ระดับโครงการ

กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

รายงานผลสัมฤทธิ์สำหรับทุนสนับสนุนงานพื้นฐาน (Fundamental Fund)

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564

หน่วยงาน กรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

รายงานโครงการวิจัย

วิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ

Research and Development on Mass Production and the Implementation of Biological Control Agents to Control Economic Pests

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

นายอิศเรส เทียนทัด

Mr. Itsares Tiantad

ปี 2564

บทสรุปผู้บริหาร

ในระบบการผลิตพืชผักของประเทศไทยเกษตรกรมักประสบปัญหาแมลงศัตรูพืชระบาดทำความเสียหายกับผลผลิตเป็นจำนวนมาก การแก้ปัญหาส่วนใหญ่มักใช้สารเคมีซึ่งสามารถลดประชากรแมลงได้อย่างรวดเร็วแต่มักเกิดปัญหาตามมามากมาย จากข้อมูลข่าวสารเรื่องพิษตกค้างในสภาพแวดล้อมส่งผลให้ผู้บริโภคเกิดความกังวลต่อสุขภาพมากขึ้น ทำให้เริ่มหาพืชผักปลอดสารพิษถึงแม้จะมีราคาสูงกว่าปกติแต่ก็เป็นที่นิยม เนื่องจากสามารถบริโภคด้วยความมั่นใจในความปลอดภัย เพื่อตอบสนองต่อผู้บริโภคดังกล่าวเกษตรกรในปัจจุบันจึงหันมาทำเกษตรอินทรีย์หรือเกษตรปลอดภัยมากขึ้น โครงการวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของแผนงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ประโยชน์ของขีวภัณฑ์สู่เชิงพาณิชย์ ยึดแนวทางการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตและการใช้ชีวภัณฑ์ ครอบคลุมตามวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย คือ การวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ จำนวน 7 กลุ่ม ได้แก่ แมลงเบียน แมลงห้ำ ไรตัวห้ำ หอยตัวห้ำ จุลินทรีย์ศัตรูแมลงและสัตว์ศัตรูพืช เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเห็ดเรืองแสง โดยเป็นการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยง การเพิ่มปริมาณ และทดสอบประสิทธิภาพ คัดเลือกชนิด รูปแบบบรรจุภัณฑ์ และวิธีการนำชีวภัณฑ์ไปใช้ประโยชน์ เพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจในพืช จำนวน 19 ชนิด ได้แก่ มะพร้าว มันสำปะหลัง ข้าว ข้าวโพดหวาน หอมหัวใหญ่ หอมแบ่ง คะน้า มันเทศ เห็ด กระเจี๊ยบเขียว หน่อไม้ฝรั่ง พริก บัว กล้วยไม้ องุ่น เผือก มันฝรั่ง สตรอเบอรี่ และทุเรียน โดยทำการทดสอบทั้งในห้องปฏิบัติการ สภาพโรงเรือนทดลอง จนถึงสภาพไร่ นา เพื่อให้ได้รูปแบบที่สามารถนำไปใช้ได้สะดวกและมีประสิทธิภาพ เป็นแนวทางนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ สำหรับนำมาใช้ควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช จำนวน 18 ชนิด ได้แก่ หนอนหัวดำมะพร้าว หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม หนอนห่อใบข้าว แมลงนูนหลวง ด้วงแรดมะพร้าว เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วงหมัดผัก ด้วงเจาะเห็ด ด้วงงวงมันเทศ และแมลงวันผลไม้ *ไรและสัตว์ศัตรูพืช* ได้แก่ ไรแดง หอยศัตรูพืช และหนูศัตรูพืช และสำหรับควบคุมโรคพืช จำนวน 9 โรค ได้แก่ โรคแอนแทรคโนสพริก โรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ โรคใบจุดสีน้ำตาลกล้วยไม้ โรครากปมในพริก โรครากปมในฝรั่ง โรคเหี่ยวและโรครากปมในมันฝรั่ง และโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน ดังนั้นโครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ชีวภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ ตลอดจนวิธีการนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เพื่อเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สามารถนำไปใช้เพื่อลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีเป้าหมายช่วยลดอันตรายจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกร ลดความสามารถในการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของศัตรูพืช ลดปัญหาผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และเป็นการเพิ่มศักยภาพของศัตรูธรรมชาติในสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยย่อยวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ประโยชน์ของชีวภัณฑ์สู่เชิงพาณิชย์ แผนบูรณาการวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์เพื่อการผลิตพืชปลอดภัย ระยะเวลาดำเนินการวิจัยตั้งแต่ปี 2559-2564 สถานที่ดำเนินงานวิจัยในห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี และในแปลงปลูกพืชของเกษตรกรจังหวัดกาญจนบุรี สุพรรณบุรี ตาก สุราษฎร์ธานีและยะลา โดยดำเนินงานครอบคลุมตามวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย คือ การวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ จำนวน 7 กลุ่ม ได้แก่ แมลงเบียน แมลงห้ำ ไรตัวห้ำ หอยตัวห้ำ จุลินทรีย์ศัตรูแมลงและสัตว์ศัตรูพืช เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเห็ดเรืองแสง โดยเป็นการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยง การเพิ่มปริมาณ และทดสอบประสิทธิภาพ คัดเลือกชนิด รูปแบบบรรจุภัณฑ์ และวิธีการนำชีวภัณฑ์ไปใช้ประโยชน์เพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจในพืช จำนวน 20 ชนิด ได้แก่ มะพร้าว มันสำปะหลัง ข้าว ข้าวโพดหวาน หอมหัวใหญ่ หอมแบ่ง คะน้า มันเทศ เห็ด กระเจี๊ยบเขียว หน่อไม้ฝรั่ง พริก บัว กล้วยไม้ องุ่น เมล่อน เผือก มันฝรั่ง สตรอเบอรี่ และทุเรียน โดยทำการทดสอบทั้งในห้องปฏิบัติการ สภาพโรงเรือนทดลอง จนถึงสภาพไร่นา เพื่อให้ได้รูปแบบที่สามารถนำไปใช้ได้สะดวกและมีประสิทธิภาพ เป็นแนวทางนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ สำหรับนำมาใช้ควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช จำนวน 19 ชนิด ได้แก่ หนอนหัวดำมะพร้าว หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม หนอนห่อใบข้าว แมลงนูนหลวง ด้วงแรดมะพร้าว เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วงหมัดผัก ด้วงเจาะเห็ด ด้วงงวงมันเทศ และแมลงวันผลไม้ ไรและสัตว์ศัตรูพืช ได้แก่ ไรแดง หอยศัตรูพืชและหนูศัตรูพืช และสำหรับควบคุมโรคพืช จำนวน 8 โรค ได้แก่ โรคแอนแทรคโนสพริก โรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ โรคใบจุดสีน้ำตาลกล้วยไม้ โรคเน่าดำกล้วยไม้ โรครากปมในพริก โรคเหี่ยวและโรครากปมในมันฝรั่ง และโรครากเน่าผลเน่าทุเรียน เพื่อเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สามารถนำไปใช้เพื่อลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีเป้าหมายช่วยลดอันตรายจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกร ลดความสามารถในการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของศัตรูพืช ลดปัญหาผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และเป็นการเพิ่มศักยภาพของศัตรูธรรมชาติในสิ่งแวดล้อม

กรมวิชาการเกษตร

Abstract

The Project of Research and Development on Mass Production and the Implementation of Biological Control Agents to Control Economic Pests is under the sub-plan of Research and Development on Mass Production Technology and Utilization of Biological Control Agents to Commercial Scale, Research and Development of Biological Agents for Safety Agricultural Products. Research period from 2016 to 2021. Place of research in the laboratory of Plant protection research and development office and Kanchanaburi Agricultural research and development center. and in the plantations of farmers in Kanchanaburi, Suphan Buri, Tak, Surat Thani and Yala provinces. which covers work according to the objectives of the research project, namely, research and development of production technology, expansion and use of bio-based products in 7 groups, insect parasites, insect predators, predatory mites, predatory snails, insect pathogens and animal pathogen, antagonistic bacteria and luminescent mushroom by the development of culture methods volume increase and testing the efficiency, selecting the type of packaging and how to use bio-agents For the control of 20 economically important pests in plants, namely coconut, cassava, rice, sweet corn, onion, multiply onion, chinese kale, sweet potato, mushroom, okra, asparagus, chili, lotus, orchid, grape, melon, taro, potato, strawberry and durian. Tested both in the laboratory experimental house conditions until the condition of the farm in order to get a form that can be used conveniently and efficiently It is a guideline to develop into different types of bio-agents for controlling insects, mites and 18 species of pests, including coconut black head worm, american bollworm, beet armyworm, common cutworm, rice leaffolder, white grub, coconut rhinoceros beetle, mealybug, thrips, aphids, brown planthopper, flea beetle, mushroom borer, sweet potato weevil and fruit flies. Mites and pests include red mites, pests snails and rodent pests. and for the control of 9 plant diseases, including anthracnose of pepper, orchid brown rot, orchid brown spot disease, orchid black rot, root knot disease in peppers, wilt and root-knot nematode in potatoes and durian root rot disease. To be another alternative that can be used to reduce or replace the use of chemical pesticides effectively with the goal of reducing the harm from the use of pesticides for farmers. Reduces the pest's ability to create resistance to pesticides. Reduce the problem of environmental impact and to increase the potential of natural enemies in the environment.

กรมวิชาการเกษตร

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับความสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยได้รับความกรุณาจาก ดร.มานิตา คงชื่นสิน ดร.พรพิมล อธิปัญญาคม ดร.จรรยา มณีโชติ คุณพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษา ความช่วยเหลือ ตลอดจนปรับปรุงข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความกรุณาและเอาใจใส่อย่างดียิ่งตลอดมา คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณพี่น้องนักวิจัย พนักงานราชการ พนักงานขับรถยนต์ ตลอดจนพนักงานจ้างเหมาทุกท่าน ที่ได้สละเวลาให้ความช่วยเหลือและร่วมมือในการปฏิบัติงานในทุกๆ การทดลองที่ปรากฏอยู่ในโครงการวิจัยนี้ ทำให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์และได้ผลการศึกษาค้นคว้าทดลองที่เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการใช้ชีวภัณฑ์ของประเทศ

สุดท้ายนี้คุณค่าความดีที่เกิดจากประโยชน์ของโครงการวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณให้แก่ บิดา มารดา คณาจารย์ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และผู้มีพระคุณทุกท่านที่มิได้เอ่ยนามที่มีส่วนช่วยเหลือให้การดำเนินงานลุล่วงไปได้ด้วยดี

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทสรุปผู้บริหาร	2
บทคัดย่อ	3
Abstract	4
กิตติกรรมประกาศ	5
สารบัญ	6
บทที่ 1 บทนำ	7
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน	10
บทที่ 3 ผลการศึกษา	121
บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล	141
เอกสารอ้างอิง	145

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 1 บทนำ

1. วิสัยทัศน์ และพันธกิจของหน่วยงาน

<u>วิสัยทัศน์</u>

กรมวิชาการเกษตรเป็นองค์กรที่เป็นเลิศด้านการวิจัยและพัฒนาด้านพืช เครื่องจักรกลการเกษตร และเป็นศูนย์กลางรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตรด้านพืชในระดับสากล บนพื้นฐานการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

<u>พันธกิจ</u>

1. สร้างและถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยด้านพืชและเครื่องจักรกลการเกษตรสู่กลุ่มเป้าหมาย
2. กำหนดและกำกับดูแลมาตรฐานระบบการผลิตและผลิตพันธุ์พืชและปัจจัยการผลิต พัฒนาระบบตรวจรับรองสินค้าการเกษตรด้านพืชให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
3. อนุรักษ์และพัฒนาการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพด้านพืช แมลง และจุลินทรีย์
4. กำกับ ดูแล และพัฒนากฎหมายที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบ

2. ยุทธศาสตร์ชาติที่สอดคล้องกับแผนปฏิบัติงานด้าน ววน. ของหน่วยงาน (โปรดเลือกเฉพาะยุทธศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับหน่วยงานของท่าน)

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 1 ด้านความมั่นคง

เพื่อบริหารจัดการสภาวะแวดล้อมของประเทศให้มีความมั่นคง ปลอดภัย และมีความสงบเรียบร้อยในทุกระดับและทุกมิติ

☑ ยุทธศาสตร์ที่ 2 ด้านการสร้างความสามารถในการแข่งขัน

เน้นการยกระดับศักยภาพในหลากหลายมิติควบคู่กับการขยายโอกาสของประเทศไทยในเวทีโลก

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 3 ด้านพัฒนาและเสริมสร้างศักยภาพทรัพยากรมนุษย์

คนไทยในอนาคต มีความพร้อมทั้งกาย ใจ สติปัญญา มีทักษะที่จำเป็นในศตวรรษที่ 21 มีทักษะสื่อสารภาษาอังกฤษ

และภาษาที่ 3 และมีคุณธรรม

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 4 ด้านการสร้างโอกาสและความเสมอภาคทางสังคม

สร้างความเป็นธรรม และลดความเหลื่อมล้ำในทุกมิติ กระจายศูนย์กลางความเจริญทางเศรษฐกิจและสังคม เพิ่มโอกาส

ให้ทุกภาคส่วนเข้ามาเป็นกำลังของการพัฒนาประเทศในทุกระดับ

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 5 ด้านการสร้างการเติบโตบนคุณภาพชีวิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

คำนึงถึงความยั่งยืนของฐานทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ปรับเปลี่ยนพฤติกรรมของประชาชนให้เป็นมิตร

ต่อสิ่งแวดล้อม ผ่านมาตรการต่างๆ ที่มุ่งเน้นให้เกิดผลลัพธ์ต่อความยั่งยืน

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 6 ด้านการปรับสมดุลและพัฒนาระบบการบริหารจัดการภาครัฐ

การปรับเปลี่ยนภาครัฐ ยึดหลัก “ภาครัฐของประชาชนเพื่อประชาชนและประโยชน์ส่วนรวม”

กรมวิชาการเกษตร

3. วงเงินงบประมาณกองทุน ววน. ที่ได้รับจัดสรรในปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 และโปรดระบุแผนงาน/โครงการให้สอดคล้องกับโปรแกรมของแผน ววน.

โปรแกรมตามแผน ววน.	งบประมาณ (บาท)
โปรแกรม7 โจทย์ท้าทายด้านทรัพยากร สิ่งแวดล้อม และการเกษตร	2,987,140

4. รายละเอียดโครงการ

ที่มาและความสำคัญ/หลักการและเหตุผล

ปัญหาการระบาดของศัตรูพืชในพืชเศรษฐกิจต่าง ก่อให้เกิดความเสียหายในวงกว้าง ทำให้เกษตรกรต้องพ่นสารเคมีมากขึ้น ซึ่งจะได้ผลระยะหนึ่งเท่านั้น และทำให้เพิ่มต้นทุนการผลิตในการปลูกพืช เกิดอันตรายต่อผู้ใช้ แมลงต้านทานสารเคมีเพิ่มขึ้น รวมทั้งมีพิษตกค้างในผลผลิต ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญที่จำเป็นจะต้องแก้ไข ปัจจุบันนโยบายของรัฐบาลต้องการให้ลดการใช้สารเคมี การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยไม่ใช้สารเคมี จึงต้องเข้ามามีส่วนช่วยในการแก้ปัญหาเหล่านี้ อนึ่ง การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีเป็นการใช้ประโยชน์จากศัตรูธรรมชาติ (natural enemies) ที่มีอยู่ในธรรมชาติ มีองค์ประกอบที่สำคัญ ได้แก่ ตัวเบียน ตัวห้ำ และจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ จึงเป็นทางเลือกที่สำคัญในการลดการใช้สารเคมีทางการเกษตร มีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมและผู้ใช้ อีกทั้งเป็นการควบคุมศัตรูพืชที่ยั่งยืน และถือเป็นหัวใจในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน ทั้งนี้ในปัจจุบัน การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีได้รับความสนใจจากเกษตรกรมากขึ้น เนื่องจากผู้บริโภคมีความต้องการบริโภคอาหารที่ปลอดภัยจากสารพิษ จึงมีการนำชีวภัณฑ์ (Biological control agent) หลายชนิดมาใช้ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

แต่อย่างไรก็ดี บางครั้งศัตรูธรรมชาติที่มีอยู่ในธรรมชาติไม่มีประสิทธิภาพมากพอที่จะควบคุมศัตรูพืชที่ระบาดอยู่ในแปลง เพื่อปกป้องผลผลิตจะต้องมีการเพิ่มปริมาณศัตรูธรรมชาติเข้าในแปลงปลูกพืช เพื่อให้เห็นผลในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช การควบคุมโดยชีววิธีแบบนี้เรียกว่า “การควบคุมโดยการเพิ่มปริมาณศัตรูธรรมชาติ” (Augmentative Release) ซึ่งต้องใช้ศัตรูธรรมชาติเป็นปริมาณมาก ดังนั้นขบวนการผลิตขยายชีวภัณฑ์และการนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงเป็นขบวนการที่สำคัญ ถือเป็นหัวใจของการป้องกันกำจัดโดยชีววิธี ซึ่งต้องศึกษาวิจัยถึงเทคนิคการผลิตขยายศัตรูธรรมชาติให้ได้ปริมาณมาก วิธีการที่เหมาะสมในการดำเนินการเพาะเลี้ยงหรือเพิ่มปริมาณ การควบคุมคุณภาพและการนำไปใช้ในสภาพแปลงปลูก ซึ่งต้องทราบอัตราและวิธีการนำไปใช้ที่ถูกต้องเหมาะสม เพื่อให้สามารถป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งปัจจัยที่เกี่ยวกับต้นทุนการผลิตเพื่อความคุ้มค่า

การผลิตขยายและการนำศัตรูธรรมชาติชนิดต่าง ๆ มาใช้ประโยชน์ เป็นงานวิจัยและพัฒนาที่ต้องอาศัยข้อมูลพื้นฐาน ที่ได้จากการศึกษาศัตรูธรรมชาติทั้งที่มีอยู่ในประเทศ หรือชนิดใหม่ ๆ ที่นำเข้าจากต่างประเทศ จำเป็นต้องศึกษาและพัฒนาอย่างจริงจังทั้งด้าน ชีววิทยา นิเวศวิทยา ศักยภาพในการเป็นชีวภัณฑ์ ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช และการผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก ซึ่งต้องวิจัยพัฒนาขบวนการที่เหมาะสมในการผลิตและการนำไปใช้ประโยชน์ในสภาพไร่ มีรูปแบบการผลิตที่เป็นระบบที่สามารถผลิตได้อย่างต่อเนื่อง จะต้องศึกษาถึงประสิทธิภาพ อัตราการใช้ และเวลาที่เหมาะสม ตลอดจนรูปแบบบรรจุภัณฑ์ที่สามารถรักษาคุณภาพชีวภัณฑ์ที่ผลิตขยายได้ และนำไปใช้ได้สะดวก ซึ่งเป็นงานวิจัยที่ต้องเร่งวิจัยอย่างครบวงจร เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์ที่ดีมีคุณภาพ สามารถนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชได้ดี นำไปป้องกันกำจัดศัตรูพืชร่วมกับวิธีการอื่น หรือร่วมกับการใช้สารเคมี ตามหลักการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปัจจุบันปัญหาการระบาดของศัตรูพืชในพืชเศรษฐกิจต่าง ๆ ได้แก่ มะพร้าว มันสำปะหลัง ข้าว ข้าวโพด หวาน หอมหัวใหญ่ องุ่น บัว คะน้า มันเทศ เห็ด กระเจี๊ยบเขียว หน่อไม้ฝรั่ง พริก กล้วยไม้ ฝรั่ง และมันฝรั่ง อันเนื่องจาก

แมลงศัตรูพืช ได้แก่ หนอนหัวดำมะพร้าว เพลี้ยแป้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยไฟ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนห่อใบข้าว หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม หนอนใยผัก ด้วงหมัดผัก ด้วงเจาะเห็ด และด้วงงวงมันเทศ *ไรและสัตว์ศัตรูพืช* ได้แก่ ไรแมงมุม หอยทากศัตรูพืช หนูท้องขาว และหนูพุก *โรคพืช* ได้แก่ โรคแอนแทรคโนสพริก โรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ โรคใบจุดสีน้ำตาลกล้วยไม้ และโรครากปม ก่อให้เกิดความเสียหายในวงกว้าง เกษตรกรต้องใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด แต่ในขณะเดียวกัน ในธรรมชาติก็มีศัตรูธรรมชาติหลายประเภท ที่มีศักยภาพในการเข้าทำลายศัตรูพืชเหล่านี้ แต่ช่วยควบคุมศัตรูพืชได้ระดับหนึ่งเท่านั้น อาทิเช่น แมลงเบียน แมลงห้ำ ไรตัวห้ำ หอยตัวห้ำ จุลินทรีย์กำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เชื้อแบคทีเรียปรสิต และเห็ดเรืองแสง จึงควรทำการศึกษาชีวภัณฑ์เหล่านี้เพื่อเพิ่มศักยภาพและประสิทธิภาพการนำมาใช้ควบคุมศัตรูพืช ซึ่งจะเป็นข้อมูลสำคัญในการนำไปขยายผลพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ ออกสู่ตลาดเพื่อให้เกษตรกรนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชทดแทนสารเคมีได้ต่อไป

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อให้ได้ชีวภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ ตลอดจนวิธีการนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เพื่อเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สามารถนำใช้เพื่อลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีเป้าหมายช่วยลดอันตรายจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกร ลดความสามารถในการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของศัตรูพืช ลดปัญหาผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และเป็นการเพิ่มศักยภาพของศัตรูธรรมชาติในสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาเทคโนโลยีในการผลิตขยายชีวภัณฑ์ให้ได้ทั้งปริมาณมากและมีคุณภาพ ได้แก่ ตัวห้ำ ตัวเบียน จุลินทรีย์กำจัดศัตรูแมลงและสัตว์ศัตรูพืช เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเชื้อแบคทีเรียปรสิต เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช และโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ

2. เพื่อศึกษาและพัฒนาวิธีการผลิตขยายชีวภัณฑ์ได้แก่ ตัวห้ำ ตัวเบียน เชื้อแบคทีเรียบีที และเชื้อราเมตาไรเซียม ที่จะช่วยให้เกษตรกรสามารถผลิตขยายโดยวิธีง่าย ๆ จากวัสดุอุปกรณ์ที่เหมาะสมตามสภาพท้องถิ่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและวิธีการนำชีวภัณฑ์ไปใช้ ได้แก่ ตัวห้ำ ตัวเบียน ไส้เดือนฝอย เชื้อราเมตาไรเซียม เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเห็ดเรืองแสง เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลง ไรและสัตว์ศัตรูพืช และโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ หนอนเจาะฝักข้าวโพด หนอนห่อใบข้าว หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนใยผัก หนอนหัวดำมะพร้าว ด้วงงวงมันเทศ ด้วงเจาะเห็ด แมลงนูนหลวง ด้วงแรดมะพร้าว เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยไฟ ไรแดง โรคแอนแทรคโนสพริก โรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ โรคใบจุดสีน้ำตาลกล้วยไม้ โรคเน่าดำกล้วยไม้ โรครากปมในพริก โรครากปมในมันฝรั่ง โรคเหี่ยวมันฝรั่ง โรคผลเน่าทุเรียนและโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน

ขอบเขตการศึกษา

ครอบคลุมตามวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย คือ การวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ อย่างน้อย 8 กลุ่ม ได้แก่ แมลงเบียน แมลงห้ำ ไรตัวห้ำ หอยตัวห้ำ จุลินทรีย์ศัตรูแมลงและสัตว์ศัตรูพืช เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเห็ดเรืองแสง โดยเป็นการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยง การเพิ่มปริมาณ และทดสอบประสิทธิภาพ คัดเลือกชนิด รูปแบบบรรจุภัณฑ์ และวิธีการนำชีวภัณฑ์ไปใช้ประโยชน์ เพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจในพืช จำนวน 19 ชนิด ได้แก่ มะพร้าว มันสำปะหลัง ข้าว ข้าวโพดหวาน หอมหัวใหญ่ หอมแบ่ง คะน้า มันเทศ เห็ด กระเจี๊ยบเขียว หน่อไม้ฝรั่ง พริก บัวกล้วยไม้ องุ่น เผือก มันฝรั่ง สตรอเบอรี่ และทุเรียน โดยทำการทดสอบทั้งในห้องปฏิบัติการ สภาพโรงเรือนทดลอง จนถึงสภาพไร่ นา เพื่อให้ได้รูปแบบที่สามารถนำไปใช้ได้สะดวกและมีประสิทธิภาพ เป็นแนวทางนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ สำหรับนำมาใช้ควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช จำนวน 19 ชนิด ได้แก่ หนอนหัวดำมะพร้าว หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม หนอนห่อใบข้าว แมลงนูนหลวง ด้วงแรดมะพร้าว เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วงหมัดผัก ด้วงเจาะเห็ด ด้วงงวงมันเทศ และแมลงวันผลไม้ ไรและสัตว์ศัตรูพืช ได้แก่ ไรแดง หอยศัตรูพืช

กรมวิชาการเกษตร

หนูท้องขาว และหนูพุก และสำหรับควบคุมโรคพืช จำนวน 9 โรค ได้แก่ โรคแอนแทรคโนสพริก โรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ โรคใบจุดสีน้ำตาลกล้วยไม้ โรคเน่าดำกล้วยไม้ โรครากปมในพริก โรครากปมในฝรั่ง โรคเหี่ยวและโรครากปมในมันฝรั่ง และโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน

นิยามศัพท์

ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช (Biological Control Agents; BCA) : ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการควบคุมป้องกันกำจัดศัตรูพืช ประกอบไปด้วยสิ่งมีชีวิตและสารออกฤทธิ์ที่เป็นองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิต ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 ประเภท ได้แก่ จุลินทรีย์กำจัดศัตรูพืช สิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ (Macro organisms) Semiochemicals (คือ Pheromoneและ Kairomone) และผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ (สารสกัดจากพืชหรือสารที่เกิดจากการหมัก)

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน

1.วิธีการดำเนินการวิจัย

กิจกรรมที่ 1 การผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช

การทดลองที่ 1.1 การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายแตนเบียน *Goniozus nephantidis* (Muesebeck) ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (2559-2560)

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยา ของแตนเบียน *Goniozus nephantidis* ด้วยการเพาะเลี้ยงในแมลงอาศัยหนอนหัวดำมะพร้าว และหนอนผีเสื้อข้าวสาร

ศึกษาวงจรชีวิต อัตราการเบียนหนอนหัวดำมะพร้าว อัตราการวางไข่ อัตราการฟักออกเป็นตัวอ่อน, อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย เพศผู้ เพศเมีย อัตราการผสมพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 30°C (Sreekanth and Muralimohan, 2013) ทำการทดลองเปรียบเทียบแบบ t-test มี 2 กรรมวิธี 30 ซ้ำ

1. เพาะเลี้ยงขยายแตนเบียนด้วยหนอนหัวดำมะพร้าว
2. เพาะเลี้ยงขยายแตนเบียนด้วยหนอนผีเสื้อข้าวสาร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เลี้ยงขยายปริมาณแมลงอาศัยทั้ง 2 ชนิด คือ หนอนหัวดำมะพร้าว และหนอนผีเสื้อข้าวสาร ตามวิธีการของอัมพร และคณะ (2556) จนกระทั่งได้หนอนวัยสุดท้ายจึงนำไปเลี้ยงขยายแตนเบียน
2. คัดเลือกแตนเบียนเพศเมียที่แข็งแรงและได้รับการผสมพันธุ์แล้ว โดยใช้พู่กันขนาดเล็ก เขี่ยแตนเพศเมียออกมาอย่างเบามือใส่ในขวดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.8 ซม. สูง 6 ซม.
3. นำหนอนหัวดำมะพร้าว และหนอนผีเสื้อข้าวสารสำหรับเพาะเลี้ยงใส่ในขวดที่มีแตนเบียนเพศเมียบรรจุอยู่ โดยใช้หนอนหนึ่งตัวต่อแตนเบียนหนึ่งตัว ให้น้ำผึ้ง 10% เป็นอาหารสำหรับแตนเบียน ปิดฝาที่มีรูสำหรับระบายอากาศ
4. นำขวดทดสอบตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 30°C แตนจะเริ่มเบียนและวางไข่
5. เมื่อครบ 3 วัน นำหนอนที่มีไข่แตนเบียนวางในกระดาษที่พับเป็นรูปกระบะขนาด 1 ซม. 3 ซม. วางหนอน 1 ตัวต่อหนึ่งกระบะ จากนั้นตรวจนับจำนวนไข่ของแตนเบียนบนตัวหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์
6. นำกระบะตัวหนอนเก็บใส่ในหลอดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 ซม. สูง 4 ซม. ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศขวดละ 1 กระบะ บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมีย ทุก 24 ชั่วโมง
7. นำหนอนตัวใหม่ชนิดเดิม ปล่อยซ้ำลงไปในขวดแตนเบียนที่ได้เก็บหนอนทดสอบออกไปแล้ว และทำเช่นเดียวกันนี้จนกว่าแตนเบียนเพศเมียตาย หรือไม่วางไข่แล้ว บันทึกอัตราการเบียนของเพศเมีย
8. สำหรับในหลอดพลาสติกเมื่อแตนเบียนออกจากดักแด้แล้ว ให้น้ำผึ้ง 10% เป็นอาหาร และปล่อยไว้เป็นเวลา 4 วัน เพื่อให้ผสมพันธุ์ จากนั้นนำแตนเบียนเพศเมียออกมาเบียนหนอนชนิดเดิมต่อไป บันทึกอัตราการเบียนของแตนเบียนเพศเมียรุ่นลูกที่ 1
9. ทำการทดสอบในลักษณะเดียวกันนี้ต่อๆ กันไปนาน 6 เดือน หรือ 1 ปี ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของแตนเบียนและสภาพปัจจัยต่างๆ โดยเก็บบันทึกข้อมูลที่ได้ทั้งหมดแล้วนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลทางสถิติ

- การบันทึกข้อมูล

กรมวิชาการเกษตร

- นับจำนวนไข่ของแตนเบียนบนตัวหนอนในวันที่ 3 หลังจากปล่อยแตนเบียน
- บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมีย ทุก 24 ชั่วโมง
- บันทึกอัตราการเบียนของแตนเบียนเพศเมีย
- เก็บบันทึกข้อมูลในลักษณะเดียวกันนี้ต่อๆ กันไปนาน 6 เดือน หรือ 1 ปี
- คำนวณต้นทุนการผลิต

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษาแตนเบียนที่อุณหภูมิ อัตราการบรรจุที่เหมาะสม พร้อมทั้งทดสอบประสิทธิภาพแตนเบียนก่อนนำไปใช้ประโยชน์

ดำเนินการเก็บรักษาแตนเบียนที่อัตราการบรรจุแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่ระดับอุณหภูมิแตกต่างกัน 3 ระดับ จากนั้นจึงนำมาทดสอบประสิทธิภาพการเบียนหนอนหัวดำมะพร้าววัยสุดท้าย

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 กรรมวิธี 20 ซ้ำ กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 เก็บบรรจุแตนเบียนเพศเมียจำนวน 5 ตัว/ขวด

กรรมวิธีที่ 2 เก็บบรรจุแตนเบียนเพศเมียจำนวน 10 ตัว/ขวด

กรรมวิธีที่ 3 เก็บบรรจุแตนเบียนเพศเมียจำนวน 15 ตัว/ขวด

กรรมวิธีที่ 4 เก็บบรรจุแตนเบียนเพศเมียจำนวน 20 ตัว/ขวด

ทำการทดลองที่ 3 อุณหภูมิ ได้แก่ 10, 15 และ 20 องศาเซลเซียส

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. บรรจุแตนเบียนเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้ว ตามจำนวนในแต่ละวิธีการ ลงในขวดพลาสติกใสพร้อมฝาปิดมีรูระบายอากาศ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.8 ซม. สูง 6 ซม. โดยแบ่งเป็น 2 ชุดคือ สำหรับทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาอัตราการอยู่รอดของแตนเบียน และสำหรับนำออกมาทดสอบประสิทธิภาพแตนเบียน
2. นำเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ ตามวิธีการ ตรวจนับจำนวนแตนเบียนที่ตาย ทุกวันเว้นวัน
3. เมื่อครบทุกๆ 10 วัน นำแตนเบียนแต่ละวิธีการออกมาทดสอบประสิทธิภาพการเบียนหนอนหัวดำ โดยสุ่มแตนเบียนเพศเมียออกมาขวดละ 1 ตัว/ขวด ทำ 20 ขวด (ขวดละซ้ำ) แล้วปล่อยไปในหลอดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.8 ซม. สูง 6 ซม. หลอดละ 1 ตัว ที่มีหนอนหัวดำขนาดวัยสุดท้ายอยู่ 1 ตัว ให้น้ำผึ้ง 10% เป็นอาหารสำหรับแตนเบียน ปิดฝาที่มีรูสำหรับระบายอากาศ นำเก็บที่อุณหภูมิ 30°C
4. เมื่อครบ 3 วัน นำหนอนที่มีไข่แตนเบียนออกมาวางในกระดาษที่พับเป็นรูปกระบะขนาด 1 ซม. 3 ซม. วางหนอน 1 ตัวต่อหนึ่งกระบะ จากนั้นตรวจนับจำนวนไข่ของแตนเบียนบนตัวหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์
5. นำกระบะตัวหนอนเก็บใส่ในหลอดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 ซม. สูง 4 ซม. ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศขวดละ 1 กระบะ บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมีย ทุก 24 ชั่วโมง
6. เมื่อครบ 3 วัน นำหนอนหัวดำตัวใหม่ ปล่อยซ้ำลงไปในขวดแตนเบียนที่ได้เก็บหนอนทดสอบออกไปแล้ว และทำเช่นเดียวกันนี้จนกว่าแตนเบียนเพศเมียตาย หรือไม่วางไข่แล้ว
7. บันทึกอัตราการเบียนของแตนเบียนเพศเมีย จำนวนไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมีย

- การบันทึกข้อมูล

- ระยะเวลาการเก็บรักษาแตนเบียน โดยบันทึกจำนวนแตนเบียนที่รอด ทุกวันเว้นวัน จนกระทั่งแตนเบียนทดสอบตายหมด

กรมวิชาการเกษตร

- ประสิทธิภาพแตนเบียนหลังเก็บรักษาทุก ๆ 10 วัน โดยบันทึกอัตราการเบียนของเพศเมีย อัตราการเจริญเติบโต จำนวนไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมีย

สถานที่ดำเนินการการทดลอง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ

- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การทดลองที่ 1.2 การพัฒนาเทคนิคการผลิตขยายแมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* (2559-2560)

- แบบและวิธีการทดลอง

ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน

1. ผลของชนิดเหยื่ออาหารต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการขยายพันธุ์ของแมลงช้างปีกใส *P. ramburi*
2. จำนวนตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใส *P. ramburi* ที่เหมาะสมต่อภาชนะการผลิต

ขั้นตอนที่ 1 ผลของชนิดเหยื่ออาหารต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการขยายพันธุ์ของแมลงช้างปีกใส *P. ramburi*

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เพลี้ยแป้งลาย *Ferrisia virgata*

กรรมวิธีที่ 2 เพลี้ยแป้งแจ็คเบียดส์ *Phenacoccus jackbeardsleyi*

กรรมวิธีที่ 3 เพลี้ยแป้งสีชมพู *Phenacoccus manihoti*

กรรมวิธีที่ 4 เพลี้ยแป้งสีเหลือง *Paracoccus marginatus*

กรรมวิธีที่ 5 เพลี้ยแป้งชบา *Maconellicoccus hirsutus*

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1.1 เลี้ยงขยายเพลี้ยแป้ง

เก็บรวบรวมเพลี้ยแป้งจากแหล่งที่มีการระบาด แยกชนิดให้ได้ตามที่กำหนด เลี้ยงเพลี้ยแป้งทั้ง 5 ชนิด บนผลฟักทอง ใช้ฟักทองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-25 เซนติเมตร วางในกล่องพลาสติกขนาด 35×45×12 เซนติเมตร จำนวน 4 -5 ผลต่อกล่อง รองพื้นกล่องด้วยกระดาษเพื่อซับความชื้น เขี่ยเพลี้ยแป้ง ลงบนฟักทองปิดกล่องด้วยผ้าขาวบางรัดด้วยยางยืด ทิ้งไว้ประมาณ 20-25 วัน จะได้เพลี้ยแป้งทั้งตัวเต็มวัยและตัวอ่อนอยู่บนผลฟักทอง นำไปใช้เลี้ยงตัวอ่อนของแมลงช้างปีกใส โดยแยกเลี้ยงเพลี้ยแป้งแต่ละชนิดทั้ง 5 ชนิด ไม่ให้ปนกัน จนมีปริมาณมากเพียงพอที่จะใช้ทดลอง

1.2 ชนิดของเหยื่ออาหารต่อการเจริญเติบโต ของแมลงช้างปีกใส

นำผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งแต่ละชนิดใส่ในกล่องที่มีไข่แมลงช้างปีกใส *P. ramburi* จำนวน 100 ฟอง ต่อกล่อง ใส่ผลฟักทอง 1 ผลต่อกล่อง ปิดฝากล่องวางไว้ เมื่อไข่แมลงช้างปีกใสฟักเป็นตัวอ่อน จะกินเพลี้ยแป้งที่มีอยู่ จนกระทั่งเข้าดักแด้และออกเป็นตัวเต็มวัย

- การบันทึกข้อมูล

- วงจรชีวิต แต่ละระยะการเจริญเติบโตของแมลงช้างปีกใส
- จำนวนดักแด้แมลงช้างปีกส
- เปอร์เซ็นต์การฟักแมลงช้างปีกใส
- อัตราส่วนเพศ
- อัตราการวางไข่ของตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใสที่ได้จากการเลี้ยงในเพลี้ยแป้ง 5 ชนิด

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลวงจรชีวิต แต่ละระยะการเจริญเติบโต จำนวนดักแด้ เปอร์เซ็นต์การฟัก อัตราส่วนเพศ และอัตราการวางไข่ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

กรมวิชาการเกษตร

ขั้นตอนที่ 2 จำนวนตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใส *P. ramburi* ที่เหมาะสมต่อภาชนะการผลิต

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ใช้อัตราส่วนตัวเต็มวัย *P. ramburi* เพศผู้: เพศเมีย 40: 40

กรรมวิธีที่ 2 ใช้อัตราส่วนตัวเต็มวัย *P. ramburi* เพศผู้: เพศเมีย 40: 60

กรรมวิธีที่ 3 ใช้อัตราส่วนตัวเต็มวัย *P. ramburi* เพศผู้: เพศเมีย 40: 80

กรรมวิธีที่ 4 ใช้อัตราส่วนตัวเต็มวัย *P. ramburi* เพศผู้: เพศเมีย 40: 100

กรรมวิธีที่ 5 ใช้อัตราส่วนตัวเต็มวัย *P. ramburi* เพศผู้: เพศเมีย 40: 120

นำตัวเต็มวัยเพศผู้ และเพศเมียแมลงช้างปีกใสทั้ง 5 อัตรา ใช้ซ้ำละ 1 กล่อง ใส่ในกล่องขนาด 35X45X12 เซนติเมตร ซึ่งเป็นภาชนะที่ใช้เลี้ยงตัวเต็มวัย ปิดฝากล่องด้วยผ้าขาวบาง ให้อาหารตัวเต็มวัยด้วยน้ำผึ้ง เปลี่ยนย้ายตัวเต็มวัยไปกล่องใหม่ และให้อาหารตัวเต็มวัยด้วยน้ำผึ้งในกล่องใหม่ ทุก 3 วัน ทำการเปลี่ยนย้ายตัวเต็มวัยภายในเวลา 14 วัน กล่องเก่าจะมีไข่ของแมลงช้างปีกใส ให้นำผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งชนิดที่ได้มาจากขั้นตอนที่ 1วางลงในกล่อง ปิดฝากล่องด้วยผ้าขาวบาง วางไว้จนกระทั่งตัวอ่อนเข้าดักแด้ เก็บรวบรวมดักแด้ และนำมาเก็บไว้เพื่อให้ออกเป็นตัวเต็มวัย (F2)

- การบันทึกข้อมูล

  - จำนวนไข่แมลงช้างปีกใส
  - อัตรารอดของตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใส
  - จำนวนตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใสรุ่น F2 ที่ได้ (เพศผู้:เพศเมีย)

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนไข่ อัตราการรอดของตัวเต็มวัย และจำนวนตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใสรุ่น F2 ที่ได้ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ดำเนินการการทดลอง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การทดลองที่ 1.3 ศึกษาประสิทธิภาพการกินเหยื่อ และการเลี้ยงขยายผีเสื้อตัวห้ำ *Spalgis epius* (Westwood) (2559-2561)

- แบบและวิธีการทดลอง -

ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ดังนี้

1. ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงผีเสื้อตัวห้ำ *S. epius* เป็นปริมาณมาก
2. ศึกษาศักยภาพของผีเสื้อตัวห้ำ *S. epius* ในการกินเพลี้ยแป้งน้อยหน่า *Dysmicoccus neobrevipes*

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงผีเสื้อตัวห้ำ *S. epius* เป็นปริมาณมาก

1. เก็บรวบรวม ตัวหนอนผีเสื้อตัวห้ำ *S.* epius จากแหล่งปลูกพืชนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย
2. เลี้ยงขยายเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งน้อยหน่า *Dysmicoccus neobrevipes* เพลี้ยแป้งลาย *Ferrisia virgata* และ เพลี้ยแป้งสีชมพู *Phenacoccus manihoti* โดยเลี้ยงเพลี้ยแป้งทั้ง 3 ชนิด แต่ละชนิดบนฟักทองไม่ให้ปนกัน โดยเก็บรวบรวมเพลี้ยแป้งทั้ง 3 ชนิด จากแหล่งปลูกพืชต่างๆมาเลี้ยงบนผลฟักทอง โดยใช้ฟักทองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-25 เซนติเมตร ใส่ในกล่องขนาด 35×45×12 เซนติเมตร จำนวน 4 -5 ลูกต่อกล่อง รองพื้นกล่องด้วยกระดาษเพื่อซับความชื้น นำเพลี้ยแป้งวางลงบนฟักทองแต่กล่อง ปิดกล่องด้วยผ้าขาวบางรัดด้วยยางยืดทิ้งไว้ ปล่อยให้เพลี้ยแป้งขยายจำนวนประชากรบนฟักทองประมาณ 20-25 วัน เมื่อได้เพลี้ยแป้งทั้งตัวเต็มวัยและตัวอ่อนอยู่บนผลฟักทองสำหรับนำไปใช้เลี้ยงผีเสื้อตัวห้ำต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

3. นำตัวเต็มวัยผีเสื้อตัวห้ำทั้งเพศผู้ และเพศเมีย จากข้อ 1 ใส่ในโรงเรือนขนาด 2x2x2 เมตร ในโรงเรือนนำผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งทั้ง 3 ชนิด ชนิดละ 10 ลูก ใส่ไว้ในโรงเรือนเพื่อให้ผีเสื้อตัวห้ำวางไข่ หลังจากนั้นประมาณ 3-5 วัน นำผลฟักทองทั้ง 30 ลูก มาตรวจดูการวางไข่ของผีเสื้อตัวห้ำในเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด และนำผลฟักทองที่มีไข่ของผีเสื้อตัวห้ำนำเข้ามาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนกระทั้งเป็นตัวเต็มวัย

- การบันทึกข้อมูล
    - ปริมาณการวางไข่ของผีเสื้อตัวห้ำบนเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด
    - จำนวน และระยะการเจริญเติบโตของผีเสื้อตัวห้ำ

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนไข่ อัตราการรอดของตัวเต็มวัย จำนวน และระยะการเจริญเติบโตของผีเสื้อตัวห้ำ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาศักยภาพการกินของผีเสื้อตัวห้ำ *S. epius*

นำไข่ผีเสื้อตัวห้ำ จำนวน 30 ฟอง ใส่ในกล่องพลาสติกกลมใสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 x 2.5 เซนติเมตร กล่องละ 1 ฟอง เมื่อไข่ฟักเป็นตัวหนอนวัย 1 ให้เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 โดยตัดผิวฟักทองที่มีเพลี้ยแป้ง และนำเพลี้ยแป้งจำนวน 20-30 ตัว ใส่ลงในกล่องที่ตัวหนอนวัย 1 และนับจำนวนเพลี้ยแป้งที่ถูกกินทุกวันถ้าอาหารที่ใส่ไม่เพียงพอให้เพิ่มปริมาณ นับจำนวนเพลี้ยแป้งที่ตัวหนอนของผีเสื้อตัวห้ำกินในแต่ละวัย จนกระทั้งเข้าดักแด้

- การบันทึกข้อมูล
- อัตราการกินเพลี้ยแป้งของตัวหนอนผีเสื้อตัวห้ำในแต่ละวัย จนกระทั้งเข้าดักแด้

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลอัตราการกินเพลี้ยแป้งของตัวหนอนผีเสื้อตัวห้ำในแต่ละวัย มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ดำเนินการการทดลอง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การทดลองที่ 1.4 การขะลอการพัฒนาหนอนนกเพื่อใช้เลี้ยงขยายแมลงศัตรูธรรมชาติ (2559-60)

- แบบและวิธีการทดลอง

การขะลอการพัฒนาของหนอนนกเพื่อใช้เลี้ยงขยายแมลงศัตรูธรรมชาติ
ดำเนินการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้
1.เก็บหนอนนกในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 5 วัน เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง 1 วัน สลับกัน จนเข้าดักแด้
2.เก็บหนอนนกในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 10 วัน เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง 1 วัน สลับกัน จนเข้าดักแด้
3.เก็บหนอนนกในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 15 วัน เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง 1 วัน สลับกัน จนเข้าดักแด้
4.เก็บหนอนนกในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20 วัน เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง 1 วัน สลับกัน จนเข้าดักแด้
5.เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องตลอดการเจริญเติบโต

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 การขะลอการพัฒนาของหนอนนก

นำหนอนนกอายุ 1 เดือนใส่ในกล่องพลาสติก กล่องละ 100 ตัว จำนวน 20 กล่อง โดยใช้อาหารไก่เป็นอาหารเลี้ยงหนอนนก ใส่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 10± 0.5 องศาเซลเซียส ตามกรรมวิธี เมื่อครบตามระยะเวลาตามกรรมวิธีที่กำหนด นำหนอนนกที่เลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิออกมาเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องและให้อาหารเพิ่มเติมเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำกลับเข้าไปเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิตามกรรมวิธีที่กำหนดเช่นเดิม ดำเนินการซ้ำเช่นนี้จนหนอนนกเข้าดักแด้

กรมวิชาการเกษตร

- การบันทึกข้อมูล
- บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตของหนอนนกจนเข้าดักแด้
- บันทึกน้ำหนักหนอนนกสัปดาห์ละ 1 ครั้ง
- บันทึกน้ำหนักของดักแด้หนอนนก

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลระยะเวลาการเจริญเติบโต น้ำหนักหนอน และน้ำหนักของดักแด้ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 2 การตรวจสอบคุณภาพหนอนนกและดักแด้หนอนนก

นำหนอนนกและดักแด้หนอนนกที่ได้จากกรรมวิธีต่างๆ ไปใช้เลี้ยงมวนเพชฌฆาตเปรียบเทียบกับการเลี้ยงมวนเพชฌฆาตด้วยหนอนนกที่เลี้ยงในอุณหภูมิปกติ โดยนำไข่มวนจาก stock culture ในห้องปฏิบัติการ ใส่ในกล่องพลาสติก จำนวน 3 กลุ่ม/กล่อง จำนวน 10 กล่อง หลังจากนั้นประมาณ 15 วัน ไข่มวนจะฟักเป็นตัวอ่อนวัย 1 ในแต่ละกล่องนำมวนออกให้เหลือจำนวน 150 ตัว/กล่อง ระยะตัวอ่อนวัย 1-2 เลี้ยงด้วยดักแด้หนอนนก ระยะตัวอ่อนวัย 3 – 5 และตัวเต็มวัย เลี้ยงด้วยหนอนนก เก็บดักแด้หนอนนกและหนอนนกที่ถูกกิน 2 ครั้ง/สัปดาห์ พร้อมใส่อาหารใหม่ลงไป เปลี่ยนกล่องที่เลี้ยง 1 ครั้ง/สัปดาห์ จนมวนเป็นตัวเต็มวัยตาย ตรวจผลพร้อมบันทึกจำนวนดักแด้หนอนนกและหนอนนกที่ถูกกิน ดังนี้

- การบันทึกข้อมูล
- บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตของมวนเพชฌฆาตแต่ละระยะการเจริญเติบโต
- บันทึกอัตราการวางไข่ของมวนเพชฌฆาต

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลระยะเวลาการเจริญเติบโต และอัตราการวางไข่ของมวนเพชฌฆาต มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การทดลองที่ 1.5 การใช้มวนเพชฌฆาตควบคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพดในข้าวโพดหวาน (2559-2561)

1. ศึกษาอัตราการปล่อยมวนเพชฌฆาตที่เหมาะสมในการควบคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพด

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี

1.ปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 3 ตัวต่อต้น (288 ตัว/แปลงย่อย)

2.ปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 2 ตัวต่อต้น (192 ตัว/แปลงย่อย)

3.ปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 1 ตัวต่อต้น (96 ตัว/แปลงย่อย)

4. ไม่ควบคุม

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ปลูกข้าวโพดหวานในแปลงย่อยขนาด 6x6 เมตร จำนวน 20 แปลง ระยะปลูก 0.75x0.25 เมตร เมื่อข้าวโพดหวานอายุ 48-58 วัน สำรวจจาก 4 แถวกลางมีจำนวน 24 ต้นต่อแถว โดยสำรวจหนอนเจาะฝักข้าวโพดจำนวน 20 ต้น/แปลงย่อย ทุก 7 วัน ทำการทดลองกรรมวิธีที่กำหนด เมื่อพบหนอนหนอนเจาะฝักข้าวโพดเฉลี่ยเกิน 0.5ตัว/ต้น

- การบันทึกข้อมูล

-บันทึกจำนวนหนอนหนอนเจาะฝักข้าวโพด ก่อนปล่อยมวนเพชฌฆาตและหลังปล่อยมวนเพชฌฆาต 7 วัน

-บันทึกจำนวนแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบทั้งก่อนและหลังการปล่อยมวนเพชฌฆาต

กรมวิชาการเกษตร

-บันทึกผลผลิตและคุณภาพผลผลิต

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนหนอนหนอนเจาะฝักข้าวโพด จำนวนแมลงศัตรูธรรมชาติ และน้ำหนักผลผลิต มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2. การใช้มวนเพชฌฆาตเปรียบเทียบการการใช้สารฆ่าแมลงในการควบคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพด

ปลูกข้าวโพดหวานในแปลงขนาด 1 ไร่ จำนวน 2 แปลง ระยะปลูก 0.75x0.25 เมตร

แปลงที่ 1 เมื่อข้าวโพดหวานอายุ 48-58 วันสำรวจหนอนเจาะฝักข้าวโพด ทุก 7 วัน เมื่อพบหนอนหนอนเจาะฝักข้าวโพดเฉลี่ยเกิน 0.5 ตัว/ต้น ปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตราที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 1

แปลงที่ 2 เมื่อข้าวโพดหวานอายุ 48-58 วันสำรวจหนอนเจาะฝักข้าวโพด ทุก 7 วัน เมื่อพบหนอนหนอนเจาะฝักข้าวโพดเฉลี่ยเกิน 1 ตัว/ต้น พ่นด้วยสารฆ่าแมลง ฟิโปรนิล 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร

- การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนหนอนหนอนเจาะฝักข้าวโพด ก่อนปล่อยมวนเพชฌฆาต และหลังปล่อยมวนเพชฌฆาต 7 วัน

- บันทึกจำนวนแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบทั้งก่อนและหลังการปล่อยมวนเพชฌฆาต

- บันทึกผลผลิตและคุณภาพผลผลิต

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนแมลงศัตรูธรรมชาติ และผลผลิตและคุณภาพผลผลิต มาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี t-test

3.ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในข้าวโพดหวานที่มีต่อมวนเพชฌฆาต

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำ จำนวน 12 กรรมวิธี ดังนี้

1. คาร์บาริล (carbaryl) 85%WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
2. คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) 20%EC อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร
3. คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos) 40%EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร
4. อิมิดาโคลพริด (imidacloprid) 10%SL อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร
5. ฟิโปรนิล (fipronil) 5%SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร
6. เบตาไซฟลูทริน (betacyfluthrin) 2.5%EC อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร
7. ไดอะซินอน (diazinon) 60%EC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร
8. ฟลูเฟนนอกซูรอน (flufenoxzuron) 5%EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร
9. คลอร์ฟลูอาซูรอน (chlorfluazuron) 5%EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร
10. เดลทาเมทริน (deltamethrin) 3%EC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร
11. ไตรฟลูมูรอน (triflumuron) 25%WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
12. เทฟลูเบนซูรอน (teflubenzuron) 5%EC อัตรา 25 มล./น้ำ 20 ลิตร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทดสอบผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในข้าวโพดหวานกับตัวอ่อนมวนเพชฌฆาตระยะที่ 4 โดยใช้มวนเพชฌฆาตจำนวน 10 ตัว/ซ้ำ หยด acetone น้ำกลั่น และสารฆ่าแมลง ในหลอดแก้วทดลอง 1 ชนิด/2หลอด/ซ้ำ เอียงหลอดไปมาให้สารสัมผัสพื้นที่ด้านในหลอดแก้วให้ทั่ว แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนาน 2 – 4 ชั่วโมง ใส่มวนเพชฌฆาตระยะตัวอ่อนวัย 4 จำนวน 5 ตัว/หลอด พร้อมใส่ดักแด้หนอนนกเพื่อเป็นอาหารแก่มวนเพชฌฆาต และตรวจนับมวนเพชฌฆาตที่ตายที่ 48 ชั่วโมง

- การบันทึกข้อมูล

กรมวิชาการเกษตร

จำนวนมวนเพชฌฆาตที่ตายในแต่ละซ้ำหลังการทดสอบ ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนมวนเพชฌฆาตที่ตาย มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ทำการทดลอง

แปลงเกษตรกร จ.ชลบุรี หรือ กาญจนบุรี จำนวน 4 แปลง

การทดลองที่ 1.6 วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่ *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter เป็นปริมาณมาก และการนำไปใช้ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* (Stål) (2559-2563)

- แบบและวิธีการทดลอง

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย ดำเนินการตาม 2 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่ *C. lividipennis* เป็นปริมาณมาก แบ่งเป็น 3 งาน ได้แก่

1) เก็บรวบรวมมวนเขียวดูดไข่จากนาข้าว

2) ประเมินประสิทธิภาพและทดสอบความชอบของมวนเขียวดูดไข่ในการกินเหยื่อต่างกัน

3) ศึกษาพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการปล่อยมวนเขียวดูดไข่เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว แบ่งเป็น 2 งาน ได้แก่

1) ทดสอบอัตราการปล่อยมวนเขียวดูดไข่ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในห้องปฏิบัติการ

2) ศึกษาวิธีการปล่อยมวนเขียวดูดไข่เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่ *C. lividipennis* เป็นปริมาณมาก แบ่งเป็น 3 งาน ดังนี้

1) เก็บรวบรวมมวนเขียวดูดไข่จากนาข้าว

สำรวจ และเก็บรวบรวม เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และมวนเขียวดูดไข่ จากนาข้าว นำกลับมาเพาะเลี้ยงและศึกษาในห้องปฏิบัติการต่อไป

2) ประเมินประสิทธิภาพและทดสอบความชอบของมวนเขียวดูดไข่ในการกินเหยื่อ โดยใช้ไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และไข่แมลงวันผลไม้เป็นเหยื่อ

ปลูกข้าวพันธุ์อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เช่น ปทุมธานี 1 ในกระบะเพาะกล้า เพื่อใช้เป็นพืชอาหารเลี้ยงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

<u>เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล</u> นำตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เก็บได้จากนาข้าว จำนวน 10 คู่ ใส่ในกรงที่มีต้นข้าวอายุประมาณ 1 เดือน เพื่อให้วางไข่ และนำไข่ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไปใช้เป็นเหยื่อเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่และทำการทดลองต่อไป

<u>แมลงวันผลไม้</u> เก็บรวบรวมแมลงวันผลไม้จากแปลงผลไม้ที่ถูกแมลงวันผลไม้ทำลายในแหล่งปลูกต่าง ๆ จากนั้นนำมาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย ทำการจำแนกชนิด เมื่อได้แมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera dorsalis* (Hendel) จึงนำมาเลี้ยงขยายพันธุ์ต่อ เพาะเลี้ยงแมลงวันผลไม้ตามวิธีการของ สัญญาณี และคณะ (2551) โดยใช้อาหารเทียมสูตรเมล็ดข้าวโพดบด ที่ประกอบด้วย เมล็ดข้าวโพดบด 150 กรัม น้ำตาลทราย 15 กรัม Brewer's yeast 15 กรัม กระดาษทิชชู 9 กรัม sodium-benzoate 0.7 กรัม HCL 35% 0.6 มล. และน้ำ 200 มิลลิลิตร เตรียมอาหารเทียมโดยใช้เครื่องผสมอาหาร ใส่อาหารเทียมในกล่องเลี้ยงแมลง ใส่ไข่แมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* เลี้ยงต่อจนได้หนอนวัยที่ 3 ซึ่งโตเต็มที่ จากนั้นนำหนอนไปใส่ในขี้เลื่อยเพื่อเข้าดักแด้ หลังจากนั้น 10 วัน ทำการร่อนดักแด้ บันทึกจำนวนดักแด้ แล้วนำดักแด้ไปเก็บไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 0.35x0.35x0.5 เมตร เลี้ยงต่อจนเป็นตัวเต็มวัย และใช้น้ำมะเขือเทศ 100% (Tipco) ผสมน้ำอัตรา 1:2

กรมวิชาการเกษตร

หรือน้ำฝรั่ง ใส่ในถ้วยพลาสติกเจาะรูด้านข้างล่อให้แมลงวันเพศเมียวางไข่ เพื่อนำไข่แมลงวันผลไม้ไปทดลองให้เป็นเหยื่อแก่มวนเขียวดูดไข่ และทำการทดลองต่อไป

มวนเขียวดูดไข่ ใส่มวนเขียวดูดไข่ในกรงที่มีต้นข้าวอายุประมาณ 1 เดือน ที่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวางไข่แล้ว หลังจากนั้น 1 วัน นำต้นข้าวออกจากกรง และตัดต้นข้าวที่มีไข่ของเพลี้ยกระโดดในเส้นกลางใบให้ยาวประมาณ 7 เซนติเมตร ใส่ในหลอดทดลอง ขนาด 25 x 150 มิลลิเมตร พันต้นข้าวด้วยสำลีชุบในน้ำและอุดหลอดด้วยสำลี เก็บไว้ในห้องเลี้ยงแมลง เมื่อมวนเขียวดูดไข่ฟักออกเป็นตัว แยกเลี้ยงแต่ละตัวในหลอดทดลอง นำไปทดสอบต่อไป

2.1 ประเมินประสิทธิภาพการกินไข่ โดยแบ่งมวนเขียวดูดไข่ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เลี้ยงโดยใส่ไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 20 ฟอง/ตัว และกลุ่มที่ 2 เลี้ยงโดยใส่ไข่ของแมลงวันผลไม้ จำนวน 20 ฟอง/ตัว ตรวจนับจำนวนไข่ที่ถูกกินแต่ละวัน เป็นเวลา 7 วัน เพิ่มจำนวนไข่เข้าไปใหม่ให้ได้จำนวนตามกำหนดในแต่ละวัน ทำ 10 ซ้ำ

- การบันทึกข้อมูล
- ชนิดของเหยื่อ
- จำนวนไข่ที่มวนเขียวแต่ละวัยกินแต่ละวัน
- ระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ นำข้อมูลจำนวนไข่เหยื่อที่ถูกกิน และระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2.2 ทดสอบความชอบกินไข่ของมวนเขียวดูดไข่โดยใช้ไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และไข่แมลงวันผลไม้เป็นเหยื่อ ทดสอบในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ (petri dish) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร โดยใส่ไข่เหยื่อแต่ละชนิด จำนวน 20 ฟอง จากนั้นใส่ตัวอ่อนหรือตัวเต็มวัยแต่ละตัวเข้าไป จับเวลา และสังเกตชนิดและจำนวนเหยื่อที่ถูกกิน

- การบันทึกข้อมูล
- ชนิดของเหยื่อ จำนวนไข่ และระยะเวลาที่มวนเขียวแต่ละวัยกิน

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ นำข้อมูลจำนวนไข่แต่ละชนิดที่ถูกกิน มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3) ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่ *C. lividipennis* แบ่งเป็น

3.1 ศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของมวนเขียวดูดไข่ ดำเนินการดังนี้:

ทำการศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยา ของมวนเขียวดูดไข่ที่เลี้ยงด้วยเหยื่อทั้งสองชนิด ได้แก่ วงจรชีวิต อายุขัย อัตราการอยู่รอด อัตราส่วนเพศเมีย อัตราการขยายพันธุ์ต่อไป พฤติกรรมการวางไข่ ทำการทดลองในกรงพลาสติก โดยใส่ต้นข้าวอายุประมาณ 1 เดือน แล้วใส่ตัวเต็มวัยมวนเขียวดูดไข่จำนวน 5 คู่ สังเกตการวางไข่ของมวนเขียวดูดไข่บนต้นข้าว เฝ้าสังเกตจนกระทั่งพบตัวอ่อนมวนเขียวดูดไข่จากนั้นเขี่ยตัวอ่อนแต่ละตัวไปเลี้ยงในจานพลาสติกทรงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ให้ไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นอาหาร และเพิ่มอาหารตามความเหมาะสม ตรวจดูการเจริญเติบโตและพฤติกรรมทุกวันจนกระทั่งออกเป็นตัวเต็มวัย และเลี้ยงต่อจนกระทั่งตาย จำแนกเพศหลังจากที่ตายแล้วภายใต้กล้องจุลทรรศน์

- การบันทึกข้อมูล
- วงจรชีวิต อายุขัย อัตราการอยู่รอด อัตราส่วนเพศเมีย อัตราการขยายพันธุ์
- จำนวนมวนเขียวดูดไข่ที่เลี้ยงได้

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ นำข้อมูลวงจรชีวิต อัตราการรอดตาย จำนวนเหยื่ออาหารที่กิน จำนวนและอัตราส่วนเพศของมวนเขียวดูดไข่ที่เลี้ยงได้ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.2 การเพาะเลี้ยงเหยื่อของมวนเขียวดูดไข่ โดยเลือกเพาะเลี้ยงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลหรือแมลงวันผลไม้ ชนิดที่มวนเขียวดูดไข่ชอบกิน

กรมวิชาการเกษตร

3.2.1 การเพาะเลี้ยงด้วยไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ปลูกข้าวพันธุ์อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เช่น ปทุมธานี 1 ในกระบะเพาะกล้า ปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลใส่ในกรงที่มีกระบะข้าวอายุ 10 วัน เพื่อให้วางไข่ สุ่มต้นข้าวเพื่อนับจำนวนไข่ที่วาง

3.2.2 การเพาะเลี้ยงด้วยไข่แมลงวันผลไม้ เตรียมไข่แมลงวันผลไม้ตามวิธีการข้อ 2 นำไข่แมลงวันผลไม้ที่ได้ไปเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่

- การบันทึกข้อมูล
- ชนิดเหยื่อ จำนวนไข่ที่ผลิตได้ต่อหน่วยต่อรอบ
- ระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเหยื่อ
- ต้นทุนการผลิต

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนไข่ที่ผลิตได้ต่อหน่วยต่อรอบมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.3 การศึกษาอัตราส่วนพ่อแม่พันธุ์ที่เหมาะสมในสภาพการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำ จำนวน 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 อัตราส่วนพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 10 คู่

กรรมวิธีที่ 2 อัตราส่วนพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 20 คู่

กรรมวิธีที่ 3 อัตราส่วนพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 30 คู่

กรรมวิธีที่ 4 อัตราส่วนพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 40 คู่

ทำการทดสอบใส่พ่อแม่พันธุ์มวนเขียวดูดไข่ อัตราส่วนพ่อแม่พันธุ์ 10, 20, 30 และ 40 ตัว ในอุปกรณ์ ดังนี้

1. กระถางทรงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตร โดยปลูกต้นข้าว ให้มีอายุประมาณ 1 เดือน ครอบต้นข้าวด้วยแผ่นพลาสติกม้วนเป็นทรงกระบอกปิดด้านบนด้วยผ้าตาข่าย แล้วใส่พ่อแม่พันธุ์มวนเขียวดูดไข่ อัตราส่วนตามที่กำหนด

2. กรงพลาสติกขนาด 45x60x45 เซนติเมตร โดยปลูกต้นข้าว ให้มีอายุประมาณ 1 เดือน แล้วใส่พ่อแม่พันธุ์มวนเขียวดูดไข่ อัตราส่วนตามที่กำหนด

3. กรงตาข่าย ขนาด 55x75x55 เซนติเมตร แล้วใส่พ่อแม่พันธุ์มวนเขียวดูดไข่ อัตราส่วนตามที่กำหนด

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวน และอัตราส่วนเพศ ของมวนเขียวดูดไข่ที่เลี้ยงได้

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวน และอัตราส่วนเพศ ของมวนเขียวดูดไข่ที่เลี้ยงได้ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.4 ทดสอบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 3 วัน

กรรมวิธีที่ 2 เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 7 วัน

กรรมวิธีที่ 3 เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีที่ 4 เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 14 วัน

กรรมวิธีที่ 5 เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 21 วัน

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดสอบกับตัวเต็มวัยมวนเขียวดูดไข่ ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ อุณหภูมิตู้เย็น 10 และ 15°C โดยนำตัวเต็มวัยมวนเขียวดูดไข่ใส่กระปุกพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร จำนวน กระปุกละ 10 ตัว เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ

กรมวิชาการเกษตร

ตู้เย็น 10 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3, 7, 10, 14, และ 21 วัน จากนั้นนำออกมานับจำนวนตัวที่รอดชีวิต แล้วนำไปเลี้ยงด้วยไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตรวจสอบการวางไข่ และอายุขัยต่อไป

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนและชนิดเหยื่ออาหารที่กิน
- จำนวนมวนเขียวดูดไข่ที่เลี้ยงได้

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำอัตราการรอดตาย จำนวนและอัตราส่วนเพศของมวนเขียวดูดไข่ที่เลี้ยงได้ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการปล่อยมวนเขียวดูดไข่ *C. lividipennis* เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว แบ่งเป็น 2 งาน ดังนี้

1) ทดสอบอัตราการปล่อยมวนเขียวดูดไข่ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในห้องปฏิบัติการ

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำ จำนวน 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ใส่มวนเขียวดูดไข่ จำนวน 10 คู่

กรรมวิธีที่ 2 ใส่มวนเขียวดูดไข่ จำนวน 20 คู่

กรรมวิธีที่ 3 ใส่มวนเขียวดูดไข่ จำนวน 30 คู่

กรรมวิธีที่ 4 ไม่ใส่มวนเขียวดูดไข่

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ปลูกข้าวพันธุ์อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เช่น กข 7 ในกระบะเพาะกล้า ให้มีอายุ ประมาณ 1 เดือน นำไปใส่ในกรงเลี้ยงแมลง ปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 10 คู่ ใส่ในกรงที่มีกระบะข้าว เพื่อให้วางไข่ จำนวน 16 กรง ปล่อยมวนเขียวดูดไข่ ตามกรรมวิธีที่กำหนด และไม่ปล่อยมวนเขียวดูดไข่ ตรวจนับจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมวนเขียวดูดไข่ หลังจากเริ่มทดลอง 30 วัน วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธีทางสถิติที่เหมาะสม

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนและระยะการเจริญเติบโตของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
- จำนวนและระยะการเจริญเติบโตของมวนเขียวดูดไข่

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนและระยะการเจริญเติบโตของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวนและระยะการเจริญเติบโตของมวนเขียวดูดไข่ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2) ทดสอบประสิทธิภาพการปล่อยมวนเขียวดูดไข่ *C. lividipennis* ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

เพาะเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่ตามข้อ 4 เก็บรวบรวมมวนเขียวดูดไข่ที่ผลิตได้

สำรวจนาข้าวที่พบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 2 แปลง แปลงละ 1 ไร่ สุ่มตรวจนับจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในแปลงย่อยขนาด 50 ตารางเมตร จำนวน 6 แปลงย่อย/ไร่ แปลงย่อยละ 20 กอ (นาหว่านน้ำตม 10 ต้นที่อยู่ชิดกัน = 1 กอ) ตามแนวเส้นทแยงมุม

นำมวนเขียวดูดไข่ที่ผลิตได้ไปทดลองปล่อยในนาข้าว แปลงที่ 1 ปล่อยมวนเขียวดูดไข่ อัตรา 1,000-2,000 ตัว/แปลงย่อย เปรียบเทียบกับแปลงไม่ปล่อยมวนเขียวดูดไข่ หลังจากปล่อยมวนเขียวดูดไข่แล้ว 7 และ 14 วัน สุ่มตรวจนับจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในแปลงย่อยขนาด 50 ตารางเมตร จำนวน 10 แปลงย่อย/ไร่ แปลงย่อยละ 20 กอ (นาหว่านน้ำตม 10 ต้นที่อยู่ชิดกัน = 1 กอ) ตามแนวเส้นทแยงมุม จากแปลงที่ปล่อยและไม่ปล่อยมวนเขียวดูดไข่และตรวจดูจำนวนมวนเขียวดูดไข่

กรมวิชาการเกษตร

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนและระยะการเจริญเติบโตของเพลี้ยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
- จำนวนและระยะการเจริญเติบโตของมวนเขียวดูดไข่
- ต้นทุนค่าใช้จ่ายการปล่อยมวนเขียวดูดไข่ตามกรรมวิธี

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนและระยะการเจริญเติบโตของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวนและระยะการเจริญเติบโตของมวนเขียวดูดไข่ ต้นทุนค่าใช้จ่ายการปล่อยมวนเขียวดูดไข่ตามกรรมวิธี มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ทำการทดลอง

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
- แปลงปลูกข้าว จังหวัด สุพรรณบุรี ชัยนาท หรือกาญจนบุรี

การทดลองที่ 1.7 การเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) (2559-2561)

<u>งานที่ 1</u> ศึกษาปัจจัยการวางไข่ของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

การเตรียมเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เพื่อใช้ในการศึกษา

เก็บรวบรวมตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* จากแปลงมันสำปะหลัง ต.หนองปลิง อ.เลาขวัญ จ.กาญจนบุรี นำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ แยกมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยไปเพาะเลี้ยงในกล่องพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาดกว้าง 8X10X5 เซนติเมตร เลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* เป็นอาหาร

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาวัสดุอุปกรณ์สำหรับการวางไข่ของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Ramdomized Design (CRD) มีทั้งหมด 4 ซ้ำ

8 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 กระดาษฟาง

กรรมวิธีที่ 2 กระดาษทิชชูม้วน เรียกกันว่า “Bathroom Tissue”

กรรมวิธีที่ 3 ทิชชูเช็ดหน้า หรือ “Facial Tissue”

กรรมวิธีที่ 4 ทิชชูเช็ดปาก“Napkin”

กรรมวิธีที่ 5 ทิชชูอเนกประสงค์ ได้แก่ “Hand Towel” และ “Kitchen Towel”

กรรมวิธีที่ 6 กระดาษหนังสือพิมพ์

กรรมวิธีที่ 7 กระดาษพิมพ์เอกสาร 80 แกรม

กรรมวิธีที่ 8 กระดาษพิมพ์เอกสาร 80 แกรม ที่ใช้แล้ว (Reuse)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ตัดกระดาษขนาด 10X8 เซนติเมตร ทุกกรรมวิธี ใส่ในกล่องกล่องพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 8X10X5 เซนติเมตร กล่องละ 1 แผ่น ใส่ตัวเต็มวันเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้ว มีอายุ 1 วัน จำนวน 5 ตัว โดยทุกกรรมวิธีใส่ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton) 0.1 กรัม เป็นอาหารทุกวันจนกระทั่งมวนตัวห้ำตาย

- การบันทึกข้อมูล
- นับจำนวนไข่และเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของมวนตัวห้ำทุกวันจนมวนตัวห้ำตาย

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนไข่และเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของมวนตัวห้ำที่วางได้ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

กรมวิชาการเกษตร

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวางไข่ของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลอง CRD มี 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 อุณหภูมิที่ห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธีที่ 2 อุณหภูมิที่ 10 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 3 อุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 4 อุณหภูมิที่ 20 องศาเซลเซียส

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

เมื่อได้วัสดุปกรณ์ที่เหมาะสมในการวางไข่ของมวนตัวห้ำในขั้นตอนที่ 1 จะเลือกวัสดุที่ดีที่สุด และนำมาทำการทดลองในขั้นตอนที่ 2 โดยนำวัสดุการวางไข่ที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาใช้ทดลองกับทุกกรรมวิธี ตัดกระดาษขนาด 10X8 เซนติเมตร ใส่ในกล่องกล่องพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 8X10X5 เซนติเมตร กล่องละ 1 แผ่น ใส่ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้ว มีอายุ 1 วัน จำนวน 5 ตัว นำไปแช่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ โดยทุกกรรมวิธีใส่ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* 0.1 กรัม เป็นอาหารจนกระทั่งมวนตัวห้ำตาย

- การบันทึกข้อมูล

- นับจำนวนไข่และเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของมวนตัวห้ำทุกวันจนมวนตัวห้ำตาย

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนไข่และเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของมวนตัวห้ำที่วางได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>งานที่ 2</u> ศึกษาปัจจัยที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบCRD มี 4 ซ้ำ จำนวน 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* (กรรมวิธีควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และเกสรดอกธูปฤาษี

กรรมวิธีที่ 3 ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และเกสรดอกข้าวโพด

กรรมวิธีที่ 4 ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* เกสรดอกธูปฤาษีและเกสรดอกข้าวโพด

กรรมวิธีที่ 5 เกสรดอกธูปฤาษีและ เกสรดอกข้าวโพด

กรรมวิธีที่ 6 เกสรดอกข้าวโพด

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

การเตรียมเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เพื่อใช้ในการศึกษา

เก็บรวบรวมตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* จากแปลงมันสำปะหลัง ต.หนองปลิง อ.เลาขวัญ จ.กาญจนบุรี นำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ แยกมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยไปเพาะเลี้ยงในกล่องพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาดกว้าง 8X10X5 เซนติเมตร เลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* เป็นอาหาร

เตรียมอาหารที่ใช้ในการศึกษา

- ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* จากกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ
- เกสรดอกธูปฤาษีจากหนองน้ำในเขตกรุงเทพฯและปริมณฑล
- เกสรดอกข้าวโพดจากแปลงปลูกข้าวโพดของเกษตรกร

ทำการศึกษาโดยนำมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ในกล่องพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 8X10X5 เซนติเมตร โดยใส่ตัวอ่อนของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* วัยที่ 1 ที่เพิ่งฟักออกจากไข่ จำนวนกล่องละ 20 ตัว

กรมวิชาการเกษตร

ในทุกกรรมวิธี เพาะเลี้ยงจนมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย

- การบันทึกข้อมูล

- นับจำนวนมวนตัวห้ำที่รอดชีวิตเป็นตัวเต็มวัย

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนมวนตัวห้ำที่รอดชีวิตมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบCRD มี 4 ซ้ำ จำนวน 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ระยะตัวอ่อนวัยที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 ระยะตัวอ่อนวัยที่ 2

กรรมวิธีที่ 3 ระยะตัวอ่อนวัยที่ 3

กรรมวิธีที่ 4 ระยะตัวอ่อนวัยที่ 4

กรรมวิธีที่ 5 ระยะตัวอ่อนวัยที่ 5

กรรมวิธีที่ 6 ระยะตัวเต็มวัย

ทำการศึกษาการรอดชีวิตของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ใน 4 อุณหภูมิ ได้แก่ 10 15 20 และ 25 องศาเซลเซียส

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

เมื่อได้อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำในขั้นตอนที่ 1 จะเลือกอาหารที่ดีที่สุด มาทำการทดลองในขั้นที่ 2 นำมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ในกล่องพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 8X10X5 เซนติเมตร โดยใส่ตัวอ่อนของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* วัยที่ 1 ที่เพิ่งฟักออกจากไข่ จำนวนกล่องละ 20 ตัว ในทุกกรรมวิธี แช่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ เพาะเลี้ยงจนมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย

- การบันทึกข้อมูล

- นับจำนวนมวนตัวห้ำที่รอดชีวิตเป็นตัวเต็มวัย

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนมวนตัวห้ำที่รอดชีวิตเป็นตัวเต็มวัยมาวิเคราะห์ทางสถิติ

<u>งานที่3</u> ศึกษาอัตราการปลดปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เพื่อควบคุมศัตรูพืช

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) มีทั้งหมด 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ปลดปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยตัวเต็มวัยของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยตัวอ่อนของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* วัยที่ 3-4

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

การเตรียมเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เพื่อใช้ในการศึกษา

เก็บรวบรวมตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* จากแปลงมันสำปะหลัง ต.หนองปลิง อ.เลาขวัญ จ.กาญจนบุรี นำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ แยกมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยไปเพาะเลี้ยงในกล่องพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาดกว้าง 8X10X5 เซนติเมตร เลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* เป็นอาหาร

การเตรียมต้นมะเขือเปราะ

เตรียมต้นมะเขือเปราะอายุ 2 เดือน โดยเพาะต้นกล้ามะเขือในถาดหลุมดำใส่ดินผสมสำหรับปลูกเป็นเวลา 1 เดือน หลังจากนั้นย้ายต้นกล้ามะเขือลงถุงดำเส้นผ่านศูนย์กลาง 10.5 สูง 12.5 หลังจากนั้น 1 เดือน นำต้นมะเขือที่ได้มาใช้ในการทดลอง

กรมวิชาการเกษตร

การเตรียมเพาะเลี้ยงเพลี้ยไฟฝ้าย *T. palmi*

ปลูกต้นมะเขือในถุงดำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร สูง 13 เซนติเมตร นำต้นมะเขืออายุ 2 เดือนปลูกในถุงดำไว้แล้วประมาณ 12-16 ต้น ใส่ในกรงขนาดกว้าง 48 เซนติเมตร ยาว 48 เซนติเมตร สูง 57 เซนติเมตร ทุกด้านปิดด้วยลวดตาข่ายถี่ และรองบริเวณฐานกรงด้วยถาดอะลูมิเนียมทรงสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 50x50 เซนติเมตรเพื่อสะดวกในการให้น้ำกับมะเขือ

ปล่อยมวนตัวห้ำจำนวน 1 ตัวต่อต้นมะเขืออายุ 2 เดือน 1 ต้น เป็น 1 หน่วยการทดลองต่อกรรมวิธีต่อซ้ำ ใส่เพลี้ยไฟ จำนวน 30 ตัว/ ต้น มะเขือ ทุกกรรมวิธี และเริ่มปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เมื่อนำต้นมะเขือเปราะอายุ 2 เดือน บนถาดอะลูมิเนียมทรงสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 80x80 เซนติเมตร วางต้นมะเขืออายุ 2 เดือน จำนวน 20 ต้น โดยทุกต้นคลุมด้วยถุงผ้าขาวบาง เพื่อป้องกันมวนตัวห้ำหลบหนีออกมาต้นอื่น

- การบันทึกข้อมูล
- บันทึกจำนวนศัตรูพืชทุกชนิดบนต้นมะเขือ ก่อนและหลังจากทำการปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus*
- บันทึกข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้นภายในโรงเรือนแต่ละช่วงเวลาเวลาการศึกษา
- นับจำนวนเพลี้ยไฟที่ถูกแมลงศัตรูธรรมชาติในแต่ละกรรมวิธีกินทุกวันจนกระทั่งมวนตัวห้ำตาย

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลของจำนวนเพลี้ยไฟมาวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิภาพการควบคุม (control efficiency percentage) และ วิเคราะห์ทางสถิติจากสูตรดังต่อไปนี้ (Puntener, 1981)

Control efficiency perentage (%) = [1- (Ta/Ca×Cb/Tb)] 100

Tb = จำนวนของแมลงก่อนทำการทดลองในแต่ละกรรมวิธี

Ta = จำนวนของแมลงหลังทำการทดลองในแต่ละกรรมวิธี

Cb = จำนวนของแมลงก่อนทำการทดลองในกรรมวิธีที่ควบคุม

Ca = จำนวนของแมลงหลังทำการทดลองในกรรมวิธีที่ควบคุม

การทดลองที่ 1.8 การผลิตและการใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius* spp. ควบคุมเพลี้ยไฟ (2559-2563)

<u>งานที่ 1</u>. ศึกษาชีววิทยาและเทคนิคการเลี้ยงขยายไรตัวห้ำ

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1. ศึกษาชีววิทยาของไรตัวห้ำ

นำไรตัวห้ำแต่ละชนิดมาเลี้ยงโดยใช้ไรในโรงเก็บและ/หรือเพลี้ยไฟเป็นอาหาร หล่อน้ำถาดเลี้ยงตลอดเวลา และวางบนชั้นใต้แสงไฟฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน ในห้องปฏิบัติการอุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80 % RH. เมื่อขยายปริมาณไรได้มากพอ จึงทำการศึกษาระยะชีพจักรของไรตัวห้ำแต่ละชนิด โดยนำไข่ของไรตัวห้ำที่ทราบเวลาวางไข่ที่แน่นอนมาแยกเลี้ยงเดี่ยวบนใบพืชอาศัยที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.7 ซม. ในกล่องพลาสติกที่แบ่งเป็นช่องบุด้วยกระดาษทิชชู หล่อน้ำตลอดเวลา ใส่เพลี้ยไฟเป็นอาหาร 10 ตัว ต่อไรตัวห้ำ 1 ตัว อาหารจะถูกเติมอยู่เสมอเพื่อให้ไรตัวห้ำมีอาหารกินอย่างเพียงพอตลอดการศึกษา และบันทึกระยะชีพจักรของการเจริญเติบโตจนเป็นตัวเต็มวัย วัดขนาดของตัวเต็มวัยเพศเมีย เมื่อเป็นตัวเต็มวัยแล้วให้ไรเพศผู้ผสมพันธุ์ บันทึกอายุขัยของตัวเต็มวัย (longevity) ความสามารถในการผลิตไข่ (fecundity) อัตราการวางไข่ต่อวัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 28 ตัว

โดยมีการศึกษาลักษณะที่สำคัญทางชีววิทยา ดังนี้

1. ศึกษาวงจรชีวิต ระยะเวลาในการเจริญเติบโตตั้งแต่ไข่จนเป็นตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมีย
2. ศึกษาความสามารถในการผลิตไข่ตลอดอายุขัย
3. ศึกษาอัตราการเพิ่มประชากร

กรมวิชาการเกษตร

ขั้นตอนที่ 2. การเลี้ยงขยายไรตัวห้ำ

1. การทดลองเลี้ยงขยายไรอาหาร เพื่อให้ได้เป็นปริมาณมาก เป็นอาหารของไรตัวห้ำ *A. swirskii* โดยเปรียบเทียบการใช้ธัญพืชชนิดต่าง ๆ เป็นอาหาร เช่น รำข้าวสาลี จมูกข้าวสาลี รำข้าวเจ้า อาหารสัตว์เลี้ยงสำเร็จรูป โดยมียีสต์เป็นส่วนผสม และทำการเปรียบเทียบภาชนะใส่เพาะเลี้ยงชนิดต่าง ๆ เช่น เพาะเลี้ยงในถาดพลาสติก ถ้วยพลาสติก กล่องพลาสติกขนาดต่าง ๆ ศึกษาอุณหภูมิ และความชื้นที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง เพื่อหาวิธีการเพาะเลี้ยงไรให้เพิ่มปริมาณมากได้ในเวลารวดเร็ว และประหยัดที่สุด

2. การทดลองเลี้ยงขยายไรตัวห้ำ *A. californicus* โดยใช้วิธีการเลี้ยงเช่นเดียวกับไรตัวห้ำ *A. longispinosus* (มานิตาและคณะ, 2539) เพื่อหาวิธีการเพาะเลี้ยงไรตัวห้ำให้เพิ่มปริมาณได้รวดเร็ว สะดวก และประหยัดที่สุด

- การบันทึกข้อมูล
- บันทึกผลการเพิ่มประชากรไรตัวห้ำ โดยบันทึกระยะเวลาในการผลิตไรตัวห้ำทั้งหมด
- บันทึกอัตราการเพิ่มประชากรที่เร็วที่สุดและมากที่สุดในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณ

<u>งานที่ 2</u> ประสิทธิภาพของไรตัวห้ำในการควบคุมเพลี้ยไฟในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1. ทดสอบประสิทธิภาพไรตัวห้ำ *A. californicus* และ *A. swirskii* ในการควบคุมเพลี้ยไฟพริกในห้องปฏิบัติการ นำไรตัวห้ำแต่ละชนิดมาทดสอบประสิทธิภาพการกินเพลี้ยไฟชนิดที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญในพืชเศรษฐกิจ เช่น *Scirtothrips dorsaris*, *Thrips palmi* เป็นต้น หล่อน้ำถาดเลี้ยงตลอดเวลา และวางบนชั้นใต้แสงไฟฟลูออเรสเซ็นต์ เป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน ในห้องปฏิบัติการอุณหภูมิ 27 <u>+</u> 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80 % RH.

- การบันทึกข้อมูล
    - บันทึกจำนวนเพลี้ยไฟวัยต่าง ๆ ที่ไรตัวห้ำสามารถกินได้ต่อวัน โดยตรวจนับจำนวนเพลี้ยไฟใต้กล้องจุลทรรศน์ก่อนปล่อยและหลังปล่อยไรตัวห้ำทุกวัน โดยมีปริมาณเหยื่ออัตรา 10, 20, 30 และ 40 ตัวต่อใบพืช (พื้นที่ 1x1 นิ้ว) ทำการทดลอง 20 ซ้ำ ในอัตราเหยื่อแต่ละอัตรา
    - วิเคราะห์ผลการควบคุมเพลี้ยไฟของไรตัวห้ำแต่ละชนิดตามวิธีการทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบอัตราการใช้ไรตัวห้ำ *A. californicus*, และ *A. swirskii* ควบคุมเพลี้ยไฟพริกในเรือนทดลอง ย้ายกล้าพริกลงในถุงเพาะชำขนาด 12x20 เซนติเมตร จำนวน 60 ต้นในเรือนทดลองหลังคาพลาสติกด้านข้างเป็นตาข่ายตาถี่ ปล่อยเพลี้ยไฟพริกลงบนต้นพริกเมื่อพริกอายุประมาณ 8-10 สัปดาห์ โดยนำเพลี้ยไฟที่เพาะเลี้ยงไว้บนใบถั่วในห้องปฏิบัติการวางทาบลงบนยอดพริก ทิ้งให้เพลี้ยไฟแพร่ขยายพันธุ์ประมาณ 1-2 สัปดาห์ จนยอดอ่อนพริกแสดงอาการถูกทำลาย จึงปล่อยไรตัวห้ำลงบนต้นพริก จำนวน 5 อัตรา คือ 0, 2, 5, 10 และ 20 ตัวต่อต้น อัตราละ 12 ต้น ปล่อยซ้ำทุก 1 สัปดาห์ ทำการทดลองกับไรตัวห้ำทั้ง 2 ชนิด

- การบันทึกข้อมูล
    - นับจำนวนประชากรเพลี้ยไฟใต้กล้องจุลทรรศน์ ก่อนปล่อยและหลังปล่อยไรตัวห้ำทุกสัปดาห์จากใบอ่อนพริก 2-3 ใบต่อต้น ทำการปล่อยไรตัวห้ำควบคุมประชากรเพลี้ยไฟ ตามความรุนแรงของการระบาดเพลี้ยไฟ 4 ระดับ คือ น้อย (5-10 ตัวต่อใบ) ปานกลาง (20-50 ตัวต่อใบ) มาก (50-100 ตัวต่อใบ) และรุนแรงมาก (> 100 ตัวต่อใบ)
    - วิเคราะห์ผลการควบคุมเพลี้ยไฟโดยการใช้ไรตัวห้ำ

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนประชากรเพลี้ยไฟ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>งานที่ 3</u>. การทดลองใช้ไรตัวห้ำควบคุมเพลี้ยไฟพริกในสภาพแปลงปลูก

- แบบและวิธีการทดลอง

กรมวิชาการเกษตร

สุ่มจัดแปลงทดลองโดยวางแผนแบบ RCB มี 7 ซ้ำ มีวิธีการควบคุมเพลี้ยไฟ 3 กรรมวิธี ได้แก่
กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยไรตัวห้ำ จำนวน 2, 5 หรือ 10 ตัวต่อต้น (ตามผลการทดลองของ ขั้นตอนที่ 1 และ 2) ทุก 1- 2 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารฆ่าแมลง imidacloprid 10% SL อัตรา 10 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อเพลี้ยไฟระบาดถึงระดับเศรษฐกิจ
กรรมวิธีที่ 3 ไม่มีการควบคุม
- วิธีปฏิบัติการทดลอง
1. การเตรียมแปลงปลูกพริก และการจัดวางแผนการทดลอง
ปลูกพริก มีวิธีปลูกและดูแลตามวิธีการของเกษตรกร โดยในระยะ 1 เดือนแรกพ่นปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) อัตรา 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตรทุก 5-7 วัน
2. การเตรียมไรตัวห้ำไปปล่อยในแปลงปลูก
ทำการเลี้ยงขยายไรตัวห้ำ โดยมีเป้าหมายผลิตไรตัวห้ำให้ได้ประมาณ 7,000-17,000 ตัว ในทุก ๆ 1 - 2 สัปดาห์ ทั้งนี้เพื่อที่ได้ไรตัวห้ำไปปล่อยบนต้นพริกจำนวน 2 - 10 ตัวต่อต้น (ขึ้นอยู่กับผลการทดลองขั้นตอนที่ 1) เพื่อประเมินจำนวนไรตัวห้ำที่ผลิตได้ทั้งหมดในแต่ละครั้ง ก่อนนำไรตัวห้ำไปปล่อย จะเก็บสุ่มนับจำนวนไรตัวห้ำประมาณ 10-15 % ของไรตัวทั้งหมด จากนั้นแบ่งไรตัวห้ำออกเป็น 7 ส่วนเท่าๆ กัน บรรจุลงในขวด ปิดฝาให้แน่นแล้วใส่ในถังเก็บความเย็นเตรียมนำไปปล่อยในแปลงย่อยทั้ง 7 ซ้ำ ของกรรมวิธีที่ 1
3. ปฏิบัติการทดลองวิธีการควบคุมเพลี้ยไฟในแปลงปลูกพริกโดยวิธีการปล่อยไรตัวห้ำ พ่นสารฆ่าแมลง และการบันทึกข้อมูลจำนวนเพลี้ยไฟและผลผลิต
หลังจากปลูกพริกประมาณ 50-60 วัน จึงเริ่มมีการสุ่มตรวจนับจำนวนเพลี้ยไฟ โดยสุ่มเก็บใบพริก ทุกซ้ำ ซ้ำละ 30 ใบ ในวันเดียวกันนั้นหลังจากสุ่มเก็บใบแล้วจึงทำการปล่อยไรตัวห้ำโดยสุ่มปล่อยลงบนทรงพุ่มต้นพริกให้กระจายทั่วทั้งแปลง หลังจากการปล่อยไรตัวห้ำแล้วงดการให้น้ำ 1 วัน ทำการปล่อยซ้ำอีกทุกๆ 1 - 2 สัปดาห์
การพ่นสารฆ่าแมลงในกรรมวิธีที่ 2 เลือกใช้สารฆ่าไร imidacloprid อัตราตามคำแนะนำของกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เริ่มพ่นสารฯเมื่อพบเพลี้ยไฟบนใบพริกเกินระดับเศรษฐกิจ ส่วนในกรรมวิธีที่ 3 (control) ไม่มีการป้องกันกำจัดไรเพลี้ยไฟเพื่อใช้เป็นแปลงเปรียบเทียบ
- การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลจำนวนเพลี้ยไฟและไรตัวห้ำทุกกรรมวิธี ทำโดยสุ่มเก็บใบอ่อนของพริก จำนวน 30 ใบต่อซ้ำ นำใส่ถุงพลาสติก ใส่ถังเก็บความเย็น นำมานับจำนวนไรใต้กล้องจุลทรรศน์ เริ่มสุ่มนับก่อนการปล่อยไรตัวห้ำครั้งแรก และสุ่มนับต่อไปอีกทุกๆ 1 - 2 สัปดาห์ โดยสุ่มเก็บใบก่อนทำการปล่อยไรตัวห้ำทุกครั้ง
2. บันทึกข้อมูลผลผลิต ทำโดยสุ่มชั่งผลผลิตของต้นพริก จึงมีการสุ่มนับจำนวนทั้งสิ้น 80 ต้น เริ่มเก็บข้อมูลเมื่อพริกมีอายุ 3 เดือน เก็บข้อมูลเป็นจำนวน 3 ครั้ง เมื่อต้นพริกมีอายุ 90 120 และ 150 วัน

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนเพลี้ยไฟและไรตัวห้ำต่อใบ และจำนวนผลผลิตต่อต้น มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองที่ 1.9 การผลิตขยายและการใช้หอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ควบคุมหอยทากศัตรูพืช โดยชีววิธี (2559–2562)
- วิธีดำเนินการวิจัย
ขั้นตอนที่ 1 ทดสอบความชอบกินหอยทากศัตรูพืชของหอยตัวห้ำในห้องปฏิบัติการ
- เก็บรวบรวมหอยทากศัตรูพืช 5 ชนิด (ต้องเป็นชนิดที่พบในสวนกล้วยไม้หรือแหล่งเกษตรกรรม)ได้แก่ หอยดักดาน หอยซัคซิเนีย หอยเจดีย์เล็ก หอยเจดีย์ใหญ่ และหอยเลขหนึ่ง จากพื้นที่เกษตรกรรมต่างๆ มาพัก/ เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

กรมวิชาการเกษตร

- ทำการทดสอบในกล่องพลาสติก โดยหอยทากศัตรูพืช 5 ชนิดๆละ 10 ตัว ใส่หอยตัวห้ำ (ใช้หอยนักล่าสยาม, *Perrottetia siamensis*) ตัวเต็มวัยกล่องละ 1 ตัว ตรวจนับจำนวนหอยทากศัตรูพืชที่ถูกกินแต่ละชนิด และเพิ่มเข้าไปใหม่ให้ได้จำนวนชนิดละ 10 ตัว เลือกชนิดที่ชอบกิน ไปเพาะเลี้ยงเป็นเหยื่อต่อไป
- เพาะเลี้ยงหอยทากศัตรูพืชชนิดที่หอยตัวห้ำชอบกิน ในตู้กระจกขนาด 25 x 40 x 26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจก ด้วยดินผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 เซนติเมตร ให้อาหารเป็นอาหารปลาชนิดเม็ด และผักกาดขาว ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำ วันละ 1 ครั้ง
- คัดเลือกหอยทากศัตรูพืช ที่มีขนาดความกว้างของเปลือกประมาณ 0.5 เซนติเมตร (อายุ ประมาณ 7 วัน) สำหรับใช้เป็นอาหารหอยตัวห้ำ ในขั้นตอนต่อไป
- การบันทึกข้อมูล
- บันทึกจำนวนหอยศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ ที่หอยตัวห้ำกินแต่ละวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์

ขั้นตอนที่ 2 การศึกษาการเพาะเลี้ยงหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae

เก็บรวบรวมหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ชนิดที่มีศักยภาพดี (ใช้หอยนักล่าสยาม, *P. siamensis*) สำหรับเป็นแม่พันธุ์ โดยเก็บรวบรวมจากพื้นที่เกษตรกรรมภาคต่างๆ นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์ชื่อในห้องปฏิบัติการตามระบบอนุกรมวิธานของหอยเปรียบเทียบกับเอกสารหอยทากบกทั้งในและต่างประเทศ ตามเอกสารของ Abbott (1989); Hemmen and Hemmen (2002); Panha (1996) และ Vaught (1989)

ดำเนินการเพาะเลี้ยงหอยตัวห้ำ ซึ่งประกอบด้วย 2 หัวข้อ ดังนี้

2.1 <u>ศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโตของหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae</u>

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยให้อาหารที่แตกต่างกัน 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ10 ซ้ำ และแต่ละซ้ำใส่หอยตัวห้ำที่มีขนาด 8-9 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดตัวเต็มวัย จำนวน 1 ตัว /ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หอยศัตรูพืช (ขนาดเปลือก 0.5 เซนติเมตร) จำนวน 10 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตร A จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 หอยศัตรูพืช จำนวน 10 ตัว + อาหารสูตร A จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 หอยศัตรูพืชจำนวน 10 ตัว + อาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

การทดลองนี้ใช้หอยนักล่าสยาม, *P. siamensis* ซึ่งมีศักยภาพดีและได้คัดเลือกชนิดมาแล้วในปี 2554-2556 ดำเนินการนำโดยหอยตัวห้ำมาเลี้ยงในอ่างซีเมนต์ เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร ในโรงเรือนที่มีอากาศถ่ายเทสะดวก ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส รองพื้นอ่างด้วยดินผสมขุยมะพร้าว (อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) อัตราส่วน 1:1 ให้สูงจากพื้นอ่างซีเมนต์ ประมาณ 10 เซนติเมตร และวางวัสดุสำหรับให้หอยวางไข่ ได้แก่ กาบมะพร้าวและอิฐแผ่น ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1ครั้ง

<u>อาหารสูตร A</u> ประกอบด้วย อาหารปลา:: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต

(อัตราส่วน 2:1:1)

<u>อาหารสูตร B</u> ประกอบด้วย อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต

(อัตราส่วน 2:1:1)

กรมวิชาการเกษตร

- การบันทึกข้อมูล
- วัดการเจริญเติบโต โดยชั่งน้ำหนักและวัดขนาดเปลือกหอยตัวห้ำ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง
- บันทึกจำนวนหอยศัตรูพืชและปริมาณอาหารกรรมวิธีต่างๆที่หอยตัวห้ำกินแต่ละวัน

2.2 <u>ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการฟักไข่และอัตราการรอดของตัวอ่อนหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae</u>

- แบบและวิธีการทดลอง

ดำเนินการทดลอง 2 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ แต่ละซ้ำใส่ไข่หอยตัวห้ำจำนวน 1 กลุ่มไข่ (cluster) / กล่อง โดยกำหนดอุณหภูมิที่แตกต่างกัน เป็นกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ฟักไข่ในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธีที่ 2 ฟักไข่ในสภาพห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำไข่หอยตัวห้ำ *P. siamensis* มาแยกใส่กล่องพลาสติก ขนาด 15.5 x 22 x 7 เซนติเมตร รองพื้นกล่องพลาสติกด้วยดินผสมขุยมะพร้าว (อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) อัตราส่วน 1:1 ให้หนา 2 เซนติเมตร โดยอาหารที่ใช้ทดลองในช่วงการฟักไข่และเพาะเลี้ยงตัวอ่อนหอยตัวห้ำทุกกรรมวิธี ให้เป็นอาหารสูตรผสมซึ่งประกอบด้วย อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: รำละเอียด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 1:1:1:1) ที่ดัดแปลงจากสูตรของธนพันธ์ (2528) ปริมาณ 2-3 กรัม/ สัปดาห์ โดยเก็บเศษอาหารเก่าทิ้งทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารใหม่แต่ละครั้ง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง

- การบันทึกข้อมูล
    - บันทึกอุณหภูมิในสภาพโรงเรือน ของกรรมวิธีที่ 1 ตลอดการทดลอง
    - บันทึกจำนวนไข่แต่ละ cluster เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่หอยตัวห้ำแต่ละกรรมวิธี
    - บันทึกจำนวนตัวอ่อนของหอยตัวห้ำที่ฟักจากไข่ เพื่อคำนวณอัตราการรอดในแต่ละกรรมวิธี
    - วัดการเจริญเติบโต โดยชั่งน้ำหนักและวัดขนาดเปลือกตัวอ่อนหอยตัวห้ำ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง

เพื่อจัดทำแผนภูมิการเจริญเติบโต

2.3 <u>ศึกษาอัตราแม่พันธุ์ที่เหมาะสม เพื่อผลิตขยายหอยตัวห้ำให้ได้ปริมาณมาก</u>

ทดสอบหาอัตราของแม่พันธุ์ที่เหมาะสมโดยใส่หอยตัวห้ำตัวเต็มวัย 5, 10, และ 20 ตัว ลงในอ่างซีเมนต์ เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร ในโรงเรือนที่มีอากาศถ่ายเทสะดวก ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส รองพื้นอ่างด้วยดิน : ขุยมะพร้าว (อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) อัตราส่วน 1:1 ให้สูงจากพื้นอ่างซีเมนต์ ประมาณ 10 เซนติเมตร และวางวัสดุสำหรับให้หอยวางไข่ ได้แก่ กาบมะพร้าวและอิฐแผ่น ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1ครั้ง และให้อาหารชนิดที่เหมาะสม (จากขั้นตอน 2.1) ทิ้งไว้ 1 เดือน จากนั้นนำตัวเต็มวัยออก ตรวจนับจำนวนไข่ และตัวอ่อนที่พบ ทุก 1 สัปดาห์

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนไข่ และตัวอ่อนของหอยตัวห้ำ
- อัตราการฟัก และอัตราการรอดของตัวอ่อนหอยตัวห้ำ
- บันทึกขนาด อายุ และลักษณะของหอยที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์
- บันทึกลักษณะ และจำนวนของไข่หอย/กลุ่ม ขนาดของไข่ และขนาดของกลุ่มไข่
- บันทึกระยะเวลา ตั้งแต่หอยเริ่มวางไข่จนตัวอ่อนหอยฟักออกจากไข่ ขนาดของลูกหอยที่เพิ่งฟัก และพฤติกรรมการกินของลูกหอยที่เพิ่งฟักจากไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัย
- บันทึกอุณหภูมิ pH ดิน ความชื้นดิน ความชื้นสัมพัทธ์บริเวณเลี้ยงหอย เป็นช่วงตลอดการทดลอง

2.4 <u>ศึกษาอัตราการปล่อยหอยตัวห้ำในสภาพแปลงทดลอง</u> โดยปฏิบัติดังนี้

กรมวิชาการเกษตร

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธีๆละ 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 1 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 2 ตัว

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 3 ตัว

กรรมวิธีที่ 4 วางเหยื่อ (ปลายข้าวแช่สารสกัดกากชา) อัตรา 1 กิโลกรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ควบคุม (ไม่มีการปล่อยหอยตัวห้ำ)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. ดำเนินการทดลองในสวนกล้วยไม้ และกำหนดขนาดแปลงย่อยโดยกั้นตาข่ายขนาดพื้นที่ 1 ตารางเมตร ตามบริเวณพื้นดินและทางเดินในสวนกล้วยไม้ นับจำนวนหอยศัตรูพืชที่ใช้เป็นเหยื่อ 30 ตัว/ plot

ประเมิน และตรวจนับจำนวนหอยศัตรูพืชที่ถูกกินหลังการปล่อยหอยตัวห้ำ ทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน และนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติที่เหมาะสม

2. ดำเนินการทดลองในสวนกล้วยไม้ โดยเริ่มสุ่มนับประชากรหอยศัตรูพืชที่จะทดลอง บริเวณพื้นดินซึ่งเป็นแหล่งอาศัยของหอย โดยใช้ตารางสุ่มขนาด 0.5 ตารางเมตร จำนวน 20จุด/ไร่ ถ้าพบหอยเฉลี่ยมากกว่า 10 ตัว/ตารางเมตร ตามมาตรฐาน GAP การควบคุมหอยกล้วยไม้ จึงจะกำหนดเป็นแปลงทดลอง โดยกั้นแปลงย่อย ขนาดพื้นที่ 0.5 x 5 เมตร จำนวน 5 จุด/ ไร่ แล้วจึงปล่อยหอยตัวห้ำตามอัตราที่คุ้มค่า และมีประสิทธิภาพมากที่สุด (จากข้อ 2.4.1) และนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- การบันทึกข้อมูล

นับจำนวนหอยศัตรูพืชที่หลังการปล่อยหอยตัวห้ำ ทุก ๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 1 เดือน และสุ่มนับประชากรหอยตัวห้ำและหอยศัตรูพืชที่เป็นเหยื่อ ทุกเดือน ๆ ละ 1 ครั้งตลอดทั้งปี โดยเปรียบเทียบกับแปลงควบคุม (ไม่มีการปล่อยหอยตัวห้ำ)

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนหอยศัตรูพืช และหอยตัวห้ำ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองที่ 1.10 การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ในการควบคุมหนอนห่อใบข้าว *Cnaphalocrocis medinalis* Guenee (2559-2560)

<u>1. การทดลองในห้องปฏิบัติการ</u>

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำโดยมีกรรมวิธีต่าง ๆ ดังนี้

1. Bta อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
2. Bta อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
3. Bta อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
4. Btk อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
5. Btk อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
6. Btk อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
7. fipronil 5%SC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
8. control

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

กรมวิชาการเกษตร

ทำการเก็บหนอนห่อใบมาเลี้ยงขยายให้ได้ปริมาณมากเพียงพอต่อการทดลอง คัดหนอนทดลองโดยให้อยู่ในวัยเดียวกันและมีขนาดใกล้เคียงกัน จากนั้นนำใบข้าวมาชุบสารทดลองตามกรรมวิธีต่าง ๆ โดยใช้วิธี leaf dipping ทิ้งไว้ให้สารทดลองแห้งแล้วปล่อยหนอนลงในพืชทดสอบ ใช้หนอนทดลองซ้ำละ 10 ตัว ตรวจนับการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน

2. การทดลองในสภาพไร่

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

1. Bta อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
2. Bta อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
3. Btk อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
4. Btk อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
5. fipronil 5%SC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
6. control

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองในนาข้าวขนาดแปลงย่อยขนาด 50 ตารางเมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 2 เมตร ใช้เครื่องพ่นเครื่องยนต์สะพายหลังชนิดแรงดันน้ำสูง อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ ทำการพ่นสารทดลองทุก 7 วัน เริ่มพ่นสารทดลองเมื่อพบใบข้าวถูกทำลายมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการตรวจนับแมลงก่อนพ่นสารและหลังพ่นสาร 7 วัน โดยนับจำนวนใบข้าวที่ดีและใบข้าวที่โดนหนอนทำลาย สุ่มนับแปลงย่อยละ 20 กอ ตามแนวเส้นทะแยงมุม 2 ด้านๆละ 10 กอ แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การทำลาย

- การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูล จำนวนใบข้าวที่ดีและใบข้าวที่โดนหนอนทำลาย และบันทึกผลผลิตที่ได้

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การทำลายของแมลงมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองที่ 1.11 การใช้ไวรัส NPV ในการควบคุมหนอนกระทู้ผักในหอมหัวใหญ่ (2559-2560)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

1. SlNPV อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
2. SlNPV อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
3. SlNPV อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
4. SlNPV อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
5. SlNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
6. emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
7. control

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงหอมหัวใหญ่ ขนาดแปลงย่อย 3x5 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 50 เซนติเมตร ใช้เครื่องพ่นเครื่องยนต์สะพายหลังชนิดแรงดันน้ำสูง อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ ทำการพ่นสารทดลองทุก 4 วัน เริ่มพ่นสารทดลองเมื่อพบกลุ่มไข่ของหนอนมากกว่า 0.5 กลุ่มต่อตารางเมตร หรือพบการทำลายของหนอนเฉลี่ย 3 กอต่อตารางเมตร ทำการตรวจนับแมลง โดยสุ่มนับแปลงย่อยละ 20 กอ ก่อนทำการพ่นสารและหลังพ่นสาร 4 วัน

กรมวิชาการเกษตร

- การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูล จำนวนไข่ การทำลายของหนอน และบันทึกผลผลิตที่มีคุณภาพจำหน่ายได้ (marketable yield) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบผลทางสถิติ

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนไข่ การทำลายของหนอน มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองที่ 1.12 การใช้ไวรัส NPV ร่วมกับสารฆ่าแมลงบางกลุ่มในการควบคุมหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) ในองุ่น (2559-2561)

<u>1. การทดลองในห้องปฏิบัติการ</u>

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆกับหนอนกระทู้หอม

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ จำนวน 6 กรรมวิธี ดังนี้

1. ไวรัส SeNPV อัตรา 30 ml/20 l
2. tolfenpyrad 16% EC อัตรา 30 ml/20 l
3. indoxacarp 15% SC อัตรา 30 ml/20 l
4. chorantaniliprole 5.17% EC อัตรา 30 ml/20 l
5. chlorfenapyr 10% SC อัตรา 40 ml/20 l
6. control

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองด้วยวิธี surfaced layer method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ หยดสารแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียม เพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเทียมแห้ง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนกระทู้หอมวัย 2 ใส่ถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอนจำนวน 10 ตัวต่อซ้ำ ตรวจนับและบันทึกผลการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้หอมหลังได้รับไวรัส SeNPV

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ใช้หนอน 10 ตัวต่อซ้ำ ดังนี้

1. ไวรัส SeNPV อัตรา 30 ml/20 l
2. tolfenpyrad 16% EC อัตรา 30 ml/20 l
3. indoxacarp 15% SC อัตรา 30 ml/20 l
4. chorantaniliprole 5.17% EC อัตรา 30 ml/20 l
5. chlorfenapyr 10% SC อัตรา 40 ml/20 l
6. control

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

แบ่งหนอนกระทู้หอมวัย 2 ที่นำมาใช้ในการทดลองออกเป็น 3 ชุด ชุดละ 300 ตัว

ชุดที่ 1 ทำการ infect ไวรัส SeNPV อัตรา 30 ml/20 l

ชุดที่ 2 infect ไวรัส SeNPV อัตรา 20 ml/20 l

กรมวิชาการเกษตร

ชุดที่ 3 infect ไวรัส SeNPV อัตรา 10 ml/20 l
จากนั้นทิ้งไว้ 1 วัน แล้วนำหนอนทดลองทั้ง 3 ชุด มาทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด ทำการทดลองด้วยวิธี surfaced layer method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ หยดสารด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียม เพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเทียมแห้ง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนทดลองใส่ถ้วยละ 1 ตัว ตรวจนับและบันทึกผลการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน
ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพของไวรัส SeNPV ที่ผสมด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ
- แบบและวิธีการทดลอง
วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 16 กรรมวิธี ดังนี้
1. ไวรัส SeNPV อัตรา 30 ml/20 l
2. ไวรัส SeNPV อัตรา 30 ml/20 l ผสมกับ tolfenpyrad 16% EC อัตรา 30 ml/20 l
3. ไวรัส SeNPV อัตรา 30 ml/20 l ผสมกับ indoxacarp 15% SC อัตรา 30 ml/20 l
4. ไวรัส SeNPV อัตรา 30 ml/20 l ผสมกับ chorantaniliprole 5.17% EC อัตรา 30 ml/20 l
5. ไวรัส SeNPV อัตรา 30 ml/20 l ผสมกับ chlorfenapyr 10% SC อัตรา 40 ml/20 l
6. ไวรัส SeNPV อัตรา 20 ml/20l
7. ไวรัส SeNPV อัตรา 20 ml/20l ผสมกับ tolfenpyrad 16% EC อัตรา 30 ml/20 l
8. ไวรัส SeNPV อัตรา 20 ml/20l ผสมกับ indoxacarp 15% SC อัตรา 30 ml/20 l
9. ไวรัส SeNPV อัตรา 20 ml/20l ผสมกับ chorantaniliprole 5.17% EC อัตรา 30 ml/20 l
10. ไวรัส SeNPV อัตรา 20 ml/20l ผสมกับ chlorfenapyr 10% SC อัตรา 40 ml/20 l
11. ไวรัส SeNPV อัตรา 10 ml/20l
12. ไวรัส SeNPV อัตรา 10 ml/20l ผสมกับ tolfenpyrad 16% EC อัตรา 30 ml/20 l
13. ไวรัส SeNPV อัตรา 10 ml/20l ผสมกับ indoxacarp 15% SC อัตรา 30 ml/20 l
14. ไวรัส SeNPV อัตรา 10 ml/20l ผสมกับ chorantaniliprole 5.17% EC อัตรา 30 ml/20 l
15. ไวรัส SeNPV อัตรา 10 ml/20l ผสมกับ chlorfenapyr 10% SC อัตรา 40 ml/20 l
16. control
- วิธีปฏิบัติการทดลอง
ทำการทดลองด้วยวิธี surfaced layer method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ หยดสารแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียม เพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเทียมแห้ง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนกระทู้หอมวัย 2 ใส่ถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอนจำนวน 10 ตัวต่อซ้ำ ตรวจนับและบันทึกผลการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน
<u>2. การทดลองในสภาพไร่</u>
เมื่อได้ข้อมูลจากทดลองในห้องปฏิบัติการแล้ว นำไปขยายผลในสภาพไร่ ในแปลงอุ่น ทั้งในรูปแบบการพ่นสลับของ SeNPV กับสารฆ่าแมลงหรือการพ่นผสม วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ โดยมีขนาดของแปลงย่อย 6 ตารางเมตร ระยะปลูกระหว่างต้น 2 เมตร ระยะระหว่างแถว 3 เมตร กรรมวิธีอัตราการใช้ SeNPV และสารฆ่าแมลงทั้ง 4 ชนิดต้องขึ้นอยู่กับผลของการทดลองในห้องปฏิบัติการ ทำการตรวจนับแมลงก่อนพ่นสารทดลองและหลังพ่นสาร 7 วัน โดยสุ่มนับจำนวนไข่ ขนาดและจำนวนของหนอน ปริมาณและชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติ โดยสุ่มนับแปลงย่อยละ 10 จุด

กรมวิชาการเกษตร

- การบันทึกข้อมูล

- จดบันทึกข้อมูล จำนวนไข่ ขนาดและจำนวนของหนอน

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนไข่ ขนาดและจำนวนของหนอน มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองที่ 1.13 การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema riobrave* ควบคุมด้วงหมัดผัก (*Phyllotreta sinuata* (Stephens)) ในคะน้า (2559-2562)

<u>งานที่ 1</u> ศึกษาวิธีการใช้ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* การควบคุมด้วงหมัดผักในคะน้า

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ราดไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 2,000 ตัวต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร
เมื่อพืชอายุ 5 วัน และราดไส้เดือนฝอยทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 2 ราดไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 2,000 ตัวต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร
เมื่อพืชอายุ 20 วัน และราดไส้เดือนฝอยทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 3 พ่นไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 2,000 ตัวต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร
เมื่อพืชอายุ 5 วัน และพ่นไส้เดือนฝอยทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 4 พ่นไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 2,000 ตัวต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร
เมื่อพืชอายุ 20 วัน และพ่นไส้เดือนฝอยทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 5 ไม่พ่นสาร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงคะน้า ขนาดแปลงย่อย 2x5 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร หว่านเมล็ดอัตรา 2 กิโลกรัมต่อไร่ ราดไส้เดือนฝอยตามกรรมวิธีด้วยบัวรดน้ำ และพ่นไส้เดือนฝอยตามกรรมวิธีด้วยเครื่องพ่นสะพายหลังชนิดแรงดันน้ำสูง มีอัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ ตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักทุก 7 วัน ก่อนและหลังปฏิบัติตามกรรมวิธี

- การบันทึกข้อมูล

- จำนวนตัวเต็มวัยด้วงหมัดผัก โดยสุ่มจากต้นคะน้าจำนวน 20 ต้นต่อแปลงย่อย
- จำนวนครั้งที่พ่นไส้เดือนฝอย ตลอดฤดูปลูก
- ผลผลิตในแต่ละวิธีการ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างผลผลิตจากพื้นที่ 1 ตารางเมตรต่อแปลงย่อย
- น้ำหนักผลผลิตที่มีคุณภาพจำหน่ายได้ (marketable yield) ในแต่ละแปลงย่อย
- ต้นทุนค่าใช้จ่ายการใช้สารตามกรรมวิธี

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนตัวเต็มวัยด้วงหมัดผัก และน้ำหนักผลผลิตมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ดำเนินการทดลอง (ทำ 2 แปลงทดลอง) ใน

- แหล่งปลูกผักเกษตรกรในจังหวัดกาญจนบุรี หรือราชบุรี หรือนครปฐม หรือปทุมธานี

<u>งานที่ 2</u> ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ในการควบคุมด้วงหมัดผักในคะน้า

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 7 ซ้ำ จำนวน 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นไส้เดือนฝอย *S. riobrave* (ข้อมูลจากงานที่ 1)

กรรมวิธีที่ 2 พ่น fipronil 5% SC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อพบตัวเต็มวัยด้วงหมัดผัก 1 ตัวต่อต้น

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 3 กรรมวิธีควบคุม

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงคะน้า ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร ก่อนหว่านเมล็ดอัตรา 2 กิโลกรัมต่อไร่ ใช้ไส้เดือนฝอยตามกรรมวิธีด้วยการพ่นด้วยเครื่องพ่นสะพายหลังชนิดแรงดันน้ำสูง มีอัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ (ข้อมูลจากงานที่ 1) ก่อนและหลังปฏิบัติการทดลองทำการตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักทุก 7 วัน โดยสุ่มจากต้นคะน้าจำนวน 20 ต้นต่อแปลงย่อย

- การบันทึกข้อมูล

- จำนวนตัวเต็มวัยด้วงหมัดผัก โดยสุ่มจากต้นคะน้าจำนวน 20 ต้นต่อแปลงย่อย
- จำนวนครั้งที่พ่นไส้เดือนฝอย และสารเคมี ตลอดฤดูปลูก
- ผลผลิตในแต่ละวิธีการ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างผลผลิตจากพื้นที่ 1 ตารางเมตรต่อแปลงย่อย
- น้ำหนักผลผลิตที่มีคุณภาพจำหน่ายได้ (marketable yield) ในแต่ละแปลงย่อย
- ต้นทุนค่าใช้จ่ายการใช้สารตามกรรมวิธี

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนตัวเต็มวัยด้วงหมัดผัก และน้ำหนักผลผลิตมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>งานที่ 3</u> ศึกษาผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อการมีชีวิตรอดของไส้เดือนฝอย *S. riobrave*

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 ซ้ำ จำนวน 9 กรรมวิธี ดังนี้

1. fipronil อัตรา 8 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
2. imidacloprid อัตรา 20 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
3. imidacloprid อัตรา 0.5 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
4. thiamethoxam อัตรา 5 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร
5. captan อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร
6. mancozeb อัตรา 80 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร
7. pyraclostrobin อัตรา 15 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
8. Iprodione อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร
9. metalaxyl อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

<u>การเตรียมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช</u>

เตรียมสารทดสอบสารฆ่าแมลง สารเหล่านี้เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่เกษตรกรนิยมใช้ในแปลงปลูกพืช ละลายสารทดสอบให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นชนิดละ 500 มิลลิลิตร ตามอัตราความเข้มข้นที่แนะนำให้ใช้ในสภาพไร่ ดำเนินการทดลองตามวิธีการของ Laznik และคณะ (2012) โดยนำไส้เดือนฝอยอัตรา 20,000 ตัว จำนวน 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารป้องกันกำจัดแมลง ชนิดต่างๆ ชนิดละ 10 มิลลิลิตร ในจานทดลอง เก็บจานทดลองที่ 20, 25, 30 องศาเซลเซียสในสภาพมืด นาน 24 ชั่งโมง สุ่มตัวอย่างไส้เดือนฝอยจานละ 50 ไมโครลิตร มานับจำนวนไส้เดือนฝอยที่รอดชีวิตและที่ตายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สังเกตลักษณะของไส้เดือนฝอยแต่ละชนิด จำนวนไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตรอด ทำการทดลอง 5 ซ้ำ กับสารฯ ทุกชนิดและกรรมวิธีควบคุม

- การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนจำนวนไส้เดือนฝอยที่รอดชีวิตและที่ตายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หลังจากผสมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชนาน 24 ชั่วโมง ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

กรมวิชาการเกษตร

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ นำข้อมูลจำนวนจำนวนไส้เดือนฝอยที่รอดชีวิตมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

งานที่ 4 ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* เมื่อถูกกระตุ้นด้วยความร้อน (Heat Shock treatment)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เตรียมไส้เดือนฝอย *S. riobrave* สำหรับการทดลองโดยการทำ heat shock treatment

ตามวิธีการของ Selvan *et al.* (1996) โดยเตรียมไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 5,000 ต่อ 1 มิลลิลิตร ในสารละลาย Ringer ใส่ใน flask ขนาด 100 มิลลิลิตร นำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดยทำตามขั้นตอนเรียงตามลำดับดังนี้

1. แช่ที่อุณหภูมิ 35 °C นาน 1 ชั่วโมง
2. แช่ที่อุณหภูมิ 40 °C นาน 1 ชั่วโมง
3. แช่ที่อุณหภูมิ 35°C นาน 1 ชั่วโมง
4. แช่ที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 3 ชั่วโมง
5. แช่ที่อุณหภูมิ 40 °C นาน 1 ชั่วโมง

จากนั้นนำไส้เดือนฝอยที่ผ่านกระบวนการกระตุ้นด้วยความร้อนแล้ว เก็บที่อุณหภูมิ 25°C ในสภาพมืดนาน 24 ชั่วโมง ก่อนนำไส้เดือนฝอยไปทำการทดลองต่อไป

2. ทดสอบการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ที่ผ่านขบวนการกระตุ้นด้วยความร้อนตามข้อที่ 1 โดยวิธี Soil bioassay ตามวิธีการของ Glazer *et al.* (2000) โดยนำสารแขวนลอยของไส้เดือนฝอย 2 อัตราความเข้มข้น 50 และ 100 ตัว ใส่ลงบนทรายในถาดหลุม (ขนาด 24 หลุมต่อถาด) จากนั้นใส่หนอนกินรังผึ้งลงในทรายที่เตรียมไว้แล้ว จำนวน 1 ตัวต่อหลุม ทำอัตราความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 1 ถาด) เก็บถาดหลุมที่อุณหภูมิ 25°C ตรวจนับจำนวนหนอนตายที่เวลา 48 ชั่วโมง แบ่งหนอนที่ตายเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำไปล้างและผ่าซากหนอนและหยด pepsin เพื่อตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่ผ่านเข้าสู่ตัวแมลงสำเร็จ และอีกส่วนนำไป trap ในกล่องชื้นนาน 72 ชั่วโมง ก่อนนำมาผ่าซากใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่พัฒนาเป็นตัวเต็มวัยเพศเมีย เพศผู้

3. ทดสอบการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยที่ผ่านกระบวนการ heat shock treatment

โดยการเพาะฟักไข่ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในอาหาร YS borth ร่วมกับ symbiotic bacteria ในจานทดลอง นาน 5-7 วัน ตรวจดูการพัฒนาของไข่ ตัวอ่อนระยะต่าง ๆ และตัวเต็มวัย จนกระทั่งพบไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลงรุ่นใหม่ ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลงที่ผลิตได้

- การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนจำนวนไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้

การทดลองที่ 1.14 ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema riobrave* ในการควบคุม ด้วงงวงมันเทศ *Cylas formicarius* (2559-2563)

งานที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ *S. riobrave* ในการเข้าทำลายด้วงงวงมันเทศ ระยะหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ในห้องปฏิบัติการ

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ จำนวน 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 10 ตัว/น้ำ 60 ไมโครลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 20 ตัว/น้ำ 60 ไมโครลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 50 ตัว/น้ำ 60 ไมโครลิตร

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 4 ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 100 ตัว/น้ำ 60 ไมโครลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 200 ตัว/น้ำ 60 ไมโครลิตร

กรรมวิธีที่ 6 กรรมวิธีควบคุม

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เตรียมแมลงทดสอบ โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างด้วงงวงมันเทศจากแปลงปลูกมันเทศของเกษตรกร ในจังหวัด พิจิตร สุพรรณบุรี นครปฐม และราชบุรี นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยใช้มันเทศเป็นพืชอาหาร เพื่อให้ด้วงงวงมันเทศระยะหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

2. ดำเนินการทดลองด้วยวิธี soil bioassay ตามวิธีการของ Glazer et al. (2002) ใส่ทรายที่อบนึ่งฆ่าเชื้อแล้วในถาดหลุม หลุมละ 1 กรัม หยดไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 0,10, 20, 50,100 และ 200 ตัวในน้ำ 60 ไมโครลิตร และใส่หนอนด้วงงวงมันเทศ หลุมละ 1 ตัว นำถาดหลุมเก็บที่อุณหภูมิ 30 °C ทำกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 หลุม ตรวจนับและบันทึกจำนวนด้วงที่ตายภายใน เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ด้วงที่ตายนำมาวางในกล่องชื้นเก็บที่ 30 °C เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยในด้วงหมัดงวงมันเทศ (ดำเนินการทดลองกับด้วงงวงมันเทศระยะดักแด้ และตัวเต็มวัยเช่นเดียวกับระยะหนอน)

- การบันทึกข้อมูล

- จำนวนหนอนด้วงงวงมันเทศที่ตายภายในเวลา 24, 48 72 และ 96 ชั่วโมง

- จำนวนไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง (infective juvenile) ที่ออกจากตัวหนอนมาอยู่ในน้ำที่หล่อไว้ทุกวัน เป็นเวลา 10 วัน ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติที่เหมาะสม

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนด้วงงวงมันเทศที่ตายภายในเวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>งานที่ 2</u> ศึกษาผลของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อการมีชีวิตรอดของไส้เดือนฝอย*S. riobrave* ในห้องปฏิบัติการ

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 ซ้ำ จำนวน 7 กรรมวิธี ดังนี้

1. fipronil อัตรา 8 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
2. imidacloprid อัตรา 20 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
3. imidacloprid อัตรา 0.5 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
4. diafenthiuron อัตรา 20 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
5. dinotefuran อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร
6. thiamethoxam อัตรา 5 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร
7. กรรมวิธีควบคุม

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1.2.1. การเตรียมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

เตรียมสารทดสอบสารฆ่าแมลง สารเหล่านี้เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่เกษตรกรนิยมใช้ในแปลงปลูกพืช ละลายสารทดสอบให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นชนิดละ 500 มิลลิลิตร ตามอัตราความเข้มข้นที่แนะนำให้ใช้ในสภาพไร่

1.2.2. ดำเนินการตามวิธีการของ Laznik และคณะ (2012) โดยนำไส้เดือนฝอยอัตรา 20,000 ตัวจำนวน 1 มิลลิลิตรผสมกับสารป้องกันกำจัดแมลง ชนิดต่างๆ ชนิดละ 10 มิลลิลิตรในจานทดลอง เก็บจานทดลองที่ 20, 25, 30 องศาเซลเซียสในสภาพมืด นาน 24 ชั่งโมง สุ่มตัวอย่างไส้เดือนฝอยจานละ 50 ไมโครลิตร มานับจำนวนไส้เดือนฝอยที่รอดชีวิตและที่ตาย

กรมวิชาการเกษตร

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สังเกตลักษณะของไส้เดือนฝอยแต่ละชนิด จำนวนไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตรอด ทำการทดลอง 5 ซ้ำ กับสารฯ ทุกชนิดและกรรมวิธีควบคุม

- การบันทึกข้อมูล

- จำนวนไส้เดือนฝอยที่รอดชีวิตและที่ตายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หลังจากผสมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชนาน 24 ชั่วโมง

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนด้วงงวงมันเทศที่ตายภายในเวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>งานที่ 3</u> ศึกษาวิธีการใช้ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ในการเข้าทำลายด้วงงวงมันเทศในสภาพโรงเรือนทดลอง

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ราดไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 10,000 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 ราดไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 20,000 ตัว

กรรมวิธีที่ 3 ราดไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 30,000 ตัว

กรรมวิธีที่ 4 ราดไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 40,000 ตัว

กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีควบคุม

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เตรียมพืชทดลอง โดยปลูกมันเทศในกระถางนาน 1 เดือน ก่อนย้ายกระถางมันเทศใส่กรงเลี้ยงแมลง จำนวน 20 กระถาง (กรง)

2. ย้ายกระถางมันเทศใส่กรงทดลอง จากนั้นปล่อยด้วงงวงมันเทศจำนวน 5 คู่ นาน 2 สัปดาห์ ก่อนราดไส้เดือนฝอย อัตรา 10,000 20,000 30,000 และ 40,000 ตัว หลังราดไส้เดือนฝอย 7 วัน ตรวจนับจำนวนด้วงที่รอดชีวิต ผ่าหัวมันเทศเพื่อนับจำนวนหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยทำการทดลองซ้ำ 4 ครั้ง และศึกษาการคงอยู่หรือการมีชีวิตรอดของไส้เดือนฝอยในดิน โดยสุ่มดินจากกระถางปลูกมันเทศ จำนวน 200 กรัม แบ่งดินเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำมาละลายน้ำ ทิ้งให้ตกตะกอน ก่อนนำน้ำไปตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยใต้กล้องจุลทรรศน์ ดินส่วนที่เหลือนำมาใส่กล่องพลาสติก และใส่หนอนกินรังผึ้งเป็นแมลงกับดัก เก็บกล่องพลาสติกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจนับจำนวนหนอนกินรังผึ้งที่ตาย ทุก 24 ชั่วโมง จนกว่าจะไม่พบหนอนตาย หนอนที่ตายนำไป trap ในกล่องชื้นเพื่อล่อไส้เดือนฝอย

- การบันทึกข้อมูล

  - นับจำนวนด้วงงวงมันเทศหลังใช้ไส้เดือนฝอย
  - ความเสียหายของผลผลิตมันเทศ
  - เปอร์เซ็นต์การคงอยู่หรือการมีชีวิตรอดของไส้เดือนฝอยในดิน

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนด้วงงวงมันเทศที่ตายภายในเวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>งานที่ 4</u> ศึกษาวิธีการใช้ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ควบคุมด้วงงวงมันเทศ ในสภาพไร่

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 ซ้ำ จำนวน 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ใช้ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* (ข้อมูลจากงานที่ 1 และ 3)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารป้องกันกำจัดแมลงตามคำแนะนำ

กรรมวิธีที่ 3 กรรมวิธีควบคุม

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

นำผลการทดลองจากงานที่ 3 นำไปทดสอบในแปลงปลูกของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อย 32 ตารางเมตร เมื่อมันเทศ มีอายุ 1 เดือน ดำเนินการทดลองโดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีการป้องกันกำจัดด้วงงวงมันเทศโดยการพ่นไส้เดือนฝอยในอัตราที่เหมาะสม (จากงานที่ 1 และ 3) โดยราดไส้เดือนฝอยทุก 10 วัน เมื่อมันเทศอายุ 40, 50, 60, และ 70 วัน

- การบันทึกข้อมูล
    - นับจำนวนด้วงงวงมันเทศก่อนและหลังใช้ไส้เดือนฝอย
    - บันทึกความเสียหายของผลผลิตมันเทศ
    - ตรวจนับหัวที่ถูกทำลายและไม่ถูกทำลาย น้ำหนักผลผลิตที่ได้คุณภาพ และนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์หัวดี
    - วิเคราะห์พิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในหัวมันเทศ พร้อมทั้งบันทึกอาการเป็นพิษต่อพืช แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนด้วงงวงมันเทศ จำนวนหัวที่ถูกทำลายและไม่ถูกทำลาย น้ำหนักผลผลิตที่ได้คุณภาพ ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ดำเนินการ :

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- แปลงปลูกพืชของเกษตรกร จังหวัด พิจิตร สุพรรณบุรี นครปฐม และราชบุรี

การทดลองที่ 1.15 ประสิทธิภาพของของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง Steinernema ในการควบคุมด้วงเจาะเห็ด *Cyllodes biplagiatus* (2559-63)

<u>งานที่ 1</u> คัดเลือกชนิดของไส้เดือนฝอย Steinernema ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงเจาะเห็ด *Cyllodes biplagiatus* ในห้องปฏิบัติการ

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 10 ซ้ำ จำนวน 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* อัตรา 2,000 ตัว/น้ำ 1 มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 2 ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 2,000 ตัว/น้ำ 1 มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 3 ไส้เดือนฝอย *S. feltiae* อัตรา 2,000 ตัว/น้ำ 1 มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 4 ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* อัตรา 2,000 ตัว/น้ำ 1 มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 5 ไส้เดือนฝอย *S. minutum* อัตรา 2,000 ตัว/น้ำ 1 มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 6 กรรมวิธีควบคุม

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

สำรวจการระบาดของด้วงเจาะเห็ด และเก็บตัวอย่างด้วงเจาะเห็ดจากโรงเพาะเห็ดของเกษตรกร นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการในกล่องพลาสติกใช้เห็ดนางฟ้าภูฏานเป็นอาหาร เลี้ยงขยายจนได้ด้วงเจาะเห็ดรุ่นใหม่ คัดเลือกตัวอ่อนด้วงเจาะเห็ดระยะที่ 1 2 และ 3 นำไปทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย โดยวิธี paper assay ใช้จานทดลองพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร ภายในรองก้นด้วยกระดาษกรอง 1 แผ่น หยดไส้เดือนฝอยอัตรา 2,000 ตัวต่อจาน ก่อนใส่หนอนด้วงเจาะเห็ดจำนวน 10 ตัว/จาน เก็บจานทดลองที่อุณหภูมิห้อง ทำกรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ตรวจนับการตายของหนอน ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หนอนที่ตายนำมา trap ในกล่องชื้นเพื่อศึกษาการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยในด้วงเจาะเห็ด

- การบันทึกข้อมูล

กรมวิชาการเกษตร

- จำนวนด้วงที่ตายภายในเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง
- จำนวนไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง ที่ออกจากตัวหนอนมาอยู่ในน้ำที่หล่อไว้ทุกวัน เป็นเวลา 10 วัน ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติที่เหมาะสม
- จำนวนไส้เดือนฝอยที่ผ่านเข้าสู่ตัวด้วงเจาะเห็ด โดยนำหนอนที่ตายภายในเวลา 72 ชั่วโมง นำมาล้างเพื่อกำจัดไส้เดือนฝอยที่เกาะอยู่ภายนอกลำตัวหนอน จากนั้นใช้เข็มเขี่ยซากหนอนให้แตกก่อนหยดสารละลาย pepsin นาน 30 นาที ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่พบในซากหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์

สถานที่ดำเนินการทดลอง :

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- โรงเรือนเพาะเห็ดของเกษตรกร จังหวัด นครปฐม และราชบุรี

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนด้วงเจาะเห็ดที่ตายภายในเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>งานที่ 2</u> ศึกษาอัตราความเข้มข้นของไส้เดือนฝอย Steinernema ที่เหมาะสมในการเข้าทำลายด้วงเจาะเห็ดระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ในห้องปฏิบัติการ

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 20 ซ้ำ จำนวน 6 กรรมวิธี คือ ไส้เดือนฝอยอัตรา 0, 10, 20, 50, 100, 200 ตัวในน้ำ 50 ไมโครลิตร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ดำเนินการทดลองด้วยวิธี paper bioassay ในถาดหลุมขนาด 24 หลุมต่อถาด รองก้นด้วยกระดาษกรอง หยดไส้เดือนฝอย (จากงานที่ 1) ตามกรรมวิธี ใส่หนอนด้วงเจาะเห็ดวัย 1 หลุมละ 1 ตัว เก็บถาดหลุมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตรวจนับหนอนด้วงที่ตายภายในเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง (ดำเนินการทดลองกับหนอนด้วงเจาะเห็ดวัย 2 และ 3 และตัวเต็มวัย เช่นเดียวกับ หนอนวัย 1)

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนด้วงที่ตายภายในเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง
- จำนวนไส้เดือนฝอยที่ผ่านเข้าสู่ตัวด้วงเจาะเห็ด โดยนำหนอนที่ตายภายในเวลา 72 ชั่วโมง นำมาล้างเพื่อกำจัดไส้เดือนฝอยที่เกาะอยู่ภายนอกลำตัวหนอน จากนั้นใช้เข็มเขี่ยซากหนอนให้แตกก่อนหยดสารละลาย pepsin นาน 30 นาที ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่พบในซากหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนด้วงเจาะเห็ดที่ตายภายในเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>งานที่ 3</u> ทดสอบอัตราการใช้ไส้เดือนฝอย Steinernema ควบคุมด้วงเจาะเห็ดในสภาพเรือนทดลอง

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำผลการทดลองจากงานที่ 2 ชนิดและอัตราของไส้เดือนฝอยที่เหมาะสม นำมาทดสอบในสภาพเรือนทดลอง โดยนำก้อนเชื้อเห็ดระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต วางในกรงเลี้ยงแมลง กรงละ 5 ก้อน พ่นไส้เดือนฝอย 4 อัตรา (ผลจากงานที่ 2) ปล่อยหนอนด้วงเจาะเห็ดจำนวน 10 ตัวต่อก้อน ทำกรรมวิธีละ 25 ก้อน จากนั้นเก็บก้อนเชื้อเห็ดในเรือนทดลอง หลังการพ่นไส้เดือนฝอย 48 72 และ 96 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนด้วงเจาะเห็ดที่ตาย

- การบันทึกข้อมูล

กรมวิชาการเกษตร

- จำนวนด้วงเจาะเห็ดตาย ที่เวลา 48 72 และ 96 ชั่วโมง

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนด้วงเจาะเห็ดตาย ที่ได้นำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>งานที่ 4</u> ศึกษาวิธีการใช้ไส้เดือนฝอย Steinernema ควบคุมด้วงเจาะเห็ดในโรงเพาะเห็ดของเกษตรกร

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 7 ซ้ำ 3 กรรมวิธี

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

จากผลการทดลองงานที่ 3 นำไปทดสอบในโรงเพาะเห็ดของเกษตรกร ทำ 7 ซ้ำ ซ้ำละ 200 ก้อน เปรียบเทียบระหว่างวิธีการป้องกันกำจัดด้วงเจาะเห็ดโดยการพ่นไส้เดือนฝอยชนิดและอัตราที่เหมาะสม (จากงาน ที่ 3) โดยพ่นไส้เดือนฝอยทุก 7 วัน ตรวจนับความเสียหายของดอกเห็ด และบันทึกจำนวนด้วงเจาะเห็ดที่พบทุก 7 วัน ก่อนและหลังการพ่นไส้เดือนฝอย ดำเนินการทดลอง 2 สถานที่

การทดลองที่ 1.16 ศึกษาและพัฒนาวิธีการเก็บรักษาสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ*Sarcocystis singaporensis* โดยใช้ Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาสำหรับผลิตเป็นเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู (2559-2561)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ จำนวน 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยวิธี Sheather's sucrose flotation (Sheather, 1923) ลงในสารละลาย 2% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิ 4-10°C

กรรมวิธีที่ 2 เก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยวิธี Saturate NaCl solution (Bhat and Jithendran, 1995) ลงในสารละลาย 2% potassium dichromate (K2Cr2O7) ที่อุณหภูมิ 4-10°C

กรรมวิธีที่ 3 เก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปาลงในสารละลาย 2% potassium dichromate (K2Cr2O7) ที่อุณหภูมิ 4-10°C

กรรมวิธีที่ 4 เก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา ที่อุณหภูมิ 4-10°C

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

<u>1. การเตรียมสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์</u>

ชั่งมูลงู 5 กรัม ละลายน้ำ 30 มิลลิลิตร นำไปกรองผ่านตะแกรงกรองละเอียด ปั่นสารแขวนลอยมูลงูที่ผ่านการกรองแล้วที่ความเร็วรอบ 1,500 rpm เป็นเวลา 2 นาที เทส่วนใสทิ้ง ทำการปั่นล้าง ประมาณ 2-3 รอบ จนกว่าสารส่วนใสด้านบนตะกอนจะใส

<u>2. การล้างสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์</u>

กรรมวิธีที่ 1 วิธี Sheather's sucrose flotation (Sheather, 1923) นำสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *S. singaporensis* ที่ผ่านการปั่นล้างแล้ว ทำการล้างด้วยวิธี Sheather's sucrose flotation (Sheather, 1923) โดยผสมสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่ได้ผสมกับ สารละลาย Sheather's sucrose flotation (ชั่ง sucrose 454 กรัมละลายในน้ำ 355 มิลลิลิตร) จากนั้นปั่นสารแขวนลอยที่ความเร็วรอบ 1,500 rpm เป็นเวลา 2 นาที เก็บส่วนใสด้านบนของสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่ได้

กรรมวิธีที่ 2 วิธี Saturate NaCl solution (Bhat and Jithendran, 1995) นำสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *S. singaporensis* ที่ผ่านการปั่นล้างแล้ว ทำการล้างด้วยวิธี Saturate NaCl solution (Bhat and Jithendran, 1995) โดยผสมสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่ได้ผสมกับ สารละลาย Saturate NaCl solution (ชั่ง NaCl 311 กรัมละลายในน้ำ 1

กรมวิชาการเกษตร

ลิตร) จากนั้นปั่นสารแขวนลอยที่ความเร็วรอบ 1,500 rpm เป็นเวลา 2 นาที เก็บส่วนใสด้านบนของสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่ได้

กรรมวิธีที่ 3 และ 4; วิธีการล้างแบบปกติ นำสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *S. singaporensis* ที่ผ่านการปั่นล้างแล้ว เก็บส่วนใสด้านบนของสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่ได้

<u>3. การเก็บสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์</u>

นับจำนวนสปอร์โรซีสต์ที่ได้ ให้มีจำนวนสปอร์โรซีสต์อยู่ $2x10^6$ ซีสต์ นำส่วนใสของสารแขวนลอยผสมลงในสารละลาย 2% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ในอัตราส่วน 1 ส่วนของสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ ต่อ 5 ส่วนของ 2% $K_2Cr_2O_7$ (Duszynski, 1997) ลงใน petridish บ่มที่อุณหภูมิห้อง (23°c – 27°c) เป็นเวลา 7 วัน เก็บสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่อุณหภูมิ 4-10°C (ยกเว้นในกรรมวิธีที่ 4 เก็บสารแขวนลอยที่ได้โดยไม่ผสมลงในสารละลาย 2% $K_2Cr_2O_7$)

<u>4. ทดสอบเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของสปอร์โรซีสต์และเปอร์เซ็นต์การตายของหนูทดลอง</u>

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยวิธี Sheather's sucrose flotation (Sheather, 1923) ลงในสารละลาย 2% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิ 4-10 °C

กรรมวิธีที่ 2 เก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยวิธี Saturate NaCl solution (Bhat and Jithendran, 1995) ลงในสารละลาย 2% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิ 4-10°C

กรรมวิธีที่ 3 เก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปาลงในสารละลาย 2% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิ 4-10 °C

กรรมวิธีที่ 4 เก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา ที่อุณหภูมิ 4-10 °C

ทำการทดลองโดยเก็บสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ *S. singaporensis* ที่ได้จากการล้างด้วยวิธี Sheather's sucrose flotation/ Saturate NaCl solution/ น้ำประปา ในหลอดทดลองจำนวน 6 หลอดทดลอง/วิธีการล้าง ซึ่งในแต่ละหลอดทดลองมีสปอร์โรซีสต์อยู่ $2x10^6$ ซีสต์ เก็บรักษาลงในสารละลาย 2% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิ 4-10 °C โดยเปรียบเทียบกับวิธีการล้างด้วยน้ำประปาทดสอบศักยภาพความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ ด้วยวิธี bioassay โดยการให้สารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ทางปากกับหนูท้องขาว ซ้ำละ 4 ตัว นับเปอร์เซ็นต์การตายของหนูทดลองในแต่ละกรรมวิธี และตรวจสอบการมีชีวิตของสปอร์โรซีสต์ โดยการใช้สีย้อม nucleic acid (QIAGEN, Live/Dead backlight viability kit) นับเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของสปอร์โรซีสต์ในแต่ละกรรมวิธี และสังเกตการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นในสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 °C ทดสอบทุก 6 เดือน เป็นระยะเวลา 3 ปี วิเคราะห์ข้อมูลในแต่ละกรรมวิธีโดยวิธีทางสถิติที่เหมาะสม และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในกรรมวิธีต่างๆ

- การบันทึกข้อมูล

1. จำนวนสปอร์โรซีสต์ของ *S. singaporensis*
2. เปอร์เซนต์การมีชีวิตของ *S. singaporensis* ระยะสปอร์โรซีสต์
3. เปอร์เซ็นต์การตายของหนูทดลอง

สถานที่ดำเนินการทดลอง :

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร โรงเรือนเลี้ยงงูเหลือม โรงเลี้ยงหนู กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

การทดลอง 1.17 การเพาะขยายเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยสูตรอาหารต่าง ๆ (2560-2562)

วิธีดำเนินการวิจัย แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน

ขั้นตอนที่ 1. การศึกษาคุณสมบัติอาหารเพื่อใช้ในการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus thuringiensis* (2560)

- แบบและวิธีการทดลอง -

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำวัตถุดิบที่มีรายงานการใช้ประโยชน์และมีองค์ประกอบที่คาดว่าสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบในการเพาะขยายเชื้อแบคทีเรียมาวิเคราะห์หาธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แร่ธาตุเหล่านี้ ได้แก่ organic carbon, N, P, K, Ca^{2+},Mn^{2+} ,Mg^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{3+}, Co^{2+} และ Zn^{2+} เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการคัดเลือกอาหารสำหรับนำไปเพาะขยายเชื้อบีทีต่อไป โดยเปรียบเทียบกับอาหารเหลวมาตรฐานที่ใช้ในการเพาะขยายเชื้ออยู่เดิม คือ Nutrient Broth โดยจะเน้นการใช้วัตถุดิบจากแหล่งต่างๆที่เกษตรกรสามารถหาซื้อได้ง่าย หรือนำของเสียที่ได้จากอุตสาหกรรมทางการเกษตรชนิดต่าง ๆ ที่คาดว่าจะมีธาตุอาหารที่เหมาะสมในการเพาะขยายเชื้อแบคทีเรียกลับมาใช้ใหม่ให้เกิดประโยชน์ นอกจากจะช่วยลดมลภาวะที่เกิดจากของเสียแล้วยังเป็นการประหยัดต้นทุนในการผลิตได้เป็นอย่างดี วัตถุดิบที่นำมาศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย

1.1 นมผงเด็ก 100 กรัม และน้ำตาล 20 กรัม น้ำ 200 มิลลิลิตร

1.2 น้ำนมถั่วเหลือง 200 มิลลิลิตร

1.3 ปลาป่น 100 กรัม+ถั่วเหลือง 100 มิลลิลิตร +กากน้ำตาล 100 มิลลิลิตร

1.4 ตับวัวบด 100 กรัม+ถั่วเหลือง 100 มิลลิลิตร +กากน้ำตาล 100 มิลลิลิตร

1.5 ตับไก่บด 100 กรัม+ถั่วเหลือง 100 มิลลิลิตร +กากน้ำตาล 100 มิลลิลิตร

1.6 น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตนมถั่วเหลือง 200 มิลลิลิตร

1.7 น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตวุ้นเส้น 200 มิลลิลิตร

1.8 น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตมันสำปะหลัง 200 มิลลิลิตร

1.9 อาหารเหลว Nutrient Broth 200 มิลลิลิตร

เมื่อได้ผลวิเคราะห์องค์ประกอบและแร่ธาตุอาหารจากวัตถุดิบดังกล่าวข้างต้น จึงนำไปศึกษาการผลิตขยายเชื้อบีทีและตรวจวัดการเจริญเติบโตของเชื้อ เพื่อหาวัตถุดิบชนิดใดมีความเหมาะสมในการเพาะขยายเชื้อแบคทีเรียบีที

- การบันทึกข้อมูล

- ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบและธาตุอาหารในวัตถุดิบชนิดต่างๆ
- ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในแต่ละวัตถุดิบที่นำมาเพาะขยายเชื้อแบคทีเรียบีที

ขั้นตอนที่ 2 วิธีเพาะขยายแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* จากสูตรอาหารชนิดต่างต่าง ๆ (2560-2561)

- แบบและวิธีการทดลอง -

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

2.1 นำเชื้อ *B. thuringiensis* มาเพาะกล้าเชื้อ แล้วจึงนำไปปลูกเชื้อลงในวัตถุดิบชนิดต่าง ๆ ในข้อที่ 1 ด้วยการใช้เครื่องเขย่า (Shaker) เพื่อให้เกิดการหมุนเวียนของอาหาร โดยใช้กล้าเชื้อ 10% ของน้ำหนักวัตถุดิบ ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 ml ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าที่อัตรา 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

2.2 ศึกษาการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์โดยตรวจวัดการเจริญเติบโตของ *B. thuringiensis* และปริมาณของ crystal toxin ที่เชื้อ *B. thuringiensis* ผลิตขึ้นมาจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อในข้อ 1 โดยเก็บตัวอย่างที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตัวอย่างที่เก็บในแต่ละครั้งให้นำเชื้อที่ได้ไปตรวจนับจำนวนเซลล์ (Total cell count) ด้วยการนำตัวอย่างเชื้อมาเจือจางแบบ serialiy dilution ดูดสารละลายที่เจือจางนี้มา 0.1 ml แล้ว spread plate บนอาหาร NA บ่มเชื้อที่ 30 °C เป็นเวลา 24 ชม. เพื่อให้เชื้อเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ แล้วจึงตรวจนับโคโลนี

2.3 ตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเข้ามาในระหว่างขบวนการผลิต

กรมวิชาการเกษตร

- การบันทึกข้อมูล

    - บันทึกอัตราการเจริญของเชื้อ Bt ในแต่ละวิธีการผลิต
    - ตรวจสอบและนับปริมาณของ crystal toxin ที่เชื้อ Bt สร้างขึ้น
    - บันทึกปริมาณและชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในระหว่างขบวนการผลิต
    - ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารที่ใช้เพาะขยายเชื้อในแต่ละสูตร ก่อนและหลังการเพาะเลี้ยง
    - ต้นทุนการผลิตขยาย

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพของ *Bacillus thuringiensis* ที่เจริญในสูตรอาหารต่าง ๆ

3.1 ศึกษาประสิทธิภาพของ *Bacillus thuringiensis* ที่เจริญในสูตรอาหารต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ (2561)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อ Bt ความเข้มข้น $1x10^4$ cfu/ml

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อ Bt ความเข้มข้น $1x10^5$ cfu/ml

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อ Bt ความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อ Bt ความเข้มข้น $1x10^7$ cfu/ml

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อ Bt ความเข้มข้น $1x10^8$ cfu/ml

กรรมวิธีที่ 6 Control

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำ *B. thuringiensis* ที่เจริญในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อนำมาทดสอบในห้องปฏิบัติการโดยเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีอัตราความเข้มข้น 5 ระดับ ดังนี้ $1x10^4$, $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$ และ $1x10^8$ cfu/ml จากนั้นนำหนอนผีเสื้อศัตรูพืชที่สำคัญคือ หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผักและหนอนเจาะสมอฝ้ายที่เก็บจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเทียมจนได้หนอนรุ่นที่ 1 หรือ 2 นำมาทดสอบหาค่าความเป็นพิษของเชื้อ Bt ตามอัตราความเข้มข้นต่าง ๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด ทดสอบความเป็นพิษของเชื้อ Bt โดยวิธี surfaced layer method บนอาหารเทียมเลี้ยงแมลงโดยหยดเชื้อ Bt ในอัตราความเข้มข้นต่าง ๆ ดังกล่าวลงบนอาหารเทียมที่เตรียมไว้ในถ้วยพลาสติกสำหรับทดสอบ เกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหาร จากนั้นปล่อยหนอนลงไปถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอนทดลองซ้ำละ 10 ตัว

- การบันทึกข้อมูล

    - ตรวจนับจำนวนหนอนที่ตายในแต่ละกรรมวิธีทุก 24 ชั่วโมงหลังการทดลองจนครบ 7 วัน

3.2 ศึกษาประสิทธิภาพของ*Bacillus thuringiensis* ที่เจริญในสูตรอาหารต่างๆ ในแปลงปลูกเกษตรกร (2562)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วยสารละลาย *B. thuringiensis* ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 อัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วยสารละลาย *B. thuringiensis* ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 อัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วยสารละลาย *B. thuringiensis* ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 อัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วยสารละลาย *B. thuringiensis* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว Nutrient Broth อัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วยบีทีสายพันธ์การค้า อัตราตามฉลากแนะนำ

กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วยสาร chlorfenapyr 10% SC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 ไม่ควบคุมศัตรูพืช (control)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *B. thuringiensis* ที่ผลิตได้กับหนอนผีเสื้อศัตรูพืชที่สำคัญ 2 ชนิด คือ หนอนกระทู้ผักและหนอนใยผักในแปลงปลูกเกษตรกร

เตรียมแปลงปลูกคะน้าขนาด 2x5 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงประมาณ 80 เซนติเมตร หว่านเมล็ดคะน้า 2 กิโลกรัมต่อไร่ ถอนแยกเมื่อคะน้าอายุ 15-20 วัน หลังหว่านเมล็ด ให้มีระยะระหว่างต้น 10-15 เซนติเมตร พ่น *Bt* และสารเคมีตามกรรมวิธี เมื่อพบหนอนระบาด 1 ตัวต่อต้น ในช่วงเย็นหลังเวลา 16.00 น. ด้วยเครื่องพ่นสะพายหลังชนิดแรงดันน้ำสูง อัตรา 120 ลิตรต่อไร่ พ่นทุก 7 วัน โดยพ่นไม่น้อยกว่า 4 ครั้ง ตรวจนับจำนวนหนอนหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผัก จำนวน 20 ต้น ต่อแปลงย่อย ก่อนพ่น Bt และสารเคมีตามกรรมวิธีทุกครั้ง และหลังพ่น Bt และสารเคมีตามกรรมวิธีครั้งสุดท้าย เก็บเกี่ยวผลผลิตที่ได้ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนหนอนหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผัก
- น้ำหนักผลผลิตที่ได้
- ต้นทุนการพ่นสาร

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลหนอนหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผัก น้ำหนักผลผลิตที่ได้ ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ดำเนินการทดลอง :

- ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- แปลงเกษตรกรในพื้นที่ปลูกผักภาคตะวันตก

การทดลองที่ 1.18 ประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง Steinernema ชนิดต่าง ๆ ในการกำจัดหนอนผีเสื้อศัตรูพืช (2560-2561)

- แบบและวิธีการทดลอง -
- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 เลี้ยงขยายหนอนผีเสื้อศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ

เก็บรวบรวมหนอนผีเสื้อศัตรูพืชจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ นำมาเลี้ยงขยายในห้องปฏิบัติการโดยหนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกินรังผึ้ง จะเลี้ยงด้วยอาหารเทียม ส่วนหนอนใยผักจะเลี้ยงด้วยใบคะน้าจนได้หนอนทดลองแต่ละชนิดในรุ่นที่ 1 หรือ 2

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาระดับความเป็นพิษไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสกุล Steinernema ชนิดต่าง ๆ ต่อหนอนผีเสื้อศัตรูพืช

1. เตรียมไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *S. riobrave*, *S. siamkayai* และ *S. minutum* ให้มีอัตราความเข้มข้น 5 ระดับ ดังนี้ คือ 100, 150, 200, 250 และ 300 ตัวต่อน้ำ 100 ไมโครลิตร
2. นำหนอนผีเสื้อศัตรูพืช 5 ชนิด คือ หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนใยผัก และหนอนกินรังผึ้ง ที่ได้เตรียมเพาะเลี้ยงไว้แล้วในห้องปฏิบัติการ มาทำการทดสอบเบื้องต้นตามอัตราต่าง ๆ ข้างต้น เพื่อหาอัตราความเข้มข้น

กรมวิชาการเกษตร

ของไส้เดือนฝอยที่ทำให้หนอนตายอยู่ในช่วง 10–90 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองบนอาหารเทียมสำหรับหนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกินรังผึ้ง โดยเตรียมถ้วยพลาสติกสำหรับทดสอบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางปากถ้วย 3 เซนติเมตร สูง 3.5 เซนติเมตร และรองก้นถ้วยด้วยกระดาษกรอง หยดน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร เพื่อให้ความชื้น หยดไส้เดือนฝอยอัตราต่างๆ ดังกล่าวลงบนอาหารเทียม ถ้วยละ 100 ไมโครลิตร ปิดฝาทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อการปรับตัว จากนั้นปล่อยหนอนทดลองแต่ละชนิดลงไปถ้วยละ 1 ตัว ทำการทดสอบอัตราความเข้มข้นละ 40 ตัว และสำหรับหนอนใยผัก จะใช้ใบคะน้าขนาดประมาณ 5x5 เซนติเมตร พันก้านด้วยสำลีชุบน้ำ ใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 8x12 เซนติเมตร หยดไส้เดือนฝอยอัตราต่างๆ ดังกล่าวลงบนใบคะน้า ใบละ 100 ไมโครลิตร ปล่อยหนอนใยผักลงไปใบละ 10 ตัว ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ใช้หนอนทดลอง 10 ตัวต่อซ้ำ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ทำการทดสอบอัตราความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยที่ทำให้หนอนตายอยู่ในช่วง 10–90 เปอร์เซ็นต์ ของไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* ทุกชนิด กับหนอนกระทู้หอมวัย 2 หนอนกระทู้ผักวัย 2 หนอนเจาะสมอฝ้ายวัย 2 หนอนใยผักวัย 2 และหนอนกินรังผึ้งวัย 5 ด้วยวิธีการทดลองอย่างเดียวกัน

3. เมื่อได้ช่วงอัตราความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยที่ทำให้หนอนผีเสื้อตายในช่วง 10 – 90 เปอร์เซ็นต์ แล้วแบ่งช่วงอัตราความเข้มข้นที่ได้ดังกล่าว เป็น 5 ระดับความเข้มข้น นำมาทดสอบระดับความเป็นพิษของไส้เดือนฝอยกับหนอนทดลองชนิดต่าง ๆ โดยวิธีให้กิน (Feeding Method) ทดลองบนอาหารเทียมสำหรับหนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกินรังผึ้งโดยเตรียมถ้วยพลาสติกสำหรับทดสอบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางปากถ้วย 3 เซนติเมตร. สูง 3.5 เซนติเมตร และรองก้นถ้วยด้วยกระดาษกรอง หยดน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร เพื่อให้ความชื้น หยดไส้เดือนฝอยอัตราต่างๆ ดังกล่าวลงบนอาหารเทียม ถ้วยละ 100 ไมโครลิตร ปิดฝาทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อการปรับตัว ปล่อยหนอนทดลองแต่ละชนิดลงไปถ้วยละ 1 ตัว ทำการทดสอบอัตราความเข้มข้นละ 40 ตัว และสำหรับหนอนใยผัก จะใช้ใบคะน้าขนาดประมาณ 5x5 เซนติเมตร พันก้านด้วยสำลีชุบน้ำ ใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 8x12 เซนติเมตร หยดไส้เดือนฝอยอัตราต่างๆ ดังกล่าวลงบนใบคะน้า ใบละ 100 ไมโครลิตร ปล่อยหนอนใยผักลงไป ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ใช้หนอนทดลอง 10 ตัวต่อซ้ำ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ทำการทดสอบระดับความเป็นพิษของไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* ทุกชนิดกับหนอนกระทู้หอมวัย 2หนอนกระทู้ผักวัย 2 หนอนเจาะสมอฝ้ายวัย 2 หนอนใยผักวัย 2 และหนอนกินรังผึ้งวัย 5 ด้วยวิธีการทดลองอย่างเดียวกัน

- การบันทึกข้อมูล
- ตรวจนับจำนวนหนอนที่ตายในแต่ละกรรมวิธีทุก 24 ชั่วโมงหลังการทดลอง เป็นเวลา 7 วัน
- ถ้าพบหนอนตายในกรรมวิธีควบคุม ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายด้วย Abbott's formula ดังนี้

$$\% \text{ corrected mortality} = \frac{\% \text{ test mortality} - \% \text{ control mortality}}{100 - \% \text{ control mortality}} \times 100$$

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์หนอนตาย มาหาค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้หนอนตาย 50% (LC_{50}) ด้วยโปรแกรม Probit analysis

สถานที่ดำเนินการทดลอง :

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- แปลงพืชที่มีการระบาดของหนอนผีเสื้อศัตรูพืชที่สำคัญ

การทดลอง 1.19 การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* และไวรัส NPV ในการควบคุมหนอนกระทู้ผักในบัวหลวง (2560-2561)

กรมวิชาการเกษตร

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ จำนวน 7 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 พ่น *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่น *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่น *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่น *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 พ่น SlNPV อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 พ่น SlNPV อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 ไม่พ่นสาร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงปลูกบัวของเกษตรกรที่มีการระบาดของหนอนกระทู้ผัก ทำการแบ่งขนาดแปลงย่อยทดลองในนาบัวหลวงโดยมีขนาดแปลงย่อยไม่ต่ำกว่า 25 ตารางเมตร โดยทำการตรวจนับจำนวนหนอนกระทู้ผักในใบบัว จำนวน 30 ใบต่อแปลงย่อย โดยตรวจนับกลุ่มไข่ จำนวนหนอนแยกเป็นขนาดเล็ก กลาง และใหญ่ เมื่อพบจำนวนกลุ่มไข่ 1 กลุ่ม หรือจำนวนหนอนกระทู้ผักมากกว่า 1 ตัวต่อใบทำการพ่นสารทุก ๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง ทำการตรวจนับก่อนพ่นสารทุกครั้งและหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 3, 5 และ 7 วัน โดยตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่ และจำนวนหนอนโดยแบ่งเป็น ขนาดเล็ก กลาง และใหญ่ ทำการพ่นสารหลังเวลา 15.00 น. โดยใช้เครื่องพ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง

- การบันทึกข้อมูล

- จำนวนกลุ่มไข่ จำนวนหนอน ขนาดของหนอน
- อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์
- ชนิดและศัตรูธรรมชาติที่พบ
- ต้นทุนการพ่นสาร

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนหนอนกระทู้ผัก ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ กรณีข้อมูลจำนวนหนอนก่อนการพ่นสารไม่แตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance และกรณีข้อมูลจำนวนหนอนก่อนการพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Covariance เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่กรรมวิธีโดยวิธี DMRT

สถานที่ดำเนินการทดลอง :

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- แปลงปลูกบัวของเกษตรกร จังหวัดอ่างทอง และนครปฐม

การทดลองที่ 1.20 เทคนิคการพ่นเชื้อแบบต่าง ๆ ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* Hübner ในหน่อไม้ฝรั่ง โดยการใช้เชื้อ *Bacillus thuringiensis* (2560-2561)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ จำนวน 7 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 พ่นเชื้อด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงลม (moterized knapsack mist blower) ประกอบหัวฉีดแบบฝักบัว อัตราพ่น 20-40 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 2 พ่นเชื้อด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง (moterized high pressure knapsack sprayer) ประกอบคานก้านฉีดแบบคานเดี่ยวแนวตั้ง ใช้หัวฉีดแบบพัด อัตราพ่น 80 ลิตรต่อไร่

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นเชื้อด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง (moterized high pressure knapsack sprayer) ประกอบก้านฉีดแบบคานคู่แนวตั้ง 2ข้าง ใช้หัวฉีดแบบพัด อัตราพ่น 80-120 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 4 พ่นเชื้อด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง (moterized high pressure knapsack sprayer) ปรับมุมได้ด้านท้าย (วิธีการของเกษตรกร) ประกอบหัวฉีดแบบใบพัด อัตราพ่น 120-160 ลิตร/ไร่

กรรมวิธีที่ 5 พ่นเชื้อด้วยเครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง (knapsack sprayer) ประกอบหัวฉีดแบบกรวยกลวง อัตราพ่น 120 ลิตรต่อไร่ (วิธีการของเกษตรกร)

กรรมวิธีที่ 6 พ่นเชื้อด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงลม (moterized knapsack mist blower) ประกอบหัวฉีดแบบใบพัด อัตราพ่น 15-20 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 7 ไม่พ่นสาร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อยไม่น้อยกว่า 30 ตารางเมตร เริ่มพ่นเชื้อป้องกันกำจัดแมลง (เชื้อ Bt) อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เมื่อพบหนอนกระทู้หอมมากกว่า 1 ตัวต่อต้น โดยสุ่มตรวจนับจำนวน 10 ต้นต่อแปลงย่อย พ่นเชื้อทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ทุก 4 วัน ทำการตรวจนับแมลงก่อนพ่นสารทุกครั้ง และหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 4 วัน ในขณะที่ทำการพ่นเชื้อป้องกันกำจัดแมลงให้ใช้ฉากพลาสติกป้องกันการฟุ้งกระจายของละอองสารระหว่างแปลงทดลอง ตรวจนับและชั่งน้ำหนักจำนวนผลผลิตหน่อไม้ฝรั่ง โดยตรวจนับหน่อที่ดีและที่ถูกทำลาย ในระยะส่งตลาดทุกต้นจาก 2 แถวกลาง นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี DMRT คำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (%Efficacy) ตามวิธีการของ Henderson-Tilton (Puntener, 1992) โดยใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

%Efficacy = [1 – (Ta.Cb/Ca.Tb)] X 100

โดยที่ Tb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง

Ta = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง

Cb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารฆ่าแมลง

Ca = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารฆ่าแมลง

ต้นทุนการพ่นสารฆ่าแมลง คำนวณต้นทุนสารฆ่าแมลงที่ใช้ โดยคำนวณจากอัตราที่ใช้ต่อไร่ ซึ่งราคาสารฆ่าแมลงที่นำมาคำนวณจะใช้จากราคาที่ซื้อระหว่างการดำเนินการทดลอง

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนหนอนกระทู้หอม
- ชนิดและจำนวนศัตรูธรรมชาติ
- อาการผิดปกติของพืช (Phytoxicity)
- น้ำหนักผลผลิตที่มีคุณภาพตามความต้องการของตลาด
- ความชื้นสัมพัทธ์ ความเร็วลม อุณหภูมิ
- ต้นทุนการพ่นสาร

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนหนอน น้ำหนักผลผลิต และต้นทุนการพ่นสาร ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ดำเนินการทดลอง :

แปลงหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร จ. กาญจนบุรี จ. สุพรรณบุรี หรือ จ. นครปฐม

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1.21 เทคนิคการพ่นเชื้อแบบต่าง ๆ ในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa armigera* Hübner ในกระเจี๊ยบเขียวโดยการใช้เชื้อไวรัส NPV (2560-2561)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ จำนวน 6 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงลม (moterized knapsack mist blower) อัตราพ่น 15 ลิตรต่อไร่ (อัตราแนะนำต่ำสุด)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงลม (moterized knapsack mist blower) อัตราพ่น 20 ลิตรต่อไร่ (อัตราแนะนำสูงสุด)

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง (moterized high pressure knapsack sprayer) อัตราพ่น 120 ลิตรต่อไร่ (อัตราแนะนำ)

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง (moterized high pressure knapsack sprayer) อัตราพ่นของเกษตรกร

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารด้วยเครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง (knapsack sprayer) อัตราพ่น 120 ลิตรต่อไร่ (อัตราแนะนำ)

กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงกระเจี๊ยบเขียวของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อยไม่น้อยกว่า 30 ตารางเมตร เริ่มพ่นเชื้อป้องกันกำจัดแมลง (ไวรัส NPV) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อพบหนอนเจาะสมอฝ้ายมากกว่า 1 ตัวต่อต้น โดยสุ่มตรวจนับจำนวนหนอนที่ฝักและดอก 10 ต้นต่อแปลงย่อย พ่นเชื้อทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ทุก 4 วัน ทำการตรวจนับแมลงก่อนพ่นสารทุกครั้งและหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 4 วัน ในขณะที่ทำการพ่นเชื้อป้องกันกำจัดแมลงให้ใช้ฉากพลาสติกป้องกันการฟุ้งกระจายของละอองสารระหว่างแปลงทดลอง ตรวจนับและชั่งน้ำหนักจำนวนผลผลิตกระเจี๊ยบเขียว โดยตรวจนับฝักที่ดีและที่ถูกทำลายในระยะส่งตลาดทุกต้นจาก 2 แถวกลาง นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี DMRT คำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (%Efficacy) ตามวิธีการของ Henderson-Tilton (Puntener, 1992) โดยใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

%Efficacy = [1 – (Ta.Cb/Ca.Tb)] X 100

โดยที่ Tb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง

Ta = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง

Cb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารฆ่าแมลง

Ca = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารฆ่าแมลง

ต้นทุนการพ่นสารฆ่าแมลง คำนวณต้นทุนสารฆ่าแมลงที่ใช้ โดยคำนวณจากอัตราที่ใช้ต่อไร่ ซึ่งราคาสารฆ่าแมลงที่นำมาคำนวณจะใช้จากราคาที่ซื้อระหว่างการดำเนินการทดลอง

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนหนอนเจาะสมอฝ้าย
- ชนิดและจำนวนศัตรูธรรมชาติที่พบ
- อาการผิดปกติของพืช (Phytotoxicity)
- ต้นทุนการใช้สาร
- จำนวนฝัก และน้ำหนักสด ที่มีคุณภาพส่งตลาด

กรมวิชาการเกษตร

- ความชื้นสัมพัทธ์ ความเร็วลม อุณหภูมิ
- ต้นทุนการพ่นสาร

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนหนอน น้ำหนักผลผลิต และต้นทุนการพ่นสาร ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ดำเนินการทดลอง :

แปลงปลูกกระเจี๊ยบเขียวของเกษตรกร จ. กาญจนบุรี จ.สุพรรณบุรี หรือ จ. นครปฐม

การทดลองที่ 1.22 การพัฒนาวิธีการผลิตขยายแตนเบียน *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) ควบคุมแมลงวันผลไม้ (2560-2561)

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัยดำเนินการมี 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมแมลงอาศัย และแตนเบียน *D. longicaudata* (2560)

ขั้นตอนที่ 2 การศึกษาแมลงอาศัยที่เหมาะสมของแตนเบียน *D. longicaudata* (2560-2561)

ขั้นตอนที่ 3 การศึกษาระยะหนอนแมลงวันผลไม้ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแตนเบียน *D. longicaudata* (2561)

ขั้นตอนที่ 4 การศึกษาระยะเวลาการเบียนหนอนแมลงวันผลไม้ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง แตนเบียน *D. longicaudata* (2561)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมแมลงอาศัย และแตนเบียน *D. longicaudata* (2560)

<u>วิธีการเตรียมแมลงอาศัยสำหรับเพาะเลี้ยงแตนเบียน *D. longicaudata*</u>

เก็บรวบรวมผลไม้ที่ถูกแมลงวันผลไม้เข้าทำลาย ใส่กล่องพลาสติกขนาด 60x45x30 ซม. ด้านบนกรุด้วยตาข่ายถี่ รองก้นกล่องด้วยทรายละเอียดที่อบฆ่าเชื้อไว้ จากนั้นประมาณ 10 วัน นำผลไม้ออกจากกล่องพลาสติก ใช้ตะแกรงลวดร่อนแยกดักแด้แมลงวันผลไม้ออกจากทราย นำไปเก็บในกล่องพลาสติกที่ปิดสนิท รอแมลงวันผลไม้ออกจากดักแด้ จำแนกชนิดแมลงวันผลไม้แต่ละชนิด นำตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ไปเลี้ยงในกรงเลี้ยงแมลง ขนาด 45x45x45 เซนติเมตร ภายในกรงมีน้ำสะอาด และส่วนผสมของ Yeast Extract และน้ำตาลไอซ์ซิ่ง อัตราส่วน 1:1 ในจานแก้ว เพื่อเป็นอาหารตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ แมลงวันผลไม้จะผสมพันธุ์และวางไข่ในถ้วยเก็บไข่ ที่บริเวณรอบถ้วยเก็บไข่เจาะเป็นรูขนาดเล็กหลายๆ รู ใส่ผลไม้สุกไว้ภายในปิดฝานำไปวางในกรงเลี้ยงแมลง เพศเมียแมลงวันผลไม้จะใช้อวัยวะวางไข่สอดในรูเล็กข้างถ้วยที่เจาะไว้ อีก 1-2 ชั่วโมง จึงใช้น้ำสะอาดล้างไข่แมลงวันผลไม้ นำไข่แมลงวันผลไม้ไปวางบนอาหารเทียมที่ใส่ในกล่องพลาสติกที่ปูด้วยกระดาษแผ่นเนื้อเยื่อ ป้องกันไม่ให้ไข่แมลงวันผลไม้จมลง เมื่อไข่ฟักเป็นหนอนแมลงวันผลไม้ แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำมาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ อีกส่วนหนึ่งนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

<u>วิธีการเตรียมแตนเบียน *D. longicaudata*</u>

เก็บแตนเบียนหนอนแมลงวันผลไม้ *D. longicaudata* ในสภาพธรรมชาติ โดยรวบรวมผลไม้ที่ถูกแมลงวันผลไม้เข้าทำลาย ใส่กล่องพลาสติกขนาด 60x45x30 เซนติเมตร ด้านบนกรุด้วยตาข่ายถี่ รองก้นกล่องด้วยทรายละเอียดที่อบฆ่าเชื้อไว้ จากนั้นประมาณ 10 วัน นำผลไม้ออกจากกล่องพลาสติก ใช้ตะแกรงลวดร่อนแยกดักแด้แมลงวันผลไม้ออกจากทราย นำไปเก็บในกล่องพลาสติกที่ปิดสนิท รอแตนเบียนออกจากดักแด้แมลงวันผลไม้ นำแตนเบียนไปเลี้ยงในกรงขนาด 45x45x45 เซนติเมตร ให้อาหารแตนเบียน โดยให้น้ำสะอาด และสารละลายน้ำผึ้งใส่ใน petri-dish ปูทับด้วยฟองน้ำเนื้อละเอียด ปล่อยให้แตนเบียนจับคู่ผสมพันธุ์ จากนั้นแบ่งอาหารเทียมที่มีหนอนแมลงวันผลไม้ ใส่ฝากล่องพลาสติก ขนาด 10x6x1 เซนติเมตร ปิดทับด้วยผ้าขาวบางและใช้ยางยืดรัดไว้ ปล่อยให้แตนเบียนวางไข่ แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำมาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ อีกส่วนหนึ่งนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

ขั้นตอนที่ 2 การศึกษาแมลงอาศัยที่เหมาะสมของแตนเบียน *D. longicaudata* (2561)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 7 ซ้ำ 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ใช้ *B. dorsalis* เป็นแมลงอาศัย

กรรมวิธีที่ 2 ใช้ *B. correcta* เป็นแมลงอาศัย

กรรมวิธีที่ 3 ใช้ *B. latifrons* เป็นแมลงอาศัย

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ศึกษาแมลงอาศัยที่เหมาะสมของแตนเบียน *D. longicaudata* โดยใช้แมลงอาศัย 3 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera dorsalis*, *B. correcta* และ *B. latifrons* โดย

1) นำแตนเบียน *D. longicaudata* จำนวน 5 คู่ ไปเลี้ยงในกรง ขนาด 45x45x45 เซนติเมตร ให้อาหารแตนเบียนโดยให้น้ำสะอาด และสารละลายน้ำผึ้งใน petri-dish ปูทับด้วยฟองน้ำเนื้อละเอียด ปล่อยให้แตนเบียนผสมพันธุ์กัน 1 วัน

2) แบ่งอาหารเทียมที่มีหนอนแมลงวันผลไม้ (หนอนแมลงวันผลไม้อายุ 4 วันหลังจากแมลงวันผลไม้วางไข่) 100 ตัว ใส่ฝากล่องพลาสติก ขนาด 10x6x1 ซม. ปิดทับด้วยผ้าขาวบางและใช้ยางยืดรัดไว้

3) ทุก 24 ชม. นำหนอนแมลงวันผลไม้ที่ถูกเบียนแล้วออกจากกรงเลี้ยงแมลงทั้งที่อยู่ในอาหารเทียม วางในกล่องพลาสติก ขนาด 40x34x12 ซม. ที่มีขี้เลื่อยละเอียดวางก้นกล่องกรง แล้วใส่หนอนแมลงวันผลไม้ถาดใหม่ปล่อยให้แตนเบียนวางไข่จนกระทั่งแตนเบียนตายหมด

- การบันทึกข้อมูล

- จำนวนตัวเต็มวัยแตนเบียน *D. longicaudata* ทั้งหมด

- จำนวนตัวเต็มวัยแตนเบียน *D. longicaudata* เพศผู้และเพศเมีย

- ต้นทุนการผลิตขยาย

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนตัวเต็มวัยและอัตราส่วนเพศ ของ แตนเบียน *D. longicaudata* ที่ได้จากการเลี้ยงแมลงอาศัย 3 ชนิด ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 3 การศึกษาระยะหนอนแมลงวันผลไม้ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแตนเบียน *D. longicaudata* (2561)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 7 ซ้ำ 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชนิดแมลงวันผลไม้ที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 วัยที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 ชนิดแมลงวันผลไม้ที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 วัยที่ 2

กรรมวิธีที่ 3 ชนิดแมลงวันผลไม้ที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 วัยที่ 3

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ศึกษาระยะหนอนแมลงวันผลไม้ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแตนเบียน *D. longicaudata* โดยใช้ชนิดแมลงวันผลไม้ที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 วัยที่ 1, 2 และ 3 เป็นแมลงอาศัย โดย

1) นำแตนเบียน *D. longicaudata* จำนวน 5 คู่ ไปเลี้ยงในกรง ขนาด 45x45x45 ซม. ให้อาหารแตนเบียนโดยให้น้ำสะอาด และสารละลายน้ำผึ้งใน petri-dish ปูทับด้วยฟองน้ำเนื้อละเอียด ปล่อยให้แตนเบียนผสมพันธุ์กัน 1 วัน

2) นำอาหารเทียมที่มีหนอนแมลงวันผลไม้ วัยที่ 1 2 และ 3 วัยละ 100 ตัว กรงละ 1 วัย ใส่ฝากล่องพลาสติก ขนาด 10x6x1 เซนติเมตร ปิดทับด้วยผ้าขาวบางและใช้ยางยืดรัดไว้ ใส่ในกรง ปล่อยให้แตนเบียนวางไข่ 24 ชั่วโมง

กรมวิชาการเกษตร

3) ทุก 24 ชั่วโมง นำหนอนแมลงวันผลไม้ที่ถูกเบียนแล้วออกจากกรงเลี้ยงแมลงทั้งที่อยู่ในอาหารเทียม วางในกล่องพลาสติก ขนาด 40x34x12 เซนติเมตร ที่มีขี้เลื่อยละเอียดวางก้นกล่องกรง แล้วใส่หนอนแมลงวันถาดใหม่ที่ปล่อยให้แตนเบียนวางไข่จนกระทั่งแตนเบียนตายหมด ตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยแตนเบียน *D. longicaudata* ที่ฟักออกมาทุกวัน จำแนกเพศ และหาอัตราส่วนทางเพศ เพศผู้: เพศเมีย ที่ได้จากการเลี้ยงแมลงอาศัย 3 ชนิด

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนตัวเต็มวัยแตนเบียน *D. longicaudata* ทั้งหมด
- จำนวนตัวเต็มวัยแตนเบียน *D. longicaudata* เพศผู้และเพศเมีย

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนตัวเต็มวัย และอัตราส่วนเพศ ของ แตนเบียน *D. longicaudata* ที่ได้จากการเลี้ยงด้วยแมลงวันผลไม้ทั้ง 3 วัย ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 4 การศึกษาระยะเวลาการเบียนหนอนแมลงวันผลไม้ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแตนเบียน *D. longicaudata* (2561)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 7 ซ้ำ 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยให้แตนเบียน *D. longicaudata* เบียนหนอนแมลงวันผลไม้ 3 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยให้แตนเบียน *D. longicaudata* เบียนหนอนแมลงวันผลไม้ 6 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยให้แตนเบียน *D. longicaudata* เบียนหนอนแมลงวันผลไม้ 24 ชั่วโมง

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ศึกษาระยะเวลาการเบียนหนอนแมลงวันผลไม้ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแตนเบียน *D. longicaudata* โดยใช้ข้อมูลจากขั้นตอนที่ 2 และ 3

1) นำแตนเบียน *D. longicaudata* จำนวน 10 คู่ ไปเลี้ยงในกรง ขนาด 45x45x45 ซม. ให้อาหารแตนเบียนโดยให้น้ำสะอาด และสารละลายน้ำผึ้งใน petri-dish ปูทับด้วยฟองน้ำเนื้อละเอียด ปล่อยให้แตนเบียนผสมพันธุ์กัน 1 วัน

2) นำอาหารเทียมที่มีหนอนแมลงวันผลไม้ จำนวน 400 ตัว ใส่ฝากล่องพลาสติก ขนาด 10x6x1 ซม. ปิดทับด้วยผ้าขาวบางและใช้ยางยืดรัดไว้ ใส่ในกรงที่มีแตนเบียนเตรียมไว้ ปล่อยให้แตนเบียนวางไข่ตามกรรมวิธีที่กำหนด

3) เมื่อครบเวลาแต่ละกรรมวิธี นำหนอนแมลงวันผลไม้ที่ถูกเบียนแล้วออกจากกรงเลี้ยงแมลงทั้งที่อยู่ในอาหารเทียม วางในกล่องพลาสติกขนาด 40x34x12 เซนติเมตร ที่มีขี้เลื่อยละเอียดวางก้นกล่องกรง

4) ใส่หนอนแมลงวันถาดใหม่ทุกวัน ปล่อยให้แตนเบียนวางไข่จนกระทั่งแตนเบียนตายหมด ตรวจนับจำนวนแตนเบียน *D. longicaudata* จำนวนแตนเบียน *D. longicaudata* เพศผู้ และเพศเมีย ที่ได้จากการเลี้ยงแต่ละกรรมวิธี และจำนวนแตนเบียนที่รอดชีวิตในแต่ละวัน

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนแตนเบียน *D. longicaudata* ทั้งหมด
- จำนวนแตนเบียน *D. longicaudata* เพศผู้ และเพศเมีย อัตราส่วนเพศ
- ต้นทุนการผลิตขยาย

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำจำนวนแตนเบียน *D. longicaudata* ที่ได้แต่ละกรรมวิธี ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ทำการทดลอง

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กรมวิชาการเกษตร

- แปลงปลูกผลไม้ และแปลงปลูกพริกของเกษตรกรในเขตภาคกลาง (นนทบุรี ปทุมธานี นครปฐม สุพรรณบุรี อยุธยา ราชบุรี กาญจนบุรี) ภาคตะวันออก (ชลบุรี) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

การทดลองที่ 1.23 การศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella*Walker (Lepidoptera:Oecophoridae) ชนิดท้องถิ่นและนำเข้า (2561-2563)

- แบบและวิธีการทดลอง

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัยดำเนินการมี 4 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเก็บรวบรวมและประเมินประสิทธิภาพแตนเบียนดักแด้จากในธรรมชาติ (ปี 2561)

ขั้นตอนที่ 2 การคัดเลือกแมลงอาศัยที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้ (ปี 2561-2562)

ขั้นตอนที่ 3 การศึกษาการเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้ในห้องปฏิบัติการและที่อุณหภูมิห้อง (ปี 2562-2563)

ขั้นตอนที่ 4การศึกษาการเก็บรักษาแตนเบียนดักแด้ที่อุณหภูมิต่างๆ (ปี 2563)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

*ขั้นตอนที่ 1*การเก็บรวบรวมและประเมินประสิทธิภาพแตนเบียนดักแด้จากในธรรมชาติ(ปี 2561)

เก็บดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวจากแปลงมะพร้าวในธรรมชาติ เพื่อดูปริมาณแตนเบียนดักแด้ท้องถิ่นที่พบในธรรมชาติ

1) เก็บใบมะพร้าวที่มีการทำลายของหนอนหัวดำมะพร้าว ต้นละ 40 ใบ จำนวน 10 ต้นต่อไร่ มาตรวจนับจำนวนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว

2) จากนั้นนำดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวใส่กล่องพลาสติกขนาด 10x14 เซนติเมตร ด้านบนกรุด้วยตาข่ายถี่ รอจนกระทั่งแตนเบียนดักแด้ออกเป็นตัวเต็มวัย

3) จำแนกชนิดแตนเบียนดักแด้ที่ได้และบันทึกจำนวนแตนเบียนดักแด้แต่ละชนิด

4) คัดเลือกแตนเบียนดักแด้ท้องถิ่นมา 1 ชนิด โดยคัดเลือกจากชนิดที่พบในธรรมชาติมากที่สุด นำมาทดลองในขั้นตอนที่ 2 ต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การคัดเลือกแมลงอาศัยที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้(ปี 2561-2562)

คัดเลือกแมลงอาศัยที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้ 2 ชนิด ได้แก่ แตนเบียนดักแด้ท้องถิ่นจากขั้นตอนที่ 1 และแตนเบียนดักแด้*B.nephantidis*

2.1 แตนเบียนดักแด้ท้องถิ่น

- แบบและวิธีการทดลอง

2.1.1 การเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้ท้องถิ่นจากขั้นตอนที่ 1 โดยใช้ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella*วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 9 กรรมวิธี จำนวน 10 ซ้ำ มีกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 1 วัน

กรรมวิธีที่ 2 ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ2 วัน

กรรมวิธีที่ 3ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 3 วัน

กรรมวิธีที่ 4ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 4 วัน

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 5ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 5 วัน

กรรมวิธีที่ 6ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 6 วัน

กรรมวิธีที่ 7ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 7 วัน

กรรมวิธีที่ 8ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 8 วัน

กรรมวิธีที่ 9ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 9 วัน

2.1.2 การเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้ท้องถิ่นจากขั้นตอนที่ 1 โดยใช้ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyracephalonica*วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 กรรมวิธี จำนวน10 ซ้ำ มีกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร อายุ 1 วัน

กรรมวิธีที่ 2 ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร อายุ2 วัน

กรรมวิธีที่ 3ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร อายุ 3 วัน

กรรมวิธีที่ 4ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร อายุ 4 วัน

กรรมวิธีที่ 5ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร อายุ 5 วัน

กรรมวิธีที่ 6ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร อายุ 6 วัน

กรรมวิธีที่ 7ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร อายุ 7 วัน

กรรมวิธีที่ 8ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร อายุ 8 วัน

กรรมวิธีที่ 9ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร อายุ 9 วัน

กรรมวิธีที่ 10ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร อายุ 10 วัน

2.1.3 การเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้ท้องถิ่นจากขั้นตอนที่ 1 โดยใช้ดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella*วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 9 กรรมวิธี จำนวน 10 ซ้ำ มีกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1ดักแด้หนอนกินรังผึ้ง อายุ 1 วัน

กรรมวิธีที่ 2 ดักแด้หนอนกินรังผึ้ง อายุ2 วัน

กรรมวิธีที่ 3ดักแด้หนอนกินรังผึ้ง อายุ 3 วัน

กรรมวิธีที่ 4ดักแด้หนอนกินรังผึ้ง อายุ 4 วัน

กรรมวิธีที่ 5ดักแด้หนอนกินรังผึ้ง อายุ 5 วัน

กรรมวิธีที่ 6ดักแด้หนอนกินรังผึ้ง อายุ 6 วัน

กรรมวิธีที่ 7ดักแด้หนอนกินรังผึ้ง อายุ 7 วัน

กรรมวิธีที่ 8ดักแด้หนอนกินรังผึ้ง อายุ 8 วัน

กรรมวิธีที่ 9ดักแด้หนอนกินรังผึ้ง อายุ 9 วัน

- วิธีปฏิบัติทดลอง

1) นำดักแด้แมลงอาศัย จำนวน 1 ดักแด้ ใส่ขวดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 2.5 เซนติเมตร สูง 6 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศ ติดตะแกรงละเอียด และมีฟองน้ำที่ใส่น้ำผึ้งไว้ จำนวน 3 ขวด ต่อการทดลอง 1 ซ้ำ

2) นำแตนเบียนดักแด้ที่ผสมพันธุ์แล้วและอายุที่เหมาะสม ใส่ขวดพลาสติกข้อ 1)

3) ปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนดักแด้แมลงอาศัย เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

4) นำดักแด้แมลงอาศัยออกจากขวดพลาสติก ใส่ขวดพลาสติกใหม่ และบันทึกวัน เดือนปี ที่เบียน

- การบันทึกข้อมูลบันทึกจำนวนแตนเบียนที่ฟักออกมา และอัตราส่วนทางเพศ เพศผู้: เพศเมีย ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

กรมวิชาการเกษตร

2.2 แตนเบียนดักแด้*B. nephantidis*

ดำเนินการเหมือนการทดลองที่ 2.1.2-2.1.3 แต่ใช้แตนเบียนดักแด้*B.nephantidis* ทดสอบกับดักแด้แมลงอาศัยทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง ส่วนการเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้*B.nephantidis* โดยใช้ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella*ใช้ข้อมูลจากโครงการนำเข้าแตนเบียนดักแด้*Brachymerianephantidis* Gahan (Hymenoptera: Chalcididae) เพื่อควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera:Oecophoridae)

ขั้นตอนที่ 3 การศึกษาการเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้ในห้องปฏิบัติการและที่อุณหภูมิห้อง(ปี 2562-2563)

ศึกษาการเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้ท้องถิ่น และแตนเบียนดักแด้*B. nephantidis* ในห้องปฏิบัติการและที่อุณหภูมิห้อง

3.1 แตนเบียนดักแด้ท้องถิ่น

- แบบและวิธีการทดลอง

ศึกษาการเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้ท้องถิ่น ในห้องปฏิบัติการและที่อุณหภูมิห้อง มี 2 กรรมวิธี จำนวน10 ซ้ำ มีกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1เพาะเลี้ยงแมลงอาศัย และแตนเบียนดักแด้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 28±2 °C

กรรมวิธีที่ 2เพาะเลี้ยงแมลงอาศัย และแตนเบียนดักแด้ที่อุณหภูมิห้อง

- วิธีปฏิบัติทดลอง

1) นำแตนเบียนดักแด้ที่มีแนวโน้มในการนำมาเพาะเลี้ยงได้ จากขั้นตอนที่ 1 จำนวน 10คู่ ใส่ในกรงเลี้ยงแมลง ขนาด 30x30x30เซนติเมตร ภายในกรงเลี้ยงแมลงมีฟองน้ำชุบน้ำผึ้ง 10% ปล่อยให้แตนเบียนผสมพันธุ์ 7 วัน

2) นำชนิดดักแด้ที่เหมาะสม และอายุดักแด้ที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 2 จำนวน 40 ดักแด้ วางบน petri-dish ใส่ไว้ในกรงเลี้ยงแมลง ปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนดักแด้แมลงอาศัย เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

3) นำดักแด้แมลงอาศัยออกจากกรงเลี้ยงแมลง ใส่ในกล่องพลาสติก ขนาด 10x14 เซนติเมตร ฝากล่องด้านบนกรุด้วยตาข่ายถี่ และบันทึกวัน เดือนปี ที่เบียน

4) นำดักแด้แมลงอาศัยวางบน petri-dish ใส่ในกรงเลี้ยงแมลงเดิมในวันต่อมา ตามขั้นตอนที่ 2 - 3 ทุกวันจนกระทั่งแตนเบียนดักแด้ตายหมด

- การบันทึกข้อมูลบันทึกข้อมูลจำนวนแตนเบียนที่ฟักออกมาทุกวันและอัตราส่วนทางเพศ เพศผู้: เพศเมียข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์แบบt-test

3.2 แตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis*

ดำเนินการเหมือนการทดลองที่ 3.1 แต่ใช้แตนเบียนดักแด้*B.nephantidis* ทดสอบการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการและที่อุณหภูมิห้อง

*ขั้นตอนที่ 4*การศึกษาการเก็บรักษาแตนเบียนดักแด้ที่อุณหภูมิต่างๆ (2563)

ศึกษาการเก็บรักษาแตนเบียนดักแด้ท้องถิ่น และแตนเบียนดักแด้*B. nephantidis* ที่เหมาะสมที่อุณหภูมิต่างๆ

4.1 แตนเบียนดักแด้ท้องถิ่น

- แบบและวิธีการทดลอง

กรมวิชาการเกษตร

ศึกษาการเก็บรักษาแตนเบียนดักแด้ท้องถิ่นที่อุณหภูมิต่างๆ วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ มีกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 2อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 3 อุณหภูมิ 5-10องศาเซลเซียส(อุณหภูมิในตู้เย็น)

กรรมวิธีที่ 4อุณหภูมิห้อง

- วิธีปฏิบัติทดลอง

1) นำแตนเบียนดักแด้ที่เพิ่งฟักออกมา จำนวน 5 คู่ ใส่ขวดพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 10 เซนติเมตร สูง 20 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศ ติดตะแกรงละเอียดและมีฟองน้ำที่ใส่น้ำผึ้งไว้ ปล่อยให้แตนเบียนผสมพันธุ์ 7 วันจากนั้นนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ ตามกรรมวิธี ตรวจนับแตนเบียนที่ตายเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ทุกวันเว้นวัน

2) ทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ โดยเมื่อทุกๆ 10 วัน สุ่มแตนเบียนออกมา 1 คู่ ใส่ขวดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 2.5 เซนติเมตร สูง 6 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศ ติดตะแกรงละเอียด และมีฟองน้ำที่ใส่น้ำผึ้งไว้ ขวดละ 1 คู่ จากนั้นใส่ดักแด้ชนิดแมลงอาศัยที่เหมาะสมและอายุเหมาะสม จำนวน 3 ดักแด้ ปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนดักแด้แมลงอาศัย เป็นเวลา 6 ชั่วโมงเมื่อครบเวลานำดักแด้แมลงอาศัยออกจากขวดพลาสติก ใส่ขวดพลาสติกใหม่ และบันทึกวัน เดือนปี ที่เบียนใส่ดักแด้แมลงอาศัยทุกวันจนกระทั่งแตนเบียนตาย

- การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนแตนเบียนดักแด้ที่รอดชีวิตตายหลังจากเก็บรักษาแตนเบียนที่อุณหภูมิต่างๆ

- บันทึกจำนวนแตนเบียนที่ฟักออกมา และอัตราส่วนทางเพศ เพศผู้: เพศเมีย

- ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

4.2 แตนเบียนดักแด้*B. Nephantidis*

ดำเนินการเหมือนการทดลองที่ 4.1 แต่ใช้แตนเบียนดักแด้*B.nephantidis* ทดสอบการเก็บรักษาแตนเบียนดักแด้ที่อุณหภูมิต่างๆ

สถานที่ทำการทดลอง

กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การทดลองที่ 1.24ศึกษารูปแบบบรรจุภัณฑ์มวนพิฆาต *Eocanthecona furcellata* (Wolff) ที่เหมาะสมเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์(2561-2562)

*ขั้นตอนที่ 1*คัดเลือกบรรจุภัณฑ์เพื่อนำมวนพิฆาตไปใช้ประโยชน์ (2561)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบCRD มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ถ้วยพลาสติกใสขนาดความจุ 6 ออนซ์

กรรมวิธีที่ 2 ถ้วยพลาสติกใสขนาดความจุ 8 ออนซ์

กรรมวิธีที่ 3 ถ้วยพลาสติกใสขนาดความจุ 10 ออนซ์

กรรมวิธีที่ 4 ถ้วยกระดาษขนาดความจุ 6 ออนซ์

กรรมวิธีที่ 5 ถ้วยกระดาษขนาดความจุ 8 ออนซ์

กรรมวิธีที่ 6 ถ้วยกระดาษขนาดความจุ 10 ออนซ์

กรมวิชาการเกษตร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

เลี้ยงขยายมวนพิฆาตในห้องปฏิบัติการโดยให้น้ำเปล่าเป็นอาหารแก่ตัวอ่อนวัยที่ 1 ให้ดักแด้หนอนนกเป็นอาหารแก่ตัวอ่อนของมวนวัยที่ 2 จนกระทั่งเป็นตัวอ่อนวัย 3 ให้หนอนนกเป็นอาหารจากนั้นคัดเลือกตัวอ่อนมวนพิฆาตวัย 3 ซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมต่อการนำไปปล่อยเพื่อควบคุมศัตรูพืชจำนวน 100 ตัวใส่ในบรรจุภัณฑ์แต่ละแบบเก็บบรรจุภัณฑ์แต่ละแบบในสภาพอุณหภูมิห้องสังเกตพฤติกรรมและนับจำนวนมวนพิฆาตที่มีชีวิตรอดหลังจากเริ่มทดลอง 3, 5, 7 และ 10 วัน

- การบันทึกข้อมูล

-จำนวนมวนพิฆาตที่มีชีวิตรอดหลังทดลอง3, 5, 7 และ 10 วัน

- ลักษณะพฤติกรรมของมวนพิฆาต

- ต้นทุนของแต่ละบรรจุภัณฑ์

การวิเคราะห์ผลทางสถิตินำข้อมูลจำนวนมวนพิฆาตที่มีชีวิตรอดและต้นทุนบรรจุภัณฑ์มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

*ขั้นตอนที่ 2*ศึกษาจำนวนมวนพิฆาตที่เหมาะสมต่อบรรจุภัณฑ์ที่ทำให้มวนพิฆาตมีชีวิตยาวนานที่สุด(2561)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบCRD มี 10 ซ้ำ 4 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 จำนวนมวนพิฆาต 25 ตัวต่อบรรจุภัณฑ์

กรรมวิธีที่ 2 จำนวนมวนพิฆาต 50 ตัวต่อบรรจุภัณฑ์

กรรมวิธีที่ 3 จำนวนมวนพิฆาต 75 ตัวต่อบรรจุภัณฑ์

กรรมวิธีที่ 4 จำนวนมวนพิฆาต 100 ตัวต่อบรรจุภัณฑ์

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

เลี้ยงขยายมวนพิฆาตในห้องปฏิบัติการโดยให้น้ำเปล่าเป็นอาหารแก่ตัวอ่อนวัยที่ 1 ให้ดักแด้หนอนนกเป็นอาหารแก่ตัวอ่อนของมวนวัยที่ 2 จนกระทั่งเป็นตัวอ่อนวัย 3 ให้หนอนนกเป็นอาหารจากนั้นคัดเลือกตัวอ่อนมวนพิฆาตวัย 3 ซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมต่อการนำไปปล่อยเพื่อควบคุมศัตรูพืช ใส่ในบรรจุภัณฑ์ที่คัดเลือกได้จากการดัดเลือกได้ในขั้นตอนที่ 1 จำนวนตามการทดลองที่กำหนดตามกรรมวิธี เก็บบรรจุภัณฑ์แต่ละแบบในสภาพอุณหภูมิห้องสังเกตพฤติกรรมและนับจำนวนมวนพิฆาตที่มีชีวิตรอดหลังจากเริ่มทดลอง 3, 5, 7 และ 10 วัน

- การบันทึกข้อมูล

-จำนวนมวนพิฆาตที่มีชีวิตรอดหลังทดลอง3, 5, 7 และ 10 วัน

- ลักษณะพฤติกรรมของมวนพิฆาต

- ต้นทุนของแต่ละบรรจุภัณฑ์

การวิเคราะห์ผลทางสถิตินำข้อมูลจำนวนมวนพิฆาตที่มีชีวิตรอดและต้นทุนบรรจุภัณฑ์มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

*ขั้นตอนที่ 3*ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความอยู่รอดของมวนพิฆาตในบรรจุภัณฑ์(2562)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบCRD มี 10 ซ้ำ 4 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1ใส่สำลีชุบน้ำในบรรจุภัณฑ์

กรรมวิธีที่ 2ใส่อาหาร(หนอนนก)ในบรรจุภัณฑ์

กรรมวิธีที่ 3ใส่สำลีชุบน้ำและอาหาร(หนอนนก)ในบรรจุภัณฑ์

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 4ไม่ใส่ปัจจัยเสริม

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำบรรจุภัณฑ์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 1 มาทำการศึกษาปัจจัยที่ช่วยเสริมให้มวนพิฆาตสามารถมีชีวิตและความแข็งแรงได้ยาวนานขึ้นโดยกรรมวิธีที่ 1ใส่สำลีชุบน้ำในบรรจุภัณฑ์กรรมวิธีที่ 2 ใส่อาหาร(หนอนนก)ในบรรจุภัณฑ์กรรมวิธีที่ 3 ใส่สำลีชุบน้ำและอาหาร(หนอนนก)ในบรรจุภัณฑ์ส่วนกรรมวิธีที่ 4 ไม่ใส่ปัจจัยเสริมจากนั้นนำตัวอ่อนมวนพิฆาตวัย 3 จำนวน 100 ตัวใส่ในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 4 กรรมวิธีเก็บบรรจุภัณฑ์แต่ละแบบในสภาพอุณหภูมิห้องสังเกตพฤติกรรมและนับจำนวนมวนพิฆาตที่มีชีวิตรอดหลังจากเริ่มทดลอง 5, 7, 10 และ 15 วัน

- การบันทึกข้อมูล

-.จำนวนมวนพิฆาตที่มีชีวิตรอดหลังทดลอง3, 5, 7 และ 10 วัน

- ลักษณะพฤติกรรมของมวนพิฆาต

- ต้นทุนของแต่ละบรรจุภัณฑ์

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u>นำข้อมูลจำนวนมวนพิฆาตที่มีชีวิตรอดและต้นทุนบรรจุภัณฑ์มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ดำเนินการการทดลอง

- กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การทดลองที่ 1.25 ศึกษาวิธีการนำด้วงเต่า *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant ไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง (2561-2563)

- วิธีดำเนินการวิจัย แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน

*ขั้นตอนที่ 1*ศึกษาวิธีการนำด้วงเต่า *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant ไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งในสภาพเรือนทดลอง(2561-2562)

แบ่งเป็น 2 งาน โดยใช้ด้วงเต่าระยะตัวเต็มวัย และตัวหนอน

งานที่ 1 ศึกษาวิธีการใช้ด้วงเต่า *C. montrouzieri*ระยะตัวเต็มวัยในการควบคุมเพลี้ยแป้ง (2561)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยด้วงเต่าระยะตัวเต็มวัย จำนวน 5 ตัวต่อกรง

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยด้วงเต่าระยะตัวเต็มวัย จำนวน 10 ตัวต่อกรง

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยด้วงเต่าระยะตัวเต็มวัย จำนวน 20 ตัวต่อกรง

กรรมวิธีที่ 4 ปล่อยด้วงเต่าระยะตัวเต็มวัย จำนวน 30 ตัวต่อกรง

กรรมวิธีที่ 5 ไม่ปล่อยด้วงเต่า

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

การเพาะเลี้ยงด้วงเต่า*C. montrouzieri* ด้วยเพลี้ยแป้งที่เลี้ยงบนผลฟักทองในห้องปฏิบัติการ ตามวิธีการของ รจนา และคณะ (2558) โดยเลือกฟักทองผลขนาดกลาง (เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 13-20 เซนติเมตร) ที่ผิวสีเขียวและมีลักษณะเป็นร่องขรุขระ นำเพลี้ยแป้งที่เก็บรวบรวมจากแปลงมันสำปะหลัง แยกชนิด และเขี่ยลงบนผลฟักทอง หรือโดยเขี่ยกลุ่มไข่ลงบนผลฟักทอง ทิ้งไว้บนชั้นเลี้ยงแมลงประมาณ 3-4 สัปดาห์ ปล่อยให้เพลี้ยแป้งเจริญเติบโตบนผลฟักทองจนเต็มผล หรือโดยการวางผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งเจริญเติบโตอยู่เต็มผล 1 ผล วางซ้อนไปบนผลฟักทองใหม่ที่วางเรียงกัน 2-4 ผล เพลี้ยแป้งจะคลานไปยังผลฟักทองใหม่เอง ปล่อยไว้จนเพลี้ยแป้งเจริญเติบโตเต็มผล จะได้เพลี้ยแป้งเต็มผลสำหรับเป็นเหยื่อ นำผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งเต็มผลแล้วไปใส่ในกรงเลี้ยง ขนาด 55x75x55 เซนติเมตรเริ่มจากจำนวน 5-7 ผล ใส่ตัวเต็ม

กรมวิชาการเกษตร

วัยด้วงเต่า *C. montrouzieri* จำนวน 30 ตัว ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ ซึ่งจะจับคู่ผสมพันธุ์และวางไข่ จากนั้นนำตัวเต็มวัยออก เมื่อไข่ฟักออกเป็นตัวหนอนกินเพลี้ยแป้งเจริญเติบโต เข้าดักแด้บนผลฟักทอง และออกเป็นตัวเต็มวัย ดำรงชีวิตหมุนเวียนต่อไป สังเกตเพลี้ยแป้งบนฟักทองที่จะลดปริมาณลดลง เปลี่ยนฟักทองเมื่อเพลี้ยแป้งหมด (ประมาณ 2 สัปดาห์) หรือฟักทองเริ่มเน่า ใส่เพิ่มอีก 2-3 ผล ตามความจำเป็น และให้น้ำผึ้ง 20% หรือเยลลี่สำเร็จรูป เพิ่มเข้าไปเป็นอาหารเพิ่มเติม

การเตรียมเพลี้ยแป้ง เก็บรวบรวมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังชนิดต่างๆ จากแปลงปลูก ทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ โดยนำใบมันสำปะหลังที่มีเพลี้ยแป้งมาวางลงบนผลฟักทองหรือบนต้นมันสำปะหลัง ต่อจากนั้นปลูกต้นมันสำปะหลังในกระถาง กระถางละ 1 ต้น ให้มีอายุประมาณ 2 เดือน เขี่ยกลุ่มไข่และตัวเพลี้ยแป้งลงบนต้นมันสำปะหลังให้เจริญเติบโตบนต้น ทำการระบาดเทียมเพลี้ยแป้ง จำนวน 100 ตัว/ต้น ปล่อยให้มีการแพร่กระจายอย่างสม่ำเสมอ นำไปใส่ในกรง

การปล่อยด้วงเต่า*C. montrouzieri* นำต้นมันสำปะหลังที่เพาะเลี้ยงเพลี้ยแป้งเตรียมไว้ ใส่ในกรงทดสอบ ขนาด 1 x 1 x 1.5 เมตร กรงละ 2 ต้น ซ้ำละ 1 กรง นำตัวเต็มวัยด้วงเต่าอายุ 5-7 วัน ที่เลี้ยงได้ไปทดลองปล่อยตามกรรมวิธีที่กำหนด

การประเมินผล ตรวจนับเพลี้ยแป้งทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยด้วยแว่นขยาย 3X ก่อนปล่อยด้วงเต่าและหลังจากปล่อยด้วงเต่าแล้ว 37 14 21 และ 28 วัน โดยสุ่มตรวจนับเพลี้ยแป้งบริเวณกิ่ง ข้อ และใบจากยอดลงมาประมาณ 10 นิ้วรวมทั้งตรวจนับด้วงเต่าระยะตัวหนอนและตัวเต็มวัยที่มีชีวิตด้วย

- การบันทึกข้อมูล
  - จำนวนและชนิดเพลี้ยแป้ง
  - จำนวนและระยะการเจริญเติบโตของด้วงเต่า *C. montrouzieri*

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลจำนวนเพลี้ยแป้ง และด้วงเต่า มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

งานที่ 2 ศึกษาวิธีการใช้ด้วงเต่า *C. montrouzieri*ระยะตัวหนอนในการควบคุมเพลี้ยแป้ง (2562)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยด้วงเต่าระยะตัวหนอน จำนวน 5 ตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยด้วงเต่าระยะตัวหนอน จำนวน 10 ตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยด้วงเต่าระยะตัวหนอน จำนวน 20 ตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 4 ปล่อยด้วงเต่าระยะตัวหนอน จำนวน 30 ตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 5 ไม่ปล่อยด้วงเต่า

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

การเพาะเลี้ยงด้วงเต่า*C. montrouzieri* และการเตรียมเพลี้ยแป้ง ทำวิธีการเดียวกับงานที่ 1

การปล่อยด้วงเต่า*C. montrouzieri* นำต้นมันสำปะหลังที่เพาะเลี้ยงเพลี้ยแป้งเตรียมไว้ใส่ในกรงทดสอบ ขนาด 1 x 1 x 1.5 เมตร กรงละ 2 ต้น นำตัวหนอนด้วงเต่าอายุ 7-10 วัน ที่เลี้ยงได้ไปทดลองปล่อยตามกรรมวิธีที่กำหนด โดยใช้พู่กันเขี่ยลงบนใบมันสำปะหลัง

การประเมินผล ตรวจนับเพลี้ยแป้งทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยด้วยแว่นขยาย 3X ก่อนปล่อยด้วงเต่าและหลังจากปล่อยด้วงเต่าแล้ว 37 14 21 และ 28 วัน โดยสุ่มตรวจนับเพลี้ยแป้งบริเวณกิ่ง ข้อ และใบจากยอดลงมาประมาณ 10 นิ้วรวมทั้งตรวจนับตัวเต็มวัยของด้วงเต่าด้วย

- การบันทึกข้อมูล
  - จำนวนและชนิดเพลี้ยแป้ง
  - จำนวนและระยะการเจริญเติบโตของด้วงเต่า *C. montrouzieri*

กรมวิชาการเกษตร

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ นำข้อมูลจำนวนเพลี้ยแป้ง และด้วงเต่า มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 2.ศึกษาวิธีการนำด้วงเต่า *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant ไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งในสภาพแปลงปลูกมันสำปะหลัง (2563)

เลือกวิธีการและอัตราที่ให้ผลดีที่สุดจากขั้นตอนที่ 1 มาศึกษาต่อในสภาพแปลงปลูกมันสำปะหลัง

1) เพาะเลี้ยงด้วงเต่า*C. montrouzieri* และเพลี้ยแป้ง ตามขั้นตอนที่ 1

2) หาแปลงมันสำปะหลังที่พบแมลงเพลี้ยแป้งระบาด จำนวน 2 แปลง แปลงละ 1 ไร่ สุ่มตรวจนับจำนวนเพลี้ยแป้ง จำนวน 10 จุด/แปลง จุดละ 5 ต้น หากไม่พบการระบาด ทำการระบาดเทียม สำรวจแปลงมันสำปะหลังที่ระบาดเทียมเพลี้ยแป้งแบบท่วมท้น (มากกว่า100 ตัว/ต้น) ปล่อยให้มีการแพร่กระจายอย่างสม่ำเสมอ

3) นำด้วงเต่าที่ผลิตได้ไปทดลองปล่อยในแปลงมันสำปะหลัง แปลงที่ 1 ปล่อยด้วงเต่า ตามอัตราที่ได้จากการทดลองขั้นตอนที่ 1 คลุมต้นด้วยถุงตาข่าย แปลงที่ 2 ไม่ปล่อยด้วงเต่า

4) การประเมินผล สุ่มตรวจนับจำนวนเพลี้ยแป้ง จากแปลงที่ปล่อยและไม่ปล่อยด้วงเต่า ตรวจนับเพลี้ยแป้งทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยด้วยแว่นขยาย 3X ก่อนปล่อยด้วงเต่า และหลังจากปล่อยด้วงเต่าแล้ว 7 14 21 และ 28 วัน โดยสุ่มตรวจนับเพลี้ยแป้งบริเวณกิ่ง ข้อ และใบจากยอดลงมาประมาณ 10 นิ้วรวมทั้งตรวจนับจำนวนด้วงเต่า *C. montrouzieri*ด้วย

- การบันทึกข้อมูล
  - ระยะการเจริญเติบโตของด้วงเต่า *C. montrouzieri*อัตราที่ปล่อย และระยะเวลาหลังปล่อย
  - จำนวนเพลี้ยแป้ง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ นำข้อมูลจำนวนเพลี้ยแป้ง และด้วงเต่า มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ทำการทดลอง

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
- แปลงปลูกมันสำปะหลัง จังหวัด นครราชสีมา และชลบุรี

การทดลองที่ 1.26 ศึกษาวิธีการผลิตขยายด้วงเต่าสตีธอรัส *Stethorus pauperculus* (Weise) (Coleoptera: Coccinellidae) และประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืช (2561-2564)

ขั้นตอนที่ 1. ศึกษาชีววิทยาของด้วงเต่าสตีธอรัส *S. pauperculus*(2561)

1.การศึกษาชีววิทยาด้วงเต่าสตีธอรัส S. pauperculus ในการกินไรศัตรูพืชชนิดต่างๆ

1.1. การเลี้ยงเพิ่มปริมาณไรแดงหม่อน *T. truncatus*ไรแมงมุมคันซาวา *T. kanzawa*ไรแดงแอฟริกัน *E. africanus*และไรแดงมันสำปะหลัง *O. biharensis* ในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงบนใบพืชอาศัยของไรแต่ละชนิด และวางอยู่บนสำลีชุ่มน้ำในถาดพลาสติก หล่อน้ำถาดเลี้ยงตลอดเวลา และวางบนชั้นใต้แสงไฟฟลูออเรสเซ็นต์ เป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน ในห้องปฏิบัติการอุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80 % RH. เพื่อให้ไรเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆจนมากเพียงพอ

1.2. การศึกษาชีววิทยาด้วงเต่าสตีธอรัส *S. pauperculus* โดยนำตัวเต็มวัยเพศเมียของด้วงเต่าสตีธอรัสที่เลี้ยงไว้ใส่ลงบนใบหม่อน จำนวน 40-50 ตัวทิ้งไว้ให้วางไข่ 3-4 ชั่วโมง นำไข่ที่ได้มาแยกเลี้ยงเดี่ยวๆบนใบหม่อน ที่มีไรแต่ละชนิดอยู่แล้ว วางบนแผ่นสำลีชุ่มน้ำในกล่องพลาสติก กล่องละ 1 ฟอง บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตทุกๆ 24 ชั่วโมง

กรมวิชาการเกษตร

จากระยะไข่ ตัวอ่อนวัยต่างๆจนเป็นตัวเต็มวัย เขี่ยด้วงเต่าตัวห้ำตัวผู้ที่เลี้ยงไว้ใส่ลงไปบนใบให้ผสมพันธุ์กับด้วงเต่าสตีธอรัสตัวเมีย บันทึกจำนวนไข่และการตายของตัวเมียที่เกิดขึ้นทุกๆ 24 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวเมียตาย เขี่ยไข่ที่ตัวเมียแต่ละตัวผลิตได้ทั้งหมดแยกออกรวมไว้ บันทึกจำนวนลูกที่ฟักออกเป็นเพศเมีย คำนวณอัตราส่วนทางเพศ (sex ratio) อัตราการขยายพันธุ์สูงสุด (intrinsic rate of increase, r_m) อัตราการขยายพันธุ์สุทธิในชั่วอายุขัย (net reproductive rate, R_0) ทำการทดลองละ 50 ตัวในแต่ละชนิดของเหยื่อ ได้แก่ ไรแดงหม่อน *T. truncatus*ไรแมงมุมคันซาวา *T. kanzawai* ไรแดงแอฟริกัน *E. africanus*และไรแดงมันสำปะหลัง *O. biharensis*

2.การทดสอบประสิทธิภาพหนอนด้วงเต่าสตีธอรัสวัย4 ในการกินไรศัตรูพืชชนิดต่างๆ

2.1 การทดสอบประสิทธิภาพหนอนด้วงเต่าสตีธอรัสวัย 4 ในการกินระยะไข่ของไรศัตรูพืชชนิดต่างๆ

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 10 ซ้ำ มี 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไรแดงหม่อน *T. truncatus* ระยะไข่

กรรมวิธีที่ 2 ไรแมงมุมคันซาวา *T. kanzawai* ระยะไข่

กรรมวิธีที่ 3 ไรแดงแอฟริกัน *E. africanus* ระยะไข่

กรรมวิธีที่ 4 ไรแดงมันสำปะหลัง *O. biharensis* ระยะไข่

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำไข่ไรศัตรูพืชทั้ง 4 ชนิดๆละ 200 ฟอง ใส่ลงบนใบพืชอาหารของไรชนิดนั้นๆที่มีขนาด 2x2เซนติเมตร แล้วใส่ลงกล่องพลาสติกขนาด 5.5x7.5x3 เซนติเมตร ปล่อยหนอนด้วงเต่าสตีธอรัส*S. pauperculus*วัย 4 ลงในกล่อง กล่องละ 1 ตัว ทิ้งไว้ให้กินไข่ของไรศัตรูพืชนาน 48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 10 ซ้ำ

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพหนอนด้วงเต่าสตีธอรัสวัย 4 ในการกินระยะตัวอ่อนของไรศัตรูพืชชนิดต่างๆ

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 20 ซ้ำ มี 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไรแดงหม่อน *T. truncatus*ระยะตัวอ่อน

กรรมวิธีที่ 2 ไรแมงมุมคันซาวา *T. kanzawai*ระยะตัวอ่อน

กรรมวิธีที่ 3 ไรแดงแอฟริกัน *E. africanus*ระยะตัวอ่อน

กรรมวิธีที่ 4 ไรแดงมันสำปะหลัง *O. biharensis*ระยะตัวอ่อน

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำตัวอ่อนไรศัตรูพืชทั้ง 4 ชนิดๆละ 100 ตัว ใส่ลงบนใบพืชอาหารของไรชนิดนั้นๆที่มีขนาด 2x2 เซนติเมตร แล้วใส่ลงกล่องพลาสติกขนาด 5.5x7.5x3 เซนติเมตร ปล่อยหนอนด้วงเต่าสตีธอรัส*S. pauperculus*วัย 4ลงในกล่อง กล่องละ 1 ตัว ทิ้งไว้ให้กินตัวอ่อนของไรศัตรูพืชนาน 48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 10 ซ้ำ

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพหนอนด้วงเต่าสตีธอรัสวัย 4 ในการกินระยะตัวเต็มวัยของไรศัตรูพืชชนิดต่างๆ

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 20 ซ้ำ มี 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไรแดงหม่อน *T. truncatus*ระยะตัวเต็มวัย

กรรมวิธีที่ 2 ไรแมงมุมคันซาวา *T. kanzawai*ระยะตัวเต็มวัย

กรรมวิธีที่ 3 ไรแดงแอฟริกัน *E. africanus*ระยะตัวเต็มวัย

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 4 ไรแดงมันสำปะหลัง *O. biharensis*ระยะตัวเต็มวัย

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำตัวเต็มวัยไรศัตรูพืชทั้ง 4 ชนิดๆละ 100 ตัว ใส่ลงบนใบพืชอาหารของไรชนิดนั้นๆที่มีขนาด 2×2 เซนติเมตร แล้วใส่ลงกล่องพลาสติกขนาด 5.5×7.5×3 เซนติเมตร ปล่อยหนอนด้วงเต่าสตีธอรัส *S.pauperculus*วัย 4 ลงในกล่อง กล่องละ 1 ตัว ทิ้งไว้ให้กินตัวเต็มวัยของไรศัตรูพืชนาน 48 ชั่วโมง

- การบันทึกข้อมูล

บันทึกจำนวนไข่ ระยะตัวอ่อน และตัวเต็มวัยของไรศัตรูพืชที่ถูกหนอนด้วงเต่าสตีธอรัส *S. pauperculus*วัย 4กินแล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ ด้วยวิธี Analysis of Variance เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงด้วงเต่าสตีธอรัส*S.pauperculus* (2562)

ศึกษาชนิดไรอาหารที่เหมาะสมบนใบถั่ว

ทำการเพาะขยายพันธุ์ไรอาหารของด้วงเต่าสตีธอรัส *S.pauperculus*4 ชนิด ได้แก่ ไรแดงหม่อน *T. truncatus*ไรแมงมุมคันซาวา *T. kanzawai* ไรแดงแอฟริกัน *E. africanus*และไรแดงมันสำปะหลัง *O. biharensis* บนต้นถั่วดำ *Vigna mungo* โดยปลูกถั่ว ซ้ำละ 180 ต้น ปล่อยไรอาหารพ่อแม่พันธุ์แต่ละชนิดลงบนใบเลี้ยงถั่วที่มีอายุประมาณ 14 วัน ซ้ำๆละ 50 ตัว ทิ้งให้ไรอาหารเพิ่มปริมาณประชากรบนใบถั่ว 1 สัปดาห์ จากนั้นสุ่มนับจำนวนไรที่อยู่ใต้ใบถั่วใต้กล้องจุลทรรศน์ จำนวน 25 ใบต่อซ้ำ ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

ทดสอบอัตราส่วนพ่อแม่พันธุ์และเหยื่อที่เหมาะสมในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่าสตีธอรัส*S.pauperculus*

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 6 กรรมวิธีคือ

กรรมวิธีที่ 1 ด้วงเต่าสตีธอรัส 40 ตัวต่อไรอาหาร 1000 ตัว (1:25)

กรรมวิธีที่ 2 ด้วงเต่าสตีธอรัส 20 ตัวต่อไรอาหาร 1000 ตัว (1:50)

กรรมวิธีที่ 3 ด้วงเต่าสตีธอรัส 13 ตัวต่อไรอาหาร 1000 ตัว (1:75)

กรรมวิธีที่ 4 ด้วงเต่าสตีธอรัส 10 ตัวต่อไรอาหาร 1000 ตัว (1:100)

กรรมวิธีที่ 5 ด้วงเต่าสตีธอรัส 8 ตัวต่อไรอาหาร 1000 ตัว (1:125)

กรรมวิธีที่ 6 ด้วงเต่าสตีธอรัส 0 ตัวต่อไรอาหาร 1000 ตัว

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ปลูกต้นถั่ว ซ้ำละ 180 ต้น เมื่อต้นถั่วอายุ 2 สัปดาห์ ปล่อยไรอาหารและด้วงเต่าสตีธอรัสพ่อแม่พันธุ์ลงบนต้นถั่ว ทิ้งไว้ 2 สัปดาห์ สุ่มใบถั่วจำนวน 25 ใบต่อซ้ำ ตรวจนับจำนวนไรอาหารและด้วงเต่าสตีธอรัสใต้กล้องจุลทรรศน์ หลังปล่อย 1, 2 และ 3 สัปดาห์

ขั้นตอนที่ 3 ประสิทธิภาพของด้วงเต่าสตีธอรัส *S.pauperculus*ในการควบคุมไรแดงหม่อน *T. truncatus*ในสภาพเรือนทดลอง (2563)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1. ด้วงเต่าสตีธอรัส 10 ตัวต่อไรแดงหม่อน *T. truncatus*100 ตัว (1:10)

กรรมวิธีที่ 2. ด้วงเต่าสตีธอรัส 4 ตัวต่อไรแดงหม่อน *T. truncatus* 100 ตัว (1:25)

กรรมวิธีที่ 3. ด้วงเต่าสตีธอรัส 2 ตัวต่อไรแดงหม่อน *T. truncatus* 100 ตัว (1:50)

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 4. ด้วงเต่าสตีธอรัส 1 ตัวต่อไรแดงหม่อน *T. truncatus* 100 ตัว (1:100)

กรรมวิธีที่ 5. ด้วงเต่าสตีธอรัส 0 ตัวต่อไรแดงหม่อน *T. truncatus* 100 ตัว

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำไรแดงหม่อน *T. truncatus*ใส่ลงบนมันสำปะหลังต้นละ 100 ตัว ซ้ำละ 2 ต้น ปล่อยให้ไรแดงหม่อนเพิ่มปริมาณเป็นเวลา 3 วันจากนั้นปล่อยตัวเต็มวัยด้วงเต่าสตีธอรัส *S. pauperculus*ในอัตราส่วนตามกรรมวิธี สุ่มใบมันสำปะหลังจำนวน 2 ใบย่อยต่อต้น ตรวจนับจำนวนด้วงเต่าสตีธอรัสและไรแดงหม่อนใต้กล้องจุลทรรศน์ หลังปล่อย 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน

*ขั้นตอนที่ 4*ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อด้วงเต่าสตีธอรัส *S.pauperculus*(2564)

การเตรียมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

เตรียมสารทดสอบจำนวน 14 ชนิด ประกอบด้วย thiamethoxam, dinotefuran, prothiofos, thiamethoxam/lamda-cyhalathrin, white oil, imidacloprid, malathion, omethoate, pyridaben, amitraz, fenbutatin oxide, spiromesifen, cyflumetofen, bifenazate ซึ่งเป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำให้ใช้ในมันสำปะหลัง ละลายสารทดสอบให้เจือจางด้วยน้ำกลั่น ตามอัตราความเข้มข้นที่แนะนำตามฉลาก

การทดสอบความเป็นพิษ

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 15 กรรมวิธีคือ

กรรมวิธีที่ 1. thiamethoxam 25% WG อัตรา 4 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2. dinotefuran 10% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3. prothiofos 50% EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4. thiamethoxam/lamda-cyhalathrin 24.7% ZC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5. white oil 67% EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6. imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7. malathion 83% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8. omethoate 50% SL อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9. pyridaben 20%WP อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10. amitraz 20% EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11. fenbutatin oxide 50% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 12. spiromesifen 24% SC อัตรา 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 13. cyflumetofen 20% W/V SC อัตรา 8 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 14. bifenazate 48% W/V SC อัตรา 5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 15. ไม่พ่นสาร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำด้วงเต่าสตีธอรัสระยะไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย ใส่กล่องพลาสติก ขนาด 5x7 เซนติเมตร กล่องละ 10 ตัว ให้ได้รับสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามกรรมวิธีที่กำหนด โดยพ่นด้วยเครื่อง TLC sprayer เพื่อหาความเป็นพิษ บันทึกจำนวนตายของด้วงเต่าสตีธอรัส *S.pauperculus* ระยะไข่ ระยะตัวอ่อน และตัวเต็มวัยหลังถูกพ่นสารเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

จัดกลุ่มความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ทำให้ด้วงเต่าสตีธอรัสตาย ตามวิธีของ Hassan (1994) ดังนี้

ไม่มีพิษ (harmless) มีเปอร์เซ็นต์ตาย < 30%

มีพิษน้อย (slightly harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย 30- 79%

กรมวิชาการเกษตร

มีพิษปานกลาง (moderately harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย 80- 99%

มีพิษร้ายแรง (harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย > 99%

- การบันทึกข้อมูล

- จำนวนตายของด้วงเต่าสตีธอรัส *S.pauperculus* ระยะไข่ ระยะตัวอ่อน และตัวเต็มวัย

การทดลองที่ 1.27 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวในมะพร้าว (2561-2562)

- สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* สายพันธุ์การค้า
2. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* สายพันธุ์การค้า
3. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร
4. ราเขียว *Metarhizium anisopliae*
5. ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*
6. เครื่องพ่นสารชีวภัณฑ์
7. สารจับใบ

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 ซ้ำ 6 กรรมวิธี โดยมีกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วย *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* สายพันธุ์การค้า อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2พ่นด้วย *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* สายพันธุ์การค้า อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วย *B. thuringiensis* subsp. *aizawai*สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4พ่นด้วยเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae*อัตรา 400 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5พ่นด้วยไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* อัตรา 40 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

นำมาทดสอบในแปลงปลูกมะพร้าวของเกษตรกร ที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์และปทุมธานี โดยคัดเลือกต้นมะพร้าวที่มีความสูงประมาณ 5 เมตร ระยะปลูก 6x6 เมตร ก่อนพ่นสารทำการตรวจนับหนอนหัวดำมะพร้าว รอบต้น 4 ทิศ ทิศละ 10 ใบย่อย จำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น พ่นสารตามกรรมวิธีเมื่อพบจำนวนหนอนเฉลี่ยมากกว่า 2 ตัวต่อ10 ใบย่อย ทำการตรวจนับจำนวนแมลงก่อนพ่นสารและหลังพ่นสารทุก 3, 5 และ 7 วันผสมสารจับใบและพ่นสารหลังเวลา 16.00 น. ด้วยเครื่องพ่นสะพายหลังชนิดแรงดันน้ำสูง อัตรา 5 ลิตรต่อต้น พ่นทุก 7 วัน

- การบันทึกข้อมูล

- ตรวจนับจำนวนหนอนหัวดำมะพร้าว
- บันทึกอุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน ความชื้นในช่วงเวลาที่ทำการทดลอง
- เปรียบเทียบต้นทุนการใช้สารชีวภัณฑ์แต่ละชนิดและวิธีของเกษตร

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ</u>นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (% Efficacy) ตามวิธีการของ Henderson-Tilton (Henderson and Tilton, 1955) โดยใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

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

กรมวิชาการเกษตร

โดยที่ Ta = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นสาร

Tb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นสาร

Ca = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร

Cb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร

- นำข้อมูลหนอนหัวดำมะพร้าวที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

- กรณีข้อมูลจำนวนหนอนก่อนการพ่นสารไม่แตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance

- กรณีข้อมูลจำนวนหนอนก่อนการพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Covariance เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่กรรมวิธีโดยวิธี DMRT

สถานที่ทำงานทดลอง

-ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- แปลงปลูกมะพร้าวของเกษตรกรที่มีการระบาดของหนอนหัวดำ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์และจังหวัดปทุมธานี

การทดลองที่1.28 การศึกษาระดับความเป็นพิษของไวรัส NPV ต่อหนอนผีเสื้อศัตรูพืช (2561-2562)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1.การเตรียมไวรัส NPV (2561)

ทำการเตรียมไวรัส NPV ของหนอนกระทู้ผัก (SlNPV), หนอนกระทู้หอม (SeNPV) และหนอนเจาะสมอฝ้าย(HaNPV) ด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่1x10^3, 1x10^4, 1x10^5, 1x10^6, 1x10^7และ 1x10^8PIBs/ml

2. หาช่วงความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตาย 10 – 90 เปอร์เซ็นต์ (2561)

นำหนอนผีเสื้อศัตรูพืชที่สำคัญคือ หนอนกระทู้ผักหนอนกระทู้หอมและหนอนเจาะสมอฝ้ายที่เก็บจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเทียมจนได้หนอนรุ่นที่ 1 หรือ 2นำมาทดสอบหาค่าความเป็นพิษของไวรัส NPV แต่ละชนิดตามอัตราความเข้มข้นต่างๆ โดยทำการทดลองบนอาหารเทียมสำหรับหนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอมและหนอนเจาะสมอฝ้าย ในถ้วยพลาสติกขนาด1 ออนซ์ และมีฝาปิดที่ระบายอากาศได้ หยด NPV อัตราที่จะทดสอบลงบนผิวหน้าอาหารเทียมปริมาณ 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเทียม ปล่อยให้แห้งประมาณ 3 นาที ใช้พู่กันเขี่ยหนอนใส่ถ้วยละ 1 ตัว ทดสอบกับไวรัส NPV ที่ความเข้มข้น 1x10^3, 1x10^4, 1x10^5, 1x10^6, 1x10^7 และ 1x10^8 PIBs/ml และใช้น้ำเปล่าเป็นกรรมวิธีควบคุม โดยใช้หนอน 10 ตัวต่อซ้ำ จำนวน 4 ซ้ำ

ทำการบันทึกการตายของหนอนในแต่ละกรรมวิธีทุก24 ชั่วโมงหลังการทดลองจนครบ 7 วันโดยหนอนที่ไม่ตอบสนองต่อการเขี่ยของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตายในกรณีที่ความเข้มข้นในระดับต่ำไม่ได้ผล จะตัดความเข้มข้นนั้นทิ้ง และจะเพิ่มระดับความเข้มข้นขึ้นไปอีก 10 เท่า โดยที่จำนวนระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นอยู่กับจำนวนความเข้มข้นที่ไม่ได้ผลหากพบหนอนตายใน control มากกว่า 5% ให้ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

- การบันทึกข้อมูล

- จำนวนหนอนที่ตาย

3. การศึกษาและหาค่า LC_{50}(2562)

กรมวิชาการเกษตร

เมื่อได้ช่วงความเข้มข้นของไวรัสที่ทำให้หนอนตายอยู่ในช่วง 10 – 90 เปอร์เซ็นต์แล้วจากนั้นกำหนดช่วงความเข้มข้นที่ได้ดังกล่าว แบ่งให้ได้เป็น 5 ระดับความเข้มข้น นำมาทดสอบความเป็นพิษของ SlNPV, SeNPV และ HaNPV โดยวิธีให้กิน (Diet surface contamination method) กับหนอนวัย 2, 3 และ 4 ทดลองบนอาหารเทียมโดยหยดไวรัส NPV ในอัตราต่างๆ ดังกล่าวลงบนอาหารเทียมที่เตรียมไว้ในถ้วยพลาสติกขนาด 1 ออนซ์ สำหรับทดสอบ ถ้วยละ 30 ไมโครลิตร ปล่อยหนอนทดลองลงไปถ้วยละ 1 ตัว ทำการทดสอบ 4 ซ้ำ ใช้หนอนซ้ำละ 10 ตัว

ทำการบันทึกการตายของหนอนในแต่ละกรรมวิธีทุก24 ชั่วโมงหลังการทดลองจนครบ 7 วันโดยหนอนที่ไม่ตอบสนองต่อการเขี่ยของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตายหากพบหนอนตายใน control มากกว่า 5% ให้ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

- การบันทึกข้อมูล
    - จำนวนหนอนที่ตาย

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ</u>นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์หนอนตายมาหาค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้หนอนตาย50% และ 90% ด้วยโปรแกรม Probit analysis

การทดลองที่ 1.29 การทดลองศึกษาอัตราการใช้ไวรัส NPV ในการควบคุมหนอนกระทู้หอมในหอมแบ่งด้วยวิธีการพ่นสารแบบน้ำน้อย (2561-2562)

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของอัตราการใช้ไวรัส SeNPV และอัตราพ่นต่างๆ ในการควบคุมหนอนกระทู้หอมในห้องปฏิบัติการ

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ มี 8 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วย SeNPV อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 20 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วย SeNPV อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 20 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วย SeNPV อัตรา 120 มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 20 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 4พ่นด้วย SeNPV อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 40 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 5พ่นด้วย SeNPV อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 40 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วย SeNPV อัตรา 120 มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 40 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 7พ่นด้วย SeNPV อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 100 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 8 control

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

พ่นสารทดลองตามกรรมวิธีต่าง ๆ ข้างต้น ลงในแปลงปลูกหอมแบ่งที่มีอายุ 30 วัน หลังพ่นสารรอประมาณ 30 นาที เพื่อให้สารทดลองแห้ง แล้วจึงนำหอมแบ่งที่ผ่านการพ่นสารในแต่ละกรรมวิธีมาให้หนอนกระทู้หอมวัย 2 กิน ในอัตรา 1 ต้นต่อตัว โดยใช้หนอนทดลองซ้ำละ 10 ตัว ปล่อยให้หนอนกินต้นหอมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงย้ายหนอนทดลองลงอาหารเทียมเลี้ยงแมลง และตรวจนับอัตราการตายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนหนอนที่ตาย

*ขั้นตอนที่ 2*เปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้ไวรัส NPV ในการควบคุมหนอนกระทู้หอมในสภาพไร่ ระหว่างวิธีพ่นสารแบบน้ำน้อยและวิธีพ่นสารแบบน้ำมาก

กรมวิชาการเกษตร

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 SeNPV อัตรา A มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 20 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 2 SeNPV อัตรา B มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 40 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 3 SeNPV อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราพ่น 100 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 4 spinetoram 12% SC อัตรา 14 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราพ่น 100 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 5 control

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

คัดเลือกอัตราการใช้ไวรัสที่ดีที่สุดในการฆ่าหนอนในแต่ละอัตราพ่นในขั้นตอนที่ 1 มาทำการทดลองเปรียบเทียบ ทำการทดลองในแปลงหอมแบ่งขนาดแปลงย่อย 2x5 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 50 เซนติเมตร ใช้เครื่องพ่นเครื่องยนต์สะพายหลังชนิดแรงดันน้ำสูงและเครื่องพ่นเครื่องยนต์สะพายหลังแบบใช้แรงลม ทำการพ่นสารทดลองทุก 7วัน เริ่มพ่นสารทดลองเมื่อพบกลุ่มไข่ของหนอนมากกว่า 0.5 กลุ่มต่อตารางเมตร หรือพบการทำลายของหนอนเฉลี่ย 3 กอต่อตารางเมตร ทำการตรวจนับแมลง โดยสุ่มนับแปลงย่อยละ 20 กอ ทำการพ่นสารไม่น้อยกว่า 4 ครั้งตลอดการทดลอง สุ่มตรวจนับ จำนวนไข่ การทำลายของหนอน และบันทึกผลผลิตที่มีคุณภาพจำหน่ายได้ (marketable yield) นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- การบันทึกข้อมูล

- จำนวนไข่ การทำลายของหนอน

- ผลผลิตที่มีคุณภาพจำหน่ายได้

- ต้นทุนการพ่นสาร

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u>นำข้อมูลจำนวนไข่ หนอน น้ำหนักผลผลิต และต้นทุนการพ่นสาร ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ทำการทดลอง

- ห้องปฏิบัติการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- แปลงปลูกหอมแบ่งในสภาพไร่ของเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรีและอุตรดิตถ์

การทดลองที่ 1.30การใช้ไวรัส NPV ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก(*Spodoptera litura* (Fabricius)) ในเผือก (2561-2562)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำมี 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 SlNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2SlNPV อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3SlNPV อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4SlNPV อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5SlNPV อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7control

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

กรมวิชาการเกษตร

ทำการทดลองในแปลงเผือก ขนาดแปลงย่อย 5x5 เมตร ระยะปลูก 0.5x1 เมตร โดยใช้เครื่องยนต์พ่นสารแบบสะพายหลัง อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ ทำการพ่นสารทดลองทุก 7 วัน เริ่มพ่นสารทดลองเมื่อพบกลุ่มไข่ของหนอนมากกว่า 0.5 กลุ่มต่อตารางเมตรหรือพบหนอนเฉลี่ย 1 ตัวต่อต้น ทำการตรวจนับแมลง ก่อนพ่นสารทดลองทุกครั้งและหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 7 วัน โดยสุ่มนับแปลงย่อยละ 10 ต้นโดยพ่นสารทดลองไม่น้อยกว่า 5 ครั้งตลอดการทดลองตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่ จำนวนหนอน เปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอน และเก็บเกี่ยวผลผลิต

- การบันทึกข้อมูล

- ข้อมูล จำนวนกลุ่มไข่ จำนวนหนอน เปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอน
- ผลผลิตที่มีคุณภาพจำหน่ายได้ (marketable yield)

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u>นำข้อมูลจำนวนกลุ่มไข่ จำนวนหนอน เปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอน และน้ำหนักผลผลิตที่มีคุณภาพจำหน่ายได้ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ทำการทดลอง

- ห้องปฏิบัติการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- แปลงปลูกเผือกในสภาพไร่ของเกษตรกรในจังหวัดนครปฐมและจังหวัดกาญจนบุรี

การทดลองที่ 1.31 ศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมพร้อมใช้อย่างง่าย (2561)

วิธีการ

1. การทดสอบอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงขยายเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม

วางแผนการทดลอง แบบ CRD จำนวน 5 กรรมวิธี 5 ซ้ำ (ซ้ำละ 5 ถุง) ดังนี้

กรรมวิธี 1 ปลายข้าว

กรรมวิธี 2 ข้าวฟ่าง

กรรมวิธี 3 ข้าวสาร

กรรมวิธี 4 มันเส้น

กรรมวิธี 5 ข้าวโพดบดหยาบ (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละกรรมวิธีปริมาตร 200 กรัม ใส่ถุงพลาสติกเลี้ยงเชื้อ ขนาด 9 x 30 เซนติเมตร เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ใช้ราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบเชื้อสดเป็นหัวเชื้อเพื่อขยายในแต่ละกรรมวิธี โดยลนไฟฆ่าเชื้อช้อนที่ใช้ตัก และปล่อยให้เย็น จากนั้นตักเชื้อสดในถุงหัวเชื้อที่เตรียมอัตรา 1 ช้อนโต๊ะ ถ่ายใส่ถุงอาหารที่เตรียมไว้ (ปริมาตร 200 กรัม) หัวเชื้อราเขียว 1 ถุง สามารถขยายต่อได้จำนวน 20 ถุง คลุกให้เชื้อกระจาย ทั่วอาหาร นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน 14 วัน เชื้อราเขียว จะเจริญเติบโตและสร้างโคนิเดียจนเต็มถุง นับจำนวนโคนิเดียที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีเพื่อเปรียบเทียบหาอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม

2. วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมอย่างง่ายที่เหมาะสม

วางแผนการทดลอง แบบ CRD จำนวน 10 กรรมวิธี 5 ซ้ำ (ซ้ำละ 5 ถุง) ดังนี้

กรรมวิธี 1 กรรมวิธี A โดยหุงด้วยหม้อไฟฟ้า

กรรมวิธี 2 กรรมวิธี B โดยหุงด้วยหม้อไฟฟ้า

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธี 3 กรรมวิธี C โดยหุงด้วยหม้อไฟฟ้า

กรรมวิธี 4 กรรมวิธี A โดยวิธีการต้มสุก

กรรมวิธี 5 กรรมวิธี B โดยวิธีการต้มสุก

กรรมวิธี 6 กรรมวิธี C โดยวิธีการต้มสุก

กรรมวิธี 7 กรรมวิธี A โดยวิธีการนึ่งสุก

กรรมวิธี 8 กรรมวิธี B โดยวิธีการนึ่งสุก

กรรมวิธี 9 กรรมวิธี C โดยวิธีการนึ่งสุก

กรรมวิธี 10 กรรมวิธีเปรียบเทียบ โดยใช้ข้าวโพดบดหยาบนึ่งฆ่าเชื้อ

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

จากขั้นตอนที่ 1 เลือกพืชอาหารที่ดีที่สุด 3 กรรมวิธีแรกมาทดสอบ (A, B, C)

<u>การเตรียมอาหารโดยวิธีหุงด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า</u>

หุงธัญพืชต่างๆ ในหม้อหุงข้าวไฟฟ้า เมื่ออาหารสุกตักใส่ถุงพลาสติกขณะที่ยังร้อนประมาณ 100 กรัม/ถุง ปิดด้วยคอขวดและจุกสำลี ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงใส่เชื้อสดในอัตรา 1 ช้อนโต๊ะ (เช่นเดียวกับข้อ 1) คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 3 องศาเซลเซียส) สังเกตการงอกของเชื้อ และการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ

<u>การเตรียมอาหารโดยวิธีการต้มสุก</u>

ต้มวัสดุทดลองต่างๆ ด้วยเตาแก๊ส ให้สุก ตักวัสดุทดลองใส่ถุงพลาสติกขณะที่ยังร้อนประมาณ 100 กรัม/ถุง ปิดด้วยคอขวดและจุกสำลี ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงใส่เชื้อสดในอัตรา 1 ช้อนโต๊ะ (เช่นเดียวกับข้อ 1) คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 3 องศาเซลเซียส) สังเกตการงอกของเชื้อ และการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ

<u>การเตรียมอาหารโดยวิธีการนึ่งสุก</u>

นึ่งวัสดุทดลองต่างๆ ในซึ้งให้สุก ตักวัสดุทดลองใส่ถุงพลาสติกขณะที่ยังร้อนประมาณ 100 กรัม/ถุง ปิดด้วยคอขวดและจุกสำลี ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงใส่เชื้อสดในอัตรา 1 ช้อนโต๊ะ (เช่นเดียวกับข้อ 1) คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 3 องศาเซลเซียส) สังเกตการงอกของเชื้อ และการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ

การบันทึกข้อมูล

- นับจำนวนโคนิเดีย และปริมาณการงอกของเชื้อ เพื่อเปรียบเทียบในแต่ละกรรมวิธี หลังเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน
- เปรียบเทียบผลจากการเลี้ยงเชื้อ ข้อดี/ข้อเสีย ของการเลี้ยงเชื้อที่เกิดขึ้นในแต่ละกรรมวิธี
- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติที่เหมาะสม

เวลาและสถานที่

: เริ่มต้น ตุลาคม 2560 สิ้นสุด กันยายน 2561

ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

การทดลองที่ 1.32 วิธีการที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงแรดในสภาพไร่(2561-2562)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

<u>การเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม</u>

กรมวิชาการเกษตร

เลี้ยงขยายเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในอาหารเหลว (PDB) โดยตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราเขียวขนาดประมาณ 1 X 1 เซนติเมตร ถ่ายใส่ลงในflask อาหารเหลว นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 180 รอบ/นาที เป็นเวลานาน 4 วัน ตรวจเช็คการปนเปื้อนของเชื้ออื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนจะนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบ โดยเตรียมข้าวโพดบดหยาบ 100 กรัม เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (28±2°C) เป็นเวลานาน 14 วัน เชื้อราเขียวจะเจริญเติบโตและสร้างโคนิเดียจนเต็มถุงและอัดเม็ด

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1. หว่านเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบเม็ดความเข้มข้น1x 10^8โคนิเดีย/กรัม อัตรา 400 กรัมต่อกองกับดัก

กรรมวิธีที่ 2. พ่นเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบผง ความเข้มข้น 1x 10^8โคนิเดีย/กรัม โดยใช้เครื่องยนต์พ่นสารแบบสะพายหลัง อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่3. อัดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบผงใช้เครื่อง Soil injection ความเข้มข้น 1x 10^8โคนิเดีย/กรัม อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4. ใส่เชื้อสด

กรรมวิธีที่ 5. Control

<u>การทดสอบประสิทธิภาพ</u>

ทำกองกับดักโดยขุดบ่อขนาดความจุ 2 x 2 x 0.50 เมตรใส่เศษวัสดุจำพวก มะพร้าวและ ปาล์ม ลงในบ่อให้เต็ม ใส่หนอนด้วงแรดบ่อละ 50 ตัว ทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมตามกรรมวิธีต่างๆ หาวัสดุคลุมกองกับดักหลังจากพ่นเชื้อราเขียว เช็คผลเดือนละ 1 ครั้ง (ประมาณ 1-2 เดือน)

- การบันทึกข้อมูล
- นับจำนวนหนอนด้วงแรดที่ติดเชื้อเพื่อเปรียบเทียบในแต่ละกรรมวิธี
- บันทึกระยะเวลาในการทำให้หนอนด้วงแรดติดเชื้อในแต่ละกรรมวิธี

-วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติที่เหมาะสม

สถานที่ทำการทดลอง

กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ และแปลงเกษตรกรจังหวัดชุมพร

การทดลองที่ 1.33 ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุมแมลงนูนหลวง *Lepidiota stigma* Fabricius ในมันสำปะหลัง (2561-2562)

ทดสอบศักยภาพในห้องปฏิบัติการ(2561)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* อัตรา 5 x 10^6ตัว/ตารางเมตร

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 2ไส้เดือนฝอย *Steinernema riobravae*อัตรา 5 x 10^6 ตัว/ตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 3ไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* อัตรา 5 x 10^6 ตัว/ตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 4 ไส้เดือนฝอย *Steinernema siamkayai* อัตรา 5 x 10^6 ตัว/ตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีควบคุม (น้ำกลั่น)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 4ชนิดในการควบคุมหนอนแมลงนูนหลวงวัย 1ทำการทดลองในกล่องพลาสติก ขนาด 7.0 x 9.5 x 5 เซนติเมตร ใส่ทราย 10 กรัม ให้ความชื้นด้วยน้ำกลั่นใส่ไส้เดือนฝอยตามกรรมวิธีต่างๆ ลงในกล่องพลาสติก สำหรับกรรมวิธีควบคุมใส่น้ำเปล่า เก็บที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 ชั่วโมงหลังจากนั้นใส่หนอนแมลงนูนหลวงลงในกล่องพลาสติก กล่องละ 1 ตัวปิดฝากล่องทดลองให้สนิททำการตรวจนับจำนวนหนอนแมลงนูนหลวงที่ตายในแต่ละกรรมวิธี ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 3สัปดาห์และนำหนอนแมลงนูนหลวงที่ตายมาวางในกล่องชื้นเพื่อล่อไส้เดือนฝอยออกจากซากแมลงอาศัย

2. ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 4ชนิดกับหนอนแมลงนูนหลวง วัย 2 และ 3 โดยทำการทดสอบเช่นเดียวกับหนอนวัย 1

- การบันทึกข้อมูล

- ตรวจนับจำนวนหนอนแมลงนูนหลวงที่ตายในแต่ละกรรมวิธี ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 สัปดาห์

- ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่ออกจากซากแมลงอาศัย

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ</u>

นำข้อมูลจำนวนหนอนแมลงนูนหลวงที่ตายคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การตาย และจำนวนไส้เดือนฝอยที่ออกจากซากแมลงอาศัย วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

ทดสอบศักยภาพในโรงเรือนทดลอง(2562)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRDจำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 กระถาง

นำข้อมูลจากทดลองในขั้นตอนที่ 1 ไปทดลองขยายผลในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยคัดเลือกชนิดของไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดที่ทำให้แมลงนูนหลวงตายจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ อย่างน้อย 2 กรรมวิธี มาทดสอบในโรงเรือนทดลอง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นสาร fipronil 5% SCอัตรา 320 มล./ไร่ และกรรมวิธีควบคุม (พ่นน้ำเปล่า)

ทำการทดลองโดยปลูกต้นมันสำปะหลังในกระถาง กระถางละ 1 ต้น ราดไส้เดือนฝอยตามกรรมวิธีต่างๆ ลงดินในกระถางมันสำปะหลังก่อนปล่อยหนอนแมลงนูนหลวงกระถางละ 10ตัวต่อกระถาง ราดไส้เดือนฝอยอย่างน้อย 3 ครั้ง ทุก 4 วันตรวจนับจำนวนหนอนแมลงนูนหลวงที่ตายในทุกกรรมวิธีการทดลองที่ 3, 5, 7, 14 และ 21วันหลังราดสาร และตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่ออกจากซากแมลงอาศัย

- การบันทึกข้อมูล

ตรวจนับจำนวนหนอนแมลงนูนหลวงที่ตายในทุกกรรมวิธีการทดลองที่ 3, 5, 7, 14 และ 21วันหลังราดสาร และตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่ออกจากซากแมลงอาศัย

กรมวิชาการเกษตร

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิตินำข้อมูลจำนวนหนอนแมลงนูนหลวงที่ตายคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การตาย และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

การทดลองที่ 1.34 การศึกษาการเพาะเลี้ยงแตนเบียนเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphidius* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) (2562-2563)

- แบบและวิธีการทดลอง

วิธีดำเนินการวิจัยแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาชีววิทยาและศักยภาพของแตนเบียนเพลี้ยอ่อน (ปี 2562)

1) เก็บรวบรวมแตนเบียนเพลี้ยอ่อน

เก็บรวบรวม เพลี้ยอ่อนและแตนเบียนเบียนเพลี้ยอ่อนที่มีความสัมพันธ์กันจากแปลงปลูกคะน้าและแตงกวานำกลับมาเพาะเลี้ยงและศึกษาในห้องปฏิบัติการต่อไปโดยเลือกชนิดที่พบมากที่สุดในธรรมชาติเพื่อไปเพาะเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณ

2) เลี้ยงเพิ่มปริมาณเพื่อศึกษาระยะการเจริญเติบโต

เลี้ยงเพิ่มปริมาณแตนเบียนเพลี้ยอ่อน ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 30x30x30 เซนติเมตร ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส โดยภายในกรงมีเพลี้ยอ่อน พืชอาหารของเพลี้ยอ่อน และฟองน้ำชุบน้ำผึ้ง 50% ไว้เป็นอาหารของแตนเบียน เมื่อขยายปริมาณแตนเบียนได้มากพอ จึงทำการศึกษาชีพจักรของแตนเบียนโดยแยกเพลี้ยอ่อนที่ถูกแตนเบียนวางไข่ และทราบเวลาวางไข่ที่แน่นอน โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 เพื่อดูระยะการเจริญเติบโตของแตนเบียน โดยการผ่ามัมมี่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ 24 ชั่วโมง ตั้งแต่แตนเบียนวางไข่ในเพลี้ยอ่อนจนกว่าแตนเบียนจะออกเป็นตัวเต็มวัย เพื่อดูระยะการเจริญเติบโตของแตนเบียน พร้อมบันทึกภาพและขนาดของของแตนเบียนทุกระยะการเจริญเติบโต

ส่วนที่ 2 เพื่อดูชีพจักรของแตนเบียน โดยการแยกมาเลี้ยงในหลอดพลาสติกเลี้ยงแมลง สังเกตลักษณะสีที่เปลี่ยนไปของเพลี้ยอ่อนที่ถูกเบียน พร้อมบันทึกวันและเวลาที่เกิดการเปลี่ยนแปลงจนกว่าจะพบแตนเบียนจะออกเป็นตัวเต็มวัย

- บันทึกข้อมูล

- เพลี้ยอ่อนที่ถูกเบียน: วันและเวลาที่ถูกเบียน ขนาดของเพลี้ยอ่อน วันและเวลาที่ลักษณะภายนอกมีการเปลี่ยนแปลงพร้อมบันทึกภาพ

- แตนเบียน: บันทึกภาพ พฤติกรรมการวางไข่ ขนาดและวันที่ ทุกระยะการเจริญเติบโตวงจรชีวิต

3) การศึกษาศักยภาพของแตนเบียนเพลี้ยอ่อน

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1ใส่แตนเบียนเพศเมียต่อเพลี้ยอ่อนในอัตรา 1:1

กรรมวิธีที่ 1 ใส่แตนเบียนเพศเมียต่อเพลี้ยอ่อน ในอัตรา 1:5

กรรมวิธีที่ 1 ใส่แตนเบียนเพศเมียต่อเพลี้ยอ่อน ในอัตรา 1:10

กรรมวิธีที่ 1 ใส่แตนเบียนเพศเมียต่อเพลี้ยอ่อน ในอัตรา 1:15

กรรมวิธีที่ 1 ใส่แตนเบียนเพศเมียต่อเพลี้ยอ่อน ในอัตรา 1:20

1. ทำการคัดแยกแตนเบียนเพศเมียเพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพกับเพลี้ยอ่อนชนิดอื่นๆ ที่สำรวจพบจากการทดลองที่ 1 โดยใส่แตนเบียนเพลี้ยอ่อนเพศเมีย 1 ตัวต่อจำนวนเพลี้ยอ่อนวัย 3 ในหลอดพลาสติกที่ฝามีช่องระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร

กรมวิชาการเกษตร

สูง 5 เซนติเมตรที่อัตราต่างๆ ตามแต่ละกรรมวิธี โดยทดสอบอัตราละ 5 ซ้ำ ปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนเพลี้ยอ่อน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. นำแตนเบียนเพศเมียออกจากหลอดแล้วปล่อยในหลอดทดสอบใหม่ที่มีเพลี้ยอ่อนในจำนวนเดียวกันตามแต่ละกรรมวิธี บันทึกวัน เดือนปี ที่เบียนไว้ที่ฝากล่อง ทำเช่นเดียวกันทุกๆ 24 ชั่วโมง สังเกตพฤติกรรมการเบียนและบันทึกผล ทุก 24 ชั่วโมง จนกว่าแตนเบียนเพลี้ยอ่อนจะตาย

- บันทึกข้อมูล

- จำนวนมัมมี่ จำนวนแตนที่ออกเป็นตัวเต็มวัย และอัตราส่วนเพศ

- วัน เวลา การเปลี่ยนแปลงลักษณะของมัมมี่ จนกระทั่งแตนเบียนออกเป็นตัวเต็มวัย

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาการเพาะเลี้ยงแตนเบียนเพลี้ยอ่อนในสภาพห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ (28±2 องศาเซลเซียส)และในสภาพห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิ(ปี 2563)

เพาะเลี้ยงแมลงอาศัย:นำเพลี้ยอ่อนชนิดที่มีความสัมพันธุ์กันกับแตนเบียนที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในกรงตาข่ายเลี้ยงแมลงที่มีพืชอาหาร ขนาด 50x50x100 เซนติเมตร

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย 2 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เพาะเลี้ยงแตนเบียนเพลี้ยอ่อนในสภาพห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ (28±2 องศาเซลเซียส)

กรรมวิธีที่ 2 เพาะเลี้ยงแตนเบียนเพลี้ยอ่อนในสภาพห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิ

- วิธีการปฏิบัติการทดลอง

1) นำแตนเบียนจากขั้นตอนที่ 1จำนวน 10 คู่ ใส่ในกล่องพลาสติกใสเลี้ยงแมลงขนาด 10x14 เซนติเมตร ฝากล่องด้านบนเจาะช่องระบายอากาศปิดด้วยตะแกรงละเอียด โดยภายในมีฟองน้ำชุบน้ำผึ้ง 50% ไว้เป็นอาหารของแตนเบียนปล่อยให้แตนเบียนผสมพันธุ์กัน 1 วัน

2) นำเพลี้ยอ่อนที่มีวัยและขนาดที่เหมาะสม จำนวน 50 ตัว วางบนใบพืชอาหารใส่ไปในกล่องที่มีแตนเบียนปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนเพลี้ยอ่อน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3) ย้ายเพลี้ยอ่อนออกไปใส่ในกล่องใหม่ บันทึกวัน เดือนปี ที่เบียนไว้ที่ฝากล่อง

4) นำเพลี้ยอ่อนที่มีขนาดที่เหมาะสม จำนวน 50 ตัว ใส่เข้าไปใหม่ ในกล่องที่มีแตนเบียนกล่องเดิม ทำเช่นเดิมตามข้อ 2 และ 3 เช่นนี้จนกว่าแตนเบียนจะตาย

- บันทึกข้อมูล

- จำนวนมัมมี่ จำนวนแตนที่ออกเป็นตัวเต็มวัย และอัตราส่วนเพศ

ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ผลแบบ t-test

สถานที่ทำการทดลอง

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

- ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรปราจีนบุรี อำเภอกบินทร์บุรี จังหวัดปราจีนบุรี

- จังหวัดปทุมธานีกาญจนบุรีราชบุรีนครปฐม และสุพรรณบุรี

การทดลองที่ 1.35 ทดสอบผลของสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมะพร้าวต่อแมลงศัตรูธรรมชาติของหนอนหัวดำมะพร้าว (*Opisina arenosella* Walker) (2562-2563)

- แบบและวิธีการทดลอง

กรมวิชาการเกษตร

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำจำนวน 13กรรมวิธี ดังนี้

1. thiamethoxam 25%WG อัตรา 8 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
2. imidacloprid 70%WS อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
3. chlorpyrifos 40% EC อัตรา 80 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
4. carbaryl 85% WP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
5. lambdacyhalothrin 2.5% EC อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
6. *Bacillus thuringiensis* อัตรา 80 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
7. chlorantraniliprole 5.17% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
8. flubendiamide 20% WG อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
9. lufenuron5% EC, อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
10. spinosad12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
11. emamectin benzoate1.92% EC อัตรา 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
12. abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
13. น้ำเปล่า

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เตรียมสารละลายสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมะพร้าวตามกรรมวิธีที่กำหนด ทำการทดสอบแบบ dry film method โดยการเทสารป้องกันกำจัดแมลงแต่ละกรรมวิธีที่กำหนดลงในหลอดทดลองขนาดกว้าง 13x10 มิลลิเมตร ให้เต็มหลอด ทิ้งไว้ประมาณ 5 วินาที เพื่อให้สารเคลือบพื้นผิวหลอดภายในทั้งหมด

2. เทสารออกจากหลอดทดลอง แล้ววางหลอดทดลองทิ้งไว้ให้แห้ง โดยทิ้งไว้ 1 วัน, 7 วัน และ 14 วันหลังเคลือบสารฯ

3. เมื่อครบกำหนดวันหลังเคลือบสารตามกำหนด ปล่อยแตนเบียนโกนิโอซัส นีแฟนติดีสเข้าไปในหลอดทดลองที่เตรียมไว้ จำนวนหลอดละ 10 ตัว (ตัวผู้ 5 ตัว ตัวเมีย 5 ตัว) ปิดด้วยผ้าขาวบาง

4. ตรวจนับจำนวนตัวแตนเบียนที่ตาย หลังทิ้งไว้ให้แตนเบียนสัมผัสสารแล้ว 24 และ 48 ชั่วโมง วิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบผลทางสถิติ

5. ทำเช่นเดียวกันนี้ ตั้งแต่ข้อ 1-4 สำหรับแตนเบียนบราคอน และแตนเบียนไข่ไตรโคแกรมมา

- การบันทึกข้อมูล

- จำนวนแตนเบียนที่ตาย
- จัดระดับความเป็นพิษของสารฯ ตามวิธีการจัดลำดับความเป็นพิษของ IOBC (Hassan, 1994) ดังนี้

ไม่มีพิษ (harmless) มีเปอร์เซ็นต์ตาย< 30%

มีพิษน้อย (slightly harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย 30 – 79%

มีพิษปานกลาง (moderately harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย 80 – 99%

มีพิษร้ายแรง (harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย> 99%

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u>นับจำนวนตัวแตนเบียนที่ตาย มาวิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบผลทางสถิติ

การทดลองที่ 1.36 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus thuringiensis*โดยใช้เครื่องพ่นสารชนิดต่างๆ ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (HÜbner) ในหอมแบ่ง (2562–2563)

กรมวิชาการเกษตร

แบบและวิธีการทดลอง

แผนการวิจัย วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 พ่นเชื้อ Bt อัตรา 80 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยเครื่องยนต์พ่นสาร

สะพายหลังแบบใช้แรงลมประกอบหัวฉีดแบบ wizza อัตราน้ำ20 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 2 พ่นเชื้อ Bt อัตรา 80 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยเครื่องยนต์พ่นสาร

สะพายหลังแบบใช้แรงลมประกอบหัวแบบฝักบัว อัตราน้ำ20 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 3 พ่นเชื้อ Bt อัตรา 80 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยเครื่องยนต์พ่นสาร

แบบแรงดันน้ำสูงประกอบคานหัวฉีดแบบพัด 3-5 หัว อัตราน้ำ80 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 4 พ่นเชื้อ Bt อัตรา 80 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยเครื่องเครื่องยนต์

พ่นสารแบบแรงดันน้ำประกอบหัวฉีดแบบคาน 3 หัวอัตราน้ำ80 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 5 พ่นเชื้อ Bt อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยเครื่องยนต์พ่นสาร

แบบแรงดันน้ำประกอบหัวฉีดแบบปรับท้ายอัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 6 พ่นสารฆ่าแมลงตามวิธีของเกษตรกร ด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำประกอบหัวฉีด

แบบปรับท้าย อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

กรรมวิธีที่ 7ไม่พ่นสาร

วิธีการปฏิบัติ

ดำเนินการทดสอบในแปลงหอมแบ่งของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อยไม่น้อยกว่า 30 ตารางเมตรเริ่มพ่นเชื้อ Btอัตรา การใช้ตามคู่มือคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553เริ่มพ่นเชื้อ Bt ตามกรรมวิธีทดลองโดยใช้อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ เมื่อพบไข่หนอนกระทู้หอม 0.5 กลุ่มต่อตารางเมตร หรือกอถูกทำลาย 10% ขึ้นไป สุ่มตรวจนับโดยใช้ตารางสุ่ม ขนาด 0.5x0.5 เมตร จำนวน 4 จุดต่อแปลงย่อย พ่นสารทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ทุก 5 วัน ทำการตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่และกอที่ถูกทำลายก่อนพ่นสารทุกครั้ง และหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 5 วันทำการตรวจนับจำนวนหนอนกระทู้หอมหลังพ่นการตรวจผลครั้งสุดท้าย นำข้อมูลไปวิเคราะห์และเปรียบเทียบทางสถิติโดยวิธีการที่เหมาะสม และคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดโดยใช้สูตรของ Henderson-Tilton (Henderson and Tilton, 1992) ดังนี้

% Efficacy = [1 – (TaxCb/CaxTb)] X 100

โดยที่ Tb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง

Ta = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง

Cb = จำนวนแมลงที่พบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารฆ่าแมลง

Ca = จำนวนแมลงที่พบหลังพ่นสารในกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารฆ่าแมลง

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนแมลงศัตรูหอมแบ่งที่พบระหว่างการทดลอง
- บันทึกชนิดและจำนวนศัตรูธรรมชาติ
- นำข้อมูลที่ได้จากการบันทึกไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองที่ 1.37 การผลิตและการใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea*(stephens) ควบคุมเพลี้ยอ่อน *Aphis*sp. ในสตรอเบอรี่ (2562-2564)

- แบบและวิธีการทดลอง
- วิธีปฏิบัติการทดลอง

กรมวิชาการเกษตร

ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน

ขั้นตอนที่ 1 เลี้ยงขยายแมลงช้างปีกใส *C. carnea*

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาอัตราการใช้แมลงช้างปีกใส *C. carnea*ที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในเรือนทดลอง

ขั้นตอนที่ 3 ใช้อัตราแมลงช้างปีกใส *C. carnea*ที่เหมาะสม (จากขั้นตอนที่ 2) ไปทดสอบในสภาพไร่

ขั้นตอนที่ 1 เลี้ยงขยายแมลงช้างปีกใส *C. carnea*(2562- 2564)

นำตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใส *C.carnea*ใส่ในโหลแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 นิ้ว สูง 5 นิ้ว ใส่โหลละ 30 ตัว (ตัวผู้ 10: ตัวเมีย 20) ปิดโหลด้วยผ้าขาวบาง ให้น้ำผึ้ง + ยีสต์ เป็นอาหารตัวเต็มวัย และให้วางสำลีชุบน้ำไว้บนผ้าขาวบางเพื่อให้ความชื้น หลังจากนั้นตัวเต็มวัยจะวางไข่ รอบๆโหล เปลี่ยนย้ายโหลนำตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใสใส่โหลใหม่ให้อาหารและน้ำเหมือนครั้งแรก นำโหลเก่าที่มีไข่แมลงช้างปีกใสไปทำการฟักโดยใช้ กระดาษทิชชูฉีกเป็นริ้วๆใส่ในโหล แล้วโรยด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร เพื่อเป็นอาหารของตัวอ่อน ปิดโหลด้วยผ้าขาวบาง วางไว้จนกระทั่งไข่ฟักเป็นตัวอ่อน ประมาณ 5 วัน ตัวอ่อนระยะ 1 ให้ทำการเปลี่ยนย้ายตัวอ่อนระยะที่ 1 นำไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 18 x 26 x 10 เซนติเมตร ให้ไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นอาหาร อีก 5 วัน จะเก็บเกี่ยวไปใช้ควบคุมเพลี้ยอ่อนได้ เก็บส่วนหนึ่งเลี้ยงไว้ภายในกล่องจนกระทั่งเข้าดักแด้ เก็บดักแด้ออกมา เตรียมเป็นตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยไปเลี้ยงในโหลเลี้ยงตัวเต็มวัยเพื่อผลิตตัวอ่อนรุ่นต่อไป

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนแมลงช้างปีกใสที่ผลิตได้
- บันทึกปริมาณไข่ผีเสื้อข้าวสารที่ใช้
- ต้นทุนการผลิต

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาอัตราการใช้แมลงช้างปีกใส *C. carnea* ที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยอ่อน *Aphis*sp.ในสตรอเบอรีในเรือนทดลอง(2562- 2563)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

แผนการวิจัย วางแผนแบบ CRD มี5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำๆ ละ 4 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1. ปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 จำนวน 5 ตัว/ต้น

กรรมวิธีที่ 2.ปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 จำนวน 10 ตัว/ต้น

กรรมวิธีที่ 3. ปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 จำนวน 15 ตัว/ต้น

กรรมวิธีที่ 4. ปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 จำนวน 20 ตัว/ต้น

กรรมวิธีที่ 5.ไม่ปล่อยแมลงช้างปีกใส

ดำเนินการทดลองในเรือนทดลองอาคารวิจัยแมลงศัตรูธรรมชาติ ใช้ต้นสตรอเบอรี่ที่ปลูกในกระถางที่มีอายุประมาณ 2 สัปดาห์ วางแผนการทดลอง แบบ CRD มี 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆละ 4 ต้น ใช้ต้นสตรอเบอรี่ กรรมวิธีละ16ต้นทำการระบาดเทียมของเพลี้ยอ่อน*Aphis* sp.ตรวจนับจำนวนเพลี้ยอ่อนให้มีการระบาดเท่าๆกัน 20 ตัวต่อใบย่อย หลังจากนั้น ปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส *C. carnea*ตามกรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีแยกโดยใช้ฉากกั้น หลังจากปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างแล้ว 24 ชั่วโมง ทำการตรวจนับปริมาณเพลี้ยอ่อนที่เหลือ

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อนที่เหลือ

ขั้นตอนที่ 3 ใช้อัตราแมลงช้างปีกใส *C. carnea ที่เหมาะสม* (จากขั้นตอนที่ 2) ไปทดสอบในสภาพไร่(2564)

ปลูกสตรอเบอรี่ในแปลงขนาด 1 งาน ระยะปลูกระหว่างต้น 25-30 เซนติเมตร ระหว่างแถว 30-40 เซนติเมตร ปลูกแบบสลับฟันปลา ได้ ต้นสตรอเบอรี่ ประมาณ 200ต้น ทำการสุ่มต้นสตรอเบอรี่ จำนวน 100 ต้น เมื่อพบการระบาดของเพลี้ยอ่อน เฉลี่ย 5 ตัวต่อใบย่อยเกิน 10 ต้น ให้ ปล่อยแมลงช้างปีกใส *C. carnea*ตามอัตราที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 ปล่อย

กรมวิชาการเกษตร

บนต้นสตรอเบอรี่ที่พบการระบาดก่อน ทำเครื่องหมายต้นสตรอเบอรี่ที่ปล่อย ปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส ทุกๆ 7 วัน ต่อจากนั้นให้ทำการสำรวจการระบาดต่อไป เมื่อพบการระบาดให้เริ่มปล่อยแมลงช้างปีกใส เปรียบเทียบกับแปลงที่ไม่ปล่อยแมลงช้างปีกใส*C. carnea*เก็บข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนทั้งสองแปลงหลังจากปล่อยทุกๆสัปดาห์จนกระทั่งเก็บผลผลิต

การบันทึกข้อมูล

- ระยะเวลาการเข้าระบาดของเพลี้ยอ่อน
- จำนวนต้นสตรอเบอรี่ที่พบการระบาด
- จำนวนครั้งที่ปล่อยแมลงช้างปีกใส
- จำนวนตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสที่ใช้
- ผลผลิตที่ได้ น้ำหนัก คุณภาพ

การทดลองที่ 1.38 การผลิตขยายและการใช้มวนตาโต*Geocorisochropterus* Fieber เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อน (2562 – 2564)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 เก็บรวบรวมมวนตาโต *Geocoris ochropterus* Fieber จากแปลงเกษตรกร (2562)

เก็บรวบรวมมวนตาโตจากแปลงเกษตรกร ได้แก่ นนทบุรี ปทุมธานี อยุธยา ลพบุรีสระบุรีอ่างทองชัยนาทนครนายก นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี ขอนแก่น ลพบุรี และเพชรบุรี ในพืชต่างๆ เช่น พริกมะเขือ ข้าวโพด เดือนละ 1 ครั้ง โดยใช้หลอดดูดแมลงมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการอาคารวิจัยและพัฒนาศัตรูธรรมชาติสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

- บันทึกข้อมูล จำนวนมวนตาโตที่เก็บได้ วันที่เก็บ สถานที่เก็บตัวอย่าง

ขั้นตอนที่ 2เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณมวนตาโต *Geocoris ochropterus* Fieber ในห้องปฏิบัติการ (2562)

2.1 นำตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียมาเพาะเลี้ยงรวมกันในกล่องเลี้ยงพลาสติกที่มีฝาปิด ขนาดกว้าง 15 ซม.ยาว 21.5 ซม.สูง 4 ซม. กล่องละ 1 คู่ ฝาปิดเจาะรูระบายอากาศด้านบน ใส่ต้นอ่อนทานตะวันเป็นที่หลบซ่อนและวางไข่ ให้ไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นอาหาร มุมกล่องใส่สำลีชุบน้ำ ในถ้วยพลาสติกเล็ก 1 ก้อน เพื่อให้ความชื้นภายในกล่องเลี้ยง รองด้วยกระดาษทิชชู

2.2 เมื่อตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ จึงแยกไข่บนต้นอ่อนทานตะวันออกไปเก็บไว้ในกล่องเลี้ยงพลาสติกมีฝาปิด ขนาดกว้าง 5.5 ซม. ยาว 7.2 ซม. สูง 3.7 ซม. ฝาปิดเจาะรูขนาดเล็กเพื่อระบายอากาศเมื่อตัวอ่อนฟักออกมา ให้ไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นอาหาร เพาะเลี้ยงมวนตาโตจนครบวงจรชีวิต

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

- บันทึกข้อมูลจำนวนมวนตาโตที่เพาะเลี้ยง

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาและทดสอบสูตรและชนิดของอาหารที่สามารถเพาะเลี้ยงมวนตาโต *Geocoris ochropterus* Fieber ได้ครบวงจรชีวิต (2562)

3.1 ศึกษาข้อมูลสูตรอาหารเทียมต่างๆ เพื่อนำมาพัฒนาและปรับปรุงสูตรอาหารเทียมและคัดเลือกอาหารเทียมที่มีส่วนผสมชนิดต่างๆ เช่น ตับ เนื้อหมู หนอนกระทู้ผัก เป็นต้น จำนวนไม่น้อยกว่า 8 สูตร มาทำอาหารเทียม เพื่อใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงมวนตาโต โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 9 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 อาหารเทียมสูตรที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 อาหารเทียมสูตรที่ 2

กรรมวิธีที่ 3 อาหารเทียมสูตรที่ 3

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 4 อาหารเทียมสูตรที่ 4
กรรมวิธีที่ 5 อาหารเทียมสูตรที่ 5
กรรมวิธีที่ 6 อาหารเทียมสูตรที่ 6
กรรมวิธีที่ 7 อาหารเทียมสูตรที่ 7
กรรมวิธีที่ 8 อาหารเทียมสูตรที่ 8
กรรมวิธีที่ 9ไข่ผีเสื้อข้าวสาร

3.2 นำมวนตาโต ระยะตัวอ่อนวัย 1 ถึงระยะตัวเต็มวัย วัยละ 10 ตัว มาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาดกว้าง 5.5 ซม. ยาว 7.2 ซม. สูง 3.7 ซม.รองด้วยกระดาษทิชชู ใส่ต้นอ่อนทานตะวันสำหรับเป็นที่อาศัย ให้อาหารเทียมสูตรต่างๆ บันทึกข้อมูลการกินอาหารแต่ละชนิดของมวนตาโตทุกวันจนกระทั่งมวนตาโตเจริญครบวงจรชีวิต นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

- บันทึกข้อมูลการกินอาหารและการเจริญเติบโตของมวนตาโต
- นำข้อมูลการเจริญเติบโตของมวนตาโตที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาวงจรชีวิตและประสิทธิภาพในการห้ำเพลี้ยอ่อนของมวนตาโต *Geocoris ochropterus* Fieber ที่เลี้ยงด้วยอาหารเทียม(2563)

4.1 นำอาหารเทียมสูตรที่ทำให้มวนตาโตเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้ดีจากขั้นตอนที่ 3 จำนวน 3สูตร มาใช้ในการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์มวนตาโตโดยนำมวนตาโต ระยะตัวอ่อนวัย 1 ถึงระยะตัวเต็มวัย วัยละ 10 ตัวมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาดกว้าง 5.5 ซม. ยาว 7.2 ซม. สูง 3.7 ซม.รองด้วยกระดาษทิชชู ใส่ต้นอ่อนทานตะวันสำหรับเป็นที่อาศัย ให้อาหารทุก2วันจนกระทั่งมวนตาโตเจริญครบวงจรชีวิต วางไข่ และฟักเป็นตัวอ่อน (F1)

4.2 นำมวนตาโตตัวอ่อน (F1) มาใส่ในในกล่องพลาสติกขนาดกว้าง 5.5 ซม. ยาว 7.2 ซม. สูง 3.7ซม.รองด้วยกระดาษทิชชู ใส่ต้นอ่อนทานตะวันสำหรับเป็นที่อาศัยกล่องละ 1 ตัว จำนวน 30 ตัว มาเพาะเลี้ยงโดยให้อาหารเป็นเพลี้ยอ่อนถั่วทุกวัน เพาะเลี้ยงจนมวนตาโตเจริญเติบโตครบวงจรชีวิต

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

- บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของมวนตาโต จำนวนเพลี้ยอ่อนที่มวนตาโตกินในแต่ละวัน
- นำข้อมูลการเจริญเติบโตของมวนตาโตที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูล

ขั้นตอนที่5ประสิทธิภาพของมวนตาโต *Geocoris ochropterus* Fieber ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในสภาพโรงเรือนทดลอง (2564)

5.1 เพาะเลี้ยงมวนตาโตให้ได้ปริมาณมาก

5.2 ปลูกถั่วฝักยาวในมุ้งตาข่ายขนาด กว้าง 2x2x2 เมตร จำนวน 5 กรงๆ ละ 5 กระถางๆ ละ 5 ต้น เมื่อต้นถั่วอายุ 15 วัน ปล่อยเพลี้ยอ่อนเพื่อให้ลงทำลายต้นถั่ว

5.3 ตรวจนับจำนวนเพลี้ยอ่อนในแต่ละกระถางก่อนปล่อยมวนตาโตกรงละ 0, 5, 10, 15, 20 ตัวตามลำดับตรวจนับจำนวนมวนตาโตและเพลี้ยอ่อนทุก 48 ชั่วโมงบันทึกข้อมูล

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

- บันทึกข้อมูลการกินเพลี้ยอ่อนของมวนตาโต
- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองที่ 1.39 ผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อการมีชีวิตและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* (2563 –2564)

กรมวิชาการเกษตร

แบบและวิธีการทดลอง

1. ศึกษาผลของสารป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูพืชต่อการมีชีวิตและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* (ปี 2563)

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 17 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช คลอร์ฟีนาเพอร์ (chlorfenapyr) 10% SC อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช สปินโนแซด (spinosad) 12% SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช อินด๊อกซาคาร์บ (indoxacarb) 15% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ฟิโพรนิล (fipronil) 5% SCอัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ไซเพอร์เมทริน (cypermetrin) 40% WP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) 20% ECอัตรา 75 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช แลมป์ดาไซฮาโลทริน (lamdacyhalothrin) 2.5% EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ไดฟลูเบนซูรอน (diflubenzuron) 25% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช อิมิดาโลพริด (imidacloprid) 10% SL อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos) 40% EC อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 สารชีวภัณฑ์ บาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis*) อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20ลิตร

กรรมวิธีที่ 12 สารชีวภัณฑ์ เอ็น พี วี (NPV) หนอนกระทู้หอม อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 13 สารชีวภัณฑ์ เอ็น พี วี (NPV) หนอนกระทู้ผัก อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 14 สารป้องกันกำจัดไรศัตรูพืช เฟนไพรอกซิเมต (fenpyroximate) 5% SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 15 สารป้องกันกำจัดไรศัตรูพืช ไพริดาเบน (pyridaben) 20% WP อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20ลิตร

กรรมวิธีที่ 16 สารป้องกันกำจัดไรศัตรูพืช เฟนบูทาทินออกไซด์ (fenbutatin oxide) 50% SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 17 กรรมวิธีควบคุม

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ตามอัตราแนะนำของสารแต่ละชนิดปริมาตร 10 มิลลิลิตร เตรียมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ปริมาตร 100 ไมโครลิตร (อัตรา 2,000 IJs) ผสมลงในสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามกรรมวิธีต่างๆ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เก็บข้อมูลโดยตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่มีชีวิต ที่ 1, 2, 3, 24 และ 48 ชั่วโมงหลังใส่ไส้เดือนฝอยด้วยกล้องจุลทรรศน์ แบ่งไส้เดือนฝอยที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืชออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 ล้างสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชออกจากไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตรอดด้วยน้ำกลั่นจำนวน 3 ครั้ง ส่วนที่ 2 ไม่ล้างสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช นำมาทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตรอดด้วยหนอนกินรังผึ้ง

การบันทึกข้อมูล

- ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่มีชีวิต ที่ 1, 2, 24 และ 48 ชั่วโมงหลังใส่ไส้เดือนฝอย
- ตรวจนับจำนวนหนอนกินรังผึ้งที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังการทดลอง
- ตรวจนับจำนวนไส้เดือนที่ออกจากซากแมลงอาศัย

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

2. ศึกษาผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืชและวัชพืชต่อการมีชีวิตและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* (ปี 2564)

กรมวิชาการเกษตร

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 19 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารป้องกันกำจัดโรคพืช แมนโคเซบ (mancozeb) 80% WP อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 สารป้องกันกำจัดโรคพืช เมทาแลกซิล (metalaxyl)+แมนโคเซบ (mancozeb) 72% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 สารป้องกันกำจัดโรคพืช ไดฟีโนโคนาซอล (difenoconazole) 25% EC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 สารป้องกันกำจัดโรคพืช ไตรฟลูมิโซล (triflumizole) 30% WP อัตรา 6 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 สารป้องกันกำจัดโรคพืช ไตรอะดิมีฟอน (triadimefon) 25% WP อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 สารป้องกันกำจัดโรคพืช เบโนมิล (benomyl) 50% WP อัตรา 6 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 สารป้องกันกำจัดโรคพืช คลอโรทาโลนิล (chlorothalonil) 50% SC อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 สารป้องกันกำจัดโรคพืช โพรพิโคลนาโซล (propiconazole) 25% EC อัตรา 25 มล./น้ำ 20 ลิตรกรรมวิธีที่ 9 สารป้องกันกำจัดโรคพืช อะซอกซีสโตรบิน (azoxystrobin) 25% SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 สารป้องกันกำจัดโรคพืช โพรพาโมคาร์บไฮโดรคลอไรด์ (propamocab hydrochloride) 72.2%SL อัตรา 12 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 สารป้องกันกำจัดโรคพืช ฟอสอีทิล-อะลูมิเนียม (fosetyl-aluminium) 80% WP อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 12 สารป้องกันกำจัดโรคพืช ไดเมโทมอร์ฟ (dimethomorp) 50% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 13 ชีวภัณฑ์เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมี

กรรมวิธีที่ 14 สารป้องกันกำจัดวัชพืช อะลาคลอร์ (alachlor) อัตรา 300 กรัม a.i./ไร่

กรรมวิธีที่ 15 สารป้องกันกำจัดวัชพืช เมโทลาคลอร์ (metolachlor) อัตรา 300 กรัม a.i./ไร่

กรรมวิธีที่ 16 สารป้องกันกำจัดวัชพืช ไตรฟูราลิน (trifluralin) อัตรา 300 กรัม a.i./ไร่

กรรมวิธีที่ 17 สารป้องกันกำจัดวัชพืช ออกซาไดอะซอน (oxadiazon)อัตรา 160 กรัม a.i./ไร่

กรรมวิธีที่ 18 สารป้องกันกำจัดวัชพืช อะเซตโตคอล (acetochlor)อัตรา 160 กรัม a.i./ไร่

กรรมวิธีที่ 19 กรรมวิธีควบคุม

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ตามอัตราแนะนำของสารแต่ละชนิดปริมาตร 10 มิลลิลิตร เตรียมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ปริมาตร 100 ไมโครลิตร (อัตรา 2,000 IJs) ผสมลงในสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามกรรมวิธีต่างๆ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เก็บข้อมูลโดยตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่มีชีวิต ที่ 1, 2, 3, 24 และ 48 ชั่วโมงหลังใส่ไส้เดือนฝอยด้วยกล้องจุลทรรศน์ แบ่งไส้เดือนฝอยที่ผสมสารกำจัดศัตรูพืชออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 ล้างสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชออกจากไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตรอดด้วยน้ำกลั่นจำนวน 3 ครั้ง ส่วนที่ 2 ไม่ล้างสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช นำมาทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตรอดด้วยหนอนกินรังผึ้ง

การบันทึกข้อมูล

- ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่มีชีวิต ที่ 1, 2, 24 และ 48 ชั่วโมงหลังใส่ไส้เดือนฝอย
- ตรวจนับจำนวนหนอนกินรังผึ้งที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังการทดลอง
- ตรวจนับจำนวนไส้เดือนที่ออกจากซากแมลงอาศัย

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

กรมวิชาการเกษตร

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชและในแปลงพืชที่มีการระบาดของแมลง

การทดลองที่ 1.40 ทดสอบประสิทธิภาพในการใช้เชื้อแบคทีเรียบีทีร่วมกับการใช้กับดักฟีโรโมนหนอนใยผักในการควบคุมหนอนใยผักในคะน้า (2563 –2564)

- แบบและวิธีการทดลอง

การทดลองแบ่งเป็น 2 การทดลองในพื้นที่เดียวกัน

การทดลองที่ 1 ใช้กับดักฟีโรโมนหนอนใยผักร่วมกับการป้องกันกำจัดหนอนใยผักวิธีอื่นๆ

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 7 ซ้ำ 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อแบคทีเรียบีทีสายพันธุ์ *kurstaki* อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (ใช้น้ำอัตรา 80 ลิตรต่อไร่)

กรรมวิธีที่ 2 spinetoram 12%W/P SC อัตรา 25 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (ใช้น้ำอัตรา 80 ลิตรต่อไร่)

กรรมวิธีที่ 3 กรรมวิธีควบคุม (ไม่ใช้สารเคมี)

วางกับดักฟีโรโมนหนอนใยผักในแปลงปลูกคะน้าทดลองให้แต่ละกับดักอยู่ห่างกันไม่ต่ำกว่า 20 เมตร และให้ทุกกรรมวิธีได้รับอิทธิพลจากกับดักฟีโรโมนหนอนใยผัก

การทดลองที่ 2 ป้องกันกำจัดหนอนใยผักวิธีต่างๆ (ไม่ใช้กับดักฟีโรโมนร่วม)

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 7 ซ้ำ 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อแบคทีเรียบีทีสายพันธุ์ *kurstaki* อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (ใช้น้ำอัตรา 80 ลิตรต่อไร่)

กรรมวิธีที่ 2 spinetoram 12%W/P SC อัตรา 25 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (ใช้น้ำอัตรา 80 ลิตรต่อไร่)

กรรมวิธีที่ 3 กรรมวิธีควบคุม (ไม่ใช้สารเคมี)

ทำแปลงทดลองในบริเวณเดียวกับการทดลองที่ 1 และให้ห่างกัน มากกว่า 25 เมตร

- วิธีการปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงปลูกคะน้า ขนาดแปลงย่อย 5x20 เมตร โดยการพ่น Bt ใช้เครื่องยนต์พ่นสารแบบสะพายหลัง อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ ทำการพ่นสารทดลองทุก 7 วัน และใช้กับดักฟีโรโมนที่วางขายเป็นผลิตภัณฑ์ โดยขออนุญาตนำเข้าประเทศเพื่อใช้ในการทดลอง โดยตัวกับดักฟีโรโมนผีเสื้อหนอนใยผักจะเป็นกับดักกาวเหนียวที่ใช้ปักสูงกว่าพื้นดิน 30 – 45 เซนติเมตร โดยวางกับดักฯ ในแต่ละจุดต้องมีระยะห่าง 20 เมตร ขึ้นไป เริ่มทำการทดลองเมื่อคะน้าอายุ 14 วันและพบหนอนใยผักมากกว่า 1 ตัวต่อต้น ทำการตรวจนับแมลง ก่อนพ่นสารทดลองทุกครั้งและหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 7 วัน โดยสุ่มนับแปลงย่อยละ 40 ต้น โดยพ่นสารทดลองไม่น้อยกว่า 4 ครั้งตลอดการทดลอง การปฏิบัติดูแลรักษาอื่นๆ ทำตามวิธีของเกษตรกร (การเลือกพันธุ์ การเตรียมดิน การใส่ปุ๋ย การให้น้ำ และการเก็บเกี่ยว) ยกเว้นการใช้สารเคมีกำจัดโรค

- การบันทึกข้อมูล

ข้อมูลจำนวนหนอนและผลผลิตที่มีคุณภาพจำหน่ายได้ (marketable yield) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบผลทางสถิติ

สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
2. แปลงปลูกคะน้าในสภาพไร่ของเกษตรกรในจังหวัดราชบุรีและจังหวัดกาญจนบุรี

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1.41 ศึกษากระบวนการทำแห้งเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ด

(2563 –2564)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

การเลี้ยงขยายหัวเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมเพื่อใช้เป็น stock culture (2563)

นำ stock เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว (PDB) เพื่อเป็นต้นเชื้อ (inoculum) สำหรับการผลิตขยาย โดยตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราเขียวประมาณ 1 X 1 เซนติเมตร ถ่ายใส่ลงในฟลาสค์อาหารเหลว (PDB) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 180 รอบ/นาที เป็นเวลานาน 4 วัน ตรวจเช็คการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนจะนำมาเลี้ยงขยายต่อบนข้าวโพดบดหยาบ

การเลี้ยงขยายเชื้อบนข้าวโพดบดหยาบในปริมาณมากเพื่อใช้ในงานทดลอง (2563)

บรรจุข้าวโพดบดหยาบใส่ถุงพลาสติกทนร้อนถุงละ 500 กรัม เติมน้ำ 500 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายหัวเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมจากฟลาสค์อาหารเหลว (PDB) ที่เลี้ยงไว้ ใส่บนข้าวโพดบดหยาบที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำมาเลี้ยงบนชั้นเลี้ยง (ซึ่ง 1 ชุดจะประกอบไปด้วย 4 ชั้น แต่ละชั้นมีถาดขนาด 1.80 X 0.60 เมตร) เทส่วนผสมที่คลุกแล้วลงในถาด เกลี่ยให้ความหนาเสมอกัน เลี้ยงที่อุณหภูมิ 27 $\pm$ 3 องศาเซลเซียส จดบันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโต และเมื่อเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมเจริญเติบโตและสร้างโคนิเดียจนเต็มถาด นำเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมทั้งหมดที่ได้ไปผลิตชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ด จากนั้นแบ่งออกเป็น 2 ส่วน เพื่อทำการทดสอบการตากเชื้อที่เหมาะสม เพื่อให้ความชื้นของชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ดที่ผลิตได้ลดลงเร็วที่สุด ลดระยะเวลาในการตากเชื้อ และหาวิธีการที่เหมาะสมในขั้นตอนต่อไป

วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลอง -

การทำชีวภัณฑ์อัดเม็ดราเขียว

กรรมวิธีที่ 1 อบเชื้อในตู้อบอุณหภูมิ 50 $\pm$ 2 อาศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 2 ตากเชื้อในห้องปิด ที่ใช้เครื่องดูดความชื้น และพัดลมดูดอากาศ

กรรมวิธีที่ 1

ชีวภัณฑ์อัดเม็ดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ ส่วนที่ 1 นำมาแบ่งเข้าตู้อบอุณหภูมิ 50 $\pm$ 2 อาศาเซลเซียส อบจนแห้ง และนำเข้าตู้ดูดความชื้น วัดความชื้นของเม็ดชีวภัณฑ์ไม่เกิน 5% จากนั้นจึงบรรจุใส่ถุงอลูเนียมฟอยล์ภายใต้ระบบสุญญากาศ เก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ (7 $\pm$ 2°C) เพื่อรอการนำไปใช้ ทยอยนำชีวภัณฑ์อัดเม็ดเข้าตู้อบ จนกว่าจะหมด บันทึกระยะเวลาที่ใช้ทั้งหมด

<u>หมายเหตุ</u>: ตู้อบสามารถใส่ถาดได้ทั้งหมด 11 ถาด สุ่มตัวอย่างชีวภัณฑ์อัดเม็ดมาโดย 1 หน่วยการทดลอง (ถาด) สุ่ม 5 จุด (เก็บชีวภัณฑ์ที่มุมทั้ง 4 จุด และเก็บบริเวณกลางถาด 1 จุด) แล้วนำมารวมกันเพื่อเป็นตัวแทนหาค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อ (CFU) ในแต่ละถาด

กรรมวิธีที่ 2

ชีวภัณฑ์อัดเม็ดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ ส่วนที่ 2 นำมาตากบนชั้นตากเชื้อ เทชีวภัณฑ์อัดเม็ดบนผ้าขาวบางที่วางอยู่ในชั้นตากเชื้อแต่ละชั้น เกลี่ยให้บางเสมอกัน เปิดเครื่องดูดความชื้น และพัดลมดูดอากาศตลอดเวลา ตากชีวภัณฑ์อัดเม็ดที่แบ่งจากขั้นตอนการเลี้ยงครั้งแรกจนหมด บันทึกระยะเวลาที่ใช้ทั้งหมด สุ่มเก็บตัวอย่างชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ดทุกสัปดาห์ โดยเก็บชั้นละ 5 จุด (เก็บชีวภัณฑ์ที่มุมทั้ง 4 จุด และเก็บบริเวณกลางชั้น 1 จุด) นำชีวภัณฑ์ที่เก็บทั้ง 5 จุดมารวมกันใน 1 ถาด เพื่อเป็นตัวแทนในการนำไปวัดค่าความชื้นของแต่ละชั้น สุ่มเก็บตัวอย่างชีวภัณฑ์เพื่อวัดความชื้นทุกสัปดาห์ จนกว่าเม็ดชีวภัณฑ์เริ่ม

กรมวิชาการเกษตร

แห้ง และความชื้นของเม็ดชีวภัณฑ์ไม่เกิน 5% จากนั้นสุ่มเก็บชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ดโดยเก็บชั้นละ 5 จุด เหมือนการวัดค่าความชื้น เพื่อนำมาเป็นตัวแทนหาค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อ (CFU) ในแต่ละชั้น เหมือนกรรมวิธีที่ 1

<u>หมายเหตุ</u>: เมื่อสิ้นสุดกระบวนการตากเชื้อแต่ละกรรมวิธี สุ่มตัวอย่างชีวภัณฑ์อัดเม็ดมาโดย 1 หน่วยการทดลอง (ถาด) สุ่ม 5 จุด นำมารวมกันเพื่อหาค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อ (CFU)

การวิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้ T test

โดยใช้ข้อมูลค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อ (CFU) จาก กรรมวิธีที่ 1 การตากเชื้อในตู้อบอุณหภูมิ 50 ± 2 อาศาเซลเซียส จำนวน 11 หน่วยการทดลอง (ถาด) และกรรมวิธีที่ 2 การตากเชื้อในห้องปิด ที่ใช้เครื่องดูดความชื้น และพัดลมดูดอากาศ ในการเปรียบเทียบ

เมื่อสิ้นสุดกระบวนการอบแห้ง ทำการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์อัดเม็ดทั้ง 2 กรรมวิธี โดยทดสอบปริมาณการงอกของเชื้อ (CFU) และทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์อัดเม็ดทั้ง 2 กรรมวิธีกับหนอนด้วงแรดในห้องปฏิบัติการ ทำการทดสอบซ้ำปีละ 2 ครั้ง

การตรวจสอบปริมาณการงอกของเชื้อรา (CFU) (2563)

นำชีวภัณฑ์ราเขียวที่สิ้นสุดกระบวนการอบแห้งทั้ง 2 กรรมวิธี มาศึกษาปริมาณการงอกของเชื้อรา (CFU) โดยการทำ dilution เริ่มจากการเตรียมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อใส่หลอด หลอดละ 9 มิลลิลิตร ชั่งชีวภัณฑ์อัดเม็ดทั้ง 2 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 1 กรัม ใส่ในหลอดน้ำที่เตรียม ปั่นให้ชีวภัณฑ์แตกตัว จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารแขวนลอยเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากหลอดที่ 1 (10^{-1}) ถ่ายใส่หลอดน้ำนึ่งฆ่าเชื้อหลอดที่ 2 ซึ่งมีน้ำปริมาตร 9 มิลลิลิตรเช่นกัน ปั่นให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ไมโครปิเปตดูดสารแขวนลอยเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากหลอดที่ 2 (10^{-2}) ถ่ายใส่หลอดน้ำนึ่งฆ่าเชื้อหลอดที่ 3 ทำการเจือจางด้วยวิธีการนี้จนถึงความเข้มข้นที่ 10^{-5} จากนั้นจึงนำสารแขวนลอยที่ได้ไปเลี้ยงบนอาหาร PDA นาน 4 วัน จึงนับโคโลนีเชื้อที่เกิดขึ้น จดบันทึกข้อมูลปริมาณการงอกของโคนิเดียเชื้อ (cfu)

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์กับหนอนด้วงแรดในสภาพห้องปฏิบัติการ (2564)

นำชีวภัณฑ์ราเขียวที่สิ้นสุดกระบวนการอบแห้งทั้ง 2 กรรมวิธี มาศึกษาประสิทธิภาพกับหนอนด้วงแรด โดยเตรียมกล่องพลาสติกใส แบบมีฝาปิดขนาด 10 × 7.5 × 5 เซนติเมตร เจาะที่ฝากล่องขนาด 12 x 17 เซนติเมตร ปิดด้วยตาข่ายเพื่อเพิ่มการระบายอากาศที่ฝากล่อง จำนวน 50 กล่อง ต่อ 1 กรรมวิธี ใส่กาบมะพร้าวสับที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 70 กรัม ต่อ กล่อง พ่นน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อให้ความชื้นแก่กาบมะพร้าวสับ ใส่ชีวภัณฑ์อัดเม็ดที่อบแห้งทั้ง 2 กรรมวิธี แยกกันในปริมาณ 2 กรัม ต่อ กล่อง ใส่หนอนด้วงแรดมะพร้าว 1 ตัว ต่อ กล่อง ปิดฝากล่อง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตและทำการบันทึกการติดเชื้อของหนอนด้วงแรด ทุก 2 วัน ประมาณ 2 สัปดาห์ หรือจนกว่าหนอนด้วงแรดจะตายหมด บันทึกระยะเวลาที่ทำให้หนอนด้วงแรดตายในแต่ละกรรมวิธี เปรียบเทียบและวิเคราะห์ผลโดยวิธีไคสแควร์

การบันทึกข้อมูล

- ปริมาณของชีวภัณฑ์เชื้อสดอัดเม็ดทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงในชั้นเลี้ยงต่อครั้ง
- ระยะเวลาที่เม็ดชีวภัณฑ์แห้ง
- ค่าความชื้นของเม็ดชีวภัณฑ์ที่เก็บแต่ละสัปดาห์
- การปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ
- ปริมาณการงอกของเชื้อ (CFU)
- คำนวนต้นทุนในการทำแห้ง
- ระยะเวลาที่ทำให้หนอนด้วงแรดตายในแต่ละกรรมวิธี

กรมวิชาการเกษตร

การทดลอง 1.42 การใช้เชื้อราเมตาไรเซียมป้องกันกำจัดด้วงหมัดผักในการผลิตคะน้า (2563 –2564)

วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (Untreatment)

กรรมวิธีที่ 2 *M .anisopliae* ความเข้มข้น 1 x 10^8 โคโลนี/มล. จำนวน 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 *M. anisopliae* ความเข้มข้น 1 x 10^8 โคโลนี/มล. จำนวน 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 *M. anisopliae* ความเข้มข้น 1 x 10^8 โคโลนี/มล. จำนวน 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 *M. anisopliae* ความเข้มข้น 1 x 10^8 โคโลนี/มล. จำนวน 800 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*. (นีม่า-ดีโอเอ 50 WP) จำนวน 60 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

1.การเตรียมเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม นำถุงเชื้อราเขียวที่เพาะเลี้ยงบนเมล็ดข้าวโพดหยาบ 200, 400, 600 และ 800 กรัม ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 ^{0}C) เป็นเวลา 14 วัน มาเติมน้ำที่ผสม tween 80 (0.5%) ปริมาณ 100 มล./ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด ปรับความเข้มข้นของโคโลนี ให้ได้ตามแผนการทดลอง

2.เตรียมแปลงคะน้า แปลงขนาด กว้าง 2 เมตร ยาว 5 เมตร จำนวน 30 แปลงย่อย

การปลูกคะน้า

-หว่านเมล็ดให้กระจายสม่ำเสมอบนแปลงกว้าง 2 เมตร ยาว 2.5 เมตร ที่ไถพรวนดินและตากดินประมาณ 5-7 วัน ใส่ปุ๋ยหมักที่สลายตัวคลุกเคล้าให้เข้ากัน โดยหว่านเมล็ดให้กระจายสม่ำเสมอ

-ถอนแยกต้นคะน้าอายุ 15-20 วันหลังการว่านเมล็ด หรือต้นสูงประมาณ 10 ซม. ให้มีระยะระหว่างต้น 10-15 เซนติเมตร และเริ่มใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมกำจัดด้วงหมัดผักเมื่อพืชอายุ 10 วัน หลังต้นคะน้างอก ฉีดพ่นทุก 4 วัน ไม่น้อยกว่า 4 ครั้ง

การบันทึกข้อมูล

เก็บข้อมูลโดยการสุ่มตรวจนับจำนวนด้วงหมัดผักตัวอ่อนและตัวเต็มวัยก่อนพ่นและจำนวนด้วงหมัดที่ติดเชื้อหลังฉีดพ่นเชื้อราเมตาไรเซียม 4 วันในแปลงจากต้นคะน้าอย่างน้อย 20 ต้น/แปลงย่อย ไม่น้อยกว่า 4 ครั้ง นำข้อมูลไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของด้วงหมัดผัก เปรียบเทียบในแต่ละกรรมวิธี ข้อมูลผลผลิตและต้นทุนการผลิต เป็นต้น

การทดลองที่ 1.43 การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจั๊กจั่นฝ้ายในกระเจี๊ยบเขียว (2563 –2564)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ได้แก่

1. เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม จำนวน 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
2. เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม จำนวน 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
3. เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม จำนวน 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
4. เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม จำนวน 800 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
5. ไม่พ่นสาร

- วิธีการปฏิบัติการทดลอง

1. เลี้ยงเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม บนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มล. ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ ใส่ในอัตรา 1 ช้อนโต๊ะ/ถุง คลุกให้เชื้อกระจาย

กรมวิชาการเกษตร

ทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (28±3 °C) เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำถุงเชื้อราบิวเวอร์เรียที่เลี้ยง จำนวน 200, 400, 600 และ 800 กรัม มาเติมน้ำที่ผสม tween 80 (0.5%) ปริมาณ 100 มล./ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด ปรับปริมาตรให้ได้ตามแผนการทดลอง

2. เตรียมแปลงกระเจี๊ยบเขียว โดยไถแปร 1-2 ครั้ง ตากดิน 3-5 วัน ไถพรวน แล้วเตรียมแปลงย่อยขนาด 3 x 6 เมตร จำนวน 20 แปลงย่อย และเตรียมหลุมปลูกโดยมีระยะห่างระหว่างแถว 0.75 เมตร และระหว่างต้น 0.50 เมตร จำนวน 4 แถวๆละ 12 หลุม รองก้นหลุมด้วยปุ๋ยคอกอัตรา 1,500 กิโลกรัม/ไร่ (351.56 กรัมต่อหลุม) และปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัม/ไร่ (11.72 กรัมต่อหลุม)

3. การปลูกกระเจี๊ยบเขียว หยอดเมล็ดลงหลุมที่เตรียมไว้จำนวน 4 เมล็ดต่อหลุม และถอนแยกเหลือ 2 ต้นต่อหลุม เมื่ออายุประมาณ 3 สัปดาห์ (21 วัน) มีจำนวนต้นทั้งหมด 96 ต้นต่อแปลงย่อย

4. การดูแลรักษา ให้น้ำอย่างสม่ำเสมอด้วยสปริงเกอร์และสำหรับเพิ่มความชื้น ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ โดยแบ่งใส่ 2 ครั้ง ใส่ครั้งแรกหลังจากหยอดเมล็ดกระเจี๊ยบเขียวมีอายุได้ 21 วัน และใส่ครั้งที่สองเมื่อเริ่มออกดอก โดยโรยรอบทรงพุ่มแล้วพรวนดินกลบ

5. เริ่มพ่นสารทดลองเมื่อพบเพลี้ยจั๊กจั่นฝ้ายมากกว่า 1 ตัว/ใบ ทำการสุ่มตรวจนับจำนวนเพลี้ยจั๊กจั่นฝ้ายจากต้นกระเจี๊ยบเขียว 10 ต้น/แปลงย่อย โดยตรวจนับ 5 ใบจากยอดลงมาและเพิ่มจำนวนต้นการตรวจนับมากขึ้นถ้าการระบาดไม่รุนแรง ทำการตรวจนับเพลี้ยจั๊กจั่นฝ้ายก่อนพ่นเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม และหลังพ่น 4 วัน ทำการฉีดพ่นตามแผนการทดลองทุก 4 วัน ไม่น้อยกว่า 4 ครั้ง

6. นำข้อมูลที่ได้จากการบันทึกข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- การบันทึกข้อมูล
- บันทึกจำนวนเพลี้ยจั๊กจั่นฝ้ายที่ติดเชื้อ
- ข้อมูลผลผลิต

การทดลองที่ 1.44 การเพาะเลี้ยงหอยน้ำตัวห้ำสกุล *Clea* เพื่อกำจัดหอยศัตรูพืช (2563-2564)

วิธีดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนที่1 การเพาะ/เลี้ยงหอยน้ำศัตรูพืช (ใช้สำหรับเป็นอาหารหอยน้ำตัวห้ำสกุล *Clea*) (ปี 2563)

- เก็บรวบรวมหอยน้ำศัตรูพืช จากแหล่งน้ำ พื้นที่เกษตรกรรมต่างๆ มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ
- ดำเนินการเพาะเลี้ยงหอยน้ำศัตรูพืช ในอ่างซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร รองพื้นอ่างด้วยดินเหนียวผสมดินทราย อัตราส่วน 1:1 ให้สูงจากพื้นอ่าง ประมาณ 10 เซนติเมตร ให้อาหารเป็นพืชน้ำ และอาหารปลาชนิดเม็ด สัปดาห์ละ 3 ครั้ง
- คัดเลือกหอยน้ำศัตรูพืช ที่มีขนาดความกว้างของเปลือกประมาณ 0.5 เซนติเมตร (อายุประมาณ 14 วัน) สำหรับใช้เป็นอาหารหอยน้ำตัวห้ำ ในขั้นตอนทดลองต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การศึกษา การเพาะเลี้ยงหอยน้ำตัวห้ำสกุล *Clea* (ปี 2563)

เก็บรวบรวมหอยน้ำตัวห้ำสกุล *Clea* ชนิดที่มีศักยภาพดี สำหรับเป็นแม่พันธุ์ โดยเก็บรวบรวมจากพื้นที่แหล่งน้ำภาคต่างๆ นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์ชื่อในห้องปฏิบัติการตามระบบอนุกรมวิธานของหอย เปรียบเทียบกับเอกสารหอยทากบกทั้งในและต่างประเทศ โดยยึดตามเอกสารของ สุชาติและประสิทธิ์ (2555) Brandt (1974) และ Coelho *et al.* (2013)

ดำเนินการเพาะเลี้ยงหอยน้ำตัวห้ำ ซึ่งประกอบด้วย 2 หัวข้อ ดังนี้

1. ศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโตของหอยน้ำตัวห้ำสกุล *Clea*

กรมวิชาการเกษตร

1.1 การทดลองนี้ใช้หอยน้ำตัวห้ำสกุล *Clea* ซึ่งมีศักยภาพดีและได้คัดเลือกชนิดมาแล้ว) ดำเนินการนำโดยหอยตัวห้ำมาเลี้ยงในตู้กระจกใส ขนาด 12x25x20 เซนติเมตร ในโรงเรือนที่มีอากาศถ่ายเทสะดวก รองพื้นตู้กระจก ด้วยดินเหนียวผสมดินทราย (อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) อัตราส่วน 1:1 ให้สูงจากพื้นตู้กระจก 5 เซนติเมตร และปลูกพืชน้ำสำหรับให้หอยวางไข่ วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยให้อาหารที่แตกต่างกัน 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ และแต่ละซ้ำใส่หอยตัวห้ำที่มีขนาด 1 เซนติเมตร ซึ่งเป็นขนาดตัวเต็มวัย จำนวน 5 ตัว /ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หอยศัตรูพืช (ขนาดเปลือก 0.5 เซนติเมตร: จากขั้นตอน 1) จำนวน 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตร A จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 หอยศัตรูพืช จำนวน 20 ตัว + อาหารสูตร A จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 หอยศัตรูพืช จำนวน 20 ตัว + อาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม

<u>อาหารสูตร A</u> ประกอบด้วย อาหารปลา: รำละเอียด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 2:1:1)

<u>อาหารสูตร B</u> ประกอบด้วย อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 2:1:1)

1.2 การบันทึกข้อมูล

- วัดการเจริญเติบโต โดยชั่งน้ำหนักและวัดขนาดเปลือกหอยน้ำตัวห้ำ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง
- บันทึกจำนวนหอยศัตรูพืช และปริมาณอาหารกรรมวิธีต่างๆที่หอยน้ำตัวห้ำกินแต่ละวัน
- บันทึกพฤติกรรมการผสมพันธุ์และวางไข่ / จำนวนไข่ ในแต่ละกรรมวิธี
- วัดอุณหภูมิโรงเรือน และในตู้กระจก

<u>2. ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการฟักไข่และอัตราการรอดของตัวอ่อนหอยน้ำตัวห้ำสกุล *Clea*</u>

2.1 นำไข่หอยน้ำตัวห้ำสกุล *Clea* มาแยกใส่กล่องพลาสติก ขนาด 15.5 x 22 x 7 เซนติเมตร รองพื้นกล่องพลาสติกด้วยดินเหนียวผสมดินทราย (อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) อัตราส่วน 1:1 ให้หนา 2 เซนติเมตร เติมน้ำสะอาด 1 ลิตร โดยอาหารที่ใช้ทดลองในช่วงการฟักไข่และเพาะเลี้ยงตัวอ่อนหอยน้ำตัวห้ำทุกกรรมวิธี ให้เป็นอาหารสูตรผสมซึ่งประกอบด้วย อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: รำละเอียด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 1:1:1:1) ที่ดัดแปลงจากสูตรของ ธนพันธ์ (2528) ปริมาณ 2-3 กรัม/ สัปดาห์ โดยเก็บเศษอาหารเก่าทิ้งทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารใหม่แต่ละครั้ง

ดำเนินการทดลอง 2 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ แต่ละซ้ำใส่ไข่หอยน้ำตัวห้ำจำนวน 1 กลุ่มไข่ (cluster) / กล่อง โดยกำหนดอุณหภูมิที่แตกต่างกัน เป็นกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ฟักไข่ในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธีที่ 2 ฟักไข่ในสภาพห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส)

2.2 การบันทึกข้อมูล

- บันทึกอุณหภูมิในสภาพโรงเรือน ของกรรมวิธีที่ 1 ตลอดการทดลอง
- บันทึกจำนวนไข่แต่ละ cluster เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่หอยน้ำตัวห้ำแต่ละกรรมวิธี
- บันทึกจำนวนตัวอ่อนของหอยน้ำตัวห้ำที่ฟักจากไข่ เพื่อคำนวณอัตราการรอดในแต่ละกรรมวิธี
- วัดการเจริญเติบโต โดยชั่งน้ำหนักและวัดขนาดเปลือกตัวอ่อนหอยน้ำตัวห้ำ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง

เพื่อจัดทำแผนภูมิการเจริญเติบโต

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราที่เหมาะสม เพื่อผลิตขยายหอยน้ำตัวห้ำสกุล *Clea* ให้ได้ปริมาณมาก (ปี 2564)

3.1 ทดสอบหาอัตราของแม่พันธุ์ที่เหมาะสมโดยใส่หอยน้ำตัวห้ำตัวเต็มวัย 5, 10, และ 20 ตัว ลงในอ่างซีเมนต์เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร ในโรงเรือนที่มีอากาศถ่ายเทสะดวก ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส รองพื้นอ่าง

กรมวิชาการเกษตร

ด้วยดินเหนียวและดินทราย (อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) อัตราส่วน 1:1 ให้สูงจากพื้นอ่างซีเมนต์ ประมาณ 10 เซนติเมตร และวางวัสดุสำหรับให้หอยวางไข่ ได้แก่ พืชน้ำ กาบมะพร้าวและอิฐแผ่น และให้อาหารชนิดที่เหมาะสม (จากขั้นตอน 2) ทิ้งไว้ 1 เดือน จากนั้นนำตัวเต็มวัยออก ตรวจนับจำนวนไข่ และตัวอ่อนที่พบทุก 1 สัปดาห์

3.2 การบันทึกข้อมูล

- จำนวนไข่ และตัวอ่อนของหอยน้ำตัวห้ำสกุล *Clea*
- อัตราการฟัก และอัตราการรอดของตัวอ่อนหอยน้ำตัวห้ำสกุล *Clea*
- บันทึกขนาด อายุ และลักษณะของหอยที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์
- บันทึกลักษณะ และจำนวนของไข่หอย/กลุ่ม ขนาดของไข่ และขนาดของกลุ่มไข่
- บันทึกระยะเวลา ตั้งแต่หอยเริ่มวางไข่จนตัวอ่อนหอยฟักออกจากไข่ ขนาดของลูกหอยที่เพิ่งฟัก และพฤติกรรมการกินของลูกหอยที่เพิ่งฟักจากไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัย
- บันทึกอุณหภูมิ pH ดิน ความชื้นดิน ความชื้นสัมพัทธ์บริเวณเลี้ยงหอย เป็นช่วงๆ ตลอดการทดลอง

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาอัตราการปล่อยหอยตัวห้ำในสภาพแปลงทดลอง โดยปฏิบัติดังนี้ (ปี 2564)

4.1 กำหนดขนาดแปลงย่อยโดยดำเนินการทดลองในอ่างซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร นับจำนวนหอยน้ำศัตรูพืชที่ใช้เป็นเหยื่อ 30 ตัว/ plot วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธีๆละ 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 1 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 2 ตัว

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 3 ตัว

กรรมวิธีที่ 4 สารสกัดกากเมล็ดชา, *Camellia sinensis* L. (อัตรา 2.5 กิโลกรัมต่อไร่)

กรรมวิธีที่ 5 ควบคุม

ประเมิน และตรวจนับจำนวนหอยศัตรูพืชที่ถูกกินหลังการปล่อยหอยตัวห้ำ ทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน

4.2 ดำเนินการทดลองในแปลงไม้น้ำ จังหวัดนครราชสีมา โดยเริ่มสุ่มนับประชากรหอยศัตรูพืชที่จะทดลอง บริเวณขอบอ่างและบนต้นพืชซึ่งเป็นแหล่งอาศัยของหอย จำนวน 20จุด/ไร่ ถ้าพบหอยเฉลี่ยมากกว่า 10 ตัว/ตารางเมตร (ตามมาตรฐาน GAP การควบคุมหอยศัตรูกล้วยไม้) จึงจะกำหนดเป็นแปลงทดลอง โดยกั้นแปลงย่อย ขนาดพื้นที่ 1 ตารางเมตร จำนวน 5 จุด/ ไร่ แล้วจึงปล่อยหอยตัวห้ำตามอัตราที่คุ้มค่า และมีประสิทธิภาพมากที่สุด (จากข้อ 4.1) ตรวจนับจำนวนหอยศัตรูพืชที่หลังการปล่อยหอยตัวห้ำสกุล *Clea* ทุกๆสัปดาห์ เป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นประเมินประสิทธิภาพของการนำไปใช้ในสภาพแปลงทดลอง โดยสุ่มนับประชากรหอยศัตรูพืชเริ่มต้นโดยใช้ตารางสุ่มพื้นที่ 1 ตารางเมตร สุ่มนับ 20 จุด/ไร่ ให้กระจายทั่วพื้นที่ตามแนวเส้นทแยงมุมทั้งสองด้าน จากนั้นจึงปล่อยหอยน้ำตัวห้ำตามอัตราที่คุ้มค่า หลังจากนั้น จึงสุ่มตรวจนับประชากรของทั้งหอยน้ำตัวห้ำและหอยศัตรูพืช ทำการสุ่มเช่นเดิม โดยสุ่มนับทุกเดือนๆละ 1 ครั้งตลอดทั้งปีเปรียบเทียบกับแปลงควบคุม

4.3 การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนหอยศัตรูพืชที่มีชีวิตในแปลงทดลอง 5 วัน
- จำนวนประชากรหอยตัวห้ำสกุล *Clea* และหอยศัตรูพืชในแปลงไม้น้ำแต่ละเดือน
- ความชื้นและความเป็นกรด- ด่างของดิน
- หาต้นทุนที่ใช้ควบคุมหอยทั้งแปลงทดลองและแปลงของเกษตรกร
- ข้อมูลความพึงพอใจของเกษตรกร

<u>สถานที่ทำการทดลอง</u>

กรมวิชาการเกษตร

: พื้นที่แหล่งน้ำเกษตรกรรมและแหล่งน้ำ ธรรมชาติ ตามภาคต่างๆ ของประเทศไทย

: ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สอพ.

: แปลงไม้น้ำ จังหวัดนครราชสีมา

การทดลองที่ 1.45 การใช้มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) ไรตัวห้ำ *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Arachnida: Phytoseiidae) และไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans) (Acari: Phytoseiidae) ในการควบคุมศัตรูเมล่อนในสภาพโรงเรือน (2563-2564)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เตรียมศัตรูธรรมชาติที่ใช้ในการทดลอง 3 ชนิด

การเตรียมเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ C. exiguus

เก็บรวบรวมตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของมวนตัวห้ำ จากแปลงมันสำปะหลัง ต.หนองปลิง อ.เลาขวัญ จ.กาญจนบุรี นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยนำมวนตัวห้ำ ระยะตัวอ่อนและระยะตัวเต็มวัย ระยะละ 50 ตัว แยกเลี้ยงในกล่องพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 9.5x14.5x5.5 เซนติเมตร ใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* เป็นอาหาร จำนวน 0.3 กรัมต่อกล่อง โดยให้อาหารสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ตัดกระดาษชำระขนาด 8x10 เซนติเมตร ใส่ลงในกล่องเพื่อให้มวนตัวห้ำวางไข่บนกระดาษ

การเตรียมเพาะเลี้ยงไรตัวห้ำ A. swirskii

เพาะเลี้ยงไรตัวห้ำในจานเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.0 เซนติเมตร สูง 1.5 เซนติเมตร รองพื้นด้วยขี้เลื่อยละเอียด ให้เป็นที่หลบซ่อนตัว รวม 5 จาน วางไว้ไม่ให้ถูกแสงโดยตรงบนชั้นวางของ ในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 25+2°C ความชื้นสัมพัทธ์ 80+10% และ ช่วงแสง 14D:10L โดยให้ไข่ของผีเสื้อข้าวสาร C. cephalonica เป็นอาหาร ในการเก็บรักษาไรตัวห้ำไว้เป็นแหล่งสำรอง เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาทดลองต่าง ๆ ต่อไป

การเตรียมไรตัวห้ำ A. longispinosus

เพาะเลี้ยงไรตัวห้ำ A. longispinosus โดยใช้ไรแดงหม่อน Tetranychus truncatus Ehara (Acarina: Tetranychidae) เป็นอาหาร เลี้ยงไรตัวห้ำไว้ในห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิ 27-28 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-80 % RH ให้แสงสว่างด้วยไฟฟลูออเรสเซนต์ 14 ชั่งโมงต่อวัน จากนั้นจึงนำไรตัวห้ำในแต่ละวัยมาทดสอบ

2. การใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ไรตัวห้ำ *A. swirskii* และไรตัวห้ำ *A. longispinosus* ในการควบคุมศัตรูเมล่อนในสภาพโรงเรือน (2564)

ศึกษาเปรียบเทียบประชากรของแมลงศัตรูเมล่อน แมลงศัตรูธรรมชาติ และผลผลิตในโรงเรือน จำนวน 2โรงเรือน ดังนี้

โรงเรือนที่ 1 ไม่ปลดปล่อยศัตรูธรรมชาติ (แปลงควบคุม)

โรงเรือนที่ 2 ปลดปล่อยศัตรูธรรมชาติ

โดยแต่ละโรงเรือนมีพื้นที่ 5.2x16 เมตร เก็บตัวอย่างจำนวน 40 ตัวอย่าง/โรงเรือน ใช้วิธีการสุ่มแบบมีระบบ (systematic sampling) (1 ต้น คือ 1 ตัวอย่าง) เริ่มทำการเก็บข้อมูลและปลดปล่อยแมลงศัตรูธรรมชาติ ตั้งแต่นำเมล่อนเข้าไปปลูกในโรงเรือน (7 วัน) ทำการทดลองที่ ตำบลห้วยม่วง อำเภอกำแพงแสน จังหวัด นครปฐม จำนวน 2 โรงเรือน อย่างน้อยโรงเรือนละ 2 รอบการปลูก

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เตรียมโรงเรือนขนาด 5.2 x 16 เมตร โดยภายในโรงเรือนแบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 0.6 x 15 เมตร จำนวน 3 แปลงย่อย โดยแต่ละแปลงย่อยปลูกเมล่อน 2 แถว แถวละ 50 ต้น ระยะปลูกระหว่างต้นห่างกัน 0.3x0.3 เมตร และมีระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 0.6 เมตร

กรมวิชาการเกษตร

2. ตรวจนับแมลงและไรศัตรูพืช หลังจากเริ่มปลูกเมล่อนในโรงเรือน เมื่อพบแมลงและไรศัตรูพืชเข้าทำลายเมล่อนเฉลี่ย 1 ตัวต่อต้น จะเริ่มปลดปล่อยศัตรูธรรมชาติ ทั้ง 3 ชนิดได้แก่ มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ไรตัวห้ำ *A. longispinosus* และไรตัวห้ำ *A. swirskii* ตามอัตราที่แนะนำ เพื่อควบคุมแมลงศัตรูเมล่อนทันที เก็บข้อมูลจำนวนประชากรศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ โดยการเก็บตัวอย่างบริเวณยอด (หรือดอก) และใบจริง 3 ใบ (นับจากยอดลงมา) ทุก 7 วัน โดยบันทึกจำนวนประชากรแมลงและไรศัตรูเมล่อนจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตของเมล่อนเพื่อเปรียบเทียบข้อมูล วิเคราะห์และแปลผลการทดลอง

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้น ภายในโรงเรือน
- จำนวนแมลงและไรศัตรูเมล่อน และแมลงศัตรูธรรมชาติ
- นำข้อมูลผลผลิตของเมล่อนทั้ง 2 โรงเรือน เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ปริมาณ คุณภาพ (แบ่งเป็นเกรด A B C) และต้นทุนการผลิตในแต่ละโรงเรือน
- ทำการเปรียบเทียบประชากร 2 กลุ่มประชากรที่มีอิสระต่อกันโดยใช้ t-test
- เปรียบเทียบ t-test ระหว่างโรงเรือนที่ 1 ไม่ปลดปล่อยศัตรูธรรมชาติ (แปลงควบคุม) กับ โรงเรือนที่ 2 ปลดปล่อยศัตรูธรรมชาติ

<u>สถานที่ทำการทดลอง</u>

: ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุมกลุ่มกีฏและสัตววิทยา

: แปลงเกษตรกรผู้ปลูกเมล่อน กรุงเทพฯ จังหวัดนครปฐม จังหวัดสุพรรณบุรี

กิจกรรมที่ 2 การผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคพืช

การทดลองที่ 2.1 การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท 20W16 และ/หรือ 20W33 เพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก (2559-2561)

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท 20W16 และ/หรือ 20W33เพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

1.1 <u>ศึกษาการผสมปรุงแต่งผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis* สูตรเหลว</u>

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 4 ฟาสก์ขนาด 250 ม.ล.) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตรที่ 1 กากน้ำตาล

กรรมวิธีที่ 2 สูตรที่ 2 กากน้ำตาล + โซเดียมเบนโซเอท 0.05% W/V

กรรมวิธีที่ 3 สูตรที่ 3 กากน้ำตาล +กากถั่วเหลือง

กรรมวิธีที่ 4 สูตรที่ 4 กากน้ำตาล + กากถั่วเหลือง + โซเดียมเบนโซเอท 0.05% W/V

กรรมวิธีที่ 5 สูตรที่ 5 ปลาหมัก (ปุ๋ยปลา) + กากถั่วเหลือง

กรรมวิธีที่ 6 สูตรที่ 6 ปลาหมัก (ปุ๋ยปลา) + กากถั่วเหลือง + โซเดียมเบนโซเอท 0.05% W/V

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis*ในอาหารแข็ง PSA เป็นเวลา 24 ช.ม. จากนั้นย้ายเชื้อลงในอาหารเหลว PSB 1 ลูปต่ออาหาร 250 ม.ล. บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 72 ช.ม. เพื่อทำเป็น inoculums

2. เมื่อครบกำหนดแล้ว ย้ายเชื้อจาก Inoculum ลงในอาหารสูตรต่างๆ ทั้ง 6 กรรมวิธี ปริมาณ 10% โดยปริมาตร

กรมวิชาการเกษตร

3. เติม $Cacl_2.2H_2O$ 0.65 กรัม/ลิตร และ $MnSO_4 . 2H_2O$ 0.15 กรัม/ลิตร ลงในอาหารสูตรต่างๆ เพื่อกระตุ้นการสร้างสปอร์ (ไวรุจน์ และคณะ, 2550)

4. เติมยูเรียปริมาณ 1 กรัม/ลิตร ลงไปในอาหารทุกสูตร

5. นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 วัน

6. จากนั้นแบ่งเก็บไว้ 2 แหล่ง คือ เก็บในสภาพอุณหภูมิปกติ (28± 2 องศาเซลเซียส) และ ในตู้เย็นธรรมดาที่ 18 องศาเซลเซียส

7. ตรวจเช็คการมีชีวิตรอด (Viability) ของเซลล์ *B. subtilis* ในผลิตภัณฑ์ โดยตรวจนับปริมาณเซลล์จากเดือนเริ่มต้นและทุกๆ เดือน โดยวิธี dilution plate techniqueและนับความเข้มข้นของสปอร์ โดยแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที (ไวรุจน์ และคณะ ,2550) หรือที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 1 ชม. (Wiwattanapatapee *et., al* 2007) เพื่อฆ่าเซลล์ปกติ และเหนี่ยวนำให้สปอร์งอกก่อนโดยการย้ายลงอาหาร PSB เขย่าเป็นเวลา 48 ชม. แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง PSAโดยวิธี dilution plate technique

1.2 <u>ศึกษาการผสมปรุงแต่งผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B. subtilis* สูตรแข็ง</u>

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 4 ขวดฝาเกลียวขนาด 1,000 กรัม) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตรผง ที่ใช้ทัลคัมเป็นสารพาหะ

กรรมวิธีที่ 2 สูตรผง ที่ใช้ซีโอไลท์ เป็นสารพาหะ

กรรมวิธีที่ 3 สูตรผงที่ใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารพาหะ

กรรมวิธีที่ 4 สูตรเม็ดฟู่

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

<u>การเตรียมสูตรผง</u>

1. เลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* ในอาหารสูตรที่เหมาะสม (ผลจากการทดลอง ที่ 1.1)

2. เติมสารละลาย $MgSO_4.7H_2O$ 0.1 M 10 มิลลิลิตร ลงไปในอาหารเหลว (ข้อ1) อัตรา 10 % ของปริมาตร

3. เติม Methyl cellulose 2.5 % อัตรา 1:1 ลงในสารละลาย (ข้อ1.2)

4. เติมสารพาหะลงไป 4 เท่า คนให้เข้ากัน

5. นำไปผึ่งในที่ร่ม จนกระทั่งผงแป้งแห้งสนิท (ประมาณ 2 สัปดาห์) หรือ อบด้วย Hot air oven ที่อุณหภูมิ เก็บในถุงพลาสติกใส ปิดปาก เก็บในสภาพอุณหภูมิปกติ (28± 2 องศาเซลเซียส) และ ในตู้เย็นธรรมดาที่ 18 องศาเซลเซียส

<u>การเตรียมสูตรเม็ดฟู่</u>

ดัดแปลงจากวิธีการของ (Wiwattanapatapee *et., al* 2007) ดังนี้

1. เลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* ในอาหารเหลวสูตรที่เหมาะสม (ผลจากการทดลอง ที่ 1.1) บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 วัน เติม lactose monohydrate 60% 1: 5 W/V

2. นำสารละลายเอ็นโดสปอร์ (ข้อ1) ที่ได้ มาเติมสารผสมต่างๆ ได้แก่ sodium alginate 10 กรัม polyvinyl pyrrolidone K-30 5 กรัม, citric acid 5%, tartaric acid 10%, และ sodium bicarbonate 20% ผสมให้เข้ากัน

3. นำไปอบด้วย Hot air ovenที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชม.

4. นำไปร่อนด้วยตระแกรงร่อน No. 14 จากนั้น นำไปผสมสารหล่อลื่น polyethylene glycol 6000 ปริมาณ 4%

5. นำไปตอกเม็ดด้วยเครื่องตอกยาเม็ดแบบสากเดี่ยว

- การบันทึกข้อมูล

กรมวิชาการเกษตร

ตรวจเช็คการมีชีวิตรอด (Viability) ของเซลล์ *B. subtilis* ในผลิตภัณฑ์ โดยตรวจนับปริมาณเซลล์จากเดือนเริ่มต้นและทุกๆ เดือน โดยวิธี dilution plate technique และนับความเข้มข้นของสปอร์ โดยวิธี serial dilution plate technique โดยปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ 7

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลค่าเฉลี่ยของปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่ตรวจนับได้มาวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี Analysis of variance เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ในระดับแปลงปลูก

นำผลิตภัณฑ์เหลวและผลิตภัณฑ์แข็งที่คัดเลือกได้จากผลการทดลองขั้นตอนที่ 1 ไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกในแปลงปลูก โดยวิธีการพ่นด้วยสารละลายผลิตภัณฑ์

โดยปฏิบัติดังนี้

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 9 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* เหลว อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* เหลว อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ผง อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* เม็ดฟู่ อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* เม็ดฟู่ อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 พ่นด้วยผลิต mancozeb 80% WP อัตรา 48 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 พ่นด้วยน้ำเปล่า (Control -)

กรรมวิธีที่ 9 พ่นด้วย C. *gloeosporioides* (Control +)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

<u>การเตรียมพืชและแปลงทดลอง</u>

- เตรียมแปลงขนาดกว้าง 1.5 เมตร ยาว 6 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงประมาณ 80 เซนติเมตร
- ปลูกพริกที่จะทดสอบโดยวิธีการย้ายกล้าระหว่างแถวประมาณ 50 ซ.ม. ระหว่างต้น 50 ซ.ม. ปลูก 2 แถวคู่ จนกระทั่งพริกมีอายุประมาณ 30-45 วัน หรือระยะเริ่มติดผล จึงเริ่มดำเนินการทดลอง

ทำการพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* 2 ครั้ง โดยทำการพ่นก่อนการพ่นเชื้อรา C. *gloeosporioides* 2 วัน และพ่นหลังการพ่นเชื้อรา C. *gloeosporioides* 2 วัน ลงบนพริกในระยะเริ่มติดผล

- การบันทึกข้อมูล

บันทึกผลการทดลอง โดยคิดเป็นเปอร์เซนต์การเกิดโรค โดยเก็บผลพริกในระยะเก็บเกี่ยวทั้งหมด นับจำนวนผลพริกทั้งหมดและผลพริกที่เป็นโรค คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเปรียบเทียบกับผลพริกทั้งหมด

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลค่าเฉลี่ยของเปอร์เซนต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกมาวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี Analysis of variance เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

สถานที่ทำการทดลอง : ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกร จ. กาญจนบุรี

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.2 การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* (2559-2560)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 9 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 พ่น Bs สายพันธุ์ A + ปลูกเชื้อ *Cc* + พ่น Bs สายพันธุ์ A

กรรมวิธีที่ 2 พ่น Bs สายพันธุ์ 20W33 + ปลูกเชื้อ *Cc* + พ่น Bs 20W33

กรรมวิธีที่ 3 พ่น Bs สายพันธุ์ 20W16 + ปลูกเชื้อ *Cc* + พ่น Bs 20W16

กรรมวิธีที่ 4 ปลูกเชื้อ *Cc* + พ่น Bs สายพันธุ์ A

กรรมวิธีที่ 5 ปลูกเชื้อ *Cc* + พ่น Bs 20W33

กรรมวิธีที่ 6 ปลูกเชื้อ *Cc* + พ่น Bs 20W16

กรรมวิธีที่ 7 ปลูกเชื้อ *Cc* + พ่นน้ำเปล่า

กรรมวิธีที่ 8 ไม่ปลูกเชื้อ *Cc* + พ่นน้ำเปล่า

กรรมวิธีที่ 9 ปลูกเชื้อ *Cc* + พ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. การเตรียมแปลงทดลอง

เพาะกล้าในกระบะหรือแปลงเพาะเมล็ดจนต้นกล้ามี ใบจริง 3-5 ใบหรือต้นพริกอายุ 25-30 วันจึงย้ายปลูกลงแปลง เตรียมแปลงทดลองขนาดกว้าง 1.5 เมตร ยาว 6 เมตร มีระยะห่างระหว่างแปลง 1 เมตร ตากดินทิ้งไว้ 1-2 สัปดาห์ ปรับพื้นที่และไถพรวนดิน ปลูกพริกในระยะ 50 x 50 เซนติเมตร (ระยะต้นxระยะแถว) ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-16 และ 46-0-0 ชนิดละ 2 ครั้ง อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ กำจัดวัชพืช พ่นสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟและป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลพริกชนิดละ 2 ครั้ง ให้น้ำ จนกระทั่งพริกมีอายุหลังย้ายปลูก 30-45 วัน หรือระยะเริ่มติดผล จึงเริ่มทำการทดลอง

2. การเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) ของเชื้อรา *C. capsici* และปลูกเชื้อ

เลี้ยงเชื้อรา *C. capsici* (Cc) บนอาหาร PDA เป็นเวลา 14 วัน ล้างสปอร์ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้มีความเข้มข้น 10^8 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่ได้ไปปลูกเชื้อโดยการพ่น (spray inoculation) ลงบนผลพริกจนทั่ว

3. การเตรียม cell suspension ของแบคทีเรีย *B. subtilis*

นำแบคทีเรีย *B. subtilis* (Bs) สายพันธุ์ A (ไอโซเลท B23 หรือ 20W15 หรือ 20W19 หรือ19W6) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ ผ่านการทดสอบการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *C. capsici* ในระดับเรือนทดลอง และแบคทีเรีย *B. subtilis* (Bs) สายพันธุ์ 20W33 และ 20W16 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ได้จากการทดลองในปี 2557-2558 มาเลี้ยงบนอาหาร PSA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาทำเป็น cell suspension ปรับให้มีความเข้มข้น 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร นำมาพ่นบนดอกและผลพริก พ่นทุก 7 วัน อย่างน้อย 5 ครั้ง หรือตามความเหมาะสม

- การบันทึกข้อมูล

บันทึกผลการทดลองโดยประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสก่อนพ่น *Bs* และ mancozeb 80% WP ทุกครั้ง และหลังพ่นครั้งสุดท้ายที่ 7 และ 14 วัน โดยสุ่มเก็บผลผลิตจากต้นพริกจำนวน 20 ต้นต่อแปลงย่อย เก็บผลพริกระยะเก็บเกี่ยวทั้งที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนสและไม่แสดงอาการโรค นับจำนวนผลพริกทั้งหมดและผลพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส นำมาคิดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกมาวิเคราะห์โดยวิธี Analysis of variance เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

กรมวิชาการเกษตร

สถานที่ทำการทดลอง : ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ แปลงเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรี

การทดลองที่ 2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้สาเหตุจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* (2559-2560)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 1

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 2

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 3

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (เกษตรกร)

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วยน้ำเปล่า (control)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง มีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมเชื้อ *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* สำหรับปลูกเชื้อบนกล้วยไม้

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเชื้อมาละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ แล้ววัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ปรับให้มีความเข้มข้นเชื้อประมาณ 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ปลูกเชื้อบนต้นกล้วยไม้โดยใช้วิธีการพ่น

2. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สำหรับพ่นบนกล้วยไม้

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มว่ามีประสิทธิภาพดีจำนวน 3 ไอโซเลท ในอาหาร TSB บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเชื้อมาละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเชื้อให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ก่อนนำไปพ่นให้ทั่วต้นกล้วยไม้ด้วยเครื่องพ่นมือ

3. ทำการพ่นตามกรรมวิธีที่กำหนดให้ทั่วต้นกล้วยไม้ทุก ๆ 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง

- การบันทึกข้อมูล

ตรวจสอบการเกิดโรคของกล้วยไม้ก่อนพ่นทุกครั้ง ประเมินระดับความรุนแรงของทุกใบในแต่ละต้น จำนวน 20 ต้นต่อซ้ำ โดยแบ่งระดับความรุนแรงของโรคเป็น 6 ระดับ ดังนี้

ระดับ 1 ใบไม่ปรากฏอาการของโรค

ระดับ 2 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 1-5 ของพื้นที่ใบ

ระดับ 3 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 6-10 ของพื้นที่ใบ

ระดับ 4 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 11-25 ของพื้นที่ใบ

ระดับ 5 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 26-50 ของพื้นที่ใบ

ระดับ 6 ใบปรากฏอาการของโรคมากกว่าร้อยละ 50 ของพื้นที่ใบ

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลค่าความรุนแรงที่ประเมินได้มาหาค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรค วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช และแปลงกล้วยไม้

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดน้ำตาลของกล้วยไม้สาเหตุจากแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* (2559-2560)

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ซ้ำละ 15 ต้น (ทำการทดลองในกล้วยไม้สกุลแวนดา ที่มีอายุประมาณ 2 ปี)

กรรมวิธีที่ 1 ปลูกเชื้อและพ่นด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลทที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อและพ่นด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลทที่ 2

กรรมวิธีที่ 3 ปลูกเชื้อและพ่นด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลทที่ 3

กรรมวิธีที่ 4 ปลูกเชื้อและพ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (วิธีเกษตรกร)

กรรมวิธีที่ 5 ปลูกเชื้อและสเปรย์ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง มีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* สำหรับปลูกเชื้อบนกล้วยไม้

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Wakomoto's medium บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำเชื้อแบคทีเรียละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ แล้ววัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่องspectrophotometor ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ปรับให้ได้ค่า OD เท่ากับ 0.2 ($1.0x10^8$ หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร) ปลูกเชื้อทดสอบด้วยวิธีสเปรย์สารละลายเชื้อแบคทีเรียบนต้นกล้วยไม้

2. การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง และนำเชื้อแบคทีเรียไปเขย่าในอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายเชื้อที่ได้ไปผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเชื้อให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ก่อนนำไปพ่นให้ทั่วต้นกล้วยไม้ด้วยเครื่องมือพ่น

3. ทำการพ่นสารตามกรรมวิธีที่กำหนดให้ทั่วต้นกล้วยไม้ทุก ๆ 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง

- การบันทึกข้อมูล

ตรวจสอบการเกิดโรคของกล้วยไม้ก่อนพ่นทุกครั้ง ประเมินระดับความรุนแรงของทุกใบในแต่ละต้น จำนวน 15 ต้นต่อซ้ำ โดยการตรวจนับจำนวนและวัดขนาดของแผลที่แสดงอาการของโรคใบจุดสีน้ำตาล

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของกล้วยไม้ที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรค วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT)

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงปลูกกล้วยไม้จังหวัดนนทบุรี นครปฐม หรือกาญจนบุรี

การทดลองที่ 2.5 การผลิตขยายและการใช้แบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* ไอโซเลตไทยในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* (2559-2561)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. การเตรียม Inoculum ของไส้เดือนฝอยรากปม

เลี้ยงไส้เดือนฝอยรากปมในรากมะเขือเทศในกระถาง โดยเริ่มจาก 1 กลุ่มไข่ เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่บริสุทธิ์สำหรับการทดลอง ขยายเพิ่มปริมาณในรากมะเขือเทศพันธุ์สีดา แยกไข่ไส้เดือนฝอยจากรากโดยการตัดรากปมเป็นชิ้นขนาดยาวประมาณ 1

กรมวิชาการเกษตร

เซนติเมตร และเขย่าใน 0.52 % Sodium Hypochlorite (คลอร็อก 10%) และเก็บไข่ไส้เดือนฝอยโดยการล้างผ่านตะแกรงที่มีขนาดช่อง 25 ไมโครเมตร ด้วยน้ำสะอาด (Hussey and Barker, 1973) นำไข่ไส้เดือนฝอยใส่ลงบนตะแกรงไนลอนขนาดเล็กที่มีขนาดช่องประมาณ 25 ไมโครเมตร ซึ่งวางในจานเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บตัวอ่อนระยะที่สอง ซึ่งฟักออกมาจากไข่และอยู่ในน้ำในจานเลี้ยงเชื้อไปใช้

2. การเตรียมสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans*

นำตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* ติดอยู่ที่ผนังลำตัวโดยวิธีปั่นเหวี่ยง (Hewlett and Dickson, 1994) ไปเลี้ยงในต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 30 วันที่ปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ เก็บรากมะเขือเทศ 60 วันหลังใส่เชื้อ ล้างน้ำให้สะอาด แยกตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมที่ถูกเข้าทำลายใส่ในหลอด microcentrifuge tube ในน้ำกลั่น บดด้วยแท่งพลาสติก ปรับความเข้มข้นของสปอร์ที่ได้ด้วยน้ำกลั่น

3. การเตรียมสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ในรูปผงรากบด

นำตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองที่มี สปอร์ของ *P. penetrans* ติดอยู่ที่ผนังลำตัวโดยวิธีปั่นเหวี่ยง (Hewlett and Dickson, 1994) ไปเลี้ยงในต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 45 – 60 วันที่ปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ เก็บรากมะเขือเทศ 60 วันหลังใส่เชื้อ ล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้งในที่ร่ม ตัดรากและบดโดยใช้เครื่องบดไฟฟ้า ร่อนด้วยตะแกรงขนาดช่อง 250 ไมโครเมตร เก็บผงรากที่ได้ในตู้เย็น วัดจำนวนสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ในผงรากที่บดได้ โดยนำผงราก 100 มิลลิกรัมบดกับน้ำเล็กน้อย ด้วยโกร่งบดตัวอย่าง เติมน้ำลงในตัวอย่างและกรองส่วนบนผ่านตะแกรงที่มีช่องขนาด 38 ไมโครเมตร นำเซลแขวนลอยของ *P. penetrans* ใส่ในบีกเกอร์พลาสติก แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร (Stirling and Wachtel, 1980) วัดความเข้มข้นของเซลแขวนลอยสปอร์ โดยกวนเซลแขวนลอยด้วย Magnetic Stirrer แล้วสุ่มตัวอย่างมาตรวจนับจำนวนสปอร์โดยใช้ Haemacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

4. การย้อมรากเพื่อตรวจนับกลุ่มไข่

ย้อมรากโดยการแช่รากในสาร Phloxine B ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 15 – 20 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด ตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่บนรากด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope)

5. การตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายในราก จำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลาย และจำนวนสปอร์ภายในตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลาย

ย้อมรากด้วย acid fuchsin โดยแช่รากในสารละลาย chlorox 10% 4 นาที ล้างผ่านน้ำ 45 วินาที แล้วแช่น้ำทิ้งไว้ 15 นาทีเพื่อล้างคลอร็อกซ์ออกให้หมด นำรากใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำ 30-50 มิลลิลิตร ใส่สีย้อมราก acid fuchsin 1 มิลลิลิตร (เตรียมจาก acid fuchsin 3.5 กรัม + acetic acid 250 มิลลิลิตร + น้ำกลั่น 750 มิลลิลิตร) ต้มรากเป็นเวลา 30 วินาทีในเตาไมโครเวฟจนเดือด ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำรากไปล้างน้ำให้สะอาด นำรากใส่ลงในบีกเกอร์ที่มี acidified glycerine 20-30 มิลลิลิตร นำไปต้มในเตาไมโครเวฟอีกครั้งจนเดือด ทิ้งไว้ให้เย็น

ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายในรากโดยใช้เข็มเขี่ยแยกไส้เดือนฝอยออกจากราก และวัดเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกแบคทีเรีย *P. penetrans* เข้าทำลาย โดยสุ่มตัวเต็มวัยเพศเมียจำนวน 20 ตัว วางลงบนสไลด์แก้วปิดทับด้วยสไลด์แก้วอีกแผ่นแล้วตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดหัวกลับ (inverted microscope)

ตรวจนับจำนวนสปอร์ภายในตัวเต็มวัยเพศเมีย โดยนำตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลาย บดในน้ำ 0.5 มิลลิลิตร ดูดใส่ลงในหลอดทดลองแล้วเติมน้ำ 9.5 มิลลิลิตร เขย่าให้ทั่วโดยใช้เครื่องผสมสารนาน 30 วินาที ตรวจนับจำนวนสปอร์โดยใช้ Haemacytometer

6. การแยกตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมจากตัวอย่างดิน

แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินโดยคลุกเคล้าตัวอย่างดินให้ทั่ว ชั่งน้ำหนัก และกวนในน้ำ 2 ลิตร กรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บน

กรมวิชาการเกษตร

ตะแกรงอันล่าง และนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรอง ที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด (Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique) เก็บตัวไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำสะอาด

7. ทดสอบการเกาะของสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่างๆ บนผนังลำตัวของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

ทดสอบการเกาะของแบคทีเรีย *P. penetrans* 3 ไอโซเลตคือ ไอโซเลตจากมันฝรั่ง (PP122) มันขี้หนู (PP 720) และ พริก (PPR 70) กับประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก 3 แหล่งคือ มันฝรั่ง จ.ตาก พริกไทย จ. จันทบุรี และมะเขือเทศ จ.ขอนแก่น โดยใช้สปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* อัตรา 20,000 สปอร์/มิลลิลิตร นำตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองใส่ลงในเซลแขวนลอยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร บ่มที่ 28°C นาน 24 ชั่วโมง กรองผ่านตะแกรงขนาดช่อง 38 ไมโครเมตรเพื่อแยกสปอร์ออกจากไส้เดือนฝอย สุ่มตรวจนับการเกาะของสปอร์แบคทีเรียจากไส้เดือนฝอย 30 ตัว

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Factorial in RCB มี 2 ปัจจัย จำนวน 5 ซ้ำ

ปัจจัย A คือ แบคทีเรีย *P. penetrans* 3 ไอโซเลต (A1, A2, A3)

ปัจจัย B คือ ประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* 3 ประชากร (B1, B2, B3)

กรรมวิธีที่ 1 = A1B1 : *P. penetrans* มันฝรั่ง + *M. incognita* จ.ตาก

กรรมวิธีที่ 2 = A1B2 : *P. penetrans* มันฝรั่ง + *M. incognita* จ. จันทบุรี

กรรมวิธีที่ 3 = A1B3 : *P. penetrans* มันฝรั่ง + *M. incognita* จ.ขอนแก่น

กรรมวิธีที่ 4 = A2B1 : *P. penetrans* มันขี้หนู + *M. incognita* จ.ตาก

กรรมวิธีที่ 5 = A2B2 : *P. penetrans* มันขี้หนู + *M. incognita* จ. จันทบุรี

กรรมวิธีที่ 6 = A2B3 : *P. penetrans* มันขี้หนู + *M. incognita* จ.ขอนแก่น

กรรมวิธีที่ 7 = A3B1 : *P. penetrans* พริก + *M. incognita* จ.ตาก

กรรมวิธีที่ 8 = A3B2 : *P. penetrans* พริก + *M. incognita* จ. จันทบุรี

กรรมวิธีที่ 9 = A3B3 : *P. penetrans* พริก + *M. incognita* จ.ขอนแก่น

8. ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่าง ๆ ในการควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

วางแผนการทดลองแบบ 3x3+1 Factorial in RCB จำนวน 5 ซ้ำ โดยมี

ปัจจัย A คือแบคทีเรีย *P. penetrans* 3 ไอโซเลต (มันฝรั่ง, มันขี้หนู, พริก)

ปัจจัย B คือ ความเข้มข้นของสปอร์ระดับต่าง ๆ (3,000, 10,000, 100,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม)

โดยมีกรรมวิธีต่าง ๆ คือ

กรรมวิธีที่ 1 = A1B1 : *P. penetrans* มันฝรั่ง + ความเข้มข้น 3,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 2 = A1B2 : *P. penetrans* มันฝรั่ง + ความเข้มข้น 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 = A1B3 : *P. penetrans* มันฝรั่ง + ความเข้มข้น 100,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 = A2B1 : *P. penetrans* มันขี้หนู + ความเข้มข้น 3,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 = A2B2 : *P. penetrans* มันขี้หนู + ความเข้มข้น 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 6 = A2B3 : *P. penetrans* มันขี้หนู + ความเข้มข้น 100,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 7 = A3B1 : *P. penetrans* พริก + ความเข้มข้น 3,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 8 = A3B2 : *P. penetrans* พริก + ความเข้มข้น 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 9 = A3B3 : *P. penetrans* พริก + ความเข้มข้น 100,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 10 ไม่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย

กรมวิชาการเกษตร

ย้ายมะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 4 สัปดาห์ปลูกลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว ที่ใส่ดินอบฆ่าเชื้อหนัก 200 กรัมที่คลุกด้วยผงสปอร์ของ *P. penetrans* ปริมาณตามกรรมวิธี ใส่ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 600 ตัว ลงในกระถาง โดยเจาะดินรอบต้นมะเขือเทศจำนวน 4 ช่อง ใช้ไปเปตหยอดตัวอ่อนไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำลงในช่องแล้วกลบดินปิด ปลูกมะเขือเทศเป็นเวลา 60 วัน ตรวจผลการทดลองโดยวัดระดับการเกิดปมที่รากของมะเขือเทศโดยการให้คะแนน 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 ตรวจนับจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินทั้งหมด และจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์เกาะ ตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่ตาม 12.2.4 และตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายในรากและวัดเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมที่ถูก *P. penetrans* เข้าทำลายตาม 12.2.5

ทำการทดลองทั้งหมด 3 การทดลองโดยใช้ประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก 3 แหล่งคือ มันฝรั่ง จ.ตาก พริกไทย จ. จันทบุรี และมะเขือเทศ จ.ขอนแก่น

9. วิธีที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลตไทยในมะเขือเทศ

ทดสอบปริมาณไส้เดือนฝอยและจำนวนครั้งในการปลูกเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตขยายสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีต่าง ๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอย 150,000 ตัว 1 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยครั้งแรก 100,000 ตัว และใส่ซ้ำอีกครั้ง 50,000 ตัว หลังการใส่ครั้งแรก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยครั้งแรก 50,000 ตัว ใส่ครั้งที่สอง 50,000 ตัว หลังการใส่ครั้งแรก 7 วัน และใส่ครั้งที่สาม 50,000 ตัว หลังการใส่ครั้งแรก 14 วัน

เตรียมตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองตาม 12.2.1 แช่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในเซลแขวนลอยของ *P. penetrans* จนตัวอ่อนมีสปอร์เกาะ 6-12 สปอร์/ตัว นำตัวอ่อนที่มีสปอร์เกาะใส่ลงในถาดเพาะกล้าขนาด 30 x 60 เซนติเมตร ที่ปลูกมะเขือเทศอายุ 30 วันจำนวน 50 ต้นต่อถาด ดูแลต้นมะเขือเทศจนอายุ 60 วัน ตรวจผลการทดลองโดยนับจำนวนต้นมะเขือเทศทั้งหมดในถาด ล้างรากมะเขือเทศให้สะอาด สุ่มตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยมาตรวจนับจำนวนสปอร์ ผึ่งรากให้แห้งสนิท วัดปริมาณสปอร์ต่อน้ำหนักแห้งของราก 1 กรัม และปริมาณสปอร์ที่ผลิตได้ต่อถาด

10. การควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ร่วมกับสารเคมี และเมล็ดสะเดาบด

ทดสอบการใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ร่วมกับสารเคมี และเมล็ดสะเดาบดในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* วางแผนการทดลองแบบ CRD 12 กรรมวิธี 5 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 คลุกดินด้วยแบคทีเรีย *P. penetrans* อัตรา 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 2 ราดดินด้วยสารอะบาเมกติน 1.8 % EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ปริมาณ 10 มิลลิลิตร/กระถาง

กรรมวิธีที่ 3 ราดดินด้วยสารฟลูโอไพแรม + ไตรฟลอกซี่สโตรบิน 25% + 25% W/V SCอัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ปริมาณ 10 มิลลิลิตร/กระถาง

กรรมวิธีที่ 4 คลุกดินด้วยสาร cardusafos 10% G อัตรา 0.02 กรัม/กระถาง

กรรมวิธีที่ 5 คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบดอัตรา 0.2 กรัม/กระถาง

กรรมวิธีที่ 6 คลุกดินด้วยแบคทีเรีย *P. penetrans* อัตรา 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม และราดดินด้วยสารอะบาเมกติน 1.8 % EC อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ปริมาณ 10 มิลลิลิตร/กระถาง

กรรมวิธีที่ 7 คลุกดินด้วยแบคทีเรีย *P. penetrans* อัตรา 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม และราดดินด้วยสารฟลูโอไพแรม + ไตรฟลอกซี่สโตรบิน 25% + 25% W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ปริมาณ 10 มิลลิลิตร/กระถาง

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 8 คลุกดินด้วยแบคทีเรีย *P. penetrans* อัตรา 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม และสาร cardusafos 10% G อัตรา 0.01 กรัม/กระถาง

กรรมวิธีที่ 9 คลุกดินด้วยแบคทีเรีย *P. penetrans* อัตรา 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม และเมล็ดสะเดาบด 0.1 กรัม/กระถาง

กรรมวิธีที่ 10 ใส่ไส้เดือนฝอย ไม่ใส่สารใด ๆ

กรรมวิธีที่ 11 ไม่ใส่ไส้เดือนฝอยและสารใด ๆ

ทำการทดลองในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว บรรจุดินอบฆ่าเชื้อ 200 กรัม คลุกดินและราดดินด้วยแบคทีเรียหรือสารต่างๆตามกรรมวิธี ย้ายกล้ามะเขือเทศอายุ 30 วันลงในแต่ละกระถาง ใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองกระถางละ 600 ตัว 1 สัปดาห์หลังย้ายกล้า ตรวจผลการทดลอง 60 วันหลังการใส่ไส้เดือนฝอย โดยชั่งน้ำหนักต้น ตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่ต่อราก จำนวนไส้เดือนฝอยภายในราก เปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกแบคทีเรียเข้าทำลาย ปริมาณตัวอ่อนในดินทั้งหมด และตัวอ่อนที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะผนังลำตัว

11. การใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ร่วมกับสารเคมีโดยวิธีการเคลือบเมล็ดพันธุ์ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

วางแผนการทดลองแบบ CRD 6 กรรมวิธี 5 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เคลือบเมล็ดมะเขือเทศด้วยสปอร์ของ *P. penetrans*

กรรมวิธีที่ 2 เคลือบเมล็ดมะเขือเทศด้วยสารอะบาเมกติน 1.8 % EC

กรรมวิธีที่ 3 เคลือบเมล็ดมะเขือเทศด้วยสารฟลูโอไฟแรม + ไตรฟลอกซี่สโตรบิน 25% +25% W/V SC

กรรมวิธีที่ 4 เคลือบเมล็ดมะเขือเทศด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* และสารอะบาเมกติน 1.8% EC

กรรมวิธีที่ 5 เคลือบเมล็ดมะเขือเทศด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* และสารฟลูโอไฟแรม + ไตรฟลอกซี่สโตรบิน 25% + 25% W/V SC

กรรมวิธีที่ 6 ไม่เคลือบสปอร์หรือสารใดๆ

ทำการทดลองในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว บรรจุดินอบฆ่าเชื้อ 200 กรัม ปลูกเมล็ดมะเขือเทศที่ได้เตรียมไว้ตามกรรมวิธี เมื่อต้นมะเขือเทศอายุ 1 เดือน ใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองกระถางละ 600 ตัว ตรวจผลการทดลอง 60 วันหลังการใส่ไส้เดือนฝอย โดยชั่งน้ำหนักต้น ตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่ต่อราก จำนวนไส้เดือนฝอยภายในราก เปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกแบคทีเรียเข้าทำลาย ปริมาณตัวอ่อนในดินทั้งหมด และตัวอ่อนที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะผนังลำตัว

12. ทดสอบการใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ร่วมกับสาร cadusafos และเมล็ดสะเดาบดเพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในฝรั่ง

วางแผนการทดลองแบบ CRD 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำ มีกรรมวิธีต่าง ๆ คือ

กรรมวิธีที่ 1 รองก้นหลุมและคลุกดินก่อนปลูกด้วยผงรากบด 4 กรัม ที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* ความเข้มข้น 10^5 สปอร์/มิลลิกรัม

กรรมวิธีที่ 2 รองก้นหลุมและคลุกดินก่อนปลูกด้วย สาร cadusafos 10% G 1 กรัม/กระถาง และใส่ซ้ำทุกเดือนอัตรา 1 กรัม/กระถาง

กรรมวิธีที่ 3 รองก้นหลุมและคลุกดินก่อนปลูกด้วยเมล็ดสะเดาบด 5 กรัม/กระถาง และใส่ซ้ำทุกเดือนอัตรา 5 กรัม/กระถาง

กรรมวิธีที่ 4 รองก้นหลุมและคลุกดินก่อนปลูกด้วยผงรากบด 4 กรัม ที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* ความเข้มข้น 10^5 สปอร์/มิลลิกรัม และใส่ผงรากบดทุก 1 เดือน

กรรมวิธีที่ 5 รองก้นหลุมและคลุกดินก่อนปลูกด้วยผงรากบด 4 กรัม ที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* ความเข้มข้น 10^5 สปอร์/มิลลิกรัม และใส่สาร cadusafos 10% G 1 กรัม/กระถาง ทุก 2 เดือน

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 6 รองก้นหลุมและคลุกดินก่อนปลูกด้วยผงรากบด 4 กรัม ที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* ความเข้มข้น 10^5 สปอร์/มิลลิกรัม และใส่เมล็ดสะเดาบด 5 กรัม/กระถาง ทุก 2 เดือน

กรรมวิธีที่ 7 ใส่ไส้เดือนฝอย ไม่ใส่ *P. penetrans* หรือสารเคมี

กรรมวิธีที่ 8 ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย และไม่ใส่ *P. penetrans* หรือสารเคมี

ปลูกกล้าฝรั่งลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 นิ้ว ในดินปลูกที่รองก้นหลุมและคลุกดินก่อนปลูกด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* สาร cadusafos 10% G หรือเมล็ดสะเดาบดตามกรรมวิธี ใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ลงในกระถางๆ ละ 5,000 ฟอง ดูแลต้นฝรั่งตามปกติเป็นเวลา 12 เดือน สุ่มเก็บตัวอย่างดิน 100 กรัมทุกๆ 1 เดือน เพื่อตรวจนับตัวอ่อนระยะที่สองในดิน และเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่มีสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* เกาะ เมื่อต้นฝรั่งอายุครบ 12 เดือน ตรวจผลการทดลองโดย ชั่งน้ำหนักต้น วัดขนาดลำต้น 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 นับจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดิน 100 กรัม เปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่มีสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* เกาะ นับจำนวนกลุ่มไขต่อน้ำหนักราก และวัดเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมที่ถูก *P. penetrans* เข้าทำลาย โดยสุ่มตรวจตัวเต็มวัยเพศเมียจำนวน 100 ตัว

- การบันทึกข้อมูล

- บันทึกน้ำหนักแห้งของต้น จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดิน จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์เกาะ จำนวนกลุ่มไข่ในระบบราก เปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมที่ถูกแบคทีเรีย *P. penetrans* เข้าทำลาย ระดับการเกิดปมที่ราก

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี Analysis of Variance เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

<u>สถานที่ทำการทดลอง</u>

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การทดลองที่ 2.6 การใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในพริก (2559-2561)

<u>1. การทดสอบอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงในแปลงเพาะกล้าพริก</u>

1.1 แหล่งที่มาของสิ่งมีชีวิตที่นำมาทดสอบเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ไอโซเลท PW2 ซึ่งแยกได้จากเห็ดเรืองแสงที่พบในเขตโคกภูตากา อำเภอเวียงเก่า จังหวัดขอนแก่น โดยเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) จากนั้นเก็บรักษาเชื้อเห็ดที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

1.2 เลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสงในอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นใช้ cork borer เจาะวุ้นตรงปลายเส้นใยของเชื้อเห็ด 1 ชิ้นลงในขวดที่บรรจุเมล็ดข้างฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อ เก็บไว้ที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นเทเมล็ดข้างฟ่างที่มีเชื้อเจริญเต็มขวดประมาณ 15-20 เมล็ดลงบนก้อนเชื้อขี้เลื่อย นำไปเก็บในโรงบ่ม เป็นเวลา 45 วัน จึงจะนำไปใช้ในการทดลอง

1.3 ใช้แปลงเพาะกล้าพริกที่มีการระบาดของโรครากปม ขนาดแปลงทดลองย่อย 1 x 1 เมตร โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธี 1 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 1 กิโลกรัม/ตารางเมตร ผสมดินก่อนปลูกพริก

กรรมวิธี 2 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 5 กิโลกรัม/ตารางเมตร ผสมดินก่อนปลูกพริก

กรรมวิธี 3 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 10 กิโลกรัม/ตารางเมตร ผสมดินก่อนปลูกพริก

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธี 4 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 15 กิโลกรัม/ตารางเมตร ผสมดินก่อนปลูกพริก

กรรมวิธี 5 ไม่ผสมก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง (control)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำก้อนเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกัน แล้วดำเนินการตามกรรมวิธีที่วางไว้ จากนั้นเมล็ดพริกพันธุ์หัวเรือ ที่แช่เมล็ดในน้ำอุ่น 50-55 องศาเซลเซียส นาน 15-20 นาที หว่านลงในแปลง เมื่อต้นกล้าอายุ 15-20 วัน ใส่ปุ๋ยยูเรีย ดูแลตามปกติ

- การบันทึกข้อมูล

1. สุ่มเก็บตัวอย่างดินในแปลงทดสอบ เพื่อนับจำนวนตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยระยะที่ 2 โดยสุ่มตรวจในแปลงเพาะพริก 2 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 ก่อนทำการทดสอบ ครั้งที่ 2 วันเก็บผลการทดลอง

2. เมื่อพริกอายุ 30 วัน เช็คผลที่ราก โดยประเมินดูระดับความรุนแรงของโรครากปม โดยวัดดรรชนีการเกิดปมที่ระบบราก ตามวิธีของ Kinloch (1990) ซึ่งแบ่งเป็น 5 ระดับ ดังนี้ 0 ไม่มีปม, 1 มีปมเกิดขึ้นเล็กน้อย, 2 เกิดปมน้อยกว่า 25%, 3 เกิดปม 25-50%, 4 เกิดปม 50-75%, และ 5 เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดปมที่ราก ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT

<u>2. วิธีการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงควบคุมโรครากปมในแปลงปลูกพริก</u>

2.1. คัดเลือกพื้นที่เป้าหมาย โดยสำรวจ รวบรวมข้อมูล และศึกษาภาพรวมการปลูกพริก ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีปัญหาการระบาดของไส้เดือนฝอย เช่น จังหวัดอุบลราชธานี จังหวัดศรีสะเกษ และจังหวัดหนองคาย ของพื้นที่ปลูกพริก โดยเลือกพื้นที่ที่มีการระบาดรุนแรง จำนวน 30 แปลง

2.2. สุ่มตรวจนับจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปมเริ่มต้น (initial population) ก่อนปลูกพริก โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินก่อนปลูกพริก ในแปลงพื้นที่เป้าหมายที่คัดเลือกได้ 10 จุดๆ ละ 500 กรัมเพื่อนับจำนวนตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยระยะที่ 2

2.3 การเตรียมแปลงปลูก ใช้พื้นที่ทดสอบในแปลงปลูกพริกที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมระดับรุนแรง (ดัชนีการเกิดปมที่รากระดับ 5 หรือเป็นปมที่รากมากกว่า 75 % ของระบบราก ในฤดูปลูกที่ผ่านมา) จากนั้นเตรียมแปลงย่อยขนาด 1 x 5 เมตร

2.4. การเตรียมกล้าพริก นำเมล็ดพริกพันธุ์หัวเรือ แช่เมล็ดในน้ำอุ่น 50-55 องศาเซลเซียส นาน 15-20 นาที ก่อนเพาะกล้าในแปลงเพาะ จากนั้นเมื่อต้นกล้าอายุ 15-20 วัน ใส่ปุ๋ยยูเรีย ดูแลตามปกติ จนกระทั่งพริกมีอายุ 30 วัน จึงนำมาใช้ในการทดลอง

2.5 วางแผนการทดลองแบบ 3 x 3 + 1 Factorial in Randomized Complete Block Design (RCB) ซึ่งมี 2 ปัจจัย จำนวน 3 ซ้ำ ขนาดแปลงย่อย 1 x 5 เมตร รายละเอียด ดังนี้

ปัจจัย A วิธีการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง มี 3 ระยะ คือ

1. ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงรองก้นหลุมก่อนปลูก เพียง 1 ครั้ง
2. ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงรองก้นหลุมก่อนปลูก ใส่อีกครั้งเมื่อพริกอายุ 30 วัน
3. ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงรองก้นหลุมก่อนปลูก ใส่อีกครั้งเมื่อพริกอายุ 60 วัน

ปัจจัย B อัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง มี 3 อัตรา คือ

1. อัตรา 10 กรัมต่อต้น
2. อัตรา 15 กรัมต่อต้น
3. อัตรา 20 กรัมต่อต้น

กรมวิชาการเกษตร

และกรรมวิธีควบคุม ไม่ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำก้อนเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกัน แล้วดำเนินการตามกรรมวิธีที่วางไว้ จากนั้นนำกล้าพริกพันธุ์หัวเรือ อายุ 30 วัน ที่ปลอดโรครากปม ปลูกลงในแปลงที่เตรียมไว้ ขนาดแปลง 1 x 5 เมตร ปลูกแถวๆ ละ 10 ต้น ระยะห่าง 30x50 ซม. จำนวน 40 ต้น/แปลง ดูแลพืชตามวิธีการปลูกพริก เป็นเวลา 120 วัน

- การบันทึกข้อมูล

1. เก็บตัวอย่างดินในแปลงทดสอบ เพื่อนับจำนวนตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยระยะที่ 2 โดยสุ่มตรวจในพริก 2 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 ก่อนทำการทดสอบ ครั้งที่ 2 วันเก็บผลการทดลอง

2. เก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน 2 ครั้ง คือ ก่อนทดลองก่อนปลูกพริก และหลังทดสอบ ได้แก่ ค่า pH OM Available P Exchangeble K Ca Mg

3. หลังจากพริกอายุ 120 วัน ประเมินระดับความรุนแรงของโรครากปม โดยวัดดรรชนีการเกิดปมที่ระบบรากตามวิธีของ Kinloch (1990) ซึ่งแบ่งเป็น 5 ระดับ ดังนี้

0 =ไม่มีปม

1 = มีปมเกิดขึ้นเล็กน้อย

2 =เกิดปมน้อยกว่า 25%

3 =เกิดปม 25-50%

4 =เกิดปม 50-75%

5= เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก

4. เก็บข้อมูลผลผลิตพริก โดยเก็บผลผลิตทั้งแปลง และจำนวนครั้งของการเก็บเกี่ยว

5. เก็บข้อมูลทางด้านเศรษฐศาสตร์ เช่น ข้อมูลต้นทุนการผลิต ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ ราคาผลผลิตที่เกษตรกรขายได้และรายได้ นำไปวิเคราะห์ผลตอบแทน โดยคำนวณผลตอบแทน = รายได้-ต้นทุน ค่าผลตอบแทนต่อการลงทุน (BCR) =รายได้/ต้นทุน

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดปมที่ราก ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT

<u>สถานที่ทำการทดลอง</u> ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกรจังหวัดอุบลราชธานี หรือจังหวัดศรีสะเกษ หรือจังหวัดหนองคาย

การทดลองที่ 2.7 การทดสอบประสิทธิภาพของก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในมันฝรั่ง (2559-2561)

ขั้นที่ 1 ทดสอบอัตราการใช้เห็ดเรืองแสงในการควบคุมโรครากปมของมันฝรั่งในสภาพเรือนทดลอง

1. แหล่งที่มาของสิ่งมีชีวิตที่นำมาทดสอบ

เห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ไอโซเลท PW2 ซึ่งแยกได้จากเห็ดเรืองแสงที่พบในเขตโคกภูตากา อำเภอเวียงเก่า จังหวัดขอนแก่น โดยเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) จากนั้นเก็บรักษาเชื้อเห็ดที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมหัวเชื้อข้าวฟ่าง โดยนำขวดหัวเชื้อข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 30 นาที ปล่อยให้เย็น จากนั้นนำเชื้อเห็ดเรืองแสงที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.9 เซนติเมตร เจาะตรงปลายเส้นใย แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อลงในขวดข้าวฟ่าง โดยให้ชิ้นวุ้น

กรมวิชาการเกษตร

อยู่กึ่งกลางของขวดหัวเชื้อข้าวฟ่าง ลนปากขวด ปิดจุกสำลี หุ้มกระดาษ และรัดด้วยหนังยาง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เส้นใยเจริญเต็มขวดข้าวฟ่าง

3. เตรียมก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi* โดยคัดเลือกก้อนเชื้อขี้เลื่อยที่นึ่งฆ่าเชื้อ ที่ได้มาตรฐาน คือ ก้อนแน่น ไม่บวมหรือเบี้ยว และมีขนาดเท่าๆ กัน นำหัวเชื้อข้าวฟ่างที่เส้นใยเจริญเต็มขวด (ข้อ 13.4) เขย่าให้เมล็ดข้าวฟ่างร่วนออกจากกัน จากนั้นเทเมล็ดข้างฟ่างที่มีเชื้อเจริญเต็มขวด ประมาณ 15-20 เมล็ดลงบนก้อนเชื้อขี้เลื่อยที่นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำไปเก็บในโรงบ่มเชื้อจนกว่าเส้นใยจะเดินเต็มก้อน จึงนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

4. เตรียมไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยนำรากมะเขือเทศที่แสดงอาการรากปม และมีกลุ่มไข่สีน้ำตาลชัดเจนนำมาล้างให้สะอาด ตัดรากเป็นชิ้นสั้นๆ ขนาดประมาณ 1-2 เซนติเมตร นำมาแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) 0.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้แท่งแก้วกวนนาน 4 นาที เพื่อละลายสารที่ห่อหุ้มไข่ให้ไข่หลุดออกจากกัน (Barker, 1985) แล้วรินผ่านตะแกรงหยาบขนาด 32 เมช (mesh) เพื่อแยกเศษรากออกจากไข่ไส้เดือนฝอย ใช้สายยางฉีดน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในกะละมังพลาสติก เติมน้ำลงในกะละมังพลาสติกเกือบเต็มเพื่อเจือจางสาร NaOCl ที่ตกค้างอยู่ จากนั้นเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด 500 เมช ใช้สายยางฉีดน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในกะละมังพลาสติกขนาดเล็กอีกครั้ง เติมน้ำลงในกะละมังพลาสติกเกือบเต็มแล้วเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด 500 เมช ทำเช่นนี้อีก 3 ครั้ง เพื่อให้มั่นใจว่าไข่ไส้เดือนฝอยที่แยกได้ปราศจาก NaOCl และครั้งสุดท้ายเมื่อเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด 500 เมช ใช้สายยางฉีดน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในบีกเกอร์ จากนั้นนำไปคำนวณหาความหนาแน่นของปริมาณไข่ไส้เดือนฝอยต่อปริมาตรน้ำ 1 มิลลิลิตร โดยสุ่มจากบีกเกอร์ 3 ครั้งๆ ละ 5 มิลลิลิตร เทใส่ถาดนับซึ่งเป็นถาดพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 6x6 ตารางเซนติเมตร ที่ก้นถาดขีดเป็นช่องสี่เหลี่ยมเล็กๆ ขนาดเท่ากันที่จำนวน 16 ช่อง นับไข่ไส้เดือนฝอยใต้กล้องสเตอริโอ แล้วคำนวณย้อนกลับว่าน้ำในบีกเกอร์มีไข่จำนวนเท่าใด ต่อปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยใช้ค่าเฉลี่ยจากการนับ 3 ครั้ง จากนั้นเตรียมไข่ไส้เดือนฝอยให้มีความเข้มข้นประมาณ 2,000 ไข่ต่อมิลลิลิตร (โดยคำนวณจากสมการในการเตรียมความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ $C_1V_1 = C_2V_2$ โดย C_1 คือ ความเข้มข้นที่มีอยู่ (ความเข้มข้นเริ่มต้น), V_1 คือ ปริมาณที่ต้องนำมาจากความเข้มข้นเริ่มต้น, C_2 คือ ความเข้มข้นใหม่ที่ต้องการและ V_2 คือ ปริมาณที่ต้องการเตรียม) เก็บไว้ในบีกเกอร์ และเขย่าทุกครั้งก่อนใช้ทดสอบ

5. เตรียมหัวพันธุ์มันฝรั่ง

ใช้หัวมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติค ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการปลูกมากที่สุดในประเทศไทย ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอ และมีการระบาดของโรครากปมอย่างรุนแรง

6. การทดสอบ

โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) ประกอบด้วย 8 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ

กรรมวิธี 1 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 10 กรัม/กระถาง+Mi 1,000 ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี 2 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 20 กรัม/กระถาง+Mi 1,000 ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี 3 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 30 กรัม/กระถาง+Mi 1,000 ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี 4 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 40 กรัม/กระถาง+Mi 1,000 ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี 5 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 50 กรัม/กระถาง+Mi 1,000 ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี 6 สารเคมี carbofuran® 3 กรัม/กระถาง+Mi 1,000 ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี 7 ใส่เฉพาะ Mi 1,000 ฟอง/กระถาง อย่างเดียว

กรรมวิธี 8 ไม่ใส่เชื้อ+ไม่ใส่ Mi

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำก้อนเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกันแล้วคลุกเคล้าให้เข้ากัน จากนั้นผสมกับดินปลูกลงในกระถางดิน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร ตามอัตราที่กำหนด คือ 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกระถาง

กรมวิชาการเกษตร

แล้วนำหัวพันธุ์มันฝรั่ง ที่เตรียมไว้ข้างต้น (ข้อ 5) จำนวน 1 หัวต่อกระถาง จากนั้นใช้ micropipette ดูดไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร (มีความเข้มข้นของไข่ไส้เดือนฝอยประมาณ 1,000 ไข่ต่อมิลลิลิตร) รองก้นกระถางด้วยถาดรอง และดูแลรดน้ำตามปกติ

- การบันทึกข้อมูล

เมื่อมันฝรั่งอายุครบ 45 วัน วัดระดับการเข้าทำลายหัวมันฝรั่งของไส้เดือนฝอย โดยปอกเปลือกมันฝรั่งและนับจำนวนแผลที่เกิดจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์หัวที่ถูกเข้าทำลาย (percent infection; หัวมันฝรั่งที่มีแผลอย่างน้อย 1 แผลขึ้นไป) เปอร์เซ็นต์หัวหูด (percent culls; หัวมันฝรั่งที่มีจำนวนแผล 6 แผลหรือมากกว่า) และดัชนีการเข้าทำลาย (infection index) โดย 0 = ไม่มีแผล, 1 = 1–3 แผล, 2 = 4–5 แผล, 3 = 6–9 แผล, 4 = 10–49 แผล, 5 = 50–99 แผล, 6 = 100 แผลหรือมากกว่า (Pinkerton และคณะ, 1986)

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำค่าเปอร์เซ็นต์หัวที่ถูกเข้าทำลาย ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT

ขั้นที่ 2 ทดสอบรูปแบบการใช้เห็ดเรืองแสงในการควบคุมโรครากปมของมันฝรั่งในสภาพแปลง

1. การสำรวจ และคัดเลือกพื้นที่เป้าหมาย โดยสำรวจ รวบรวมข้อมูล และศึกษาภาพรวมการปลูกมันฝรั่ง ในเขตพื้นที่อำเภอพบพระ จังหวัดตาก โดยเลือกจากพื้นที่ที่มีการระบาดรุนแรง แล้วสุ่มตรวจนับจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปมเริ่มต้น (initial population) ก่อนปลูก
2. สุ่มตรวจนับจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปมเริ่มต้น (initial population) ก่อนปลูก โดยเก็บตัวอย่างดินในแปลงพื้นที่เป้าหมายที่คัดเลือกได้ เพื่อนับจำนวนตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยระยะที่ 2
3. การทดสอบ

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) ประกอบด้วย 9 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ

กรรมวิธี 1 ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 15 กิโลกรัม/แปลง รองก้นหลุมก่อนปลูก
กรรมวิธี 2 ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 15 กิโลกรัม/แปลง ผสมดินก่อนปลูก
กรรมวิธี 3 ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 25 กิโลกรัม/แปลง รองก้นหลุมก่อนปลูก
กรรมวิธี 4 ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 25 กิโลกรัม/แปลง ผสมดินก่อนปลูก
กรรมวิธี 5 ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 35 กิโลกรัม/แปลง รองก้นหลุมก่อนปลูก
กรรมวิธี 6 ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 35 กิโลกรัม/แปลง ผสมดินก่อนปลูก
กรรมวิธี 7 ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 45 กิโลกรัม/แปลง รองก้นหลุมก่อนปลูก
กรรมวิธี 8 ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 45 กิโลกรัม/แปลง ผสมดินก่อนปลูก
กรรมวิธี 9 พักดิน 3 เดือน และปลูก (control)

ใช้พื้นที่ทดลองในแปลงปลูกมันฝรั่งที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมระดับ การเตรียมแปลงปลูก เนื่องจากมันฝรั่งเป็นพืชหัว การเตรียมดินต้องให้ร่วนซุยดี ขนาดแปลงทดลอง 3x5 เมตร โดยยกร่องขนาดสันร่องกว้าง 1 เมตร สูงจากระดับทางเดิน 20-30 เซนติเมตร จากนั้นนำก้อนเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกัน แล้วดำเนินการตามกรรมวิธีที่วางไว้ รดน้ำพอชุ่มก่อนปลูก ระยะปลูก ระหว่างต้น 25 x 80 เซนติเมตร ใช้หัวมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติค ปลูกทั้งหัว โดยขุดหลุมลึก 5 - 12 เซนติเมตร กว้างพอให้วางหัวที่งอกต้นอ่อนแล้ว กลบด้วยดินที่คลุกกับก้อนเชื้อเห็ดไว้ก่อน กดดินพอแน่นและรดน้ำตามปกติ

- การบันทึกข้อมูล

1. เก็บตัวอย่างดินในแปลงทดสอบ เพื่อนับจำนวนตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยระยะที่ 2 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินจากแต่ละแปลงทดลองย่อยแปลงละ 1 ตัวอย่าง (สุ่มเก็บ 10 จุดต่อแปลง) โดยเก็บ 2 ครั้ง คือ ก่อนปลูกมันฝรั่ง และหลังปลูกมันฝรั่ง

กรมวิชาการเกษตร

2. เก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน 3 ครั้ง คือ ก่อนทดลอง ก่อนปลูกมันฝรั่ง และหลังทดสอบ ได้แก่ ค่า pH OM Available P Exchangeble K Ca Mg

3. เมื่อมันฝรั่งอายุครบ 100 วัน เก็บตัวอย่างหัวมันฝรั่ง จากแถวกลางของแต่ละแปลงทดลอง จำนวน 20 ต้นต่อแปลง แยกหัวมันฝรั่งเป็น 2 ส่วน คือ หัวมันขนาดที่ส่งขายได้ (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 ½ นิ้วขึ้นไป) และหัวมันขนาดเล็ก ชั่งน้ำหนักหัวมันฝรั่ง และสุ่มตัวอย่างหัวมันฝรั่งจำนวน 25 หัว จากหัวมันขนาดที่ส่งขายได้ เพื่อวัดระดับการเข้าทำลายหัวมันฝรั่งของไส้เดือนฝอย โดยปอกเปลือกมันฝรั่งและนับจำนวนแผลที่เกิดจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์หัวที่ถูกเข้าทำลาย (percent infection; หัวมันฝรั่งที่มีแผลอย่างน้อย 1 แผลขึ้นไป) เปอร์เซ็นต์หัวหูด (percent culls; หัวมันฝรั่งที่มีจำนวนแผล 6 แผลหรือมากกว่า) และดัชนีการเข้าทำลาย (infection index) โดย 0 = ไม่มีแผล, 1 = 1–3 แผล, 2 = 4–5 แผล, 3 = 6–9 แผล, 4 = 10–49 แผล, 5 = 50–99 แผล, 6 = 100 แผลหรือมากกว่า (Pinkerton และคณะ, 1986)

4. เก็บข้อมูลผลผลิตมันฝรั่ง โดยเก็บผลผลิตทั้งแปลงและจำนวนครั้งของการเก็บเกี่ยว

5. เก็บข้อมูลทางด้านเศรษฐศาสตร์ เช่น ข้อมูลต้นทุนการผลิต ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ ราคาผลผลิตที่เกษตรกรขายได้และรายได้นำไปวิเคราะห์ผลตอบแทน โดยคำนวณผลตอบแทน = รายได้-ต้นทุน ค่าผลตอบแทนต่อการลงทุน (BCR) =รายได้/ต้นทุน

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำค่าเปอร์เซ็นต์หัวที่ถูกเข้าทำลาย ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT

ขั้นที่ 3 การทดสอบระยะเวลาการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ

กรรมวิธี 1 ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา A กิโลกรัม/แปลง รองก้นหลุมก่อนปลูก/ผสมดินก่อนปลูก และทุก 30 วัน จำนวน 3 ครั้ง โรยข้างต้นมันฝรั่ง

กรรมวิธี 2 ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา A กิโลกรัม/แปลง รองก้นหลุมก่อนปลูก/ผสมดินก่อนปลูก และทุก 30 วัน จำนวน 2 ครั้ง โรยข้างต้นมันฝรั่ง

กรรมวิธี 3 ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา A กิโลกรัม/แปลง รองก้นหลุมก่อนปลูก/ผสมดินก่อนปลูก และอีก 30 วัน จำนวน 1 ครั้ง โรยข้างต้นมันฝรั่ง

กรรมวิธี 4 ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตราแนะนำ กรัม/หลุม รองก้นหลุมก่อนปลูกมันฝรั่ง

กรรมวิธี 5 พักดิน 3 เดือน และปลูกมันฝรั่ง (control)

ใช้พื้นที่ทดลองในแปลงปลูกมันฝรั่งที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมระดับ การเตรียมแปลงปลูก เนื่องจากมันฝรั่งเป็นพืชหัว การเตรียมดินต้องให้ร่วนซุยดี ขนาดแปลงทดลอง 3x5 เมตร โดยยกร่องขนาดสันร่องกว้าง 1 เมตร สูงจากระดับทางเดิน 20 - 30 เซนติเมตร จากนั้นนำก้อนเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกัน แล้วดำเนินการตามกรรมวิธีที่วางไว้ รดน้ำพอชุ่มก่อนปลูก ระยะปลูก ระหว่างต้น 25 x 80 เซนติเมตร ใช้หัวมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติค ปลูกทั้งหัว โดยขุดหลุมลึก 5-12 เซนติเมตร กว้างพอให้วางหัวที่งอกต้นอ่อนแล้ว กลบด้วยดินที่คลุกกับก้อนเชื้อเห็ดไว้ก่อน กดดินพอแน่นและรดน้ำตามปกติ

- การบันทึกข้อมูล

1. เก็บตัวอย่างดินในแปลงทดสอบ เพื่อนับจำนวนตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยระยะที่ 2 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินจากแต่ละแปลงทดลองย่อยแปลงละ 1 ตัวอย่าง (สุ่มเก็บ 10 จุดต่อแปลง) โดยเก็บ 2 ครั้ง คือ ก่อนปลูกมันฝรั่ง และหลังปลูกมันฝรั่ง

2. เก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน 3 ครั้ง คือ ก่อนทดลอง ก่อนปลูกมันฝรั่ง และหลังทดสอบ ได้แก่ ค่า pH OM Available P Exchangeble K Ca Mg

กรมวิชาการเกษตร

3. เมื่อมันฝรั่งอายุครบ 100 วัน เก็บตัวอย่างหัวมันฝรั่ง จากแถวกลางของแต่ละแปลงทดลอง จำนวน 20 ต้นต่อแปลง แยกหัวมันฝรั่งเป็น 2 ส่วน คือ หัวมันขนาดที่ส่งขายได้ (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 ½ นิ้วขึ้นไป) และหัวมันขนาดเล็ก ชั่งน้ำหนักหัวมันฝรั่ง และสุ่มตัวอย่างหัวมันฝรั่งจำนวน 25 หัว จากหัวมันขนาดที่ส่งขายได้ เพื่อวัดระดับการเข้าทำลายหัวมันฝรั่งของไส้เดือนฝอย โดยปอกเปลือกมันฝรั่งและนับจำนวนแผลที่เกิดจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์หัวที่ถูกเข้าทำลาย (percent infection; หัวมันฝรั่งที่มีแผลอย่างน้อย 1 แผลขึ้นไป) เปอร์เซ็นต์หัวหูด (percent culls; หัวมันฝรั่งที่มีจำนวนแผล 6 แผลหรือมากกว่า) และดัชนีการเข้าทำลาย (infection index) โดย 0 = ไม่มีแผล, 1 = 1–3 แผล, 2 = 4–5 แผล, 3 = 6–9 แผล, 4 = 10–49 แผล, 5 = 50–99 แผล, 6 = 100 แผลหรือมากกว่า (Pinkerton และคณะ, 1986)

4. เก็บข้อมูลผลผลิตมันฝรั่ง โดยเก็บผลผลิตทั้งแปลงและจำนวนครั้งของการเก็บเกี่ยว

5. เก็บข้อมูลทางด้านเศรษฐศาสตร์ เช่น ข้อมูลต้นทุนการผลิต ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ ราคาผลผลิตที่เกษตรกรขายได้และรายได้ นำไปวิเคราะห์ผลตอบแทน โดยคำนวณผลตอบแทน = รายได้-ต้นทุน ค่าผลตอบแทนต่อการลงทุน (BCR) =รายได้/ต้นทุน

<u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ</u> นำค่าเปอร์เซ็นต์หัวที่ถูกเข้าทำลาย ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT

<u>สถานที่ทำการทดลอง</u> ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกร อ.พบพระ จังหวัดตาก หรือเชียงใหม่ หรือจังหวัดลำปาง หรือจังหวัดเลย

การทดลองที่2.8 การพัฒนาชีวภัณฑ์*Bacillus subtilis*และวิธีการใช้เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากแบคทีเรีย (2561-2564)

วิธีดำเนินงานวิจัย

<u>ปี 2561-2562</u>

1. การศึกษาการทนความร้อนของแบคทีเรียปฏิปักษ์*Bacillus subtilis*

เลี้ยงแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis*บนอาหาร Tryptic soy agar (TSA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยเชื้อลงในอาหาร Tryptic soy broth (TSB) ที่เติม 2% dextrose ปริมาตร 150 มิลลิลิตร วางในเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 130 รอบ/นาที อุณหภูมิ 28°Cเป็นเวลา 3 5 และ 7 วัน แล้วแบ่งเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่บ่มไว้แต่ละระยะเวลา ลงในหลอดทดลอง นำไปต้มในอ่างน้ำร้อน (water bath) ที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90°Cที่ระยะเวลา 15 30 45 และ 60 นาที ตรวจนับจำนวนเซลล์ในแต่ช่วงเวลาด้วยวิธี serial dilution plating technique ในแต่ละอายุเชื้อ จะเตรียมเซลล์แขวนลอยให้มีความเข้มข้น 4 ระดับๆ ละ 3 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28°Cเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียปฏิปักษ์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เป็นเซลล์แขวนลอยที่ไม่ได้รับความร้อน แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสร้างเซลล์ทนร้อนจากสูตร (กุศล และพิศาล, 2556)

$$\text{เซลล์ทนร้อน (\%)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์แบคทีเรียปฏิปักษ์ในชุดที่ได้รับความร้อน} \times 100}{}$$

2. การพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis*

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD 9 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 cellulose + kaolin

กรรมวิธีที่ 2 cellulose + glucose

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 3 cellulose + yeast

กรรมวิธีที่ 4 cellulose + peptone

กรรมวิธีที่ 5 talcum + cellulose

กรรมวิธีที่ 6 talcum + kaolin

กรรมวิธีที่ 7 talcum + glucose

กรรมวิธีที่ 8 talcum + yeast

กรรมวิธีที่ 9 talcum (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

เลี้ยงแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis*ในอาหาร Tryptic soy broth (TSB) ที่เติม 2% dextrose ปริมาตร 250 มิลลิลิตร วางในเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 130 รอบ/นาที อุณหภูมิ 28^{O}C เป็นเวลา 5 วัน แล้วตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 ^{O}C เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้งเก็บเฉพาะตะกอนเชื้อนำไปผสมกับสารตัวพาตามกรรมวิธีที่กำหนด (Amal, 2010) และเติม 1% carboximethyl cellulose (CMC) และ 15% $CaCO_3$ หลังจากผสมสารให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว ตากให้แห้งเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียปฏิปักษ์

3. ตรวจสอบความอยู่รอดของเชื้อ *Bacillus subtilis*ในสภาพอุณหภูมิต่างๆ

นำชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้ไปเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส และเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส ตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งการตรวจเช็คความอยู่รอดของเชื้อจะทำทุก ๆ เดือน เป็นระยะเวลา 12 เดือนเมื่อได้สูตรชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมแล้ว จึงนำไปพัฒนาเป็นรูปแบบชีวภัณฑ์สำหรับใช้เคลือบหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูกต่อไป

4. การพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์สำหรับใช้เคลือบหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูก

4.1 การเตรียมสารละลายที่มีคุณสมบัติช่วยเคลือบหัวพันธุ์

เลือกสารละลายที่มีรายงานว่ามีคุณสมบัติช่วยเคลือบเมล็ดพืชได้ เป็นสารที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และเก็บได้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่เสื่อมคุณภาพ ในการทดลองนี้ได้เลือกสารช่วยเคลือบมาทดลองทั้งหมด 10 ชนิด คือ alginic acid (ALG), carrangeenan (CAR), dextrin (DIN), dextran (DAN), pelgel (PEL), polyethylene glycol (PEG), polyvinyl pyrrolidone (PVP), Methyl cellulose (MC), polyvinyl alcohol (PVA) และ gelatin (GEL) โดย ALG, CAR, DIN, DAN, PEL, PEG และ PVP สามารถละลายได้ในน้ำเย็น ส่วน MC, PVA และ GEL จะละลายในน้ำร้อน ความเข้มข้นของสารเคลือบที่นำทดสอบ DIN, DAN, PEL, PEG, PVP และ PVA จะทดสอบที่ความเข้มข้น 1% และ 10% ส่วน MC, ALG และ GEL จะทดสอบเฉพาะที่ความเข้มข้นสาร 1% เท่านั้น เนื่องจากที่ความเข้มข้นสาร 10% สารทั้งสามชนิดไม่สามารถละลายน้ำได้อย่างสมบูรณ์ สำหรับ CAR ซึ่งมีความสามารถในการละลายน้ำได้น้อยมาก จึงใช้ความเข้มข้นสาร 0.5% ในการทดสอบ (Sylvie and Huang, 2003)

4.2 วิธีการเคลือบชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis*บนหัวพันธุ์มันฝรั่ง

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 11 กรรมวิธี ละ จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 15 หัว

กรรมวิธีที่ 1 ใช้สารละลาย dextrin (DIN) ความเข้มข้น 1%

กรรมวิธีที่ 2 ใช้สารละลาย dextran (DAN) ความเข้มข้น 1%

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 3 ใช้สารละลาย pelgel (PEL) ความเข้มข้น 1%
กรรมวิธีที่ 4 ใช้สารละลาย polyethylene glycol (PEG) ความเข้มข้น 1%
กรรมวิธีที่ 5 ใช้สารละลาย polyvinyl pyrrolidone (PVP) ความเข้มข้น 1%
กรรมวิธีที่ 6 ใช้สารละลาย polyvinyl alcohol (PVA) ความเข้มข้น 1%
กรรมวิธีที่ 7 ใช้สารละลาย Methyl cellulose (MC) ความเข้มข้น 1%
กรรมวิธีที่ 8 ใช้สารละลาย alginic acid (ALG) ความเข้มข้น 1%
กรรมวิธีที่ 9 ใช้สารละลาย gelatin (GEL) ความเข้มข้น 1%
กรรมวิธีที่ 10 ใช้สารละลาย carrangeenan (CAR) ความเข้มข้น 0.5%
กรรมวิธีที่ 11 ใช้ชีวภัณฑ์เคลือบหัวมันฝรั่งไม่ผสมสารเคลือบ (กรรมวิธีควบคุม)
- วิธีปฏิบัติการทดลอง
เตรียมสารเคลือบให้มีความเข้มข้นตามกรรมวิธี ผสมชีวภัณฑ์ลงในสารเคลือบที่เตรียมไว้ความเข้มข้น 10% คนให้เนื้อสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำหัวมันฝรั่งลงไปเคลือบกับสารละลายที่เตรียมไว้ โดยวางบนเครื่องเขย่านาน 15 นาที หลังจากนั้นนำไปผึ่งให้แห้ง
ตรวจเช็คปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์บนหัวมันฝรั่งหลังจากเคลือบด้วยชีวภัณฑ์ตามกรรมวิธีต่างๆ โดยใช้ Cork borer ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร เจาะหัวมันฝรั่ง แล้วนำชิ้นมันฝรั่งไปเขย่าในน้ำกลั่นปริมาตร 9 มิลลิลิตร ตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA รวมทั้งศึกษาผลกระทบของสารเคลือบที่มีต่อหัวพันธุ์มันฝรั่ง ระยะเวลาและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมของการเก็บรักษาหัวมันฝรั่งหลังเคลือบชีวภัณฑ์ และเช็คความอยู่รอดของเชื้อบนหัวมันฝรั่ง ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 1 เดือน
- การบันทึกข้อมูล
- ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์
-ความอยู่รอดของเชื้อ
<u>ปี 2563-2564</u>
5. ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้และอัตราการใช้ที่เหมาะสมในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากแบคทีเรียในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง
- แบบและวิธีการทดลอง
วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี จำนวน4 ซ้ำ ซ้ำละ 4 กระถาง
กรรมวิธีที่ 1 ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ + โรยด้วยชีวภัณฑ์แบบผงทุกสัปดาห์หลังปลูก อัตรา 1.5 กรัม/ต้น
กรรมวิธีที่ 2 ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ + โรยด้วยชีวภัณฑ์แบบผงทุกสัปดาห์หลังปลูก อัตรา 2.0 กรัม/ต้น
กรรมวิธีที่ 3 ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ + โรยด้วยชีวภัณฑ์แบบผงทุกสัปดาห์หลังปลูก อัตรา 2.5 กรัม/ต้น
กรรมวิธีที่ 4 ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ + โรยด้วยชีวภัณฑ์แบบผงทุกสัปดาห์หลังปลูก อัตรา 3.0 กรัม/ต้น
กรรมวิธีที่ 5 ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ + รดด้วยสารละลายชีวภัณฑ์ทุกสัปดาห์หลังปลูกอัตรา 50 กรัม/ต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ + รดด้วยสารละลายชีวภัณฑ์ทุกสัปดาห์หลังปลูกอัตรา 60 กรัม/ต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 ใช้หัวมันฝรั่งปกติ และรดด้วยชีวภัณฑ์แบบผง (talcum) ทุกสัปดาห์หลังปลูกอัตรา 50 กรัม/ต่อน้ำ 20 ลิตร (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)
กรรมวิธีที่ 8 ใช้หัวมันฝรั่งปกติและรดด้วยน้ำกลั่น (กรรมวิธีควบคุม)

กรมวิชาการเกษตร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

5.1 เตรียมแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*

เตรียมสารละลายแบคทีเรีย*R. solanacearum*(no.1156) ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย spectrophotometer ให้มีค่า OD 0.2 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร นำสารละลายแบคทีเรียที่เตรียมไว้ ผสมดินที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วในอัตราส่วน สารละลายแบคทีเรีย 100 มิลลิลิตรต่อดิน 8 กิโลกรัม ทิ้งไว้ 2 สัปดาห์ ตรวจเช็คปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum*ในดินด้วยวิธี serial dilution plating technique จากนั้นจึงนำดินที่เตรียมไว้ไปใส่กระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว เพื่อปลูกมันฝรั่ง

5.2 ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์*Bacillus subtilis*สายพันธุ์ DOA-WB4

บันทึกจำนวนต้นมันฝรั่งที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวทุก 7 วัน ตรวจเช็คปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* และแบคทีเรีย *R. solanacearum* จากดินทุก 7 วันด้วยวิธี serial dilution plating technique

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนต้นมันฝรั่งที่แสดงอาการโรคเหี่ยว
- ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* และแบคทีเรีย *R. solanacearum*

6. ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้และอัตรการใช้ที่เหมาะสมในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากแบคทีเรียในสภาพแปลงทดลอง

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 6 กรรมวิธี จำนวน4ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ + โรยด้วยชีวภัณฑ์แบบผงทุกสัปดาห์หลังปลูก อัตราที่ 1/ต้น

กรรมวิธีที่ 2 ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ + โรยด้วยชีวภัณฑ์แบบผงทุกสัปดาห์หลังปลูก อัตราที่ 2/ต้น

กรรมวิธีที่ 3 ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ + รดด้วยสารละลายชีวภัณฑ์ทุกสัปดาห์หลังปลูกอัตราที่ 1

กรรมวิธีที่ 4 ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ + รดด้วยสารละลายชีวภัณฑ์ทุกสัปดาห์หลังปลูกอัตราที่ 2

กรรมวิธีที่ 5 ใช้หัวมันฝรั่งปกติ และรดด้วยชีวภัณฑ์แบบผง (talcum) ทุกสัปดาห์หลังปลูกอัตรา 50 กรัม/ต่อน้ำ 20 ลิตร (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

กรรมวิธีที่ 6 ใช้หัวมันฝรั่งปกติและรดด้วยน้ำกลั่น (กรรมวิธีควบคุม)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

6.1 การเตรียมแปลงทดลอง

เตรียมแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ หลังจากไถพลิกดินแล้วอบดินด้วยยูเรียอัตรา 80 กิโลกรัมปูนขาว 800 กิโลกรัม ต่อพื้นที่ 1 ไร่ อบทิ้งไว้3 สัปดาห์หลังจากนั้นปลูกต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดาเพื่อเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum*ในแปลงปลูกให้มีความสม่ำเสมอพอต้นมะเขือเทศอายุครบ 1 เดือนปลูกเชื้อด้วยแบคทีเรีย *R. solanacearum*โดยวิธี clipping method ทิ้งไว้1 เดือนเมื่อสังเกตเห็นต้นมะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยวจึงสับต้นมะเขือเทศให้ละเอียดและปล่อยให้ย่อยสลายในดิน จากนั้นจึงเตรียมแปลงปลูกมันฝรั่งขนาด 3.2 x 4 เมตร จำนวน 40 แปลง โดยใช้หัวพันธุ์จำนวน 80 หัวต่อ 1 แปลง

6.2 ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์*Bacillus subtilis*

กรมวิชาการเกษตร

บันทึกจำนวนต้นมันฝรั่งที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวทุก 7 วัน ตรวจเช็คปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* และแบคทีเรีย *R. solanacearum* จากดินทุก 7 วันด้วยวิธี serial dilution plating technique

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนต้นมันฝรั่งที่แสดงอาการโรคเหี่ยว
- ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* และแบคทีเรีย *R. solanacearum*

การวิเคราะห์ผลทางสถิตินำข้อมูลจำนวนต้นมันฝรั่งที่แสดงอาการโรคเหี่ยว ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* และแบคทีเรีย *R. solanacearum* ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT

สถานที่ทำการทดลอง
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- แปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

การทดลองที่ 2.9 การพัฒนากระบวนการผลิตสารชีวภัณฑ์*Bacillus subtilis* ไอโซเลท 20W16 และ/หรือ 20W33 เพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา*Colletrotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก (2562-2564)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1.ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสารชีวภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis* ไอโซเลท 20W16 และ/หรือ 20W33(ปี 2562)

1.1 การทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรีย*B.subtilis* ปฏิบัติดังนี้

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ(ซ้ำละ 4 ฟาสก์ขนาด 250 ม.ล.) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 2 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 3 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ปฏิบัติการทดลอง ดังนี้

1.1.1 เลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว (สูตรที่ได้จากผลการทดลองการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์*Bsubtilis* เพื่อใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกสาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides*)

1.1.2 นำไปเลี้ยงในสภาพเขย่า ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ ที่อุณหภูมิ ต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด เป็นเวลา 5 วัน

1.1.3 ตรวจเช็คปริมาณการสร้างเอ็นโดสปอร์ โดยวิธี serial dilution plate technique บนอาหาร PSA โดยที่ก่อนนับนำไปแช่ใน hot water bath อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 1 ชม. (Wiwattanapatapee *et., al* 2007) เพื่อฆ่าเซลล์ปกติ และเหนี่ยวนำให้สปอร์งอกก่อนโดยการย้ายลงอาหาร PDB เขย่าเป็นเวลา 48 ชม. แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง PSA

1.2 การทดสอบความเร็วรอบในการเขย่าเพื่อกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย*B.subtilis*

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ(ซ้ำละ 4 ฟาสก์ขนาด 250 ม.ล.) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบ/นาที

กรรมวิธีที่ 2 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 3 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที

ปฏิบัติการทดลอง ดังนี้

1.2.1 เลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว (สูตรที่ได้จากผลการทดลองการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์*B. subtilis* เพื่อใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกสาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides*)

1.2.2 นำไปบ่มเชื้อในสภาพเขย่า ที่ความเร็วรอบต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด เป็นเวลา 5 วัน

1.2.3 ตรวจเช็คปริมาณการสร้างเอ็นโดสปอร์ โดยวิธี serial dilution plate technique บนอาหาร PSA (ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 1.1.3)

1.3 การทดสอบระยะเวลาบ่มเชื้อที่เหมาะสมต่อการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย*B.subtilis*

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ(ซ้ำละ 4 ฟาสก์ขนาด 250 ม.ล.) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 3 วัน

กรรมวิธีที่ 2 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีที่ 3 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 7 วัน

ปฏิบัติการทดลอง ดังนี้

1.3.1 เลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว (สูตรที่ได้จากผลการทดลองการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์*B.subtilis* เพื่อใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกสาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides*)

1.3.2 นำไปเลี้ยงในสภาพเขย่า เป็นเวลาต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด

1.3.3 ตรวจเช็คปริมาณการสร้างเอ็นโดสปอร์ โดยวิธี serial dilution plate technique บนอาหาร PSA (ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 1.1.3)

1.4 การทดสอบอัตราแอมโมเนียมไนเตรทซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม ในการเติมลงในสูตรอาหาร เพื่อกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ(ซ้ำละ 4 ฟาสก์ขนาด 250 ม.ล.) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แอมโมเนียมไนเตรท 0.5 กรัมต่ออาหารเหลว 1 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 แอมโมเนียมไนเตรท 1.0 กรัมต่ออาหารเหลว 1 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 แอมโมเนียมไนเตรท 1.5 กรัมต่ออาหารเหลว 1 ลิตร

1.4.1 เตรียมอาหารเหลว (สูตรที่ได้จากผลการทดลองการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์*Bsubtilis* เพื่อใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกสาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides*)

1.4.2 เติมแอมโมเนียมไนเตรท ลงไปอาหารเหลวอัตราต่างๆตามกรรมวิธีที่กำหนด

1.4.3 เลี้ยงแบคทีเรีย*B.subtilis* ลงในอาหารดังกล่าว

1.4.4 บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมานับปริมาณเอ็นโดสปอร์โดยวิธี serial dilution platetechnique (ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 1.1.3)

การบันทึกข้อมูล

บันทึกปริมาณเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย*B.subtilis*

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลค่าเฉลี่ยของปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่ตรวจนับได้มาวิเคราะห์สถิติ

2 <u>ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสารชีวภัณฑ์ที่เหมาะสม</u> (ปี 2563)

2.1 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ(ซ้ำละ 4 ฟาสก์ขนาด 250 ม.ล.) ดังนี้

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 1 อุณหภูมิ 27± 2 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง)

กรรมวิธีที่ 2 อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิตู้เย็นช่องธรรมดา)

กรรมวิธีที่ 3 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิแปลงปลูก)

2.1.1 นำผลิตภัณฑ์ผงและผลิตภัณฑ์เหลว ที่ผลิตได้ ไปเก็บรักษา ไว้ตามที่ต่างๆ คือ ที่ อุณหภูมิ 27± 2 องศาเซลเซียส และในอุณหภูมิต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด

2..1.2 นำมานับปริมาณเอ็นโดสปอร์โดยวิธี serial dilution platetechnique (ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 1.1.3) ทุกๆ 2 เดือน

การบันทึกข้อมูล

บันทึกปริมาณเอ็นโดสปอร์เริ่มต้น และตรวจนับทุกๆ 2 เดือน

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลค่าเฉลี่ยของปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่ตรวจนับได้มาวิเคราะห์สถิติ

2.2 ศึกษาสารกันเสียที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาสารชีวภัณฑ์สูตรเหลว *B.subtilis*(ปี 2563)

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี 4 ซ้ำ(ซ้ำละ 4 ฟาสก์ขนาด 250 ม.ล.)

กรรมวิธีที่ 1 benzoic acid อัตรา 1000 มกต่ออาหารเหลว 1 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 propionic acid อัตรา 2000 มกต่ออาหารเหลว 1 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 acetic acid อัตรา 100 มก.ต่ออาหารเหลว 1 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 benzoic acid 500 มก. + propionic acid 1000 มก ต่ออาหารเหลว 1 ลิตร

2.2.1 เตรียมอาหารเหลว (สูตรที่ได้จากผลการทดลองการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ *Bsubtilis* เพื่อใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกสาเหตุจากเชื้อรา *Colletrotrichum gloeosporioides*) โดยไม่มีการฆ่าเชื้อ

2.2.2 เติมสารกันเสียชนิดต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด ลงในอาหารเหลว

2.2.3 เลี้ยงแบคทีเรีย*B.subtilis* ลงในอาหารดังกล่าว

2.2.4 บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมานับปริมาณเอ็นโดสปอร์โดยวิธี serial dilution platetechnique (ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 1.1.3) ทุกๆ 2 เดือน

การบันทึกข้อมูล

บันทึกปริมาณเอ็นโดสปอร์เริ่มต้น และตรวจนับทุกๆ 2 เดือน

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลค่าเฉลี่ยของปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่ตรวจนับได้มาวิเคราะห์สถิติ

3 ศึกษาวิธีการนำสารชีวภัณฑ์มาใช้ป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริก (ปี 2564)

3.3.1 การผสมน้ำ เพื่อกระตุ้นเอ็นโดสปอร์ของ*B.subtilis* ให้เข้าสู่ระยะ Vegetative cell

1.3.1.1 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการผสมน้ำก่อนนำไปใช้พ่น

1.3.1.2 อัตราที่เหมาะสมต่อการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส

1.3.1.3 อุณหภูมิน้ำที่นำมาใช้ผสมสารชีวภัณฑ์

3.3.2 วิธีการใช้

1.3.2.1 การพ่น

1.3.2.2 การคลุกเมล็ดก่อนปลูก

การทดลองที่2.10การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis*แบบผงเพื่อควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของ

กรมวิชาการเกษตร

กล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*(2562-2564)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. การศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ *Bacillus subtilis*(ปี 2562)

1.1 <u>การเตรียมเชื้อ *Bacillus subtilis*BVS-37</u>(เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท BVS-37 จาก รุ่งนภาและคณะ ,2559)

เลี้ยงเชื้อ *Bacillus subtilis* BVS-37 บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28±2องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมงเพื่อนำไปทำการทดลองต่อไป

1.2 <u>การวางแผนการทดลอง</u>

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 4 ซ้ำ5 กรรมวิธี ดังนี้ (ดัดแปลงจาก Muis, 2006)

กรรมวิธีที่ 1 Tryptic soy broth (TSB)

กรรมวิธีที่ 2Wakimoto's medium (PSB)

กรรมวิธีที่ 3 Nutrient glucose broth (NGB)

กรรมวิธีที่ 4 brown sugar and yeast extract

กรรมวิธีที่ 5 Coconut water

นำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* BVS-37 จากข้อ 1.1 มาผสมลงในสูตรอาหารเหลวแต่ละชนิดตามกรรมวิธี โดยเขี่ยเชื้อ *Bacillus subtilis* BVS-37 ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ไปผสมกับอาหารแต่ละชนิดตามกรรมวิธีในปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 3 4 และ 5 วัน จากนั้นตรวจดูการเพิ่มปริมาณของเชื้อ*Bacillus subtilis* BVS-37 ทุกๆ2 3 4 และ 5 วัน โดยวิธี serial dilution *method*เลือกดูดสารแขวนลอยเชื้อ4 ระดับ ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร TSA ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28±2องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* BVS-37 พร้อมคำนวณหาปริมาณของเชื้อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ

2. ศึกษาวัสดุรองรับเชื้อ *Bacillus subtilis* BVS-37 ที่มีประสิทธิภาพ (ปี 2562-2563)

2.1 <u>การเพาะเลี้ยงและผลิตสปอร์แบคทีเรีย*Bacillus subtilis* BVS-37</u>

เลี้ยงแบคทีเรีย*Bacillus subtilis* BVS-37 บนอาหารTryptic Soy Agar (TSA)ให้ได้โคโลนีเดี่ยวอายุ 24-36 ชั่วโมงใช้ loop ขูดเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* BVS-37 จำนวน 2-3 loop ลงในอาหารเหลวที่เหมาะสมในการเพิ่มสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 150 มิลลิลิตรนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 130 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3-4 วันหลังจากนั้นทำการเก็บสปอร์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา10 นาทีหลังจากนั้นเก็บเชื้อไว้ในตู้เย็น เพื่อนำไปทำการทดลองต่อไป

2.2 <u>การศึกษาวัสดุรองรับเชื้อ *Bacillus subtilis* BVS-37</u>

ทำการศึกษาวัสดุรองรับเชื้อ *Bacillus subtilis*BVS-37 จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ทาลคัม (Talcum) และเกาลิน(Kaolin) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD)มี 3 ซ้ำ8 กรรมวิธี ดังนี้ (ดัดแปลงจาก กฤติเดชและดุสิต, 2559)

กรรมวิธีที่ 1 Talcum+carboximethyl cellulose (CMC) +$MgSO_4.7H_2O$+glucose

กรรมวิธีที่ 2 Kaolin+CMC+$MgSO_4.7H_2O$+glucose

กรรมวิธีที่ 3 Talcum+Potassium humate+CMC+$MgSO_4.7H_2O$+glucose

กรรมวิธีที่ 4 Kaolin+Potassium humate+CMC+$MgSO_4.7H_2O$+glucose

กรรมวิธีที่ 5 Talcum+CMC+$MgSO_4.7H_2O$+amino acid+glucose

กรรมวิธีที่ 6 Kaolin+CMC+$MgSO_4.7H_2O$+amino acid+glucose

กรรมวิธีที่ 7 Talcum+Potassium humate+CMC+$MgSO_4.7H_2O$+amino acid+glucose

กรรมวิธีที่ 8 Kaolin+Potassium humate+CMC+$MgSO_4.7H_2O$+amino acid+glucose

จากนั้นนำเชื้อ *Bacillus subtilis*BVS-37 ที่เตรียมไว้ในข้อ 2.1 มาทดสอบโดยผสมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ลงในวัสดุรองรับตามกรรมวิธีดังกล่าว ในอัตราส่วนที่เหมาะสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ตากให้แห้งในที่ร่ม แล้วบดให้เป็นผงละเอียด เก็บไว้ในถุงพลาสติกหลังจากนั้นทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยวิธี serial dilution *method*เลือกดูดสารแขวนลอยเชื้อ4 ระดับ ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร TSA ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28±2องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* BVS-37 พร้อมคำนวณหาปริมาณของเชื้อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ

3. การตรวจสอบความอยู่รอดของเชื้อ *Bacillus subtilis*BVS-37 ในผลิตภัณฑ์ และระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ(ปี 2563-2564)

นำผลิตภัณฑ์ชนิดผงจากข้อ 2.2 แบ่งใส่ถุงพลาสติก ถุงละ 1 กิโลกรัม เก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 28±2 องศาเซลเซียส) และเก็บรักษาในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 4-15 องศาเซลเซียส)สุ่มตัวอย่างประมาณ 10 กรัม มาตรวจนับปริมาณของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีชีวิตรอดในผลิตภัณฑ์แต่ละสูตร โดยตรวจนับทุก ๆ 1 เดือน เป็นระยะเวลา 15 เดือน (ณัฏฐิมาและคณะ,2557)โดยวิธี serial dilution *method* เลือกดูดสารแขวนลอยเชื้อ4 ระดับ ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร TSA ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28±2องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* BVS-37 พร้อมคำนวณหาปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย*Bacillus subtilis* BVS-37 ทำการคัดเลือกสูตรผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมมา 5 สูตร เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

4. ทดสอบวิธีการใช้และประสิทธิภาพสูตรผงในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง(ปี 2564)

4.1 <u>การเตรียมเชื้อ *Acidovoraxavenae* subsp. *cattleyae*สำหรับปลูกเชื้อ</u>

เลี้ยงเชื้อ *Acidovoraxavenae* subsp. *cattleyae*บนอาหาร Wakimoto's medium (PSA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28±2องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเชื้อแบคทีเรียไปละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ แล้ววัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตรปรับให้ได้ค่า OD เท่ากับ 0.2 (ความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร)ปลูกเชื้อทดสอบโดยวิธีพ่นสารละลายเชื้อแบคทีเรียบนใบกล้วยไม้ให้ทั่วใบ ทำการทดลองในกล้วยไม้สกุลแวนดา หรือม็อคคารา ที่มีอายุประมาณ 2 ปี

4.2 <u>การเตรียมผลิตภัณฑ์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์</u>

นำผลิตภัณฑ์แต่ละสูตรมาผสมน้ำในอัตราส่วน ชีวภัณฑ์50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ลงในเครื่องมือพ่นสาร หลังจากนั้นนำไปพ่นให้ทั่วใบกล้วยไม้ทำการทดลองในกล้วยไม้สกุลแวนดา หรือม็อคคารา ที่มีอายุประมาณ 2 ปี

4.3<u>ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์*Bacillus subtilis*BVS-37 ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาล</u>

วางแผนการทดลองแบบRandomized Complete Block Design (RCB) มี 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น6 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์สูตร 1

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์สูตร 2

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์สูตร 3

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์สูตร 4

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์สูตร 5

กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

พ่นสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคลงบนใบกล้วยไม้ให้ทั่ว แล้วใช้ถุงพลาสติกคลุมต้นกล้วยไม้เพื่อเพิ่มความชื้น โดยใช้ถุงพลาสติก 1 ถุงต่อ 1 ต้น ทิ้งไว้ 1 วัน แล้วนำถุงพลาสติกดังกล่าวออก หลังจากนั้นจึงทำการพ่นผลิตภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละสูตร และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อตามกรรมวิธีดังกล่าว ทำการพ่นทุกๆ7 วัน จำนวน 5 ครั้ง

4.4 <u>การบันทึกข้อมูล</u>

ตรวจสอบการเกิดโรคของกล้วยไม้ก่อนพ่นทุกครั้ง โดยการตรวจนับจำนวนแผลและวัดขนาดของแผลที่แสดงอาการของโรคใบจุดสีน้ำตาลทุกใบ คำนวณหาพื้นที่ใบและประเมินระดับความรุนแรงของโรคในแต่ละต้น โดยแบ่งระดับความรุนแรงของโรคเป็น 6 ระดับ ดังนี้(กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2554)

ระดับ 1 ใบไม่ปรากฏอาการของโรค

ระดับ 2 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 1-5% ของพื้นที่ใบ

ระดับ 3 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 6-10% ของพื้นที่ใบ

ระดับ 4 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 11-25% ของพื้นที่ใบ

ระดับ 5 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 26-50% ของพื้นที่ใบ

ระดับ 6 ใบปรากฏอาการของโรคมากกว่าร้อยละ 50% ของพื้นที่ใบ

หลังจากนั้นนำข้อมูลระดับการเกิดโรคมาคำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI)

ดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI) = <u>ผลรวมของ (จำนวนต้นพืชแต่ละระดับอาการ x คะแนนของระดับอาการ</u>X 100

จำนวนต้นพืชทดสอบทั้งหมด x คะแนนสูงสุดของระดับอาการ

4.5 <u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

นำค่าดัชนีการเกิดโรคที่คำนวณมาวิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

การทดลองที่ 2.11 การพัฒนารูปแบบการผลิตและการใช้สารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงสิรินรัศมี *Neonothopanus nambi* (Speg.) R.H. Petersen & Krisai ต่อการควบคุมโรคเน่าดำในกล้วยไม้ (2562-2564)

การดำเนินการทดลอง

<u>ขั้นตอนที่ 1</u><u>รูปแบบการผลิตสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงในการควบคุมโรคเน่าดำในกล้วยไม้ (ปี 2562-2563)</u>

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

แหล่งที่มาของเชื้อ

"เห็ดสิรินรัศมี"ได้รับพระราชทานนามจากสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารีฯ ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้เชื้อเห็ดเรืองแสง ไอโซเลท PW2 ที่แยกได้จากเห็ดเรืองแสงที่พบในเขตโคกภูตากา อำเภอเวียงเก่า จังหวัดขอนแก่น โดยเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) เชื้อเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ไอโซเลท PW2 ซึ่งแยกได้จากเห็ดเรืองแสงที่พบในเขตโคกภูตากา อำเภอภูเวียง จังหวัดขอนแก่น

เชื้อรา *Phytophthora palmivora* จากศูนย์เก็บเชื้อ culture collections กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

<u>1. ศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ให้ได้มากที่สุด</u>

โดยวางแผนการทดลองCompletely Randomized Design(CRD) ประกอบด้วย 6 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 1เลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Broth (PDB)
กรรมวิธีที่ 2เลี้ยงบนอาหาร Yeast Malt Glucose (YMG)
กรรมวิธีที่ 3เลี้ยงบนอาหาร Malt Extract Broth (MEB)
กรรมวิธีที่ 4เลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Broth (PDB)
กรรมวิธีที่ 5เลี้ยงบนอาหาร Yeast Malt Glucose (YMG)
กรรมวิธีที่ 6เลี้ยงบนอาหาร Malt Extract Broth (MEB)

วิธีปฏิบัติการทดลอง นำเชื้อเห็ดเรืองแสง ไอโซเลท PW2มาเลี้ยงบนอาหาร potato dextose agar (PDA) เป็นเวลา 7 วัน แล้วใช้ cork borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร เจาะวุ้นตรงปลายเส้นใยของเชื้อรา จำนวน 5 ชิ้น ลงในอาหารเหลว ตามกรรมวิธีที่วางไว้ ปริมาตร100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 28± 2 องศาเซลเซียส ระยะเวลา30 วันจากนั้นเก็บน้ำคั้นเชื้อ(culture filtrate)

การบันทึกข้อมูลเมื่อครบ 30 วัน check ปริมาณสาร aurisin A ในแต่ละกรรมวิธีแล้วนำวิเคราะห์

2. ศึกษาการเลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสงในถังหมัก (fermenter)

ใช้ถังแบบ Non-stirred, aerated (ไม่มีการกวน และให้อากาศ) เพื่อเลี้ยงเชื้อให้ได้ปริมาณมากๆ โดยศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการหมัก ได้แก่ สภาวะในการหมัก (Parameter) เช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง การให้อากาศ อัตราการไหลของสารเข้าสู่ถังหมัก เป็นต้น

ขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมเชื้อเห็ดเรืองแสงให้บริสุทธิ์

2. เตรียมหัวเชื้อเห็ดเรืองแสง (Inoculum) คือเตรียมเชื้อเห็ดเรืองแสงให้มีปริมาณมากเพียงพอต่อการหมัก และการเตรียมอาหารเหลวเพื่อใช้ในการหมักจากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการทดสอบแล้วว่าสามารถเพิ่มปริมาณสาร aurisin A ในปริมาณมากที่สุดสำหรับนำมาถ่ายลงในถังหมักเพื่อให้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานของจุลินทรีย์

3. ขยายเชื้อเห็ดเรืองแสงในถังหมัก เพื่อผลิตสารในขนาดที่ใหญ่ขึ้น ซึ่งถังหมักที่ใช้มีขนาด รูปร่าง วัสดุที่ใช้แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของการใช้งานและสารที่ได้

4. เป็นขั้นตอนการแยกและการทำให้สารบริสุทธิ์

การบันทึกข้อมูลเก็บข้อมูลอุณหภูมิที่เหมาะสม ความชื้นสัมพัทธ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง การให้อากาศ อัตราการไหลของสารเข้าสู่ถังหมักและปริมาณสาร aurisin A หลังการหมัก

3. ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง

3.1ศึกษาภาชนะบรรจุเพื่อเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง

โดยวางแผนการทดลอง CRD ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำๆ ละ 4 ขวด

กรรมวิธีที่ 1เก็บน้ำคั้นเชื้อในขวดแก้ว
กรรมวิธีที่ 2เก็บน้ำคั้นเชื้อในขวดแก้วสีชา
กรรมวิธีที่ 3เก็บน้ำคั้นเชื้อในขวดพลาสติกใส
กรรมวิธีที่ 4 เก็บน้ำคั้นเชื้อในขวดพลาสติกทึบแสง

วิธีปฏิบัติการทดลองนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสงที่ได้จากการหมักในถังหมัก (fermenter) จำนวน 100 มิลลิลิตรต่อภาชนะบรรจุที่กำหนดในแผนการทดลอง เก็บที่อุณหภูมิ4 องศาเซลเซียส

การบันทึกข้อมูลวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และทางกายภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง ทุกๆ 30 วัน จำนวน 10 ครั้ง รวมทั้ง check ปริมาณสาร aurisin A ในแต่ละกรรมวิธี

กรมวิชาการเกษตร

3.2 ศึกษาชนิดและระดับการใช้สารกันเสียในกระบวนการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

โดยวางแผนการทดลองCRD ประกอบด้วย 7 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1เติมกรดซอร์บิค 0.05 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 2เติมกรดซอร์บิค 0.10เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 3เติมกรดซอร์บิค 0.15เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 4 เติมกรดโพรพิโอนิค 0.15เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 5เติมกรดโพรพิโอนิค 0.20 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 6 เติมกรดโพรพิโอนิค 0.25เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 7ไม่เติมสารกันเสียในสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ(กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

วิธีปฏิบัติการทดลองนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสงที่ได้จากการหมักในถังหมัก (fermenter) จำนวน 100 มิลลิลิตรต่อภาชนะบรรจุที่กำหนดในแผนการทดลอง เก็บที่อุณหภูมิ4 องศาเซลเซียสจากนั้นเติมสารกันเสียตามกรรมวิธีที่วางไว้ บ่มที่อุณหภูมิ 28± 2 องศาเซลเซียส

การบันทึกข้อมูลวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และทางกายภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง หลังการเติมสารกันเสีย ทุกๆ 60 วัน จำนวน 5 ครั้ง เช่น การตรวจสอบคุณภาพกลิ่นหืน สี และปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำคั้นเชื้อ รวมทั้ง check ปริมาณสาร aurisin A ในแต่ละกรรมวิธี

*ขั้นตอนที่ 2*ทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงในรูปแบบที่พัฒนาในการควบคุมโรคเน่าดำในแปลงกล้วยไม้ (ปี 2564) จำนวน 2 แปลงทดลอง

โดยวางแผนการทดลอง RCB ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 4ซ้ำๆ ละ 10 ต้น

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพรูปแบบพัฒนา A

กรรมวิธีที่ 2พ่นสารaurisin A ความเข้มข้น 500 ppm(กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

กรรมวิธีที่ 3พ่นสารเคมี metalaxyl + mancozeb 8+64% WP อัตรา 25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4พ่นน้ำเปล่า(control + ใส่เชื้อ *P. palmivora*)

กรรมวิธีที่ 5พ่นน้ำเปล่า(control – ไม่ใส่เชื้อ *P. palmivora*)

วิธีปฏิบัติการทดลองเริ่มพ่นทุกกรรมวิธีให้ทั่วบริเวณใบและยอดกล้วยไม้ด้วยเครื่องพ่นมือ200 มล./ต้นจากนั้นทิ้งช่วงให้ใบกล้วยไม้แห้ง และพ่นซ้ำทุก 3 วัน จำนวน 3 ครั้ง

การบันทึกข้อมูล check การเกิดโรคโดยวัดขนาดของแผลบนใบกล้วยไม้สกุลแวนดา(เซนติเมตร)หลังพ่นที่ 3, 5 และ 7 วัน

การวิเคราะห์ข้อมูลนำค่าวัดขนาดของแผลบนใบกล้วยไม้ ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT

การทดลองที่ 2.12 ศักยภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง*Neonothopanus nambi* (Speg.) R.H. Petersen & Krisai ในการควบคุมโรครากเน่าและผลเน่าของทุเรียนที่มีสาเหตุจากเชื้อรา*Phytopthora palmivora* (Butler) Butler (2562-2564)

การดำเนินการทดลอง

*ขั้นตอนที่ 1*ทดสอบประสิทธิภาพสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนในสภาพเรือนทดลอง(ปี 2562)

กรมวิชาการเกษตร

1.1 แหล่งที่มาของเชื้อ

“เห็ดสิรินรัศมี”ได้รับพระราชทานนามจากสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารีฯ ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้เชื้อเห็ดเรืองแสง ไอโซเลท PW2 ที่แยกได้จากเห็ดเรืองแสงที่พบในเขตโคกภูตากา อำเภอเวียงเก่า จังหวัดขอนแก่น โดยเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) เชื้อเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ไอโซเลท PW2 ซึ่งแยกได้จากเห็ดเรืองแสงที่พบในเขตโคกภูตากา อำเภอภูเวียง จังหวัดขอนแก่น

เชื้อรา *Phytophthora palmivora* แยกเชื้อจากสวนทุเรียนของเกษตรกรในภาคตะวันออกหรือภาคใต้ประกอบด้วย ระยอง จันทบุรี ตราด ชุมพร

1.2 การเตรียมสารสกัด aurisin A จากเชื้อเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi*

เลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว malt extract broth (MEB) เป็นเวลา 30 วัน กรองเส้นใยและเก็บเส้นใยที่ได้นำไปอบที่ตู้อบ 45 องศาเซลเซียส เมื่อเส้นใยแห้งแล้วนำมาบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น จากนั้นสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยเอทิลอะซีเตต (EtOAc) จำนวน 3 ครั้ง เก็บสารละลายที่ได้มากรองและระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดัน ด้วยเครื่อง rotary evaporator นำสารสกัดหยาบ crude EtOAc ไปแยกสกัดด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยการใช้ซิลิกาเจล เป็นตัวดูดซับและใช้ EtOAc:hexane เป็นตัวชะเก็บสารที่ถูกชะออกมาพร้อมกับตัวชะเป็น fraction เพิ่มความแรงของขั้วของตัวชะให้มากขึ้นจนถึง 100% EtOAc จึงหยุด นำแต่ละ fraction มาตรวจสอบด้วย thin layer chromatography (TLC) เพื่อทำการรวม fraction ที่เหมือนกันไว้ด้วยกัน จากนั้นนำ faction ที่มีจุดบน TLC ไปแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟีและการตกผลึกจนได้สาร aurisin A ที่สกัดได้ในรูปผงสีเหลืองอ่อน

1.3 เตรียมน้ำคั้น (culture filtrate) จากเห็ดเรืองแสง นำเชื้อเห็ดเรืองแสงมาเลี้ยงบนอาหารPDA เป็นเวลา7 วัน แล้วใช้cork borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง0.8 เซนติเมตรเจาะวุ้นตรงปลายเส้นใยของเชื้อราจำนวน5 ชิ้นย้ายลงในอาหารเหลว PDB จำนวน100 มิลลิลิตรแล้วบ่มในอุณหภูมิห้องนาน30 วันกรองเส้นใยออกเก็บculture filtrate สำหรับใช้ทดสอบ

1.4การเตรียมก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง*Neonothopanus nambi*

การเตรียมหัวเชื้อข้าวฟ่าง โดยนำขวดหัวเชื้อข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 30 นาที จากนั้นนำเชื้อเห็ดเรืองแสงที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 5วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.9 เซนติเมตร เจาะตรงปลายเส้นใย แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อลงในขวดข้าวฟ่างโดยให้ชิ้นวุ้นอยู่กึ่งกลางของขวดหัวเชื้อข้าวฟ่าง ลนปากขวด ปิดจุกสำลี หุ้มกระดาษ และรัดด้วยหนังยาง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน เส้นใยเจริญเต็มขวดข้าวฟ่าง การเตรียมก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง*N. nambi*นำก้อนเชื้อขี้เลื่อยที่นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วใส่ข้าวฟ่างที่มีเส้นใยเห็ดเรืองแสงเจริญเต็มขวด เขย่าให้เมล็ดข้าวฟ่างร่วนออกจากกัน จากนั้นเทเมล็ดข้างฟ่างที่มีเชื้อเจริญเต็มขวด ประมาณ 15-20 เมล็ดลงบนก้อนเชื้อขี้เลื่อยที่นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำไปเก็บในโรงบ่มเชื้อจนกว่าเส้นใยจะเดินเต็มก้อน ประมาณ 45 วัน จึงนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

1.5การสารแขวนลอยของเชื้อรา *P. palmivora*โดยเลี้ยงเพิ่มจำนวนเชื้อราบนอาหาร CA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน เมื่อเชื้อเจริญเติมจานเลี้ยงเชื้อจึงทำสารแขวนลอยเพื่อปลูกเชื้อต่อไป

1.6การทดสอบโดยวางแผนการทดลอง Randomized Complete Block Design (RCB) ประกอบด้วย 6 กรรมวิธี 4ซ้ำๆ ละ3ต้น

กรรมวิธี 1ราดสารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/l จำนวน 100 มล./ต้น

กรรมวิธี 2ราด culture filtrate ความเข้มข้น 100 % จำนวน 100 มล./ต้น

กรรมวิธี 3 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 100 กรัม/กระถาง รองก้นหลุมก่อนปลูก

กรรมวิธี 4ราดสารเคมี metalaxyl 25% WP อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธี 5ใส่เฉพาะเชื้อรา *P. palmivora* เพียงอย่างเดียว (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธี 6 ไม่ใส่เชื้อและสารเคมี (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>ในการทดสอบใช้ทุเรียน พันธุ์หมอนทอง อายุต้นพันธุ์ 6-12 เดือน เริ่มแรกนำก้อนเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกันแล้วคลุกเคล้าให้เข้ากัน รองก้นหลุมก่อนปลูกตามอัตราที่กำหนด ย้ายทุเรียน อายุ 6-12 เดือน ลงในกระถาง ส่วนกรรมวิธีอื่นก็ดำเนินตามแผนที่วางไว้จากนั้น ประมาณ 7 วัน นำสารแขวนลอยของเชื้อรา*P. palmivora*ราดลงในกระถางแต่ละกระถาง

<u>การบันทึกข้อมูล</u> ลักษณะการเข้าทำลายบริเวณโคนต้น และอาการบนต้น เช่น ใบร่วง ต้นโทรม เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่เฉพาะเชื้อรา *P. palmivora*เพียงอย่างเดียว ว่าแสดงอาการรากเน่าและโคนเน่าหรือไม่ โดยดูจากลักษณะการเข้าทำลายบริเวณโคนต้น และระบบราก หลังการปลูกเชื้อที่30 - 60 วัน (สังเกตจากกรรมวิธีที่ใส่เฉพาะเชื้อรา*P. palmivora*เพียงอย่างเดียว)

<u>*ขั้นตอนที่ 2*การทดสอบรูปแบบการใช้เห็ดเรืองแสงควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนในสภาพสวน (ปี 2563-2564)</u>

2.1 เตรียมแปลงทดลองเลือกสวนทุเรียนของศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี จำนวน 2 แปลง ทุเรียนอายุประมาณ 10-15 ปี ที่ คัดเลือกต้นทดลองที่มีขนาดใกล้เคียงกัน

2.2 เก็บตัวอย่างดินจากแปลงทดลอง เพื่อตรวจหาเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า ทั้งก่อนการทดลอง และหลังการทดลอง

2.3การประเมินโรคก่อนและหลังการทดลอง ดัดแปลงวิธีของ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (2554)

2.4 วัดขนาดแผลก่อนการทดสอบ โดยถากเปลือกออกบางๆ ประมาณ 1-2 มม. ให้เห็นขอบแผลชัดเจน แล้ววัดขนาดแผล กว้าง x ยาว (สูง) โดยทำเครื่องหมายช่วงที่วัด

2.5 <u>การทดสอบ</u> โดยคัดเลือกกรรมวิธีที่ได้ผลดีที่สุดมาทดสอบต่อในสภาพสวนทุเรียน ในระยะเริ่มติดผล (หางแย้) จนถึงเก็บเกี่ยวผลทุเรียนรุ่นสุดท้ายโดยวางแผนการทดลอง RCB ประกอบด้วย 3กรรมวิธี 7ซ้ำๆ ละ 1 ต้น

กรรมวิธี 1 ใช้เห็ดเรืองแสงที่ได้ผลดีที่สุดในสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี 2สารเคมีmetalaxyl 25% WP อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธี 3ไม่ใช้เห็ดเรืองแสงและสารเคมี (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>เตรียมเชื้อเห็ดเรืองแสงดำเนินตามกรรมวิธีที่วางไว้ และใส่กรรมวิธีที่ใช้เห็ดเรืองแสง อย่างน้อย 4 ครั้ง ทุกๆ 2 เดือน

2.6 <u>การบันทึกข้อมูล</u>

2.6.1 บันทึกการเกิดโรคก่อนและหลังใส่สารที่ 60 วันทุกครั้ง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้เห็ดเรืองแสง (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)โดยบันทึกการขยายการลุกลามของเชื้อ จนถึงช่วงเก็บเกี่ยวผลทุเรียนรุ่นสุดท้าย (อายุ 1 ปี)โดยสังเกตลักษณะแผลเช่นมีน้ำเยิ้มหรือแห้งและอาการต้นโทรมเป็นต้นกรณีแผลให้ถากเปลือกบริเวณขอบแผลออกบางๆ1-2 มม. เช่นเดียวกับครั้งแรกวัดขนาดแผลกว้างx ยาว (สูง) เช่นเดียวกับครั้งแรกถ้าเชื้อโรคหยุดการลุกลามขอบแผลจะมีสีเข้มหรือดำตัดกับเนื้อเปลือกปกติอย่างชัดเจน(ดูตามแนวที่วัดไว้ครั้งแรก) และถ้ากรณีอาการบนต้นประเมินโรคเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยดูทั้งต้น สังเกตอาการต้นโทรม การเจริญเติบโต และการลุกลามของเชื้อทั่วทั้งต้น เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้เห็ดเรืองแสง

2.6.2 ประเมินปริมาณผลผลิต / การลงทุน ผลตอบแทนแต่ละกรรมวิธีเพื่อดูว่ากรรมวิธีต่างๆ ที่ใส่ลงไปมีผลกระทบต่อคุณภาพของผลผลิตหรือไม่ คำนวณต้นทุนการจัดการ ผลตอบแทนของแต่ละกรรมวิธี

<u>*การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดaurisin A ต่อการควบคุมโรคผลเน่าในทุเรียน(ปี 2564)*</u>

กรมวิชาการเกษตร

โรคผลเน่าของทุเรียนหลังการเก็บเกี่ยวโดยวางแผนการทดลอง Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆ ละ 4 ผล

กรรมวิธี 1พ่นสารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/l อัตรา 50 มล./ผล

กรรมวิธี2พ่นสารสกัดaurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/l อัตรา50 มล./ผล

กรรมวิธี 3 พ่นสารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 1000 mg/l อัตรา50 มล./ผล

กรรมวิธี 4 พ่นน้ำเปล่า (control + ใส่เชื้อ *P. palmivora*) อัตรา50 มล./ผล

กรรมวิธี 5พ่นน้ำเปล่า (control + ไม่ใส่เชื้อ *P. palmivora*) อัตรา50 มล./ผล

วิธีปฏิบัติการทดลอง เตรียมสาร aurisin A ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พ่นสารตามอัตราที่กำหนด จากนั้นทำการปลูกเชื้อโดยการพ่นเชื้อ *P. palmivora*ในรูปแบบสารแขวนลอย จำนวน 30 มล./ผล แล้วนำผลทุเรียนไปบ่มให้สุกเพื่อดูอาการของโรค

การบันทึกข้อมูลcheck เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคผลเน่าเมื่อผลทุเรียนสุก เทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ โดยดูจากลักษณะการเข้าทำลายและการเกิดแผลเน่าบนผลทุเรียน

3. การปรับแผนงบประมาณระหว่างปี

☑ ไม่มี ❑ มี ได้รับอนุมัติเมื่อวันที่..... (โปรดแสดงหลักฐานในภาคผนวก)

❑ เปลี่ยนแปลงงบประมาณ โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง

.....

❑ เปลี่ยนแปลงวัตถุประสงค์/ผลผลิต โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง

.....

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 3 ผลการศึกษา

3.1 ผลการดำเนินงานของโครงการ

กิจกรรมที่ 1 การผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช

การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายแตนเบียน *Goniozus nephantidis* (Muesebeck) ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker พบว่าแตนเบียนพ่อแม่พันธุ์ที่ได้จากการเลี้ยงขยายด้วยหนอนหัวดำมะพร้าวเป็นแมลงอาศัย สามารถให้ลูกรุ่นที่ 1 ที่เบียนแมลงอาศัยติดต่อกันได้มากกว่า 6 ครั้ง ทั้งในหนอนหัวดำมะพร้าวและหนอนผีเสื้อข้าวสาร

การพัฒนาเทคนิคการผลิตขยายแมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* พบว่าการเลี้ยงแมลงช้าง ปีกใส *P. ramburi* ด้วยเพลี้ยแป้งสีชมพู *P. manihoti* จะได้ดักแด้และตัวเต็มวัยมากที่สุด รองลง มา เป็นเพลี้ยแป้งแจ็คเบียดส์ *P. jackbeardsleyi* และเพลี้ยแป้งลาย *F. virgata*

ศึกษาประสิทธิภาพการกินเหยื่อและการเลี้ยงขยายผีเสื้อตัวห้ำ *Spalgis epius* (Westwood) พบว่าสามารถใช้เพลี้ยแป้งลาย *Ferrisia virgata* ในการเลี้ยงขยายผีเสื้อตัวห้ำ *Spalgis epius* โดยใช้ฟักทองเป็นพืชอาหารของเพลี้ยแป้ง

ในการศึกษาการชะลอพัฒนาการของหนอนนกเพื่อใช้เลี้ยงขยายแมลงศัตรูธรรมชาติ พบว่า การเก็บหนอนในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 10+0.5 องศาเซลเซียส หนอนนกจะมีอายุในระยะหนอนได้ยาวนานกว่าหนอนนกที่เลี้ยงในอุณหภูมิห้องประมาณ 50 วัน โดยการเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 5 วัน/อุณหภูมิห้อง 1 วัน หนอนนก เข้าดักแด้ได้มากที่สุด

การใช้มวนเพณฆาตควบคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพดในข้าวโพดหวาน พบว่าการใช้มวนเพณฆาตอัตรา 1 ตัวต่อข้าวโพด 1 ต้น มีประสิทธิภาพในการควยคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพดได้ดีใกล้เคียงกับการใช้ fipronil 5% EC

วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่ *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter เป็น ปริมาณมาก และการนำไปใช้ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* (Stål) พบว่าเมื่อเลี้ยงด้วยอาหาร 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล N. lugens และไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และไข่แมลงวันผลไม้ B. dorsalis มวนเขียวดูดไข่ *C. lividipennis* สามารถเจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตได้ โดยเมื่อเลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* มีอายุยาวที่สุด รองลงมา คือ ไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *N. lugens* และไข่แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และจากการทดสอบอัตราส่วนพ่อแม่พันธุ์และอุปกรณ์การเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่ *C. lividipennis* ที่เหมาะสม พบว่าเมื่อเลี้ยงมวนเขียวดูดไข่ในอัตราส่วนพ่อแม่พันธุ์เท่ากัน มวนเขียวดูด ไข่ที่เลี้ยงในกรงผ้าตาข่ายมีจำนวนรุ่นลูกเฉลี่ยมากกว่ามวนเขียวดูดไข่ที่เลี้ยงในกรงพลาสติก

การเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius พบว่าเมื่อเลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร ค่าอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (Ro) เท่ากับ 11.88 เท่า ซึ่งสูงกว่าเมื่อเลี้ยงด้วยละอองเกสรต้นธูปฤาษี ที่ค่า Ro สูงเพียง 0.790 เท่า ในการทดสอบวัสดุสำหรับการวางไข่ พบว่ามวนตัวห้ำจะวางไข่บนกระดาษเช็ดมือสูงที่สุด ส่วนอุณหภูมิที่มีการวางและการฟักไข่ได้มากที่สุดคือ อุณหภูมิห้องปฏิบัติการที่ 27+1 องศาเซลเซียส และจากการศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำกินเพลี้ยไฟฝ้ายในสภาพโรงเรือน พบว่ามวนตัวห้ำระยะตัวเต็มวัยเพศเมียและระยะตัวอ่อนวัยที่ 3 สามารถกินเพลี้ยไฟฝ้ายได้ไม่แตกต่างกัน

การผลิตและการใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius* spp. ควบคุมเพลี้ยไฟ พบว่าเมื่อใช้ตัวอ่อนเพลี้ย ไฟพริก *S. dorsalis* ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* และเกสรต้นธูปฤาษี *Typha angustifolia* เป็นอาหาร พบว่า อัตราการเจริญขยายพันธุ์สุทธิ(Ro) เท่ากับ 12.54, 20.02 และ 4.53 เท่า ชั่วอายุของ กลุ่ม (Tc) เท่ากับ 14.83, 14.99 และ 14.22 วัน อัตราการเพิ่มทางกรรมพันธุ์ (rc) เท่ากับ 0.17, 0.19 และ 0.10 เท่า และอัตราการเพิ่มแท้จริง (λ) เท่ากับ 1.18, 1.22 และ 1.11 เท่า ตามลำดับ ศึกษาอัตราการปล่อยไรตัวห้ำ *A. swirskii* พบว่าการปล่อยไร 4 ตัว สามารถกินเพลี้ยไฟฝ้าย 20 ตัว บนต้น มะเขือเปราะได้หมดใน 3 วัน และ ในการใช้ไรตัวห้ำ *A. swirskii* ควบคุมเพลี้ยไฟฝ้าย *T. palmi* บนต้นมะเขือเปราะใน

กรมวิชาการเกษตร

สภาพโรงเรือนทดลอง พบว่าหลังการทดลอง 14 วัน การปล่อยไรตัวห้ำ 30 ตัว สามารถ ลดจำนวนเพลี้ยไฟลงได้โดยไม่แตกต่างกับการพ่นสาร spinetoram. และหลังทำการทดลอง 21 วัน พบว่าจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายที่ลดลงในกรรมวิธีที่ปล่อยไรตัวห้ำ 10, 20 และ 30 ตัว ทั้งหมด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร spinetoram

การผลิตขยายและใช้หอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ควบคุมหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี พบว่าหอยตัวห้ำทุกชนิดมีศักยภาพในการกินหอยและไข่หอยที่มีขนาดใกล้เคียง หรือขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย เฉลี่ยสัปดาห์ละ 2-3 ตัว โดยพบว่าหอยนักล่าสยาม; *P. siamensis* (Pfeiffer,1862) มีศักยภาพมากที่สุด สามารถ กินหอยดักดานขนาดเล็กได้ 1-1.5 ตัว/ วัน จากการศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์และการเจริญเติบโตของหอยตัวห้ำ พบว่ากรรมวิธีที่ให้อาหารเป็นหอยดักดาน จำนวน 20 ตัว ร่วมกับอาหารสูตร B (อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต =2:1:1) จำนวน 10 กรัม ทำให้หอยนักล่าสยาม; *P. siamensis* สามารถขยายพันธุ์และวางไข่ได้ดีที่สุด

การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ในการควบคุมหนอนห่อใบข้าว *Cnaphalocrocis medinalis* Guenee จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการพบว่าในวันที่ 7 กรรมวิธีการใช้เชื้อแบคทีเรีย Bta อัตรา 40, 60, 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และการใช้เชื้อแบคทีเรีย Btk อัตรา 40, 60, 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถทำให้หนอนห่อใบข้าวตายอยู่ระหว่าง 92.5 – 100 เปอร์เซ็นต์

การใช้ไวรัส NPV ในการควบคุมหนอนกระทู้ผักในหอมหัวใหญ่ พบว่า ไวรัส SlNPV อัตรา 40, 50, 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผักไม่แตกต่างทางสถิติกับ emamectin benzoate 2% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

การใช้ไวรัส NPV ร่วมกับสารฆ่าแมลงบางกลุ่มในการควบคุมหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) ในองุ่น พบว่า SlNPV อัตรา 30 มล./20 ลิตร, chorantaniliprole 5.17% EC อัตรา 20 มล./20 ลิตร, indoxacarp 15% SC อัตรา 30 มล./20 ลิตร และ spinetoram 12% SC อัตรา 10 มล./20 ลิตร มีประสิทธิภาพทำให้หนอนตาย 100, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ภายในระยะเวลา 7 วัน ส่วน tolfenpyrad 16% EC อัตรา 30 มล./20 ลิตร ทำให้หนอนตายได้เพียง 30.00 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงชนิดและอัตราการใช้ต่างๆ กับหนอนกระทู้หอมหลังได้รับไวรัส SeNPV ในอัตรา 30. 20 และ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบว่า หนอนกระทู้หอมจะมีการตายเร็วขึ้นและเปอร์เซ็นต์การตายเพิ่มขึ้นเมื่อหนอนได้รับไวรัส NPV ก่อนเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วได้รับสารเคมีฆ่าแมลงตามหลัง และจากการศึกษาประสิทธิภาพของไวรัส SeNPV ที่ผสมด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ พบว่า ในทุกชนิดของสารฆ่าแมลงที่นำมาทดสอบ เมื่อผสมกับไวรัส NPV จะทำให้หนอนตายเร็วขึ้นและมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น

การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema riobrave* ควบคุมด้วงหมัดผัก *Phyllotreta sinuata* (Stephens) ในคะน้า พบว่า กรรมวิธีราดหรือพ่นไส้เดือน ฝอย *S. riobrave* อัตรา 2,000 ตัวต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร ทุก 7 วัน เมื่อพืชอายุ 5 วัน หรือเมื่อพืชอายุ 20 วัน มีน้ำหนักผลผลิตคะน้ามากกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ

ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema riobrave* ในการควบคุมด้วงงวงมันเทศ *Cylas formicarius* พบว่าไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 100-800 ตัว สามารถเข้าทำลายตัวเต็มวัยด้วงงวงมันเทศในภายในเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาพห้องปฏิบัติการได้เท่ากับ 72.5-95.5 % ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การตายของด้วงงวงมันเทศเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยไส้เดือนฝอยอัตรา 800 ตัว ทำให้ด้วงงวงมันเทศตาย 32.5, 82.5 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ

ประสิทธิภาพของของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง Steinernema ในการควบคุมด้วงเจาะเห็ด *Cyllodes biplagiatus* พบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema riobrave* และ *Steinernema carpocapsae* มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายด้วงเจาะเห็ดสูงกว่า *Steinernema glaseri* และ ไส้เดือนฝอย *Steinernema siamkayai* ประสิทธิภาพในการเข้าทาลายด้วงเจาะเห็ดต่ำที่สุด ไส้เดือนฝอย *S. riobravae* อัตราความเข้มข้น 250-4,000 ตัว มีประสิทธิภาพเข้าทำลายด้วงเจาะเห็ดระยะหนอนและระยะดักแด้ ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* อัตราความเข้มข้น 250-4,000 ตัว มีประสิทธิภาพสูงในการเข้าทำลายด้วงเจาะเห็ดระยะตัวเต็มวัย ในสภาพห้องปฏิบัติการ

กรมวิชาการเกษตร

การพัฒนาวิธีการเก็บรักษาสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *Sarcocystis singaporensis* โดยใช้ Potassium dichromate (K2Cr2O7) เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาสำหรับผลิตเป็นเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู พบว่าการเก็บรักษาสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *Sarcocystis singaporensis* โดย ใช้ potassium dichromate (K2Cr2O7) ที่ระยะเวลา การเก็บรักษา 6 เดือน, 1 ปี, 1 ปี 6 เดือน และ 2 ปี สปอร์โรซีสต์สามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ เท่ากับ 100, 100, 37.5 และ 18.75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลาการเก็บรักษามากกว่า 2 ปี ขึ้นไป ไม่สามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ในทุกกรรมวิธี ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของสปอร์โรซีสต์ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 6 เดือน, 1 ปี, 1 ปี 6 เดือน, 2 ปี, 2 ปี 6 เดือน และ 3 ปี เท่ากับ 93.04, 74.63, 68.53, 55.60, 33.67 และ 17.18 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

การเพาะขยายเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยสูตร อาหารต่างๆ พบว่ามีสูตรอาหารเพียง 3 สูตร คือ สูตรซุปก้อนสูตรหมู + ธาตุอาหารเสริมของพืช, สูตรซุปก้อนสูตรไก่+ธาตุอาหารเสริมของพืชและสูตรซุปก้อนสูตรเนื้อ+ธาตุ อาหารเสริมของพืช สามารถเพาะเลี้ยงได้และมีจำนวนโคโลนีปริมาณใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐานที่เพาะเลี้ยงด้วย NB (Nutrient Broth) แต่เชื้อที่ได้มีประสิทธิภาพต่ำกว่า B. thuringiensis ที่เพาะเลี้ยงด้วยวิธีมาตรฐานเมื่อทำการทดสอบกับบหนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ผัก ในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาอัตราไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสกุล Steinernema สายพันธุ์ต่างๆ ต่อหนอนผีเสื้อศัตรูพืช พบว่า ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae, S. riobrave, S. glaseri, S. siamkayai* และ *S. minutum* มีค่า LC50 ต่อหนอนกินรังผึ้ง เท่ากับ 2.25, 13.68, 6.48, 306.55 และ 16.90 IJs/หนอน 1 ตัว ตามล าดับ ค่า LC50ต่อหนอนกระทู้หอม เท่ากับ 3.99, 0.73, 30.32, 122.68 และ 77.652 IJs/หนอน 1 ตัว ตามลำดับ ค่า LC50 ต่อหนอนกระทู้ผัก เท่ากับ 3.70, 1.51, 17.03, 60.40 และ 113.60 IJs/หนอน 1 ตัว ตามลำดับ ค่า LC 50 ต่อหนอนสมอฝ้าย เท่ากับ 3.76, 3.21, 181.49, 146.92 และ 309.73 IJs/หนอน 1 ตัว ตามลำดับ ค่า LC50ต่อหนอนใยผัก เท่ากับ 15.47, 1.33, 568.85, 134.30 และ 71.91 IJs/หนอน 1 ตัว ตามลำดับ ระดับความเป็นพิษของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง Steinernema จำนวน 5 สายพันธุ์ คือ *S. carpocapsae, S. riobrave, S. glaseri, S. siamkayai* และ *S. minutum* ที่มีต่อหนอนผีเสื้อ ศัตรูพืช 5 ชนิด คือ หนอนกินรังผึ้ง หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอน ใยผัก พบว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae, S. riobrave, S. glaseri*, และ *n* มีระดับความเป็นพิษสูงต่อหนอนกินรังผึ้งและสูงกว่า ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* และ *S. riobrave* มีระดับความเป็นพิษสูงต่อหนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก และ หนอนเจาะสมอฝ้ายและสูงกว่าไส้เดือนฝอยสายพันธุ์อื่น และไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ยังมีระดับ ความเป็นพิษต่อหนอนใยผักสูงกว่าไส้เดือนฝอยสายพันธุ์อื่นด้วย

การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* และไวรัส NPV ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก ในบัวหลวง พบว่าในการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ทั้งสายพันธุ์ kurstaki อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ aizawai อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และไวรัส Nuclear Polyhedrosis Virus (NPV) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผักในบัวหลวงในสภาพไร่ และพบว่าเครื่องพ่นสารที่เหมาะสมในการควบคุมหนอนกระทู้ผักในบัวหลวงโดยการใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* ได้แก่ เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงดันน้ำสูง (High pressure sprayer) เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงลม (Mist blower sprayer) เครื่องยนต์ พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงดันน้ำ (Knapsack sprayers) มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน สามารถใช้ควบคุมหนอนกระทู้ผักในแปลงบัวได้

การศึกษาเทคนิคการพ่นสารแบบต่างๆ ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (HÜbner) ในหน่อไม้ฝรั่ง โดยการใช้เชื้อ *Bacillus thuringiensis* พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อ Bt แบบน้ำน้อย โดยการใช้เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงลม มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในหน่อไม้ฝรั่งได้ดีไม่แตกต่างกับกรรมวิธีพ่นเชื้อ Bt แบบน้ำมาก โดยการใช้เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง ซึ่งในทุกกรรมวิธีที่พ่นสารจะพ่นด้วย Xentari (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) 35,000 DBMU/mg อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ใช้อัตราพ่น 120 ลิตรต่อไร่ โดยพ่นทุก 4 วัน

กรมวิชาการเกษตร

เทคนิคการพ่นสารแบบต่างๆ ในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa armigera* (HÜbner) ในกระเจี๊ยบเขียว โดยการใช้เชื้อไวรัส NPV พบว่ากรรมวิธีพ่นเชื้อแบบน้ำน้อย โดยการใช้เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงลม มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้ายในกระเจี๊ยบเขียวได้ดีไม่แตกต่างกันกับกรรมวิธีพ่นเชื้อแบบน้ำมาก โดยการใช้เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง ซึ่งทุกกรรมวิธีที่พ่นเชื้อจะพ่นด้วยเชื้อไวรัส NPV ของกรมวิชาการเกษตร อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ ำ 20 ลิตร ใช้อัตราพ่น 120 ลิตรต่อไร่ พ่นเชื้อทดลองทุก 4 วัน

การพัฒนาวิธีการผลิตขยายแตนเบียน *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) ควบคุมแมลงวันผลไม้ จากการศึกษาพบว่าแตนเบียน *D. longicaudata* ในธรรมชาติมีปริมาณน้อย อีกทั้งมีแตนเบียน *D. longicaudata* บางส่วนตายก่อนที่จะวางไข่ในหนอนแมลงวันผลไม้ และเมื่อนำแตนเบียน *D. longicaudata* มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการพบว่าเปอร์เซ็นต์การเบียนต่ำทำให้ไม่สามารถ เพาะเลี้ยงให้มีปริมาณมากได้ จึงไม่สามารถดำเนินการทดลองในขั้นตอนต่อไปได้

การศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae) ชนิดท้องถิ่นและนำเข้า จากการคัดเลือกแมลงอาศัยที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงแตนเบียน *B. nephantidis* และแตนเบียน *Brachymeria* sp. โดยใช้ดักแด้แมลงอาศัย 3 ชนิด พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร อายุ 5 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเบียน 53.33 และ 48.33 ตามลำดับ ส่วนการ เพาะเลี้ยงด้วยดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 3 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเบียน 40 และ 38.33 ตามลำดับ และการเพาะเลี้ยงด้วยดักแด้หนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella*) อายุ 3 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเบียน 35 และ 33.33 ตามลำดับ จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงแตนเบียน B. nephantidis และ แตนเบียน *B. nephantidis* ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 25+2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65+2 เปอร์เซ็นต์และที่อุณหภูมิห้องปกติ 32+2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 55+2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเพาะเลี้ยงแตนเบียน *B. nephantidis* ในห้องปฏิบัติการมีจำนวนแตนเบียนรุ่นลูกเฉลี่ยสูง กว่าการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องปกติ โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการเพาะเลี้ยง แตนเบียน *Brachymeria* sp. พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการและอุณหภูมิห้องปกติ ซึ่งมี จำนวนแตนเบียนรุ่นลูกไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากการศึกษาการเก็บรักษาแตนเบียน *B. nephantidis* และแตนเบียน *Brachymeria* sp. ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าแตนเบียน *B. nephantidis* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ให้จำนวนรุ่นลูกเฉลี่ยมากที่สุด คือ 73.67+6.43 ตัว ส่วนการเก็บรักษาแตนเบียน *Brachymeria* sp. ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 10 วัน ให้จำนวนรุ่นลูกเฉลี่ยมากที่สุด คือ 84.00+6.24 ตัว

ศึกษารูปแบบบรรจุภัณฑ์มวนพิฆาต *Eocanthecona furcellata* (Wolff) ที่เหมาะสมเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ จากการศึกษาจำนวนมวนพิฆาตที่เหมาะสมต่อบรรจุภัณฑ์และปัจจัยที่มีผลต่อความอยู่รอดของมวนพิฆาตในบรรจุภัณฑ์ ในถ้วยพลาสติกใสขนาด 6 ออนซ์ ไม่ใส่ปัจจัยเสริมใดๆ สามารถใส่มวนพิฆาตวัย 3 จำนวน 75 ตัว จะมีอัตราการอยู่รอดสูงกว่า 80% ได้นานถึง 5 วัน หากบรรจุมวนพิฆาตวัย 3 จำนวน 100 ตัว โดยใส่สำลีชุบน้ำ มวนพิฆาตจะมีอัตราการอยู่รอดสูงเกิน 80% ภายในบรรจุภัณฑ์ได้นานถึง 5 วันเช่นกัน

ศึกษาวิธีการใช้ด้วงเต่า *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant ควบคุมเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง พบว่าหลังจากปล่อยด้วงเต่า เป็นเวลา 1 2 และ 3 สัปดาห์จำนวนเพลี้ยแป้งบนต้นมันสำปะหลังที่ปล่อยด้วงเต่าและไม่ปล่อย ด้วงเต่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพเท่ากับ 79.70 95.25 และ 100 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าด้วงเต่า *C. montrouzieri* มีศักยภาพในการกินเพลี้ยแป้งได้ดี สามารถ ช่วยลดประชากรเพลี้ยแป้ง และดำรงชีวิตในแปลงมันสำปะหลังได้

ศึกษาวิธีการผลิตขยายด้วงเต่าสตีธอรัส *Stethorus pauperculus* (Weise) (Coleoptera: Coccinellidae) และประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืช พบว่าด้วงเต่าสตีธอรัสเมื่อเลี้ยงด้วยไรแดงหม่อนจะทำให้ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุยืนยาวมากที่สุดและพบว่าการปล่อยด้วงเต่าสตีธอรัส 10 ตัวต่อไรแดงหม่อน *T. truncatus* 100 ตัว (1:10) จะมีประสิทธิภาพมากที่สุด

กรมวิชาการเกษตร

การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวในมะพร้าว พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วย แบคทีเรีย *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* สายพันธุ์การค้า มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวได้ดีที่สุด 93.06% และ 84.62% ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารชนิดอื่น คือ กรรมวิธีพ่นด้วยแบคทีเรีย *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* สายพันธุ์การค้า มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว 76.97% และ 52.21% กรรมวิธีพ่นด้วยเชื้อราเขียว *M.anisopliae* สายพันธุ์กรมวิชาการ เกษตร (M3) มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว 16.63% และ 70.89% และกรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วยไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* สูตรผง มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว 51.87% และ 79.47%

การศึกษาระดับความเป็นพิษของไวรัส NPV ต่อหนอนผีเสื้อศัตรูพืช พบว่า ค่า LC50 ของเชื้อ SeNPV ต่อหนอนกระทู้หอมมีค่า 5.53x105 PIBs/ml, ค่า LC50 ของเชื้อ HaNPV ต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายมีค่า 7.59x105 PIBs/ml และ ค่า LC50 ของเชื้อ SlNPV ต่อหนอนกระทู้ผักมีค่า 1.52x106 PIBs/ml

ศึกษาอัตราการใช้ไวรัส NPV ในการควบคุมหนอนกระทู้หอมในหอมแบ่งด้วยวิธีการพ่นสาร แบบน้ำน้อย พบว่ากรรมวิธีการใช้ SeNPV อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 40 ลิตรต่อไร่ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในหอมแบ่งได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้ SeNPV อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 20 ลิตรต่อไร่ กรรมวิธีการใช้ SeNPV อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 40 ลิตรต่อไร่ กรรมวิธีการใช้ SeNPV อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อไร่ อัตราพ่น 100 ลิตรต่อไร่ และกรรมวิธีไม่พ่นสาร

การใช้ไวรัส NPV ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius) ในเผือก ผลการทดลองพบว่าการใช้ไวรัส SlNPV อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก ได้ดีเทียบเท่า emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยการใช้ SlNPV ให้ผลดีในการควบคุมหนอนกระทู้ผักได้ในช่วง 7 วันแรกหลังพบการเข้าทำลายหรือช่วงที่หนอนกระทู้ผักมีขนาดเล็กและหากพบหนอนกระทู้ผักมีการระบาดในเผือกมาก ควรทำการพ่นป้องกันกำจัดบ่อยครั้งขึ้นจาก ทุก 7 วัน เป็น ทุกๆ 3-4 วัน

ศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมพร้อมใช้อย่างง่าย จากผลการทดสอบทั้ง 3 ครั้ง พบว่าข้าวสารหุงมีความน่าสนใจเนื่องจากเป็นวิธีที่ง่ายและปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ น้อยกว่ากรรมวิธีอื่น โดยให้จำนวนโคนิเดียทั้ง 3 ครั้งอยู่ที่ $2.25X10^{8}$, $3.8X10^{8}$ และ $4X10^{8}$ โคนิเดีย/มล. ตามล าดับ และมีปริมาณการงอกเชื้อที่ $8.65X10^{7}$, $4.03X10^{8}$ และ $1.64X10^{8}$ cfu/มล. ตามลำดับ การใช้ข้าวสารหุงถึงแม้จะได้ปริมาณโคนิเดียน้อยกว่าข้าวโพดบดหยาบนึ่ง (กรรมวิธีควบคุม) แต่เป็น วิธีการที่ง่ายสำหรับแนะนำเกษตรกร ถึงแม้จะมีโอกาสปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นแต่ยังน้อยกว่าวิธีทำให้สุกอย่างง่ายวิธีการอื่น ถือเป็นทางเลือกให้เกษตรกรได้นำไปเตรียมวัสดุเพื่อใช้ผลิตขยายเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมอย่างง่ายได้ต่อไป

วิธีการที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงแรดในสภาพ ไร่ ผลการทดสอบจากการเก็บข้อมูลในสภาพไร่ทั้ง 3 ครั้ง พบการติดเชื้อของหนอนด้วงแรดในสภาพธรรมชาติ น้อยมากโดยครั้งที่ 1 พบหนอนด้วงแรดติดเชื้อเมตาไรเซียมด้วยวิธีการพ่นเชื้อ 33.33% ครั้งที่ 2 พบหนอนด้วง แรดติดเชื้อเมตาไรเซียมในการหว่านชีวภัณฑ์อัดเม็ด 2.04% และการใส่เชื้อสด 3.85% และในครั้งที่ 3 พบหนอน ด้วงแรดติดเชื้อเมตาไรเซียมโดยวิธีพ่นเชื้อ2.22% วิธีการอัดเชื้อ6.25% และการใส่เชื้อสด11.76% อย่างไรก็ตาม เมื่อนำหนอนจากกองกับดักแต่ละกรรมวิธีมาตรวจเชื้อแฝง (latent infection) พบว่าทุกกรรมวิธีที่เก็บมาติดเชื้อ ราเขียว 100 เปอร์เซ็นต์ในห้องปฏิบัติการ

ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุมแมลงนูนหลวง *Lepidiota stigma* Fabricius ในมันสำปะหลัง จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ พบว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* มีประสิทธิภาพในควบคุมหนอนแมลงนูนหลวง วัย 3 ได้ 66.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ 7 วันหลังการทดลอง มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ทุกกรรมวิธีทำการคัดเลือกไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพสามารถควบคุมหนอนแมลงนูนหลวงวัย 3 ได้ดีที่สุดในห้องปฏิบัติการ มาทำการทดลองในโรงเรือนทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี พบว่า ที่ 21 วันหลังการทดลอง ไส้เดือนฝอย *S. glaseri* อัตรา 5x108 IJs/ตารางเมตร มีประสิทธิภาพในควบคุมหนอนแมลงนูนหลวงได้ 25.00 เปอร์เซ็นต์ ไม่มี

ความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารกำจัดแมลงฟิโพรนิล (fipronil) 5% W/V (Ascend) ที่มี อัตราการตาย 37.50 เปอร์เซ็นต์ แต่มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม

การศึกษาการเพาะเลี้ยงแตนเบียนเพลี้ยอ่อน (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงแตนเบียนเพลี้ยอ่อนในสภาพห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ (27±2 องศาเซลเซียส) และในสภาพห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิ พบว่าในสภาพห้องที่ควบคุมอุณหภูมิมีศักยภาพในการเบียนเพลี้ยอ่อนและมีการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงขยายในสภาพห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเบียน 71%, 33.20% เป็นตัวเต็มวัยเพศเมีย 58.99%, 39.44% ตัวเต็มวัยมีอายุ 6-8 วัน, 5-6 วัน ตามลำดับ

การทดสอบผลของสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมะพร้าวต่อแมลงศัตรูธรรมชาติของหนอนหัวดำมะพร้าว (*Opisina arenosella* Walker) จากการทดสอบกับ *G. nephantidis* พบว่า abamectin ไม่มีความเป็นพิษต่อ *G. nephantidis* หลังจากเคลือบสารไปแล้ว 1 วัน สารเคมีจำนวน 4 ชนิดได้แก่ chlorantraniliprole, flubendiamide, lufenuron และ emamectin benzoate ไม่มีความเป็นพิษต่อแตนเบียนโกนิโอซัส เมื่อเคลือบสารทิ้งไว้7 และ 14 วัน ดังนั้นสามารถปล่อยแตนเบียนโกนิโอซัส ได้หลังจากพ่นสารใน แปลงแล้วเป็นเวลา 7 วันขึ้นไป สำหรับ thiamethoxam, imidacloprid และ lambdacyhalothrinมีความเป็นพิษน้อย-ปานกลาง แต่ chlorpyrifos, carbaryl และ cypermethrin มีความเป็นพิษ ร้ายแรงต่อแตนเบียนโกนิโอซัส ทำให้แตนเบียนตาย 100% หลังจากเคลือบสารทิ้งไว้1, 7 และ 14 วัน จากการทดสอบกับ *Bracon* sp. พบว่า emamectin benzoate และ abamectin ไม่มีความเป็นพิษต่อแตนเบียนบราคอน หลังจากเคลือบสารไปแล้ว 1 และ 7 วัน สารเคมีจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ chlorantraniliprole และ flubendiamide ไม่มีความเป็นพิษต่อแตนเบียนบราคอน เมื่อเคลือบสารทิ้งไว้14 วัน สำหรับสาร 7 ชนิด ได้แก่ thiamethoxam, imidacloprid, lambdacyhalothrin และ lufenuron มีความเป็นพิษต่อแตนเบียนบราคอนน้อย-ปานกลาง และ chlorpyrifos, carbaryl และ cypermethrin มีความเป็นพิษร้ายแรงต่อแตนเบียนบราคอน ทำให้ แตนเบียนตาย 100% หลังจากเคลือบสารทิ้งไว้1, 7 และ 14 วัน จากการทดสอบกับ *T. confusum* พบสาร 4 ชนิด ได้แก่ flubendiamide, lufenuron, emamectin benzoate และ abamectin มีความเป็นพิษน้อยต่อแตนเบียนไข่ไตรโคแกรมมา หลังจากเคลือบสารไปแล้ว 7 และ 14 วัน สำหรับสาร 7 ชนิด ได้แก่ thiamethoxam, imidacloprid, chlorpyrifos, carbaryl, lambdacyhalothrin, chlorantraniliprole และ cypermethrin มีความเป็นพิษร้ายแรง ต่อแตนเบียนไข่ไตรโคแกรมมา ทำให้แตนเบียนตาย 100% หลังจากเคลือบสารทิ้งไว้1, 7 และ 14 วัน

ประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus thuringiensis* ของกรมวิชาการเกษตรโดยใช้เครื่องพ่นสาร ชนิดต่างๆ ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (HÜbner) ในหอม พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบ เปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอนกระทู้หอมในหอมแบ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ กรรมวิธีไม่พ่นสาร และกรรมวิธีพ่นเชื้อ Bt (Xentari) แบบน้ำมาก โดยการใช้เครื่องยนต์พ่นสารสะพาย หลังแบบใช้แรงดันน้ำสูง ประกอบหัวฉีดแบบปรับท้ายและแบบพัด ที่อัตราพ่น 80 ลิตรต่อไร่ ให้ผลใน การป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมได้ดี

การผลิตและการใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* (stephens) ควบคุมเพลี้ยอ่อน *Aphis* sp. ในสตรอเบอรี่ ทดสอบในสภาพไร่โดยใช้อัตรา การปล่อยที่ 15 ตัวต่อต้น เปรียบเทียบกับการปล่อยในอัตรา 25 ตัว/ต้น แสดงให้เห็นว่า การปล่อยในอัตรา 15 ตัวต่อต้น ปริมาณเพลี้ยอ่อนจะเริ่มลดปริมาณการระบาดลง ในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 ส่วนการปล่อยในอัตรา 25 ตัว/ต้น จะเริ่มลดปริมาณการระบาดลง ในสัปดาห์ที่ 3 เป็นต้นไป

ผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อการมีชีวิตและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* พบว่ามีสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูพืช 6 ชนิด ที่มีผลต่อการมีชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง คือ สารไซเพอร์เมทริน (cypermetrin) 35% EC เหลือไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิต 88.89 86.62 และ 85.82% ที่ 1 2 และ 3 ชั่วโมงหลังผสมสาร ตามลำดับ สารแลมป์ดาไซฮาโลทริน (lamdacyhalothrin) 2.5% CS เหลือไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิต 86.59 78.17 และ 75.86% ที่ 1 2 และ 3 ชั่วโมงหลังผสม สารเคมี ตามลำดับ สารคลอร์ฟีนาเพอร์ (chlorfenapyr) 10% SC เหลือไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิต 51.90 51.67 และ 50.41% ที่ 1 2 และ 3 ชั่วโมงหลังผสมสารเคมี ตามลำดับ

กรมวิชาการเกษตร

สารไดฟลูเบนซูรอน (diflubenzuron) 25% WP เหลือไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิต 57.72 40.83 และ 32.07% ที่ 1 2 และ 3 ชั่วโมงหลังผสมสารเคมี ตามลำดับ สารกำจัดไรศัตรูพืชเฟนไพรอกซิเมต (fenpyroximate) 5% SC เหลือไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิต 76.77 68.54 และ 55.81% ที่ 1 2 และ 3 ชั่วโมงหลังผสมสารเคมี ตามลำดับ และสารกำจัดไรศัตรูพืชไพริดาเบน (pyridaben) 20% WP เหลือไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มี ชีวิต78.93 71.13 และ 68.97% ที่ 1 2 และ 3 ชั่วโมงหลังผสมสารเคมี ตามลำดับ และพบว่า สารกำจัดแมลงและไรศัตรูพืชทุกชนิดไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิตรอดต่อการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง

การทดสอบประสิทธิภาพในการใช้แบคทีเรียบีทีร่วมกับการใช้กับดักฟีโรโมนหนอนใยผักในการ ควบคุมหนอนใยผักในคะน้า จากผลการทดลอง พบว่าการใช้บีทีสายพันธุ์ kurstaki อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ spinetoram 12%W/P SC อัตรา 25 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นั้นสามารถลดปริมาณหนอนใยผักในแปลงคะน้าได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่วนการใช้กับดักฟีโรโมน ามารถดักจับผีเสื้อหนอนใยผักได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นกันเมื่อเปรียบเทียบจำนวนหนอนใยผักที่พบกับแปลงที่ไม่ได้ใช้กับดักฟีโรโมนร่วม ซึ่งหากใช้กับดักฟีโรโมนร่วมกับการป้องกันกำจัดแบบอื่นๆ จะสามารถลดจำนวนหนอนใยผักที่เข้าทำลายคะน้าได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นผลทำให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพจำหน่ายได้เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน

การพัฒนารูปแบบการผลิตเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ด จากการศึกษาพบว่าวิธีการอบทำให้ความชื้นลดลงมากกว่าโดยกรรมวิธีการอบสามารถลดความชื้นของชีวภัณฑ์อัดเม็ดได้ที่ 1.91, 2.64 และ 1.39 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีการตากสามารถลดความชื้นของชีวภัณฑ์อัดเม็ดได้ที่ 4.77, 3.63 และ 3.32 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าวทั้ง 2 กรรมวิธีพบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าวได้ 100 เปอร์เซ็นต์ไม่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาต้นทุนค่าไฟฟ้าพบว่าการทำแห้งโดยการตากในห้องปิด (ปลอดเชื้อ) มีต้นทุนการผลิตต่ำกว่ากรรมวิธีการอบชีวภัณฑ์ถึง 7 เท่า

การใช้เชื้อราเมตาไรเซียมในการป้องกันกำจัดด้วงหมัดผักในการผลิตคะน้า ผลการทดลองพบว่า ในรอบการผลิตที่ 1 เมื่อคะน้ามีอายุ 41 วัน กรรมวิธีที่ 3 พบจำนวนด้วงหมัดผักน้อยที่สุดคือ 0.065 ตัว ซึ่งแตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญส่วนระดับการเข้าทำลายของด้วงหมัดผัก ผลผลิตรวมและผลผลิตตกเกรดของคะน้าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ สำหรับในรอบการผลิตที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่ 4 5 และ 6พบจำนวนด้วงหมัดผักน้อยที่สุดคือ 0.200 0.223 และ 0.193 ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนระดับการเข้าทำลายของด้วงหมัดผัก ผลผลิตรวมและผลผลิตตกเกรดของคะน้าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เช่นเดียวกับรอบการผลิตที่ 1

การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจั๊กจั่นฝ้ายในกระเจี๊ยบเขียว พบว่าหลังการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม DOA-M8 ทุกกรรมวิธี ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติมีความแปรปรวนจำนวนประชากรตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเพิ่มขึ้นและลดลงสลับกันแต่การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม DOA-M8 ทุกกรรมวิธี มีแนวโน้มได้ผลผลิตกระเจี๊ยบเขียวได้คุณภาพ ระหว่าง 903.5-1,510.3 กิโลกรัม/ไร่ มากกว่าการใช้น้ำเปล่าซึ่งให้ผลผลิตระหว่าง 809.1-1,409.9 กิโลกรัม/ไร่

ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงหอยน้าตัวห้ำสกุล Clea เพื่อกำจัดหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี จากผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ให้อาหารเป็นหอยศัตรูพืชสกุล Physella (ขนาด 0.4 เซนติเมตร) จำนวน 20 ตัว เป็นกรรมวิธีที่หอยน้ำตัวห้ำสกุล Clea ชอบกินมากที่สุด และจากการทดลองอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับผลิตขยายหอยน้ำตัวห้ำสกุล Clea ให้ได้ปริมาณมาก พบว่าที่อุณหภูมิ 29±3 องศาเซลเซียส ในสภาพโรงเรือนระยะเวลาโดยเฉลี่ยที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ (eclosion time) เท่ากับ 42 วัน

การใช้มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) ไรตัวห้ำ *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Arachnida: Phytoseiidae) และไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans) (Acari: Phytoseiidae) ในการควบคุมศัตรูเมล่อนในสภาพโรงเรือน โดยศึกษาเปรียบเทียบประชากรของแมลงศัตรูเมล่อน และผลผลิตในโรงเรือน จำนวน 2 โรงเรือน ได้แก่ โรงเรือนที่ 1 ไม่ปล่อยศัตรูธรรมชาติ และโรงเรือนที่ 2 ปล่อยศัตรูธรรมชาติ ทำการศึกษาที่ ตำบลจรเข้สามพัน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรีพบว่า ทั้งสองโรงเรือนมีศัตรูพืชที่สำคัญคือเพลี้ยไฟถั่วลิสง

กรมวิชาการเกษตร

Caliothrips phaseoli (Thysanoptera: Thripidae) โดยปล่อยมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) ในโรงเรือนที่ 2 จำนวน24,000 ตัวต่อฤดูปลูก สามารถลดจำนวนประชากรของเพลี้ยไฟถั่วลิสง *C. phaseoli* ได้มากกว่าโรงเรือนที่ไม่ได้ปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตระหว่างสองโรงเรือนพบว่า โรงเรือนที่ปล่อยศัตรูพืชมีผลผลิต 1,320 กิโลกรัมซึ่งมากกว่าโรงเรือนที่ไม่ปล่อยศัตรูพืชได้ผลผลิตเพียง 850 กิโลกรัม

กิจกรรมที่ 2 การผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคพืช

การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท 20W16 และ/หรือ 20W33 เพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *Colletrotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก การพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ Bs สูตรแข็ง รูปผงละลายน้ำ 5 สูตร ได้แก่ สูตรที่ใช้ ทัลคัม ซีโอไลท์แคลเซียมคาร์บอเนต Kaolin (ดินขาว) และภูไมท์ซัลเฟต เป็นสารพา พบว่า สูตรที่ 1 ที่ใช้ทัลคัมเป็นสารพามีปริมาณเอ็นโดสปอร์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์สูงสุดคือ 1.7 x 10^8 spores/ml และ เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า สูตรที่ใช้ทัลคัมและสูตรที่ใช้เกาลิน ยังคง มีปริมาณเอ็นโดสปอร์สูงที่สุดเท่ากับ 10^7 spores/ml แต่เมื่อเก็บไว้ 14 เดือนพบว่า ทุกสูตรมีปริมาณเอ็นโดสปอร์ลดลงเหลือเพียง 10^5 spores/ml การทดสอบการเก็บในตู้เย็น พบว่า ปริมาณเอ็นโดสปอร์ ในทุกสูตรจะคงที่จนถึงเดือนที่ 6 และเริ่มลดลงหลังเก็บเป็นเวลา 8 เดือน และเมื่อเก็บถึง 14 เดือน ปริมาณเอ็นโดสปอร์จะลดลงเหลือเพียง 10^3 -10^5 spores/ml การทดสอบการละลายในน้ำธรรมดา พบว่า สูตรเกาลินมีการละลายดีที่สุด รองลงมา ได้แก่ สูตรทัลคัมและสูตรแคลเซี่ยมคาร์บอเนต ตามลำดับ การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ในแปลงปลูกดำเนินการทดลอง ที่ อ.ท่ามะกา และอ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี ผลการทดลองพบว่า ที่ อ.ท่ามะกา หลังพ่นชีวภัณฑ์Bs 3 ครั้ง ทุกกรรมวิธีที่พ่นชีวภัณฑ์ สูตรเหลว (T1-T4) และสาร mancozeb มีการเกิดโรคระหว่าง 29.25-48.86% ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่ากับกรรมวิธีที่ไม่พ่นชีวภัณฑ์Bs (T9 และT10) ซึ่งมีการเกิดโรคเท่ากับ 89.25 และ 86.63% ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับสูตรผง (T5-T7) พบว่า ชีวภัณฑ์ Bs 20W16 สูตรที่ใช้ทัลคัมเป็นสารพา(T5) มีการเกิดโรคต่ำสุดและไม่แตกต่างทางสถิติกับสาร mancozeb ซึ่ง สอดคล้องกับผลการทดลองแปลงที่ 2 ที่ อ.ท่าม่วง พบว่า ทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นชีวภัณฑ์Bs และพ่น สาร mancozeb มีการเกิดโรคระหว่าง 8.12-15.87% ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่ำกว่ากรรมวิธีที่ ไม่พ่นชีวภัณฑ์Bs ซึ่งมีการเกิดโรคเท่ากับ 48.00 และ 49.75% ตามล าดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* พบว่า กรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอย (cell suspension) ของ *B. Subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 สามารถป้องกัน กาจัดโรคแอนแทรคโนสพริกได้ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า (control) เมื่อน าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 และ 20W16 มาท าเป็นผงเชื้อ แล้วนำกลับมาทดสอบพบว่า การพ่นสารละลายผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ B23 อัตรา 40-50 กรัม ต่อ น้ำ 20 ลิตร สามารถป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสได้ระดับเดียวกับการพ่นสารละลายผงเชื้อ B. subtilis สายพันธุ์ 20W16 และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ สาเหตุจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* พบว่ากรรมวิธีพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS5 BS23 และ BS40 สามารถควบคุมเชื้อ B. gladioli pv. gladioli สาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ได้ดี มี ระดับความรุนแรงของโรคแตกต่างจากกรรมวิธีพ่นด้วยน้ำเปล่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้ ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์BS5 BS23 และ BS40 ที่คัดเลือกได้สามารถควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ที่มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่สามารถควบคุม โรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ที่มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น แนวทางการศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ให้มีประสิทธิภาพ ที่ดีขึ้นต่อไป คือ พ่นเพื่อป้องกันการเกิดโรคหรือใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์หลายไอโซเลทร่วมกัน

กรมวิชาการเกษตร

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดน้ำตาลของกล้วยไม้ สาเหตุจากแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BVR-37 มีค่า ดัชนีการเกิดโรคน้อยที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกๆกรรมวิธี โดยมีค่าดัชนีการเกิดโรคเท่ากับ 46.67 เปอร์เซ็นต์ (2559) และ 40.83 เปอร์เซ็นต์ (2560) มีประสิทธิภาพในการควบคุม โรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BVB-2 BVS-43 กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีthiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

การผลิตขยายและการใช้แบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* ไอโซเลตไทยในการควบคุม ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* การทดสอบการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ประชากรจาก จ.ตาก ของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต ในกระถางทดลอง โดยการคลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรียอัตรา 3,000 10,000 และ 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม พบว่า แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม มีประสิทธิภาพดีที่สุด ในการลดประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในดิน และลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมบนรากมะเขือเทศ ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมการทดสอบการใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ร่วมกับสารเคมีโดยวิธีการเคลือบเมล็ด ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยใช้ polyvinyl pyrrolidone (PVP-K90) เป็นสารเคลือบไม่สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ อย่างมีประสิทธิภาพ การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ในการ ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในระยะยาว โดยการปลูกมะเขือเทศ 3 รอบในกระถาง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 50 เซนติเมตรในเรือนทดลอง พบว่าการควบคุมโรคจะมีประสิทธิภาพก็ต่อเมื่อมีการใช้สารเคมี การควบคุมโรคโดยใช้สปอร์ของแบคทีเรียเพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับเมล็ดสะเดาบดสามารถลดจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในดินได้ แต่ไม่สามารถลดระดับความรุนแรงของ โรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nimbi* ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในพริก ทดสอบอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ด เรืองแสงในแปลงเพาะกล้า อัตรา 10, 20, 30 และ 40 กรัมต่อตารางเมตร พบว่าทุกอัตราการใช้ก้อน เชื้อเห็ดเรืองแสงสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม โดยเฉพาะการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 40 กรัมต่อตารางเมตร ผสมดินก่อนปลูก มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปมเพียง 0.36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่าง กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว พบการเกิดปมถึง 100เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดสอบวิธีการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงควบคุมโรครากปมของพริกในแปลงของเกษตรกร จำนวน 2 แปลง ที่อำเภอม่วงสามสิบ จังหวัดอุบลราชธานีและอำเภอขามสะแกแสง จังหวัดนครราชสีมา เมื่อพริกอายุ 90 วัน ทั้ง 2 แปลง พบว่า การใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 10 กรัมต่อต้น และปลูกปอเทืองร่วมกับการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 10 กรัมต่อ ต้น มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม เพิ่มผลผลิตผลสด และลดจำนวนของตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ของ ไส้เดือนฝอยรากปมในดินได้ดีที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับปลูก ปอเทืองเพียง อย่างเดียว และที่ไม่ได้ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ส่วนความสูงของต้นพริก การใช้ก้อนเชื้อ เห็ดเรืองแสง จำนวน 10 กรัมต่อต้น ส่งผลให้พริกมีความสูงมากที่สุดในแปลงที่ 1 ส่วนแปลงที่ 2 พบ การใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 10 กรัมต่อต้น และปลูกปอเทืองร่วมกับการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรือง แสง 10 กรัมต่อต้น พริกมีความสูงไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับปลูกปอเทืองเพียงอย่างเดียวและที่ไม่ได้ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง

การทดสอบประสิทธิภาพของก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ต่อการ ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในมันฝรั่ง ได้ทำการทดสอบการใช้เห็ดเรืองแสง อัตรา 10, 20, 30 และ 40 กรัมต่อต้น ในการควบคุมโรครากปมของมันฝรั่งในสภาพโรงเรือน พบว่าทุกกรรมวิธีที่ ใช้เชื้อเห็ดเรืองแสง รองก้นหลุมก่อนปลูก มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมและลดการ เกิดหูดได้ดี โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ใช้เห็ดเรืองแสง อัตรา 45 กรัม/ต้น พบเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลาย เพียง 0.2 เปอร์เซ็นต์ และเกิดหัวหูด เพียง 0.54 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นกรรมวิธีใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 40 กรัม/ต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่ได้ใช้เชื้อเห็ดเรืองแสง โดยพบหัวมันฝรั่งที่ถูกการเข้าทำลาย ถึง 67.33 เปอร์เซ็นต์ และการเกิดหัวหูด 28.63 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบวิธีการใช้

กรมวิชาการเกษตร

เห็ดเรืองแสงควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ในสภาพแปลง ที่สถานีทดลองพืชสวนพบพระ พบว่า การใช้เชื้อเห็ดเรืองแสงรองก้นหลุมก่อนปลูก อัตรา 40 กรัมต่อต้น และวิธีผสมเชื้อเห็ดเรืองแสงพร้อมกับปุ๋ยรองพื้น สูตร 15-15-15 อัตรา 0.22 : 50 กก.ต่อไร่ มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ลดการเกิดหูดของหัวมันฝรั่ง เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลาย และลดจำนวนตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ของไส้เดือนฝอยรากปมในดินได้ดีที่สุด

การพัฒนาชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* และวิธีการใช้เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากแบคทีเรีย พบว่า กรรมวิธีการใช้ Kaolin + amino acid เป็นสารตัวพามีความเหมาะสม ได้ปริมาณเชื้อ 4.5 x 10^{12} หน่วยโคโลนี/กรัม สามารถเก็บรกษาในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส ได้นาน 12 เดือนมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดี และสามารถละลายในสารเคลือบชนิดต่างๆ ได้ดี ผลการทดสอบการเลือกชนิดสารเคลือบพบว่าสารละลาย polyvinyl pyrrolidone (PVP) 360,000ความเข้มข้น 1% สามารถเคลือบสารชีวภัณฑ์บนหัวพันธุ์มันฝรั่งได้ค่อนข้างดี ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์และอัตราการใช้ที่เหมาะสมในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่ในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าการใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ +โรยด้วยชีวภัณฑ์แบบผงทุกสัปดาห์หลังปลูก อัตรา 3.0 กรัม/ต้น มีจำนวนหัวมันฝรั่งเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 15หัว/ต้น และมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อหัวเท่ากับ 23.09 กรัม/หัว กรรมวิธีที่ 5 ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ +รดด้วยสารละลายชีวภัณฑ์ทุกสัปดาห์หลังปลูกอัตรา 50 กรัม/ต่อน้ำ 20 ลิตรมีจำนวนหัวมันฝรั่งเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 15 หัว/ต้น และมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อหัวเท่ากับ 22.03 กรัม/หัว ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีสามารถเก็บผลผลิตมันฝรั่งปริมาณมากที่สุดเมือเปรียบเทียบกับทุกกรรมวิธี ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์และอัตราการใช้ที่เหมาะสมในแปลงทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์+รดด้วยสารละลายชีวภัณฑ์ทุกสัปดาห์หลังปลูก อัตราที่ 50กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 21.50%แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์+โรยด้วยชีวภัณฑ์แบบผงทุกสัปดาห์หลังปลูก อัตรา 1 กรัม/ต้น ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 34.50% และกรรมวิธีควบคุมซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 53% จากการเก็บเกี่ยวผลผลิตทั้งหมดในแปลงทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์+รดด้วยสารละลายชีวภัณฑ์ทุกสัปดาห์หลังปลูก อัตราที่ 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรมีปริมาณผลผลิตมันฝรั่งเฉลี่ยต่อแปลงย่อยสูงสุดได้น้ำหนักเฉลี่ย 15.80 กิโลกรัมต่อแปลงย่อย ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธี

การพัฒนากระบวนการผลิตสารชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท 20W16 และ/หรือ20W33 เพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *Colletrotrichum loeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก พบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อและบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส *B. subtilis* 20W33สามารถสร้างเอ็นโดสปอร์ได้ปริมาณสูงสุดคือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.15x10^{10} spores/ml การเลี้ยงเชื้อและบ่มเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 และ 150 และ 200 รอบ/นาที พบว่า *B. subtilis* สร้างเอ็นโดสปอร์ไม่แตกต่างกันคือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 10^{10} spores/ml และระยะเวลาในการบ่มเชื้อเป็นเวลา 3 5 และ 7 วัน พบว่า *B. subtilis* การสร้างเอ็นโดสปอร์มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันเท่ากับ 10^{9} spores/ml การเติมแอมโมเนียมไนเตรทลงในอาหารเหลว พบว่า ที่อัตรา 1.5 กรัมต่ออาหารเหลว 1 ลิตร แบคทีเรีย *B.subtilis* สร้างเอ็นโดสปอร์สูงสุด เท่ากับ 1.37 x10^{10} spores/ml การศึกษาการเก็บรักษา พบว่าสามารถเก็บได้ในสภาพอุณหภูมิห้องปกติ (27± 2 องศาเซลเซียส) ไม่จำเป็นต้องเก็บในตู้เย็น และไม่ควรเก็บเกิน 6 เดือน โดยหลีกเลี่ยงการเก็บในสภาพอุณหภูมิสูงเกิน 40 องศาเซลเซียส การเติม acetic acid หรือ benzoic acid + propionic acid ลงในชีวภัณฑ์สูตรเหลว สามารถเก็บรักษาปริมาณเอ็นโดสปอร์โดยที่ไม่มีการลดลงได้ถึง 12 เดือน และการนำชีวภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ Bs 20W33 ไปใช้ในการพ่นในแปลงปลูก สามารถนำชีวภัณฑ์ผสมน้ำธรรมดาตามอัตราที่กำหนดแล้วพ่นได้ทันทีโดยไม่จำเป็นต้องผสมน้ำอุ่นหรือผสมน้ำแล้วแช่ทิ้งไว้เนื่องจากให้ผลประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคไม่แตกต่างกัน

สวบการเกษตร

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* แบบผงเพื่อควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของ กล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *Cattleyae* การทดสอบเลี้ยงเชื้อ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท BVR-37ลงในสูตรอาหารเหลว จำนวน 5 สูตร พบว่าเมื่อเขย่าเป็นเวลา 3 วัน มีปริมาณของเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท BVR-37 เพิ่มมากที่สุดในสูตรอาหารเหลว CW และ TSB เท่ากับ $2.18x10^9$ และ $1.8x10^9$ cfu/ml จากนั้นนำเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท BVR-37 มาผสมลงในสารพา 2 ชนิด ได้แก่ ทาลคัม และเกาลิน ได้ชีวภัณฑ์สูตรผงจำนวน 8 สูตร เมื่อนำมาละลายน้ำ พบว่าชีวภัณฑ์สูตรเกาลินไม่เกิดการตกตะกอนและละลายน้ำได้ดีกว่าชีวภัณฑ์สูตรทาลคัม การทดสอบความมีชีวิตรอดในชีวภัณฑ์เป็นเวลา 15 เดือน พบว่าหลังจากเก็บที่อุณหภูมิ4-8 องศาเซลเซียส มีประชากรของเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท BVR-37 คงเหลือเท่ากับ 10^7 cfu/ml ในขณะที่ชีวภัณฑ์ที่เก็บไว้อุณหภูมิห้อง มีประชากรของเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท BVR-37 เหลือเพียง 107^4 cfu/ml สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ไอโซเลท BVR-37 ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้พันธุ์แวนด้าในสภาพโรงเรือนปลูกพืช พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยชีวภัณฑ์อัตรา 120 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคน้อยที่สุดเท่ากับ31.03 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ อัตรา 100, 80, 60 และ 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 31.97, 32.80, 33.22 และ 34.94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งมีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคสูงสุดเท่ากับ 39.10 เปอร์เซ็นต์

การพัฒนารูปแบบการผลิตและใช้สารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงสิรินรัศมี *Neonothopanus nambi* (Speg.) R.H. Petersen & Krisai ต่อการควบคุมโรคเน่าดำในกล้วยไม้ พบว่า ค่าเฉลี่ยขนาดของแผลในกรรมวิธีพ่นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ+กรดโพรพิโอนิค 0.20 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีพ่นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไม่เติมสารกันเสีย ไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีพ่นสารเคมี metalaxyl + mancozeb 8+64% WP อัตรา 25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร แต่จะแตกต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบพ่นน้ำเปล่า

ศักยภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* (Speg.) R.H. Petersen & Krisai ในการควบคุมโรครากเน่าและผลเน่าของทุเรียนที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytopthora palmivora* (Butler) ผลการทดสอบศักยภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytopthora palmivora* แปลงที่ 1 ณ อ.ไชยา จ. สุราษฎร์ธานี เริ่มทำการทดสอบระหว่างเดือนกันยายน 2563 – กันยายน 2564 แปลงที่ 2 ณ อ.ธารโต จ. ยะลา เริ่มทำการทดสอบระหว่างเดือนธันวาคม 2563 – ธันวาคม 2564 วางแผนการทดลอง RCB จำนวน 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีใช้น้ำคั้นเชื้อ (culture filtrate) ความเข้มข้น 100% ผสมสีฝุ่น (iron oxide) อัตรา 1:1 กรรมวิธีสีฝุ่นเพียงอย่างเดียว ผสมน้ำ อัตรา 1:1 กรรมวิธีใช้สารเคมี metalaxyl 25% WP อัตรา 50 กรัม/น้ำ 1 ลิตร และน้ำเปล่าเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ พบว่า การใช้ culture filtrate ความเข้มข้น 100% ผสมสีฝุ่น อัตรา 1:1 สังเกตดูแผลภายนอกแผลแห้ง ไม่มีน้ำเยิ้ม และไม่ขยายลุกลาม ที่สำคัญมีลักษณะการรัดตัวของเนื้อไม้หุ้มบาดแผลบริเวณที่ถาก เมื่อถากแผล พบแผลแห้งไม่ขยายและมีสีดำเข้มตัดกับเนื้อเปลือกเป็นปกติ ซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้สีฝุ่นเพียงอย่างเดียว และกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ใช้น้ำเปล่า ซึ่งมีลักษณะแผลเยิ้มในบางซ้ำที่มีความชื้นสูง มีน้ำเยิ้มไหลออกมา เมื่อถากพบขนาดแผลขยายกว้างขึ้นจากบริเวณที่ทำเครื่องหมายไว้ ส่วนกรรมวิธีการใช้สารเคมียังพบแผลเยิ้มในบางซ้ำที่มีความชื้นสูง ซึ่งให้ผลสอดคล้องกันทั้ง 2 แปลง

3.2 ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง (Output)

กรมวิชาการเกษตร

ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)	เชิงคุณภาพ
1. องค์ความรู้	15	เรื่อง	1. องค์ความรู้ใหม่	15	เรื่อง	- เทคโนโลยีในการผลิตขยายชีวภัณฑ์ จำนวน 9 ชนิด คือ ด้วงเต่าสตีธอรัส แมลงช้างปีกใส มวนตาโต เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม หอยน้ำตัวห้ำ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคโรคเหี่ยว โรคแอนแทรคโนส และโรคใบจุดสีน้ำตาล และการพัฒนาสารออกฤทธิ์ Aurisin A จากเห็ดเรืองแสงเพื่อควบคุมโรคเน่าดำ - วิธีการใช้ชีวภัณฑ์ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย (Bt) ร่วมกับฟีโรโมน การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมควบคุมด้วงหมัดผัก และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย และการใช้เห็ดเรืองแสงควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าทุเรียน - วิธีการจัดการแมลงและไรศัตรูพืชในโรงเรือนแมล่อนโดยใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ไรตัวห้ำ*A. swirskii* และไรตัวห้ ำ *A.longispinosus* - ผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อการมีชีวิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema* sp. <u>หมายเหตุ</u> หลักฐานของผลผลิตที่ได้อยู่ในระหว่างการรวบรวมเพื่อใช้ตีพิมพ์เผยแพร่ในเอกสารวิชาการประจำปี 2564 ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช	1. ได้ข้อมูลเบื้องต้นของเทคโนโลยีในการผลิตขยายชีวภัณฑ์เป็นปริมาณมาก เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงและสัตว์ศัตรูพืช 2. ได้ข้อมูลเบื้องต้นของวิธีการใช้ ชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนใยผัก ด้วงหมัดผัก และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย 3. ทราบวิธีการเบื้องต้นในการควบคุมแมลงและไรศัตรูพืชในโรงเรือนแมล่อนโดยใช้มวนตัวห้ำและ ไรตัวห้ำ 4.ได้ข้อมูลเบื้องต้นของเทคโนโลยีในการผลิตขยายเชื้อแบคทีเรีย Bacillus subtilis ปริมาณมากเพื่อใช้ในการควบคุมโรคโรคเหี่ยว โรคแอนแทรคโนส และโรคใบจุดสีน้ำตาล และได้วิธีการพัฒนาสารออกฤทธิ์ Aurisin A จากเห็ดเรืองแสงเพื่อควบคุมโรคเน่าดำ 5. ได้ข้อมูลเบื้องต้นวิธีการใช้เห็ดเรืองแสง เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ

กรมวิชาการเกษตร

ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)	เชิงคุณภาพ
2. ทรัพย์สินทางปัญญา	1	เรื่อง	อนุสิทธิบัตร	1	เรื่อง	สูตรชีวภัณฑ์เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ดและกรรมวิธีการผลิต เลขที่คำขอ 1703000571 ออกให้ ณ วันที่ 6 พฤศจิกายน 2563 หมดอายุ ณ วันที่ 4 เมษายน 2566	ได้อนุสิทธิบัตรการผลิตชีวภัณฑ์เพื่อนำไปถ่ายทอดเทคโนโลยีให้กับภาคเอกชนหรือให้แก่เกษตรนำไปผลิตและใช้เพื่อผลิตพืชปลอดภัยหรืออินทรีย์

3.3 ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง (Outcome) (ถ้ามี)

ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลลัพธ์
1. ได้วิธีการใช้ ตัวห้ำ ตัวเบียน ไส้เดือนฝอย เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเห็ดเรืองแสง เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลง ไรและสัตว์ศัตรูพืช และโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เพื่อแนะนำเกษตรกร และสามารถถ่ายทอดให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เอกชนและผู้ที่สนใจ	2564
2. ได้วิธีการจัดการแมลงและไรศัตรูพืชโดยใช้ตัวห้ำในโรงเรือนเมล่อนเพื่อเป็นคำแนะนำให้เกษตรกรในการป้องกันกำจัด	2564

*ผลลัพธ์ : ผลสำเร็จที่เกิดจากการนำผลผลิต (Output)ไปต่อยอด การเปลี่ยนรูปของผลผลิตไปสู่รูปแบบที่ใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง หรือการเคลื่อนผลผลิตไปสู่กิจกรรมที่ต่อเนื่อง ซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (Change) ที่ปรากฏชัด และมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม

3.4 ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง (Impact) (ถ้ามี)

ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลกระทบ
-	-

* ผลกระทบ : ผลประโยชน์ที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงตามผลลัพธ์ (Results of the change) ซึ่งวัดได้อย่างชัดเจนและมีหลักฐานปรากฏชัด (Evidence-based) ทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม ทั้งที่วัดในเชิงปริมาณได้และไม่ได้ ผลกระทบอาจเป็นได้ทั้งทางบวกและทางลบ

กรมวิชาการเกษตร

3.5 การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เป็นผลงานตีพิมพ์ทางวิชาการ คือ

1. โปสเตอร์ จำนวน 14 แบบ
2. แผ่นพับ จำนวน 18 แบบ (16 ชนิดชีวภัณฑ์)
3. คู่มือ/เอกสาร จำนวน 2 เล่ม

เพื่อเป็นประโยชน์ด้านวิชาการ การเรียนรู้ การเรียนการสอนในวงนักวิชาการและผู้สนใจด้านวิชาการ รวมถึงการนำผลงานวิจัยไปวิจัยต่อยอด การเผยแพร่ความรู้จากผลงานวิจัยที่ได้ต่อสาธารณะ

สื่อการอบรม คู่มือ/เอกสาร ชีวภัณฑ์ของกรมวิชาการเกษตร

1. โปสเตอร์ จำนวน 14 แบบ (14 ชนิดชีวภัณฑ์)

Bs ควบคุมโรคพืช (20W1, 20W33 และ BS-DOA24)

เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมี

เชื้อราไตรโคเดอร์มา ควบคุมโรคตายพรายกล้วย

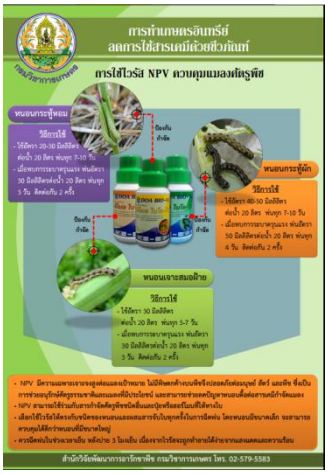
เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู

ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

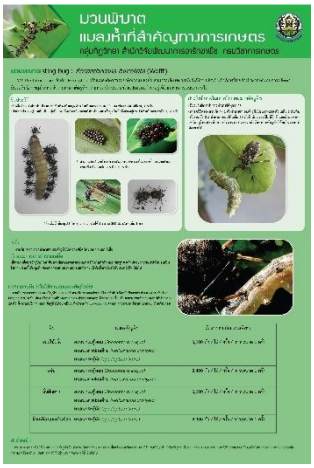
ราเขียวเมตาไรเซียม ควบคุมด้วงแรด

สำนักวิชาการเกษตร

บีที ควบคุมแมลงศัตรูพืช



ไวรัส NPV ควบคุมแมลงศัตรูพืช



มวนพิฆาต

แมลงหางหนีบขาวงแหวน

แตนเบียนอะนาไกรัส
ควบคุมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู

แตนเบียนโกนิโอซัส
ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว

แตนเบียนอะซีโคเดสและ
แตนเบียนเตตระสติคัส
ควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าว

แตนเบียนไข่ไตรโคแกรมมา

กรมวิชาการเกษตร

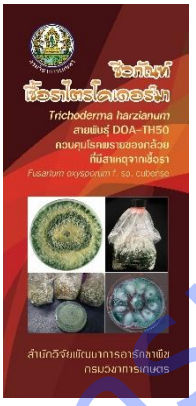
2. แผ่นพับ จำนวน 18 แบบ (16 ชนิดชีวภัณฑ์)

Bs ควบคุมโรคแอนแทรกโนส พริก

Bs ควบคุมโรคใบจุด
ในพืชตระกูลกะหล่ำ

Bs ควบคุมโรคเหี่ยว
ที่เกิดจากแบคทีเรีย

เห็ดเรืองแสงศิรินรัศมี

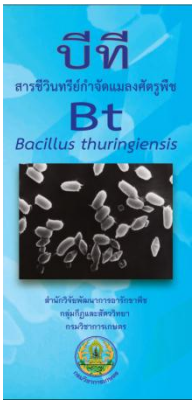


เชื้อราไตโครเดอร์มา

โปรโตซัวกำจัดหนู

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

ราเขียวเมตาไรเซียม
ควบคุมด้วงแรด



บีที กำจัดแมลงศัตรูพืช

กรมวิชาการเกษตร

ไวรัส NPV ควบคุมแมลงศัตรูพืช

มวนพิฆาต

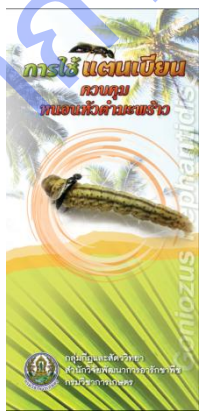
แมลงหางหนีบขาวงแหวน

แมลงช้างปีกใส

แตนเบียนเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง
(แตนเบียนอะนาไกรัส)

แตนเบียนอะซีโคเดส
ควบคุมหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว

แตนเบียนคุมแมลงดำหนาม
(แตนเบียนเตตระสติคัส)



แตนเบียนคุมหนอนหัวดำ
(แตนเบียนโกนิโอซัส)

แตนเบียนไข่ไตรโครแกรมม่า

กรมวิชาการเกษตร

3. คู่มือ/เอกสาร จำนวน 2 เล่ม

3.1 คู่มือการผลิตขยายชีวภัณฑ์อย่างง่าย เนื้อหาแบ่งเป็น 16 เรื่อง ดังนี้

- การผลิตเหยื่อกำจัดหนูสำเร็จรูปจากเชื้อโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis*
- ขั้นตอนการเลี้ยงไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง
- ขั้นตอนการทำสูตรสำเร็จไวรัส NPV
- ขั้นตอนการผลิตเชื้อสดบีทีอย่างง่าย
- วิธีการเลี้ยงขยายเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมอย่างง่าย
- วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อราไตรโคเดอร์มาอย่างง่าย
- การผลิตชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 รูปแบบผง
- ขั้นตอนการผลิตชีวภัณฑ์เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมี
- การเพาะเลี้ยงแตนเบียนหนอนหัวดำมะพร้าว (แตนเบียนโกนิโอซัส)
- การเพาะเลี้ยงแตนเบียนหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว (แตนเบียนหนอนอะซีโคเดส)
- การเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้แมลงดำหนามมะพร้าว (แตนเบียนดักแด้เตตระสติคัส)
- การผลิตแตนเบียนไข่ *Trichogramma* spp.
- วิธีการเลี้ยงแมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* เพื่อควบคุมเพลี้ยแป้ง
- การเลี้ยงแมลงหางหนีบขาวงแหวน
- การผลิตขยายมวนพิฆาต
- การเพาะเลี้ยงแตนเบียนเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู (แตนเบียนอะนาไกรัส)

คู่มือการผลิตขยายชีวภัณฑ์อย่างง่าย

กรมวิชาการเกษตร

3.2 เอกสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเพื่อเกษตรที่ยั่งยืน เนื้อหาแบ่งเป็น 16 เรื่อง ดังนี้

- การป้องกันกำจัดหนูศัตรูพืชโดยใช้โปรโตซัว
- การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้ไส้เดือนฝอย
- เชื้อแบคทีเรียบีทีควบคุมแมลงศัตรูพืช
- การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยไวรัส เอ็นพีวี
- การใช้ราเขียวเมตาไรเซียมควบคุมด้วงแรด
- การใช้ชีวภัณฑ์บาซิลลัส ซับทิลิส 20W33(*Bacillus subtilis*20W33) ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสหรือโรคกุ้งแห้งพริก สาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici*
- การใช้ชีวภัณฑ์บาซิลลัส ซับทิลิส 20W1 (*Bacillus subtilis* 20W1) ในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* และ *A. brassicae* ในพืชตระกูลกะหล่ำ
- ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 ในการควบคุมโรคเหี่ยวสาเหตุจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*
- การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมโรคพืช
- ชีวภัณฑ์เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม
- การใช้แตนเบียนไข่ *Trichogramma* ควบคุมแมลงศัตรูพืช
- การใช้แตนเบียนแมลงดำหนามมะพร้าว (แตนเบียนอะซีโคเดสและแตนเบียนเตตระสติคัส) ควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าว
- การใช้แตนเบียนเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู (แตนเบียนอะนาไกรัส) ควบคุมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู
- การใช้แตนเบียนหนอนหัวดำมะพร้าว (แตนเบียนโกนิโอซัส) ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว
- การใช้แมลงช้างปีกใส Plesiochrysa ramburi ควบคุมแมลงศัตรูพืช
- การใช้มวนพิฆาต Eocanthecona furcellata (Wolff) ควบคุมแมลงศัตรูพืช
- การใช้แมลงหางหนีบขาวงแหวน (Ring-legged earwig) ควบคุมแมลงศัตรูพืช

เอกสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชเพื่อเกษตรที่ยั่งยืน

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล

สรุปผลและอภิปรายผล

สรุปผล

โครงการวิจัยนี้ได้ดำเนินการครอบคลุมตามวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย คือ การวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ อย่างน้อย 7 กลุ่ม ได้แก่ แมลงเบียน แมลงห้ำ ไรตัวห้ำ หอยตัวห้ำ จุลินทรีย์ศัตรูแมลงและสัตว์ศัตรูพืช เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเห็ดเรืองแสง โดยเป็นการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยง การเพิ่มปริมาณ และทดสอบประสิทธิภาพ คัดเลือกชนิด รูปแบบบรรจุภัณฑ์ และวิธีการนำชีวภัณฑ์ไปใช้ประโยชน์ เพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจในพืช จำนวน 20 ชนิด ได้แก่ มะพร้าว มันสำปะหลัง ข้าว ข้าวโพดหวาน หอมหัวใหญ่ หอมแบ่ง คะน้า มันเทศ เห็ด กระเจี๊ยบเขียว หน่อไม้ฝรั่ง พริก บัว กล้วยไม้ องุ่น เมล่อน เผือก มันฝรั่ง สตรอเบอรี่ และทุเรียน โดยทำการทดสอบทั้งในห้องปฏิบัติการ สภาพโรงเรือนทดลอง จนถึงสภาพไร่ นา เพื่อให้ได้รูปแบบที่สามารถนำไปใช้ได้สะดวกและมีประสิทธิภาพ เป็นแนวทางนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ สำหรับนำมาใช้ควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช จำนวน 19 ชนิด ได้แก่ หนอนหัวดำมะพร้าว หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม หนอนห่อใบข้าว แมลงนูนหลวง ด้วงแรดมะพร้าว เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วงหมัดผัก ด้วงเจาะเห็ด ด้วงงวงมันเทศ และแมลงวันผลไม้ *ไรและสัตว์ศัตรูพืช* ได้แก่ ไรแดง หอยทากศัตรูพืช หนูท้องขาว และหนูพุก และสำหรับควบคุมโรคพืช จำนวน 9 โรค ได้แก่ โรคแอนแทรคโนสพริก โรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ โรคใบจุดสีน้ำตาลกล้วยไม้ โรคเน่าดำกล้วยไม้ โรครากปมในพริก โรคเหี่ยวและโรครากปมในมันฝรั่ง และโรครากเน่าผลเน่าทุเรียน

อภิปรายผล

ในกิจกรรมที่ 1 การผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืชนั้น ได้ทำการศึกษาเทคโนโลยีในการผลิตขยายชีวภัณฑ์ให้ได้ทั้งปริมาณมากและมีคุณภาพ ได้แก่ ตัวห้ำ ตัวเบียน จุลินทรีย์กำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช ที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ หนอนหัวดำมะพร้าว หนอนเจาะฝักข้าวโพด แมลงนูนหลวง ด้วงแรดมะพร้าว เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจั๊กจั่นฝ้าย ด้วงงวงมันเทศ ด้วงเจาะเห็ด ไรศัตรูพืช หอยศัตรูพืช ในส่วนของแมลงเบียนนั้นได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายแตนเบียน *Goniozus nephantidis* (Muesebeck) โดยใช้หนอนหัวดำมะพร้าวและหนอนผีเสื้อข้าวสารเป็นแมลงอาศัย ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวแตนเบียน *B. nephantidis* และแตนเบียน *Brachymeria* sp. โดยใช้ดักแด้แมลงอาศัย 3 ชนิด ศึกษาการเพาะเลี้ยงแตนเบียนเพลี้ยอ่อนพบว่าในสภาพห้องที่ควบคุมอุณหภูมิมีศักยภาพในการเบียนเพลี้ยอ่อนและมีการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงขยายในสภาพห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิ ในส่วนของตัวห้ำได้มีการพัฒนาเทคนิคการผลิตขยายแมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* ผีเสื้อตัวห้ำ *Spalgis epius* มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* ด้วงเต่าสตีธอรัส *Stethorus pauperculus* มวนเขียวดูดไข่ *Cyrtorhinus lividipennis* มวนพิฆาต *Eocanthecona furcellata* ไรตัวห้ำ *Amblyseius* spp. ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงหอยน้ำตัวห้ำสกุล Clea เพื่อกำจัดหอยศัตรูพืชและหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ควบคุมหอยทากศัตรูพืช ในส่วนของการศึกษาการผลิตขยายจุลินทรีย์กำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืชนั้น ได้มีการศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมพร้อมใช้อย่างง่ายและการเพาะขยายเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ด้วยสูตรอาหารต่างๆ โดยใช้วัสดุที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น ได้มีการพัฒนารูปแบบการผลิตเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมรูปแบบเชื้อสดอัดเม็ดเพื่อเพิ่มคุณภาพของผลิตภัณฑ์และลดต้นทุนการผลิต นอกจากนี้พัฒนาวิธีการเก็บรักษาสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *Sarcocystis singaporensis* โดยใช้ Potassium dichromate (K2Cr2O7) เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาสำหรับผลิตเป็นเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู

กรมวิชาการเกษตร

ในด้านการศึกษาประสิทธิภาพและวิธีการนำชีวภัณฑ์ไปใช้ในการควบคุมแมลง ไรและสัตว์ศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจนั้น ในส่วนของตัวห้ำพบว่าการใช้มวนเพณฆาตอัตรา 1 ตัวต่อข้าวโพด 1 ต้น มีประสิทธิภาพในการควยคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพดได้ สามารถใช้มวนเขียวดูดไข่ *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ใช้ด้วงเต่า *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant ควบคุมเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง ใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* (stephens) ควบคุมเพลี้ยอ่อนในสตรอเบอรี่ ใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius* spp. ควบคุมเพลี้ยไฟ และสามารถใช้ใช้มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius ไรตัวห้ำ *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot และไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans) ในการควบคุมศัตรูเมล่อนในสภาพโรงเรือนได้ และในส่วนของการนำชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ไปใช้นั้น พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* สามารถใช้ในการควบคุมหนอนห่อใบข้าว หนอนหัวดำ หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม ในพืชต่างๆได้ดีและสามารถใช้ร่วมกับฟีโรโมนในการควบคุมหนอนใยผักได้ ไวรัส NPV สามารถใช้ควบคุมหนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้ายที่เข้าทำลายในพืชต่างๆได้ และสามารถใช้ร่วมกับสารฆ่าแมลงชนิดอื่นๆได้ ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารถนำมาใช้ในการควบคุมด้วงหมัดผัก ด้วงงวงมันเทศ ด้วงเจาะเห็ด แมลงนูนหลวง และพบว่าสารกำจัดแมลงและไรศัตรูพืชทุกชนิดไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิตรอดต่อการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง ส่วนการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม DOA-M8 ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจั๊กจั่นฝ้ายในกระเจี๊ยบเขียวและด้วงหมัดผักในคะน้าพบว่าการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม DOA-M8 ไม่สามารถควบคุมด้วงหมัดผักและเพลี้ยจั๊กจั่นฝ้ายได้

จากศึกษาการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืชนั้น ทำให้ได้เทคโนโลยีในการผลิตขยายและการใช้ศัตรูธรรมชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในการควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ หนอนหัวดำมะพร้าว เพลี้ยแป้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน ด้วงแรดมะพร้าว หนอนหัวดำมะพร้าว ไรศัตรูพืช หอยทากศัตรูพืช หอยทากศัตรูพืช หนูท้องขาว หนูหริ่ง และหนูพุก ทราบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ศัตรูธรรมชาติและเชื้อจุลินทรีย์ ตลอดจนเทคนิคการพ่นเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อการควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ หนอนหัวดำมะพร้าว หนอนเจาะฝักข้าวโพด เพลี้ยอ่อน หนอนห่อใบข้าว หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก ด้วงหมัดผัก ด้วงงวงมันเทศ ด้วงเจาะเห็ด ด้วงแรดมะพร้าว แมลงนูนหลวง และเพลี้ยแป้ง ได้ชีวภัณฑ์ (Bio-agents) ที่มีประสิทธิภาพสามารถถ่ายทอดให้เกษตรกร กลุ่มเกษตรกร หน่วยงานต่าง ๆ และเอกชนนำไปผลิตและใช้ประโยชน์ในการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี อันเป็นแนวทางในการลดการใช้ หรือสามารถทดแทนการใช้สารเคมีทางการเกษตรได้ ส่งเสริมการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี ซึ่งจะนำไปสู่การลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ลดพิษตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในผลผลิตและสภาพแวดล้อม และปลอดภัยต่อตัวเกษตรกรและผู้บริโภค

ในกิจกรรมที่ 2 การผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคพืชนั้น เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สามารถใช้ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum capsica* ใช้ในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้สาเหตุจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *Gladioli* และใช้ในการควบคุมโรคใบจุดน้ำตาลของกล้วยไม้ สาเหตุจากแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ส่วนเชื้อเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nimbi* สามารถใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในพริกและมันฝรั่งได้ นอกจากนี้การใช้สารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงสิรินรัศมี สามารถใช้ควบคุมโรคเน่าดำในกล้วยไม้ และโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนได้และการใช้แบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* ไอโซเลตไทยสามารถใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ได้โดยใช้อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม

ในด้านการผลิตขยายนั้นได้มีการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท 20W16 และ/หรือ 20W33 เพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *Colletrotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก โดยพัฒนารูปแบบชีว

ภัณฑ์ Bs ให้อยู่ในรูปผงละลายน้ำ และได้ศึกษาวิธีการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โดยไม่จำเป็นต้องเก็บในตู้เย็น แต่ต้องเก็บในสภาพอุณหภูมิสูงไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส โดยการเติม acetic acid หรือ benzoic acid + propionic acid ลงในชีวภัณฑ์สูตรเหลว จะสามารถเก็บรักษาปริมาณเอ็นโดสปอร์โดยที่ไม่มีการลดลงได้ถึง 12 เดือน การพัฒนาชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* และวิธีการใช้เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากแบคทีเรีย พบว่ากรรมวิธีการใช้ Kaolin + amino acid เป็นสารตัวพามีความเหมาะสม สามารถเก็บรักษาได้นาน คุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดี และสามารถละลายในสารเคลือบชนิดต่างๆ ได้ดี ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์และอัตราการใช้ที่เหมาะสมในแปลงทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ใช้หัวมันฝรั่งที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์+รดด้วยสารละลายชีวภัณฑ์ทุกสัปดาห์หลังปลูก ที่อัตรา 50กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถควบคุมโรคได้ดี

จากศึกษาการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคพืชนั้น ทำให้ได้เทคโนโลยีในการผลิตขยายและการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเห็ดเรืองแสง ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในการควบคุมโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ โรคแอนแทรคโนสพริก โรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ โรคใบจุดสีน้ำตาลกล้วยไม้ โรคเน่าดำกล้วยไม้ โรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืช โรคเหี่ยวของมันฝรั่ง และโรครากเน่าและโคนเน่าทุเรียน นอกจากนี้ยังได้ชีวภัณฑ์ (Bio-agents) ที่มีประสิทธิภาพ สามารถถ่ายทอดให้เกษตรกร กลุ่มเกษตรกร หน่วยงานต่าง ๆ และเอกชนนำไปผลิตและใช้ประโยชน์ในการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี อันเป็นแนวทางในการลดการใช้ หรือสามารถทดแทนการใช้สารเคมีทางการเกษตรได้ ส่งเสริมการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี ซึ่งจะนำไปสู่การลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ลดพิษตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในผลผลิตและสภาพแวดล้อม และปลอดภัยต่อตัวเกษตรกรและผู้บริโภค

ข้อเสนอแนะต่อผู้เกี่ยวข้องสำหรับการดำเนินงานในระยะต่อไป

การผลิตขยายและการนำศัตรูธรรมชาติชนิดต่าง ๆ มาใช้ประโยชน์ เป็นงานวิจัยและพัฒนาที่ต้องอาศัยข้อมูลพื้นฐาน ที่ได้จากการศึกษาศัตรูธรรมชาติทั้งที่มีอยู่ในประเทศ หรือชนิดใหม่ ๆ ที่นำเข้าจากต่างประเทศ จำเป็นต้องศึกษาและพัฒนาอย่างจริงจังทั้งด้าน ชีววิทยา นิเวศวิทยา ศักยภาพในการเป็นชีวภัณฑ์ ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช และการผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก ซึ่งต้องวิจัยพัฒนาขบวนการที่เหมาะสมในการผลิตและการนำไปใช้ประโยชน์ในสภาพไร่ มีรูปแบบการผลิตที่เป็นระบบที่สามารถผลิตได้อย่างต่อเนื่อง จะต้องศึกษาถึงประสิทธิภาพ อัตราการใช้ และเวลาที่เหมาะสมตลอดจนรูปแบบบรรจุภัณฑ์ที่สามารถรักษาคุณภาพชีวภัณฑ์ที่ผลิตขยายได้ และนำไปใช้ได้สะดวก ซึ่งเป็นงานวิจัยที่ต้องเร่งวิจัยอย่างครบวงจร เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์ที่ดีมีคุณภาพ สามารถนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชได้ดี นำไปป้องกันกำจัดศัตรูพืชร่วมกับวิธีการอื่น หรือร่วมกับการใช้สารเคมี ตามหลักการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จากปัญหาการระบาดของศัตรูพืชในพืชเศรษฐกิจต่าง ๆ ก่อให้เกิดความเสียหายในวงกว้าง เกษตรกรต้องใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด แต่ในขณะเดียวกัน ในธรรมชาติก็มีศัตรูธรรมชาติหลายประเภท ที่มีศักยภาพในการเข้าทำลายศัตรูพืชเหล่านี้ แต่ช่วยควบคุมศัตรูพืชได้ระดับหนึ่งเท่านั้น อาทิเช่น ตัวเบียน ตัวห้ำ ไรตัวห้ำ หอยตัวห้ำ จุลินทรีย์กำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เชื้อแบคทีเรียปรสิต และเห็ดเรืองแสง เป็นต้น จึงควรทำการศึกษาชีวภัณฑ์เหล่านี้เพื่อเพิ่มศักยภาพและประสิทธิภาพการนำมาใช้ควบคุมศัตรูพืช ซึ่งจะเป็นข้อมูลสำคัญในการนำไปขยายผลพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ ออกสู่ตลาดเพื่อให้เกษตรกรนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชทดแทนสารเคมีได้ต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2542. นโยบายการอารักขาพืชของกรมวิชาการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 20 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2547. *เอกสารวิชาการกล้วยไม้*. กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 152 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2553. *เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับการผลิตหอมแบ่ง (Good Agricultural Practice (GAP) For Onion)*. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 10 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2554. การจัดการศัตรูกล้วยไม้เพื่อการส่งออก. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 59 หน้า.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2524. การปลูกสตรอเบอรี่. กรุงเทพฯ โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2544. *ทะเบียนเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้เพื่อการส่งออกปี 2544*. กลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ, กรมส่งเสริมการเกษตร, กรมส่งเสริมการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 655 หน้า.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2544. ทะเบียนเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้เพื่อการส่งออกปี 2544. กลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 655 หน้า.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2555. (ออนไลน์). แหล่งที่มา: http://www.pmc06.doae.go.th/chilly/ Collectotrichum_chilly.htm. (สืบค้นเมื่อ 14 พฤษภาคม 2555)

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2555. (ออนไลน์). แหล่งที่มา:http://www.pmc06.doae.go.th/chilly/Collectotrichum_chilly.htm. สืบค้นเมื่อ 14 พฤษภาคม 2555

กรมสงเสริมการเกษตร. 2541. การปลูกมันฝรั่ง. พิมพ์ครั้งที่ 1 โรงพิมพชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแหงประเทศไทย. จตุจักร, กรุงเทพฯ.

กรรณิการ์ เพี้ยนภักตร์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2528. รวบรวมและจำแนกเชื้อราต่าง ๆ ที่เป็นสาเหตุโรคมะละกอ. หน้า 102-127. *ใน*: *รายงานผลงานวิจัย พ.ศ.2528* กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

กฤติกา จันทรางศุ. 2549. การจำแนกความแตกต่างของ phenotype และ genotype ของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืชปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 303 หน้า.

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2554. เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตร แมลง-สัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 15. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 163 หน้า.

กลุ่มบริหารศัตรูพืช. 2554. *แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก.* เอกสารวิชาการ กลุ่มบริหารศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. 74 หน้า.

กองกีฏและสัตววิทยา. 2542. แมลงศัตรูผัก. เอกสารวิชาการ. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 32 หน้า.

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 317 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. คู่มือตรวจแมลงไรและสัตว์ศัตรูพืชเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 275 หน้า.

กองแผนงานและวิชาการ. 2539. ศัตรูข้าวและการใช้สารป้องกันกำจัดที่สำรวจพบในประเทศไทย ฝ่ายวิเคราะห์ทางสถิติ, กองแผนงานและวิชาการ, กรมวิชาการเกษตร. 87หน้า.

กุศล ถมมา และพิศาล ศิริธร. 2556. ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* B076 เพื่อการเคลือบเมล็ดและพ่นทางใบ เพื่อควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli. แก่นเกษตร* 41 (ฉบับพิเศษ 1) : 339-345.

คงกฤช อินทแสน. 2554. การปลูกสตรอเบอรี่ ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพทางการเกษตร จังหวัดกาญจนบุรี (เกษตรที่สูง) *ใน* เอกสารวิชาการกรมส่งเสริมการเกษตร

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. *โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน.* โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.

จรัส ชื่นราม มนตรี เอี่ยมวิมังสา และสมควร คีรีวัลย์. 2534. การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood ศัตรูพริกโดยวิธีการปลูกพืชหมุนเวียน. *วารสารวิชาการเกษตร* 9(2): 88-92.

จริยา จันทร์ไพแสง. 2554. บีที: *Bacillus thuringiensis* จุลินทรีย์ควบคุมแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร. กรุงเทพฯ. 408 หน้า

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2534. การผลิตและการทดสอบคุณภาพของผงเชื้อรา *Trichoderma harzianum*. *วารสารเกษตรศาสตร์ (วิทย์)* 25: 169-176.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2534. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. *เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการหลักสูตร* การควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. หน้า 1-13. ระหว่างวันที่ 13-17 พฤษภาคม 2534 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2547. การควบคุมโรคผักโดยชีววิธี. (เอกสารประกอบการสอน). ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

จิราพร เพชรรัตน์ วิชิต รัญเพชญ์ และประโพชน์ ลอยฟ้า. 2539. การควบคุมแมลงวันผลไม้ *Bactrocera papaya* ในสวนฝรั่งอำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร. 7 หน้า. *ใน*: *รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2539* ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

จุรีรัตน์ รัตนทิพย์, นุชรีย์ ศิริ และ อังศุมาลย์ จันทราปัตย์. 2551. ประสิทธิภาพการห้ำของด้วงเต่า *Stethorus* spp. ต่อไรสองจุด *Tetranychus urticae* Koch. *ว. วิทย์. กษ.* 39(3)(พิเศษ):. 226-229.

ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์ มานิตา คงชื่นสิน เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และวัฒนา จารณศรี. 2538. การศึกษาประสิทธิภาพในการกินไรแดงอ้อย *Oligonychus simus* Baker and Pritchard ของแมลงตัวห้ำ *Stethorus pauperculus* (Weise) ในห้องปฏิบัติการ. หน้า 201-224. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าปี 2538. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, มานิตา คงชื่นสิน, วัฒนา จารณศรี และเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์. 2537. การศึกษาวงจรชีวิตและปริมาณไข่ของตัวห้ำ *Stethorus pauperculus* (Weise) ที่กินไรแดงอ้อย *Oligonychus simus* Baker and Pritchard. หน้า 213-227. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าปี 2537. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาฬ และดาราพร รินทะรักษ์. 2550. ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8 : อารักขาพืชใต้ร่มพระบารมี. หน้า 60-72.

กรมวิชาการเกษตร

ชลิดา อุณหวุฒิ ชมัยพร บัวมาศ และสุนัดดา เชาวลิต. 2554. อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง. หน้า 35-39. *ใน* รายงานผลการวิจัย ประจำปี 2554. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2556. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ ดินรากยาสูบ No.4 แบบเม็ดเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของขิง. หน้า 759-763. *ใน* : *รายงานผลการวิจัยประจำปี 2556*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รัศมี ฐิติเกียรติพงษ์ อรพรรณ วิเศษสังข์ และ วงศ์ บุญสืบสกุล. 2548. การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิง. หน้า 90-105. *ใน* รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล อรพรรณ วิเศษสังข์ และ ทัศนาพร ทัศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. หน้า 115-126. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2547. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์ และบุษราคัม อุดมศักดิ์ 2550. พัฒนาสูตรสำเร็จของเชื้อ *Bacillus subtilis* เพื่อใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวในขิง. หน้า 889-895. *ใน* รายงานผลการวิจัยประจำปี 2550. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์ และบุษราคัม อุดมศักดิ์. 2551. พัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวในขิง. *ใน* รายงานผลการวิจัยประจำปี 2551. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

ดาราพร รินทะรักษ์ สมเกียรติ กล้าแข็ง และปราสาททอง พรหมเกิด.2555. คัดเลือกชนิดและศึกษาพฤติกรรมการกินหอยทากของหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ในประเทศไทย. หน้า 969-976. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร.

ดารารัตน์ มณีจันทร์ อรทัย วรสุทธิ์พิศาล ประพันธ์ ประเสริฐศักดิ์ อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว ดุจลดา พิมรัตน์ และ เยาวลักษณ์ เนตรสิงห์. 2555. การป้องกันกำจัดแมลงนูนหลวงอ้อยโดยวิธีผสมผสาน. *แก่นเกษตร* 40 ฉบับพิเศษ 3: 301-304.

ดำรง เวชกิจ ชาเยศ สุวรรณพงศ์ อำพล แก้วทอง และสมบูรณ์ ทองสกุล. 2532. หน้า 1-8. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าวิจัยปี 2532. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ดำรง เวชกิจ จีรนุช เอกอำนวย พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท สรรชัย เพชรธรรมรส และสิริวิภา พลตรี. 2551. ศึกษาประสิทธิภาพของ ULEM เพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกล้วยไม้บางชนิด. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม. กรมวิชาการเกษตร. 57หน้า.

ดำรง เวชกิจ อำพล แก้วทอง เดชา อุปถัมภ์ สุทธิ สุริยะ และสมบูรณ์ ทองสกุล. 2527. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2527. กองกีฏและสัตววิทยากรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 154 หน้า.

ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2549. ไวรัสของแมลง นิวคลีโอโพลีฮีโดรไวรัส. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 396 หน้า.

นวลศรี โชตินันทน์. หนอนหัวดำมะพร้าว ศัตรูตัวร้ายทำลายมะพร้าว. จดหมายข่าวผลิใบ [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : http://it.doa.go.th/pibai/pibai/n15/v_6-july/korkui.html (18 มิถุนายน 2557)

นันทนัช พินศรี. 2555. การใช้แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Berliner) สายพันธุ์ไทย JC590 เพื่อควบคุมหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* Fabricius) ในไม้ดอกบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 122 หน้า.

นันทิรา หงส์ศรีสุวรรณ์. 2557. ความปลอดภัย จากสารเคมีตกค้างในผักปลอดสาร. *ว. มฉก. วิชาการ* 18: 107-117.

กรมวิชาการเกษตร

น้ำผึ้ง ชมภูเขียว, วิวัฒน์ เสือสะอาด, โสภณ อุไรชื่น, ปวีณา บูชาเทียน, และโกศล เจริญสม. 2554. ชีววิทยาของหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae) และแมลงศัตรูธรรมชาติในประเทศไทย. หน้า 31-37. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 8 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน 8-9 ธันวาคม 2554. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

นิตยา สุขทวี. 2549. การโคลนยีนไคติเนสจากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

นิพนธ์ ทวีชัย. 2538. งานวิจัยในปัจจุบันด้านการใช้แบคทีเรียบางชนิดควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีวภาพ. หน้า 118-129. *ใน* เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัยและ กรมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2552. (ออนไลน์). แหล่งที่มา: www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch52/04-plant/plant_00.html 25 สิงหาคม 2552

นิพนธ์ ทวีชัย. 2538. งานวิจัยในปัจจุบันด้านการใช้แบคทีเรียบางชนิดควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีวภาพ. หน้า 118-129. *ใน* เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัยและกรมวิชาการเกษตร

นิภาพร บุญศักดาพร. 2538. การคัดเลือกเชื้อ *Trichoderma* spp. ไอโซเลตที่ต้านทานต่อสารเคมี เพื่อควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของมะเขือเทศ ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* sacc. โดยวิธีผสมผสาน. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นิภาวรรณ อ่อนบุญมา และอโนทัย วิงสระน้อย. 2557. ชนิดพืชอาหารต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนและการเบียน ของแมลงเบียนเพลี้ยอ่อนในอำเภอพังโคน จังหวัดสกลนคร. *วารสารแก่นเกษตร* 42 ฉบับพิเศษ 3: 700-706

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. *คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด.* กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 90 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

นิรนาม. 2552. มวนเขียวดูดไข่. [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : http://www.malaeng.com/blog/?cat=121 (27 พฤษภาคม 2557)

นิรนาม. การพัฒนา Antagonist *Bacillus subtilis* สำหรับควบคุมโรคข้าว เข้าถึงได้ที่www.tnrr.in.th/2557/?page=result_search&record_id=573

นิรนาม. เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper). [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : http://www.ricethailand.go.th/brrd/tech/m3_7_1.htm (27 พฤษภาคม 2557).

นิรมิต ประทุมรัตน์. 2529. แนวทางในการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยชีววิธี. *วารสารแก่นเกษตร* 14(4): 175-180.

บุปผา เหล่าสินชัย และชลิดา อุณหวุฒิ. 2543. *เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอยศัตรูพืชที่สำคัญ.* เอกสาวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 70 หน้า.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม*Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช : ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ. หน้า 896-913. *ใน*: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2553. การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวของขิง. หน้า 988-1005 . *ใน*: *รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2553. ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียสกุล *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ. รายงานความก้าวหน้า ผลงานวิจัยปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ ก้นหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครือ. 2557. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ DOA-WB4 แบบผงเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของมันฝรั่ง. *ใน: รายงานผลการวิจัยประจำปี 2557*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร.

ปฏิมาพร ปลอดภัย เสมอใจ ชื่นจิตต์ และวสันณ์ เพชรรัตน์.2551. การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคของพริกที่เกิดจากเชื้อราบางชนิดโดยชีววิธี. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร* 39(3) (พิเศษ): 185-188.

ประภัสสร เชยคำแหง. 2554. *แมลงช้างปีกใสควบคุมเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง.* เอกสารเผยแพร่แผ่นพับ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา (พิมพ์ครั้งที่ 1) มีนาคม 2554. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

ประภาส ทรงหงษา. 2554. หนอนหัวดำ ศัตรูตัวร้ายของสวนมะพร้าว. 13(12): 2-6.

ปรีชา วังศิลาบัตร, 2540. ผลการใช้ปุ๋ยแอมโมเนียมฟอสเฟตในอัตราต่างๆต่อการทำลายใบข้าวของหนอนห่อใบข้าว. *ว.กีฏ. สัตว.* 19(1): 12-19.

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ นงพร กิจบำรุง จักรพงศ์ พิริยพล ศรีสุดา โท้ทอง สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น ลัดดาวัลย์ อินทร์สังข์ อุราพร ใจเพ็ชร ศรีจำนรรจ์ พิชิตสุวรรณชัย สมรวย รุ่งรัตนวารี และสัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2542. *แมลงศัตรูผัก.* เอกสารวิชาการ กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกไม้ประดับ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. 97 หน้า.

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข วัชรี สมสุข ลัดดาวัลย์ งามวงศ์ธรรม และสมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น. 2539. การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงสารสกัดสะเดาและไส้เดือนฝอยในการป้องกันกำจัดด้วงงวงมันเทศ. *วารสารกีฏและสัตววิทยา* 18(2): 106-114.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และจงวัฒนา พุ่มหิรัญ .2552. การศึกษาสาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียของกล้วยไม้สกุลแวนดา. หน้า 481-489. *ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 (สาขาพืช).* มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ศรีสุข พูนผลกุล และ จงวัฒนา พุ่มหิรัญ. 2552. การศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. หน้า 1947-1967. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2552* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ สุรีย์พร บัวอาจ อัจฉรา พยัพพานนท์ และดวงพร อมัตรัตนะ. 2553. การควบคุมโรคใบจุดเหลืองของกล้วยไม้สกุลแวนด้าโดยชีววิธี. หน้า 2390-2402. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

พวงผกา อ่างมณี สุเทพ สหายา วาทิน จันทร์สง่า. 2556. ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง; *Dysmicoccus* sp. ในน้อยหน่า. *วารสารกีฏและสัตววิทยา.* 31.

พากเพียร อรัญนารถ นงรัตน์ นิลพานิชย์ วิชิต ศิริสันธนะ และสมคิด ดิสถาพร. 2544. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว. *วารสารวิชาการเกษตร* 19(1): 4-12.

พินิจ เขียวพุ่มพวง วัชรี สมสุข สุธน สุวรรณบุตร. 2534. การศึกษาการป้องกันกำจัดด้วงงวงมันเทศด้วยการใช้ไส้เดือนฝอยในสภาพธรรมชาติ. หน้า 70-80. *ใน: รายงานประจำปี 2534* ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร. กรมวิชาการเกษตร.

พิบูลย์ มงคลสุข. 2517. โรคเน่าดำของกล้วยไม้ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Phytophthora*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พิมลพร นันทะ. 2545. *ศัตรูธรรมชาติหัวในของ IPM*. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 215 หน้า.

พิสุทธิ์ เอกอำนวย. 2553. *โรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ.* พิมพ์ครั้งที่ 3. บริษัทอัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน). กรุงเทพฯ. 591 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร

ไพศาล รัตนเสถียร ดำรง เวชกิจ จีรนุช เอกอำนวย สมบูรณ์ ทองสกุล ทรงวุฒิ พจนานุวงศ์ และสมชาย อามีน. 2543. *เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช.* เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 177 หน้า.

มนตรี จิรสุรัตน์ และสาธร สิริสิงห์. 2537. การใช้ยีสต์โปรตีนในการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้. หน้า 128-145. *ใน: การประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตวศัตรูพืช ครั้งที่ 9.* กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

มลิวัลย์ ปันยารชุน สุรพล ตรุยานนท์ คนอง คลอดเพ็ง อานุภาพ ธีรกุล และอำนวย อิศรางกูร ณ อยุธยา. 2529. ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวต่อด้วงแรดมะพร้าว. หน้า 1-17. *ใน:* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2529. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

มลิวัลย์ ปันยารชุน และ สุรพล ตรุยานนท์. 2537. รายงานผลวิจัยก้าวหน้าการใช้เชื้อราเขียวควบคุมด้วงแรดมะพร้าวในท้องที่ประสบวาตะภัยจากพายุเกย์. หน้า 6-15. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2537 กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

มลิวัลย์ ปันยารชุน. 2537ก. ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียวกำจัดมอดเจาะผลกาแฟ ในห้องปฏิบัติการ. หน้า 1-6. *ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2537* กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

มลิวัลย์ ปันยารชุน. 2537ข. รายงานผลวิจัยก้าวหน้าศึกษาเปรียบเทียบอัตราการใช้เชื้อราเขียวต่อมวนโกโก้ในห้องปฏิบัติการ. หน้า 16-19. *ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2537* กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2552. (ออนไลน์). แหล่งที่มา: www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch52/04-plant//plant_00.html. 25 สิงหาคม 2552

มานิตา คงชื่นสิน เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ พิเชฐ เชาว์วัฒนวงศ์ และพลอยชมพู กรวิภาสเรือง. 2552. การควบคุมไรศัตรูกุหลาบในโรงเรือนโดยใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans). เอกสารประกอบคำบรรยาย การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9.

มานิตา คงชื่นสิน วัฒนา จารณศรี เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ โอชา ประจวบเหมาะ และพุทธวรรณ ขันต้นธง. 2539. การใช้ไรตัวห้ำ, *Amblyseius longispinosus* (Evans) ควบคุมไรสองจุดศัตรูสำคัญของสตรอเบอรี่. *วารสารวิชาการเกษตร* 14 (3): 157–182.

มานิตา คงชื่นสิน อุษณีย์ ฉัตรตระกูล วัฒนา จารณศรี และวิมาน ศรีเพ็ญ. 2542. การป้องกันกำจัดไรศัตรูสตรอเบอรี่โดยวิธีผสมผสาน. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 4. ชลบุรี. หน้า 30-37.

มานิตา คงชื่นสิน วัฒนา จารณศรี ฉัตรชัย ศฤงคไพบูลย์ เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และพิเชฐ เชาว์วัฒนวงศ์. 2543. ชีววิทยาและประสิทธิภาพของไรตัวห้ำพันธุ์ต่างประเทศ *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot และ *Amblyseius californicus* (McGregor) และไรตัวห้ำพันธุ์พื้นเมือง, *Amblyseius longispinosus* (Evans). หน้า 29–30. *ใน: เอกสารวิชาการ การประชุมสัมมนาทางวิชาการ แมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 12 ประจำปี 2543.* กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ชลบุรี.

มานิตา คงชื่นสิน. 2544. ศัตรูธรรมชาติของไรและการควบคุมไรศัตรูพืชโดยชีววิธี. 192 หน้า. *ใน: ไรศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด.* กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

มาโนช ทองเจียม กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ วีระศักดิ์ อุ่นจิตร ปัญญา ธยามานนท์ วีรวิทย์ วิทยารักษ์ และปิยรัตน์ เขียนมีสุข. 2535. การศึกษาประสิทธิภาพของกับดักสารเพศชนิดต่างๆ กับด้วงงวงมันเทศ. *วารสารกีฏและสัตววิทยา* 14(3) 143-151.

มาลัยพร เชื้อบัณฑิต ศิริพร วรกุลดารงชัย อรวินทินี ชูศรี และวิชาญ ประเสริฐ. 2553. การป้องกันกาจัดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนแบบผสมผสาน. *ใน* รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2553. กรมวิชาการเกษตร.

กรมวิชาการเกษตร

มาลินี พิทักษ์, สมศรี บุญเรือง และ รังสิมันตุ์ สัมฤทธิ์. 2553. การปลูกเผือก. กลุ่มพืชไร่ กองส่งเสริมพืชไร่นา กรมส่งเสริมการเกษตร. 13 หน้า.

ยุพิน กสินเกษมพงษ์. 2534. โรคผลเน่าดำของโกโก้ซึ่งเกิดจากเชื้อราไฟทอฟธอร่าในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ เสริมศักดิ์ หงส์นาค กรแก้ว เสือสะอาด เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ปิยาณี หนูกาฬ และพวงทอง บุญทรง. 2544. หนูและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย 136หน้า.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ เสริมศักดิ์ หงส์นาค T. Jaekel กรแก้ว เสือสะอาด ปราสาททอง พรหมเกิด และ ชูวิทย์ สุขปราการ. 2542. *การใช้โปรโตซัว Sarcocystis singaporensis ชีวินทรีย์กำจัดหนู ชนิดใหม่ เพื่อควบคุมหนูในประเทศไทย*. 43หน้า.

รจนา ไวยเจริญ อัมพร วิโนทัย และประภัสสร เชยคำแหง. 2558. พัฒนาการเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant เป็นปริมาณมากเพื่อควบคุมเพลี้ยแป้ง. ใน รายงานผลการวิจัย ประจำปี 2558. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. (รอตีพิมพ์)

รัตนา นชะพงษ์. 2543. การนำมวนพิฆาตมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช. เอกสารวิชาการการอบรมหลักสูตรการผลิตศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืชเพื่อการค้า. สำนักการศึกษาต่อเนื่อง มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. 81-85.

รัตนา นชะพงษ์. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้แมลงห้ำ. หน้า 22-35. *ใน* เอกสารการอบรมหลักสูตรแมลงสัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 11. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

รัตนา นชะพงษ์. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้แมลงห้ำ. หน้า 87-110. *ใน* การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

รัตนา นชะพงษ์ ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ พรรณเพ็ญ ชโยภาส สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม และสิทธิศิโรตม แก้วสวัสดิ์. 2548. อนุกรมวิธานมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae และการเก็บรักษา. หน้า 53-69. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2548* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

รัตนา นชะพงษ์ และสาทิพย์ มาลี. 2555. ศูนย์ต้นแบบการผลิตขยายมวนพิฆาตเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช. หน้า 993-1003. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี2555* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

รัตนา นชะพงษ์ และอุราพร หนูนารถ. 2554. การใช้มวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn. ควบคุมแมลงศัตรูพืชในหน่อไม้ฝรั่ง. ผลการวิจัยประจำปี 2554. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

รัตนา นชะพงษ์ สุพันธา จิตต์ชื่น สถิตย์ ปฐมรัตน์ และพิมลพร นันทะ. 2542. การใช้มวนพิฆาตในการควบคุมหน่อไม้ฝรั่ง. รายงานผลการวิจัยปี 2542. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

รุ่งนภา ทองเครื่ง ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และทิพวรรณ กันหาญาติ. 2559. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดน้ำตาลของกล้วยไม้สาเหตุจากแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*. (รอตีพิมพ์). *ใน* : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2559. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

รุจ มรกต และพิมลพร นันทะ. 2539. แมลงห้ำ-แมลงเบียน เพื่อนแท้ผู้ปลูกส้ม. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์แห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 98 หน้า.

รุสมียา อาลี. 2556. คุณภาพทางเคมีของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์จากภาคใต้ของประเทศไทยและการเตรียมโมโนลอรินโดยใช้เอนไซม์.มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

กรมวิชาการเกษตร

เรวัติ ภัทรสุทธิ. 2539. การศึกษาประสิทธิภาพของมวนเขียวดูดไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในห้องปฏิบัติการ. หน้า 106-111. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าวิจัย การป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล.กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูข้าวและธัญพืชเมืองหนาว กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ลักขณา บำรุงศรี ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม และสิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์. 2553. อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae. หน้า 1990-2008. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

วงศ์ บุญสืบสกุล. 2536. การศึกษาโรคเหี่ยวจากบักเตรีของมันฝรั่งต่อพันธุ์มันฝรั่งบางพันธุ์. *ใน: รายงานผลการทดลองกองโรคพืชและจุลชีววิทยา*. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

วงศ์ บุญสืบสกุล. 2541. โรคของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. มันฝรั่งและศัตรูที่สำคัญ. 22: 48-56. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

วงศ์ บุญสืบสกุล วิวัฒน์ ภานุอำไพ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รุ่งนภา คงสุวรรณ์ และปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2548. การใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus subtillis* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง. 22 หน้า. *ใน*: รายงานผลการวิจัยประจำปี 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

วรรณภา เสนาดี อทิพัฒน์ บุญเพิ่มราศี และรุจินี สันติกุล. 2550. พริกพืชผักเศรษฐกิจชุบชีวิตชาวสวนไทย. *วารสารเคหการเกษตร* 31(12): 73-80.

วรรณลดา กรีติภัทรกุล. 2525. การสำรวจโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนและการใช้สารเคมีบางชนิดในการป้องกันกำจัด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วัชรี สมสุข และสุทธิชัย สมสุข. 2544. *ผลงานวิจัยโครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับการค้า*. ในรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ จัดพิมพ์โดย กรมวิชาการเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 172 หน้า.

วัชรี สมสุข และ วิไลวรรณ เวชยันต์. 2547. ประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง. ใน การประชุมวิชาการประจำปี 2547 ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ. 22-25 มิถุนายน 2547 ณ โรงแรมโนโวเทล โคลาเรีย ริมเพ อ.แกลง จ.ระยอง.

วัชรี สมสุข และสุทธิชัย สมสุข. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชทางชีวภาพด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (Entomopathogenic Nematode). ประชาคมวิจัย. 39:04.

วันทนา ศรีรัตนศักดิ์ เรวัต ภัทรสุทธิ นลินี เจียววรรธนะ เพชรหทัย ปฏิรูปานุสร ถนอมจิตร์ ฤทธิ์มนตรี และเพชรี เซ่งซิ้ม. 2550. แมลง-สัตว์ศัตรูข้าว และการป้องกันกำจัด. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 188 หน้า.

วาสนา วงใหญ่. 2541. *พฤกษศาสตร์พืชเศรษฐกิจ*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วินิจ วงกลม. 2551. การใชเทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่งส่งโรงงานแปรรูปของเกษตรกร อำเภอพบพระ จังหวัดตาก. สำนักงานเกษตรจังหวัดตาก กรมสงเสริมการเกษตร.

วิภาดา ปลอดครบุรี มนตรี จิรสุรัตน์ และวรัญญา มาลี. 2550. ศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้และศัตรูธรรมชาติในแหล่งปลูกฝรั่ง. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

วิรัช ชูบำรุง ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน และพัฒนา สนธิรัตน. 2528. *Colletotrichum* spp. ในประเทศไทย. หน้า 128-140. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ.2528 กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

วิโรจน์ ขลิบสุวรรณ และ ปิยวรรณ เผ่าพันธุ์. 2544. การศึกษากลไกในการควบคุมขบวนการทำลายของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ. *รายงานผลการวิจัย เสนอในการประชุมศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ประจำปี 2544* (20-22 มิถุนายน 2544) โรงแรมซากุระแกรนด์วิว อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา.

กรมวิชาการเกษตร

วิโรจน์ ขลิบสุวรรณ. 2547. เอกสารการสัมมนาวิชาการเกษตรแห่งชาติเรื่องการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. ในหนอนด้วงหนวดยาวอ้อย (*Dorysthenes buqueti*), หนอนแมลงนูนหลวง (*Lepidiota stigma*) และหนอนกออ้อย (*Chilo tumidicostalis*). ขอนแก่น. คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ สุรีย์พร บัวอาจ อนันต์ หิรัญสาลี และนิวัฒ เสนาะเมือง. 2548. การศึกษาเบื้องต้นของสาร secondary metabolite จากเห็ดเรืองแสง (*Omphalotus* sp.) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*). *วารสารเห็ดไทย*: 69-79.

ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2545. โรคของผักและการควบคุมโรค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศิริพงษ์ คุ้มภัย และพรพิมล อธิปัญญาคม. 2554. โรคแอนแทรคโนสพริก. หน้า 3-4. *ใน* คู่มือโรคผักและการป้องกันกำจัด กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

ศูนย์สารสนเทศการเกษตร. 2544. สถิติการค้าสินค้าเกษตรกรรมไทยกับต่างประเทศปี 2544. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี อิศเรสเทียนทัด ภัทรพร สรรพนุเคราะห์, 2555. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร.765-771 หน้า.

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

สาทิพย์ มาลี และวิไลวรรณ เวชยันต์. 2553. ศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชต่อความอยู่รอดและประสิทธิภาพของไส้เดือนศัตรูแมลง. หน้า 900-908. *ใน: รายงานผลงานวิจัยและพัฒนา 2553*. กรมวิชาการเกษตร.

สัญญาณี ศรีคชา วิภาดา ปลอดครบุรี เกรียงไกร จำเริญมา ศรุต สุทธิอารมณ์ อัมพร วิโนทัย และพนมกร วีรวุฒิ.2556. การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้แบบผสมผสานในชมพู่. หน้า 49-74 *ใน* เอกสารผลงานวิจัยดีเด่น กรมวิชาการเกษตร ประจำปี 2555. กรมวิชาการเกษตร.

สัญญาณี ศรีคชา วิภาดา ปลอดครบุรี และเกรียงไกร จำเริญมา. 2549. การพัฒนาการเพาะเลี้ยงแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera correcta* (Bezzi). หน้า 235-243. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2549 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

สัญญาณี ศรีคชา. 2555. คู่มือแมลงวันผลไม้และการป้องกันกำจัด. กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักการพืช กรมวิชาการเกษตร. 50 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557. แจงสถานการณ์มันฝรั่งปี 58 สศก. คาดเนื้อที่-ผลผลิตเพิ่ม มั่นใจ ราคาดี. แหล่งที่มา.: http://www.oae.go.th/newtadmin/ewt/oae_web/download/journal, 22 มีนาคม 2559.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. มะพร้าว : เนื้อที่ยืนต้น เนื้อที่ให้ผล และผลผลิต ปี 2546–2555. แหล่งที่มา http://www.oae.go.th/fruits/index.php/coconut-data, (31 มีนาคม 2559)

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้มปี 2556. แหล่งที่มา: http://www.oae.go.th/ewtadmin/ewt/oae_web/download/journal/ trends2556.pdf, 16 พฤษภาคม 2557.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืช. แหล่งที่มา: http://www. oae. go.th/ ewt_news.php?nid=146

สำนักงานสถิติแห่งชาติ. 2554. พืชผัก (แต่ละชนิด) ข้อมูลสถิติจำแนกตามสาขา (รายจังหวัด). 2554. (ออนไลน์). แหล่งที่มา: http://nkphanom.old.nso.go.th/project/search_option/index.jsp. province

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2554. แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก. เอกสารวิชาการ กลุ่มบริหารศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. 74 หน้า.

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2554. เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตร แมลง-สัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 15. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 163 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2556. เอกสารวิชาการ การจัดการแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 100 หน้า.

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4. 2550. การควบคุมเมลงศัตรูพืชแบบผสมผสาน. กรมวิชาการเกษตร.

สำนักวิจัยและพัฒนาการจัดการที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน. ไม่ระบุปี. มันสำปะหลัง. เอกสารวิชาการ 1001: 53-56.

สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2557. การปลูกมันฝรั่งและการแปรรูป. แหล่งที่มา.: http://www.eto.ku.ac.th/media//index.html, 21 มีนาคม 2559.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน์. 2541. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช. สำนักพิมพ์รั้วเขียว, กรุงเทพฯ.

สุปราณี วนิชชานนท์. 2540. *บัวประดับ*. กรุงเทพฯ สำนักพิมพ์เพื่อนเกษตร.

สุรีย์พร บัวอาจ. 2550. ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนไรโบโซมอลดีเอ็นเอของเห็ดเรืองแสง และผลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood) วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุรีย์พร บัวอาจ. 2552. การจำแนกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* และผลของสารออกฤทธิ์ต่อไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงศัตรูพืช (*Steinernema carpocapsae*). การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 12, วันที่ 12-13 กุมภาพันธ์ 2552 บัณฑิตวิทยาลัย อาคารศูนย์วิชาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น .ขอนแก่น.

สุรีย์พร บัวอาจ. 2554. *ผลของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสง (Neonothopanus nambi Speg.) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (Meloidogyne incognita Chitwood) และสิ่งที่มีชีวิตนอกเป้าหมาย.* วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุรีย์พร บัวอาจ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และวิลาวัณย์ ใคร่ครวญ. 2013. Efficacy of Bioactive Compound from Luminescent Mushroom, *Neonothopanus nambi* Speg. on Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita* Chitwood) in Chilli. การประชุมอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11, 26-28 พฤศจิกายน 2556 โรงแรมเซ็นทาราคอนเวนชั่นเซ็นเตอร์ อ.เมือง จ.ขอนแก่น.

สุรีย์พร บัวอาจ. 2546. *ผลของสาร secondary metabolite ของเห็ดเรืองแสง (Omphalotus sp.) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (Meloidogyne incognita Chitwood).* ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุรีย์พร บัวอาจ. 2550. *ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนไรโบโซมอลดีเอ็นเอของเห็ดเรืองแสง และผลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดต่อไส้เดือนฝอยรากปม (Meloidogyne incognita Chitwood).* วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุวัฒน์ รวยอารีย์. 2544. *เรียนรู้การจัดการแมลงศัตรูข้าวโดยวิธีผสมผสาน.* กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูข้าวและ-ธัญพืชเมืองหนาว กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 262 หน้า

เสมอใจ ชื่นจิตต์ วสันณ์ เพชรรัตน์ และพรศิลป์ จันทวีเมือง. 2551. การประเมินการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์. *ว. วิทยาศาสตร์การเกษตร* 39: 195-198.

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

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ ไพบูลย์ เปรียบยิ่ง ประภาพร ฉันทานุมัติ ยิ่งนิยม ริยาพันธ์ ดารากร เป่าชู อัมพร วิโนทัย และธีรชาติ วิชิตชลชัย. 2557. การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมและกับดักฟีโรโมนในการควบคุมด้วงแรดศัตรูมะพร้าวและปาล์มน้ำมัน. กรมวิชาการเกษตร.

กรมวิชาการเกษตร

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ อภิรัชต์ สมฤทธ์ และอนุวัฒน์ จันทรสุวรรณ. 2548. การวิจัยและพัฒนาการผลิตและใช้เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* เพื่อประโยชน์ทางการเกษตร. หน้า 1785-1808. *ใน*: *รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี 2548*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ อิศเรส เทียนทัด วิไลวรรณ เวชยันต์ และยุทธนา แสงโชติ. 2554. ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin ในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าว. หน้า 2104-2113. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 1/2555 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เสาวลักษณ์ ด่านสกุล. 2548. *การระบุชนิดยีสต์ที่แยกจากข้าวหมาก และเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ของไทย โดยอาศัยข้อมูลลำดับเบสบริเวณ rDNA*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เหลืองพังงา (นามแฝง). 2552. ปัญหาโรคเน่าที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. *วารสารข่าวสมาคมชาวสวนกล้วยไม้* 8: 6-9.

อทิติยา แก้วประดิษฐ์. 2556. การทดสอบความชอบของมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) ที่มีต่อเหยื่อชนิดต่าง ๆ. (ข้อมูลยังไม่ตีพิมพ์)

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์. 2550. เอกสารประกอบการบรรยาย วิชา โรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนและการใช้สารเคมีอย่างถูกต้องและเหมาะสมตามระบบการจัดการคุณภาพ GAP ในการฝึกอบรมหลักสูตรการใช้สารเคมีอย่างถูกต้องและเหมาะสมตามระบบการจัดการคุณภาพ GAP เป็นรายพืช วันที่ 26-28 มีนาคม พ.ศ. 2550 ณ ห้องประชุมอาคารเอนกประสงค์ ส า นักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 6 จันทบุรี.

อมรรัตน์ ทัศนกิจ และมณจันทร์ เมฆธน. 2539. การศึกษาความเป็นพิษของชีวภัณฑ์ประเภทแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ AP-01 และ *B. subtilis* AP-04 สำหรับป้องกันกำจัดโรคพืชในหนูถีบจักร. หน้า 99-104 *ใน*: *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 34*, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 30 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2539, กรุงเทพฯ.

อรพรรณ เกินอาษา วิวัฒน์ เสือสะอาด และศิริวรรณ ทุนคุ้มทอง. 2552. การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตมวนตัวห้ำ *Eocanthecona furcellata* (Wolff) (Hemiptera: Pentatomidae) ในเชิงพานิชย์. หน้า 10 *ใน*: *เอกสารประการประชุมวิชาการประจำปี 2552*. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ.

อรรถพล รุกขพันธ์ พฤกษ์ คงสวัสดิ์ สุดใจ ล้อเจริญ สุภาวดี สมภาค ธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์ อุชฎา สุขจันทร์ อรัญญ์ ขันติยวิชย์ ชูศักดิ์ สัจจพงษ์ สรรเพ็ชญ์ อิ่มพัฒน์ นลินี จาริกภากร สุรไกร สังฆสุบรรณ และสมเจตน์ ประทุมมินทร์. 2555. การสำรวจศัตรูพืชที่สำคัญของพันธุ์บัวหลวง. หน้า 90-99. *ใน*: *สัมมนาวิชาการ การพัฒนาบัวให้เป็นพืชเศรษฐกิจ ครั้งที่ 10 บัวไทย: การอนุรักษ์ความหลากหลาย*. วันที่ 17-18 สิงหาคม 2555 ณ สวนสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ กรุงเทพฯ.

อัจฉรา ตันติโชดก และอุทัย เกตุนุติ. 2549. ไวรัส NPV. หน้า 110-136. *ใน*: *รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2549*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

อัจฉรา ตันติโชดก. 2534. แบคทีเรียควบคุมแมลงศัตรูพืช. หน้า 148-166. *ใน*: *เอกสารวิชาการการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี*. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

อัจฉรา ตันติโชดก. 2544. เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. โรงพิมพ์ชุมนุมการเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ.

อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล อิทธิพล บรรณาการ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และพลอยชมพู กรวิภาสเรือง. 2558. ประสิทธิภาพการกินของด้วงเต่าตัวห้ำสตีธอรัส *Stethorus pauperculus* (Weise) ต่อไรแมงมุม. หน้า 22-33. *ใน*: *การประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืชประจำปี 2558*, 24-27 สิงหาคม 2558. ณ โรงแรมระยองรีสอร์ท ต.เพ อ.เมือง จ. ระยอง

กรมวิชาการเกษตร

อัมพร วิโนทัย พัชรีวรรณ มณีสาคร และสุวัฒน์ พูลพาน. 2556. *การเพาะเลี้ยงและใช้ประโยชน์จากแตนเบียนหนอนหัวดำมะพร้าว โกนิโอซัส นีแฟนติดีส (Goniozus nephantidis)*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. พิมพ์ที่ Post Tech. 14 หน้า.

อัมพร วิโนทัย พัชรีวรรณ มณีสาคร สุวัฒน์ พูลพาน สุเทพ สหายา พฤทธิชาติ ปุณวัฒโท สุภางคนา ถิรวุธ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ วลัยพร ศะศิประภา ธีรชาต วิชิตชลชัย ไพบูรณ์ เปรียบยิ่ง พัชราพร หนูวิสัย ยิ่งนิยม ริยาพันธ์ รัชดา อินทรกำแหง นรีรัตน์ ชูช่วย สุภิญญา ปานตู สุนี ศรีสิงห์ อุดม วงศ์ชนะภัย ประภาพร ฉันทานุมัติ ดารากร เผ่าชู ปิยนุช นาคะ วารี คล้ายพุก ภัสชญภณ หมื่นแจ้ง และ โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล. 2557. การจัดการแมลงศัตรูมะพร้าวแบบผสมผสานในพื้นที่แปลงใหญ่. หน้า 245-260. *ใน: ผลงานวิจัยดีเด่น กรมวิชาการเกษตร ปี 2556*. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

อัมพร วิโนทัย รจนา ไวยเจริญ ประภัสสร เชยคำแหง และรุจ มรกต. 2550. วิจัยและพัฒนาการผลิตขยายและใช้แตนเบียนแมลงวันผลไม้ *Diachasmimorpha longicaudata* เพื่อการควบคุมโดยชีววิธี. หน้า 747-757. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร.

อัมพร วิโนทัย รจนา ไวยเจริญ วิภาดา วังศิลาบัตร ประภัสสร เชยคำแหง และรุจ มรกต. 2549. การลดต้นทุนการเพาะเลี้ยงแตนเบียนแมลงวันผลไม้ *Diachasmimorpha longicaudata*. หน้า 471-475. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร.

อัมพร วิโนทัย สุเทพ สหายา เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ ภัสชญภณ หมื่นแจ้ง ยิ่งนิยม ริยาพันธ์ ปิยนุช นาคะ และวีรา คล้ายพุก. 2556. เอกสารประกอบการอบรม เรื่องการจัดการแมลงมะพร้าวที่เกาะสมุย. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรมวิชาการเกษตร , กรุงเทพฯ. 36 หน้า.

อัมพร วิโนทัย วิภาดา วังศิลาบัตร และวัชรี สมสุข. 2544. บทบาทของศัตรูธรรมชาติในการควบคุมแมลงวันผลไม้. หน้า 151-167. *ใน: แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย*. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

อัมพร วิโนทัย. 2551. หนอนหัวดำมะพร้าวศัตรูพืชชนิดใหม่. *วารสารกีฏและสัตววิทยา* 26(26): 73–75.

อัมพร วิโนทัย. 2555. รายงานความก้าวหน้าโครงการ “การนำเข้าแตนเบียนหนอนหัวดำ *Goniozus nephantidis* เพื่อทดสอบความปลอดภัยและใช้ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว”. 3 หน้า.

อัมพร วิโนทัย. 2555. *หนอนหัวดำมะพร้าวศัตรูพืชชนิดใหม่*. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. (แผ่นพับ)

อินทวัฒน์ บุรีคำ และบรรพต ณ ป้อมเพชร. 2521. *คุณลักษณะทางชีววิทยาของมวนตัวห้ำ Cantheconidea furcellata (Wolff) (Hemiptera: Pentatomidae)*. เอกสารวิชาการศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 13 หน้า.

อิศเรส เทียนทัด อัจฉรา ตันติโชดก และสมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี. 2550. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bt และไวรัส NPV เพื่อควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในทานตะวัน. หน้า 995-996. *ใน: รายงานวิจัยประจำปี 2550*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

อิศเรส เทียนทัด อัจฉรา ตันติโชดก สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และภัทรพร สรรพนุเคราะห์. 2553. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bt และไวรัส NPV เพื่อควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในทานตะวัน. หน้า 791-800. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

อิศเรส เทียนทัด อัจฉรา ตันติโชดก และสมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี. 2553. การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ที่ผลิตด้วยวิธีการมาตรฐานและวิธีการผลิตแบบพื้นบ้าน. หน้า 801-809. *ใน รายงานประจำปี 2553* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร.

กรมวิชาการเกษตร

อิศเรส เทียนทัด, อัจฉรา ตันติโชดก, สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี, ภัทรพร สรรพนุเคราะห์. 2553. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bt และไวรัส NPV เพื่อควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในทานตะวัน. หน้า 791-800. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

อิสระ พุทธสิมมา มนต์ชัย พรมละอองวัน เพียงเพ็ญ ศรวัต และอรรัตน์ วงศ์ศรี. 2550. ผลการควบคุมด้วงงวงมันเทศด้วยวิธีต่าง ๆ. หน้า 510-511. *ใน*: *รายงานผลงานวิจัยและพัฒนาด้านพืชและเทคโนโลยีการเกษตร* ปี 2550 ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น, กรมวิชาการเกษตร.

อุดม ภูพิพัฒน. 2532. โรครากและโคนเนาของทุเรียน. เอกสารประกอบการบรรยาย เทคนิคและกลยุทธ์ในการต่อสู้โรคทุเรียนและพริกไทย. สมาคมโรคพืชแหงประเทศไทย หน้า 38.

อุราพร หนูนารถ ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ ศิริชัย กัลป์ยาณรัตน์ สมชาย ธนสินธยกุล และเกรียงไกร จำเริญมา. 2554. ชีววิทยาของด้วงเจาะเห็ด (*Cyllodes biplagiatus*) แมลงศัตรูเห็ดนางฟ้าภูฏานในช่วงเก็บเกี่ยว. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร* 42 (3 พิเศษ): 185-187.

Abbott, R.T. 1989. Compendium of landshell. Melbourne, Australia: American Malacologist, Inc.

Abdurahiman. U. C., U. V. K. Mohamed and O. K. Remadevi. 1983. Studies on the biology of *Antrocephalus hakonensis* (Hymenoptera: Chalcididae) a pupal parasitoid of *Opisina arenosella* the coconut caterpillar. *Cocos* 1: 11-16.

Ackery, P.R. 1990. Biocontrol potential of African lycaenid butterflies entomophagous on Homoptera. *Journal of African Zoology*. 104: 581-591.

Adiko, A. and S.R. Gowen. 1999. Effects of spores of *Pasteuria penetrans* on the motility of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita*. *Russian Journal of Nematology* 7: 5-6.

Agarwal, R.A. and D.K, Singh. 1988. Harmful gastropods and their control. *Acta Hydrochim Hydrobiol*. 16: 113-138.

Ali D.D., P.M. Ali, B.A. Ghaffar and M.S. Ahmed. 2005. The effect of different initial densities of nematode (*Meloidogyne javanica*) on the build-up of *Pasteuria penetrans* population. *Journal of Zhejiang University Science* 6B: 113-118.

Allen C. Cohen. 1985. Simple Method for Rearing the Insect Predator *Geocoris punctipes* (Heteroptera: Lygaeidae) on a Meat Diet 1. *J Econ Entomol* 78 (5): 1173-1175.

Aluja M., J. Guillen, P. Liedo, M. Cabrera, E. Rios, G. Dela Rosa, H. Celedonio and D. Mota. 1990. Fruit Infesting Tephritid (Dipt: Tephritidae) and Sssosiated Prasitoid in Chiapas, Mexico. *Entomophaga* 35(1): 39-48.

Alves, F.R., L.G. de Freitas, P.R.P. Martinelli, S. Ferras and L.A. Maffia.2008. Influence of Inoculum Densities of *Meloidogyne* spp. and Host Plant Age on the Mass Production of *Pasteuria penetrans*. *Nematologia Brasileira* 32: 13-19.

Alves, V.S., Jr. A. Moino, L.V.C. Santa-Cecilia, C. Rohde, Da Silva and A.T.Marco. 2009. Tests for the control of coffee root mealybug *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera, Pseudococcidae) with Heterorhabditis (Rhabditida, Heterorhabditidae). *Revista Brasileira de Entomologia* 53: 139-143.

Amal, M.O. 2010. Bioformulations of Bacillus Spores for using as Biofertilizer. *Life Science Journal* 7(4):124-131.

กรมวิชาการเกษตร

Anegunda S, Dinesh Melally G, Venkatesha. 2010. Development, life history Characteristics and behaviour of mealybug predator, *Spalgis epius* (Westwood) (Lepidoptera: Lycaenidae) on *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudococcidae). *J Pest Sci*. 83: 339-345.

Anonymous, 2006. *Proceedings of the Dissemination Workshop on the CFC/DFID/APCC/FAO Project on Coconut Integrated Pest Management.* Colombo Sri Lanka 12th–20th October 2006. 152 pp.

Anonymous. 2008. A blog about Insect and Plant Parasitic Nematode. November 29th, 2008. Nematode information.

Anonymous. 2014. *Amblyseius swirskii* for thrips and more. [Online]. Available: http://greenmethods.com/ site/biocontrols/swirskii/. (18 June 2015)

Anonymous. 2014. *Amblyseius swirskii*. [Online]. Available: http://www.syngenta-bioline.co.uk/controldocs /html/AmblyseiusSwirskii.htm (18 June 2015)

Anonymous. 2014. Biological control: Beneficial insects and mites: Swirskii-System. [Online]. Available: http://www.biobest.be/producten/111/3/0/0/ (18 June 2015)

Anonymous. 2014. SWIRSKI-MITE. [Online]. Available: http://www.koppert.com/pests/thrips/ products-against-thrips/detail/swirski-mite-1/ (18 June 2015)

Anonymous. 2014. The powerful predatory mite for greenhouse horticulture. [Online]. Available: http://www.allaboutswirskii.com (18 June 2015)

Anonymous. 2016. http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/Metarhizium.php

Arthurs, S., C.L. McKenzie, J. Chen, M. Dogramaci, M. Brennan, K. Houben and L. Osborne. 2009. Evaluation of *Neoseiulus cucumeris* and *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) as biological control agents of chilli thrips, *Scirtothrips dorsalis* (Thysanoptera: Thripidae) on pepper. *Biological Control* 49(1): 91-96.

Baker, K.F. and R.J. Cook. 1974. *Biological Control of Soil-Borne Pathogens*. W.H. Freeman and Co., San Francisco. 433 pp.

Balduf, W. V. 1938. The rise of entomophagy among Lepidoptera. *Amer.Nat*. 72: 358-379

Ballal, R. C., Singh, S. P., Poorani, J and Tripti Gupta. 2002. Feasibility of mass multiplication and utilization of *Cardiastethus exiguus* Poppius, a potential anthocorid predator of *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae). pp. 29-33. *In: Proceedings of the Symposium of Biological Control of Lepidopteran Pests*, July 17-18, 2002, Bangalore, India.

Baranowski, R.M., H. Glenn and J. Sivinski. 1993. Biological Control of the Caribbean Fruit Fly, *Anastrepha suspense* (Loew). *Florida Entomologist* 76: 245-250.

Barker, K.R. 1985. Nematode extraction and bioassay. pp: 19-35 *In*: K.R. Barker, C.C. Carter, and J.N. Sasser (eds.) *An Advanced Treatise on Meloidogyne*, Vollume II, Methodogy. North Carolina State University Graphics. Raleigh, North Calorina.

Battu, R.S., B. Singh and B.K.Kang. 2004. Contamination of liquid milk and butter with pesticide residues in the Ludhiana district of Punjabstate, *India. Ecotoxicol. Environ. Saf*. 59: 324–331.

Beattie S.E., M.A. Fernando and J.R. Barta. 2001. A comparison of sporozoite transport after homologous and heterologous challenge in chickens immunized with the Guelph strain or the Florida strain of *Eimeria maxima*. *Parasitology Research* 87: 116-121.

Beaver, P.C., and J.R. Maleckar. 1981. *Sarcocystis singaporensis* Zaman & Colley (1975) 1976. *Sarcocystis villivillosi* sp.p, and *Sarcocystis zamani* sp.n.: Development, morphology and persistence in the laboratory rat, *Rattus norvegicus*. *Journal of Parasitology* 67: 241-256.

Benito S. Vergara. 1979. A farmer's Primer on growing rice "*International Rice Research Newsletter*".

Benuzzi, M., G. Manzaroli, and M. Mosti. 1992. Biological control in protected strawberry in northern Italy. *OEPP/EPPO* Bulletin 22: 445-448.

Bess, H. A. and F.H. Haramoto. 1961. *Contributions to the Biology and Biology of the Oriental fruit fly, Dacus dorsalis Hendel (Diptera: Tephritidae), in Hawaii*. Technical Bulletin 44. Hawaii Agricultural Experiment Station, University of Hawaii. 30 pp.

Bhat, T.K. and K.P. Jithendran. 1995. *Eimeria magna*: the effect of varying inoculums size on the course of infection in Angora rabbit. *World Rabbit Science* 3163-3165.

Bischoff, J.F., S.A. Rehner, and R.A. Humber. 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia* 101: 512-530.

Blackman, R. L. and V. F. Eastop. 2000. *Aphids on the World's Crops : An Identification and Information Guide*. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England. 466 pp.

Boehlendorf, B., S. Neff., T.C. Schuez., L.P. Molleyres, T. Winkler, M. Dobler, and Y. Huang. 2004. Isolation and characterization of compounds obtained from a fungal microorganism and preparation of some derivatives thereof. Brit. UK Patent Application.

Bolckmans K.,Yvonne and H. Hoogerbrugge. 2004. Biological control of whiteflies and western flower thrips in greenhouse sweet pepper with the phytoseiid preatory mite *Amblyseius swirkii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae). *In*: Second international symposium on biological control of Arthropods.

Borror, D.J., C.A, triplehorn and NF. Johnson. 1989. An Introduction to the Study of Insect. 6th ed. Sauders College Publishing, USA. 875 pp.

Boucias, D.G. and J.C. Pendland. 1998. Principles of Insect Pathology. Kluwer Academic Publishers. 537 pp.

Brehm, H. and W. Frank, 1980. Der Entwicklungskreislauf von *Sarcocystis singaporensis* Zaman & Colley 1976, in End- and Zwischenwirt. *Zeitschr.fuer Parasittenkunde* 62: 15-30.

Brewer, M. J. and N. C. Elliott. 2004. Biological control of cereal aphids in North America and mediating effects of host plant and habitat manipulations. *Annu. Rev. Entomol*. 49: 219–242.

Bua-art, B. Udomsak, N. Tangchitsomkid, W. Saksirirak, S. Kanokmedhakul, and R. Lekprom. 2012. Characterization and Effect of Bioactive Compounds from Luminescent Mushroom, *Neonothopanus nambi* Speg. on Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita* Chitwood) of Vegetables. Biocontrol of Plant Pathogens in Sustainable Agriculture. 24-27 June 2012, Reims Champagne Ardennes University, Reims, France.

Buitenhuis, R., L. Shipp and C. Scott-Dupree. 2010. Dispersal of *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) on potted greenhouse chrysanthemum. *Biological Control* 52: 110-114.

Burch, J.B. 1962. How to know the eastern land snails. Wm. C. Brown Co., Publishers, Dubuque, Iowa. 214 pp.

Burnett, H.C. 1969. Orchid disease. Amer. *Orchid Soc. Bull.* 35: 399-400.

CAB International. 2003. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International. (CD ROM)

Cabanillas, H.E., G.O. Poinar and J.R. Raulason. 1994. *Steinernema riobravis* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae) from Texas. Fundam. *Appl. Nematol.* 17(2): 123-131.

Capinera, J. L. 2004. *Encyclopea of Entomology* Volume 1. Kluver Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands Ciba-Geigy Ltd., Switzerland. 269 pp

Carrillo, M., and P. Elanov. 2004. The potential of *C. carnea* as a biological control agent of *Myzus persicae* in glass houses. *Annl. Appl. Biol.* 32:433-439.

Cetintas, R. and D. W. Dickson. 2004. Persistence and Suppressiveness of *Pasteuria penetrans* to *Meloidogyne arenaria* Race 1. *Journal of Nematology* 36: 540-549.

Chaudhary K. K. and R. K. Kaul. 2013. Efficacy of *Pasteuria penetrans* and Various Oil Seed Cakes in Management of *Meloidogyne incognita* in Chilli pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural Science and Technology* 15: 617-626.

Chazeau, J., 1985. Predaceous insects. pp. 211-246. *In*: Helle, W., Sabelis, M.W. (Eds.), Spider Mites; Their Biology, Natural Enemies, and Control, Vol. B. Elsevier, Amsterdam.

Chen, Z.X. and D.W. Dickson. 1998. Review of *Pasteuria penetrans*: Biology, Ecology, and Biological Control Potential. *Journal of Nematology* 30: 313-340.

Chen, Z.X., D.W. Dickson, R. McSorley, D.J. Mitchell and T.E. Hewlett. 1996. Suppression of *Meloidogyne arenaria* race 1 by soil application of endospores of *Pasteuria penetrans*. *Journal of Nematology* 28: 159-168.

Chinajariyawong. A, A.R. Clark., S. Kritsaneepiboon., H.A. Lahey, S. Vijaysegaran and G.H. Walter. 2000. Survey of Opine Parasitoids of Fruit Flyes (Diptera: Tephritidae) in Thailand and Malaysia. *The Raffles Bulletin of Zoology* 48(1): 71-101.

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.

Chu, Y. I. and C. M. CHU. 1976. Feeding habit of Eocanthecona furcellata (Wolff). *Rev. Appl. Entomol.* Ser. A. 64(7): 1182.

Chuenchitt S., W. Y. Dhirabhava, S. Karnjanarat, D. Buangsuwon and T. Uematsu. 1983. A new bacterial disease on orchids *Dendrobium* sp. Caused by *Pseudomonas gladioli*. *Kasetsart J.* 17: 26-36.

Clausen, C.P., D.W. Clancy and Q.C. CHOCK. 1965. Biological Control of the Oriental Fruit Fly (*Dacus dorsalis* Hendel) and other Fruit Fly in Hawaii. Tech.Bull.No.1322 U.S.D.A. Agricultural Research Service, Washington D.C. 100 pp.

Cock, M.J.W. and P.A.C.R. Hassell. 1987. Biological control of *Opisina arenosella* Walker/ Lepidoptera, Oecophoridae. The Coconut Research Institute of Sri Lanka.

Cock, M.J.W., P.A.C.R. Perera. 1987. Biological control of *Opisina arenosella* Walker (Leplidoptera: Oecophoridae). *Biocontrol News Information* 8: 283-310.

Consoli, F.L., P.S.M. Botelho and J.R.P. Parra. 2008. Selectivity of insecticides to the egg parasitoid *Trichogramma galloi* Zucchi. *J.Appl.Ent.* 125(1-2): 37-43.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Daudi, A.T. and S.R. Gowen. 1992. The Potential for Managing Root-knot Nematodes by Use of *Pasteuria penetrans* and Oxamyl. Nematologia Mediterranea 20: 241-244.

De Barjac H. and E. Frachon. 1990. Classification of *Bacillus thuringiensis* strains. *Entomophaga* 35: 233-240.

Ding J., W. Bao, Q. Liu, Q. Yu, M.H. Abdille and Z. Wei. 2008. Immunoprotection of chickens against *Eimeria acervulina* by recombinant alpha-tubulin protein. *Parasitology Research* 103: 133-1140.

Divinagracia, G.G., B.L. Candole and E.T. Cadapan. 1984. Some studies on bacterial brown spot of orchids caused by *Pseudomonas cattleyae* (Pavarino) *saverlesco*. *Philippine Phytopathology* 20: 3-4.

Dkhil, M., A.A. Abdel-Baki, D. Delic, F. Wunderlich, H. Sies and S. Al-Quraishy. 2011. *Eimeria papillata*: Upregulation of specific miRNA-species in the mouse jejunum. *Experimental Parasitology* 127: 581-586.

Dolnik, O. 2006. The relative stability of chronic *Isospora sylvianthina* (Protozoa: Apicomplexa) infection in blackcaps (*Sylvia atricapilla*): evaluation of a simpleified method of estimating isospoan infection intensity in passerine birds. *Parasitology Research* 100: 155-160.

Dolphin, K and Quicke, D.L.J. 2001. Estimating the global species richness of an incompletely described taxon: an example using parasitoid wasps (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 73: 279-286.

Dubey, J.P. 2009. The evolution of the knowledge of cat and dog coccidia. *Parasitology* 136: 1469–1475.

Dulmage, H. T. 1981. Insecticidal activity of isolates of *Bacillus thuringiensis* and theirPotential for pest control. pp. 193-222. *In* H.D. Burges (ed.) Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. Academic Press, London.

Dundee, D.S. and Baerwald, R.J. 1984. Observations on a micropredator *Gulella bicolor* (Hutton) (Gastropoda: Pulmonata: Streptaxidae). *Nautilus* 98: 63-68.

Duszynski, D.W. and P.G. Wilber. 1997. A Guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. *Journal of Parasitology* 83: 333-336.

Duszynski, O. and S.L. Gardner. 1990. Fixing coccidian oocyst is not an adequate solution to the problem of preserving protozoan type material. *Journal of Parasitology* 77: 52-57.

Dutky, S.R., J.V. Thomson and G.W. Cantwell. 1964. Technique for the propagation of the DD-136 nematode. Journal of Insect Pathology 6: 417-422.

Easterbrook M.A., .J.D. Fitzgerald, and M.G. Solomon. 2006. Suppression of aphids on strawberry by augmentative releases of larvae of the lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens). *Journal Biocontrol Science and Technology* 16: 2006-Issue 9.

El-Guidny, M.A., S.M. Madi, M.E. Keddis, Y.H. Issa and M.M. Abdel-Sattar. 1982. Development of resistance to pyrethroids in field populations of the Egyptian Cotton Leafworm *Spodoptera litturalis* (Boisd.). *International Pest Control* 124: 6-11.

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.

Entwistle, P.F., J.S. Cony, M. J. Bailey and S. Higgs. 1993. *Bacillus thuringiensis* and Environmental Biopesticide: *Theory and Practice* 239-267 pp.

EPPO. (2004). *Ralstonia solanacearum*. European and Mediterranean *Plant Protection Organization Bulletin* 34:173-174.

Erbas, Z., C. Gokce, S. Hazir, Z. Demirbag, I. Demir. 2014. Isolation and identification of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) from the Eastern Black Sea region and their biocontrol potential (Coleoptera: Scarabaeidae) (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 38: 187-197.

Fayer, R. and T. Nerad, 1996. Effect of low Temperatures on Viability of *Cryptosporidium Pavum* Oocysts. *Apply and Environment Microbiology* 62: 1431-1433.

Fayer, R. 1980 . Epidermology of protozoan infections. *The Coccidian Veterinary Parasitology* 6: 75-103.

Fisher, T.W., Orth, R.E and Swanson, S.C. 1980. Snail against snail. California Agri. (Nov.-Dec.): 3 pp.

Frank, W.A. and Slosser, J.E. 1996. An Illustrated Guide To The Predaceous Insects of the Northern Texas Rolling Plains. Texas Agricultural Experiment Station.

Frans, A. A., M. De Leij, K. G. Davies and B. R. Kerry. 1992. The Use of *Verticillium chlamydosporium* Goddard and *Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre & Starr Alone and in Combination to Control Plant Parasitic Root-knot Nematodes: *Meloidogyne* spp.. *Fundamental and Applied Nematology* 15: 235-242.

Friendman, M.J. 1990. Commercial production and development, pp. 153-173. *In* Gaugler, R.A., and H.K. Kaya (eds.). Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press.

Fuller, C.A., J. Hefner and E. Wrosch. 1995. The effect of inoculums level, host age and expose on oocyst output and periodicity. *Journal of Parasitology* 81: 187–194.

Gadd, C.H. 1924. *Phytophthora faberi* Maubl. Ann. Roy. Bot. Gardens, Peradeniya. 9: 47-89.

Gitonga, L.M., W.A. Overholt, B. LÖhr , J.K. Magambo and J.M. Mueke. 2002. Functional response of *Orius albidipennis* (Hemiptera: Anthocoridae) to *Megalurothrips sjostedti* (Thysanoptera: Thripidae). *Biological Control* 24: 1-6.

Glaser, R.W. and C.C., Farrell. 1935. Field experiments with the Japanese Beetle and its nematode parasite. *Journal of the New York Entomological Society* 43: 345.

Godfray, H.C.J. 1994. *Parasitoids: Behavioural and evolutionary ecology*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey. 473 pp.

Goodey, J.B. 1963. Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes. Tech. Bull. No. 2. Her Majesty's Stationary Office, London. 72 pp.

Gowen, S, K.G. Davies and B. Pembroke. 2008. Potential use of *Pasteuria* spp. in the management of plant parasitic nematodes. Pp. 205-219. *In* Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes. Ciancio, A. and K.G. Mukerji, (eds.) Springer, Dordrecht, The Netherlands.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัย

Grewal, P.S. and P.N. Richardson. 1993. Effect of application rate of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) on control of the mushroom sciarid fly *Lycoriella auripila*. *Biocontrol Science and Technology* 3: 29-40

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 [online]. Available: http//journals.cambridge. org. (8 March 2007)

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 [online]. Available: http//www.blackwell-synergy.com. (24 September 2007)

Haefner, U. and W. Frank. 1984. Host specificity and host range of the genus *Sarcocystis* in three snake-rodent life cycles. Zb1.Bak.Hyg., Orig. A 256: 296-299.

Han, Y.C., C.Z.Teng, S. Zhong, M.Q.Zhou, Z.L. Hu and Y.C. Song. 2006. Genetic variation and clonal diversity in populations of *Nelumbo nucifera* (Nelumbonaceae) in central China detected by ISSR markers. *Aquatic Botany* 86: 69-75.

Hansen, E.A., J.E. Funderburk, S.R. Reitz. S. Ramachandran, J.E. Eger and H. Mcauslane. 2003. Within-plant distribution of Frankliniella species (Thysanoptera: Thripidae) and *Orius insidiosus* (Heteroptera: Anthocoridae) in field pepper. *Environmental Entomology* 32(5): 1035-1044.

Haryadi N. T., W. Jadmiko, S. Hasjim, K. to, S. Alfarisi. 2013. Integration of *Metarhizium anispliae* and Entomopathogenic Nematodes as Biological control agent of white grubs *Lepidiota stigma*. Sumber dana BOPTN 2013. University Jember.

Hassan, S. A. 1994. Activities of the IOBC/WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organism". *In* Pesticides and Beneficial Organism. (ed., Vogt H.), *IOBC/WPRS Bulletin* 17: 1-5.

Hassan, S.A., B. Hafes, P.E. Degrande and K. Herai. 1998. The side-effects of pesticides on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae), acute dose-response and persistence tests. *J.Appl.Ent.* 122(9-10): 569-573.

Hassan, S.A., F. Bigler, H. Bogenschutz, E. Boller, J.N.M. Brun, J. C. Pelseneer, C. Duso, A. Grove, U. Heimbach, N. Helyer, H. Hokkanen,.G.B. Lewis, F. Mansour, L. Moreth, L. Samsoe-Peterson. B. Sauphanor, A. Stubli, G. Sterk, A. Vanio, M. Veire, G. Viggiani and H. Vogt. 1994. Results of the sixth joint pesticide testing programme on the IOBC/WPRS-working group 'Pesticides and beneficial organisms'. *Entomophaga* 30: 107-119.

Hemmen, J. and C. Hemmen. 2001. Akktualisierte liste der terrestrischen gastropoden Thailands. *Schr. Malakozool.* 18: 53-70.

Hewlett, T.E. and D.W. Dickson. 1993. A Centrifugation Method for Attaching Endospores of *Pasteuria* spp. to Nematodes. *Journal of Nematology* 25(4S): 785-788.

Hildegard, G. and W. Hermann. 2009. Pesticides and farmer health in Nicaragua: a willingness-to-pay approach to evaluation. *The European Journal of Health Economics* 10(2): 125.

Hill, D.S., P. Hore and I.W.B. Thornton. 1982. Insects of Hong Kong. Hong Kong University Press, Hong Kong. 503 pp.

Hine, R.B. 1962. Pathogenicity of *Phytophtora palmivola* in the orchidaceae. Plant Dis. Reptr. 46: 643-645. http://www.cababstractplus. org/abstracts/Abstract.aspx?AcNo=20053085221 accessed (27/8/2009).

Hirose, Y. 1990. Prospective use of natural enemies to control *Thrips palmi* (Thysanoptera:Thripidae). Pages 135-141. *In* The Use of Natural Enemies to Control Agricultural Pests, FFTC Book, Series No. 40.

Hirose, Y. 1991. Pest status and biological control of *Thrips palmi* in Southeast Asia. Pages 57-60. *In* N.S. Talekar (ed.). Thrips in Southeast Asia. Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei, Taiwan.

Hirose, Y., H. Kajita, M. Takagi, S. Okajima, B. Napompeth, and S. Buranapanichpan. 1993. Natural enemies of *Thrips palmi* and their effectiveness in the native habitat, Thailand. *Biol. Control*. 3: 1-5.

Hu, X. and G.L. Boyer. 1996. Siderophore-mediated aluminum uptake by *Bacillus megaterium* ATTCC 19213. *Appl. Environ. Microbiol*. 11:4044-4048.

Huang, T. 2008. The occurrence and control of fungal and bacterial orchid diseases. Available Source: http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:VRxRH1N24ZUJ:www. orchidsocietynsw. (March 13, 2011)

Hussey, R. S. and K. R. Barker. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57: 1025–1028.

Igarashi, K. and M. Nomura. 2013. Development and reproduction of *Geocoris varius* (Hemiptera: Geocoridae) on two types of artificial diet. *Applied Entomology and Zoology.* 48: (3) pp. 403–407.

Ingham, R. E., P. B. Hamm, M. Baune, N. L. David and N. M Wade. 2007. Control of *Meloidogyne chitwoodi* in potato with shank-injected metam sodium and other nematicides. *Journal of Nematology* 39(2):161–168.

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.

Jatala, P. 1986. Biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 24: 453-489.

Joy, P.J., T.C. Narendran and K.J. Joseph. 1978. Biology of *Brachymeria nephantidis* Gahan and *Brachymeria lasus* (Walker) (Hymenoptera: Chalcididae). *Agricultural Research Journal of Kerala* 16(1): 39-42.

Kanagaratnam, P., Pethiyacoda U. and M.S' Velu. 1983. Effect of four commercial preparations of *Bacillus thuringiensis* on *Opisina arenosella* walker. *Journal of the Coconut research institute of Sri Lanka* 1, 07-10.

Kapadia, M.N. 1999. The rice moth, *Corcyra cephalonica* Staint as a potential laboratory host for rearing of *Brachymeria nephantidis* Gahan and *Brachymeria lasus* Walk. *Journal of Applied Zoological Researches* 10(1): 56-57.

Kaya, G., C. Dale, I. Maudlin and K. Morgan. 2007. A Novel procedure for total nucleic acid extraction from small numbers of *Eimeria* species oocysts. *Turkiye Parazitoloji Dernegi*. 31: 180-183.

Kaya, H.K. and A.H. Hare. 1981. Susceptibility of varios species of Lepidopterous pupae to the DD-136 nematode. *J. Insect Pathol.* 6: 417-422.

Keith, L.M., K.T. Sewake and F.T. Zee. 2005. Isolation and characterization of *Burkholderia gladioli* from orchids in Hawaii. *Plant Dis.* 89: 1273-1278.

Kerr, A. 1972. Biological control of crown gall. Seed inoculation. *J. App. Bacteriol.* 35: 493-497.

Kershaw, M.J., E.R. Moorhouse, R. Bateman, S.E. Reynolds and A.K. charnley. 1999. The role of destruxins in pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insect. *J. Invertebr. Pathol.* 74: 213-223.

Kinloch, RA. 1990. Screening for resistance to root-knot nematodes. Pages 16–23. *In* Starr JL, (ed.). Methods for Evaluating Plant Species for Resistance to Plant-Parasitic Nematodes. Hyattsville: The Society of Nematologists.

Kitthawee, S. 2000. Seasonal Occurrence of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae), a Parasitoid of *Bactrocera correcta* (Bezzi) (Diptera: Tephritidae) in a Guava Orchard in Central Thailand. *ScienceAsia* 26: 87-92

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.

Kvicerova, J., M. Pakandl and V. Hypsa. 2008. Phylogenetic relationships among *Eimeria* spp. (Apicomplexa, Eimeriidae) infecting rabbits: Evolutionary significance of biological and morphological features. *Parasitology* 135: 443–452.

Laosinchai B. and C. Unnahawutti. 2000. *Important Mealybug and Scale Insect*. Taxonomy Group, Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture. Bangkok. (in Thai) *Cited* Mani, M., A. Krishnamoorthy and G.L. Patter. 1995. Biological control of the mango mealy bug *Rastrococcus iceroides* (Green) (Homoptera: Pseudococcidae). *Pest Management in Horticultural Ecosystems* 1(1): 15-20.

Lattin, J.D. 2000. Minute pirate bugs (Anthocoridae). Pages 607-637. *In* Schaefer, C.W. and A.R. Panizzi (eds.). Heteroptera of Economic Importance. CRC Press.

Lezama-Gutiérrez , R., A. Trujilo-De la Luz, J. Molina-Ochoa, O. Rebolledo-Dominguez, A.R. Pescador, M. López-Edwards and M. Aluja. 2000. Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on Anastrepha ludens (Diptera: Tephritidae): Laboratory and Field Trials. *J. Econ. Entomol.* 93: 1080-1084.

Liquido, N.J. and T. Nishida. 1985a. Observations on Some Aspects of the Biology of *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter (Heteroptera: Miridae). Pages 95-101. *In* Proceeding, Hawaiian Entomological Society Vol.25, March 1. 1985.

Liquido, N.J. and T. Nishida. 1985b. Population Parameters of *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter (Heteroptera: Miridae) Reared on Eggs of Natural and Factitious Prey. Pages 87-93. *In* Proceeding, Hawaiian Entomological Society Vol.25, March 1. 1985.

Lohman, D.J. and V.U. Samarita. 2009. The biology of carnivorous butterfly larvae (Lepidoptera: Miletini) and their ant-tended hemipteran prey in Thailand and Philippines. *J Nat Hist.* 43: 569-581.

Lyla, K. R., S. P. Beevi and T. Venkatesan. 2006. Remove from marked Records Field evaluation of *Goniozus nephantidis* (Muesebeck) against coconut black-headed caterpillar in Kerala using different release techniques. *Journal of Biological Control* 20(1): 33–36.

Lyla, R K., Beevi S. Pathummal and Ballal R. Chandish. 2006. Field evaluation of anthocorid predator, *Cardiastethus exiguus* Poppius against *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae) in *Kerala. Biological Control* 20: 229-231.

Mahr, D. L., and N. M. Ridgway. 1993. Biological control of insects and mites: An introduction to beneficial natural enemies and their use in pest management. N. Central Reg. Ext. Publ. 481.

Maneesakorn, P., Grewal, P. S., and A. Chandrapatya. 2010. *Steinernema minutum* sp. nov. (Rhabditida: Steinernema): a new entomopathogenic from Thailand. International *Journal of Nematology* 20:27–42.

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

Martens, E.V. 1860. Die Preussische Expedition nach Ost-Asian. Zool. Theil. 66-68 pp.

Martin, C. and E.R. French. 1985. Bacterial wilt of Potato *Ralstonia solanacearum*. Taken from Technicial information Bulltin 13.

Matthews, G.A. 1979. Pesticide Application methods. Longman, London. 334 pp.

Mayer, A., H. Anke, and O. Sterner. 1997. Omphalotin, a new cyclic peptide with potent nematicidal activity from *Omphalotus olearius* I. fermentation and biological activity. Natural Product Letters 10: 25-32.

McCoy, C.W., R.A. Samson and D.G. Boucias. 1988. Entomogenous fungi. Pages 151-236 *In* C.M. Ignoffo and M.N.Bushan, eds. Handbook of Natural Pesticides. Microbial Insecticides: Part A Entomogenous Protozoa and Fungi., CRC Press. Boca Raton, Florida. Vol.5.

Mead AR. 1961. The Giant African Snail; a Problem in Economic Malacology. University of Chicago Press. 257 pp.

Mead, F. W. 2001. Big-Eyed Bugs, Geocoris spp. (Insecta : Hemiptera Lygaeidae). Available Source : http://entomology.Ifas.Ufl./creatures. December 16, 2013.

Mesfin, G.M., J.E. Bellamy and P.H. Stockdale. 1978. The pathological changes caused by *Eimeria falciformis* var. *pragensis* in mice. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 42: 496–510.

Mesra, B.P. 1966. Biology of Chrysopa lacciperda Kimmins. *Journal of Bombay Natural History Society* 63: 215-219.

Messelink GJ, Van Steenpaal EF, Ramakers PMJ. 2006. Evaluation of phytoseiid predators for control of western flower thrips on greenhouse cucumber. *BioControl* 51: 753-768.

Meyer, L.F., R.N. Huettel, X.Z. Liu, R. A. Humber, J. Jaba, and K. Nitao. 2004. Activity of fungal culture filtrates against soybean cyst nematode and root-knot nematode egg hatch and juvenile motility. Nematology 6(1): 23-32.

กรมวิชาการเกษตร

Meyling, N. and J. Eilenberg. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. *Biol. Control* 43: 145-155.

Mgocheki, N., P. Addison. 2009. Effect of Contact Pesticides on Vine Mealybug Parasitoids, *Anagyrus* sp. near *pseudococci* (Girault) and *Coccidoxenoides perminutus* (Timberlake) (Hymenoptera: Encyrtidae). *S.Afr.J.Enol.Vitic*. 30(2): 110-116.

Michaud, J.P., C.W. McCoy, and S.H. Futch. 2002. Ladybeetles as Biological Control Agents in Citrus. Horticultural Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. http://edis.ifas.ufl.edu/HS138/ accessed (25/9/2007).

Miller, J.W. 1990. *Bacterial brown spot of orchid caused by Pseudomonas cattleyae. Plant Pathology Circular*. 330 p.

Miller, J.W. 1990. Bacterial brown spot of orchid caused by *Pseudomonas cattleyae*. Plant Pathology Circular 330 pp.

Milner, R. 2000. Locust and Grasshopper Biocontrol Committee Newsletter, Issue 2. Camberra, CSIRO.

Montoya, P., J. Cancino, M. Zenil, E., Gomez, and Villaseñor. 2005. Parasitoid Releases in the Control of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) Outbreaks, in Coffee Growing Zones of Chiapas, Mexico. *Vedalia* 12 (1): 85-89.

Mordue, J.E.M. 1971. CMI. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No.317.

Moslim, R., N. Kamarudin, N.H. Hamid and C.M.R.Z. Abidin. 2013. Delivery Techniques of Metarhizium for Biocontrol of Rhinoceros Beetles in Oil Palm Plantations. *The Planter, Kuala Lumpur* 89 (1049): 571-583.

Moura, A.P., G.A. Carvalho and R.L. de O. Rigitano. 2009. Toxicity of insecticides used in tomato crop to *Trichogramma pretiosum*. [Online] Availble. (March 13, 2017)

Muazu, A., A.A. Masdooq, J. Ngbede. A.E. Salihu, G. Haruna, A.K. Habu, M.N. Sati and H. Jamilu. 2008. Prevalence and Identification of species of *Eimeria* causing coccidiosis in poultry within Vom, Plateau state, Nigeria. *International Journal of Poultry Science* 7: 917-918.

Mugridge, N.B., D.A. Morrison, T. Jaekel, A.R. Heckeroth, A.M. Tenter and A.M. Johnson. 2000. Effects of sequence alignment and structuraldomains of ribosomalDNA on phylogeny reconstruction for the protozoan family Sarcocystidae. *Molecular Biology and Evolution* 17: 1842–1853.

Muis, Amran. 2006. Biomass production and formulation of *Bacillus subtilis* for biological control. *Indonrsian Journal of Agricutural Science,* 7(2): 51-56.

Murat Aslan M., Nedim Uygun and Petr Starý. 2004. A Survey of Aphid Parasitoids in Kahramanmaras, Turkey (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae; and Hymenoptera: Aphelinidae). *Phytoparasitica* 32(3): 255-263.

Muthoni, J., H. Shimelis and R. Melis. 2012. Management of Bacterial Wilt (*Ralstonia solanacearum* Yabuuchi et al., 1995) of Potato: Opportunity for Host Resistance in Kenya. *Journal of Agricultural Science* 4 (9): 64-78.

กรมวิชาการเกษตร

Muthoni, J., H. Shimelis, R. Melis and Z.M. Kinyua. 2014. Response of Potato Genotypes to Bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* (Smith) (Yabuuchi *et al.*) in the Tropical Highlands. *Am. J. Potato Res*. 91: 215-232.

Narendran, T.C. 1985. A Taxonomic revision of the chalcid parasites (Hymenoptera: Chalcidoidea) associated with *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Xylorictidae). *Entomon.* 10(2): 83-96.

Nasser, M. and U.C. Abdurahiman. 1990. Reproductive biology and predatory behaviour of the anthocorid bugs (Anthocoridae: Hemiptera) associated with the coconut caterpillar, *Opisina arenosella* (Walker). *Entomon*. 15: 149–158.

Nasser, M. and U.C. Abdurahiman. 2001. Biological control and its exploitation in sustainable agriculture. *In* Biological control of the coconut caterpillar *Opisina arenosella* (Lepidoptera: Xylorictidae) achievements and prospects (pp. 285-302). Kliwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Nemoto, H., E. Yano and K. Kiritani. 1992. Pheromonal control of diamondback moth in the management of crucifer pests. pp. 91-97. In: N. S. Talekar (ed.), Proceedings of the Second International Workshop on Diamondback Moth and Other Crucifer Pests. AVRDC Publication No. 92-368, Shanhua, Taiwan.

Oostendrop, M., D.W. Dickson and D.J. Mitchell. 1991. Population development of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne arenaria*. *Journal of Nematology* 23:58-64.

Panha, S. 1996. A Checklist and classification of the terrestrial Pulmonate snails of Thailand. *Walkerana* 8 (19): 11-64.

Petr Starý, E. Rakhshani, Ž. Tomanović, N. G. Kavallieratos and M. Sharkey. 2010. Aphid parasitoids (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) from Thailand. *Zootaxa* 2498: 47–52.

Pillai, G. B. and K. R. Nair. 1981. Role of pupal parasitoids in the natural suppression of coconut caterpillar *Nephantis serinopa* Meyrick. *Journal of Plantation Crops* 9(2): 84-87.

Pillai, G. B. and K. R. Nair. 1982. A method to estimate the intensity of natural pupal parasitism of *Opisina arenosella* Wlk (=*Nephantis serinopa* Meyrick) *Journal of plantation crops* 10(2): 86-91.

Pillai, G. B. and K. R. Nair. 1993. Studies on the chalcidid pupal parasitoids of the coconut caterpillar *Opisina arenosella* Walker in Kerala, India. *Entomon.* 17(3): 183-192.

Pirone, P.P., B.O. Dodge and H.W. Rickett. 1960. *Disease and of ornamental plants*. The Ronald Pres Company. New York. 511p.

Preetha, G., J. Stanley, S. Suresh, S. Kuttalam and R. Samiyappan. 2009. Toxicity of selected insecticides to *Trichogramma chilonis*: Assessing their safety in the rice ecosystem. *Phytopasitica*. 37: 209-215.

Priou, S., L. Gutarra and P. Aley. 1999. Highly sensitive detection of *Ralstonia solanacearum* in latent infected potato tubers by post-enrichment ELISA on nitrocellulose membrane. *EPPO/OEPP Bulletin* 29 (1), (in press).

Puntener, W. 1992. Manual for Trials in Plant Protection. Third edition. Plant Protection Division,

Pushpalatha, R. 2014. Entomopathogenic Nematodes, Farmers Best Friend!. International *Journal of Development Research* Vol. 4, 5: 1088-1091.

Quicke, D. L. J. 1997. *Parasitic Wasps*. Chapman and Hall, London. 470 pp.

Raghwani, B. R., M.N. Kapadia and P.G. Butani. 1997. Effectiveness of the pupal parasitoids, *Brachymeria nephantidis* Gahan and *Brachymeria latus* Walker against *Opisina arenosella* Walker. *Journal of Oilseed Research* 14(1): 116-117.

Rajendram, G.F. and F.R. Devarajah. 1990. Laboratory rearing of *Cyrtorhinus lividipennis* (Hemiptera: Miridae). *J. of Sci.* 5: 14-21.

Rakhshani, E., Tomanovic, Ž, Stary, P., Talebi, A. A., Kavallieratos, N. G., Zamani, A. A., and Stamenkovic, S. 2008. Distribution and diversity of wheat aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) in Iran. *Eur. J. Entomol.* 105: 863–870.

Reissi, W.H., E.A. Heinrichs and S.L. Valencia. 1982. Effect of insecticide on *Nilaparvata lugens* and its predators: spiders, *Microvelia atrolineata* and *Cyrtorhinus lividipennis*. *Environ. Entomol.* 11: 193-199.

Rodrigues, A.K., L.G. Freitas, A.A. Azevedo and S. FERRAZ. 2003. Development of *Pasteuria penetrans* in *Meloidogyne* spp. Parasitizing Different Host Plants. *Fitopatologia Brasileira* 28: 267-272.

Rosa, W. De La, R. Alatorre, J.F. Barrera and C. Toriello. 2000. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) upon the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) under field conditions. *J. Econ. Entomol.* 93: 1409-1414.

Roy,G.V.D. and T.S. Jr. Bellow. 1996. Biological Control. An International Thomson Publishing Company, USA. 539 pp.

Sahayaraj, K. 2002. Small-scale laboratory rearing of a reduviid predator, *Rhynocoris marginatus* Fab. (Hemiptera: Reduviidae) on *Corcyra cephalonica* Stainton larvae by larval card method. *Journal of Central European Agriculture* 3(2): 137-148.

Sahayaraj, K. and M. G. Paulraj. 2001. Rearing and life table of reduviid predator *Rhynocoris marginatus* Fab. (Hemiptera: Reduviidae) on *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Journal of Applied Entomology* 125(6): 321-325.

Sahayaraj, K. and P. Sathiamoorthi. 2002. Influence of different diets of *Corcyra cephalonica* on life history of a reduviid predator *Rhynocoris marginatus* (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก http//www.agr.hr/jeca/issues/jcea3-1/jcea31_8.html. (สืบค้นเมื่อ 8 มีนาคม 2550)

Sakovich, N. J., J.B. Bailey and T.W. Fisher. 1984. Decollate snails for control of brown garden snails in Southern California citrus groves. Oakland: Univ. Calif. Agri.Nat.Res.Publ.21384.

Sambrook J., E.F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. Molecular cloning: A laboratory manual. Cold spring habor: Cold spring habor lab. 256 pp.

Sanaina, V., V. Kishore and G.S. Shekhawat. 1997. Biocontrol of bacterial wilt of potato by avirulent mutants of *Ralstonia solanacearum* and other Bactria. Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

Sankaranarayanan, C., N. Somasekhar, B. Singaravelu. 2006. Biocontrol Potential of Entomopathogenic Nematodes *Heterorhabditis* and *Steinernema* against Pupae and Adults of White grub *Holotrichia serrata* F. *Sugar Tech* 8(4): 268-271.

Sano, Z. and J.T. Gaspard. 1995. Differences in mortality and reproduction of *Meloidogyne incognita* infected with varied amounts of *Pasteuria penetrans*. *Japanese Journal of Nematology* 25: 129.

Saptpathy, J. M. and N. S. Rao. 1972. Biology and bionomics of *Brachymeria nephantidis* Gahan (Hymenoptera: Chalcididae), a pupal parasite of coconut caterpillar (*Nephantis saserinopa* Meyrcirick). *Indian Journal of Agricultural Sciences* 42(6): 524-528.

Selvan, S., P. S. Grewal, T. Leustek and R. Gaugler. 1996. Heat shock enhances thermotolerance of infective juvenile insect-parasitic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora*. *J. Experientia* 52(7): 727-730.

Sharma, A., D. R. Thakur., V.K. Chandla. 2009. Use of Steinernema and Heterorhabditis Nematodes for Control of White Grubs, *Brahmina coriacea* Hope (Coleoptera: Scarabaeidae) in Potato Crop. *Potato J.* 36 (3-4): 160-165.

Sheather, A.L. 1923. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. *Journal of Comparative Pathology* 36: 266-275.

Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant disease. *J. Biosci. Bioeng*. 85:515-521.

Shrestha, G. and A. Enkeqaard. 2013. The Green Lacewing, *Chrysoperla carnea* Preference between Lettuce Aphids, *Nasonovia ribisnigri* and Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis J Insect Sci* 13:94.

Singer,S. and M.H. Rogoff. 1986. Inhibition of growth of *Bacillus thuringiensis* by amino acids in defined media. *J. Invert. Pathol*. 12: 98-104.

Sivinski, J.M., C.O. Calkins, R. Baranowski, D. Harris, J. Bramila, J. Diaz, R.E. Burns, T. Holler and G. Dodson. 1996. Suppression of a Caribbean Fruit Fly (*Anastrepha suspensa*) (Loew). (Diptera: Tephritidae) Population through Augmentative Release of the Parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological control* 6: 177-185.

Slapeta, J.R., D. Mordy, J. Votypka, M. Jirku, M. Obornik, J. Lukes and B. Koudela. 2000. *Eimeria telekii* n.sp. (Apicomplexa : Coccidia) from *Lemniscomys striatus* (Rodentia: Muidae): morphology, pathology and phylogeny. *Parasitology* 122: 133-143.

Slater, J. A. and R. M. Baranowski. 1978. How to know the true Bugs. (ออนไลน์) เข้าได้จาก http//www.ojibway.ca/bugs.asp. (สืบค้นเมื่อ 8 มีนาคม 2550)

Smith, E.F. 1896. A bacterial disease of the tomato, eggplant and Irish potato (*Bacillus solanacearum* nov. sp.). *Path. Bull*. 12:1-28.

Sothorn Prasertphon. 1975. Deverlopment of production and application of *Bacillus thuringiensis* Berliner in Thailand. Plant protection service technical bulletin No.34.

Sreekanth, P.N. and K. Muralimohan. 2013. Effect of Temperature on the Reproductive biology of *Goniozus nephantidis* Muesebeck (Hymenoptera: Bethylidae), a larval parasitoid of *Opisina arenosella* (Walker). *International Journal of Advanced Biological Research* 3(1): 58-60.

Starý P., M. Sharkey and C. Hutacharern, 2008. Aphid parasitoids sampled by malaise traps in the national parks of Thailand (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae). *Thai Journal of Agricultural Science* 41(1-2): 37-43

Stirling, G.R. 1984. Biological control of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. *Phytopathology* 74: 55-60.

Stirling, G.R. and M.F. Wachtel. 1980. Mass production of *Bacillus penetrans* for the biological control of root-knot nematodes. Nematologica 26: 308–312.

Stock, S. P., V. Somsook, and A. P. Reid. 1998. *Steinernema siamkayai* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), an entomopathogenic nematode from Thailand. *Systematic Parasitology* 41: 105–113.

Stovold, G.E., J. Bradley and P.C. Fahy. 2001. *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* (*Pseudomonas cattleyae*) causing leaf spot and death of Phalanenopsis orchids in New South Wales. *Australasian Plant Pathology* 30: 73-74.

Styles, J. H. 1962. Notes on *Cardiastethus consors* B. White and *Cardiastethus poweri* B. White (HETEROPTERA: Anthocoridae). *N.Z. Entomol* 3: 29-37.

Sung G.H., NL. Hywel-Jones, J.M. Sung, JJ. Luangsaard, B. Shresthra and JW. Spatafora. 2007. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Stud Mycol* 57:1–59.

Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes, Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. CMI. Kew Surrey, England. 695pp.

Suzui, T., U. Kueprakonr and T.Kamhangridthirong. 1976. Phytophthora disease on some economic plants in Thailind. Plant Pathology Div. Dept. of Agr. 113 p.Tsao, P.H. 1974. Phytophthora Disease of Durian, Black Pepper, and Citrus in Thailand. *Working Rept. FAO.* (Mimeographed).

Sweet II, M. H. 2000. Economic importance of predation big-eyed bugs (Geocoridae). *In* Heteroptera of economic importance. Schaefer, C. W. and A. R. Panizzi (eds.) pp. 713-724. CRCPress, New York.

Sylvie, D.B. and H.C., Huang. 2003. Efficacy of Stickers for Seed Treatment with Organic Matter or Microbial Agents for the Control of Damping-off of Sugar Beet. *Plant Pathol Bull.* 12:19-26.

Tauber, C.A., M.J. Tauber, and C.A. Albuquerque. 2001. *Plesiochrysa brasilensisi* (Neroptera: Chrysopidae) Larval Stages, Biology, and Taxonomic Relationships. *Annals of the Entomological Society of America* 94: 858-865.

Thomas, M.B., J. Klass and S. Blanford. 2000. The year of the lacast. *Pest. Outlook* 11, 192-195.

Thompson, A. 1959. *Phytophthora palmivora* Butl. A parasite of orchids in Singapore. *Malayan. Agr. J.* 42: 83-92.

Tommasini M.G. and M. Mosti. 2001. Control of aphids by *Chrysoperla carnea* on strawberry in Italy. In Lacewing in the Crop Environment 481-486.

Tryon, H. 1894. A new potato disease. Queensland Department of Agriculture Annual Report for 1893/1894, pp. 2-4. Cited in Kelman.

Tzortzakakis, E. A. and S.R. Gowen. 1994. Resistance of a Population of *Meloidogyne* spp. to Parasitism by the Obligate Parasite *Pasteuria penetrans*. *Nematologica* 40: 258-266.

Tzortzakakis, E. A., A. G. D. R. Channer, S. R. Gowen and R. Ahmed. 1997. Studies on the Potential Use of *Pasteuria penetrans* as a Biocontrol Agent of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.). *Plant Pathology* 46: 44–55.

Uchida, J. Y. 1994. Diseases of Orchids in Hawaii. *Plant Disease*. 78: 220-224.

Uchida, J. Y. 1999. *Diseases Caused by fugal pathogens*, pp. 10. *In.*Leonhardt, K. and Kelvin (eds.). Growing Dendrobium orchids in Hawaii, production and pest management guide. CTAHR, Hawaii.

Van Niekerk S and A P Malan. 2014. Evaluating the efficacy of a polymer-surfactant formulation to improve control of the citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae), using entomopathogenic nematodes under simulated natural conditions. *African Plant Protection* 17: 1-8.

Vaught, K.C. 1989. A classification of the living mollusca. U.S.A.: American Malacologists. 195 pp.

Venkatesan T., S.K. Jalali, K. Srinivasamurthy, R.J. Rabindra and C.B. Dasan. 2007. Economics of production of *Goniozus nephantidis* (Muesebeck), an important parasitoid of coconut black-headed caterpillar, *Opisina arenosella* (Walker) for bio-factories. *Journal Biological Control* 21(1): 53-58.

Venkatesan, T., C.R. Ballal and R.J. Rabindra. 2008. Biological Control of Coconut Black-Headed Carterpillar *Opisina arenosella* using *Goniozus nephantidis* and *Cardiastethus exiguous.* Brilliant Printers Private Limited. Bangalore. 14 pp.

Walker, G. P., A. R. Wallace., R. Bush., F. H. Macdonald and D. M. Suckling. 2003. Evaluation of pheromone trapping for prediction of diamondback moth infestations in vegetable brassicas. New Zealand Plant Protection 56: 180–184.

Wassana Kittikanokrat, Wairuj Dechmahitkul and Phenjun Mekvijitsaeng. 2005. *Formulation of Bacillus subtilis TISTR 001 for Increasing Probiotic Shelf-life*. (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล: (http://www.knowledge.biotec.or.th/doc_upload/200411495822.doc) (http://www.splammo.net/bact102/102/ bacillus.html) [27 ธันวาคม 2559]

Weeden, C.R., A.M. Shelton and M.P. Hoffman. Biological Control: A Guide to Natural Enemies in North America. http:www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/ accessed (25/6/2009).

Weibelzahl-Fulton, E., D.W. Dickson and E.B. Whitty. 1996. Suppression of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* by *Pasteuria penetrans* in Field Soil. *Journal of Nematology* 28:43-49.

Wharton, R.A., Shaw, S.R., Sharkey, M.J., Whal, D.B., Wooley, J.B., Whitefield, J.B., Marsh, P.M. and Johnson, J.W. 1992. Phylogeny of the subfamilies of the family Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea): a reassessment. *Cladistics* 8: 199-235.

Willems, A., M. Goor, S. Thielemans, M. Gillis, K. Kersters, and J.D. Ley. 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*. *International Journal Systemic Bacterial* 42: 107-119.

Wiwattanapatapee R., A. Chumthong, A. Pengnoo and M. Kanjanamaneesathian. 2007. Effervescent fast-disintegrating bacterial formulation for biological control of rice sheath blight. *Journal of Controlled Release* 119: 229-235.

Wiwattanapatapee R., A. Chumthong,A. Pengnoo and M. Kanjanamaneesathian. 2007. Effervescent fast-disintegrating bacterial formulation for biological control of rice sheath blight. *Journal of controlled release* 119 (2007) 229-235.

Wraight, S.P., R.I. Carruthers, S.T. Jaronski, C.A. Bradley, C.J. Garza, and S.G. Wraight. 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silver leaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biol. Cont.* 17: 203-217.

Yanez-Mendizabal, V., I. Vinas, J. Usall, R. Torres, C. Solsona, M. Abadias and N. Teixido. Formulation development of the biocontrol agent *Bacillus subtilis* strain CPA-8 by spray-drying. *Journal of Applied Microbiology* 112: 954-965.

Yasumatsu, K., T. Wongsiri, C. Tirawat, N. Wongsiri and A. Lewvanich. 1981. Contributions to the Development of Integrated Rice Pest Control in Thailand. Japan International Cooperation Agency. 204 pp.

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.

กรมวิชาการเกษตร