60 นาที

2. การตรวจสอบความอยู่รอด (shelf life) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิในตู้เย็นตามระยะเวลาต่าง ๆ

จากการตรวจสอบความอยู่รอดของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ในการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่พัฒนาเป็นสูตรพร้อมใช้รูปแบบผงโดยเลือกสูตรที่ใช้เกาลินเป็นสารพา เนื่องจากมีปริมาณแบคทีเรียสูงและมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีเหมาะสำหรับนำไปฉีดพ่นเพื่อควบคุมโรคทางใบ ซึ่งตรวจสอบความอยู่รอดโดยการเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้อง (28±2 องศาเซลเซียส) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 4-15 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่าการเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 เดือน มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ 1.65×10^{8} โคโลนี/กรัม ส่วนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิในตู้เย็นเป็นระยะเวลา 8 เดือน มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ 2.00×10^{8} โคโลนี/กรัม แต่เมื่อเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้องต่อเป็นระยะเวลา 8 เดือนเป็นต้นไป และเก็บรักษาที่อุณหภูมิในตู้เย็นต่อเป็นระยะเวลา 9 เดือนเป็นต้นไป พบว่าปริมาณแบคทีเรียลดลงต่ำกว่า 10^{8} โคโลนี/กรัม (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับ รุ่งนภา และคณะ (2564) พัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA24 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากแบคทีเรียโดยผสมกับสารตัวพาต่าง ๆ พบว่าการใช้เกาลินผสมกรดอะมิโนเป็นสารตัวพามีความเหมาะสมที่สุด มีปริมาณแบคทีเรีย 4.5×10^{12} โคโลนี/กรัม และสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิในตู้เย็นเป็นระยะเวลา 12 เดือน ส่วนชีวภัณฑ์ที่ใช้เกาลินเป็นสารตัวพา มีปริมาณแบคทีเรีย 4.5×10^{10} โคโลนี/กรัม และสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิในตู้เย็นเป็นระยะเวลา 6 เดือน กฤติเดช และดุสิต (2559) ศึกษาการเก็บรักษาชีวภัณฑ์จากแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ TU-Orga1 ที่สภาพอุณหภูมิห้อง (28-33 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 และ 24 เดือน พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ 10^{12} และ 10^{10} โคโลนี/กรัม ตามลำดับ

3. ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์สูตรผงในสภาพแปลงทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมในการควบคุมโรคเน่าดำคะน้าในสภาพแปลงทดลอง โดยทำการทดลองที่ตำบลหนองตากยา อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี พ่นชีวภัณฑ์ตามกรรมวิธีทดลองให้ทั่วต้นทุก 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง และประเมินความรุนแรงการเกิดโรคก่อนพ่นชีวภัณฑ์ทุกครั้ง โดยสุ่มต้นคะน้าจำนวน 15 ต้น/แปลงทดลองย่อย ประเมินการเกิดโรคจำนวน 4 ใบ/ต้น จากผลการทดลองหลังพ่นชีวภัณฑ์ตามกรรมวิธีทดลองครั้งที่ 4 เป็นเวลา 7 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีในการพ่นสารทดลอง มีดัชนีความรุนแรงของโรคเน่าดำต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย

Xcc 1 วัน (กรรมวิธีควบคุม) นอกจากนั้นยังพบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ก่อนปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน มีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 43.67 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยชีวภัณฑ์อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ก่อนปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน กรรมวิธีที่พ่นด้วยชีวภัณฑ์อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน กรรมวิธีที่พ่นด้วยชีวภัณฑ์อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน และกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน (กรรมวิธีควบคุม) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 53.33, 53.00, 50.00 และ 69.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่มีดัชนีความรุนแรงของโรคสูงกว่าและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสาร zinc thiazole 20% W/V SC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 40.17 เปอร์เซ็นต์ (Table 2, Figure 2) ซึ่งสอดคล้องกับ กาญจนาและคณะ (2564) ศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ไอโซเลท BVR-37 ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้พันธุ์แวนด้าที่เกิดจากแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าการพ่นด้วยชีวภัณฑ์อัตรา 120 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคใบจุดสีน้ำตาลน้อยที่สุดเท่ากับ 31.03 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการพ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม) ซึ่งมีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคสูงสุดเท่ากับ 39.10 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B10 เพื่อควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า โดยการศึกษาชนิดของสารพาที่เหมาะสม จำนวน 7 กรรมวิธี พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เกาลิน (kaolin) เป็นสารพานั้น มีปริมาณแบคทีเรียสูง สามารถละลายน้ำได้ดี มีการแขวนลอยในน้ำได้นาน ตกตะกอนช้า ซึ่งตกตะกอนหมดภายใน 30-60 นาที เหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 รูปแบบผงสูตรพร้อมใช้ เมื่อตรวจสอบความอยู่รอดของชีวภัณฑ์ที่พัฒนาเป็นสูตรพร้อมใช้รูปแบบผง โดยเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือน สามารถเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 7 เดือน และสามารถเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิในตู้เย็น ได้นาน 8 เดือน สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์สูตรผงในสภาพแปลงทดลอง กรรมวิธีที่พ่นด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรก่อนปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน มีดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์และกรรมวิธีที่พ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน (กรรมวิธีควบคุม) แต่มีดัชนีความรุนแรงของโรคสูงกว่าและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสาร zinc thiazole 20% W/V SC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xcc 1 วัน (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

เอกสารอ้างอิง

กฤติเดช อนันต์ และดุสิต อธินุวัฒน์. 2559. การพัฒนาชีวภัณฑ์ จาก *Bacillus subtilis* TU-Orga1 เพื่อควบคุมโรคที่สำคัญของผักคะน้า. *ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 24(5): 793-812.

กาญจนา ศรีไม้ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ ดารุณี ปุญญพิทักษ์ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* แบบผงเพื่อควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *Cattleyae* หน้า 844-864 *ใน : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2564*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2557. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum*. *วารสารกรมวิชาการเกษตร*. 32(3): 234-251.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล อรพรรณ วิเศษสังข์ และทัศนาพร ทัศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. หน้า 507-525. *ใน : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2547*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

นิตยา สุขทวี. 2549. *การโคลนยีนไคติเนสจากเชื้อ Bacillus spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 98 หน้า.

นิพนธ์ ทวีชัย. 2553. *โรคแบคทีเรียของพืชและการจัดการโรค*. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม กรุงเทพฯ. 291 หน้า.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล สุรีย์พร บัวอาจ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และรสสุคนธ์ รุ่งแจ้ง. 2555.ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์จากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ 20W1 ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola*. *วารสารวิชาการเกษตร*. 35 (1): 1-13.

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2554. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุม *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในพริก. *วารสารโรคพืช*. 25: 70-78.

พงศธร ปรโลกานนท์ ดุสิต อธินุวัฒน์ และจตุพร บุณณดากุล. 2561. ชีวภัณฑ์อารักขาพืชสูตรใหม่ชนิดผงผสมน้ำที่ผลิตระดับอุตสาหกรรม เพื่อใช้ควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวภายใต้สภาพแปลงเกษตรขนาดใหญ่. *Thai Journal of Science and Technology*. 7(5): 491-515.

รุ่งนภา ทองเครั่ง ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ กาญจนา ศรีไม้ ทิพวรรณ กันหาญาติ และอรทัย วงศ์เมธา 2564. การพัฒนาชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* และวิธีการใช้เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากแบคทีเรีย. หน้า 807-829. *ใน : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2564* กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

El-Hassan, S.A. and S.R. Gowen. 2006. Formulation and delivery of the bacterial antagonist *Bacillus subtilis* for management of lentil vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*. *J. Phytopath*. 154: 148-155.

Henz, G. P. and P. E. Melo. 1994. Resistência de cultivares de repolho *à Xanthomonas campestris* pv. *campestris. Pesqui Agropecu Bras* 29:411–415.

Issazadeh, K., S.K. Rad, S. Zarrabi and M.R. Rahimibashar. 2012. Antagonism of *Bacillus* species against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. *African Journal of Microbiology Research*. 6(7): 1615-1620.

Kim, B.R., M.S. Park, K.S. Han, S.S. Hahm, I. Park, H. Song and J. Kyeong. 2018. Biological control using *Bacillus toyonensis* strain CAB12243-2 against soft rot on Chinese cabbage. *Korean Journal of Organic Agriculture*. 26(1): 129-140.

Prathuangwong, S. 2016. Biological Pest Management as Alternative and Supplemented-Pesticide Use in IPM Program. Pages 8-26. *In : Con. Proc. ASEAN+6 Organic Agriculture Forum 2016 Sustainable Agriculture*. June 28-30, 2016. The Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai, Thailand.

Vicente, J.G. and E.B. Holub. 2013. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops. *Molecular Plant Pathology*. 14(1): 2–18.

Table 1 Shelf life of *Bacillus subtilis* strain B10 formulations (kaolin) after storage at various temperatures

Months	Cell concentration (cfu/g)	
	Refrigerator temperature of 4-15 °C	Room temperature of 28±2 °C
1	$3.80x10^9$	$3.65x10^9$
2	$3.75x10^9$	$3.42x10^9$
3	$3.40x10^9$	$2.20x10^9$
4	$2.80x10^9$	$1.60x10^9$
5	$2.35x10^9$	$1.35x10^9$
6	$2.10x10^9$	$2.80x10^8$
7	$2.40x10^8$	$1.65x10^8$
8	$2.10x10^8$	$2.35x10^7$
9	$2.30x10^7$	$1.50x10^7$
10	$1.50x10^7$	$2.60x10^6$
11	$2.40x10^6$	$1.30x10^6$
12	$1.20x10^6$	$2.60x10^5$

Table 2 Efficacy of the bioproduct of *Bacillus subtilis* strain B10 in controlling black rot disease in kale experimental field conditions in Tha Muang district, Kanchanaburi province

Treatment	Disease Index, DI (%)[1/]				
	Before spraying				After spraying 7 days
	1st	2 nd	3 rd	4 th	
1. B10 at a rate of 50 g./ 20 L. of water (1 day before inoculation)	33.50 a	39.17 b	41.67 b	43.33 b	53.33 b
2. B10 at a rate of 100 g./ 20 L. of water (1 day before inoculation)	30.25 a	34.30 a	38.34 a	40.17 a	43.67 a
3. B10 at a rate of 50 g./ 20 L. of water (1 day after inoculation)	33.30 a	41.60 b	45.50 c	50.84 c	53.00 b
4. B10 at a rate of 100 g./ 20 L. of water (1 day after inoculation)	31.10 a	34.67 a	39.30 b	44.00 b	50.00 b
5. zinc thiazole 20% W/V SC at a rate of 60 ml./ 20 L. of water (1 day after inoculation)	32.20 a	32.83 a	36.33 a	38.17 a	40.17 a
6 water (control)	32.20 a	55.83 c	53.33 d	64.17 d	69.17 c
C.V. (%)	**7.17**	**10.27**	**8.47**	**4.63**	**4.15**

[1/] Column means not followed by the same letter are significantly different at the level of 95% by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

Figure 1 Formulation development of the bioproduct of *Bacillus subtilis* strain B10

Figure 2 The efficacy of the bioproduct of *Bacillus subtilis* strain B10 in controlling black rot disease caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* was tested on kale at Tha Muang District, Kanchanaburi Province

พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. เพื่อควบคุมโรคราแป้งพืชตระกูลแตง

Development of Formulation and Application of *Bacillus* spp. bioagents for Controlling Powdery mildew in Cucurbitaceae

ทัศนาพร ทัศคร รุ่งนภา ทองเครื่ง มะลิดา ชูรินทร์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The research was carried out on mask melon (Cucumis melo linn. var. reticulatus.) to evaluate the efficacy of the biological product development and the platform use of four effective *Bacillus* spp. strains for controlling powdery mildew of cucurbits. The selectively effective *Bacillus* spp. strains to control melon powdery mildew included DPD05 DPD24 AS012 and AS013. The bacterial identification showed that AS012 AS013 and DPD24 were *B. subtilis* and DPD05 was *B. pumilus*, respectively. An increased quantity of four bacterial count was study prior to dry bio-product formulation on six culture agar media which were NA NGA PSA PDA MHA and LBA, and six nutrient broth media which were NB NGB PSB PDB MHB and LB. For standard plate count on each agar media formulation, the results showed the highest total viable bacterial on three agar media which were PSA NGA and PDA, respectively. For standard plate count on each nutrient broth formulation, the results showed the highest total viable bacterial on four nutrient broth which were PDB LB NGB and PSB, respectively. Effects of storage temperature for bio-product powders at 4-8°C and 28-30°C were compared, the results showed that storage quality at 4-8°C showed more effective than those stored at 28-30°C for which bacterial count was slightly decreased from initial bacterial count. The efficacy testing for controlling mask melon powdery mildew under greenhouse condition was conducted by *B. subtilis* bio-products obtained from three bacterial strains which were DPD24 AS012 and AS013. The experiment was divided into two media groups. Group 1 was agar media including NGA and PSA. Group 2 was nutrient broth media including NGB and PSB.

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-06-65

We demonstrated the spray treatment of bio-products at 50 and 100 grams per 20 liter water ratio compared to water spray when the powdery mildew disease of melon was observed. The spray was done for 5 days at 4 times, the results showed that the spraying treatment with *B. subtilis* AS013 strain on NGA formula media at 50 and 100 per 20 liter of water, demonstrated the efficacy for controlling powdery mildew with disease incidence at 3.8 and 5.9 percent compared to that of water spraying treatment which disease incidence at 33.04 percent. In group 2, the spraying of *B. subtilis* AS013 strain from NGB formula at 50 and 100 gram per 20 liter of water, the results showed the efficacy for controlling powdery mildew as well which has the disease incidence at 25.2 and 31.0 percent, compared to that of water spraying with the disease incidence at 54.5 percent. Moreover, metabolite bio-product powder of three *B. subtilis* strains has been developed on nutrient broth formula NGB PSB and PDB by (type A) metabolite filtration method, and by none-filtration metabolites method (type B), the results showed that metabolite bio-product powder of three *B. subtilis* strains derived from none-metabolite filtration, all treatments showed more effective than metabolite-filtration treatment. For disease severity assessment before the 5th spraying, the results showed that metabolite bio-product sprayed treatment with *B. subtilis* AS013 strain on PDB formula media at 50 and 100 grams per 20 liter of water, demonstrated the disease incidence at 35.50 percent. For *B. subtilis* DPD24 strain, the results showed that metabolite bio-product spraying treatment on PSB at 50 gram per 20 liter water, the disease incidence was at 4.93 percent which was significantly different from water spraying treatment which has disease incidence at 35.80 percent.

Keywords : Powdery mildew disease, biological product, *Bacillus subtilis*, Mask melon

บทคัดย่อ

ในการพัฒนาการผลิตชีวภัณฑ์และรูปแบบการใช้ *Bacillus* spp. 4 สายพันธุ์ ได้แก่ DPD05 DPD24 AS012 และ AS013 ที่คัดเลือกได้ว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราแป้งพืชตระกูลแตง โดยได้จำแนกชนิดของแบคทีเรียพบว่า สายพันธุ์ AS012 AS013 และ DPD24 เป็น *B. subtilis* ส่วนสายพันธุ์ DPD05 พบว่า เป็น *B. pumilus* และได้ศึกษาการเพิ่มปริมาณเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ ก่อนนำไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผง บนสูตรอาหารแข็ง 6 สูตร ได้แก่ NA NGA PSA PDA MHA LBA และสูตรอาหารเหลว 6 สูตร ได้แก่ NB NGB PSB PDB MHB LB เมื่อตรวจนับปริมาณเชื้อในชีวภัณฑ์ผงแต่ละ

สูตรอาหาร พบว่า สูตรอาหารแข็งที่มีปริมาณเชื้อมากที่สุด คือ PSA NGA และ PDA ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารเหลวที่มีปริมาณเชื้อมากที่สุด คือ PDB LB NGB และ PSB ตามลำดับ จากการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ผงแต่ละสายพันธุ์เป็นเวลา 12 เดือน พบว่า ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาคุณภาพของชีวภัณฑ์ผงได้ดีกว่าที่ 28-30 องศาเซลเซียส ซึ่งพบมีปริมาณเชื้อลดลงเล็กน้อยจากปริมาณเชื้อเริ่มต้น จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราแป้งแตงเมล่อนในสภาพโรงเรือน โดยนำชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ DPD24 AS012 และ AS013 มาทำการทดสอบ แบ่งชุดทดสอบที่ 1 เป็นสูตรอาหารแข็ง คือ NGA และ PSA และชุดทดสอบที่ 2 เป็นสูตรอาหารเหลว คือ NGB และ PSB พ่นที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร เปรียบเทียบกับวิธีการพ่นน้ำเปล่า โดยเริ่มทำการพ่นเมื่อพบการระบาดของโรคราแป้ง พ่นซ้ำทุก 5 วัน จำนวน 4 ครั้ง ผลการทดลอง พบว่า ในวิธีการพ่นชีวภัณฑ์ผง *B.subtilis* สายพันธุ์ AS013 สูตรอาหาร NGA ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดีสามารถควบคุมโรคราแป้งได้ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 3.8 และ 5.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีพ่นน้ำเปล่า ซึ่งพบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 33.04 เปอร์เซ็นต์ ในชุดทดสอบที่ 2 พบว่า การพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS013 จากสูตร NGB ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดีสามารถควบคุมโรคราแป้งได้เช่นเดียวกัน พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 25.2 และ 31.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีพ่นน้ำเปล่าซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 54.5 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังได้ทำการพัฒนาชีวภัณฑ์ผงจากสารเมตาบอไลท์ของ *B. subtilis* 3 สายพันธุ์ จากสูตรอาหารเหลว NGB PSB และ PDB โดยมีวิธีการกรองสารเมตาบอไลท์ (แบบ A) และไม่กรองสารเมตาบอไลท์ (แบบ B) พบว่า ชีวภัณฑ์ผงจากสารเมตาบอไลท์ของ *B. subtilis* 3 สายพันธุ์ โดยวิธีไม่กรองสารเมตาบอไลท์ ในทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราแป้งแตงได้ดีกว่าวิธีการกรองสารเมตาบอไลท์ ซึ่งในการประเมินโรคก่อนพ่นครั้งที่ 5 พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์ *B. subtilis* สายพันธุ์ AS013 สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 5.40 และ 1.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีเปรียบเทียบพ่นน้ำเปล่า พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 35.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *B. subtilis* สายพันธุ์ DPD24 พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PSB อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 4.93 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีเปรียบเทียบพ่นน้ำเปล่า พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 35.80 เปอร์เซ็นต์

คำหลัก : โรคราแป้ง, ชีวภัณฑ์, บาซิลลัส ซับทิลลิส, เมล่อน

คำนำ

ในการจัดการโรคราแป้งพืชตระกูลแตงให้มีประสิทธิภาพนั้น ต้องมีการประเมินและเฝ้าระวังการเกิดโรคซึ่งแต่ละเชื้อสาเหตุก็ใช้วิธีการจัดการโรคที่คล้ายคลึงกัน ในต่างประเทศได้รายงานว่าการจัดการโรคแบบผสมผสานหรือการใช้หลายวิธีร่วมกันจะมีประสิทธิภาพมากที่สุด ได้แก่ วิธีการเขตกรรม เช่น การใช้พันธุ์ต้านทานโรค ระบบการให้น้ำ การใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช (Fungicides) เช่น ซัลเฟอร์ คอปเปอร์ เป็นต้น ซึ่งพบว่าสามารถป้องกันกำจัดโรคได้ดีและมีการนำมาใช้ร่วมกับสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการผลิตแตงอินทรีย์ (Hector *et al*, 2014) ในงานวิจัยการป้องกันกำจัดโรคราแป้งโดยชีววิธีนั้น ด้วยการใช้ความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการเจริญครอบครองพื้นที่ผิวพืชให้ได้อย่างรวดเร็ว ก่อนที่สปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคราแป้งจะเข้าทำลายพืช ซึ่งในโรคราแป้งพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคจะเข้าทำลายพืชภายใน 72 ชั่วโมง หลังจากที่สปอร์ตกลงบนผิวพืช ดังนั้น ในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค หรือลดการระบาดของโรคราแป้งได้ดีจึงต้องการเชื้อปฏิปักษ์ที่มีการเจริญที่รวดเร็วและสามารถครอบครองพื้นผิวพืชได้ดีกว่าเชื้อสาเหตุโรค จากรายงานต่างประเทศ พบว่ามีการศึกษาวิจัยใช้เชื้อรา *Ampelomyces quisquaris* ในการควบคุมเชื้อรา *E. cichoracearum, P. xanthii* สาเหตุโรคราแป้งในแตงกวาและเมล่อน (Sundheim, 1982) หรือการใช้ *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมเชื้อรา *P. xanthii* สาเหตุโรคราแป้งในแตงกวา (Elad, 2000 ; Elad *et al,* 1998) หรือการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมเชื้อรา *P. xanthii* ในพืชตระกูลแตง (Romero *et al,* 2004) นอกจากนี้ Wagner *et al* (1997) ได้ทดสอบสารเมตาบอไลท์ของเชื้อ *Bacillus subtilis* ก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค พบว่า สามารถลดการโรคราแป้งบนใบแตงกวาได้ 90-99 เปอร์เซ็นต์ ในห้องปฏิบัติการ และเมื่อทำการพ่นด้วย WPB (10%) และ CMB (10%) ของเชื้อแบคทีเรีย บนต้นแตงกวา ที่อัตรา 1,000 และ 10,000 ไมโครกรัม/มิลิลิตร จำนวน 2 ครั้งต่ออาทิตย์ ตลอดอายุพืช ที่ 18 วันหลังการพ่นครั้งแรก พบว่าในวิธีการพ่นเชื้อแบคทีเรีย WPB (10%) สามารถยับยั้งการเกิดแผลที่ใบได้ 26.1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในวิธีการพ่นเชื้อแบคทีเรีย CMB (10%) ไม่พบการเกิดแผลบนใบพืช เมื่อเปรียบกับวิธีการไม่พ่นเชื้อพบการเกิดโรค 99.0 และ 46.7 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาของ ทัศนาพร และคณะ (2564) ได้สำรวจ สุ่มเก็บตัวอย่างใบและต้นพืชตระกูลแตงชนิดต่างๆ ในปี 2562 เพื่อแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จำนวนทั้งหมด 30 ตัวอย่าง ได้นำตัวอย่างใบแตงที่เก็บมาได้จากแต่ละพื้นที่ มาแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ด้วยวิธี tissue transplanting และ Leaf wash technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ NGA ในห้องปฏิบัติการ สามารถแยกได้เชื้อราและแบคทีเรีย รวมทั้งหมด 213 ไอโซเลท ในปี 2563 ได้ทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมการเกิดโรคราแป้งแตงเมล่อน 2 พันธุ์ ในสภาพโรงเรือน พบว่า ในพันธุ์ โกลเด้น สวีท นั้นสามารถคัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคราแป้งได้ คือ ไอโซเลท DPD3 และ DPD5 พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้งเฉลี่ย 0.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธี DPD25, DPD24 และ DPD9 พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิด

โรคราแป้งเฉลี่ย 1.6, 3.0 และ 4.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนผลการทดลองในพันธุ์ มรกต สามารถคัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคราแป้ง คือ ไอโซเลท DPD14 และ DPD23 พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้งเฉลี่ย 0.1 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธี DPD22, DPD15 และ DPD11 พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้งเฉลี่ย 1.3, 2.4 และ 8.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในปี 2564 ได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ DPD3, DPD5, DPD25, DPD24, DPD9, DPD14, DPD23, DPD22, DPD15 และ DPD11 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราแป้งในแตงเมล่อนในสภาพโรงเรือนทดลองเพื่อคัดเลือกอีกครั้ง โดยพ่นสารละลายแขวนลอยแบคทีเรียแต่ละไอโซเลท ทุก 5 วัน จำนวน 4 ครั้ง ผลการทดลอง พบว่า ที่ 5 วัน หลังการพ่นเชื้อครั้งสุดท้าย เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคราแป้งในแตงเมล่อนได้ดีที่สุด มี 4 ไอโซเลท คือ DPD 3, DPD 5, DPD 22, และ DPD 24 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้งเฉลี่ย 24.19 , 33.49, 34.19 และ 34.41 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้งเฉลี่ย 78.19 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้น วัตถุประสงค์ในการการศึกษาครั้งนี้ เพื่อวิจัยและพัฒนาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคราแป้ง เป็นชีวภัณฑ์ผงเชื้อสำเร็จรูป ซึ่งในการผลิตเป็นผงชีวภัณฑ์นั้น ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นที่จะนำไปผลิตมีความสำคัญ ซึ่งต้องมีปริมาณของเชื้อมากเพียงพอ ในการนำไปใช้และมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค และการมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียก็เป็นเรื่องสำคัญในการเก็บรักษาผงเชื้อให้มีสภาพ เพื่อนำไปใช้ในทดสอบการป้องกันกำจัดโรคในสภาพโรงเรือนทดลองต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ไอโซเลท DPD24 AS012 AS013 และ *B.* pumilus ไอโซเลท DPD05
2. พืชตระกูลแตง
3. ผงทัลคัม
4. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ
5. อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ flask
6. ถาดอะลูมิเนียม แผ่นฟอยล์
7. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หมอนึ่งความดันไอน้ำ เครื่องเขย่า ตู้อบลมร้อน ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ

วิธีการ

1. การพัฒนาชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp.

1.1 ศึกษาการเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp.บนอาหารแข็ง

เชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นไอโซเลทที่ได้คัดเลือกแล้วว่ามีศักยภาพในการควบคุมโรคราแป้งแตง 2 ไอโซเลท และเป็นไอโซเลทอื่นที่ได้จากการทดลองแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในหน่อไม้ฝรั่ง 2 ไอโซเลท รวมเป็น 4 ไอโซเลท โดยทำการเปรียบเทียบการเจริญและเพิ่มปริมาณบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสูตรต่างๆ เช่น PDA, NGA, PSA, NA, MH agar และ LB agar เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง และนำเชื้อที่ได้ไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผง ตามวิธีการของ ณัฏฐิมา และคณะ (2556) โดยการเติมสารละลาย magnesium sulfate (0.1 M) 10 มล.ต่อจานเลี้ยงเชื้อ กวาดเซลล์แบคทีเรียบนผิวอาหารให้ผสมในสารละลายจากนั้นนำไปผสมกับ methylcellulose 2.5% ในน้ำ ในปริมาตรที่เท่ากัน พักไว้ 20 นาที จึงผสมกับสารพาผง talc ที่นึ่งฆ่าเชื้อในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผสมให้เข้ากันดี นำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม บดให้เป็นผงละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 35 mesh เก็บไว้ถุงพลาสติกเพื่อการศึกษาต่อไป

1.2 ศึกษาการเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp.บนอาหารเหลว

ดำเนินการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 4 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตามข้อ 1.1. จากนั้นเปรียบเทียบการเจริญและเพิ่มปริมาณบนอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสูตรต่างๆ เช่น PDB, NGB, PSB, NB, MH broth และ LB liquid โดยใช้ลูปแตะเชื้อแต่ละไอโซเลท 1 ลูปใส่ลงใน flask ที่มีอาหารเหลวแต่ละสูตร ปริมาตร 200 มล. เขย่าที่ 150 rpm. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำเชื้อที่ได้ไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผง ตามวิธีการของ ณัฏฐิมา และคณะ (2556) ผสม carboxymethylcellulose 10 กรัมกับผง talc 1 กิโลกรัม นำส่วนผสมไปนึ่งฆ่าเชื้อนาน 30 นาที 2 วัน ติดต่อกันวันละครั้ง จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปริมาตร 400 มล. เทลงในส่วนผสมของผง talc และ carboxymethylcellulose 1 กิโลกรัม ผสมให้เข้ากันดีในสภาพปลอดเชื้อ เก็บไว้ถุงพลาสติกเพื่อการศึกษาต่อไป

1.3 การตรวจเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่ผลิตได้

โดยนำผงเชื้อ 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณเชื้อ *Bacillus spp.* ด้วยวิธี dilution plating บนอาหาร NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน แล้วตรวจนับเชื้อ *Bacillus spp.* ที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร

1.4 การตรวจเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

ทดสอบความอยู่รอดของเชื้อ *Bacillus spp.* และระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ของหัวเชื้อที่ผลิตได้ โดยทดสอบ 2 ระดับอุณหภูมิ ได้แก่ อุณหภูมิห้องที่ 28-30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส ทดสอบระยะเวลาในการเก็บรักษา 1-6 เดือน ทำการตรวจนับปริมาณตรวจนับเชื้อ *Bacillus spp.* ทุกเดือน

2. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp.ในการควบคุมโรคราแป้งแตงเมล่อนในสภาพโรงเรือนทดลอง

<u>ชุดทดสอบที่ 1</u>

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. จากสูตรอาหารแข็ง NGA

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น จำนวน 7 กรรมวิธี กรรมวิธีชีวภัณฑ์ผงจากอาหารแข็ง 6 สูตรดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 DPD024 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 DPD024 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 AS012 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 AS012 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 AS013 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 AS013 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 น้ำเปล่า

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. จากสูตรอาหารแข็ง PSA

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น จำนวน 7 กรรมวิธี กรรมวิธีชีวภัณฑ์ผงจากอาหารแข็ง 6 สูตรดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 DPD024 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 DPD024 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 AS012 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 AS012 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 AS013 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 AS013 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 น้ำเปล่า

1 ย้ายกล้าแตงเมล่อน พันธุ์ กรีน เนท ลงปลูกในกระถาง จำนวน 5 ต้นต่อกระถาง เมื่อพืชอายุ 10 วัน หลังย้ายกล้า จึงเริ่มดำเนินการทดสอบ โดยตรวจประเมินการเกิดโรคราแป้งในแต่ละต้นในกระถาง เมื่อเริ่มพบโรคราแป้งมีการระบาดที่สม่ำเสมอจึงทำการพ่นชีวภัณฑ์ผงตามกรรมวิธีที่วางไว้

2 ทำการพ่นชีวภัณฑ์ผงตามกรรมวิธีให้ทั่วทั้งต้น พ่นทุก 5 วัน อย่างน้อย 4 ครั้ง ก่อนทำการพ่นเชื้อทุกครั้ง ประเมินการเกิดโรคราแป้ง โดยประเมินโรคราแป้งทุกใบในการพ่นครั้งแรก และในครั้งต่อไปให้ทำการประเมินใบที่ 5 จากโคนต้นขึ้นไป โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า แบ่งระดับการประเมินโรคเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้ง ดังนี้

ระดับ 1 = ใบไม่แสดงอาการของโรคราแป้ง
ระดับ 2 = แสดงอาการของโรคราแป้ง 1 – 20 % ของพื้นที่ใบ
ระดับ 3 = ใบแสดงอาการของโรคราแป้ง 21 – 40 % ของพื้นที่ใบ
ระดับ 4 = ใบแสดงอาการของโรคราแป้ง 41 – 60 % ของพื้นที่ใบ
ระดับ 5 = ใบแสดงอาการของโรคราแป้ง 61 – 80 % ของพื้นที่ใบ
ระดับ 6 = ใบแสดงอาการของโรคราแป้ง 81 – 100 % ของพื้นที่ใบ

3 บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ใบในแต่ละต้น และในแต่ละกรรมวิธี จากนั้นนำค่าที่ได้ในมาหาค่าเฉลี่ยต่อต้น ต่อซ้ำเพื่อนำผลการทดลองที่ได้ไปวิเคราะห์ผลการทดลองต่อไป

ชุดทดสอบที่ 2

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. จากสูตรอาหารเหลว NGB

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำๆละ 5 ต้น จำนวน 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 DPD024 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 DPD024 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 AS012 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 AS012 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 AS013 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 AS013 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 น้ำเปล่า

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. จากสูตรอาหารเหลว PSB

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำๆละ 5 ต้น จำนวน 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 DPD024 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 DPD024 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 AS012 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 AS012 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 AS013 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 AS013 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 น้ำเปล่า

1 เตรียมปลูกพืชทดสอบลงในกระถาง จำนวน 5 ต้นต่อกระถาง เมื่อเริ่มพบการระบาดของโรคราแป้งจึงเริ่มดำเนินการทดสอบ ตามแผนที่วางไว้

2 ทำการพ่นชีวภัณฑ์ผงตามกรรมวิธีที่วางไว้ทุก 5 วัน อย่างน้อย 4 ครั้ง ก่อนทำการพ่นเชื้อ้ แต่ละครั้งให้ประเมินความรุนแรงของโรคราแป้งที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า โดยให้ค่าระดับคะแนน ดังนี้

ระดับ 1 = ไม่แสดงอาการของโรคราแป้ง

ระดับ 2 = แสดงอาการของโรคราแป้ง 1 – 20 % ของพื้นที่ใบทั้งต้น

ระดับ 3 = แสดงอาการของโรคราแป้ง 21 – 40 % ของพื้นที่ใบทั้งต้น

ระดับ 4 = แสดงอาการของโรคราแป้ง 41 – 60 % ของพื้นที่ใบทั้งต้น

ระดับ 5 = แสดงอาการของโรคราแป้ง 61 – 80 % ของพื้นที่ใบทั้งต้น

ระดับ 6 = แสดงอาการของโรคราแป้ง 81 – 100 % ของพื้นที่ใบทั้งต้น

3. บันทึกข้อมูลการเกิดโรคในแต่ละกรรมวิธีและนำค่าระดับการเกิดโรคที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

3..การพัฒนาชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์ของเชื้อ *Bacillus subtilis* จากสูตรอาหารเหลว

3.1 การเตรียมสารเมตาบอไลท์จากเชื้อ *Bacillus subtilis*

เลี้ยงขยายเชื้อ *Bacillus* ***subtilis*** จำนวน 3 สายพันธุ์ได้แก่ DPD24 AS012 และ AS013 บนสูตรอาหารเหลว 3 สูตร คือ สูตร NGB PSB และ PDB โดยใช้ลูปแตะเชื้อแต่ละสายพันธุ์ 1 ลูปใส่ลงใน flask ที่มีอาหารเหลวแต่ละสูตร ปริมาตร 200 มล. และนำไป เขย่าที่ 200 rpm. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน 24 ชั่วโมง และนำมากรองเอาแต่น้ำใสที่เป็นสารเมตาบอไลท์ โดยดัดแปลงตามวิธีของ Wagner และคณะ (1997) เพื่อนำไปเตรียมผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผงต่อไป

3.2 การเตรียมผงชีวภัณฑ์เมตาบอไลท์

นำสารเมตาบอไลท์ที่ได้ จาก 3.1 แต่ละสายพันธุ์และแต่ละสูตรอาหาร มาผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผง โดยมีการผลิต 2 แบบ คือ แบบ A (กรองเอาแต่น้ำใสที่มีสารเมตาบอไลท์) และ แบบ B (ไม่กรองน้ำใส ใช้เซลล์แขวนลอยจากอาหารเหลวแต่ละสูตร) และนำไปผลิตชีวภัณฑ์ ตามขั้นตอนวิธีการผลิตสูตรผง ของ ณัฏฐิมา และคณะ (2554)

4.การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์ ของเชื้อ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคราแป้งแตงเมล่อน.ในสภาพโรงเรือนทดลอง

.นำชีวภัณฑ์ผงที่มีสารเมตาบอไลท์ทั้ง 2 แบบของเชื้อ *Bacillus subtilis* 3 สายพันธุ์ ที่เตรียมได้จากข้อ 3 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราแป้งแตงเมล่อนในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยทำการทดสอบ ดังนี้

<u>ชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์ แบบ A</u>

ชุดการทดลองที่ 1 ชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์ *Bacillus subtilis* DPD24

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น จำนวน 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 DPD24 สูตรอาหาร NGB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 DPD24 สูตรอาหาร NGB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 DPD24 สูตรอาหาร PSB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 DPD24 สูตรอาหาร PSB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 DPD24 สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 DPD24 สูตรอาหาร PDB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 กรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า)

ชุดการทดลองที่ 2 ชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์ *Bacillus subtilis* AS012

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น จำนวน 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 AS012 สูตรอาหาร NGB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 AS012 สูตรอาหาร NGB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 AS012 สูตรอาหาร PSB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 AS012 สูตรอาหาร PSB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 AS012 สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 AS012 สูตรอาหาร PDB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 กรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า)

ชุดการทดลองที่ 3 ชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์ *Bacillus subtilis* AS013

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น จำนวน 7 กรรมวิธี ดังนี้
กรรมวิธีที่ 1 AS013 สูตรอาหาร NGB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 AS013 สูตรอาหาร NGB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 AS013 สูตรอาหาร PSB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 AS013 สูตรอาหาร PSB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 AS013 สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 AS013 สูตรอาหาร PDB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 กรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า)

<u>ชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์ แบบ B</u>

ชุดการทดลองที่ 1 ชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์ *Bacillus subtilis* DPD24

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น จำนวน 7 กรรมวิธี ดังนี้
กรรมวิธีที่ 1 DPD24 สูตรอาหาร NGB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 DPD24 สูตรอาหาร NGB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 DPD24 สูตรอาหาร PSB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 DPD24 สูตรอาหาร PSB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 DPD24 สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 DPD24 สูตรอาหาร PDB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 กรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า)

ชุดการทดลองที่ 2 ชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์ *Bacillus subtilis* AS012

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น จำนวน 7 กรรมวิธี ดังนี้
กรรมวิธีที่ 1 AS012 สูตรอาหาร NGB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 AS012 สูตรอาหาร NGB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 AS012 สูตรอาหาร PSB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 AS012 สูตรอาหาร PSB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 AS012 สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 AS012 สูตรอาหาร PDB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 กรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า)

ชุดการทดลองที่ 3 ชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์ *Bacillus subtilis* AS013

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น จำนวน 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 AS013 สูตรอาหาร NGB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 AS013 สูตรอาหาร NGB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 AS013 สูตรอาหาร PSB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 AS013 สูตรอาหาร PSB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 AS013 สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 AS013 สูตรอาหาร PDB อัตรา 100 กรัม./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 กรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า)

2.2. ย้ายกล้าแตงเมล่อน พันธุ์ กรีน เนท ลงปลูกในกระถาง จำนวน 5 ต้นต่อกระถาง เมื่อพืชอายุ 10 วัน หลังย้ายกล้า จึงเริ่มดำเนินการทดสอบ โดยตรวจประเมินการเกิดโรคราแป้งในแต่ละต้น เมื่อพบโรคราแป้ง มีการระบาดที่สม่ำเสมอ จึงทำการพ่นชีวภัณฑ์ผงตามกรรมวิธีที่วางไว้

2.3. ทำการพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์ตามกรรมวิธีให้ทั่วทั้งต้น พ่นทุก 5 วัน จำนวน 5 ครั้ง ก่อนทำการพ่นเชื้อทุกครั้ง ประเมินการเกิดโรคราแป้ง โดยประเมินโรคราแป้งทุกใบในการพ่นครั้งแรก และในครั้งต่อไปให้ทำการประเมินใบที่ 5 จากโคนต้นขึ้นไป โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า แบ่งระดับการประเมินโรคเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้ง ดังนี้

ระดับ 1 = ไม่แสดงอาการของโรคราแป้ง

ระดับ 2 = แสดงอาการของโรคราแป้ง 1 – 20 % ของพื้นที่ใบทั้งต้น

ระดับ 3 = แสดงอาการของโรคราแป้ง 21 – 40 % ของพื้นที่ใบทั้งต้น

ระดับ 4 = แสดงอาการของโรคราแป้ง 41 – 60 % ของพื้นที่ใบทั้งต้น

ระดับ 5 = แสดงอาการของโรคราแป้ง 61 – 80 % ของพื้นที่ใบทั้งต้น

ระดับ 6 = แสดงอาการของโรคราแป้ง 81 – 100 % ของพื้นที่ใบทั้งต้น

2.4.บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ใบในแต่ละต้น และในแต่ละกรรมวิธีของแต่ละชุดการทดสอบ และนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยต่อต้น ต่อซ้ำ เพื่อนำผลการทดลองที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติต่อไป

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนกันยายน 2565 - เดือน ตุลาคม 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเตรียมชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp.

ในการพัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. เพื่อควบคุมโรคราแป้งพืชตระกูลแตงนั้น ได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดโรคราแป้งในแตงเมล่อน จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ DPD05 และ DPD24 และอีก 2 สายพันธุ์ จาก culture collection ได้แก่ AS012 และ AS013 เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ด้วยคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยชุดทดสอบ API พบว่า สายพันธุ์ DPD05 เป็นเชื้อ *B. pumilus* ส่วนสายพันธุ์ AS012 AS013 และ DPD24 เป็นเชื้อ *B. subtilis*

1.1 ศึกษาการเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp.บนอาหารแข็ง

นำเชื้อ *B. subtilis* 3 สายพันธุ์ และ *B. pumilus* 1 สายพันธุ์ มาเลี้ยงขยายเพื่อเพิ่มปริมาณบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอาหารแข็ง ทั้งหมด 6 สูตร ได้แก่ NA NGA PSA PDA MHA และ LBA และนำเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลท ที่เลี้ยงขยายได้ในแต่ละสูตรอาหาร ไปทำการผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผง โดยดัดแปลงตามวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ของณัฏฐิมา และคณะ (2556) และทำการตรวจเช็คปริมาณเชื้อเริ่มต้น ด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหารแต่ละชนิด ที่ 48 ชั่วโมง พบว่า สูตรอาหารแข็งที่มีปริมาณเชื้อ *B. pumilus* ไอโซเลท DPD05 มากที่สุดคือ สูตรอาหาร NA พบมีปริมาณเชื้อ $1.50X10^{12}$ CFU/ml. รองลงมาคือ สูตรอาหาร PDA พบมีปริมาณเชื้อ $1.02X10^{12}$ CFU/ml. ในเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลท DPD24 AS012 และ AS013 พบว่า สูตรอาหารแข็งที่มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียมากที่สุด คือ สูตรอาหาร PSA พบมีปริมาณเชื้อ $1.55X10^{12}$ $1.94X10^{12}$ และ $9.00X10^{11}$ CFU/ml. ตามลำดับ รองลงมา คือ สูตรอาหาร NGA พบมีปริมาณเชื้อ $8.15X10^{11}$ $8.00X10^{11}$ และ $8.00X10^{11}$ CFU/ml. ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

1.2 ศึกษาการเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp.บนอาหารเหลว

ทำการเลี้ยงขยายเพื่อเพิ่มปริมาณบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอาหารเหลว ทั้งหมด 6 สูตร ได้แก่ NB NGB PSB PDB MHB และ LB และนำเชื้อ Bacillus ทั้ง 4 ไอโซเลท ที่เลี้ยงขยายได้ในแต่ละสูตรอาหารไปทำการผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผง โดยดัดแปลงตามวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ของณัฏฐิมา และคณะ (2554) และทำการตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหารแต่ละชนิด ที่ 48 ชั่วโมง พบว่า สูตรอาหารเหลวที่มีปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *B. pumilus* ไอโซเลท DPD05 มากที่สุดคือ สูตรอาหาร LB พบมีปริมาณเชื้อ $4.83X10^{11}$ CFU/ml. รองลงมาคือ สูตรอาหาร MHB พบมีปริมาณเชื้อ $2.50X10^{10}$ CFU/ml. ในเชื้อ *B.subtilis* ไอโซเลท DPD24 พบสูตรอาหาร PDB มีปริมาณเชื้อมากที่สุด คือ $1.36X10^{12}$ CFU/ml. รองลงมาคือ สูตรอาหาร NGB พบมีปริมาณเชื้อ $1.26X10^{12}$ CFU/ml. ส่วนในเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท AS012 พบสูตรอาหาร NB มีปริมาณเชื้อมากที่สุด คือ $1.54X10^{12}$ CFU/ml. รองลงมาคือ สูตรอาหาร PDB พบมีปริมาณเชื้อ $1.26X10^{12}$ CFU/ml. และในไอโซเลท AS013 พบว่า สูตรอาหารที่มีปริมาณเชื้อ

แบคทีเรียมากที่สุด คือ สูตรอาหาร PDB พบมีปริมาณเชื้อ 1.04X10^{11} CFU/ml. รองลงมา คือ สูตรอาหาร MHB พบมีปริมาณเชื้อ 9.75X10^{10} CFU/ml. ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

1.3 การตรวจปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

ทำการตรวจปริมาณเซลล์แบคทีเรีย Bacillus 4 ไอโซเลท ในชีวภัณฑ์สูตรผง ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4-8 และ 28-30 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 3 เดือน ผลการทดลองพบว่า ชีวภัณฑ์ผงที่ผลิตจากสูตรอาหารแข็งและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส มีปริมาณเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยจากปริมาณเริ่มต้น (ตารางที่ 2) และที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส พบว่า มีปริมาณเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยจากปริมาณเริ่มต้น เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 3) และในชีวภัณฑ์ผงที่ผลิตจากสูตรอาหารเหลวและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส พบว่ามีปริมาณเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยจากปริมาณเริ่มต้น (ตารางที่ 5) และที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส พบว่า มีปริมาณเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยจากปริมาณเริ่มต้นเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 6)

2. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp.ในการควบคุมโรคราแป้งแตงเมล่อนในสภาพโรงเรือนทดลอง

ในปี 2566 ได้ทำการตรวจสอบความอยู่รอดของชีวภัณฑ์ผง จากสูตรอาหารแข็งและสูตรอาหารเหลว *B. subtilis*. 3 สายพันธุ์ และ *B. pumilus* 1 สายพันธุ์ จากการเก็บรักษาชีวภัณฑ์เป็นระยะเวลา 12 เดือน ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส และ 28-30 องศาเซลเซียส พบว่า สูตรอาหารแข็ง NGA และ PSA เป็นสูตรอาหารที่สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *B. pumilus* ได้ดีที่สุด และในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส สามารถ เก็บรักษาเชื้อและพบความมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าที่ อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 7-8) และในชีวภัณฑ์ผงจากสูตรอาหารเหลว พบว่า ลูตรอาหารเหลว PDB LB NGB และ PSB เป็นสูตรอาหารที่สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. pumilus* ได้ดีที่สุด และในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส สามารถ เก็บรักษาเชื้อและพบความมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าที่ อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 9-10)

2.1. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. จากสูตรอาหารแข็ง NGA

ได้ทำการทดสอบในช่วงเดือนพ.ย. 2565 ถึง ม.ค. 2566 จากการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* 3 สายพันธุ์ จากสูตรอาหารแข็ง NGA โดยทำการพ่นทั้งหมด 4 ครั้ง ในการประเมินการเกิดโรคราแป้งแตงเมล่อน หลังพ่นครั้งสุดท้าย พบว่ากรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS013 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดี่ที่สุด สามารถควบคุมโรคราแป้งได้ดีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 3.8 และ 5.9 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS012 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 12.3 และ 9.6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ DPD24 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

เฉลี่ยเท่ากับ 14.9 และ 15.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ซึ่งพบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 33.04 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 11)

2.2. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. จากสูตรอาหารแข็ง PSA

ในการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* 3 สายพันธุ์ จากสูตรอาหารแข็ง PSA โดยทำการพ่นทั้งหมด 4 ครั้ง ในการประเมินการเกิดโรคราแป้งแตงเมล่อน หลังพ่นครั้งสุดท้าย ผลการทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ DPD24 ที่อัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถควบคุมโรคราแป้งแตงเมล่อนได้ดี มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 7.1 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS013 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 10.9 และ 11.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS012 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 12.0 และ 11.7 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ซึ่งพบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 35.0 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12)

2.3. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. จากสูตรอาหารเหลว NGB

ทำการทดสอบในช่วงเดือน พ.ย.ถึงธ.ค.2566 จากการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* 3 สายพันธุ์ จากสูตรอาหารเหลว NGB โดยทำการพ่นทั้งหมด 4 ครั้ง ในการประเมินการเกิดโรคราแป้งแตงเมล่อน หลังพ่นครั้งสุดท้าย ผลการทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS013 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถควบคุมโรคราแป้งแตงเมล่อนได้ดีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 25.2 และ 31.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ DPD24 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 57.6 และ 39.8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS012 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 51.2 และ 68.2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ซึ่งพบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 54.5 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 13)

2.4. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. จากสูตรอาหารเหลว PSB

จากการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* 3 สายพันธุ์ จากสูตรอาหารเหลว PSB โดยทำการพ่นทั้งหมด 4 ครั้ง ในการประเมินการเกิดโรคราแป้งแตงเมล่อน หลังพ่นครั้งสุดท้าย ผลการทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS012 ที่อัตรา 50 ต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถควบคุมโรคราแป้งแตงเมล่อนได้ดีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 28.2 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ DPD24 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 31.0 และ 34.6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS013 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 52.5 และ 40.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ซึ่งพบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 66.5 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 13)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้ พบว่า สูตรผงที่ใช้ผงทัลคัมเป็นสารพาในการผลิตรูปแบบผง ซึ่งจะพบปัญหาว่าผงชีวภัฑ์สามารถละลายน้ำได้เร็ว แต่จะมีการตกตะกอนของผงทัลคัมที่ก้นภาชนะ และเมื่อไปพ่นลงต้นพืช ถ้ามีการพ่นในอัตราที่สูง เช่นในการทดลองนี้ กรรมวิธีพ่นที่ อัตรา 100 กรัมต่อนำ 20 ลิตร ในทุกชีวภัณฑ์ผง เมื่อพ่นเสร็จแล้วพบว่าเป็นคราบสีขาวที่บนใบพืชเมื่อแห้ง แต่ใน อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นั้น ไม่พบปัญหาการเกิดคราบขาวที่บนใบพืช

3..การพัฒนาผงชีวภัณฑ์สารเมตาบอไลท์ของเชื้อ *Bacillus subtilis* จากสูตรอาหารเหลว

3.1 การเตรียมสารเมตาบอไลท์จากเชื้อ *Bacillus subtilis*

เลี้ยงขยายเชื้อ *Bacillus subtilis* จำนวน 3 สายพันธุ์ได้แก่ DPD24 AS012 และ AS013 บนสูตรอาหารเหลว 3 สูตร คือ สูตร NGB PSB และ PDB โดยใช้ลูปแตะเชื้อแต่ละสายพันธุ์ 1 ลูปใส่ลงใน flask ที่มีอาหารเหลวแต่ละสูตร ปริมาตร 200 มล. และนำไป เขย่าที่ 200 rpm. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน 24 ชั่วโมง และนำมากรองเอาแต่น้ำใสที่เป็นสารเมตาบอไลท์ โดยดัดแปลงตามวิธีของ Wagner และคณะ (1997) เพื่อนำไปเตรียมผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผงต่อไป

3.2 การเตรียมผงชีวภัณฑ์เมตาบอไลท์

นำสารเมตาบอไลท์ที่ได้ จาก 3.1 แต่ละสายพันธุ์และแต่ละสูตรอาหาร มาผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผง โดยมีการผลิต 2 แบบ คือ แบบ A (กรองเอาแต่น้ำใสที่มีสารเมตาบอไลท์) และ แบบ B (ไม่กรองน้ำใส ใช้เซลล์แขวนลอยจากอาหารเหลวแต่ละสูตร) และนำไปผลิตชีวภัณฑ์ ตามขั้นตอนวิธีการผลิตสูตรผงของ ณัฏฐิมา และคณะ (2554)

4. การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์ ของเชื้อ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคราแป้งแตงเมล่อน.ในสภาพโรงเรือนทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์เชื้อ *Bacillus subtilis* 2 แบบ จากสูตรอาหารเหลว 3 สูตร ได้แบ่งการทดลอง เป็น 3 ชุดทดสอบ ตามชนิดสายพันธุ์เชื้อ *B. subtilis* ที่ทดสอบ โดยวางแผนการทดลอง CRD 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ทำการพ่นทั้งหมด 5 ครั้ง ทุก 5 วัน ผลการทดลองพบว่า ในการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์เชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ DPD24 แบบ A จากการประเมินโรคก่อนพ่นครั้งที่ 5 พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 9.47 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีเปรียบเทียบพ่นน้ำเปล่า ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 35.45 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีอื่น พบว่า ไม่มีความแตกต่างต่างในแต่ละกรรมวิธี (ตารางที่ 15) และ ในการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์เชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ DPD24 แบบ B ในการประเมินโรคก่อนพ่นครั้งที่ 5 พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PSB อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 4.93 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าไม่มีแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 7.36 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PSB อัตรา 100

กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 8.53 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีเปรียบเทียบพ่นน้ำเปล่า พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 35.80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีอื่น พบว่าไม่มีความแตกต่างต่างในแต่ละกรรมวิธี (ตารางที่ 15)

ในการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์เชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ AS012 แบบ Aจากการประเมินโรคก่อนพ่นครั้งที่ 5 พบว่า ทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์สามารถควบคุมโรคราแป้งได้ดี และ ในกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PDB อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 10.06 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร NGB อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 12.23 และ 12.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ พ่นน้ำเปล่า พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 35.33 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 16) และในการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์เชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ AS012 แบบ B พบว่าทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์สามารถควบคุมโรคราแป้งได้ดี ในการประเมินโรคก่อนพ่นครั้งที่ 5 พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 11.23 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าไม่มีแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร NGB อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรและ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PDB อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 12.16 และ 12.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีเปรียบเทียบพ่นน้ำเปล่า พบ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 30.70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 16)

ในการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์เชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ AS013 แบบ A จากการประเมินโรคก่อนพ่นครั้งที่ 5 พบว่า ทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นชีวภัณฑ์สารเมตาบอไลท์สามารถควบคุมโรคราแป้งได้ดี และกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร NGB อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 18.93 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PDB อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PSB อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 20.41 และ 23.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีเปรียบเทียบพ่นน้ำเปล่า พบ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 33.33 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 17) และในการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์เชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ AS013 แบบ B พบว่า ทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สามารถควบคุมโรคราแป้งได้ดี ในการประเมินโรคก่อนพ่นครั้งที่ 5 พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PDB อัตรา 100 และ 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 1.56 และ 5.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร NGB อัตรา 50 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 12.00 และ 12.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมี

นัยสำคัญกับกรรมวิธีเปรียบเทียบพ่นน้ำเปล่า พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 35.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 17)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 4 สายพันธุ์ ได้แก่ DPD05 DPD24 AS012 และ AS013 บนสูตรอาหารแข็งและสูตรอาหารเหลว เพื่อใช้เตรียมผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผง โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง 6 สูตร ได้แก่ NA NGA PSA PDA MHA และ LBA และอาหารเหลว 6 สูตร ได้แก่ NB NGB PSB PDB MHB และ LB พบว่า สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อทุกสูตร มีความเหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ และสูตรอาหารแข็งที่พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp. ได้มากที่สุด คือ สูตรอาหาร PSA NGA และ PDA และในสูตรอาหารเหลวที่สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp. ได้มากที่สุด คือ สูตรอาหาร PDB LB NGB และ PSB

ทำการจำแนกชนิดเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ด้วยคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยชุดทดสอบ API พบว่า สายพันธุ์ AS012 AS013 และ DPD24 เป็นเชื้อ *B. subtilis* ส่วนสายพันธุ์ DPD05 จำแนกได้เป็นเชื้อ *B. pumilus* ในการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ผงแต่ละสายพันธุ์ เป็นระยะเวลา 12 เดือน ที่อุณหภูมิ 4-8 และ 28-30 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาคุณภาพของชีวภัณฑ์ผงได้ดีกว่าที่ 28-30 องศาเซลเซียส ซึ่งพบมีปริมาณเชื้อลดลงเล็กน้อย ไม่แตกต่างจากปริมาณเชื้อเริ่มต้น ในปี2566ได้นำชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ DPD24 AS012 และ AS013 ที่ผลิตและเก็บรักษาไว้ มาทำการทดสอบการป้องกันกำจัดโรคราแป้งแตงเมล่อนในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยคัดเลือกสูตรอาหารที่มีปริมาณเชื้อสูงสุดมาใช้ในการทดสอบ ชุดทดสอบที่ 1 สูตรอาหารแข็ง คือ NGA และ PSA ชุดทดสอบที่ 2 สูตรอาหารเหลว คือ NGB และ PSB โดยนำชีวภัณฑ์ผง แต่ละสายพันธุ์และแต่ละสูตรอาหาร มาพ่นที่อัตรา 50 กรัมและ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร เปรียบเทียบกับวิธีการพ่นน้ำเปล่า เริ่มพ่นชีวภัณฑ์ผงเมื่อพบการระบาดของโรคราแป้งในแตงเมล่อน ก่อนการพ่นชีวภัณฑ์ผงต้องทำการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคทุกครั้ง ได้พ่นชีวภัณฑ์ผงทุก 5 วัน จำนวน 4 ครั้ง ผลการทดลอง พบว่า ในวิธีการพ่นชีวภัณฑ์ผง สูตรอาหารแข็ง NGA พบว่า *B.subtilis* สายพันธุ์ AS013 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสามารถควบคุมโรคราแป้งได้ดี มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 3.8 และ 5.9 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS012 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 12.3 และ 9.6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ DPD24 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 14.9 และ 15.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ซึ่งพบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 33.04 เปอร์เซ็นต์ และในการทดสอบชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* 3 สายพันธุ์ ในสูตรอาหารแข็ง PSA ผลการทดลอง พบว่า วิธีการพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ DPD24 ที่อัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดีที่สุด สามารถควบคุมโรคราแป้งได้ดี มีเปอร์เซ็นต์การ

เกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 7.1 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS013 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 10.9 และ 11.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS012 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 12.0 และ 11.7 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ซึ่งพบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 35.0 เปอร์เซ็นต์ สำหรับในชุดทดสอบที่ 2 สูตรอาหารเหลว คือ NGB และ PSB ผลการทดลองในวิธีการพ่นชีวภัณฑ์ผง สูตรอาหารเหลว NGB พบว่า *B. subtilis* สายพันธุ์ AS013 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสามารถควบคุมโรคราแป้งได้ดี มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 25.2 และ 31.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ *B. subtilis* สายพันธุ์ DPD24 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 39.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ซึ่งพบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 54.5 เปอร์เซ็นต์ และในสูตรอาหารเหลว PSB ผลการทดลอง พบว่า วิธีการพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ AS012 ที่อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถควบคุมโรคราแป้งได้ดี มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 28.2 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผง *B. subtilis* สายพันธุ์ DPD24 ที่อัตรา 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 31.0 และ 34.6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ซึ่งพบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 66.5 เปอร์เซ็นต์

ในปี 2567 ได้ทำการพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์ผงสารเมตาบอไลท์ของเชื้อ *Bacillus subtilis* 3 สายพันธุ์ ได้แก่ DPD24 AS012 และ AS013 .จากสูตรอาหารเหลว 3 สูตร คือ NGB PSB และ PDB โดยเตรียมสารเมตาบอไลท์เป็น 2 แบบ คือ แบบ A (กรองน้ำใส) แบบ B (ไม่กรองน้ำใส) และนำไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผงเพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราแป้งแตงเมล่อนในสภาพโรงเรือนทดลอง ซึ่งจากการทดสอบพบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์ แบบ A ของเชื้อ *Bacillus subtilis* DPD24 พบว่า สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยน้อยที่สุด 9.47 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ เชื้อ*Bacillus subtilis* AS012 พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PDB อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 10.06 เปอร์เซ็นต์ และในเชื้อ *Bacillus subtilis* AS013 พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร NGB อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 18.93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ซึ่งพบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยตั้งแต่33.33-35.33 เปอร์เซ็นต์

สำหรับ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์ แบบ B ของ เชื้อ *Bacillus subtilis* DPD24 พบว่าสูตรอาหาร PSB อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยน้อยที่สุด 4.93 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 7.36 เปอร์เซ็นต์ และในเชื้อ *Bacillus subtilis* AS012 พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PDB อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 11.23

เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สูตรอาหาร NGB อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 12.16 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในเชื้อ *Bacillus subtilis* AS013 พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์สูตรอาหาร PDB อัตรา 50และ100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยน้อยที่สุด 1.56 และ 5.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ซึ่งพบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย ตั้งแต่ 30.70-35.80 เปอร์เซ็นต์

จากการทดลองในครั้งนี้สามารถพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์จากอาหารเหลว ของเชื้อ *Bacillus subtilis* ทั้ง 3 สายพันธุ์ ซึ่งสูตรที่น่าสนใจและสามารถนำไปขยายผลต่อได้ คือ สูตรชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์จากอาหารเหลว แบบ B (ไม่กรองน้ำใส) ซึ่งพบว่า ชีวภัณฑ์ผงเมตาบอไลท์ สายพันธุ์ AS013 สามารถควบคุมโรคราแป้งได้ดีที่สุด ดังนั้นในการวิจัยต่อไปจะได้นำชีวภัณฑ์ที่พัฒนาสูตรไปทดสอบขยายผลในสภาพแปลงเกษตรกรต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2556. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ No.4 แบบเม็ดเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของขิง. หน้า 759-763. *ใน : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2556.* กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

ทัศนาพร ทัศคร วัชรี วิทยวรรณกุล และ บังอร นวลศรี. 2564. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุม โรคราแป้ง (Powdery mildew) พืชตระกูลแตง. หน้า. 666694. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2564 : เล่มที่ 1* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

Elad, Y., Kirshner, B., Yehuda, N., Sztejnberg, A. 1998. Management of powdery mildew and gray mould of cucumber by Trichoderma harzianum T39 and *Ampelomyces quisqualis* AQ10. BioControl, 43: 241-251.

Elad, Y. 2000. Biological Control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. Crop Protection, 19: 709-714.

Hector G., N. Palenius, D. Hopkins and J. Cantliffe. Powdery Mildew of Cucurbits in Florida เข้าถึง ข้อมูลเมื่อวันที่ 29 /5/2557

Jahn M., H. M. Munger, J. D. McCreight.2002. Breeding Cucurbit Crops for Powdery mildew Resistance. *In* Belanger R, WR Bushnell, AJ Dik, TLW Carver,ed, The powdery mildew. A Comprehensive Treatise. APS, St Paul, Minnesota, pp 239-248.

Mossler M. A. and O. N. Nesheim.2005. Florida Crop/Pest Management Profile: Squash. Electronic Data Information Source of UF/IFAS Extension (EDIS).CIR 1265. February, 3, 2005. แหล่งข้อมูล:http://edis.ifas.ufl.edu/hs321

Romero, D., Rivera, M.E., Cazorla, F.M., de Vicente, A. and Perez-Garcia, A. 2003. Effects of mycoparasitic fungi on the Development of *Sphaerotheca fusca* in melon leaves. Mycological Researchs, 107: 64-67.

Sundheim, L. 1982. Control of cucumber powdery mildew by the hyperparasite *Ampelomyces quisqualis* and fungicides. Plant Pathology, 31: 209-214.

Thomas A. Z., L.D. Hopkins and E. C. Thomas.1996. Compendium of Cucurbit Disease.The American PhytopathologicalSociety Minnesota 55121-2097, USA. 87p.

Wagner Bettiol, Angelo Garibaldi and Quirico Migheli. 1997. *Bacillus subtilis* for the control powdery mildew on Cucumber and Zucchini Squash. Bragantia. Vol 56 n.2 แหล่งข้อมูล : http://www.scielo.br/scielo.php

Table 1 Amount of *Bacillus* spp. 4 isolates antagonist in six biological product formulas with solid agars

Isolates	Amount of *B.* spp. in six solid agars (cfu/ml)					
	NA	NGA	PSA	PDA	MHA	LBA
B. pumilus DPD05 (Lotno.00131072022)	$1.50x10^{12}$	$1.25x10^{10}$	$6.25x10^{11}$	$1.02x10^{12}$	$6.55x10^{9}$	$1.43x10^{7}$
B. subtillis DPD24 (Lotno.00101072022)	$1.05x10^{11}$	$8.15x10^{11}$	$1.55x10^{12}$	$2.94x10^{12}$	$6.50x10^{10}$	$1.15x10^{12}$
B. subtillis AS012 (Lotno.00105082022)	$4.45x10^{10}$	$8.00x10^{11}$	$1.94x10^{12}$	$9.50x10^{10}$	$2.00x10^{9}$	$1.95x10^{11}$
B. subtillis AS013 (Lotno.00108082022)	$7.55x10^{11}$	$8.00x10^{11}$	$9.00x10^{11}$	$2.85x10^{11}$	$5.50x10^{11}$	$1.00x10^{11}$

Table 2 Amount of *Bacillus* spp. 4 isolates survived in six biological product formulas with solid agars after stored at 28-30 ˚C for 3 months

Isolates	Amount of *B.* spp. in six solid agars (cfu/ml)					
	NA	NGA	PSA	PDA	MHA	LBA
B. pumilus DPD05 (Lotno.00131072022)	$1.50x10^{12}$	$8.15x10^{11}$	$1.27x10^{11}$	$2.95x10^{10}$	$6.55x10^{10}$	$9.50x10^{7}$
B. subtillis DPD24 (Lotno.00101072022)	$2.44x10^{11}$	$5.00x10^{11}$	$1.33x10^{12}$	$3.00x10^{12}$	$1.98x10^{10}$	$9.75x10^{11}$
B. subtillis AS012 (Lotno.00105082022)	$3.70x10^{10}$	$3.00x10^{10}$	$3.95x10^{11}$	$1.55x10^{10}$	$1.00x10^{10}$	$3.85x10^{11}$
B. subtillis AS013 (Lotno.00108082022)	$3.00x10^{12}$	$3.00x10^{10}$	$1.50x10^{11}$	$3.25x10^{11}$	$2.00x10^{10}$	$3.95x10^{11}$

Table 3 Amount of *Bacillus* spp. 4 isolates survived in six biological product formulas with solid agars after stored at 4-8 ˚C for 3 months

Isolates	Amount of *B.* spp. in six solid agars (cfu/ml)					
	NA	NGA	PSA	PDA	MHA	LBA
B. pumilus DPD05 (Lotno.00131072022)	$7.00x10^{11}$	$9.00x10^{10}$	$1.64x10^{11}$	$1.50x10^{11}$	$1.50x10^{11}$	$3.00x10^{10}$
B. subtillis DPD24 (Lotno.00101072022)	$1.53x10^{12}$	$3.90x10^{11}$	$2.00x10^{11}$	$1.25x10^{12}$	$2.50x10^{9}$	$4.95x10^{10}$
B. subtillis AS012 (Lotno.00105082022)	$1.72x10^{12}$	$3.00x10^{12}$	$3.00x10^{12}$	$3.00x10^{12}$	$1.50x10^{10}$	$1.00x10^{10}$
B. subtillis AS013 (Lotno.00108082022)	$7.45x10^{11}$	$1.50x10^{10}$	$9.25x10^{11}$	$1.6x10^{10}$	$4.10x10^{11}$	$1.78x10^{12}$

Table 4 Amount of *Bacillus* spp. 4 isolates antagonist in six biological product formulas with liquid agars

Isolates	Amount of *B.* spp. in six liquid agars (cfu/ml)					
	NB	NGB	PSB	PDB	MHB	LB
B. pumilus DPD05 (Lot no.00109072022)	$1.00x10^{9}$	$7.50x10^{6}$	$1.50x10^{10}$	$1.50x10^{10}$	$2.50x10^{10}$	$4.83x10^{11}$
B. subtillis DPD24 (Lot no.00109072022)	$1.00x10^{10}$	$1.26x10^{12}$	$9.0x10^{11}$	$1.36x10^{12}$	$6.50x10^{10}$	$1.15x10^{12}$
B. subtillis AS012 (Lot no.00105082022)	$1.54x10^{12}$	$4.30x10^{10}$	$2.00x10^{9}$	$1.50x10^{11}$	$3.85x10^{9}$	$5.50x10^{10}$
B. subtillis AS013 (Lot no.00108082022)	$1.00x10^{10}$	$8.50x10^{9}$	$5.50x10^{9}$	$1.04x10^{11}$	$9.75x10^{10}$	$2.80x10^{10}$

Table 5 Amount of *Bacillus* spp. 4 isolates survived in six biological product formulas with liquid agars after stored at 28-30 ˚C for 3 months

Isolates	Amount of B. spp. in six liquid agars (cfu/ml)					
	NB	NGB	PSB	PDB	MHB	LB
B. pumilus DPD05 (Lot no.00109072022)	$9.0x10^{10}$	$1.00x10^{6}$	$1.00x10^{10}$	$1.40x10^{11}$	$2.00x10^{10}$	$7.00x10^{10}$
B. subtillis DPD24 (Lot no.00109072022)	$1.50x10^{12}$	$7.00x10^{10}$	$3.50x10^{10}$	$1.95x10^{12}$	$8.50x10^{10}$	$5.50x10^{10}$
B. subtillis AS012 (Lot no.00105082022)	$1.50x10^{12}$	$6.5x10^{11}$	$7.00x10^{8}$	$1.50x10^{12}$	$1.45x10^{10}$	$1.50x10^{10}$
B. subtillis AS013 (Lot no.00108082022)	$1.50x10^{10}$	$1.00x10^{9}$	$1.50x10^{9}$	$1.90x10^{11}$	$5.00x10^{9}$	$3.3x10^{11}$

Table 6 Amount of *Bacillus* spp. 4 isolates survived in six biological product formulas liquid agars after stored at 4-8 ˚C for 3 months

Isolates	Amount of *B.* spp. in six liquid agars (cfu/ml)					
	NB	NGB	PSB	PDB	MHB	LB
B. pumilus DPD05 (Lot no.00109072022)	$1.00x10^{9}$	$8.50x10^{9}$	$1.00x10^{10}$	$8.00x10^{11}$	$5.00x10^{10}$	$5.5x10^{11}$
B. subtillis DPD24 (Lot no.00109072022)	$2.75x10^{10}$	$4.30x10^{9}$	$1.50x10^{11}$	$1.50x10^{11}$	$1.00x10^{8}$	$3.00x10^{9}$
B. subtillis AS012 (Lot no.00105082022)	$1.22x10^{12}$	$1.50x10^{12}$	$1.29x10^{12}$	$1.50x10^{10}$	$7.50x10^{11}$	$0.50x10^{8}$
B. subtillis AS013 (Lot no.00108082022)	$1.50x10^{12}$	$1.95x10^{11}$	$1.89x10^{12}$	$1.50x10^{12}$	$1.65x10^{11}$	$1.00x10^{11}$

Table 7 Amount of *Bacillus* spp. 4 isolates survived in six biological product formulas with solid agars after stored at 28-30 ˚C for 12 months

Isolates	Amount of *B.* spp. in six solid agars (cfu/ml)					
	NA	NGA	PSA	PDA	MHA	LBA
B. pumilus DPD05 (Lotno.00131072022)	$1.85x10^{12}$	$2.0x10^{11}$	$2.0x10^{10}$	$3.5x10^{10}$	$6.0x10^{8}$	$1.5x10^{11}$
B. subtillis DPD24 (Lotno.00101072022)	$2.24x10^{12}$	$2.84x10^{12}$	$4.3x10^{11}$	$9.0x10^{10}$	$7.1x10^{9}$	$9.0x10^{10}$
B. subtillis AS012 (Lotno.00105082022)	$5.90x10^{10}$	$1.50x10^{12}$	$1.65x10^{12}$	$3.5x10^{10}$	$2.45x10^{10}$	$1.5x10^{9}$
B. subtillis AS013 (Lotno.00108082022)	$1.0x10^{12}$	$3.6x10^{11}$	$1.0x10^{10}$	$1.6x10^{11}$	$1.38x10^{12}$	$2.7x10^{11}$

Table 8 Amount of *Bacillus* spp. 4 isolates survived in six biological product formulas with solid agars after stored at 4-8 ˚C for 12 months

Isolates	Amount of *B.* spp. in six solid agars (cfu/ml)					
	NA	NGA	PSA	PDA	MHA	LBA
B. pumilus DPD05 (Lotno.00131072022)	$1.58x10^{12}$	$1.0x10^{11}$	$1.50x10^{12}$	$5.50x10^{10}$	$1.0x10^{10}$	$5.05x10^{11}$
B. subtillis DPD24 (Lotno.00101072022)	$2.79x10^{12}$	$1.50x10^{12}$	$5.0x10^{10}$	$2.5x10^{12}$	$1.1x10^{10}$	$5.5x10^{11}$
B. subtillis AS012 (Lotno.00105082022)	$8.35x10^{11}$	$1.94x10^{12}$	$2.09x10^{12}$	$4.00x10^{9}$	$1.50x10^{10}$	$1.00x10^{10}$
B. subtillis AS013 (Lotno.00108082022)	$1.99x10^{12}$	$2.02x10^{12}$	$1.51x10^{12}$	$2.7x10^{11}$	$1.5x10^{12}$	$1.50x10^{10}$

Table 9 Amount of *Bacillus* spp. 4 isolates survived in six biological product formulas with liquid agar after stored at 28-30 °C for 12 months

Isolates	Amount of *B.* spp. in six liquid agars (cfu/ml)					
	NB	NGB	PSB	PDB	MHB	LB
B. pumilus DPD05 (Lot no.00109072022)	$1.5x10^{9}$	$9.0x10^{10}$	$1.00x10^{10}$	$1.33x10^{12}$	$1.00x10^{10}$	$2.6x10^{11}$
B. subtillis DPD24 (Lot no.00109072022)	$6.5x10^{10}$	$9.0x10^{11}$	$1.75x10^{12}$	$1.51x10^{11}$	$2.15x10^{11}$	$5.55x10^{11}$
B. subtillis AS012 (Lot no.00105082022)	$6.50x10^{10}$	$2.02x10^{12}$	$2.07x10^{12}$	$1.40x10^{12}$	$1.16x10^{12}$	$1.50x10^{10}$
B. subtillis AS013 (Lot no.00108082022)	$1.41x10^{12}$	$4.65x10^{11}$	$1.51x10^{12}$	$1.74x10^{12}$	$1.50x10^{7}$	$2.94x10^{12}$

Table 10 Amount of *Bacillus* spp. 4 isolates survived in six biological product formulas with liquid agar after stored at 4-8 °C for 12 months

Isolates	Amount of *B.* spp. in six liquid agars (cfu/ml)					
	NB	NGB	PSB	PDB	MHB	LB
B. pumilus DPD05 (Lot no.00109072022)	$3.65x10^{11}$	$2.05x10^{11}$	$1.05x10^{11}$	$1.40x10^{6}$	$1.00x10^{10}$	$9.6x10^{11}$
B. subtillis DPD24 (Lot no.00109072022)	$1.95x10^{11}$	$2.90x10^{12}$	$2.0x10^{10}$	$5.05x10^{11}$	$1.00x10^{11}$	$4.75x10^{11}$
B. subtillis AS012 (Lot no.00105082022)	$2.40x10^{11}$	$7.6x10^{11}$	$0.5x10^{10}$	$3.65x10^{11}$	$1.55x10^{7}$	$2.06x10^{12}$
B. subtillis AS013 (Lot no.00108082022)	$1.34x10^{12}$	$1.55x10^{12}$	$2.90x10^{12}$	$8.95x10^{11}$	$2.80x10^{11}$	$2.00x10^{11}$

Table 11 Efficacy of *Bacillus subtillis* 3 isolates of biological products from NGA to control powdery mildew in melon with green house condition

Treatments	Rate (g/20 lits)	Mean of disease severity of powdery mildew				
		BAS 1st	BAS 2 nd	BAS 3 rd	BAS 4 th	AAS 4st
T1 DPD 24	50	1.0ns	3.8a	9.8ab	13.5b	14.9b
T2 DPD 24	100	0.7	3.8a	4.6b	13.8b	15.5b
T3 AS 012	50	2.8	6.8b	5.2ab	11.2b	12.3b
T4 AS 012	100	0.5	3.7a	4.7b	8.0ab	9.6ab
T5 AS 013	50	0.1	1.1a	2.1a	2.3a	3.8a
T6 AS 013	100	0.5	2.2a	4.6b	6.9ab	5.9a
T7control (water)	-	1.08	6.65b	12.84b	18.46c	33.04c
CV (%)	**-**	**50.76**	**28.64**	**28.10**	**18.10**	**27.08**

1/ Mean values within the same columns followed by the different superscript letters are significantly different according to the Duncan's new multiple range test (P < 0.05)

BAS = Before application spraying AAS = After application spraying

Table 12 Efficacy of Bacillus subtillis 3 isolates of biological products from PSA to control powdery mildew in melon with green house condition

Treatments	Rate (g/20lits water)	Mean of disease severity of powdery mildew				
		BAS 1st	BAS 2 nd	BAS 3 rd	BAS 4 th	AAS 4st
T1 DPD24	50	1.3ns	7.3a	9.9b	13.5ab	16.8b
T2 DPD24	100	0.7	5.0a	10.4b	13.2ab	7.1a
T3 AS012	50	0.8	5.4a	9.6b	17.0b	12.0ab
T4 AS012	100	0.5	5.9a	6.4a	10.2b	11.7a
T5 AS013	50	0.5	4.8a	4.5a	10.4b	10.9a
T6 AS013	100	0.4	6.9a	7.7a	7.1a	11.7a
T7 control (water)		1.3	10.2b	15.6c	20.4c	35.0c
CV(%)	**-**	**31.20**	**22.19**	**19.27**	**14.78**	**22.17**

1/Mean values within the same columns followed by the different superscript letters are significantly different according to the Duncan's new multiple range test (P < 0.05)

BAS = Before application spraying AAS = After application spraying

Table 13 Efficacy of *Bacillus subtillis* 3 isolates of biological products from NGB to control powdery mildew in melon with green house condition

Treatments	Rate (g/20lits water)	Mean of disease severity of powdery mildew				
		BAS 1st	BAS 2 nd	BAS 3 rd	BAS 4 th	AAS 4st
T1 DPD 24	50	2.1^{ns}	12.6^{ns}	18.9b	57.4c	57.6c
T2 DPD 24	100	1.0	13.8	23.0bc	23.9b	39.8b
T3 AS 012	50	1.2	16.7	19.5b	29.3b	51.2c
T4 AS 012	100	0.6	15.3	27.6c	46.0c	68.2d
T5 AS 013	50	1.8	16.6	14.6a	15.4a	25.2a
T6 AS 013	100	1.2	16.9	13.1a	22.6b	31.0ab
T7 control (water)	-	2.1	15.1	27.9c	46.5c	54.5c
CV(%)	**-**	**89.19**	**50.45**	**37.34**	**40.45**	**42.39**

[1/]Mean values within the same columns followed by the different superscript letters are significantly different according to the Duncan's new multiple range test (P < 0.05)

BAS = Before application spraying AAS = After application spraying

Table 14 Efficacy of *Bacillus subtillis* 3 isolates of biological products from PSB to control powdery mildew in melon with green house condition

Treatments	Rate (g/20lits water)	Mean of disease severity of powdery mildew				
		BAS 1st	BAS 2 nd	BAS 3 rd	BAS 4 th	AAS 4st
T1 DPD 24	50	2.3^{ns}	8.1a	16.0ab	30.0b	31.0a
T2 DPD 24	100	1.8	8.2a	9.0a	19.3a	34.6a
T3 AS 012	50	1.2	10.8b	20.0b	26.0a	28.2a
T4 AS 012	100	1.7	13.5b	24.8	30.1b	41.1b
T5 AS 013	50	1.2	15.0b	39.0c	50.8c	52.5c
T6 AS 013	100	0.6	12.4b	11.6a	37.3b	40.0b
T7 control(water)	-	2.1	13.6b	30.8c	50.0c	66.5c
CV(%)	**-**	**59.19**	**50.45**	**47.34**	**30.45**	**32.39**

[1/]Mean values within the same columns followed by the different superscript letters are significantly different according to the Duncan's new multiple range test (P < 0.05)

BAS = Before application spraying AAS = After application spraying

Table 15 Efficacy of *Bacillus subtillis* DPD24 of metabolites biological products to control powdery mildew in melon with green house condition

Treatments	Rate (g/20lits water)	Mean of disease severity of powdery mildew					
		BAS[1st]	BAS[2nd]	BAS[3rd]	BAS[4th]	BAS[5th]	AAS[5th]
type A							
T1 DPD 24 NGB	50	2.97	3.96a	11.89a	17.24b	20.49ab	24.80bc
T2 DPD 24 NGB	100	3.49	6.79a	11.79a	16.46ab	14.86ab	7.71ab
T3 DPD 24 PSB	50	2.81	8.05a	12.37a	11.69ab	20.81ab	17.72ab
T4 DPD 24 PSB	100	0.72	3.50a	11.20a	8.93a	21.23ab	22.23abc
T5 DPD 24 PDB	50	2.49	11.43ab	16.12a	13.00ab	9.47a	4.80a
T6 DPD 24 PDB	100	1.88	9.99a	17.65a	17.69ab	16.11ab	10.19ab
T7 control(น้ำเปล่า)	-	3.69	19.13b	25.64b	30.33b	35.45b	39.13c
CV (%)		**59.18**	**50.51**	**37.33**	**40.44**	**42.38**	**45.81**
type B							
T1 DPD 24 NGB	50	3.16	11.46a	4.90a	7.62a	17.83b	13.00b
T2 DPD 24 NGB	100	0.53	9.36a	10.13ab	4.92a	14.16b	10.60ab
T3 DPD 24 PSB	50	1.30	9.43a	7.36a	4.27a	4.93a	8.76ab
T4 DPD 24 PSB	100	1.36	12.26a	16.13b	5.02a	8.53a	5.50ab
T5 DPD 24 PDB	50	2.30	13.90ab	16.50b	6.95a	7.36a	2.90a
T6 DPD 24 PDB	100	1.06	14.33ab	15.83b	3.85a	17.83b	7.00ab
T7 control(น้ำเปล่า)		3.03	19.66b	23.66c	27.12b	35.80c	46.96c
CV (%)		**50.75**	**28.64**	**18.10**	**26.17**	**24.65**	**27.08**

[1/] Mean values within the same columns followed by the different superscript letters are significantly different according to the Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$)

BAS = Before application spraying AAS = After application spraying

Table 16 Efficacy of *Bacillus subtillis* AS012 of metabolites biological products to control powdery mildew in melon with green house condition

Treatments	Rate (g/20 lits water)	Mean of disease severity of powdery mildew					
		BAS[1st]	BAS[2nd]	BAS[3rd]	BAS[4th]	BAS[5th]	AAS[5th]
type A							
T1 AS012 NGB	50	1.56	6.56ab	17.34ab	14.84a	24.26a	7.17a
T2 AS012 NGB	100	2.89	10.73ab	16.50ab	15.08a	12.40a	13.78ab
T3 AS012 PSB	50	0.40	1.02a	12.93a	11.93a	17.82a	30.32ab
T4 AS012 PSB	100	1.38	5.78ab	15.14ab	12.88a	21.99a	19.87ab
T5 AS012 PDB	50	0.88	7.01ab	14.18a	9.55a	12.23a	14.70ab
T6 AS012 PDB	100	1.28	8.06ab	18.78ab	7.53a	10.06a	7.15a
T7 control(น้ำเปล่า)	-	1.69	16.61b	25.64b	28.55b	35.33b	39.45b
CV (%)		**69.18**	**54.03**	**28.79**	**34.66**	**57.30**	**47.81**
type B							
T1 AS012 NGB	50	1.03	14.66ab	13.16a	10.86b	12.16a	11.23ab
T2 AS012 NGB	100	1.63	8.90a	10.50a	10.16b	14.76a	12.30ab
T3 AS012 PSB	50	1.46	17.43ab	16.26a	2.96a	14.60a	16.33b
T4 AS012 PSB	100	1.16	10.66a	10.83a	5.60a	13.70a	11.66ab
T5 AS012 PDB	50	1.60	17.76ab	13.56a	9.40b	11.23a	7.00a
T6 AS012 PDB	100	1.93	17.10ab	15.20a	12.16b	12.73a	12.50ab
T7 control(น้ำเปล่า)	-	1.40	20.16b	23.60b	25.33c	30.70b	40.63c
CV (%)	**-**	**55.00**	**31.19**	**22.17**	**19.26**	**14.75**	**22.15**

[1/] Mean values within the same columns followed by the different superscript letters are significantly different according to the Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$)

BAS = Before application spraying AAS = After application spraying

Table 17 Efficacy of *Bacillus subtillis* AS013 of metabolites biological products to control powdery mildew in melon with green house condition

Treatments	Rate (g/20lits water)	Mean of disease severity of powdery mildew					
		BAS^{1st}	BAS^{2nd}	BAS^{3rd}	BAS^{4th}	BAS^{5th}	AAS^{5th}
type A							
T1 AS013 NGB	50	0.76	7.29a	13.36a	10.34a	23.84a	29.38ab
T2 AS013NGB	100	0.98	6.14a	14.32a	15.41a	18.93a	21.67ab
T3 AS013PSB	50	1.80	9.02a	12.79a	14.72a	20.64a	24.49ab
T4 AS013 PSB	100	1.84	8.45a	16.15a	15.65a	23.42a	24.75ab
T5 AS013PDB	50	1.34	6.10a	13.37a	13.27a	27.02a	29.61ab
T6 AS013PDB	100	1.45	5.84a	13.63a	13.69a	20.41a	15.68a
T7 control(น้ำเปล่า)	-	0.97	16.61b	23.86b	30.55	33.33b	35.45b
CV (%)		50.64	44.30	23.28	37.33	36.03	32.54
type B							
T1 AS013NGB	50	0.53	4.93a	8.13ab	10.26b	12.00b	8.90bc
T2 AS013NGB	100	0.73	8.97ab	12.13bc	10.36b	12.56b	9.36bc
T3 AS013PSB	50	1.33	16.86bc	19.63c	10.46b	21.76c	18.83c
T4 AS013PSB	100	1.70	16.46bc	17.83c	10.46b	19.63c	11.63b
T5 AS013PDB	50	0.60	11.46ab	9.53ab	9.06b	5.40a	3.00ab
T6 AS013PDB	100	1.66	13.56bc	4.26a	3.83a	1.56a	1.33a
T7 control(น้ำเปล่า)	-	1.67	20.30c	20.20c	24.23c	35.50d	38.13d
CV (%)	-	47.77	24.70	34.31	19.11	21.13	28.62

[1/] Mean values within the same columns followed by the different superscript letters are significantly different according to the Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$)

BAS = Before application spraying AAS = After application spraying

พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ในมะนาว

Development of production and application methods of *Bacillus subtilis* bioproducts for the control of citrus canker in lime.

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ
รุ่งนภา ทองเครื่ง กาญจนา ศรีไม้
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The development of production formulation and application methods of *Bacillus subtilis* for the control of citrus canker in lime, caused by *Xanthomonas citri* pv. *citri*, was conducted during 2012–2024. *B. subtilis* strain BS-DOA B27, which showed high efficacy in controlling citrus canker in greenhouse trials, was developed into a powder-type bioproduct for practical field application. Kaolin was identified as the most suitable carrier material, resulting in a formulation containing antagonistic bacteria at a concentration of 9.25 × 10^9 CFU/g. The bioproduct could be stored for 6 months at room temperature and up to 10 months at 4–15°C. Field trials were conducted in Suphan Buri province using a randomized complete block design (RCBD) with four replications and five treatments: foliar sprays of *B. subtilis* BS-DOA B27 (1×10^9 CFU/g WP) at rates of 40, 60, 80, and 100 grams per 20 liters of water, and a control treatment with plain water. The bioproduct was applied at the onset of disease symptoms during the young flush stage and reapplied every 7 days for a total of four applications. Disease severity was assessed before each application and at 7 and 14 days after the final spray. Results from both trial sites were consistent, showing that all *B. subtilis* treatments significantly reduced disease severity compared to the control. According to the criteria for effective bioproduct selection (disease control efficacy ≥ 60% compared to control), treatments at 60, 80, and 100 g/20 L met the standard and were deemed effective for managing citrus canker in lime under field conditions.

Keywords : Development, Bioproduct, Canker Disease, Lime

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-07-65

บทคัดย่อ

การพัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ในมะนาวที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas citri* pv. *citri* ทำการทดลองระหว่างปี 2555 – 2567 โดยนำเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวในโรงเรือนทดลองมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สูตรผงที่สามารถนำไปใช้ได้ง่าย ได้สารพาที่เหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 คือ Kaolin มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 9.25x10^9 หน่วยโคโลนี/กรัม ชีวภัณฑ์นี้เก็บรักษาได้เป็นเวลา 6 เดือนที่อุณหภูมิห้อง และ 10 เดือนที่อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส จากนั้นนำชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 ที่มี Kaolin เป็นสารพา ไปทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงทดลองที่จังหวัดสุพรรณบุรี วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40, 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ โดยพ่นชีวภัณฑ์ครั้งแรกเมื่อพบการระบาดของโรคในระยะแตกใบอ่อน พ่นซ้ำทุก 7 วัน รวม 4 ครั้ง ประเมินความรุนแรงของโรคก่อนพ่นชีวภัณฑ์ทุกครั้ง และหลังพ่นชีวภัณฑ์ครั้งสุดท้าย 7 และ 14 วัน ผลการทดลองทั้งสองแปลงสอดคล้องกัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์มีดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) แต่เนื่องจากการคัดเลือกชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคพืช ใช้เกณฑ์กำหนดว่าจะต้องมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคไม่ต่ำกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำเปล่า ซึ่งทั้งสองแปลงทดลองให้ผลสอดคล้องกัน พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวในทั้งสองแปลงทดลอง

คำหลัก : พัฒนา, ชีวภัณฑ์, โรคแคงเกอร์, มะนาว

คำนำ

พืชตระกูลส้มเป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย และประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกพืชตระกูลส้มเป็นจำนวนมากโดยเฉพาะมะนาว ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกมะนาว 109,035 ไร่ ให้ผลผลิต 152,335 ตัน คิดเป็นมูลค่า 5,978 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561) โรคที่ทำความเสียหายและเป็นปัญหาหลักของการปลูกมะนาว คือโรคแคงเกอร์ สาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas citri* pv. *citri* (Civerolo, 1984) มะนาวเป็นพืชที่อ่อนแอต่อโรคแคงเกอร์มาก โดยเฉพาะ มะนาวแป้นรำไพ มะนาวแป้นพวง มะนาวไข่ และมะนาวหนัง (*Citrus aurantifolia*) (ศุภรักษ์, 2557) โรคนี้พบระบาดมากในเขตร้อนหรือกึ่งเขตร้อน ที่มีอุณหภูมิสูง ฝนตกชุก และแพร่กระจายได้ตามกระแสลม น้ำค้าง ฝน แมลง และมนุษย์ (Civerolo, 1994) ลักษณะอาการของโรค

ที่พบเห็นทั่วไปเป็นแผลจุดฉ่ำน้ำใสๆ สีเหลืองนูน และขยายใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ ต่อมาตรงกลางแผลจะตกสะเก็ด ทำให้เกิดยางไหล การเจริญเติบโตช้า กิ่งก้านแห้งตาย ผลมีตำหนิไม่เป็นที่ต้องการของตลาด และส่งผลให้ราคาผลผลิตต่ำ (วาสนา, 2559)

การป้องกันกำจัดโรคพืชมีหลายวิธี ได้แก่ การใช้วิธีการเขตกรรม การกักกันโรคมิให้แพร่ระบาดเข้ามาในแหล่งปลูก การเผาทำลาย การใช้กิ่งพันธุ์ปลอดโรค และการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช เกษตรกรนิยมใช้สารเคมีกลุ่มคอปเปอร์ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์เป็นประจำอย่างต่อเนื่อง ซึ่งอาจทำให้สารประกอบคอปเปอร์ตกค้างในผลิตผลได้ (Humaydan *et al*., 1980) และในปัจจุบันผู้บริโภคส่วนใหญ่เริ่มหันมาให้ความสนใจต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อมมากขึ้น อีกทั้งรัฐบาลไทยมีการรณรงค์ให้เกษตรกร ใช้สารเคมีน้อยลง ปลูกพืชอินทรีย์มากขึ้น เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลผลิตปลอดภัยต่อผู้บริโภค และสามารถส่งออกไปขายยังต่างประเทศได้ ดังนั้นการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธี จึงเป็นอีกวิธีหนึ่งในการจัดการศัตรูพืช เพื่อป้องกันการดื้อต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืช รวมทั้งลดการตกค้างของสารเคมีในผลิตผลทางการเกษตรด้วย

ปัจจุบันการใช้เชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช เป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับความนิยม โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* เป็นแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ที่ได้รับความนิยมในอันดับต้น ๆ เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นหลายประการ เช่น สามารถสร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม สามารถอยู่รอดได้แม้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่นทนทานต่อสารเคมี รังสี ความร้อน และแสงอัลตราไวโอเลต ได้ดีกว่าเซลล์ปกติ (Kloepper *et al*., 2004) และเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมแบคทีเรีย *B. subtilis* ก็สามารถงอกกลับเป็นเซลล์แบคทีเรียได้ใหม่โดยง่าย ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณได้ดีในสภาพธรรมชาติ (Baker and Cook, 1974) แบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถพบได้ทั่วไปในดินปลูก ปุ๋ยคอก วัสดุปลูก รากพืช และผิวใบ เจริญเติบโตได้โดยใช้สารอาหารจากการย่อยสลายของซากพืชและสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ นอกจากนี้ยังมีกลไกการเป็นปฏิปักษ์ที่สำคัญหลายรูปแบบ เช่น สามารถสร้างเอนไซม์และสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ สัตว์ และไม่มีพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมด้วย (พิศาล, 2551; Fiddaman and Rossal, 1994; Shoda, 2000)

ในประเทศไทยมีรายงานการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สกุล *Bacillus* มาใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชค่อนข้างหลากหลาย มีการใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ ซึ่งพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงถึง 60% (ณัฏฐิมาและคณะ, 2547) และมีการศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ DOA-WB4 ที่แยกได้จากดินบริเวณรากต้นมันฝรั่งที่ไม่เป็นโรคในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค สามารถป้องกันควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ได้ (วงศ์ *et al*., 2548) มีการทดลองนำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มาใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และ *E. chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละในกล้วยไม้ ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลองพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย

E. carotovora subsp. *carotovora* และ *E. chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละในกล้วยไม้ (สุรีย์พร และคณะ, 2555) นอกจากนี้มีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ไอโซเลต SK และ KK9 สาเหตุโรคผลเน่าจากแบคทีเรีย (bacterial fruit blotch) ได้ และได้พัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* เพื่อการเคลือบเมล็ดและพ่นทางใบสำหรับควบคุมแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* (กุศล และ พิศาล, 2556)

นลินี และคณะ (2556) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* N5102 ในรูปผลิตภัณฑ์น้ำหมักและผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาว พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* N5102 ในรูปน้ำหมักแสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 43.53% ส่วนในรูปผงเชื้อแสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 39.94% และชุดควบคุมแสดงความรุนแรงของการเกิดโรค 54.02%

นลินี และคณะ (2553) แยกเชื้อจุลินทรีย์ได้จำนวน 35 ไอโซเลท นำมาทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ของส้มโอ เปรียบเทียบกับสารเคมีคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ และ Kanker-X พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 12 ไอโซเลท สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ โดยเชื้อจุลินทรีย์ไอโซเลท 5102 ให้บริเวณวงใสขนาดรัศมีกว้าง 8.5 มิลลิเมตร ส่วน Kanker-X ให้วงใสกว้าง 7.5 มิลลิเมตร ส่วนสารเคมีคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ได้ นอกจากนี้ยังนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ที่ได้คัดเลือกไปฉีดพ่นบนต้นส้มโอในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 สามารถควบคุมโรคแคงเกอร์ได้ โดยแสดงจำนวนแผลจุดเฉลี่ย 21.86 จุดต่อใบ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีจำนวนแผลจุดเฉลี่ย 79.19 จุดต่อใบ

อย่างไรก็ตามการศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ในรูปเซลล์สด (fresh culture) ซึ่งเป็นรูปแบบที่นำไปใช้ได้ยาก ไม่สะดวกในการใช้ และไม่สามารถเก็บไว้ใช้ได้หรือมีอายุการเก็บรักษาสั้น นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สูตรเหลว เช่น พากเพียร และคณะ (2544) พัฒนา TRF สูตร A และ TRF สูตร B ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวในสภาพแปลง พบว่าการใช้ TRF สูตร A, TRF สูตร B, Larminar WP และ Agroguard Liq. มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค 50.48, 52.53, 54.59 และ 55.18 ตามลำดับ ต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค 65.46% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ งานวิจัยนี้จึงได้นำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแคงเกอร์ ที่ได้จากการศึกษาของกาญจนาในปี 2564 มาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สูตรผงที่สามารถนำไปใช้ได้ง่าย โดยศึกษาสารพา (carrier) และตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) หลังการเก็บรักษา จากนั้นจึงนำชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 ที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงทดลอง เพื่อแนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ควบคุมโรคแคงเกอร์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้อบลมร้อน ตู้ควบคุมอุณหภูมิ เครื่องเขย่า เครื่องชั่ง เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง เครื่องกวนสาร
2. อุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่น ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เข็มเขี่ยเชื้อ (loop) ตะเกียงแอลกอฮอล์ จานเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง
3. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ เช่น Tryptic Soy Agar (TSA), Tryptic Soy Broth (TSB), Nutrient agar (NA), Wakimoto's medium (PSA) เป็นต้น
4. สารพา Kaolin
5. ต้นมะนาวพันธุ์แป้นรำไพ
6. ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP
7. เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลัง ที่สามารถควบคุมแรงดันได้
8. เครื่องชั่งสารเคมี บีกเกอร์พลาสติก ถังน้ำ
9. แผ่นป้ายระบุกรรมวิธีทดลอง

วิธีการ

1. การพัฒนาชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 สูตรผง และการตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) หลังการเก็บรักษา มี 2 ขั้นตอน ดังนี้

1.1 การพัฒนาชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 สูตรผง

นำแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวในโรงเรือนทดลอง มาเลี้ยงบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยความเร็วรอบ 9,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงเทส่วนใสทิ้ง เก็บเฉพาะส่วนของตะกอน ใช้สารละลาย 2.47% $MgSO_4$ $7H_2O$ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในการละลายตะกอน ทิ้งไว้ 10-15 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 2% CMC (carboxymethyl cellulose) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปผสมกับสารพา (carrier) จำนวน 5 ชนิด ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว หลังจากนั้นนำไปผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วบดให้เป็นผงละเอียด

สารพาที่ใช้ในการทดลองนี้ ดัดแปลงวิธีการผลิตจากงานทดลองของณัฏฐิมาและคณะ (2557) ดังนี้ (Figure 1)

1. Kaolin
2. Kaolin + Potassium humate
3. Kaolin + amino acid

4. Kaolin + Potassium humate + amino acid

5. Kaolin + Diatomaceous earth

ตรวจนับปริมาณเซลล์แบคทีเรีย (vegetative cell) ด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA โดยชั่งชีวภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ จำนวน 10 กรัม ใส่ขวดดูแรนที่มีน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที วางทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปตรวจนับเซลล์แบคทีเรีย ด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA โดยเจือจางสารแขวนลอยแบคทีเรียที่ค่าการเจือจาง 10^{-1}-10^{-10} ดูดเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำแต่ละค่าการเจือจางไปเกลี่ยบนอาหาร TSA ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย (Figure 2)

การบันทึกข้อมูล

- ปริมาณเซลล์แบคทีเรีย (vegetative cell) ที่ตรวจนับได้บนอาหาร TSA

1.2 การตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) ของชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 สูตรผง หลังการเก็บรักษา

นำชีวภัณฑ์สูตรผงที่ได้ชนิดสารพาที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 1 มาแบ่งเก็บรักษาที่ 2 อุณหภูมิ คือ สภาพอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 28 ± 2 องศาเซลเซียส) และเก็บรักษาในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 4-15 องศาเซลเซียส) โดยบรรจุชีวภัณฑ์ในซองฟอยล์ ซองละ 50 กรัม อุณหภูมิละ 15 ซอง เก็บไว้เป็นระยะเวลา 15 เดือน และตรวจสอบความมีชีวิตของแบคทีเรียทุกเดือน (ณัฏฐิมา และคณะ, 2557) ด้วยวิธี serial dilution plating technique โดยทำการเจือจางสารแขวนลอยแบคทีเรียที่ค่าการเจือจาง 10^{-1}-10^{-10} บนอาหาร TSA ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย

การบันทึกข้อมูล

- ปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดบนอาหาร TSA ที่เก็บรักษาที่ 2 อุณหภูมิทุกเดือน

2. การทดลองประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ (canker) ของมะนาวในสภาพแปลงทดลอง

ทำการทดลองในแปลงมะนาว จำนวน 2 แปลงทดลอง แปลงย่อยมีขนาด 1 ต้นต่อซ้ำ (20 ยอดต่อซ้ำ) วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 น้ำเปล่า (ควบคุม)

เริ่มพ่นชีวภัณฑ์ครั้งแรกเมื่อพบการระบาดของโรคในระยะมะนาวแตกใบอ่อน และมีใบมากกว่า 10 ใบต่อยอด พ่นชีวภัณฑ์แต่ละกรรมวิธีโดยผสมน้ำพ่นทางใบให้ทั่วต้นพืช พ่นทุก 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง โดยใช้เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลัง ที่สามารถควบคุมแรงดันได้

<u>วิธีการประเมินโรค</u>

ประเมินความรุนแรงของโรคก่อนพ่นชีวภัณฑ์ทุกครั้ง และหลังพ่นชีวภัณฑ์ครั้งสุดท้าย 7 และ 14 วัน โดยประเมินจากยอดที่สุ่มไว้จำนวน 20 ยอดต่อแปลงย่อย ประเมินความรุนแรงจากอาการที่ปรากฏบนใบ จำนวน 10 ใบต่อยอดนับจากใบยอดลงมา แบ่งระดับความรุนแรงของโรคเป็น 6 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 ไม่ปรากฏอาการโรค
ระดับ 1 แสดงอาการโรค 1-10% ของพื้นที่ใบ
ระดับ 2 แสดงอาการโรค 11-25% ของพื้นที่ใบ
ระดับ 3 แสดงอาการโรค 26-50% ของพื้นที่ใบ
ระดับ 4 แสดงอาการโรค 51-75% ของพื้นที่ใบ
ระดับ 5 แสดงอาการโรคมากกว่า 75% ของพื้นที่ใบ

นำระดับความรุนแรงของโรคที่ประเมินได้มาคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index, DSI) ตามวิธีของ Horsfall and Heuberger (1942) ดังนี้

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนใบเป็นโรคในแต่ละระดับ x ระดับ)}}{\text{จำนวนใบทั้งหมด x ระดับสูงสุด}} \text{X100}$$

นำดัชนีความรุนแรงของโรคที่ได้มาคำนวณประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค จากสูตร

$$\text{ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค (\%)} = \frac{\text{ดัชนีความรุนแรงของโรคหลังใช้น้ำเปล่า - ดัชนีความรุนแรงของโรคหลังใช้ชีวภัณฑ์}}{\text{ดัชนีความรุนแรงของโรคหลังใช้น้ำเปล่า}} \text{X100}$$

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

ระดับความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ จากการประเมินโรคด้วยสายตาทุก 7 วัน รวม 4 ครั้ง

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

นำข้อมูลดัชนีความรุนแรงของโรคที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT)

เวลาและสถานที่

เวลา ทำการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึง ธันวาคม 2567

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร แปลงมะนาวที่ตำบลบางงาม และตำบลวังยาง อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การพัฒนาชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 สูตรผง และการตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) หลังการเก็บรักษา มี 2 ขั้นตอน ดังนี้

1.1 การพัฒนาชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 สูตรผง

ผลการทดสอบสารพาจำนวน 5 ชนิด เพื่อพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 สูตรผง พบว่าสารพา Kaolin เป็นสารพาที่ดีที่สุดโดยให้ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย $9.25x10^9$ หน่วยโคโลนี/กรัม รองลงมาได้แก่ Kaolin + Diatomaceous earth, Kaolin + amino acid, Kaolin + Potassium humate และ Kaolin + Potassium humate + amino acid ซึ่งมีปริมาณเชื้อแบคทีเรีย $7.50x10^9$, $2.32x10^7$, $1.93x10^7$และ $1.44x10^7$ หน่วยโคโลนี/กรัม ตามลำดับ (Table 1) ดังนั้นสารพา Kaolin จึงมีความเหมาะสมต่อการพัฒนาชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 สูตรผง ซึ่งมีปริมาณเชื้อแบคทีเรีย $9.25x10^9$ หน่วยโคโลนี/กรัม ชีวภัณฑ์ที่ได้ละลายน้ำได้ดี เนื่องจากคุณสมบัติของดินขาวมีเนื้อเนียนเรียบ ละลายน้ำได้อย่างรวดเร็ว และสามารถเกาะติดกับผิวได้ดี (กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่, 2560) ชีวภัณฑ์สูตรผงนี้มีประชากรของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 สูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่ FAO กำหนด โดย FAO กำหนดปริมาณเชื้อ antagonistic bacteria ขั้นต่ำของ *B. subtilis* สำหรับการขึ้นทะเบียนชีวภัณฑ์ไว้ที่ $1x10^8$ หน่วยโคโลนี/กรัม (Food and Agriculture Organization, 2012)

1.2 การตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) ของชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 สูตรผง หลังการเก็บรักษา

ทำการตรวจนับปริมาณแบคทีเรียในชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 สูตรผงที่แบ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส) และในตู้เย็น (4-15 องศาเซลเซียส) ทุก 1 เดือน เป็นระยะเวลา15 เดือน พบว่าชีวภัณฑ์สูตรผงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีชีวิตอยู่รอดได้ 12 เดือน มีปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 ในเดือนที่ 1-12 เท่ากับ $3.55x10^9$, $5.60x10^9$, $6.10x10^9$, $2.35x10^8$, $2.70x10^8$, $1.02x10^8$, $7.40x10^7$, $4.45x10^5$, $2.40x10^5$ $5.90x10^4$, $3.80x10^2$ และ $1.75x10^2$ หน่วยโคโลนี/กรัม ตามลำดับ ส่วนชีวภัณฑ์สูตรผงที่เก็บรักษาในตู้เย็นมีชีวิตอยู่รอดได้ 15 เดือน มีปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 27 ในเดือนที่ 1-15 เท่ากับ $1.95x10^9$, $8.70x10^9$, $2.40x10^9$, $2.53x10^9$, $1.40x10^9$, $5.80x10^8$, $4.60x10^8$, $1.90x10^8$, $2.30x10^8$, $2.95x10^8$, $2.80x10^7$, $2.45x10^6$, $2.53x10^5$, $1.40x10^4$ และ $5.80x10^3$ หน่วยโคโลนี/กรัม ตามลำดับ โดยปริมาณ

แบคทีเรียของชีวภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเริ่มลดลงตั้งแต่เดือนที่ 4 โดยลดลงจาก $6.10x10^9$ หน่วยโคโลนี/กรัม เหลือ $2.35x10^8$ หน่วยโคโลนี/กรัม ส่วนชีวภัณฑ์ที่เก็บรักษาในตู้เย็นปริมาณแบคทีเรียเริ่มลดลงตั้งแต่เดือนที่ 6 โดยลดลงจาก $1.40x10^9$ หน่วยโคโลนี/กรัม เหลือ $5.80x10^8$ หน่วยโคโลนี/กรัม (Table 2) FAO กำหนดปริมาณเชื้อ antagonistic bacteria ขั้นต่ำของ *B. subtilis* สำหรับการขึ้นทะเบียนชีวภัณฑ์ไว้ที่ $1x10^8$ หน่วยโคโลนี/กรัม (Food and Agriculture Organization, 2012) จากผลการทดลองพบว่าชีวภัณฑ์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ปริมาณแบคทีเรียลดลงจนต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานในเดือนที่ 7 โดยลดลงเหลือ $7.40x10^7$ หน่วยโคโลนี/กรัม ในขณะที่ชีวภัณฑ์ที่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็น ปริมาณแบคทีเรียลดลงจนต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานในเดือนที่ 11 โดยลดลงเหลือ $2.80x10^7$ หน่วยโคโลนี/กรัม แสดงให้เห็นว่าชีวภัณฑ์ที่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นสามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน 10 เดือน โดยที่ยังคงมีปริมาณแบคทีเรียตามเกณฑ์มาตรฐาน ในขณะที่ชีวภัณฑ์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องสามารถเก็บรักษาได้เพียง 6 เดือน

2. การทดลองประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ (canker) ของมะนาวในสภาพแปลงทดลอง

การทดลองประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP เพื่อหาอัตราและวิธีการพ่นที่เหมาะสม ในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวในสภาพแปลงทดลอง ได้ผล ดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 ตำบลวังยาง อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี (Table 3)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในมะนาว

ก่อนพ่นชีวภัณฑ์ครั้งที่ 1 พบว่า ทุกกรรมวิธีมีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ยระหว่าง 2.76 - 3.25 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ก่อนพ่นชีวภัณฑ์ครั้งที่ 2 พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ยระหว่าง 4.44 – 6.73 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 12.50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์ พบว่ากรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 5.02, 4.54 และ 4.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 6.73 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP อัตรา 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

ก่อนพ่นชีวภัณฑ์ครั้งที่ 3 พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ยระหว่าง 7.06 – 13.66 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยที่กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis*

สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 8.75, 8.11 และ 7.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 22.57 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 13.66 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม)

ก่อนพ่นชีวภัณฑ์ครั้งที่ 4 (ครั้งสุดท้าย) พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ยระหว่าง 9.11 – 23.06 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 36.77 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์ พบว่ากรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 11.58, 10.36 และ 9.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 23.06 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นชีวภัณฑ์ครั้งสุดท้าย 7 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ยระหว่าง 10.13 – 27.17 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 48.47 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์ พบว่ากรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 16.44 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 11.65 เปอร์เซ็นต์ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 27.17 เปอร์เซ็นต์ และสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 10.13 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นชีวภัณฑ์ครั้งสุดท้าย 14 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ยระหว่าง 11.64 – 38.44 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 61.79 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์ พบว่ากรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 22.56 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 38.44 เปอร์เซ็นต์ แต่สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B.*

subtilis สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 15.79 และ 11.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ในมะนาวหลังพ่นชีวภัณฑ์ครั้งสุดท้าย 7 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40, 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ 43.94, 66.08, 75.96 และ 79.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์สูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม)

ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ในมะนาวหลังพ่นชีวภัณฑ์ครั้งสุดท้าย 14 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40, 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ 37.79, 63.49, 74.45 และ 81.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์สูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม)

เนื่องจากการคัดเลือกชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคพืช ใช้เกณฑ์กำหนดว่าจะต้องมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคไม่ต่ำกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำเปล่า จึงทำให้กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงทดลองที่ 1

แปลงทดลองที่ 2 ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี (Table 4)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในมะนาว

ก่อนพ่นชีวภัณฑ์ครั้งที่ 1 พบว่า ทุกกรรมวิธีมีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ยระหว่าง 0.28 – 0.33 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ก่อนพ่นชีวภัณฑ์ครั้งที่ 2 พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40, 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 3.48, 1.80, 1.13 และ 1.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 8.85 เปอร์เซ็นต์

ก่อนพ่นชีวภัณฑ์ครั้งที่ 3 พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ยระหว่าง 1.93 – 19.65 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 27.58 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบ

ระหว่างกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์ พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 4.75, 3.05 และ 1.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 19.65 เปอร์เซ็นต์

ก่อนพ่นชีวภัณฑ์ครั้งที่ 4 (ครั้งสุดท้าย) พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ยระหว่าง 2.91 – 25.60 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 36.60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์ พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 7.63, 4.51 และ 2.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 25.60 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นชีวภัณฑ์ครั้งสุดท้าย 7 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ยระหว่าง 7.95 – 32.23 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 44.15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์ พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 11.80, 7.33 และ 7.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 32.23 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นชีวภัณฑ์ครั้งสุดท้าย 14 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ยระหว่าง 9.58 – 37.60 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 51.73 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์ พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 16.83, 9.73 และ 9.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 37.60 เปอร์เซ็นต์

ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ในมะนาวหลังพ่นชีวภัณฑ์ครั้งสุดท้าย 7 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40, 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ 27.00, 73.27, 83.40 และ 81.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยกรรมวิธีพ่น

ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์สูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม)

ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ในมะนาวหลังพ่นชีวภัณฑ์ครั้งสุดท้าย 14 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40, 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ 27.31, 67.47, 81.19 และ 81.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยกรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์สูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม)

เนื่องจากการคัดเลือกชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคพืช ใช้เกณฑ์กำหนดว่าจะต้องมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคไม่ต่ำกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำเปล่า จึงทำให้กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงทดลองที่ 2

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ในมะนาวที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas citri* pv. *citri* โดยนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สูตรผงที่สามารถนำไปใช้ได้ง่าย ได้สารพาที่เหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 คือ Kaolin มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 9.25x10^9 หน่วยโคโลนี/กรัม ชีวภัณฑ์นี้เก็บรักษาได้เป็นเวลา 6 เดือนที่อุณหภูมิห้อง และ 10 เดือนที่อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส จากนั้นนำชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 ที่มี Kaolin เป็นสารพา ไปทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวในสภาพแปลงทดลอง ผลการทดลองทั้งสองแปลงให้ผลสอดคล้องกัน พบว่ากรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 40, 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) แต่เนื่องจากการคัดเลือกชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคพืช ใช้เกณฑ์กำหนดว่าจะต้องมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคไม่ต่ำกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำเปล่า ซึ่งทั้งสองแปลงทดลองให้ผลสอดคล้องกัน พบว่า กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA B27 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60, 80 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวในทั้งสองแปลงทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่. 2560. ดินขาว: เกาลิน. กพร. เศรษฐกิจปริทรรศน์. ปีงบประมาณ 2560 ฉบับที่ 4 ประจำเดือนมกราคม 2560. หน้า 15-17.

กาญจนา ศรีไม้ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ ดารุณี ปุญญพิทักษ์ และ รุ่งนภา ทองเครั่ง. 2564. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2564. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 695-712.

กุศล ถมมา และพิศาล ศิริธร. 2556. ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* B076 เพื่อการเคลือบเมล็ดและพ่นทางใบเพื่อควบคุมแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. แก่นเกษตร 40(1): 339-345.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2557. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum*. วารสารกรมวิชาการเกษตร. 32(3): 234-251.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล อรพรรณ วิเศษสังข์ และ ทัศนาพร ทัศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. *ใน* รายงานผลการวิจัยประจำปี 2547. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. หน้า 115-126.

นลินี ศิวากรณ์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และวสันต์ ผ่องสมบูรณ์. 2553. การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแคงเคอร์ของส้มโอ. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 2614-2629.

นลินี ศิวากรณ์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และวสันต์ ผ่องสมบูรณ์. 2556. ศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis* เพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเคอร์ของมะนาว. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 429-436.

พิศาล ศิริธร. 2551. การใช้แบคทีเรีย *Bacillus* ควบคุมโรคพืชในระบบการผลิตพืชที่ยั่งยืน. โรคพืช มข ปริทรรศน์. 2: 26-36.

พากเพียร อรัญนารถ นงรัตน์ นิลพานิชย์ วิชิต ศิริสันธนะ และ สมคิด ดิสถาพร. 2544. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว. วารสารวิชาการเกษตร ม.ค.- เม.ย. 2544, 19(1) : 4-12.

วงศ์ บุญสืบสกุล วิวัฒน์ ภานุอำไพ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รุ่งนภา คงสุวรรณ์ และปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ 2548. การใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus subtilis* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง. *ใน* รายงานผลการวิจัยประจำปี 2548 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1452-1459.

วาสนา กนกหงษ์. 2559. องค์ความรู้รักษาโรงแคงเกอร์ในมะนาวโดยไม่ต้องใช้สารเคมี. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://namkliang.sisaket.doae.go.th/km/16.%2016.pdf. (18 กุมภาพันธ์ 2560)

ศุภรักษ์ ศุภเอม. 2557. โรคแคงเคอร์ การจัดการด้วยแนวคิดใหม่. (ระบบออนไลน์) แหล่งข้อมูล : http://limeofpharmacist.blogspot.com/2014/11/blog-post.html. (21 กุมภาพันธ์ 2560)

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2561. สถิติการเกษตรของประเทศไทยปี 2561. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 214 หน้า.

สุรีย์พร บัวอาจ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บุษราคัม อุดมศักดิ์ และรุ่งนภา คงสุวรรณ์. 2555. คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพ ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และ *Erwinia chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละกล้วยไม้. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2555. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. หน้า 857-883.

Baker, K.F. and R. J. Cook. 1974. Biological Control of Plant Pathogen. W.H. Freeman, San Francisco. 433 p.

Civerolo, E.L. 1984. Bacterial canker disease of citrus. J. Rio Grande Valley Hort. Assoc. 37: 127-146.

Civerolo, E.L. 1994. Citrus bacterial canker disease in tropical regions. pp. 45-50. *In* M. Lemattre, S. Freigoun, K. Rudolph, and J.G. Swings, eds. Proceedings of the 8th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Paris.

Fiddaman, P. J. and S. Rossall. 1994. Effect of substrate on the production of antifungal volatiles from *Bacillus subtilis*, J. Appl. Bacteriol. 76 (4): 395-405.

Food and Agriculture Organization. 2012. Guidance for harmonizing pesticide regulatory management in Southest Asia. Rap Publication 2012/13, FAO, Rome, Italy.

Horsfall. J.G and J.W. Heuberger. 1942. Measuring magnitude of defoliation disease of tomatoes. Phytopathology. 32: 226-232.

Humaydan, H.S., G.E. Harman., B.L. Nedrow. and L.v. Dinitto. 1980. Eradication of *Xanthomonas campestris* the causal agent of black rot from Brassica seeds with antibiotic and sodium hypochlorite. *Phytopathology*. 70: 127-131.

Kloepper, J.W., C.M. Ryu, and S. Zhang, 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology 94: 1259-1266.

Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant diseases. Journal of Bioscience and Bioengineering 89(6): 515-521.

Table 1 Population of *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 in powder formulations using five different carrier materials

carrier	Population of *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 (CFU/g)
carrier 1 Kaolin	9.25×10^{9}
carrier 2 Kaolin + Potassium humate	1.93×10^{7}
carrier 3 Kaolin + amino acid	2.32×10^{7}
carrier 4 Kaolin + Potassium humate + amino	1.44×10^{7}
carrier 5 Kaolin + Diatomaceous earth	7.50×10^{9}

Table 2 Viability of *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 in powder formulation using kaolin as a carrier after storage at various time intervals under different temperature conditions

Month	Room temperature (28 ± 2°C) (CFU/g)	Temperature 4–15°C (CFU/g)
1	3.55×10^{9}	1.95×10^{9}
2	5.60×10^{9}	8.70×10^{9}
3	6.10×10^{9}	2.40×10^{9}
4	2.35×10^{8}	2.53×10^{9}
5	2.70×10^{8}	1.40×10^{9}
6	1.02×10^{8}	5.80×10^{8}
7	7.40×10^{7}	4.60×10^{8}
8	4.45×10^{5}	1.90×10^{8}
9	2.40×10^{5}	2.30×10^{8}
10	5.90×10^{4}	2.95×10^{8}
11	3.80×10^{2}	2.80×10^{7}
12	1.75×10^{2}	2.45×10^{6}
13	-	2.53×10^{5}
14	-	1.40×10^{4}
15	-	5.80×10^{3}

Table 3 Efficacy of the biocontrol agent *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 (1×10^9 cfu/g WP) in controlling citrus canker disease caused by *Xanthomonas citri* pv. *citri* in lime, conducted in Field Trial No. 1, Wang Yang Subdistrict, Si Prachan District, Suphan Buri Province, during August–October 2024

Treatment	Application rate (g / 20 L water)	Disease Severity Index (DSI) [1/] (%)						Efficacy of Disease Control (%) [2/] (After 4th)	
		Before biocontrol application				After final biocontrol application (After 4th)			
		1st	2nd	3rd	4th	7 Days	14 Days	7 Days	14 Days
1. *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP	40	3.18 a	6.73 b	13.66 ab	23.06 b	27.17 c	38.44 d	43.94	37.79
2. *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP	60	2.89 a	5.02 ab	8.75 a	11.58 a	16.44 b	22.56 c	66.08	63.49
3. *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP	80	3.25 a	4.54 a	8.11 a	10.36 a	11.65 ab	15.79 b	75.96	74.45
4. *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP	100	2.76 a	4.44 a	7.06 a	9.11 a	10.13 a	11.64 a	79.10	81.16
5. control	-	3.01 a	12.50 c	22.57 b	36.77 c	48.47 d	61.79 e	-	-
C.V. (%)		20.07	19.57	32.06	16.78	15.28	18.15	-	-

[1/] Means in the same column followed by the different superscript are significantly different (P<0.05) by DMRT.

[2/] Efficacy of disease control assessed at 7 and 14 days after the final application, in comparison with the water-treated control.

Table 4 Efficacy of the biocontrol agent Bacillus subtilis strain BS-DOA B27 (1×10^9 cfu/g WP) in controlling citrus canker disease caused by Xanthomonas citri pv. citri in lime, conducted in Field Trial No. 2, Bang Ngam Subdistrict, Si Prachan District, Suphan Buri Province, during August–October 2024

Treatment	Application rate (g / 20 L water)	Disease Severity Index (DSI) [1/] (%)						Efficacy of Disease Control (%) [2/] (After 4th)	
		Before biocontrol application				After final biocontrol application (After 4th)			
		1st	2nd	3rd	4th	7 Days	14 Days	7 Days	14 Days
1. *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP	40	0.29 a	3.48 a	19.65 b	25.60 b	32.23 b	37.60 b	27.00	27.31
2. *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP	60	0.33 a	1.80 a	4.75 a	7.63 a	11.80 a	16.83 a	73.27	67.47
3. *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP	80	0.32 a	1.13 a	3.05 a	4.51 a	7.33 a	9.73 a	83.40	81.19
4. *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 $1x10^9$ cfu/g WP	100	0.28 a	1.18 a	1.93 a	2.91 a	7.95 a	9.58 a	81.99	81.48
5. control	-	0.31 a	8.85 b	27.58 c	36.60 c	44.15 c	51.73 c	-	-
C.V. (%)		30.08	33.48	35.34	27.54	22.15	18.65	-	-

[1/] Means in the same column followed by the different superscript are significantly different (P<0.05) by DMRT.

[2/] Efficacy of disease control assessed at 7 and 14 days after the final application, in comparison with the water-treated control.

Figure 1 Powder formulations of *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 using five different carrier materials

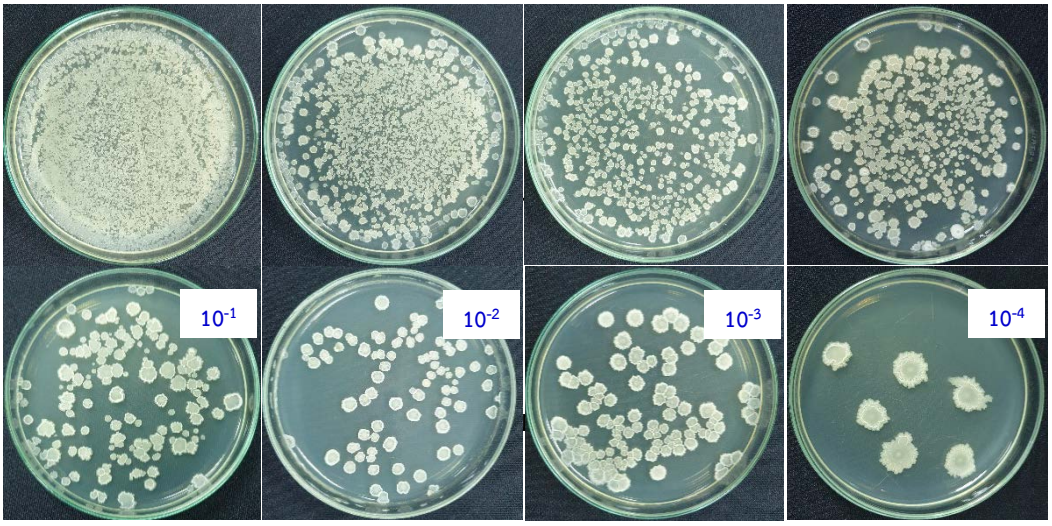


Figure 2 Enumeration of *Bacillus subtilis* strain BS-DOA B27 using the serial dilution plate count method on Tryptic Soy Agar (TSA)

พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วง

Development of Bio-product; *Bacillus subtilis* for Control Mango Anthracnose Disease

ธารทิพย ภาสบุตร รุ่งนภา ทองเครั็ง จุฬารัตน์ หน่อแก้ว กาญจนา ศรีไม้

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Anthracnose disease; caused by *Colletotrichum* species is the major disease of mango damage at all of growth stages, especially in humid tropical and subtropical growing areas. The use of biological agents to control anthracnose is another option that will help reduce the use of chemical fungicides. Therefore, *Bacillus subtilis* 20W18 was developed as a powdered bio product; kaolin as a carrier. The efficacy to control mango anthracnose disease was evaluated by field experiments at Sri Prachan and Sam Chuk districts, Suphan Buri province. The experiment design was RCB with 4 replications and 6 treatments: *B. subtilis* 20W18 1x10^9 cfu/g WP at 60, 90, 120, 150 grams per 20 liters of water, mancozeb 80% WP at 40 grams per 20 liters of water and water spray (control). All treatments conducted when anthracnose disease begins on inflorescence before bloom 50%. Spraying repeated every 7 days, 5 times, with disease severity evaluated before each application and 7 days after the final spray. And spraying again during the young fruit period when the fruit was about 3 centimeters long, spraying repeated every 7 days, 5 times. After spraying mango fruit the last time, wrapped the fruits in carbon paper bags until harvest. The experimental results evaluated by harvesting mango fruits and assessing disease severity. The results showed that *B. subtilis* 20W18 1x10^9 cfu/g WP rate 150 grams per 20 liters of water and mancozeb 80% WP rate 40 grams per 20 liters of water had statistically significant lower disease severity index than control. *B. subtilis* 20W18 1x10^9 cfu/g WP 150 grams per 20 liters of water had no statistically significant difference in disease severity index with mancozeb 80% WP at 40 grams per 20 liters of water. None of all treatments exhibited any phytotoxicity.

Keyword : anthracnose, *Bacillus subtilis* 20W18.

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-08-65

บทคัดย่อ

โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. เป็นโรคที่สำคัญของมะม่วงที่ปลูกในเขตร้อนชื้นและกึ่งเขตร้อน เชื้อสาเหตุสามารถทำความเสียหายได้กับทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช การใช้ชีวภัณฑ์เพื่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (fungicide) ดังนั้นจึงได้พัฒนา *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W18 ให้เป็นชีวภัณฑ์รูปแบบผงโดยใช้ดินขาว (เกาลิน; kaolin) เป็นสารพา และประเมินประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงในสภาพแปลงทดลอง โดยทำการทดลองจำนวน 2 แปลงทดลองที่อำเภอศรีประจันต์ และ อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 1x10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม อัตรา 60, 90, 120, 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) พ่นสารทดลองเมื่อพบการระบาดของโรคที่ช่อดอกในระยะก่อนดอกบาน 50 เปอร์เซ็นต์ พ่นซ้ำทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง ประเมินความรุนแรงของโรคก่อนพ่นสารทดลองทุกครั้งและหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 7 วัน และพ่นอีกครั้งในระยะติดผลอ่อน เมื่อผลมะม่วงมีขนาดเฉลี่ย 3 เซนติเมตร พ่นซ้ำทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง หลังพ่นสารครั้งสุดท้ายห่อผลด้วยถุงกระดาษคาร์บอน ประเมินผลการทดลองโดยเก็บผลมะม่วงมาประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส ซึ่งผลการทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 1x10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม อัตรา 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 1x10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม อัตรา 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองไม่พบความเป็นพิษ (phytotoxicity) ต่อพืช

คำหลัก : แอนแทรคโนส, *Bacillus subtilis* 20W18

คำนำ

มะม่วงเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย แต่ในการผลิตมะม่วงนอกจากปัญหาความแปรปรวนของสภาพอากาศ ลม ฝนภัยธรรมชาติและราคาแล้ว ปัญหาโรคแอนแทรคโนส (anthracnose) ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จัดเป็นปัญหาหนึ่งที่มีความสำคัญ ทำให้ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตลดลง เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายมะม่วงได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ตั้งแต่ระยะแตกใบอ่อน แทงช่อดอก จนถึงระยะติดผล ทั้งผลอ่อนและผลแก่ รวมทั้งสามารถเข้าทำลายแบบแฝง (quiescent infection) โดยไม่แสดงอาการของโรคในผลอ่อน แต่เมื่อผลมะม่วงแก่หรือเริ่มสุกก็จะแสดงอาการให้เห็นชัดเจน ซึ่งวิธีการที่ง่ายสะดวกและควบคุมโรคได้อย่างรวดเร็วคือ การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา แต่ปัจจุบันเริ่มพบว่า การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา

ในปริมาณมากต่อเนื่องกันเป็นประจำ นอกจากจะทำให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้นแล้ว ยังทำให้มีสารพิษตกค้างเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม รวมทั้งอาจส่งผลให้เกิดการดื้อยาของเชื้อสาเหตุโรค ทำให้ต้องเปลี่ยนสารป้องกันกำจัดโรคพืชชนิดใหม่เพื่อใช้แทนชนิดเดิมอยู่เสมอ การนำชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดโรคพืชมาใช้ควบคุมโรคพืช จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการช่วยลดปริมาณการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชและสอดคล้องกับนโยบายของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ซึ่งที่ผ่านมามีการศึกษาวิจัยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) ชนิดหนึ่ง ที่พบได้ทั่วไปในดิน วัสดุปลูก ปุ๋ยคอก รากพืช ผิวใบพืช เพาะเลี้ยงได้ง่าย สามารถควบคุมเชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด และจากการศึกษาของ บุษราคัมและณัฏฐิมา (2550) ที่ศึกษาการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง โดยทดลองจุ่มผลมะม่วงด้วย cell suspension ของแบคทีเรียกลุ่ม Bacillus 5 สายพันธุ์ ได้แก่ 20W5 20W17 20W16 20W17 และ 20W18 ในห้องปฏิบัติการ พบว่า *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ 20W18 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรคโนส ดังนั้นจึงได้นำ *B. Subtilis* สายพันธุ์ 20W18 ดังกล่าวมาพัฒนารูปแบบให้เป็นชีวภัณฑ์รูปแบบผง และได้วิธีการใช้ รวมทั้งข้อมูลประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงในสภาพแปลงทดลอง เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆ ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วง ส่งเสริมการเกษตรปลอดภัยและลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราได้อีกทางหนึ่ง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ 20W18
2. วัสดุและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
3. สวนมะม่วงของเกษตรกร
4. วัสดุอุปกรณ์การเกษตร
5. เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลัง ที่สามารถควบคุมแรงดันได้
6. วัสดุอุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

วิธีการ

1.การพัฒนารูปแบบการผลิตชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W18 (ปีงบประมาณ 2565)

1.1 ศึกษาสารพา (carrier) ที่เหมาะสมต่อ *Bacillus subtilis* 20W18

นำสารแขวนลอย *B. subtilis* 20W18 ที่ได้จากการเลี้ยงเพิ่มปริมาณมาปั่นเหวี่ยงตกตะกอนเก็บเฉพาะส่วนตะกอนมาละลายตะกอนด้วยสารละลาย 2.45% MgSO4.7H2O ทิ้งไว้ 10-15 นาที แล้วผสมด้วยสารละลาย CMC (carboxymethyl cellulose) ให้เข้ากันแล้วนำไปผสมกับสารพา 5 ชนิดที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ได้แก่ 1.Kaolin 2.Zeolite 3.Kaolin+Zeolite 4.Kaolin+amino

acid และ 5.Zeolite+amino acid หลังจากผสมกับสารพาแล้ว นำไปผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เมื่อแห้งดีแล้วตรวจนับจำนวนโคโลนีของ *B. subtilis* 20W18 ด้วยวิธี serial dilution plate method เพื่อประเมินความสามารถของ *B. subtilis* 20W18 ในการอยู่ร่วมกับสารพา

1.2 ศึกษาลักษณะการละลายน้ำและการแขวนลอยในน้ำของสารพาผสม *Bacillus subtilis* 20W18

ประเมินความสามารถในการละลายน้ำหลังผสมน้ำทันทีของสารพาที่ผสม *B. subtilis* 20W18 จำนวน 1 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร จับเวลาการละลายน้ำ โดยแบ่งการประเมินเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ละลายน้ำภายใน 1-5 นาที ระดับ 2 ละลายน้ำภายใน 6-10 นาที ระดับ 3 ละลายน้ำภายใน 11-30 นาที ระดับ 4 ละลายน้ำภายใน 30-60 นาที และระดับ 5 ไม่ละลายน้ำและหรือเกาะตัวเป็นกลุ่มด้านบนผิวน้ำ

ประเมินความสามารถการแขวนลอยในน้ำของสารพาที่ผสม *B. subtilis* 20W18 หลังผสมน้ำทันที โดยแบ่งเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 12 ชั่วโมง ระดับ 2 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 30-60 นาที ระดับ 3 ตะกอนหมดภายในเวลา 11-30 นาที ระดับ 4 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 5-10 นาที และระดับ 5 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 1-5 นาที

1.3 ตรวจความมีชีวิตรอด (shelf life) หลังการเก็บรักษา

แบ่งเก็บรักษาหัวเชื้อ *B. subtilis* 20W18 ชนิดผง ไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ 5-15 องศาเซลเซียส นำออกมาตรวจความมีชีวิตรอดของ *B. subtilis* 20W18 ด้วยวิธี serial dilution plate ทุกเดือนติดต่อกันเป็นระยะเวลา 12 เดือน นำผลการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ได้มาตัดสินคัดเลือกสารพาที่มีความเหมาะสมที่สุด 1 ชนิด สำหรับใช้ผลิต *B. subtilis* 20W18 ให้เป็นชีวภัณฑ์รูปแบบผง

2.การใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W18 เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงในสภาพแปลงทดลอง (ปีงบประมาณ 2566-2567)

2.1 เตรียมชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W18

เลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* 20W18 บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ให้ได้โคโลนีเดี่ยวอายุ 24-36 ชั่วโมง ย้ายลงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน จากนั้นนำ *B. subtilis* 20W18 ที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เก็บเฉพาะส่วนของตะกอน จากนั้นละลายตะกอนโดยใช้สาร แมกนีเซียมซัลเฟต [Magnesium Sulphate Heptahydrate (MgSO4.7H2O) 0.1 M] และสารละลาย carboxymethyl cellulose (CMC) 2.5% นำสารแขวนลอยไปผสมกับสารตัวพา Kaolin กวนให้เข้ากัน นำมาผึ่งไว้จนแห้ง บดให้เป็นผงละเอียด ตรวจนับจำนวนโคโลนีและคำนวณปริมาณประชากรของ *B. subtilis* 20W18 ก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5-15 องศาเซลเซียส เพื่อรอทำการทดลองต่อไป

2.2 การทดลองประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงในสภาพแปลงทดลอง

ดำเนินการทดลองที่สวนมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ของเกษตรกร อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 4 ซ้ำ ใช้มะม่วง 2 ต้น ต่อ 1 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 *B. subtilis* 20W18 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 *B. subtilis* 20W18 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 90 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 *B. subtilis* 20W18 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 120 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 *B. subtilis* 20W18 1x10^9 cfu/g WP อัตรา 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 น้ำเปล่า (ควบคุม)

ระยะช่อดอก (พัฒนาการของดอก) คัดเลือกต้นมะม่วงที่ช่อดอกสม่ำเสมอ ในระยะก่อนดอกบาน 50 เปอร์เซ็นต์ ช่อดอกมีความยาวเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 5 เซนติเมตร จำนวน 24 ต้นเพื่อเป็นหน่วยทดลอง พ่นสารทดลองตามกรรมวิธีเมื่อเริ่มพบการระบาดของโรคแอนแทรคโนส พ่นซ้ำทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง ประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสเป็นเปอร์เซ็นต์พื้นที่ช่อดอกที่แสดงอาการโรค จากช่อดอกที่ทำเครื่องหมายไว้จำนวน 20 ช่อต่อ 1 ซ้ำ ก่อนพ่นสารทดลองทุกครั้งและหลังพ่นสารทดลองครั้งสุดท้าย 7 วัน นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์พื้นที่ช่อดอกที่แสดงอาการโรค มาแบ่งเป็นระดับความรุนแรงของโรค 6 ระดับ (ดัดแปลงจาก Jamadar and Desai, 1997) ดังนี้

ระดับ 0 ไม่ปรากฏอาการโรค

ระดับ 1 แสดงอาการโรค 1-5 เปอร์เซ็นต์ของช่อดอก

ระดับ 2 แสดงอาการโรค 6-10 เปอร์เซ็นต์ของช่อดอก

ระดับ 3 แสดงอาการโรค 11-25 เปอร์เซ็นต์ของช่อดอก

ระดับ 4 แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของช่อดอก

ระดับ 5 แสดงอาการโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของช่อดอก

คำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค จากสูตร

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนช่อดอกที่เป็นโรคในแต่ละระดับ x ระดับ)}}{\text{จำนวนช่อดอกทั้งหมด x ระดับสูงสุด}} \times 100$$

คำนวณเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรค (Percentage disease control ; PDC) จากสูตร

$$\text{การควบคุมโรค (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A = ดัชนีความรุนแรงของโรคกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า

B = ดัชนีความรุนแรงของโรคกรรมวิธีพ่นสารทดลอง

ระยะผลอ่อน (พัฒนาการของผล) เริ่มพ่นสารทดลองตามกรรมวิธีอีกครั้ง เมื่อผลมะม่วงมีขนาดเฉลี่ย 3±2 เซนติเมตร พ่นซ้ำทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง หลังพ่นสารทดลองครั้งสุดท้าย ห่อผลด้วยถุงกระดาษคาร์บอน

จนกระทั่งเก็บเกี่ยว จากนั้นเก็บผลมะม่วงที่อยู่ในระยะเก็บเกี่ยว (ประมาณ 1 เดือน หลังจากพ่นสารครั้งสุดท้าย) ในแต่ละกรรมวิธี ซ้ำละ 20 ผล นำมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประเมินความรุนแรงของโรคเป็นเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผลที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนสบนผลแต่ละผล ในวันที่เก็บเกี่ยวผลผลิตและหลังจากเก็บเกี่ยวที่ 3 และ 6 วัน หรือเป็นระยะตามความเหมาะสม นำข้อมูลที่ได้มาแบ่งเป็นระดับความรุนแรงของโรค 6 ระดับ (ดัดแปลงจาก Corkidi *et* al., 2006; Brodrick HT, 1978.) ดังนี้

ระดับ 0 ไม่ปรากฏอาการโรค

ระดับ 1 แสดงอาการโรค 1-5 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผล

ระดับ 2 แสดงอาการโรค 6-10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผล

ระดับ 3 แสดงอาการโรค 11-25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผล

ระดับ 4 แสดงอาการโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผล

ระดับ 5 แสดงอาการโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผล

คำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค จากสูตร

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนผลที่เป็นโรคในแต่ละระดับ x ระดับ)}}{\text{จำนวนผลทั้งหมด x ระดับสูงสุด}} \times 100$$

คำนวณเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรค (Percentage disease control ; PDC) จากสูตร

$$\text{การควบคุมโรค (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A = ดัชนีความรุนแรงของโรคกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า

B = ดัชนีความรุนแรงของโรคกรรมวิธีพ่นสารทดลอง

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- บันทึกความรุนแรงของโรคที่ช่อดอกก่อนและหลังพ่นสารทดลอง
- บันทึกความรุนแรงของโรคบนผลมะม่วงหลังเก็บเกี่ยว
- บันทึกผลกระทบของสารทดลองหรือความเป็นพิษ (phytotoxicity) ต่อพืช ถ้ามีอาการผิดปกติเกิดขึ้น

เวลาและสถานที่

เวลา ระหว่างเดือนตุลาคม 2565 - กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

สวนมะม่วงของเกษตรกร อำเภอศรีประจันต์ และอำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.การพัฒนารูปแบบการผลิตชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W18 (ปีงบประมาณ 2565)

1.1 ศึกษาสารพา (carrier) ที่เหมาะสมต่อ *Bacillus subtilis* 20W18

ผลการศึกษาพบว่า Kaolin และ Kaolin + amino acid เป็นสารพาที่ดีมีปริมาณเชื้อ *B. subtilis* 20W18 เท่ากับ 5.35×10^9 และ 5.15×10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม (cfu/g.) ตามลำดับ รองลงมาได้แก่การใช้ Zeolite + amino acid และ Kaolin + Zeolite เป็นสารพามีปริมาณเชื้อ *B. subtilis* 20W18 เท่ากับ 2.3×10^9 และ 1.8×10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนการใช้ Zeolite เป็นสารพามีปริมาณเชื้อ *B. subtilis* 20W18 1.5×10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม

1.2 ศึกษาลักษณะการละลายน้ำและการแขวนลอยในน้ำของสารพาผสม *Bacillus subtilis* 20W18

ผลการศึกษาโดยประเมินความสามารถในการละลายน้ำและการแขวนลอยในน้ำของสารพาผสม *B. subtilis* 20W18 พบว่า ผงหัวเชื้อที่ใช้ Kaolin และ Kaolin + amino acid เป็นสารพาละลายน้ำได้ดี แขวนลอยอยู่ในน้ำได้นาน ตกตะกอนช้า ใช้เวลาในการตกตะกอน 30-60 นาที ในขณะที่ผงหัวเชื้อที่ใช้ Zeolite และ Kaolin + Zeolite เป็นสารพา ละลายน้ำได้ช้า ตกตะกอนเร็วใช้เวลาในการตกตะกอน 11-30 นาที ส่วนผงหัวเชื้อที่ใช้ Zeolite + amino acid เป็นสารพา ละลายน้ำได้ช้า ตกตะกอนเร็วโดยตกตะกอนหมดภายในเวลา 5-10 นาที

จากผลการประเมินข้อ 1.1 และ 1.2 จึงคัดเลือก Kaolin และ Kaolin + amino acid เป็นสารพาเพื่อผลิตหัวเชื้อชีวภัณฑ์ *B. subtilis* 20W18 ชนิดผง เนื่องจากมีปริมาณเชื้อ *B. subtilis* 20W18 ที่มีชีวิต 5.35×10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม ซึ่งมากกว่าการใช้ Zeolite, Kaolin+Zeolite, Kaolin+amino acid และ Zeolite+amino acid เป็นสารพา เพื่อทดลองเก็บรักษาและตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) หลังการเก็บรักษาต่อไป

1.3 การตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) หลังการเก็บรักษา

ผลการตรวจความมีชีวิตรอดของ *B. subtilis* 20W18 หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 เดือน พบว่า ผงหัวเชื้อที่ใช้ Kaolin + amino acid เป็นสารพา ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ไม่พบการเจริญของ *B. subtilis* 20W18 ส่วนที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5-15 องศาเซลเซียส พบการเจริญของ *B. subtilis* 20W18 แต่มีปริมาณ *B. subtilis* ที่มีชีวิตลดลง จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 4.5×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร หลังการเก็บรักษามีปริมาณเชื้อ 1.5×10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ส่วนผงหัวเชื้อที่ใช้ Kaolin เป็นสารพา หลังจากเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 เดือน พบว่า *B. subtilis* 20W18 ยังคงความมีชีวิตรอด จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 4.5×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml.) หลังการเก็บรักษาพบว่ามีปริมาณเชื้อ 1.2×10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ส่วนที่อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5.6×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร หลังการเก็บรักษาพบว่ามีปริมาณเชื้อ 1×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร

จากผลตรวจความมีชีวิตรอดข้อ 1.3 ดังนั้นจึงคัดเลือกดินขาว (Kaolin) เป็นสารพาเพื่อพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ *B. subtilis* 20W18 ให้เป็นชีวภัณฑ์ชนิดผง เนื่องจากสอดคล้องกับ FAO ที่ได้กำหนด

เกณฑ์ขั้นต่ำของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* สำหรับการเป็นชีวภัณฑ์ไว้ที่ 10^8 หน่วยโคโลนีต่อกรัม (Food and Agriculture Organization, 2012) และเพื่อนำไปประเมินประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงในสภาพแปลงทดลองต่อไป

2. การใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W18 เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงในสภาพแปลงทดลอง (ปีงบประมาณ 2566-2567)

แปลงทดลองที่ 1 อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี (Table 1)

ผลการประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสที่ช่อดอก

ก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120 และ 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่น สารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 6.25, 6.38, 7.26, 5.55, 5.38 และ 7.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งดัชนีความรุนแรงของโรคในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120 และ 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่น สารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรและกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 8.25, 7.00, 8.00, 6.00, 5.50 และ 9.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งดัชนีความรุนแรงของโรคในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120, 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 26.50, 18.00, 17.76, 13.75 และ 8.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 34.25 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 90, 120 และ150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ในขณะที่ กรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90 และ120 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร

ก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 4 กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120 และ150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 37.25, 23.75, 23.50, 17.25 และ 10.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 51.25 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 90, 120 และ150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ในขณะที่กรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90 และ120 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร **ก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 5** กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120 และ150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่น สารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 40.75, 31.25, 31.00, 21.50, 16.25เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 59.50 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90 และ 120 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร

หลังพ่นสารทดลองครั้งสุดท้าย 7 วัน กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120 และ150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 48.50, 39.25, 35.25, 28.00 และ 20.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 68.50 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 120 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร แต่ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60 และ 90 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

ผลการประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง (Table 2)

ผลการประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสในวันที่เก็บผลผลิต พบว่า กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120, 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 12.75, 11.50, 8.75, 6.00 และ 5.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 14.75 เปอร์เซ็นต์

ผลการประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสหลังเก็บเกี่ยว 3 วัน พบว่า กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120, 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 23.25, 22.50, 21.50 และ 18.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 24.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 17.25 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม)

ผลการประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสหลังเก็บเกี่ยว 6 วัน พบว่า กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60 และ 90 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 36.75 และ 36.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 38.25 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 120, 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 35.50, 30.00 และ 25.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม)

แปลงทดลองที่ 2 อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี (Table 3)

ผลการประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสที่ช่อดอก

ก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 กรรมวิธีพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120 และ 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่น สารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 2.50, 2.75, 2.60, 2.50, 2.75 และ 2.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งดัชนีความรุนแรงของโรคในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 90, 120 และ 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 11.25, 7.50, 3.50 และ 2.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 14.25 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 13.75 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ขณะที่กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติ แต่ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90 และ 120 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

ก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 120 และ 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 13.50, 13.00 และ 9.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 28.25 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60 และ 90 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 23.00 และ 21.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ในขณะที่กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 120 และ 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

ก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 4 กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 90, 120, 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 32.25, 24.00, 19.75 และ 13.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 39.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 36.50 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) โดยทุกกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

ก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 5 กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120, 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 40.00, 36.25, 29.5, 23.50, 18.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 47.75 เปอร์เซ็นต์ โดยที่กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติกับ กรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ส่วนกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90 และ120 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

หลังพ่นสารทดลองครั้งสุดท้าย 7 วัน กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 90, 120, 150 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 42.25, 32.75, 28.75 และ 21.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 49.70 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 47.75 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) โดยทุกกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

ผลการประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง (Table 4)

ผลการประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสในวันที่เก็บผลผลิตพบว่า กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60 และ 90 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 8.75 และ 7.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 10.50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 120, 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 4.25, 4.50 และ 3.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม)

ผลการประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสหลังเก็บเกี่ยว 3 วัน พบว่า กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120, 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 10.50, 9.00, 8.25 6.50 และ 5.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 14.25 เปอร์เซ็นต์ โดยที่กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 120 และ 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ส่วนกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60 และ 90 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร

ผลการประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสหลังเก็บเกี่ยว 6 วัน พบว่า กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 90, 120, 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 17.75, 17.50, 13.75 และ 10.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 29.75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 28.00 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม โดยที่กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ส่วนกรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 90 และ 120 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร

เปอร์เซ็นต์การควบคุมโรค (Percentage disease control ; PDC) (Table 5)

แปลงทดลองที่ 1

กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120 และ 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จากการประเมินโรคหลังพ่นสารทดลองครั้งสุดท้าย 7 วันพบว่า ควบคุมโรคที่ช่อดอกได้ 31.51, 47.48, 47.89 และ 63.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมโรคที่ช่อดอกได้ 72.69 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120 และ 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จากการประเมินโรคในวันที่เก็บเกี่ยวผลพบว่า ควบคุมโรคที่ผลได้ 13.56, 22.03, 40.68 และ 59.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมโรคที่ผลได้ 66.10 เปอร์เซ็นต์

แปลงทดลองที่ 2

กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120 และ 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จากการประเมินโรคหลังพ่นสารทดลองครั้งสุดท้าย 7 วันพบว่า ควบคุมโรคที่ช่อดอกได้ 16.23, 24.08, 38.21

และ 50.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมโรคที่ช่อดอกได้ 61.25 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีพ่น *B. subtilis* 20W18 อัตรา 60, 90, 120 และ 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรจากการประเมินโรคในวันที่เก็บเกี่ยวผลพบว่า ควบคุมโรคที่ผลได้ 16.67, 28.57, 57.14 และ 59.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมโรคที่ผลได้ 69.04 เปอร์เซ็นต์

ความเป็นพิษ (phytotoxicity) ของสารทดลองต่อพืช

ทุกกรรมวิธีที่พ่น *Bacillus subtilis* 20W18 1x109 หน่วยโคโลนีต่อกรัม และ กรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ไม่พบความเป็นพิษต่อพืชที่ใช้ในการทดลอง แต่พบคราบสีขาวบนพืชในทุกกรรมวิธีที่พ่น *Bacillus subtilis* 20W18 1x109 หน่วยโคโลนีต่อกรัม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดลองพัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วง การศึกษาครั้งนี้ พบว่า ในการพัฒนาชีวภัณฑ์ให้อยู่ในรูปแบบผง หัวเชื้อชีวภัณฑ์รูปแบบผงที่ใช้ดินขาว (เกาลิน; kaolin) เป็นสารพามีปริมาณเชื้อ *B. subtilis* 20W18 ที่มีชีวิต 5.35×10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม ผลการตรวจความมีชีวิตรอด (shelf life) หลังการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 12 เดือน พบว่า ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4.5×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml.) หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส มีปริมาณเชื้อ 1.2×10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ส่วนที่อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5.6×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร หลังการเก็บรักษามีปริมาณเชื้อ 1×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร การประเมินประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W18 1×10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม รูปแบบผงที่ใช้ดินขาวเป็นสารพา ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วง สภาพแปลงทดลอง ซึ่งดำเนินการที่ อำเภอศรีประจันต์ และอำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า การพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W18 1×10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม อัตรา 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร โดยวิธีการผสมน้ำพ่น มีดัชนีการเกิดโรคต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) และมีดัชนีการเกิดโรคไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร โดยที่แปลงทดลองที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคที่ช่อดอกและที่ผล 63.87 และ 59.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนแปลงทดลองที่ 2 เปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคที่ช่อดอกและที่ผล 50.78 และ 59.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ก่อนการดำเนินการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ควรมีความเข้าใจว่า การออกฤทธิ์ในการควบคุมโรคจะไม่รวดเร็วเท่ากับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แต่ละชนิดหรือสายพันธุ์มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อสาเหตุโรคพืชที่แตกต่างกัน ดังนั้นการวินิจฉัยเชื้อสาเหตุโรคที่ถูกต้องจึงมีความสำคัญ และระดับความรุนแรงของโรคที่จะทำการควบคุมต้องอยู่ในระดับที่เหมาะสม ถ้ามีความรุนแรงมาก ประสิทธิภาพของการควบคุมก็จะลดลงหรือไม่ได้ผล ในการควบคุมโดยชีววิธี

จะต้องเน้นการใช้แบบป้องกันก่อนการเกิดโรคหรือที่มีอาการโรคไม่รุนแรง ความถี่ในการใช้ที่ต่อเนื่องสม่ำเสมอ รวมทั้งสภาพแวดล้อมที่ใช้ต้องมีความเหมาะสมต่อชีวภัณฑ์ เช่น ไม่พ่นในช่วงที่มีอากาศร้อนจัด แสงแดดแรง แล้งจัด หรือมีฝนตกชุกติดต่อกัน เป็นต้น เนื่องจากรา *Colletotrichum* spp. ชอบสภาพอากาศร้อนและชื้น จึงสามารถเจริญเติบโตได้ตลอดปีในประเทศไทย สามารถเข้าทำลายมะม่วงได้ทุกระยะการเจริญเติบโต. เป็นราสาเหตุโรคพืชที่มีวงชีวิตที่ซับซ้อน บางช่วงชีวิตสามารถทำให้เกิดโรครุนแรงกับพืชอาศัยได้ แต่บางช่วงชีวิตเพียงอยู่อาศัยแบบแฝงกับพืชโดยไม่แสดงอาการของโรค เพื่อให้การควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด การควบคุมโรคแอนแทรคโนส ควรดำเนินการตั้งแต่ในแปลงปลูกกับทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช ตั้งแต่มะม่วงเริ่มแตกยอดอ่อน แทงช่อดอก ติดผลอ่อนจนถึงก่อนเก็บเกี่ยว ร่วมกับวิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (integrated pest management)

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าของสวนมะม่วง ที่อำนวยความสะดวกให้ใช้พื้นที่และต้นมะม่วงทดลอง ขอขอบคุณ คุณสราวุธ ยิสารคุณและทีมงาน รวมทั้งบุคลากรของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม Bacillus ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ. หน้า 896-913. *ใน*: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Brodrick HT, 1978. Methods for control of anthracnose and other diseases of mango. *In*: Zehr EI *et al*., ed. Methods for Evaluating Plant Fungicides, Nematicides, and Bactericides. St Paul, MN, USA: APS Press, 80–1.

Corkidi G., K. A. Balderas-Ruíz, B. Taboada, L. Serrano-Carreón and E. Galindo. 2006. *Assessing mango anthracnose using a new three-dimensional image-analysis technique to quantify lesions on fruit*. (Online). Available. https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-3059.2005.01321. (December 20, 2021).

Food and Agriculture Organization. 2012. *Guidance for harmonizing pesticide regulatory management in Southeast Asia*. (Online). Available. https:// www.fao.org/3/i2806e/i2806e.pdf. (November 29, 2022).

Jamadar, M. and Desai, S.A. 1997. Bioefficacy of dimethomorph against downy mildew of grapevine. *Advances of Agriculture Research in India*. 4: 81-85.

Table 1 Efficacy of *Bacillus subtilis* 20W18 for control inflorescence anthracnose Disease, at Sriprachan district, Suphanburi Province

Treatments	rate (g./20L.water)	Disease Severity Index (%)[1/]					
		before spray 1st	before spray 2nd	before spray 3rd	before spray 4th	before spray 5th	after spray 7 days
1. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	60	6.25 a	8.25 a	26.50 c	37.25 c	40.75 c	48.50 d
2. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	90	6.38 a	7.00 a	18.00 b	23.75 b	31.25 b	39.25 c
3. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	120	7.26 a	8.00 a	17.76 b	23.50 b	31.00 b	35.25 bc
4. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	150	5.55 a	6.00 a	13.75 ab	17.25 ab	21.50 a	28.00 ab
5. mancozeb 80% WP	40	5.38 a	5.50 a	8.00 a	10.50 a	16.25 a	20.50 a
6. water (control)	-	7.93 a	9.25 a	34.25 d	51.25 d	59.50 d	68.50 e
CV (%)		**28.96**	**33.06**	**19.55**	**16.51**	**14.14**	**13.61**

[1/] Means in the same column followed by the same letters are not significantly different at 95% according to DMRT.

Table 2 Efficacy of *Bacillus subtilis* 20W18 for control mango fruit anthracnose Disease, at Sriprachan district, Suphanburi Province

Treatments	rate (g./20L.water)	Disease Severity Index (%)[1/]		
		Harvest day	after harvest 3 days	after harvest 6 days
1. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	60	12.75 d	23.25 b	36.75 ab
2. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	90	11.50 d	22.50 ab	36.00 ab
3. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	120	8.75 b	21.50 ab	35.50 a
4. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	150	6.00 ab	18.50 ab	30.00 a
5. mancozeb 80% WP	40	5.00 a	17.25 a	25.00 a
6. water (control)	-	14.75 c	24.00 b	38.25 b
C.V. (%)		**15.86**	**17.56**	**20.95**

[1/] Means in the same column followed by the same letters are not significantly different at 95% according to DMRT.

Table 3 Efficacy of *B. subtilis* 20W18 for control inflorescence anthracnose disease, at Sam Chuk district, Suphanburi Province

Treatments	rate (g./20L.water)	Disease Severity Index (%)[1/]					
		before spray 1st	before spray 2nd	before spray 3rd	before spray 4th	before spray 5th	after spray 7 days
1. *B. subtilis* 20W18 1x10^9 cfu/g WP	60	2.50 a	13.75 cd	23.00 b	36.50 cd	40.00 c	47.75 d
2. *B. subtilis* 20W18 1x10^9 cfu/g WP	90	2.75 a	11.25 c	21.75 b	32.25 c	36.25 c	42.25 c
3. *B. subtilis* 20W18 1x10^9 cfu/g WP	120	2.60 a	7.50 b	13.50 a	24.00 b	29.5 b	32.75 b
4. *B. subtilis* 20W18 1x10^9 cfu/g WP	150	2.50 a	3.50 a	13.00 a	19.75 b	23.50 a	28.75 b
5. mancozeb 80% WP	40	2.75 a	2.75 a	9.75 a	13.25 a	18.50 a	21.50 a
6. water (control)	-	2.50 a	14.25 d	28.25 b	39.50 d	47.75 d	49.75 d
CV (%)		**55.05**	**20.25**	**23.89**	**14.18**	**11.18**	**9.72**

[1/] Means in the same column followed by the same letters are not significantly different at 95% according to DMRT.

Table 4 Efficacy of *Bacillus subtilis* 20W18 for control mango fruit anthracnose disease, at Sam Chuk district, Suphanburi Province

Treatments	rate (g./20L.water)	Disease Severity Index (%)[1/]		
		Harvest day	after harvest 3 days	after harvest 6 days
1. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	60	8.75 c	10.50 c	28.00 c
2. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	90	7.50 bc	9.00 bc	17.75 b
3. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	120	4.50 ab	8.25 ab	17.50 b
4. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	150	4.25 ab	6.50 ab	13.75 ab
5. mancozeb 80% WP	40	3.25 a	5.50 a	10.50 a
6. water (control)	-	10.50 c	14.25 d	29.75 c
C.V. (%)		**33.95**	**21.30**	**19.30**

[1/] Means in the same column followed by the same letters are not significantly different at 95% according to DMRT.

Table 5 Percentage disease control (PDC) at Sriprachan district (location1) and Sam Chuk district (location2), Suphanburi Province

Treatments	rate (g./20Lwater)	Disease control (%)			
		Location 1		Location 2	
		inflorescence anthracnose	fruit anthracnose	inflorescence anthracnose	fruit anthracnose
1. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	60	31.51	13.56	16.23	16.67
2. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	90	47.48	22.03	24.08	28.57
3. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	120	47.89	40.68	38.21	57.14
4. *B. subtilis* 20W18 1x109 cfu/g WP	150	63.87	59.32	50.78	59.52
5. mancozeb 80% WP	40	72.69	66.10	61.25	69.04

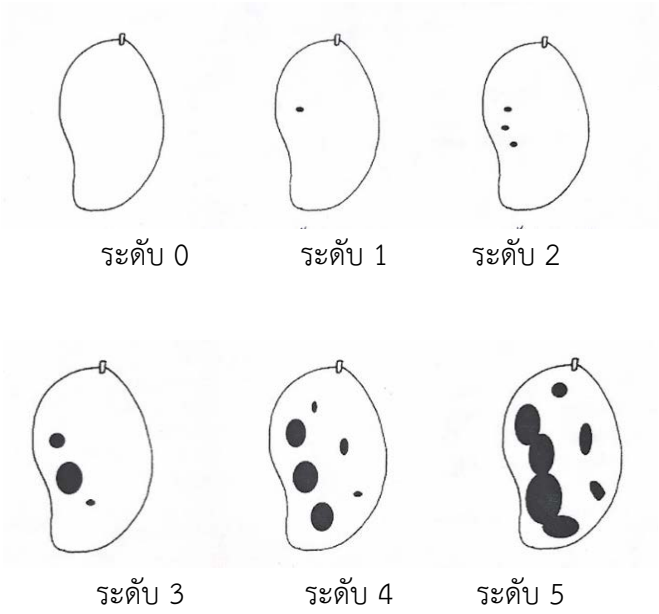


Figure 1 Assessment for field evaluation of severity of mango anthracnose based on experimentally measured percentage of affected area and adapted from Brodrick's (1978) scale

Figure 2 Anthracnose symptoms on mango fruits under effect of different treatments: T1= Bs 20 W18 rate 60 g./20Lwater, T2= Bs 20 W18 rate 90 g./20Lwater, T3= Bs 20 W18 20 W18 rate 120 g./20Lwater, T4= Bs 20 W18 rate 150 g./20Lwater, T5=mancozeb 80% WP rate 40 g/20Lwater andT6= water (control)

ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora*

High Potential Evaluation of *Bacillus subtilis* for Controlling Root Rot and Stem Rot of Durian Caused by *Phytophthora palmivora*

มะลิดา ชูรินทร์[1/] บุษราคัม อุดมศักดิ์[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] สุรีย์พร บัวอาจ[1/]
ณัฐธิดา เติมสังข์[1/] มาลัยพร เชื้อบัณฑิต[2/] นพวรรณ นิลสุวรรณ[3/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน
[3/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสงขลา สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8

Abstract

The cultivation of durian, farmers often face the problem of root rot and stem rot caused by *Phytophthora palmivora*, which can be found at all stages of plant growth. This research aims to evaluate the high potential of *Bacillus subtilis* for controlling root rot and stem rot of durian. Selecting 198 strains of bacteria. The experiment found that three strains of bacteria were the most effective, including BS-DOA 15G3, BS-DOA 22W12, and BS-DOA 5102, for controlling root rot and stem rot in the laboratory. After that, bring these bacteria to produce wettable powder bioproducts for controlling disease under the field experiment in Khlung District, Chanthaburi Province. It found that BS-DOA 22W12 bioproduct is the most effective to apply on the lesion (1,000 grams per 1 liter of water) and water the plant (75 grams per 1 liter of water). After that, use bioproduct application for controlling root rot and stem rot of durian. Two experiments were conducted in farmer fields in Sadao district and Ratthaphum district, Songkhla province, during June-December 2024. These experiments were designed as a Randomized Complete Block Design (RCB) with 6 treatments and 4 replications. The results showed that both experiments were consistent, it found that Treatment 3 (BS-DOA 22W12 bioproduct apply on the lesion + BS-DOA 22W12 bioproduct watering around the plant) was not significantly different from Treatment 4 (metalaxyl 25% WP apply on the lesion + metalaxyl 25% WP watering around the plant). But significantly,

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-09-66

Treatment 5 (water apply on the lesion + watering around the plant). Therefore, it can be concluded that the application of lesion with watering around the plant by BS-DOA 22W12 bioproduct and metalaxyl 25% WP is effective in controlling root rot and stem rot.

Keywords : Durian, root rot and stem rot, bioproduct

บทคัดย่อ

การปลูกทุเรียนในปัจจุบันเกษตรกรมักประสบปัญหาการระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สามารถพบได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน โดยการคัดเลือกแบคทีเรียจำนวน 198 สายพันธุ์ ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 3 สายพันธุ์ ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ BS-DOA 15G3, BS-DOA 22W12 และ BS-DOA 5102 แล้วนำแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าวไปผลิตชีวภัณฑ์สูตรผง เพื่อทดสอบอัตราการใช้ของชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในสภาพแปลงทดลอง ณ อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี พบว่าการทาแผลด้วยชีวภัณฑ์ BS-DOA 22W12 อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และการรดรอบโคนต้นด้วยชีวภัณฑ์ BS-DOA 22W12 อัตรา 75 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า หลังจากนั้นทดสอบวิธีการใช้ของชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในแปลงของเกษตรกร จำนวน 2 แปลงทดลอง ณ อำเภอสะเดา และอำเภอรัตภูมิ จังหวัดสงขลา ระหว่างเดือนมิถุนายน - เดือนธันวาคม 2567 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) 5 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ จากผลการทดลองแปลงเกษตรกรทั้ง 2 แปลงให้ผลสอดคล้องกัน พบว่ากรรมวิธีที่ 3 (ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12) ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 4 (ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP + รดรอบโคนต้นด้วย metalaxyl 25% WP) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 5 (ทาแผลด้วยน้ำเปล่า + รดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า) จึงสรุปได้ว่ากรรมวิธีที่ทาแผลร่วมกับรดรอบโคนต้นทุเรียนด้วยชีวภัณฑ์ BS-DOA 22W12 และสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl 25% WP มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

คำหลัก : ทุเรียน โรครากเน่าโคนเน่า ชีวภัณฑ์

คำนำ

ทุเรียน (Durian; *Durio zibethinus* Murr) อยู่ในวงศ์ (Family) Bombacaceae (นลินี และคณะ, 2556) มีถิ่นกำเนิดบริเวณหมู่เกาะอินเดีย และในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (เสมอใจ, 2548) ปัจจุบันพบว่าทุเรียนเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย จากรายงานการผลิต

ทุเรียนในปี 2566 มีเนื้อที่การเพาะปลูกจำนวน 1,571,162 ไร่ ผลผลิตจำนวน 1,480,978 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2566) นอกจากมีการผลิตเพื่อการบริโภคในประเทศแล้ว ยังส่งออกผลสดและแปรรูปในรูปแบบต่างๆ ไปยังต่างประเทศ เช่น ประเทศจีน ไต้หวัน และมาเลเซีย เป็นต้น (กลุ่มสารสนเทศการเกษตร สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดยะลา, 2561) แหล่งผลิตทุเรียนที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี ชุมพร สุราษฎร์ธานี ระยอง และนครศรีธรรมราช เป็นต้น (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562)

ในปัจจุบันพบว่าปริมาณและคุณภาพของผลผลิตทางการเกษตรอยู่ในระดับที่ต่ำกว่ามาตรฐาน ซึ่งสาเหตุหลักเกิดจากปัจจัยต่างๆ ในระบบการผลิต เช่น การจัดการศัตรูพืช เนื่องจากเกษตรกรผู้ที่เกี่ยวข้องส่วนใหญ่ขาดความรู้ ความเข้าใจในการจัดการศัตรูพืช เป็นสาเหตุให้มีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชมากเกินความจำเป็น ตลอดจนการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชเป็นระยะเวลานานอาจจะทำให้เชื้อสาเหตุโรคเกิดอาการดื้อต่อสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช การปลูกทุเรียนมักประสบปัญหาด้านการระบาดของศัตรูพืช โดยพบว่าเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญของทุเรียน คือ โรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ลักษณะอาการที่พบใบทุเรียนไม่เป็นมัน ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และใบอาจหลุดร่วงทั้งต้น หรือด้านใดด้านหนึ่งของทรงพุ่ม หรือกิ่งใดกิ่งหนึ่ง เมื่อใบหลุดร่วงระดับรุนแรง อาจสังเกตลักษณะอาการอื่นได้ เช่น บริเวณโคนต้น หรือกิ่งเน่าช่วงเช้าที่อากาศชื้นจะเห็นหยดน้ำสีน้ำตาลปนแดงออกมาจากแผล เมื่อถากเปลือกออกจะเห็นรอยแผลสีน้ำตาลแดง และขยายตัวลุกลามไปตามขวางหรือด้านตั้ง ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค หากแผลขยายลุกลามเกินครึ่งลำต้น จะพบอาการใบสลดเหลืองร่วงด้านใดด้านหนึ่งของลำต้น ลักษณะอาการที่รากพบลักษณะแผลคล้ายกับที่โคนต้น ส่วนอาการเน่าที่รากฝอยมักพบในสวนทุเรียนที่ปลูกแบบยกร่อง พบอาการรากเน่าดำบริเวณปลายราก เปลือกของรากมีลักษณะเปื่อย ดึงขาดออกจากกันโดยง่าย เชื้อราสาเหตุโรคสามารถพักตัวในดินได้นาน และแพร่ระบาดโดยการปล่อย zoospore ในดิน แหล่งน้ำ หรือลมพัดพาไปกับอนุภาคของดิน เป็นต้น (มาลัยพร, 2561)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control of plant pathogen) คือ การลดปริมาณประชากรของเชื้อโรคพืชหรือลดกิจกรรมของเชื้อก่อโรคที่จะก่อให้เกิดโรคกับพืชให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืช โดยปัจจุบันการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืชได้รับความสนใจและนำมาปรับใช้ควบคุมโรคพืชทดแทนการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช (Prathuangwong, 2016) ซึ่งกลไกหลักของแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยทั่วไป คือ การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชทั้งในลักษณะการผลิตสารยับยั้ง (antibiosis) และการเจริญแข่งขันครอบครองพื้นที่ (competition) กับเชื้อสาเหตุโรคที่ผิวพืช (Campbell, 1989; Suwanto *et al*., 1996) นอกจากนี้ยังความสามารถในการอยู่อาศัยร่วมกับรากพืชและไม่เป็นโทษกับพืช (mutualism หรือ symbiosis) เพื่อส่งเสริมการใช้ธาตุอาหารของพืช ตลอดจนกระตุ้นให้พืชผลิตสารต่างๆ ออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อโรคในกลไก systemic acquired resistance (SAR) และ induced system resistance (ISR)

รวมทั้งการผลิตสารกระตุ้นให้พืชเจริญเติบโตได้เต็มศักยภาพทางพันธุกรรมที่จัดเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Prathuangwong, 2016)

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์บางชนิดสามารถผลิตเป็นการค้าแล้ว เช่น *Bacillus subtilis* เป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชได้หลากหลายชนิด โดย ณัฏฐิมา และคณะ (2548) ได้ทำการแยกแบคทีเรีย *B. subtilis* จากดิน รากพืชและปุ๋ยคอก ได้จำนวน 525 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* พบว่ามีจำนวน 4 สายพันธุ์ ที่สามารถควบคุมและลดการเกิดโรคเหี่ยวของขิงได้ประมาณ 70-100% ส่วนบุษราคัม และคณะ (2555) พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ BS-DOA 20W1, BS-DOA 20W4, BS-DOA 17G18 และ BS-DOA 20W5 สามารถลดการเกิดโรคใบจุดคะน้าเท่ากับ 32.88, 34.70, 34.97 และ 38.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม นอกจากนั้น นลินีและคณะ (2556) ได้ทดสอบแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 5102 พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* ในห้องปฏิบัติการ แล้วนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในสภาพแปลงทดลอง ด้วยการทาชีวภัณฑ์ BS-DOA 5102 จำนวน 4 ครั้ง และฉีดชีวภัณฑ์เข้าในต้นทุเรียนจำนวน 1 ครั้ง พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค จึงเป็นเหตุผลสำคัญในการศึกษาประสิทธิภาพ *B. subtilis* ในควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน เพื่อทดแทนหรือลดปริมาณการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อรา *Phytophthora palmivora*
2. แบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, ชีวภัณฑ์บาซิลลัส
3. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl 25% WP
4. วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ เครื่องชั่งสาร และตู้เขี่ยเชื้อ เป็นต้น
5. แผ่นป้ายสำหรับแต่ละกรรมวิธี
6. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

วิธีการ

1. ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *B. subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อรา *P. palmivora* และแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ในศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์และจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช แล้วนำเชื้อรา *P. palmivora* เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่มีอายุ 7 วัน หรือจนกระทั่งเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้ cork borer

ขนาด 0.5 เซนติเมตร เจาะวุ้นตรงปลายเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* แล้ววางลงบนกึ่งกลางของจานเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นนำแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลทต่างๆ ที่เลี้ยงบนอาหาร PSA นาน 24 ชั่วโมง แล้วใช้ลูปมาตรฐานขีดเป็นเส้นตรง ยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ขนานกับโคโลนีของเชื้อรา ทดสอบทั้ง 4 ด้าน ระยะห่างจากโคโลนีเชื้อราประมาณ 2 เซนติเมตร คัดเลือกแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า

2. ทดสอบอัตราการใช้ของชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

2.1 เตรียมชีวภัณฑ์

นำแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าสูงสุดจำนวน 3 สายพันธุ์ ผสมสารปรุงแต่งเป็นชีวภัณฑ์สูตรผงโดยใช้เกาลิน (kaolin) เป็นสารพา ตามวิธีของบุษราคัม และคณะ (2557; 2561)

2.2 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าบนต้นทุเรียนด้วยวิธีการทาแผล

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) ประกอบด้วย 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ชีวภัณฑ์ BS-DOA 15G3 อัตรา 750 กรัม/ น้ำ 1 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ชีวภัณฑ์ BS-DOA 15G3 อัตรา 1,000 กรัม/ น้ำ 1 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ชีวภัณฑ์ BS-DOA 22W12 อัตรา 750 กรัม/ น้ำ 1 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ชีวภัณฑ์ BS-DOA 22W12 อัตรา 1,000 กรัม/ น้ำ 1 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ชีวภัณฑ์ BS-DOA 5102 อัตรา 750 กรัม/ น้ำ 1 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ชีวภัณฑ์ BS-DOA 5102 อัตรา 1,000 กรัม/ น้ำ 1 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl 25% WP อัตรา 50 กรัม/ น้ำ 1 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 น้ำเปล่า (ควบคุม)

คัดเลือกแปลง เลือกต้นทุเรียนที่เป็นโรคจากแหล่งปลูกที่มีการระบาดของโรค มีระยะปลูกสม่ำเสมอ มีอายุใกล้เคียงกัน ใช้มีดขูด หรือถากเปลือกทุเรียนบริเวณขอบแผลที่เป็นโรคออก 1-2 มิลลิเมตร วัดขนาดแผลกว้าง x ยาว ก่อนทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์บาซิลลัสในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า จากนั้นนำชีวภัณฑ์ตามอัตราข้างต้น ทาทับบนแผล จำนวน 4 ครั้ง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl 25% WP และน้ำเปล่า (ควบคุม) ประเมินประสิทธิภาพหลังสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 15 และ 30 วัน

2.3 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *B. subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าบนต้นทุเรียนด้วยการรดรอบโคนต้น

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) ประกอบด้วย 8 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ชีวภัณฑ์ BS-DOA 15G3 อัตรา 75 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ชีวภัณฑ์ BS-DOA 15G3 อัตรา 100 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ชีวภัณฑ์ BS-DOA 22W12 อัตรา 750 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ชีวภัณฑ์ BS-DOA 22W12 อัตรา 100 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ชีวภัณฑ์ BS-DOA 5102 อัตรา 750 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ชีวภัณฑ์ BS-DOA 5102 อัตรา 100 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl 25% WP อัตรา 50 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 น้ำเปล่า (ควบคุม)

คัดเลือกแปลง เลือกต้นทุเรียนที่เป็นโรคจากแหล่งปลูกที่มีการระบาดของโรค ประเมินต้นที่เป็นโรคก่อนรดสารทดลองทุกครั้ง จากนั้นนำชีวภัณฑ์ตามอัตราข้างต้น รดดินรอบๆ โคนต้นทุเรียน จำนวน 4 ครั้ง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl 25% WP และน้ำเปล่า (ควบคุม) ประเมินประสิทธิภาพหลังสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 15 และ 30 วัน

วิธีการประเมินความสมบูรณ์ของต้น โดยแบ่งระดับความสมบูรณ์ต้น (ดัดแปลงจาก ศิริพร, 2558) มีดังนี้

ระดับ 0 ระดับความสมบูรณ์ดีมาก 90-100% โครงสร้างของต้นดี ทรงพุ่มสวยงาม ปริมาณใบค่อนข้างหนาแน่น ใบสีเขียวเป็นมัน ปราศจากโรคเข้าทำลาย (ไม่ปรากฏอาการของโรค)

ระดับ 1 ระดับความสมบูรณ์ดีปานกลาง 80-89 % โครงสร้างของต้นดี ทรงพุ่มสวยงาม ปริมาณใบค่อนข้างหนาแน่น ใบสีเขียวเป็นมัน มีโรคเข้าทำลายไม่เกิน 5 %

ระดับ 2 ระดับความสมบูรณ์ดี 70-79 % โครงสร้างของต้นค่อนข้างดี ทรงพุ่มสวยงามปานกลาง ปริมาณใบค่อนข้างหนาแน่น ใบสีเขียวเป็นมัน โรคเข้าทำลายลำต้นและกิ่งก้านเล็กน้อย แต่ไม่ถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อต้นทุเรียน การเข้าทำลายของโรคในภาพรวมทั้งต้นอยู่ระหว่าง 6-20%

ระดับ 3 ระดับความสมบูรณ์น้อย 60-69 % โครงสร้างของต้นค่อนข้างดี ทรงพุ่มสวยงามปานกลาง ปริมาณใบค่อนข้างน้อย ใบสีเขียวเป็นมัน โรคเข้าทำลายลำต้นและกิ่งก้านแต่ไม่ถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อต้นทุเรียน การเข้าทำลายของโรคในภาพรวมทั้งต้นอยู่ระหว่าง 21-40%

ระดับ 4 ระดับความสมบูรณ์น้อยมาก 50-59 % โครงสร้างของต้นดี ทรงพุ่มสวยงาม ปริมาณใบค่อนข้างหนาแน่น ใบเหลือง โรคเข้าทำลายลำต้นและกิ่งก้านในระดับค่อนข้างรุนแรง การเข้าทำลายของโรคในภาพรวมทั้งต้นอยู่ระหว่าง 41-59%

ระดับ 5 ระดับทรุดโทรม ความสมบูรณ์น้อยกว่า 50 % โครงสร้างของต้นไม่ค่อยดี ทรงพุ่มไม่สวยงาม ปริมาณใบน้อยมาก ใบเหลืองซีดและมีขนาดเล็ก โรคเข้าทำลายที่ลำต้น กิ่ง ใบ รากในระดับค่อนข้างรุนแรงมาก อาจฟื้นฟูได้แต่ไม่คุ้มค่าการลงทุน การเข้าทำลายของโรคในภาพรวมทั้งต้นมากกว่า 60%

$$\text{ความสมบูรณ์ของต้นทุเรียน (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นความสมบูรณ์ของต้นทุเรียนในแต่ละระดับ x ระดับ)} \times 100}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับสูงสุด}}$$

3. ทดสอบวิธีการใช้ของชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในสภาพแปลง จำนวน 2 แปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) ประกอบด้วย 6 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น

กรรมวิธีที่ 1 ทาแผลด้วยน้ำเปล่า + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12

กรรมวิธีที่ 2 ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า

กรรมวิธีที่ 3 ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12

กรรมวิธีที่ 4 ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP + รดรอบโคนต้นด้วย metalaxyl 25% WP

กรรมวิธีที่ 5 ทาแผลด้วยน้ำเปล่า + รดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า (ควบคุม)

คัดเลือกแปลง เลือกต้นทุเรียนที่เป็นโรคจากแหล่งปลูกที่มีการระบาดของโรค วัดขนาดแผล กว้าง x ยาว ก่อนทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์บาซิลลัสในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน จากนั้นนำชีวภัณฑ์ ทาทับบนแผล เดือนละ 1 ครั้ง จำนวน 6 ครั้ง และวัดการขยายขนาดของแผลหลังสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 30 วัน

การประเมินความอุดมสมบูรณ์ของต้นทุเรียน ประเมินต้นที่เป็นโรคก่อนรดสารทดลองทุกครั้ง โดยรดชีวภัณฑ์บริเวณดินรอบๆ โคนต้นทุเรียน เดือนละ 1 ครั้ง จำนวน 6 ครั้ง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl 25% WP และน้ำเปล่า (ควบคุม) และประเมินประสิทธิภาพหลังรดสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 30 วัน

เวลาและสถานที่

เวลา	เดือนตุลาคม 2566 - เดือนมีนาคม 2567
สถานที่	กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงเกษตรกร อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี, อำเภอสะเดาและอำเภอรัตภูมิ จังหวัดสงขลา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *B. subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในห้องปฏิบัติการ

นำแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 198 สายพันธุ์ ที่เก็บไว้ในเก็บรักษาไว้ในศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์และจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) พบว่ามีจำนวน 10 สายพันธุ์ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* โดยมีค่าเฉลี่ยของ Inhibition zone อยู่ระหว่าง 1.80-1.18 เซนติเมตร โดยพบว่ามี *B. subtilis* จำนวน 3 สายพันธุ์ ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ BS-DOA 15G3, BS-DOA

22W12 และ BS-DOA 5102 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของ Inhibition zone เท่ากับ 1.65, 1.80 และ 1.53 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 1 and Figure 1)

2. ทดสอบอัตราการใช้ของชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

2.1 ขั้นตอนการผลิตชีวภัณฑ์สูตรผงละลายน้ำ

นำแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 15G3, BS-DOA 22W12 และ BS-DOA 5102 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน โดยเลี้ยงบนอาหาร Potato Sucrose Agar (PSA) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมสารละลาย $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ผสมด้วย methyl cellulose อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อ 40 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นขูดแบคทีเรียบริเวณผิวหน้าอาหาร เติมสารละลาย 2.5% Carboxymethyl-cellulose sodium salt (CMC) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์คนผสมให้เข้ากัน เทสารละลายที่ได้ผสมลงในเกาลิน อัตรา 400 มิลลิลิตรต่อเกาลิน (kaolin) 800 กรัม แล้วผึ่งลมให้แห้งนาน 3 วัน นำไปบดให้ละเอียดตามวิธีของบุษราคัม และคณะ (2557; 2561) นำชีวภัณฑ์ที่ได้ บรรจุลงถุงอลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อนำไปทดสอบในสภาพแปลงทดลอง (Figure 2)

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยวิธีการทาแผล

ก่อนทาสารทดลองครั้งที่ 1 การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยวิธีการทาแผล ณ แปลงเกษตรกร อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี พบว่าในทุกกรรมวิธีทดลองเมื่อสังเกตดูลักษณะของแผลภายนอก แผลมีลักษณะฉ่ำ และมีน้ำเยิ้มไหลออกมา หลังจากนั้นถากส่วนที่เป็นโรคออกให้หมด และวัดขนาดของแผล หลังจากนั้นทาแผลด้วยชีวภัณฑ์ BS-DOA 15G3 อัตรา 750 และ 1,000 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ตามลำดับ ชีวภัณฑ์ BS-DOA 22W12 อัตรา 750 และ 1,000 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ตามลำดับ ชีวภัณฑ์ BS-DOA 5102 อัตรา 750 และ 1,000 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร สารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl 25% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร และกรรมวิธีทาแผลด้วยน้ำเปล่า (Table 2 and Figure 3)

ก่อนทาสารทดลองครั้งที่ 2 การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยวิธีการทาแผลก่อนทาสารทดลองครั้งที่ 2 พบว่ากรรมวิธีที่ 2 (BS-DOA 15G3) กรรมวิธีที่ 4 (BS-DOA 22W12) กรรมวิธีที่ 6 (BS-DOA 5102) กรรมวิธีที่ 7 (ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP) อัตรา 1,000, 1,000, 1,000 กรัม และ 50 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ตามลำดับ มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 0, 0, 0, 0 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 1 (BS-DOA 15G3) กรรมวิธีที่ 3 (BS-DOA 22W12) และกรรมวิธีที่ 5 (BS-DOA 5102) อัตรา 750, 750, 750 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร และกรรมวิธีที่ 8 ทาแผลด้วยน้ำเปล่า (ควบคุม) ตามลำดับ มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 2.75, 2.50, 2.65 และ 3.85 เซนติเมตร ตามลำดับ

ก่อนทาสารทดลองครั้งที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยวิธีการทาแผลก่อนทาสารทดลองครั้งที่ 3 พบว่ากรรมวิธีที่ 1-7 มีค่าการขยายขนาดของแผลระหว่าง 0-3.42 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 8 ทาแผลด้วยน้ำเปล่า (ควบคุม) มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 5.81 เซนติเมตร นอกจากนั้นยังพบว่ากรรมวิธีที่ 7 (ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP) อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งมีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 0 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 1-6 มีค่าการขยายขนาดของแผลระหว่าง 2.20-3.42 เซนติเมตร

ก่อนทาสารทดลองครั้งที่ 4 การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยวิธีการทาแผลก่อนทาสารทดลองครั้งที่ 3 พบว่ากรรมวิธีที่ 1-7 มีค่าการขยายขนาดของแผลระหว่าง 2.43-4.62 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 8 ทาแผลด้วยน้ำเปล่า (ควบคุม) มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 7.45 เซนติเมตร นอกจากนั้นยังพบว่ากรรมวิธีที่ 7 (ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP) อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งมีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 2.43 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 1-6 มีค่าการขยายขนาดของแผลระหว่าง 3.97-4.62 เซนติเมตร

หลังทาสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 15 วัน การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยวิธีการทาแผลก่อนทาสารทดลองครั้งที่ 3 พบว่ากรรมวิธีที่ 1-7 มีค่าการขยายขนาดของแผลระหว่าง 3.55-5.86 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 8 ทาแผลด้วยน้ำเปล่า (ควบคุม) มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 9.87 เซนติเมตร นอกจากนั้นยังพบว่ากรรมวิธีที่ 7 (ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP) อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งมีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 3.55 เซนติเมตร

หลังทาสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 30 วัน การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยวิธีการทาแผลก่อนทาสารทดลองครั้งที่ 3 พบว่ากรรมวิธีที่ 1-7 มีค่าการขยายขนาดของแผลระหว่าง 5.25-8.64 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 8 ทาแผลด้วยน้ำเปล่า (ควบคุม) มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 15.40 เซนติเมตร นอกจากนั้นยังพบว่ากรรมวิธีที่ 4 (BS-DOA 22W12) อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร และกรรมวิธีที่ 7 (ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP) อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งมีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 3.55 และ 6.64 เซนติเมตร ตามลำดับ

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยการรดรอบโคนต้น

การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยการรดรอบโคนต้น พบว่าประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ BS-DOA 15G3 (อัตรา 75 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร) ชีวภัณฑ์ BS-DOA 22W12 (อัตรา 75 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร) ชีวภัณฑ์ BS-DOA 5102 (อัตรา 75 และ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร) และสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl

25% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (Figure 4) แตกต่างกับกรรมวิธีรดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า (ควบคุม) เนื่องจากในทุกกรรมวิธีทดสอบพบว่าระดับความสมบูรณ์ดีปานกลาง 80-89 % โครงสร้างของต้นดี ทรงพุ่มสวยงาม ปริมาณใบค่อนข้างหนาแน่น ใบสีเขียวเป็นมัน มีโรคเข้าทำลายไม่เกิน 5 % แตกต่างกับกรรมวิธีรดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า (ควบคุม) พบว่าระดับความสมบูรณ์น้อย 60-69 % โครงสร้างของต้นค่อนข้างดี ทรงพุ่มสวยงามปานกลาง ปริมาณใบค่อนข้างน้อย ใบสีเขียวเป็นมัน โรคเข้าทำลายลำต้นและกิ่งก้านแต่ไม่ถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อต้นทุเรียน การเข้าทำลายของโรคในภาพรวมทั้งต้นอยู่ระหว่าง 21-40% (Figure 5)

3. ทดสอบวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 22W12 ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนในสภาพแปลง ณ แปลงเกษตรกร อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา ระหว่างเดือนมิถุนายน–เดือนธันวาคม 2567

3.1 ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 22W12 ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนด้วยวิธีการทาแผล

ก่อนทาสารทดลองครั้งที่ 1 การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยวิธีการทาแผล ณ แปลงเกษตรกร อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา พบว่าในทุกกรรมวิธีทดลองเมื่อสังเกตดูลักษณะของแผลภายนอก แผลมีลักษณะฉ่ำ และมีน้ำเยิ้มไหลออกมา หลังจากนั้นถากส่วนที่เป็นโรคออกให้หมด และวัดขนาดของแผล หลังจากนั้นทาแผลด้วยชีวภัณฑ์ BS-DOA 22W12 อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร สารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl 25% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร และกรรมวิธีทาแผลด้วยน้ำเปล่า (Figure 6)

หลังทาสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 30 วัน การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยวิธีการทาแผล โดยการทาสารทดลองจำนวน 6 ครั้ง และวัดผลการทดลองหลังทาสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 30 วัน ด้วยวิธีการถากแผล (Figure 7) พบว่ากรรมวิธีที่ 1-5 มีค่าการขยายขนาดของแผลระหว่าง 0.85-4.93 เซนติเมตร นอกจากนั้นยังพบว่ากรรมวิธีที่ 2 (ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า) กรรมวิธีที่ 3 (ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12) และกรรมวิธีที่ 4 (ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP + รดรอบโคนต้นด้วย metalaxyl 25% WP) มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าดีที่สุด มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 1.35, 1.25 และ 0.85 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 1 (ทาแผลด้วยน้ำเปล่า + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12) และกรรมวิธีที่ 5 มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 4.75 และ 4.93 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 3)

3.2 ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 22W12 ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนด้วยวิธีการรดรอบโคนต้น

ก่อนรดสารทดลองครั้งที่ 1 การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ สารป้องกันกำจัดโรคพืช และกรรมวิธีควบคุม ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยการรดรอบโคนต้น พบว่ากรรมวิธี 1-5 มีสภาพความสมบูรณ์ของต้นระหว่าง 87.50-93.75เปอร์เซ็นต์ ทุกกรรมวิธีทดสอบไม่แตกต่างทางสถิติ

ซึ่งมีโครงสร้างของต้นค่อนข้างดี ทรงพุ่มสวยงาม ปริมาณใบค่อนข้างหนาแน่น ใบสีเขียวเป็นมัน โรคเข้าทำลายลำต้นและกิ่งก้านเล็กน้อย แต่ไม่ถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อต้นทุเรียนการเข้าทำลายของโรคในภาพรวม (Figure 8)

ก่อนรดสารทดลองครั้งที่ 2-5 การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ สารป้องกันกำจัดโรคพืช และกรรมวิธีควบคุม ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยการรดรอบโคนต้น พบว่ากรรมวิธี 1-5 มีสภาพความสมบูรณ์ของต้นระหว่าง 87.50-93.75 เปอร์เซ็นต์ ทุกกรรมวิธีทดสอบไม่แตกต่างทางสถิติ ซึ่งมีโครงสร้างของต้นค่อนข้างดี ทรงพุ่มสวยงาม ปริมาณใบค่อนข้างหนาแน่น ใบสีเขียวเป็นมัน โรคเข้าทำลายลำต้นและกิ่งก้านเล็กน้อย แต่ไม่ถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อต้นทุเรียนการเข้าทำลายของโรคในภาพรวม

ก่อนรดสารทดลองครั้งที่ 6 และหลังรดสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 30 วัน การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ สารป้องกันกำจัดโรคพืช และกรรมวิธีควบคุม ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยการรดรอบโคนต้น พบว่ากรรมวิธี 1-5 มีสภาพความสมบูรณ์ของต้นระหว่าง 75.00-93.75 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นยังพบว่ากรรมวิธีที่ 1 (ทาแผลด้วยน้ำเปล่า + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12) กรรมวิธีที่ 3 (ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12) และกรรมวิธีที่ 4 (ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP + รดรอบโคนต้นด้วย metalaxyl 25% WP) มีสภาพความสมบูรณ์ของต้นเท่ากับ 93.75, 93.75 และ 93.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างอย่างมีนัยสำคัญกับ กรรมวิธีที่ 2 (ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า) และกรรมวิธีที่ 5 (ทาแผลด้วยน้ำเปล่า + รดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า) มีสภาพความสมบูรณ์ของต้นเท่ากับ 75.00 และ 75.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 4)

4. ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 22W12 ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนด้วยวิธีการทาแผล ณ แปลงเกษตรกร อำเภอรัตภูมิ จังหวัดสงขลา ระหว่างเดือนมิถุนายน–เดือนธันวาคม 2567

4.1 ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 22W12 ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนด้วยวิธีการทาแผล

ก่อนทาสารทดลองครั้งที่ 1 การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยวิธีการทาแผล ณ แปลงเกษตรกร อำเภอรัตภูมิ จังหวัดสงขลา พบว่าในทุกกรรมวิธีทดลองเมื่อสังเกตดูลักษณะของแผลภายนอก แผลมีลักษณะฉ่ำ และมีน้ำเยิ้มไหลออกมา หลังจากนั้นถากส่วนที่เป็นโรคออก แล้วทาแผลด้วยชีวภัณฑ์ BS-DOA 22W12 อัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร สารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl 25% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร และกรรมวิธีทาแผลด้วยน้ำเปล่า (Figure 9)

หลังทาสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 30 วัน การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยวิธีการทาแผล โดยการทาสารทดลองจำนวน 6 ครั้ง และวัดผลการทดลองหลังทาสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 30 วัน ด้วยวิธีการถากแผล (Figure 10) พบว่ากรรมวิธีที่ 1-5

มีค่าการขยายขนาดของแผลระหว่าง 0.75-5.10 เซนติเมตร นอกจากนั้นยังพบว่ากรรมวิธีที่ 2 (ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า) กรรมวิธีที่ 3 (ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12) และกรรมวิธีที่ 4 (ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP + รดรอบโคนต้นด้วย metalaxyl 25% WP) มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าดีที่สุด มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 1.33, 1.27 และ 0.75 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 1 (ทาแผลด้วยน้ำเปล่า + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12) และกรรมวิธีที่ 5 มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 4.85 และ 5.10 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 5)

4.2 ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ Bs-DOA 22W12 ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนด้วยวิธีการรดรอบโคนต้น

ก่อนรดสารทดลองครั้งที่ 1-5 การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ สารป้องกันกำจัดโรคพืช และกรรมวิธีควบคุม ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยการรดรอบโคนต้น พบว่า ทุกกรรมวิธีทดสอบมีสภาพความสมบูรณ์ของต้นไม่แตกต่างทางสถิติ ซึ่งมีโครงสร้างของต้นค่อนข้างดี ทรงพุ่มสวยงาม ปริมาณใบค่อนข้างหนาแน่น ใบสีเขียวเป็นมัน โรคเข้าทำลายลำต้นและกิ่งก้านเล็กน้อย

ก่อนรดสารทดลองครั้งที่ 6 และหลังรดสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 30 วัน การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ สารป้องกันกำจัดโรคพืช และกรรมวิธีควบคุม ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยการรดรอบโคนต้น พบว่ากรรมวิธี 1-5 มีสภาพความสมบูรณ์ของต้นระหว่าง 75.00-93.75 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นยังพบว่ากรรมวิธีที่ 1 (ทาแผลด้วยน้ำเปล่า + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12) กรรมวิธีที่ 3 (ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12) และกรรมวิธีที่ 4 (ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP + รดรอบโคนต้นด้วย metalaxyl 25% WP) มีสภาพความสมบูรณ์ของต้นเท่ากับ 87.50, 87.50 และ 93.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างอย่างมีนัยสำคัญกับ กรรมวิธีที่ 2 (ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า) และกรรมวิธีที่ 5 (ทาแผลด้วยน้ำเปล่า + รดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า) มีสภาพความสมบูรณ์ของต้นเท่ากับ 75.00 และ 75.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 6)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *B. subtilis*แบคทีเรียจำนวน 198 สายพันธุ์ ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 3 สายพันธุ์ ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ Bs-DOA 15G3, Bs-DOA 22W12 และ Bs-DOA 5102 หลังจากนั้นนำแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าวไปผลิตชีวภัณฑ์สูตรผงเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนด้วยวิธีการทาแผล เมื่อสังเกตดูลักษณะภายนอกของแผลต้นทุเรียนก่อนทาสารทดลอง พบว่าในทุกกรรมวิธีทดลองมีลักษณะน้ำเยิ้มไหลออกมา เมื่อถากแผลและทาสารทดลอง จำนวน 4 ครั้ง แล้ววัดการขยายขนาดของแผลหลังทาสารทดลองครั้งสุดท้ายที่ 30 วัน พบว่าประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ และสารป้องกันกำจัด

โรคพืช metalaxyl 25% WP พบว่ามีการขยายขนาดของแผลระหว่าง 5.25-8.64 เซนติเมตร แตกต่างจากกรรมวิธีทาแผลด้วยน้ำเปล่า (ควบคุม) ซึ่งมีลักษณะแผลเยิ้ม เมื่อถากพบขนาดแผลขยายกว้างขึ้นจากบริเวณที่ทำเครื่องหมายไว้มีการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 15.40 เซนติเมตร

ส่วนการประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยการรดรอบโคนต้น พบว่าในทุกกรรมวิธีทดลองแตกต่างกับกรรมวิธีรดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า (ควบคุม) เนื่องจากในทุกกรรมวิธีทดสอบพบว่าระดับความสมบูรณ์ดีปานกลาง 80-89 % โครงสร้างของต้นดี ทรงพุ่มสวยงาม ปริมาณใบค่อนข้างหนาแน่น ใบสีเขียวเป็นมัน มีโรคเข้าทำลายไม่เกิน 5 % แตกต่างกับกรรมวิธีรดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า (ควบคุม) พบว่าระดับความสมบูรณ์น้อย 60-69 % โครงสร้างของต้นค่อนข้างดี ทรงพุ่มสวยงามปานกลาง ปริมาณใบค่อนข้างน้อย ใบสีเขียวเป็นมัน โรคเข้าทำลายลำต้นและกิ่งก้านแต่ไม่ถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อต้นทุเรียน การเข้าทำลายของโรคในภาพรวมทั้งต้นอยู่ระหว่าง 21-40%

การประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าด้วยวิธีการทาแผลและรดรอบโคนต้น ทำการทดลองในแปลงเกษตรกร ณ อำเภอสะเดา และอำเภอรัตภูมิ จังหวัดสงขลา ระหว่างเดือนมิถุนายน-เดือนธันวาคม 2567 ผลการทดลองทั้งสองแปลงให้ผลสอดคล้องกัน พบว่า กรรมวิธีที่ 3 (ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12) มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 1.25 และ 1.27 เซนติเมตร ตามลำดับ ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 4 (ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP + รดรอบโคนต้นด้วย metalaxyl 25% WP) มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 0.85 และ 0.75 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 5 (ทาแผลด้วยน้ำเปล่า + รดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า (ควบคุม) มีค่าการขยายขนาดของแผลเท่ากับ 4.93 และ 5.10 เซนติเมตร ตามลำดับ

ส่วนการประเมินความอุดมสมบูรณ์ของต้น พบว่ากรรมวิธีที่ 3 (ทาแผลด้วย BS-DOA 22W12 + รดรอบโคนต้นด้วย BS-DOA 22W12) มีความอุดมสมบูรณ์ของต้นเท่ากับ 93.75 และ 87.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 (ทาแผลด้วย metalaxyl 25% WP + รดรอบโคนต้นด้วย metalaxyl 25% WP) ความอุดมสมบูรณ์ของต้นเท่ากับ 93.75 และ 87.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ตามลำดับ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 5 (ทาแผลด้วยน้ำเปล่า + รดรอบโคนต้นด้วยน้ำเปล่า) มีความอุดมสมบูรณ์ของต้นเท่ากับ 75.00 และ 75.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าการใช้ชีวภัณฑ์ BS-DOA 22W12 ทาแผลร่วมกับการรดรอบโคนต้นทุเรียน หรือการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl 25% WP พบว่ามีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มสารสนเทศการเกษตร สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดยะลา. 2561. *ทุเรียน*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: https://www.opsmoac.go.th/yala-dwl-files-402791791902 (27 กุมภาพันธ์ 2563)

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รัศมี ฐิติเกียรติพงษ์ อรพรรณ วิเศษสังข์ และ วงศ์ บุญสืบสกุล. 2548. การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิง. หน้า 90-105. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2548*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

นลินี ศิวากรณ์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และศิริพร วรกุลดำรงชัย. 2556. การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนโดยใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis*. หน้า 259-263. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล สุรีย์พร บัวอาจ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และรสสุคนธ์ รุ่งแจ้ง. 2555.ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์จากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ 20W1 ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola*. *วารสารวิชาการเกษตร*. 35 (1): 1-13.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล สุรีย์พร บัวอาจ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และรสสุคนธ์ รุ่งแจ้ง. 2557. พัฒนาแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ใหม่ ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา *A. brassicicola*. หน้า 1-16. *ใน : รายงานผลงานวิจัยดีเด่น กรมวิชาการเกษตร ประจำปี 2557*. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วิไลวรรณ พรหมคำ สุรีย์พร บัวอาจ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ รุ่งนภา ทองเครั่ง นพวรรณ นิลสุวรรณ ฐาปนีย์ ทองบุญ กิรนันท์ เหมาะประมาณ ไพบูรณ์ เปรียบยิ่ง วราภรณ์ อุดมดี และรสสุคนธ์ รุ่งแจ้ง. 2561. ชีวภัณฑ์บีเอสควบคุมโรคกุ้งแห้งพริกสู่การใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มผลผลิตพริก. หน้า 42-56. *ใน : รายงานผลงานวิจัยดีเด่น กรมวิชาการเกษตร ประจำปี 2561*. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

มาลัยพร เชื้อบัญฑิต. 2561. *วิจัยและพัฒนาพันธุ์ทุเรียนที่ทนทานและหรือต้านทานโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา*. กรมวิชาการเกษตร. 9 หน้า.

ศิริพร วรกุลดำรงชัย มาลัยพร เชื้อบัณฑิต ธิติยา สารพัฒน์ อภิรดี กอร์ปไพบูลย์ วิชาญ ประเสริฐ นลินี ศิวากรณ์, พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และเพลินพิศ สงสังข์. 2558. ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีและสารอินทรีย์ในการจัดการป้องกันกาจัดโรครากเน่าโคนเน่า. หน้า 49-57. *ใน : รายงานเรื่องเต็มโครงการการเพิ่มประสิทธิภาพด้านการผลิตทุเรียนคุณภาพและการกระจายการผลิต*. กรมวิชาการเกษตร.

ศูนย์สารสนเทศการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. 2562. *ทุเรียน: ปีเพาะปลูก 2561*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.agriinfo.doae.go.th/year62/plant/rortor/fruit/durian.pdf (27 กุมภาพันธ์ 2563)

เสมอใจ ชื่นจิตต์. 2548. *ฤทธิ์ต้านราของฟ้าทะลายโจร Andrographis paniculata Wall ex Nees ต่อรา Phytophthora สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน*. ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 27 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. 2566. ทุเรียน: เนื้อที่ยืนต้น เนื้อที่ให้ผล ผลผลิต และผลผลิตต่อเนื้อที่ให้ผล รายภาค และจังหวัด ปี 2566. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: https://www.oae.go.th/view 1/ตารางแสดงรายละเอียดทุเรียน/TH-TH. (28 กันยายน 2567).

Campbell, R. 1989. *Biological control of Microbial Plant pathogens*. Cambridge University Press, Cambridge. 218 p.

Prathuangwong, S. 2016. Biological Pest Management as Alternative and Supplemented-Pesticide Use in IPM Program. pp. 8-26. *Conference Proceedings ASEAN+6 Organic Agriculture Forum 2016 Sustainable Agriculture*. June 28-30, 2016. The Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai.

Suwanto, A., H. Friska and I. Sudirman. 1996. Characterization of *Pseudomonas fluorescens* B 29 and B39 DNA Profile, Hypersensitivity Test, and Assay of Bioactive Compound. *HAYATI J. Biosci*. 31(1): 15-20.

Table 1 Efficacy of *Bacillus subtilis* for control *Phytophthora palmivora* in laboratory

Treatment	Inhibition zone (cm)
1. BS-DOA 15G3	1.65 ab
2. BS-DOA 22W12	1.80 a
3. BS-DOA 20W14	1.3 b
4. BS-DOA 3G5	1.25 c
5. BS-DOA 17G5	1.22 c
6. BS-DOA 20W34	1.6 b
7. BS-DOA 14G19	1.18 c
8. BS-DOA 17G5	1.43 c
9. BS-DOA 11W28	1.35 b
10. BS-DOA 5102	1.53 ab
C.V. (%)	**9.09**

Table 2 Efficacy of *Bacillus subtilis* bioproduct for controlling root rot and stem rot of durian to apply bioproduct on the lesion under the field experiment in Khlung district, Chanthaburi province during June-September, 2022

Treatment	Rate (grams per 1 liters of water)	Lesion enlargement (cm)					
		Before application				After application	
		1st	2rd	3nd	4th	7 days	14 days
1. BS-DOA 15G3	750	0	2.75 a	3.25 b	4.54 b	5.74 b	8.64 b
2. BS-DOA 15G3	1,000	0	0 b	2.20 b	3.97 b	4.95 b	7.98 b
3. BS-DOA 22W12	750	0	2.50 a	3.18 b	4.62 b	5.37 b	7.82 b
4. BS-DOA 22W12	1,000	0	0 b	2.25 b	3.48 b	4.57 bc	6.64 c
5. BS-DOA 5102	750	0	2.65 a	3.42 b	4.42 b	5.86 b	8.58 b
6. BS-DOA 5102	1,000	0	0 b	2.48 b	4.10 b	4.90 b	7.42 b
7. metalaxyl 25% WP	50	0	0 b	0 c	2.43 c	3.55 c	5.25 c
8. water (control)	-	0	3.85 a	5.81 a	7.45 a	9.87 a	15.40 a
C.V. (%)	**-**	**-**	**13.24**	**15.86**	**18.72**	**16.84**	**20.28**

Table 3 Efficacy of *Bacillus subtilis* bioproduct for controlling root rot and stem rot of durian to apply bioproduct on the lesion under the field experiment in Sadao district, Songkhla province during June-December, 2023

Treatment	Lesion enlargement (cm)	
	Before application	After application (30 days)
1. Apply water on the lesion + apply watering around the plant (Bs-DOA 22W12)	0	4.75 b
2. Apply Bs-DOA 22W12 on lesion + watering around the plant (water)	0	1.35 a
3. Apply Bs-DOA 22W12 on lesion + apply watering around the plant (Bs-DOA 22W12)	0	1.25 a
4. Apply metalaxyl 25% WP on lesion + apply watering around the plant (metalaxyl 25% WP)	0	0.85 a
5. Apply water on the lesion + watering around the plant (control)	0	4.93 b
C.V. (%)	**-**	**18.67**

Table 4 Efficacy of *Bacillus subtilis* bioproduct for controlling root rot and stem rot of durian to apply watering around the plant under the field experiment in Sadao district, Songkhla province during June-December, 2023

Treatment	Assessment quality of plant (%)						
	Before application						After application (30 days)
	1st	2rd	3nd	4th	5th	6th	
1. Apply water on the lesion + apply watering around the plant (Bs-DOA 22W12)	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	93.75 a	93.75 a
2. Apply Bs-DOA 22W12 on lesion + watering around the plant (water)	93.75 a	93.75 a	93.75 a	87.50 a	87.50 a	75.00 b	75.00 b
3. Apply Bs-DOA 22W12 on lesion + apply watering around the plant (Bs-DOA 22W12)	87.50 a	87.50 a	87.50 a	93.75 a	93.75 a	93.75 a	93.75 a
4. Apply metalaxyl 25% WP on lesion + apply watering around the plant (metalaxyl 25% WP)	93.75 a	93.75 a	93.75 a	93.75 a	93.75 a	93.75 a	93.75 a
5. Apply water on the lesion + watering around the plant (control)	93.75 a	93.75 a	93.75 a	87.50 a	87.50 a	75.00 b	75.00 b
C.V. (%)	**12.50**	**12.50**	**12.50**	**10.31**	**10.31**	**10.91**	**10.91**

Table 5 Efficacy of *Bacillus subtilis* bioproduct for controlling root rot and stem rot of durian to apply bioproduct on the lesion under the field experiment in Ratthaphum district, Songkhla province during June-December, 2023

Treatment	การขยายขนาดของแผล (เซนติเมตร)	
	Before application	After application (30 days)
1. Apply water on the lesion + apply watering around the plant (Bs-DOA 22W12)	0	4.85 b
2. Apply Bs-DOA 22W12 on lesion + watering around the plant (water)	0	1.33 a
3. Apply Bs-DOA 22W12 on lesion + apply watering around the plant (Bs-DOA 22W12)	0	1.27 a
4. Apply metalaxyl 25% WP on lesion + apply watering around the plant (metalaxyl 25% WP)	0	0.75 a
5. Apply water on the lesion + watering around the plant (control)	0	5.10 b
C.V. (%)	**-**	**16.85**

Table 6 Efficacy of *Bacillus subtilis* bioproduct for controlling root rot and stem rot of durian to apply watering around the plant under the field experiment in Ratthaphum district, Songkhla province during June-December, 2023

Treatment	Assessment quality of plant (%)						
	Before application						After application (30 days)
	1st	2rd	3nd	4th	5th	6th	
1. Apply water on the lesion + apply watering around the plant (Bs-DOA 22W12)	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a
2. Apply Bs-DOA 22W12 on lesion + watering around the plant (water)	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	75.00 b	75.00 b
3. Apply Bs-DOA 22W12 on lesion + apply watering around the plant (Bs-DOA 22W12)	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a
4. Apply metalaxyl 25% WP on lesion + apply watering around the plant (metalaxyl 25% WP)	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	93.75 a
5. Apply water on the lesion + watering around the plant (control)	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	87.50 a	75.00 b	75.00 b
C.V. (%)	**12.78**	**12.78**	**12.78**	**12.78**	**12.78**	**12.40**	**12.40**

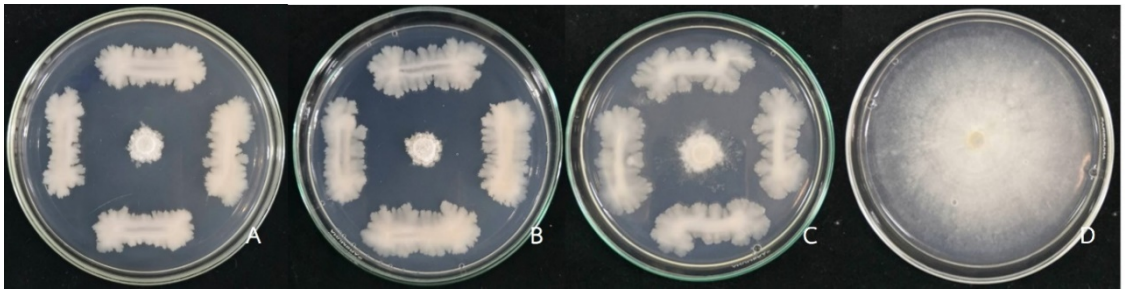


Figure 1 Efficacy of *Bacillus subtilis* for control *Phytophthora palmivora* in laboratory

A. *Bacillus subtilis* strain BS-DOA 15G3

B. *Bacillus subtilis* strain BS-DOA 22W12

C. *Bacillus subtilis* strain BS-DOA 5102

D. Control

Figure 2 Preparation of BS-DOA 22W12 bioproduct

A. Wettable powder bioproducts of BS-DOA 22W12

B. Bring these bioproduct in aluminium foil bag for controlling disease under the field experiment

Figure 3 Efficacy of *Bacillus subtilis* bioproduct for controlling root rot and stem rot to apply bioproduct on the lesion under the field experiment

A. Scrape before bioproduct application

B. Apply bioproduct on the lesion

C. After applying the last BS-DOA 22W12 bioproduct at 30 days

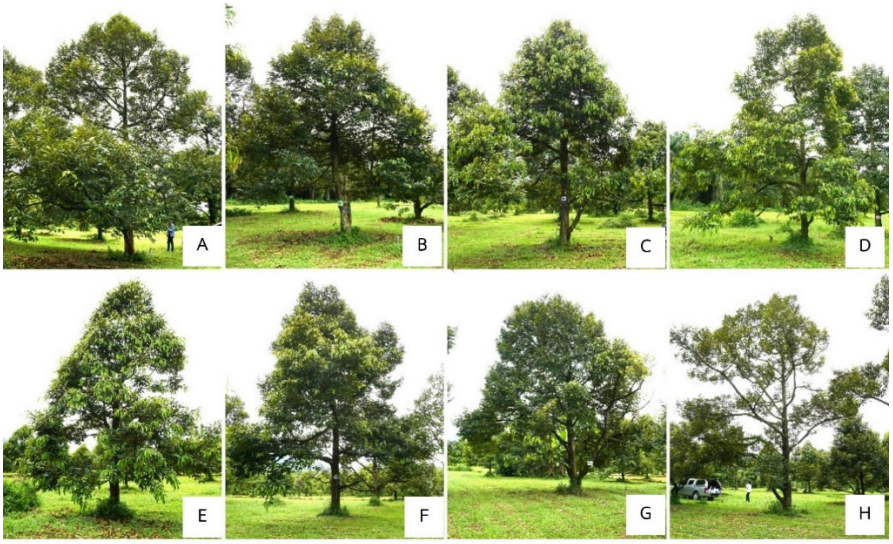
Figure 4 Efficacy of *Bacillus subtilis* bioproduct for controlling root rot and stem rot to apply watering around the plant under the field experiment

A. Preparation of BS-DOA 22W12 bioproduct

B. Efficacy of *Bacillus subtilis* bioproduct

C. Efficacy of metalaxyl 25% WP

D. Water (control)



ภาพที่ 5 Efficacy of *Bacillus subtilis* bioproduct for quality of durian to apply watering around the plant under the field experiment

A.-B. Apply BS-DOA 15G3 watering around the plant

C.-D. Apply BS-DOA 22W12 watering around the plant

E.-F. Apply BS-DOA 5102 watering around the plant

G. Apply metalaxyl 25% WP watering around the plant

H. Water (control)

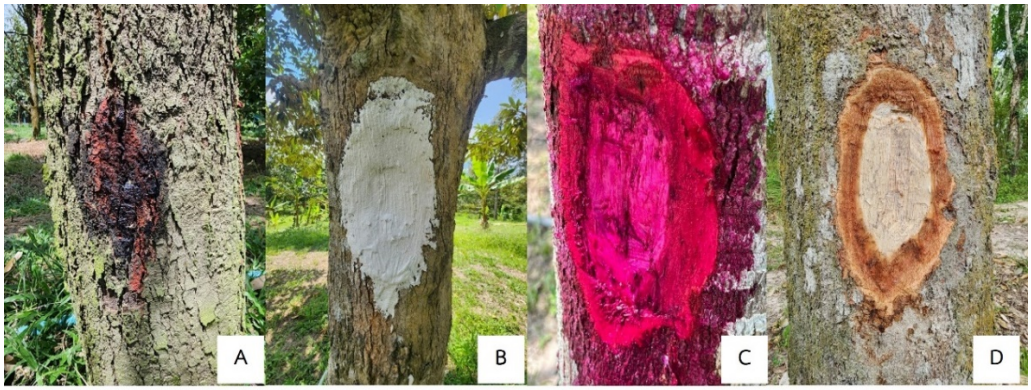


Figure 6 Efficacy of bioproduct, fungicide, and water for controlling root rot and stem rot of durian to apply bioproduct on the lesion under the field experiment in Sadao district, Songkhla province during June-December, 2023

A. The lesion of root rot and stem rot

B. Apply BS-DOA 22W12 on the lesion

C. Apply metalaxyl 25% WP on the lesion

D. Water (control)

Figure 7 Before and after scrape under the field experiment in Sadao district, Songkhla province during June-December, 2023

A. Before scrape, after applying the last Bs-DOA 22W12 bioproduct at 30 days

B. After scrape, after applying the last BS-DOA 22W12 bioproduct at 30 days

C. Before scrape, after applying the last metalaxyl 25% WP at 30 days metalaxyl 25% WP

D. After scrape, after applying the last metalaxyl 25% WP at 30 days metalaxyl 25% WP

Figure 8 Efficacy of bioproduct, fungicide, and water for controlling root rot and stem rot of durian to apply watering around the plant under the field experiment under the field experiment in Sadao district, Songkhla province during June-December, 2023

A. Preparing of bioproduct

B. Apply BS-DOA 22W12 to watering around the plant

C. Apply metalaxyl 25% WP to watering around the plant

D. Water (control)

Figure 9 Efficacy of bioproduct, fungicide, and water for controlling root rot and stem rot of durian to apply bioproduct on the lesion under the field experiment in Ratthaphum district, Songkhla province during June-December, 2023

A. Apply BS-DOA 22W12 on the lesion

B. Apply metalaxyl 25% WP on the lesion

C. Water (control)

Figure 10 Efficacy of *Bacillus subtilis* bioproduct for controlling root rot and stem rot of durian to apply bioproduct on the lesion under the field experiment in Ratthaphum district, Songkhla province during June-December, 2023

A. Scrape before bioproduct application

B. Apply bioproduct on the lesion

C. After applying the last BS-DOA 22W12 bioproduct at 30 days.

การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

Screening of *Trichoderma* spp. for controlling of chilli damping off disease caused by *Pythium aphanidermatum*

อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสอาด
จุฬารัตน์ หน่อแก้ว วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Screening of *Trichoderma* spp. for controlling of chilli damping off disease caused by *Pythium aphanidermatum* conducted between October 2021 and September 2024 at the laboratory and greenhouse, Plant Disease Research Group, Plant Protection Research and Development Office by collecting 516 soil and root samples, used to isolate *Trichoderma* spp. on rose bengal agar and isolate pure cultures on PDA agar, totaling 194 isolates and 31 isolates from the microbial gene storage unit, were tested for their potential to inhibit the growth of *P. aphanidermatum* mycelium by dual culture method on potato dextrose agar. Ten isolates of *Trichoderma* spp. that had the potential to inhibit the growth of *P. aphanidermatum* mycelium more than 50 percent, namely T69, T48, T64, T92, T71, T117, T127, T149, T129 and T61, were tested for their efficiency in controlling chilli damping off in an experimental greenhouse. Two isolates of *Trichoderma* spp., T64 and T71, were selected to be effective in controlling chilli damping off. The rate and method of application were then determined. It was found that *Trichoderma* spp. isolate T64 at a concentration of 10^9 spores per milliliter had a low incidence rate and was effective in preventing and eliminating chilli damping off. The classification of *Trichoderma* spp. fungi using genetic data, it was found that *Trichoderma* spp. isolate T64 and isolate T71 were *Trichoderma harzianum*.

Keywords : *Trichoderma* damping off chilli *Pythium aphanidermatum*

รหัสการทดลอง FF 65-10-03-65-02-02-65

บทคัดย่อ

การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2567 ณ ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยการเก็บตัวอย่างดินและรากพืช 516 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. บนอาหาร rose bengal agar และแยกเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร PDA ได้ 194 ไอโซเลท และจากหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร 31 ไอโซเลท รวม 227 ไอโซเลท นำมาทดสอบศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยวิธี dual culture บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) นำเชื้อรา *Trichoderma* spp. 10 ไอโซเลท ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* สูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ T69, T48, T64, T92, T71, T117, T127, T149, T129 และ T61 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริกในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง สามารถคัดเลือกได้เชื้อรา *Trichoderma* spp. 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลทT64 และ T71 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริกได้ จากนั้นทำการหาอัตราและวิธีการใช้ พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T64 ที่ความเข้มข้น 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำและมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเน่าคอดินของพริก และเมื่อทำการจำแนกชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T64 และ ไอโซเลท T71 เป็นเชื้อรา *Trichoderma harzianum*

คำหลัก : *Trichoderma* โรคเน่าคอดิน พริก เชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

คำนำ

โรคกล้าเน่า-เน่าคอดิน หรือเน่าระดับดิน (damping-off) (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2552; 2554) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. เชื้อราชนิดนี้เป็นเชื้อราที่อยู่ในกลุ่ม Oomycetes จัดเป็นโรคพืชทางดินที่สำคัญชนิดหนึ่ง มีพืชอาศัยหลากหลาย ทำให้เกิดการสูญเสียผลผลิตทางการเกษตรอย่างมาก (Agrios, 2005) ทำให้พืชแสดงอาการเมล็ดเน่าและ ยอดตาย เนื้อเยื่อตายชุ่มน้ำ พบเส้นใยสีขาวฟู บริเวณโคนต้นรากและส่วนที่ใช้ขยายพันธุ์ โดยมีพืชอาศัยหลัก (Main host) ได้แก่ ผักกาด [lettuce (*Lactuca sativa*)] กะหล่ำดอก [cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*)] กะหล่ำปลี [cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*)] แตงโม [watermelon (*Citrullus lanatus*)] แตง แตงกวา [cucumber (*Cucumis sativus*)] ถั่วลิสง [groundnut, peanut, Monkey Nut (*Arachis hypogaea*)] ถั่วเหลือง [soyabean (*Glycine max*)] ถั่วแขก ถั่วแดงหลวง [common bean, red kidney bean, kidney bean (*Phaseolus vulgaris*)] ถั่วลันเตา [pea, garden pea (*Pisum sativum*)] ถั่วพุ่ม [cowpea (*Vigna unguiculata*)] กระเจี๊ยบเขียว [okra (*Abelmoschus esculentus*)] ขิง [ginger (*Zingiber officinale*)] พุทรา [jujube

(*Ziziphus mauritiana*)] มะเขือเทศ [tomato (*Lycopersicon esculentum*)] มันฝรั่ง [potato (*Solanum tuberosum*)] (นิรนาม, 2016)

โรคเน่าคอดิน สามารถเข้าทำลายพืชได้ ตั้งแต่ก่อนเมล็ดงอก เมล็ดอาจเน่าทั้งที่ยังไม่งอกหรืองอกอยู่ในดิน แต่ถ้าเมล็ดงอกเป็นต้นกล้าแล้วถูกทำลาย โคนต้นจะเป็นสีดำ ฉ่ำน้ำ เหี่ยวพับลงบนผิวดิน โดยที่ใบเลี้ยงยังเขียวอยู่ (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2554; Richard *et al*., n.d.) อาการเน่าคอดิน มักพบในสภาพที่ดินมีการระบายน้ำไม่ดี ดินอัดตัวแน่น โดยเฉพาะการปลูกพืชช่วงที่มีฝน

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อโรคพืช และอาจเป็นวิธีที่ปลอดภัย มีประสิทธิภาพและวิธีการจัดการโรคพืชที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Ramamoorthy *et al*., 2002) ซึ่งเน้นการควบคุมและลดปริมาณ ตลอดจนลดกิจกรรมของเชื้อก่อโรคให้อยู่ระดับที่ไม่สามารถก่อให้เกิดความเสียหายกับพืช

เชื้อราไตรโคเดอร์มา เป็นเชื้อราที่มีคุณสมบัติและศักยภาพสูงในการใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ตรงตามหลักการและแนวคิดของการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธี ทั้งนี้เพราะเป็นเชื้อราที่ดำรงชีวิตอยู่ในดิน อาศัยเศษซากพืชซากสัตว์และแหล่งอินทรียวัตถุ เป็นแหล่งอาหาร พบได้โดยทั่วไปในดินทุกแห่ง เป็นศัตรู (ปฏิปักษ์) ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดโดยวิธีการเบียดเบียนหรือเป็นปรสิตและแข่งขันหรือแย่งใช้อาหารที่เชื้อโรคต้องการ นอกจากนี้เชื้อราไตรโคเดอร์มายังสามารถผลิตสารปฏิชีวนะและสารพิษ ตลอดจนน้ำย่อยจากพวกเอนไซม์สำหรับช่วยละลายผนังเส้นใยของเชื้อโรคพืช คุณสมบัติพิเศษของเชื้อราไตรโคเดอร์มา คือ สามารถชักนำให้ต้นพืชมีความต้านทานต่อเชื้อโรคพืชทั้งเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช (จิระเดช, 2538; Harman, 2006) การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้เกษตรกรลดการใช้สารเคมีลง นอกจากนั้นยังมีเชื้อราดิน แบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสบางชนิดที่สามารถใช้เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชทางดิน รวมทั้งเชื้อรา *Pythium* ด้วย โดยมีจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 3 ชนิด ที่มักนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืช ได้แก่ *Gliocladium virens* ใช้ควบคุมโรคของต้นกล้าไม้ประดับและไม้คลุมดิน *Trichoderma harzianum* ใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชทางดิน และ *T. harzianum/T. polysporum* ใช้ควบคุมการย่อยสลายของเนื้อไม้ และยังมีแบคทีเรียปฏิปักษ์ 3 ชนิด ที่ผลิตเป็นการค้า ได้แก่ *Agrobacterium radiobacter* K-84 ใช้ควบคุม crown gall *Pseudomonas fluorescens* ใช้ควบคุมโรคเน่าคอดินของฝ้ายที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. และ *Pythium* sp. และ *Baccillus subtilis* ใช้เป็น seed treatment (Agrios, 2005) ชนินทร (2560) รายงานว่า *Trichoderma asperellum T. harzianum* และ *T. viride* เป็นเชื้อราที่เป็นที่รู้จักใน genus *Trichoderma* และมีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีการส่งเสริมให้ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยทั้งทางภาครัฐและเอกชน รวมถึงมีการผลิตเชื้อรา *T. asperellum T. harzianum* และ *T. viride* ในเชิงการค้า

Juma *et al*. (2015) ทดสอบประสิทธิภาพของ *T. asperellum* TRC-900 และ *Bacillus subtilis* BS-01 ในการยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดินในผักตระกูลคะน้า

(ethiopian kale) โดยการเคลือบเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกด้วย *T. asperellum* TRC-900 และ *B. subtilis* BS-01 พบว่า สามารถลดความสูญเสียจากสาเหตุโรคเน่าคอดินของเมล็ดพันธุ์ก่อนงอกได้ 11 -25.4% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการเคลือบเมล็ดซึ่งเป็นโรคถึง 64.8%

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างดินและรากพืช
2. เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท ต่างๆ
3. เชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดินของพริก
4. เมล็ดพริก พันธุ์จินดา
5. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น ตู้เขี่ยเชื้อ เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้อง Stereoscopic microscope กล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์ หม้อนึ่งความดันสูง (hot air oven) เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge) เครื่อง Polymerase chain reaction (PCR machine) เครื่องเขย่า (vortex) เครื่อง tissue lyser gel tank เครื่องกำเนิดกระแสไฟ gel plate comb เครื่องถ่ายภาพเจล microwave micropipette ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร water bath และ heat block
6. วัสดุในห้องปฏิบัติการ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ tips ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร PCR tube ใบมีดผ่าตัด เข็มเขี่ยปลายแหลม ปากคีบ
7. สารเคมี ได้แก่ เอนไซม์สำหรับทำปฏิกิริยา Taq DNA Polymerase Phusion High-Fidelity DNA Polymerase Proteinase K enzyme Lithium Borate buffer (LB) ชุดสำหรับการสกัดดีเอ็นเอ ได้แก่ Microbial DNA Isolation Kit Power Plant Isolation Kit ชุดสำหรับการสกัดเจล ชุดสำหรับทำความสะอาดดีเอ็นเอ Stain G loading dye agarose gel (PCR grade) PCR water DNA ladder และ ไพร์เมอร์
8. อาหารสังเคราะห์ ได้แก่ Rose Bengal Agar (RBA), Potato Dextrose Agar (PDA)
9. อุปกรณ์ในโรงเรือน เช่น วัสดุปลูก (พีทมอส) ถาดเพาะ ป้ายชื่อ ถุงมือ ถุงพลาสติก หนังสือพิมพ์ เป็นต้น

วิธีการ

1. การคัดเลือกและทดสอบศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในห้องปฏิบัติการ

เก็บและรวบรวมเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากตัวอย่างดิน พืช และวัสดุอื่น ๆ ที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถเจริญอยู่ได้จากแหล่งต่าง ๆ มาแยกเชื้อบนอาหารสังเคราะห์ rose bengal agar และ PDA แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ เก็บรักษาไว้เพื่อใช้ศึกษาต่อไป โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA

slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเชื้อรา *Trichoderma* spp. อีกส่วนหนึ่งที่ศึกษานำมาจากหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ทางการเกษตร กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

ทดสอบศักยภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยด้วยวิธี dual culture technique โดยตัดชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* และเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่รวบรวมได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 3 วัน วางลงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบ ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 1 เซนติเมตร ในฝั่งตรงข้ามกัน วางจานเลี้ยงเชื้อทดสอบไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 28+2 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 5 วัน (โคโลนีของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในจานเลี้ยงเชื้อกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีเชื้อรา *Trichoderma* sp. เจริญเต็มจาน) วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 จานเลี้ยงเชื้อ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT วัดรัศมีโคโลนีเชื้อรา *P. aphanidermatum* แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition rate growth: PIRG) ของเชื้อรา โดยใช้สูตร

PIRG = [(RC-RT)/RC]x100

RC คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีโคโลนีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในจานเลี้ยงเชื้อกรรมวิธีควบคุม

RT คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีโคโลนีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบ

จากนั้นตรวจสอบ ระดับการยับยั้ง (Scale Bell) (Bell *et al*., 1982) แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ

1 = *Trichoderma* เจริญคลุมทับเชื้อสาเหตุโรคพืชทั้งหมด และปกคลุมทั่วบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

2 = *Trichoderma* เจริญคลุมทับเชื้อสาเหตุโรคพืชอย่างน้อยสองในสามส่วนของบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

3 = *Trichoderma* และเชื้อสาเหตุโรคพืช เจริญครอบคลุมพื้นที่ประมาณครึ่งหนึ่งของบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (พื้นที่มากกว่าหนึ่งในสามและน้อยกว่าสองในสาม) หรือไม่สามารถระบุเชื้อที่ครอบครองพื้นที่หลัก

4 = เชื้อสาเหตุโรคพืชครอบครองพื้นที่อย่างน้อยสองในสามของบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อและไม่ได้รับผลกระทบจากการเจริญลุกล้ำของ *Trichoderma*

5 = เชื้อสาเหตุโรคพืชเจริญคลุมทับ *Trichoderma* ทั้งหมด และปกคลุมทั่วบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

การบันทึกข้อมูล รัศมีโคโลนีเชื้อรา *P. aphanidermatum*

2. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

2.1 การเตรียมข้าวเปลือกสำหรับเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Trichoderma* spp.

1. ชั่งข้าวเปลือก 30 กิโลกรัม นำมาล้างให้สะอาดแช่น้ำทิ้งไว้ 1 คืน

2. เทน้ำที่แช่ข่าวเปลือกทิ้ง ใส่ถุงเห็ด 200 กรัม/ถุง ใส่น้ำ 10 มิลลิลิตร/ถุง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย hot air oven ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เอาออกจาก hot air oven ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง 2-5 วัน

2.2 การเตรียมและเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Trichoderma* spp.

1. เลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* spp.บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน

2. นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA ที่มีเชื้อรา *Trichoderma* spp. เจริญเต็ม มาเจาะด้วยคอกบอเรอ (cork borer) เบอร์ 3 แล้วใส่ในถุงข้าวเปลือกที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ชิ้น/ถุง ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7-14 วัน

3. นำถุงข้าวเปลือกที่มีเชื้อรา *Trichoderma* spp. เจริญเต็มถุง มาล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ใช้เป็น สารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) (Figure 1) สำหรับทดสอบประสิทธิภาพ ต่อไป

2.3 การเตรียมเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

1. เลี้ยงเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหาร PDA วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน หรือจนกระทั่งเชื้อราจะเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

2. เชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปั่นด้วยเครื่องปั่น เป็นเวลา 1 นาที ใช้สำหรับปลูกเชื้อสาเหตุโรค

2.4 การเตรียมวัสดุปลูก

1. ชั่งวัสดุปลูก (พีชมอส) ใส่ตะกร้า 6 กิโลต่อตะกร้า

2. นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. มาคลุกวัสดุปลูกและบ่มไว้เป็นเวลา 7 วัน (Figure 2)

3. นำเชื้อรา *P. aphanidermatum* มาคลุกวัสดุปลูกและบ่มไว้เป็นเวลา 2 วัน

4. นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. มาคลุกวัสดุปลูก รอบที่ 2

5. นำวัสดุปลูกใส่ถาดเพาะตามกรรมวิธีต่าง ๆ

6. เพาะเมล็ดพริกในถาดเพาะตามกรรมวิธีต่างๆ

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในสภาพโรงเรือน โดยนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีศักยภาพดี 10 อันดับแรก ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* สูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบศักยภาพในห้องปฏิบัติการ มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริก

วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 ซ้ำๆ ละ 1 ถาดเพาะ (104 หลุม) 11 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 *Trichoderma* spp. (T69) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 2 *Trichoderma* spp. (T48) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 3 *Trichoderma* spp. (T64) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 4 *Trichoderma* spp. (T92) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 5 *Trichoderma* spp. (T71) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 6 *Trichoderma* spp. (T117) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 7 *Trichoderma* spp. (T127) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 8 *Trichoderma* spp. (T149) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 9 *Trichoderma* spp. (T129) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 10 *Trichoderma* spp. (T61) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่า (ควบคุม)

ตรวจนับจำนวนกล้าพริกทั้งหมดและจำนวนกล้าพริกที่แสดงอาการเน่าคอดิน ที่ 3, 5, 7, 9 และ 11 วัน หลังเพาะเมล็ด นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนต้นที่เป็นโรค}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$$

การบันทึกข้อมูล

จำนวนกล้าพริกทั้งหมดและจำนวนกล้าพริกที่แสดงอาการเน่าคอดิน นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี ด้วยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT)

3. การศึกษาอัตราใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่เหมาะสมในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

เตรียมวัสดุต่างๆ ตาม ข้อ 2.1-2.4

วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 ซ้ำๆ ละ 1 ถาดเพาะ (104 หลุม) 11 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 T64 ความเข้มข้น $1x10^7$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 2 T64 ความเข้มข้น $1x10^8$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 3 T64 ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 4 T71 ความเข้มข้น $1x10^7$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 5 T71 ความเข้มข้น $1x10^8$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 6 T71 ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 7 *Trichoderma* spp. (T127) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 8 *Trichoderma* spp. (T149) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 9 *Trichoderma* spp. (T129) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 10 *Trichoderma* spp. (T61) ความเข้มข้น $1x10^9$ spores/ml.

กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่า (ควบคุม)

ตรวจนับจำนวนกล้าพริกทั้งหมดและจำนวนกล้าพริกที่แสดงอาการเน่าคอดิน ที่ 3, 5, 7, 9, 13, 17 และ 21 วัน หลังเพาะเมล็ด นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนต้นที่เป็นโรค}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$$

4. จำแนกชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

- จำแนกชนิดของเชื้อราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

สกัดดีเอ็นเอ

ตักหรือเขี่ยเส้นใยรวมถึง conidia ของเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 0.2-0.5 กรัม ลงในหลอดสำหรับสกัดดีเอ็นเอ และทำการสกัดตามวิธีของ Doungsa-ard *et al*. (2015) เก็บรักษาดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง ไว้ที่อุณหภูมิ -20 หรือ -40 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพและคุณภาพของดีเอ็นเอ

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

ไพร์เมอร์ที่ใช้ในการศึกษา

the Internal Transcribed Spacer (ITS)

V9G: TTACGTCCCTGCCCTTTGTA (de Hoog and Gerrits van den Ende, 1998)

ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC (White *et al*., 1990)

the translation elongation factor 1-alpha (tef1)

EF1-728F: CATCGAGAAGTTCGAGAAGG (Carbone and Kohn, 1999)

EF-2: GGARGTACCAGTSATCATGTT (O'Donnell *et al*., 1998)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ของตำแหน่ง ITS tef1 และ LSU ด้วย Green Hot Start PCR Master Mix (biotechrabbit™) ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ กำหนด annealing temperature ที่ 56 องศาเซลเซียส

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) เตรียม 1% agarose gel และผสม SERVA HiSens Stain G ในอัตราส่วน 1:50,000 ผสมผลิตภัณฑ์ PCR 5 ไมโครลิตร ด้วย loading dye 1 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นหยอดลงใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 1% ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer) ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยัง บริษัท Macrogen Korea เพื่อทำ purification และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) มาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2021.0.3 และบันทึก

ข้อมูลในรูปแบบไฟล์ fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม

การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์

นำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์ (consensus sequence) แต่ละตำแหน่งมาจัดเรียง (align) เป็นชุดข้อมูล (dataset) รวมกับ type sequences ของแต่ละตำแหน่งได้แก่ ITS และ tef1 จากรายงานศึกษาอนุกรมวิธานของเชื้อราวงศ์ *Trichoderma* และตรวจสอบการจัดเรียงของชุดข้อมูล (alignment) ด้วยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม MAFFT X ใช้โปรแกรม Gblocks เพื่อกรองส่วนที่เป็น ambiguous sequence จากนั้นจัดทำ partitioned (combined) dataset ของตำแหน่ง ITS และ tef1 บันทึก dataset และ partitioned dataset ในรูปแบบไฟล์ nexus โดยใช้โปรแกรม Mesquite

วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อการจัดจำแนก

จำแนกชนิดของรา *Trichoderma* โดยวิเคราะห์จาก combined dataset ของ ITS และ tef1 วิเคราะห์ด้วย phylogenetic criteria 2 แบบคือ

1. Maximum Likelihood (ML) โดยเตรียมไฟล์ phy และวิเคราะห์โดยโปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) กำหนด model of evolution แบบ GTRGAMMA ซึ่งจำเพาะต่อการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command –f a) เริ่มจาก random starting tree และ กำหนด maximum likelihood bootstrap จำนวน 1000 ครั้ง

2. Bayesian inference (BI) เตรียมไฟล์ nexus วิเคราะห์โดยโปรแกรม MrBayes (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) โดยใช้วิธี Markov Chain Monte Carlo (MCMC) กำหนด model of evolution แบบ GTRGAMMA ค่าตั้งต้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ดังนี้ กำหนด 4 runs แต่ละ run ประกอบด้วย 4 chains วิเคราะห์จำนวน 10 ล้าน generations ตั้งค่า cold chain ที่ temperature 0.25 สุ่มตัวอย่าง substitution model parameters และบันทึก trees ทุก 500 generations ตรวจสอบความเชื่อมั่นของ topology ด้วย cumulative and compare functions ด้วย AWTY (Nylander *et al*., 2008)

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การคัดเลือกและทดสอบศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในห้องปฏิบัติการ

เก็บตัวอย่างดินและรากพืช จากจังหวัด พัทลุง ระนอง สงขลา ฉะเชิงเทรา นครนายก ปราจีนบุรี ชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด สระแก้วอุบลราชธานี หนองคาย บึงกาฬ นครพนม ร้อยเอ็ด

ศรีสะเกษ เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง น่าน แพร่ ตาก อุตรดิตถ์ สุโขทัย กำแพงเพชร นครปฐม เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นำมาแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในห้องปฏิบัติการ ได้ 194 ไอโซเลท และเตรียมเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร 31 ไอโซเลท รวม 227 ไอโซเลท

ผลการทดสอบศักยภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยด้วยวิธี dual culture technique บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ในห้องปฏิบัติการ ได้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* สูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ 10 ไอโซเลท (Figure 3) ได้แก่ T69, T48, T64, T92, T71, T117, T127, T149, T129 และ T61 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 55.00, 54.38, 54.00, 53.25, 52.38, 51.75, 51.13, 51.13, 51.00 และ 50.50 ตามลำดับ และมีระดับการยับยั้ง (Scale Bell) 2.20, 2.00, 2.10, 3.00, 2.00, 2.00, 3.00, 3.00, 3.00 และ 3.00 ตามลำดับ (Table 1)

2. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

การประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเน่าคอดิน (การทดลองครั้งที่ 1) (Table 2)

ที่ 3 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.12-3.86 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 10.27 เปอร์เซนต์ โดยที่การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho48, Tricho64 และ Tricho71 มีการเกิดโรค 0.12, 0.42 และ 0.12 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ซึ่งต่ำที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho92 ซึ่งมีการเกิดโรค 3.86 เปอร์เซนต์ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทอื่นๆ

ที่ 5 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.11-6.67 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 16.74 เปอร์เซนต์ โดยที่การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho92 มีการเกิดโรค 6.67 เปอร์เซนต์ สูงที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทอื่นๆ

ที่ 7 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.32-7.74 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 22.11 เปอร์เซนต์ โดยที่การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho48 และTricho64 มีการเกิดโรค 0.32 และ 0.85 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ซึ่งต่ำที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho61 และ ไอโซเลท 92 ซึ่งมีการเกิดโรค 4.55 และ 7.74 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทอื่นๆ

ที่ 9 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.85-8.06 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม

(น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 24.25 เปอร์เซนต์ โดยที่การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho69, Tricho48, Tricho64, Tricho71, Tricho117, Tricho127, Tricho149 และ Tricho61 มีการเกิดโรค 1.22, 2.10, 0.85, 1.40, 2.22, 3.46,1.51 และ 2.54 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho92 มีการเกิดโรค 8.06 เปอร์เซนต์ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho129 ซึ่งมีการเกิดโรค 4.55 เปอร์เซนต์

ที่ 11 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.85-8.06 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งมีการเกิดโรค 25.70 เปอร์เซนต์ โดยที่การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho69, Tricho48, Tricho64, Tricho71, Tricho117, Tricho149 และ Tricho61 มีการเกิดโรค 1.22, 2.10, 0.85, 1.38, 2.22, 1.16 และ 2.54 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho92 มีการเกิดโรค 8.06 เปอร์เซนต์ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho127 และ Tricho129 ซึ่งมีการเกิดโรค 3.46 และ 4.55 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

จากการทดลองนี้ จะเห็นว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) โดยที่การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho64, Tricho71 และ Tricho149 มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำกว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทอื่นๆ

การประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเน่าคอดิน (การทดลองครั้งที่ 2) (Table 3)

ที่ 3 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.16-16.76 เปอร์เซนต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 9.80 เปอร์เซนต์ โดยที่การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho64, Tricho71, Tricho117, Tricho149, Tricho129 และ Tricho61 มีการเกิดโรค 2.96, 0.78, 1.19, 2.66, 0.16 และ 2.24 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho127 ซึ่งมีการเกิดโรค 16.76 เปอร์เซนต์

ที่ 5 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho48, Tricho92 และ Tricho127 มีการเกิดโรค 11.64, 11.68 และ 14.06 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 16.83 เปอร์เซนต์ ส่วนการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho71 และ Tricho129 มีการเกิดโรคต่ำที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม โดยมีการเกิดโรค 1.06 และ 0.76 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

ที่ 7 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho127 มีการเกิดโรค 16.90 เปอร์เซนต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 23.93

เปอร์เซนต์ ส่วนการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho71 และ Tricho129 มีการเกิดโรคต่ำที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม โดยมีการเกิดโรค 2.15 และ 2.14 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

ที่ 9 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho48, Tricho92 และ Tricho127 มีการเกิดโรค 16.12, 14.25 และ 15.13 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 24.52 เปอร์เซนต์ ส่วนการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho64, Tricho71 และ Tricho129 มีการเกิดโรคต่ำที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม โดยมีการเกิดโรค 3.92, 3.10 และ 2.34 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

ที่ 11 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho48, Tricho92 และ Tricho127 มีการเกิดโรค 16.40, 14.14 และ 13.99 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 22.79 เปอร์เซนต์ ส่วนการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho64, Tricho71, Tricho117 และ Tricho129 มีการเกิดโรคต่ำที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม โดยมีการเกิดโรค 3.64, 3.07, 4.85 และ 2.85 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

จากการทดลองนี้ จะเห็นว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho64, Tricho71 และ Tricho129 มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำกว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทอื่นๆ

จากทั้ง 2 การทดลอง พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho64 และ Tricho71 มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำกว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทอื่นๆ จึงนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. 2 ไอโซเลทนี้ไปศึกษาอัตราการใช้ที่เหมาะสม ต่อไป

3. การศึกษาอัตราใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่เหมาะสมในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

การประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเน่าคอดิน (การทดลองครั้งที่ 1) (Table 4)

ที่ 3 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.61-3.89 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 4.73 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกกรรมวิธี มีการเกิดโรค 0.00, 0.45, 0.61, 1.70, 2.07, 2.01, 0.54, 0.24, และ 0.62 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 5 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.00-2.07 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 9.38 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกกรรมวิธี มีการเกิดโรค 1.97, 1.57, 0.81, 2.39, 2.67, 3.89, 0.97, 1.11, และ 0.61 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 7 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.81-4.68 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 11.91 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า การใช้ Tricho71 ที่ 10^8 และ 10^9spores/ml มีการเกิดโรค 4.68 และ 4.32 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้ Tricho64 ที่ 10^9spores/ml การใช้ Trichoderma DOA TH50 ที่ 10^7- 10^9 spores/ml ที่มีการเกิดโรค 0.81, 0.96, 1.10 และ 0.87 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

ที่ 9 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.81-8.37 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 23.28 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า การใช้ Tricho71 ที่ 10^8 และ 10^9spores/ml มีการเกิดโรค 8.37 และ 6.17 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้ Tricho64 ที่ 10^8 และ 10^9spores/ml การใช้ Trichoderma DOA TH50 ที่ 10^7- 10^9 spores/ml ที่มีการเกิดโรค 2.01, 0.81, 1.60, 1.10 และ 0.87 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

ที่ 13 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.81-13.68 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 32.02 เปอร์เซนต์ โดยที่อัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกกรรมวิธี มีการเกิดโรค 1.97, 1.57, 0.81, 2.39, 2.67, 3.89, 0.97, 1.11, และ 0.61 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 17 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.81-15.74 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 58.77 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า การใช้ Tricho71 ที่ 10^8 spores/ml มีการเกิดโรค 15.74 เปอร์เซนต์ สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้ Tricho64 ที่ 10^8 และ 10^9spores/ml การใช้ Tricho71 ที่ 10^7 และ 10^9spores/ml การใช้ Trichoderma DOA TH50 ที่ 10^7- 10^9 spores/ml ที่มีการเกิดโรค 2.01, 0.81, 6.17, 6.78, 3.50, 1.10 และ 0.87 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

ที่ 21 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.81-15.94 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 91.07 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า การใช้ Tricho71 ที่ 10^8 spores/ml มีการเกิดโรค 15.74 เปอร์เซนต์ สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้ *Trichoderma* spp. ทุกกรรมวิธี ส่วนการใช้ Tricho64 ที่ 10^8 และ 10^9spores/ml การใช้ Trichoderma DOA TH50 ที่ 10^7- 10^9 spores/ml ที่มีการเกิดโรค 2.23, 0.81, 3.50, 1.10 และ 0.87 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

จากการทดลองนี้ พบว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) โดยที่การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho64 ที่ 10^9 spores/ml มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำที่สุด (0.81 เปอร์เซนต์) และมีประสิทธิภาพการควบคุมโรคสูง (90.18 เปอร์เซนต์) ซึ่งเทียบเท่ากับการใช้ Trichoderma DOA TH50 ที่ 10^9 spores/ml ที่มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำ (0.87 เปอร์เซนต์) และมีประสิทธิภาพการควบคุมโรคสูง (90.11 เปอร์เซนต์)

การประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเน่าคอดิน (การทดลองครั้งที่ 2) (Table 5)

ที่ 3 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.00-8.53 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 13.61 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า การใช้ Tricho71 ที่ 10^8 spores/ml และ การใช้ Trichoderma DOA TH50 ที่ 10^7 spores/ml มีการเกิดโรค 7.04 และ 8.53 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. กรรมวิธีอื่นๆ

ที่ 5 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.00-12.49 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 33.48 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า การใช้ Tricho71 ที่ 10^8 spores/ml และ การใช้ Trichoderma DOA TH50 ที่ 10^7 และ 10^9spores/ml มีการเกิดโรค 9.04, 12.49 และ 7.59 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. กรรมวิธีอื่นๆ

ที่ 7 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.00-20.72 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 51.47 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า การใช้ Tricho71 ที่ 10^7, 10^8 spores/ml และ การใช้ Trichoderma DOA TH50 ที่ 10^7 และ 10^9spores/ml มีการเกิดโรค 11.78, 15.45, 20.72 และ 14.29 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. กรรมวิธีอื่นๆ

ที่ 9 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.00-23.87 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 60.70 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า การใช้ Tricho71 ที่ 10^7, 10^8 spores/ml และ การใช้ Trichoderma DOA TH50 ที่ 10^7 - 10^9spores/ml มีการเกิดโรค 14.23, 17.97, 23.87, 15.22 และ

16.92 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. กรรมวิธีอื่นๆ

ที่ 13 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.40-32.97 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 71.27 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า การใช้ Tricho71 ที่ 10^7, 10^8 spores/ml และ การใช้ Trichoderma DOA TH50 ที่ 10^7 และ 10^9spores/ml มีการเกิดโรค 22.31, 24.67, 32.97 และ 26.47 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. กรรมวิธีอื่นๆ

ที่ 17 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.78-34.21 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 78.97 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า การใช้ Tricho64 ที่ 10^7 spores/ml การใช้ Tricho71 ที่ 10^7, 10^8 spores/ml และ การใช้ Trichoderma DOA TH50 ที่ 10^7 และ 10^9spores/ml มีการเกิดโรค 20.02, 24.98, 30.63, 34.21 และ 30.93 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. กรรมวิธีอื่นๆ

ที่ 21 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท และทุกอัตราการใช้ มีการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 0.98-35.88 เปอร์เซนต์ ต่ำกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีการเกิดโรค 90.03 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า การใช้ Tricho64 ที่ 10^7 spores/ml การใช้ Tricho71 ที่ 10^7, 10^8 spores/ml และ การใช้ Trichoderma DOA TH50 ที่ 10^7 - 10^9spores/ml มีการเกิดโรค 23.57, 27.80, 31.60, 35.88, 20.84 และ 33.16 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. กรรมวิธีอื่นๆ

จากการทดลองนี้ พบว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำเปล่า) โดยที่การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho64 ที่ 10^9 spores/ml มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำที่สุด (0.98 เปอร์เซนต์) และมีประสิทธิภาพการควบคุมโรคสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ (88.94 เปอร์เซนต์)

ดังนั้น การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho64 ที่อัตรา 10^9 spores/ml ทำให้เปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำและมีประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ดี

4. จำแนกชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

จากการจำแนกชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท Tricho64 และ Tricho71 โดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม พบว่า ทั้ง 2 ไอโซเลท เป็น เชื้อรา *Trichoderma harzianum*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2567 ณ ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยการเก็บตัวอย่างดินและรากพืช 516 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. บนอาหาร rose bengal agar และแยกเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร PDA ได้ 194 ไอโซเลท และจากหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร 31 ไอโซเลท รวม 227 ไอโซเลท นำมาทดสอบศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยวิธี dual culture บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) นำเชื้อรา *Trichoderma* spp. 10 ไอโซเลท ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* สูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ T69, T48, T64, T92, T71, T117, T127, T149, T129 และ T61 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริกในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง สามารถคัดเลือกได้เชื้อรา *Trichoderma* spp. 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลทT64 และ T71 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริกได้ จากนั้นทำการหาอัตราและวิธีการใช้ พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T64 ที่ความเข้มข้น 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำและมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเน่าคอดินของพริก และเมื่อทำการจำแนกชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T64 และ ไอโซเลท T71 เป็นเชื้อรา *Trichoderma harzianum*

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2552. *คู่มือโรคผัก*. บริษัท เอ-วันฟิวเจอร์ จำกัด. นนทบุรี. 153 หน้า.

กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2554. *โรคผักและการป้องกันกำจัด*. บริษัท นิวธรรมดาการพิมพ์ (ประเทศไทย) จำกัด. กรุงเทพฯ. 153 หน้า.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2538. การควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา: ตอนที่ 2 หลักการและบทบาท. *วารสารเคหการเกษตร*. ปีที่ 19(10): 159-165.

ชนินทร ดวงสอาด พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว มะโนรัตน์ สุดสงวน และ สุทธิณี ลิขิตตระกูลรุ่ง. 2560. การใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อจำแนกเชื้อรา *Trichoderma asperellum T. harzianum* และ *T. viride* DNA Barcoding for *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum* and *T. viride* Identification. หน้า 1625-1636. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2560*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

นิรนาม. 2016. *การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) ของประเทศไทย*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://ippc.acfs.go.th/pest/G001/T008/FUNGI125 (3 มีนาคม 2563).

Agrios, G.N. 2005. Plant pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press, Oxford, UK. 948 p.

Carbone, I. and L.M. Kohn. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91: 553-556.

Doungsa-ard, C., A.R. McTaggart, A.D.W. Geering, T.U. Dalisay, J. Ray and R.G. Shivas. 2015. *Uromycladium falcatarium* sp. nov., the cause of gall rust on *Paraserianthes falcataria* in south-east Asia. *Australasian Plant Pathology* 44:25-30.

Juma, P., L. Murungi and T. Losenge. 2015. *Biological Control of Pythium aphanidermatum causing dampling off disease in Ethiopian Kales*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://journals.jkuat.ac.ke/index.php/jscp/article/download/1235/1013

Harman, G.E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathol*. 96(2):90–194. PMid:18943924. https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190

Nylander, J.A., J.C. Wilgenbusch, D.L. Warren and D.L. Swofford. 2008. AWTY (are we there yet?): a system for graphical exploration of MCMC convergence in Bayesian phylogenetics. *Bioinformatics* 24: 581-583.

Ramamoorthy, V., T. Raguchander and R. Samiyappan. 2002. Enhancing Resistance of Tomato and Hot Pepper to Pythium Diseases by Seed Treatment with Fluorescent Pseudomonads. *European Journal of Plant Pathology.* 108 : 429–441.

Richard, M., Martin, K., Mansuet, T., Adeltruda, M. and K. Elisiana. N.d. *Damping off disease management in tomatoes*. (Online). Available. https://www.plantwise.org/knowledgebank/factsheetforfarmers/20137803396 (March 3, 2020).

Ronquist, F. and J.P. Huelsenbeck. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.

Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.

White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications"* (M. Innis, D. Gelfand, J. Shinsky and T. White, eds.), Academic Press. 315-322 pp.

Table 1 Potential of *Trichoderma* spp. to inhibit the hyphae growth of *Pythium aphanidermatum*, the causal agent of chilli damping off in the laboratory.

Number	Isolate	inhibit the hyphae growth of *Pythium aphanidermatum*	
		inhibition rate growth (PIRG, percent)*	(Scale Bell)**
1	T69	55.00	2.20
2	T48	54.38	2.00
3	T64	54.00	2.10
4	T92	53.25	3.00
5	T71	52.38	2.00
6	T117	51.75	2.00
7	T127	51.13	3.00
8	T149	51.13	3.00
9	T129	51.00	3.00
10	T61	50.50	3.00

Table 2 Efficiency of *Trichoderma* species as biological control agents against on chili damping off in greenhouse (Trial 1)

Treatments	Disease incidence of damping off[1/] (%) (After planting seeds)				
	Day 3	Day 5	Day 7	Day 9	Day 11
T1 :Tricho69	0.74 ab	**1.04 a**	1.22 ab	**1.22 a**	**1.22 a**
T2 :Tricho48	**0.12 a**	**0.11 a**	**0.32 a**	**2.10 a**	**2.10 a**
T3 :Tricho64	**0.42 a**	**0.37 a**	**0.85 a**	**0.85 a**	**0.85 a**
T4 :Tricho92	3.86 b	6.67 b	7.74 c	8.06 b	8.06 b
T5 :Tricho71	**0.12 a**	**1.41 a**	1.40 ab	**1.40 a**	**1.38 a**
T6 :Tricho117	1.45 ab	**2.26 a**	2.22 ab	**2.22 a**	**2.22 a**
T7 :Tricho127	2.05 ab	**2.03 a**	3.04 ab	**3.46 a**	3.46 ab
T8 :Tricho149	0.88 ab	**1.36 a**	1.51 ab	**1.51 a**	**1.16 a**
T9 :Tricho129	1.37 ab	**3.41 a**	4.55 b	4.55 ab	4.55 ab
T10 :Tricho61	1.16 ab	**2.75 a**	2.54 ab	**2.54 a**	**2.54 a**
T11 : water (control)	10.27 c	16.74 c	22.11 d	24.25 c	25.70c
C.V. (%)	**110.1**	**69.5**	**55.0**	**58.6**	**58.2**

[1/] Menas followed by a same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 3 Efficiency of *Trichoderma* species as biological control agents against on chili damping off in greenhouse (Trial 2)

Treatments	Disease incidence of damping off[1/] (%) (After planting seeds)				
	Day 3	Day 5	Day 7	Day 9	Day 11
T1 :Tricho69	6.53 ab	7.47 abc	9.90 abc	11.27 bc	11.10 ab
T2 :Tricho48	10.13 ab	11.64 bcd	13.82 bc	16.12 cd	16.40 bc
T3 :Tricho64	**2.96 a**	2.73 ab	3.52 ab	**3.92 a**	**3.64 a**
T4 :Tricho92	8.32 ab	11.68 bcd	12.58 abc	14.25 cd	14.14 abc
T5 :Tricho71	**0.78 a**	**1.06 a**	**2.15 a**	**3.10 a**	**3.07 a**
T6 :Tricho117	**1.19 a**	1.71 ab	2.93 ab	4.60 ab	**4.85 a**
T7 :Tricho127	16.76 b	14.06 cd	16.90 cd	15.13 cd	13.99 abc
T8 :Tricho149	**2.66 a**	3.45 ab	5.80 ab	7.55 ab	7.30 ab
T9 :Tricho129	**0.16 a**	**0.76 a**	**2.14 a**	**2.34 a**	**2.85 a**
T10 :Tricho61	**2.24 a**	5.11 abc	5.10 ab	7.02 ab	7.03 ab
T11 : water (control)	9.80 ab	16.83 d	23.93 d	24.52 d	22.79 c
C.V. (%)	**122.7**	**103.2**	**82.9**	**81.2**	**80.0**

[1/] Menas followed by a same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 4 Application rate of *Trichoderma* species as biological control agents against on chili damping off in greenhouse (Trial 1)

Treatments	Disease incidence of damping off[1/] (%) (After planting seeds)							Disease control efficacy (%)
	Day 3	Day 5	Day 7	Day 9	Day 13	Day 17	Day 21	
T1 : Tricho64 (10^7 spores/ml)	0.00 a	1.97 a	2.64 ab	4.05 ab	6.40 a	9.42 bc	10.26 d	79.80
T2 : Tricho64 (10^8 spores/ml)	0.45 a	1.57 a	1.78 ab	2.01 a	2.01 a	2.01 ab	2.23 ab	88.62
T3 : Tricho64 (10^9 spores/ml)	0.61 a	0.81 a	0.81 a	0.81 a	0.81 a	0.81 a	0.81 a	90.18
T4 : Tricho71 (10^7 spores/ml)	1.70 a	2.39 a	2.73 ab	3.95 ab	5.07 a	6.17 ab	7.91 cd	82.38
T5 : Tricho71 (10^8 spores/ml)	2.07 a	2.67 a	4.68 b	8.37 c	13.68 b	15.74 c	15.94 e	73.57
T6 : Tricho71 (10^9 spores/ml)	2.01 a	3.89 a	4.32 b	6.17 c	6.78 a	6.78 ab	6.78 cd	83.63
T7 : Trichoderma DOA TH50 (10^7 spores/ml)	0.54 a	0.97 a	0.96 a	1.60 a	3.30 a	3.50 ab	3.50 ab	87.23
T8 : Trichoderma DOA TH50 (10^8 spores/ml)	0.24 a	1.11 a	1.10 a	1.10 a	1.10 a	1.10 a	1.10 a	89.86
T9 : Trichoderma DOA TH50 (10^9 spores/ml)	0.62 a	0.61 a	0.87 a	0.87 a	0.87 a	0.87 a	0.87 a	90.11
T10 : water (control)	4.73 b	9.38 b	11.91 c	23.28 d	32.02 c	58.77 d	91.07 f	0
CV (%)	**142.02**	**107.65**	**77.50**	**56.87**	**60.45**	**53.92**	**28.72**	**-**

[1/] Menas followed by a same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 5 Application rate of *Trichoderma* species as biological control agents against on chili damping off in greenhouse (Trial 2)

Treatments	Disease incidence of damping off[1/] (%) (After planting seeds)							Disease control efficacy (%)
	Day 3	Day 5	Day 7	Day 9	Day 13	Day 17	Day 21	
T1 : Tricho64 (10^7 spores/ml)	0.91 ab	2.42 ab	5.24 abc	6.74 abc	15.54 bcd	20.02 cde	23.57 bc	63.85
T2 : Tricho64 (10^8 spores/ml)	0.39 a	1.87 ab	3.82 ab	4.02 ab	7.52 ab	10.37 ab	10.68 ab	78.17
T3 : Tricho64 (10^9 spores/ml)	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.40 a	0.78 a	0.98 a	88.94
T4 : Tricho71 (10^7 spores/ml)	3.70 bc	5.97 bc	11.78 bcd	14.23 de	22.31 de	24.98 cde	27.80 c	59.15
T5 : Tricho71 (10^8 spores/ml)	7.04 d	9.07 d	15.45 d	17.97 e	24.67 de	30.63 de	31.60 c	54.93
T6 : Tricho71 (10^9 spores/ml)	0.24 a	1.30 ab	4.77 abc	5.01 abc	7.68 ab	8.74 ab	9.41 ab	79.58
T7 : Trichoderma DOA TH50 (10^7 spores/ml)	8.53 d	12.49 d	20.72 d	23.87 e	32.97 e	34.21 e	35.88 c	50.18
T8 : Trichoderma DOA TH50 (10^8 spores/ml)	0.73 ab	1.47 ab	1.90 a	15.22 de	8.40 abc	15.22 abc	20.84 bc	66.88
T9 : Trichoderma DOA TH50 (10^9 spores/ml)	4.94 bc	7.59 cd	14.29 cd	16.92 de	26.47 de	30.93 de	33.16 c	53.20
T10 : water (control)	13.61 e	33.48 e	51.47 e	60.70 f	71.27 f	78.97 f	90.03 d	
CV (%)	**78**	**48**	**53**	**45**	**48**	**45**	**40**	

[1/] Menas followed by a same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

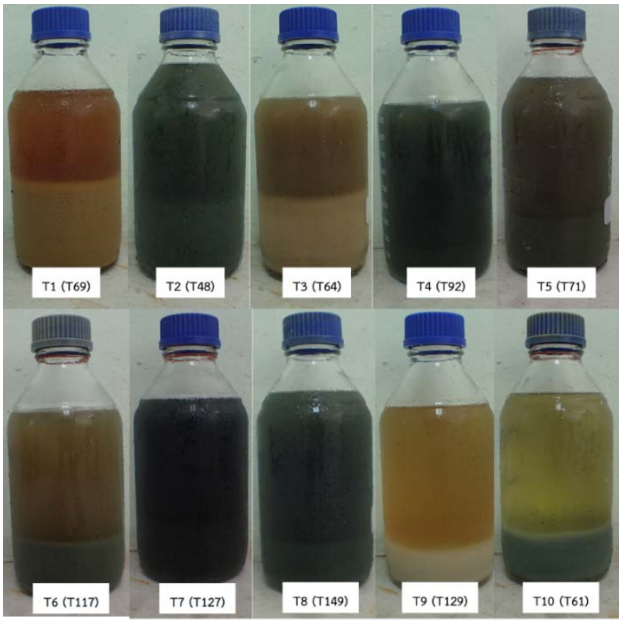


Figure 1 Spore suspension of 10 isolates of *Trichoderma* spp. for the efficacy test in controlling chilli damping off

Figure 2 *Trichoderma* spp. Incubate before planting

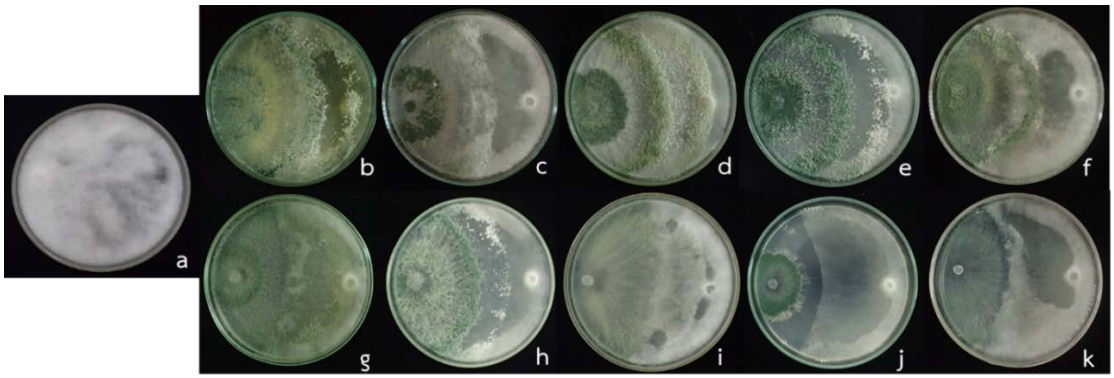


Figure 3 Inhibition of the hyphal growth of *Pythium aphanidermatum* by dual culture technique a : *Pythium aphanidermatum*, b : *Trichoderma* T69, c : T48, d : T64, e : T92, f : T71, g : T117, h : T127, i : T149, j : T129 , k : T61

การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอม สาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria porri*

Screening of *Trichoderma* spp. for controlling purple blotch of *Allium* spp. caused by *Alternaria porri*

หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/] สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[2/] นพพล สัทยาสัย[1/]
มะลิดา ชูรินทร์[2/] กรกต ดำรักษ์[1/] ชนินทร ดวงสอาด[2/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The objectives of this study were to select the isolate of *Trichoderma* spp. which high potential inhibit mycelial growth of *Alternaria porri* and application to control Purple blotch disease. *Trichoderma* spp. were evaluated against *A. porri* by dual culture bioassay. The result showed 14 isolates from 52 isolate of *Trichoderma* spp. could inhibit mycelial growth of *A. porri* more than 75% after dual culture technique test on Potato Dextrose Agar (PDA) for 14 days. Ten isolates with the highest percentage of inhibition were then used to test the control of Purple blotch disease in greenhouse conditions. It was found that 3 isolate was likely to be able to control the disease effectively. Three isolate was then tested for the control of Purple blotch disease in field conditions. It was found that the isolate with the best disease control ability in field was KRIM1 at a spore density of 10^8 spores/ml. The classification of the fungus using phylogenetic analyses it was found to be *Trichoderma asperellum*.

Keywords : *Trichoderma* spp.**,** *Alternaria porri***,** Purple blotch disease

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-02-03-65

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกไอโซเลต *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอม ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria porri* โดยคัดเลือกในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อนำไปใช้ควบคุมโรคในสภาพโรงเรือนและแปลงปลูก โดยใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. porri* ด้วยวิธี dual culture technique บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท จาก 52 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. porri* ได้ในระดับ 75% ขึ้นไป จากนั้นนำไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด 10 อันดับแรกไปใช้ในการทดสอบการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมในสภาพโรงเรือน พบว่า มี 3 ไอโซเลทที่มีแนวโน้มสามารถควบคุมความรุนแรงของโรคในโรงเรือนได้ผลดี คือไอโซเลท KRIM1, NPTNC2 และ NYKM2 ที่เก็บดินมาจากพื้นที่จังหวัด กาญจนบุรี, นครปฐม และนครนายก ตามลำดับ จากนั้นนำไปทดสอบการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมในสภาพแปลง พบว่าไอโซเลทที่มีความสามารถในการควบคุมโรคในแปลงได้ดีที่สุดคือ KRIM1 ที่ความหนาแน่นสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และจากการจำแนกเชื้อราโดยใช้ข้อมูลทางพันธุกรรม พบว่าคือเชื้อรา *Trichoderma asperellum*

คำหลัก : *Trichoderma* spp.**,** *Alternaria porri***,** โรคใบจุดสีม่วง

คำนำ

การปลูกหอมในประเทศไทยมักพบปัญหาด้านการระบาดของโรคและศัตรูพืช ซึ่งโรคที่พบว่าเป็นปัญหาสำคัญโรคหนึ่งในการปลูกหอมคือ โรคใบจุดสีม่วง (Purple blotch disease) เกิดจากเชื้อรา *Alternaria porri* พบการระบาดมากโดยเฉพาะในช่วงปลายฝนต้นหนาว และระยะที่มีหมอกและน้ำค้างจัด อาการเริ่มแรกเป็นจุดฉ่ำน้ำ ขนาดเล็ก เมื่อแห้งเปลี่ยนเป็นจุดแผลสีขาว ต่อมาแผลขยายออก รูปกลมรีหรือยาวไปตามใบ ขนาดไม่แน่นอน เนื้อเยื่อยุบตัวลง แผลมีสีม่วงเข้มหรือสีน้ำตาลอมม่วง ตรงกลางซีดจางกว่าเล็กน้อย ส่วนรอบนอกมีแถบเซลล์ตายสีขาวหรือสีเหลืองส้มล้อมรอบ เมื่ออากาศชื้น เชื้อราจะสร้างสปอร์สีดำที่บริเวณแผล ใบที่มีแผลขนาดใหญ่หลายแผลติดกัน จะหักพับลง ทำให้ใบแห้งตาย เมื่อโรคระบาดรุนแรงใบจะแห้งหมด ต้นตาย เก็บผลผลิตไม่ได้ บางครั้งถ้าสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม พบแผลจุดสีขาวขนาดเล็กจำนวนมากกระจายทั่วใบ แผลไม่พัฒนาขยายเป็นแผลสีม่วง มองเห็นเป็นอาการใบลาย ระบาดโดยสปอร์ของเชื้อแพร่กระจายไปตามลม น้ำ แมลง เครื่องมือการเกษตรและเมล็ดพันธุ์ ราอยู่ข้ามฤดูโดยสปอร์ปนอยู่กับเศษซากพืชในดิน โรคระบาดได้ดีในสภาพอากาศเย็น มีความชื้นสูง จึงพบระบาดในฤดูหนาวที่มีน้ำค้างลงจัดหรือปลายฤดูฝนต่อฤดูหนาว โดยปกติจะพบโรคระบาดในระยะหอมกระเทียมโตหรือลงหัวแล้ว แต่บางครั้งอาจพบเมื่อต้นยังเล็ก ถ้าปลูกพืชล่าช้า ในขณะที่แปลงข้างเคียงมีโรคระบาดอยู่แล้ว โรคจะระบาดรุนแรงมากถ้ามีเพลี้ยไฟร่วมเข้าทำลาย (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2554)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นวิธีการทางเลือก (alternative method) ที่เน้นการควบคุมและลดปริมาณ ตลอดจนลดกิจกรรมของเชื้อก่อโรคให้อยู่ระดับที่ไม่สามารถก่อให้เกิดความเสียหายกับพืช โดยปัจจุบันการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืชได้รับความสนใจและนำมาปรับใช้ในระบบการผลิตพืชผักเพื่อทดแทนหรือลดปริมาณการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช จิระเดช (2538) พบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มาเป็นเชื้อราที่มีคุณสมบัติและศักยภาพสูงในการใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ตรงตามหลักการและแนวคิดของการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธี ทั้งนี้เพราะเป็นเชื้อราที่ดำรงชีวิตอยู่ในดิน อาศัยเศษซากพืชซากสัตว์และแหล่งอินทรียวัตถุ เป็นแหล่งอาหาร พบได้โดยทั่วไปในดินทุกแห่ง เป็นศัตรู (ปฏิปักษ์) ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดโดยวิธีการเบียดเบียนหรือเป็นปรสิตและแข่งขันหรือแย่งใช้อาหารที่เชื้อโรคต้องการ นอกจากนี้เชื้อราไตรโคเดอร์มายังสามารถผลิตสารปฏิชีวนะและสารพิษ ตลอดจนน้ำย่อยจากพวกเอนไซม์สำหรับช่วยละลายผนังเส้นใยของเชื้อโรคพืช คุณสมบัติพิเศษของเชื้อราไตรโคเดอร์มาคือ สามารถชักนำให้ต้นพืชมีความต้านทานต่อเชื้อโรคพืชทั้งเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้เกษตรกรลดการใช้สารเคมีลง ชนินทร (2560) พบว่า *Trichoderma asperellum T. harzianum* และ *T. viride* เป็นเชื้อราที่เป็นที่รู้จักใน genus *Trichoderma* และมีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีการส่งเสริมให้ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยทั้งทางภาครัฐและเอกชน รวมถึงมีการผลิตเชื้อรา *T. asperellum T. harzianum* และ *T.viride* ในเชิงการค้า

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นกล้าหอม
2. เชื้อรา *Alternaria porri* สาเหตุโรคใบจุดสีม่วงในหอม
3. เชื้อรา *Trichoderma* spp.
4. อาหารสำหรับแยกและเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ peptone dextrose rose-bengal agar (Martin’s medium), rose bengal agar, potato dextrose agar (PDA) และ เมล็ดข้าวเปลือก
5. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ cork borer และเข็มเขี่ย
6. อุปกรณ์การเกษตร เช่น กระถาง และดินปลูกพืช
7. สารป้องกันกำจัดโรคพืช iprodione 50% WP (30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร)
8. ป้ายแสดงกรรมวิธีทดลอง และอุปกรณ์สำหรับการบันทึกข้อมูล
9. แปลงหอมของเกษตรกร
10. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

วิธีการ

1. การเก็บ และรวบรวม เชื้อรา *Trichoderma* spp. และ เชื้อรา *Alternaria porri* สาเหตุโรคใบจุดสีม่วงในหอมและทดสอบศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. porri* สาเหตุโรคใบจุดสีม่วงของหอมในห้องปฏิบัติการ (2565)

เก็บตัวอย่างดิน พืช และวัสดุอื่น ๆ ที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถเจริญอยู่ได้ จากแหล่งต่างๆ มาแยกเชื้อบนอาหารที่เหมาะสม เช่น Martin's medium, rose bengal agar และ PDA แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ เก็บรักษาไว้เพื่อใช้ศึกษาต่อไป โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเชื้อรา *Trichoderma* spp. อีกส่วนหนึ่งที่ศึกษานำมาจาก หน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ทางการเกษตร กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

เก็บตัวอย่างโรคใบจุดสีม่วงของหอมที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria porri* จากแปลงปลูก นำมาแยกเชื้อบนอาหาร PDA และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

พิสูจน์การเป็นเชื้อสาเหตุโรค

ทดสอบด้วยวิธี dual culture technique โดยตัดชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา *A. porri* และเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่รวบรวมได้ แต่ละไอโซเลท ซึ่งเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 3 วัน วางลงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบ ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 1 เซนติเมตร ในฝั่งตรงข้ามกัน วางจานเลี้ยงเชื้อทดสอบไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 7-14 วัน (เมื่อโคโลนีของเชื้อรา *A. porri* ในจานเลี้ยงเชื้อกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีเชื้อรา *Trichoderma* spp. เจริญเต็มจาน) จึงบันทึกการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. porri* วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำๆ ละ 5 จานเลี้ยงเชื้อ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT การบันทึกการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. porri* โดยวัดรัศมีโคโลนีเชื้อราแล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition rate growth: PIRG) ของเชื้อรา โดยใช้สูตร

PIRG = [(RC - RT) / RC] x 100

RC = รัศมีโคโลนีเชื้อรา *A. porri* ในจานเลี้ยงเชื้อกรรมวิธีควบคุม

RT= รัศมีโคโลนีเชื้อรา *A. porri* ในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบ

เลือกไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria porri* ไปทดสอบในสภาพโรงเรือนต่อไป

การบันทึกข้อมูล สถานที่เก็บตัวอย่างเชื้อรา *Trichoderma* spp. และ *A. porri* รัศมีของโคโลนีเชื้อรา *Alternaria porri* และโคโลนีเชื้อรา *Trichoderma* spp.

สถานที่ทดลอง แปลงปลูกพืชต่าง ๆ และกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

2. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมในสภาพโรงเรือน (2566)

คัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพดี 10 อันดับแรก ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. porri* สูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมในสภาพโรงเรือน

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 6 ต้น มี 11 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 *A. porri* + *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 1

กรรมวิธีที่ 2 *A .porri* + *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 2

กรรมวิธีที่ 3 *A. porri* + *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 3

กรรมวิธีที่ 4 *A. porri* + *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 4

กรรมวิธีที่ 5 *A. porri* + *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 5

กรรมวิธีที่ 6 *A. porri* + *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 6

กรรมวิธีที่ 7 *A. porri* + *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 7

กรรมวิธีที่ 8 *A. porri* + *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 8

กรรมวิธีที่ 9 *A. porri* + *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 9

กรรมวิธีที่ 10 *A. porri* + *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 10

กรรมวิธีที่ 11 *A. porri* + น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

- เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *A. porri* เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 10 วัน ให้มีความหนาแน่นของสปอร์ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อลงบนต้นหอม

- เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ตามไอโซเลทที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. porri* (จากข้อ 2) ให้มีความหนาแน่นของสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นลงบนหอมที่ปลูกเชื้อ บ่มในโรงเรือน

ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค ด้วยการพ่น spore suspension ของเชื้อ *A. porri* บนหอมที่มีอายุ 15-30 วัน ที่เตรียมไว้ เมื่อพืชเริ่มแสดงอาการโรค (1-2 วัน หลังปลูกเชื้อ) ทำการพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ โดยพ่นทุก 5 วัน อย่างน้อย 4 ครั้ง ประเมินการเกิดโรคก่อนพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ทุกครั้ง และหลังพ่นครั้งสุดท้าย 5 และ 10 วัน

- ตรวจสอบหลังจากพ่นด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. และนำผลมาวิเคราะห์ประสิทธิภาพการพ่นด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

โดยการประเมินความรุนแรงของโรค แบ่งออกเป็น 6 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 พืชไม่ปรากฏอาการโรค

ระดับ 1 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 1-10% ของต้น

ระดับ 2 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 11-25% ของต้น

ระดับ 3 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 26-50% ของต้น

ระดับ 4 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 51-75% ของต้น

ระดับ 5 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 76% ขึ้นไป

นำข้อมูลระดับการเกิดโรคมาคำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI)
ดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI) = (ผลรวมของ (ระดับ x จำนวนใบของแต่ละระดับ) x 100)/ (จำนวนใบทั้งหมด x ระดับสูงสุด)
เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)
การบันทึกข้อมูล เปอร์เซ็นต์หรือระดับการเกิดโรคใบจุดสีม่วง
สถานที่ทดลอง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงในหอมในสภาพแปลงปลูก (2567)

- ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมในแปลงปลูก โดยเลือกใช้แปลงทดลองซึ่งพบโรคใบจุดสีม่วงของหอมระบาด วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพดี 3 ลำดับ จาก ข้อ 3 มาทำการทดสอบ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและสารป้องกันกำจัดโรคพืชเปรียบเทียบ iprodione 50% WP (30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร)
วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 30 ต้น มี 11 กรรมวิธี ดังนี้
กรรมวิธีที่ 1 พ่น *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 1 ที่ความเข้มข้น 10^7
กรรมวิธีที่ 2 พ่น *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 1 ที่ความเข้มข้น 10^8
กรรมวิธีที่ 3 พ่น *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 1 ที่ความเข้มข้น 10^9
กรรมวิธีที่ 4 พ่น *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 2 ที่ความเข้มข้น 10^7
กรรมวิธีที่ 5 พ่น *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 2 ที่ความเข้มข้น 10^8
กรรมวิธีที่ 6 พ่น *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 2 ที่ความเข้มข้น 10^9
กรรมวิธีที่ 7 พ่น *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 3 ที่ความเข้มข้น 10^7
กรรมวิธีที่ 8 พ่น *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 3 ที่ความเข้มข้น 10^8
กรรมวิธีที่ 9 พ่น *Trichoderma* spp. ไอโซเลท 3 ที่ความเข้มข้น 10^9
กรรมวิธีที่ 10 พ่น iprodione 50% WP
กรรมวิธีที่ 11 พ่น น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

- เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ตามไอโซเลทที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. porri* (จากข้อ 3) ให้มีความหนาแน่นของสปอร์ 10^7 10^8 และ 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นลงบนต้นหอม ดูแลรักษาตามวิธีการของเกษตรกร โดยทำการพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ ทุก 5 วัน อย่างน้อย 4 ครั้ง ประเมินการเกิดโรคก่อนพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ทุกครั้ง และหลังพ่นครั้งสุดท้าย 5 และ 10 วัน

- ตรวจสอบหลังจากพ่นด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. และนำผลมาวิเคราะห์ประสิทธิภาพการพ่นด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและสารป้องกันกำจัดโรคพืชเปรียบเทียบ iprodione 50% WP (30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร)

โดยประเมินความรุนแรงของโรค การประเมินความรุนแรงของโรค แบ่งออกเป็น 6 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 พืชไม่ปรากฏอาการโรค

ระดับ 1 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 1-10% ของต้น

ระดับ 2 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 11-25% ของต้น

ระดับ 3 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 26-50% ของต้น

ระดับ 4 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 51-75% ของต้น

ระดับ 5 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 76% ขึ้นไป

นำข้อมูลระดับการเกิดโรคมาคำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI)

ดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI) = (ผลรวมของ (ระดับ x จำนวนใบของแต่ละระดับ) x 100)/ (จำนวนใบทั้งหมด x ระดับสูงสุด)

เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

- รวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูล สรุปและรายงานผลการทดลอง

การบันทึกข้อมูล เปอร์เซ็นต์หรือระดับการเกิดโรคใบจุดสีม่วง

สถานที่ทดลอง แปลงเกษตรกรผู้ปลูกหอม จ.สุพรรณบุรี

4. จำแนกชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

โดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

- จำแนกชนิดเชื้อราโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำเชื้อราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร PDA และบันทึกลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ สีของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment) รูปร่าง ขนาด สี ของเส้นใย conidia conidiophore และโครงสร้างอื่น ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope และ compound microscope เปรียบเทียบลักษณะของรา *Trichoderma* ที่ศึกษากับคู่มือของ Rifai (1969) Bissett (1984) Bissett (1991a-c) และ Bissett (1992)

- จำแนกชนิดของเชื้อราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

สกัดดีเอ็นเอ

ตักหรือเขี่ยเส้นใยรวมถึง conidia ของเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 0.2-0.5 กรัม ลงในหลอดสำหรับสกัดดีเอ็นเอ และทำการสกัดตามวิธีของ Doungsa-ard *et al*. (2015) เก็บรักษาดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง ไว้ที่อุณหภูมิ -20 หรือ -40 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพและคุณภาพของดีเอ็นเอ

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

ไพร์เมอร์ที่ใช้ในการศึกษา

the Internal Transcribed Spacer (ITS)

V9G: TTACGTCCCTGCCCTTTGTA (de Hoog and Gerrits van den Ende, 1998)

ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC (White et al., 1990)

the translation elongation factor 1-alpha (tef1)

EF1-728F: CATCGAGAAGTTCGAGAAGG (Carbone and Kohn, 1999)

EF-2: GGARGTACCAGTSATCATGTT (O'Donnell et al., 1998)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ของตำแหน่ง ITS tef1 และ LSU ด้วย Green Hot Start PCR Master Mix (biotechrabbit™) ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ กำหนด annealing temperature ที่ 56 องศาเซลเซียส

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) เตรียม 1% agarose gel และผสม SERVA HiSens Stain G ในอัตราส่วน 1:50,000 ผสมผลิตภัณฑ์ PCR 5 ไมโครลิตร ด้วย loading dye 1 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นหยอดลงใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 1% ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer) ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยัง บริษัท Macrogen Korea เพื่อทำ purification และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) มาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2021.0.3 และบันทึกข้อมูลในรูปแบบไฟล์ fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม

การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์

นำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์ (consensus sequence) แต่ละตำแหน่งมาจัดเรียง (align) เป็นชุดข้อมูล (dataset) รวมกับ type sequences ของแต่ละตำแหน่งได้แก่ ITS และ tef1 จากรายงานศึกษาอนุกรมวิธานของเชื้อราวงศ์ *Trichoderma* (Samuels and Ismaiel, 2009; Li *et al*., 2013; Chaverri *et al*., 2015; Jaklitsch and Voglmayr, 2015; Robbertse *et al*., 2017) และตรวจสอบการจัดเรียงของชุดข้อมูล (alignment) ด้วยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม MAFFT X (Kumar *et al*., 2018) ใช้โปรแกรม Gblocks (Talavera and Castresana, 2007) เพื่อกรองส่วนที่เป็น ambiguous sequence จากนั้นจัดทำ partitioned (combined) dataset ของตำแหน่ง ITS และ tef1 บันทึก dataset และ partitioned dataset ในรูปแบบไฟล์ nexus โดยใช้โปรแกรม Mesquite

วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อการจัดจำแนก

จำแนกชนิดของรา *Trichoderma* โดยวิเคราะห์จาก combined dataset ของ ITS และ tef1 วิเคราะห์ด้วย phylogenetic criteria 2 แบบคือ

1. Maximum Likelihood (ML) โดยเตรียมไฟล์ phy และวิเคราะห์โดยโปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) กำหนด model of evolution แบบ GTRGAMMA ซึ่งจำเพาะต่อการ

วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command –f a) เริ่มจาก random starting tree และ กำหนด maximum likelihood bootstrap จำนวน 1000 ครั้ง

2. Bayesian inference (BI) เตรียมไฟล์ nexus วิเคราะห์โดยโปรแกรม MrBayes (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) โดยใช้วิธี Markov Chain Monte Carlo (MCMC) กำหนด model of evolution แบบ GTRGAMMA ค่าตั้งต้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ดังนี้ กำหนด 4 runs แต่ละ run ประกอบด้วย 4 chains วิเคราะห์จำนวน 10 ล้าน generations ตั้งค่า cold chain ที่ temperature 0.25 สุ่มตัวอย่าง substitution model parameters และบันทึก trees ทุก 500 generations ตรวจสอบความเชื่อมั่นของ topology ด้วย cumulative and compare functions ด้วย AWTY (Nylander *et al*., 2008)

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่ - แปลงปลูกพืชต่าง ๆ และกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

- แปลงเกษตรกรผู้ปลูกหอม จ.สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างดินจากสถานที่ต่างๆ จำนวน 152 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในห้องปฏิบัติการ ได้เชื้อรา *Trichoderma* spp. สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria porri* ในห้องปฏิบัติการ 39 ไอโซเลท และเชื้อราที่เก็บรวบรวมในห้องปฏิบัติการ จำนวน 13 ไอโซเลท รวม 52 ไอโซเลท นำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. porri* โดยวิธี dual culture technique บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นเวลา 14 วัน พบว่า มี 14 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้มากกว่า 75% และเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. porri* ได้ดีที่สุด 10 อันดับแรก ได้แก่ ไอโซเลท KRIM1 78.607%, NYKM3 77.37%, NPTNC2 77.25%, NYKM1 77.25%, NYKM2 77.00%, KRIM2 76.75%, PCTSL1 76.63%, BRMM1 76.38%, SRNTT1 75.89% และ NPTNC1 75.77% ตามลำดับ (Table 1, Figure 1) และไอโซเลทอื่นๆ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. porri* ได้มากกว่า 60%

จากการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงในสภาพโรงเรือน โดยใช้เชื้อราที่มีประสิทธิภาพดี 10 อันดับแรกจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ ใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีความหนาแน่นสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นลงบนต้นหอมในโรงเรือน โดยพ่นทุก 5 วัน อย่างน้อย 4 ครั้ง ประเมินการเกิดโรคก่อนพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ทุกครั้ง และหลังพ่นครั้งสุดท้าย 5 และ 10 วัน ตรวจสอบโดยนำผลมาวิเคราะห์ประสิทธิภาพจากการพ่นด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ พบว่ามี 3 ไอโซเลทที่มีแนวโน้มมี

ความสามารถควบคุมความรุนแรงของโรคในโรงเรือนได้ผลดี คือไอโซเลท KRIM1, NPTNC2 และ NYKM2 ซึ่งมีแหล่งที่มาจาก จ. กาญจนบุรี จ. นครปฐม และ จ. นครนายก ตามลำดับ (Table 2, Figure 2)

จากนั้นนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. 3 ไอโซเลทที่มีแนวโน้มสามารถควบคุมความรุนแรงของโรคในโรงเรือนได้ ไปใช้ในการทดสอบการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมในสภาพแปลงปลูก ที่มีขนาดแปลงย่อย 4 ตารางเมตร โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพดี 3 ลำดับ จากการทดสอบในโรงรือน นำมาทำการทดสอบเปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและสารป้องกันกำจัดโรคพืชเปรียบเทียบ iprodione 50% WP (30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร) ทดสอบโดยการเตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 3 ไอโซเลท ให้มีความหนาแน่นของสปอร์ 10^7 10^8 และ 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นลงบนต้นหอม ดูแลรักษาตามวิธีการของเกษตรกร โดยทำการพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ ทุก 5 วัน อย่างน้อย 4 ครั้ง ประเมินการเกิดโรคก่อนพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ทุกครั้ง และหลังพ่นครั้งสุดท้าย 5 และ 10 วัน ตรวจสอบ และนำผลมาวิเคราะห์ประสิทธิภาพการพ่นด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและสารป้องกันกำจัดโรคพืชเปรียบเทียบ iprodione (Table 3, Figure 3)

การประเมินเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดสีม่วงครั้งที่ 1 ก่อนการพ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. ครั้งแรกพบว่า ทุกกรรมวิธีมีการระบาดของโรคและค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคอยู่ระหว่าง 1.17 - 3.32 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี

การประเมินเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดสีม่วงครั้งที่ 2 หลังการพ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. ครั้งแรกพบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่น *Trichoderma* spp. มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี ซึ่งมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 5.00 – 6.87 เปอร์เซ็นต์ โดยกรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. KRIM1 ที่ความหนาแน่น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคต่ำสุด คือ 5.00 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

การประเมินเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดสีม่วงครั้งที่ 3 หลังการพ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 2 ครั้ง พบว่า กรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. KRIM1 ที่ความหนาแน่น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคต่ำสุด คือ 6.77 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคที่ 10.07 เปอร์เซ็นต์

การประเมินเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดสีม่วงครั้งที่ 4 หลังการพ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 3 ครั้ง พบว่า กรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. KRIM1 ทุกความหนาแน่น, กรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. NPTNC2 ที่ความหนาแน่นสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และกรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. NYKM2 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ โดยกรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. KRIM1 และ NYKM2 ที่ความหนาแน่น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ย

เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคต่ำสุด คือ 8.93 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคที่ 13.80 เปอร์เซ็นต์

การประเมินเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดสีม่วงครั้งที่ 5 ที่ 5 วันหลังการพ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 4 ครั้ง พบว่า กรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. KRIM1 ที่ความหนาแน่น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคต่ำสุด คือ 9.20 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคที่ 15.84 เปอร์เซ็นต์

การประเมินเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดสีม่วงครั้งที่ 6 ที่ 10 วันหลังการพ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 4 ครั้ง พบว่า กรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *Trichoderma* spp. KRIM1 ที่ความหนาแน่น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคต่ำสุด คือ 10.50 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคที่ 16.84 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าไอโซเลทที่มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดโรคใบจุดสีม่วงหอมได้ดีที่สุด คือ KRIM1 (จากดินในจังหวัดกาญจนบุรี) ที่ความหนาแน่นสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และจากการจำแนกเชื้อราโดยใช้ข้อมูลทางพันธุกรรม พบว่าคือเชื้อรา *Trichoderma asperellum*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 52 ไอโซเลท ที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. porri* พบว่าทุกไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้มากกว่า 60% ขึ้นไป และพบว่ามี 14 ไอโซเลทที่สามารถการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้มากกว่า 75% จากนั้นคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพดี 10 อันดับแรกมาใช้ในการทดสอบควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมในสภาพโรงเรือน พบว่ามี 3 ไอโซเลทที่มีแนวโน้มมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงได้ดี จากนั้นนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. 3 ไอโซเลทไปใช้ในการทดสอบการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมในสภาพแปลงปลูก และหาอัตราความหนาแน่นสปอร์ที่เหมาะสมในการนำไปใช้ พบว่า *Trichoderma* spp. KRIM1 ที่ความหนาแน่น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดโรคใบจุดสีม่วงหอมได้ดีที่สุด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกหอมสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณ คุณทัศนาพร ทัศคร นักวิชาการโรคพืชชำนาญการพิเศษ, คุณวนาพร วงษ์นิคง นักกีฏวิทยาชำนาญการ, นางสาววรรณวลัย เชื้อสะอาด นักวิชาการเกษตร และพนักงานราชการ เจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช และกลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยโรคพืช .2554. โรคผักและการป้องกันกำจัด. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ .153 หน้า.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2538. การควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา: ตอนที่ 2 หลักการและบทบาท. วารสารเคหการเกษตร. ปีที่ 19(10); 159-165.

ชนินทร ดวงสอาด พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว มะโนรัตน์ สุดสงวน และ สุทธิณี ลิขิตตระกูลรุ่ง. 2560. การใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อจำแนกเชื้อรา *Trichoderma asperellum T. harzianum* และ *T. viride* DNA Barcoding for *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum* and *T. viride* Identification. หน้า 1625-1636. ใน รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2560. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Table 1 Ability of *Trichoderma* spp. to inhibit the growth of *Alternaria porri* hyphae.

No.	Isolate	Percentage of inhibition
1	KRIM1	78.61
2	NYKM3	77.37
3	NPTNC2	77.25
4	NYKM1	77.25
5	NYKM2	77.00
6	KRIM2	76.75
7	PCTSL1	76.63
8	BRMM1	76.38
9	SRNTT1	75.89
10	NPTNC1	75.77
11	TRGM4	75.54
12	PCTSL2	75.47
13	SRNTT3	75.29
14	PCTSL5	75.16
15	NPTKS1	74.91
16	SSKRS3	74.78
17	TRGM2	74.41
18	PCTSL3	74.28
19	PCTSL6	74.28
20	PCTSL3	74.16
21	TRGM2	74.15
22	NPTKS1	73.90
23	PCTSL4	73.90
24	NPTNC3	73.78
25	NPTNC6	73.78
26	BRMM3	73.27

Table 1 Ability of *Trichoderma* spp. to inhibit the growth of *Alternaria porri* hyphae (continue)

No.	Isolate	Percentage of inhibition
27	NPTNC5	73.02
28	SSKRS1	72.90
29	SSKRS2	72.64
30	T31	72.53
31	SSKRS2	72.27
32	T153	72.16
33	T87	72.04
34	TRGM3	71.89
35	T28	71.79
36	BRMM2	71.73
37	T155	71.73
38	T27	71.67
39	NPTKS2	71.61
40	T143	71.55
41	DOA2550	71.42
42	SRNTT4	71.24
43	NYKM4	71.24
44	T85	71.05
45	SRNTT6	70.99
46	SRNTT5	70.99
47	T141	70.93
48	T20	70.13
49	T30	69.77
50	T21	69.03
51	NRTSC1	65.08
52	SRNTT2	63.44
53	control	-

Table 2 Efficacy test of *Trichoderma* spp. in preventing and eliminating purple blotch disease caused by *Alternaria porri* in greenhouse conditions

Treatments	Disease Index (%)[1]					
	Before spraying *Trichoderma* spp.				After spraying *Trichoderma* spp. 4th	
	1st	2nd	3rd	4th	At 5 day	At 10 day
T1 : BRMM1	1.67	12.50 abcde	18.33 abc	20.00 abc	27.50 ab	28.26 d
T2 : KRIM1	1.67	9.17 abc	4.17 a	20.83 abc	20.83 a	24.17 cd
T3 : KRIM2	2.50	19.17 de	13.33 abc	30.83 cd	25 a	27.5 d
T4 : NPTNC1	2.50	20.83 e	15.83 abc	30.83 cd	23.33 a	29.17 d
T5 : NPTNC2	2.50	9.17 abc	9.17 ab	15 a	24.17 a	9.17 a
T6 : NYKM1	1.67	10.83 abcd	26.67 cd	13.33 a	23.33 a	11.67 ab
T7 : NYKM2	3.33	5 a	13.33 abc	16.67 ab	22.5 a	24.17 cd
T8 : NYKM3	2.50	6.67 ab	15.83 abc	20 abc	27.5 ab	27.5 d
T9 : PCTSL1	2.50	14.17 bcde	27.50 cd	17.5 ab	33.33 bc	18.33 bc
T10 : SRNTT1	1.67	16.67 cde	19.17 bc	28.33 bcd	36.67 cd	11.67 ab
T11 : Control	1.67	31.67 f	38.33 d	40.83 d	40.83 d	41.67 e
CV (%)	72.6	38.2	49.4	34.6	16.6	20.3

Table 3 Efficacy test of *Trichoderma* spp. in preventing and eliminating purple blotch disease caused by *Alternaria porri* in field conditions

Treatments	Disease Index (%)[1]					
	Before spraying *Trichoderma* spp.				After spraying *Trichoderma* spp. 4th	
	1st	2nd	3rd	4th	At 5 day	At 10 day
T1 : KRIM1 10^7	3.32	5.80 ab	7.84 abc	10.03 ab	11.54 a	13.17 ab
T2 : KRIM1 10^8	1.78	5.00 ab	6.77 ab	8.93 ab	9.20 a	10.50 a
T3 : KRIM1 10^9	1.17	6.87 ab	8.23 abc	9.57 ab	10.63 a	11.47 ab
T4 : NPTNC2 10^7	2.27	5.50 ab	7.70 abc	10.87 abc	11.50 a	13.57 ab
T5 : NPTNC2 10^8	2.28	6.73 ab	7.70 abc	9.67 ab	12.17 a	12.97 ab
T6 : NPTNC2 10^9	2.60	6.27 ab	8.04 abc	10.93 abc	11.84 a	15.33 ab
T7 : NYKM2 10^7	1.80	5.57 ab	9.04 bc	10.90 abc	21.37 b	14.54 ab
T8 : NYKM2 10^8	1.63	6.44 ab	7.54 abc	8.93 ab	10.97 a	11.80 ab
T9 : NYKM2 10^9	2.43	6.47 ab	10.24 c	11.67 bc	13.47 ab	14.17 ab
T10 : iprodione	1.63	4.40 a	5.70 a	7.40 a	8.27 a	12.77 ab
T11 : Control	1.30	7.37 b	10.07 c	13.80 c	15.84 ab	16.84 b
CV (%)	71.5	25.2	23.9	22.6	45.2	24.6

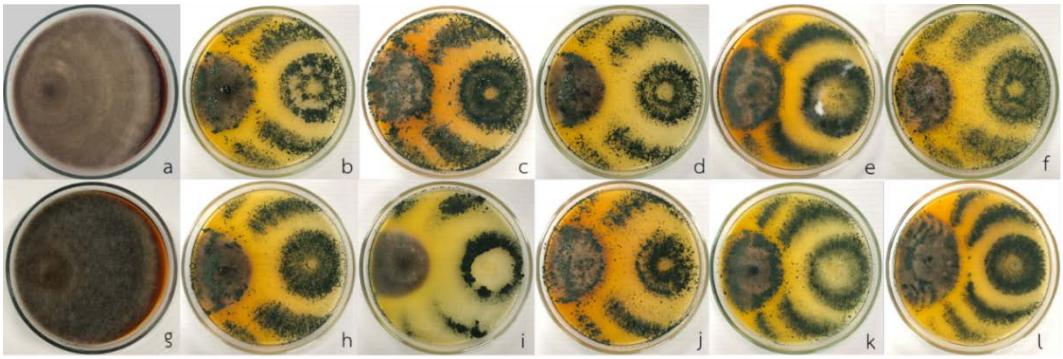


Figure 1 Inhibitory activity test of *Alternaria porri* by dual culture technique on 10 isolates compared with the control
a, g *A. porri* (control), **b** KRIM1, **c** NYKM3, **d** NPTNC2, **e** NYKM1, **f** NYKM2, **h** KRIM2, **i** PCTSL1, **j** BRMM1, **k** SRNTT1, **l** NPTNC1

Figure 2 Efficacy test of *Trichoderma* spp. in preventing and eliminating purple blotch disease caused by *Alternaria porri* in greenhouse conditions
a-c: covering the plastic bag to maintain humidity after inoculation the *A. porri* **d:** assess the severity of the disease **e, f:** symptoms of purple blotch disease found in greenhouses

Figure 3 Experiment in the field, Suphan Buri Province

a-b: plantation **c-f:** data collection in the field **g-h:** symptoms of purple blotch disease found in field

ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

The efficiency of *Trichoderma harzianum* DOAC 2550 for controlling tomato wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

จุฬารัตน์ หน่อแก้ว อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว ธารทิพย ภาสบุตร สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสอาด วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The efficiency of *Trichoderma* DOAC 2550 (Trichoderma *harzianum* DOA-TH50) for controlling tomato wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Factorial in Randomized Complete Block (RCB). The results showed that at 14 days after sowing, *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) rate 50 100 150 and 200 g and control treatment had percentage of diseased at 5 0 5 5 5 and 30 respectively. Then select the method that uses *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g per 3 kg of soil to test the method of use. The results showed that after 28 days of planting chili, the method of support the bottom hole and the method of sowing under the canopy of the chili tree had lower percentage of diseased with control treatment. Compare the efficacy of *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) against chili wilt disease 28 days after sowing, it was found that the method using the *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied at the bottom of the planting hole, showed a disease control percentage of over 60%, compared with control treatment

Keywords : *Trichoderma*, *Fusarium* wilt, tomato

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-02-04-66

บทคัดย่อ

ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) ผลการทดลองพบว่า หลังปลูกมะเขือเทศ 28 วัน กรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัม และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า มีการเกิดโรคเท่ากับ 5,0,5,5,5 และ 30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จากนั้นจึงคัดเลือก กรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม มาทดสอบวิธีการใช้ ผลการทดลองพบว่า หลังปลูกมะเขือเทศ 28 วัน กรรมวิธีรองก้นหลุมและกรรมวิธีที่หว่านใต้ทรงพุ่มของต้นมะเขือเทศนั้น มีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวมะเขือเทศหลังประเมินครั้งสุดท้าย 28 วันหลังปลูก พบว่า กรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการรองก้นหลุมมีเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีใช้น้ำเปล่า (ควบคุม)

คำหลัก : ไตรโคเดอร์มา, โรคเหี่ยวฟิวซาเรี่ยม, มะเขือเทศ

คำนำ

โรคเหี่ยวมะเขือเทศเกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* พบมากในดินที่เป็นกรดจัดและความสมบูรณ์ต่ำ โรคนี้จะแสดงอาการในระยะที่เริ่มติดผล อาการเริ่มต้นของโรค จะแสดงที่ใบส่วนล่าง ๆ ของต้น ใบเหลืองอาจเกิดด้านหนึ่งด้านใดของต้น ใบที่เหลืองจะเหี่ยวและแห้งตาย เมื่อโรคเจริญมากขึ้น อาการใบเหลืองเหี่ยวตายจะลามขึ้นไปส่วนบนของต้น จนใบทั้งต้นแห้ง และต้นตายไป ในบางครั้งโรคจะแสดงอาการอย่างรุนแรงที่กิ่งใดกิ่งหนึ่ง โดยที่กิ่งอื่นถูกทำลายน้อย เมื่อนำต้นที่เป็นโรคมาตัดตามยาวของต้น พบว่าบริเวณเนื้อไม้หรือส่วนท่อน้ำท่ออาหารมีสีน้ำตาลหรือแดง (อรพรรณ และจุมพล, 2560) เมื่อพบการระบาดของโรคเหี่ยวมะเขือเทศเกษตรกรส่วนใหญ่มักเลือกใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด และอัตราการใช้มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ดังนั้น จึงมีการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการที่สามารถลด หรือหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี คือ การให้เกษตรกรใช้วิธีการควบคุมโดยชีววิธี โดยมีรายงานว่า *Trichoderma* sp. หลายไอโซเลทสามารถลดอาการของโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Marzano *et al.*, 2013; Srivastava *et al.*, 2010) เช่น เชื้อ *Trichoderma longibrachiatum* และ *T. atroviride.* เป็นเชื้อราที่อยู่ในดิน สามารถลดเกิดโรคเหี่ยวมะเขือเทศได้ และสามารถช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ผลผลิตพืช และกระตุ้นให้เกิดความต้านทานต่อโรคได้ (Boureghda and Bouznad, 2009) Nofal *et al.* (2021) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากต้นมะเขือเทศ พบว่าเชื้อ

รา *T. atroviride* มีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* สูงถึง 92.11 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงนำมาทดสอบในสภาพเรือนทดลองในต้นมะเขือเทศ พบว่า กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อราด้วย *Fusarium oxysporum* มีการเกิดโรค 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้ *T. atroviride* มีการเกิดโรค 8 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาเพื่อหาอัตตาการใช้เชื้อ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma* DOA-TH50) ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50)
2. เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ
3. กล้ามะเขือเทศ
4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น ตู้เขี่ยเชื้อ เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้อง Stereoscopic microscope และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์
5. อาหารเลี้ยงเชื้อรา เช่น Potato Dextrose Agar (PDA), Water Agar (WA), และ Corn Leaf Ager (CLA)
6. อุปกรณ์ในโรงเรือน เช่น ดินปลูก กระถาง จานรอง ป้ายปัก

วิธีการ

ขั้นแบบและวิธีการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) ที่เหมาะสม

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 ซ้ำ (ซ้ำละ 4 ต้น) 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม/ดิน 3 กิโลกรัม

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 100 กรัม/ดิน 3 กิโลกรัม

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 150 กรัม/ดิน 3 กิโลกรัม

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 200 กรัม/ดิน 3 กิโลกรัม

กรรมวิธีที่ 5 น้ำเปล่า

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) ที่เหมาะสม

แบบและวิธีการทดลอง : คัดเลือกอัตราที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 1 จำนวน 1 อัตรามาทดสอบหาวิธีการใช้ที่เหมาะสมโดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 10 ซ้ำ (ซ้ำละ 2 ต้น) 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 การใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา A กรัม โดยการรองก้นหลุม

กรรมวิธีที่ 2 การใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา A กรัม โดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นมะเขือเทศ

กรรมวิธีที่ 3 น้ำเปล่า

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. การเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) บนข้าวเปลือก

โดยเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) บนอาหาร PDA ทิ้งไว้ประมาณ 5 วัน ใช้ cork borer เจาะบริเวณขอบเส้นใย นำไปเพิ่มปริมาณบนข้าวเปลือก โดยเตรียมข้าวเปลือก 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยยุ จุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงนำชิ้นวุ้นที่มีเชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) เจริญอยู่ ใส่ในถุงข้าวเปลือก นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เป็นเวลาประมาณ 14 วัน เชื้อราจะเจริญและสร้างสปอร์เต็มถุง จึงนำไปใช้ทดสอบต่อไป

2. การเตรียมเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* บนอาหารวุ้น PDA โดยตัดชิ้นวุ้นอาหาร PDA ขนาด 1x1 เซนติเมตร ที่มีเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* เจริญอยู่ ลงบนอาหารวุ้น PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นทำสปอร์แขวนลอย ที่ความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร คลุกเคล้ากับดินปลูกพืช พักดินให้เชื้อราเจริญและปรับตัวเป็นเวลา 10 วัน (อภิรัชต์ และคณะ, 2557)

3. เพาะเมล็ดมะเขือเทศ ลงในกระถางเพาะต้นกล้า จนต้นกล้ามะเขือเทศ มีอายุ 30 วัน

4. นำเชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) บนข้าวเปลือก (ตามอัตราทดลอง) คลุกดินในกระถางที่มีเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ทิ้งไว้ 1 วัน นำต้นกล้ามะเขือเทศอายุ 30 วัน มาปลูก ดูแล การเจริญเติบโตของมะเขือเทศ และตรวจสอบการเกิดโรค ทุก 7 วัน โดยนับจำนวนต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการเหี่ยวเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค โดยสูตรที่ใช้ในการคำนวณ ดังนี้

สูตรคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Percent Disease Incidence)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนต้นพืชที่แสดงอาการเหี่ยว}}{\text{จำนวนต้นพืชทั้งหมด}} \times 100$$

สูตรคำนวณประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค

$$\text{ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค (\%)} = \frac{\text{เปอร์เซ็นต์หลังพ่นน้ำเปล่า} - \text{เปอร์เซ็นต์หลังใช้ชีวภัณฑ์}}{\text{เปอร์เซ็นต์หลังพ่นน้ำเปล่า}} \times 100$$

นำข้อมูลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new Multiple Range Test

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

จำนวนต้นมะเขือเทศทั้งหมดและจำนวนต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการของโรค

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565-กันยายน 2567

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) ที่เหมาะสม

<u>การทดลองครั้งที่ 1</u>

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 7 วันหลังจากปลูก พบว่าทุกกรรมวิธีมีการเกิดโรคเหี่ยว 0-5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม มีการเกิดโรคเฉลี่ย 5, 0, 0 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) ที่มีการเกิดโรค 5 เปอร์เซ็นต์

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 14 วันหลังจากปลูก พบว่าทุกกรรมวิธีมีการเกิดโรคเหี่ยว 0-5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม มีการเกิดโรคเฉลี่ย 5, 0, 5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ กับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 21 วันหลังจากปลูก พบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม มีการเกิดโรคเฉลี่ย 5, 5, 5 และ

5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 7 วันหลังจากปลูก 28 วันหลังจากการปลูกมะเขือเทศ พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม มีการเกิดโรคเฉลี่ย 5, 5, 5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

<u>การทดลองครั้งที่ 2</u>

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 7 วันหลังจากปลูก พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเหี่ยว 0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 14 วันหลังจากปลูก พบว่าทุกกรรมวิธีมีการเกิดโรคเหี่ยว 0-5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม มีการเกิดโรคเฉลี่ย 10, 5, 5 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ กับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 21 วันหลังจากปลูก พบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม มีการเกิดโรคเฉลี่ย 15, 15, 10 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 28 วันหลังจากปลูก มะเขือเทศ พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัมมีการเกิดโรคเฉลี่ย 15, 15, 10 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) ที่เหมาะสม

<u>การทดลองครั้งที่ 1</u>

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศพบว่าที่ 7 และ 14 วันหลังจากการปลูกมะเขือเทศ ทุกกรรมวิธีทดลองมีการเกิดโรคเหี่ยวเฉลี่ย 0 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 21 วันหลังจากปลูก พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นมะเขือเทศ มีการเกิดโรคเฉลี่ย 7.50 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 28 วันหลังจากการปลูกมะเขือเทศ พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นมะเขือเทศมีการเกิดโรคเฉลี่ย 7.50 และ 12.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 27.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวพริกหลังประเมินครั้งสุดท้าย 28 วันหลังปลูกมะเขือเทศ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีใช้น้ำเปล่า (ควบคุม) พบว่า กรรมวิธี กรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นมะเขือเทศ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 72.72 และ 54.54 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยกรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการรองก้นหลุม มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวในพริกสูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำเปล่า

<u>การทดลองครั้งที่ 2</u>

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวมะเขือเทศพบว่าที่ 7และ 14 วันหลังจากการปลูกมะเขือเทศ ทุกกรรมวิธีทดลองมีการเกิดโรคเหี่ยวเฉลี่ย 0 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิต

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 21 วันหลังจากปลูก พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) กรัม โดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นมะเขือเทศมีการเกิดโรคเฉลี่ย 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 27.50 เปอร์เซ็นต์

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ 28 วันหลังจากการปลูกมะเขือเทศ พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma*

DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นมะเขือเทศมีการเกิดโรคเฉลี่ย 10 และ 12.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 32.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวพริกหลังประเมินครั้งสุดท้าย 28 วันหลังปลูกพริก เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีใช้น้ำเปล่า (ควบคุม) พบว่า กรรมวิธี กรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการรองก้นหลุมและกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นพริก มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวในพริก 69.23 และ 61.53 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยกรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการรองก้นหลุมและกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) กรัมโดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นพริก มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวในพริกสูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำเปล่า

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในอัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัม พบว่าทุกอัตราสามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวพริกได้เมื่อนำเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า จึงคัดเลือกกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม จากนั้นจึงนำมาทดสอบวิธีการใช้ที่เหมาะสม โดยเปรียบเทียบกรรมวิธีการใช้โดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นมะเขือเทศ พบว่าทั้ง 2 กรรมวิธีสามารถใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ เมื่อประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวมะเขือเทศหลังประเมินครั้งสุดท้าย 28 วันหลังปลูกมะเขือเทศ พบว่า กรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการรองก้นหลุมมีเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีใช้น้ำเปล่า (ควบคุม) มีการรายงานว่าเชื้อ *Trichoderma* หลายชนิดสามารถลดโรคเหี่ยวที่จากเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Marzano *et al*., 2013; Srivastava *et al*., 2010) โดยจากศึกษาของ Nashwa *et al*. (2019) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พบว่าไอโซเลท T3 และ T7 สามารถลดความรุนแรงของโรคเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยที่ไอโซเลท T3 มีเปอร์เซ็นต์รุนแรงเท่ากับ 24.8 และไอโซเลท T7 มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเท่ากับ 34.6 Nofal *et al*. (2021) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. atroviride* ในการเข้าทำลายของเชื้อ *Fusarium oxysporum* ในมะเขือเทศพบว่า กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อราด้วย *F. oxysporum* มีการเกิดโรค 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้ *T. atroviride* มีการเกิดโรค 8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอภิรัชต์

และคณะ ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้า ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ในสภาพแปลงปลูก โดยใช้เมล็ดข้าวเปลือกที่มีเชื้อรา *T. harzianum* ในอัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัม พบว่า กรรมวิธีการใช้เชื้อที่เลี้ยงในข้าวเปลือก ทำให้ระดับการเกิดโรคภายในลำต้นของกล้วยต่ำกว่าอย่างชัดเจน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มวิจัยโรคพืชที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สามารถดำเนินงานต่อไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

อรพรรณ วิเศษสังข์ และ จุมพล สาระนาค. 2560. *โรคพืชผักและการป้องกันกำจัด*. พิมพ์ครั้งที่ 2. ห้างหุ้นส่วนจำกัดเฟรม-อัพ ดีไซด์. กรุงเทพฯ. 172 หน้า.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2557. โรคเหี่ยวฟิวซาเรียม (Fusarium wilt). หน้า 34-35. ใน : *คู่มือศัตรูพริก*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด สาขา 4. กรุงเทพฯ.

Boureghda H., Z. Bouznad. 2009. Biological control of Fusarium wilt of Chickpea using isolate of *Trichoderma harzianum* and *T. longibrachiatum*. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica.* 44: 25-38.

Marzano M., A. Gallo and C. Altomare. 2013. Improvement of biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* vs. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* through UV induced tolerance to fusaric acid. *Biology Control.* 67: 397-408.

Nashwa M. A., S. A. M. I. Eraky and A. Sallam. 2019. Effect of Trichoderma spp. on Fusarium wilt disease of tomato. *Molecular Biology Reports*.

Nofal A. M., M. A. El-Rahman, T. M. Abdelghany and M. A. EL-Mongy. 2021. Mycoparasitic nature of Egyptian *Trichoderma* isolates and their impact on suppression Fudarium wilt of tomato. *Egyptian Journal of Biological Pest Control.* 31: 103.

Srivastava, R., A. Khalid, U.S. Singh and A.K. Sharma. 2010. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, *Pseudomonas fluorescent* and *Trichoderma harzianum* formulation against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* for the management of tomato wilt. *Biology Control*. 53: 24-31.

Table 1 The efficiency of *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) for controlling tomato wilt

Treatment	Disease incidence			
	7 days after sowing	14 days after sowing	21 days after sowing	28 days after sowing
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 50 g	5.00a	5.00a	5.00b	5.00b
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 100 g	0.00a	0.00a	5.00b	5.00b
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 150 g	0.00a	5.00a	5.00b	5.00b
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 200 g	0.00a	5.00a	5.00b	5.00b
Control	5.00a	5.00a	20.00a	30.00a
CV%	**364.43**	**272.43**	**134.41**	**136.93**

* Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 2 The efficiency of *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) for controlling tomato wilt

Treatment	Disease incidence			
	7 days after sowing	14 days after sowing	21 days after sowing	28 days after sowing
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 50 g	0.00	10.00ab	15.00a	15.00a
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 100 g	0.00	5.00a	15.00a	15.00a
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 150 g	0.00	5.00a	10.00a	10.00a
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 200 g	0.00	0.00a	0.00a	0.00a
Control	0.00a	25.00b	50.00b	50.00b
CV%	-	142.99	91.60	91.60

*Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 3 The efficiency of using *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) in controlling tomato wilt disease

Treatment	Disease incidence				disease control (%)
	7 days after sowing	14 days after sowing	21 days after sowing	28 days after sowing	
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied at the bottom of the planting hole	0	0	7.50a	7.50a	72.72
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied broadcasting spreads	0	0	10.00a	12.50a	54.54
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) across the soil surface	0	0	25.00b	27.50b	-
control	0	0	25.00b	27.50b	-
CV%	**-**	**-**	**153.55**	**153.51**	**-**

* Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 4 The efficiency of using *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) in controlling tomato wilt disease.

Treatment	Disease incidence				disease control (%)
	7 days after sowing	14 days after sowing	21 days after sowing	28 days after sowing	
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied at the bottom of the planting hole	0	0	5.00a	10.00a	69.23
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied broadcasting spreads	0	0	10.00a	12.50a	61.53
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) across the soil surface	0	0	27.50b	32.50b	
control	0	0	27.50b	32.50b	
CV%	**-**	**-**	**148.65**	**123.23**	**-**

* Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Figure 1 The efficiency of *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) for controlling tomato wilt

A: *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 50 g

B: *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 100 g

C: *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 150 g

D: *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 200 g

E: Control

Figure 2 The efficiency of *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) for controlling chili wilt

A: *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied at the bottom of the planting hole

B: *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied broascasting spreads *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) across the soil surface

C: control

ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

The efficiency of *Trichoderma* DOAC 2550 for controlling chili wilt caused by *Fusarium oxysporum*

จุฬารัตน์ หน่อแก้ว อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว ธารทิพย ภาสบุตร สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสอาด วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ

กลุ่มวิจัยโรค พืชสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The efficiency of *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) for controlling chili wilt caused by *Fusarium oxysporum*. Factorial in Randomized Complete Block (RCB). The results showed that at 28 days after sowing, *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) rate 50 100 150 and 200 g had lower percentage of diseased with control treatment. Then select the method that uses *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g per 3 kg of soil to test the method of use. The results showed that after 28 days of planting chili, the method of support the bottom hole and the method of sowing under the canopy of the chili tree had lower percentage of diseased with control treatment. Compare the efficacy of *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) against chili wilt disease 28 days after sowing, it was found that the method using the *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied at the bottom of the planting hole, showed a disease control percentage of over 60%, compared with control treatment

Keywords : *Trichoderma*, Fusarium wilt, chili

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-02-05-66

บทคัดย่อ

ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) ผลการทดลองพบว่า หลังปลูกพริก 28 วัน กรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัม มีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า จากนั้นจึงคัดเลือกกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัมมาทดสอบวิธีการใช้ ผลการทดลองพบว่า หลังปลูกพริก 28 วัน กรรมวิธีรองก้นหลุม และ กรรมวิธีที่หว่านใต้ทรงพุ่มของต้นพริกนั้น มีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) ในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวพริกหลังประเมินครั้งสุดท้าย 28 วันหลังปลูกพริก พบว่า กรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการรองก้นหลุมมีเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีใช้น้ำเปล่า (ควบคุม)

คำหลัก : ไตรโคเดอร์มา, โรคเหี่ยวฟิวซาเรี่ยม, พริก

คำนำ

โรคเหี่ยวของพริกเกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* พบมากในดินที่เป็นกรดจัดและความสมบูรณ์ต่ำ (อรพรรณ และจุมพล, 2560) โรคนี้เกิดกับพริกได้ทุกระยะการเจริญเติบโตโดยเริ่มเข้าทำลายตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงระยะที่พริกให้ผลผลิต อาการที่เกิดกับต้นกล้าในระยะแรกจะทำให้ต้นพริกหยุดการเจริญเติบโต แคระแกร็น หากรุนแรงอาจทำให้ตายในที่สุด ส่วนอาการที่เกิดในระยะต้นโต พริกที่เกิดโรคจะแสดงลักษณะอาการใบล่างเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ต่อมาจะเริ่มลามไปที่ใบถัดๆ ไปและเหลืองมากเรื่อย ๆ ตามลำดับ เนื่องจากเชื้อราสาเหตุเข้าทำลายรากหรือลำต้น ทำให้รากและโคนต้นถูกทำลาย ทำให้ต้นพริกแสดงอาการเหี่ยว ใบร่วง ดอกและผลร่วง และยืนต้นตายภายใน 1-2 สัปดาห์ (อภิรัชต์, 2557) เกษตรกรส่วนใหญ่จึงจำเป็นต้องใช้สารเคมีในการควบคุมโรค เพื่อให้ได้ผลผลิตที่สามารถจำหน่ายได้ ซึ่งการใช้สารเคมีเป็นจำนวนมากและอัตราการใช้มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ดังนั้น จึงมีการศึกษาเกี่ยวการควบคุมโรคโดยชีววิธี ซึ่งเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่จะนำมาใช้ในการเพาะปลูกเพื่อลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมและในกรณีที่ไม่สามารถใช้สารเคมีหรือมีสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมสามารถใช้จุลินทรีย์ควบคุมโรคแทนการใช้สารเคมี นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังสามารถเพิ่มปริมาณและมีความคงทนอยู่ในดินได้ยาวนานกว่าสารเคมี (Suslow, 1982) Joshi *et al*. (2012) ทำการคัดเลือกเชื้อรา *F. oxysporum* ที่เป็น non-pathogenic เพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของพริก โดยทำการแยกเชื้อรา *F. oxysporum* จาก

ดินบริเวณแปลงปลูกพริก สามารถแยกได้เชื้อรา *Fusarium* ทั้งหมด 80 ไอโซเลท และจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางชีวโมเลกุล สามารถแยกได้ *F. oxysporum* ทั้งหมด 48 ไอโซเลท และนำไปทดสอบการเกิดโรคกับต้นพริก พบว่า มี 1 ไอโซเลทที่มีความรุนแรงในการก่อโรค (ไอโซเลท no.35) และมี 10 ไอโซเลทที่เป็น non-pathogenic เมื่อนำทั้ง 10 ไอโซเลท ได้แก่ no.27, 32, 49, 56, 62, 65, 66, 75, 77 และ 79 มาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *F. oxysporum no*.35 โดยวิธี dual culture พบว่า *F. oxysporum* ที่เป็น non-pathogenic ทั้ง 10 ไอโซเลท มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย *F. oxysporum no*.35 โดย *F. oxysporum no*.65 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งได้สูงสุด 37.66 % และ *F. oxysporum no*.77 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งได้ต่ำสุด 24.59 % นอกจากนี้มีการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากบริเวณ rhizosphere และ rhizoplane ได้แก่ *T. viride*, *Aspergillus sydowi*, *Streptomyces erythreus*, Unidentified actinomycetes และ *Bacillus* spp. มาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *F. oxysporum f*.sp. *capsici* สาเหตุโรคเหี่ยวของพริก พบว่า เชื้อรา *T. viride* มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum f*.sp. *capsici* สาเหตุโรคเหี่ยวในพริกได้มากที่สุด (Sastiya *et al*., 2016) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาเพื่อหาอัตตาการใช้เชื้อ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma* DOA-TH50) ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50)
2. เชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวพริก
3. กล้าพริก
4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น ตู้เขี่ยเชื้อ เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้อง Stereoscopic microscope และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์
5. อาหารเลี้ยงเชื้อรา เช่น Potato Dextrose Agar (PDA), Water Agar (WA), และ Corn Leaf Ager (CLA)
6. อุปกรณ์ในโรงเรือน เช่น ดินปลูก กระถาง จานรอง ป้ายปัก

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) ที่เหมาะสม

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 ซ้ำ (ซ้ำละ 4 ต้น) 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม/ ดิน 3 กิโลกรัม

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 100 กรัม/ดิน 3 กิโลกรัม

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 150 กรัม/ดิน 3 กิโลกรัม

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 200 กรัม/ดิน 3 กิโลกรัม

กรรมวิธีที่ 5 น้ำเปล่า

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) ที่เหมาะสม

แบบและวิธีการทดลอง : คัดเลือกอัตราที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 1 จำนวน 1 อัตรามาทดสอบหาวิธีการใช้ที่เหมาะสมโดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 5 ซ้ำ (ซ้ำละ 4 ต้น) 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 การใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา A กรัม โดยการรองก้นหลุม

กรรมวิธีที่ 2 การใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา A กรัม โดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นพริก

กรรมวิธีที่ 3 น้ำเปล่า

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. การเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) บนข้าวเปลือก

โดยเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) บนอาหาร PDA ทิ้งไว้ประมาณ 5 วัน ใช้ cork borer เจาะบริเวณขอบเส้นใย นำไปเพิ่มปริมาณบนข้าวเปลือก โดยเตรียมข้าวเปลือก 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยย จุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงนำชิ้นวุ้นที่มีเชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) เจริญอยู่ ใส่ในถุงข้าวเปลือก นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เป็นเวลาประมาณ 14 วัน เชื้อราจะเจริญและสร้างสปอร์เต็มถุง จึงนำไปใช้ทดสอบต่อไป

2. การเตรียมเชื้อรา *F. oxysporum* บนอาหารวุ้น PDA โดยตัดชิ้นวุ้นอาหาร PDA ขนาด 1x1 เซนติเมตร ที่มีเชื้อรา *F. oxysporum* เจริญอยู่ ลงบนอาหารวุ้น PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นทำสปอร์แขวนลอย ที่ความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร คลุกเคล้ากับดินปลูกพืช พักดินให้เชื้อราเจริญและปรับตัวเป็นเวลา 10 วัน (อภิรัชต์ และคณะ, 2557)

3. เพาะเมล็ดพริก ลงในกระถางเพาะต้นกล้า จนต้นกล้าพริก มีอายุ 30 วัน

4. นำเชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) บนข้าวเปลือก (ตามอัตราทดลอง) คลุกดินในกระถางที่มีเชื้อรา *F. oxysporum* ทิ้งไว้ 1 วัน นำต้นกล้าพริกอายุ 30 วัน มาปลูก ดูแล การเจริญเติบโตของพริก และตรวจสอบการเกิดโรค ทุก 7 วัน โดยนับจำนวนต้นพริกที่แสดงอาการเหี่ยวเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค โดยสูตรที่ใช้ในการคำนวณ ดังนี้

สูตรคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Percent Disease Incidence)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนต้นพืชที่แสดงอาการเหี่ยว}}{\text{จำนวนต้นพืชทั้งหมด}} \times 100$$

สูตรคำนวณประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค

$$\text{ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค (\%)} = \frac{\text{เปอร์เซ็นต์หลังพ่นน้ำเปล่า} - \text{เปอร์เซ็นต์หลังใช้ชีวภัณฑ์}}{\text{เปอร์เซ็นต์หลังพ่นน้ำเปล่า}} \times 100$$

นำข้อมูลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new Multiple Range Test

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

จำนวนต้นพริกทั้งหมดและจำนวนต้นพริกที่แสดงอาการของโรค

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565 – กันยายน 2567

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) ที่เหมาะสม

<u>การทดลองครั้งที่ 1</u>

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวพริกพบว่าที่ 7 และ 14 วันหลังจากการปลูกพริกทุกกรรมวิธีทดลองมีการเกิดโรคเหี่ยวเฉลี่ย 0 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในพริก 21 วันหลังจากปลูก พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม มีการเกิดโรคเฉลี่ย 0, 5, 5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในพริก 28 วันหลังจากการปลูกพริกพบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม มีการเกิดโรคเฉลี่ย 5, 5, 5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

<u>การทดลองครั้งที่ 2</u>

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวพริกพบว่าที่ 7 และ 14 วันหลังจากการปลูกพริกทุกกรรมวิธีทดลองมีการเกิดโรคเหี่ยวเฉลี่ย 0 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในพริก 21 วันหลังจากปลูก พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม มีการเกิดโรคเฉลี่ย 20, 10, 10 และ 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในพริก 28 วันหลังจากการปลูกพริก พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัม มีการเกิดโรคเฉลี่ย 20, 10, 10 และ 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 65 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) ที่เหมาะสม

<u>การทดลองครั้งที่ 1</u>

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวพริกพบว่าที่ 7 และ 14 วันหลังจากการปลูกพริกทุกกรรมวิธีทดลองมีการเกิดโรคเหี่ยวเฉลี่ย 0 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในพริก 21 วันหลังจากปลูก พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นพริกมีการเกิดโรคเฉลี่ย 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 17.50 เปอร์เซ็นต์

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในพริก 28 วันหลังจากการปลูกพริก พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) โดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นพริกมีการเกิดโรคเฉลี่ย 10

และ 12.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 27.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวพริกหลังประเมินครั้งสุดท้าย 28 วันหลังปลูกพริก เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีใช้น้ำเปล่า (ควบคุม) พบว่า กรรมวิธี กรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นพริก มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวในพริก 63.63 และ 54.54 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยกรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการรองก้นหลุม มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวในพริกสูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำเปล่า

<u>การทดลองครั้งที่ 2</u>

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวพริกพบว่าที่ 7 และ 14 วันหลังจากการปลูกพริก ทุกกรรมวิธีทดลองมีการเกิดโรคเหี่ยวเฉลี่ย 0 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในพริก 21 วันหลังจากปลูก พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นพริกมีการเกิดโรคเฉลี่ย 7.50 และ 7.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 17.50 เปอร์เซ็นต์

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในพริก 28 วันหลังจากการปลูกพริก พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัม โดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นพริกมีการเกิดโรคเฉลี่ย 7.5 และ 12.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีน้ำเปล่า (ควบคุม) มีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 30.9 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวพริกหลังประเมินครั้งสุดท้าย 28 วันหลังปลูกพริก เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีน้ำเปล่า (ควบคุม) พบว่า กรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการหว่านใต้ทรงพุ่มของต้นพริก มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวในพริก 72.81 และ 59.35 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยกรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการรองก้นหลุม มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวในพริกสูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำเปล่า

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50)ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกในอัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัม พบว่าทุกอัตราสามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวพริกได้เมื่อนำเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า จึงคัดเลือกกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมต่อดิน 3 กิโลกรัมในกระถาง 6 นิ้ว จากนั้นจึงนำมาทดสอบวิธีการใช้ที่เหมาะสม โดยเปรียบเทียบกรรมวิธีการใช้โดยการรองก้นหลุม และกรรมวิธีหว่านใต้ทรงพุ่มของพริก พบว่าทั้ง 2 กรรมวิธีสามารถใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกได้ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวพริกหลังประเมินครั้งสุดท้าย 28 วันหลังปลูกพริก พบว่า กรรมวิธีใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) อัตรา 50 กรัมโดยการรองก้นหลุมมีเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีใช้น้ำเปล่า (ควบคุม) จากศึกษาของ Anjum *et al.* (2020) ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Trichoderma* เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของพริกพบว่า เมื่อทดสอบในโรงเรือนเชื้อรา *Trichoderma* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกและสามารถส่งเสริมการเจริญของพริกอีกด้วย ส่วนอภิรัชต์และคณะ ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้า ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ในสภาพแปลงปลูก โดยใช้เมล็ดข้าวเปลือกที่มีเชื้อรา *T. harzianum* ในอัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัม พบว่า กรรมวิธีการใช้เชื้อที่เลี้ยงในข้าวเปลือก ทำให้ระดับการเกิดโรคภายในลำต้นของกล้วยต่ำกว่าอย่างชัดเจน และเมื่อใส่เมล็ดข้าวเปลือกที่มีเชื้อรา *T. harzianum* ในอัตรา 200 กรัม เมื่อตรวจสอบแล้วไม่พบอาการของโรคภายในลำต้น หรือเนื้อเยื่อภายในเหง้าหรือรอบๆ ไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ขณะที่ กรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และกรรมวิธีการใส่เมล็ดข้าวเปลือกที่ไม่มีเชื้อรา *T. harzianum* ระดับการเกิดโรคภายในลำต้นของกล้วยสูงกว่าอย่างมีความแตกต่างทางสถิติกับวิธีใช้เชื้อรา *T. harzianum* ทุกกรรมวิธี มีการรายงานว่าเชื้อรา Trichoderma viride and T. harzianum ช่วยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทางดิน และเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ (Poddar *et al.*, 2004). โดย ทดสอบเมล็ดพันธุ์พบว่าช่วยเพิ่มอัตราการงานได้ถึง 12-14 เปอร์เซ็นต์ และลดอาการเหี่ยวได้ถึง 44.1-60.3 เปอร์เซ็นต์ (Dubey *et al.*, 2007)

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มวิจัยโรคพืชที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สามารถดำเนินงานต่อไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

อรพรรณ วิเศษสังข์ และ จุมพล สาระนาค. 2560. *โรคพืชผักและการป้องกันกำจัด*. พิมพ์ครั้งที่ 2. ห้างหุ้นส่วนจำกัดเฟรม-อัพ ดีไซด์. กรุงเทพฯ. 172 หน้า.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2557. โรคเหี่ยวฟิวซาเรียม (Fusarium wilt). หน้า 34-35. ใน : *คู่มือศัตรูพริก*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด สาขา 4. กรุงเทพฯ.

Anjum N., Ahmad a. S., Sehrish I. M. M., Muhammd H. A., Yasha J., Rehan N. K. M., Aimen A. Shehzed I. and Abbas A. 2020. Evaluations of Trichoderma isolate for biological control of Fusarium Wilt of Chili. *Plant cell Biotechnology and Molecular Biology*. 21: 42-57.

Dubey S.C., M. Suresh and B. Singh. 2007. Bio-agent based integrated management of collar rot of French bean. *Indian Phytopathology*. 55: 230–231.

Joshi M., R. Srivastava, A.K. Sharma and A. Prakash. 2012. Screening of resistant varieties and antagonistic *Fusarium oxysporum* for biocontrol of Fusarium wilt of chilli. *Plant Pathology and Microbiology. 3*(5): 1-6.

Poddar, R.K., Singh, D.V., Dubey, S.C., 2004. Integrated application of Trichoderma harzianum mutants and carbendazim to manage chickpea wilt (Fusarium oxysporum f. sp. ciceri). *The Indian Journal of Agricultural Sciences*. 74: 346–348.

Sastiya R., R. K. Ahirwar, S. Chouhan, N. K. Jain and S. M. A. Naqvi. 2016. Biological control of chilli fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum*. *International Journal of Innovative Science, Engineering and Technology* 3: 581-585.

Suslow, T.U. 1982. Role of root-colonizing bacteria in plant growth. *Phytopathogenic Prokaryotes* 1: 187-223.

Table 1 The efficiency of *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) for controlling chili wilt

Treatment	Disease incidence			
	7 days after sowing	14 days after sowing	21 days after sowing	28 days after sowing
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 50 g	0	0	0.00b	5.00b
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 100 g	0	0	5.00b	5.00b
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 150 g	0	0	5.00b	5.00b
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 200 g	0	0	5.00b	5.00b
control	0	0	40.00a	55.00a
CV%	-	-	**99.07**	**79.06**

* Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 2 The efficiency of *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) for controlling chili wilt

Treatment	Disease incidence			
	7 days after sowing	14 days after sowing	21 days after sowing	28 days after sowing
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 50 g	0	0	20.00b	20.00b
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 100 g	0	0	10.00b	10.00b
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 150 g	0	0	10.00b	10.00b
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 200 g	0	0	5.00b	5.00b
control	0	0	40.00a	65.00a
CV%	-	-	**67.39**	**52.07**

* Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 3 The efficiency of using *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) in controlling chili wilt disease

Treatment	Disease incidence				disease control (%)
	7 days after sowing	14 days after sowing	21 days after sowing	28 days after sowing	
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied at the bottom of the planting hole	0	0	5.00a	10.00a	63.63
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied broadcasting spreads *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50)across the soil surface	0	0	10.00a	12.50a	54.54
control	0	0	17.50b	27.50b	-
CV%	**-**	**-**	**190.43**	**137.91**	**-**

* Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 4 The efficiency of using *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) in controlling chili wilt disease

Treatment	Disease incidence				disease control (%)
	7 days after sowing	14 days after sowing	21 days after sowing	28 days after sowing	
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied at the bottom of the planting hole	0	0	7.50a	7.50a	72.81
Trichoderma DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied broadcasting spreads *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50)across the soil surface	0	0	7.50a	12.50a	59.35
control	0	0	35.00b	30.90b	-
CV%	**-**	**-**	**190.10**	**133.56**	**-**

* Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Figure 1 The efficiency of *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) for controlling chilli wilt

A: *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 50 g

B: *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 100 g

C: *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 150 g

D: *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) 200 g

E: Control

Figure 2 The efficiency of *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) for controlling chili wilt

A: *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied at the bottom of the planting hole

B: *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) at a rate of 50 g applied broascasting spreads *Trichoderma* DOAC 2550 (*Trichoderma harzianum* DOA-TH50) across the soil surface

C: control

ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดและสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในคะน้า

Efficacy of extracts and formulations from tea seed cake (*Camellia oleifera*) for controlling diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) in Chinese kale

สัญญาณี ศรีคชา[1/] กรกต ดำรักษ์[1/] วนาพร วงษ์นิคง[1/] หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/]
อุราพร หนูนารถ[2/] ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล[3/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

Abstract

The efficacy of extracts and formulations from tea seed cake (*Camellia oleifera*) for controlling diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) in Chinese kale was evaluated in a farmer's plantation located in Tha Muang District, Kanchanaburi Province and Si Prachan District, Suphan Buri Province. Field experiments were conducted from November 2022 to August 2023 using a completely randomized block design with six treatments and four replicates. The treatments consisted of various doses of *Camellia oleifera* tea seed cake extracts 125 g per 20 litres of water, *Camellia oleifera* tea seed cake formulations 0.5, 1.0 and 1.5 % per 20 litres of water and *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Florbac F.C.) at a rate of 60 ml per 20 litres of water. The untreated treatment was included as a negative control. The initial application was performed when the larval population of diamondback moths exceeded the economic threshold level of 0.5 larvae per plant. Four applications were applied throughout the experiment, with spraying every four days. The number of diamondback moth larvae per plant in the Chinese kale was recorded before and four days after each application, with 20 plants assessed per subplot. The economic threshold levels were determined accordingly. Field results indicated that all treatments using tea seed cake of *Camellia oleifera* extracts 125 g per 20 litres of

รหัสทดลอง FF65-10-04-65-02-02-66

water and formulations at doses of 0.5, 1.0 and 1.5 % per 20 litres of water, as well as *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Florbac F.C.) at the specified concentrations, exhibited effective control against larval diamondback moths. No significant differences were observed among the treatments using the tea seed cake of *Camellia oleifera* when compared to the positive control (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*). Additionally, all treatments demonstrated a lower number of larvae compared to the untreated treatment, with no significant differences. Furthermore, there were no indications of phytotoxic damage to plants at either location. Therefore, it is recommended to use tea seed cake of *Camellia oleifera* at doses, saponin 10% (T-Saponin)] at doses of 125 g per 20 liters of water or use tea seed cake of *Camellia oleifera* formulations at doses of 0.5 % per 20 litres of water Spray when an average of more than 0.5 larvae/plant. Spray every 4 days at least 4 times. It is effective control against larval diamondback moths.

Keywords : *Camellia oleifera* tea seed cake, *Camellia oleifera* formulations, diamondback moths (*Plutella xylostella* (Linnaeus)), Chinese kale

บทคัดย่อ

ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดและสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในคะน้า ดำเนินการ 2 การทดลอง ที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรีระหว่างเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2565 และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม – สิงหาคม 2566 วางแผนการทดลองแบบ RCB (Randomized Complete Block Design) จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือ สารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร เปรียบเทียบกับ บาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดแมลง เริ่มพ่นสารทดลองเมื่อพบการระบาดของหนอนใยผักเฉลี่ยมากกว่า 0.5 ตัว/ต้น ทำการพ่นสารทุก 4 วัน รวม 4 ครั้ง ประเมินผลการควบคุมหนอนใยผัก ด้วยการสุ่มนับจำนวนหนอนใยผักจากคะน้า จำนวน 20 ต้น/แปลงย่อย ก่อนพ่นสารและหลังพ่นสารแล้ว 4 วัน ทุกครั้งที่พ่นสารทดลอง ผลการทดลองพบว่า กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ บาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สามารถกำจัดหนอนใยผักได้ดีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และพบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่น

สารมีจำนวนหนอนใยผักน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดแมลง ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษ (phytotoxicity) ของสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) กับคะน้า ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้ กากเมล็ดชาน้ำมันซาโปนิน (saponin) 10% [ที-ซาโปนิน (T-Saponin)] อัตรา 125 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร แช่น้ำนานอย่างน้อย 3 ชั่วโมง จากนั้นกรองกากออก หรือผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร นำไปพ่นเมื่อพบการระบาดของหนอนใยผักเฉลี่ยมากกว่า 0.5 ตัว/ต้น โดยพ่นทุก 4 วัน อย่างน้อย 4 ครั้ง มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักได้ดี

คำหลัก : กากเมล็ดชาน้ำมัน, ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน, หนอนใยผัก, คะน้า

คำนำ

กากเมล็ดชา (tea seed cake) ได้จากการหีบเมล็ดของชาน้ำมัน (tea oil; *Camellia oleifera* Abel.) ชาน้ำมันมีถิ่นกำเนิดในมณฑลทางใต้ของสาธารณรัฐประชาชนจีน ทางตอนเหนือของประเทศพม่า ลาว และเวียดนาม ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ชาน้ำมันเป็นไม่พุ่มหรือไม้ต้นขนาดเล็ก ไม่ผลัดใบ สูงประมาณ 2 - 4 เมตร กิ่งอ่อนมีขนสาก ใบเป็นใบเดี่ยวออกเรียงสลับ รูปรีแกมรูปไข่ ขนาดกว้าง 2 - 4 เซนติเมตร ยาว 4 - 8 เซนติเมตร แผ่นใบหนาคล้ายแผ่นหนัง เหนียวและเป็นมัน ขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อยถี่ ฐานใบอบเรียว ปลายใบแหลม ดอกเป็นแบบสมบูรณ์เพศ ออกเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นช่อ 2 - 3 ดอก ดอกออกช่วงกลางเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน ผลแห้งชนิดแตกได้ (loculicidal capsule) รูปทรงกลม ขนาดผ่านศูนย์กลาง 2 - 5 เซนติเมตร เมื่อแก่จะแตกออกจากบริเวณปลายผลเป็นแฉก 3 - 4 ส่วน แต่ละส่วนจะมีเมล็ด 1 - 5 เมล็ด พื้นที่ปลูกชาน้ำมันในประเทศไทยรวม 3,683 ไร่ จำนวน 954,378 ต้น น้ำมันเมล็ดชามีองค์ประกอบของไขมันที่ดีต่อร่างกายไม่น้อยไปกว่าน้ำมันมะกอก ซึ่งทำให้ร่างกายสามารถดูดซึมวิตามินเอ ดี อี และเค ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้น้ำมันชายังมีกรดโอเมก้า 9 สูงถึงประมาณ 87 - 81% กรดโอเมก้า 6 ประมาณ 13 - 28% และกรดโอเมก้า 3 ประมาณ 1 - 3% กรดไขมันไม่อิ่มตัวเหล่านี้สามารถช่วยลดระดับ LDL (คลอเรสเตอรอลชนิดไม่ดี) และเพิ่มระดับ HDL (คลอเรสเตอรอลชนิดดี) ในร่างกาย ป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดตีบตัน โรคอัมพาต โรคความดัน โรคเบาหวาน และโรคหัวใจได้ จึงดีต่อสุขภาพของผู้ที่มีภาวะน้ำหนักเกิน สตรีมีครรภ์ และผู้สูงอายุ นอกจากน้ำมันชาจะอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์สูงอย่างวิตามินอีและสารคาเทชิน ซึ่งช่วยยืดอายุการใช้งานของน้ำมันให้นานขึ้น น้ำมันชายังสามารถนำไปผลิตเป็นเครื่องสำอางบำรุงเส้นผมและผิวพรรณต่าง ๆ เช่น ครีมและโลชั่นบำรุงผิว ครีมกันแดด สบู่ ยาสระผม หรือผสมกับน้ำมันหอมระเหย ส่วนกากเมล็ดชา (tea seed meal) ที่ได้จากการหีบน้ำมันออกแล้วจะมีลักษณะเป็นแผ่นแบน (tea seed cake) มีสารsaponinประมาณ 11 -

18% เป็นส่วนประกอบ สารตัวนี้สามารถนำไปใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวและทำให้เกิดฟอง ใช้ในผลิตน้ำยาทำความสะอาดต่าง ๆ รวมถึงน้ำยากำจัดศัตรูพืช หอยเชอรี่ในนาข้าว (ศูนย์วิจัยและพัฒนาชาน้ำมันและพืชน้ำมัน, 2563)

สารออกฤทธิ์หลักในเมล็ดชา คือ สารsaponin (saponins) ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ อะไกลโคน (aglycone) และไกลโคน (glycone) อะไกลโคน เรียกอีกชื่อหนึ่งว่าซาโปจินิน (sapogenin) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มไตรเทอร์ปีนส์ (triterpenes) สเตียรอยด์ (steroids) หรือสเตียรอยด์อัลคาลอยด์ (steroids- alkaloids) (นิรนาม, 2553) สารsaponinมีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ แตกต่างกัน เช่น เป็นพิษสูงต่อสัตว์เลือดเย็นมากกว่าสัตว์เลือดอุ่น เช่น ปลา หอย กบ และสัตว์ที่หายใจด้วยเหงือก โดยทำให้เกิดอัมพาตที่เหงือก หายใจไม่ได้ และตายในที่สุด มีผลต่อการลอกคราบของแมลง โดยทำให้แมลงไม่สามารถลอกคราบได้ (Geyter *et al*., 2007)

ปาริชาต (2552) นำสารsaponinจากสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา (*C. oleifera*) ที่สกัดโดยวิธีการแช่ยุ่ย (maceration) และวิธีสกัดแบบซอกเลค (Soxhlet) พบว่ามีพิษต่อหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* (Linnaeus)) โดยสารสกัดหยาบจากทั้ง 2 วิธี มีพิษต่อหนอนใยผักไม่แตกต่างกันโดยวิธีการแช่มีค่า LC_{50} เท่ากับ 115.4 ppm และวิธีการซอกแลตมีค่า LC_{50} เท่ากับ 115.0 ppm และKawai et al (1999) ทดสอบสกัดสารsaponinจากสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา *Camellia* sp. ควบคุมหนอนผีเสื้อ *Adoxophyes honmai* และไรแมงมุม *Tetranychus urticae* พบว่าสารsaponinจากสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา ไม่มีผลต่อการตายของหนอนผีเสื้อ แต่มีผลต่อการตายในระยะตัวอ่อนและการวางไข่ของไรแมงมุม

คะน้า (*Brassica oleracea* var. *alboglabra*) มีชื่อสามัญว่า Chinese kale คะน้าเป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ นิยมปลูกและบริโภคมากในประเทศไทยและประเทศในแถบทวีปเอเชีย เนื่องจากเป็นผักที่อุดมด้วยแร่ธาตุและวิตามินโดยเฉพาะเบต้า-แคโรทีนและแคลเซียม คะน้าหลังการหยอดเมล็ดแล้ว 45 - 60 วัน สามารถเก็บต้นบริโภคได้ เจริญเติบโตได้ดีในทุกสภาพดิน โดยเฉพาะดินร่วนปนทราย ดินเหนียวปนดินร่วน และมีการระบายน้ำดี เป็นผักที่ทนต่อสภาพอากาศร้อนได้ดีทำให้ปลูกได้ในทุกฤดูกาล แต่จะได้ผลดีในช่วงปลายฤดูฝนจนถึงฤดูหนาว ช่วงเดือนตุลาคม-กุมภาพันธ์ แต่ช่วงนี้ราคาสินค้าจำพวกพืชผักมักมีราคาต่ำ การปลูกคะน้าเชิงการค้าจะปลูกต่อเนื่องตลอดทั้งปี เกษตรกรจึงมักประสบปัญหาการเข้าทำลายของโรคและแมลง ทำให้ต้องใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีปริมาณและคุณภาพสูง และมักพบปัญหาเกษตรกรใช้สารเคมีป้องกันกาจัดศัตรูพืชไม่ถูกต้องหรือเกินความจำเป็น ทำให้มีสารพิษตกค้างในพืชผักเกินมาตรฐานปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit; MRL) ที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกำหนด แมลงศัตรูที่พบมากในคะน้า คือ หนอนใยผัก ด้วงหมัดผัก หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก และหนอนเจาะยอดกะหล่ำ

หนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae) เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญและก่อให้เกิดความเสียหายกับ พืชผักตระกูลกะหล่ำ เช่น คะน้า กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ฯลฯ

ยกเว้นผักกาดหอม พบ ระบาดตามแหล่งปลูกผักทั่วประเทศ ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็ก เมื่อกางปีกวัดได้ประมาณ 6 - 7 มิลลิเมตร มีสีเทา ส่วนหลังมีแถบสีเหลืองส้ม หนวดเป็นแบบเส้นด้าย ตัวเต็มวัยสามารถวางไข่ได้สูงและหลายครั้ง โดยวางไข่ได้ประมาณ 47 - 407 ฟอง จึงทำให้หนอนใยผักมีอัตราการเพิ่มประชากรได้รวดเร็ว พบตัวเต็มวัยบินมากในเวลา 18.00 - 21.00 น. ไข่มีลักษณะค่อนข้างแบนและยาวรี สีเหลืองอ่อนเป็นมัน เมื่อใกล้ฟักจะเปลี่ยนเป็นสีดำ ตัวหนอนมีลักษณะลำตัวเรียวยาว หัวแหลมท้ายแหลมส่วนท้ายมีปุ่มยื่นออกเป็น 2 แฉก เมื่อถูกรบกวนจะทิ้งตัวลงตามใย ตัวหนอนเมื่อโตเต็มที่มีขนาด 1 เซนติเมตร มี 4 วัย เข้าดักแด้ตามใบพืชโดยมีใยปกคลุม ดักแด้ในระยะแรก ๆ มีสีเขียว และเมื่อใกล้ออกเป็นตัวเต็มวัยจะมีสีน้ำตาล ดักแด้มีขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร หนอนใยผักมีวงจรชีวิตประมาณ 2 - 3 สัปดาห์ มี 17 - 25 ชั่วอายุขัยต่อปี การทำลายตัวหนอนที่ฟักออกจากไข่ในวัยแรกจะเข้ากัดกินภายในใบ และเมื่อหนอนเข้าสู่ระยะวัย 2 จะออกมากัดกินภายนอกทำให้ใบเป็นรูพรุน หากพบระบาดรุนแรงจะทำให้ผลผลิตเสียหาย (กองกีฏและสัตววิทยา, ไม่ระบุปี พ.ศ.) เกษตรกรนิยมใช้สารเคมีฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดและมีการปริมาณการใช้เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ นอกจากนี้ยังพบว่าหนอนใยผักสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงในหลายกลุ่ม เช่น กลุ่ม organophosphate, กลุ่ม synthetic pyrethroid และ กลุ่ม insect growth regulator เพื่อป้องกันความเสียหายจากหนอนใยผักจึงได้นำ สารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมัน saponin [ที-ซาโปนิน (T-Saponin)] อย่างง่าย และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน มาทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในคะน้า เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักสำหรับใช้เป็นคำแนะนำเกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงปลูกผักคะน้าเกษตรกร
2. กากเมล็ดชาน้ำมัน saponin [ที-ซาโปนิน (T-Saponin)]
3. ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันจาก กปผ.
4. สารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบ บาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค)
5. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง (Knapsack sprayer)
6. อุปกรณ์ในการชั่งตวงสาร

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete Block design (RCB) จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่

1. สารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ (ใช้กากเมล็ดชาน้ำมัน 2.5 กิโลกรัม แช่น้ำ 20 ลิตร อย่างน้อย 3 ชั่วโมง จากนั้นกรองเอาแต่น้ำ)

2. ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์)

3. ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์)

4. ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์)

5. บาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

6. ไม่พ่นสารกำจัดแมลง

ดำเนินการทดลองในแปลงเกษตรกรที่ อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2565 และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม – สิงหาคม 2566 โดยเตรียมแปลงปลูกคะน้าแบบยกร่อง ขนาด 2x5 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย เว้นระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร การเตรียมสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย ใช้กากเมล็ดชาน้ำมัน [ที-ซาโปนิน (T-Saponin)] จำนวน 2.5 กิโลกรัม แช่น้ำ 20 ลิตร โดยแช่นานอย่างน้อย 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองเอาแต่น้ำ (น้ำที่กรองได้จะมีสาร saponin 10%) จากนั้นนำไปเจือจางให้ได้สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันได้จาก กปผ. เริ่มทำการพ่นสารทดลองเมื่อพบการระบาดของหนอนใยผักเฉลี่ยมากกว่า 0.5 ตัว/ต้น โดยใช้เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง (Knapsack sprayer) อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตร/ไร่ ทำการพ่นสารทดลองทุก 4 วัน รวมจำนวนการพ่นสาร 4 ครั้ง ตลอดการทดลอง ประเมินผลการควบคุมหนอนใยผักโดยสุ่มตรวจนับจำนวนหนอนใยผัก จากคะน้าจำนวน 20 ต้น/แปลงย่อย ทุกครั้งก่อนการพ่นสารและหลังพ่นสารทดลองแต่ละครั้งทุก 4 วัน รวมการตรวจนับ 5 ครั้ง ตลอดการทดลอง และบันทึกผลกระทบของสารทดลองต่อพืช จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (%Efficacy) โดยใช้สูตรของ Henderson-Tilton (Puntener, 1992)

$$\%Efficacy = [(Ca \times Tb - Ta \times Cb) / Ca \times Tb] \times 100$$

Ta = จำนวนแมลงในแปลงที่พ่นสารหลังพ่นสาร

Tb = จำนวนแมลงในแปลงที่พ่นสารก่อนพ่นสาร

Ca = จำนวนแมลงในแปลงที่ไม่ได้พ่นสารหลังพ่นสาร

Cb = จำนวนแมลงในแปลงที่ไม่ได้พ่นสารก่อนพ่นสาร

นำข้อมูลจำนวนหนอนใยผัก และน้ำหนักผลผลิตมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม IRRISTAT กรณีข้อมูลหนอนใยผักก่อนพ่นสารในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance กรณีข้อมูลหนอนใยผักก่อนพ่นสารในแต่ละกรรมวิธี

แตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Covariance เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของกรรมวิธีโดยวิธี DMRT

เวลาและสถานที่

เวลา 1.ระหว่างเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2565
2.ระหว่างเดือนกรกฎาคม – สิงหาคม 2566

สถานที่ 1. แปลงทดลองที่ 1 อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี
2. แปลงทดลองที่ 2 อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ที่ อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี (Table 1 และTable 2)

ก่อนพ่นสารทดลอง พบว่าทุกกรรมวิธีมีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.50 – 0.58 ตัวต่อต้น ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างกรรมวิธี ดังนั้นจึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 พบว่าทุกกรรมวิธีมีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.50 – 0.58 ตัวต่อต้น ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างกรรมวิธี

หลังการพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 พบว่ากรรมวิธีการพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชมีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.20 - 0.35 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 1.05 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช พบว่า กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.35, 0.20 และ 0.33 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.29 ตัวต่อต้น ส่วนกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.60 ตัวต่อต้น มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่ากรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.50 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 65.96, 38.93, 78.65, 65.31 และ68.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังการพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 พบว่ากรรมวิธีการพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชมีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.14 - 0.30 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 1.26 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช พบว่า กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.27, 0.20 และ 0.25 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.14 ตัวต่อต้น ส่วนกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.30 ตัวต่อต้น มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่ากรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมัน saponin อย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.50 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 37.53, 72.29, -24.70, 36.05 และ 60.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังการพ่นสารทดลองครั้งที่ 4 พบว่ากรรมวิธีการพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชมีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.08 - 0.15 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.80 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช พบว่า กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.09, 0.10, 0.08 และ 0.15 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.09 ตัวต่อต้น เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่ากรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 47.17, 18.69, 60.53, 3.38 และ 2.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตคะน้าที่ส่งขายได้ (Marketable yield) ในระยะเก็บเกี่ยว (Table 1) พบว่า กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ

20 ลิตร และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร ได้ผลผลิตคะน้าเฉลี่ย 1.25, 0.98, 1.08, 0.93 และ1.25 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่ได้ผลผลิตคะน้าเฉลี่ย 0.73 กิโลกรัมต่อตารางเมตร

จากการพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช สารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษกับคะน้า

การทดลองที่ 2 ที่ อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี (Table 3 และTable 4)

ก่อนพ่นสารทดลอง พบว่าทุกกรรมวิธีมีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.64 – 0.70 ตัวต่อต้น ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างกรรมวิธี ดังนั้นจึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 พบว่ากรรมวิธีการพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.46 และ 0.46 ตัวต่อต้น ตามลำดับน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 1.02 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.72, 0.67 และ 0.65 ตัวต่อต้น ตามลำดับเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่ากรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.50 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 35.32, 38.89, 53.00, 57.22 และ 31.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังการพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 พบว่ากรรมวิธีการพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชมีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.50 - 0.99 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 2.19 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช พบว่า กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.64, 0.62, 0.50 และ 0.66 ตัวต่อ

ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.99 ตัวต่อต้น เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่ากรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมัน saponin อย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.50 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 71.36, 70.86, 67.28, 56.61 และ 58.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังการพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 พบว่ากรรมวิธีการพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชมีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.52 - 0.70 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 2.96 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช พบว่า กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.56, 0.61, 0.70 และ 0.52 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 0.70 ตัวต่อต้น เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่ากรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมัน saponin อย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.50 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 80.25, 78.05, 68.67, 82.28 และ 84.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังการพ่นสารทดลองครั้งที่ 4 พบว่ากรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นสารผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 1.05, 1.24, 0.74 และ 1.10 ตัวต่อต้น ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 2.41 ตัวต่อต้น ส่วนกรรมวิธีการพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ย 1.90 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่ากรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.50 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร

และกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 49.01, 15.26, 51.65, 61.42 และ 57.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตคะน้าที่ส่งขายได้ (Marketable yield) ในระยะเก็บเกี่ยว (Table 3) พบว่า กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร ได้ผลผลิตคะน้าเฉลี่ย 1.02, 0.95, 0.97, 0.82 และ 0.95 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่ได้ผลผลิตคะน้าเฉลี่ย 0.50 กิโลกรัมต่อตารางเมตร

จากการพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช สารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษกับคะน้า

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดและสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในคะน้า ดำเนินการทดลองที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2565 และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม – สิงหาคม 2566 วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ บาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดแมลง พบว่า กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สามารถกำจัดหนอนใยผักได้ดีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และพบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนหนอนใยผักน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดแมลง ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษ (phytotoxicity) ของสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่ายที่มีสาร saponin ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่ และบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (ฟลอร์แบค) กับต้นคะน้า ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้ กากเมล็ดชาน้ำมัน

ซาโปนิน (saponin) 10% [ที-ซาโปนิน (T-Saponin)] อัตรา 125 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร แช่น้ำนานอย่างน้อย 3 ชั่วโมง จากนั้นกรองกากออก หรือผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันที่มีสาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำ 20 ลิตร นำไปพ่นเมื่อพบการระบาดของหนอนใยผักเฉลี่ยมากกว่า 0.5 ตัว/ต้น โดยพ่นทุก 4 วัน อย่างน้อย 4 ครั้ง มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักได้ดี

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. ไม่ระบุปี พ.ศ. หนอนใยผักและการป้องกันกำจัด. กรุงเทพฯ. (ออนไลน์). แหล่งที่มา: http://www.doa.go.th/share/attachment.php?aid=1274. สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2563.

ปาริชาต อุปทุม. 2552. อิทธิพลของสารsaponinจากกากเมล็ดชาต่อความเป็นพิษและเอ็นไซม์เอสเทอเรสกลูทาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสต์ต่อสัตว์และศัตรูพืชบางชนิด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาชีววิทยา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิรนาม. 2553. ซาโปนิน (Saponins). สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (ออนไลน์). http://siweb.dss.go.th/repack/fulltext/IR 10 pdf. สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2563.

ศูนย์วิจัยและพัฒนาชาน้ำมันและพืชน้ำมัน. 2563. ชาน้ำมัน (ออนไลน์). https://www.teaoilcenter.org. สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2563.

Henderson, C.F. and E. W. Tilton, 1955. Tests with acaricides against the brow wheat mite, J. Econ. Entomol. 48:157-161.

Geyter, E.D., Geelen, D. and Smagghe, G. 2007. First results on the insecticidal action of saponins. Comm. Appl. Biol. Sci. 72: 645-648.

Kawai, A., Toshihiro, M., Hideki, H. and Katsunori K. 1999. Control effect of tea seed saponins against insect pests and mite. J.Chagyo Kenkyu Hokuku 87: 7-12.

Table 1 Efficacy of extracts and formulations from tea seed cake (*Camellia oleifera*) for controlling diamondback moths, *Plutella xylostella* (Linnaeus) and yield weight in Chinese kale at farmer's plantation located in Tha Muang District, Kanchanaburi Province, November – December 2022

Treatment	Rate of application (kg, l./20 L. of water)	Average number of diamondback moths (larva/plants) [1/]					Yield weight (kg./square meter)
		Before	After spray 4 days (Application time)				
			1	2	3	4	
1. *Camellia oleifera* tea seed cake (extracts)	2.5	0.56	0.56	0.35ab	0.27ab	0.09a	1.25a
2. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation)	1	0.54	0.54	0.60b	0.20ab	0.10a	0.98ab
3. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation)	2	0.51	0.51	0.20a	0.30b	0.08a	1.08ab
4. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation)	3	0.51	0.51	0.33a	0.25ab	0.15a	0.93ab
5. *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Florbac F.C.)	0.06	0.50	0.50	0,29a	0.14a	0.09a	1.25a
6. control	-	0.58	0.58	1.05c	1.26c	0.80b	0.73b
CV (%)		**10.2**	**10.2**	**36.6**	**24.5**	**46.2**	**29.2**
R.E. (%)		**-**	**-**	**-**	**50.6**	**51.5**	**-**

[1/]In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

[2/] Relative efficiency was analyzed by covariance because of data before application were significant different

Table 2 Efficacy of extracts and formulations from tea seed cake (*Camellia oleifera*) for controlling diamondback moths, *Plutella xylostella* (Linnaeus) in Chinese kale at farmer's plantation located in Tha Muang District, Kanchanaburi Province, November – December 2022

Treatment	Rate of application (kg, L./20 L.of water)	Efficacy (%)[1/]			
		After spray 4 days (Application time)			
		1	2	3	4
1. *Camellia oleifera* tea seed cake (extracts)	2.5	-	65.96	37.53	47.17
2. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation)	1	-	38.93	72.29	18.69
3. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation)	2	-	78.65	-24.70	60.53
4. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation)	3	-	65.31	36.05	3.38
5. *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Florbac F.C.)	0.06	-	68.58	60.16	-2.96

[1/] Efficacy percentage calculated from Henderson -Tilton's formula (Henderson and Tilton, 1955)

Table 3 Efficacy of extracts and formulations from tea seed cake (*Camellia oleifera*) for controlling diamondback moths, *Plutella xylostella* (Linnaeus) and yield weight in Chinese kale at farmer's plantation located in Si Prachan District, SuphanBuri Province, July – August 2023

Treatment	Rate of application (kg, l./20 L. of water)	Average number of diamondback moths (larva/plants) [1/]					Yield weight (kg./square meter)
		Before	After spray 4 days (Application time)				
			1	2	3	4	
1. *Camellia oleifera* tea seed cake (extracts)	2.5	0.67	0.67ab	0.64a	0.56a	1.05ab	1.02a
2. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation)	1	0.69	0.65ab	0.62a	0.61a	1.90bc	0.95a
3. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation)	2	0.64	0.46a	0.50a	0.70a	1.24ab	0.97a
4. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation)	3	0.70	0.46a	0.66a	0.52a	0.74a	0.82a
5. *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Florbac F.C.)	0.06	0.69	0.72ab	0.99a	0.70a	1.10ab	0.95a
6. control	-	0.66	1.02b	2.19b	2.96b	2.42c	0.50b
CV (%)		**19.1**	**37.9**	**39.1**	**26.2**	**39.2**	**22.2**
R.E. (%)		**-**	**-**	**108.0**	**79.8**	**100.7**	**-**

[1/]In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

[2/] Relative efficiency was analyzed by covariance because of data before application were significant different

Table 4 Efficacy of extracts and formulations from tea seed cake (*Camellia oleifera*) for controlling diamondback moths, *Plutella xylostella* (Linnaeus) in Chinese kale at farmer's plantation located in Si Prachan District, SuphanBuri Province, July – August 2023

Treatment	Rate of application (kg, l./20 L. of water)	Efficacy (%)[1/]			
		After spray 4 days (Application time)			
		1	2	3	4
1. *Camellia oleifera* tea seed cake (extracts)	0.5%	35.32	71.36	80.25	49.01
2. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation)	0.5%	38.89	70.86	78.05	15.26
3. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation)	1.0%	53.00	67.28	68.67	51.65
4. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation)	1.5%	57.22	56.61	82.28	61.42
5. *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Florbac F.C.)	60	31.84	58.71	84.15	57.04

[1/] Efficacy percentage calculated from Henderson -Tilton's formula (Henderson and Tilton, 1955)

ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดและสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในกะหล่ำปลี

Efficacy of extracts and formulations from tea seed cake (*Camellia oleifera*) against diamondback moth (*Plutella xylostella* (Linnaeus)) on cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata L.*)

วนาพร วงษ์นิคง[1/] กรกต ดำรักษ์[1/] สัญญาณี ศรีคชา[1/]
หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/] ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล[2/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

Abstract

The study on efficacy of extracts and formulations from tea seed cake (*Camellia oleifera*) against diamondback moth (*Plutella xylostella* (Linnaeus)) on cabbage (Brassica oleracea var. capitata L.) was conducted at a cabbage plantation in Bang Ngam sub-district, Si Prachan district, Suphan Buri province for two field trials: from January to February 2023, and from February to March 2024. The experimental design was Randomized Complete Block (RCB) with four replications and six treatments. The treatments included spraying the extract from *Camellia oleifera* tea seed cake with a rate of 125 grams per 20 liters of water, soaking in water for at least three hours, then filter to remove the residue and use only the liquid, spraying *Camellia oleifera* tea seed cake formulation, with a rate of 1 litre per 20 liters of water, spraying *Camellia oleifera* tea seed cake formulation, with a rate of 2 litre per 20 liters of water, spraying *Camellia oleifera* tea seed cake formulation, with a rate of 3 litre per 20 liters of water and spraying *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (1.36 x 10^9 cfu/ml) at a rate of 200 milliliters per 20 liters of water. These treatments were compared with a control group that did not receive any treatment. The study began when an average infestation of one diamondback moth larva per plant was observed. The treatments were applied every four days for a total of five times. The number of diamondback moth larvae was randomly counted on ten cabbage plants per sub-plot before spraying and four

รหัสการทดลอง FF65-10-04-65-02-03-66

days after spraying. The results indicated that the treatments involving the spraying of tea seed cake extract, tea seed cake formulations, and *Bacillus thuringiensis* sub.sp *aizawai* effectively controlled the diamondback moth. Additionally, it was found that the average number of diamondback moth larvae was statistically significantly lower in treated populations compared to the untreated treatment. Throughout the experiment, no phytotoxic symptoms were observed on cabbage plants treated with *Camellia oleifera* tea seed cake extract, *Camellia oleifera* tea seed cake formulations, and *Bacillus thuringiensis* sub.sp *aizawai.* When comparing market-quality yields, it was found that all treatment methods with spraying produced higher market-quality weights than the untreated method. It is therefore recommended to use the extract from *Camellia oleifera* tea seed cake at a rate of 125 grams/20 liters of water. The extract should be soaked in water for a minimum of 3 hours, followed by filtration to remove any residue. Alternatively, the formulated product derived from *Camellia oleifera* tea seed cake can be used at rates of 1 liter per 20 liters of water. Application should begin when the infestation of diamondback moth larvae exceeds an average of one larva per plant, with treatments applied every 4 days for at least 5 times. These methods have proven effective in controlling diamondback moth larvae.

Keywords : diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus), cabbage, tea seed cake

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดและสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในกะหล่ำปลี ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2566 ที่แปลงเกษตรกรตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี และระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม 2567 โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 พ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร โดยแช่น้ำนานอย่างน้อย 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองเอาแต่น้ำ กรรมวิธีที่ 2 พ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่นสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml)) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร เริ่มพ่นสารทดลองเมื่อพบการระบาดของหนอนใยผักเฉลี่ย 1 ตัว/ต้น พ่นสารทุก 4 วัน รวม 5 ครั้ง สุ่มนับจำนวนหนอนใยผักจากกะหล่ำปลี

จำนวน 10 ต้น/แปลงย่อย ก่อนพ่นสารและหลังพ่นสาร 4 วัน ผลการทดลองพบว่าสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1, 2 และ 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ และบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml)) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สามารถควบคุมหนอนใยผักได้ ในทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง มีจำนวนหนอนใยผักน้อยกว่าและแตกต่างกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษต่อพืช (phytotoxicity) ของกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน และบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตที่มีคุณภาพของตลาด พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีน้ำหนักที่มีคุณภาพทางตลาดสูงกว่ากรรมวิธีไม่พ่นสาร ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้ สารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร แช่น้ำนานอย่างน้อย 3 ชั่วโมง จากนั้นกรองกากออก หรือผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน ที่อัตรา 1 ลิตร ต่อ น้ำ 20 ลิตร นำไปพ่นเมื่อพบการระบาดของหนอนใยผักเฉลี่ยมากกว่า 1 ตัว/ต้น โดยพ่นทุก 4 วัน อย่างน้อย 5 ครั้ง ซึ่งมีประสิทธิภาพสามารถควบคุมหนอนใยผักได้ดี

คำหลัก : หนอนใยผัก, *Plutella xylostella* (Linnaeus), กะหล่ำปลี, กากเมล็ดชาน้ำมัน

คำนำ

กะหล่ำปลีจัดเป็นผักที่สำคัญในประเทศไทย เนื่องจากเป็นผักที่ใช้บริโภคในชีวิตประจำวันจึงมีการปลูกทั่วทุกภาคของประเทศ การผลิตกะหล่ำปลีมักประสบปัญหาศัตรูพืชเข้าทำลาย แมลงศัตรูพืชที่สำคัญ ได้แก่ หนอนผีเสื้อชนิดต่างๆ เช่น หนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะยอดกะหล่ำ ซึ่งหนอนจะเข้าทำลายโดยการกัดกินใบหรือเจาะเข้าส่วนยอด และด้วงปีกแข็ง เช่น ด้วงหมัดผัก ซึ่งตัวอ่อนที่เจริญเติบโตในดิน กัดทำลายราก ส่วนตัวแก่กัดกินใบพืชตระกูลกะหล่ำ หนอนใยผัก (diamondback moth) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Plutella xylostella* (Linnaeus) จัดอยู่ในวงศ์ Plutellidae อันดับ Lepidoptera เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญและก่อให้เกิดความเสียหายกับ พืชผักตระกูลกะหล่ำ เช่น คะน้า กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ตัวเต็มวัยเพศเมียของหนอนใยผักจะวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ หรือกลุ่มเล็กๆ ทั้งบนใบและใต้ใบพืช แต่จะพบใต้ใบพืชเป็นส่วนใหญ่ โดยเฉลี่ยตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถวางไข่ได้ประมาณ 50-400 ฟอง ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของอาหารที่กิน ไข่มีขนาด 0.8 มม. สีเหลืองอ่อน ค่อนข้างกลมแบน ระยะไข่ 2-4 วัน และจะเปลี่ยนเป็นสีดำเมื่อใกล้จะฟักเป็นตัวหนอน หนอนเมื่อฟักจากไข่ใหม่ๆ จะมีขนาดเล็กประมาณ 1.5 มม. มีลักษณะเรียวยาว หัวแหลมท้ายแหลม ส่วนท้ายมีปุ่มยื่นออกเป็น 2 แฉก และมีสีเขียวอ่อนหรือเทาอ่อนหรือเขียวปนเหลือง เมื่อถูกตัวจะดิ้นอย่างแรงและสร้างใยพาตัวขึ้นลงระหว่างพื้นดินกับใบพืชได้ หนอนจะกัดกินผิวใบทำให้ผักเป็นรูพรุนคล้ายร่างแห ระยะหนอนมีการเจริญเติบโต 4 ระยะ ใช้เวลาเฉลี่ย 7-10 วัน ระยะสุดท้ายมีขนาดประมาณ 0.8-1 ซม. เข้าดักแด้บริเวณใบพืชโดยมีใยบางๆ ปกคลุมติดใบพืช มีขนาดประมาณ 1 ซม. ดักแด้ระยะแรกจะมีสีเขียว จากนั้นเปลี่ยนเป็นสีเหลืองปนน้ำตาลเมื่อใกล้ฟักออกเป็นตัวเต็มวัย

ระยะดักแด้ 3-4 วัน ตัวเต็มวัยเมื่อออกจากดักแด้จะอาศัยอยู่ตามบริเวณต้นผัก ใต้ใบ ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็ก ยาวประมาณ 6-7 มม. มีสีเทา ส่วนหลังมีแถบเหลืองส้มลักษณะหลายเหลี่ยมเหมือนเพชรที่เจียรนัยแล้ว หนวดเป็นแบบเส้นด้าย แต่ละปล้องมีสีดำสลับขาว ตัวเต็มวัยมีอายุขัยเฉลี่ย 5-7 วัน (กลุ่มบริหารศัตรูพืช และกลุ่มกีฏวิทยา, 2554; สัญญาณีและคณะ, 2560)

หนอนใยผักมีวงจรชีวิตสั้น และมีการแพร่ขยายพันธุ์รวดเร็ว ตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถวางไข่ได้หลังออกจากดักแด้และผสมพันธุ์ภายใน 24 ชั่วโมง และวางไข่ได้ตลอดชีวิต ในแหล่งปลูกส่วนใหญ่มีการปลูกผักตระกูลกะหล่ำอย่างต่อเนื่องสม่ำเสมอ ทำให้มีพืชอาหารตลอด จึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้พบการระบาดของหนอนใยผักเสมอ ส่งผลให้เกษตรกรมีการใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่อง ทำให้หนอนใยผักมีการพัฒนาสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงได้รวดเร็วและมากชนิด (กลุ่มบริหารศัตรูพืช และกลุ่มกีฏวิทยา, 2554) จากข้อมูล Arthropod Pesticide Resistance Database พบว่าหนอนใยผักสร้างความต้านทานต่อสารเคมีหลายชนิด เช่น chlorantraniliprole, spinosad, indoxacarb, spinetoram, chlorfenapyr, fipronil เป็นต้น รวมทั้งต้านทานต่อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Mota-Sanchez and Wise, 2024.) ดังนั้นจึงยากต่อป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ต้องใช้หลายๆ วิธีร่วมกันเพื่อให้การป้องกันกำจัดมีประสิทธิภาพ สารสกัดจากธรรมชาติจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่นำมาใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก

ชาน้ำมัน (tea oil) มีถิ่นกำเนิดในมณฑลทางใต้ของสาธารณรัฐประชาชนจีน ทางตอนเหนือของประเทศพม่า ลาว และเวียดนาม ชาน้ำมัน คือพืชสกุลชา (*Camellia* L.) วงศ์ Theaceae ที่สามารถนำเอาเมล็ดแห้งมาบีบสกัดน้ำมัน เพื่อใช้ในการบริโภค มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Camellia oleifera* Abel โดยเฉพาะทางตอนใต้ของสาธารณรัฐประชาชนจีน ซึ่งมีการบริโภคน้ำมันที่ได้จากเมล็ดชามานาน (โครงการศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดคามีเลียและน้ำมันพืชอื่น, มปป.) กากเมล็ดชา (tea seed cake) คือ กากที่ได้มาจากการหีบเอาน้ำมันออกจากเมล็ดของชาน้ำมัน (Gao *et al*., 2010; Zhu *et al*., 2020) หลังจากการสกัดน้ำมัน เศษเมล็ดที่เหลืออาจนำมาใช้เป็นวัสดุในการเตรียมอาหารสัตว์ ปุ๋ยอินทรีย์ และสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ (Zhu *et al*., 2020)

กากเมล็ดชาที่ได้จากการหีบน้ำมันออกแล้วจะมีลักษณะเป็นแผ่นแบน มีสาร saponin ประมาณ 11-18% เป็นส่วนประกอบ สามารถนำไปใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวและทำให้เกิดฟอง ใช้ในผลิตน้ำยาทำความสะอาดต่างๆ รวมถึงสารกำจัดศัตรูพืชหอยเชอรี่ในนาข้าว (โครงการศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดคามีเลียและน้ำมันพืชอื่น, มปป.) ทางการเกษตรนั้น กากเมล็ดชามีคุณสมบัติใช้เป็นสารกำจัดศัตรูพืช เนื่องจากสาร saponin สามารถทำให้แมลงตาย แมลงกินอาหารน้อยลง ส่งผลให้น้ำหนักลดลง ชะลอการเจริญเติบโต และลดความสามารถในการสืบพันธุ์ ถึงแม้ว่ากลไกออกออกฤทธิ์ของ saponin นั้นยังไม่แน่ชัด มีความเป็นได้ว่ามาจากหลายกลไกด้วยกัน ได้แก่ กระบวนการไล่ (repellent) หรือ การขัดขวาง (deterrent) การลดการนำเข้าอาหารผ่านทางกระเพาะอาหาร การขัดขวางการดูดซึมของสเตอรอล (blocking sterol assimilation) การต่อต้าน

หรือแข่งขันต่อ ecdysteroid reporter การยอมให้สารผ่านเข้าเซลล์ (membrane-permeabilizing) และ การกระตุ้นการตายของเซลล์ (apoptosis) (Roopashree and Naik, 2019)

Dolma *et al.* (2018) ศึกษาสาร saponin ต่อหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (L.) และเพลี้ยอ่อน *Aphis craccivora* Koch. ผลการทดลองหลังจากการทดสอบ 96 ชั่วโมง พบว่า สาร saponin มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักในระยะที่ 2 ซึ่งมีค่า LC_{50} เท่ากับ 2,106.32 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนได้ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 540.79 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการทดสอบความเป็นสารไล่แมลง (repellent activity) พบว่า สาร saponin ที่ 4,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการไล่หนอนใยผักระยะที่ 3 ซึ่งคิดเป็น 48.57% นอกจากนี้ Cui *et al.* (2019) ทดสอบความเป็นพิษของสาร saponin ต่อหนอนในสวนชา *Ectropis obliqua* ด้วยวิธีการทดสอบความเป็นพิษแบบสัมผัส (contact toxicity) และความเป็นพิษต่อกะเพาะอาหาร (stomach toxicity) ผลการทดลองพบว่า การทดสอบแบบสัมผัส มีค่า LC_{50} เท่ากับ 8.459 มิลลิกรัมต่อลิตร และพิษต่อกระเพาะอาหาร มีค่า LC_{50} = 22.395 มิลลิกรัมต่อลิตร การศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์แสดงให้เห็นว่า สาร saponin ในชาสามารถทำให้เกิดความเสียหายต่อชั้นเคลือบไขมันของผิวหนังชั้นนอก (epidermis) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการสูญเสียน้ำอย่างรุนแรง และสามารถเจาะเข้าไปในลำไส้ของ *E. obliqua* ได้ เมื่อหนอนกินเข้าไปแล้วพบว่าเยื่อบุผนังลำไส้จะสั้นลง และช่องว่างของผนังลำไส้จะเสียหาย ซึ่งส่งผลให้หนอนตายได้

เห็นได้ว่าสาร saponin จากชา มีประสิทธิภาพ สามารถออกฤทธิ์ควบคุมแมลงได้ ดังนั้นจึงนำสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน ที่อัตราต่างๆ มาทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในกะหล่ำปลี เพื่อเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งในการควบคุมหนอนใยผัก โดยเฉพาะการลดความเสี่ยงหนอนใยผักต้านทานต่อสารเคมี นอกจากนี้ยังปลอดภัยต่อผู้ใช้และผู้บริโภค ไม่มีสารพิษตกค้าง เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการใช้สารกำจัดศัตรูพืชอย่างยั่งยืนและมีประสิทธิภาพในอนาคต สามารถรักษาความสมดุลของระบบนิเวศได้อย่างยั่งยืน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงกะหล่ำปลีของเกษตรกร
2. กากเมล็ดชาน้ำมัน [ที-ซาโปนิน (T-Saponin)] ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน และ *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลังที่สามารถวัดความดันได้
4. ถังพลาสติก กระบอกตวง บีกเกอร์
5. ไม้ปักแปลง และแผ่นป้ายสำหรับแต่ละกรรมวิธี

6. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

วิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดและสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในกะหล่ำปลี วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย ซาโปนิน (saponin) 10% [ที-ซาโปนิน (T-Saponin)] อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์)

กรรมวิธีที่ 3 พ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์)

กรรมวิธีที่ 4 พ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์)

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารเปรียบเทียบ บาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml)) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

ดำเนินการทดลองในแปลงกะหล่ำปลีของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อย 2x5 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย การเตรียมสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย ใช้กากเมล็ดชาน้ำมัน ซาโปนิน (saponin) 10% [ที-ซาโปนิน (T-Saponin)] จำนวน 125 กรัม แช่น้ำ 20 ลิตร โดยแช่นานอย่างน้อย 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองเอาแต่น้ำ (น้ำที่กรองได้จะมีสาร saponin 0.5%) ส่วนผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันได้จาก กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร สุ่มนับแปลงย่อยละ 10 ต้น นับจำนวนหนอนใยผักก่อนพ่นสารและหลังพ่นสาร 4 วัน เริ่มทำการพ่นสารทดลองตามกรรมวิธีต่าง ๆ ด้วยเครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง โดยใช้อัตราพ่น 120 ลิตรต่อไร่ เมื่อพบการระบาดของหนอนใยผักเฉลี่ย 1 ตัว/ต้น พ่นสารทดลองจำนวน 5 ครั้ง ระยะเก็บเกี่ยวทำการสุ่มเก็บผลผลิตกะหล่ำปลีในพื้นที่ 1 ตารางเมตร/แปลงย่อย บันทึกปริมาณและน้ำหนักสดที่มีคุณภาพของตลาด (marketable yield)

นำข้อมูลจำนวนหนอนใยผัก และน้ำหนักผลผลิตมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม IRRISTAT กรณีข้อมูลหนอนใยผักก่อนพ่นสารในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of variance กรณีข้อมูลหนอนใยผักก่อนพ่นสารในแต่ละกรรมวิธีแตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of covariance และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของกรรมวิธีโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนหนอนใยผัก
- ปริมาณและน้ำหนักสดที่มีคุณภาพของตลาด (marketable yield)
- ผลกระทบต่อพืช
- ผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ เช่น ศัตรูธรรมชาติ ปลา ผึ้ง กุ้ง ฯลฯ

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565 - กันยายน 2567

สถานที่ แปลงปลูกกะหล่ำปลีของเกษตรกร ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แปลงที่ 1 ดำเนินการทดลองที่แปลงปลูกกะหล่ำปลีของเกษตรกร ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2566 (Table 1)

ก่อนพ่นสารทดลอง พบจำนวนหนอนใยผักในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 3.08-4.13 ตัวต่อต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นจึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังการพ่นสารครั้งที่ 1 ด้วยวิธี Analysis of covariance

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1 กรรมวิธีที่มีการพ่นสารทดลองมีหนอนใยผักเฉลี่ยระหว่าง 5.63-10.43 ตัวต่อต้น ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 6.78 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง พบว่ากรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) มีหนอนใยผักเฉลี่ย 5.63 และ 5.70 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีหนอนใยผักเฉลี่ย 10.43 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 6.55 และ 7.20 ตัวต่อต้น ตามลำดับ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2 การวิเคราะห์ผลหลังพ่นสารครั้งที่ 2 ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 เป็นข้อมูลก่อนพ่นสาร พบว่าจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Analysis of covariance

กรรมวิธีที่มีการพ่นสารทดลองมีหนอนใยผักเฉลี่ยระหว่าง 3.50-5.50 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 7.30 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง พบว่ากรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ด

ชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) มีหนอนใยผักเฉลี่ย 3.50 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกับกรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 5.40 และ 5.50 ตัวต่อต้น ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 4.30 และ 4.98 ตัวต่อต้น ตามลำดับ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 3 การวิเคราะห์ผลหลังพ่นสารครั้งที่ 3 ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 2 เป็นข้อมูลก่อนพ่นสาร พบว่าจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Analysis of covariance

กรรมวิธีที่มีการพ่นสารทดลองมีหนอนใยผักเฉลี่ยระหว่าง 2.05-5.85 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 13.95 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีหนอนใยผักเฉลี่ย 2.05 และ 2.95 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ยจำนวน 5.85 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 3.65 และ 4.83 ตัวต่อต้น ตามลำดับ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 4 การวิเคราะห์ผลหลังพ่นสารครั้งที่ 4 ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 3 เป็นข้อมูลก่อนพ่นสาร พบว่าจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Analysis of covariance

กรรมวิธีที่มีการพ่นสารทดลองมีหนอนใยผักเฉลี่ยระหว่าง 1.08-2.83 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 5.98 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีหนอนใยผักเฉลี่ย 1.08 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 2.83 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีกรรมวิธีพ่น

ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) และ กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 1.58, 2.03 และ 2.03 ตัวต่อต้น ตามลำดับ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 5 การวิเคราะห์ผลหลังพ่นสารครั้งที่ 5 ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 4 เป็นข้อมูลก่อนพ่นสาร พบว่าจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Analysis of covariance

กรรมวิธีที่มีการพ่นสารทดลองพบว่ามีหนอนใยผักเฉลี่ย 0.23-0.70 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 2.08 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง พบว่ากรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) มีหนอนใยผักเฉลี่ย 0.23, 0.33, 0.43, 0.58 และ 0.70 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ผลผลิตกะหล่ำปลี

เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกะหล่ำปลีที่ตรงตามคุณภาพของตลาด พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองมีผลผลิตกะหล่ำปลีเฉลี่ย 3.90-5.40 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ซึ่งมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีผลผลิตกะหล่ำปลีเฉลี่ย 1.40 กิโลกรัมต่อตารางเมตร โดยกรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ บาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) มีผลผลิตกะหล่ำปลีเฉลี่ย 5.40, 4.57, 4.55, 4.35 และ 3.90 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

แปลงที่ 2 ดำเนินการทดลองที่แปลงปลูกกะหล่ำปลีของเกษตรกร ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม 2567 (Table 2)

ก่อนพ่นสารทดลอง พบจำนวนหนอนใยผักในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 1.43-2.20 ตัวต่อต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นจึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังการพ่นสารครั้งที่ 1 ด้วยวิธี Analysis of covariance

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1 กรรมวิธีที่มีการพ่นสารทดลองมีหนอนใยผักเฉลี่ยระหว่าง 0.45-0.90 ตัวต่อต้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 3.20 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) มีหนอนใยผักเฉลี่ย 0.45, 0.60, 0.63, 0.73 และ 0.90 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2 การวิเคราะห์ผลหลังพ่นสารครั้งที่ 2 ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 เป็นข้อมูลก่อนพ่นสาร พบว่าจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Analysis of covariance

กรรมวิธีที่มีการพ่นสารทดลองมีหนอนใยผักเฉลี่ยระหว่าง 0.15-0.60 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 3.0 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง พบว่ากรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีหนอนใยผักเฉลี่ย 0.15 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกับกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 0.60 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) มีหนอนใยผักเฉลี่ย 0.15 0.28 0.35 และ 0.5 ตัวต่อต้น

หลังการพ่นสารครั้งที่ 3 การวิเคราะห์ผลหลังพ่นสารครั้งที่ 3 ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 2 เป็นข้อมูลก่อนพ่นสาร พบว่าจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Analysis of covariance

กรรมวิธีที่มีการพ่นสารทดลองมีหนอนใยผักเฉลี่ยระหว่าง 0.63-1.35 ตัวต่อต้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีหนอนใยผัก 2.55 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus*

thuringiensis subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีหนอนใยผักเฉลี่ย 0.63, 0.75, 0.83, 1.03 และ 1.35 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 4 การวิเคราะห์ผลหลังพ่นสารครั้งที่ 4 ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 3 เป็นข้อมูลก่อนพ่นสาร จำนวนหนอนใยผักเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Analysis of covariance

กรรมวิธีพ่นสารทดลองมีหนอนใยผักเฉลี่ยระหว่าง 0.20-0.30 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 1.28 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) มีหนอนใยผักเฉลี่ย 0.20, 0.23, 0.23, 0.28 และ 0.30 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 5 การวิเคราะห์ผลหลังพ่นสารครั้งที่ 5 ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 4 เป็นข้อมูลก่อนพ่นสาร พบว่าจำนวนหนอนใยผักเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Analysis of covariance

กรรมวิธีที่มีการพ่นสารทดลองพบว่ามีหนอนใยผักเฉลี่ย 0.18-0.30 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีหนอนใยผักเฉลี่ย 1.08 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง พบว่ากรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) มีหนอนใยผักเฉลี่ย 0.18, 0.20, 0.23, 0.28 และ 0.30 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ผลผลิตกะหล่ำปลี

เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกะหล่ำปลีที่ตรงตามคุณภาพของตลาด พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองมีผลผลิตกะหล่ำปลีเฉลี่ย 1.58-5.98 กิโลกรัมต่อตารางเมตร โดยกรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ บาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) มีผลผลิตกะหล่ำปลีเฉลี่ย 5.98 และ 3.58 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ที่มีผลผลิตกะหล่ำปลีเฉลี่ย 0.33 กิโลกรัมต่อตารางเมตร กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีพ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) มีผลผลิตกะหล่ำปลีเฉลี่ย 2.88, 2.28 และ 1.58 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ผลผลิตกะหล่ำปลีที่ตรงตามคุณภาพของตลาดแปลงทดลองที่ 2 มีน้ำหนักน้อยกว่าแปลงทดลองที่ 1 เนื่องจากได้รับความเสียหายจากศัตรูพืชชนิดอื่น ได้แก่ หนอนกระทู้ผัก และโรคเน่าเละ นอกจากนั้นสภาพอากาศที่ร้อนทำให้น้ำหนักของกะหล่ำปลีลดลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดและสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมันเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในกะหล่ำปลี ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2566 ที่แปลงเกษตรกรตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี และระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม 2567 โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 พ่นสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีที่ 2 พ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีที่ 3 พ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 2 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์) กรรมวิธีที่ 4 พ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีที่ 5 พ่นสารเปรียบเทียบ บาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml)) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร เริ่มพ่นสารทดลองเมื่อพบการระบาดของหนอนใยผักเฉลี่ย 1 ตัว/ต้น พ่นสารทุก 4 วัน รวม 5 ครั้ง สุ่มนับจำนวนหนอนใยผักจากกะหล่ำปลี จำนวน 10 ต้น/แปลงย่อย ก่อนพ่นสารและหลังพ่นสาร 4 วัน ผลการทดลองพบว่าสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน

อัตรา 1, 2 และ 3 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) และบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (1.36 x 10^9 cfu/ml)) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สามารถควบคุมหนอนใยผักได้ ในทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดลอง มีจำนวนหนอนใยผักน้อยกว่าและแตกต่างกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษต่อพืช (phytotoxicity) ของกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน และบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตที่มีคุณภาพของตลาด พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีน้ำหนักที่มีคุณภาพทางตลาดสูงกว่ากรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้ สารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมันอย่างง่าย อัตรา 125 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) แช่น้ำนานอย่างน้อย 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองเอาแต่น้ำ หรือ ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน อัตรา 1 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร (สาร saponin อัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์) นำไปพ่นเมื่อพบการระบาดของหนอนใยผักเฉลี่ยมากกว่า 1 ตัว/ต้น โดยพ่นทุก 4 วัน อย่างน้อย 5 ครั้ง ซึ่งมีประสิทธิภาพสามารถควบคุมหนอนใยผักได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกกะหล่ำปลีสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้การดำเนินงานทดลองนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มบริหารศัตรูพืช และกลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2559. *แมลงศัตรูผัก เห็ดและไม้ดอก.* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 74 หน้า.

โครงการศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดคามีเลียและน้ำมันพืชอื่น. ไม่ระบุปีที่พิมพ์ (มปป.) *ชาน้ำมัน* (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: https://www.camelliaoilcenter.com/ (1 เมษายน 2567).

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. *คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช สำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม).* กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 53 หน้า.

Cui, C., Y. Yang, T. Zhao, K. Zou, C. Peng, H. Cai, X. Wan, and R. Hou. 2019. Insecticidal activity and insecticidal mechanism of total saponins from *Camellia oleifera*. *Molecules* 24: 4518.

Dolma, S. K., E. Sharma, A. Gulati, and S. G. E. Reddy. 2018. Insecticidal activities of tea saponin against diamondback moth, *Plutella xylostella* and aphid, *Aphis craccivora*. *Toxin Reviews* 37: 52-55.

Gao, D. F., M. Xu, P. Zhao, X. Y. Zhang, Y-F Wang, C-R. Yang, and Y. J. Zhang. 2010. Kaempferol acetylated glycosides from the seed cake of *Camellia oleifera*. *Food Chemistry* 124: 432–436.

Mota-Sanchez, D. and J.C. Wise. 2024. The Arthropod Pesticide Resistance Database.Michigan State University (Online). Available. http://www.pesticideresistance.org (April 9, 2024).

Roopashree, K., and D. Naik. 2019. Saponins: properties, applications and as insecticides: a review. *Trends in Biosciences* 12:1-14.

Zhu, G., H. Liu, Y. Xie, Q. Liao, Y. Lin, Y. Liu, Y. Liu, H. Xiao, Z. Gao, and S. Hu. 2020. Postharvest processing and storage methods for *Camellia oleifera* seeds. *Food Reviews International* 36: 319-339.

Table 1 Number of diamondback moth larvae (*Plutella xylostella* (Linnaeus)) counted on cabbage (*Brassica oleracea var. capitata L.*) before and after the application of extracts and formulations from *Camellia oleifera* tea seed cake. The study was conducted at a cabbage plantation in Bang Ngam sub-district, Si Prachan district, Suphan Buri province, between January and February 2023

Treatment	Rate of application (20 L. of water)	Average number of diamondback moth larvae (per plant)						Yield weight (kg. /square meter)
			After spraying for 4 days (Application time)					
		Before	1	2	3	4	5	
1. *Camellia oleifera* tea seed cake (extracts) (T-Saponin) (saponin 0.5%)	125 g	3.83 ab	7.20 ab	5.40 b	5.85 b	2.83 b	0.70 a	3.90 a
2. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation) (saponin 0.5%)	1 l	3.75 ab	6.55 ab	5.50 b	4.83 ab	2.03 ab	0.58 a	4.55 a
3. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation) (saponin 1.0%)	2 l	3.68 ab	5.70 a	4.30 ab	3.65 ab	2.03 ab	0.33 a	4.35 a
4. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation) (saponin 1.5%)	3 l	4.13 b	10.43 b	3.50 a	2.05 a	1.58 ab	0.43 a	4.57 a
5. *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (1.36×10^9 cfu/ml)	200 ml	3.08 a	5.63 a	4.98 ab	2.95 a	1.08 a	0.23 a	5.40 a
6. untreated	-	4.13 b	6.78 ab	7.30 c	13.95 c	5.98 c	2.08 b	1.40 b
C.V. (%)		**13.1**	**40.3**	**16.5**	**31.2**	**33.2**	**56.7**	**32.2**
R.E. (%)		**-**	**81.4**	**113.9**	**70.5**	**50.5**	**52.6**	**-**

Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

R.E. stands for Relative Efficacy

Table 2 Number of diamondback moth larvae (*Plutella xylostella* (Linnaeus)) counted on cabbage (*Brassica oleracea var. capitata L.*) before and after the application of extracts and formulations from *Camellia oleifera* tea seed cake. The study was conducted at a cabbage plantation in Bang Ngam sub-district, Si Prachan district, Suphan Buri province, between February and March 2024

Treatment	Rate of application (20 L. of water)	Average number of diamondback moth larvae (per plant)						Yield weight (kg. /Square meter)
			After spraying for 4 days (Application time)					
		Before	1	2	3	4	5	
1. *Camellia oleifera* tea seed cake (extracts) (T-Saponin) (saponin 0.5%)	125 g	1.75 ab	0.45 a	0.50 ab	1.35 a	0.20 a	0.30 a	1.58 bc
2. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation) (saponin 0.5%)	1 l	1.70 ab	0.90 a	0.60 b	0.75 a	0.23 a	0.18 a	2.28 bc
3. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation) (saponin 1.0%)	2 l	1.98 b	0.73 a	0.28 ab	0.83 a	0.30 a	0.28 a	2.88 bc
4. *Camellia oleifera* tea seed cake (formulation) (saponin 1.5%)	3 l	1.83 ab	0.63 a	0.35 ab	1.03 a	0.28 a	0.23 a	3.58 ab
5. *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (1.36×10^9 cfu/ml)	200 ml	1.43 a	0.60 a	0.15 a	0.63 a	0.23 a	0.20 a	5.98 a
6. untreated	-	2.20 b	3.20 b	3.00 c	2.55 b	1.28 b	1.08 b	0.33 c
C.V. (%)		**17.0**	**39.6**	**26.3**	**40.4**	**49.5**	**24.7**	**65.0**
R.E. (%)		**-**	**83.4**	**45.3**	**13.7**	**62.0**	**45.0**	**-**

Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

R.E. stands for Relative Efficacy

เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของหอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช

Mass Rearing and Utilization of Predatory Two-Tone Snail, *Gulella bicolor* for Snails Pest Control

ดาราพร รินทะรักษ์[1/] อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข[2/] ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล[1/]
สมเกียรติ กล้าแข็ง[1/] ปิยาณี หนูกาษ[1/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The species of predatory snail belonging to *Gulella bicolor* (Hutton, 1843) was described from October 2021 to September 2024 which was known to feed on other snails. In addition, they are considered carnivorous with both social predation and solitary predation. Feeding behaviors were available observed in the laboratory conditions, the results show that *G. bicolor* can feed on many species of pest snails such as *Lamellaxis gracilis* and *Prosopea walkeri* (3.20± 1.3 and 2.88±1.2 snails/week, respectively). Mass rearing studies were observed, for under the temperature 35 ± 5 °C and treated with pest snail, *L. gracilis* + B formula food additives were most effective for predatory snails mass rearing by 33.33 percent hatching and the eclosion times 16 days. The efficacy of *G. bicolor* for controlling pest snails was investigated in orchid plantations. The experiment was a Randomized Complete Block Design (RCBD) with six treatments and three replications. The results provided valuable information for further research that *G.bicolor* (3 snails/ square meter) was effectively for 45.83% decreased pest snails populations, that be equally effectively as *Camellia sinensis* bait without have an effect on non - target species.

Keywords : Predatory snail, *Gulella bicolor*, Mass rearing, Biological snail pest control

รหัสการทดลอง FF65-10-05-65-01-02-65

บทคัดย่อ

หอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* (Hutton, 1843) เป็นหอยตัวห้ำที่มีศักยภาพ สามารถกินหอยทากศัตรูพืชชนิดอื่นๆได้ มีพฤติกรรมการล่าเหยื่อทั้งล่าแบบเดี่ยวซึ่งมักเป็นการล่าเหยื่อที่มีขนาดเล็กกว่า หรือล่าเป็นกลุ่ม โดยสามารถกินหอยเจดีย์เล็กและหอยเจดีย์ใหญ่ศัตรูพืชได้ 3.20± 1.3 และ 2.88±1.2 ตัว/สัปดาห์ ตามลำดับ ในห้องปฏิบัติการ ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเพาะขยายหอยนักล่าทูโทน คือ อุณหภูมิ 35 ± 5 องศาเซลเซียส เปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 33.33 (16 วัน) และชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงได้แก่หอยเจดีย์เล็กร่วมกับให้อาหารสูตร B (อาหารสูตร B ประกอบด้วย อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต อัตราส่วน 2:1:1) เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดหอยทากศัตรูพืชในสวนกล้วยไม้ วางแผนการทดลองแบบ RCBD 6 กรรมวิธีๆละ 3 ซ้ำ พบว่ากรรมวิธีที่ปล่อยหอยนักล่าตัวเต็มวัย จำนวน 3 ตัว/ ตารางเมตร มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับกรรมวิธีวางเหยื่อปลายข้าวแช่สารสกัดกากเมล็ดชา, *Camellia sinensis* L. (อัตรา 1 กิโลกรัม/น้ำ 20 ลิตร) ทำให้จำนวนหอยศัตรูพืชลดลง 45.83 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลกระทบของหอยนักล่าทูโทนต่อสิ่งมีชีวิตอื่น

คำหลัก : หอยตัวห้ำ, หอยนักล่าทูโทน, การเพาะขยาย, การควบคุมหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี

คำนำ

การวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี เป็นแนวทางที่สามารถลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรได้ ซึ่งการใช้ประโยชน์จากชีวินทรีย์หลายชนิดที่มีในประเทศไทย ได้มีการศึกษาและวิจัยพื้นฐาน รวมถึงการนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมสัตว์ศัตรูพืชในเบื้องต้น ได้แก่ การศึกษาเกี่ยวกับการนำหอยตัวห้ำมาควบคุมหอยทากในประเทศไทย โดยในปี 2554 – 2556 ผู้วิจัยได้เริ่มสำรวจหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ที่มีในประเทศไทย นำมาจำแนกชนิดและศึกษาพฤติกรรมการกินหอยศัตรูพืชชนิดต่างๆ เพื่อคัดเลือกหอยตัวห้ำชนิดที่มีศักยภาพสำหรับการพัฒนามาใช้ควบคุมหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี ซึ่งได้สำรวจพบหอยทากที่เป็นหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae จำนวน 6 genus 7 species ได้แก่ หอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* , หอยนักล่าสยาม *Perrottetia siamensis*, *Haploptychius petitii*, *Odontartemon costulatus* , *Haploptychius* spp., *Oophana* spp. *Discartemon* spp. เมื่อศึกษา feeding behavior ของหอยทากตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ในห้องปฏิบัติการ พบว่าหอยตัวห้ำทุกชนิดมีศักยภาพในการกินหอยและไข่หอยที่มีขนาดใกล้เคียงหรือขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย เช่น หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่งและหอยดักดาน โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละ 2-3 ตัว และจากการทดลอง พบว่ามีหอยตัวห้ำชนิดที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมหอยศัตรูพืช ได้แก่ หอยนักล่าสยาม, *P. siamensis*, หอยนักล่าทูโทน *G. bicolor* และ *Oophana* spp. ตามลำดับ จากผลการศึกษาข้างต้น จะเห็นได้ว่าหอยตัวห้ำหลายชนิดมีศักยภาพในการกินหอยทากศัตรูพืชได้ดี จึงเป็นสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้เพื่อควบคุมหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี แต่ขั้นตอนศึกษาวิจัยและการพัฒนานำไปใช้ประโยชน์ยังไม่สมบูรณ์นัก

ดังนั้น การศึกษาวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายหอยตัวห้ำชนิดที่มีศักยภาพสูง จึงมีความจำเป็นในแง่ของการเป็นข้อมูลพื้นฐานอันนำไปสู่การพัฒนาผลิต ขยายให้ได้ปริมาณมากและมีคุณภาพ เพื่อให้มีการผลักดันและสนับสนุนให้มีการใช้ประโยชน์อย่างแท้จริง สามารพนำไปขยายผลเป็นชีวินทีย์ชนิดใหม่ที่สามารถกำจัดหอยทากศัตรูพืชได้จริงในพื้นที่เกษตร ช่วยลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ เสริมสร้างคุณภาพชีวิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ลดต้นทุนการผลิตตามแนวทางเศรษฐกิจพอเพียง สร้างความปลอดภัยต่อเกษตรกรและผู้บริโภค ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างหอยทดลอง ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ สเปรย์พ่นน้ำ ถุงมือแพทย์ คีมคีบ พู่กัน ไฟฉาย กระดาษทิชชูอเนกประสงค์

- อุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงหอยทดลอง ได้แก่ ตู้กระจก ดิน ขุยมะพร้าว สแฟกนัมมอส และวัสดุสำหรับวางไข่ ได้แก่ กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว และอิฐแผ่น

- อาหารสำหรับหอยทดลอง เช่น อาหารปลา ผักสดชนิดต่างๆ เช่น ผักกาดขาว แตงกวาและอาหารเสริมชนิดต่างๆ เช่น ผงแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) เป็นต้น

- เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น เวอร์เนียร์ thermo-hygrometer, forceps และเครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ และความชื้นในดิน

- อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ ได้แก่ กล้องถ่ายภาพดิจิตอล และกล้องจุลทรรศน์

- เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) สำหรับระบุพิกัด ที่เก็บตัวอย่าง

วิธีการ

วิธีปฏิบัติการทดลอง แบ่งเป็น 7 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาชีววิทยาของนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* (2565)

โดยศึกษาในโรงเรือน พื้นที่ 4.30 x 4.30 เมตร

1.1 <u>ศึกษาการผสมพันธุ์และการวางไข่</u> โดยสุ่มเลือกหอยตัวเต็มวัย ซึ่งเป็นเพศรวม (hermaphrodite) มาเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร จำนวน 5 ตัว/ กล่อง จำนวน 10 กล่อง สังเกตพฤติกรรมการเลือกคู่ก่อนการผสมพันธุ์และพฤติกรรมอื่นๆ ที่สังเกตได้ บันทึกขนาด อายุ และลักษณะของหอยที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์

ศึกษาการวางไข่ โดยเลือกหอยที่ผสมพันธุ์แล้ว (มีการ copulation) มาแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร 1 ตัว/ กล่อง จำนวน 30 กล่อง สังเกตและบันทึกผลการทดลองทุกวัน จนหอยวางไข่ วัดขนาดไข่ ขนาดของกลุ่มไข่ บันทึกจำนวน และลักษณะของไข่หอย พร้อมถ่ายภาพไข่หอยภายใต้กล้อง stereo microscope

หมายเหตุ : ให้อาหารเป็นหอยดักดานร่วมกับอาหารสูตรสำเร็จรูป (อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต =2:1:1) ที่ดัดแปลงจากสูตรของ ดาราพร และคณะ (2562) ปริมาณ 2-3 กรัม/ สัปดาห์ โดยเก็บเศษอาหารเก่าทิ้งทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารใหม่แต่ละครั้ง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 - 9.00 น.

1.2 ศึกษาระยะเวลาการฟักจากไข่ (eclosion time) โดยแยกไข่หอยแต่ละกลุ่มมาศึกษาในกล่องพลาสติก ขนาด 6.5 x 9.5 x 2 เซนติเมตร ที่รองด้วยดินผสมขุยมะพร้าว (อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) อัตรา 1:1 หนา 2 เซนติเมตร ฉีดพ่นน้ำ เพื่อให้ความชื้น บันทึกวันที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ วัดขนาดและชั่งน้ำหนักลูกหอยและถ่ายภาพภายใต้กล้อง stereo microscope

1.3 ศึกษาการเจริญเติบโต โดยแยกลูกหอยมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร 1 ตัว/ กล่อง จำนวน 30 กล่อง ให้อาหารเป็นหอยดักดานร่วมกับอาหารสูตรสำเร็จรูป (อาหารปลา : แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต =2:1:1) ที่ดัดแปลงจากสูตรของ ดาราพร และคณะ (2562) ปริมาณ 2-3 กรัม/ สัปดาห์ โดยเก็บเศษอาหารเก่าทิ้งทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารใหม่แต่ละครั้ง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 - 9.00 น. บันทึกผลการทดลอง โดยวัดขนาดและชั่งน้ำหนักลูกหอยจนถึงระยะตัวเต็มวัย (รุ่นF1) เพื่อจัดทำกราฟการเจริญเติบโตและวงจรชีวิต (life cycle)

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกวันที่เริ่มต้น เห็นระยะไข่ครั้งแรก (F1)
- บันทึกวัน ที่ลูกหอยรุ่น F1 ฟักออกมาจากไข่ และบันทึกขนาดของลูกหอย
- บันทึกอายุและวัดขนาดตัวเต็มวัย (รุ่นF1) เมื่อเริ่มสังเกตเห็นหอยเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์
- บันทึกวัน ที่เริ่มเห็นกลุ่มไข่ รอบใหม่ (รุ่น F2) จากตัวเต็มวัย (รุ่นF1)
- บันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ ทุกวันตลอดการทดลอง

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาศักยภาพการเป็นตัวห้ำ/ทดสอบความชอบกินหอยทากศัตรูพืชของหอยนักล่าทูโทนในห้องปฏิบัติการ (2566)

- แบบและวิธีการทดลอง CRD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หอยนักล่าทูโทน 1 ตัว ต่อหอยดักดาน; *Cryptozona siamensis* 10 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 หอยนักล่าทูโทน 1 ตัว ต่อหอยกระดุม; *Bradybeana sp.* 10 ตัว

กรรมวิธีที่ 3 หอยนักล่าทูโทน 1 ตัว ต่อหอยหอยอำพัน; *Succinea* sp. 10 ตัว

กรรมวิธีที่ 4 หอยนักล่าทูโทน 1 ตัว ต่อหอยเจดีย์ใหญ่; *Prosopea* sp. 10 ตัว

กรรมวิธีที่ 5 หอยนักล่าทูโทน 1 ตัว ต่อหอยเจดีย์เล็ก; *Lamellaxis* sp. 10 ตัว

วิธีปฏิบัติการทดลอง

2.1 เก็บรวบรวมหอยทากศัตรูพืช 5 ชนิด (เป็นชนิดที่พบบ่อยในพืชเศรษฐกิจหรือแหล่งเกษตรกรรม) ได้แก่ หอยดักดาน; *Cryptozona siamensis,* หอยกระดุม; *Bradybeana* sp, หอย

อำพัน; *Succinea* sp., หอยเจดีย์ใหญ่; *Prosopea* sp. และหอยเจดีย์เล็ก; *Lamellaxis* sp. จากพื้นที่เกษตรกรรม มาพัก/เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

2.2 เตรียมกล่องพลาสติกขนาด 15.5 x 22 x 7 เซนติเมตร รองด้วยกระดาษเอนกประสงค์ ใส่หอยนักล่าทูโทนตัวเต็มวัย จำนวน 1 ตัว/กล่อง สังเกตพฤติกรรมการกิน บันทึกจำนวน และขนาดของหอยศัตรูพืชที่ถูกกินทุกๆ 24 ชั่วโมง เก็บเปลือกหอยศัตรูพืชตัวที่ถูกกินออกและเติมให้ครบ 10 ตัว เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบอัตราการกินหอยศัตรูพืชแต่ละชนิดและเลือกชนิดที่ชอบกิน ไปเพาะเลี้ยงเป็นเหยื่อต่อไป

2.3 เพาะเลี้ยงหอยทากศัตรูพืชชนิดที่หอยนักล่าทูโทนชอบกิน ในตู้กระจกขนาด 25 x 40 x 26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจก ด้วยดินผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 เซนติเมตร ให้อาหารเป็นอาหารปลาชนิดเม็ด และผักกาดขาว ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำ วันละ 1 ครั้ง ในช่วงเช้าเวลา 8.00 - 9.00 น.

2.4 คัดเลือกหอยทากศัตรูพืช ที่มีขนาดความกว้างของเปลือกประมาณ 0.5 เซนติเมตร (อายุประมาณ 7 วัน) สำหรับใช้เป็นอาหารหอยนักล่าทูโทนในขั้นตอนต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- บันทึกพฤติกรรมการกินหอยศัตรูพืช
- จำนวนของหอยน้ำศัตรูพืชที่หอยนักล่าทูโทนกิน อัตราการกินต่อสัปดาห์

ขั้นตอนที่ 3 การศึกษาการเพาะเลี้ยงหอยนักล่าทูโทนในห้องปฏิบัติการ (2566)

3.1 <u>ศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโต</u>

- แบบและวิธีการทดลอง CRD 10 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หอยทากบกศัตรูพืช (ขนาดเปลือก 0.5 เซนติเมตร) จำนวน 10 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตร A จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 หอยทากบกศัตรูพืช จำนวน 10 ตัว + อาหารสูตร A จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 หอยทากบกศัตรูพืชจำนวน 10 ตัว + อาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม

<u>หมายเหตุ</u>

อาหารสูตร A ประกอบด้วย อาหารปลา: รำละเอียด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 2:1:1)

อาหารสูตร B ประกอบด้วย อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 2:1:1)

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

เตรียมกล่องพลาสติก ขนาด 15.5 x 22 x 7 เซนติเมตร รองพื้นกล่องด้วยกระดาษเอนกประสงค์ ใส่หอยนักล่าทูโทนที่มีขนาด 8-9 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดตัวเต็มวัย จำนวน 1 ตัว / กล่อง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 - 9.00 น. สังเกต บันทึกจำนวน และ

ปริมาณอาหารที่ถูกกินทุกๆ 24 ชั่วโมง เก็บเปลือกหอยศัตรูพืชตัวที่ถูกกินออกและเติมให้ครบตามจำนวน เป็นเวลา 7 วัน

การบันทึกข้อมูล

- วัดการเจริญเติบโต และวัดขนาดเปลือกของหอยนักล่าทูโทนสัปดาห์ละ 1 ครั้ง
- บันทึกจำนวนหอยศัตรูพืชและปริมาณอาหารกรรมวิธีต่างๆที่หอยนักล่าทูโทนกินแต่ละวัน

3.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการฟักไข่ของหอยนักล่าทูโทน

เตรียมกล่องพลาสติก ขนาด 15.5 x 22 x 7 เซนติเมตร รองพื้นกล่องด้วยกระดาษเอนกประสงค์ ใส่ไข่หอยนักล่าทูโทน จำนวน 1 กลุ่มไข่ (cluster) / กล่อง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 - 9.00 น. และนำไปวางเพื่อสังเกตการฟักของไข่หอยในสภาวะอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ดังนี้

สภาวะที่ 1 ฟักไข่ในสภาพโรงเรือน

สภาวะที่ 2 ฟักไข่ในสภาพห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส)

นับจำนวนไข่เริ่มต้น จากนั้นสังเกต บันทึกจำนวนตัวอ่อนที่ฟักจากไข่ เพื่อนำไคำนวณเปอร์เซ็นต์การฟักไข่และอัตราการรอดของลูกหอยนักล่าสยามในแต่ละสภาวะ

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกอุณหภูมิและความชื้นในสภาพโรงเรือน และห้องปฏิบัติการ ตลอดการทดลอง
- บันทึกจำนวนไข่แต่ละ cluster เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่หอยนักล่าทูโทนแต่ละกรรมวิธี
- วัดการเจริญเติบโต และวัดขนาดเปลือกตัวอ่อนหอยนักล่าทูโทนสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เพื่อจัดทำแผนภูมิการเจริญเติบโต

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาอัตราแม่พันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อผลิตขยายหอยนักล่าทูโทนให้ได้ปริมาณมาก(2567)

ทดสอบหาอัตราของแม่พันธุ์ที่เหมาะสม โดยใส่หอยนักล่าทูโทนตัวเต็มวัย 5, 10, และ 20 ตัว เลี้ยงใน terrarium และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดจากขั้นตอนที่ 3 ใช้วัสดุรองพื้น (ที่อบด้วยอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) และวางวัสดุอื่นเพื่อจำลองสภาพธรรมชาติสำหรับให้หอยหลบซ่อนหรือวางไข่ ได้แก่ กาบมะพร้าวและอิฐแผ่น ให้อาหารเป็นหอยดักดานร่วมกับอาหารสูตรสำเร็จรูป (อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต =2:1:1) ที่ดัดแปลงจากสูตรของดาราพร และคณะ (2562) ปริมาณ 2-3 กรัม/ สัปดาห์ โดยเก็บเศษอาหารเก่าทิ้งทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารใหม่แต่ละครั้ง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 - 9.00 น. จากนั้นตรวจนับจำนวนไข่ และตัวอ่อนที่พบ ทุก 1 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 เดือน

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกขนาด อายุ และพฤติกรรมของหอยนักล่าทูโทนที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์
- บันทึกลักษณะ และจำนวนของไข่หอย/กลุ่ม ขนาดของไข่ และขนาดของกลุ่มไข่
- บันทึกจำนวนไข่ และตัวอ่อนของหอยนักล่าทูโทน

- บันทึกอัตราการฟัก และอัตราการรอดของตัวอ่อนหอยนักล่าทูโทน

- บันทึกระยะเวลา ตั้งแต่หอยเริ่มวางไข่จนตัวอ่อนหอยฟักออกจากไข่ ขนาดของลูกหอยนักล่าทูโทนที่เพิ่งฟัก และพฤติกรรมการกินของลูกหอยที่เพิ่งฟักจากไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัย

- บันทึกอุณหภูมิ pH ดิน ความชื้นดิน ความชื้นสัมพัทธ์เป็นช่วงๆ ตลอดการทดลอง

ขั้นตอนที่ 5 ศึกษาอัตราการปล่อยหอยนักล่าทูโทนในสภาพแปลงทดลอง (2567)

- แบบและวิธีการทดลอง RCBD 3 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หอยนักล่าทูโทน *G. bicolor* 1 ตัว ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 หอยนักล่าทูโทน *G. bicolor* 2 ตัว ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

กรรมวิธีที่ 3 หอยนักล่าทูโทน *G. bicolor* 3 ตัว ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

กรรมวิธีที่ 4 วางเหยื่อ (ปลายข้าวแช่สารสกัดกากเมล็ดชา, *Camellia sinensis* L (อัตรา 1 กิโลกรัม/น้ำ 20 ลิตร) ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

กรรมวิธีที่ 5 พ่น 83.1% WP niclosamide (ตามอัตราแนะนำ) ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

กรรมวิธีที่ 6 ควบคุม (พ่นน้ำเปล่า) ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

ดำเนินการทดลองในสภาพกึ่งโรงเรือน กำหนดขนาดแปลงย่อยโดยกั้นตาข่ายขนาดพื้นที่ 1 ตารางเมตร ตามบริเวณพื้นดินและทางเดินในแปลง ปล่อยหอยนักล่าทูโทนและหอยทากศัตรูพืชตามกรรมวิธี จากนั้นตรวจนับจำนวนหอยทากศัตรูพืชที่ถูกกินหลังการปล่อยหอยนักล่าสยามทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน และเปรียบเทียบแต่ละกรรมวิธีด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- บันทึกจำนวนหอยทากบกศัตรูพืชที่ถูกกินแต่ละกรรมวิธี เป็นเวลา 5 วัน

ขั้นตอนที่ 6 ศึกษาผลกระทบของสารเคมีกำจัดหอยที่มีต่อหอยนักล่าทูโทน (2567)

โดยทำการทดลองในกล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร ใส่หอยนักล่าทูโทนจำนวน 10 ตัว จากนั้นพ่นสารเคมีกำจัดหอย ได้แก่ 83.1% WP niclosamide ตามอัตราแนะนำ สังเกต และบันทึกจำนวนที่หอยนักล่าทูโทนตายหลังพ่นสาร 24 และ 48 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 7 ศึกษาผลกระทบของหอยนักล่าทูโทนต่อสิ่งแวดล้อม (2567)

โดยทำการทดลอง ในกล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร ใส่หอยนักล่าทูโทนที่ acclimate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 3 ตัว/ กล่อง ร่วมกับปล่อยสัตว์ชนิดอื่นที่พบในสวนกล้วยไม้ (not target species) ได้แก่ ไส้เดือนดิน จากนั้นสังเกตพฤติกรรมของหอยนักล่าทูโทนและบันทึกข้อมูล/จำนวน ที่ถูกหอยนักล่าทูโทนกิน เป็นเวลา 1 สัปดาห์

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 - สิ้นสุด กันยายน 2567 รวม 3 ปี

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
สวนกล้วยไม้ อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี และนครปฐม
แปลงปลูกพืชเศรษฐกิจ (กล้วยไม้ ผัก) จังหวัดเพชรบูรณ์และนครราชสีมา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ชีววิทยา**หอยนักล่าทูโทน, *Gulella bicolor*** ได้ตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์หอยนักล่าทูโทน จำนวน 42 ตัวอย่าง นำมาศึกษาชีววิทยาในห้องปฏิบัติการ โดยการสังเกต บันทึก และถ่ายภาพด้วยกล้อง digital และภายใต้กล้อง stereo microscope พบว่าหอยนักล่าทูโทนมีพฤติกรรมไม่ชอบแสง ต้องการความชื้นสัมพัทธ์ 63 % ขึ้นไป ตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย (hermaphrodite) ตัวเต็มวัยมีจำนวนวงขดเปลือกไม่เกิน 7 whorls (Figure 1) วางไข่เป็นกลุ่มๆ ใต้ดินที่มีความชื้นสูง ลึกประมาณ 0.5 - 1 เซนติเมตร จำนวน 2 - 4 ฟองต่อกลุ่ม ไข่หอยรูปร่างทรงกลม เปลือกสีขาวขุ่น (Figure 2) ซึ่งเกิดจากเปลือกไข่มีการพัฒนาโดยดึงแคลเซียมจากสภาพแวดล้อมและอาหารมาเป็นส่วนประกอบ ขนาดของไข่หอยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8-1 มิลลิเมตร และระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ (eclosion time) ในโรงเรือน (อุณหภูมิ 35 ± 5 องศาเซลเซียส) คือ 16 วันโดยเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 33.33 ซึ่งแตกต่างจากไข่หอยที่ฟักที่อุณหภูมิในห้องปฏิบัติการ (25±2 องศาเซลเซียส) ระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ 25 วันโดยเฉลี่ย และเปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 33.33 ลูกหอยที่เพิ่งฟักมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย แต่มีขนาดเล็กและมีวงขดของเปลือกน้อยกว่า (ขนาด 1-2 มิลลิเมตร) ลำตัวมีสีเหลืองอ่อน ตัวเต็มวัยมีขนาดความสูงของเปลือก 5.52 - 5.70 มิลลิเมตร (Figure 3) ลำตัวมี 2 สีโดยส่วนล่างสีเหลืองส่วนบนสีส้ม (ซึ่งเป็นที่มาของการเรียกชื่อหอยทูโทน) ความชื้นสัมพัทธ์ 63-88% ตัวเต็มวัยอายุโดยเฉลี่ย 98 วัน (86-118 วัน; n=42)

ผลการทดสอบความชอบกินหอยทากศัตรูพืชของหอยนักล่าทูโทนในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาศักยภาพการเป็นตัวห้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี โดยทดลองกับหอยทากศัตรูพืช 5 ชนิดๆ ละ 40 ตัวอย่าง (4 ซ้ำ) ได้แก่ หอยดักดาน, *Cryptozona siamensis* หอยกระดุม *Bradybeana similaris* หอยอำพัน, *Succinea* sp. หอยเจดีย์ใหญ่, *Prosopea walkeri* และหอยเจดีย์เล็ก, *Lamellaxis gracilis* พบว่าชนิดหอยศัตรูพืชที่หอยนักล่าทูโทนชอบกินที่สุด คือ หอยเจดีย์เล็กและหอยเจดีย์ใหญ่อัตรา 3.20± 1.3 และ 2.88±1.2 ตัว/สัปดาห์ ตามลำดับ (Figure 4 และ Table 1) ชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของลูกหอยคือให้อาหารเป็นหอยเจดีย์เล็กร่วมกับอาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม (อาหารสูตร B ประกอบด้วย อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนตอัตราส่วน 2:1:1) โดยอัตราของแม่พันธุ์ที่เหมาะสม คือปล่อยพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 5-10 ตัว/ ตารางเมตร สามารถผลิตตัวเต็มวัยได้ 82 ตัวอย่าง สำหรับนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดหอยทากศัตรูพืชในสภาพแปลง

ได้หอยนักล่าทูโทนตัวเต็มวัย จำนวน 82 ตัวอย่าง สำหรับนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดหอยทากศัตรูพืชและหาอัตราการปล่อยในสภาพแปลงทดลอง (Figure 5) โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD 3 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดำเนินการทดลองในสวนกล้วยไม้ อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี พบว่ากรรมวิธีที่ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 3 ตัว/ ตารางเมตร มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับกรรมวิธีวางเหยื่อปลายข้าวแช่สารสกัดกากเมล็ดชา, *Camellia sinensis* L. (อัตรา 1 กิโลกรัม/น้ำ 20 ลิตร) สามารถทำให้จำนวนหอยเจดีย์ใหญ่ศัตรูพืชลดลง 45.83 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าการพ่นสารเคมีกำจัดหอย 83.1% WP niclosamide หลังพ่นสาร 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่พบหอยนักล่าทูโทนที่ตายจากการพ่นสารฯ ดังกล่าว เนื่องจากลักษณะสัณฐานของเปลือกหอยนักล่าทูโทนที่เป็นทรงกรวย ทำให้สามารถหดลำตัวเข้าไปเพื่อหลบหลีกสารเคมีได้ นั่นเอง และยังพบว่าหอยนักล่าทูโทนไม่มีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่นที่เป็น non - target species ได้แก่ ไส้เดือนดิน อีกด้วย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดลองนี้ อยู่ภายใต้โครงการวิจัยที่ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตขยายและใช้ประโยชน์จากชีวินทรีย์ที่มีศักยภาพกำจัดสัตว์ศัตรูพืชหลายชนิด ได้แก่ หอยนักล่าสยาม, *Perrottetia siamensis* หอยนักล่าทูโทน, *Gulella bicolor* และไส้เดือนฝอยวงศ์ Rhadbitidae ที่มีในประเทศไทยเพื่อนำไปใช้ควบคุมหอยทากศัตรูพืช จากการสำรวจชนิดและศึกษาหอยตัวห้ำของประเทศไทย โดยการศึกษา feeding behavior ในห้องปฏิบัติการ พบว่าหอยนักล่าหลายชนิดนี้มีพฤติกรรมเป็นหอยนักล่าและกินซาก ช่วยกำจัดหอยทากศัตรูพืชชนิดอื่นๆที่ไม่ต้องการได้ โดยพบว่าหอยนักล่าสยามและหอยนักล่าทูโทน มีศักยภาพมากที่สุด สามารถกินหอยดักดานศัตรูพืชขนาดเล็กได้ 1-1.5 ตัว/ วัน ใช้เวลาในการกินเหยื่อเฉลี่ย 3 - 5 นาที/ ตัว (ดาราพรและคณะ, 2555) มีพฤติกรรมการล่าเหยื่อทั้งล่าแบบเดี่ยว (solitary predation) ซึ่งมักเป็นการล่าเหยื่อที่มีขนาดเล็กกว่า หรือล่าเป็นกลุ่ม (social predation) มักเกิดขึ้นในกรณีที่เหยื่ออาหารมีขนาดใหญ่กว่า

จากการศึกษาชีววิทยาและการเพาะเลี้ยงหอยนักล่าทูโทนในห้องปฏิบัติการ โดยสรุปพบว่าหอยนักล่าฯ มีพฤติกรรมไม่ชอบแสง อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับใช้เพาะขยายหอยนักล่าฯ คือ 35 ± 5 องศาเซลเซียส ไข่หอยฟักโดยใช้เวลา 16 วัน (เปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 33.33) ความชื้นสัมพัทธ์ 63-88% ชนิดอาหารที่เหมาะสมคือให้หอยเจดีย์เล็กร่วมกับอาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม (อาหารสูตร B ประกอบด้วย อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนตอัตราส่วน 2:1:1) ตัวเต็มวัยวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ ครั้งละ 2-4 ฟอง ไข่หอยรูปร่างทรงกลม เปลือกไข่สีขาวขุ่นซึ่งเกิดจากการดึงแคลเซียมจากสภาพแวดล้อมและอาหารมาเป็นส่วนประกอบ ลูกหอยที่เพิ่งฟักมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย แต่มีขนาดเล็กและมีวงขดของเปลือกน้อยกว่า (ขนาด 1-2 มิลลิเมตร) ลำตัวมีสีเหลืองอ่อน ตัวเต็มวัยมีขนาดความสูงของเปลือก 5.52 -5.70 มิลลิเมตร (n= 40) มีจำนวนวงขดเปลือกไม่เกิน 7 whorls ลำตัวมี 2 สีโดยส่วนล่างสีเหลืองส่วนบนสีส้ม (ซึ่งเป็นที่มาของการเรียกชื่อหอยทูโทน) มีอายุโดยเฉลี่ย 98 วัน (86-118 วัน; n=42) และตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศ

เมีย มีการผสมพันธุ์ข้ามตัวในช่วงเวลากลางคืนหรือในสภาพที่มีความชื้นสูง ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของหอยในอันดับ Stylommatophora (Tompa,1984)

การนำไปใช้ประโยชน์: อัตราการปล่อยหอยนักล่าทูโทน ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืชในสวนกล้วยไม้ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD 3 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดำเนินการทดลองในสวนกล้วยไม้ อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี พบว่ากรรมวิธีที่ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 3 ตัว/ ตารางเมตร มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับกรรมวิธีวางเหยื่อปลายข้าวแช่สารสกัดกากเมล็ดชา, *Camellia sinensis* L. (อัตรา 1 กิโลกรัม/น้ำ 20 ลิตร) สามารถทำให้จำนวนหอยเจดีย์ใหญ่ศัตรูพืชลดลง 45.83 เปอร์เซ็นต์

<u>คำแนะนำและข้อเสนอแนะ</u>

เพื่อให้ได้ข้อมูลเทคนิคและวิธีการปล่อยหอยนักล่าทูโทน เพื่อกำจัดหอยทากศัตรูพืชในสภาพแปลงทดลองอย่างมีประสิทธิภาพ ควรมีการดำเนินการทดลองเพื่อเก็บข้อมูลเพิ่มเติม โดยการสุ่มนับประชากรหอยทากศัตรูพืชบริเวณพื้นดินซึ่งเป็นแหล่งอาศัยของหอย ใช้ตารางสุ่มขนาด 0.5 ตารางเมตร จำนวน 20จุด/ไร่ ถ้าพบหอยเฉลี่ยมากกว่า 10 ตัว/ตารางเมตร (ตามมาตรฐาน GAP การควบคุมหอยกล้วยไม้) เพื่อกำหนดเป็นแปลงทดลอง แล้วจึงปล่อยหอยนักล่าตามอัตราที่คุ้มค่าและมีประสิทธิภาพมากที่สุด (3 ตัว/ตารางเมตร) จากนั้นประเมิน และตรวจนับจำนวนหอยศัตรูพืชที่หลังการปล่อยหอยนักล่า ทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 1 เดือน และสุ่มนับประชากรหอยนักล่าและหอยศัตรูพืชที่เป็นเหยื่อ ทุกเดือนๆละ 1 ครั้งตลอดทั้งปี โดยเปรียบเทียบกับแปลงควบคุม และนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติที่เหมาะสม หา unit cost เพื่อเป็นคำแนะนำ/ทางเลือกแก่เกษตรกรที่ต้องการลดการใช้สารเคมีกำจัดสัตว์ศัตรูพืช เพิ่มไบโอเบส เพื่อส่งผลระยะยาวต่อเศรษฐกิจและสุขภาพผู้ผลิต ตลอดจนถึงผู้บริโภคต่อไป

<u>ข้อสังเกต :</u>

pH ของดินในพื้นที่ๆเก็บตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์ อยู่ในช่วง 7.0 - 7.4 โดยส่วนใหญ่พบตัวอย่างหอยนักล่าสยามในสภาพที่เป็นภูเขาหินปูน และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 70% ขึ้นไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผศ. พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์เอกสารในการจำแนกชนิดหอยทาก

ขอขอบคุณนางสาวนุสรา สุขคะตะ นักวิทยาศาสตร์ และนางสาวศศินิภา องอาจ นักวิชาการเกษตร ที่ช่วยปฏิบัติงานภาคสนามและบันทึกข้อมูลที่จำเป็นตลอดการทดลอง

และท้ายที่สุด ขอขอบคุณแหล่งทุนอุดหนุนงานวิจัย จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

ดาราพร รินทะรักษ์ สมเกียรติ กล้าแข็ง และปราสาททอง พรหมเกิด.2555. คัดเลือกชนิดและศึกษาพฤติกรรมการกินหอยทากของหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ในประเทศไทย. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 969-976.

ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์ ปราสาททอง พรหมเกิด และทรงทัพ แก้วตา.2558. ศึกษาการเพาะเลี้ยงหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae เพื่อกำจัดหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2558. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 809-827.

ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์ ทรงทัพ แก้วตา. 2562. การผลิตขยายและใช้หอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ควบคุมหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี.รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2562 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1973-1989.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาศ และดาราพร รินทะรักษ์. 2550. ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8 : อารักขาพืชใต้ร่มพระบารมี. หน้า 60-72.

Abbott, R.T. 1989. Compendium of landshell. Melbourne,Australia : American Malacologist,Inc.

Burch, J.B. 1962. How to know the eastern land snails. Wm. C. Brown Co., Publishers, Dubuque, Iowa. 214 pp.

Cameron, R.A.D. and Carter, M.A. 1979. Intra and Interspecific effects of population density on growth and activity in some Helicid land snails (Gastropoda: Pulmonata). *Journal of Animal Ecology.* 48:237-246.

Chiu, S.C. and Ken, C.C. 1962. Observations on the biology of the carnivorous snail, *Euglandina Rosea* Ferussac. Bulletin Institute of zoology, Academia Sinica 1: 17-24.

Dundee, D.S. and Baerwald, R.J. 1984. Observations on a micropredator *Gulella bicolor* (Hutton) (gastropoda: pulmonata: streptaxidae). Nautilus 98: 63-68.

Fisher, T.W., Orth, R.E and Swanson, S.C. 1980. Snail against snail. California Agri. (Nov.-Dec.): 3 pp.

Hemmen, J. and Hemmen, C. 2001. Akktualisierte liste der terrestrischen gastropoden Thailands. Schr. Malakozool. 18:53-70.

Martens,E.V. 1860. Die Preussische Expedition nach Ost-Asian. Zool. Theil. pp.66-68.

Mead AR. 1961. The Giant African Snail; a Problem in Economic Malacology. University of Chicago Press, 257 pp.

Naggs, F. 1989. Gulella bicolor (Hutton) and its implication for the taxonomy of Streptaxidae. Journal of Conchology.33: 165-168.

Panha, S. 1996. A Checklist and classification of the terrestrial Pulmonate snails of Thailand. Walkerana. 8 (19): 11-64.

Sakovich, N. J., Bailey, J.B. and Fisher, T.W. 1984. Decollate snails for control of brown garden snails in Southern California citrus groves. Oakland: Univ. Calif. Agri.Nat.Res.Publ.21384.

Solem, A. 1966. Some Non- Marine Mollusks from Thailand, with Notes on classification of the Helicarionidae. Spolia Zoologia Musei Hauniansis. pp.24 -114.

Tompa, A.S. 1984. Land Snails (Stylommatophora). In The Mollusca, Vol. 7: pp. 48-140.

Vaught, K. C. 1989. A classification of the living mollusca. American malacologists, Melbourne. 94 pp.

Table 1 The efficacy test of two-toned snail, *G. bicolor* (Hutton, 1834) for snails pest control under laboratory conditions

กรรมวิธี	จำนวนหอยศัตรูพืชที่ถูกกิน/สัปดาห์ (ตัว) X±SD	ขนาดหอยศัตรูพืชที่ถูกกิน/สัปดาห์ (มม.) X±SD	ระยะเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการกินเหยื่อ 1 ตัว (นาที)
1. หอยดักดาน *Cryptozona siamensis* 10 ตัว	1.83 ±1.1	7.05±1.1	มากกว่า 60
2. หอยกระดุม *Bradybeana* sp. 10 ตัว	1.56±1.8	4.58±1.4	มากกว่า 60
3 หอยอำพัน *Succinea* sp. 10 ตัว	2.03±1.6	3.82±1.4	42
4 หอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopea* sp. 10 ตัว	2.88±1.2	12.20±1.5	มากกว่า 60
5 หอยเจดีย์เล็ก *Lamellaxis* sp. 10 ตัว	3.20± 1.3	5.43 ±0.2	35

Figure 1 Shell morphology of *Gulella bicolor* (Hutton, 1834). (Pictures by http://www.nhm.ac.uk)

Figure 2 The two-toned snail, *G. bicolor*_(Hutton, 1834) laying 2-4 eggs / cluster under laboratory conditions (25±2 ^{C})

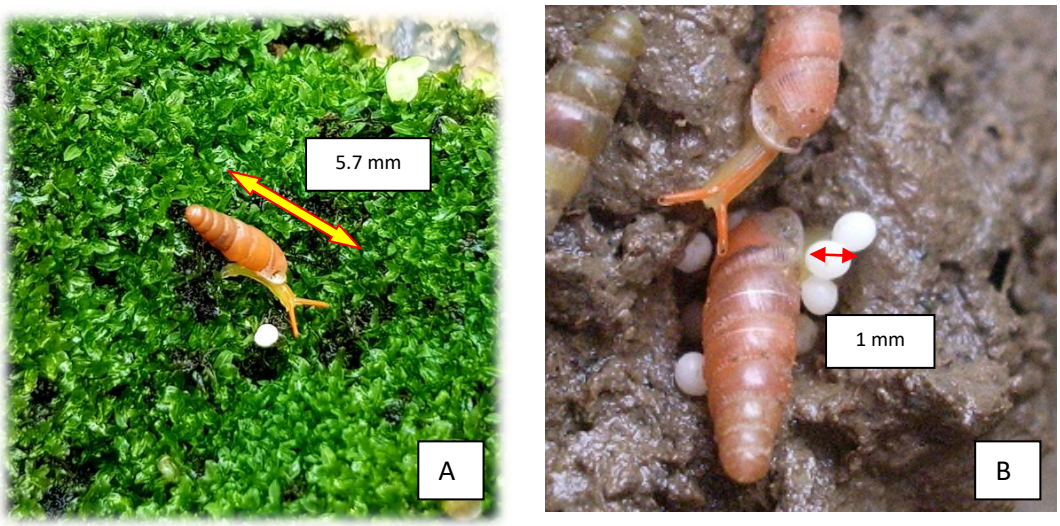


Figure 3 Living specimen of the two-toned snail, *G. bicolor*_(Hutton, 1834) under laboratory observation for their reproductive period under temperature conditions at 25±2 °C; (A) Adults are 5.52 – 5.70 mm and (B) the eggs are 0.8 – 1.0 mm in diameter.

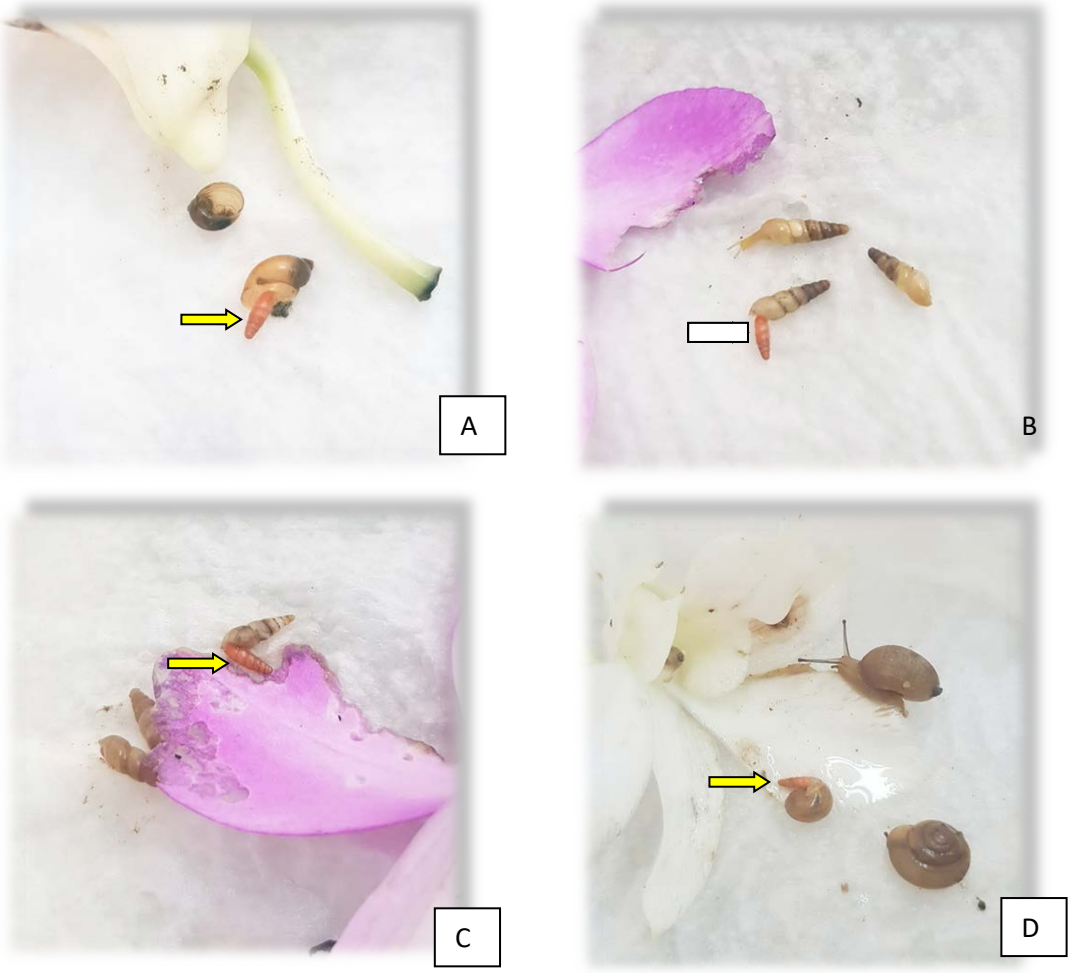


Figure 4 The efficacy test of two-toned snail, *G. bicolor* (Hutton, 1834) for snails pest control under laboratory conditions.

A. *Succinea* sp., B. *Prosopea walkeri*,

C. *Lamellaxis gracilis* D. *Bradybeana similaris*

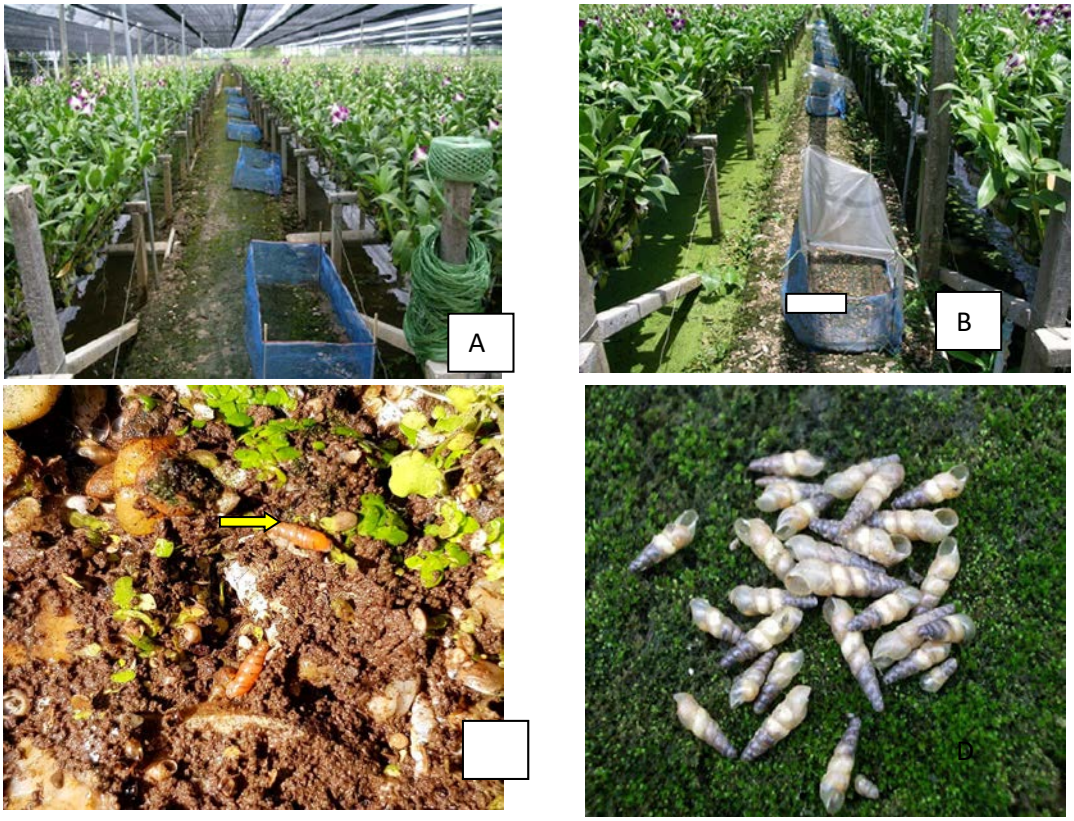


Figure 5 The efficacy test of two-toned snail, *G. bicolor* (Hutton, 1834) for snails pest control in orchid plantations.

ภาคผนวก

Figure 1 The process of mass rearing and utilization of predatory two-tone snail, *G. bicolor* (Hutton, 1834) for snails pest control

Figure 2 Technology Readiness Level (TRL) of the utilization of predatory two-tone snail, *G. bicolor* (Hutton, 1834) for snails pest control in orchid plantation at PhanomTuan district, Kanchanaburi province

เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช

Productive extension of Oscillatoriaceae with high molluscicidal activity for snail pest control

ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล[1/] อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข[2/] ดาราพร รินทะรักษ์[1/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

This research is a continuation of the study on the high potential molluscicidal cyanobacteria isolate HMLB05 (family Oscillatoriaceae), following initial findings and screenings conducted between 2020 and 2021. Eight broth media—BG11, BG11-N0, BG11-K, BG11-PGY, BG12, BG13, Chu No.10, and Z8 basal solution—were utilized to observe the developmental cultivations of the cyanobacteria. After 35 days of cell counting in the stationary phase, four out of the eight media were identified as optimal for cyanobacterial cultivation. These four media, ranked by cell concentration per milliliter from highest to lowest, are BG11, BG11-K, BG12, and BG13, respectively. The cyanobacteria with high potential were cultured in these four optimal media and tested against the snail pest species *Subulina octona*. The results for lethal concentration (LC_{50}) values indicated that, after 24 hours, BG12 and BG11-K were more effective than the alternatives. However, the LC_{50} values for *S. octona* after 48 hours did not show significant differences among the four media. Considering chemical production costs, the media can be ranked from the least to the most expensive as follows: BG11, BG11-K, BG13, and BG12. In conclusion, BG11-K is the most recommended medium for cultivating the high potential cyanobacteria genus *Oscillatoria*.

Keywords : Oscillatoriaceae, molluscicidal, snail pest, productive extension

รหัสการทดลอง FF65-10-05-65-01-04-66

บทคัดย่อ

งานวิจัยชิ้นนี้นำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae ไอโซเลท HMLB05 ซึ่งได้รับการยืนยันแล้วว่ามีศักยภาพกำจัดหอยทากบกศัตรูพืชโดยศุภกรและคณะ (2564) ไปศึกษาการผลิตขยายโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด 8 สูตร ได้แก่ BG11 BG11-K BG11-N_0 BG11-PGY BG12 BG13 Chu No.10 และ Z8 basal solution หลังจากติดตามการเจริญ พบว่าสาหร่ายไม่สามารถเจริญในอาหาร BG11-PGY เจริญได้เล็กน้อยถึงปานกลางในอาหาร BG11-N_0 Chu No.10 และ Z8 basal solution และเจริญได้ดีในอาหารทั้งหมด 4 สูตร โดยเรียงลำดับจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตรในวันที่ 35 ของการเพาะเลี้ยงจากน้อยไปมากได้ดังนี้ BG11 BG11-K BG12 และ BG13 จึงคัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวไปทดสอบกับหอยข้าวสารยอดมน *Subulina octona* ปรากฏว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงใน BG12 และ BG11-K มีประสิทธิภาพดีกว่า BG11 และ BG13 เมื่อเทียบค่า LC_{50} ที่เวลา 24 ชั่วโมง แต่ไม่แตกต่างกันเมื่อเทียบค่า LC_{50} ที่เวลา 48 ชั่วโมง สำหรับต้นทุนสารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเรียงลำดับจากน้อยไปมากได้ดังนี้ BG11 BG11-K BG13 และ BG12 ตามลำดับ จากการคัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 สูตร สรุปได้ว่าอาหาร BG11-K เหมาะสมที่สุดเพื่อนำไปใช้ต่อยอดพัฒนาชีวภัณฑ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae ที่กำจัดหอยศัตรูพืช

คำหลัก : สาหร่ายขนแมว, สารกำจัดหอยศัตรูพืช, หอยศัตรูพืช การผลิตขยาย

คำนำ

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหรือไซยาโนแบคทีเรีย สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่บนโลกนี้มามากกว่า 3,000 ล้านปี ถึงแม้มีลักษณะโครงสร้างที่แสนเรียบง่ายถึงกระนั้นก็ได้ซุกซ่อนศักยภาพบางอย่างไว้ เนื่องจากสามารถปรับตัวให้อยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย จึงมีหลายสายพันธุ์อาศัยอยู่ในพื้นที่หลายรูปแบบ เช่น บ่อน้ำพุร้อน แหล่งน้ำที่เป็นกรดสูง น้ำเน่าเสีย ไปจนถึงป่าอุดมสมบูรณ์ หนึ่งในยุทธวิธีการปรับตัวของสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้คือการสร้างสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) เพื่อตอบสนองต่อสิ่งเร้าต่าง ๆ ภายนอก มีรายงานจากต่างประเทศเกี่ยวกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในวงศ์ Oscillatoriaceae สามารถสร้างสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิที่มีฤทธิ์กำจัดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา รวมไปถึงสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ได้แก่ ไรน้ำเค็ม สัตว์ในกลุ่มหอยสองฝาและหอยฝาเดียว ได้แก่การศึกษาของ Jaki *et* al. (1999) เกี่ยวกับสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิด *Oscillatoria amoena O. formosa* และ *Phormidium favosum* มีฤทธิ์ป้องกันและกำจัดหอยฝาเดียวน้ำจืดชนิด *Biomphalaria glabrata* ซึ่งเป็นพาหะนำโรคพยาธิใบไม้ในเลือด *Schistosoma mansoni* ที่พบมากในทวีปแอฟริกา การศึกษาของ Orjala & Gerwick และ 1996 และ Essack *et* al. (2014) กล่าวว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Lyngbya* สร้างกำจัดที่มีฤทธิ์กำจัดสัตว์ในกลุ่มหอยฝาเดียวที่ชื่อว่า barbamide cyanolide และ tanikolide งานวิจัยของ Pereira *et* al. (2011) ระบุว่าสาหร่ายสกุล *Oscillatoria* และ *Hormoscilla* สร้างสาร thiopalmyrone และ palmyrrolinone ซึ่งมีศักยภาพกำจัดหอยฝาเดียว *B. glabrata* สำหรับ

การศึกษาในประเทศไทยเกี่ยวกับสาหร่ายดังกล่าวที่มีศักยภาพกำจัดหอยศัตรูพืช รายงานโดยศุภกร และคณะ (2565) พบว่ามีสาหร่ายหนึ่งไอโซเลทที่ชื่อว่า HMLB05 ซึ่งจัดอยู่ในสกุล *Oscillatoria* และวงศ์ Oscillatoriaceae มีประสิทธิภาพกำจัดหอยซัคซิเนีย (*Succinea* sp.) และหอยเจดีย์ใหญ่ (*Prosopeas walkeri*) ได้อย่างมีนัยสำคัญที่เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในห้องปฏิบัติการ งานวิจัยนี้จึงศึกษาต่อยอดด้านการผลิตและเพาะขยายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไอโซเลทดังกล่าว เพื่อเป็นแนวทางพัฒนาชีวภัณฑ์กำจัดหอยศัตรูพืชในอนาคต แต่การเพาะเลี้ยงและผลิตสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิให้ได้ปริมาณสูงจำเป็นต้องสร้างสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญ โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ ที่มีปริมาณแร่ธาตุ เช่น คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และไอออนของธาตุต่าง ๆ ให้เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนโคโลนีรวมถึงสร้างสารสำคัญ จึงเป็นจุดเริ่มต้นของโครงการวิจัยเพื่อศึกษาสูตรอาหารที่ดีที่สุดสำหรับเพาะขยายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae นำไปต่อยอดศึกษาศักยภาพกำจัดหอยศัตรูพืชในระดับกึ่งโรงเรือนและแปลงเกษตรต่อไป

ตัวอย่างการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ได้แก่ การศึกษาของ พิมพ์ภาพ มณีธร (2554) เกี่ยวกับปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีโคโลนีเป็นเส้นสาย (filamentous) วงศ์ Oscillatoriaceae พบปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญ ได้แก่ ความเข้มแสง ความขุ่นของน้ำ ค่าพีเอช และปริมาณสารอาหาร สำหรับปัจจัยความเข้มแสง สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต้องการความเข้มแสงประมาณ 1,500–2,500 lux เป็นระยะเวลา 12-16 ชั่วโมงต่อวันจึงเจริญได้ดี ลำดับต่อมาเป็นความขุ่นของน้ำซึ่งมีผลต่อปริมาณแสงที่ส่องผ่านเข้ามา Kjellstrom et *al.* (2006) ส่วนปัจจัยเกี่ยวกับค่าพีเอช จากการศึกษาของกนกกานต์ (2556) ระบุว่าสาหร่ายสกุล *Oscillatoria* เจริญได้ดีในอาหารที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 8 เนื่องจาก ความเป็นเบสของอาหารมีผลต่อการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ การเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุลดังกล่าวในอาหารที่เป็นกรดทำให้เซลล์พยายามรักษาสมดุลโดยขับไฮโดรเจนไอออนออกนอกเซลล์ ส่งผลให้สูญเสียพลังงานโดยไม่จำเป็น สำหรับหนึ่งในปัจจัยที่สำคัญคือปริมาณธาตุอาหาร แบ่งออกได้เป็นสองประเภท ได้แก่ ธาตุอาหารหลักเช่น คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และอื่น ๆ ธาตุอาหารรอง ได้แก่ โบรอน สังกะสี คอปเปอร์ แมงกานีส โมลิบดีนัม โคบอลต์ และอื่น ๆ (กนกกานต์, 2556) การเพาะเลี้ยงจำเป็นต้องเตรียมอาหารที่มีธาตุเหล่านี้ครบถ้วน ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 ทั้งสูตรปกติและสูตรปรับปรุงต่าง ๆ (BG11 modify) อาหารเลี้ยงเชื้อ Chu No.10 + Trace metal solution และ Z8 basal solution + Trace metal solution

งานวิจัยชิ้นนี้มีจุดประสงค์เพื่อค้นหาอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่สุดสำหรับเพาะขยายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae ที่มีศักยภาพกำจัดหอยศัตรูพืช ซึ่งสาหร่ายวงศ์ดังกล่าวมีงานวิจัยบ่งชี้ว่าหลายสปีชี่ส์และหลายสกุลสามารถสร้างสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิที่มีศักยภาพกำจัดหอยศัตรูพืช เช่น สาร barbamide ($C_{20}H_{23}Cl_3N_2O_2S$) สาร cyanolide A ($C_{42}H_{72}O_{16}$) สาร tanikolide ($C_{34}H_{65}O_6$) สาร thiopalmyrone ($C_7H_{10}O_3S$) และสาร palmyrrolinone ($C_{12}H_{15}NO_4$)

ดังนั้นเพื่อผลิตขยายสาหร่ายให้ได้ปริมาณมากภายในระยะเวลาอันสั้น จึงจำเป็นต้องศึกษาผลของสูตรอาหารชนิดต่าง ๆ ต่ออัตราการเจริญ (ในรูปแบบเซลล์ต่อมิลลิลิตร) รวมถึงประสิทธิภาพการกำจัดหอยศัตรูพืชในรูปแบบ 50% Lethal concentration (LC_{50}) ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriacae ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั้งหมด 8 สูตร (ตาราง 1 และ 2)
2. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
3. ขวดรูปชมพู่ (Conical flask)
4. เครื่องเขย่าขวดรูปชมพู่ ที่ติดตั้งหลอดไฟ และติดตั้งเครื่องตั้งเวลา (Timer)
5. กล้องจุลทรรศน์ สำหรับนับเซลล์
6. สไลด์นับเซลล์ (Cell Counting Chamber หรือ Hemocytometer)
7. เครื่องกำเนิดคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic cell disruptor)
8. เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (Centrifuge)
9. สารละลายเมทานอลต่อน้ำอัตราส่วน 7 : 3
10. เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)
11. จานเพาะเชื้อแก้ว
12. หอยศัตรูพืชสำหรับทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบ

วิธีการ

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

สำหรับวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อประเภท BG11 สูตรปกติตามวิธีการของสุเปญญา (2562) เริ่มจากเตรียมน้ำกลั่นปลอดประจุ (DI water) 800 มิลลิลิตร เติมสารละลาย $NaNO_3$ 1.5 กรัมที่ผสมในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตรลงไปในสารละลายดังกล่าว (ยกเว้นการเตรียมอาหาร BG11-N_0 ซึ่งเป็นสูตรไม่เติมไนโตรเจน) นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 60 องศาเซลเซียส ต่อมาเติมสารเคมีกลุ่มธาตุอาหารหลัก (รายละเอียดตามที่แสดงไว้ใน Table 1) สารเคมีสำหรับธาตุอาหารหลักแต่ละตัวต้องถูกเตรียมให้อยู่ในรูปแบบของสารละลาย Stock solution ก่อนนำไปผสม จากนั้นค่อยเติมธาตุอาหารเสริม Micro Nutrient หรือ A5 (ธาตุอาหารเสริมแต่ละตัวต้องถูกเตรียมให้อยู่ในรูปแบบของสารละลาย Stock solution แบบไม่ Autoclave ซึ่งรายละเอียดสารเคมีแสดงไวใน Table 1 เช่นกัน) สำหรับการทำให้ Stock solution ของธาตุอาหารเสริมปลอดเชื้อนั้นใช้วิธีการกรอง

ผ่าน (filter) ที่กรองสารสำหรับไซริงค์ขนาดรู 25 นาโนเมตรที่ปลอดเชื้อ จากนั้นเขย่าให้เข้ากันจนได้อาหารสูตร BG11 แบบเหลวพร้อมใช้งาน

สำหรับอาหารสูตรปรับปรุงได้แก่ BG12, BG13, BG11-N_0, BG11-PGY เตรียมตามวิธีการของ Allen 1986, Albuquerque 2014, Andersen 2005, และ Ferris & Hirsch, 1991 และ BG11-K เตรียมตามวิธีการของ กนกกานต์, 2556 อาหารเลี้ยงเชื้อข้างต้นมีวิธีการเตรียมคล้ายคลึงกับอาหาร BG11 ของสุเปญญา (2562) แต่มีการเพิ่มหรือลดสารเคมีบางอย่างแตกต่างกันออกไปในแต่ละสูตร สามารถดูได้ใน Table 1 นอกจากนี้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอื่นนอกเหนือจากประเภท BG11 ได้แก่ Chu No.10 medium และ Z8 medium (รายละเอียดแสดงไว้ใน Table 2) โดยเตรียมใช้อาหารสำเร็จรูป โดยนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นค่อยเติมธาตุอาหารเสริม Micro Nutrient หรือ A5 ตามลำดับ

2. การศึกษาอัตราการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ

ศึกษาอัตราการเจริญสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวทั้งหมด 8 สูตร ดังนี้

1. เพาะเลี้ยงในอาหาร BG11 สูตรปกติ
2. เพาะเลี้ยงในอาหาร BG11–N_0 (BG11 สูตรไม่เติม $NaNO_3$)
3. เพาะเลี้ยงในอาหาร BG11-K (BG11 สูตรปรับปรุงโดยเติมแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน ของกนกกานต์ ปี 2556)
4. เพาะเลี้ยงในอาหาร BG11–PGY (BG11 สูตรปรับปรุงของ Albuquerque ปี 2014)
5. เพาะเลี้ยงในอาหาร Chu No.10
6. เพาะเลี้ยงในอาหาร Z8 basal solution
7. เพาะเลี้ยงในอาหาร BG12
8. เพาะเลี้ยงในอาหาร BG13

การศึกษาการเจริญจากอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตร เทอาหารเหลวปลอดเชื้อลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร จำนวน 15 ขวด นำไปวางบนเครื่องเขย่าที่ดัดแปลงจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (shaking Water bath) พร้อมกับติดตั้งหลอดไฟด้านบน (Figure 5-6) เติมหัวเชื้อสาหร่ายไอโซเลท HMLB05 ความเข้มข้นประมาณ 1.144E+07 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ลงไปปริมาณ 1 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 120 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อุณหภูมิห้องโดยให้แสงเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน ให้ความสว่างของแสงประมาณ 3,200-3,500 lux ตั้งความเร็วเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที เมื่อโคโลนีเจริญครบรอบเวลาที่วางแผนนับเซลล์ นำโคโลนีสาหร่ายไปย่อยโคโลนีเพื่อแยกไตรโคมออกจากกันโดยใช้คลื่นความถี่สูงจากเครื่อง Ultrasonic cell disruptor เป็นเวลา 3 นาที ใช้ Probe หรือ Horn ขนาด 6 มิลลิเมตร ปรับ power ratio เท่ากับ 70% จากนั้นเขย่าตัวอย่างให้เท่ากัน ดูดสารละลายอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีของสาหร่าย นำไปหยดลงในสไลด์นับเซลล์ (Cell

counting chamber หรือ Hemocytometer) ประมาณ 2-3 หยด นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า ในสไลด์นับเซลล์จะมีช่องสี่เหลี่ยมขนาด 0.25 มิลลิเมตร x 0.25 มิลลิเมตร จำนวน 64 ช่อง (อยู่ที่มุมทั้ง 4 ของสไลด์นับเซลล์ มุมละ 16 ช่อง รวมทั้งหมดเป็น 64 ช่อง) ให้สุ่มถ่ายภาพจำนวน 5 รูปถ่ายหรือ 5 ช่อง นำภาพที่ได้ไปนับเซลล์โดยใช้โปรแกรม ImageJ version 1.5.3t (Abramoff *et* al., 2004) บันทึกผลการนับเซลล์จากนั้น ทำซ้ำกับโคโลนีของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเดียวกันที่อีก 2 ขวดชมพู่ รวมทั้งหมด 3 ขวด (3 ซ้ำ) จะได้รูปถ่ายสำหรับใช้นับเซลล์ทั้งหมด 15 รูปถ่าย นับเซลล์ ณ วันที่ 7 14 21 28 และ 35 สำหรับการเพาะขยาย (สำหรับวันที่ 0 ของการเพาะขยายเติมเซลล์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินให้มีจำนวนเท่ากับ 9.53E+4 เซลล์ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร)

สำหรับการวัดความยาวของเซลล์ จากการเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ 16s rDNA ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไอโซเลท HMLB05 โดยอ้างอิงงานวิจัยของศุภกรและคณะ (2564) ปรากฏว่าลำดับดังกล่าวตรงกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสายพันธุ์ *Oscillatoria acuminata* จัดอยู่ในวงศ์ Oscillatoriaceae เมื่อเทียบในฐานข้อมูล KEGG Genome ซึ่งสายพันธุ์ดังกล่าวมีความยาวของเซลล์ประมาณ 6 ไมโครเมตร (Dadheech *et* al., 2013) จึงใช้ความยาวดังกล่าวเป็นค่ามาตรฐานสำหรับนับเซลล์ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้นำไปสร้างกราฟแสดงการเจริญของสาหร่ายที่เพาะขยายได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดเพื่อนำไปเปรียบเทียบต่อไป

3. ศึกษาศักยภาพการกำจัดหอยศัตรูพืชของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตร

3.1 ศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายกำจัดหอยศัตรูพืชเมื่อเลี้ยงในอาหารแต่ละสูตร

3.1.1 ทดสอบประสิทธิภาพกับหอยข้าวสารยอดมน *Subulina octona*

นำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoraiceae ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ปริมาณมากที่สุดลำดับที่ 1-4 สูตรอาหาร เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารดังกล่าวอีกครั้ง จนเจริญถึงต้นระยะ Stationary phase (ประมาณวันที่ 35) เก็บเกี่ยวโคโลนี โดยนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนจนได้โคโลนีในรูปแบบน้ำหนักเปียก (Wed weight) เติมลงในสารละลายเมทานอลต่อน้ำอัตราส่วน 7:3 ลงไป จากนั้นนำไปย่อยเซลล์เพื่อดึงสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิภายในเซลล์ออกมาโดยใช้วิธีการการแช่แข็งและการละลาย (freeze-thaw) ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นานหนึ่งคืน จากนั้นนำไปย่อยด้วยเครื่อง Ultrasonic cell disruptor อีกครั้ง โดยใช้ Probe ขนาด 6 มิลลิเมตร ปรับ power ratio เท่ากับ 70% จนเซลล์แตกละเอียด กรองเอาเศษเซลล์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินออก นำเอาสารละลายที่ได้ไปสกัดด้วยเครื่อง Rotary evaporator (ตัวเครื่องอยู่ที่อาคารปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร) จนได้สารสกัดหยาบพร้อมใช้งาน ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดโดยวิธีการหยดลงบนตัวหอยศัตรูพืช หรือ topical application method ตามวิธีการของจรงค์ศักดิ์ (2550) วางแผนทดสอบประสิทธิภาพโดยใช้หอยข้าวสารยอดมน *Subulina octona* ซึ่งเป็นหอยศัตรูพืชที่สำคัญทางการเกษตรของไทย

(Plant Protection Research and Development Office, 2559) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (µg/ml) หรือเทียบเท่าส่วนในล้านส่วน (ppm) แต่ละความเข้มข้นใช้หอยศัตรูพืชจำนวน 20 ตัวต่อการทดสอบหนึ่งความเข้มข้นของแต่ละสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว เพื่อไม่ให้จำนวนหอยศัตรูพืชหนาแน่นเกินไป ใส่ลงใน Petri dish แก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 60 มิลลิเมตร สูง 15 มิลลิเมตร จำนวน 7 ความเข้มข้นบวกกับ 1 กลุ่มควบคุม ในส่วนกลุ่มควบคุม (control) ใช้น้ำเปล่าทดสอบ รวมแล้วใช้หอยศัตรูพืชทดสอบ 160 ตัวต่ออาหารเลี้ยงเชื้อหนึ่งสูตร บันทึกอัตราการตายที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

3.1.2 ทดสอบประสิทธิภาพกับหอยดักดาน *Sarika siamensis*

ทดสอบประสิทธิภาพกับหอยดักดานซึ่งเป็นหนึ่งในศัตรูพืชที่สำคัญของประเทศไทย (Plant Protection Research and Development Office, 2559) โดยเตรียมสารสกัดหยาบและทดสอบเหมือนกับหอยข้าวสารยอดมนทุกประการเพียงแต่เลือกใช้อาหารสูตรที่เหมาะสมที่สุดเพียงหนึ่งสูตรเท่านั้น (จากอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 สูตร) หลังได้ข้อมูลจากศึกษาประสิทธิภาพกับหอยข้าวสารยอดมน ทดสอบจำนวน 7 ความเข้มข้นบวกกับ 1 กลุ่มควบคุม ในส่วนกลุ่มควบคุม (control) ใช้น้ำเปล่าทดสอบ รวมแล้วใช้หอยศัตรูพืชทดสอบ 160 ตัว (20 ตัวต่อความเข้มข้น, 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ตัว) บันทึกอัตราการตายที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

3.2 การแปรผลข้อมูล Lethal concentration ประสิทธิภาพกำจัดหอยศัตรูพืช

นำข้อมูลร้อยละการตายของหอยศัตรูพืชที่ได้ไปวิเคราะห์การถดถอย (regression analysis) วิเคราะห์แบบโปรบิตหรือ Probit analysis (จรงค์ศักดิ์ 2550; Finney, 1971) เพื่อคำนวณระดับความรุนแรงของสารละลายที่สกัดจากโคโลนีของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไอโซเลท HMLB05 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวแต่ละชนิดที่เป็นเหตุให้สัตว์ทดลองร้อยละต่าง ๆ เช่น ร้อยละ 50 (50% lethal concentration; LC_{50}) หรือร้อยละ 90 (LC_{90}) ณ เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ใช้สูตรคำนวณดังนี้

PROBIT (p) = int + BX

โดย PROBIT (p) = ค่า Z-score จากตาราง Standard normal distribution และยังเป็นค่าที่ใช้บอกร้อยละการตายหรือ Lethal concentration

int = Intercept value (ค่าได้จากโปรแกรมคำนวณทางสถิติ; Table 7-8)

B = Regression coefficient (ค่าได้จากโปรแกรมคำนวณทางสถิติ; Table 7-8)

X = Biomass cyanobacteria concentration (หน่วยเป็น µg/ml หรือ ppm)

สูตรดังกล่าวเป็นสูตรสำหรับใช้เปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นของสาหร่ายที่ใช้ เพื่อเปรียบเทียบศักยภาพกับสารอื่น ๆ เช่น สารสกัดจากพืชที่มีศักยภาพกำจัดหอยทากบกศัตรูพืชที่เคยศึกษามาแล้วในอดีต ได้แก่ หางไหล หนอนตายอยาก (ปราสาททองและคณะ 2553) และกากชาน้ำมัน (ปราสาททองและคณะ 2560) ผ่านค่า Z-score จากตาราง Standard normal distribution

ซึ่งแสดงถึงร้อยละการตายของหอยศัตรูพืช เพื่อแสดงให้เห็นว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae มีศักยภาพเทียบเท่าสารสกัดหยาบจากพืชชนิดใดบ้าง

เวลาและสถานที่

เวลา ระยะเวลาเริ่มต้นงานวิจัย 1 ตุลาคม 2565 -30 กันยายน 2567

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. อาคารปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. ภาคสนาม แปลงเกษตร และพื้นดินตามธรรมชาติที่พบหอยศัตรูพืช ได้แก่

ภาคกลาง ตำบลท่าหลวง อำเภอเมือง จังหวัดพิจิตร

อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร

ภาคตะวันตก ตำบลหนองสาหร่าย อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตำบลกุดจับ อำเภอกุดจับ จังหวัดอุดรธานี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีประสิทธิภาพกำจัดหอยศัตรูพืช

1.1 จำนวนเซลล์สาหร่ายหลังจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ

ผลการศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสำหรับผลิตขยายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae ที่มีศักยภาพ ฯ ให้ได้ปริมาณสาหร่ายมาก เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งหมด 8 สูตร เป็นระยะเวลา 35 วัน (Table 3-4; Figure 1-2) เรียงลำดับอาหารเลี้ยงเชื้อจากเจริญได้ดีที่สุดไปเจริญได้น้อยที่สุด แบ่งกลุ่มได้ดังนี้

ก. กลุ่มที่ 1 อาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มปริมาณสาหร่ายสีเขียวได้ดีมาก ประกอบไปด้วยอาหาร BG11 BG12 BG13 และ BG11-K จากการสังเกตพบว่า

1. การเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในระยะกลางแบบทวีคูณหรือ mid log phase (ประมาณวันที่ 7-21) เพิ่มปริมาณได้ดีที่สุดในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 รองลงมาเป็น BG11-K และ BG12 กับ BG13 ตามลำดับ
2. อย่างไรก็ตามเมื่อเพาะเลี้ยงจนถึงระยะ Stationary phase (วันที่ 35) โคโลนีของสาหร่ายเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อสามชนิด ได้แก่ BG11 BG11-K และ BG12 ได้ดีที่สุดโดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และอาหารเหลว BG13 เพิ่มปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้มีประสิทธิภาพดีรองลงมา

3. โคโลนีของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าปรากฏเป็นสีเขียวสด (Figure 5-6)

ข. กลุ่มที่ 2 อาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มปริมาณสาหร่ายได้ปริมาณปานกลาง ประกอบไปด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Chu No.10 และ Z8 basal solution โดยจากการสังเกตพบว่า

1. การเจริญของสาหร่ายระยะกลางแบบทวีคูณหรือ mid log phase (วันที่ 7-21) เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร Chu No.10 เจริญได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ Z8 basal solution
2. เมื่อถึงระยะ Stationary phase (วันที่ 35) โคโลนีสาหร่ายเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ Chu No.10 และ Z8 basal solution ได้ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
3. โคโลนีของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Chu No.10 และ Z8 basal solution เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่ามีสีเหลืองอมน้ำตาล

ค. กลุ่มที่ 3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มปริมาณสาหร่ายได้น้อย ได้แก่ BG11-N_0 แม้ว่าในระยะ mid-log phase โคโลนีเจริญได้ไม่แตกต่างกันกับอาหารเลี้ยงเชื้อ Chu No.10 และ Z8 แต่เมื่อถึงระยะ Stationary phase แล้วพบว่ามีปริมาณโคโลนีน้อยกว่าอาหารทั้งสองสูตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้โคโลนีเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร BG11-N_0 ปรากฏสีเหลืองอมน้ำตาลเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าเช่นเดียวกับอาหาร Chu No.10 และ Z8

ง. กลุ่มที่ 4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไม่สามารถเจริญได้ นั่นคืออาหารเลี้ยงเชื้อ BG11-PGY เนื่องจากมีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญแทนที่ สังเกตได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีขาวขุ่นและมีกลิ่นเหม็นหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2-3 วัน

จากผลการศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด 8 สูตรต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สรุปได้ว่ามีอาหารทั้งหมด 4 สูตรเท่านั้นที่ทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae เจริญได้ดี ได้แก่ อาหารสูตร BG11 BG12 BG13 และ BG11-K ดังนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 สูตรข้างต้น จึงเหมาะสมสำหรับการผลิตขยายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีศักยภาพ ฯ จึงคัดเลือกอาหารทั้งสี่สูตรนำไปทดสอบประสิทธิภาพกำจัดหอยศัตรูพืชต่อไป

1.2 น้ำหนักแห้งสาหร่าย (Biomass) หลังจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ

หลังจากศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด 8 สูตร (ข้อที่ 1.1) พบ อาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 4 สูตรที่เพิ่มปริมาณสาหร่ายได้ปริมาณมาก จากนั้นศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 สูตรต่อน้ำหนักแห้ง (Biomass) ของสาหร่ายหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าหากเรียงลำดับอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มน้ำหนักแห้งของสาหร่ายจากมากที่สุดไปน้อยที่สุดโดยมากที่สุด ดังนี้ BG11-K BG11 BG12 และ BG13 เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มน้ำหนักแห้งของสาหร่ายได้น้อยที่สุด ซึ่งมีน้ำหนักเท่ากับ 0.7188 0.5521 0.4583 และ 0.3458 มิลลิกรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อเหลวหนึ่งมิลลิลิตร ตามลำดับ

2. อภิปรายผลการศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อต่ออัตราการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำ

เงินที่มีศักยภาพกำจัดหอยศัตรูพืช

จากผลการศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด 8 สูตร อภิปรายผลได้ดังนี้

2.1 ผลของธาตุไนโตรเจนต่อการเจริญ

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 และ BG11-K ซึ่งเติม $NaNO_3$ พบว่าอาหารทั้งสองทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญได้ดีกว่าอาหารสูตร BG11-N_0 ซึ่งเป็นสูตรที่ไม่เติมสารที่เป็นแหล่งไนโตรเจน ($NaNO_3$) สอดคล้องกับการศึกษาของกนกกานต์ (2556) และ de Loura *et* al. (1987) เนื่องจากธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญของสารเมตาโบไลท์ปฐมภูมิ (Primary metabolite) โดยเฉพาะโครงสร้างของเซลล์ รวมถึงเป็นองค์ประกอบของรงควัตถุ ได้แก่ คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี ทำหน้าที่ดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 420, 660 นาโนเมตร และความยาวคลื่น 435, 643 นาโนเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้เซลล์สาหร่ายจำเป็นต้องใช้ไนโตรเจนสังเคราะห์รงควัตถุสารไฟโคไซยานินซึ่งดูดกลืนช่วงความยาวคลื่นแสงที่ 618 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นแสงที่คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี ดูดกลืนได้น้อย (Taiz & Zeiger, 2002) รงควัตถุดังกล่าวเป็นส่วนสำคัญสำหรับถ่ายทอดพลังงานในระบบแสง 2 หรือ Photosystem II (ยุวดีและคณะ 2551) และนำพลังงานที่ได้ไปสร้างน้ำตาลและแป้ง นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิ ในเซลล์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria* sp. *Scytonema* sp. และ *Nostoc* sp. ว่าแปรผันตรงกับปริมาณไนเตรตในอาหารเลี้ยงสาหร่าย (Crnkovic et al., 2018) โดยเฉพาะสกุล *Oscillatoria* เนื่องจากเอนไซม์ nitrogenase ในสาหร่ายสกุลดังกล่าวสูญเสียความสามารถตรึงแก๊สไนโตรเจน (N_2) จากสภาพแวดล้อมเมื่อสาหร่ายอาศัยอยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจน และสามารถกลับมาทำงานได้เมื่ออยู่ในสภาวะแอนแอโรบิค (Anaerobic) เสมือนสวิตช์ปิดเปิดการทำงาน (Stal & Krumbein, 1985) ส่งผลให้สาหร่าย *Oscillatoria* เจริญได้ไม่ดีนักเมื่อเลี้ยงในสภาวะแอโรบิคที่ไม่มีสารประกอบ Nitrogen source ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นการที่จะผลิตขยายสาหร่ายสกุลดังกล่าวจึงจำเป็นต้องเติมสารเคมีที่เป็นแหล่งของธาตุไนโตรเจน เช่น $NaNO_3$ เพิ่มลงไป

2.2 ผลของธาตุคาร์บอนต่อการเจริญ

ธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบสำคัญของสารกลุ่ม Primary metabolite ได้แก่ เซลลูโลสซึ่งเป็นสารที่มีอยู่ทั่วไปในสารประกอบส่วนที่เป็นโครงสร้างของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จุลินทรีย์ที่สังเคราะห์แสงได้ รวมถึงพืชชั้นสูง นำไปใช้ขยายขนาดเซลล์ เพิ่มจำนวน และกระบวนการสรีรวิทยาทั่วไปของเซลล์ สารกลุ่มดังกล่าว ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เม็ดสี เป็นต้น (Gault & Marler, 2009) เมื่อเปรียบจำนวนเซลล์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 และ BG11-K (สูตรเติมแป้ง 0.04 กรัมต่ออาหารเหลว 1 ลิตร) โดยเฉพาะที่ระยะ Stationary phase (วันที่ 35 ของการเพาะเลี้ยง) พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับผลการศึกษาของกนกกานต์ (2556) ที่พบว่าสาหร่าย *Oscillatoria* sp. เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 และสูตร BG11-C_0 (BG11

สูตรดัดแปลงโดยปราศจากแหล่งคาร์บอน) ได้ใกล้เคียงกัน เนื่องจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางกลุ่ม ได้แก่ สกุล *Oscillatoria* sp. สามารถใช้ CO_2 ในอากาศหรือในน้ำเป็นแหล่งคาร์บอนทดแทนได้ (Mangan & Brenner, 2014; Anguselvi et al., 2019)

อย่างไรก็ตามเมื่อศึกษาอัตราการเจริญของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรดัดแปลงจาก BG11 โดยเติมแหล่งคาร์บอนเพิ่มลงไป จำนวน 2 สูตร ได้แก่ BG13 (เติม $NaHCO_3$ ลงไป 1.7 กรัมต่อลิตร) และ BG11-K พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 35 วัน สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญในอาหารสูตร BG13 ได้ต่ำกว่าอาหาร BG11 และ BG11-K อย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าแป้งที่ละลายน้ำเป็นรูปแบบของแหล่งคาร์บอนที่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินดึงไปใช้ได้ดีกว่าแหล่งคาร์บอนที่มาจากสารประกอบ $NaHCO_3$ สอดคล้องกับงานวิจัยของกนกกานต์ (2556) จากการศึกษาน้ำหนักแห้งหลังจากเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria* sp. เป็นเวลา 30 วันพบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเหลว BG11 ที่เติมแป้งลงไป 0.04 กรัมต่อลิตร (BG11-K) ให้น้ำหนักสูงสุด รองลงมาเป็น BG11 สูตรเติมกลูโคส 0.1 กรัมต่อลิตร และตามด้วย BG11 สูตรปกติ

3. ผลของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดต่อประสิทธิภาพกำจัดหอยศัตรูพืชของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae

จากการทดสอบศักยภาพของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงทั้ง 4 สูตร อาหารที่ทำให้สาหร่ายเจริญได้ดีที่สุด ได้แก่ BG11 BG12 BG13 และ BG11-K หลังจากเก็บเกี่ยวโคโลนีและนำไปสกัดสาร จะมีประสิทธิภาพดังที่แสดงในตาราง Table 5 และ Figure 4 จากการทดสอบพบว่าประสิทธิภาพการกำจัดหอยข้าวสารยอดมน *S. octona* (Family Subulinidae)

ก. อัตราการตายของหอยข้าวสารยอดมนที่เวลา 24 ชั่วโมงพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ BG12 BG13 และ BG11-K ให้ค่า LC_{50} ใกล้เคียงกัน โดยเรียงลำดับจากมากไปน้อยได้แก่ อันดับที่หนึ่ง BG12 ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 156.79 µg/ml โดยมีขอบเขตล่างหรือ Lower bound (LB) = 146.5620; และขอบเขตบนหรือ Upper bound (UB) = 167.1843 ลำดับที่ 2 BG13 ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 172.14 µg/ml (LB = 108.3063; UB = 240.5597) และลำดับที่ 3 BG11-K ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 173.59 µg/ml (UB = 158.5200; LB = 188.4995) อย่างไรก็ตามค่า LC_{50}

ของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ชนิดไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบค่าขอบเขตบนและขอบเขตล่างระหว่างอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ชนิด (Table 6; Figure 4)

ข. สำหรับสาหร่ายที่ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 เมื่อพิจารณาค่า LC_{50} ที่เวลา 24 ชั่วโมงพบว่าให้ประสิทธิภาพด้อยที่สุด และด้อยกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ BG12 BG13 และ BG11-K โดยมีค่าเท่ากับ 251.99 µg/ml รวมถึงมีค่า Upper bound และ Lower bound เท่ากับ 207.1777 และ 297.4663 ตามลำดับ ซึ่งช่วงค่าดังกล่าวต่ำกว่าค่าขอบเขตบน LC_{50} ของอาหารเลี้ยงเชื้อ BG12 และ BG11-K (Table 6; Figure 4) จึงอนุมานได้ว่าอาหารเลี้ยง

เชื้อ BG11 ทำให้สาหร่ายมีประสิทธิภาพกำจัดหอยทากบกศัตรูพืชด้อยกว่าอาหาร BG12 และ BG11-K แต่ไม่แตกต่างกับอาหารเลี้ยงเชื้อ BG13 (Table 6; Figure 4)

ค. สำหรับที่ 48 ชั่วโมงค่า LC_{50} ของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้

- อันดับที่หนึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อ BG12 มีค่า LC_{50} เท่ากับ 95.16 µg/ml (LB = 37.8858, UB = 140.6806)
- อันดับที่สองอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11-K มีค่า LC_{50} เท่ากับ 104.19 µg/ml (LB = 61.6775, UB = 118.0163)
- อันดับที่สามอาหารเลี้ยงเชื้อ BG13 มีค่า LC_{50} เท่ากับ 109.38 µg/ml (LB = 67.8723, UB = 145.4936)
- และลำดับสุดท้ายอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 มีค่า LC_{50} เท่ากับ 127.09 µg/ml (LB = 0.0000, UB = 213.4737729)

แต่เมื่อพิจารณาค่า Upper bound และ Lower bound ของอาหารทั้ง 4 ชนิดที่ 48 ชั่วโมง พบว่ามีค่าคาบเกี่ยวกันทั้งหมด จึงสรุปได้ว่าอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 สูตรมีประสิทธิภาพผลักดันศักยภาพสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อผลิตสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิที่เป็นพิษต่อหอยศัตรูพืชได้ไม่แตกต่างกันเมื่อทดสอบที่เวลา 48 ชั่วโมง (Table 6; Figure 4)

4. อภิปรายผลการศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อประสิทธิภาพการกำจัดหอยศัตรูพืชของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae

จากการเปรียบเทียบศักยภาพการกำจัดหอยศัตรูพืชที่เวลา 24 ชั่วโมงของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ พบว่าสาหร่ายที่ถูกเลี้ยงด้วยอาหาร BG12 และ BG11-K มีศักยภาพกำจัดหอยทากบกศัตรูพืชสูงกว่าสาหร่ายที่ถูกเลี้ยงด้วยอาหาร BG11 สำหรับศักยภาพเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง พบว่า สาหร่ายที่ถูกเพาะเลี้ยงจากอาหารทั้ง 4 สูตร มีประสิทธิภาพกำจัดหอยทากบกศัตรูพืชไม่แตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาปริมาณธาตุอาหารหลัก ได้แก่ คาร์บอน (C) ไนโตรเจน (N) และ ซัลเฟอร์ (S) ระหว่างอาหารเลี้ยงเชื้อ BG12 กับอาหารสูตร BG13 และ BG11-K ถึงแม้ว่า BG12 จะมีปริมาณคาร์บอนมากกว่าสูตร BG13 อยู่เกือบสองเท่าตัว และมากกว่าสูตร BG11-K อยู่เกือบ 29 เท่า รวมถึงปริมาณไนโตรเจนสูตร BG12 มีมากกว่า BG13 อยู่ประมาณ 1.5 เท่า และมีปริมาณซัลเฟอร์ที่สูงกว่าอาหารสูตรอื่นค่อนข้างมาก อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพการกำจัดหอยทากบกศัตรูพืชของอาหารสูตร BG12 BG13 และ BG11-K นั้น ยังไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบค่า LC_{50} ทั้งที่เวลา 24 และที่เวลา 48 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาที่สาหร่ายปริมาณเท่ากัน

5. การคัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่สุดสำหรับนำไปผลิตขยายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีศักยภาพกำจัดหอยศัตรูพืช

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลต่าง ๆ เกี่ยวกับอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสี่สูตรอาหาร ทั้งหมดสามประเด็นสามารถพิจารณาได้ดังที่แสดงเป็นรูปแบบแผนภาพเวนน์-ออยเลอร์ใน Figure 3 ดังนี้

ก. ประเด็นที่หนึ่ง ประสิทธิภาพเหนี่ยวนำให้สาหร่ายสร้างสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิที่มีศักยภาพกำจัดหอยศัตรูพืชที่เวลา 24 ชั่วโมง (คิดเฉพาะค่า 50% Lethal concentration จากหอยข้าวสารยอดมน)

- อาหารเลี้ยงเชื้อ BG12 BG13 และ BG11-K เหมาะสมกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 เมื่อเทียบค่า LC_{50} ที่เวลา 24 ชั่วโมง
- แต่ประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสี่สูตรไม่แตกต่างกันเมื่อเทียบค่า LC_{50} ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ข. ประเด็นที่สอง ประสิทธิภาพการเร่งการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Optimal condition for growth)

- อาหารเลี้ยงเชื้อ BG11-K BG11 และ BG12 เหมาะสมกว่า BG13 เนื่องจากสาหร่ายที่ถูกเลี้ยงในอาหารเหลว BG11-K BG11 และ BG12 เมื่อเวลาผ่านไป 35 วันจะมีจำนวนเซลล์ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตรมากกว่าอาหาร BG13 อย่างมีนัยสำคัญ

ค. ประเด็นที่สาม ต้นทุนสารเคมีสำหรับใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (Price of chemical media)

- อาหารเลี้ยงเชื้อ BG11-K และ BG11 เหมาะสมกว่า BG12 และ BG13 เนื่องจากอาหารเหลวสูตร BG12 ต้องเติมสาร 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine-ethanesulfonic acid หรือ HEPES buffer ปริมาณ 1.2 กรัมต่อการเตรียมอาหาร 1 ลิตร ซึ่งมีราคาค่อนข้างแพง และอาหารเหลวสูตร BG13 ใช้สาร $NaHCO_3$ ค่อนข้างมาก (ใช้ 1.7 กรัมเพื่อเตรียมอาหารเหลว 1 ลิตร) แต่อาหารเหลวสูตร BG11-K ใช้แป้งเพียง 0.04 กรัมเพื่อเตรียมอาหารเหลว 1 ลิตร ซึ่งใช้ปริมาณน้อยกว่า ประกอบกับแป้งเป็นสารที่ราคาไม่แพง จึงประหยัดค่าใช้จ่ายได้ สำหรับ BG11 จะเป็นสูตรอาหารที่ประหยัดที่สุดเนื่องจากไม่เติมสารเคมีเพิ่มเติมเมื่อเทียบกับสูตรอื่น ๆ

สรุปแล้วจากประเด็นทั้งสามได้แก่ 1. ประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำให้สร้างสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิ 2. ประสิทธิภาพการเร่งการเจริญ และ 3. ต้นทุนสารเคมีสำหรับใช้เตรียมอาหาร เมื่อพิจารณาแล้วอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG11-K เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดสำหรับนำไปใช้ผลิตขยายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae ที่มีศักยภาพกำจัดหอยบอกศัตรูพืช (Figure 3) และเหมาะสมสำหรับการใช้ต่อยอดผลิตขยายสาหร่ายดังกล่าวในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

6. ประสิทธิภาพการกำจัดหอยดักดาน *S. siamensis*, Family Ariophantidae

เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG11-K ถูกพิจารณาว่าเหมาะสมที่สุดสำหรับผลิตขยายสาหร่ายไอโซเลท HMLB05 จากข้อ 5 มาทดสอบประสิทธิภาพกำจัดหอยทากบกศัตรูพืชอีกชนิดซึ่งก็คือหอยดักดาน *S. siamensis* เป็นตัวแทนของวงศ์ Ariophantidae จากการวิเคราะห์ค่า 50%

Lethal Concentration พบว่ามีค่าเท่ากับ 193.4833 µg/ml (LB = 184.8502 และ UB = 201.8523028) ที่เวลา 24 ชั่วโมง และมีค่าเท่ากับ 158.1894 µg/ml (LB = 146.9006 และ UB = 168.1122) 48 ชั่วโมง (Table 6; Figure 4)

7. ศักยภาพการกำจัดหอยศัตรูพืชของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ

7.1 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสาหร่ายกำจัดหอยข้าวสารยอดมน *S. Octona*

จากข้อมูลในข้อ 5 ผู้วิจัยเลือกข้อมูลตารางค่า 50% Lethal Concentration ที่คำนวณได้จากอาหารเหลว BG11-K มาเป็นตัวเปรียบเทียบกับสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ทั้งนี้การศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดหอยศัตรูพืชในวงศ์หอยข้าวสาร (Family Subulinidae) โดยไม่ใช่สารเคมี พบงานวิจัย

ก. การศึกษาของปราสาททองและคณะ (2553)

ประสิทธิภาพสาหร่ายเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากต้นหนอนตายหยาก (*Stemona tuberosa*) โดยทดสอบในห้องปฏิบัติการ (Table 9-10)

- ทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อัตรา 0.75 กรัมต่อกล่องขนาด 75 ตารางเซนติเมตร ทำให้หอยเจดีย์เล็ก *Allopeas gracilis* (Family Subulinidae) ตาย 8.33% ในห้องปฏิบัติการเมื่อเทียบกับประสิทธิภาพกำจัดหอยศัตรูพืชของสาหร่ายสกุล *Oscillatoria* ที่ผู้วิจัยได้ทดสอบนั้นพบว่าใกล้เคียงกับสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 70.8316 µg/ml ($LC_{8.33}$ ที่เวลา 24 ชั่วโมง) และอัตรา 1 กรัมต่อกล่อง ทำให้หอยเจดีย์เล็กตาย 33.33% ในห้องปฏิบัติการใกล้เคียงกับสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 141.5739 µg/ml ($LC_{33.33}$ ที่เวลา 24 ชั่วโมง)
- ทดสอบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อัตรา 0.75 กรัมต่อกล่อง ทำให้หอยเจดีย์เล็กตาย 16.66% ในห้องปฏิบัติการใกล้เคียงกับประสิทธิภาพกำจัดหอยทากบกศัตรูพืชของสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 72.9977 µg/ml ($LC_{16.66}$ ที่เวลา 48 ชั่วโมง) และอัตรา 1 กรัมต่อกล่อง ทำให้หอยเจดีย์เล็กตาย 66.66% ในห้องปฏิบัติการใกล้เคียงกับสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 118.0109 µg/ml ($LC_{66.66}$ ที่เวลา 48 ชั่วโมง)

ประสิทธิภาพสาหร่ายเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากต้นหางไหล (*Derris elliptica*) โดยทดสอบในห้องปฏิบัติการ (Table 9-10)

- ทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อัตรา 0.025 มิลลิลิตรต่อกล่อง ทำให้หอยเจดีย์เล็กตาย 58.33% ในห้องปฏิบัติการใกล้เคียงกับสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 189.2318 µg/ml ($LC_{58.33}$ ที่เวลา 24 ชั่วโมง) และอัตรา 0.05 มิลลิลิตรต่อกล่อง ทำให้หอยเจดีย์เล็กตาย 100% ในห้องปฏิบัติการใกล้เคียงกับสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 346.8268 µg/ml (LC_{99} ที่เวลา 24 ชั่วโมง)

- ทดสอบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อัตรา 0.025 มิลลิลิตรต่อกล่อง ทำให้หอยเจดีย์เล็กตาย 58.33% ในห้องปฏิบัติการใกล้เคียงกับสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 110.9374 µg/ml ($LC5_{8.33}$ ที่เวลา 48 ชั่วโมง) และอัตรา 0.05 มิลลิลิตรต่อกล่อง ทำให้หอยเจดีย์เล็กตาย 100% ในห้องปฏิบัติการเทียบเท่ากับสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 178.9829 µg/ml (LC_{99} ที่เวลา 48 ชั่วโมง)

ข. การศึกษาของปราสาททองและคณะ (2560)

ประสิทธิภาพสาหร่ายเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากกากเมล็ดชาน้ำมัน (*Camellia oleifera*) ทดสอบในแปลงปลูกผักอินทรีย์ (Table 9-10)

- กรรมวิธีหว่านกากชาน้ำมัน อัตรา 5 กิโลกรัมต่อไร่ ทำให้หอยเจดีย์ตายร้อยละ 49.90 และ 53.25 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ใกล้เคียงกับประสิทธิภาพกำจัดหอยทากบกศัตรูพืชของสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 173.5941 µg/ml และ 106.7576 µg/ml เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ
- กรรมวิธีหว่านเหยื่อพิษสารสกัดกากชา อัตรา 1 กิโลกรัมต่อไร่ ทำให้หอยเจดีย์ตายร้อยละ 70.25 และ 82.57 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ใกล้เคียงกับการใช้สาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 213.0607 µg/ml และ 134.4086 µg/ml ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ
- กรรมวิธีหว่านเหยื่อพิษสารสกัดกากชา อัตรา 5 กิโลกรัมต่อไร่ ทำให้หอยเจดีย์ตายร้อยละ 90 และ 94.3 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ใกล้เคียงกับสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 269.0255 µg/ml และ 154.9861 µg/ml ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ
- และกรรมฉีดพ่นสารสกัดจากกากเมล็ดชาน้ำมัน 4% W/V ทำให้หอยเจดีย์ตายร้อยละ 91.87 และ 95.76 ใกล้เคียงกับสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 277.8458 µg/ml และ 159.4874 µg/ml ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ

7.2 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสาหร่ายกำจัดหอยดักดาน *Sarika siamensis*

จากข้อมูลในข้อ 5 ผู้วิจัยเลือกข้อมูลตารางค่า 50% Lethal Concentration จากอาหารเหลว BG11-K มาเป็นตัวเปรียบเทียบกับสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ทั้งนี้การศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดหอยศัตรูพืชชนิดหอยดักดานซึ่งเป็นตัวแทนของวงศ์ Ariophantidae โดยไม่ใช่สารเคมีและทดลอง

ก. การศึกษาของปราสาททองและคณะ (2553)

ประสิทธิภาพสาหร่ายเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากต้นหางไหล (*Derris elliptica*) โดยทดสอบในห้องปฏิบัติการ (Table 11-12)

- ทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อกล่องขนาด 75 ตารางเซนติเมตร ทำให้หอยดักดานตาย 66.66% ใกล้เคียงกับประสิทธิภาพกำจัดหอยดักดานของสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 213.2799 µg/ml ($LC_{66.6}$ ที่เวลา 24 ชั่วโมง)
- ทดสอบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อกล่อง ทำให้หอยดักดานตาย 100% ใกล้เคียงกับประสิทธิภาพกำจัดหอยดักดานของสาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 330.8074 µg/ml ($LC5_{99.9}$ ที่เวลา 48 ชั่วโมง)

ข. การศึกษาของปราสาททองและคณะ (2560)

ประสิทธิภาพสาหร่ายเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากกากเมล็ดชาน้ำมัน (*Camellia oleifera*) ทดสอบในแปลงปลูกผักอินทรีย์ (Table 11-12)

ii. กรรมวิธีหว่านกากชาน้ำมัน อัตรา 5 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมงทำให้หอยดักดานตายร้อยละ 90.6 ใกล้เคียงกับการใช้สาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 254.2539 µg/ml กำจัดหอยดักดานในห้องปฏิบัติการ ($LC_{90.6}$ ที่เวลา 48 ชั่วโมง)

iii. กรรมวิธีหว่านกากชาน้ำมัน อัตรา 5 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อผ่านไป 48 ชั่วโมงทำให้หอยดักดานตายร้อยละ 91.1 ใกล้เคียงกับการใช้สาหร่ายน้ำหนักแห้งเข้มข้น 233.3617 µg/ml กำจัดหอยดักดานในห้องปฏิบัติการ ($LC_{91.1}$ ที่เวลา 48 ชั่วโมง)

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดศัตรูพืชของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินกับสารสกัดจากหนอนตายหยาก หางไหล และชาน้ำมัน พบว่ามีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับสารละลายสาหร่ายเข้มข้น 70.8316 - 346.8268 µg/ml ในการกำจัดหอยข้าวสารยอดมน และสารสกัดจากหางไหลและกากชาน้ำมัน พบว่ามีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับสารละลายสาหร่ายเข้มข้น 213.2799 - 330.8073 µg/ml ในการกำจัดหอยดักดาน

อย่างไรก็ตามการอภิปรายผลเปรียบเทียบดังกล่าวเป็นการเปรียบเทียบระหว่างน้ำหนักแห้ง (Biomass) ของสาหร่ายที่มีศักยภาพที่ผลิตได้จากงานวิจัยนี้กับสารสกัดหยาบ (Crude extract) จากพืช หากต้องการเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างสิ่งมีชีวิตทั้งสองกลุ่มนี้ อาจต้องเทียบระหว่างสารสกัดหยาบกับสารสกัดหยาบด้วยกัน นอกจากนี้การอภิปรายผลเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินดังกล่าวในระดับห้องปฏิบัติการกับข้อมูลประสิทธิภาพกากชากำจัดหอยศัตรูพืชในระดับแปลงเกษตรของปราสาททองและคณะ (2560) อาจกล่าวได้ยากว่าทั้งสองสิ่งมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากัน ดังนั้นต้องศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายดังกล่าวต่อยอดในระดับกึ่งโรงเรือนและระดับแปลงเกษตรจึงสามารถยืนยันได้ว่าทั้งสองสิ่งนี้มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

มีรายงานเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตที่สร้างสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิที่มีฤทธิ์กำจัดสัตว์ในกลุ่มมอลลัสกาได้ ได้แก่ พืช เชื้อรา แบคทีเรีย และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน แต่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินนั้นได้เปรียบมากกว่าสิ่งมีชีวิตกลุ่มอื่น ๆ เนื่องจาก เพิ่มปริมาณได้เร็วกว่าพืช เก็บรักษา (maintenance)

หัวเชื้อง่ายกว่าแบคทีเรีย และมีแนวโน้มก่อโรคน้อยกว่าเชื้อรา จึงน่าสนใจศึกษาต่อยอด ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไอโซเลท HMLB05 วงศ์ Oscillatoriaceae ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด 8 สูตร ได้แก่ BG11 BG12 BG13 BG11-N_0 BG11-K BG11-PGY Chu No.10 medium และ Z8 basal solution หลังจากติดตามการเจริญผ่านการนับเซลล์เป็นระยะเวลา 35 วัน สาหร่ายไม่เพิ่มจำนวนได้ในอาหาร BG11-PGY เพิ่มจำนวนในอาหาร BG11-N_0 Chu No.10 และ Z8 basal solution ได้เล็กน้อยถึงปานกลาง และเพิ่มจำนวนได้มากในอาหารทั้งหมด 4 สูตรอาหาร โดยเรียงลำดับจำนวนเซลล์ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 1 มิลลิลิตร จากมากไปน้อย คือ BG11 BG11-K BG12 และ BG13 ตามลำดับ จึงคัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสี่สูตรไปเพาะเลี้ยงสาหร่ายอีกครั้ง และทดสอบประสิทธิภาพกำจัดหอยศัตรูพืชชนิดหอยข้าวสารยอดมน *S. octona* เป็นตัวแทนหอยวงศ์หอยข้าวสาร (Family Subulinidae) ผลปรากฏว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG12 และ BG11-K มีแนวโน้มดีกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 แต่ไม่แตกต่างจากอาหารเลี้ยงเชื้อ BG13 เมื่อเทียบค่า LC_{50} ที่เวลา 24 ชั่วโมง แต่ประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสี่สูตรไม่แตกต่างกันเมื่อเทียบค่า LC_{50} ที่เวลา 48 ชั่วโมง ในแง่มุมต้นทุนสารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสี่สูตรพบว่า BG11 สูตรปกติใช้ต้นทุนเตรียมน้อยที่สุด (ไม่เติมสารเคมีเพิ่ม) ลำดับต่อมาเป็นอาหาร BG11-K ใช้ต้นทุนเป็นการเติมแป้งปริมาณ 0.04 กรัมต่ออาหารเหลว 1 ลิตร ลำดับถัดมาเป็น BG13 ใช้ต้นทุนเป็นการเติม $NaHCO_3$ ปริมาณ 1.7 กรัมต่ออาหารเหลว 1 ลิตร และอาหาร BG12 ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ต้นทุนสูงที่สุดเนื่องจากต้องเติมสาร HEPES buffer ซึ่งมีราคาแพงเมื่อเทียบกับแป้งและ $NaHCO_3$ จากการเปรียบเทียบปัจจัยทั้ง 3 ข้อในการคัดเลือกสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่สุด ได้แก่ 1. การเร่งการเจริญของสาหร่าย 2. การผลัดกันศักยภาพการกำจัดหอยศัตรูพืช และ 3. ต้นทุนของสารเคมีที่ใช้ผลิตอาหารเลี้ยงสาหร่าย สรุปได้ว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11-K หรืออาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 สูตรปรับปรุงของกนกกานต์ เป็นอาหารที่เหมาะสมที่สุดสำหรับต่อยอดเพื่อผลิตสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae ที่มีศักยภาพกำจัดหอยศัตรูพืชและนำไปศึกษาเพื่อพัฒนาชีวภัณฑ์กำจัดหอยศัตรูพืชต่อไปในอนาคต

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณสุทิศา เงินเรืองโรจน์ จากกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์นำตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไปผลิตสารสกัดหยาบด้วยชุดระเหยสุญญากาศแบบหมุน คุณประไพ ทองระอา จากกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับสูตรอาหารเลี้ยงสาหร่าย รศ. ดร. สุเปญญา จิตตพันธ์ จากสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการเตรียมอาหารเลี้ยงสาหร่าย คุณบรรจง บุญครอบ ช่างซ่อมบำรุง ช๔ จากกลุ่มสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์ซ่อมและดัดแปลงอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าสำหรับ

เพาะเลี้ยงและผลิตขยายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรที่ให้ความร่วมมือผลักดันงานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กนกกานต์ นาคทอง. 2556. การหาภาวะที่เหมาะสมและการผลิตไฟโคไซยานินจากไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria* sp. ปริญญานิพนธ์ วท.ม. (ชีววิทยา) กรุงเทพฯ. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

จรงค์ศักดิ์ พุ่มนวน. 2550. เทคนิคบทปฏิบัติการทางกีฏวิทยา. ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 195 หน้า.

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ กรแก้ว เสือสะอาด รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา พรรณีกา อัตตนนท์. 2553. วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหล เพื่อกำจัดหอยเชอรี่และหอยทาก บก. หน้า 613-625. ใน: *รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553.* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

ปราสาททอง พรหมเกิด พรรณีกา อัตตนนท์ สมเกียติ กล้าแข็ง และทรงทัพ แก้วตา. 2560. การใช้กากเมล็ดชาน้ำมันควบคุมหอยและทากศัตรูพืชในแปลงปลูกผักอินทรีย์. หน้า 281-290. ใน: *รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2560.* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

พิมพ์ภาพ มณีธร. 2554. ผลของแสงสีต่าง ๆ และการเพาะเลี้ยงในสภาวะเฮเทอโรโทรฟิกที่มีต่อการเจริญเติบโต และปริมาณไฟโคบิลินโปรตีนของไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria* sp. KC 45. ปริญญานิพนธ์ วท.ม. (ชีววิทยา) กรุงเทพฯ. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2551. กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระทนร้อนของรงควัตถุกลุ่มไฟโคบิลิโปรตีนจากไซยาโนแบคทีเรียในน้ำพุร้อน เพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ทนร้อนด้านอื่น. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่:เชียงใหม่.

ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ไตรเดช ข่ายทอง 2564 การคัดเลือกชนิดและศักยภาพของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์Oscillatoriaceae ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดหอยศัตรูพืช รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2564 เล่มที่ 1 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข 2565. ศักยภาพในการกำจัดหอยศัตรูพืชของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Leptolyngbyaceae และวงศ์ Oscillatoriaceae ที่พบในประเทศไทย. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 15. 22-24 พฤศจิกายน โรงแรมรามาการ์เด้นส์ กรุงเทพมหานคร.

สุเปญญา จิตตพันธ์. 2562. เทคโนโลยีชีวภาพของสาหร่ายและแพลงก์ตอน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ. 229 หน้า

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ อำมร อินทร์สังข์ และ จรงค์ศักดิ์ พุมนวน. 2557 ผลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย *Phormidium angustissimum* ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารต่าง กัน ที่มีต่อฤทธิ์การกำจัดไรฝุ่น *Dermatophagoides pteronyssinus* วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 32:(1)13-20.

Abramoff, M.D. Magalhaes, P.J. Ram, S.J. 2004. Image Processing with ImageJ. Biophotonics International. 11 (7):36-42.

Albuquerque, L. da Costa, M.S. 2014. The Families Conexibacteraceae, Patulibacteraceae and Solirubrobacteraceae. In: Rosenberg, E. DeLong, E.F. Lory, S., Stackebrandt, E. Thompson, F. (eds) The Prokaryotes. Springer, Berlin, Heidelberg.

Allen, M.M. Stanier, R.Y. 1968. Growth and division of some unicellular blue-green algae. J Gen Microbiol. 1968 Apr;51(2):199-202.

Andersen, R.A. Ed. 2005. Algal Culturing Techniques. Elsevier Academic Press, New York, 578 p.

Anguselvi, V. Ebhin, Masto, R. Mukherjee A. Singh, P.K. 2019. CO_2 Capture for Industries by Algae. Algae. IntechOpen.

De, Loura, I.C. Dubacq J.P, Thomas, J.C. 1987. The effects of nitrogen deficiency on pigments and lipids of cyanobacteria. Plant Physiol. 1987 Apr;83(4):838-843.

Crnkovic, C.M. May DS, Orjala J. 2018. The impact of culture conditions on growth and metabolomic profiles of freshwater cyanobacteria. J Appl Phycol. 30(1):375-384.

Dadheech, P.K. Casamatta, D.A. Casper, P. & Krienitz, L. 2013. *Phormidium etoshii* sp. nov. (Oscillatoriales, Cyanobacteria) described from the Etosha Pan, Namibia, based on morphological, molecular and ecological features. Fottea, 13(2), 235-244.

Essack, M. Alzubaidy, H.S. Bajic V.B., Archer J.A. 2014. Chemical compounds toxic to invertebrates isolated from marine cyanobacteria of potential relevance to the agricultural industry. Toxins (Basel). Oct 29;6(11):3058-76.

Finney, D.J. 1971. Probit Analysis. Cambridge University Press, Cambridge, 333 p.

Ferris, M.J. Hirsch, C.F. 1991. Method for isolation and purification of cyanobacteria. Appl Environ Microbiol. May;57(5):1448-52.

Gault, P.M. & Marler, H.J. 2009. Handbook on cyanobacteria: Biochemistry, biotechnology and applications. Nova Science Publishers. New York. 1-50 pp.

Jaki, B. Orjala, J. Bürgi, H.R. & Sticher, O. 1999. Biological Screening of Cyanobacteria for Antimicrobial and Molluscicidal Activity, Brine Shrimp Lethality, and Cytotoxicity. Pharmaceutical Biology, *37*(2), 138–143.

Kjellstrom, T. Lodh, M. McMichael, T. Ranmuthugala, G. Shrestha, R. Kingsland, S. 2006. Air and water pollution: Burden and Strategies for control. Disease Control Priorities in Developing Countries. 2:817-832.

Mangan, N.M. Brenner, M.P. 2014. Systems analysis of the CO2 concentrating mechanism in cyanobacteria eLife 3:1-17.

Orjala, J. Gerwick, W.H. 1996. Barbamide, a chlorinated metabolite with molluscicidal activity from the Caribbean cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. J Nat Prod. Apr;59(4):427-30.

Pereira, A.R. Etzbach, L. Engene, N. Müller, R. Gerwick, W.H. 2011. Molluscicidal metabolites from an assemblage of Palmyra Atoll cyanobacteria. J Nat Prod. 27;74(5):1175-81.

Plant Protection Research and Development Office. 2559. List of insects, mite and other zoological pests of economic plant in Thailand. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ 1-188 pp.

Stal, L.J., Krumbein, W.E. 1985. Oxygen protection of nitrogenase in the aerobically nitrogen fixing, non-heterocystous cyanobacterium *Oscillatoria* sp. Arch. Microbiol. **143**, 72–76.

Taiz, L. and Zeiger, E. 2002. Plant Physiology (Third Edition). Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, 111-143 pp.

Table 1 presents the chemical composition of macro and micronutrients for six types of BG11, a growth medium for cyanobacteria cultivation. The units are indicated in molar (M) and grams per liter (g/L)

Medium name	BG11	BG11-N_0	BG11-K	BG11-PGY	BG12	BG13
Reference	(Allen 1986)	(Allen 1986)	(กนกกานต์, 2556)	(Albuquerque, 2014)	(Ferris & Hirsch, 1991)	
---------- Macro nutrients ----------						
Citric acid (M)	3.12×10^{-5}	3.12×10^{-5}	3.12×10^{-5}	3.12×10^{-6}	3.12×10^{-5}	3.12×10^{-5}
Ferric ammonium citrate (M)	$\sim 3 \times 10^{-3}$	$\sim 3 \times 10^{-3}$	$\sim 3 \times 10^{-3}$	$\sim 3 \times 10^{-4}$	$\sim 3 \times 10^{-3}$	$\sim 3 \times 10^{-3}$
$NaNO_3$ (M)	1.76×10^{-2}	-	1.76×10^{-2}	1.76×10^{-3}	1.76×10^{-2}	1.76×10^{-2}
$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ (M)	1.75×10^{-4}	1.75×10^{-4}	1.75×10^{-4}	1.75×10^{-5}	1.75×10^{-4}	1.75×10^{-4}
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (M)	3.04×10^{-4}	3.04×10^{-4}	3.04×10^{-4}	3.04×10^{-5}	3.04×10^{-4}	3.04×10^{-4}
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (M)	2.45×10^{-4}	2.45×10^{-4}	2.45×10^{-4}	2.45×10^{-5}	2.45×10^{-4}	2.45×10^{-4}
Na_2CO_3 (M)	1.89×10^{-4}	1.89×10^{-4}	1.89×10^{-4}	1.89×10^{-5}	1.89×10^{-4}	1.89×10^{-4}
$NaHCO_3$ (g/l)	-	-	-	-	-	1.7
$MgNa_2EDTA{\cdot}H_2O$ (M)	1.04×10^{-3}	1.04×10^{-3}	1.04×10^{-3}	1.04×10^{-3}	1.04×10^{-3}	1.04×10^{-3}
HEPES Buffer	-	-	-	-	1.2 (g/l)	-
Yeast Extract	-	-	-	0.25 (g/l)	-	-
Peptone	-	-	-	0.25 (g/l)	-	-
Glucose	-	-	-	0.25 (g/l)	-	-
Starch	-	-	0.04 (g/l)	-	-	-
---------- Micro nutrients (A5: Trace metal solution) ----------						
H_3BO_3 (M)	4.63×10^{-5}	4.63×10^{-5}	4.63×10^{-5}	4.63×10^{-6}	4.63×10^{-5}	4.63×10^{-5}
$MnCl_2{\cdot}4H_2O$ (M)	9.15×10^{-6}	9.15×10^{-6}	9.15×10^{-6}	9.15×10^{-7}	9.15×10^{-6}	9.15×10^{-6}
$ZnSO_4{\cdot}7H_2O$ (M)	7.65×10^{-7}	7.65×10^{-7}	7.65×10^{-7}	7.65×10^{-8}	7.65×10^{-7}	7.65×10^{-7}
$CuSO_4{\cdot}5H_2O$ (M)	3.16×10^{-7}	3.16×10^{-7}	3.16×10^{-7}	3.16×10^{-8}	3.16×10^{-7}	3.16×10^{-7}
$Na_2MoO_4{\cdot}2H_2O$ (M)	3.16×10^{-7}	3.16×10^{-7}	3.16×10^{-7}	3.16×10^{-8}	3.16×10^{-7}	3.16×10^{-7}
$Co(NO_3)_2{\cdot}6H_2O$ (M)	1.70×10^{-7}	1.70×10^{-7}	1.70×10^{-7}	1.70×10^{-8}	1.70×10^{-7}	1.70×10^{-7}

Table 2 shows the chemical composition of Chu No.10 and Z8 basal solution media

Chu No.10 (Component: Concentration)			Z8 basal solution (Component: Concentration)		
$Ca(No_3)_2$	:	40 mg / lite	$MgSO_4{\cdot}7H_2O$	:	0.25 g / lite
$MgSO_4$	:	25 mg / lite	$NaNO_3$	:	0.467 g / lite
K_2HPO_4	:	5 mg / lite	$Ca(NO_3)_2{\cdot}4H_2O$	:	59 mg / lite
Na_2CO_3	:	20 mg / lite	NH_4Cl	:	31 mg / lite
Na_2SiO_3	:	25 mg / lite	Na_2CO_3	:	0.02 g / lite
$FeCl_3$	:	8 mg / lite	FeEDTA solution	:	10 ml / lite
Trace metal solution	:	1.0 ml	Trace metal solution	:	1.0 ml

Table 3 displays the number of cyanobacteria cells cultured in the eight types of media over a 35-day period. Alphabet letters (a-d) denote homogeneous subsets based on the post hoc test (DMRT), and 'n' indicates no group

Day(s) \ Medium	BG11 normal		BG11 zero		BG11 Kanokkarn		BG11 PGY	
	$\bar{x}$ (Cell/ml)	S.D.	$\bar{x}$ (Cell/ml)	S.D.	$\bar{x}$ (Cell/ml)	S.D.	$\bar{x}$ (Cell/ml)	S.D.
0	9.533E+4	0.00E+0	9.533E+4	0.00E+0	9.533E+4	0.00E+0	9.533E+4	0.00E+0
7	2.092E+6 ^{c}	9.51E+5	1.174E+6 ^{b}	1.11E+6	4.367E+5 ^{a}	3.45E+5	0.000E+0 ^{n}	0.00E+0
14	8.511E+6 ^{d}	2.64E+6	1.380E+6 ^{a}	1.61E+6	2.790E+6 ^{b}	1.78E+6	0.000E+0 ^{n}	0.00E+0
21	1.435E+7 ^{c}	4.43E+6	1.310E+6 ^{a}	9.64E+5	1.211E+7 ^{bc}	3.42E+6	0.000E+0 ^{n}	0.00E+0
28	1.562E+7 ^{c}	3.80E+6	1.527E+6 ^{a}	9.41E+5	1.467E+7 ^{c}	3.31E+6	0.000E+0 ^{n}	0.00E+0
35	1.713E+7 ^{d}	4.22E+6	2.111E+6 ^{a}	3.03E+6	1.665E+7 ^{d}	3.66E+6	0.000E+0 ^{n}	0.00E+0
Day(s) \ Medium	Chu No.10		Z8 Basal solution		BG12		BG13	
	$\bar{x}$ (Cell/ml)	S.D.	$\bar{x}$ (Cell/ml)	S.D.	$\bar{x}$ (Cell/ml)	S.D.	$\bar{x}$ (Cell/ml)	S.D.
0	9.53E+04	0.00E+00	9.53E+04	0.00E+00	9.533E+04	0.000E+00	9.533E+04	0.000E+00
7	3.78E+05 ^{a}	2.90E+05	2.58E+05 ^{a}	4.87E+05	1.196E+06 ^{b}	5.671E+05	1.557E+06 ^{b}	7.980E+05
14	3.26E+06 ^{b}	1.10E+06	4.52E+05 ^{a}	2.94E+05	6.630E+06 ^{c}	1.550E+06	5.874E+06 ^{c}	1.376E+06
21	3.72E+06 ^{a}	7.51E+05	1.62E+06 ^{a}	6.10E+05	9.174E+06 ^{b}	1.605E+06	1.096E+07 ^{b}	8.612E+06
28	4.70E+06 ^{b}	1.10E+06	3.53E+06 ^{b}	4.07E+05	1.416E+07 ^{c}	3.548E+06	1.411E+07 ^{c}	3.536E+06
35	4.46E+06 ^{b}	1.55E+06	4.81E+06 ^{b}	9.90E+05	1.616E+07 ^{d}	3.764E+06	1.382E+07 ^{c}	3.333E+06

Table 4 provides the natural logarithm (ln) values of cyanobacteria cells cultured in the eight types of media for 35 days

Day (s) \ medium	BG11	BG11-0	BG11-K	BG11-PGY	Chu	Z8	BG12	BG13
0	11.4651306	11.4721035	11.4651306	11.4651306	11.4651306	11.4651306	11.4651306	11.4651306
7	14.5536948	13.9762112	12.9869568	-	12.8420172	12.4608773	13.9946412	14.2580789
14	15.9569092	14.1376424	14.8416297	-	14.9964706	13.0222452	15.7071795	15.5859813
21	16.4789352	14.0858430	16.3093667	-	15.1294197	14.2990541	16.0319022	16.2093936
28	16.5640627	14.2390339	16.5010851	-	15.3623462	15.0779276	16.4661626	16.4623263
35	16.6560650	14.5627994	16.6276604	-	15.3113692	15.3854958	16.5978566	16.4417774

Table 5 shows the percentage mortality of two species of snail pests tested with solutions extracted from the cyanobacteria isolate HMLB05 cultured with four media over 24 and 48 hours, total (100%) = 20 (n=5, rep=4), Control: Concentration = 0 µg/ml

[---------- *Subulina octona* ----------]											[-----*Sarika siamensis*-----]		
BG11 medium			BG12 medium			BG13 medium			BG11-K medium			BG11-K medium		
Conc.	% Mortality		Conc.	% Mortality		Conc.	% Mortality		Conc.	% Mortality		Conc.	% Mortality	
(µg/ml)	24 hrs.	48 hrs.	(µg/ml)	24 hrs.	48 hrs.	(µg/ml)	24 hrs.	48 hrs.	(µg/ml)	24 hrs.	48 hrs.	(µg/ml)	24 hrs.	48 hrs.
742	100	100	**616**	100	100	**464.8**	100	100	**966**	100	100	**552**	100	100
636	100	100	**528**	100	100	**398.4**	100	100	**828**	100	100	**483**	100	100
530	100	100	**440**	100	100	**332**	100	100	**690**	100	100	**414**	100	100
424	100	100	**352**	100	100	**265.6**	100	100	**552**	100	100	**345**	100	100
318	55	80	**264**	100	100	**199.2**	30	80	**414**	100	100	**276**	95	100
212	40	80	**176**	55	75	**132.8**	30	55	**276**	90	100	**207**	65	75
106	15	70	**88**	15	70	**66.4**	25	50	**138**	35	85	**138**	10	40
Control	0	0	Control	0	0	Control	0	0	Control	0	0	Control	0	0

Table 6 shows the Lethal Concentration 50 (LC_{50}) calculated from the mortality rate of snail pest using probit analysis with 95% confidence limits for cyanobacteria isolate HMLB05 (µg/ml)

Cultural Medium (Snail pest species)	24 hours			48 hours		
	LC_{50}(µg/ml)	Lower bound	Upper bound	LC_{50}(µg/ml)	Lower bound	Upper bound
BG11 (*S. octona*)	251.99	207.1777	297.4663	127.09	0.0000	213.4738
BG12 (*S. octona*)	156.79	146.5620	167.1843	95.16	37.8858	140.6806
BG13 (*S. octona*)	172.14	108.3063	240.5597	109.38	67.8723	145.4936
BG11-K (*S. octona*)	173.59	158.5200	188.4995	104.19	61.6775	118.0163
BG11-K (*S. siamensis*)	193.48	184.8502	201.8523	158.19	146.9006	168.1122

Table 7 presents parameter estimation concerning probit analysis for the 24 and 48-hour Lethal concentration value of cyanobacteria isolate HMLB05 with *Subulina octona*

Probit analysis for	Parameter Estimate (Probit model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX					
Lethal concentration 24 hours	Regression coefficient (B)	0.013429033	S.E.	0.001250842	Coeff / S.E.	10.73599654
	Intercept	-2.331200514	S.E.	0.242225568	Intercept / S.E.	-9.624089352
Lethal concentration 48 hours	Regression coefficient (B)	0.031101974	S.E.	0.00886215	Coeff / S.E.	3.509529127
	Intercept	-3.240373383	S.E.	1.213276256	Intercept / S.E.	-2.67076304

Table 8 presents parameter estimation concerning probit analysis for the 24 and 48-hour Lethal concentration value of cyanobacteria isolate HMLB05 with *Sarika siamensis*

Probit analysis for	Parameter Estimate (Probit model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX					
Lethal concentration 24 hours	Regression coefficient (B)	0.0217211	S.E.	0.001941493	Coeff / S.E.	11.18781807
	Intercept	-4.2026676	S.E.	0.394712742	Intercept / S.E.	-10.64740805
Lethal concentration 48 hours	Regression coefficient (B)	0.0179587	S.E.	0.001806178	Coeff / S.E.	9.942944907
	Intercept	-2.8408802	S.E.	0.328798949	Intercept / S.E.	-8.640174435

Table 9 compares the lethal concentration ($LC_{8.33}$ to LC_{99}) of *Subulina octona* tested with cyanobacteria isolate HMLB05 (24 hours) and the lethal concentration of *A. gracile* tested with different types, conditions, and concentrations of plant extracts, * Box size = 75 cm^2

Cyanobacteria HMLB05 (Biomass; µg/ml)	Probability (%Mortality at 24 hours)	*Allopeas gracile* (ปราสาททองและคณะ 2553)	*Allopeas gracile* (ปราสาททองและคณะ 2560)
70.8316	0.0833 (8.33)	Nearly *S. tuberosa* 0.75 g/Box * 24 hrs.	
78.1627	0.1 (10)		
110.9223	0.2 (20)		
134.5443	0.3 (30)		
141.5739	0.33 (33.33)	Nearly *S. tuberosa* 1 g/Box * 24 hrs.	
154.7284	0.4 (40)		
173.5941	0.5 (50) [LC_{50}]		Nearly *C. oleifera* (sowing) 5 kg/rai 24 hrs.
189.2318	0.583 (58.33)	Nearly *D. elliptica* 0.025 ml/Box *, 24 hrs.	
192.4597	0.6 (60)		
212.6438	0.7 (70)		
213.0607	0.7025 (70.25)		Nearly *C. oleifera* (bait) 1 kg/rai 24 hrs.
236.2658	0.8 (80)		
269.0255	0.9 (90)		Nearly *C. oleifera* (bait) 5 kg/rai 24 hrs.
277.8458	0.9187 (91.87)		Nearly *C. oleifera* (spraying) 4% W/V 24 hrs.
346.8268	0.99 (99)	Nearly *D. elliptica* 0.05 ml/Box *, 24 hrs.	

Table 10 compares the lethal concentration (LC_{10} to LC_{99}) of *Subulina octona* tested with cyanobacteria isolate HMLB05 (48 hours) and the lethal concentration of *A. gracile* tested with different types, conditions, and concentrations of plant extracts, * Box size = 75 cm^2

Cyanobacteria HMLB05 (Biomass; µg/ml)	Probability (%Mortality at 48 hours)	*Allopeas gracile* (ปราสาททองและคณะ 2553)	*Allopeas gracile* (ปราสาททองและคณะ 2560)
62.9806	0.1 (10)		
72.9977	0.1666 (16.66)	Nearly *S. tuberosa* 0.75 g/Box *, 48 hrs.	
77.1254	0.2 (20)		
87.3248	0.3 (30)		
96.0398	0.4 (40)		
104.1855	0.5 (50) [LC_{50}]		
106.7576426	0.5325 (53.25)		Nearly *C. oleifera* (spraying) 4% W/V 48 hrs.
110.9374	0.5833 (58.33)	Nearly *D. elliptica* 0.025 ml/Box *, 48 hrs.	
112.3312	0.6 (60)		
118.0109	0.6666 (66.66)	Nearly *S. tuberosa* 1 g/Box *, 48 hrs.	
121.0461	0.7 (70)		
131.2455	0.8 (80)		
134.408621	0.8257 (82.57)		Nearly *C. oleifera* (bait) 1 kg/rai 48 hrs.
145.3903	0.9 (90)		
154.9860933	0.943 (94.30)		Nearly *C. oleifera* (bait) 2 kg/rai 48 hrs.
159.4874154	0.9576 (95.76)		Nearly *C. oleifera* (sowing) 5 kg/rai 48 hrs.
178.9829	0.99 (99)	Nearly *D. elliptica* 0.05 ml/Box *, 48 hrs.	

Table 11 compares the lethal concentration (LC_5 to LC_{99}) of *Sarika siamensis* tested with cyanobacteria isolate HMLB05 (24 hours) and the lethal concentration of *S. siamensis* tested with different types, conditions, and concentrations of plant extracts, * Box size = 75 cm^2

Cyanobacteria HMLB05 (Biomass; µg/ml)	Probability (%Mortality) at 24 hours)	*Sarika siamensis* (ปราสาททองและคณะ 2553)	*Sarika siamensis* (ปราสาททองและคณะ 2560)
117.7572	0.05 (5)		
134.4830	0.1 (10)		
154.7366	0.2 (20)		
169.3409	0.3 (30)		
181.8197	0.4 (40)		
193.4834	0.5 (50)		
205.1470	0.6 (60)		
213.2799	0.666 (66.6)	Nearly *D. elliptica* 1 ml/box *, 24 hrs.	
217.6258	0.7 (70)		
232.2301	0.8 (80)		
252.4837	0.9 (90)		
254.2539	0.906 (90.6)		Nearly *C. oleifera* (sowing) 5 kg/rai 24 hrs.
269.2095	0.95 (95)		
300.5843	0.99 (99)		

Table 12 compares the lethal concentration ($LC_{91.1}$ to $LC_{99.99}$) of *Sarika siamensis* tested with cyanobacteria isolate HMLB05 (48 hours) and the lethal concentration of *S. siamensis* tested with different types, conditions, and concentrations of plant extracts, * Box size = 75 cm^2

Cyanobacteria HMLB05 (Biomass; µg/ml)	Probability (%Mortality) at 48 hours)	*Sarika siamensis* (ปราสาททองและคณะ 2553)	*Sarika siamensis* (ปราสาททองและคณะ 2560)
66.5986	0.05 (5)		
86.8285	0.1 (10)		
111.3252	0.2 (20)		
128.9891	0.3 (30)		
144.0822	0.4 (40)		
158.1894	0.5 (50)		
172.2966	0.6 (60)		
187.3897	0.7 (70)		
205.0536	0.8 (80)		
229.5503	0.9 (90)		
233.3617	0.911 (91.1)		Nearly *C. oleifera* (sowing) 5 kg/rai 48 hrs.
249.7801	0.95 (95)		
287.7279	0.99 (99)		
330.8074	0.999 (99.9)	Nearly *D. elliptica* 1 ml/box *, 48 hrs.	

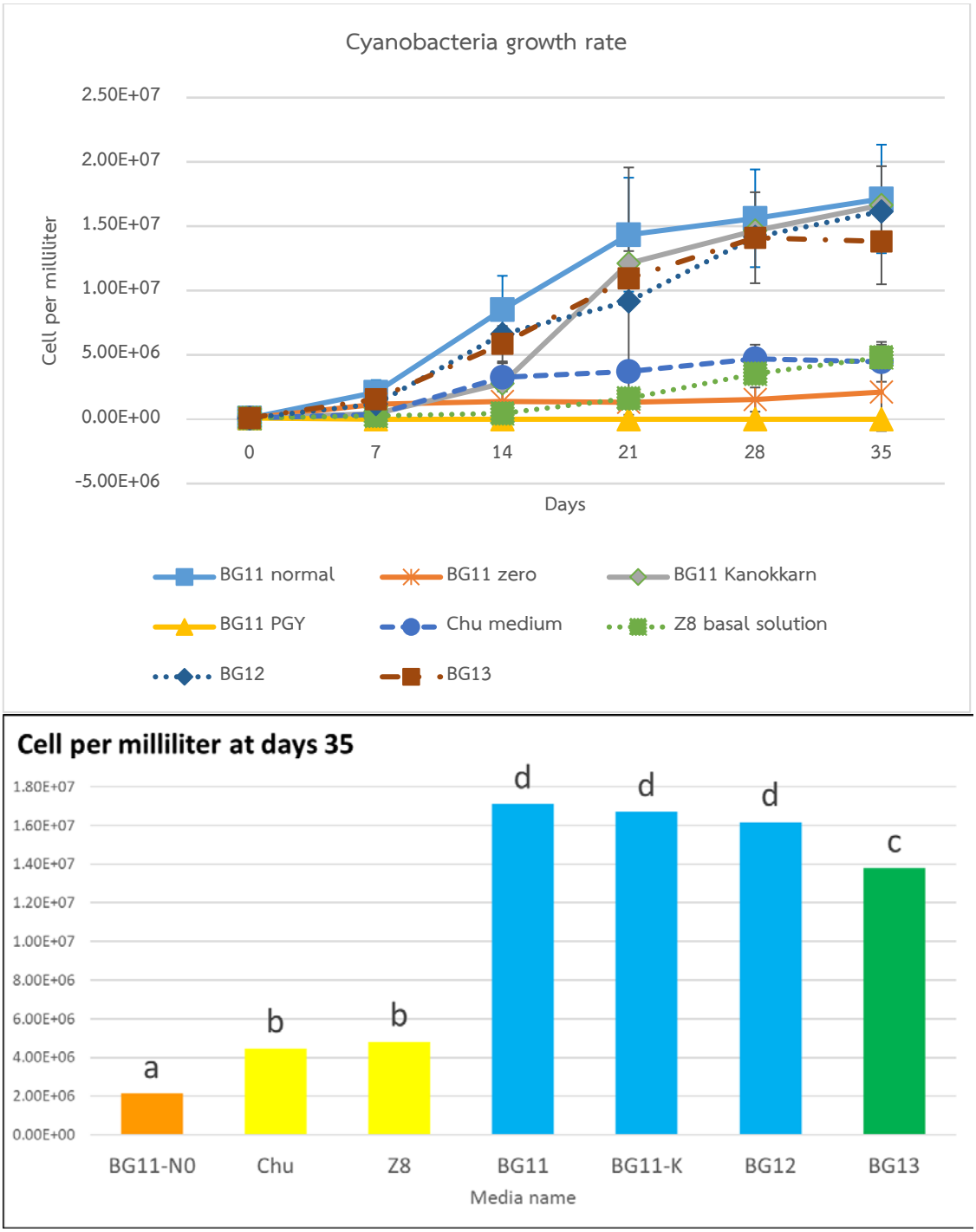


Figure 1 depicts the graph of growth rates of the highly molluscicidal cyanobacteria isolate HMLB05 cultured in the eight types of media (days 0 to day 35) and cells per milliliter at only 35 days (Histogram)

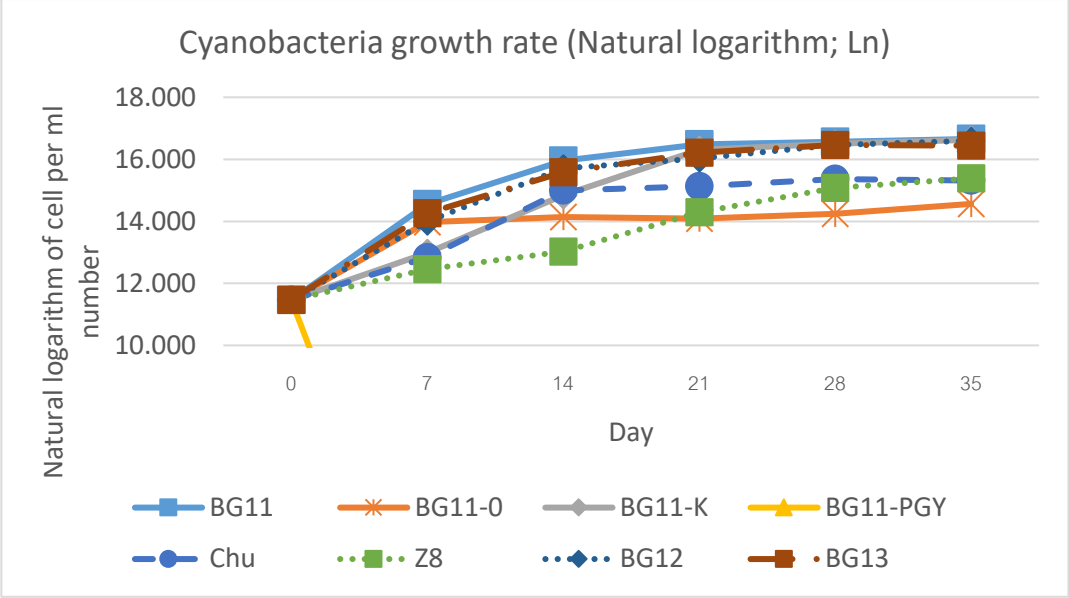


Figure 2 illustrates the growth rates of the highly molluscicidal cyanobacteria isolate HMLB05 cultured in the eight types of media (natural logarithm) over 35 days

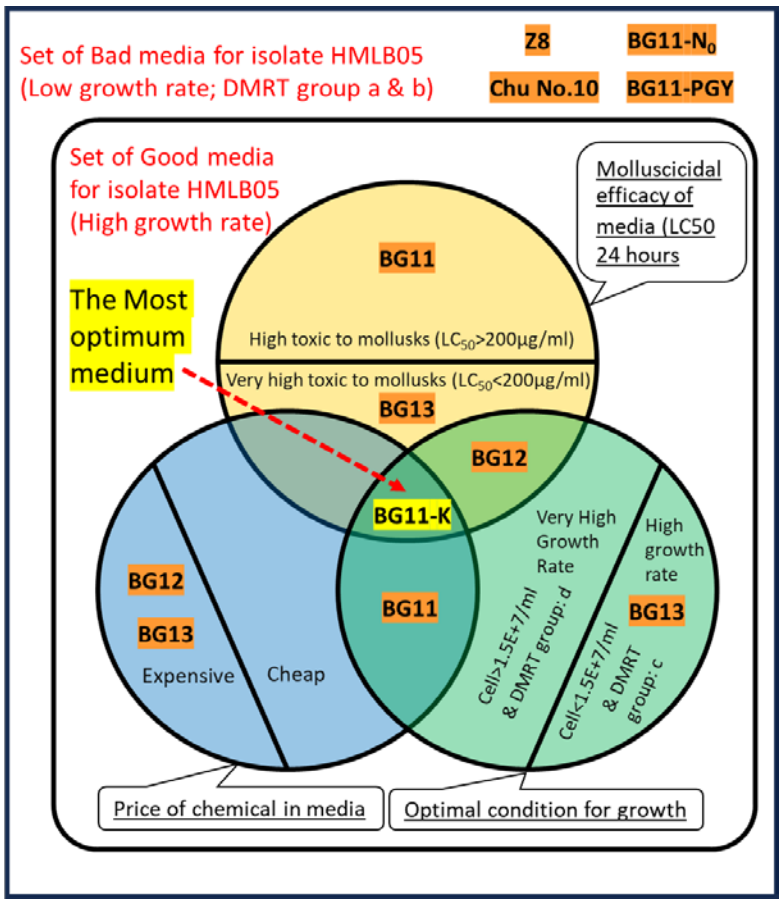


Figure 3 presents a Venn-Euler diagram indicating the most optimum medium for producing cyanobacteria with high molluscicidal activity, identified as BG11-K

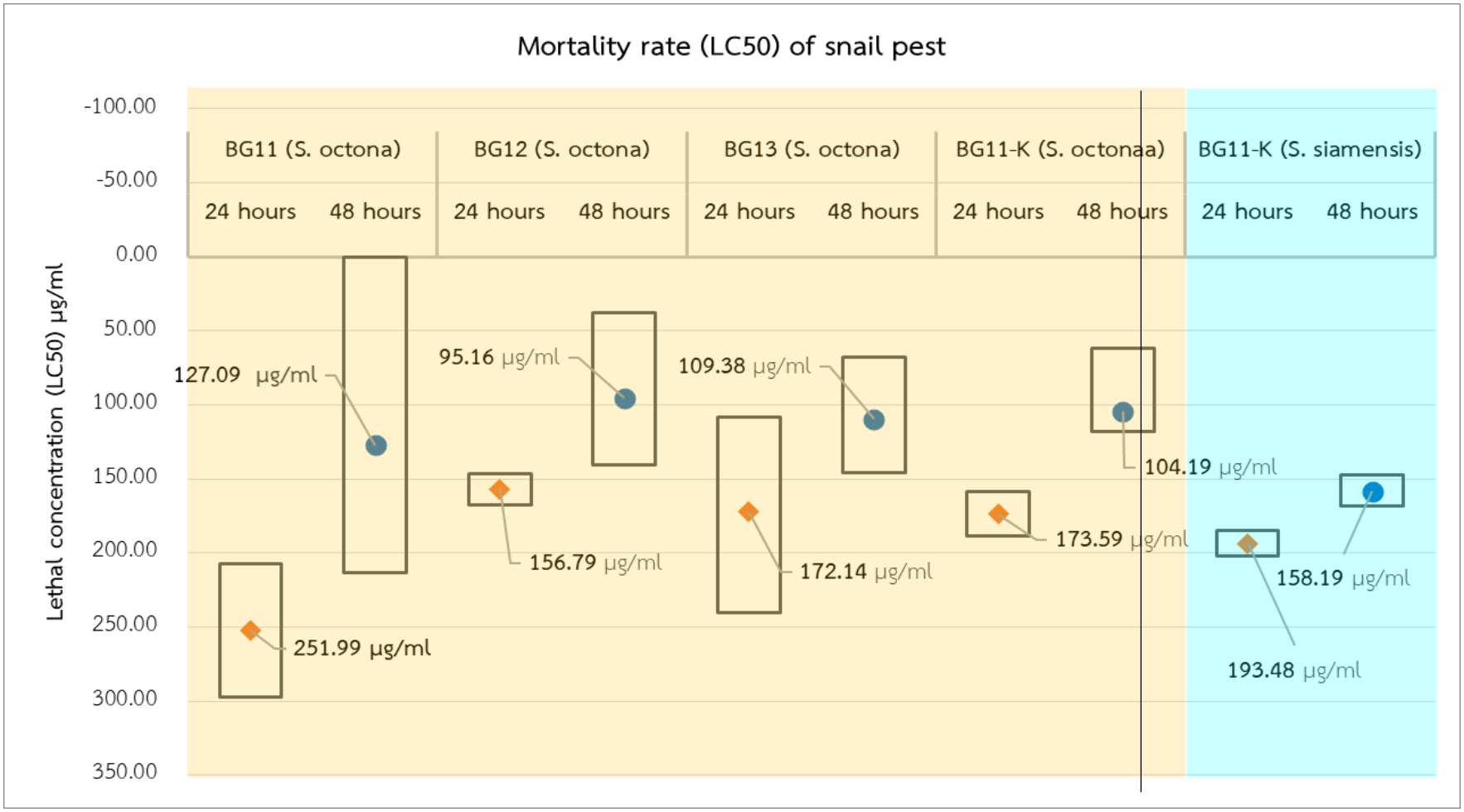


Figure 4 shows the lethal concentration (LC_{50}, with upper and lower bounds) at 24 hours (solid square) and 48 hours (solid circle) of cyanobacteria isolate HMLB05 for the pest snail species *S. octona* & *S. siamensis* cultured in the four media of cyanobacteria

Figure 5 shows the shaking water bath modified for the cultivation of the highly molluscicidal cyanobacteria isolate HMLB05 in BG11 medium on the first day

Figure 6 displays the shaking water bath modified for the cultivation of the highly molluscicidal cyanobacteria isolate HMLB05 in BG11 medium on the 14th day.

Figure 7 shows cyanobacterial extraction from HMLB05 cultured in four types of media and evaporated using rotary evaporation

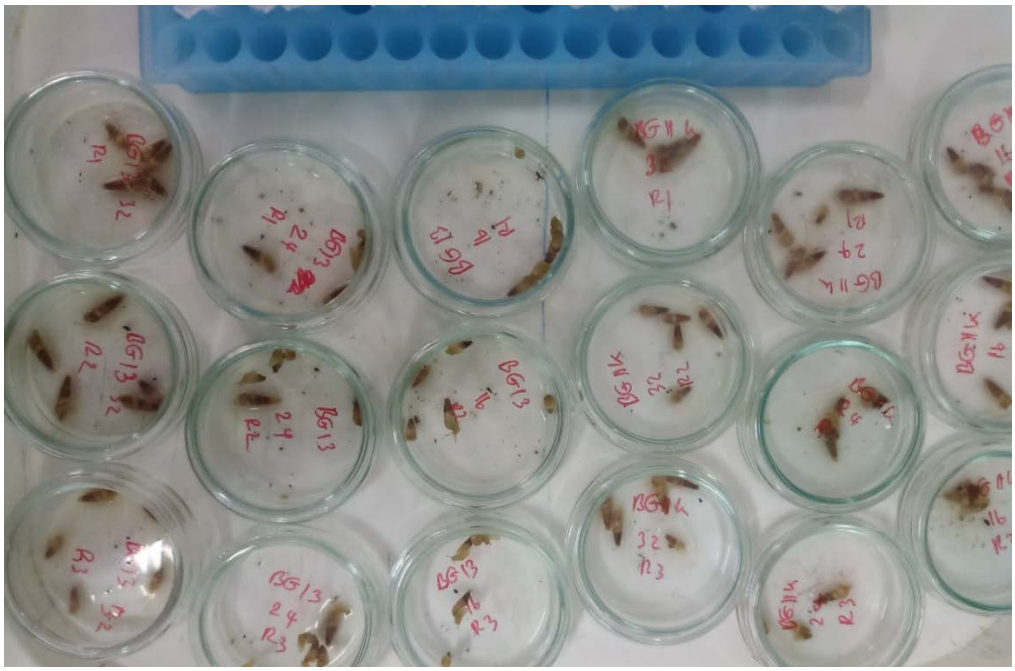


Figure 8 depicts the snail pest (*S. octona*) collected from an orchid farm in Phichit province being tested for the molluscicidal activity of the cyanobacteria isolate HMLB05

การทดสอบประสิทธิภาพความรุนแรงก่อโรคของโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria*

Efficacy trial of *Eimeria* in laboratory rats and mice

วิชาญ วรรธนะไกวัล ทัสดาว เกตุเนตร สมเกียรติ กล้าแข็ง ดาราพร รินทะรักษ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The efficacy trial of *Eimeria* in laboratory rats and mice were conduct during October 2022 – September 2024 at laboratory of Agricultural Zoology Research Group, Entomology and Zoology Group, Plant Protection Reseach and Development Office, Department of Agriculture. The treatments were in CRD with 4 treatments and 10 replications. The 4 treatments were oral feeding with oocysts suspention concentrations 500, 5,000 and 50,000 oocysts (treatment 1-3) respectively were compared to the untreated (treatment 4). It was found that the efficacy of 2 isolates of *Eimeria* oocysts caused severe clinical illness and mortality, *E. ferrisi* isolate UTN 02 and *E. ferrisi* isolate MJ04 after propagation in Jcl:ICR mice 8 weeks at concentrations 500 and 5,000 oocysts (treatment 1 and 2) unable to mortality of rats. While at concentration 50,000 oocysts (treatment 3) caused mortality 50, 60% at 1, 1-5 dpi (days post infection) occurred in *R. rattus* and mortality 10, 30% at 6, 1-2 dpi occurred in *M. cervicolor* respectively.

Keywords : *Eimeria* protozoa, pathology in rats and mice

รหัสการทดลอง FF65-10-05-65-02-02-66

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพการก่อโรคในหนูทดลองของโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ดำเนินการทดลองตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2565 – กันยายน 2567 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี 10 ซ้ำ โดยการให้สารแขวนลอยโอโอซีสต์โดยตรงทางปากกับหนูทดลองที่ระดับความเข้มข้น 500, 5,000 และ 50,000 โอโอซีสต์ (กรรมวิธีที่ 1-3) ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีให้น้ำเปล่า (กรรมวิธีที่ 4) ผลการทดลองพบว่า โอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02 และ *E. ferrisi* isolate MJ04 หลังจากเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลอง สายพันธุ์ Jcl:ICR อายุ 8 สัปดาห์ กับหนูทดลองจากธรรมชาติ 2 ชนิด คือ หนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) และ หนูหริ่งนาหางสั้น (*Mus cervicolor*) สารแขวนลอยโอโอซีสต์ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 5,000 โอโอซีสต์ในกรรมวิธีที่ 1 และ 2 นั้นไม่สามารถทำให้หนูทดลองทั้ง 2 ชนิดป่วยและตายได้ ขณะที่ระดับความเข้มข้น 50,000 โอโอซีสต์ สามารถทำให้หนูท้องขาวบ้าน และหนูหริ่งนาหางสั้นป่วยและตายได้ ร้อยละ 50, 60 และ 10, 30 ที่ระยะเวลา 1, 1-5 วัน และ 6, 1-2 วัน ภายหลังจากได้รับเชื้อ (dpi) ตามลำดับ

คำหลัก : โปรโตซัวสกุล *Eimeria* การก่อโรคในหนูทดลอง

คำนำ

สารชีวินทรีย์กำจัดหนู (bio-rodenticide) ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ผลิตขึ้นจากปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singsporensis* Zaman & Colley (1976) เป็นค็อคซิเดียโปรโตซัว (coccidia protozoa) ที่อยู่ใน Phylum Apicomplexa มีความจำเพาะต่อสัตว์อาศัย 2 ชนิด ได้แก่ สัตว์อาศัยตัวกลาง (intermediate hosts) คือหนูสกุลท้องขาว (*Rattus*) และสกุลพุก (*Bandicota*) โดยมีงูเหลือม (*Python reticulatus*) เป็นสัตว์อาศัยสุดท้าย (final hosts) (ยุวลักษณ์ และคณะ, 2539; กลุ่มงานสัตว-วิทยาการเกษตร, 2544; Jakel *et al*., 1996) ดังนั้นจึงมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก ด้วยความจำเพาะต่อชนิดของสัตว์อาศัยทำให้ยังเหลือสกุลหนูหริ่ง (*Mus*) อีก 1 สกุล ที่ยังไม่มีสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูที่จำเพาะต่อหนูชนิดนี้ ซึ่งหนูหริ่งนั้นเป็นศัตรูสำคัญของข้าวและธัญพืชที่สำคัญในประเทศไทย อีกทั้งการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูจากปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ในปัจจุบันนั้น ต้องมีการเลี้ยงงูเหลือมและหนูเพื่อใช้ในการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู ซึ่งการเลี้ยงงูเหลือมจัดเป็นงานที่มีภาระต้องรับผิดชอบสูงทั้งในเรื่องค่าใช้จ่าย บุคลากร รวมไปถึงสถานที่เลี้ยง

โปรโตซัวสกุล *Eimeria* Schneider, 1875 เป็นค็อคซิเดียโปรโตซัว อยู่ในวงศ์ (family) Eimeriidae ในไฟลัม (phylum) Apicomplexa เป็นโปรโตซัวที่ตลอดวงจรชีวิตมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction หรือ gamogony) และมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction หรือ merogony) ดำรงชีวิตอยู่ในบริเวณทางเดินอาหาร (intestinal parasite) ของสัตว์อาศัยเพียงชนิดเดียว (monoxenous host) (Macova, 2013) ในระยะสุดท้ายของการเจริญเติบโตมีการสร้างโอโอซีสต์ (oocysts) ซึ่งเป็นระยะติดเชื้อมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ โดยจะถูกขับออกมาพร้อมกับมูลของสัตว์อาศัยสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก พร้อมที่จะเข้าสู่ร่างกายของสัตว์อาศัยตัวใหม่โดยการปนเปื้อนในแหล่งน้ำและอาหารตามธรรมชาติ เพื่อเริ่มวงจรชีวิตใหม่ต่อไป (Duszynski and Upton, 2000; Berto *et al*., 2009) สัตว์อาศัยของโปรโตซัวชนิดนี้สามารถพบได้ในสัตว์มีกระดูกสันหลังทั่วไป และมีหลายสปีชีส์ที่มีหนูเป็นสัตว์อาศัย (rodent hosts) อาทิเช่น *E. langebarteli, E. separate, E. nieschulzi, E. papillata, E. falciformis*, *E. sevilletensis, E. reedi, E. arizonensis, E. onychomysis* และ *E. albigulae* (Zhao and Duszynski, 2001) เป็นต้น ซึ่งโปรโตซัวสกุล *Eimeria* นั้นมีความจำเพาะเจาะจงกับชนิดของสัตว์อาศัยสูงมากในระดับสกุล (genus specific) (Long and Joyner, 1984: Zhao and Duszynski. 2001) อีกทั้งโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ในแต่ละสปีชีส์นั้นไม่สามารถติดต่อข้ามระหว่างสัตว์อาศัยต่างสกุลกันได้ (Hnida and Duszynski, 1999; Slapeta *et al*., 2001) สัตว์อาศัยที่มีการติดเชื้อโปรโตซัวสกุลนี้มักพบว่าป่วยเป็นโรค coccidiosis ซึ่งมีอาการท้องเสียและเป็นโรคในระบบลำไส้ น้ำหนักลด และตายในที่สุด ด้วยการที่มีสัตว์อาศัยเพียง ชนิดเดียว จึงเป็นการย่นระยะเวลา ขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู ทำให้สามารถผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูได้ในระยะเวลาที่สั้นลง และมีค่าใช้จ่ายที่ลดลงจากเดิมด้วยเช่นกัน อีกทั้งอาจสามารถพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูหริ่งศัตรูพืชได้ในอนาคต จากรายงานของ วิชาญ และคณะ (2562ก) ทำการทดลองคัดแยกโอโอซีสต์ของ *Eimeria* จากหนูศัตรูพืชตามธรรมชาติ พบว่าโอโอซีสต์ของ *Eimeria* จำนวน 6 ไอโซเลท ซึ่งคัดแยกได้จากมูลหนูท้องขาว จำนวน 4 ไอโซเลท (Rr K11, Rn BKK02, Ran MJ04 และ Ran KW03) และคัดแยกได้จากมูลหนูหริ่ง จำนวน 2 ไอโซเลท (Mce NKW05 และ Mpa MJ01) ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 5,000 โอโอซีสต์ มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ ร้อยละ 20-40 ภายใน 3-10 วัน หลังจากได้รับเชื้อ (dpi) ผลการจำแนกชนิดทางสัณฐานวิทยาจากลักษณะของโอโอซีสต์สอดคล้องกับผลการจำแนกชนิดทางชีวโมเลกุลบริเวณ 18S rDNA พบว่าเป็นโปรโตซัวในสกุล *Eimeria* ได้แก่ *E. nieschulzi* isolate K11 01, *E. ferrisi* isolate MJ01, *E. ferrisi* isolate MJ04, *E. nafuko* isolate NKW05, *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus andamanensis* isolate KW03 ตามลำดับ และจากรายงานของ วิชาญ และคณะ (2562ข) ทำการศึกษาการเพิ่มปริมาณของโอโอซีสต์ในเบื้องต้น โดยการให้โอโอซีสต์ของ *E. nieschulzi* isolate

K11 01 สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ จำนวน 2,500 โอโอซีสต์ โดยตรงทางปากกับหนูท้องขาวบ้าน จำนวน 10 ตัว พบโอโอซีสต์ถูกขับออกมาพร้อมกับมูลหนูที่ระยะเวลา 6 - 8 วัน และพบโอโอซีสต์สูงสุด (28±12 oocysts/µl) ที่ระยะเวลา 7 วัน ภายหลังจากได้รับเชื้อ (dpi)

ด้วยเหตุนี้เองจึงควรมีการทดลองเพิ่มเติมในเรื่องการเพิ่มปริมาณและคงประสิทธิภาพการก่อโรคในหนูของโปรโตซัว *Eimeria* สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ และการทดลองความเป็นพิษต่อสัตว์ชนิดอื่น เพื่อที่นำไปขยายผลเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูชนิดใหม่ที่มีความปลอดภัยสิ่งแวดล้อมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนูทดลอง 2 สกุล ได้แก่ หนูสกุลท้องขาว (*Rattus*) และหนูสกุลหริ่ง (*Mus*)
2. เครื่องปั่น (centrifuge) Hettich รุ่น universal 16A และตู้เย็น (4-10°C)
3. ตะแกรงกรองละเอียด (ขนาดความละเอียด 6-8 ไมครอน)
4. Blood counting chamber
5. หลอดปั่นขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร
6. สารเคมี Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$)
7. ชุดอุปกรณ์ผ่าตัด
8. Auto pipette และ Tips
9. กรงเลี้ยงเดี่ยวสำหรับหนูทดลองขนาด 23x52x22 เซนติเมตร
10. กรงดักหนูขนาด 14x28x14 เซนติเมตร
11. จานแก้วเพาะเชื้อ (petridish)
12. ที่ให้อาหารโดยตรงจากปากสู่กระเพาะ (feeding tube)
13. สารแขวนลอยโอโอซีสต์ของโปรโตซัว *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วย และตายได้ ที่ได้จากเพิ่มปริมาณในหนูทดลอง Jcl:ICR จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02 และ *E. ferrisi* isolate MJ04

วิธีการ

นำโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ ที่ได้จากเพิ่มปริมาณในหนูทดลอง Jcl:ICR จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02

และ *E. ferrisi* isolate MJ04 มาใช้ในการทดลองโดยทดสอบประสิทธิภาพในการก่อโรคกับ หนูท้องขาวบ้าน (*R. rattus*) และหนูหริ่งนาหางสั้น (*M. cervicolor*)

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) จำนวน 4 กรรมวิธี 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ให้โอโอซีสต์โดยตรงทางปากกับหนูจำนวน 500 โอโอซีสต์

กรรมวิธีที่ 2 ให้โอโอซีสต์โดยตรงทางปากกับหนูจำนวน 5,000 โอโอซีสต์

กรรมวิธีที่ 3 ให้โอโอซีสต์โดยตรงทางปากกับหนูจำนวน 50,000 โอโอซีสต์

กรรมวิธีที่ 4 ให้น้ำกลั่นโดยตรงทางปากกับหนูเป็นตัวเปรียบเทียบ (control)

วัดขนาดและชั่งน้ำหนักหนูก่อนทำการทดสอบ แยกหนูที่ใช้ทดสอบใส่กรงทดลองงดอาหารเป็นเวลา 1 คืน ก่อนการทดสอบ ดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพในการก่อโรคกับหนูตามกรรมวิธี หลังจากทำการทดสอบกับเชื้อทดลองแล้วให้อาหารและน้ำตามปกติ บันทึกระยะเวลาการตายของหนูและพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น ในกรณีหนูที่ทดสอบตาย ทำการตรวจหาโอโอซีสต์จากซากหนูและมูลหนู เมื่อครบ 14 วัน ทำการผ่าหนูทดลองที่เหลือ ตรวจนับปริมาณโอโอซีสต์และบันทึกพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น คำนวณหาร้อยละการตายของหนูทดลองและนำมาวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธีทางสถิติที่เหมาะสม

เวลาและสถานที่

เวลา ระหว่างเดือนตุลาคม 2565 – กันยายน 2566

สถานที่ กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการก่อโรคในหนูทดลองของโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02 และ *E. ferrisi* isolate MJ04 หลังจากเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลอง สายพันธุ์ Jcl:ICR อายุ 8 สัปดาห์ กับหนูทดลองจากธรรมชาติ 2 ชนิด คือ หนูท้องขาวบ้าน (*R. rattus*) และหนูหริ่งนาหางสั้น (*M. cervicolor*) พบว่า สารแขวนลอยโอโอซีสต์ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 5,000 โอโอซีสต์ (กรรมวิธีที่ 1 และ 2) นั้นไม่สามารถทำให้หนูทดลองทั้ง 2 ชนิดป่วยและตายได้ ขณะที่ระดับความเข้มข้น 50,000 โอโอซีสต์ (กรรมวิธีที่ 3) สามารถทำให้หนูท้องขาวบ้าน ป่วยและตายได้ ร้อยละ 50 และ 60 ที่ระยะเวลา 1 dpi และ 1-5 dpi ตามลำดับ (table 1) ขณะที่ทำให้หนูหริ่งนาหางสั้นป่วยและตายได้ ร้อยละ 10 และ 30 ที่ระยะเวลา 6 dpi และ 1-2 dpi ตามลำดับ (table 2)

จากผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่าสารแขวนลอยโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02 และ *E. ferrisi* isolate MJ04 หลังจากเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลองสายพันธุ์ Jcl:ICR อายุ 8 สัปดาห์ แล้วนั้นเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดหนูท้องขาวบ้านและหนูหริ่งนาหางสั้น พบว่าต้องใช้ระดับความเข้มข้นของโอโอซีสต์สูงถึง 50,000 โอโอซีสต์ ซึ่งมากขึ้นกว่าระดับ lethal dose (2,500 โอโอซีสต์) ในขั้นตอนทดสอบประสิทธิภาพของโอโอซีสต์ที่คัดแยกได้จากหนูตามธรรมชาติ (ก่อนเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลอง) จึงสามารถทำให้หนูท้องขาวบ้านและหนูหริ่งนาหางสั้นทดลองป่วยและตายได้ร้อยละ 50-60 และร้อยละ 10-30 ตามลำดับ แม้ว่าจะสามารถเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลองสายพันธุ์ Jcl:ICR ได้เฉลี่ย 45.33 oocysts/ul แต่เนื่องจากปริมาณโอโอซีสต์ที่สามารถผลิตขยายได้นั้นไม่สัมพันธ์กับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ (Bartley *et al*., 2023) ซึ่งการเพิ่มปริมาณเชื้อจากรุ่นสู่รุ่นในระยะติดเชื้อในแต่ละ passage จะมีผลทำให้ความรุนแรงในการก่อโรคนั้นลดลงและกลับเป็นการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์อาศัยให้สามารถสร้างภูมิต้านทานต่อเชื้อได้ (Long, 1972; Long, 1974; Mcdonald and Shirley, 2009) อีกทั้งการที่สัตว์ได้รับเชื้อโดยตรง (direct infection) ส่งผลทำให้ความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อลดลง แตกต่างกับการที่สัตว์อาศัยได้รับเชื้อโดยกลไกของสัตว์ผู้ล่าและเหยื่อตามธรรมชาตินั้น จะทำให้เชื้อมีความรุนแรงในการก่อโรคที่สูงขึ้น (Wang and Jiang, 2023) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้ ดังนั้นการผลิตขยายโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ที่มีประสิทธิภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ อาจต้องมีการศึกษาวิจัยและพัฒนาเพิ่มเติมในกระบวนการผลิตขยายเพื่อให้ได้มาซึ่งเชื้อที่ยังคงประสิทธิภาพในการก่อโรคกับสัตว์อาศัยไว้ได้ โดยอาศัยข้อมูลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ร่วมกับองค์ความรู้ที่ได้ศึกษาเพิ่มเติม

ในปัจจุบันมีเทคนิคการเพิ่มปริมาณค็อคซิเดียโปรโตซัวด้วยวิธี “host cell-free cultivation method” ซึ่งไม่ต้องเพิ่มปริมาณโปรโตซัวในสัตว์อาศัยหรือเซลล์ของสัตว์อาศัย (Feix *et al*., 2023) สอดคล้องกับรายงานของ Feix *et al*. (2021) ที่ใช้ host cell-free medium ในการเพิ่มปริมาณ *Cystoisospora suis* ซึ่งเป็นค็อคซิเดียโปรโตซัวที่มีสัตว์อาศัยชนิดเดียวเช่นเดียวกับโปรโตซัว *Eimeria* สามารถเพาะเลี้ยงโปรโตซัวได้ครบวงจรชีวิตจนถึงระยะโอโอซีสต์ และโอโอซีสต์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณมีขนาดเฉลี่ย 21.8x19.1 uM (n = 20) โดยมีระดับความเข้มข้น 400 oocysts/ml จากเชื้อเริ่มต้น 1.2x105 merozoites/ml ด้วยเหตุนี้เองเพื่อให้การเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ของเชื้อที่มีศักยภาพสามารถทำให้หนูตายได้ ยังคงประสิทธิภาพการกำจัดหนูไว้ได้ จำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในเรื่องการใช้ host cell-free medium รวมถึงการเพาะเลี้ยงเซลล์ หรือสูตรอาหารเทียมอื่นๆ (European Commission, 1995; Carrau *et al*., 2016) สำหรับการผลิตขยายโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria*

ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ เพื่อใช้สำหรับวิจัยและพัฒนาต่อยอดการนำไปใช้ผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูชนิดใหม่ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพการก่อโรคในหนูทดลองของโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02 และ *E. ferrisi* isolate MJ04 หลังจากเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลอง สายพันธุ์ Jcl:ICR อายุ 8 สัปดาห์ กับหนูทดลองจากธรรมชาติ 2 ชนิด คือ หนูท้องขาวบ้าน และหนูหริ่งนาหางสั้น พบว่า สารแขวนลอยโอโอซีสต์ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 5,000 โอโอซีสต์ ในกรรมวิธีที่ 1 และ 2 นั้นไม่สามารถทำให้หนูทดลองทั้ง 2 ชนิดป่วยและตายได้ ขณะที่ระดับความเข้มข้น 50,000 โอโอซีสต์ สามารถทำให้หนูท้องขาวบ้าน ป่วยและตายได้ ร้อยละ 50 และ 60 ที่ระยะเวลา 1 dpi และ 1-5 dpi ตามลำดับ ขณะที่ทำให้หนูหริ่งนาหางสั้นป่วยและตายได้ ร้อยละ 10 และ 30 ที่ระยะเวลา 6 dpi และ 1-2 dpi ตามลำดับ จากผลการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า สารแขวนลอยโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02 และ *E. ferrisi* isolate MJ04 หลังจากเพิ่มปริมาณ โอโอซีสต์ในหนูทดลองสายพันธุ์ Jcl:ICR อายุ 8 สัปดาห์ แล้วนั้นมีประสิทธิภาพในการกำจัด หนูท้องขาวบ้านและหนูหริ่งนาหางสั้น ลดลงจากเดิมก่อนเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลอง โดยต้องใช้ระดับความเข้มข้นของโอโอซีสต์ 50,000 โอโอซีสต์ จึงสามารถทำให้หนูท้องขาวบ้านและหนูหริ่งนาหางสั้นทดลองป่วยและตายได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษา วิจัยและพัฒนาเพิ่มเติมในด้านการผลิตขยายเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ โดยใช้เทคนิคหรือวิธีการอื่นทดแทนการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลอง เพื่อทำให้สามารถผลิตขยายโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นและยังคงประสิทธิภาพการทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยทำให้งานวิจัยลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร. 2544. หนูและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย 136 หน้า

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และ T. Jackle. 2539. การแพร่ระบาดของ *Sarcocystis* ในหนูศัตรูพืชในประเทศไทย. หน้า 207 – 214. *ใน*: รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช 2539 ภาคแผ่นภาพ ครั้งที่ 10 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

วิชาญ วรรธนะไกวัล ปราสาททอง พรหมเกิด สมเกียรติ กล้าแข็ง และทรงทัพ แก้วตา. 2562ก. การคัดแยกและศึกษาศักยภาพการก่อโรคในหนูศัตรูพืชของค็อคซิเดียโปรโตซัวในลำไส้ (Apicomplexa: Eimeriidae) จากหนูศัตรูพืชสกุล *Rattus* และ *Mus* ที่พบในประเทศไทย. หน้า 60 – 80. *ใน*: การประชุมวิชาการประจำปีสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 10-12 มิถุนายน 2562 ณ โรงแรมรอยัล ฮิลล์ กอล์ฟ รีสอร์ท แอนด์ สปา จังหวัดนครนายก.

วิชาญ วรรธนะไกวัล ปราสาททอง พรหมเกิด สมเกียรติ กล้าแข็ง และทรงทัพ แก้วตา. 2562ข. การศึกษาศักยภาพการก่อโรคในหนูศัตรูพืชและการเพิ่มปริมาณของค็อคซิเดียโปรโตซัวในลำไส้ (Apicomplexa: Eimeriidae) จากหนูศัตรูพืชสกุล *Rattus* และ *Mus* ที่พบในประเทศไทย. หน้า 22 – 23. *ใน*: การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 14. 12-14 พฤศจิกายน 2562 ณ โรงแรมดุสิตธานี หัวหิน อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี.

Bartley, P.M., S. Thomson, N.N. Jonsson, A. Taroda, A.I. Elisabeth and F. Katzer. 2023. Differences in virulence and oocyst shedding profiles in lambs experimentally infected with different isolates of *Cryptosporidium parvum*. Parasitology and Vector-Borne Disease 4. 100127.

Berto, B.P., H.R. Luz, W. Flausino, I. Ferreira and C.W. Lopes. 2009. New species of *Eimeria* Schneider, 1875 and Isospora Schneider, 1881 (Apicomplex: Eimeriidae) from the shortcrested flycatcher Myiarchus ferox (Gmelin) (Passeriformes: Tyrannidae) in South America. Systematic of parasitology. 74: 75-80.

Carrau., T., L.M.R. Silva, D. Perez, R.R. Ybanez, A. Taubert and C. Hermosilla. 2016. First description of an in vitro culture system for Eimeria ovinoidalis macromeront formation in primary host endothelial cell. Parasitology International. 65: 516-519.

Duszynski, D.W. and S.J. Upton. 2000. *Cyclospora*, *Eimeria*, *Isospora*, and *Cryptosporidium* spp. Parasitic Diseases of wild mammals, 2nd edition. Iowa state press, pp. 416-433.

European Commision. 1995. Guidelines on techniques in coccidiosis research. (Online). Available. https://www.researchgate.net/post/download (30 May, 2024)

Feix, A.S., T.Cruz-Bustos, B. Ruttkowski, M. Motz, T. Rumennap and A. Joachim. 2021. Progression of asexual to sexual stages of Cystoisospora suis in a host cell-free environment as a model for coccidia. Parasitology. 1-7.

Feix, A.S., T.Cruz-Bustos, B. Ruttkowski and A. Joachim. 2023. In vitro cultivation methods for coccidian parasite research. International Journal for Parasitology. 53: 477-489.

Hnida, J.A. and D.W. Duszynski. 1999. Taxonomy and phylogeny of some *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) species of rodents as determined by polymerase chain reaction/restriction fragment-length polymorphism analysis of 18S rDNA. Parasitology Research. 85: 887-894.

Jaekel, T., H. Burgstaller and W. Frank. 1996. *Sarcocystis singaporensis*: Studies on host specificity, pathogenicity, and potential use as a biocontrol agent of wild rats. Journal of Parasitology. 82: 280-287.

Long, P.L. 1972. *Eimeria tenella*: reproduction, pathogenicity and immunogenicity of a strain maintained in chick embryos by serial passage. Journal of Comparative Pathology. 82: 429-437.

Long, P.L. 1974. Further studies on the pathogenicity and immunogenicity of an embryo-adapted strain of *Eimeria tenella*. Avian Pathology. 3: 255-268.

Long, P. L. and L. P. Joyner. 1984. Problems in the identification of species of *Eimeria*. The Journal of Protozoology. 31: 535-541.

Macova, A. 2013. Systemstics of Apicomplexa parasites and coevolution with definitive and intermediate hosts. Master thesis faculty of science. University of South Bohemia.

Mcdonald, V. and M.W. Shirley. 2009. Past and future: Vaccination against *Eimeria*. Parasitology. 136: 1477-1489.

Slapeta, J.R., D. Modry, J. Votypka, M. Jirku, M. Obornik, J. Lukes and B. Koudela. 2001. *Eimeria telekii* n.sp. (Apicomplexa: Coccidia) from *Lemniscomys striatus* (Rodentia: Muridae): morphology, pathology and phylogeny. Parasitology. 122: 133-143.

Wang M., W. Jiang. 2023. Virulence evolution of *Toxoplasma gondii* within a multi-host system. Evolutionary Applications. 16: 721-737.

Zhao, X. and D.W. Duszynski. 2001. Phylogenetic relationships among rodent *Eimeria* species determined by plastid ORF470 and nuclear 18S rDNA sequences. International Journal for Parasitology. 31: 715-719.

Table 1 Efficacy test of 2 isolates of *Eimeria* species, *E. ferrisi* isolate UTN 02 and *E. ferrisi* isolate MJ04 after oocysts propagation in Jcl:ICR mice with 10 experiment rats (*Rattus rattus*) per treatment in the period 14 days post infection (dpi)

No	Isolate	Treatment	Concentration (oocysts)	Mortality (%)	Number of days the rat died (dpi)
1	*E. ferrisi* isolate UTN 02	1	500	-	-
		2	5,000	-	-
		3	50,000	50	1
		4	negative control	-	-
2	*E. ferrisi* isolate MJ04	1	500	-	-
		2	5,000	-	-
		3	50,000	60	1-5
		4	negative control	-	-

Table 2 Efficacy test of 2 isolates of *Eimeria* species, *E. ferrisi* isolate UTN 02 and *E. ferrisi* isolate MJ04 after oocysts propagation in Jcl:ICR mice with 10 experiment mice (*Mus cervicolor*) per treatment in the period 14 days post infection (dpi)

No	Isolate	Treatment	Concentration (oocysts)	Mortality (%)	Number of days the rat died (dpi)
1	*E. ferrisi* isolate UTN 02	1	500	-	-
		2	5,000	-	-
		3	50,000	10	6
		4	negative control	-	-
2	*E. ferrisi* isolate MJ04	1	500	-	-
		2	5,000	-	-
		3	50,000	30	1-2
		4	negative control	-	-

การพัฒนาต้นแบบและทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อพิษหางไหลในรูปแบบเม็ดแกรนูล

Formulation Development and Efficiency of *Derris sp.* in Granules Form

ทัสดาว เกตุเนตร[1/] สุทิศา เงินเรืองโรจน์[2/] วิชาญ วรรธนะไกวัล[1/]
สมเกียรติ กล้าแข็ง[1/] ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล[1/]
ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล[2/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

Abstract

The investigation on toxicity of *Derris sp.* (rotenone 9.52 % AI). Different doses of rotenone were orally given to rats through feeding tube. The results showed that the acute oral LD_{50} value of rotenone against *Rattus rattus* were 7,752.05 mg/kg. at 95 % confidence limits. For the experiment of the bait formula using *Derris sp*. in pellets form. The results showed that coconut + cocoa formula were most appropriate and most attractive of rats. The study on efficiency of *Derris sp*. in pellets form. The results showed that *Derris sp*. in pellets form concentration rate 19,040 mg/kg. and 9,520 mg/kg. that can cause the dead of 100 and 60 percent of rats, respectively. In the period were observed in 14 days. For favorite of the bait formula *Derris sp*. in pellets form of rats were non difference. When performed dissection of rats to examine pathology were found abnormal lungs of rats that received rotenone.

Keywords : rotenone, *Derris sp.,* plant extracted, *Rattus rattus*

รหัสการทดลอง FF65-10-05-65-02-03-66

บทคัดย่อ

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหลกับหนูท้องขาวบ้าน โดยการให้สารสกัดหางไหลทางปากในอัตราต่างๆ พบว่ามีค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของสารโรติโนนต่อหนูท้องขาวบ้านเท่ากับ 7752.05 mg/kg. (Acute oral LD_{50}) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการการทดลองสูตรเหยื่อแป้งสูตรต่างๆ พบว่าสูตรเหยื่อแป้งที่มีความเหมาะสมมากที่สุด หนูมีความชอบมากที่สุดและสามารถกัดแทะได้ดีที่สุด คือ สูตรมะพร้าว+โกโก้ ด้านการทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ดที่มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 19040 mg/kg และ 9520 mg/kg สามารถทำให้หนูทดลองตาย 100 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในระยะเวลา 14 วัน ด้านการทดสอบความชอบเหยื่อพิษหางไหลในหนูท้องขาวบ้าน พบว่าเหยื่อพิษหางไหลที่มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 19040 mg/kg และ 9520 mg/kg ไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อทำการผ่าซากเพื่อดูพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น พบว่าในหนูทดลองที่ได้รับสารโรติโนนลักษณะปอดมีอาการที่ผิดปกติ

คำหลัก : โรติโนน, หางไหล, สารสกัดจากพืช, หนูท้องขาวบ้าน

คำนำ

การป้องกันกำจัดหนูศัตรูพืชมีวิธีการป้องกันกำจัดได้หลากหลายวิธี ทั้งวิธีการใช้และไม่ใช้สารเคมี ซึ่งการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดหนู (rodenticides) สามารถลดจำนวนประชากรหนูลงได้อย่างรวดเร็วจึงเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน แต่การใช้สารเคมีอย่างไม่ระมัดระวังและเกินพอดีนั้น ส่งผลให้เกิดผลกระทบต่อคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ในแต่ละปีประเทศไทยมีการนำเข้าสารป้องกันกำจัดหนู ในปริมาณมาก โดยในปี พ.ศ. 2562 มีการนำเข้าสารป้องกันกำจัดหนู คิดเฉพาะปริมาณสารออกฤทธิ์ช้าสูงถึง 187,000 กิโลกรัม มูลค่ารวมประมาณ 36.74 ล้านบาท และในปี พ.ศ. 2563 ปริมาณการนำเข้า 142,000 กิโลกรัม มูลค่ารวมประมาณ 27.60 ล้านบาท (ศูนย์ข้อมูลเกษตรแห่งชาติ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) การลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดหนูศัตรูพืชเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่รวมถึงการเพิ่มการใช้ปัจจัยการผลิตที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม คือ การผลิตสารธรรมชาติ โดยการใช้สารสกัดจากพืช (plant extracted pesticide หรือ botanical pesticide) เพื่อทดแทนสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ซึ่งจะทำให้ผลผลิตทางการเกษตรมีคุณภาพปลอดภัยต่อการบริโภคและสิ่งแวดล้อม พืชที่นำมาใช้สามารถนำเอาส่วนที่สำคัญต่างๆ เช่น ต้น ราก ใบ ดอก และผล มาสกัดเพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ที่สำคัญจากพืชนั้นๆ มาใช้ควบคุมศัตรูพืชแทนสารเคมีได้ดีโดยไม่มีพิษตกค้าง เนื่องจากสารธรรมชาติส่วนใหญ่จะสลายตัวได้เร็ว สามารถควบคุมคุณภาพได้ รวมทั้งปัจจุบันภาครัฐและเอกชนเริ่มตื่นตัวที่จะพัฒนาสินค้าเกษตรของไทยให้มีคุณภาพและปราศจากสารพิษตกค้าง ดังนั้น จึงจำเป็นต้องทำการวิจัยหาสารสกัดจากพืชทดแทนสารเคมี เพื่อลดการใช้สารเคมีและเป็นการใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ในประเทศให้เกิดประโยชน์ เป็นทางเลือกหนึ่งของการใช้ปัจจัยการผลิตที่ไม่เป็นอันตราย การวิจัยนี้ให้ความสนใจสารสกัดจากพืช คือ สารสกัดหางไหล หางไหลมี

ศักยภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยสำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร (2548) และฐานข้อมูลสมุนไพร (2557) รายงานว่าสารออกฤทธิ์ที่สำคัญที่พบในสารสกัดหางไหล คือ โรติโนน (rotenone) โดยหางไหลขาวมีสารโรติโนนประมาณ 7 - 8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนหางไหลแดงมีสารโรติโนนประมาณ 4 - 5 เปอร์เซ็นต์ สารโรติโนนทำให้หนูป่วยและตายได้ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยสารสกัดหางไหลความเข้มข้น 45,000 mg/kg. สามารถทำให้หนูทดลองตายได้ 50-100 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 1-10 วัน และจากการศึกษาความเป็นพิษของสารโรติโนน พบว่ามีพิษเฉียบพลันทางปากต่อหนู (rats) LD_{50} เท่ากับ 132 - 1,500 mg/kg. ความเป็นพิษทางปากต่อหนูตะเภา (guinea pig) LD_{50} เท่ากับ 60 - 1,500 mg/kg. ซึ่งสามารถนำสารสกัดหางไหลที่มีประสิทธิภาพทำให้หนูทดลองตายได้มาพัฒนาเป็นรูปแบบเหยื่อพิษที่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการวิจัยเพื่อพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์จากสารสกัดจากพืชในการจัดการหนูศัตรูพืชด้วยวิธีที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัย เพื่อให้ได้คำแนะนำในการป้องกันกำจัด เป็นทางเลือกให้กับเกษตรกร เกษตรกรผู้ปลูกพืชอินทรีย์ ผู้สนใจกระบวนการผลิตพืชที่ปลอดภัย ได้เลือกใช้วิธีการในการป้องกันกำจัดหนูศัตรูพืชที่มีความปลอดภัยต่อผู้ใช้ ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศเกษตรน้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายการเกษตรของประเทศที่มุ่งเน้นการผลิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารสกัดหางไหล (rotenone) ที่สกัดโดยกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กองวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
2. หนูทดลอง ได้แก่ หนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*)
3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ถุงมือแพทย์ คีมจับหนู กระดาษทิชชู่ อเนกประสงค์
4. อาหารสำหรับหนูทดลอง
5. กรงดักหนูชนิดจับเป็น (live trap) กรงเลี้ยงหนู
6. กรงทดสอบเดี่ยว ขนาด 23x52x22 เซนติเมตร
7. หลอดป้อนอาหารหนู (feeding tube)
8. เครื่องชั่งไฟฟ้า
9. อุปกรณ์สำหรับอัดเม็ดเหยื่อ
10. ตู้อบ (incubator)
11. วัตถุดิบสำหรับทำเหยื่อแป้งเม็ด เช่น แป้งข้าวสาลี สารเพิ่มปริมาณ สารช่วยการแตกกระจายตัว สารยึดเกาะ สารช่วยลื่นไหล และสารกลบรสกลบกลิ่น ฯลฯ

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การศึกษาสารสำคัญและการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารโรติโนนในหางไหล

ดำเนินการทดลองโดยนักวิจัยจากกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ ในการสกัดและวิเคราะห์สารโรติโนนจากหางไหลด้วยตัวทำละลายต่างๆ และวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญของหางไหล ด้วยเครื่อง HPLC จนได้สารโรติโนนเพื่อใช้ในการทดสอบขั้นตอนต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพสารเบื้องต้น (screening test)

2.1 ดักจับหนูท้องขาวบ้าน โดยใช้กรงดักชนิดจับเป็น นำมาเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ คัดเลือกหนูที่โตเต็มวัย แข็งแรง มีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกันทั้ง 2 เพศ โดยหนูท้องขาวบ้านมีน้ำหนักระหว่าง 100 – 225 กรัม (EPA, 1982) ก่อนการทดลองให้หนูอดอาหารเป็นเวลา 1 คืน

2.2 ทดสอบประสิทธิภาพสารโรติโนนจากหางไหลเบื้องต้นกับหนูทดลอง ตามวิธีการของ ASTM (1977) และ EPPO (1975)

ขั้นตอนที่ 3 การผลิตเหยื่อพิษหางไหลในรูปแบบเม็ด

3.1 การทำเหยื่อพิษหางไหลรูปแบบเม็ด นำวัตถุดิบสำหรับทำเหยื่อแป้งเม็ด ซึ่งประกอบไปด้วย แป้งข้าวสาลี สารเพิ่มปริมาณ สารช่วยการแตกกระจายตัว สารยึดเกาะ สารช่วยลื่นไหล และสารกลบรสกลบกลิ่น มาผสมในอัตราส่วนตามสูตรที่กำหนดไว้

3.2 หลังจากนั้นนำมาอัดเม็ด โดยนำส่วนผสมที่เตรียมไว้มาอัดเป็นเม็ด เม็ดละประมาณ 5-7 กรัม จากนั้นนำไปอบให้เหยื่อแป้งเม็ดแห้ง

3.3 นำเหยื่อแป้งที่ได้มาทดสอบให้หนูทดลองกินเบื้องต้น เพื่อดูลักษณะเม็ด ความแข็งของเม็ด การกัดแทะ และความชอบของหนู จนได้สูตรเหยื่อแป้งที่เหมาะสม สำหรับทดลองใส่สารสกัดโรติโนนจากหางไหล เพื่อนำทดสอบความชอบและทดสอบประสิทธิภาพของเหยื่อพิษหางไหลในรูปแบบเม็ด

ขั้นตอนที่ 4 การทดสอบประสิทธิภาพของเหยื่อพิษหางไหลในรูปแบบเม็ดต่อหนูทดลอง

4.1 ดักจับหนูท้องขาวบ้าน โดยใช้กรงดักชนิดจับเป็น คัดเลือกหนูที่โตเต็มวัย แข็งแรง มีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกันทั้ง 2 เพศ โดยหนูท้องขาวบ้านมีน้ำหนักระหว่าง 100 – 225 กรัม (EPA, 1982) วัดขนาดและชั่งน้ำหนักก่อนทำการทดสอบ แยกใส่กรงทดลองกรงละ 1 ตัว และให้หนูอดอาหารเป็นเวลา 1 คืน

4.2 ใช้หนูท้องขาวบ้านทดลอง จำนวน 10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว) 6 กรรมวิธี โดยเลือกระดับความเข้มข้น เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมผลลบ (control) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เหยื่อแป้งแบบเม็ด (control)

กรรมวิธีที่ 2 เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 19040 mg/kg

กรรมวิธีที่ 3 เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 9520 mg/kg

กรรมวิธีที่ 4 เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 4760 mg/kg

กรรมวิธีที่ 5 เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 2455 mg/kg

กรรมวิธีที่ 6 เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 1587 mg/kg

4.3 ทดสอบการความเป็นพิษของเหยื่อพิษสารสกัดหางไหลแบบเม็ดกับหนูทดลองตามกรรมวิธี โดยให้เหยื่อพิษแบบเม็ด ตามวิธีการของ ASTM (1977) และ EPPO (1975) หลังจากนั้นให้อาหารและน้ำตามปกติ เป็นระยะเวลา 14 วัน ในกรณีหนูทดลองตาย ทำการผ่าซากเพื่อดูพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น บันทึกผลและหาอัตราการตายของหนูทดลอง

ขั้นตอนที่ 5 การทดสอบความชอบเหยื่อพิษสารสกัดหางไหลแบบเม็ดต่อหนูทดลอง

5.1 ดักจับหนูท้องขาวบ้าน โดยใช้กรงดักชนิดจับเป็น คัดเลือกหนูที่โตเต็มวัย แข็งแรง มีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกันทั้ง 2 เพศ โดยหนูท้องขาวบ้านมีน้ำหนักระหว่าง 100 – 225 กรัม (EPA, 1982) วัดขนาดและชั่งน้ำหนักก่อนทำการทดสอบ แยกใส่กรงทดลองกรงละ 1 ตัว และให้หนูอดอาหารเป็นเวลา 1 คืน

5.2 ใช้หนูท้องขาวบ้านทดลอง จำนวน 10 ตัว โดยมี 3 กรรมวิธี (ทดสอบประสิทธิภาพอัตราการตายไม่ต่ำกว่า 60%) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เหยื่อแป้งแบบเม็ด (control)

กรรมวิธีที่ 2 เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 19040 mg/kg

กรรมวิธีที่ 3 เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 9520 mg/kg

ให้เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ดกับหนูท้องขาวบ้านพร้อมกันในกรงทดลอง จำนวน 3 สูตรตามกรรมวิธี โดยให้หนูทดลองทุกตัวมีโอกาสเลือกกินเหยื่อทั้ง 3 สูตร เท่าๆ กัน สลับภาชนะใส่เหยื่อทั้ง 3 สูตร ทุกวัน เป็นเวลา 4 วัน ติดต่อกัน หลังจากให้เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ดกับหนูทดลองแล้ว ทำการให้อาหารและน้ำตามปกติ เป็นระยะเวลา 14 วัน ในกรณีหนูทดลองตาย ทำการผ่าซากเพื่อดูพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น บันทึกผลและหาอัตราการตายของหนูทดลอง

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2565 สิ้นสุด กันยายน 2567 รวม 2 ปี

สถานที่ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กองวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาสารสำคัญและการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารโรติโนนในหางไหล

ได้ตัวอย่างหางไหลสำหรับการเตรียมสารสกัด โดยใช้สารเคมี ตัวทำละลายสำหรับสกัดหางไหล เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (rotary vacuum evaporator) และเครื่อง HPLC ที่พร้อมสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารโรติโนน (rotenone) ในสารสกัดหางไหล และได้สารสกัดหยาบหางไหล ได้แก่ สารโรติโนน (9.52 % AI) โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม กรองด้วยกระดาษกรอง

ผ่านระบบปั๊มสุญญากาศ และระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้เก็บในภาชนะสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Figure 1)

2. การทดสอบประสิทธิภาพสารเบื้องต้น (screening test)

ทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้น (Screening test) ของสารโรติโนนกับหนูท้องขาวบ้าน โดยการให้สารโรติโนนทางปาก ทำการทดสอบความเป็นพิษของสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 95,200 mg/kg, 19,040 mg/kg, 9,520 mg/kg, 4,760 mg/kg, 2,455 mg/kg, 1,587 mg/kg, 1,190 mg/kg, 952 mg/kg และ 95.2 mg/kg โดยให้น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 95,200 mg/kg และ 19,040 mg/kg ทำให้หนูท้องขาวบ้านตาย 100 เปอร์เซ็นต์ สารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 9,520 mg/kg ทำให้หนูท้องขาวบ้านตาย 60 เปอร์เซ็นต์ สารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 4,760 mg/kg ทำให้หนูท้องขาวบ้านตาย 40 เปอร์เซ็นต์ โดยในส่วนสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 2,455, 1,587, 1,190, 952 และ 95.2 mg/kg และในกลุ่มเปรียบเทียบ พบว่าไม่มีหนูทดลองตาย (Figure 2) และเมื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก (Acute Oral LD_{50}) ด้วยโปรแกรมโพรบิท (probit analysis) ได้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของสารโรติโนนต่อหนูท้องขาวบ้าน 7,752.05 ± (6,235.52-10,357.68) mg/kg. ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3. การผลิตเหยื่อพิษหางไหลในรูปแบบเม็ด

ดำเนินการทดลองสูตรเหยื่อแป้งสูตรต่างๆ จำนวน 32 สูตร ซึ่งแต่ละสูตรมีวัตถุดิบและอัตราส่วนของวัตถุดิบที่ใช้แตกต่างกันออกไป เพื่อให้ได้สูตรที่มีความเหมาะสมมากที่สุด และหนูมีความชอบมากที่สุด นำวัตถุดิบซึ่งผสมส่วนผสมทุกอย่างตามสูตรแล้วมาตอกเป็นเม็ด จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1-2 คืน และนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิปกติ ตรวจสอบลักษณะภายนอก ความหนาและความแข็งของเม็ดเหยื่อแป้ง ความกร่อน และการแตกกระจายตัว โดยการนำเหยื่อแป้งที่ได้ทุกสูตรมาทดสอบ โดยให้หนูทดลองกิน พบว่า สูตรเหยื่อแป้งที่หนูชอบและสามารถกัดแทะได้ดีที่สุด คือ F 30 (สูตรมะพร้าว+โกโก้) (Figure 3) ซึ่งเป็นสูตรที่ดีที่สุดสำหรับทดลองใส่สารสกัดโรติโนนจากหางไหล เพื่อนำทดสอบความชอบและทดสอบประสิทธิภาพของเหยื่อพิษหางไหลในรูปแบบเม็ด โดยปกติแล้วสารสกัดหางไหลจะมีกลิ่นเฉพาะตัว ซึ่งเป็นกลิ่นและมีรสชาติที่หนูไม่ชอบ จึงต้องมีการใช้สารกลบรสกลบกลิ่นเพิ่มเข้าไปในสูตรเหยื่อด้วย เพื่อเป็นการดึงดูดหนูให้มีความสนใจในเหยื่อพิษหางไหลมากขึ้น

4. การทดสอบความชอบและทดสอบประสิทธิภาพของเหยื่อพิษหางไหลในรูปแบบเม็ดในหนูท้องขาวบ้าน

โดยมีระดับความเข้มข้นของสารโรติโนนที่ใส่ในเหยื่อแป้งทั้งหมด 6 กรรมวิธี ได้แก่ 1) เหยื่อแป้งแบบเม็ด (control) 2) เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 19,040 mg/kg 3) เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 9520 mg/kg 4) เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 4,760 mg/kg 5) เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 2,455 mg/kg และ 6) เหยื่อพิษสารสกัดหางไหล

รูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 1,587 mg/kg ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด พบว่าเหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ดมีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 19,040 mg/kg สามารถทำให้หนูทดลองตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และเหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ดมีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 9,520 mg/kg สามารถทำให้หนูทดลองตาย 60 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 14 วัน (Figure 4) หลังจากนั้นทำการผ่าซากเพื่อดูพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น พบว่าในหนูทดลองที่ได้รับสารโรติโนนลักษณะปอดมีอาการที่ผิดปกติ (Figure 5) ทั้งนี้เนื่องจากสารโรติโนนมีผลต่อระบบทางเดินหายใจ ระบบหัวใจและหลอดเลือด สอดคล้องกับ Narongchai *et al*. (2005) ที่รายงานว่าพบผู้เสียชีวิตเนื่องจากภาวะหัวใจและการหายใจล้มเหลว สาเหตุมาจากการได้รับสารพิษโรติโนน ในส่วนของการทดสอบความชอบเหยื่อพิษหางไหลในหนูท้องขาวบ้าน โดยมีระดับความเข้มข้นของสารโรติโนนที่ใส่ในเหยื่อแป้งทั้งหมด 3 กรรมวิธี ได้แก่ 1) เหยื่อแป้งแบบเม็ด (control) 2) เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 19,040 mg/kg 3) เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด มีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 9,520 mg/kg พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการวิจัยการใช้เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ดในการกำจัดหนู สรุปได้ว่ามีค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของสารโรติโนนต่อหนูท้องขาวบ้าน 7,752.05 mg/kg. (Acute Oral LD_{50}) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำสารสกัดหางไหลมาผสมเป็นสูตรเหยื่อแป้ง พบว่าสูตรเหยื่อแป้งที่หนูชอบและสามารถกัดแทะได้ดีที่สุด คือ สูตรมะพร้าวและโกโก้ เนื่องจากมีกลิ่นที่สามารถดึงดูดให้หนูมาสนใจเหยื่อพิษได้ และสามารถกลบกลิ่นหางไหลที่หนูไม่ชอบได้เช่นกัน ด้านการทดสอบความชอบและทดสอบประสิทธิภาพของเหยื่อพิษหางไหลในรูปแบบเม็ดในหนูท้องข้าวบ้าน การทดสอบความชอบไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี ด้านการทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ดมีสารโรติโนนอัตราความเข้มข้น 19,040 mg/kg และ 9,520 mg/kg สามารถทำให้หนูทดลองตาย 100 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในระยะเวลา 14 วัน เมื่อทำการผ่าซากเพื่อดูพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น พบว่าในหนูทดลองที่ได้รับสารโรติโนนลักษณะปอดมีอาการที่ผิดปกติ จึงทำให้หนูเกิดภาวะการหายใจล้มเหลวและเป็นสาเหตุที่ทำให้หนูตาย ทั้งนี้ควรมีการพัฒนาสูตรเหยื่อพิษหางไหลแบบเม็ด เพื่อเพิ่มคุณภาพในด้านการใช้งานการเก็บรักษาและเพิ่มประสิทธิภาพต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรที่ทำการสกัดสารหางไหลเพื่อใช้สำหรับงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่มีส่วนช่วยในการทำงานวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ฐานข้อมูลสมุนไพร. 2557. หางไหลแดง. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://medthai.com (10 กรกฎาคม 2566)

ศูนย์ข้อมูลเกษตรแห่งชาติ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. การนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร รายประเภทการใช้. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://nabc-catalog.oae.go.th/dataset/doa0010/resource/ (9 ตุลาคม 2566)

สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. 2548. ผลงานวิชาการ เรื่อง โล่ติ๊น. รายงานวิจัยปี 2541-2547. กองวัตถุมีพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพ.

American Society for Testing and Material. 1977. ASTM Standard on Vertebrate Control Agents. ASTM, Philadelphia. 54p.

EPA. 1982. Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision G: Product Performance. United States Environmental Protection Agency, Washington, USA.

European and Mediterranean Plant Protection Organization. 1975. Guide-Line for the development and biological evaluation of rodenticides. EPPO Bull. 5: 7-15.

Narongchai, P. Narongchai, S. and S. Thampituk. 2005. The First Fatal Case of Yam Bean and Rotenone Toxicity in Thailand. *J Med Assoc Thai 2005*; 88(7) : 984-987

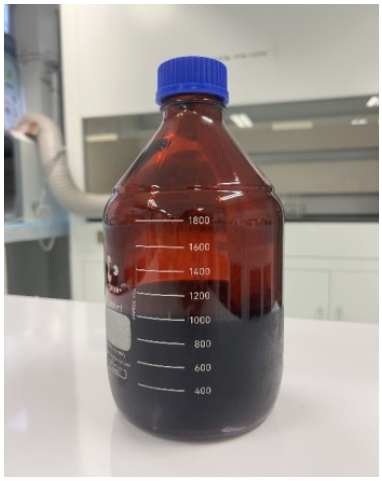


Figure 1 Rotenone (9.52 % AI)

Figure 2 Screening test Rotenone (9.52 % AI) for *Rattus rattus*

Figure 3 *Derris sp.* in Pellets form

Figure 4 Efficiency and attractive of *Derris sp.* in pellets form

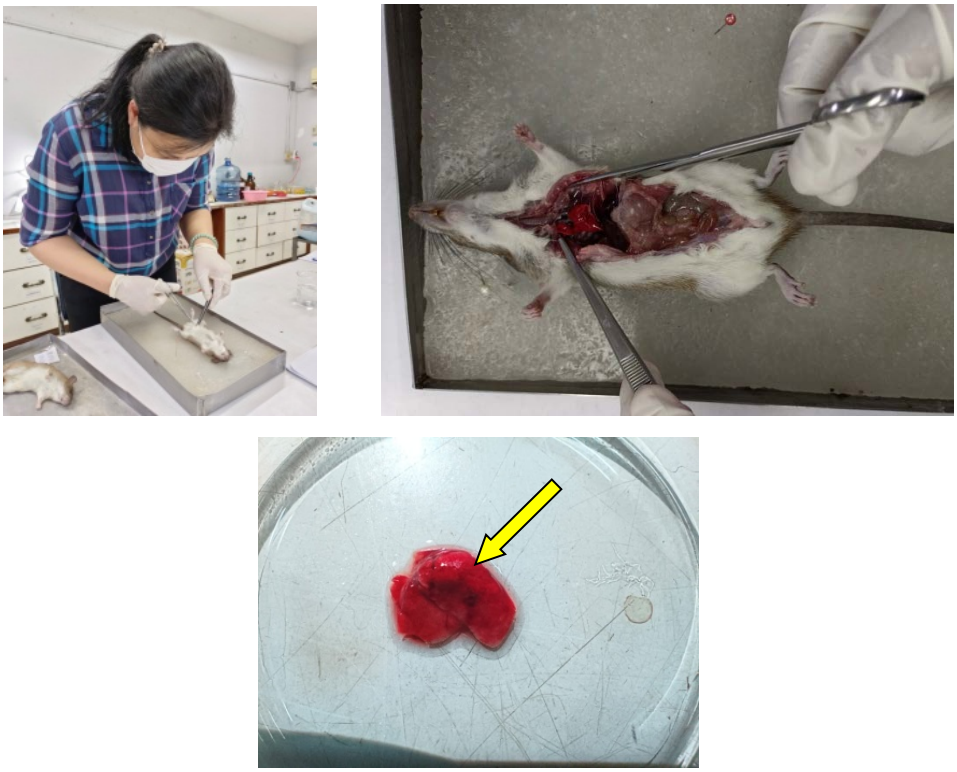


Figure 5 Dissection of rat to examine pathology and abnormal lungs

ศึกษาผลกระทบของโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria* ต่อสัตว์ชนิดอื่น

Study the effects of *Eimeria* oocysts on the other animals

สมเกียรติ กล้าแข็ง วิชาญ วรรธนะไกวัล ทัสดาว เกตุเนตร ดาราพร รินทะรักษ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Study the effects of *Eimeria* oocysts on the other animals were conduct during October 2023- September 2024 at Agricultural Zoology Research Group, Entomology and Zoology Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. The toxicity test result of *Eimeria* oocysts isolates have the potential to cause illness and death in rodents by giving oocysts suspension of *E. ferrisi* isolate MJ04 with 4 other animals such as, squirrels, tree shrews, chickens, and pythons. The result reveals that all test animals were not illness and died within 14 days after receive the oocysts suspension and no oocysts excretion was found along with the feces of any test animals that were infected.

Keywords : *Eimeria,* oocysts, effect to other animals

รหัสการทดลอง FF65-10-05-65-02-04-67

บทคัดย่อ

การศึกษาผลกระทบของโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria* ต่อสัตว์ชนิดอื่น ดำเนินการทดลองตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2566 – กันยายน 2567 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ผลการทดสอบผลกระทบความเป็นพิษของโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพทำให้หนูป่วยและตายได้ โดยการให้ สารแขวนลอยโอโอซีสต์ไอโซเลท *E. ferrisi* isolate MJ04 กับสัตว์ชนิดอื่น 4 ชนิด ได้แก่ กระรอก กระแต ไก่ และ งูเหลือม พบว่าสัตว์ทดลองทุกตัวไม่มีอาการป่วยและตายภายในระยะเวลา 14 วัน หลังจากได้รับโอโอซีสต์ และไม่พบการขับโอโอซีสต์ปะปนออกมาพร้อมกับมูลของสัตว์ทดลองทุกตัวที่ได้รับเชื้อ

คำหลัก : โปรโตซัวสกุล *Eimeria*, โอโอซีสต์, ผลกระทบต่อสัตว์ชนิดอื่น

คำนำ

สารชีวินทรีย์กำจัดหนู (bio-rodenticide) ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ผลิตขึ้นจากปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singsporensis* Zaman & Colley (1976) เป็นค็อคซิเดียโปรโตซัว (coccidia protozoa) ซึ่งจัดอยู่ใน Phylum Apicomplexa ที่มีความจำเพาะต่อสัตว์อาศัย 2 ชนิด ได้แก่ สัตว์อาศัยตัวกลาง (intermediate hosts) คือ หนูสกุลท้องขาว (*Rattus* spp.) และสกุลพุก (*Bandicotas pp.*) โดยมีงูเหลือม (*Python reticulatus*) เป็นสัตว์อาศัยสุดท้าย (final hosts) (ยุวลักษณ์ และคณะ, 2539; กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร, 2544; Jakel *et al*., 1996) ดังนั้นจึงมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก ด้วยความจำเพาะต่อชนิดของสัตว์อาศัยทำให้ยังเหลือสกุลหนูหริ่ง (*Mus*) อีก 1 สกุล ที่ยังไม่มีสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูที่จำเพาะต่อหนูชนิดนี้ ซึ่งหนูหริ่งนั้นเป็นศัตรูสำคัญของข้าวและธัญพืชที่สำคัญในประเทศไทย อีกทั้งการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูจากปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ในปัจจุบันนั้น ต้องมีการเลี้ยงงูเหลือมและหนูเพื่อใช้ในการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู ซึ่งการเลี้ยงงูเหลือมจัดเป็นงานที่มีภาระต้องรับผิดชอบสูงทั้งในเรื่องค่าใช้จ่าย บุคลากร รวมไปถึงสถานที่เลี้ยง

โปรโตซัวสกุล *Eimeria* Schneider, 1875 จัดเป็นค็อคซิเดียโปรโตซัว ที่อยู่ในวงศ์ (Family) Eimeriidae ไฟลัม (Phylum) Apicomplexa เป็นโปรโตซัวที่ตลอดวงจรชีวิตมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction หรือ gamogony) และมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction หรือ merogony) ดำรงชีวิตอยู่ในบริเวณทางเดินอาหาร (intestinal parasite) ของสัตว์อาศัยเพียงชนิดเดียว (monoxenous host) (Macova, 2013) ในระยะสุดท้ายของการเจริญเติบโตมีการสร้างโอโอซีสต์ (oocysts) ซึ่งเป็นระยะติดเชื้อมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ โดยจะถูกขับออกมาพร้อมกับมูลของสัตว์อาศัยสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก พร้อมที่จะเข้าสู่ร่างกายของสัตว์อาศัยตัวใหม่โดยการปนเปื้อนในแหล่งน้ำ

และอาหารตามธรรมชาติ เพื่อเริ่มวงจรชีวิตใหม่ต่อไป (Duszynski and Upton, 2000; Berto *et al*., 2009) สัตว์อาศัยของโปรโตซัวชนิดนี้สามารถพบได้ในสัตว์มีกระดูกสันหลังทั่วไป และมีหลายสปีชีส์ที่มีหนูเป็นสัตว์อาศัย (rodent hosts) อาทิเช่น *E. langebarteli, E. separate, E. nieschulzi, E. papillata, E. falciformis*, *E. sevilletensis, E. reedi, E. arizonensis, E. onychomysis* และ *E. albigulae* (Zhao and Duszynski, 2001) เป็นต้น ซึ่งโปรโตซัวสกุล *Eimeria* นั้นมีความจำเพาะเจาะจงกับชนิดของสัตว์อาศัยสูงมากในระดับสกุล (genus specific) (Long and Joyner, 1984: Zhao and Duszynski. 2001) อีกทั้งโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ในแต่ละสปีชีส์นั้นไม่สามารถติดต่อข้ามระหว่างสัตว์อาศัยต่างสกุลกันได้ (Hnida and Duszynski, 1999; Slapeta *et al*., 2001) สัตว์อาศัยที่มีการติดเชื้อโปรโตซัวสกุลนี้มักพบว่าป่วยเป็นโรค coccidiosis ซึ่งมีอาการท้องเสียและเป็นโรคในระบบลำไส้ น้ำหนักลด และตายในที่สุด ด้วยการที่มีสัตว์อาศัยเพียง ชนิดเดียว จึงเป็นการย่นระยะเวลา ขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู ทำให้สามารถผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูได้ในระยะเวลาที่สั้นลง และมีค่าใช้จ่ายที่ลดลงจากเดิมด้วยเช่นกัน อีกทั้งอาจสามารถพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูหริ่งศัตรูพืชได้ในอนาคต

จากรายงานของวิชาญและคณะ (2562ก) ทำศึกษาทดลองคัดแยกโอโอซีสต์ของ *Eimeria* จากหนูศัตรูพืชตามธรรมชาติ พบว่าโอโอซีสต์ของ *Eimeria* จำนวน 6 ไอโซเลท ซึ่งคัดแยกได้จากมูลหนูท้องขาวจำนวน 4 ไอโซเลท (Rr K11, Rn BKK02, Ran MJ04 และ Ran KW03) และคัดแยกได้จากมูลหนูหริ่งจำนวน 2 ไอโซเลท (Mce NKW05 และ Mpa MJ01) ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 5,000 โอโอซีสต์ มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ ร้อยละ 20-40 ภายใน 3-10 วัน หลังจากได้รับเชื้อ (dpi) ผลการจำแนกชนิดทางสัณฐานวิทยาจากลักษณะของโอโอซีสต์ สอดคล้องกับผลการจำแนกชนิดทางชีวโมเลกุลบริเวณ 18S rDNA พบว่าเป็นโปรโตซัวในสกุล *Eimeria* ได้แก่ *E. nieschulzi* isolate K11 01, *E. ferrisi* isolate MJ01, *E. ferrisi* isolate MJ04, *E. nafuko* isolate NKW05, *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus andamanensis* isolate KW03 ตามลำดับ และจากรายงานของ วิชาญ และคณะ (2562ข) ทำการศึกษาการเพิ่มปริมาณของโอโอซีสต์ในเบื้องต้น โดยการให้โอโอซีสต์ของ *E. nieschulzi* isolate K11 01 สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ จำนวน 2,500 โอโอซีสต์ โดยตรงทางปากกับหนูท้องขาวบ้าน จำนวน 10 ตัว พบโอโอซีสต์ถูกขับออกมาพร้อมกับมูลหนูที่ระยะเวลา 6 - 8 วัน และพบโอโอซีสต์สูงสุด (28±12 oocysts/µl) ที่ระยะเวลา 7 วัน ภายหลังจากได้รับเชื้อ (dpi)

ด้วยเหตุนี้เองจึงควรมีการทดลองเพิ่มเติมในเรื่องการเพิ่มปริมาณและคงประสิทธิภาพการก่อโรคในหนูของโปรโตซัว *Eimeria* สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ และการทดลองความเป็นพิษต่อสัตว์ชนิดอื่น เพื่อที่นำไปขยายผลเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูชนิดใหม่ที่มีความปลอดภัยสิ่งแวดล้อมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารแขวนลอยโปรโตซัว *E. ferrisi* isolate MJ04 ที่มีประสิทธิภาพทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้

2. สัตว์ทดลอง 4 ชนิด ได้แก่

- กระรอกหลากสี *(Callosciurus finlaysonii*; Sciuridae) ตัวแทนสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mammal) กลุ่มสัตว์ฟันแทะ (rodent)
- กระแต (*Tupaia glis*; Scandentia) ตัวแทนสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mammal) กลุ่ม insectivore
- ไก่ (*Gallus gallus*) ตัวแทนสัตว์ปีก (avian)
- งูเหลือม (*Python reticulatus*) ตัวแทนสัตว์เลื้อยคลาน (reptile)
- อุปกรณ์สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ถุงมือแพทย์ คีมคีบ กระดาษทิชชูอเนกประสงค์

3. อาหารสำหรับสัตว์ทดลอง ได้แก่ อาหารหนูทดลอง ผลไม้สด หนอนนก อาหารไก่ ไก่สด

4. กรงดักหนู กรงเลี้ยงหนู กรงทดสอบเดี่ยว สุ่มไก่ บ่วงคล้องงู

วิธีการ

นำโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ความเข้มข้น lethal dose (5,000 โอโอซีสต์) จากการทดลอง เรื่องการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria* ที่มีประสิทธิภาพความรุนแรงก่อโรคกับหนูทดลอง ในโครงการวิจัยเทคโนโลยีการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากและหนูศัตรูพืช ภายใต้แผนงาน นวัตกรรมการผลิตและเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชเพื่อการอารักขาพืชอย่างยั่งยืน งบประมาณการวิจัยเพื่อสนับสนุนงานมูลฐาน (fundamental fund) จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ดำเนินการในปี 2565-256 มาทดสอบผลกระทบต่อสัตว์ชนิดอื่น 4 ชนิด ได้แก่ กระรอก กระแต ไก่ และงูเหลือม ชนิดละ 3 ตัว เป็นกลุ่มทดลอง 2 ตัวและกลุ่มควบคุม 1 ตัว ดังนี้

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. ชั่งน้ำหนักสัตว์ทดลองก่อนทำการทดสอบ แยกสัตว์ที่ใช้ทดสอบใส่ในกรงทดลองงดอาหารเป็นเวลา 1 คืน ก่อนการทดสอบ

2. ทดสอบผลกระทบต่อสัตว์ โดยให้สัตว์ทดลองกินเหยื่อที่หยดสารแขวนลอยโอโอซีสต์หรือให้สารแขวนลอยโอโอซีสต์โดยตรงทางปาก ความเข้มข้น lethal dose กับสัตว์ทดลอง

3. หลังจากทำการทดสอบกับเชื้อทดลองแล้วให้อาหารและน้ำตามปกติ

4. บันทึกลักษณะอาการ สุขภาพและพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นของสัตว์ทดลอง เป็นระยะเวลา 14 วัน

5. ในกรณีสัตว์ทดลองตาย ทำการตรวจหาโอโอซีสต์จากซากสัตว์และมูลสัตว์ และพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นของสัตว์ทดลอง

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- ระยะเวลาที่ทำให้สัตว์ทดลองป่วยและตาย
- ลักษณะพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นกับสัตว์ทดลอง
- ร้อยละการตายของสัตว์ทดลอง

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2566 – กันยายน 2567 ภายในกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองความเป็นพิษของโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพทำให้หนูป่วยและตายได้ ต่อสัตว์ชนิดอื่น โดยการให้สารแขวนลอยโอโอซีสต์ไอโซเลท *E. ferrisi* isolate MJ04 กับสัตว์ชนิดอื่น 4 ชนิด ได้แก่ กระรอก กระรอกหลากสี *(Callosciurus finlaysonii)* (ตัวแทนสัตว์ฟันแทะชนิดอื่นที่ไม่ใช่หนู) กระแต (*Tupaia glis*) (ตัวแทนสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจากธรรมชาติ) ไก่ ไก่ (*Gallus gallus*) (ตัวแทนสัตว์ปีก) และ งูเหลือม (*Python reticulatus*) (ตัวแทนสัตว์เลื้อยคลาน) ชนิดละ 3 ตัว เป็นกลุ่มทดลอง 2 ตัวและกลุ่มควบคุม 1 ตัว (Fig 1, 2) พบว่า ไม่พบสัตว์ทดลองทุกตัวมีอาการป่วยและตายภายในระยะเวลา 14 วัน หลังจากได้รับโอโอซีสต์ (dpi) และไม่พบการขับโอโอซีสต์ปะปนออกมาพร้อมกับมูลของสัตว์ทดลองทุกตัวที่ได้รับเชื้อ ที่ระยะเวลา 6 dpi ซึ่งเป็นระยะเวลาที่เชื้อเพิ่มปริมาณมากที่สุดในร่างกายของสัตว์อาศัยภายหลังจากที่ได้รับเชื้อ (table 1) แสดงให้เห็นว่าโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ไม่สามารถเจริญเติบโตในสัตว์อาศัยชนิดอื่นได้ และไม่มีความเป็นพิษต่อสัตว์ชนิดอื่น ดังนั้นจึงมีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์ชนิดอื่น รวมถึงไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม สอดคล้องกับรายงานของ Long and Joyner, 1984; Zhao and Duszynski. 2001 ที่รายงานว่า โอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* มีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของสัตว์อาศัยที่พบ ด้วยเหตุนี้เองหากสามารถพัฒนาการผลิตขยายโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพสามารถทำให้หนูป่วยและตายได้ โดยที่สามารถคงความรุนแรงในการก่อโรคกับหนูเอาไว้ได้ จะทำให้โปรโตซัวสกุล *Eimeria* สามารถวิจัยและพัฒนาต่อยอดเพิ่มเติม จนนำไปสู่การผลิตเป็นชีวภัณฑ์กำจัดหนูชนิดใหม่ ที่มีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อลดการใช้สารเคมีกำจัดหนูในภาคการเกษตร อันจะนำไปสู่การเกษตรที่ยั่งยืนต่อไปได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบความเป็นพิษของโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพทำให้หนูป่วยและตายได้ กับสัตว์ชนิดอื่น 4 ชนิด ได้แก่ กระรอก กระแต ไก่ และ งูเหลือม พบว่าสัตว์ทดลองทุกตัวไม่มีอาการป่วยและตายภายในระยะเวลา 14 วัน หลังจากได้รับโอโอซีสต์ และไม่พบการขับโอโอซีสต์ปะปนออกมาพร้อมกับมูลของสัตว์ทดลองทุกตัวที่ได้รับเชื้อ ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ที่มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้นั้น ไม่สามารถเจริญเติบโตในสัตว์อาศัยอาศัยชนิดได้ และไม่มีความเป็นพิษต่อสัตว์ชนิดอื่น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาวิจัยพัฒนาเพิ่มเติม ในด้านการผลิตขยายเชื้อเพื่อทำให้สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อและสามารถคงประสิทธิภาพความรุนแรงในการก่อโรคกับหนูไว้ได้ หลังจากนั้นจึงดำเนินการผลิตขยายควบคู่ไปกับการวิจัยและพัฒนารูปแบบเหยื่อที่เหมาะสมมีประสิทธิภาพสำหรับผลิตเป็นชีวภัณฑ์กำจัดหนูศัตรูพืชต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยทำให้งานวิจัยลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร. 2544. หนูและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย 136 หน้า

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และ T. Jackle. 2539. การแพร่ระบาดของ *Sarcocystis* ในหนูศัตรูพืชในประเทศไทย. หน้า 207 – 214. *ใน*: รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช 2539 ภาคแผ่นภาพ ครั้งที่ 10 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

วิชาญ วรรธนะไกวัล ปราสาททอง พรหมเกิด สมเกียรติ กล้าแข็ง และทรงทัพ แก้วตา. 2562ก.การคัดแยกและศึกษาศักยภาพการก่อโรคในหนูศัตรูพืชของค็อคซิเดียโปรโตซัวในลำไส้ (Apicomplexa: Eimeriidae) จากหนูศัตรูพืชสกุล *Rattus* และ *Mus* ที่พบในประเทศไทย. หน้า 60 – 80. *ใน*: การประชุมวิชาการประจำปีสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 10-12 มิถุนายน 2562 ณ โรงแรมรอยัล ฮิลล์ กอล์ฟ รีสอร์ท แอนด์ สปา จังหวัดนครนายก.

วิชาญ วรรธนะไกวัล ปราสาททอง พรหมเกิด สมเกียรติ กล้าแข็ง และทรงทัพ แก้วตา. 2562ข. การศึกษาศักยภาพการก่อโรคในหนูศัตรูพืชและการเพิ่มปริมาณของค็อคซิเดียโปรโตซัวในลำไส้ (Apicomplexa: Eimeriidae) จากหนูศัตรูพืชสกุล *Rattus* และ *Mus* ที่พบในประเทศไทย.

หน้า 22 – 23. *ใน*: การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 14. 12-14 พฤศจิกายน 2562 ณ โรงแรมดุสิตธานี หัวหิน อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี.

Berto, B.P., H.R. Luz, W. Flausino, I. Ferreira and C.W. Lopes. 2009. New species of Eimeria Schneider, 1875 and Isospora Schneider, 1881 (Apicomplex: Eimeriidae) from the shortcrested flycatcher Myiarchus ferox (Gmelin) (Passeriformes: Tyrannidae) in South America. Systematic of parasitology. 74: 75-80.

Duszynski, D.W. and S.J. Upton. 2000. *Cyclospora*, *Eimeria*, *Isospora*, and *Cryptosporidium* spp. Parasitic Diseases of wild mammals, 2nd edition. Iowa state press, pp. 416-433.

Hnida, J.A. and D.W. Duszynski. 1999. Taxonomy and phylogeny of some Eimeria (Apicomplexa: Eimeriidae) species of rodents as determined by polymerase chain reaction/restriction fragment-length polymorphism analysis of 18S rDNA. Parasitology Research. 85: 887-894.

Jaekel, T., H. Burgstaller and W. Frank. 1996. *Sarcocystis singaporensis*: Studies on host specificity, pathogenicity, and potential use as a biocontrol agent of wild rats. Journal of Parasitology. 82: 280-287.

Long, P. L. and L. P. Joyner. 1984. Problems in the identification of species of *Eimeria*. The Journal of Protozoology. 31: 535-541.

Macova, A. 2013. Systemstics of Apicomplexa parasites and coevolution with definitive and intermediate hosts. Master thesis faculty of science. University of South Bohemia.

Slapeta, J.R., D. Modry, J. Votypka, M. Jirku, M. Obornik, J. Lukes and B. Koudela. 2001. *Eimeria telekii* n.sp. (Apicomplexa: Coccidia) from *Lemniscomys striatus* (Rodentia: Muridae): morphology, pathology and phylogeny. Parasitology. 122: 133-143.

Zhao, X. and D.W. Duszynski. 2001. Phylogenetic relationships among rodent *Eimeria* species determined by plastid ORF470 and nuclear 18S rDNA sequences. International Journal for Parasitology. 31: 715-719.

Table 1 Effects of *Eimeria* oocysts on other animals

No	Animal species	Animal number	Group	Sex	Weight (g.)	Clinical sign after oral infection (DPI)			Number of oocysts after oral infection	Remark
						Day 1	Day 7	Day 14	6DPI	
1	Reticulated python	Pr S45	test	female	2080	NOA	NOA	NOA	0	
	(*Python reticulatus*)	Pr S49	test	female	2520	NOA	NOA	NOA	0	
		Pr S53	control	female	2330	NOA	NOA	NOA	0	
2	Finlayson's Squirrel	Cf1	test	male	217.7	NOA	NOA	NOA	0	
	(*Callosciurus finlaysonii*)	Cf2	test	female	182.4	NOA	NOA	NOA	0	
		Cf3	control	male	185.7	NOA	NOA	NOA	0	
3	Common treeshrew	Tg1	test	female	141.7	NOA	NOA	NOA	0	
	(*Tupaia glis*)	Tg2	test	female	137.7	NOA	NOA	NOA	0	
		Tg3	control	female	145.7	NOA	NOA	NOA	0	
4	White Leghorn chicken	Gg1	test	female	1600	NOA	NOA	NOA	0	
	(*Gallus gallus*)	Gg2	test	female	1500	NOA	NOA	NOA	0	
		Gg3	control	female	1300	NOA	NOA	NOA	0	

* DPI (Day Post Infection)

**NOA (No Observable Abnormalities)

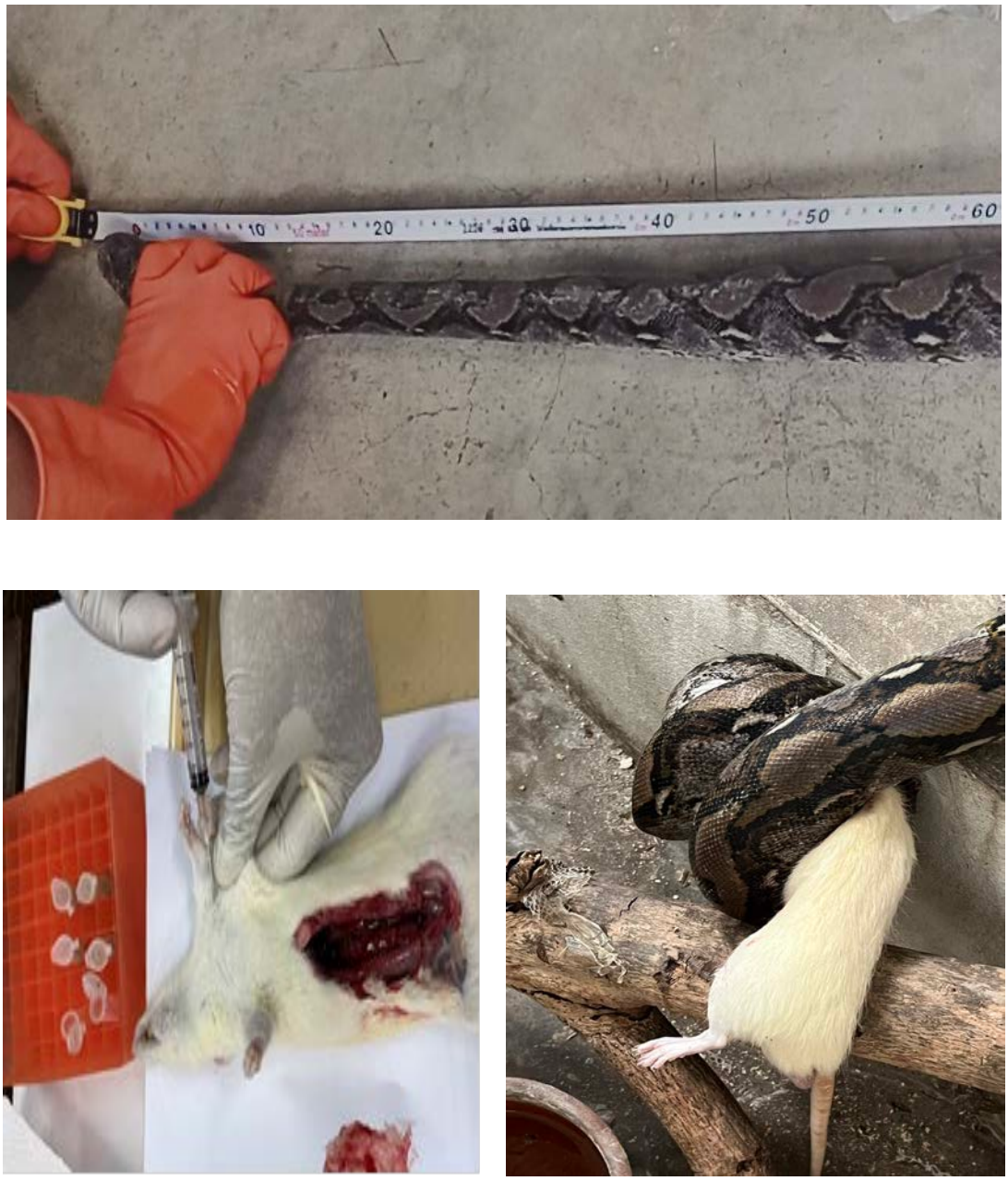


Figure 1 Feeding rat with experimental to pythons

Figure 2 Infection in experimental animals

การทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาเหยื่อพิษหางไหล

The retention time of rotenone bait (*Derris elliptica* Benth.)

สมเกียรติ กล้าแข็ง ทัสดาว เกตุเนตร วิชาญ วรรธนะไกวัล

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The retention time of rotenone bait (*Derris elliptica* Benth.) tested on house rats (*Rattus rattus*) in the laboratory. The bait was stored at room temperature before being tested. The results showed that the pellet form of the rotenone extract caused 100% mortality in house rats during the first month. However, after two and three months of storage, the mortality rate decreased to 70, 30 %. This indicates that when the storage period of the poison bait is prolonged, the effectiveness of the extract in killing rats will decrease. Therefore, poison bait should be used to eliminate rats within a period of no more than 60 days to make the poison bait effective in eliminating rats and reduce the rat population.

Keywords : Rotenone bait

รหัสการทดลอง FF65-10-05-65-02-05-67

บทคัดย่อ

การทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาเหยื่อพิษหางไหลกับหนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) ในห้องปฏิบัติการ โดยทำการเก็บเหยื่อพิษหางไหลไว้ที่อุณหภูมิห้องและนำมาทดสอบ พบว่าประสิทธิภาพของสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด พบอัตราการตายของหนูท้องขาวบ้านในเดือนแรกมีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และหลังจากทิ้งระยะเวลาทดสอบในเดือนที่ 2 และ 3 อัตราการตายของหนูลดลงเหลือ 70 และ 30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเหยื่อพิษใช้ระยะเวลานาน ประสิทธิภาพของสารสกัดในการกำจัดหนูก็จะลดลง ดังนั้นควรใช้เหยื่อพิษในการกำจัดหนูในช่วงระยะเวลาไม่เกิน 60 วัน จึงจะทำให้ประสิทธิภาพของเหยื่อพิษหางไหลกำจัดหนูได้ผลและลดประชากรของหนูลดลงได้

คำหลัก : เหยื่อพิษหางไหล

คำนำ

หนู จัดเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็ก อันดับสัตว์ฟันแทะ (Rodentia) ที่สามารถพบเห็นได้ทั่วไป มีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศ โดยทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการถ่ายทอดพลังงานด้วยการเป็นอาหารของสัตว์ผู้ล่า ในอีกมุมมองหนึ่ง สัตว์เหล่านี้ยังเป็นสัตว์ที่ทำให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิตทางการเกษตร และเป็นพาหะนำโรคที่สำคัญมาสู่คน ซึ่งส่งผลกระทบทั้งด้านสุขภาพและเศรษฐกิจ ดังนั้นสัตว์ฟันแทะเหล่านี้ จึงเป็นศัตรูต่อมนุษย์ทั้งโดยทางตรงและโดยทางอ้อม โดยหนูเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีวิวัฒนาการมาช้านาน มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนตอนใต้ และแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทั่วโลกพบมากกว่า 560 ชนิด ใน 125 สกุล (Francis, 2008) โดยประเทศไทย พบทั้งสิ้น 36 ชนิด จาก 2 วงศ์ย่อย ใน 8 สกุล (Marshall, 1977)

หนูทุกชนิดกินพืชเป็นอาหารหลัก เช่น ข้าว ข้าวโพด ไม้ผล ปาล์มน้ำมัน และธัญพืชต่างๆ เป็นต้น (เสริมศักดิ์, 2543) ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตมากมาย และเป็นสัตว์ที่พบมากทั้งจำนวนและชนิด คือประมาณ 65 % ของสัตว์ฟันแทะทั้งหมด หนูเป็นสัตว์ที่ทำลายพืชผลทางการเกษตรตลอดจนทรัพย์สินของมนุษย์ ทั้งวัสดุที่ใช้บรรจุผลิตภัณฑ์ กระสอบ ชั้นวาง และอุปกรณ์ในโรงเก็บ รวมถึงตัวอาคาร เช่น สายไฟ และประตู เป็นต้น (กองกีฏและสัตววิทยา, 2544) เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม โดยส่วนใหญ่มักประสบปัญหาเกี่ยวกับหนู ที่ทำความเสียหายต่อผลผลิตทางการเกษตร การป้องกันกำจัดหนูในปัจจุบันมีทั้งการใช้สารเคมีและไม่ใช้สารเคมี ซึ่งการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดหนู (rodenticide) สามารถลดจำนวนประชากรหนูลงได้อย่างรวดเร็วจึงเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ส่งผลให้เกิดผลกระทบต่อคน สัตว์และสิ่งแวดล้อม ซึ่งการป้องกันกำจัดหนูโดยไม่ใช้สารเคมี ได้แก่ การทำเขตกรรม การใช้วิธีกล การอนุรักษ์สัตว์ผู้ล่าหนูตามธรรมชาติ และการใช้สารชีวินทรีย์กำจัดหนู ตลอดจนการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อทดแทนสารเคมีจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีความปลอดภัยทั้งมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

สารสกัดหางไหล หรือ โล่ติ๊น (*Derris elliptica* Benth.) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Leguminosae เป็นพืชสมุนไพรเมื่อนำมาสกัดจะได้สารออกฤทธิ์โรติโนน (rotenone) จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีศักยภาพที่สามารถทำให้หนูป่วยและตายได้ในระดับห้องปฏิบัติการ มีสารออกฤทธิ์โรติโนนที่ความเข้มข้น 45,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำให้หนูทดลองตายได้ร้อย 50-100 ที่ระยะเวลา 1-10 (กรแก้ว และคณะ, 2551) เนื่องจากสารสกัดจากพืชสลายตัวได้ง่ายกว่าสารเคมีสังเคราะห์ จึงไม่ตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมและไม่สะสมในร่างกายของมนุษย์และสัตว์เลี้ยง ความเป็นพิษจะหมดไปหลังการใช้ประมาณ 21 วัน ดังนั้นการทดสอบระยะเวลาในการเก็บรักษาสารสกัดที่ยังคงประสิทธิภาพ ในการออกฤทธิ์กับหนูได้ ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้จะนำไปวิจัยและพัฒนาต่อยอด เพื่อนำไปผลิตขยายเป็นชีวภัณฑ์กำจัดหนูศัตรูพืช ในรูปแบบเหยื่อพิษจากสารสกัดหางไหล ที่สามารถนำไปใช้ป้องกันกำจัดหนูศัตรูพืช และทดแทนการใช้สารเคมีต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เหยื่อพิษสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ดแกรนูล
- หนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*)
- อุปกรณ์สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ถุงมือแพทย์ คีมจับหนู กระดาษทิชชูอเนกประสงค์
- อาหารสำหรับหนูทดลอง กรงดักหนูชนิดจับเป็น (live trap) กรงเลี้ยงหนู ขนาด 30x55x20 เซนติเมตร กรงทดสอบเดี่ยว ขนาด 23x52x22 เซนติเมตร

วิธีการ

การทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาเหยื่อพิษแกรนูลสารสกัดหางไหลต่อหนูทดลอง

- ดักจับหนูท้องขาวบ้าน โดยใช้กรงดักชนิดจับเป็น คัดเลือกหนูที่โตเต็มวัย แข็งแรง มีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกันทั้ง 2 เพศ โดยหนูท้องขาวบ้านมีน้ำหนักระหว่าง 100 – 225 กรัม (EPA, 1982) วัดขนาดชั่งน้ำหนักก่อนทำการทดสอบ แยกใส่กรงทดลองกรงละ 1 ตัว และให้หนูอดอาหารเป็นเวลา 1 คืน
- ทดสอบความเป็นพิษของเหยื่อพิษแกรนูลสารสกัดหางไหลกับหนูทดลอง ทุกเดือนๆ ละ 1 ครั้ง เป็นระยะเวลา 1 ปี
- ทดสอบความเป็นพิษของเหยื่อพิษแกรนูลสารสกัดหางไหลกับหนูทดลอง โดยให้เหยื่อพิษเป็นเวลา 1 วัน ตามวิธีการของ ASTM (1977) และ EPPO (1975) หลังจากนั้นให้อาหารและน้ำตามปกติ เป็นระยะเวลา 14 วัน

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกน้ำหนักเหยื่อพิษที่หนูกิน

2. บันทึกลักษณะอาการสุขภาพน้ำหนักและพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นของหนูเป็นระยะเวลา 14 วัน

3. ในกรณีหนูทดลองตาย ทำการผ่าซากเพื่อดูพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น บันทึกผลและหาอัตราการตายของหนูทดลอง

4. การวิเคราะห์ข้อมูล เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยชุดข้อมูล

เวลาและสถานที่

เวลา ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2566 – กันยายน 2567

สถานที่ ภายในกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาเหยื่อพิษหางไหล โดยทดสอบกับหนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) ในห้องปฏิบัติการ โดยทำการเก็บเหยื่อพิษหาง ไหลไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำมาทดสอบความเป็นพิษของเหยื่อพิษจากสารสกัดหางไหลกับหนูทดลอง ในทุกเดือน พบว่า จากระยะเวลาในการเก็บรักษาเหยื่อพิษหางไหลในระยะเวลาที่ต่างกัน ประสิทธิภาพของสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด ทำให้หนูท้องขาวมีอัตราการตายที่ระยะเวลา 1,2 และ 3 เดือน พบอัตราการตายของหนูท้องขาว 100, 70 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1) จากการทดลองจะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพของเหยื่อพิษหางไหลที่ทำให้หนูตายเกิน 50 เปอร์เซ็นต์ นั้นมีอายุประมาณ 60 วัน หลังจากนั้นประสิทธิภาพจะลดลง ส่งผลให้การทดลองนี้จึงมีผลการทดลองที่ 3 เดือนเท่านั้น เพราะประสิทธิภาพของสารสกัดลดลง อัตราการตายของหนูน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะการตายของหนูเมื่อทำการศึกษาทางพยาธิวิทยา พบว่า เนื้อเยื่อของปอดจะมีลักษณะตกเลือด ซึ่งเป็นสาเหตุการตายของหนูทดลอง หลังจากได้รับสารโรติโนนในเหยื่อพิษหางไหล (ภาพที่ 1 และ 2) สำหรับปริมาณเหยื่อพิษที่หนูกิน หลังจากการทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาเหยื่อพิษหางไหล พบว่า ปริมาณการกินเหยื่อพิษหางไหลที่หนูท้องขาวกิน ในระยะเวลา 3 เดือน พบอัตราการกินเฉลี่ย 2.11±2.85, 1.97±1.60 และ 0.47±0.51 กรัม ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีไม่ใช้สาร (ให้อาหารหนู) อัตราการกินเหยื่อที่หนูท้องขาวกิน เฉลี่ย 6.43±2.10, 5.70 ±1.53 และ 6.75 ±1.99 กรัม ตามลำดับ ปริมาณเหยื่อพิษที่หนูท้องขาวกินและทำให้ตายได้นั้น มีปริมาณที่กินที่อัตรา 0.59±0.49 - 2.11±2.85 กรัมหรือจึงทำให้หนูท้องขาว

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเหยื่อพิษ ยิ่งใช้ระยะเวลานาน ประสิทธิภาพของสารสกัดในการกำจัดหนูก็จะลดลง สอดคล้องกับ สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ทำการทดสอบประสิทธิภาพ จากการสำรวจการสลายตัวของผลิตภัณฑ์เอกชนที่วางจำหน่ายในท้องตลาด ได้นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์โล่ติ๊นมาเก็บในสภาวะแตกต่างกัน ในช่วงระยะเวลา 8 เดือน พบว่า เก็บไว้ตากกลางแดด

เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และเก็บไว้ในห้องปรับอากาศ ปริมาณสารโรติโนนจะลดลงหรือสลายตัวไปเท่ากัน คือ 0.61% แต่ผลิตภัณฑ์ที่เก็บไว้ที่ตู้แช่แข็ง (-12°C) ในระยะเวลา 8 เดือน สารโรติโนนจะสลายไป 0.85% สารโรติโนนไม่จำเป็นต้องเก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิต่ำ จนถึงแช่แข็งเหมือนสารสกัดจากพืช อื่นๆ เช่น สะเดา rotenone เก็บที่อุณหภูมิต่ำมากๆ จะทำให้มีการเสื่อมสภาพเร็ว จึงควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องธรรมดา และที่สำคัญควรเก็บในขวดสีชา และปิดฝาให้สนิทเพื่อป้องกันไม่ให้ความชื้นและแรงแดดผ่านเข้าไปได้ถ้าต้องการทำให้โรติโนนที่สกัดได้จากโล่ติ๊นสามารถคงสภาพอยู่ได้นาน ให้ผสมด้วยกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้น 3.5% หรือกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 3.5% แต่นิยมใช้กรดฟอสฟอริก มากกว่าเพราะหลังจากใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชแล้วยังมีสารฟอสเฟตตกค้างอยู่ กลายเป็นปุ๋ยหรือธาตุอาหารของพืชต่อไป สารที่อยู่ตัวของสารออกฤทธิ์โรติโนนที่สกัดได้จากโล่ติ๊นจะอยู่ในรูปของโรติโนนฟอสเฟตสามารถเก็บได้นานกว่า 6 เดือน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาเหยื่อพิษหางไหล โดยทดสอบกับหนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) ในห้องปฏิบัติการ โดยทำการเก็บเหยื่อพิษหาง ไหลไว้ที่อุณหภูมิห้องและนำมาทดสอบในทุกเดือน (จากการทดลองที่ 2.4) พบว่า ประสิทธิภาพของสารสกัดหางไหลรูปแบบเม็ด พบอัตราการตายของหนูท้องขาวในเดือนแรกมีประสิทธิภาพมากโดยพบอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และหลังจากทิ้งระยะเวลาทดสอบใน 2 -3 เดือนพบอัตราการตายของหนูลดลง จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเหยื่อพิษยิ่งใช้ระยะเวลานาน ประสิทธิภาพของสารสกัดในการกำจัดหนูก็จะลดลง ดังนั้น ควรใช้เหยื่อพิษในการกำจัดหนูในช่วงระยะเวลา ไม่เกิน 60 วัน จึงจะทำให้ประสิทธิภาพของเหยื่อพิษหางไหลกำจัดหนูได้ผลและลดจำนวนประชากรของหนูลดลงได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยทำให้งานวิจัยลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 2544. หนูและการป้องกันกำจัด, น. 1-21. เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ

กรแก้ว เสือสะอาด ปราสาททอง พรหมเกิด ดาราพร รินทะรักษ์ ทรงทัพ แก้วตา รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา และพรรณีกา อัตตนนท์. 2551. วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหลเพื่อกำจัด

หนูศัตรูพืช. *ใน*: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 508-515.

เสริมศักดิ์ หงส์นาค . 2543. ประวัติการป้องกันกำจัดหนูในประเทศไทย, น. 1-35. *ใน*: เอกสารการประชุมสัมมนา เรื่อง หนูศัตรูพืชและมนุษย์ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. 2548. ผลงานวิชาการ เรื่อง โล่ติ๊น. รายงานวิจัยปี 2541-2547. กองวัตถุมีพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพ.

ASTM. 1977. Standard Test Method for Efficacy of Single-Dose Rodenticide under Labolatory Conditions. ASTM E 565-76 American Society for Testing and Materials,pp. 16-23.

Francis, C. M. 2008. A field guide to the Mammal of Thailand and South - East Asia. Asia Books Co., Ltd .

Marshall, T. Joe. 1977. Family Muridae, pp. 397-487. *In* Lekagul, B., and A. M. Jeffery. 1977. Mammal of Thailand. Kurusapha Ladprao Press, Bangkok.

Table 1 Efficacy of the retention time of rotenone bait (*Derris elliptica* Benth.)

Treatment	Month	Mortality rate (%)	Amount of food (g)
rotenone bait	1	100	2.11±2.85
	2	70	1.97±1.60
	3	30	0.59±0.49
Control	1	0	6.43±2.10
	2	0	5.70 ±1.53
	3	0	6.75 ±1.99

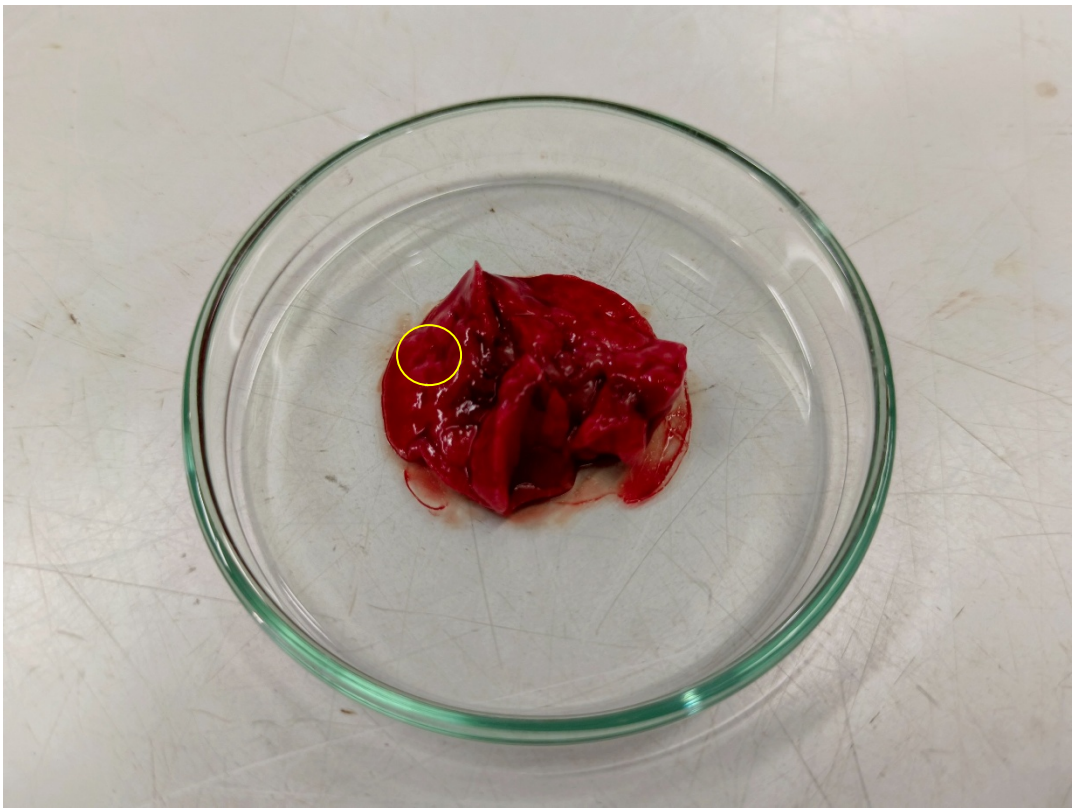


Figure 1 Characteristics of lung with blood spots after receiving the rotenone bait

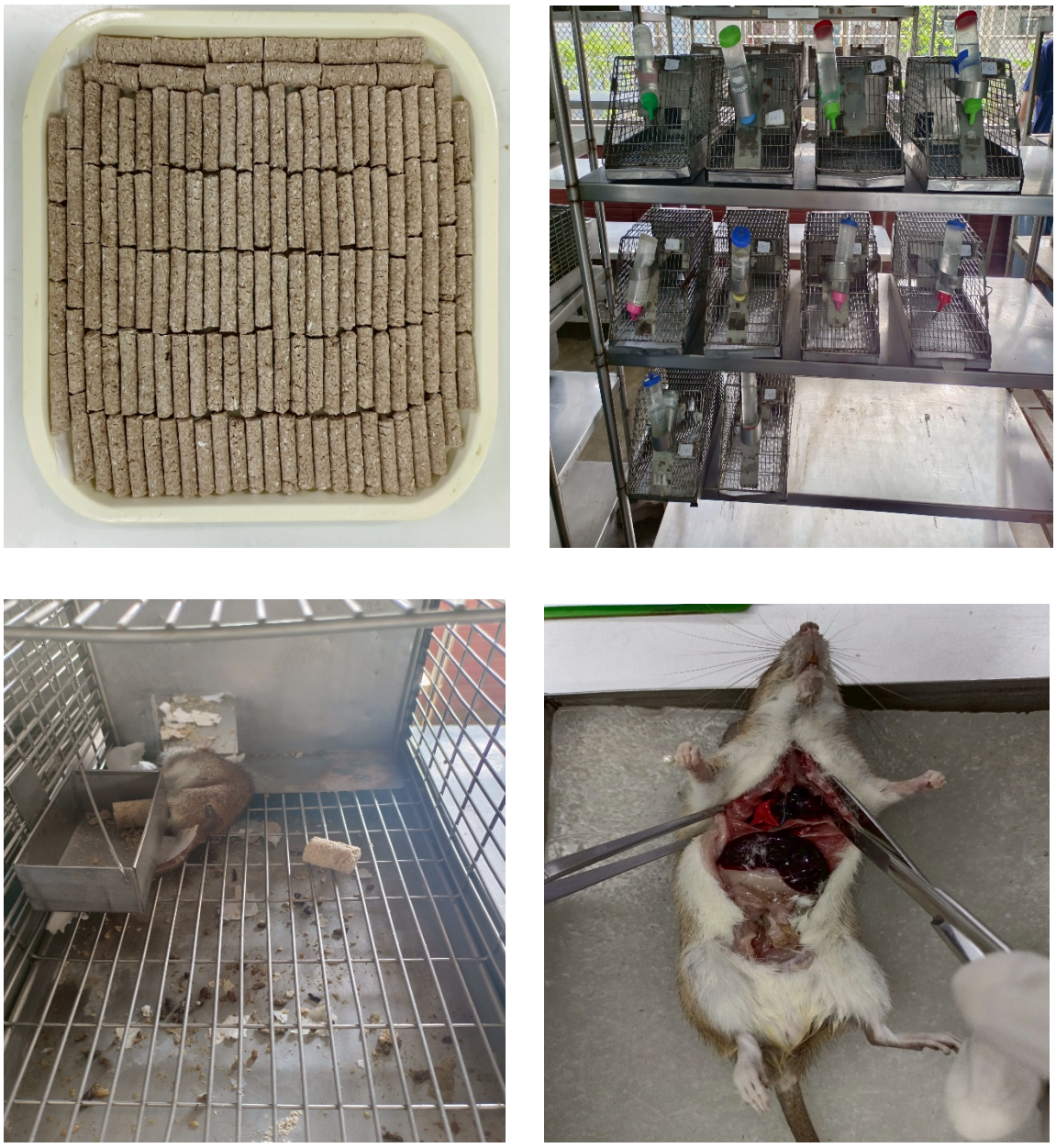


Figure 2 The retention time of rotenone bait on the house rat (*Rattus rattus*) in the Laboratory

เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในอ้อย เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย

Integrated weed management technology in sugarcane to enhance weed control potential and produce safe crops

ปรัชญา เอกฐิน[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[2/] ยุรวรรณ อนันตนมณี[3/]
ผกาสินี คล้ายมาลา[4/] ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ[4/]

[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[4/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

Abstract

The combination of pre-emergence herbicide and post-emergence herbicide in step 3 with tractor-trailer rotary hoe and tractor-trailer spring harrow was compared with the farmers' weed control method followed by halosulfuron+ametryn at 2 months after planting sugarcane and spraying with hexazinone+diuron at 1 day after planting sugarcane followed by a rotary hoe attached to a tractor. 2 months after planting sugarcane and spraying with hexazinone+diuron at 1 day after planting sugarcane followed by a spring harrow attached to a tractor. Experimental results this method can control weeds for 5-6 months after planting, better than the farmer's method of spraying atrazine 1 day after planting followed by glufosinate 2 months after planting, which can control weeds for 3 months and all pre-emergence herbicide and post-emergence herbicide did not residues. Therefore, the integrated weed management technology in field crops (sugarcane) was used to transfer knowledge to 25 sugarcane farmers in Suphan Buri Province.

Keywords : Sugarcane, weed control, integrated weed management technology in field crops

รหัสการทดลอง FF65-11-01-65-02-01-67

บทคัดย่อ

นำสารกำจัดวัชพืชแบบพ่นก่อนงอก (pre-emergence) ร่วมกับ สารกำจัดวัชพืชพ่นแบบหลังงอก (post-emergence) ในขั้นตอนที่ 3 ใช้ร่วมกับจอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์และคราดสปริงติดท้ายรถแทรกเตอร์เทียบกับวิธีกำจัดวัชพืชของเกษตรกร (พ่นสาร atrazine ตามด้วยสาร glufosinate-ammonium ที่ระยะ 45-60 วันหลังปลูก ดำเนินการในจังหวัดสุพรรณพรรณบุรี พบว่า การพ่นสาร hexazinone+diuron ที่ 1 วันหลังปลูกอ้อย ตามด้วยสาร halosulfuron+ametryn ที่ 2 เดือนหลังปลูกอ้อย และวิธีพ่น สาร hexazinone+diuron ที่ 1 วันหลังปลูกอ้อยตามด้วยจอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ 2 เดือนหลังปลูกอ้อย และการพ่นสาร hexazinone+diuron ที่ 1 วันหลังปลูกอ้อยตามด้วยคราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ผลการทดลอง พบว่า วิธีดังกล่าวสามารถควบคุมวัชพืชได้ยาวนานถึง 5-6 เดือนหลังปลูกอ้อย ดีกว่าวิธีเกษตรกรซึ่งพ่น atrazine ที่ 1 วันหลังปลูกอ้อยตามด้วยสาร glufosinate ที่ 2 เดือนหลังปลูกอ้อยซึ่งควบคุมวัชพืชได้ 3 เดือน และทุกวิธีที่พ่นสารไม่พบปริมาณสารเคมีตกค้างทั้งก่อนพ่นสารและขณะเก็บเกี่ยวผลผลิต จึงนำเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชไร่ (อ้อย) ไปถ่ายทอดความรู้ให้แก่เกษตรกรปลูกอ้อยในจังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 25 ราย

คำหลัก : อ้อย, การควบคุมวัชพืช, เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชไร่

คำนำ

การจัดการวัชพืชในอ้อย โดยทั่วไปเกษตรกรนิยมใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก (pre-emergence herbicides) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการควบคุมการงอกของเมล็ดวัชพืชได้ประมาณ 30 วันหลังพ่นสาร หลังจากนั้นประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชจะลดลง ทำให้มีวัชพืชงอกขึ้นมาแข่งขันกับพืชปลูก การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกเพียงครั้งเดียว ไม่เพียงพอต่อการควบคุมวัชพืช เนื่องจากระยะเวลาที่ปลอดวัชพืช (weed free period) ในพืชไร่นั้นอยู่ที่ 3-4 เดือนหลังปลูกอ้อย ในช่วงนี้หากปล่อยให้มีวัชพืชรบกวนจะส่งผลทำให้ผลผลิตพืชเสียหายได้เกษตรกรจึงต้องใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอก (post-emergence herbicides) ในการกำจัดวัชพืชที่ขึ้นมาภายหลัง หากไม่มีสารทางเลือก หรือวิธีการอื่นมาใช้ในการกำจัดวัชพืชที่ขึ้นมาภายหลังจะส่งผลกระทบต่อผลผลิต ทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554; Yogita et al, 2018; Gulshan and Hickey, 2020) กระทบต่อรายได้ของประเทศ นอกจากนั้นหากเกษตรกรเลือกใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกที่ไม่ถูกต้องกับอ้อย ไม่ถูกกับชนิดกับวัชพืช และใช้แบบไม่ถูกต้องตามอัตราการใช้ โดยขาดความรู้ความเข้าใจ จะส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของเกษตรกร ผู้บริโภค และสภาพแวดล้อม การใช้แรงงานคนถากหญ้าด้วยจอบอาจจะกระทบต่อการเจริญเติบโต ประกอบกับแรงงานมีราคาแพง เกษตรกรจึงนิยมที่จะใช้สารกำจัดวัชพืช ในประเทศไทยแนะนำสารกำจัดวัชพืชสำหรับใช้ควบคุมวัชพืชในอ้อย ได้แก่ paraquat, โดยพ่นหลังวัชพืชงอกและ

วัชพืชมีความสูงไม่เกิน 30 เซนติเมตร (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2555; สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2560) ในปัจจุบันประเทศไทยได้ยกเลิกการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน 2563 เป็นต้นไป ส่งผลให้เกษตรกรไม่สามารถใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ได้อีกต่อไป ทำให้เกษตรกรทุกภาคส่วนเกิดความเดือดร้อนเนื่องจากไม่มีสารกำจัดวัชพืชที่เหมาะสมใช้แทนสาร paraquat ทำให้อ้อยถูกแก่งแย่งอาหารโดยวัชพืชผลผลิตเสียหายลดลง 10-20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลผลิตที่หายไปนั้นย่อมส่งผลต่อปริมาณการส่งออกของผลิตภัณฑ์เกษตร ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อศักยภาพการแข่งขันในตลาดโลก นอกจากนี้ต้นทุนที่สูงขึ้นส่งผลให้อุตสาหกรรมแปรรูปประสบปัญหาและราคาอาหารสูงขึ้น เกิดผลกระทบต่อเนื่องไปยังผู้บริโภค จากมติดังกล่าวทำให้เกษตรกรมีความต้องการสารกำจัดวัชพืชหรือวิธีการจัดการวัชพืชที่มีประสิทธิภาพมาใช้แทนสารกำจัดวัชพืช paraquat

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาสารทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชในอ้อย เพื่อเป็นทางเลือกแทนการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ที่มีความปลอดภัยต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม และลดการใช้สารเคมีทางการเกษตร โดยมุ่งเน้นเพื่อแก้ปัญหาการยกเลิกการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ให้กับเกษตรกรได้มีทางเลือกอื่น ๆ ในการกำจัดวัชพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในกรรมวิธีทดลอง ได้แก่ atrazine 80% WP, halosulfuron 75% WP, ametryn 80% WP, , glufosinate-ammonium 15%SL, hexazinone 13.2% WG/diuron 46.8% WP
2. เครื่องพ่นสารแบบสะพายหลัง (Knapsack sprayer) พร้อมหัวพ่นรูปพัด (Fan type)
3. กรอบสี่เหลี่ยมขนาด 50x50 เซนติเมตร
4. เครื่องชั่งตวงสารเคมี
5. ไม้เมตรสำหรับวัดความสูงของอ้อย
6. ป้ายปักแปลงทดลองและอุปกรณ์อื่นๆ
7. ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 และสูตร 15-15-15
8. ถุงกระดาษ
9. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
10. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดิน (Hand auger)
11. พลั่วตักดิน
12. รถแทรกเตอร์ติดอุปกรณ์พวงท้ายจอบหมุนและคราดสปริงกำจัดวัชพืช

วิธีการ

กรรมวิธี	วิธีดำเนินการ
1.สารกำจัดวัชพืชที่ได้จากกิจกรรมที่ 1	hexazinone/diuron (pre) ตามด้วย halosulfuron+ametryn (post) ที่ 60 วัน
2.สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อน hexazinone/diuron (pre) ร่วมกับ จอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์	พ่นสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 1-2 วันหลังปลูก ตามด้วยใช้จอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ ที่ระยะ 50-60 วันหลังปลูก
3.สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อน hexazinone/diuron (pre) ร่วมกับ จอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์	พ่นสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 1-2 วันหลังปลูก ตามด้วยใช้คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ ที่ระยะ 50-60 วันหลังปลูก
4.คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์	ใช้คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ 2-3 ครั้ง ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของวัชพืช และรถแทรกเตอร์เข้าแปลงได้
5.คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ ร่วมกับ จอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์	คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ ที่ระยะ 20-25 วันหลังปลูก ใช้จอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ที่ระยะ 50-60 วันหลังปลูก
6. กรรมวิธีเปรียบเทียบ (วิธีเกษตรกร)	atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% SL (post) 45-60 วันหลังปลูก
7.กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน	กำจัดวัชพืช 3-4 ครั้ง ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของวัชพืช
8.ไม่กำจัดวัชพืช	-

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

ประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นอ้อยด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 30, 60, 90, 120 และ 150 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และที่ระยะเก็บเกี่ยว

บันทึกจำนวนชนิดและน้ำหนักแห้งของวัชพืช ที่ระยะ 30, 60, 90, 120 และ 150 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และที่ระยะเก็บเกี่ยว ในทุกกรรมวิธีการทดลอง และบันทึกการเจริญเติบโต โดยวัดความสูงต้น ที่ระยะ 90, 120 และ 150 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และที่ระยะเก็บเกี่ยว เก็บการแตกกอ ที่

ระยะ 120 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้วนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติและคำนวณต้นทุนการจัดการวัชพืช

ขั้นตอนที่ 4 การวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชตกค้างในดินและผลผลิต

ขั้นตอนที่ 4.1วิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชตกค้างในดิน

ทำการเก็บตัวอย่างดิน ขณะเก็บเกี่ยวผลผลิต เก็บตัวอย่างดินจากแปลงอ้อยโดยการสุ่มเก็บตัวอย่างแบบกระจายจุดที่จะเก็บให้ทั่วแปลงเก็บตัวอย่างดินกรรมวิธีละ3 จุด อย่างน้อย 1 กิโลกรัม ส่งตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารเคมีตกค้างโดยใช้วิธี High Performance Liquid Chromatography: HPLC ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรกรมวิชาการเกษตร

เวลาและสถานที่

เวลา ระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2566-กันยายน 2567

สถานที่ แปลงปลูกอ้อยของเกษตรกร อำเภอหนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

วิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชตกค้างในดินก่อนพ่นสารกำจัดวัชพืช

เก็บตัวอย่างดิน ตามวิธีการมาตรฐานที่กำหนด เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารกำจัดวัชพืช นำดินที่สุ่มได้ มาคลุกเคล้าให้เข้ากันก่อนชั่งตัวอย่างดินตัวอย่างละ 2 กิโลกรัม ใส่ถุงพลาสติกเขียนรหัส วัน เวลา สถานที่เก็บตัวอย่าง เพื่อส่งตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารตกค้างในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography: HPLC In-house method TM-T04-I01 based on AOAC (2016) ผลการวิเคราะห์ พบว่า ก่อนพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีไม่พบปริมาณสารตกค้างของสารกำจัดวัชพืชตามวิธี ไม่พบปริมาณสารตกค้างของสารกำจัดวัชพืชในทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร (Table 1)

ทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในสภาพแปลงทดลอง อ.หนองหญ้าไซ จ.สุพรรณบุรี

<u>ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย</u>

จากประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นอ้อยด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏ ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืชไม่แสดงอาการเป็นพิษต่ออ้อย (Table 2)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช

จากประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏ

ที่ระยะ 30 และ 60 หลังพ่นสาร ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีประสิทธิภาพในการคบคุมวัชพืชในระดับดี 9-10 คะแนน ส่วนกรรมวิธีใช้คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ ที่ระยะ 25 วันหลังปลูกอ้อยมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช ได้สมบูรณ์ 10 คะแนน ที่ระยะ 90 วันหลังพ่นสาร กรรมวิธีที่ 1 พ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกตามด้วยสารกำจัดวัชพืชแบบหลังงอก (hexazinone/diuron ตามด้วย halosulfuron+ametryn post ที่ 60 วัน) กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกร่วมกับ ใช้จอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกร่วมกับใช้คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช 9-10 คะแนน ส่วนกรรมวิธีที่ 4 คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชลดลงควบคุมได้ปานกลางถึงระดับดี 6-7 คะแนน เนื่องจากอ้อยต้นโตและมีการแตกกอแล้ว คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ไม่สามารถเข้าปฏิบัติงานได้ วุฒิพล และคณะ (2562) สำหรับกรรมวิธีที่ 5 คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ ร่วมกับ จอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช 9-10 คะแนน เพราะจอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์สามารถเข้าไปพรวนกำจัดวัชพืชระหว่างแถวอ้อยได้ และกรรมวิธีที่ 6 atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% SL (post) 45-60 วันหลังปลูก มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 5-7 เนื่องจากสารกำจัดวัชพืช glufosinate กำจัดวัชพืชวัชพืชที่งอกแล้วเท่านั้นไม่สามารถควบคุมวัชพืชที่งอกจากเมล็ดได้ จึงทำให้วิธีดังกล่าวพบวัชพืชขึ้น (รังสิต, 2547) กรรมวิธีที่ 7 กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานมีประสิทธิภาพในการคบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ 10 คะแนน ที่ระยะ 120 และ 150 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และที่ระยะเก็บเกี่ยว พบว่ากรรมวิธีที่ 1 พ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกตามด้วยสารกำจัดวัชพืชแบบหลังงอก (hexazinone/diuron ตามด้วย halosulfuron+ametryn post ที่ 60 วัน) กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกร่วมกับ ใช้จอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกร่วมกับใช้คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช 7 คะแนน เนื่องจากอ้อยต้นโตและมีการแตกกอแล้ววัชพืชไม่สามารถแข่งขันกับอ้อยได้ ส่วนกรรมวิธีที่ 4 คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย 3 คะแนน สำหรับ กรรมวิธีที่ 5 คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ ร่วมกับ จอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช 9-10 คะแนน เพราะจอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์สามารถเข้าไปพรวนกำจัดวัชพืชระหว่างแถวอ้อยได้ และกรรมวิธีที่ 6 atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% SL (post) 45-60 วันหลังปลูก มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 4 คะแนน กรรมวิธีที่ 7 กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ 10 คะแนน (Table 3)

จำนวนชนิดและน้ำหนักแห้งของวัชพืช

จากการสุ่มนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชที่พบในแปลงที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืชและวิธีกำจัดวัชพืชด้วยมือ สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีมีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช ดีเทียบเท่ากรรมวิธีพ่นสารเปรียบเทียบ atrazine ตามด้วย glufosinate-ammonium at 60 วันหลังปลูกซึ่งเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ ซึ่งสารกำจัดวัชพืชแบบ

ก่อนงอกทุกประเภทที่ใช้ในอ้อยมีระยะเวลาในการควบคุมวัชพืชได้นาน 1-3 เดือน ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม (Anonymous. 2019) หลังจากนั้นสารกำจัดวัชพืชจะค่อยๆเสื่อมฤทธิ์ในการควบคุม ทำให้เมล็ดวัชพืชที่อยู่ในดินสามารถงอกขึ้นมาแข่งขันได้ทุกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืชและวิธีกำจัดวัชพืชด้วยมือ มีจำนวนต้นวัชพืช ประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนติด วัชพืชประเภทใบกว้าง ผักเบี้ยหิน หญ้ายาง อยู่ระหว่าง 0.0-17.3 ต้นต่อตารางเมตรและมีน้ำหนักแห้งของวัชพืชดังกล่าวอยู่ที่ 0.0-1.7 กรัมต่อตารางเมตรซึ่งแตกต่างกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช

ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกเพียงอย่างเดียว ได้แก่ กรรมวิธีพ่นสาร diuron 80% WP อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่นสาร atrazine 80% WP+diuron80% WP อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ และกรรมวิธีพ่นสาร hexazinone 13.2% WG+diuron 46.8% WP อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ที่ระยะ 1 วันหลังปลูกอ้อยเพียงครั้งเดียวมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชลดลงพบจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช ประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนติด วัชพืชประเภทใบกว้าง ผักเบี้ยหิน หญ้ายาง มากกว่า กรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกร่วมกับกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบหลังงอกที่ระยะ 60 วันหลังปลูกอ้อยมีความแตกต่างของจำนวนต้นน้ำหนักแห้งวัชพืชกับกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกที่ระยะ 1 วันหลังปลูกอ้อยเพียงครั้งเดียว ซึ่งระยะวิกฤตที่ปราศจากวัชพืชในอ้อยอยู่ที่ 0-4 เดือนหลังปลูก (เกลียวพันธุ์, 2547)

ที่ระยะ 90, 120 และ 150 วันหลังพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกเพียงอย่างเดียว ได้แก่ กรรมวิธีพ่นสาร diuron 80% WP อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่นสาร atrazine 80% WP+diuron80% WP อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ และกรรมวิธีพ่นสาร hexazinone 13.2% WG+diuron 46.8% WP อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ที่ระยะ 1 วันหลังปลูกอ้อยเพียงครั้งเดียว ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้ โดยมีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช อยู่ระหว่าง 40.6-67.0 ต้นต่อตารางเมตร และมีน้ำหนักแห้งวัชพืชดังกล่าวอยู่ที่ 33.8-103.6 กรัมต่อตารางเมตร (Table 4, 5, 6, 7, 8)

การเจริญเติบโตของอ้อย

การวัดการเจริญเติบโตของอ้อยโดยการวัดความสูงต้น ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และนับการแตกกอ ที่ระยะ 120 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ความสูงต้นอ้อยและการแตกกอในกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช ในกรรมวิธีพ่นสาร hexazinone 13.2% WG+diuron 46.8% WP อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ที่ระยะ 1 วันหลังปลูกอ้อยตามด้วยการพ่น halosulfuron 75%WP+ametryn 80% WP อัตรา 9+400 กรัม(ai)/ไร่ ที่ระยะ 60 วันหลังปลูกอ้อยแต่มีความสูงและการแตกกอของอ้อยแตกต่างกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช เนื่องจากฤทธิ์ในการควบคุมวัชพืชแบบก่อนงอกของสารกำจัดวัชพืชยับยั้งการแข่งขันของวัชพืชกับอ้อยได้ในช่วง 0-60 วันหลังพ่นสาร ทำให้การเจริญเติบโตในช่วงดังกล่าวยังสามารถเจรญเติบโตได้แต่ส่วนความสูงต้นอ้อยและการแตกกอ ที่ระยะ 120 และ 150 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และที่ระยะเก็บเกี่ยวพบว่า ความสูงต้นอ้อยและการแตกกอในกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช ในกรรมวิธีพ่นสาร atrazine 80% WP อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีใช้คราดสปริงพ่วง

ท้ายรถแทรกเตอร์ และคราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ ร่วมกับ จอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์มีพบวัชพืชขึ้นแข่งขันกับอ้อยในกรรมวิธีดังกล่าว เพราะระยะวิกฤตที่ปราศจากวัชพืชในอ้อยต้องครอบคลุมถึงระยะ 120 วันหลังปลูกอ้อย หากมีวัชพืชรบกวนในช่วงนี้จะส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของอ้อยทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของวัชพืชที่พบในแปลงปลูกอ้อยด้วย (เกลียวพันธุ์, 2546) (Table 9)

ผลผลิตอ้อย

การสุ่มตัดชั่งน้ำหนักสดผลผลิตอ้อยที่ระยะ 10 เดือนหลังปลูก พบว่า ใน hexazinone 13.2% WG+diuron 46.8% WP อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ที่ระยะ 1 วันหลังปลูกอ้อยตามด้วยการพ่น halosulfuron 75%WP+ametryn 80% WP อัตรา 9+400 กรัม(ai)/ไร่ ที่ระยะ 60 วันหลังปลูกอ้อย และคราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ ร่วมกับ จอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์สอดคล้องกับการเจริญเติบโตด้านความสูงและกรแตกกอ โดยการพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกเพียงครั้งเดียวให้ผลผลิตน้ำหนักสดอ้อยอยู่ที่ 4.2-5.6 ตันต่อไร่แตกต่างกับกรรมวิธี พ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกตามด้วยสารกำจัดวัชพืชแบบหลังงอกที่ระยะ 2 เดือนหลังปลูกอ้อย ซึ่งให้ผลผลิตน้ำหนักสดอ้อยอยู่ที่ 7.6-9.5 ตันต่อไร่ (Table 9)

ต้นทุนในการจัดการวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

จากการคำนวณต้นทุนในการจัดการวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร hexazinone 13.2% WG+diuron 46.8% WP อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ที่ระยะ 1 วันหลังปลูกอ้อยตามด้วยและกรรมวิธีพ่น halosulfuron 75%WP+ametryn 80% WP อัตรา 9+400 กรัม(ai)/ไร่ ที่ระยะ 60 วันหลังปลูกอ้อย มีต้นทุนในการกำจัดวัชพืช อยู่ที่ 820 บาทต่อไร่ ถูกกว่าวิธีจัดการวัชพืชด้วย การพ่นสาร สาร hexazinone 13.2% WG+diuron 46.8% WP อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ที่ระยะ 1 วันหลังปลูกอ้อย ตามด้วยคราดสปริงและจอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ ที่ระยะ 60 วันหลังปลูกอ้อย ที่มีต้นทุนการกำจัดวัชพืชอยู่ที่ 900 บาทต่อไร่

ส่วนกรรมวิธีใช้เครื่องจักรกลโดยไม่ใช้สารต้องทำการกำจัดวัชพืชทุกเดือน จำนวน 3-4 ครั้ง จนถึงระยะวิกฤตที่ปราศจากวัชพืชในอ้อยซึ่งอยู่ที่ 0-4 เดือนหลังปลูกอ้อย ทำให้ต้นทุนในการกำจัดวัชพืชอยู่ที่ 1,200-2,400 บาทต่อไร่ สำหรับกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยมือ กำจัด 5 ครั้ง โดยค่าแรงอยู่ที่ 500 บาทต่อไร่ ทำให้ต้นทุนในการกำจัดวัชพืชอยู่ที่ 2,500 บาทต่อไร่

วิธีจัดการวัชพืชของเกษตรกรโดยการพ่นสาร atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% W/V SL (post) ที่ 60 วันหลังปลูกอ้อย ถึงแม้จะมีต้นทุนในการกำจัดวัชพืชน้อยที่สุด 680 บาทต่อไร่ แต่ประสิทธิภาพไม่เพียงพอต่อการควบคุมวัชพืชจนถึงระยะวิกฤตที่ปราศจากวัชพืชในอ้อยเนื่องจากสารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% W/V SL ไม่มีฤทธิ์ในการควบคุมวัชพืชที่งอกจากเมล็ดหากจะแนะนำวิธีดังกล่าวอาจต้องเพิ่มจำนวนครั้งในการพ่นสาร glufosinate 15% W/V SL อีก 2-3 ครั้งจึงจะสามารถควบคุมวัชพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Table 10)

การถ่ายทอดเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในอ้อย

จากองค์ความรู้การจัดการวัชพืชแบบผสมผสานจึงนำไปสู่การถ่ายทอดองค์ความรู้การจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในอ้อย โดยจัดการถ่ายทอดองค์ความรู้ ณ อำเภอหนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี เกษตรกรปลูกอ้อยเข้ารวมจำนวน 25 ราย (Table 11)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1.วิธีจัดการวัชพืชโดย

1.1 พ่นสาร hexazinone 13.2% WG+diuron 46.8% WP อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ที่ระยะ 1 วันหลังปลูกอ้อย ตามด้วยและกรรมวิธีพ่น halosulfuron 75%WP+ametryn 80% WP อัตรา 9+400 กรัม(ai)/ไร่ ที่ระยะ 60 วันหลังปลูกอ้อย

1.2 พ่นสาร hexazinone 13.2% WG+diuron 46.8% WP อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ร่วมกับวิธีใช้คราดสปริงพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์

1.3 พ่นสาร hexazinone 13.2% WG+diuron 46.8% WP อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ร่วมกับวิธีใช้จอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์

มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชในอ้อยดีกว่าวิธีเกษตรกร (พ่นสาร atrazine 80% WP ที่ระยะ 1 วันหลังปลูกอ้อยตามด้วยพ่นสาร glufosinate 15% W/V SL ที่ระยะ 60 วันหลังปลูกอ้อย) และทุกวิธีที่พ่นสารไม่พบการตกค้างในดิน

2. วิธีพ่นสาร hexazinone 13.2% WG+diuron 46.8% WP

ที่ระยะ 1 วันหลังปลูกอ้อย ตามด้วย halosulfuron 75%WP+ametryn 80% WP ที่ระยะ 60 วันหลังปลูกอ้อย มีต้นทุนในการกำจัดวัชพืช ถูกกว่าการพ่นสาร hexazinone 13.2% WG+diuron 46.8% WP ที่ระยะ 1 วันหลังปลูกอ้อย ตามด้วยเครื่องจักรกล (คราดสปริงและจอบหมุนพ่วงท้ายรถแทรกเตอร์ ที่ระยะ 60 วันหลังปลูกอ้อย)

3. การถ่ายทอดเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในอ้อย

ณ อำเภอหนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี เกษตรกรปลูกอ้อยเข้ารวมจำนวน 25 ราย เกษตรกรเข้าใจในวิธีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในอ้อยและพร้อมนำไปประยุกต์ใช้ในการปลูกอ้อยต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงเกษตรกรปลูกอ้อยจังหวัดสุพรรณบุรี นักวิชาการและผู้ร่วมงานในโครงการที่ทำให้การทดลองในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2531. วัชพืช : คำแนะนำในการควบคุมวัชพืช. กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 146 หน้า.

กองโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม. 2014. รายงานการดำเนินการเฝ้าระวัง ป้องกัน ควบคุมโรคและภัยสุขภาพจากการประกอบอาชีพกลุ่มแรงงานนอกระบบ/ภาคเกษตรกรรม. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. 45 หน้า.

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. สอพ. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 149 หน้า.

เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์ และเสริมศิริ คงแสงดาว. 2530. วัชพืช : การควบคุมและกำจัด. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 126 หน้า

เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2546. วัชพืชในไร่อ้อยและการป้องกันกำจัด. วารสารกรมวิชาการเกษตร. 14 (1) : 1-15

จักร จักกะพาก และ ยาซุมาสะ โทวะ. 2528. เครื่องจักรกลการเกษตร. สำนักพิมพ์ดวงกมล. กรุงเทพฯ 34.

โชคชัย เอกทัศนาวรรณ แอนนา สายมณีรัตน์ สดใส ช่างสลัก แสงแข น้าวานิช และนางชไมพร เอกทัศนาวรรณ. 2557. การผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและคุณภาพดี. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://i4biz.nrct.go.th/download/ebook/10068.pdf (30 มีนาคม 2563).

ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม. 2563. ราชกิจจาฯ ประกาศแบน “พาราควอต-คลอร์ไพริฟอส” 1 มิถุนายน 2563. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.thansettakij.com/content/435101. (1 กรกฎาคม 2563).

พักตร์วิภา สุทธิวารี อัคคพล เสนาณรงค์ ยุทธนา เครือหาญชาญพงศ์ อนุชิต ฉ่ำสิงห์ ขนิษฐ์ หว่านณรงค์ และประสาท แสงพันธุ์ตา. 2552. วิจัยและพัฒนาคราดสปริงติดพ่วงรถแทรกเตอร์ขนาดเล็กสำหรับกำจัดวัชพืชในไร่อ้อย. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.doa.go.th/aeri/?p=708. (30 มีนาคม 2563).

ภาควิชาพืชไร่นา. 2547. พืชเศรษฐกิจ. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 460 หน้า.รังสิต สุวรรณเขตนิคม. 2547. สารป้องกันกำจัดวัชพืชพื้นฐานและวิธีการใช้. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 467 หน้า.

สราวุธ รุ่งเมฆารัตน์ รังสิต สุวรรณมรรคา จุฑามาศ ร่มแก้ว ปรัชญา เอกฐิน สุวัฒน์ เชษฐขุนทด และพรทินัน ปิติสม. 2554. การควบคุมวัชพืชโดยใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชร่วมกับการไถพรวนในอ้อย. หน้า 607-615. ใน : ผลงานวิจัยเรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49. กรุงเทพฯ

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย กระทรวงอุตสาหกรรม. 2557. โครงการจัดทำต้นทุนผลผลิตและถ่ายทอด ความรู้ เพื่อลดต้นทุนการผลิตอ้อยของเกษตรกร ในปีเพาะปลูก 2557/58. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.ocsb.go.th/upload/learning/fileupload/5336-6947.pdf. (3 มกราคม 2563).

Amit J. Jhala, Analiza H. M. Ramirez, and Megh Singh. 2017. Tank mixing saflufenacil, glufosinate, and indaziflam improved burndown and residual weed control. Weed Technology. 27: 422–429

Anonymous. 2019. Corn: Integrated Weed Management. (Online). Available. https://www.farmmanagement.pro/corn-integrated-weed-management. (December 27, 2019)..

Cardina, J., E. Regnier and K. Harrison. 1991. Long-term tillage effects on seed banks in three Ohio soils. Weed Science. 39: 186-194.

In-house method TM-T04-I01 based on AOAC (2016) 990.06

In-house method TM-T04-I02 based on AOAC (2016) 970.52

Table 1 Residue amount after spraying herbicides on soil samples in Nong Ya Sai District Suphanburi Province during September 2023-August 2024

	Test items	Soil weight (Wt)	% Moisture	Soil dry weight (Wt)	Amount of toxic substances in the sample (µg/g)	LOD	LOQ
1.	–atrazine	20.00	16.14	16.77	ND	0.998	0.04
2.	–ametryn	20.00	16.14	16.77	ND	0.998	0.009
3.	–diuron	20.00	16.14	16.77	ND	0.995	0.009
4.	–hexazinone	20.00	16.14	16.77	ND	0.995	0.009
5.	–halosulfuron-methyl	20.00	16.14	16.77	ND	0.998	0.009
6.	–glufosinate-ammonium	20.00	16.14	16.77	ND	0.995	0.009

ND = None detected LOD = Limit of Detection LOQ = Limit of Quantitation

Table 2 Toxicity of herbicides at 15 30 and 60 days after application at Nong Ya Sai District Suphanburi Province during September 2023-August 2024

Treatment	Efficiency of weed control		
	15 DAP[2/]	30 DAP	60 DAP
1 hexazinone+diuron (pre) fb[1/] (halosulfuron+ametryn (post) at 60 DAP	0[3/]	0	0
2 hexazinone+diuron (pre) fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	0	0	0
3 hexazinone+diuron (pre) fb Tractor trailer spring rake	0	0	0
4 Tractor trailer spring rake	0	0	0
5 Tractor trailer spring rake fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	0	0	0
6 atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% SL (post) at 45-60 DAP	0	0	0
7 Hand weeding	0	0	0
8 Untreated check	0	0	0

[1/]Fb = following by

[2/]DAP = Days after planted

[3/]Phytotoxic : 0 = normal 1-3 = slightly toxic 4-6 = moderately toxic 7-9 = severely toxic 10 = completely killed

Table 3 Efficiency of weeds control at 30 60 90 120 150 days after application at Nong Ya Sai District Suphanburi Province during September 2023-August 2024

Treatment	Efficiency of weed control					
	30 DAP	60 DAP	90 DAP	120 DAP	150 DAP	240 DAP (harvested)
1 hexazinone+diuron (pre) fb (halosulfuron+ametryn (post) at 60 DAP	10	9	9	7	7	7
2 hexazinone+diuron (pre) fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	10	9	7	7	7	7
3 hexazinone+diuron (pre) fb Tractor trailer spring rake	10	9	7	5	4	3
4 Tractor trailer spring rake	8	6	5	4	4	3
5 Tractor trailer spring rake fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	8	6	5	4	4	4
6 atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% W/V SL (post) at 45-60 DAP	9	8	6	5	4	4
7 Hand weeding	10	10	10	10	10	10
8 Untreated check	0	0	0	0	0	0

[1/]Fb = following by

[2/]DAP = Days after planted

[3/]Efficiency of weeds control : 0 = no control 1-3 = slightly control 4-6 = moderately control 7-9 = good control 10 = completely control

Table 4 Number and dry weight of weeds/square meter by species at 30 days after application at Nong Ya Sai District Suphanburi Province during September 2023-August 2024

Treatment	Number of weeds/square meter					Dry weight /square meter				
	Narrowleaf			Broadleaf		Narrowleaf			Broadleaf	
	DIGCI [4]	ECHCO	BRARE	TRIPO	EUPHE	DIGCI	ECHCO	BRARE	TRIPO	EUPHE
1.hexazinone+diuron (pre) fb (halosulfuron+ametryn (post) at 60 DAP	5.5a[3]	6.0a	7.0a	3.0a	2.3a	0.4a	0.5a	0.7a	1.8a	0.7a
2.hexazinone+diuron (pre) fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	6.0a	5.3a	5.3a	2.5a	3.0a	0.4a	0.5a	0.5a	1.5a	0.9a
3.hexazinone+diuron (pre) fb Tractor trailer spring rake	4.5a	6.3a	4.3a	1.2a	1.5a	0.3a	0.6a	0.4a	0.7a	0.5a
4.Tractor trailer spring rake	4.0a	5.0a	4.5a	0.0a	1.5a	0.3a	0.5a	0.5a	0.0a	0.5a
5.Tractor trailer spring rake fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	12.3a	8.5a	10.0a	5.2a	7.6a	0.9a	0.8a	1.0a	3.1a	2.3a
6..atrazine 80% WP (pre) glufosinate W/V 15% SL (post) at 45-60 DAP	17.3a	15.6a	12.5a	2.0a	2.3a	1.2a	1.4a	1.3a	1.2a	0.7a
7.Hand weeding	10.3a	6.5a	7.0a	3.2a	4.6a	0.7a	0.6a	0.7a	1.9a	1.4a
8.Untreated check	14.5a	12.6a	8.8	1.8a	1.3a	1.0a	1.1a	0.9a	1.1a	0.4a
C.V.%	**11.7**	**16.3**	**15.3**	**18.0**	**14.5**	**20.1**	**16.8**	**15.6**	**21.7**	**14.4**

[1]Fb = following by [2]DAP = Days after planted

[4]DIGCI = *Digitaria ciliaris* ECHCO = *Echinochloa colane* BRARE = *Brachiaria reptans TRIPO* = *Trianthema portulacastrum* EUPHE = *uphorbia heterophylla*

[3] Means within the same column followed by same letters are not significantly different at the 5% level by DMRT

ns = not significant

Table 5 Number and dry weight of weeds/square meter by species at 60 days after application at Nong Ya Sai District Suphanburi Province during September 2023-August 2024

Treatment	Number of weeds/square meter					Dry weight /square meter				
	Narrowleaf		Broadleaf			Narrowleaf		Broadleaf		
	DIGCI [4]	ECHCO	BRARE	TRIPO	EUPHE	DIGCI	ECHCO	BRARE	TRIPO	EUPHE
1.hexazinone+diuron (pre) fb (halosulfuron+ametryn (post) at 60 DAP	17.6ab	19.2a	22.4b	9.6a	7.4a	15.8a	23.0b	31.4b	19.2a	14.7a
2.hexazinone+diuron (pre) fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	19.2ab	17.0a	17.0a	8.0a	9.6a	17.3a	20.4b	23.7ab	16.0a	19.2a
3.hexazinone+diuron (pre) fb Tractor trailer spring rake	14.4a	20.2b	13.8a	13.8b	14.8b	13.0ab	24.2b	19.3ab	27.7b	39.6b
4.Tractor trailer spring rake	12.8a	16.0a	14.4a	20.0b	14.8b	11.5ab	19.2b	20.2ab	30.0b	39.6b
5.Tractor trailer spring rake fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	39.4b	27.2b	32.0b	6.6a	14.3b	5.4a	32.6c	44.8b	33.3b	48.6b
6..atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% W/V SL (post) at 45-60 DAP	55.4b	49.9b	40.0b	6.4a	7.4a	49.8c	59.9c	56.0b	12.8a	14.7a
7.Hand weeding	17.6ab	19.2a	22.4b	9.6a	7.4a	15.8a	23.0b	31.4b	19.2a	14.7a
8.Untreated check	46.4b	40.3b	28.2b	15.8b	14.2b	41.8c	48.4c	39.4b	31.5b	38.3b
C.V.%	**17.8**	**10.5**	**16.5**	**13.5**	**14.4**	**10.2**	**21.7**	**19.8**	**16.5**	**14.2**

[1/]Fb = following by [2/]DAP = Days after planted

[4/]DIGCI = *Digitaria ciliaris* ECHCO = *Echinochloa colane* BRARE = *Brachiaria reptans TRIPO* = *Trianthema portulacastrum* EUPHE = *uphorbia heterophylla*

[3/] Means within the same column followed by same letters are not significantly different at the 5% level by DMRT

ns = not significant

Table 6 Number and dry weight of weeds/square meter by species at 90 days after application at Nong Ya Sai District Suphanburi Province during September 2023-August 2024

Treatment	Number of weeds/square meter					Dry weight /square meter				
	Narrowleaf		Broadleaf			Narrowleaf		Broadleaf		
	DIGCI [4]	ECHCO	BRARE	TRIPO	EUPHE	DIGCI	ECHCO	BRARE	TRIPO	EUPHE
1.hexazinone+diuron (pre) fb (halosulfuron+ametryn (post) at 60 DAP	6.3a	6.4a	7.7a	10.7ab	3.6a	5.7a	8.3a	11.6a	23.5b	7.9a
2.hexazinone+diuron (pre) fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	5.0a	7.5a	6.0a	7.3a	5.6a	4.5a	9.8a	9.0a	16.1ab	12.3a
3.hexazinone+diuron (pre) fb Tractor trailer spring rake	46.1b	64.5b	44.0b	12.3b	15.4b	41.5c	83.9c	66.0b	27.0b	33.8b
4.Tractor trailer spring rake	41.0b	51.2b	46.1b	10.0b	15.4b	36.9c	66.6c	69.1b	20.0b	33.8b
5.Tractor trailer spring rake fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	7.6a	4.5a	11.7ab	13.2ab	7.8a	6.8a	5.9a	17.6a	29.0b	17.2a
6..atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% W/V SL (post) at 45-60 DAP	5.3a	9.7a	8.0a	4.5a	6.3a	4.8a	12.6a	12.0a	9.9a	13.9a
7.Hand weeding	6.3a	6.4a	7.7a	10.7ab	3.6a	5.7a	8.3a	11.6a	23.5b	7.9a
8.Untreated check	65.0c	66.6b	52.0b	32.8b	47.1d	58.5c	86.5c	78.0b	72.1d	103.6d
C.V.%	**22.7**	**15.6**	**11.7**	**20.2**	**15.6**	**17.8**	**44.6**	**45.3**	**32.5**	**26.4**

[1/]Fb = following by [2/]DAP = Days after planted

[4/]DIGCI = *Digitaria ciliaris* ECHCO = *Echinochloa colane* BRARE = *Brachiaria reptans TRIPO = Trianthema portulacastrum* EUPHE = *uphorbia heterophylla*

[3/] Means within the same column followed by same letters are not significantly different at the 5% level by DMRT

ns = not significant

Table 7 Number and dry weight of weeds/square meter by species at 120 days after application at Nong Ya Sai District Suphanburi Province during September 2023-August 2024

Treatment	Number of weeds/square meter					Dry weight /square meter				
	Narrowleaf		Broadleaf			Narrowleaf		Broadleaf		
	DIGCI [4]	ECHCO	BRARE	TRIPO	EUPHE	DIGCI	ECHCO	BRARE	TRIPO	EUPHE
1.hexazinone+diuron (pre) fb (halosulfuron+ametryn (post) at 60 DAP	11.3	11.4	12.7	15.7	8.6	9.0	9.1	10.2	36.1	19.8
2.hexazinone+diuron (pre) fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	10.0	12.5	11.0	12.3	10.6	8.0	10.0	8.8	28.3	24.4
3.hexazinone+diuron (pre) fb Tractor trailer spring rake	65.3	34.6	63.0	15.5	28.2	52.2	27.7	50.4	35.7	64.9
4.Tractor trailer spring rake	50.0	32.5	43.0	16.7	22.6	40.0	26.0	34.4	38.4	52.0
5.Tractor trailer spring rake fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	12.6	9.5	16.7	18.2	12.8	10.1	7.6	13.4	41.9	29.4
6..atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% W/V SL (post) at 45-60 DAP	10.3	14.7	13.0	9.5	11.3	8.2	11.8	10.4	21.9	26.0
7.Hand weeding	11.3	11.4	12.7	15.7	8.6	9.0	9.1	10.2	36.1	19.8
8.Untreated check	53.5	34.6	63.0	15.5	28.2	42.8	27.7	50.4	35.7	64.9
C.V.%	**53.5**	**34.6**	**63.0**	**15.5**	**28.2**	**42.8**	**27.7**	**50.4**	**35.7**	**64.9**

[1]/Fb = following by [2]/DAP = Days after planted

[4]/DIGCI = *Digitaria ciliaris* ECHCO = *Echinochloa colane* BRARE = *Brachiaria reptans TRIPO = Trianthema portulacastrum* EUPHE = *uphorbia heterophylla*

[3]/ Means within the same column followed by same letters are not significantly different at the 5% level by DMRT

ns = not significant

Table 8 Number and dry weight of weeds/square meter by species at 150 days after application at Nong Ya Sai District Suphanburi Province during September 2023-August 2024

Treatment	Number of weeds/square meter					Dry weight /square meter				
	Narrowleaf		Broadleaf			Narrowleaf		Broadleaf		
	DIGCI [4]	ECHCO	BRARE	TRIPO	EUPHE	DIGCI	ECHCO	BRARE	TRIPO	EUPHE
1.hexazinone+diuron (pre) fb (halosulfuron+ametryn (post) at 60 DAP	15.3	15.4	16.7	11.7	4.6	12.2	12.3	13.4	22.2	8.7
2.hexazinone+diuron (pre) fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	14.0	16.5	15.0	8.3	6.6	11.2	13.2	12.0	15.8	12.5
3.hexazinone+diuron (pre) fb Tractor trailer spring rake	69.3	38.6	67.0	11.5	24.2	55.4	30.9	53.6	21.9	46.0
4.Tractor trailer spring rake	54.0	36.5	47.0	12.7	18.6	43.2	29.2	37.6	24.1	35.3
5.Tractor trailer spring rake fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	16.6	13.5	20.7	14.2	8.8	13.3	10.8	16.6	27.0	16.7
6..atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% W/V SL (post) at 45-60 DAP	14.3	18.7	17.0	5.5	7.3	11.4	15.0	13.6	10.5	13.9
7.Hand weeding	15.3	15.4	16.7	11.7	4.6	12.2	12.3	13.4	22.2	8.7
8.Untreated check	57.5	38.6	67.0	11.5	24.2	46.0	30.9	53.6	21.9	46.0
C.V.%	**44.6**	**32.7**	**57.3**	**6.2**	**14.2**	**35.7**	**26.2**	**45.8**	**11.8**	**27.0**

[1/]Fb = following by [2/]DAP = Days after planted

[4/]DIGCI = *Digitaria ciliaris* ECHCO = *Echinochloa colane* BRARE = *Brachiaria reptans TRIPO* = *Trianthema portulacastrum* EUPHE = *uphorbia heterophylla*

[3/] Means within the same column followed by same letters are not significantly different at the 5% level by DMRT

ns = not significant

Table 9 Yield and yield component of sugarcane at Nong Ya Sai District Suphanburi Province during September 2023-August 2024

Treatment	Plant Height (cm.) days after planted						Tiller no. (days after planted)						Yield tone /rai
	30 DAP	60 DAP	90 DAP	120 DAP	150 DAP	240 DAP (harvested)	30 DAP	60 DAP	90 DAP	120 DAP	150 DAP	240 DAP (harvested)	
1 hexazinone+diuron (pre) fb (halosulfuron+ametryn (post) at 60 DAP	17.0a[/1]	26.7a	45.5a	89.6a	142.3a	171.3a	1.3a	2.1a	4.6a	7.6a	8.8a	9.0a	12.6a
2 hexazinone+diuron (pre) fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	14.0a	25.6a	46.7a	82.3a	139.7a	166.3a	1.1a	2.2a	4.7a	6.7a	8.0a	9.3a	11.3a
3 hexazinone+diuron (pre) fb Tractor trailer spring rake	14.0a	29.9a	40.3a	80.6a	136.4a	163.6a	1.0a	2.5a	4.6a	6.5a	7.9a	9.9a	10.8a
4 Tractor trailer spring rake	19.0a	24.5a	32.5a	67.5b	110.3b	140.3b	1.0a	2.5a	4.0a	6.0b	6.3b	6.7b	7.8b
5 Tractor trailer spring rake fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	18.5a	23.5a	33.6a	60.4b	110.0b	145.6b	1.0a	2.3a	4.0a	6.0b	6.2b	6.9b	7.5b
6 atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% W/V SL (post) at 45-60 DAP	13.2a	26.0a	36.8a	64.6b	116.5b	155.6b	1.0a	2.3a	4.0a	6.3ab	6.4b	7.1b	8.0b
7 Hand weeding	16.5a	29.0a	46.7a	92.6a	146.7a	180.6a	1.1a	2.5a	4.7a	7.0a	8.3a	9.0a	13.5a
8 Untreated check	14.3a	20.0a	29.6b	41.2c	52.6c	60.3c	1.0a	2.5a	3.2b	4.0c	4.3c	4.7c	3.6c
C.V. %	**14.5**	**17.8**	**23.2**	**16.7**	**18.8**	**23.4**	**24.3**	**17.8**	**15.5**	**20.0**	**14.6**	**18.8**	**23.6**

[1/]Fb = following by [2/]DAP = Days after planted

[3/]Means within the same column followed by same letters are not significantly different at the 5% level by DMRT ns = not significant

Table 10 Cost of weed management in each treatment at Nong Ya Sai District Suphanburi Province during September 2023-August 2024

Treatment	Cost of weed management (Bath/rai)[1/]
1.hexazinone+diuron (pre) fb[2/] halosulfuron+ametryn (post) at 60 DAP[3/]	820
2.hexazinone+diuron (pre) fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	900
3.hexazinone+diuron (pre) fb Tractor trailer spring rake (post) at 60 DAP	900
4.Tractor trailer spring rake	2,400
5.Tractor trailer spring rake fb Revolving shovel with tractor trailer (post) at 60 DAP	1,200
6..atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% SL (post) at 45-60 DAP	680
7.Hand weeding	2,500
8.Untreated check	-

[1/]Price as of October 25, 2024

[2/]Fb = following by

[3/]DAP = Days after planted

Table 11 List of farmers participating in knowledge transfer on integrated weed management in sugarcane at Nong Ya Sai District, Suphan Buri Province and on September 2024

Farmers name	Address
1 Mr. Bang Kliangthongkham	21 Village No. 8, Thap Luang Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphan Buri Province
2 Mr. Suthin Khumfueng,	300 Village No. 8, Jang Ngam Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphanburi Province
3 Mrs. Bunchuay Kongprasert	260/1 Village No. 4, Jang Ngam Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphan Buri Province
4 Mrs. Wanpen Thanyacharoen	291/1 Village No. 8, Thap Luang Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphanburi Province
5 Mrs. Somkid Dongjoi	255/3 Village No. 8, Jang Ngam Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphanburi Province
6 Mr. Somsak Thanyacharoen	291/1 Village No. 8, Thap Luang Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphan Buri Province
7 Mrs. Samruay Wang Ngam	209 Village No. 8, Thap Luang Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphan Buri Province
8 Mrs. Thongkruea Thanyacharoen	257/1 Village No. 8, Jang Ngam Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphanburi Province
9 Mrs. Tlap Thongpraiwan	271 Moo 8, Jang Ngam Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphan Buri Province
10 Mrs. Sangwian Deerai,	299 Village No. 8, Jang Ngam Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphan Buri Province
11 Mrs. Buntuean Thongkhamdee	341/1 Village No. 8, Thap Luang Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphanburi Province
12 Mr. Teerachai Songrattana	259/3 Village No. 8, Jang Ngam Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphanburi Province

Table 11 List of farmers participating in knowledge transfer on integrated weed management in sugarcane at Nong Ya Sai District, Suphan Buri Province and on September 2024 (Continue)

Farmers name	Address
13 Mr. Niwat Pinwiset	94 Village No. 8, Thap Luang Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphanburi Province
14 Mrs. Thongbai Malaithong	204 Village No. 8, Thap Luang Subdistrict, Nong Ya Sai District, Suphan Buri Province
15 Mr. Chua Muangnok,	Thung Bua Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province
16 Mr. Phasit Changnam,	Thung Bua Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province
17 Mr. Wichian Srisotsai,	Thung Bua Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province
18 Mr. Chit Muangnok,	Thung Bua Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province
19 Mr. Banchob Pimpisarn,	Thung Bua Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province
20 Mrs. Somjit Muangnok,	Thung Bua Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province
21 Mr. Plong Thongprai,	Thung Bua Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province
22 Miss Chanma Kao Lim,	Thung Bua Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province
23 Mr. Mana Panyudot,	Thung Bua Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province
24 Mr. Sawat Thongdonlueang	35 Village No. 6, Thung Bua Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province
25 Mr. Somsak Sipo	4 Village No. 6, Thung Bua Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province

Figure 1 Sugarcane fields are sprayed with herbicides according to the treatment at Nong Ya Sai District Suphanburi Province during September 2023-August 2024

Cleome viscosa *Digitaria ciliaris*

Trianthema portulacastrum *Echinochloa colana*

Figure 2 Types of weeds found in the field at Nong Ya Sai District SuphanburiProvince during September 2023-August 2024

Figure 3 Herbicide spraying method hexazinone+diuron (upper left) from the 2023 trial is effective and non-toxic to sugarcane. Compared with untreated check control (upper right) during September 2023-August 2024

Figure 4 Efficiency of weed control in sugarcane at 60 days after hexazinone+diuron (pre) fb halosulfuron+ametryn (post) application when compare tractor trailer spring rake treatment during September 2023-August 2024

Figure 5 Sugarcane at harvested (240 days after planted) in treatment hexazinone+diuron (pre) fb halosulfuron+ametryn (post) at 60 DAP (upper left) compare atrazine 80% WP (pre) glufosinate 15% SL (post) at 45-60 DAP (farmer practice) (upper right) tractor trailer spring rake (lower left) and untreated check control (lower right) during September 2023-August 2024

Figure 6 Transfer knowledge on integrated weed management in field crops (sugarcane) to farmers. Suphanburi Province on September 2024

Figure 7 Poster integrated weed management in field crops (sugarcane) to farmers. Suphanburi Province on September 2024

คณะผู้จัดทำ

ข้อมูลและแก้ไข :

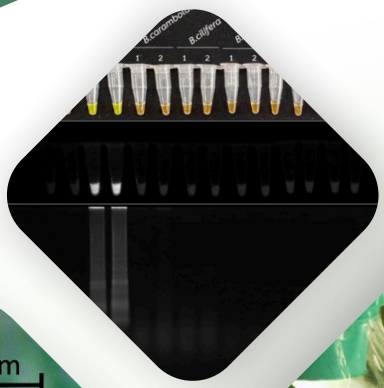
คณะผู้วิจัยและหัวหน้าโครงการวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางเสาวนิตย์	โพธิ์พูนศักดิ์	นายวานิช	คำพานิช
นางสาวจรัญญา	ปิ่นสุภา	นางสาวสุณีรัตน์	สีมะเดื่อ
นางวรัญญา	มาลี	นายอิทธิพล	บรรณาการ
นายไตรเดช	ข่ายทอง	นางสาวชมัยพร	บัวมาศ
นางศรีจำนรรจ์	ศรีจันทรา	นายภูวนารถ	มณีโชติ
นายสาทิพย์	มาลี	นางสาวชนินทร	ดวงสะอาด
นางสาวอมรรัชฎ์	คิดใจเดียว	นางธัญชนก	ศรีเมือง
นางสาวดาราพร	รินทะรักษ์	นางสาวยุรวรรณ	อนันตนมณี
นางสาวพลอยชมพู	กรวิภาสเรือง	นายสิริชัย	สาธุวิจารณ์
นางโสภา	มีอำนาจ	นางสาวภัทร์พิชชา	รุจิระพงศ์ชัย
นางสาวทิพวรรณ	กันหาญาติ	นางสาวกรกต	ดำรักษ์
นางสาวมลนิภา	ศรีมาตรภิรมย์	นายจารุวัตถ์	แต้กุล

ประสานงาน รวบรวมและเรียบเรียง :

กลุ่มบริหารโครงการวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นายอิศเรส	เทียนทัด
นางสาวณฐวรรณ	ชนะโชติ
นางสาวจิราภรณ์	สินทร
นางสาวจุฑามาส	อภิเดช



ANNUAL REPORT 2025

กรมวิชาการเกษตร

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์