รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **แผนงานวิจัย** : การลดความสูญเสียในผลิตผลเกษตรจากศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยวและสารพิษจากรา
2. **โครงการวิจัย** : การลดการปนเปื้อนเชื้อราและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรและผลิตภัณฑ์

   กิจกรรม : วิธีการควบคุมการปนเปื้อนเชื้อราและสารพิษในพื้นที่เพาะปลูกถั่วลิสง

   กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) :
3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณเสี้ยนดิน *Dorylus orientalis* Westwood (Hymenoptera: Formicidae) ต่อการปนเปื้อนสารอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสง

   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Relationship of *Dorylus orientalis* Westwood (Hymenoptera: Formicidae) with aflatoxin contamination in groundnut
4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

   หัวหน้าการทดลอง : นางสาวศรุตา สิทธิไชยากุล กวป.

   ผู้ร่วมงาน : นางสาวศุภรา อัคคะสาระกุล กวป.

   นางสาวเนตรา สมบูรณ์แก้ว กวป.

   นางสาวมัทนา วานิชย์ ศวร.ขอนแก่น

5. **บทคัดย่อ**

การศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณมดเสี้ยนดินถั่ว (*Dorylus orientalis* Westwood) ต่อการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซิน ระยะเวลาการทำวิจัยตั้งแต่เดือน ต.ค 2560-ก.ย 2562 จากการสำรวจในแปลงจะพบมดเสี้ยนดินถั่ว (*D. orientalis*) เฉพาะในแปลงถั่วลิสงที่ อ.น้ำยืน จ.อุบลราชธานี ทำการทดสอบในสภาพแปลงโดยการหยดสปอร์แขวนลอยลงบริเวณโคนต้นถั่วลิสง จำนวน 20 ต้น พบว่า ได้ผลผลิตรวมทั้งแปลง เท่ากับ 41.2 กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) คัดแยกเป็น ถั่วลิสงเมล็ดดี เท่ากับ 35.0 กิโลกรัม และถั่วลิสงเมล็ดเสียที่เกิดจากการทำลายของมดเสี้ยนดิน เท่ากับ 6.2 กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราด้วยวิธีการ direct plate count พบว่า เมล็ดถั่วลิสงจากต้นที่หยดสปอร์แขวนลอยมีการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus* เท่ากับ 3.4 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ผลผลิตถั่วลิสงจากต้นที่ไม่ได้หยดสปอร์แขวนลอยมีการปนเปื้อนจากเชื้อรา *A. flavus* เท่ากับ 5.0 เปอร์เซ็นต์ การตรวจสอบปริมาณ

สารพิษอะฟลาทอกซินด้วยวิธี ELISA ในผลผลิตถั่วลิสงในเมล็ดเสีย เท่ากับ 17.4-19.6 พีพีบี และยังพบว่า เชื้อรา *A. flavus* มีความสามารถในการสร้างปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน ได้สูงถึง 0.0-13,800.0 พีพีบี ด้วยวิธีการตรวจสอบ ELISA จากการวางกับดักในแปลงถั่วลิสง จะพบมดเสี้ยนดิน และมดชนิดอื่นๆ ทั้งหมด 11 ชนิด เป็นมดเสี้ยนดิน จำนวนมากที่สุดเท่ากับ 3,874 ตัว ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรของปริมาณมดและปริมาณอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* พบว่าปริมาณมดเสี้ยนดินถั่วและมดอื่น ๆ ที่พบในแปลงถั่วลิสง มีแนวโน้มว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* แต่อย่างไรก็ตาม ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ได้มีค่าแสดงความสัมพันธ์ที่น้อย ไม่ชัดเจนและสมบูรณ์ ซึ่งจะได้อธิบายในรายละเอียดในส่วนของผลและวิจารณ์ต่อไป

Abstract

The study of relationship of *Dorylus orientalis* Westwood (Hymenoptera: Formicidae) with aflatoxin contamination in groundnut was conducted in October 2017 to September 2019. A survey of groundnut field found only *D. orientalis* in Amphoe Nam Yuen, Ubonratchathani province. The experiment was determined in groundnut field by dropping the spore suspension of *Aspergillus flavus* in 20 of groundnut plants. The results revealed that total yield of groundnut kernel was 41.2 kg, infected kernel by *D. orientalis* and uninfected kernel was 6.2 and 35.0 kg of dried weight, respectively. The investigation of *A. flavus* contamination was using by direct plate count. The result found that groundnut kernel from inoculated groundnut plant had groundnut kernel was contaminated with *A. flavus* 3.4%. While, uninoculated groundnut plant had 5.0% of groundnut kernel contaminated with *A. flavus*. Contamination aflatoxin of groundnut kernel products were determined using by ELISA, infected groundnut kernel had 17.4-19.6 ppb. Due to spore suspension of *A. flavus* was detected aflatoxin contamination using by ELISA. The results shown the contaminated aflatoxin in product of infected groundnut kernel had 0.0-13,800.0 ppb. Sampling traps were placed in groundnut field found that 11 species farming ants and the highest population of *D. orientalis* were 3,874 in groundnut field. However, the relationship between the occurrences of *D. orientalis* including farming ants and fungi was not clear in this study and will discuss to clarify further.

6. คำนำ

เสี้ยนดิน เป็นมดชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นแมลงศัตรูสำคัญในพืชหลายชนิด ได้แก่ มันฝรั่ง กะหล่ำหัว กะหล่ำดอก และถั่วลิสง เสี้ยนดินเป็นแมลงที่จัดอยู่ในอันดับ Hymenoptera วงศ์ Formicidae มีลักษณะเป็นแมลงสังคมที่มีประชากรมาก มีการอาศัยอยู่ร่วมกัน และมีการแพร่กระจายตัวไปได้ในหลายพื้นที่ ปัญหาสำคัญเกิดจากการที่เสี้ยนดินเข้าไปทำลายโดยการกัดกินผลผลิตเกษตร วียะวัฒน์ และคณะ (2554) รายงานว่า มดเสี้ยนดินที่พบในทั่วโลกมี 60 ชนิด สำหรับประเทศไทยมีพบ 3 ชนิด ได้แก่ มดเสี้ยนดินทุ่ง (*Dorylus laevigatus* Smith), มดเสี้ยนดินถั่ว (*Dorylus orientalis* Westwood) และมดเสี้ยนดินป่า (*Dorylus vishnui* Wheeler) มดเสี้ยนดิน ชอบอาศัยอยู่ในดินที่มีอุณหภูมิสูงและอากาศแห้ง ซึ่งเป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการสร้างรัง (Hussain *et al*., 2019) มดเสี้ยนดิน มีขนาดลำตัวยาว ประมาณ 5-7 มิลลิเมตร ลักษณะรูปร่างคล้ายปลวก (วิสุทธิ์, 2518) สามารถเข้าทำลายพืชหัวใต้ดินได้หลายชนิด และมักพบการเข้าทำลายบริเวณลำต้นของพืชหัวใต้ดิน (Bhattacharyya *et*. *al*., 2014; Bhatta *et*. *al*., 2018; Chandel, 2013) มดเสี้ยนดินมีเขตการแพร่กระจายในหลายประเทศ เช่น อินเดีย เนปาล บังคลาเทศ ออสเตรเลีย (Pest net, 2014)

มดเสี้ยนดินถั่ว (*D. orientalis*) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของถั่วลิสงในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบการเข้าทำลายถั่วลิสงในระยะสร้างฝักอ่อน (มโนชัย และปรีชา, 2532) ทำให้ฝักถั่วลิสงเป็นรู และจะกัดกินเมล็ดจนทำให้ฝักถั่วลิสงไม่มีเมล็ดได้ มีการศึกษามาแล้วหลายวิธีการเพื่อหาหนทางในการควบคุมและป้องกันกำจัดมดเสี้ยนดิน ได้แก่ การรมแปลง เช่น การใช้อลูมิเนียมฟอสไฟด์ (aluminum phosphide) การใช้สารเคมีในการฉีดพ่นแปลง เช่น คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos) (Wightman, and Ranga Roa, 1993; Chandel, 2013) และ เฟนวาลีเรต fenvalevate (Chandel, 2013), การใช้สารสกัดจากพืช เช่น การใช้สารสกัดจากสะเดา ในขั้นตอนการเตรียมดิน (Dash *et al*., 2013) การคลุกเมล็ดด้วยสารอิมิดาโคลพริด (imidacloprid) และการใช้ไส้เดือนฝอย (อิสระ และ พิสุทธิ์, 2557)

นอกจากผลผลิตถั่วลิสงเกิดความเสียหายจากการเข้าทำลายของมดเสี้ยนดินแล้ว ปัญหาสำคัญอีกประการหนึ่งที่พบในถั่วลิสงคือ การปนเปื้อนจากเชื้อรา *Aspergillus flavus* ทำให้ถั่วลิสงเกิดการเน่าเสีย และก่อให้เกิดความเป็นพิษเนื่องจากเชื้อรา *A. flavus* มีการสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่เป็นพิษทั้งต่อคนและสัตว์ เป็นสาเหตุทำให้เกิดการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (จารุวรรณ และคณะ, 2560) มักพบได้ในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว (Sétamou *et al*., 1997) จากการศึกษาของ Nesci *et al*. (2011) ระบุว่า แมลงศัตรูในโรงเก็บหลายชนิด อาจมีบทบาทสำคัญในการเป็นตัวพาหะทำให้เกิดการแพร่กระจายของสปอร์เชื้อรา Bhusal and Khanal (2018) ได้รายงานว่า มีการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus* ในการสุ่มเก็บตัวอย่างของผลผลิตเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว (ข้าวโพด) 97.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งก็พบว่าในผลผลิตเดียวกันนี้มีการปนเปื้อนของแมลงศัตรูพืช (ด้วงงวงข้าวโพด) ถึง 96.7 เปอร์เซ็นต์ เช่นกัน ส่วน Wright (1991) ได้กล่าวว่า การเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชกับเชื้อรา *A. flavus* ในผลผลิตเกษตรมีความสัมพันธ์ของจำนวนความหนาแน่นของแมลง (ทั้งจำนวนเป็นและตาย) และ แมลง secondary ชนิดอื่น ๆ ที่อาจจะเป็นพาหะให้กับการสร้างไมโครทอกซินของเชื้อรา ปัญหาของการปนเปื้อนของแมลงศัตรูพืช และการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา มีผลกระทบทำให้เกิดเสียหายทั้งด้านปริมาณ คุณภาพ และทำให้ราคาผลผลิตตกต่ำ สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (2559) พบว่า ปัญหาเหล่านี้ส่งผลให้พื้นที่การผลิตถั่วลิสงในพื้นที่การผลิต

ของภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือลดลง การศึกษาทางด้านนี้ยังมีข้อมูลไม่มากนัก จึงเป็นที่มาของการศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อรากับมดเสี้ยนดิน ซึ่งอาจเป็นสาเหตุนำพาให้เกิดการกระจายตัวของเชื้อรา *A. flavus* ที่อาจจะมีความเกี่ยวข้องกับการปรากฏตัวของมดเสี้ยนดิน

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. ถั่วลิสง
2. กับดักมดเหยื่อพิษ ดัดแปลงจาก Buriram and Kantha (2014)
3. มะพร้าวแห้ง
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ: DG18 agar, Potato Dextose Agar (PDA), Yeast Extract Sucrose (YES)
5. เครื่องเขย่าสาร (vertex mixture)
6. ชุดทดสอบ DOA-Aflatoxin B_1-ELISA Test kit

- วิธีการ

1. สำรวจพื้นที่ปลูกถั่วลิสงที่มีการระบาดของมดเสี้ยนดิน

ทำการสำรวจพื้นที่ปลูกถั่วลิสงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 3 แปลง ในเขต จ. ขอนแก่น 2 แปลง และ จ. อุบลราชธานี 1 แปลง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างผลผลิตถั่วลิสง จำนวน 20 ต้นต่อแปลง และนำตัวอย่างถั่วลิสงที่ได้มาตรวจสอบร่องรอยการเข้าทำลายของมดเสี้ยนดินด้วยสายตา หลังจากนั้น ผึ่งถั่วลิสงในร่มประมาณ 1 สัปดาห์ เมื่อถั่วลิสงแห้งแล้ว นำไปตรวจปริมาณการปนเปื้อนสารอะฟลาทอกซินในห้องปฏิบัติการ ด้วยชุดทดสอบ DOA-Aflatoxin B_1-ELISA Test kit

2. การเก็บตัวอย่างมดเสี้ยนดินและการตรวจสอบเชื้อราในดิน

2.1 การเก็บตัวอย่างมดเสี้ยนดิน

ทำการวางกับดัก ในแปลงปลูกถั่วลิสงทั้ง 3 แปลง (ในข้อ 1) โดยใช้มะพร้าวแห้งผ่าครึ่งซีก ขุดหลุมในดินให้มีขนาดของหลุมลึกเท่ากับขนาดของมะพร้าว คว่ำมะพร้าวลงในหลุม และใช้ดินกลบปิดปากหลุม (กรมวิชาการเกษตร, มปป.) วางกับดักเช่นนี้จำนวน 20 จุดต่อแปลง ปล่อยทิ้งไว้ประมาณ 2 สัปดาห์ จึงขุดมะพร้าวแห้งออกจากหลุม ตรวจนับจำนวนประชากรมดเสี้ยนดินในกับดัก ทั้งนี้ได้ส่งตัวอย่างมดเสี้ยนดินที่เก็บได้ไปจำแนกชนิดที่พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ เทคโนโลยี คลองห้า

2.2 การตรวจสอบเชื้อราในดินจากแปลงถั่วลิสง

เก็บตัวอย่างดินจำนวน 10 จุดต่อแปลง ให้ได้ตัวอย่างดิน 1 กิโลกรัม เพื่อนำมาตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราในดินในห้องปฏิบัติการ โดยนำตัวอย่างดิน จำนวน 1 กรัมใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ประมาณ 10-15 นาที จึงนำสารละลายดินไปเจือจางด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ด้วยวิธีการ serial dilution ที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} – 10^{-4} หลังจากนั้น ดูดสารแขวนลอยที่ได้จากแต่ละความเข้มข้น 1 มิลลิลิตร นำไปหยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ DG 18 และใช้แท่งแก้วเกลี่ยสารให้ทั่ว (spread plate) จำนวน 3 ซ้ำต่อความเข้มข้น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด นับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่พบ และเก็บข้อมูลของเชื้อที่ระยะเวลา 3 5 และ 7 วัน

โดยคำนวณจาก

$$\text{CFU/g} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่อจานอาหาร}}{\text{ระดับความเจือจาง x ปริมาตรอาหารที่ดูดมา}}$$

3. การศึกษาความสัมพันธ์ของมดเสี้ยนดินกับการปนเปื้อนสารอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสง

3.1 การเตรียมสปอร์แขวนลอยเชื้อรา *Aspergillus flavus*

นำเชื้อรา *A. flavus* ที่คัดแยกได้จากถั่วลิสงมาแยกเลี้ยงให้บริสุทธิ์บนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7-10 วัน แล้วนำเชื้อราบริสุทธิ์ที่ได้เจือจางด้วยน้ำกลั่นผสม tween 20 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสปอร์แขวนลอยมาวัดให้มีความเข้มข้น 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้ในแปลงทดสอบต่อไป โดยได้แบ่งสปอร์แขวนลอยส่วนหนึ่งไปตรวจสอบเพื่อหาปริมาณสารอะฟลาทอกซิน

3.2 การทดสอบในสภาพแปลง

3.2.1 ทำการปลูกถั่วลิสงใหม่ ในบริเวณที่พบการกระจายตัวของมดเสี้ยนดิน ในแปลง อ. น้ำยืน จ. อุบลราชธานี ระยะปลูก 50x20 ซม. เป็นพื้นที่ 300 ตร.ม. การดูแลและบำรุงต้นให้ปฏิบัติตามวิธีการของเกษตรกร และไม่มีการใช้สารเคมี เมื่อถั่วลิสงอยู่ในระยะติดฝัก (อายุ 48-65 วัน) กำหนดสุ่มแปลงย่อย ขนาด 1x1 เมตร จำนวน 20 แปลงย่อยซึ่งครอบคลุมต้นถั่วจำนวน 20 ต้น จากนั้นหยดสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *A. flavus* บนดินบริเวณโคนต้นถั่ว จำนวน 10 มิลลิลิตรต่อต้น

3.2.2 การวางกับดักในแปลงถั่วลิสงที่ปลูกใหม่ โดยวางกับดักเหยื่อ ทำเช่นเดียวกับข้อ 2.1 ทำการวางกับดักและฝังลงในดิน จำนวน 20 จุดต่อแปลง ปล่อยกับดักทิ้งไว้เป็นเวลา 1 เดือน จึงนำมานับจำนวนประชากรมดเสี้ยนดินจากการวางกับดัก จากนั้นส่งตัวอย่างมดเสี้ยนดินที่เก็บได้ไปจำแนกชนิดที่พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ เทคโนโลยี คลองห้า

เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต แปลงถั่วที่หยดสปอร์ของเชื้อรา ถอนต้นถั่วจากแปลง ปลิดฝักถั่วลิสง และผึ่งในร่มให้แห้งทุกเมล็ด โดยนำมาตรวจสอบปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อรา ด้วยวิธี direct plate count นำเมล็ดถั่วมาแช่ลงในคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาทีในห้องปฏิบัติการ แล้วผึ่งให้แห้ง และนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ 5 เมล็ดต่อจาน จำนวน 60 จาน วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5-7 วัน แล้วนำมาตรวจนับเมล็ดถั่วที่มีการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus*

ส่วนผลผลิตที่เก็บจากต้นถั่วลิสงที่ไม่ได้หยดสปอร์แขวนลอย ให้คัดแยกโดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ ถั่วลิสงเมล็ดดีและถั่วลิสงเมล็ดเสีย (ถั่วลิสงเมล็ดเสีย/ฝักเสีย คือ เมล็ดที่เกิดจากการทำลายของมดเสี้ยนดิน) ผึ่งในร่มให้แห้งทุกเมล็ด โดยนำมาตรวจสอบปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อราด้วยวิธีการ direct plate count และวิธี dilution plate method

- การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราด้วยวิธีการ direct plate count โดยนำเมล็ดถั่วมาแช่ลงในคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาทีในห้องปฏิบัติการ แล้วผึ่งให้แห้ง และนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ 5 เมล็ดต่อจาน เมล็ดดี จำนวน 30 จาน และเมล็ดเสีย จำนวน 30 จาน วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5-7 วัน นำมาตรวจสอบปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อรา ด้วยการนับ direct plate count ทำเช่นเดียวกับเมล็ดถั่วลิสงที่เก็บมาจากต้นที่หยดสปอร์แขวนลอย

- การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราด้วยวิธี dilution plate method โดยการใช้ถั่วลิสงบด ซึ่งได้มีการคัดแยกแล้วเป็น 2 กลุ่มคือถั่วลิสงบดของเมล็ดดี และถั่วลิสงบดของเมล็ดเสีย จากนั้นทำเช่นเดียวกับข้อ 2.2 นำถั่วลิสงบดจำนวน 1 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ประมาณ 10-15 นาที จึงนำสารละลายถั่วไปเจือจางด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ด้วยวิธีการ serial dilution ที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} – 10^{-4} หลังจากนั้นดูดสารแขวนลอยที่ได้จากแต่ละความเข้มข้น 1 มิลลิลิตร นำไปหยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และใช้แท่งแก้วเกลี่ยสารให้ทั่ว (spread plate) จำนวน 3 ซ้ำต่อความเข้มข้น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน จึงตรวจสอบโดยการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่พบ

โดยคำนวณจาก

$$\text{CFU/g} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่อจานอาหาร}}{\text{ระดับความเจือจาง x ปริมาตรอาหารที่ดูดมา}}$$

จากนั้นแบ่งเมล็ดถั่วลิสงเมล็ดดีและเมล็ดเสียบางส่วนนำมาตรวจหาปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินที่อยู่ในเมล็ดถั่วลิสงด้วยวิธี ELISA ในห้องปฏิบัติการ และวัดความสามารถในการสร้างสารพิษของเชื้อราด้วยวิธี ELISA ในห้องปฏิบัติการ

- การตรวจหาปริมาณสารอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสง ด้วยวิธี ELISA โดยแบ่งเมล็ดถั่วลิสงบางส่วนที่คัดแยกเป็นกลุ่มถั่วลิสงเมล็ดดีและเมล็ดเสียแล้ว จำนวน 3 ตัวอย่าง อย่างละ 5 ซ้ำต่อตัวอย่าง ตรวจสอบหาปริมาณสารอะฟลาทอกซินในห้องปฏิบัติการโดยใช้ชุดทดสอบ DOA-Aflatoxin B_1-ELISA Test kit

- การวัดความสามารถในการสร้างสารพิษของเชื้อราด้วยวิธี ELISA โดยการแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ yes medium โดยเตรียมสารแขวนลอยของสปอร์ความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร วางที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน เพื่อให้เชื้อราสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน จากนั้นดูดสปอร์แขวนลอยไปตรวจหาปริมาณสารอะฟลาทอกซินด้วยวิธี ELISA ด้วยชุดทดสอบ DOA-Aflatoxin B_1-ELISA Test kit จำนวน 10 ตัวอย่าง อย่างละ 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง

แล้ววิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณมดเสี้ยนดินต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเมล็ดถั่วลิสง และเก็บข้อมูลของปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์

- เวลาและสถานที่ – เดือนตุลาคม 2560 ถึง กันยายน 2562 และสถานที่ทำการทดลอง - แปลงถั่วลิสงของเกษตรกร อ.น้ำยืน จ.อุบลราชธานี

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สำรวจพื้นที่ปลูกถั่วลิสงที่มีการระบาดของมดเสี้ยนดิน

จากการสำรวจมดเสี้ยนดินในแปลงปลูกถั่วลิสงในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 3 แห่ง ดังนี้ 1) แปลงทดสอบเมล็ดพันธุ์ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น 2) แปลงขยายเมล็ดพันธุ์ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น และ 3) แปลงเกษตรกร อ.น้ำยืน จ. อุบลราชธานี พบร่องรอยการเข้าทำลายของมดเสี้ยนดินในทั้ง 3 แปลง แต่พบมดเสี้ยนดินในแปลงเกษตรกรที่ จ. อุบลราชธานี เพียงแห่งเดียว และเมื่อทำการตรวจหาปริมาณสารอะฟลาทอกซินในผลผลิตถั่วลิสงที่เก็บมาจาก 3 แปลง พบสารอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงจากแปลงทดสอบเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงของศวร.ขอนแก่น ซึ่งมีปริมาณสารอะฟลาทอกซินเท่ากับ 4.90 พีพีบี (Table 1) โดยไม่พบสารอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วจากขยายเมล็ดพันธุ์ และแปลงเกษตรกร

2.การเก็บตัวอย่างมดเสี้ยนดินและการตรวจสอบเชื้อราในดิน

เมื่อนำมดเสี้ยนดินที่ได้จากการวางกับดักในแปลงเกษตรกร จ. อุบลราชธานี มาจำแนกชนิด พบว่า เป็นมดเสี้ยนดินถั่ว (*Dorylus orientalis* Westwood) มดเสี้ยนดินชนิดนี้สามารถพบได้ในพื้นที่ป่าเปิดใหม่ พื้นที่เปิดโล่ง หรือป่าทดแทน (ธวัชชัย และ สาธร, 2514; จรัสศรี, 2548; วียะวัฒน์ และคณะ, 2554) ส่วนแปลงในพื้นที่ จ.ขอนแก่น ไม่

พบการปรากฏตัวของมดเสี้ยนดิน เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่ไม่ได้มีการกระจายตัว หรือการระบาดของมดเสี้ยนดิน จรัสศรี (2548) กล่าวว่า การปลูกถั่วลิสงจะทำได้ 2 ฤดูกาล คือ ต้นฤดูฝนจะปลูกและเก็บเกี่ยวผลผลิตในเดือนเมษายนถึงสิงหาคม และปลายฤดูฝนจะปลูกและเก็บเกี่ยวผลผลิตในเดือนกรกฎาคมถึงพฤศจิกายน ดังนั้นต้องมีการสำรวจมดเสี้ยนดินในช่วงนี้ ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษา Xie *et al*. (1989) รายงานว่า ในการสำรวจมดเสี้ยนดินถั่วมีช่วงเวลาการเข้าทำลาย หรือการระบาด 3 ครั้ง ในระยะเวลา 1 ปี คือเดือนมีนาคม-เมษายน, พฤษภาคมถึงกลางเดือนกรกฎาคม และต้นเดือนพฤศจิกายน รวมทั้งอายุของถั่วลิสง ซึ่งเป็นแหล่งอาหารอาจเป็นช่วงระยะเวลาที่ไม่เหมาะสมต่อการเข้าทำลาย สอดคล้องกับการรายงานของ จรัสศรี (2548) กล่าวว่า ถั่วลิสงอายุ 58 และ 61 วัน ไม่พบการเข้าทำลายของมดเสี้ยนดิน และพบร่องรอยเข้าทำลายมดเสี้ยนดินเมื่อถั่วลิสงอายุ 78 วัน ในการทดลองนี้ เนื่องจากมดเสี้ยนดินเป็นแมลงจำพวกแมลงสังคมที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงหรือขยายพันธุ์ได้ในห้องปฏิบัติการ จึงทำการทดสอบในสภาพแปลงเท่านั้น

ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus* ซึ่งได้ดำเนินการกับเมล็ดถั่วลิสงในแปลงทดสอบเมล็ดพันธุ์ และแปลงขยายเมล็ดพันธุ์ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น พบว่า ในแปลงขยายเมล็ดพันธุ์ ปริมาณโคโลนีของ *A. flavus* ในดิน เท่ากับ $0.67x10^3$ cfu/g (Table 2) ทั้งนี้จากตารางที่ 1 ไม่พบสารอะฟลาทอกซินเลย อธิบายได้ว่า เชื้อรา *A. flavus* แม้ว่าจะพบเชื้อรา *A. flavus* ในดินก็ตาม แต่เชื้อรานั้นอาจจะยังไม่ทันได้สร้างสารอะฟลาทอกซิน หากมีความชื้นในเมล็ดสูงกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก) หรือความชื้นสัมพัทธ์สูงกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ (McDonald and Harkness, 1967; Diener and Davis, 1969) สำหรับแปลงทดสอบเมล็ดพันธุ์ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ไม่พบโคโลนีของเชื้อรา *A. flavus* ในดิน แต่พบสารพิษอะฟลาทอกซินจากเมล็ดถั่ว อธิบายได้ว่า ในเมล็ดถั่วลิสงนั้นอาจเกิดการสร้างพิษของเชื้อราแล้ว แต่การไม่พบสปอร์ของเชื้อราอาจเกิดการฟุ้งกระจาย หรือหลุดลอยของสปอร์ทำให้ไม่ได้มีสปอร์ของเชื้อราอยู่ในบริเวณนั้นๆ

3. การศึกษาความสัมพันธ์ของมดเสี้ยนดินกับการปนเปื้อนสารอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสง

เมื่อได้ทำการปลูกถั่วลิสงใหม่ในแปลงเกษตรกร อ.น้ำยืน จ. อุบลราชธานี แล้วได้ผลผลิตถั่วลิสงทั้งหมด 41.2 กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) แบ่งเป็น ถั่วลิสงเมล็ดดี 35 กิโลกรัม และถั่วลิสงเมล็ดเสียที่เกิดจากการทำลายของมดเสี้ยนดินหรือลีบ 6.2 กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) จากการวางกับดัก และเก็บตัวอย่างแมลงที่พบในกับดักที่ได้วางไว้ในแปลงเกษตรกร อ.น้ำยืน จ. อุบลราชธานี และส่งไปจำแนกชนิด พบว่า มีมดเสี้ยนดินและมดชนิดอื่น ๆ รวม 11 ชนิด โดยพบมดเสี้ยนดินเป็นจำนวนมากที่สุด เท่ากับ 3,874 ตัว (Figure 1)

เมื่อตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus* ในเมล็ดถั่วลิสงในแปลงเกษตรกร อ.น้ำยืน จ. อุบลราชธานี ภายหลังจากการหยดสปอร์แขวนลอย ได้ตรวจสอบการปนเปื้อนโดยวิธี direct plate count ในเมล็ดถั่วลิสงทุกเมล็ด พบว่า เมล็ดถั่วลิสงมีการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus* 3.4 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2) ส่วนในเมล็ดถั่วลิสงจากต้นที่ไม่ได้หยดสปอร์แขวนลอย เมื่อได้ตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อราโดยวิธี direct plate count เช่นเดียวกัน จะพบว่าใน

ผลผลิตถั่วลิสงเมล็ดเสียพบการปนเปื้อนของเชื้อรา เท่ากับ 5.0 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2, Table 3) แต่ในถั่วลิสงเมล็ดดีไม่พบการปนเปื้อนเชื้อรา *A. flavus* (Table 3)

ในการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราด้วยวิธีการ dilution plate method โดยการนับปริมาณโคโลนี ในผลผลิตถั่วลิสงเมล็ดดี มีจำนวนโคโลนีของเชื้อรา *A. flavus* เท่ากับ $0.03x10^3$ และในถั่วลิสงเมล็ดเสีย พบว่า มีจำนวนโคโลนี เท่ากับ $0.67 x10^3$ cfu/ml (Table 3)

จากนั้นตรวจสอบหาการปนเปื้อนของปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงด้วยวิธี ELISA จะพบว่ามีปริมาณสารอะฟลาทอกซินที่พบในผลผลิตถั่วลิสงเมล็ดดี อยู่ในช่วงระหว่าง 2.7-3.2 พีพีบี และผลผลิตของถั่วลิสงเมล็ดเสีย จะมีปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเท่ากับ 17.4-19.6 พีพีบี (Table 3) จึงได้ตรวจวัดความสามารถในการสร้างสารพิษเชื้อราในสปอร์แขวนลอยเพิ่มเติมด้วยวิธี ELISA ทำให้พบว่า สปอร์แขวนลอยของเชื้อราที่พบในผลผลิตถั่วลิสงเมล็ดเสีย สามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ในช่วงที่สูงถึง 0.0-13,800.0 พีพีบี (Table 3) ทั้งนี้ ในผลผลิตถั่วลิสงที่ไม่ได้หยดสปอร์แขวนลอย แต่ตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อรา เกิดจากการแพร่กระจายตัวของสปอร์เชื้อรา *A. flavus* จากต้นถั่วลิสงที่หยดสปอร์แขวนลอยไปสู่ต้นถั่วลิสงที่ไม่ได้หยดสปอร์แขวนลอยได้

ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของปริมาณมดและเชื้อรา *A. flavus* ในการสร้างสารอะฟลาทอกซิน พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบ Pearson Product Moment Correlation Coefficient ระหว่างตัวแปรของปริมาณมดและเชื้อรา *A. flavus* มีค่า r เท่ากับ 0.456 แสดงให้เห็นว่า ปริมาณมดเสี้ยนดินและมดอื่น ๆ ที่พบในแปลงถั่วลิสงมีแนวโน้มว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณการสร้างสารอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p < 0.05$) (Table 4) แต่อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ยังมีไม่มากพอ และไม่เหมาะสมที่จะตัวแทนที่ดีทางสถิติได้ ความเสียหายของผลผลิตถั่วลิสงที่เกิดจากมดเสี้ยนดิน เป็นเพียงปัจจัยหนึ่งเท่านั้น เพราะยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่กระตุ้นให้เกิดการสร้างพิษอะฟลาทอกซิน ได้แก่ ความชื้นสัมพัทธ์ หรือความชื้นในเมล็ด แม้ว่า จรัสศรี (2548) ระบุว่า ความสัมพันธ์ระหว่างฝักถั่วลิสงที่ถูกทำลาย (ฝักเสีย) และฝักที่มีคุณภาพดี ไม่มีความสัมพันธ์กัน การเข้าทำลายมากหรือน้อยของมดเสี้ยนดินไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณผลผลิตของถั่วลิสงที่ได้ทั้งหมด แต่อาจกล่าวได้ว่าการเข้าทำลายเมล็ดของเชื้อรา *A. flavus* ก็จะเกิดง่ายได้ขึ้น หากถั่วลิสงเกิดบาดแผลจากการเข้าลายของมดเสี้ยนดินหรือแมลงศัตรูในดิน (โสภณ และสนั่น, 2554) และ อิสระ และพิสุทธิ์ (2557) กล่าวว่า เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราจะสูงขึ้น เมื่อมีระดับการทำลายจากแมลงศัตรูพืชใต้ดินมากขึ้น

การควบคุมและป้องกันกำจัดแมลง เพื่อลดการเข้าการทำลายผลผลิตที่ทำให้เมล็ดอ่อนแอลงหรืออาจเกิดบาดแผล เป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยลดความเสียหายที่จะเกิดกับผลผลิตซึ่งอาจเหนี่ยวนำให้เกิดการเข้าทำลายจากเชื้อราได้ง่ายขึ้น อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการทดลองนี้ได้สิ้นสุดและยุติการทดลองก่อนระยะเวลาการทำวิจัยที่จะสิ้นสุด จึงเป็นข้อมูลในเบื้องต้นเท่านั้น การสำรวจและการอพยพเคลื่อนย้ายรังของมดเสี้ยนดิน ซึ่งเป็นแมลงสังคมที่อาศัยอยู่ในดินและไม่มีการสร้างรังที่ถาวร รวมทั้งปัจจัยสภาพแวดล้อมที่จะส่งผลกระทบต่อมดเสี้ยนดิน เป็นปัจจัยที่ไม่สามารถ

ควบคุมได้ ดังนั้นแนวทางในการศึกษาต่อไปจึงควรหาแนวทางของการป้องกันและกำจัดมดเสี้ยนดินเพื่อลดการเกิดบาดแผลในฝักและเมล็ดถั่วลิสง

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

การปรากฏตัวของมดเสี้ยนดิน รวมทั้งมดชนิดอื่น ๆ ที่อาศัยในแปลงถั่วลิสง มีแนวโน้มแสดงความสัมพันธ์และสอดคล้องกับปริมาณการเกิดสารอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* โดยมีมดซึ่งทำหน้าที่เสมือนเป็นแมลงพาหะ (insect vector carrier) ทำให้เกิดการกระจายตัวของเชื้อราได้ จึงควรควบคุมปริมาณมดเสี้ยนดินในพื้นที่ เพื่อลดการเข้าทำลายผลผลิต ลดปริมาณอะฟลาทอกซินจากเชื้อรา *A. flavus* ในการศึกษาต่อไปในอนาคต ควรมีการศึกษาเรื่องของช่วงเวลาในการปรากฏตัวของมดเสี้ยนดินถั่ว หรือช่วงระยะเวลาของการเข้าทำลายที่สัมพันธ์กับแหล่งอาหารหรือพืชอาหาร การกระจายตัว ในพื้นที่เกษตรกรรม โดยให้ครอบคลุมถึงต้นทุนการผลิตในการป้องกันกำจัดต่อไป

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ :

- เผยแพร่ผลงานวิจัยพื้นฐานโดยการตีพิมพ์ลงในวารสาร
- นำความรู้ที่ได้ถ่ายทอดให้เกษตรกรไปปรับใช้ในสภาพแปลงเพื่อลดการเกิดสารอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง

11. คำขอบคุณ :

ขอขอบคุณ นายหนูสิน จันแจ่ม เกษตรกรชาว อ.น้ำยืน จ.อุบลราชธานี, นางสาวลักษณา ร่มเย็น นักวิชาการเกษตรชำนาญการ ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี, ดร.ดวงทิพย์ กันฐา นักวิชาการเกษตรชำนาญการ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, ดร.วียะวัฒน์ ใจตรง นักวิชาการ 7 พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ เทคโนโลยี คลองห้า และนักวิชาการทุกคนของกลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชไร่ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ที่ช่วยเหลือและสนับสนุนให้การทำงานวิจัยลุล่วงไปด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง :

กรมวิชาการเกษตร, มปป. เทคโนโลยีการผลิตถั่วลิสงหลังนา. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุตรดิตถ์, สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2, กรมวิชาการเกษตร.24 น. แหล่งที่มา: http://www.doa.go.th/oard2/images/stories/tour89. pdf (12 มิถุนายน 2557).

จรัสศรี วงศ์กำแหง 2548. การบริหารจัดการแมลงศัตรูถั่วลิสงที่สำคัญในแหล่งปลูกทางภาคใต้. *ใน* ผลงานฉบับเต็ม ของ นางสาวจรัสศรี วงศ์กำแหง. ศูนย์วิจัยพืชไร่สงขลา สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8, กรมวิชาการเกษตร. 104 น.

จารุวรรณ บางแวก, รัมม์พัน โกศลานันท์, ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์, บุญญวดี จิระวุฒิ, รัตตา สุทธยาคม, เนตรา สมบูรณ์แก้ว, ศุภรา อัคคะสาระกุล, อัจฉราพร ศรีจุดานุ และ สุพี วนศิรากุล. 2560. สารพิษจากเชื้อ

ราในผลิตผลเกษตร. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูผลิตผลเกษตร, กรมวิชาการเกษตร. บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด. 90 น.

ธวัชชัย สิชฌวัฒน์ และ สาธร สิริสิงห์. 2514. การทดลองป้องกันกำจัดเสี้ยนดินถั่วลิสง, 622-629 น. *ใน* รายงานการประชุมทางวิชาการเกษตรศาสตร์และชีววิทยา ครั้งที่ 10 สาขาพืช ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2514. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มโนชัย กีรติกสิกร และปรีชา สิงหา. 2532. เสี้ยนดินทำลายฝักถั่วลิสง. 145-150 น. *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 27 วันที่ 3 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ 2532 รายงานผลการวิจัย สาขาพืช.

วิสุทธิ์ อมฤตสุทธิ์. 2518. ผลของยาฆ่าแมลงบางชนิดที่มีผลผลิตถั่วลิสงในการป้องกันกำจัดเสี้ยนดินถั่วลิสง *Dorylus orientalis* Westwood, น. 351-357. *ใน* รายงานการประชุมทางวิชาการเกษตรศาสตร์ และ ชีววิทยาแห่งชาติ ครั้งที่ 14 สาขาพืช, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2-4 กุมภาพันธ์ 2518. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 498 น.

วียะวัฒน์ ใจตรง, วัฒนชัย ตาเสน และ เดชา วิวัฒน์วิทยา. 2554. อนุกรมวิธานและการกระจายตัวของมดเสี้ยนดินสกุล *Dorylus* ในประเทศไทย. วารสารวนศาสตร์. 30(2): 1-14.

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). 2559. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง: ทิศทางพืชเศรษฐกิจไทยในอาเซียน. บริษัท พรทรัพย์การพิมพ์ จำกัด. 160 น.

โสภณ วงศ์แก้ว และสนั่น จอกลอย. 2554. อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง: ข้อเสนอวิธีการแก้ปัญหา. แก่นเกษตร 39 ฉบับพิเศษ. 3: 1-11.

อิสระ พุทธสิมมา และ พิสุทธิ์ ประทุมชาติ. 2557. การควบคุมแมลงศัตรูถั่วลิสงที่อาศัยอยู่ในดินด้วยสารฆ่าแมลง. รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด. ผลงานวิจัยและพัฒนาปี 2557. กรมวิชาการเกษตร

Bhatta, M., R.B. Thapa, M.R. Pokharel and M.D. Sharma. 2018. Biorational management of red ant (*Dorylus orientalis* Westwood) of potato in Taplejung, Nepal. Journal of the Plant Protection Society. 5: 194-202.

Bhattacharyya, B., U. Bhuyan and D. Pujari. 2014. Management of red ant, *Dorylus orientalis* Westwood (Hymenoptera: Formicidae) in potato. Journal of Entomological Research. 38(4): 265-267.

Bhusal, K. and D. Khanal. 2018. Incidence of maize weevil (*Sitophilus zeamais* Motsch) and its association with green fungus (*Aspergillus flavus* Link) in maize under storage at Chitwan and Surkhet districts of Nepal. Journal of the Institute of Agriculture and Animal Science. 35: 135-142.

Buriram and Kantha. 2014. Mutualistic relationships between the shield ant, *Meranoplus bicolor* (Guérin-Méneville) (Hymenoptera: Formicidae) and honeydew-producing hemipterans in guava plantation. Sociobiology. 61(3): 286-292.

Dash, C.K., K. Hassan, M.E.A. Pramannik, M.H. Rashid and A.H. Choudhury. 2013. Development of management stratigies against red ant (*Dorylus orientalis* Westwood) of potato. Universal Journal of Plant Science. 1(3): 74-77.

Diener, U.L. and N.D. Davis. 1969. Production of aflatoxin on peanuts under controlled environment. Journal of Stored Product Research. 5(3): 251-258.

Hussain, R., I. Bodlah, M.S. Qureshi, M.T. Rasheed, S. Ahmed and M.A. Hassan. 2019. *Dorylus orientalis* Westwood, 1835: New record for Pakistan (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Entomology and Zoology Studies. 7(4): 655-656.

McDonald, D. and C. Harkness. 1967. Aflatoxin in the groundut crop at harvest in Northern Nigeria. Tropical Science. 9: 148-161.

Nesci, A., P.S. Barra and M.G. Etcheverry. 2011. Integrated management of insect vectors of Aspergillus flavus in stored maize, using synthetic antioxidants and natural phytochemicals. Journal of Stored Products Research. 47(3): 231-237.

Pest net. 2014. *Dorylus orientalis*, red ant, potato, Bhutan. แหล่งที่มา: http://www.pestnet.org/SummariesofMessages/Crops/Rootstubers/Potato/Dorylusorientalis,redant,potato,Bhutan.aspx (2 มิถุนายน 2557)

Sétamou, M., K.F. Cardwell, F. Schulthess and K. Hell. 1997. *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of preharvest maize in Benin. Plant Disease. 81(11): 1323-1327. The American Phytopathological Society.

Wightman, J.A. and G.V. Ranga Roa. 1993. A Groundnut Insect Identification Handbook for India. Information Bulletin no. 39, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. India. 64 pp.

Wright, F.V. 1991. Assessment of insect infestation in stored maize and their relationship to *Aspergillus flavus* contamination *in* R.L. Simple, A.S. Frio, P.A. Hicks and J.V. Lozare. Mycotoxin prevention and control in foodgrains. UNDP/FAO Regional Network inter-Country Coopperation on Postharvest Technology and Quality Control of Foodgrains.

Xie, F.Y. and L.X. Yao. 1989. A study on *Dorylus orientalis* Westwood. Insect Knowledge. 26(5): 291-293.

Table 1 Cultivate area of groundnut crop was found *Dorylus orientalis* and aflatoxin contamination in groundnut kernel

Location of groundnut crop found *D. orientalis*	*D. orientalis*		Aflatoxin contamination (ppb)
	bite trace	Appearance	
1. Testing groundnut crop (Khonkaen field crops research center)	found	not found	4.90
2. Extending groundnut crop (Khonkaen field crops research center)	found	not found	0.00
3. Farmer field (Amphoe Nam Yuen, Ubonratchathani)	found	found	0.00

Table 2 Colony of *Aspergillus flavus* was found in soil which has *Dorylus orientalis* were appearence in cultivate area

Location of groundnut crop found *D. orientalis*	colony counting of *A. flavus* (cfu/g)		
	3 days	5 days	7 days
1. Testing groundnut crop (Khonkaen field crops research center)	0.00	0.00	0.00
2. Extending groundnut crop (Khonkaen field crops research center)	0.67×10^3	0.67×10^3	0.67×10^3

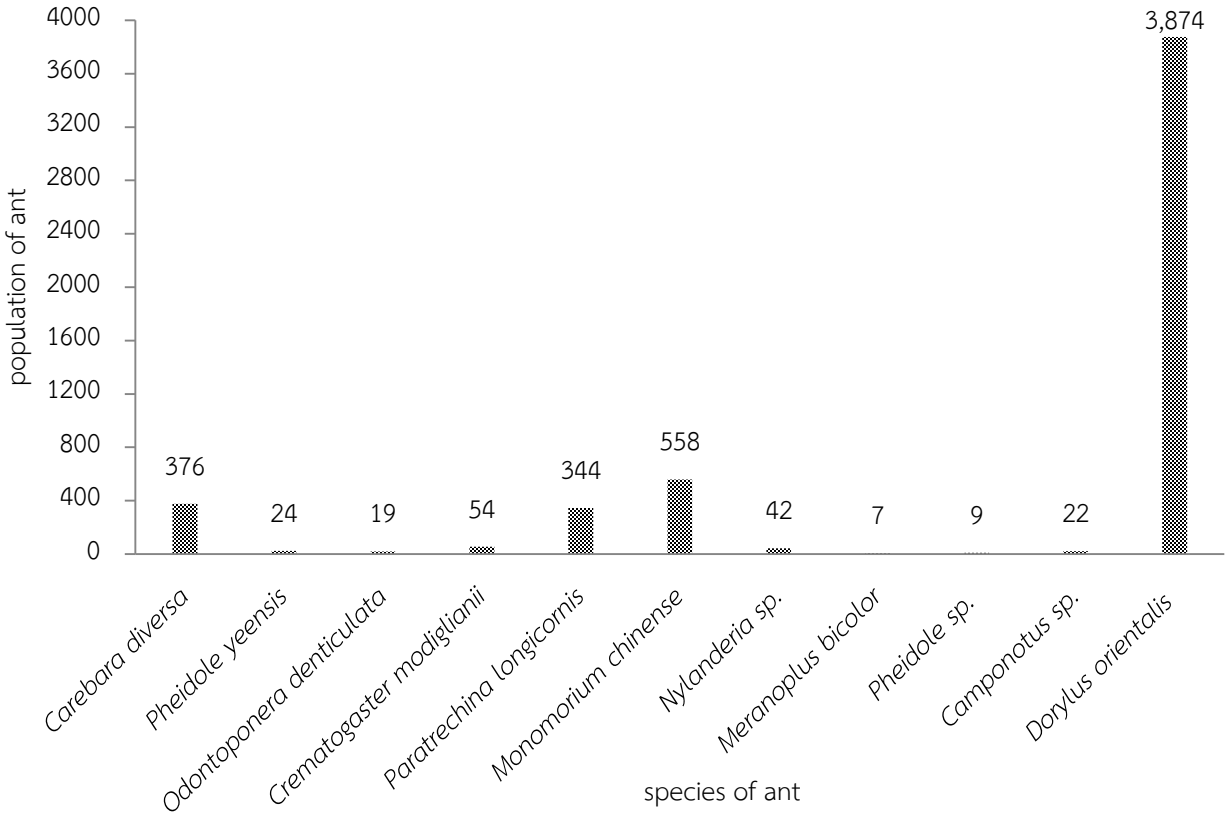


Figure 1 Population and species of ant were found in groundnut crop

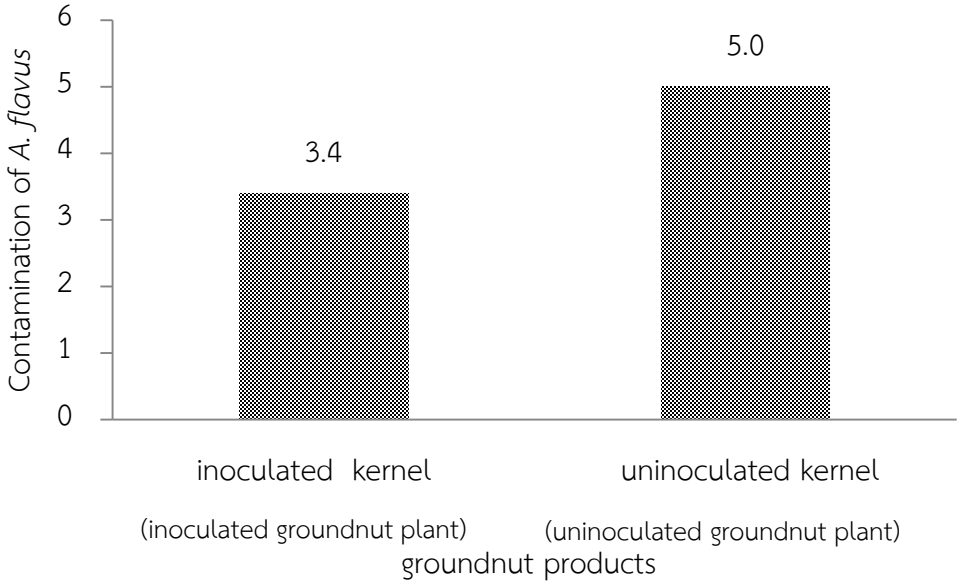


Figure 2 Percentage of groundnut kernel infection in both inoculated and uninoculated

groundnut plant

Table 3 The colony counting and alflatoxin contamination in uninoculated groundnut plant

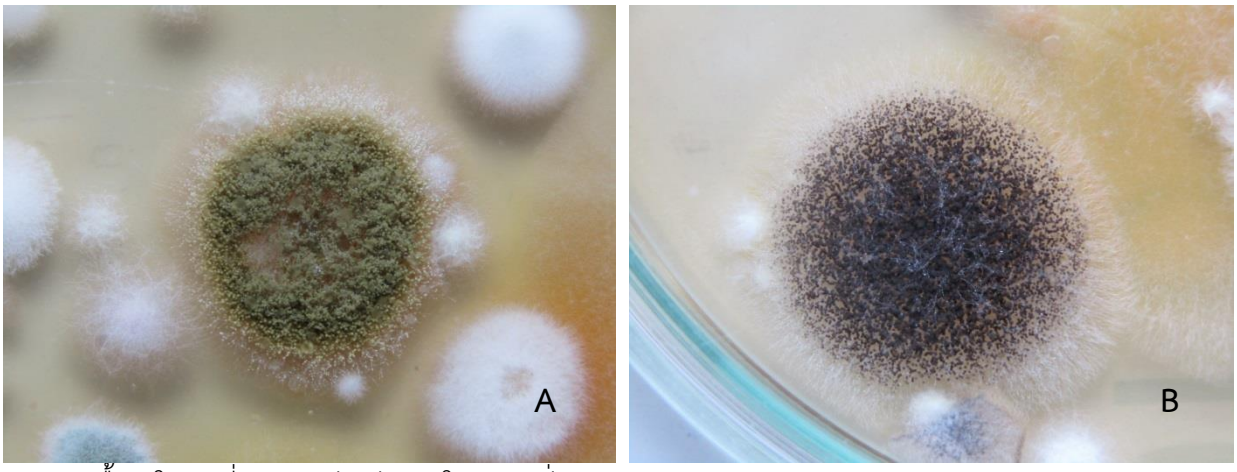
type of groundnut products	sample	contamination of *A. flavus* (%)	colony of *A. flavus* in groundnut kernel (cfu/ml)	aflatoxin contaminated from kernel (ppb)	aflatoxin contaminated from spore of *A. flavus* (ppb)
uninfected kernel	30	0.0	$0.03x10^3$	2.7-3.2	0.0
infected kernel	30	5.0	$0.67 x10^3$	17.4-19.6	0.0-13,800.0

Table 4 Correlation between ant and aflatoxin production in groundnut crop

correlation		*A. flavus*	Ant
A. flavus	Pearson Correlation	1.000	0.456*
	Sig. (2-tailed)	.	0.043
	N	20	20
Ant	Pearson Correlation	0.456*	1.000
	Sig. (2-tailed)	0.043	.
	N	20	20

*Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

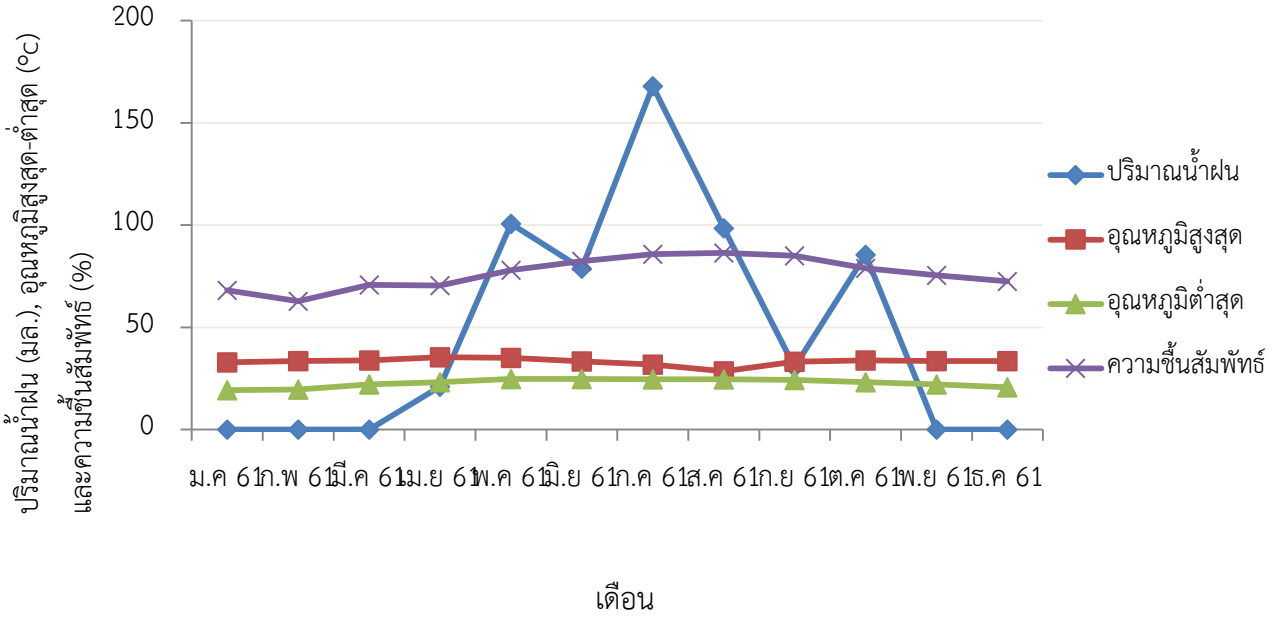
13. ภาคผนวก :



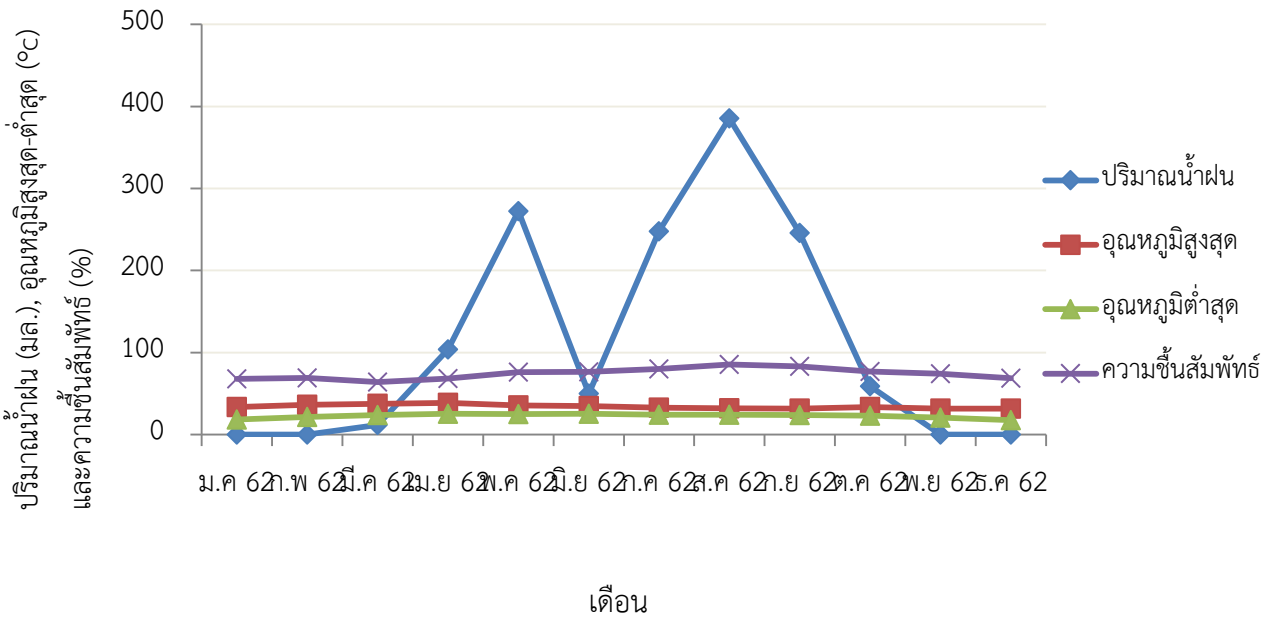
ภาพ 3 เชื้อราในดินที่พบจากตัวอย่างดินในแปลงถั่วลิสง A = *Aspergillus flavus*, B = *Aspergillus niger*

ภาพ 4 การเข้าทำลายเมล็ดถั่วลิสงของมดเสี้ยนดินถั่ว และมีการปนเปื้อนจากเชื้อรา

ภาพ 5 มดเสี้ยนดินถั่ว *Dorylus orientalis* Westwood (กำลังขยาย x 10 เท่า)



ภาพ 6 ปริมาณน้ำฝน (มิลลิลิตร), อุณหภูมิสูงสุด-อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส) และความชื้นสัมพัทธ์ (%) ใน อ.น้ำยืน จ.อุบลราชธานี ปี 2561



ภาพ 7 ปริมาณน้ำฝน (มิลลิลิตร), อุณหภูมิสูงสุด-อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส) และความชื้นสัมพัทธ์ (%) ใน อ.น้ำยืน จ.อุบลราชธานี ปี 2562