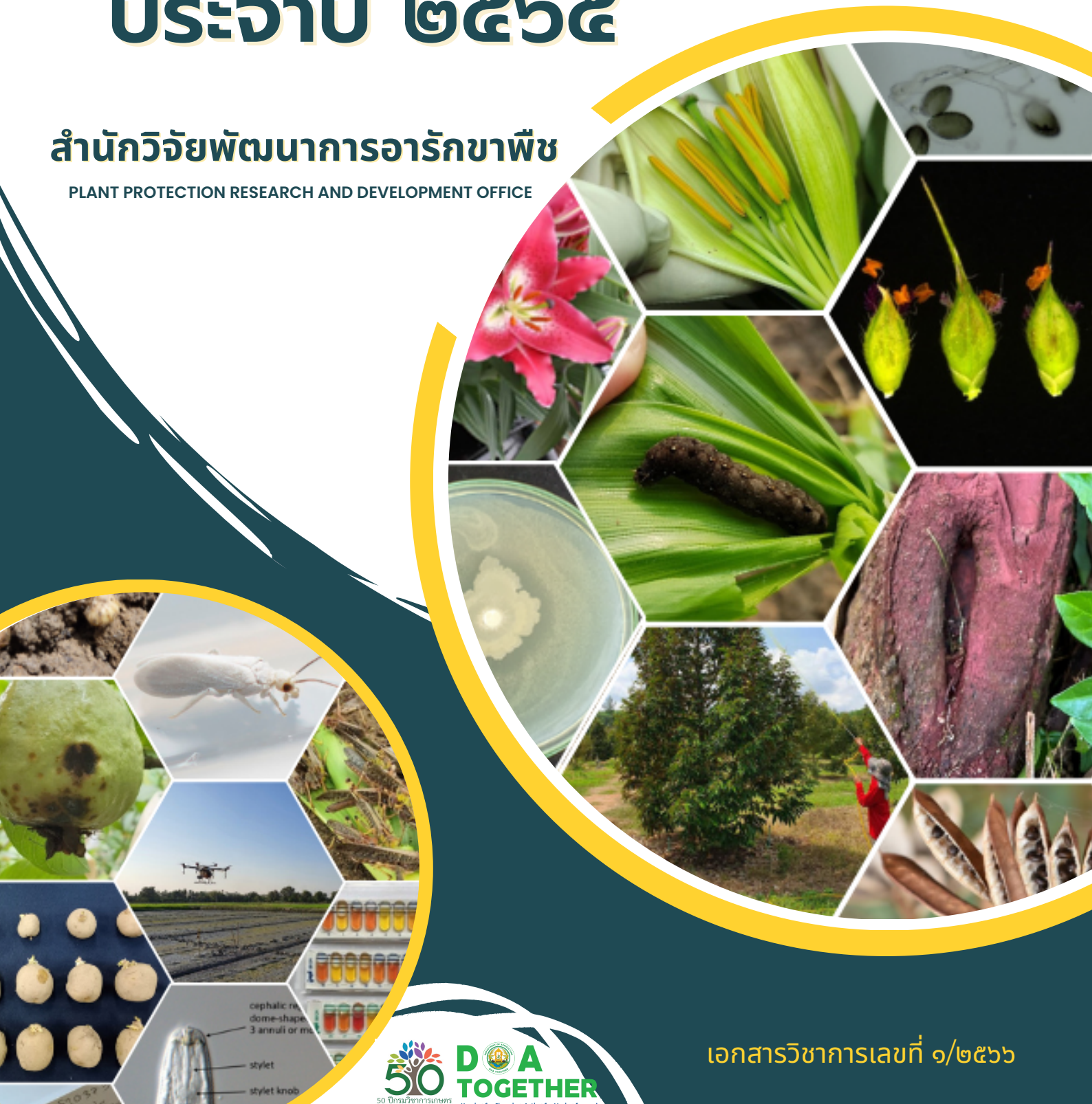
เล่มที่ ๑

ผลงานวิจัย ประจำปี ๒๕๖๕

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

PLANT PROTECTION RESEARCH AND DEVELOPMENT OFFICE



เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๖๖

รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๖๕
เล่ม ๑

เอกสารวิชาการลำดับที่ ๑/๒๕๖๖

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

วิสัยทัศน์

กรมวิชาการเกษตรเป็นองค์กรที่เป็นเลิศด้านการวิจัยและพัฒนาด้านพืช เครื่องจักรกลการเกษตร และเป็นศูนย์กลางรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตรด้านพืชในระดับสากล บนพื้นฐานการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ภายใต้สมดุลวัฒนธรรมองค์กร ภายในปี พ.ศ. 2570

ค่านิยม

ซื่อสัตย์ โปร่งใส งานวิจัยมีคุณภาพ

วัฒนธรรมองค์กร

รักองค์กร ทำงานอย่างมีเป้าหมาย และมุ่งผลสัมฤทธิ์

พันธกิจ

1. สร้างและถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยด้านพืชและเครื่องจักรกลการเกษตร สู่กลุ่มเป้าหมาย
2. กำหนดและกำกับดูแลมาตรฐานระบบการผลิตและผลิตพันธุ์พืชและปัจจัยการผลิตพัฒนาระบบตรวจรับรองสินค้าการเกษตรด้านพืชให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
3. อนุรักษ์และพัฒนาการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพด้านพืช แมลง และจุลินทรีย์
4. สนับสนุนการขับเคลื่อนการลดก๊าซเรือนกระจกของประเทศไทย มุ่งสู่เศรษฐกิจสังคมคาร์บอนต่ำอย่างยั่งยืน
5. กำกับ ดูแล และพัฒนากฎหมายที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบ

คำนำ

ปีงบประมาณ 2565 งานวิจัยของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประกอบด้วย แผนงานวิจัย โครงการวิจัย และการทดลอง รวม 16 แผนงานวิจัย 37 โครงการ และ 188 การทดลอง ซึ่งรวมถึงแผนงานวิจัยภายใต้สังกัดสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จำนวน 5 แผนงานวิจัย 23 โครงการวิจัย แผนงานวิจัยงานบูรณาการส่งเสริมวิจัยและนวัตกรรมปีพ.ศ. 2565-2567 อยู่ภายใต้แผนปฏิบัติการวิจัยและนวัตกรรม กรมวิชาการเกษตร ปี 2564-2569 และภายใต้ทิศทางการดำเนินงานวิจัย กรมวิชาการเกษตรปี 2565-2567 ซึ่งแผนงานวิจัยของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เป็นแผนงานวิจัยที่รองรับ และสนับสนุนการขับเคลื่อนประเทศด้วยโมเดลเศรษฐกิจ BCG (Bio-Circular Economy)

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

แผนงานวิจัยที่สนับสนุนเศรษฐกิจชีวภาพ (Bio Economy) ประกอบด้วยการทดลองในโครงการวิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ โครงการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขากัญชาในสภาพการปลูกภายในอาคาร อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยสังกัดสำนักผู้เชี่ยวชาญ โครงการวิจัยนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยสังกัดสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

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

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2565 เป็นผลงานวิจัยที่นักวิจัยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชมีความมุ่งมั่นดำเนินการ สนับสนุนการนำไปใช้ประโยชน์ในกลุ่มเป้าหมาย เพื่อก่อให้เกิดผลกระทบในวงกว้าง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ขอขอบคุณในความตั้งใจ ความมุ่งมั่นของนักวิจัย และขอบคุณที่ได้รับความร่วมมืออย่างดีเสมอมา

(นายปัญญา พุกสุ่น)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กรกฎาคม 2566

สารบัญ

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2565 เล่มที่ 1..... 1-502

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2565 เล่มที่ 2..... 503-1001

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2565 เล่มที่ 3..... 1002-1507

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2565 เล่มที่ 4..... 1508-2008

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

โครงการวิจัยย่อย การวิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

กิจกรรมที่ 6 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขากัญชาในสภาพการปลูกแบบภายในอาคาร

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

- 6.1 การศึกษาชนิดของไรศัตรูพืช และศัตรู ธรรมชาติ..... 1
  ในกัญชา
  FF65-01-01-65-06-01-65
  - พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ
- 6.2 การศึกษาชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ.... 14
  ในกัญชา
  FF65-01-01-65-06-02-65
  - สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการสร้างมูลค่าเพิ่มจากความหลากหลายทางชีวภาพของพืช เห็ด จุลินทรีย์ และศัตรูธรรมชาติ เพื่อการอนุรักษ์ใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

โครงการวิจัยย่อย นวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน (Orthoptera) เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม ขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ

กิจกรรมที่ -

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

- 1. การศึกษาคัดเลือกชนิดของตั๊กแตนกินได้..... 25
  (Orthoptera) จากความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อพัฒนาเป็นแหล่งโปรตีนใหม่สร้างมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจ
  FF65-02-05-65-00-01-65
  - จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ

➢ 2. การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงขยายตั๊กแตนจากวัตถุดิบ..... 34
เหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก
FF65-02-05-65-00-02-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ
➢ 5. การสร้างแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลาย..... 43
ทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อเพิ่มมูลค่า ใช้ประโยชน์และ
อนุรักษ์อย่างยั่งยืน
FF65-02-05-65-00-04-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยนวัตกรรมการผลิตและเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชเพื่อการอารักขาพืชอย่างยั่งยืน

โครงการวิจัยย่อย วิจัยพัฒนาการผลิตและการใช้ตัวห้ำตัวเบียนเพื่อควบคุมศัตรูพืชในการผลิตพืชปลอดภัย

กิจกรรมที่ 1.วิจัยการผลิตขยายแมลงห้ำแมลงเบียนเพื่อพัฒนาศักยภาพเป็นชีวภัณฑ์ใหม่ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายด้วงเต่าและมวนตัวห้ำชนิดใหม่ที่มีศักยภาพควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ

การทดลอง ➢ 1.1.1 พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่ม..... 52
ปริมาณด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius)
FF65-10-01-65-01-01-65
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ
➢ 1.1.2 พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ.. 58
ด้วงเต่าลายหยัก *Coccinella transversalis* (Fabricius)
FF65-10-01-65-01-02-65
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ

➢ 1.1.3 พัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยง..... 64
ด้วงเต่าตัวห้ำ *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) ด้วยเหยื่ออาหารเพื่อใช้ควบคุมเพลี้ยแป้ง
FF65-10-01-65-01-03-65
❖ ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ และคณะ

➢ 1.1.4 ศึกษาผลกระทบของสารป้องกัน..... 73
กำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดต่อมวนพิฆาต *Eocanthecona furcellata* Woff และมวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn
FF65-10-01-65-01-04-65
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ

➢ 1.1.5 การศึกษาประสิทธิภาพของ..... 82
มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)
FF65-10-01-65-01-05-65
❖ อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงแตนเบียนที่มีศักยภาพควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ (มะพร้าว มะเขือ)

การทดลอง ➢ 1.2.1 การพัฒนาวิธีการผลิตขยาย..... 89
แตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan และศักยภาพการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker
FF65-10-01-65-01-06-65
❖ ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ และคณะ

➢ 1.2.2. การศึกษาศักยภาพการผลิตขยายและผล..... 96
กระทบของสารเคมีต่อแตนเบียน *Encarsia dispersa*
Polaszek ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia*
tabaci (Gennadius) ✪
FF65-10-01-65-01-07-65
❖ สุพรรณี ภูคะฮาด และคณะ

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

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 2.1. ศึกษาอัตราการใช้แมลงช้างปีกใส..... 106
Chrysoperla carnea ควบคุมเพลี้ยอ่อนคะน้าในโรงเรือน
FF65-10-01-65-02-01-65
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

กิจกรรมที่ 3. การใช้มวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn ควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาว

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 3.1 ศึกษาอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุด..... 112
ของมวนเพชฌฆาตระยะต่างๆ
FF65-10-01-65-03-01-65
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ

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

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 4.1 การศึกษาประสิทธิภาพการกินเพลี้ยอ่อนของ..... 117
แมลงหางหนีบขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucus)
FF65-10-01-65-04-01-65
❖ นันทนัช พินศรี และคณะ

กิจกรรมที่ 5. การใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans) ควบคุมไรแดงในราสเบอร์รี่ที่ปลูกในโรงเรือน

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 5.1. ศึกษาอัตราการใช้ไรตัวห้ำ..... 131

Amblyseius longispinosus (Evans) ควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง

FF65-10-01-65-05-01-65

❖อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

➢ 5.2. ศึกษาการใช้ไรตัวห้ำ..... 138

Amblyseius longispinosus (Evans) ในการควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนเกษตรกร

FF65-10-01-65-05-02-65

❖อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยพัฒนาการผลิตและการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมที่ 1. เทคโนโลยีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและไวรัส NPV ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 1.1 การศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอย..... 145

ศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียม

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

❖ อัจฉรียา นิจจรัลกุล และคณะ

➢ 1.2 การพัฒนาสูตรสำเร็จไวรัส NPV 157

หนอนกระทู้หอมในรูปผงละลายน้ำ

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

❖ อนุสรณ์ พงษ์มี และคณะ

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูผัก

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 2.1 การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม; *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย; *Phyllotreta sinuata* Stephens ในผักกาดหัว ✪ 169
FF65-10-02-65-02-01-65
❖ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

➢ 2.2 การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* *Beauveria bassiana* และ *Isaria javanica* ควบคุมแมลงหวี่ขาว *(Bemisia tabasi* (Gennadius)) ในมะเขือเปราะ 186
FF65-10-02-65-02-02-65
❖ทิภาพร นวลเนตร และคณะ

➢ 2.3 การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* (Koch)) ในถั่วฝักยาว 199
FF65-10-02-65-02-03-65
❖ ภัททิรา ศาตร์วงษ์ และคณะ

➢ 2.4 การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* สูตรผงละลายน้ำ ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย (*Phyllotreta sinuata* Stephens) ✪ 211
FF65-10-02-65-02-04-65
❖ ปาริชาติ จำรัสศรี และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยพัฒนาการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืชเพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมที่ 1. การพัฒนานวัตกรรมการผลิตและการใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคพืชเพื่อเพิ่มผลผลิต

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 1.1 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย..... 222
Bacillus subtilis ในการควบคุมโรคผลเน่า (bacterial fruit blotch) ของพืชตระกูลแตง
FF65-10-03-65-01-01-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ

➢ 1.2 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย 233
Bacillus subtilis ในการควบคุมโรคใบติดทุเรียน
FF65-10-03-65-01-02-65
❖ นพพล สัทยาสัย และคณะ

➢ 1.3 การพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis*..... 246
เพื่อใช้ควบคุมโรคเน่าคอดิน (damping-off) สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในมะเขือเทศ
FF65-10-03-65-01-03-65
❖ บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ

➢ 1.4 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 254
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-10-03-65-01-04-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

➢ 1.5 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ 264
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า
FF65-10-03-65-01-05-65
❖ ณัฐธิดา เติมสังข์ และคณะ

➢ 1.6 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 274
Bacillus spp. เพื่อควบคุมโรคราแป้งพืชตระกูลแตง
FF65-10-03-65-01-06-65
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ

➢ 1.7 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 284
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคแคงเคอร์ในมะนาว
FF65-10-03-65-01-07-65
❖ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ

➢ 1.8 พัฒนารูปแบบการผลิตและการใช้ชีวภัณฑ์..... 295
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วง
FF65-10-03-65-01-08-65
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

กิจกรรม 2. วิจัยพัฒนาชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราใน พริก หอม และมะเขือเทศ เพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 2.1 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp.....
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของพริก
ที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*
FF65-10-03-65-02-01-65
❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

➢ 2.2 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. 303
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริกที่เกิด
จากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*
FF65-10-03-65-02-02-65
❖ อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว และคณะ

➢ 2.3 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. 309
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอม
สาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria porri*
FF65-10-03-65-02-03-65
❖ หทัยภัทร เจษฎารมย์ และคณะ

กิจกรรมที่ 3. เทคโนโลยีการใช้เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน เพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 3.1 เทคโนโลยีการใช้เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการ..... 319
ควบคุมโรครากเน่า และโคนเน่าของทุเรียน เพื่อการผลิตพืช
อย่างยั่งยืน
FF65-10-03-65-03-01-65
❖ สุรีย์พร บัวอาจ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย เทคโนโลยีการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากและหนูศัตรูพืช

กิจกรรมที่ 1. เทคโนโลยีการผลิตชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 1.1 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของ..... 327
หอยนักล่าสยาม *Perrottetia siamensis* ในการกำจัดหอย
ทากศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-01-65
❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

➢ 1.2 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของ..... 342
หอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* ในการกำจัดหอยทาก
ศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-02-65
❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

➢ 1.3 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของ..... 355
ไส้เดือนฝอยวงศ์ Rhabditidae ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-03-65
❖ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข และคณะ

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการผลิตชีวินทรีย์ควบคุมหนูศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 2.1 การเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria*..... 366
ที่มีประสิทธิภาพความรุนแรงก่อโรคกับหนูทดลอง
FF65-10-05-65-02-01-65
❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและแก้ปัญหาท้าทายด้านการผลิตพืชปลอดภัย

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชไร่ (อ้อย มันสำปะหลัง และข้าวโพด)

กิจกรรมที่ 1.ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในพืชไร่ (อ้อย มันสำปะหลัง และข้าวโพด)

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในอ้อย..... 374
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-01-65-01-01-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ
➢ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 417
มันสำปะหลังเพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-01-65-01-02-65
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชผัก (ผักกาดขาวปลี ผักกาดหอม กะหล่ำปลี คะน้า และพริก)

กิจกรรมที่ 1.ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อใช้ก่อนปลูกในพืชผัก (pre-planting herbicides)

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 442
ใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในผักกาดขาวปลี
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-01-65
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ

➢ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 458
ใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในผักกาดหอม
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-02-65
❖ เทิดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ

➢ 1.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 473
ใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในคะน้าเพื่อเป็น
สารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-03-65
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ

➢ 1.4 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 489
ใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในกะหล่ำปลีเพื่อ
เป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-04-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

➢ 1.5 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อใช้..... 503
กำจัดวัชพืชระหว่างแถวปลูกในพริกเพื่อเป็นสารทางเลือก
และผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-05-65
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไม้ผล (มะม่วง ส้มโอ ทุเรียน)

กิจกรรมที่ 1. ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในไม้ผล (มะม่วง ส้มโอ ทุเรียน)

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในมะม่วง..... 513
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-03-65-01-01-65
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

➢ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในส้มโอ..... 532
เพื่อทดแทนสารกำจัดวัชพืช paraquat✪
FF65-11-03-65-01-02-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ
➢ 1.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในทุเรียน..... 541
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-03-65-01-03-65
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม (ปาล์มน้ำมัน ยางพารา มะพร้าว และกาแฟ)

กิจกรรมที่ 1. วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม (ปาล์มน้ำมัน ยางพารา มะพร้าว และกาแฟ)

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 549
ปาล์มน้ำมันเพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-01-01-65
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ
➢ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 566
ยางพารา เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-01-02-65
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
➢ 1.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 574
มะพร้าวเพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-01-03-65
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ

➢ 1.4 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 588
กาแฟเพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-01-04-65
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีด้านอารักขาพืชเพื่อการเพิ่มขีดความสามารถในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาการชักนำภูมิต้านทานของพืชต่อศัตรูพืช เพื่อประยุกต์ใช้ร่วมกับระบบการผลิตพืชปลอดภัย

กิจกรรมที่ 1. การใช้สารประกอบอินทรีย์ในการชักนำภูมิต้านทานของพืช

การทดลอง ➢ 1.1 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์บางชนิด..... 598
ในการชักนำภูมิต้านทานของพริกต่อไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-12-01-65-01-01-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 1.2 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์..... 611
บางชนิดในการชักนำภูมิต้านทานของคะน้าต่อแบคทีเรีย
Xanthomonas campestris pv. *campestris*
FF65-12-01-65-01-02-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ
➢ 1.3 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์..... 623
บางชนิดในการชักนำภูมิต้านทานของมะนาวต่อแบคทีเรีย
Xanthomonas citri subsp. *citri*
FF65-12-01-65-01-03-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ

กิจกรรมที่ 2. การใช้จุลินทรีย์ในการชักนำภูมิต้านทานของพืช

การทดลอง ➢ 2.3 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 636
ในการชักนำภูมิต้านทานของพริกต่อไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-12-01-65-02-03-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

โครงการวิจัยย่อย การเพิ่มขีดความสามารถการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยลดการใช้สารเคมีเพื่อเกษตรดีที่เหมาะสมอย่างยั่งยืน

กิจกรรมที่ 1. พัฒนาเทคโนโลยีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง และสัตว์ฟันแทะเพื่อใช้เป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อเกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนารูปแบบการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ร่วมกับสารชีวภัณฑ์และสารธรรมชาติ เพื่อการผลิตสินค้าพืชปลอดภัย

การทดลอง ➢ 1.1.1 วิจัยการใช้สารฆ่าแมลงร่วมกับการใช้..... 645
ไส้เดือนฝอย (*Steinernema capocapsae*) ในการป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก *Phyllotetra* spp.) ในผักกวางตุ้ง
FF65-12-02-65-01-01-65
❖ พวงผกา อ่างมณี และคณะ

➢ 1.1.2 ประสิทธิภาพการใช้สารฆ่าแมลงร่วมกับ..... 656
การใช้เชื้อราโรคแมลงในการป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้ (*Contarinia maculipennis*) Felt
FF65-12-02-65-01-02-65
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

➢ 1.1.3 ประสิทธิภาพการใช้สารฆ่าหนูร่วมกับ..... 665
การใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *Sarcocystis singaporensis* ในการป้องกันกำจัดหนูในไร่ข้าวโพด
FF65-12-02-65-01-03-65
❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ

➢ 1.1.4 ประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดหนูและ..... 678
สารชีวภัณฑ์เพื่อการป้องกันกำจัดหนูในไร่ถั่วเหลือง
FF65-12-02-65-01-04-65
❖ สมเกียรติ กล้าแข็ง และคณะ

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 วิจัยประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงเพื่อเป็นคำแนะนำรองรับปัญหาศัตรูพืชสร้างความต้านทาน

➢ 1.2.1 ประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในมะระ..... 688
การทดลอง FF65-12-02-65-01-05-65
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

➢ 1.2.2 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงกลุ่ม..... 693
กลไกการออกฤทธิ์ต่างๆ ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟหอม (*Thrips tabaci* Lindeman) ในพืชตระกูลหอม
FF65-12-02-65-01-06-65
❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ
➢ 1.2.3 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง เชื้อรา..... 702
โรคแมลง และสารสกัดสะเดาในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนในถั่วฝักยาว
FF65-12-02-65-01-07-65
❖ สุชาดา สุพรศิลป์ และคณะ
➢ 1.2.4 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการ..... 713
ป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (tobacco whitefly); *Bemisia tabaci* (Gennadius) ในมะเขือเทศ
FF65-12-02-65-01-08-65
❖ นลินา ไชยสิงห์ และคณะ
➢ 1.2.5 ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการ..... 720
ป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝอยทุเรียน *Amrasca durianae* Hongsaprug ในทุเรียน
FF65-12-02-65-01-09-65
❖ บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ
➢ 1.2.6 ประสิทธิภาพ สารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 727
กำจัดเพลี้ยไฟในข้าวโพด
FF65-12-02-65-01-10-65
❖ สิริกัญญา ขุนวิเศษ และคณะ

กิจกรรมที่ 2. พัฒนาเทคโนโลยีการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช เพื่อเป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดโรคพืชสำหรับเกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ 2.1 พัฒนารูปแบบการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชร่วมกับสารชีวภัณฑ์ และสารธรรมชาติ เพื่อการผลิตสินค้าพืชปลอดภัย

การทดลอง ➢ 2.1.1 เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา..... 736
ร่วมกับเชื้อ *Bacillus subtilis* (20W1) ในการควบคุมโรค
ใบจุดคะน้า สาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola*
FF65-12-02-65-02-01-65
❖ นพพล สัทยาสัย และคณะ
➢ 2.1.2 ประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัด..... 743
โรคราน้ำค้างร่วมกับการใช้น้ำนมเจือจางในผักกาดขาว
FF65-12-02-65-02-02-65
❖ มะลิดา ชูรินทร์ และคณะ

กิจกรรมย่อยที่ 2.2 วิจัยสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่เพื่อเป็นคำแนะนำสำหรับเกษตรดีที่เหมาะสม

การทดลอง ➢ 2.2.1 ประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช..... 749
ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่มีสาเหตุ
จากเชื้อรา *Colletotrichum* spp.
FF65-12-02-65-02-03-65
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ
➢ 2.2.2 การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด..... 760
โรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคผลเน่าของฝรั่งที่มีสาเหตุ
จาก *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Phyllosticta psidiicola*
FF65-12-02-65-02-04-65
❖ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ
➢ 2.2.3 ประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด..... 769
เชื้อราโรคพืชตามกลุ่มกลไกการออกฤทธิ์ต่างๆ ในการป้องกัน
กำจัดโรคราแป้งในเงาะ
FF65-12-02-65-02-05-65
❖ นพพล สัทยาสัย และคณะ

➢ 2.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด..... 777
โรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคเน่าคอดินมะเขือเทศ สาเหตุ
จากเชื้อ *Pythium aphanidermatum*
FF65-12-02-65-02-06-65
❖ วรางคนา โชติเศรษฐี และคณะ

กิจกรรมที่ 3. วิจัยและพัฒนาการใช้สารกำจัดวัชพืช เพื่อการผลิตพืชปลอดภัยสู่เกษตรกร

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 3.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 786
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในกล้วยหอม
FF65-12-02-65-03-01-65
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ
➢ 3.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 839
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในโกโก้
FF65-12-02-65-03-02-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ
➢ 3.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 854
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในมะละกอ
FF65-12-02-65-03-03-65
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ
➢ 3.4 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 866
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในมะนาว
FF65-12-02-65-03-04-65
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ
➢ 3.5 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 878
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในฟักทอง
FF65-12-02-65-03-05-65
❖สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

➢ 3.6 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อใช้เป็น..... 887
คำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในแตงโม
FF65-12-02-65-03-06-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ
➢ 3.7 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 901
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในแกลดิโอลัส
FF65-12-02-65-03-07-65
❖ ภัทร์พิชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

กิจกรรมที่ 4. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสู่เกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 4.1 เทคนิคการพ่นสารแบบต่าง ๆ 915
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้าย (*Amrasca biguttula bigguttula* Ishida) ในมะเขือเปราะ
FF65-12-02-65-04-01-65
❖ สิริกัญญา ขุนวิเศษ และคณะ
➢ 4.3 ประสิทธิภาพของการใช้อากาศยานไร้คนขับ.....
ในการพ่นสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ (Thysanoptera : Thripidae) ในมะม่วง
FF65-12-02-65-04-02-65
❖ วรวิช สุดจริตธรรมจริยางกูร และคณะ
➢ 4.4 การตกค้างของละอองสารและ..... 922
ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก (pre-emergence) (โดยใช้อากาศยานไร้คนขับ) ในข้าวนาหว่านน้ำตม
FF65-12-02-65-04-03-65
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ

➢ 4.5 อัตราการใช้น้ำและประสิทธิภาพของ..... 931
เครื่องพ่นสารแบบแรงลมในพื้นที่สวนทุเรียน
FF65-12-02-65-04-04-65
❖ ศุภกร แต่งสวน และคณะ
➢ 4.6 อุปกรณ์ลดการปนเปื้อนของสารป้องกันกำจัด..... 953
ศัตรูพืชในนาข้าวจากการผสมและล้างอุปกรณ์พ่นสาร
FF65-12-02-65-04-05-65
❖ศุภกร แต่งสวน และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการอารักขาพืชเพื่อแก้ปัญหาศัตรูพืชต้านทานและการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเกินความจำเป็นในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมที่ 1. ประเมินความต้านทานของแมลงศัตรูพืชต่อสารกำจัดศัตรูพืชเพื่อวางแผนการใช้สารแบบหมุนเวียนในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 1.1 ประเมินความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง..... 959
ในเพลี้ยไฟพริกที่ทำลายส้มในเขตภาคเหนือของประเทศไทย
FF65-12-03-65-01-01-65
❖ กรกฎ รัตนมหามณีกร และคณะ
➢ 1.2 ประเมินความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง..... 969
ในเพลี้ยไฟพริกที่ทำลายส้มโอในพื้นที่ปลูกสำคัญ
FF65-12-03-65-01-02-65
❖ กรกฎ รัตนมหามณีกร และคณะ
➢ 1.3 ประเมินความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง..... 979
ในเพลี้ยไฟ (*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายมะเขือในพื้นที่ปลูกสำคัญ
FF65-12-03-65-01-03-65
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

➢ 1.4 ระดับความต้านทานต่อสารกำจัดแมลงในเพลี้ยไฟ..... 992
(*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายแตงโมในพื้นที่ปลูกสำคัญ
FF65-12-03-65-01-04-65
❖ ธีราทัย บุญญะประภา และคณะ

➢ 1.5 ระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงใน..... 1002
หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) ที่ทำลายหอมแดงในพื้นที่ปลูกสำคัญ
FF65-12-03-65-01-05-65
❖สุภางคนา ถิรวุธ และคณะ

➢ 1.6 ระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง..... 1011
ในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) ที่ทำลายข้าวโพดในพื้นที่ปลูกสำคัญ
FF65-12-03-65-01-06-65
❖ สุภางคนา ถิรวุธ และคณะ

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการอารักขาพืชเพื่อแก้ปัญหาแมลงศัตรูพืชต้านทานและการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเกินความจำเป็นในพืชไร่ พืชผัก และไม้ผลในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 2.3 การใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียน..... 1021
กลุ่มกลไกการออกฤทธิ์เพื่อป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hubner) ในหอมแดง
FF65-12-03-65-02-03-65
❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ

➢ 2.4 การใช้สารแบบหมุนเวียนในการป้องกันกำจัด..... 1029
เพลี้ยจักจั่นฝ้าย *Amrasca biguttula biguttula* (Ishida) ในกระเจี๊ยบเขียวเพื่อลดปัญหาความต้านทานสารฆ่าแมลง
FF65-12-03-65-02-04-65
❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ

➢ 2.5 การจัดการความต้านทานต่อสารกำจัด..... 1039
ศัตรูพืชในเพลี้ยไฟ (*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายแตงโม
โดยการใช้สารกำจัดแมลงแบบหมุนเวียน
FF65-12-03-65-02-05-65
❖ธีราทัย บุญญะประภา และคณะ

กิจกรรมที่ 3. ประเมินความต้านทานของวัชพืชต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในนาข้าวในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่และเทคโนโลยีในการจัดการปัญหาความต้านทาน

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 3.2 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม..... 1053
ยับยั้งการสร้างไขมัน (cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl) ในหญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis*) เพื่อการจัดการวัชพืช
FF65-12-03-65-03-02-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ
➢ 3.3 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืช..... 1066
กลุ่มยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (metsulfuron-methyl และ pyrazosulfuron-ethy) (HRAC: Group 2) ในหนวดปลาดุก (*Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth) เพื่อการจัดการวัชพืช✪
FF65-12-03-65-03-03-65
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ
➢ 3.4 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม..... 1080
ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl) ในกกขนาก (*Cyperus difformis*) เพื่อการจัดการวัชพืช
FF65-12-03-65-03-04-65
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยอนุกรมวิธานเชิงลึกมุ่งแก้ปัญหาท้าทายด้านศัตรูพืชเพื่อสนับสนุนและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

โครงการวิจัยย่อย อนุกรมวิธาน ชีววิทยาแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมที่ 1. อนุกรมวิธานแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชเศรษฐกิจโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การทดลอง

- 1.1 อนุกรมวิธานด้วงที่พบในธัญพืชนำเข้าส่งออก..... 1096

FF65-20-01-65-01-01-65

❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ

- 1.2 อนุกรมวิธานและการแพร่กระจายเชิง..... 1111

ภูมิศาสตร์ของทากศัตรูพืช

FF65-20-01-65-01-02-65

❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

- 1.3 อนุกรมวิธานเพลี้ยไฟที่พบในไม้ดอก..... 1121

FF65-20-01-65-01-03-65

❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ

- 1.4 อนุกรมวิธาน ของผีเสื้อหนอนกระทู้ สกุล..... 1140

Spodoptera Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae)

FF65-20-01-65-01-04-65

❖ อาทิตย์ รักกสิกร และคณะ

กิจกรรมที่ 2. ชีววิทยาของแมลง ไรศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพในการควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง

- 2.1 การศึกษาชีววิทยาของไรแดงอัญชัน..... 1151

Tetranychus piercei McGrego

FF65-20-01-65-02-01-65

❖ วีระชัย สมศรี และคณะ

- 2.2 ชีววิทยา และศักยภาพภาพการกิน..... 1162

เหยื่อของแมลงช้างสีน้ำตาล ชนิด *Micromus timidus* Hagen, 1853 (Neuroptera: Hemerobiidae) และแมลงช้างปีกแป้ง ชนิด *Semidalis aleyrodiformis* (Stephens, 1836) (Neuroptera: Coniopterygidae)

FF65-20-01-65-02-02-65

❖ อาทิตย์ รักกสิกร และคณะ

➢ 2.3 การจำแนกชนิดและชีววิทยามวนตัวห้ำ..... 1171
สกุล *Nesidiocoris* (Hemiptera: Miridae)
FF65-20-01-65-02-03-65
❖ จอมสุรางค์ ดวงธิสาร และคณะ

โครงการวิจัยย่อย การจำแนกชนิดแมลง สัตว์ศัตรูพืชที่สำคัญด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1. การจำแนกชนิดและเขตการแพร่..... 1179
กระจายจักจั่นศัตรูอ้อย (Hemiptera : Cicadidae) โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-01-65
❖ เกศสุดา สนศิริ และคณะ
➢ 2. การจำแนกชนิดเพลี้ยหอยเกล็ด..... 1189
สกุล *Pinnaspis* Cockerell, 1892 ด้วยสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-02-65
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ
➢ 3.การจำแนกชนิดของทากเล็บมือนางสกุล .....
Parmarion ในประเทศไทยด้วยสัณฐานวิทยาและเทคนิค 1200
ทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-03-65
❖ ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล และคณะ
➢ 4. การจำแนกชนิดและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของ.... 1217
เพลี้ยแป้ง cryptic species สกุล *Planococcus* Ferris 1950 ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-04-65
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➢ 5. การจำแนกไบโอไทป์ของแมลงหวี่ขาวยาสูบ..... 1225
Bemisia tabaci ในแหล่งปลูกพริกอินทรีย์และแหล่งปลูกพริกใช้สารเคมีในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-05-65
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ
➢ 6. การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด ความสัมพันธ์ทาง..... 1239
วิวัฒนาการ และมอร์โฟเมตริกส์ ของแมลงวันหนอนชอนใบในพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย✪
FF65-20-02-65-00-06-65
❖ ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย การจำแนกชนิดและคุณลักษณะชีวโมเลกุลของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่สำคัญ

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1.การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1916
Hirschmanniella (Nematoda : Pratylenchidae) ในพรรณไม้น้ำ
FF65-20-03-65-00-01-65
❖ ธิติยา ชยาภัคพัฒนา และคณะ
➢ 2 การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1252
Xiphinema (Nematoda: Longidoridae)
FF65-20-03-65-00-02-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 3 การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1261
Scutellonema (Nematoda: Hoplolaimidae)
FF65-20-03-65-00-03-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

➢ 4. อนุกรมวิธานของราน้ำค้างในพืชตระกูลแตง..... 1269
และพืชตระกูลกะหล่ำ
FF65-20-02-65-00-04-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢ 5. การจำแนกชนิดและคุณลักษณะชีวโมเลกุล..... 1278
ของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคในมันเทศ
FF65-20-03-65-00-05-65
❖ ภูวนารถ มณีโชติ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่มีความซับซ้อน (complex species)

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 2. การจำแนกชนิดของเชื้อรา..... 1296
Fusarium oxysporum f.sp. *cubense* race 1 complex
สาเหตุโรคตายพรายกล้วย
FF65-20-04-65-00-02-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢ 3. การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp..... 1306
สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-20-04-65-00-03-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย การศึกษาชนิดวัชพืชที่สำคัญเพื่อแก้ปัญหาท้าทายด้านวัชพืชและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล..... 1314
Echinochloa P.Beauv
FF65-20-05-65-00-01-65
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ

➢ 2. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล..... 1324
Fimbristylis Vahl
FF65-20-05-65-00-02-65
❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ

โครงการวิจัย การศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของวัชพืชที่สำคัญเพื่อแก้ปัญหาท้าทายด้านวัชพืชและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของผักกระฉูด..... 1330
(*Neptunia plena* (L.) Benth) วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่ชุ่มน้ำทางการเกษตร
FF65-20-06-65-00-01-65
❖ อัณศยา พรมมา และคณะ
➢ 2. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของโทงเทงประดับ..... 1345
(*Nicandra physalodes* (L.) Gaertn) วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ
FF65-20-06-65-00-02-65
❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ
➢ 3. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของ *Oxalis*..... 1355
debilis .Kunth วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ
FF65-20-06-65-00-03-65
❖ อัณศยา พรมมา และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อผลผลิตและคุณภาพสูงสำหรับอุตสาหกรรม

โครงการวิจัยย่อย การวิจัยและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง(ระยะที่ 1)

กิจกรรมที่ –

การทดลอง ➢ 1.6 ทดสอบความต้านทานต่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง..... 1365
ในมันสำปะหลังโดยการเสียบยอด
FF65-23-02-65-01-04-65
❖ วานิช คำพานิช และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชไร่ตระกูลถั่วและข้าวโพดฝักสดเพื่อความมั่นคงทางอาหาร

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดฝักสดเพื่อความมั่นคงทางอาหาร

กิจกรรมที่ 1.วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดฝักสด

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาข้าวโพดฝักสด

การทดลอง ➢ 1.2.6 ผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 1376
ใช้ทางใบต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดหวาน
FF65-45-04-65-01-10-65
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

➢ 1.2.7 ผลของน้ำบาดาลและน้ำผิวดินต่อประสิทธิภาพ..... 1389
การกำจัดวัชพืชในพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวาน
FF65-45-04-65-01-11-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการกักกันพืชเพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืชระหว่างประเทศ

โครงการวิจัยย่อย การศึกษาชนิดของศัตรูพืชในประเทศเพื่อการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1.1 การศึกษาชนิดของแมลงศัตรู อินทผลัม มันเทศ 1401
ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-01-65
❖ เกศสุดา สนศิริ และคณะ

➢ 1.2. การศึกษาชนิดของไรศัตรู อินทผลัม มันเทศ..... 1415
ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-02-65
❖ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ

➢ 1.3 การศึกษาชนิดของโรค อินทผลัม มันเทศ ลิลลี่..... 1424
กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-03-65
❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 1.4 การศึกษาชนิดของวัชพืชใน อินทผลัม มันเทศ..... 1435
ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-04-65
❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ

โครงการวิจัยย่อย ศึกษาความเสี่ยงศัตรูพืชที่สัมพันธ์กับการนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

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

➢ 2. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 1931
แก้วมังกรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-02-65
❖ คมศร แสงจินดา และคณะ

➢ 3. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 1943
เชอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-03-65
❖ ชวลิต จิตนันท์ และคณะ

➢ 4. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า.....
สับปะรดจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-04-65
❖ ณัฐสุดา บรรเลงสวรรค์ และคณะ
➢ 5. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า.....
อินทผลัมจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-05-65
❖ อมรพร คุณะพันธ์ และคณะ
➢ 6. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 1969
ส่วนขยายพันธุ์องุ่นจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-06-65
❖ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และคณะ
➢ 7. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 1447
ลิลลี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-07-65
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ
➢ 8. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 1460
กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศ
ในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-08-65
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ
➢ 9. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการ..... 1474
นำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิ
ภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-09-65
❖ อลงกต โพธิ์ดี และคณะ

โครงการวิจัยย่อย การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักและหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

➢ 1. การตรวจวินิจฉัยชนิดของไวรัสจีนัส *Tobamovirus*..... 1485
ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพริกนำเข้า
FF65-55-03-65-00-01-65
❖ โสภา มีอำนาจ และคณะ

➢ 2. การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 1495
Potato cyst nematode ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า✪
FF65-55-03-65-00-02-65
❖ สุรศักดิ์ แสนโคตร และคณะ

➢ 3. การตรวจวินิจฉัย *Candidatus* Liberibacter 1508
solanacearum ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า
FF65-55-03-65-00-03-65
❖ สุรศักดิ์ แสนโคตร และคณะ

➢ 4. การตรวจและศึกษาชนิดเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับ..... 1519
เมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้า
FF65-55-03-65-00-04-65
❖ จันทร์พิศ เดชหามาตย์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและชีวภัณฑ์เพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืช

กิจกรรมที่ 1. พัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช

การทดลอง

➢ 1.1 การพัฒนา การตรวจสอบแมลงวันทองฝรั่ง..... 1528
Bactrocera correcta และ แมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) เพื่อการนำเข้าและส่งออกด้วย multiplex PCR จากไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง
FF65-55-04-65-01-01-65
❖ ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ

➢ 1.2 การตรวจ Cucumber mosaic virus .....
ในพริกด้วยเทคนิค Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification
FF65-55-04-65-01-02-65
❖ เยาวภา ตันติวานิช และคณะ
➢ 1.3 พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย..... 1539
Xanthomonas perforans สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-55-04-65-01-03-65
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
➢ 1.4 พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย 1545
Xanthomonas vesicatoria สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-55-04-65-01-04-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ
➢ 1.5 การเปรียบเทียบและประเมินประสิทธิภาพ..... 1551
การตรวจไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ด้วยเทคนิค LAMP PCR และ Real-time PCR
FF65-55-04-65-01-05-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

กิจกรรมที่ 2. พัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยชีวภัณฑ์นำเข้าภายใต้พระราชบัญญัติวัตถุอันตราย

การทดลอง
➢ 2.1 พัฒนาเทคนิค Polymerase Chain Reaction..... 1563
เพื่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา *Trichoderma asperellum*
FF65-55-04-65-02-01-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢ 2.2 การพัฒนาเทคนิคสำหรับตรวจสอบเชื้อรา..... 1573
Metarhizium anisopliae ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ
FF65-55-04-65-02-02-65
❖ ทิภาพร นวลเนตร และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอและมะม่วง เพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออก

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

➢ 1. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 1582
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอแขกดำเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-01-65
❖ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และคณะ

➢ 2. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 1595
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอแขกนวลเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-02-65
❖ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และคณะ

➢ 3. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน..... 1608
เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงมันเดือนเก้าเพื่อการส่งออก✪
FF65-55-05-65-00-03-65
❖ ชัยณรัตน์ สนศิริ และคณะ

➢ 4. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวัน..... 1650
ผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้มันเพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออก✪
FF65-55-05-65-00-04-65
❖ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ และคณะ

➢ 5. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 1662
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงแดงจักรพรรดิเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-05-65
❖ ปวีณา บูชาเทียน และคณะ

➢ 6. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 1674
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผล
มะม่วงอกร่องเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-06-65
❖ ศิริพร คงทวี และคณะ

โครงการวิจัย การสำรวจ และเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันของพืชและผลผลิตพืชในประเทศไทย

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย 1686
Pseudomonas corrugata ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-01-65
❖ ชลธิชา รักใคร่ และคณะ
➢ 2. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย..... 1696
Xanthomonas vesicatoria ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-02-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ
➢ 4. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย..... 1702
Xanthomonas perforans ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-04-65
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
➢ 5. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา..... 1708
Pseudocercospora angolensis ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-05-65
❖ วานิช คำพานิช และคณะ
➢ 6. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา..... 1718
Verticillium albo-atrum ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-06-65
❖ ธิดาวรรณ ชมเดช และคณะ

➢ 7. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย..... 1726
Ditylenchus destructor ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-07-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 8. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย..... 1996
Ditylenchus dipsaci ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-08-65
❖ ธิติยา ชยาภัคพัฒนา และคณะ
➢ 9. การสำรวจและเฝ้าระวังแมลงวันผลไม้..... 1735
Bactrocera minax (Enderlein) ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-09-65
❖ ดนัย ชัยเรือนแก้ว และคณะ
➢ 10. การสำรวจและเฝ้าระวังตั๊กแตนไผ่..... 1745
Ceracris kiangsu Tsai ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-10-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ
➢ 11. การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช..... 1756
Raphanus raphanistrum ของกะหล่ำปลีในประเทศไทย
Survey and Surveillance of *Raphanus raphanistrum* ✪
FF65-55-06-65-00-11-65
❖ ชุติมา อ้อมกิ่ง และคณะ
➢ 12. การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช..... 1764
Galium aparine L. ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-12-65
❖ พรรณิภา เปชัยศรี และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชอุบัติใหม่ในข้าวโพดและกล้วยเพื่อการส่งออก

กิจกรรมที่ 1. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพด

การทดลอง

➢ 1.1 การทดสอบประสิทธิภาพสารคลุกเมล็ดและ..... 1773
ราดสารป้องกันกำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดหนอน
กระทู้ข้าวโพดลายจุด
FF65-55-07-65-01-01-65

❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

➢ 1.2 การใช้ไวรัส NPV ร่วมกับสารป้องกันกำจัดแมลง..... 1786
ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน
FF65-55-07-65-01-02-65

❖ อนุสรณ์ พงษ์มี และคณะ

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

การทดลอง

➢ 2.1 การศึกษาชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย..... 1802
TR4 ในกล้วยคาเวนดิช ของประเทศไทย
FF65-55-07-65-02-01-65

❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ

➢ 2.2 การตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย..... 1813
TR4 กล้วยในประเทศไทยด้วยเทคนิค SIX genes
FF65-55-07-65-02-02-65

❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 2.3 การศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย..... 1820
ต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp.
cubense tropical race 4
FF65-55-07-65-02-03-65

❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 2.4 การทดสอบการใช้ยูเรียและปูนขาวอบดินร่วม.....
กับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ฏิปักษ์ ในการควบคุมโรคตายพราย
TR4 ของกล้วย
FF65-55-07-65-02-04-65

❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) เพื่อการผลิตที่ยั่งยืน

โครงการวิจัยย่อย ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชเพื่อทดแทนสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ห้ามใช้

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

➢ 1. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 1828
กำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-01-65
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ

➢ 2. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 1843
กำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-02-65
❖ กรกต ดำรักษ์ และคณะ

➢ 3. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 1855
กำจัดหนอนแมลงวันชอนใบ (*Liriomyza brassicae* (Riley)) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-03-65
❖ กรกต ดำรักษ์ และคณะ

➢ 4. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 1863
กำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในมะระจีน เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-04-65
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ

➢ 5. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 1875
กำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi*) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-05-65
❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) เพื่อการผลิตที่ยั่งยืน

กิจกรรมที่ –

การทดลอง

- 1. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป 1879
  FF65-57-02-65-00-01-65
  - สัญญาณี ศรีคชา และคณะ
- 2. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป 1893
  FF65-57-02-65-00-02-65
  - ธีราทัย บุญญะประภา และคณะ
- 3. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนแบบผสมผสานเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป 1906
  FF65-57-02-65-00-03-65
  - อุราพร หนูนารถ และคณะ

หมายเหตุ

- ชื่อการทดลองที่นักวิจัยแจ้งไม่ตรงกับชื่อการทดลองจากกองแผนงาน

การศึกษาชนิดของไรศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในกัญชา

Study on Mite Pests Species and Natural Enemy of The Cannabis Plant

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

Progress Report

The Ministry of Public Health has currently announced that the cannabis is considered as a controlled medicinal plant in Thailand. The allowance for growing per household is restricted at 10 plants. Thus, cannabis is becoming a new economic crop in the country and the number of growing areas is relatively popular. In the past, marijuana originally was a type 5 narcotic plant according to the Narcotics Code, planting or possessing were illegal. Therefore, there is very little knowledge on the pests species of cannabis. The survey of mites species, the potential pest of cannabis, was carried out from September 2021 to December 2022. The survey and sample collecting were implemented in 24 districts, 18 provinces including, Bangkok, Nonthaburi, Chumphon, Trang, Surat Thani, Phuket, Kanchanaburi, Ratchaburi, Uthai Thani, Lamphun, Lampang, Chiang Mai, Nakhon Ratchasima, Khon Kaen, Buriram, Udon Thani, Chonburi and Chanthaburi. The results revealed that 5 species in 2 families of mites pests were found: only single species in the family Tarsonemidae, namely *Polyphagotarsonemus latus* (Banks), causing the tops of cannabis leaves becoming small and curled. Four species in the family Tetranychidae: *Eotetranychus suvipakiti* Ehara, *Tetranychus kanzawai* Ehara, *Tetranychus truncatus* Ehara, and *Tetranychus phaselus* Ehara are known as spider mite, causing damage on the lower leaves of cannabis turning them to yellow and eventually dry. The most important species of the cannabis is *Tetranychus truncatus* Ehara.

Keyword : mite pest mite spider mite,broad mite eriophyid mite rust mite

---

รหัสการทดลอง FF65-01-01-65-06-01-65

รายงานความก้าวหน้า

ปัจจุบันได้มีประกาศกระทรวงสาธารณะสุขให้กัญชาเป็นพืชสมุนไพรควบคุม อนุญาติให้ปลูกได้ครอบครัวละไม่เกิน 10 ต้น กัญชาจึงเป็นพืชเศรษฐกิจใหม่ในประเทศที่นิยมปลูกกันมากขึ้น ซึ่งแต่เดิมกัญชาเป็นพืชยาเสพติดให้โทษประเภทที่ 5 ตามประมวลกฎหมายยาเสพติด การปลูกหรือมีไว้ในครอบครองผิดกฎหมาย ทำให้ข้อมูลชนิดและศัตรูพืชของกัญชาจึงมีน้อยมาก ดังนั้นการสำรวจศัตรูพืชกัญชาจึงได้เริ่มทำการวิจัยกันอย่างจริงจัง โดยเฉพาะไรศัตรูพืชซึ่งเป็นศัตรูที่สำคัญของพืชในสกุลกัญชา จากการสำรวจไรศัตรูพืชในแปลงกัญชาระหว่างเดือน ตุลาคม 2564 ถึงเดือนธันวาคม 2565 รวมทั้งสิ้น 24 อำเภอ 18 จังหวัด ได้แก่จังหวัด กรุงเทพ นนทบุรี ชุมพร ตรัง สุราษฎร์ธานี ภูเก็ต กาญจนบุรี ราชบุรี อุทัยธานี ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ นครราชสีมา ขอนแก่น บุรีรัมย์ อุดรธานี ชลบุรี และจันทบุรี พบไรศัตรูในแปลงกัญชาทั้งหมด 5 ชนิด 2 วงศ์ วงศ์ ศัตรูพืชทั้งหมด 4 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Tarosonemidae จำนวน 1 ชนิด คือ *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) ทำให้ยอดใบกัญชา มีขนาดเล็กลง ใบหงิกงอ วงศ์ Tetranychidae 4 ชนิด คือ *Eotetranychus suvipakiti* Ehara, *Tetranychus kanzawai* Ehara *Tetranychus truncatus* Ehara และ *Tetranychus phaselus* Ehara ซึ่งไรแดงทั้งสี่ชนิดเข้าทำลายบริเวณใต้ใบกัญชา ทำให้ใบกัญชามีสีซีด ต่อมาใบจะเหลือง และแห้ง ชนิดที่สำคัญพบเข้าทำลายในเกือบทุกพื้นที่คือ *Tetranychus truncatus* Ehara

คำหลัก : ไรศัตรูพืช ไรแดง ไรแดงกัญชา ไรขาว ไรสี่ขา ไรสนิมกัญชา

คำนำ

กัญชา มีชื่อวิทยาศาสตร์ ว่า *Cannabis sativa* L. Subsp. *Indica* เป็นพืชในวงศ์ Cannabidaceae เป็นไม้ล้มลุกที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชีย กัญชาจัดเป็นยาเสพติดให้โทษประเภท 5 ตาม พ.ร.บ. ยาเสพติดให้โทษ แต่ปัจจุบันกัญชา ได้รับข้อยกเว้นในกรณีจำเป็น โดยสภานิติบัญญัติแห่งชาติ (สนช.) ได้ผ่านร่างพระราชบัญญัติ (พ.ร.บ.) ยาเสพติดให้โทษ อนุญาตให้นำกัญชา (เมื่อวันที่ 25 ธันวาคม 2561) เพื่อไปศึกษาวิจัยเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์และรักษาโรคภายใต้การดูแลของแพทย์ หรือเพื่อการศึกษาวิจัยและพัฒนา ทั้งนี้ให้รวมถึงการเกษตรกรรม พาณิชยกรรม วิทยาศาสตร์ หรืออุตสาหกรรม เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ ตามพระราชบัญญัติ ยาเสพติดให้โทษ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2562 กัญชาเป็นพืชที่มีสารออกฤทธิ์ต่อร่างกายหลายชนิด ที่สำคัญคือสาร cannabinoids ซึ่งส่งผลต่อร่างกายมนุษย์ในหลายด้าน หลายประเทศทั่วโลกได้มีการนำผลิตภัณฑ์สารสกัดจากกัญชามาใช้เพื่อเป็นยารักษาโรค ผลิตภัณฑ์กัญชาทางการแพทย์ได้ประโยชน์ โดยมีหลักฐานทางวิชาการที่มีคุณภาพสนับสนุนอย่างชัดเจน กัญชามีสรรพคุณมากมายในการรักษาโรคต่างๆ พบว่า ใช้รักษาโรคสำคัญได้กว่า 100 ชนิด ได้แก่ โรคมะเร็ง ลมบ้าหมู กล้ามเนื้อหดเกร็ง ต้อหิน คลื่นไส้ โรคเกาต์ โรคอัลไซเมอร์ โรคเบาหวาน และโรคมะเร็งเป็นต้น (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2562; Medthai, 2017 ; กรมการแพทย์, 2562) การปลูกกัญชา ทำได้ 3 แบบคือ ปลูกในอาคาร ปลูกแบบ

greenhouse และ การปลูกในสภาพไร่ Outdoor กัญชา มี 3 สายพันธุ์ที่พบบ่อยคือ *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* และ *Cannabis rudealis* สำหรับสายพันธุ์ที่พบมากในประเทศคือ *Cannabis sativa* ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ดีในลักษณะอากาศแบบร้อนชื้น (ผกาทิพย์, 2562)

สำหรับไรศัตรูที่สำคัญในกัญชามีรายงานหลายชนิดด้วยกัน เช่น เพลี้ยอ่อน (*Myzus persicae*, *Aphis fabae*), แมลงหวี่ขาว (*Trialeurodes vaporariorum, Bemisia tabaci, B. argentifolii*) (California Department of Pesticide Regulation, 2019) ไรสองจุด *Tetranyhcus urticae* ไรขาวพริก *Polyphagotarsonemus latus* และไรสนิม *Aculops cannabicola* ซึ่งเป็นไรที่มีความสำคัญในโรงเรือนการปลูกกัญชา ถ้าไรเข้าดูดน้ำเลี้ยงใบอ่อน ยอดอ่อน มีผลทำให้ใบหงิก ม้วนงอ เป็นสนิม และต้นกัญชาตายในที่สุด มีเขตแพร่กระจายอยู่ที่ประเทศจีน ฮังการี เซอเบีย โปแลนด์ และอเมริกา (Boczek & Maciejczyk, 1993; Petanovic *et al*., 2007; Xue *et al.*, 2013; Quarles, 2018; GÓrski *et al*, 2016; Wainwright-Evans, 2017) ในอนาคตพืชกัญชาจึงเป็นพืชเศรษฐกิจที่สร้างรายได้ให้กับผู้ปลูกได้อย่างดี ในการผลิตเพื่อการแพทย์ ในการรักษาผู้ป่วย ดังนั้นการปลูกกัญชา จึงต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของผู้บริโภค ซึ่งสอดคล้องกับประเด็นยุทธศาสตร์ชาติที่ 4 ด้านการสร้างความสามารถในการแข่งขัน ในเรื่องของเกษตรปลอดภัยและเกษตรชีวภาพ ที่มุ่งสู่การเลิกใช้สารเคมีในภาคเกษตร นำไปสู่การทำเกษตรอย่างยั่งยืน การศึกษาถึงการจัดการศัตรูพืชในกัญชาอย่างยั่งยืนนี้จึงนับเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ในภาคการผลิตกัญชาในสภาพแปลงปลูกในระบบปิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งกัญชาเป็นเรื่องใหม่ของประเทศไทย ที่เริ่มต้นให้มีการปลูกสำหรับการรักษาทางการแพทย์ จึงยังไม่มีหน่วยงานไหนศึกษาถึงวิธีการควบคุม และป้องกันกำจัดศัตรูพืชในกัญชาอย่างจริงจังในภาคเกษตร ดังนั้นในการศึกษาและวิจัยในเรื่องนี้ จึงนับเป็นประโยชน์อย่างยิ่งกับผู้บริโภค เกษตรกร นักวิชาการและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องที่จะนำงานวิจัยนี้ไปใช้ประโยชน์ และขยายเป็นอุตสาหกรรมได้ในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างไร: ได้แก่ ถุงพลาสติกใสขนาดต่างๆ กล่องพลาสติก พู่กันเบอร์ 0 ขวดดองตัวอย่างไร ขนาด 1 แดรม บรรจุแอลกอฮอล์ 70% พู่กัน กล่องพลาสติกรักษาความเย็นขนาด 68 ควอทซ์ แว่นขยาย (กำลังขยาย 20x)

2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาชนิดของไร: ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope), ตะเกียงแอลกอฮอล์ โคมไฟ พู่กันเบอร์ 0 เข็มเขี่ยปลายแหลม และปลายงอ สำลี ตู้อบ/เครื่องอุ่นสไลด์ ตั้งอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส แป้นหมุนสำหรับผนึกขอบสไลด์ น้ำยาผนึกขอบสไลด์

3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการตรวจจำแนกชนิดของไร: ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope สำหรับใช้จำแนกชนิดของไรศัตรูพืช และไรตัวห้ำในวงศ์ต่างๆ

4. คู่มือวินิจฉัยไร ได้แก่ วารสาร และตำรา ของ Meyer, 1987; Amrine *et al*, 2003; Ehara, 1999

วิธีการ

1. การศึกษาชนิดของไรด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1) นำตัวอย่างไรศัตรูกัญชาทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ

2) จัดทำสไลด์ด้วยน้ำยา Hoyer's solution ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3) จำแนกชนิดไรศัตรูพืชด้วยคู่มือการจำแนกชนิดไร และถ่ายรูปลักษณะทางสัณฐานวิทยา

4) บันทึกรายละเอียดของไรบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่าง

5) นำตัวไรศัตรูกัญชาเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ไร กรมวิชาการเกษตร

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. สุ่มเก็บตัวอย่างไรจากใบกัญชา ด้วยการเขี่ยตัวอย่างไรลงในขวดดองแอลกอฮอล์ 70% หรือโดยการเก็บใบ กิ่ง ผล หรือส่วนต่างๆ ของพืชที่แสดงอาการผิดปกติลงในกล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษพับปากถุง บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างไร เช่น ชื่อพืช ผู้เก็บ สถานที่ที่เก็บตัวอย่างไร บันทึกข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS)

2. การทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Steriomicroscope หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่างๆ ได้ชัดเจน ส่วนไรตัวผู้ให้จัดท่าทางในลักษณะตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ จากนั้นปิดสไลด์ด้วย coverglass นำสไลด์ขึ้นอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์พอร้อนเพื่อให้อวัยวะส่วนต่างๆ ยืดออก และเพื่อไล่ฟองอากาศ นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ coverglass ด้วยน้ำยาทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

3 นำตัวอย่างไรที่ทำสไลด์ถาวรแล้วมาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานภายใต้กล้อง compound microscope จำแนกชนิดจากตำราต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- สถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) วัน/เดือน/ปี ที่เก็บ ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

- รายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสี

- เขตการแพร่กระจาย

เวลาและสถานที่

- เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567

- พื้นที่ปลูกกัญชา กรุงเทพฯ นนทบุรี ชุมพร ตรัง สุราษฎร์ธานี ภูเก็ต กาญจนบุรี ราชบุรี อุทัยธานี ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ นครราชสีมา ขอนแก่น บุรีรัมย์ อุดรธานี ชลบุรี และจันทบุรี แปลงปลูกกัญชาในระบบปิด และระบบเปิด

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจไรศัตรูพืชในแปลงกัญชา รวมทั้งสิ้น 24 อำเภอ 1 จังหวัด ได้แก่จังหวัด กรุงเทพ นนทุบุรี ชุมพร ตรัง สุราษฎร์ธานี ภูเก็ต กาญจนบุรี ราชบุรี อุทัยธานี ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ นครราชสีมา ขอนแก่น บุรีรัมย์ อุดรธานี ชลบุรี และจันทบุรี พบไรศัตรูในแปลงกัญชาทั้งหมด 5 ชนิด 2 วงศ์ ศัตรูพืชทั้งหมด 4 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Tarosonemidae จำนวน 1 ชนิด คือ *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) ทำให้ยอดใบกัญชา มีขนาดเล็กลง ใบหงิกงอ วงศ์ Tetranychidae 4 ชนิด คือ *Eotetranychus suvipakiti* Ehara, *Tetranychus kanzawai* Ehara *Tetranychus truncatus* Ehara และ *Tetranychus phaselus* Ehara ซึ่งไรแดงทั้งสี่ชนิดเข้าทำลายบริเวณใต้ใบกัญชา ทำให้ใบกัญชามีสีซีด ต่อมาใบจะเหลือง และแห้ง หากเข้าทำลายรุนแรงจะทำให้ต้นกัญชาตายได้ ไรแดงทั้งสี่ชนิดสร้างเส้นใย และอาศัยอยู่ใต้ใบ ไร *Eo. Survipakiti* เป็นไรที่มีสีลำตัวออกเขียวเหลือง พบในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ส่วนอีก 3 ชนิด นั้นสร้างเส้นใยเช่นกันและอาศัยอยู่ใต้ใบกัญชา ชนิดที่มีความสำคัญคือ *T. truncatus* พบเข้าทำทำลายในเกือบทุกพื้นที่ ที่มีการสำรวจ สำหรับไร *T. kanzawai* พบเข้าทำลายในบางพื้นที่ อาการที่เข้าทำลาย หากรุนแรงจะทำให้ใบกัญชาไหม้ ใบเป็นรูโหว่สีน้ำตาล

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจไรศัตรูพืชในแปลงกัญชา รวมทั้งสิ้น 24 อำเภอ 18 จังหวัด ได้แก่จังหวัด กรุงเทพ นนบุรี ชุมพร ตรัง สุราษฎ์ธานี ภูเก็ต กาญจนบุรี ราชบุรี อุทัยธานี ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ นครราชสีมา ขอนแก่น บุรีรัมย์ อุดรธานี ชลบุรี และจันทบุรี พบไรศัตรูในแปลงกัญชาทั้งหมด 5 ชนิด 2 วงศ์ ศัตรูพืชทั้งหมด 4 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Tarosonemidae จำนวน 1 ชนิด คือ *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) ทำให้ยอดใบกัญชา มีขนาดเล็กลง ใบหงิกงอ วงศ์ Tetranychidae 4 ชนิด คือ *Eotetranychus suvipakiti* Ehara, *Tetranychus kanzawai* Ehara *Tetranychus truncatus* Ehara และ *Tetranychus phaselus* Ehara ซึ่งไรแดงทั้งสี่ชนิดเข้าทำลายบริเวณใต้ใบกัญชา ทำให้ใบกัญชามีสีซีด ต่อมาใบจะเหลือง และแห้ง ไรทั้งสองชนิดสร้างเส้นใย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. Carlos Holger Wenzel Flechtmann ประเทศบราซิล ที่ให้เอกสารวิชาการที่เป็นประโยชน์ในงานวิจัยและยืนยันชื่อวิทยาศาตร์ที่ถูกต้อง

เอกสารอ้างอิง

กรมการแพทย์. 2562. คำแนะนำการใช้กัญชาทางการแพทย์. กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. นนทบุรี. 23 หน้า.

ผกาทิพย์ รื่นระเริงศักดิ์. 2562. *กัญชากับการรักษาโรค (Therapeutic Potential of cannabis).* (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา: https://www.pharmacy.mahidol.ac.th/knowledge/files/0453.pdf. (30 สิงหาคม 2562).

Amrine, J.W., T.A.H. Stasny and C.H.W. Flechtmann. 2003. *Revised keys to word genera of eriophyoidea (Acari: Prostigmata).* Indira publishing house. Michigan. 244 p.

Boczek, J. and K. Maciejczyk. 1993. "Studies on Eriophyid Mites (Acari: Eriophyoidea). XIII." *Bulletin of the Polish Academy of Sciences/Biological Sciences.* 41 (4): 405-411

California Department of Pesticide Regulation. 2019. *Legal pest management practices for cannabis growers in California,* Version: October 9, 2017 (Online) https://www.cdpr.ca.gov/docs/county/cacltrs/penfltrs/penf2015/2015atch/attach1502.pdf. 4 September 2019.

Ehara, S. 1999. Revision of Spider mite family Tetranychidae of Japan (Acari, Prostigmata). *Species Diversity*. 4:63-141.

Górski, R., R. Sobieralski and M. Siwulski. 2016. The effect of hemp essential oil on mortality *Aulacorthum solani* Kalt. and *Tetranychus urticae* Koch. *Ecol chem eng s.* 23 (3): 505-511.

Mayer, M.K.P. (Smith). 1987. *The Tenuipalpidae (Acari) of Africa with keys to the world fauna.* Republic of South Africa by the Government Printer. 135p.

Petanovic, R., B. Magud and D. Smiljanic. 2007. Thehemp russet mie *Aculops cannabicola* (Farkas, 1960) (Acari: Eriophyoidea) found on *Cannabis sativa L*. in Serbia: supplement to the description. *Arch. Biol.SCi., Belgrade*. 59(1): 81-85.

Quarles, W. 2018. IPM for *Cannabis* Pests. IPM Practitioner, 36 :1-14 p. Supplement to the description. *Arch. Biol. Sci., Belgrade*. 59 (1): 81-85.

Wainwright-Evans, S. 2017. *Take Control of mites in Cannabis Crops.* Greenhous Grover Cannabis decisions. November. 12-15.

Xue, X.-F., H. Sadeghi, X.-Y. Hong and S. Sinaie. 2013. New Species and Records of Eriophyid Mites from Iran (Acari: Eriophyidae). *Systematic and Applied Acarology.* 18 (1): 41-52.

Table 1 Host plants and symptoms of *Cannabis sativa* L. mites in Thailand

Specific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
			Lat (N)	Long (E)
Family Tarsonemidae				
Polyphagotarsonemus latus (Banks)	Lat Yao Sub-District, District Chatuchak, Bangkok Province	Young leaf curve	13° 51.07	100° 34.31
	Nam Phut Sub-district, Mueang District, Trang Province		07°39.480'	99°39.554'
Family Tetranychidae				
Eotetranychus suvipakiti Ehara	Samoeng Tai Sub-district, Samoeng District, Chiang Mai Province	White patches on the lower leaf surface	18° 51.29	098° 45.38
Tetranychus kanzawai Kishida	Samoeng Tai Sub-district, Samoeng District, Chiang Mai Province	White patches on the lower leaf surface	18° 51.29	098° 45.38
	LatYao Sub-District, District Chatuchak, Bangkok Province		13° 51.07	100° 34.31
	Nam Phut Sub-district, Mueang District, Trang Province	White patches on the lower leaf surface	07°39.480'	99°39.554'

Table 1 Host plants and symptoms of *Cannabis sativa* L. mites in Thailand (Continued)

Specific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
			Lat (N)	Long (E)
Tetranychus kanzawai Kishida	Salui Sub-district, Tha Sae District, Chumphon Province		10° 82.46.8	99° 20.89.4
	Rom Sai Sub-district, Thalang District, Phuket Province		08° 0.56'	098° 23.33'
	Salui Sub-district, Tha Sae District, Chumphon Province		10°82.46.'	99°20.89.'
	Chaman Sub-district, Makham District, Chanthaburi Province		12°81.727'	102°23.190'
	Tha Uthae Sub-district, Kanchanadit District, Surat Thani Province		09°14.54'	99°63.64'
Tetranychus phaselus Ehara	Isan Sub-district, Mueang District, *Buriram* Province	White patches on the lower leaf surface	14° 57.47'	103° 4.38'
Tetranychus truncatus Ehara	Don Kwang Sub-district, Mueang District, Uthai Thani Province	White patches on the lower leaf surface	15°24.44.'	100°02.04.'

Table 1 Host plants and symptoms of *Cannabis sativa* L. mites in Thailand (Continued)

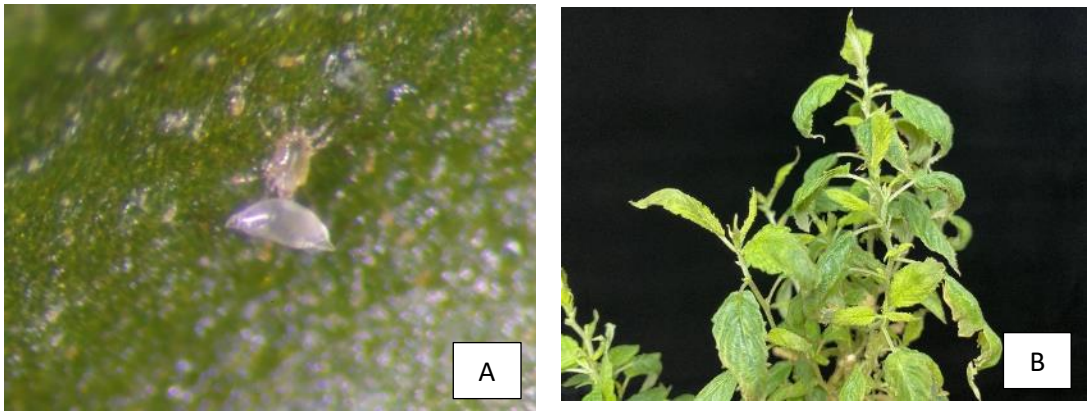
Specific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
			Lat (N)	Long (E)
Tetranychus truncatus Ehara	Wang Khanai Sub-district, Tha Muang District, Kanchanaburi Province		13°57.32.8'	099°39.06.9'
	Ban Hong Sub-district, Ban Hong District, Lamphun Province		18°19.353'	098°45.089'
	Kutsa Sub-district, Mueang District, Udon Thani Province		17°28.10.8'	102°47.34.6'
	Nonthaburi Province		-	-
	Sakae Krang Sub-district, Mueang District, Uthai Thani Province		15°24.43.'	100°02.05.'
	Samoeng Tai Sub-district, Samoeng District, Chiang Mai Province		18°51.29.80'	098°45.38.74'
	Klantha Sub-district, Mueang Buriram District, Buriram Province		15°02.49.'	103°04.26.'
	Ban Mai Sub-district, Pak Kret District, Nonthaburi Province	White patches on the lower leaf surface	-	-

Table 1 Host plants and symptoms of *Cannabis sativa* L. mites in Thailand (Continued)

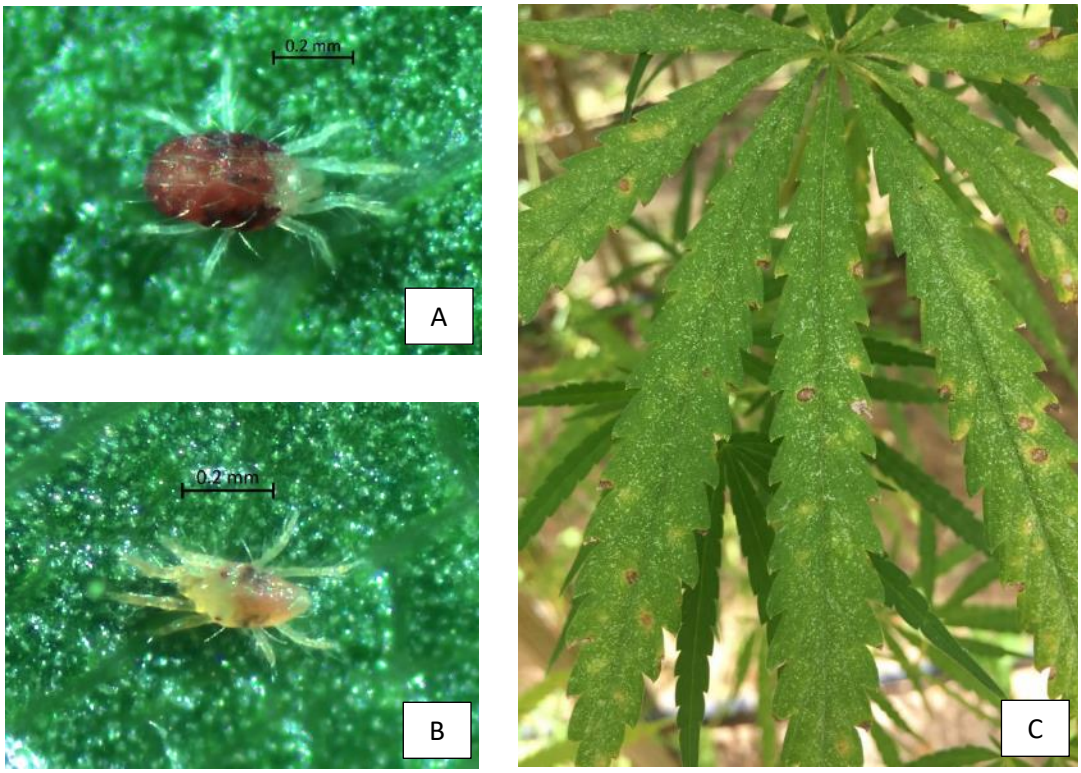
Specific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
			Lat (N)	Long (E)
Tetranychus truncatus Ehara	Khao Wongkot Sub-district, Kaeng Hang Maeo District, Chanthaburi Province		12°56.574'	101°49.404'
	Tha Bunmi Sub-district, Koh Chan District, Chonburi Province		13°23.583'	101°18.109'
	Muang District, Buriram Province		14°57.45.'	103°.04.39.'
	Tha Maphla Sub-district, Lang Suan District, Chumphon Province		09°54.381'	099°01.823'
	Thai Samakkhi Sub-district, Wang Nam Khiao District, Nakhon Ratchasima Province		14°21.343'	101°55.557'
	Non Kwang Sub-district, Ban Dan District, Buriram Province		15°10.699'	103°09.511'
	Ban Dan Sub-district, Ban Dan District, Buriram Province		15°05.504'	103°10.378'
	Thung Kraten Sub-district, Nong Ki District, Buriram Province		14°40.453'	102°33.274'

Table 1 Host plants and symptoms of *Cannabis sativa* L. mites in Thailand (Continued)

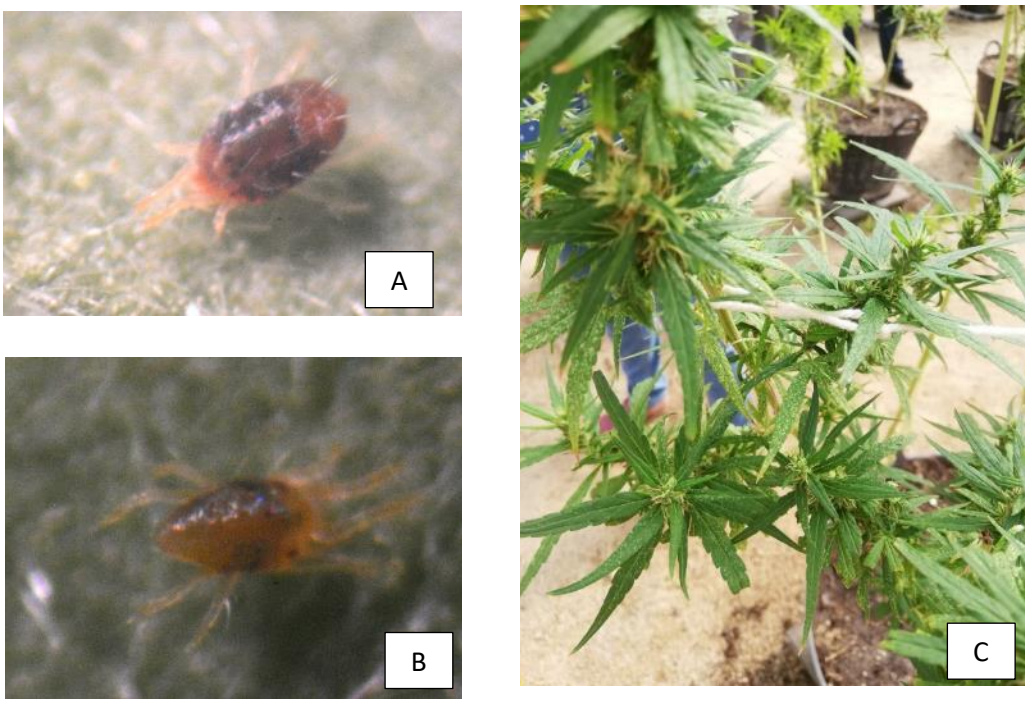
Specific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
			Lat (N)	Long (E)
Tetranychus truncatus Ehara	Pho Hak Sub-district, Bang Phae District, Ratchaburi Province	White patches on the lower leaf surface	13°38.814'	100°01.095'
	Chorakhe Phueak Sub-district, Dan Makham Tia District, Kanchanaburi Province		13°53.871'	099°20.572'
	Ban Hong Sub-district, Ban Hong District, Lamphun Province		18°19.353'	098°49.089'
	Mae Sook Sub-district, Jae Hom District, Lampang Province		18°48.158'	099°35.005'
	Tha Wang Tan Sub-district, Saraphi District, Chiang Mai Province		18°44.334'	099°00.094'
	Ban Ton Sub-district, Phra Yuen District, Khon Kaen Province		16°17.2488'	102°44.094'



ภาพที่ 1 A. ไรขาวพริก *Polyphagotarsonemus latus* (Banks)
B. ลักษณะอาการเข้าทำลาย



ภาพที่ 2 A. ไรแมงมุมคันซาวา *Tetranychus kanzawai* Kishida เพศเมีย
B. เพศผู้
C. อาการเข้าทำลาย



ภาพที่ 3 A. ไรแมงมุม *Tetranychus phaselus* Ehara เพศเมีย
B. เพศผู้ C. อาการเข้าทำลาย

ภาพที่ 4 A. ไรแดงหม่อน *Tetranychus truncatus* Ehara เพศเมีย
B. เพศผู้ C.อาการเข้าทำลาย

การศึกษาชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในกัญชา

Study of Insect Pests and Natural Enemies in Hemp

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

Progress report

Hemp (*Cannabis sativa* L.) is a new economic crop in Thailand, where it is increasingly cultivated for medical and industrial purposes. At present, Thai farmers lack experience with hemp production and the necessary scientific insights are missing to implement integrated pest management (IPM). In this study, we describe the prevailing insect pests in greenhouse-grown hemp crops in Thailand. Specimens were collected from hemp plantations across Thailand between October 2021 – August 2022, and were identified using morphological features. A total of 24 insect pests were identified. The important species are: *Scirtothrips dorsalis* Hood, *Caliothrips phaseoli* Hood, *Thrips palmi* Karny, *Phorodon cannabis* Passerini, *Aphis gossypii* Glover, *Ferrisia virgate* Cockerell and *Bemisia tabaci* (Gennadius) were the most common sap-sucking pests. Moreover, Soybean leafroller; *Archips micaceana* Walker, common cutworm; *Spodoptera litura* (Fabricius) and cotton bollworm; *Helicoverpa armigera* (Hübner) were chewing pests that is infrequent, has demonstrated greatest potential for crop injury, being particularly damaging to Leaves and flower buds. While the extent of pest-induced crop damage appears to be minimal, further in-depth study is needed. While the extent of pest-induced crop damage appears to be minimal, further in-depth study is needed. Our exploratory survey of the most common (crop-feeding and beneficial) insects associated with hemp in Thailand provides a basis for the future development and implementation of IPM strategies and biological control tactics in this crop.

Keywords : *Cannabis sativa* hemp insect pests biological control integrated pest management

---

รหัสการทดลอง FF65-01-01-65-06-02-65

บทคัดย่อ

กัญชา (*Cannabis sativa* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ของประเทศไทย การผลิตกัญชาเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์และอุตสาหกรรมมีพื้นที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ปัจจุบันเกษตรกรไทยยังขาดประสบการณ์และข้อมูลด้านวิทยาศาสตร์ที่จำเป็นสำหรับการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของแมลงศัตรูในกัญชา โดยเก็บตัวอย่างจากกัญชาที่ปลูกในโรงเรือนจากทั่วประเทศไทย ช่วงเดือนตุลาคม 2564 – กันยายน 2565 จำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ผลการศึกษาพบแมลงในกัญชา 24 ชนิด โดยชนิดที่มีความสำคัญได้แก่ เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* Hood เพลี้ยไฟถั่วลิสง *Caliothrips phaseoli* Hood เพลี้ยไฟฝ้าย *Thrips palmi* Karny เพลี้ยอ่อนกัญชา *Phorodon cannabis* Passerini เพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* Glover เพลี้ยแป้งลาย *Ferrisia virgate* Cockerell แมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) เป็นแมลงที่พบได้บ่อยที่สุดและสร้างความเสียหายโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช ในขณะที่หนอนม้วนใบถั่ว *Archips micaceana* Walker หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius) และหนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa armigera* (Hübner) เป็นแมลงที่พบไม่บ่อยครั้งแต่สร้างความเสียหายรุนแรงจากการกัดกินใบและช่อดอก สำหรับระดับความเสียหายจากแมลงแต่ละชนิดจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้อง โดยข้อมูลแมลงศัตรูกัญชาที่ได้จากงานศึกษาครั้งนี้ จะเป็นพื้นฐานสำคัญในการพัฒนาองค์ความรู้เพื่อการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานและการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีสำหรับพืชชนิดนี้ต่อไป

คำหลัก : *Cannabis sativa* กัญชา แมลงศัตรูพืช การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน

คำนำ

กัญชา (*Cannabis sativa* L.) เป็นไม้ล้มลุกที่มีถิ่นกำเนิดในพื้นที่ที่มีภูมิอากาศอบอุ่น เช่น เอเชีย, อเมริกาใต้ และตะวันออกกลาง มีการใช้ประโยชน์จากกัญชาหลากหลายรูปแบบ ทั้งเป็นอาหาร เป็นยารักษาโรค เป็นสิ่งเสพติด รวมถึงการนำเส้นใยจากกัญชามาใช้ประโยชน์ (Martin, 2562) ในช่วงศตวรรษที่ 19 มีการใช้กัญชาเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์อย่างแพร่หลายโดยเฉพาะในยุโรปและอเมริกา สารสำคัญในกัญชา 2 ชนิดที่พบมาก คือ Tetrahydrocannabinol (THC) เป็นสารออกฤทธิ์มึนเมา เป็นสารเสพติด มีผลต่อสมอง การควบคุมความคิด อารมณ์ และพฤติกรรมของผู้เสพ กระตุ้นจิตประสาท เกิดภาวะเคลิ้มสุข หรือบางรายอาจมีอาการกระวนกระวาย รับรู้ต่อสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนไป เช่น หูแว่ว เห็นภาพหลอน สารอีกตัวที่พบรองลงมาคือ Cannabidiol (CBD) ซึ่งมีฤทธิ์คลายเครียด มีผลต่อจิตประสาทน้อยกว่า ช่วยเจริญอาหาร ไม่เป็นสารเสพติด (สุรกิตติ และคณะ 2564) ช่วงปี ค.ศ.1970 เป็นต้นมามีงานวิจัยเกี่ยวกับนำสารสกัด THC และ CBD มาใช้ในรักษาโรค

มากขึ้น เช่น ใช้เป็นยาเพิ่มความอยากอาหาร หรือใช้เป็นยาลดการอาเจียน และโรคมะเร็ง เป็นต้น (Martin, 2562)

กัญชาเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ของประเทศไทย หลังการปลดล็อกออกจากรายชื่อยาเสพติดตามนโยบายของรัฐบาล เพื่อเปิดโอกาสให้ประชาชนสามารถใช้ประโยชน์จากกัญชา ได้อย่างเหมาะสม ทั้งปลูกใช้ในครัวเรือน ดูแลผู้ป่วย หรือเชิงพาณิชย์ ภายใต้ข้อกำหนด มีประชาชนจำนวนมากให้ความสนใจ ทำให้พื้นที่การปลูกกัญชาขยายตัวอย่างรวดเร็ว การปลูกกัญชาในประเทศไทยมีเป้าประสงค์หลักคือการนำผลผลิตกัญชาให้ได้สกัดสารสำคัญเพื่อนำไปใช้ในด้านการแพทย์ แต่ปัจจุบันเกษตรกรไทยยังขาดประสบการณ์และข้อมูลด้านวิทยาศาสตร์ที่จำเป็นสำหรับการจัดการศัตรูพืชที่ถูกต้อง กรมวิชาการเกษตรในฐานะที่เป็นองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization; NPPO) ของประเทศไทย มีความจำเป็นต้องค้นคว้า วิจัย สร้างองค์ความรู้ทางวิชาการให้ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน รวมถึงถ่ายทอดเทคโนโลยีด้านการผลิต ตลอดจนช่วยแก้ไขปัญหาทางด้านการเกษตรให้แก่เกษตรกร ซึ่งรวมถึงดำเนินการวิจัยและพัฒนาองค์ความรู้ด้านการผลิตกัญชา โดยเฉพาะข้อมูลชนิดศัตรูพืชในกัญชาซึ่งส่งผลโดยตรงต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตกัญชาที่เกษตรกรสามารถผลิตได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างองค์ความรู้เรื่องชนิดศัตรูพืชในกัญชาสำหรับการผลิตกัญชาให้ได้ผลผลิตที่มีคุณลักษณะที่ดีตามความต้องการ เตรียมความพร้อมในการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสม เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์และอุตสาหกรรม เป็นการดำเนินการเพื่อเตรียมการรองรับนโยบายของรัฐบาลการส่งเสริมพัฒนาพืชกัญชา ที่จะเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ของประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

วิธีการ

การเก็บตัวอย่างแมลงศัตรูในกัญชา

เก็บตัวอย่างแมลงศัตรูในกัญชาจากพื้นที่ปลูกแบบโรงเรือน จากแปลงเกษตรกรและวิสาหกิจชุมชนที่ได้รับอนุญาตปลูกกัญชาในประเทศไทย จำนวน 25 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร สิงห์บุรี อุทัยธานี ชัยนาท นครสวรรค์ กาญจนบุรี ราชบุรี ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ ชลบุรี ระยอง บุรีรัมย์ นครราชสีมา ชัยภูมิ ขอนแก่น มหาสารคาม กาฬสินธุ์ ศรีสะเกษ ร้อยเอ็ด สกลนคร ชุมพร สตูล พัทลุง และตรัง ระหว่างเดือน ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565 โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection surver) ตรวจสอบศัตรูพืชทุกชนิดที่พบ ทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (ISPM No.6) (FAO., 2006)

<u>การตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงตรูในกัญชา</u>

ตรวจดูรูปร่างลักษณะภายนอกใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และบันทึกข้อมูล และจัดรูปร่างแมลงศัตรูพืชตามกรรมวิธีของศิริณี (2548) และจำแนกชนิดตามแนวทางการ

วินิจฉัยของ Martin (1987) ศิริณี (2544) ชมัยพร (2560) Whitney (2019) Cranshaw *et al*. (2018) McPartland *et al*. (2000) และ ตัวอย่างที่ศึกษา (voucher specimens) จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1) พิกัดภูมิศาสตร์ สถานที่ วัน/เดือน/ปี ที่เก็บตัวอย่าง

2) ชนิดแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ : พื้นที่ปลูกแบบโรงเรือน จากแปลงเกษตรกรและวิสาหกิจชุมชนที่ได้รับอนุญาตปลูกกัญชาในประเทศไทย และห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการสำรวจแมลงศัตรูกัญชาในพื้นที่ปลูกแบบโรงเรือน จากแปลงเกษตรกรและวิสาหกิจชุมชนที่ได้รับอนุญาตปลูกกัญชาในประเทศไทย จำนวน 25 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร สิงห์บุรี อุทัยธานี ชัยนาท นครสวรรค์ กาญจนบุรี ราชบุรี ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ ชลบุรี ระยอง บุรีรัมย์ นครราชสีมา ชัยภูมิ ขอนแก่น มหาสารคาม กาฬสินธุ์ ศรีสะเกษ ร้อยเอ็ด สกลนคร ชุมพร สตูล พัทลุง และตรัง) พบแมลงศัตรูกัญชา จำนวน 24 ชนิด แบ่งตามลักษณะการทำลาย เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ แมลงทำลายพืชโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงและแมลงทำลายพืชโดยการกัดกิน

แมลงทำลายพืชโดยการดูดกินน้ำเลี้ยง พบจำนวน 15 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* Hood เพลี้ยไฟถั่วลิสง *Caliothrips phaseoli* Hood เพลี้ยไฟฝ้าย *Thrips palmi* Karny เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก *Microcephalothrips abdominalis* (Crawford) เพลี้ยอ่อนกัญชา *Phorodon cannabis* Passerini เพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* Glover เพลี้ยอ่อนถั่วสีดำ *Aphis fabae* Scopoli เพลี้ยแป้งลาย *Ferrisia virgate* Cockerell แมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) แมลงหวี่ขาวใยเกลียว *Aleurodicus disperses* Russell เพลี้ยหอยหลังเต่า *Drepanococcus* sp. มวนถั่วเขียว *Piezodorus hybneri* (Gmelin) มวนดำถั่ว *Brachyplatys subaeneus* (Westwood) เพลี้ยกระโดดปีกขาว *Lawana conspersa* (Walker) และเพลี้ยจักจั่นแดง *Bothrogonia indistincta* (Walker)

เพลี้ยไฟเป็นศัตรูสำคัญของกัญชาในระยะต้นกล้า หากเพลี้ยไฟเข้าทำลายจะทำให้ต้นชะงักการเจริญเติบโตหรืออาจทำให้ต้นตายได้ จากการสำรวจครั้งนี้พบเพลี้ยไฟ 4 ชนิด ซึ่งมี 3 ชนิดที่จัดเป็นศัตรูสำคัญ ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก *S. dorsalis* เพลี้ยไฟถั่วลิสง *C. phaseoli* และเพลี้ยไฟฝ้าย *T. palmi* ในขณะที่ Whitney *et al*., 2019 ที่รายงานว่า เพลี้ยไฟหอม *T. tabaci* เป็นศัตรูที่สำคัญของกัญชาที่ปลูกในโรงเรือน และเพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก *Frankliniella occidentalis* ที่แม้ว่าจะเป็นศัตรูสำคัญในไม้ดอก แต่ก็เข้าทำลายกัญชาได้เช่นกัน ทำนองเดียวกับการสำรวจครั้งนี้พบเพลี้ยไฟ

ขอบปล้องหยัก *M. abdominalis* ซึ่งเป็นศัตรูสำคัญในไม้ดอก (ศิริณี, 2544) โดยรอยทำลายของเพลี้ยไฟในกัญชามักมีลักษณะเป็นขีดสีขาวเล็ก ๆ บนใบ ต่างจากรอยทำลายที่เกิดจากไรแดงซึ่งมีลักษณะเป็นจุดเล็กๆ นอกจากนี้ใบกัญชาที่ถูกเพลี้ยไฟทำลายจะมีของเหลวสีดำซึ่งเป็นมูลหวานที่เพลี้ยไปขับถ่ายออกมา ซึ่งเป็นอาหารของราดำ หากมีปริมาณมากใบพืชไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ ทำให้ใบเหลืองและร่วงหล่นในเวลาต่อมา

เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงศัตรูสำคัญของกัญชาเช่นกัน พบมากในระยะต้นกล้าและระยะการเจริญกิ่งทางใบ โดยเพลี้ยอ่อนกัญชา *P. cannabis* เป็นชนิดที่สำรวจพบบ่อยที่สุด สอดคล้องกับการรายงานของ Cranshaw *et al*., (2018) ส่วนเพลี้ยอ่อนฝ้าย *A. gossypii* พบได้มากกว่าเพลี้ยอ่อนถั่วสีดำ *A. fabae* เช่นเดียวกับการรายงานของ McPartland *et al*., (2000) ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของเพลี้ยอ่อนดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนยอดและใบของพืช ทำให้ใบหงิกงอ ร่วงหล่น ลำต้นแคระแกรน นอกจากนี้เพลี้ยอ่อนยังขับถ่ายของเสียที่มีส่วนสมของน้ำหวานที่เหลือใช้หรือเรียกว่า honeydew ซึ่งเป็นอาหารของมดและราดำ ทำให้พื้นที่สังเคราะห์แสงลดลง คุณภาพผลผลิตกัญชาที่ได้จึงไม่ตรงตามความต้องการตลาด เพลี้ยแป้งลาย *F. virgate* เป็นอีกชนิดที่พบได้บ่อย เพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงจากบริเวณส่วนอ่อนของในกัญชา เช่น ใบ ยอด พบมากในระยะสร้างตาดอกและสร้างไตรโคม ซึ่งเป็นระยะที่สร้างความเสียหายให้เกษตรกรเป็นอย่างมาก เนื่องจากเกษตรกรงดการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิต มูลหวานซึ่งเป็นของเหลวที่เพลี้ยแป้งขับถ่ายออกมาทำให้เกิดราดำปกคลุมช่อดอก ส่งผลให้คุณภาพผลผลิตลดลงไม่ได้มาตรฐานต่อการนำไปใช้ประโยชน์

แมลงหวี่ขาวยาสูบ *B. tabaci* เป็นแมลงที่พบได้บ่อยทั้งระยะต้นกล้าและระยะการเจริญทางใบ สอดคล้องกับ WC, (2018) รายงานว่าแมลงหวี่ขาวยาสูบ เป็นศัตรูสำคัญของการปลูกกัญชาในโรงเรือง ส่วนแมลงหวี่ขาวใยเกลียว *A. disperses* พบไม่บ่อย แต่หากมีการระบาดสามารถสร้างความเสียหายได้เช่นกัน เนื่องจากแมลหวี่ขาวชนิดนี้ตัวเต็มวัยมักอาศัยรวมเป็นกลุ่มและตัวอ่อนสร้างเส้นใยสีขาวปกคลุมใบพืชจนไม่เหลือพื้นที่สังเคราะห์แสงได้ เพลี้ยหอยหลังเต่า *Drepanococcus* sp. พบทำลายบริเวณลำต้น หรือกิ่ง หากมีปริมาณมากทำให้ต้นแห้งเหี่ยว สำหรับมวนถั่วเขียว *P. hybneri* มวนดำถั่ว *B. subaeneus* เพลี้ยกระโดดปีกขาว *L.conspersa* และเพลี้ยจักจั่นแดง *B. indistincta* เป็นแมลงที่มีขนาดค่อนใหญ่ไม่สามารถผ่านช่องตาข่ายกันแมลงสำหรับการปลูกกัญชาแบบโรงเรือนได้ การสำรวจพบแมลงขนาดใหญ่ในโรงเรือนจึงอาจเกิดจากการปัจจัยอย่างอื่น เช่น โดรงเรือนชำรุด หรือการขาดความระมัดระวังในการเข้าออกโดรงเรือน ทำให้แมลงกลุ่มนี้สามารถเล็ดลอดเข้าไปได้

แมลงทำลายพืชโดยการกัดกิน พบจำนวน 8 ชนิด ได้แก่ หนอนม้วนใบถั่ว *Archips micaceana* Walker หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius) หนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa armigera* (Hübner) หนอนบุ้งดำ *Toxoproctis flavolimbata* Aurivillius หนอนบุ้งเหลือง *Orgia postica* (Walker) หนอนปลอกเล็ก *Acanthopsyche* sp. หนอนปลอกใหญ่ *Eumeta* sp. แมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* และแมลงวันหนอนชอนใบ *Liriomyza* sp.

จากการสำรวจพบว่าหนอนม้วนใบถั่ว *A. micaceana* เป็นหนึ่งในศัตรูสำคัญที่พบระบาดในแปลงปลูกกัญชาแบบโรงเรือน หนอนเคลื่อนที่รวดเร็วและอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม กัดกินผิวใบและชักใยบางๆปกคลุมตัวไว้ เมื่อหนอนโตขึ้นจะแยกกันและชักใยดึงใบมาห่อหุ้มตัวแล้วอาศัยกินใบอยู่ในการระบาดของหนอนชนิดนี้ทำให้พืชชะงักการเจริญเติบโต ผลผลิตลดลง หรือหากระบาดมากอาจทำให้กัญชายืนต้นตายในที่สุด หนอนกระทู้ผัก *S. litura* นอกจากเป็นสัตรูสำคัญในกัญชาแล้ว ยังเป็นศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจของพืชหลายชนิดในประเทศไทย มีพืชอาหารหลากหลาย หนอนเจาะสมอฝ้าย *H. armigera* พบเข้าทำลายระยะสร้างตาดอกและระยะสร้างไตรโคมจึงสร้างความเสียหายได้ ทำนองเดียวกับ Whitney *et al*., (2019) รายงานว่า *H. zea* ทำลายช่อดอกและสร้างความเสียหายได้ถึง 30 % หนอนบุ้งดำ *T. flavolimbata* หนอนบุ้งเหลือง *O. postica* หนอนปลอกเล็ก *Acanthopsyche* sp. และหนอนปลอกใหญ่ *Eumeta* sp. พบไม่มากแต่อาจสร้างความเสียหายได้มากหากปล่อยให้มีการระบาดมาก นอกจากนี้ยังมีหนอนเจาะลำต้นเป็นอีกกลุ่มที่ต้องเฝ้าระวัง เนื่องจากทำความเสียหายต่อลำต้นทำให้ช่อดอกไม่สามารถพัฒนาได้ ในรัสเซียหนอนเจาะลำต้นได้ทำลายช่อดอกของพืชถึง 80% (Kryachko *et al*., 1965) การระบาดของหนอนเจาะลำต้นสกุล *Cossus* และ *Zeuzera* ยังสามารถช่อดอกและเมล็ดกัญชาได้ด้วย (Bes, 1974; Smith and Haney 1973)

แมลงค่อมทอง *H. squamosus* จากการสำรวจพบเพียงครั้งเดียว ทำลายพืชโดยการกัดกินใบ Angelova (1968) รายงานว่าหนอนของด้วงเต่าแตงและด้วงหมัดผัก *Psylliodes attenuata* เป็นศัตรูสำคัญกัดกินรากกัญชา เช่นเดียวกับ Willsie *et al.* (1942) พบตัวอ่อนของด้วงในวงศ์ Scarabaeidae และตัวอ่อนด้วงหนวดยาววงศ์ Cerambycidae กัดกินรากกัญชา นอกจากนี้มีแมลงปากกัดอีกหลายชนิดที่หากมีปริมาณมากอาจมีศักยภาพในการทำลายพืชได้ เช่น ตั๊กแตนหนวดสั้น ตั๊กแตนหนวดยาว จิ้งหรีด ซึ่งพบได้มากในแปลงปลูกกัญชาระบบเปิดและมีวัชพืชรอบแปลงมาก (McPartland *et al*., 2000) สำหรับแมลงวันหนอนชอนใบพบทำความเสียหายในกัญชา ระยะการเจริญเติบโตทางใบ สอดคล้องกับ McPartland *et al*., 2000 รายงานว่าการทำลายของแมลงวันหนอนชอนไม่ทำให้เกิดความเสียหายมากนัก สังเกตุได้ค่อนข้างง่ายจากรอยทำลายที่เกิดขึ้นบนใบ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

แมลงศัตรูกัญชาในพื้นที่ปลูกแบบโรงเรือน จากแปลงเกษตรกรและวิสาหกิจชุมชนที่ได้รับอนุญาตปลูกกัญชาในประเทศไทย จำนวน 25 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร สิงห์บุรี อุทัยธานี ชัยนาท นครสวรรค์ กาญจนบุรี ราชบุรี ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ ชลบุรี ระยอง บุรีรัมย์ นครราชสีมา ชัยภูมิ ขอนแก่น มหาสารคาม กาฬสินธุ์ ศรีสะเกษ ร้อยเอ็ด สกลนคร ชุมพร สตูล พัทลุง และตรัง) จำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ผลการศึกษาพบแมลงในกัญชา 24 ชนิด แบ่งตามลักษณะการทำลาย เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ แมลงทำลายพืชโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงและแมลงทำลายพืชโดยการกัดกิน

แมลงทำลายพืชโดยการดูดกินน้ำเลี้ยง พบจำนวน 15 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก *S. dorsalis* เพลี้ยไฟถั่วลิสง *C. phaseoli* เพลี้ยไฟฝ้าย *T. palmi* เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก *M. abdominalis* เพลี้ยอ่อนกัญชา *P.cannabis* เพลี้ยอ่อนฝ้าย *A. gossypii* เพลี้ยอ่อนถั่วสีดำ *A. fabae* เพลี้ยแป้งลาย *F. virgate* แมลงหวี่ขาวยาสูบ *B.tabaci* แมลงหวี่ขาวใยเกลียว *A. disperses* เพลี้ยหอยหลังเต่า *Drepanococcus* sp. มวนถั่วเขียว *P. hybneri* มวนดำถั่ว *B. subaeneus* เพลี้ยกระโดดปีกขาว *L. conspersa* เพลี้ยจักจั่นแดง *B. indistincta* และแมลงทำลายพืชโดยการกัดกิน พบจำนวน 8 ชนิด ได้แก่ หนอนม้วนใบถั่ว *A. micaceana* หนอนกระทู้ผัก *S. litura* หนอนเจาะสมอฝ้าย *H. armigera* หนอนบุ้งดำ *T. flavolimbata* หนอนบุ้งเหลือง *O. postica* หนอนปลอกเล็ก *Acanthopsyche* sp. หนอนปลอกใหญ่ *Eumeta* sp. แมลงค่อมทอง *H. squamosus* และแมลงวันหนอนชอนใบ *Liriomyza* sp.

โดยชนิดที่มีความสำคัญ ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก *S. dorsalis* เพลี้ยไฟถั่วลิสง *C. phaseoli* เพลี้ยไฟฝ้าย *T.palmi* เพลี้ยอ่อนกัญชา *P. cannabis* เพลี้ยอ่อนฝ้าย *A. gossypii* เพลี้ยแป้งลาย *F.virgate* แมลงหวี่ขาวยาสูบ *B. tabaci* (เป็นแมลงที่พบได้บ่อยที่สุดและสร้างความเสียหายโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช ในขณะที่หนอนม้วนใบถั่ว *A. micaceana* หนอนกระทู้ผัก *S. litura* และหนอนเจาะสมอฝ้าย *H. armigera* เป็นแมลงที่พบไม่บ่อยครั้งแต่สร้างความเสียหายรุนแรงจากการกัดกินใบและช่อดอก สำหรับระดับความเสียหายจากแมลงแต่ละชนิดจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้อง

การศึกษาครั้งนี้เป็นส่วนของการศึกษาชนิดแมลงศัตรูกัญชาซึ่งสำรวจเฉพาะการปลูกกัญชาในโรงเรือน ซึ่งอาจทำให้ข้อมูลแมลงศัตรูในกัญชาในประเทศไทยยังไม่สมบูรณ์ จึงจำเป็นต้องเก็บข้อมูลเพิ่มจากจากแปลงปลูกในพื้นที่เปิด เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น โดยข้อมูลแมลงศัตรูกัญชาที่ได้จากงานศึกษาครั้งนี้ จะเป็นพื้นฐานสำคัญในการพัฒนาองค์ความรู้เพื่อการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานและการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีสำหรับพืชชนิดนี้ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ผอ. สอพ. ผู้เชี่ยวชาญด้านศัตรูพืช ตลอดจนคณะกรรมการฝ่ายวิชาการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้ความกรุณาชี้แนะและให้คำปรึกษาจนงานวิจัยนี้สำเร็จลงด้วยดี และขอบคุณทีมงานกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในทุกด้านตลอดการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

ชมัยพร บัวมาศ. 2560. การเก็บตัวอย่างและการจำแนกเพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย. *ใน* เอกสารประกอบการอบรม หลักสูตร การเก็บและจำแนกตัวอย่างแมลงจำพวกปากดูด ศัตรูสำคัญของพืชนำเข้าและส่งออก ครั้งที่ 7. 24-26 มกราคม 2560 ณ ห้องประชุมอารียันต์ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 27-73

ศิริณี พูนไชยศรี, ชลิดา อุณหวุฒิ, พรรณเพ็ญ ชโยภาส, รัตนา นชะพงษ์, ลักขณา บำรุงศรี, สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี, ยุวรินทร์ บญทบ และ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม. 2548. แมลงการจำแนกและการเก็บตัวอย่าง. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ Terebrantia. โรงพิมพ์คุรุสภาพลาดพร้าว. กรุงเทพมหานคร. 75 หน้า

สุรกิตติ ศรีกุล, สมคิด ดำน้อย, สญชัย ขวัญเกื้อและ ทรงเมท สังข์น้อย. 2564. คู่มือสำหรับเกษตรกรการผลิตพืชสกุลกัญชา (*Canabis satava* L.) เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์และอุตสาหกรรม. กรมวิชาการเกษตร. 167 หน้า

Angelova R., 1 9 6 8 . Characteristics of the bionomics of the hemp flea beetle, *Psylliodes attenuatus* Koch. Rastenievudni Nauki 5(8): 105-114.

Bes A., 1974. Contribution to the investigation of the distribution and importance of the hemp leaf roller, *Grapholitha sinana* Feld. (delineana Walk.) in Yugoslavia. Zastita Bilja 25 (128/129): 215-219.

Cranshaw, W. S., S. E. Halbert, C. Favret, K. E. Britt, and G. L. Miller. 2018. Phorodon cannabis Passerini (Hemiptera: Aphididae), a newly recognized pest in North America found on industrial hemp. Insecta Mundi 0657-0662: 1–12.

Cranshaw, W., Halbert, S., Farret, C., Britt, K., and Miller, G. 2018. *Phorodon cannabis* Passerini (Hemiptera: Aphididae), a newly recognized pest in North America found on industrial hemp. Insecta Mundi. 0662: 1-12.

FAO. 2006. Guidelines for surveillance. 1997. The International Plant Protection Convention (IPPC). International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM No. 6.

Kryachko Z., M. Ignatenko, A. Markin and V. Zaets., 1965. Notes on the hemp tortrix. Zashchita Rasteniĭ Vredit. Bolez. 5:51-54.

Martin Woodbridge. 2562. ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับกัญชาทางการแพทย์ https://mdresearch.kku.ac.th/files/cannabis/MedicainalCannabisBook_v4.pdf

Martin, J. H. 1987. An Identification Guide to Common Whitefly Pest Species of the World (Homoptera: Aleyrodidae). Trop. Pest Manag. 33(4): 298-322.

McPartland, J. M., R. C. Clarke, and D. P. Watson. 2000. Chapter 4. Insects and mites. In J. M. McPartland, R. C. Clarke, and D. P. Watson (eds.), Hemp diseases and pests: management and biological control – an advanced treatise. CABI Publishing, Oxfordshire, UK. pp. 251.

Smith G.E. and A. Haney, 1973. *Grapholitha tristrigana* (Lepidoptera:Torttricidae) on naturalized hemp (Cannabis sativa L.) in east-central Illinois. Trans. Ill. Stat. Acad. Sci. 66:38-41.

Washington State Department of Agriculture. 2018. Criteria for pesticides used for the production of marijuana in Washington. (https://agr. wa.gov/FP/Pubs/docs/398 WSDACriteriaForPesticideUseOnMarijuana. pdf)

Whitney, C., Schreiner, M., Britt, K., Kuhar eThomas P., McPartland, J. and G., Jerome. 2019. Developing Insect Pest Management Systems for Hemp in the United States: A Work in Progress, Journal of Integrated Pest Management, 10(1): 26; 1–10

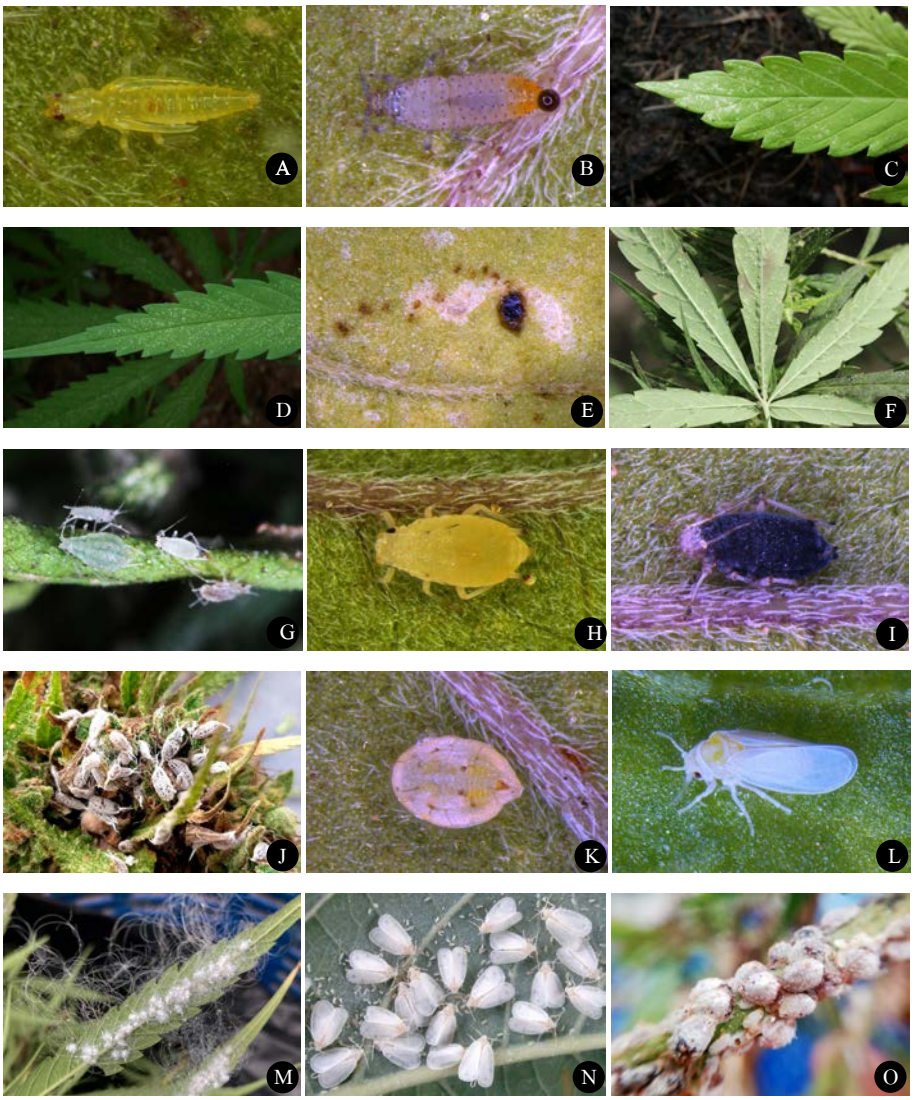


Figure 1 Insect pests on Hemp **A)** *Scirtothrips dorsalis* **B)** *Caliothrips phaseoli* **C)** Signs and symptoms of thrips **D)** Signs and symptoms of mite **E)** honeydew from thrips **F,G)** *Phorodon cannabis* **H)** *Aphis gossypii* **I)** *Aphis fabae* **J)** *Ferrisia virgate* **K)** larva of *Bemisia tabaci* , **L)** adult of *Bemisia tabaci* **M)** larvae of *Aleurodicus disperses* **N)** adult of *Aleurodicus disperses* **O)** *Drepanococcus* sp.

Figure 2 Insect pests on Hemp **A)** *Piezodorus hybneri* **B)** *Brachyplatys subaeneus* **C)** *Lawana conspersa* **D)** *Bothrogonia indistincta* **E, F)** *Archips micaceana* (E=larva, F=adult) **G, H)** *Spodoptera litura* (G=larva, H=adult) **I)** *Helicoverpa armigera* **J)** *Toxoproctis flavolimbata Orgia postica* **L)** *Acanthopsyche* sp.M) *Eumeta* sp. **N)** *Hypomeces squamosus* **O)** *Liriomyza* sp.

การศึกษาคัดเลือกชนิดของตั๊กแตนกินได้ (Orthoptera) จากความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อพัฒนาเป็นแหล่งโปรตีนใหม่สร้างมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจ

The species delimitation on the biological diversity of eatable grasshoppers (Orthoptera) for new protein source development destine to economical value added

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

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาคัดเลือกชนิดของตั๊กแตนกินได้ (Orthoptera) จากความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อพัฒนาเป็นแหล่งโปรตีนใหม่สร้างมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจ ดำเนินการเก็บรวบรวมตั๊กแตนและแมลงกินได้ที่มีศักยภาพในการจำหน่ายในท้องตลาด เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ วินิจฉัยชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะโครงสร้างทางชีวโมเลกุล โดยกระบวนการ ดี เอ็น เอ บาร์โค้ด ในตัวอย่างที่มีลักษณะโครงสร้างภายนอกที่ซับซ้อนไม่สามารถจำแนกด้วยสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวได้ ผลการทดลองได้ตัวอย่างตั๊กแตนจำนวน 13 ตัวอย่างพันธุ์เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและเก็บเป็นตัวอย่างอ้างอิงในพิพิธภัณฑ์แมลงได้แก่ 1) *Patanga succincta* 2) *Locusta migratoria* 3) *Aiolopus thalassinus* 4) *Gastrimargus marmoratus* 5) *Oxya* sp. 6) *Ceracris fascita* 7) *Pseudoxy diminuta* 8) *Spathosternum prasiniferum* 9) *Epistaurus aberrans* 10) *Atractomorpha* sp.11) *Apalacris varicornis* 12) *Acrida* sp.13) *Phlaeoba* sp.นำตัวอย่างดังกล่าว วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการประกอบด้วย เถ้า (Ash) กากใย (Curde fiber) ไขมันรวม (Total fat) น้ำ (Moisture) โปรตีน (Protein) คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) และ พลังงานรวม (total energy) และวิเคราะห์โดยละเอียดในตัวอย่างพันธุ์ที่มีโปรตีนสูง ได้ผลการทดลองในตั๊กแตนและแมลงกินได้ 5 ชนิด ขณะนี้กำลังเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ชนิดที่เหลือและวินิจฉัยและวิเคราะห์ชนิดแมลงกินได้เพิ่มเติม ซึ่งผลลัพธ์ของโครงการที่ได้คือตัวอย่างที่มีศักยภาพในการผลิตขยายในระดับอุตสาหกรรม

คำหลัก : ตั๊กแตนกินได้ ตั๊กแตนหนวดสั้น ตั๊กแตนปาทังกา คุณค่าทางโภชนาการตั๊กแตน ความหลากหลายทางชีวภาพตั๊กแตนกินได้

รหัสการทดลอง FF65-02-05-65-00-01-65

คำนำ

แมลงเป็นสัตว์ที่มีมากที่สุดในโลก มีทั้งกลุ่มที่มีประโยชน์และกลุ่มที่เป็นโทษ อย่างไรก็ตามแมลงยังเป็นอาหารของมนุษย์ที่สืบทอดกันมาตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบัน พบว่า มีแมลงมากกว่า 500 ชนิด ที่เป็นอาหารมนุษย์ ซึ่งนิยมรับประทานในแถบทวีปเอเชีย ออสเตรเลีย แอฟริกา อเมริกา และยุโรป สำหรับประเทศไทยเป็นอีกประเทศหนึ่งที่นิยมรับประทานแมลงกันอย่างแพร่หลายในทั่วทุกภูมิภาค (Sihamala *et al.,* 2010) องค์การสหประชาชาติได้ระบุว่า โลกกำลังเผชิญกับปัญหาความมั่นคงด้านอาหาร โดยในปี 2050 ความต้องการอาหารของโลกจะมากกว่าปัจจุบันถึง 2 เท่าแต่พื้นที่เพาะปลูกไม่เพียงพอ ทางเลือกการพัฒนาอาหารจากแมลงถือเป็นทางออกตอบสนองความต้องการและสามารถขยายตลาดเกษตรของประเทศ แนวโน้มความต้องการบริโภคแมลงเพิ่มมากขึ้น โดยธุรกิจแมลงทั่วโลกมีมูลค่าเพิ่มขึ้นถึง 20,000 ล้านบาท (ศูนย์วิจัยธนาคารกรุงเทพ,2563) โดยตลาดเอเชียมีสัดส่วนถึงร้อยละ 30 – 40 ของตลาดโลก ใน 5 ปีที่ผ่านมาอุตสาหกรรมแมลงเติบโตขึ้นอย่างน้อยร้อยละ 20 ในแต่ละปี โดยประเทศไทยถือเป็นตลาดหลักที่มีการส่งออกแมลงไปขายยังต่างประเทศ มีกำลังการผลิตโดยเฉพาะจิ้งหรีดกว่า 7,000 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่า 1,000 ล้านบาท ปัจจุบันมีการทำธุรกิจแมลงส่งออกไปทั่วโลกผ่านระบบออนไลน์ทั้งแบบปลีกและส่งและโรงงานได้มาตรฐานอุตสาหกรรมเพิ่มขึ้นโดยส่วนใหญ่จะเป็นการแปรรูปอย่างง่ายเช่นแมลงอบแห้งและแมลงทอด คุณค่าทางโภชนาการจากแมลงประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน เกลือแร่ วิตามิน โดยกลุ่มที่นิยมนำมาแปรรูปแบ่งเป็นแมลงในกลุ่มด้วง (Coleoptera) ร้อยละ 31 แมลงในกลุ่มผีเสื้อ (Lepidoptera) ร้อยละ 18 และแมลงในกลุ่ม ผึ้ง ต่อแตน (Hymenoptera) ร้อยละ 14 และในกลุ่มแมลงกระชอน จิ้งหรีด ตั๊กแตน (Orthoptera) ร้อยละ 13 (Jongema, 2015) อย่างไรก็ตามกลุ่มแมลงที่สามารถผลิตชีวมวลได้สูงสุดและธาตุอาหารมากที่สุดคือกลุ่ม Orthoptera ในประเทศไทยมีธุรกิจการเลี้ยงและส่งออกผลิตภัณฑ์จากจิ้งหรีดกันอย่างกว้างขวาง ถึงแม้จิ้งหรีดผลิตได้รวดเร็วปริมาณมากและมีวงจรชีวิตสั้นแต่ยังมีข้อจำกัดหลายประการ ได้แก่ การจัดการในโรงเรือนทำได้ยาก คือเมื่อพบจิ้งหรีดที่เป็นโรคจะติดต่อได้ง่ายทำความเสียหายทั้งโรงเรือน มีปริมาณไขมันที่ค่อนข้างสูง อาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นอาหารสำเร็จรูปที่ส่งผลเสียต่อสภาพแวดล้อม อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาวิจัย กระบวนการเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากตั๊กแตนอย่างกว้างขวางในประเทศไทย ทั้งที่คุณค่าทางโภชนาการ โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนสูงกว่าจิ้งหรีด จากการวิเคราะห์สารอาหารทั้งหมดของตั๊กแตนพบว่ามีโปรตีนเป็นส่วนประกอบระหว่างร้อยละ 57 – 77 ไขมันเพียงร้อยละ 4 – 22 และยังพบใยอาหาร (Crude fiber) กว่าร้อยละ 7 – 12 โดยผลจากการรายงานในประเทศแมกซิโก อินเดียและไทยมีความเห็นตรงกันถึงศักยภาพในการนำตั๊กแตนมาพัฒนาเป็นโปรตีน โครงการนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อสร้างมูลค่า เป็นการศึกษาถึงชนิด เทคโนโลยีการเลี้ยงผลิตขยายจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (zero waste) พัฒนาการสกัดโปรตีนตั๊กแตนและผลิตภัณฑ์ต้นแบบและส่งเสริมต่อยอดองค์

ความรู้สู่เกษตรกรและผู้ประกอบการ รวมถึงเป็นการตั้งต้นงานวิจัยด้านโปรตีนจากตั๊กแตนกินได้ในประเทศไทย ซึ่งผลสำเร็จของโครงการจะส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคม ได้แก่ เกิดการลงทุนใหม่ เกิดการจ้างงานเพิ่ม นำไปสู่การพัฒนารูปแบบธุรกิจใหม่ สร้างรายได้ที่มั่นคงทำให้มีการพัฒนา นวัตกรรมการแปรรูปแหล่งโปรตีนใหม่จากแมลง เป็นการปฏิบัติงานเชิงรุกสู่ตลาดเป้าหมาย ก่อให้เกิดข้อได้เปรียบในการแข่งขันและสร้างความเข้มแข็งในการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพ

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อสำรวจและคัดเลือกชนิดของตั๊กแตนเพื่อการบริโภค (Orthoptera) เพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนในการพัฒนาแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่า

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างตั๊กแตนได้แก่ กับดักแสงไฟ (Light trap) กับดักมุ้ง (Malaise trap และสวิงจับแมลง
2. ขวดฆ่าแมลง (killing jar) ซึ่งบรรจุน้ำยาเอททิล อะซิเตด (ethyl acetate)
3. อุปกรณ์สำหรับจัดรูปร่างแมลงเช่น เข็มสแตนเลส กระดาษลอกลาย
4. ethanol ความเข้มข้น 95% เพื่อใช้ในการจัดเก็บตัวอย่างสดของแมลง
5. กระดาษคุณภาพสูง (acid free) เพื่อการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งในระยะยาว
6. อุปกรณ์บันทึกเขตการแพร่กระจายในระดับละเอียด (GPS)
7. Forceps ขนาดเล็ก
8. ขวดแก้วขนาดเล็กสำหรับตัวอย่างสด
9. กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope กำลังขยายมากกว่า 50 เท่าขึ้นไป
10. สารเคมีในการทำแห้งตัวอย่างแมลง
11. โรงเรือนทดลองกรณีจำเป็นต้องเลี้ยงตั๊กแตน
12. กล้องจุลทรรศน์สเตริโอแบบกำลังขยายสูงสำหรับงานทางอนุกรมวิธานแมลง Leica M205 C พร้อม เลนซ์ Planapo Objective 1.0x สำหรับการถ่ายภาพเพื่อตีพิมพ์ในเอกสารวิชาการ
13. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่าง
14. เครื่องมือวิทยาศาสตร์เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการได้แก่ เครื่องวัดปริมาณน้ำตาล เครื่องวิเคราะห์โครมาโตกราฟฟีแบบความดันสูง เครื่องวิเคราะห์กลิ่น เครื่องตรวจสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี

วิธีการ

<u>การเก็บและรักษาตัวอย่างตั๊กแตน (Acquisition of research material)</u>

เก็บตัวอย่างตั๊กแตนกินได้ในพื้นที่ป่าหรือสภาพแวดล้อมธรรมชาติและ พื้นที่เกษตรกรรม ทั้งในฤดูและนอกฤดูเกษตรกรรม ด้วยวิธีการหลัก 2 วิธี ได้แก่ การเดินสำรวจใช้สวิงจับแมลงและใช้มือเก็บตัวอย่าง และ การวางกับดักแมลง โดยกับดักที่ใช้ได้แก่ กับดักแสงไฟ (Light trap) กับดักมุ้ง (Malaise trap และ Slam trap) หลังจากได้ตัวอย่างตั๊กแตนแล้ว นำตัวอย่างมีชีวิตฆ่าโดยใส่ในตู้เย็นอุณหภูมิ – 20 °C หลังจากนั้นห่อตัวอย่างตั๊กแตนที่ตายแล้วด้วยกระดาษลอกลาย บิดหัวท้ายลักษณะคล้ายท็อฟฟี่ เก็บตัวอย่างลงกล่องพลาสติกใส่แมลง นำกล่องใส่ตัวอย่างใส่ไว้ในกล่องรักษาความเย็นอีกชั้นเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่าเสียหาย รอเพื่อจัดรูปร่างและทำตัวอย่างแห้งและวิเคราะห์ทางเคมีต่อไป

<u>การวินิจฉัยชนิดโดยศึกษาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Species Identification)</u>

จัดรูปร่างตั๊กแตนเพื่อศึกษาด้านอนุกรมวิธานแมลง นำตัวอย่างตั๊กแตนที่มีลักษณะเหมือนกันจากกลุ่มเดียวกันจัดรูปร่าง บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) โดยจัดให้มีรูปร่างเหมือนลักษณะในธรรมชาติ การจัดวางขาและหนวดอยู่ในลักษณะสมมาตรเหมือนกันทั้งสองข้าง หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้งในตู้อบ (oven) ปรับอุณหภูมิ ใช้เวลา 15-30 วัน ขึ้นกับขนาดตัวอย่าง การศึกษาครั้งนี้นอกจากตัวอย่างตั๊กแตนที่ได้จากการสำรวจแล้ว ยังใช้ตัวอย่างที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตรด้วย รวมถึงตัวอย่างที่ได้รับจากนักวิชาการ หรือจากผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดจากหน่วยต่างๆ ภายในกรมวิชาการเกษตร

การตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ ลักษณะโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญเช่น สี ขนาดลำตัว ลักษณะและตำแหน่งของแหนมแหลมบนลำตัว โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิด ประกอบกับการเปรียบเทียบตัวอย่างแมลงที่ได้จำแนกแล้วในพิพิธภัณฑ์ ดำเนินการจัดจำแนกในระดับอันดับ (order) และวงศ์ (family) โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยของ Triplehorn & Johnson (2005) นับจำนวนของแมลงในแต่ละอันดับในแต่ละครั้งที่ทำการเก็บตัวอย่าง ทั้งนี้เพื่อศึกษาถึงศักยภาพของกับดัก วิธีการเก็บแมลง แมลงในกลุ่มเป้าหมาย Orthoptera การจัดหมวดหมู่ในระดับ สกุลและชนิดใช้แนวทางการวินิจฉัยประกอบจาก Roffey (1979) และ Centre for overseas pest research (1982) ทั้งนี้ได้รับความร่วมมือจากนักวิจัยด้านตั๊กแตนจากประเทศสหรัฐอเมริกา ช่วยในการตรวจวินิจฉัยชนิด หลังจากนั้นดำเนินการถ่ายภาพใต้กล้อง stereo microscope ใช้โปรแกรมการถ่ายภาพ AutoMontage หรือ Cartograph extended-focus โดยใช้ JVC KY-F75U digital camera, Leica Z16 APOA

<u>การเตรียมตัวอย่างตั๊กแตนกินได้ (Edible Grasshopper Preparation)</u>

นำตัวอย่างตั๊กแตนกินได้แต่ละชนิดมาทำให้อดอาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อไม่ให้มีอาหารตกค้างอยู่ในระบบทางเดินอาหาร แยกตัวอย่างชนิดของตั๊กแตนกินได้ชนิดละ 500 กรัม ใส่ในตู้เย็น

อุณหภูมิ – 40 °C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง และดำเนินการส่งเพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ณ ห้องปฏิบัติการกลาง สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล และ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เตรียมตัวอย่างตั๊กแตนเพื่อวิเคราะห์ดำเนินการในสภาพห้องปฏิบัติการ แบ่งแมลงกินได้แต่ละชนิดออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำมาต้มที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 10 นาที ส่วนที่ 2 นำมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 150 °C เป็นระยะเวลา 10 นาที ทั้งสองส่วนนำมาผ่านกระบวนการ Freeze-dry (lyophilized) ก่อนดำเนินการวิเคราะห์

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (Determination of the nutrient composition)

วิเคราะห์ส่วนประกอบของโปรตีนโดยใช้วิธีการของ Kjeldahl (Zielinska, *et al*., 2015) โดยมีค่าวิเคราะห์ปริมาณของไนโตรเจน (N conversion) มาตรฐานคือ 6.25 ประเมินค่าไขมันจากการสกัดไขมันแห้งในเครื่องมือ Soxhlet โดยใช้สารประกอย hexane การวิเคราะห์ความชื้นสะสมใช้ตัวอย่างแห้งที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 550 °C เป็นระยะเวลา 5 ชั่วโมง ส่วนประกอบของไฟเบอร์วิเคราะห์โดยใช้กระบวนการ Enzyme-weight method ปริมาณคาร์โบไฮเดรตวิเคราะห์โดยใช้สูตรในการคำนวณ 100 – น้ำหนักรวมของ [protein + fat + moisture + ash] จากตั๊กแตนกินได้ 100 กรัม ส่วนประกอบของกรดอะมิโนในตัวอย่างวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ automatic amino acid analyzer AAA-400 แร่ธาตุ (Minerals) ดำเนินการวิเคราะห์โดยใช้ Atomic Absorption Spectrometer

การทดสอบคุณภาพทางเคมีฟิสิกส์ของโปรตีนเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยแบ่งการทดสอบคุณสมบัติโปรตีนดังนี้

- การวิเคราะห์กรดอะมิโนทั้งหมด (Amino acid composition) โดยใช้การศึกษาโดยเครื่องโคมาโทกราฟีแรงดันสูง (High Performance Liquid Chromatography) โดยใช้คอลัมภ์ Hypersil Gold Column C18 (4.6 x 150mm, 3um) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และใช้สารมาตรฐานกรดอะมิโนในการทดสอบ
- การทดสอบชนิดโปรตีนโดยใช้วิธี SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophorensis) โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ของ Laemmli,1970 โดยเตรียมตัวอย่างปริมาณ 3 กรัมผสมกับสารมาตรฐาน SDS ร้อยละ 5 (w/v) ปริมาณ 27 มิลลิลิตรอุ่นที่ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,500g เวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสแล้วนำส่วนที่ละลายน้ำ (supernatant) ผสมสารละลายบัฟเฟอร์ (สารละลาย Tris-HCl ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์, pH 6.8 ประกอบด้วย SDS ร้อยละ 4, กลีเซอรอล ร้อยละ 20 และ โบรโมฟีนอลบลูร้อยละ 0.3) อัตราส่วน 1:1 (v/v) จากนั้นทดสอบโดยใช้เจลอครีลาไมด์และใช้เครื่อง Electrophorensis วิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบโปรตีนโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Precision Plus Protein Unstained Standard (10-250 kDa, Bio-Rad, USA) และตรวจสอบ

กับ Gel-document เพื่อตรวจสอบปริมาณโปรตีนโดยโปรแกรม Bio-rad ที่เทียบกับ National Institutes of Health, Bethesda, USA

การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคุณค่าทางโภชนาการของตั๊กแตนแต่ละชนิด (Treatment) จากจำนวน 3 ตัวอย่าง (Replication) (Zielinska, *et al.* 2015) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Duncan's new multiple range test (DMRT) ผลการทดลองทางสถิติที่ได้คือ mean ± SD ค่า P-values ต่ำกว่า 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาคัดเลือกชนิดที่เหมาะสมเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก (Species selection for mass rearing)

เกณฑ์ที่ใช้พิจารณาในการคัดเลือกชนิดเพื่อผลิตขยายได้แก่ คุณค่าทางโภชนาการโดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน คัดเลือกชนิดที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงจำนวน 2 – 3 ชนิด ศึกษาวงจรชีวิตเนื่องจากตั๊กแตนแต่ละชนิดเจริญเติบโตเต็มที่เป็นตัวเต็มวัยโดยใช้ระยะเวลาที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของพืชอาหาร และศึกษาขนาดกรงเลี้ยงที่เหมาะสมโดยประเมินจากอัตราการตายและการรอดชีวิตของตั๊กแตนในพื้นกรงเลี้ยงที่แตกต่างกัน

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลรายละเอียดแต่ละตัวอย่างที่เก็บได้ ประกอบด้วย แหล่งที่เก็บ พิกัดทางภูมิศาสตร์ พืชอาศัย วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง เทคนิคการเก็บตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง เป็นต้น
- การลงทะเบียนในระบบฐานข้อมูลตั๊กแตนในประเทศไทยโดย ตัวอย่างแต่ละตัวอย่างมีรายละเอียดแยกกันอย่างชัดเจน (specimen barcode) หากมีการค้นพบชื่อวิทยาศาสตร์ชนิดใหม่ ดำเนินการตีพิมพ์และขึ้นทะเบียนกับ IZCN-Zoobank (Polaszek et al. 2005)
- ชนิดของกรดอะมิโน, สี, ความเป็นกรดด่าง (pH) ปริมาณกรดซัลไฮไดร์ (Free and total sulfhydryl group) คุณสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifying properties)
- ส่วนประกอบทางโภชนาการเป็นร้อยละของ โปรตีน ไขมัน ไฟเบอร์ เท่า (Ash) คาร์โบไฮเดรต และอัตราการให้พลังงาน
- เก็บรักษาตัวอย่างแมลงทั้งตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง ณ พิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เวลาและสถานที่

แปลงเกษตรที่มีการระบาดหรือเคยมีการระบาดของตั๊กแตน หรือในแหล่งชุมชนที่มีการขายหรือแหล่งขายตั๊กแตนกินได้ ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตรวจวินิจฉัยชนิดตัวอย่างตั๊กแตนกินได้ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนากา ห้องปฏิบัติการกลาง สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล และ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาคัดเลือกชนิดของตั๊กแตนกินได้ (Orthoptera) จากความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อพัฒนาเป็นแหล่งโปรตีนใหม่สร้างมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจ ดำเนินการเก็บรวบรวมตั๊กแตนและแมลงกินได้ที่มีศักยภาพในการจำหน่ายในท้องตลาด เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ วินิจฉัยชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะโครงสร้างทางชีวโมเลกุล โดยกระบวนการ ดี เอ็น เอ บาร์โค้ด ในตัวอย่างที่มีลักษณะโครงสร้างภายนอกที่ซับซ้อนไม่สามารถจำแนกด้วยสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวได้ ผลการทดลองได้ตัวอย่างตั๊กแตนจำนวน 13 ตัวอย่างพันธุ์เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและเก็บเป็นตัวอย่างอ้างอิงในพิพิธภัณฑ์แมลงได้แก่ 1) *Patanga succincta* 2) *Locusta migratoria* 3) *Aiolopus thalassinus* 4) *Gastrimargus marmoratus* 5) *Oxya* sp. 6) *Ceracris fascita* 7) *Pseudoxy diminuta* 8) *Spathosternum prasiniferum* 9) *Epistaurus aberrans* 10) *Atractomorpha* sp.11) *Apalacris varicornis* 12) *Acrida* sp.13) *Phlaeoba* sp.นำตัวอย่างดังกล่าว วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการประกอบด้วย เถ้า (Ash) กากใย (Curde fiber) ไขมันรวม (Total fat) น้ำ (Moisture) โปรตีน (Protein) คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) และ พลังงานรวม (total energy) และวิเคราะห์โดยละเอียดในตัวอย่างพันธุ์ที่มีโปรตีนสูง ได้ผลการทดลองในตั๊กแตนและแมลงกินได้ 5 ชนิด ขณะนี้กำลังเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ชนิดที่เหลือและวินิจฉัยและวิเคราะห์ชนิดแมลงกินได้เพิ่มเติม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาคัดเลือกชนิดของตั๊กแตนกินได้ (Orthoptera) จากความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อพัฒนาเป็นแหล่งโปรตีนใหม่สร้างมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจ ได้ตัวอย่างตั๊กแตนจำนวน 13 ตัวอย่างพันธุ์เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและเก็บเป็นตัวอย่างอ้างอิงในพิพิธภัณฑ์แมลง ซึ่งได้มากกว่า 10 ตัวอย่างพันธุ์ซึ่งเป็นผลผลิตตามที่ระบุในคำรับรอง ทั้งนี้ได้นำแมลงกินได้มาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการแล้วบางส่วน ได้ผลการทดลองคือ ในจิ้งหรีด แมลงกระชอน ตั๊กแตนปาทังกาไทย ตั๊กแตนปาทังกาจีน และตั๊กแตนโมเขียว มีโปรตีนที่จำเป็น (essential amino acid) 14.45, 17.62, 20.76, 19.89, 18.17 (g/100g) ซึ่งเป็นค่าที่ค่อนข้างต่ำเนื่องจากผ่านกระบวนการทดสอบแบบไม่ทำแห้งก่อนการวิเคราะห์ (Percent protein as is not a dry basis) ซึ่งได้ดำเนินการวิเคราะห์ตามรูปแบบของ Blásquez *et al.* (2012) จึงไม่สามารถเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่มีการทำแห้งก่อนการวิเคราะห์ได้ พบว่าจากการวิเคราะห์ตัวอย่างแห้ง (Dry Basis) ในตัวอย่าง 100 กรัมมีปริมาณโปรตีนดังนี้ กลุ่มแมลงสาบและปลวก

(Blattodea) มีโปรตีน 35.5 กรัม, กลุ่มด้วง (Coleoptera) มีโปรตีน 40.7 กรัม, แมลงวัน (Diptera) มีโปรตีน 49.5 กรัม, กลุ่มมวน (Hemiptera) มีโปรตีน 48.3 กรัม, กลุ่มผึ้ง ต่อ แตนและมด (Hymenoptera) มีโปรตีน 46.5 กรัม, กลุ่มผีเสื้อ (Lepidoptera) มีโปรตีน 45.4 กรัม และกลุ่มที่มีส่วนประกอบโปรตีนอยู่มากที่สุดคืออยู่ในแมลงกลุ่มตั๊กแตนและจิ้งหรีด (Orthoptera) ซึ่งมีโปรตีนสูงถึง 61.3 กรัม (Liceaga *et al*., 2022) ทั้งนี้จึงจำเป็นต้องปรับปรุงรูปแบบการทดลองให้เป็นไปในทางเดียวกันเพื่อการเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ทราบคุณค่าทางโภชนาการของตั๊กแตนแต่ละชนิด หรือตัวอย่างพันธุ์ ที่มีศักยภาพในการผลิตขยายเชิงอุตสาหกรรม และมีปริมาณโปรตีนที่เหมาะสม ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ตามความต้องการของตลาด นำมาขยายผลในเชิงพาณิชย์ ทั้งในแง่ของการสร้างโมเดลให้เกษตรกรหรือวิสาหกิจชุมชน สามารถผลิตได้ในครัวเรือน หรือ ส่งต่อองค์ความรู้ให้กับผู้ประกอบการหรือขอทุนวิจัย เพื่อการผลิตในระดับอุตสาหกรรม นอกจากนี้สามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นเช่น ผลิตภัณฑ์คอลลาเจนจากตั๊กแตน แคลเซียมจากตั๊กแตน โดยมีผู้ใช้ประโยชน์ได้แก่ สถาบันวิจัยด้านอาหารและโภชนาการ บริษัทและผู้ประกอบการ เกษตรกร วิสาหกิจชุมชน

เอกสารอ้างอิง

Liceaga A. M., J. E. Aguilar-Toalá, B. Vallejo-Cordoba, A. F. González-Córdova, and A. Hernández-Mendoza. 2022. Insects as an Alternative Protein Source. *Annual Review of Food Science and Technology.* Vol. 13:19-34 (Volume publication date March 2022) https://doi.org/10.1146/annurev-food-052720-112443

Blásquez J. Ramos-E., J. M. Moreno, V. H. Camacho. 2012. Could Grasshoppers Be a Nutritive Meal? Food and Nutrition Sciences 3, 164-175 http://dx.doi.org/10.4236/fns.2012.32025

ภาพที่ 1 การเก็บตัวอย่าง ตั๊กแตน ในสภาพธรรมชาติ จากแปลงเกษตรกรที่ไม่พ่นสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืช

ภาพที่ 2 การสำรวจและเก็บตัวอย่างตั๊กแตนและแมลงกินได้ที่มีจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาด

การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงขยายตั๊กแตนจากวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตร เพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก

Grasshoppers mass rearing technique from agricultural waste for commercial use

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

รายงานความก้าวหน้า

จากปัญหาความมั่นคงด้านอาหาร ส่งผลกระทบโดยตรงต่อภาคเศรษฐกิจและภาคการผลิตทางการเกษตร อาหารแห่งอนาคต (Future Food) โดยเฉพาะตั๊กแตนกินได้ถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่เพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากมีวัตถุประสงค์หลักคือ เพื่อพัฒนาเทคนิคการเลี้ยงตั๊กแตนกินได้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก ความก้าวหน้าของการทดลองได้แก่ หลังจากวิเคราะห์ชนิดตั๊กแตนปาทังกาสายพันธุ์จีน โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล (ดี เอ็น เอ บาร์โค้ด) พบว่าเป็นตั๊กแตน *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) สายพันธุ์หนานจิง ประเทศจีน ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตขยายมากกว่าสายพันธุ์อื่นเนื่องจาก พฤติกรรมการกิน การขยายพันธุ์ และการดำรงชีวิตได้รูปแบบการเลี้ยงขยายตั๊กแตนที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพโดยใช้กรงไม้บุมุ้งพลาสติกตาข่ายละเอียด ขนาด 50 x 50 x 100 เซนติเมตร และให้กรงสูงจากพื้น 20 เซนติเมตรเพื่อการระบายอากาศและกันมด กรงสามารถต่อกันได้เป็นแนวสูง ควรเลี้ยงในโรงเรือนที่มีอากาศถ่ายเทไม่อับชื้น ขณะนี้อยู่ระหว่างดำเนินการทดลองโดยใช้อาหารเลี้ยงตั๊กแตน 8 กรรมวิธี ได้แก่ 1) หญ้าเนเปียร์ 2) ต้นอ่อนข้าวสาลี 3) ต้นอ่อนข้าวสาลี และ อาหารจิ้งหรีด 4) ใบข้าวโพดอ่อน อาหารจิ้งหรีด และน้ำ 5) ใบข้าวโพด 6) ใบข้าวโพดอ่อน และแหนแดง 7) ใบข้าวโพดหลังเก็บฝัก 8) ใบข้าวโพดอ่อน และเปลือกสับปะรดหลังการแปรรูป ดำเนินการชั่งอาหารทุกครั้งก่อนเลี้ยงเพื่อคำนวนเปอร์เซ็นต์การแลกเนื้อ ซึ่งขณะนี้ตั๊กแตนอยู่ในวัยสอง

คำหลัก : ตั๊กแตนกินได้ การเลี้ยงตั๊กแตนหนวดสั้น อาหารตั๊กแตน ฟาร์มตั๊กแตน อุตสาหกรรมแมลง

รหัสการทดลอง FF65-02-05-65-00-02-65

คำนำ

จากปัญหาความมั่นคงด้านอาหาร ส่งผลกระทบโดยตรงต่อภาคเศรษฐกิจและภาคการผลิตทางการเกษตร ทางเลือกการพัฒนาอาหารจากแมลงถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่สำคัญแก้ปัญหาด้านอาหารที่กำลังขาดแคลน และสามารถขยายตลาดเกษตรของประเทศ ทั้งยังสอดคล้องกับนโยบาย **“อาหารแห่งอนาคต (Future Food)”** ของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โครงการวิจัยนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน ตอบสนองโอกาสทางธุรกิจตลอดจนมีปัจจัยความสำเร็จที่ชัดเจน โดยเป้าหมายของโครงการวิจัยคือ เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มจากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนแหล่งโปรตีนใหม่ ซึ่งสอดคล้องกับเป้าหมายของแผนงาน คือการสร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจที่เกิดจากความหลากหลายทางชีวภาพของพืช เห็ด จุลินทรีย์และศัตรูธรรมชาติบนพื้นฐานการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน เพิ่มขึ้นไม่ต่ำกว่าร้อยละ 1 ของ GDP โดยโครงการวิจัยประกอบด้วย 5 กระบวนการทดลองตั้งแต่ต้นน้ำจนถึงปลายน้ำ ได้แก่ 1) การสำรวจศึกษาสายพันธุ์ตั๊กแตนที่มีคุณค่าทางโภชนาการและมีศักยภาพในการผลิตขยาย 2) ศึกษาเทคโนโลยีการเลี้ยงผลิตขยายจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร 3) วิจัยเทคโนโลยีการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนสู่อาหารสำหรับเด็ก และผู้ป่วยที่ขาดสารอาหาร รวมถึงการเติมเต็มคุณค่าของอาหารที่บริโภค 4) วิจัยผลิตภัณฑ์ต้นแบบเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา และ 5) การจัดการฐานข้อมูลตั๊กแตนในประเทศสู่การใช้ประโยชน์ในอนาคต ซึ่งผลการดำเนินการและผลผลิตตามคำรับรอง (key output) ในปี 2565 ที่ได้คือ ตัวอย่างพันธุ์ตั๊กแตนและแมลงกินได้รวมถึงข้อมูลทางโภชนาการเบื้องต้น ชนิดและรูปแบบการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณตั๊กแตน ได้กรรมวิธีการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนรวมถึงคุณค่าทางโภชนาการของตั๊กแตนที่มีศักยภาพ ได้ระบบการจัดเก็บตัวอย่างอ้างอิงโดยใช้ QR-Code เพื่อการจัดทำฐานข้อมูล นำไปสู่แผนการดำเนินงานในปี 2566 และ 2567 คือ การวินิจฉัยชนิดและคัดเลือกตัวอย่างพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตระดับอุตสาหกรรม การศึกษากรรมวิธีการเลี้ยงจากอาหารและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร แผนการทำแป้งโปรตีนเพื่อได้ขนมปัง Sourdough เสริมโปรตีนจากแมลง รวมถึงการเติมเต็มคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร (fortified insect protein) และแผนการสร้างฐานข้อมูลตั๊กแตนกินได้โดยเชื่อมโยงตัวอย่างอ้างอิงและระบบการจัดเก็บผ่าน QR-Code ทั้งนี้ความคาดหวังหลังเสร็จสิ้นโครงการ คือการได้สายพันธุ์ตั๊กแตนโปรตีนสูง มีศักยภาพในการผลิตขยาย ได้ระบบการผลิตที่ปลอดภัยได้มาตรฐาน ได้เทคโนโลยีการสกัดโปรตีนและบรรจุภัณฑ์โปรตีนตั๊กแตน และได้แอพพลิเคชั่นระบบการเข้าถึงข้อมูลออนไลน์ที่รวดเร็ว ซึ่งมีผู้รับเทคโนโลยีต้นแบบเหล่านี้ไปใช้ได้จริง ได้แก่ ตั๊กแตนปาทังก้าฟาร์ม อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย ในการผลิตขยายตั๊กแตนให้ได้ปริมาณมากเพื่อการค้า และบริษัททุ่งสุวรรณออร์แกนิคฟาร์มจำกัด อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณภาพ ผลกระทบที่เกิดขึ้นคือเกิดการลงทุนใหม่ เกิดการจ้างงานเพิ่ม นำไปสู่การพัฒนารูปแบบธุรกิจใหม่ สร้างรายได้ที่มั่นคงทำให้มีการพัฒนา นวัตกรรมการแปรรูปแหล่ง

โปรตีนใหม่จากแมลงในประเทศมากขึ้น เป็นการปฏิบัติงานเชิงรุกสู่ตลาดเป้าหมาย ก่อให้เกิดข้อได้เปรียบในการแข่งขันและสร้างความเข้มแข็งของการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพในภูมิภาค อีกทั้งสร้างมาตรฐานการผลิตที่ปลอดภัยสู่ความมั่นคงทางอาหารที่ยั่งยืน

แมลงเป็นสัตว์ที่มีมากที่สุดในโลก มีทั้งกลุ่มที่มีประโยชน์และกลุ่มที่เป็นโทษ อย่างไรก็ตามแมลงยังเป็นอาหารของมนุษย์ที่สืบทอดกันมาตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบัน พบว่า มีแมลงมากกว่า 500 ชนิด ที่เป็นอาหารมนุษย์ ซึ่งนิยมรับประทานในแถบทวีปเอเชีย ออสเตรเลีย แอฟริกา อเมริกา และยุโรป สำหรับประเทศไทยเป็นอีกประเทศหนึ่งที่นิยมรับประทานแมลงกันอย่างแพร่หลายในทั่วทุกภูมิภาค (Sihamala *et al.,* 2010) องค์การสหประชาชาติได้ระบุว่า โลกกำลังเผชิญกับปัญหาความมั่นคงด้านอาหาร โดยในปี 2050 ความต้องการอาหารของโลกจะมากกว่าปัจจุบันถึง 2 เท่าแต่พื้นที่เพาะปลูกไม่เพียงพอ ทางเลือกการพัฒนาอาหารจากแมลงถือเป็นทางออกตอบสนองความต้องการและสามารถขยายตลาดเกษตรของประเทศ แนวโน้มความต้องการบริโภคแมลงเพิ่มมากขึ้น โดยธุรกิจแมลงทั่วโลกมีมูลค่าเพิ่มขึ้นถึง 20,000 ล้านบาท (ศูนย์วิจัยธนาคารกรุงเทพ,2563) โดยตลาดเอเชียมีสัดส่วนถึงร้อยละ 30 – 40 ของตลาดโลก ใน 5 ปีที่ผ่านมาอุตสาหกรรมแมลงเติบโตขึ้นอย่างน้อยร้อยละ 20 ในแต่ละปี โดยประเทศไทยถือเป็นตลาดหลักที่มีการส่งออกแมลงไปขายยังต่างประเทศ มีกำลังการผลิตโดยเฉพาะจิ้งหรีดกว่า 7,000 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่า 1,000 ล้านบาท ปัจจุบันมีการทำธุรกิจแมลงส่งออกไปทั่วโลกผ่านระบบออนไลน์ทั้งแบบปลีกและส่งและโรงงานได้มาตรฐานอุตสาหกรรมเพิ่มขึ้นโดยส่วนใหญ่จะเป็นการแปรรูปอย่างง่ายเช่นแมลงอบแห้งและแมลงทอด คุณค่าทางโภชนาการจากแมลงประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน เกลือแร่ วิตามิน โดยกลุ่มที่นิยมนำมาแปรรูปแบ่งเป็นแมลงในกลุ่มด้วง (Coleoptera) ร้อยละ 31 แมลงในกลุ่มผีเสื้อ (Lepidoptera) ร้อยละ 18 และแมลงในกลุ่ม ผึ้ง ต่อแตน (Hymenoptera) ร้อยละ 14 และในกลุ่มแมลงกระชอน จิ้งหรีด ตั๊กแตน (Orthoptera) ร้อยละ 13 (Jongema, 2015) อย่างไรก็ตามกลุ่มแมลงที่สามารถผลิตชีวมวลได้สูงสุดและธาตุอาหารมากที่สุดคือกลุ่ม Orthoptera ในประเทศไทยมีธุรกิจการเลี้ยงและส่งออกผลิตภัณฑ์จากจิ้งหรีดกันอย่างกว้างขวาง ถึงแม้จิ้งหรีดผลิตได้รวดเร็วปริมาณมากและมีวงจรชีวิตสั้นแต่ยังมีข้อจำกัดหลายประการ ได้แก่ การจัดการในโรงเรือนทำได้ยาก คือเมื่อพบจิ้งหรีดที่เป็นโรคจะติดต่อได้ง่ายทำความเสียหายทั้งโรงเรือน มีปริมาณไขมันที่ค่อนข้างสูง อาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นอาหารสำเร็จรูปที่ส่งผลเสียต่อสภาพแวดล้อม อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาวิจัย กระบวนการเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากตั๊กแตนอย่างกว้างขวางในประเทศไทย ทั้งที่คุณค่าทางโภชนาการ โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนสูงกว่าจิ้งหรีด จากการวิเคราะห์สารอาหารทั้งหมดของตั๊กแตนพบว่ามีโปรตีนเป็นส่วนประกอบระหว่างร้อยละ 57 – 77 ไขมันเพียงร้อยละ 4 – 22 และยังพบใยอาหาร (Crude fiber) กว่าร้อยละ 7 – 12 โดยผลจากการรายงานในประเทศแมกซิโก อินเดียและไทยมีความเห็นตรงกันถึงศักยภาพในการนำตั๊กแตนมาพัฒนาเป็นโปรตีน โครงการนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลาย

ทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อสร้างมูลค่า เป็นการศึกษาถึงชนิด เทคโนโลยีการเลี้ยงผลิตขยายจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (zero waste) พัฒนาการสกัดโปรตีนตั๊กแตนและผลิตภัณฑ์ต้นแบบและส่งเสริมต่อยอดองค์ความรู้สู่เกษตรกรและผู้ประกอบการ รวมถึงเป็นการตั้งต้นงานวิจัยด้านโปรตีนจากตั๊กแตนกินได้ในประเทศไทย ซึ่งผลสำเร็จของโครงการจะส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคม ได้แก่ เกิดการลงทุนใหม่ เกิดการจ้างงานเพิ่ม นำไปสู่การพัฒนารูปแบบธุรกิจใหม่ สร้างรายได้ที่มั่นคงทำให้มีการพัฒนา นวัตกรรมการแปรรูปแหล่งโปรตีนใหม่จากแมลง เป็นการปฏิบัติงานเชิงรุกสู่ตลาดเป้าหมาย ก่อให้เกิดข้อได้เปรียบในการแข่งขันและสร้างความเข้มแข็งในการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพ

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อพัฒนาเทคนิคการเลี้ยงตั๊กแตนกินได้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

การจัดการเลี้ยงตั๊กแตนภายในโรงเรือนระบบปิด (ดำเนินการปี 2565)

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

การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงตั๊กแตนจากวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก (ดำเนินการปี 2565 และ ปี 2566)

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

กรรมวิธีที่ 1 หญ้าเนเปียร์

กรรมวิธีที่ 2 ต้นอ่อนข้าวสาลี

กรรมวิธีที่ 3 ต้นอ่อนข้าวสาลี อาหารจิ้งหรีดและน้ำ

กรรมวิธีที่ 4 ใบข้าวโพดอ่อน อาหารจิ้งหรีดและน้ำ

กรรมวิธีที่ 5 ใบข้าวโพด

กรรมวิธีที่ 6 ใบข้าวโพด และแหนแดง

กรรมวิธีที่ 7 ใบข้าวโพดหลังเก็บฝัก

กรรมวิธีที่ 8 ใบข้าวโพดอ่อน และเปลือกสับปะรดหลังการแปรรูป

วิธีการ

ดำเนินการทดลองในโรงเรือนแบบปิดโดยใช้กรงเลี้ยงตั๊กแตนขนาด 60x60x100 เซนติเมตร เลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณตั๊กแตนโดยปล่อยตั๊กแตนวัย 1 จำนวน 100 ตัวต่อกรง

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

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

เวลาและสถานที่

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

การศึกษาวัสดุวางไข่ที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มปริมาณตั๊กแตน (ดำเนินการปี 2567)

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

กรรมวิธีที่ 1 วัสดุปลูกเวอร์มิคูไลท์

กรรมวิธีที่ 2 ดินพีทมอส

กรรมวิธีที่ 3 ขี้เลื่อยบดละเอียดผสมขุยมะพร้าว

กรรมวิธีที่ 4 ซังอ้อยหรือซังข้าวโพดบดละเอียด

กรรมวิธีที่ 5 ดินร่วนปนทราย

กรรมวิธีที่ 6 ขี้เท้าแกรบผสมดินเบา

กรรมวิธีที่ 7 ปล่อยพื้นว่างไม่มีวัสดุวางไข่

วิธีการ

เลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณตั๊กแตนให้ได้ปริมาณมากในโรงเรือนแบบปิดเพื่อใช้ในการทดลอง ดำเนินการทดลองโดยปล่อยตั๊กแตนจำนวน 20 ตัวต่อซ้ำ (เพศผู้ 10 ตัวและเพศเมีย 10 ตัว)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

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

เวลาและสถานที่

โรงเรือนระบบปิด กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

<u>การป้องกันกำจัดศัตรูของตั๊กแตนในโรงเลี้ยง</u>

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

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

<u>ชนิดของตั๊กแตนเพื่อเลี้ยงขยาย</u>

หลังจากวิเคราะห์ชนิด ตั๊กแตนปาทังกาสายพันธุ์จีน โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล (ดี เอ็น เอ บาร์โค้ด) พบว่าเป็นตั๊กแตน *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) สายพันธุ์หนานจิง ประเทศจีน ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตขยายมากกว่าสายพันธุ์อื่นเนื่องจาก พฤติกรรมการกิน การขยายพันธุ์ขและการดำรงชีวิต

<u>รูปแบบการเลี้ยงตั๊กแตน</u>

ได้รูปแบบการเลี้ยงขยายตั๊กแตนที่มีประสิทธิภาพโดยใช้กรงไม้บุมุ้งพลาสติกขนาด 50 x 50 x 100 เซนติเมตร กรงสามารถต่อกันได้เป็นแนวสูง เพื่อการระบายอากาศและกันมด กรงสามารถต่อกันได้เป็นแนวสูง ควรเลี้ยงในโรงเรือนที่มีอากาศถ่ายเทไม่อับชื้น ขณะนี้อยู่ระหว่างดำเนินการทดลองโดยใช้อาหารเลี้ยงตั๊กแตน 8 กรรมวิธี ได้แก่ 1) หญ้าเนเปียร์ 2) ต้นอ่อนข้าวสาลี 3) ต้นอ่อนข้าวสาลี และอาหารจิ้งหรีด 4) ใบข้าวโพดอ่อน อาหารจิ้งหรีด และน้ำ 5) ใบข้าวโพด 6) ใบข้าวโพดอ่อน และแหนแดง 7) ใบข้าวโพดหลังเก็บฝัก8) ใบข้าวโพดอ่อน และเปลือกสับปะรดหลังการแปรรูป ดำเนินการชั่งอาหารทุกครั้งก่อนเลี้ยงเพื่อคำนวนเปอร์เซ็นต์การแลกเนื้อ ซึ่งขณะนี้ตั๊กแตนอยู่ในวัยสอง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงขยายตั๊กแตนจากวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก หลังจากวิเคราะห์ชนิด ตั๊กแตนปาทังกาสายพันธุ์จีน โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล (ดี เอ็น เอ บาร์โค้ด) พบว่าเป็นตั๊กแตน *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) สายพันธุ์หนานจิง ประเทศจีน ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตขยายมากกว่าสายพันธุ์อื่นเนื่องจาก พฤติกรรมการกิน การขยายพันธุ์ขและการดำรงชีวิต ได้รูปแบบการเลี้ยงขยายตั๊กแตนที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพโดยใช้กรงไม้บุมุ้งพลาสติกตาข่ายละเอียด ขนาด 50 x 50 x 100 เซนติเมตร และให้กรงสูงจากพื้น 20 เซนติเมตรเพื่อการระบายอากาศและกันมด กรงสามารถต่อกันได้เป็นแนวสูง ควรเลี้ยงในโรงเรือนที่มีอากาศถ่ายเทไม่อับชื้น ขณะนี้อยู่ระหว่างดำเนินการทดลองโดยใช้อาหารเลี้ยงตั๊กแตน 8 กรรมวิธี ได้แก่ 1) หญ้าเนเปียร์ 2) ต้นอ่อนข้าวสาลี 3) ต้นอ่อนข้าวสาลี และ อาหารจิ้งหรีด 4) ใบข้าวโพดอ่อน อาหารจิ้งหรีด และน้ำ 5) ใบข้าวโพด 6) ใบข้าวโพดอ่อน และแหนแดง 7) ใบข้าวโพดหลังเก็บฝัก8) ใบข้าวโพดอ่อน และเปลือกสับปะรดหลังการแปรูป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ด้านสังคม ผู้ใช้ประโยชน์ได้แก่ นักวิชาการ นักวิจัย เกษตรกร ในพื้นที่เป้าหมายได้แก่ อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ และ อ.แม่สรวย อ. เมือง จ. เชียงราย และ ผู้ประกอบการ ทำให้เกิดการเรียนรู้ร่วมกันระหว่างเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงตั๊กแตนและนักวิชาการ ทำให้กลุ่มชุมชนสร้างรายได้ สร้างอาชีพใหม่ เกษตรกรเล็งเห็นถึงคุณค่าของความหลากหลายทางชีวภาพ เกิดความรักและหวงแหนระบบนิเวศ ลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ลดช่องว่างระหว่างนักวิชาการและเกษตรกร ในด้านเศรษฐกิจ คือ ผู้ใช้ประโยชน์ได้แก่ บริษัทผู้ผลิตและจำหน่ายผลิตภัณฑ์ หน่วยงานสนับสนุนทุนวิจัย วิสาหกิจชุมชนเกษตรกร โดยได้รับความร่วมมือหรือหุ้นส่วนความร่วมมือในการลงทุนขยายผลเทคโนโลยีการเลี้ยงตั๊กแตนกินได้ ด้านวิชาการ นักวิจัย นักวิชาการเกษตร บัณฑิตศึกษา อาจารย์มหาวิทยาลัย นำผลงานด้านนวัตกรรมต้นแบบโปรตีนใหม่จากตั๊กแตนเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการวิจัยพัฒนาในระดับอุตสาหกรรมขยายฐานการผลิตตั๊กแตน ใช้เป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยนวัตกรรมการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของแมลงกินได้ชนิดอื่นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ภาพที่ 2 สภาพโรงเรือนสำหรับผลิตขยายตั๊กแตนเพื่อทดลองเลี้ยง โดยใช้วัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร

การสร้างแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อเพิ่มมูลค่าใช้ประโยชน์และอนุรักษ์อย่างยั่งยืน

Innovation on application and biodiversity database of grasshoppers for value added, utilization and sustainable conservation

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

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากปัญหาความมั่นคงด้านอาหาร ส่งผลกระทบโดยตรงต่อภาคเศรษฐกิจ อาหารแห่งอนาคตโดยเฉพาะตั๊กแตนกินได้ถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีแนวโน้มแก้ปัญหาดังกล่าว อย่างไรก็ตามการศึกษาชนิดของตั๊กแตนเพื่อการบริโภค ยังไม่เป็นที่แพร่หลายในประเทศไทยและไม่มีฐานข้อมูลจัดเก็บอย่างเป็นระบบ การสร้างแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อเพิ่มมูลค่า ใช้ประโยชน์และอนุรักษ์อย่างยั่งยืน มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อพัฒนาแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน ที่สามารถเข้าถึงข้อมูลได้ง่ายและมีประสิทธิภาพ รวมถึงพัฒนากระบวนการจัดเก็บตัวอย่างอ้างอิงและการจัดการฐานข้อมูลสู่ระบบสากล ความก้าวหน้าของการทดลองคือ ดำเนินการติดตั้ง QR Code และรายละเอียด กับตัวอย่างตั๊กแตน อย่างน้อย 1971 ตัวอย่าง 2 กำหนดหีบและตู้ในการจัดเก็บ โดยไม่มีการเคลื่อนย้ายและสับเปลี่ยน จำนวน 28 ลิ้นชัก 2 ตู้ ศึกษากระบวนการเพื่อพัฒนาระบบการจัดเก็บตัวอย่างเพื่อง่ายต่อการสืบค้น ตรวจสอบย้อนกลับและการถ่ายโอนข้อมูลสู่ระบบฐานข้อมูล ประกอบด้วยส่วนต่างในฐานได้แก่ [Specimen section]; [Determination]; [Status]; [Locality and Collecting data]; [Biology] และ [Image] กำหนดการเข้าถึงข้อมูลโดยผู้ใช้โปรแกรม ดำเนินการให้มีผู้ตรวจสอบและอนุมัติข้อมูลให้มีการจัดเก็บ ปัจจุบันมีตัวอย่างอยู่ในฐานข้อมูลผ่านการตรวจสอบแล้ว 1,300 ตัวอย่าง และได้โมเดลเบื้องต้นเพื่อการตรวจสอบย้อนกลับระหว่างระบบฐานข้อมูลและตัวอย่างตั๊กแตนในพิพิธภัณฑ์วิชาการ สามารถสืบค้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำหลัก : แอปพลิเคชันฐานข้อมูล ความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน ฐานข้อมูล ชนิดของตั๊กแตนกินได้ ระบบการจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์แมลง

รหัสการทดลอง FF65-02-05-65-00-04-65

คำนำ

จากปัญหาความมั่นคงด้านอาหาร ส่งผลกระทบโดยตรงต่อภาคเศรษฐกิจและภาคการผลิตทางการเกษตร ทางเลือกการพัฒนาอาหารจากแมลงถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่สำคัญแก้ปัญหาด้านอาหารที่กำลังขาดแคลน และสามารถขยายตลาดเกษตรของประเทศ ทั้งยังสอดคล้องกับนโยบาย **“อาหารแห่งอนาคต (Future Food)”** ของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โครงการวิจัยนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน ตอบสนองโอกาสทางธุรกิจตลอดจนมีปัจจัยความสำเร็จที่ชัดเจน โดยเป้าหมายของโครงการวิจัยคือ เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มจากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนแหล่งโปรตีนใหม่ ซึ่งสอดคล้องกับเป้าหมายของแผนงาน คือการสร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจที่เกิดจากความหลากหลายทางชีวภาพของพืช เห็ด จุลินทรีย์และศัตรูธรรมชาติบนพื้นฐานการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน เพิ่มขึ้นไม่ต่ำกว่าร้อยละ 1 ของ GDP โดยโครงการวิจัยประกอบด้วย 5 กระบวนการทดลองตั้งแต่ต้นน้ำจนถึงปลายน้ำ ได้แก่ 1) การสำรวจศึกษาสายพันธุ์ตั๊กแตนที่มีคุณค่าทางโภชนาการและมีศักยภาพในการผลิตขยาย 2) ศึกษาเทคโนโลยีการเลี้ยงผลิตขยายจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร 3) วิจัยเทคโนโลยีการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนสู่อาหารสำหรับเด็ก และผู้ป่วยที่ขาดสารอาหาร รวมถึงการเติมเต็มคุณค่าของอาหารที่บริโภค 4) วิจัยผลิตภัณฑ์ต้นแบบเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา และ 5) การจัดการฐานข้อมูลตั๊กแตนในประเทศสู่การใช้ประโยชน์ในอนาคต ซึ่งผลการดำเนินการและผลผลิตตามคำรับรอง (key output) ในปี 2565 ที่ได้คือ ตัวอย่างพันธุ์ตั๊กแตนและแมลงกินได้รวมถึงข้อมูลทางโภชนาการเบื้องต้น ชนิดและรูปแบบการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณตั๊กแตน ได้กรรมวิธีการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนรวมถึงคุณค่าทางโภชนาการของตั๊กแตนที่มีศักยภาพ ได้ระบบการจัดเก็บตัวอย่างอ้างอิงโดยใช้ QR-Code เพื่อการจัดทำฐานข้อมูล นำไปสู่แผนการดำเนินงานในปี 2566 และ 2567 คือ การวินิจฉัยชนิดและคัดเลือกตัวอย่างพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตระดับอุตสาหกรรม การศึกษากรรมวิธีการเลี้ยงจากอาหารและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร แผนการทำแป้งโปรตีนเพื่อได้ขนมปัง Sourdough เสริมโปรตีนจากแมลง รวมถึงการเติมเต็มคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร (fortified insect protein) และแผนการสร้างฐานข้อมูลตั๊กแตนกินได้โดยเชื่อมโยงตัวอย่างอ้างอิงและระบบการจัดเก็บผ่าน QR-Code ทั้งนี้ความคาดหวังหลังเสร็จสิ้นโครงการ คือการได้สายพันธุ์ตั๊กแตนโปรตีนสูง มีศักยภาพในการผลิตขยาย ได้ระบบการผลิตที่ปลอดภัยได้มาตรฐาน ได้เทคโนโลยีการสกัดโปรตีนและบรรจุภัณฑ์โปรตีนตั๊กแตน และได้แอพพลิเคชั่นระบบการเข้าถึงข้อมูลออนไลน์ที่รวดเร็ว ซึ่งมีผู้รับเทคโนโลยีต้นแบบเหล่านี้ไปใช้ได้จริง ได้แก่ ตั๊กแตนปาทังก้าฟาร์ม อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย ในการผลิตขยายตั๊กแตนให้ได้ปริมาณมากเพื่อการค้า และบริษัททุ่งสุวรรณออร์แกนิคฟาร์มจำกัด อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณภาพ ผลกระทบที่เกิดขึ้นคือเกิดการลงทุนใหม่ เกิดการจ้างงานเพิ่ม นำไปสู่การพัฒนารูปแบบธุรกิจใหม่ สร้างรายได้ที่มั่นคงทำให้มีการพัฒนา นวัตกรรมการแปรรูปแหล่ง

โปรตีนใหม่จากแมลงในประเทศมากขึ้น เป็นการปฏิบัติงานเชิงรุกสู่ตลาดเป้าหมาย ก่อให้เกิดข้อได้เปรียบในการแข่งขันและสร้างความเข้มแข็งของการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพในภูมิภาค อีกทั้งสร้างมาตรฐานการผลิตที่ปลอดภัยสู่ความมั่นคงทางอาหารที่ยั่งยืน

องค์การสหประชาชาติได้ระบุว่า โลกกำลังเผชิญกับปัญหาความมั่นคงด้านอาหาร โดยในปี 2050 ความต้องการอาหารของโลกจะมากกว่าปัจจุบันถึง 2 เท่าแต่พื้นที่เพาะปลูกไม่เพียงพอ ทางเลือกการพัฒนาอาหารจากแมลงถือเป็นทางออกตอบสนองความต้องการและสามารถขยายตลาดเกษตรของประเทศ แนวโน้มความต้องการบริโภคแมลงเพิ่มมากขึ้น โดยธุรกิจแมลงทั่วโลกมีมูลค่าเพิ่มขึ้นถึง 20,000 ล้านบาท (ศูนย์วิจัยธนาคารกรุงเทพ,2563) โดยตลาดเอเชียมีสัดส่วนถึงร้อยละ 30 – 40 ของตลาดโลก ใน 5 ปีที่ผ่านมาอุตสาหกรรมแมลงเติบโตขึ้นอย่างน้อยร้อยละ 20 ในแต่ละปี โดยประเทศไทยถือเป็นตลาดหลักที่มีการส่งออกแมลงไปขายยังต่างประเทศ มีกำลังการผลิตโดยเฉพาะจิ้งหรีดกว่า 7,000 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่า 1,000 ล้านบาท ปัจจุบันมีการทำธุรกิจแมลงส่งออกไปทั่วโลกผ่านระบบออนไลน์ทั้งแบบปลีกและส่งและโรงงานได้มาตรฐานอุตสาหกรรมเพิ่มขึ้นโดยส่วนใหญ่จะเป็นการแปรรูปอย่างง่ายเช่นแมลงอบแห้งและแมลงทอด คุณค่าทางโภชนาการจากแมลงประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน เกลือแร่ วิตามิน โดยกลุ่มที่นิยมนำมาแปรรูปแบ่งเป็นแมลงในกลุ่มด้วง (Coleoptera) ร้อยละ 31 แมลงในกลุ่มผีเสื้อ (Lepidoptera) ร้อยละ 18 และแมลงในกลุ่ม ผึ้ง ต่อแตน (Hymenoptera) ร้อยละ 14 และในกลุ่มแมลงกระชอน จิ้งหรีด ตั๊กแตน (Orthoptera) ร้อยละ 13 (Jongema, 2015) อย่างไรก็ตามกลุ่มแมลงที่สามารถผลิตชีวมวลได้สูงสุดและธาตุอาหารมากที่สุดคือกลุ่ม Orthoptera ในประเทศไทยมีธุรกิจการเลี้ยงและส่งออกผลิตภัณฑ์จากจิ้งหรีดกันอย่างกว้างขวาง ถึงแม้จิ้งหรีดผลิตได้รวดเร็วปริมาณมากและมีวงจรชีวิตสั้นแต่ยังมีข้อจำกัดหลายประการ ได้แก่ การจัดการในโรงเรือนทำได้ยาก คือเมื่อพบจิ้งหรีดที่เป็นโรคจะติดต่อได้ง่ายทำความเสียหายทั้งโรงเรือน มีปริมาณไขมันที่ค่อนข้างสูง อาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นอาหารสำเร็จรูปที่ส่งผลเสียต่อสภาพแวดล้อม อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาวิจัย กระบวนการเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากตั๊กแตนอย่างกว้างขวางในประเทศไทย ทั้งที่คุณค่าทางโภชนาการ โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนสูงกว่าจิ้งหรีด จากการวิเคราะห์สารอาหารทั้งหมดของตั๊กแตนพบว่ามีโปรตีนเป็นส่วนประกอบระหว่างร้อยละ 57 – 77 ไขมันเพียงร้อยละ 4 – 22 และยังพบใยอาหาร (Crude fiber) กว่าร้อยละ 7 – 12 โดยผลจากการรายงานในประเทศแมกซิโก อินเดียและไทยมีความเห็นตรงกันถึงศักยภาพในการนำตั๊กแตนมาพัฒนาเป็นโปรตีน โครงการนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อสร้างมูลค่า เป็นการศึกษาถึงชนิด เทคโนโลยีการเลี้ยงผลิตขยายจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (zero waste) พัฒนาการสกัดโปรตีนตั๊กแตนและผลิตภัณฑ์ต้นแบบและส่งเสริมต่อยอดองค์ความรู้สู่เกษตรกรและผู้ประกอบการ รวมถึงเป็นการตั้งต้นงานวิจัยด้านโปรตีนจากตั๊กแตนกินได้ในประเทศไทย ซึ่งผลสำเร็จของโครงการจะส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคม ได้แก่ เกิดการลงทุนใหม่ เกิดการจ้างงานเพิ่ม นำไปสู่

การพัฒนารูปแบบธุรกิจใหม่ สร้างรายได้ที่มั่นคงทำให้มีการพัฒนา นวัตกรรมการแปรรูปแหล่งโปรตีนใหม่จากแมลง เป็นการปฏิบัติงานเชิงรุกสู่ตลาดเป้าหมาย ก่อให้เกิดข้อได้เปรียบในการแข่งขันและสร้างความเข้มแข็งในการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพอย่างไรก็ตามการศึกษาชนิดของตั๊กแตนเพื่อการบริโภค ยังไม่เป็นที่แพร่หลายในประเทศไทยและไม่มีฐานข้อมูลจัดเก็บอย่างเป็นระบบ การสร้างแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อเพิ่มมูลค่า ใช้ประโยชน์และอนุรักษ์อย่างยั่งยืน มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อพัฒนาแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนที่สามารถเข้าถึงข้อมูลได้ง่ายและมีประสิทธิภาพ รวมถึงพัฒนากระบวนการจัดเก็บตัวอย่างอ้างอิงและการจัดการฐานข้อมูลสู่ระบบสากล

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

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

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

(UUID) นักวิจัยหรือนักอนุกรมวิธานสามารถใช้รหัสข้อมูลดังกล่าว เป็นข้อมูลอ้างอิงโดยตรงในการตีพิมพ์ผลงานและจดทะเบียนต่อ ZooBank หรือ BigDataในอนาคต

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

การบันทึกข้อมูลการเก็บตัวอย่าง สามารถดำเนินการได้ 2 วิธีการประกอบด้วย

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

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

การเขียนโปรแกรม (Software generating) (ดำเนินการปี 2566)

ดำเนินการเขียนโปรแกรมโดยระบุรายละเอียดที่อยู่บนหน้า website ได้แก่ แผนที่ที่สามารถระบุพิกัดภูมิศาสตร์กำกับ ประวัติทางอนุกรมวิธาน พืชอาหาร แหล่งที่เก็บรักษาตัวอย่าง และ เอกสารวิชาการที่สามารถสืบค้นรายละเอียดของชนิดของตัวอย่าง

การจัดทำแอพพลิเคชั่นบนสมาร์ทโฟน และเว็บไซต์ (ดำเนินการปี 2567)

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

การจัดทำแอพพลิเคชั่นบนสมาร์ทโฟน และเว็บไซต์ (ดำเนินการปี 2567)

ดำเนินการทดสอบการใช้แอพพลิเคชั่นทั้งในระดับห้องปฏิบัติการคือ การกำหนดบุคคลเป้าหมายเพื่อใช้ประโยชน์ ทดลองการสื่อสารทั้งทางตรงและย้อนกลับ คือการพิมพ์ชื่อศัตรูธรรมชาติในแอพพลิเคชั่น และหน้าจอจะแสดงรายละเอียด แหล่งที่เก็บตัวอย่าง แผนที่ รายละเอียดทางวิชาการ

QR-Code และ แหล่งที่ตัวอย่างถูกเก็บรักษา (collection depository) ทดสอบย้อนกลับคือ การนำตัวอย่างที่เก็บรักษาอยู่ในพิพิธภัณฑ์แมลงมาสแกน QR-Code หน้าจอจะแสดงรูปแบบแสดงผลเช่นเดียวกัน ทดสอบภาคสนามโดยการติดตั้งใน App Store และ

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลอง ณ พิพิธภัณฑ์แมลง กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

QR Code และตัวอย่างตั๊กแตน_1.ติดตั้ง QR Code และรายละเอียด กับตัวอย่างตั๊กแตนอย่างน้อย 1971 ตัวอย่าง _2.กำหนดหีบและตู้ในการจัดเก็บ โดยไม่มีการเคลื่อนย้ายและสับเปลี่ยน จำนวน 28 ลิ้นชัก 2 ตู้ ศึกษากระบวนการเพื่อพัฒนาระบบการจัดเก็บตัวอย่างเพื่อง่ายต่อการสืบค้นตรวจสอบย้อนกลับและการถ่ายโอนข้อมูลสู่ระบบฐานข้อมูล สร้าง Model ฐานข้อมูล ประกอบด้วยส่วนต่างในฐานได้แก่ [Specimen section]; [Determination]; [Status]; [Locality and Collecting data]; [Biology] และ [Image] กำหนดการเข้าถึงข้อมูลโดยผู้ใช้โปรแกรม ดำเนินการให้มีผู้ตรวจสอบและอนุมัติข้อมูลให้มีการจัดเก็บ ปัจจุบันมีตัวอย่างอยู่ในฐานข้อมูลผ่านการตรวจสอบแล้ว 1,300 ตัวอย่าง และได้โมเดลเบื้องต้นเพื่อการตรวจสอบย้อนกลับระหว่างระบบฐานข้อมูลและตัวอย่างตั๊กแตนในพิพิธภัณฑ์วิชาการ สามารถสืบค้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสร้างแอปพลิเคชันฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน mn มีหลักการคล้ายกับการสร้างตู้อินเด็กซ์ในห้องสมุด การค้นคว้าหรือการหาข้อมูลของตั๊กแตนสามารถทำได้บนสมาร์ทโฟนหรือเว็บไซต์ และจะรู้ถึงแหล่งที่เก็บตัวอย่างง่ายต่อการเข้าถึง ความก้าวหน้าโดยสรุปคือ ระบบการจัดกับตัวอย่างด้วย QR Code และตัวอย่างตั๊กแตน ได้แก่ ติดตั้ง QR Code และรายละเอียด กับตัวอย่างตั๊กแตน อย่างน้อย 1971 ตัวอย่าง กำหนดหีบและตู้ในการจัดเก็บ โดยไม่มีการเคลื่อนย้ายและสับเปลี่ยน จำนวน 28 ลิ้นชัก 2 ตู้ ศึกษากระบวนการเพื่อพัฒนาระบบการจัดเก็บตัวอย่างเพื่อง่ายต่อการสืบค้นตรวจสอบย้อนกลับและการถ่ายโอนข้อมูลสู่ระบบฐานข้อมูล สร้าง Model ฐานข้อมูล ประกอบด้วยส่วนต่างในฐานได้แก่ [Specimen section]; [Determination]; [Status]; [Locality and Collecting data]; [Biology] และ [Image] กำหนดการเข้าถึงข้อมูลโดยผู้ใช้โปรแกรม ดำเนินการให้มีผู้ตรวจสอบและอนุมัติข้อมูลให้มีการจัดเก็บ ปัจจุบันมีตัวอย่างอยู่ในฐานข้อมูลผ่านการตรวจสอบแล้ว 1,300 ตัวอย่าง และได้

โมเดลเบื้องต้นเพื่อการตรวจสอบย้อนกลับระหว่างระบบฐานข้อมูลและตัวอย่างตั๊กแตนในพิพิธภัณฑ์วิชาการ สามารถสืบค้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ในด้านวิชาการ นักวิจัย นักวิชาการเกษตร บัณฑิตศึกษา อาจารย์มหาวิทยาลัย สามารถเข้าถึงข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน ได้โดยง่าย เกิดงานวิจัยเกี่ยวกับตั๊กแตนอย่างกว้างขวาง ทั้งในแง่ของศัตรูพืช แมลงกินได้ ส่งผลต่อการสร้างอาชีพ และการแก้ปัญหาที่จะเกิดขึ้นในอนาคต ส่วนในด้านสังคมและสิ่งแวดล้อมนั้น ทำให้มีการตระหนักถึงคุณค่าและประโยชน์ ของความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

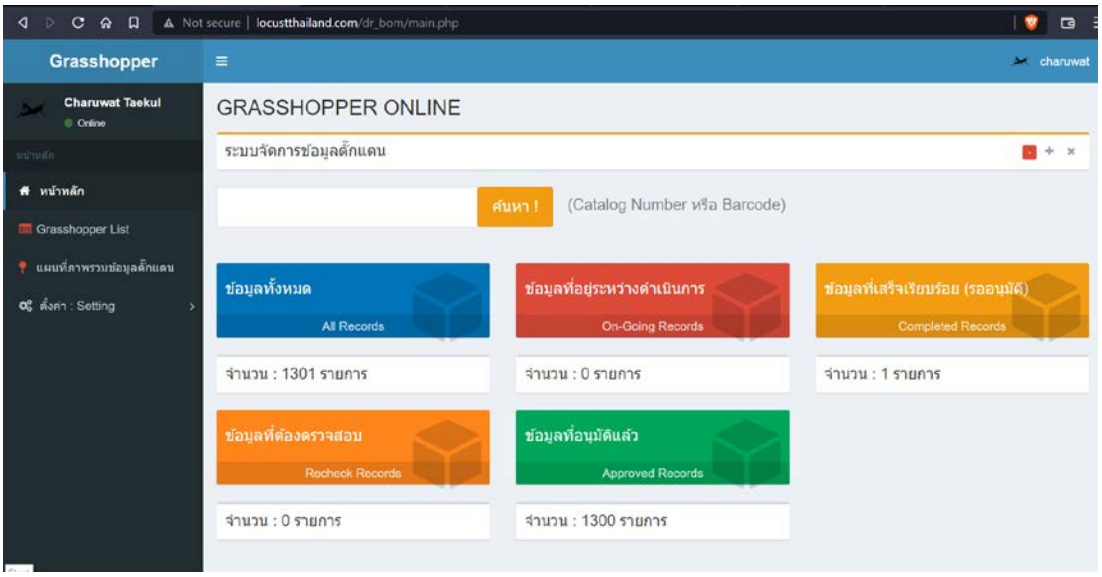
Hemery, Y. M., L. Fontan, A. Laillou, V. Jallier, R. Moench-Pfanner, S. Avallone, and J. Berger. 2020. Influence of storage conditions and packaging of fortified wheat flour on microbial load and stability of folate and vitamin B12. Food Chemistry: X. 5: doi.org/10.1016/j.fochx.2019.100076.

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

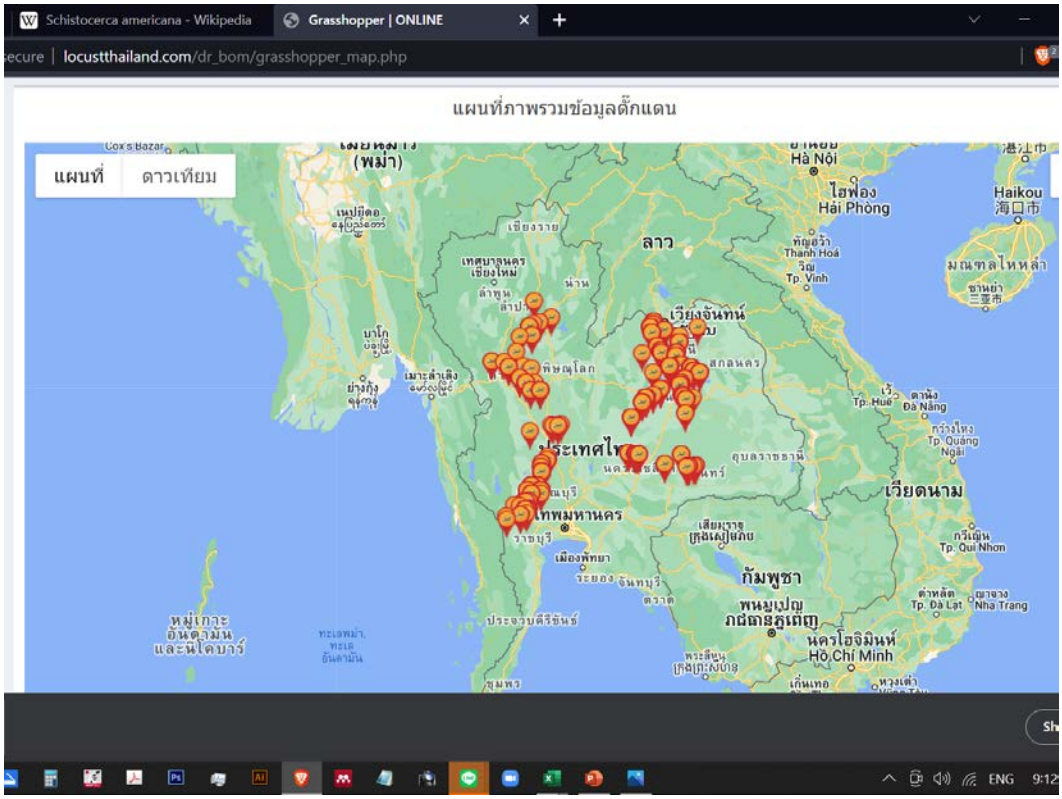
Kinyuru J.N., G. M. Kenji, S. N. Muhoho, and M. Ayieko. 2011. Nutritional potential of longhorn grasshopper (Ruspolia differens) consumed in Siaya district, Kenya. Journal of Agriculture Science and Technology. 12: 32 – 46.

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

ภาพที่ 1 การติดตั้งคิวอาร์โค้ดในตัวอย่างตั๊กแตน และการจัดการฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพ



ภาพที่ 2 การใส่ชุดฐานข้อมูลบนเว็บไซต์จากตัวอย่าง ตั๊กแตนในพิพิธภัณฑ์แมลง



ภาพที่ 3 การเชื่อมต่อระหว่าง ชุดฐานข้อมูล และแหล่งที่เก็บตัวอย่างจริงภายในประเทศ

พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius)

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

ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ นันทนัช พินศรี ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่าสีส้ม *Micarpis discolor* (Fabricius) ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2565 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสูตรอาหารเทียมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การวางไข่ และการเพิ่มปริมาณของด้วงเต่าสีส้ม *Micarpis discolor* (Fabricius) เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร ทดสอบประสิทธิภาพในการกินเพลี้ยอ่อนถั่วของด้วงเต่าสีส้ม *Micarpis discolor* (Fabricius) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเทียม ศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีต่อด้วงเต่าสีส้ม *Micarpis discolor* (Fabricius) เริ่มศึกษาในปี 2565 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius) สามารถเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมากในห้องปฏิบัติการได้ โดยใช้เพลี้ยอ่อน และน้ำผึ้งเป็นอาหาร

การเตรียมอาหารเทียมสูตรต่างๆ ได้อัตราส่วนที่เหมาะสม คือ โปรตีน 50 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร ผงวุ้น 6 กรัม ยีสต์ 4 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร โดยสามารถใช้โปรตีนจากผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่วจิ้งหรีดอบแห้ง ดักแด้หนอนไหม ยกเว้นโปรตีนหางนมซึ่งเกิดการเสียสภาพและไม่จับตัวเป็นก้อน

คำหลัก : ด้วงเต่าสีส้ม ตัวห้ำ การควบคุมโดยชีววิธี อาหารเทียม

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-01-65

คำนำ

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

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

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

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

วิธีการ

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

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

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

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

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

- บันทึกข้อมูล จำนวนด้วงเต่าสีส้มที่เก็บได้ วันที่เก็บ สถานที่เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลจำนวนด้วงเต่าสีส้มที่เพาะเลี้ย

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

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

กรรมวิธีที่ 1 อาหารเทียมสูตรผงไข่ขาว

กรรมวิธีที่ 2 อาหารเทียมสูตรผงไข่แดง

กรรมวิธีที่ 3 อาหารเทียมสูตรเคซีนโปรตีน

กรรมวิธีที่ 4 อาหารเทียมสูตรโปรตีนหางนม

กรรมวิธีที่ 5 อาหารเทียมสูตรผงถั่วเหลือง

กรรมวิธีที่ 6 อาหารเทียมสูตรโปรตีนถั่ว

กรรมวิธีที่ 7 อาหารเทียมสูตรจิ้งหรีดอบแห้ง

กรรมวิธีที่ 8 อาหารเทียมสูตรดักแด้หนอนไหม

กรรมวิธีที่ 9 เพลี้ยอ่อนถั่ว (Control)

2.2 นำโปรตีนชนิดต่างๆ มาทำอาหารเทียม โดยเคี่ยววุ้นแล้วนำไปปั่นผสมกับ โปรตีนชนิดต่างๆ ผสมกับวิตามินซี ยีสต์ น้ำตาลกลูโคส ฟอร์มาลีน และน้ำกลั่น เมื่อผสมเข้ากันดีแล้ว นำไปเทใส่กล่องพลาสติกขนาด 16x11x4 เซนติเมตร ให้อาหารสูงประมาณ 1 เซนติเมตร ทิ้งให้เย็นและคงรูป

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

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

-บันทึกข้อมูลการกินอาหารเทียมและการเจริญเติบโตของด้วงเต่าสีส้ม

-การเจริญเติบโตของด้วงเต่าสีส้มที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2564-กันยายน 2565

ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกรในเขตภาคกลาง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius) สามารถเก็บได้จากแปลงปลูกข้าวโพด มะเขือเปราะ ถั่วฝักยาว คะน้า ของเกษตรกรที่มีการเข้าทำลายของศัตรูพืชชนิดต่างๆ เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง ไร ในจังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี สุพรรณบุรี และนครปฐม เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการโดยให้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร เพลี้ยอ่อน และน้ำผึ้งเป็นอาหาร สามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้

การเตรียมอาหารเทียมสูตรต่างๆ โดยใช้โปรตีนจากผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน โปรตีนหางนม ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่ว จิ้งหรีดอบแห้ง ดักแด้หนอนไหม ซึ่งสามารถจัดหาหรือสั่งซื้อได้ทั่วไป โดยโปรตีนที่อยู่ในรูปผงสำเร็จรูปสามารถนำมาใช้ทำอาหารเทียมได้โดยตรง ยกเว้นโปรตีนจากหนอนไหมซึ่งเป็นดักแด้หนอนไหมต้องนำไปปั่นละเอียดก่อนนำมาทำอาหารเทียม โดยปริมาณส่วนผสมต่างๆ ที่ใส่ในอาหารเทียมได้มีการปรับเปลี่ยนเพื่อให้อาหารเทียมมีความเหมาะสม เช่น ปรับปริมาณน้ำให้เพิ่มขึ้นเนื่องจากการเคี่ยววุ้นทำให้น้ำระเหยไปในปริมาณมากจำเป็นต้องเพิ่มปริมาณน้ำ ปรับปริมาณฟอร์มาลีนเนื่องจากเกิดปัญหาอาหารเทียมเน่าเสียจากแบคทีเรีย และเก็บในตู้เย็นได้ไม่นาน

โดยสังเกตุการเน่าเสียของอาหารเทียมซึ่งควรเก็บในตู้เย็นได้นาน 4-6 สัปดาห์ จึงเพิ่มปริมาณฟอร์มาลีน ผงวุ้นมีการปรับเพิ่มปริมาณเพื่อให้อาหารเทียมมีการคงตัวมากขึ้น การใช้น้ำผึ้งทดแทนการใช้น้ำตาลเพื่อให้อาหารเทียมมีอายุการเก็บรักษานานขึ้น และเมื่อได้อัตราส่วนที่เหมาะสม คือ โปรตีน 50 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร ผงวุ้น 6 กรัม ยีสต์ 4 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร จึงทำอาหารเทียมสูตรต่างๆ และนำไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่าสีส้ม *M. discolor* เพื่อศึกษาวงจรชีวิตของด้วงเต่าต่อไป และจากการเก็บข้อมูลพบว่าอาหารเทียมที่ใช้โปรตีนหางนมไม่สามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงด้วงเต่าได้ เนื่องจากโปรตีนเสียสภาพจากความร้อน และไม่สามารถจับตัวเป็นก้อนได้ อาหารที่ได้มีลักษณะคล้ายโฟม มีปริมาณน้ำมากไม่เหมาะที่จะนำมาเพาะเลี้ยงด้วงเต่า ส่วนอาหารเทียมชนิดอื่นๆ สามารถนำไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่าสีส้ม *M. discolor* ได้ และอยู่ในระหว่างการเก็บข้อมูลวงจรชีวิตของด้วงเต่า

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius) สามารถเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมากในห้องปฏิบัติการได้ โดยใช้เพลี้ยอ่อน และน้ำผึ้งเป็นอาหาร

การเตรียมอาหารเทียมสูตรต่างๆ มีอัตราส่วนที่เหมาะสม คือ โปรตีน 50 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร ผงวุ้น 6 กรัม ยีสต์ 4 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร โดยสามารถใช้โปรตีนจากผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่ว จิ้งหรีดอบแห้ง ดักแด้หนอนไหม ยกเว้นโปรตีนหางนมซึ่งเกิดการเสียสภาพและไม่จับตัวเป็นก้อนอาหาร

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนางสาววิภาวดี เครือวงศ์ นางสาวกษมา นามแดง และเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

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

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

ผงถั่วเหลือง โปรตีนหางนม หนอนไหมปั่นละเอียด ผงจิ้งหรีด

ภาพที่ 1 โปรตีนชนิดต่างๆ ที่นำมาทำอาหารเทียม

ตัวเต็มวัย ตัวอ่อน

ภาพที่ 2 การเพาะเลี้ยงด้วงเต่าสีส้ม *Micarpis discolor* (Fabricius) ด้วยอาหารเทียม

พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่าลายหยัก *Coccinella transversalis* Fabricius

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

ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ นันทนัช พินศรี ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ สาทิพย์ มาลี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่าลายหยัก *Coccinella transversalis* Fabricius ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2565 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสูตรอาหารเทียมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การวางไข่ และการเพิ่มปริมาณของด้วงเต่าลายหยักเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร ทดสอบประสิทธิภาพในการกินเพลี้ยอ่อนถั่วของด้วงเต่าลายหยักที่เลี้ยงด้วยอาหารเทียม เริ่มศึกษาในปี 2565 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้วงเต่าลายหยักสามารถเพาะเลี้ยงให้ได้ในห้องปฏิบัติการได้ โดยใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร เพลี้ยอ่อน และน้ำผึ้งเป็นอาหาร การเตรียมอาหารเทียมสูตรต่างๆ ได้อัตราส่วนที่เหมาะสม คือ โปรตีน 50 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร ผงวุ้น 6 กรัม ยีสต์ 4 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร โดยสามารถใช้โปรตีนจากผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่วจิ้งหรีดอบแห้ง ดักแด้หนอนไหม ยกเว้นโปรตีนหางนมซึ่งเกิดการเสียสภาพและไม่จับตัวเป็นก้อน

คำหลัก : ด้วงเต่าลายหยัก ตัวห้ำ อาหารเทียม การควบคุมโดยชีววิธี

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-02-65

คำนำ

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

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ ถุงพลาสติก ตะกร้า กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 19x28x11 เซนติเมตร กล้องบันทึกภาพ

2. อุปกรณ์เพาะเลี้ยงด้วงเต่าลายหยัก ได้แก่ กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 22x15x5 เซนติเมตร ปากคีบ น้ำผึ้ง น้ำกลั่น พู่กัน ไข่ผีเสื้อข้าวสาร

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

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 เก็บรวบรวมด้วงเต่าลายหยัก *C. transversalis* Fabricius จากแปลงเกษตรกรและเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ (2565)

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

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

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

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

- บันทึกข้อมูล จำนวนด้วงเต่าลายหยักที่เก็บได้ วันที่เก็บ สถานที่เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลจำนวนด้วงเต่าลายหยักที่เพาะเลี้ย

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

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

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

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

2.3 นำอาหารเทียมที่ได้ไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่าให้ครบวงจรชีวิต โดยนำด้วงเต่าลายหยักระยะตัวอ่อนวัย 1 ถึงระยะตัวเต็มวัย วัยละ 30 ตัว มาเลี้ยงในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ ใส่ต้นอ่อนทานตะวันสำหรับเป็นที่อาศัย ให้อาหารเทียมสูตรต่างๆ บันทึกข้อมูลการกินอาหารทุกวัน จนกระทั่งด้วงเต่าลายหยักเจริญครบวงจรชีวิต หรือตาย นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

- บันทึกข้อมูลการกินอาหารเทียมและการเจริญเติบโตของด้วงเต่าลายหยัก
- การเจริญเติบโตของด้วงเต่าลายหยักที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2564-กันยายน 2565
- ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ แปลงเกษตรกรในเขตภาคกลาง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ด้วงเต่าลายหยักสามารถเก็บได้จากแปลงปลูกข้าวโพด ถั่วฝักยาว คะน้า เผือก ของเกษตรกรที่มีการเข้าทำลายของศัตรูพืชชนิดต่างๆ เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง ในจังหวัดกาญจนบุรี และนครปฐม เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการโดยให้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร เพลี้ยอ่อน และน้ำผึ้งเป็นอาหาร สามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้

อาหารเทียมสูตรที่เตรียมจากโปรตีนชนิดต่างๆ ได้แก่ ผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน โปรตีนหางนม ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่ว จิ้งหรีดอบแห้ง และดักแด้หนอนไหม ซึ่งสามารถซื้อได้ทั่วไป โดยโปรตีนที่อยู่ในรูปผงสำเร็จรูปสามารถนำมาใช้ทำอาหารเทียมได้โดยตรง ยกเว้นโปรตีนจากดักแด้หนอนไหมต้องนำไปปั่นละเอียดก่อนนำมาทำอาหารเทียม โดยปริมาณส่วนผสมต่างๆ ที่ใส่ในอาหารเทียมได้มีการปรับเปลี่ยนเพื่อให้อาหารเทียมมีความเหมาะสม เช่น ปรับปริมาณน้ำให้เพิ่มขึ้นเนื่องจากการเคี่ยววุ้นทำให้น้ำระเหยไปในปริมาณมากจำเป็นต้องเพิ่มปริมาณน้ำ เพิ่มปริมาณฟอร์มาลีนเพื่อให้อาหารเทียมเน่าเก็บรักษาในตู้เย็นได้นานขึ้น เพิ่มปริมาณผงวุ้นเพื่อให้อาหารเทียมมีการแข็งตัวได้ดีขึ้น ได้อัตราส่วนอาหารเทียมที่เหมาะสม คือ โปรตีน 50 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร ผงวุ้น 6 กรัม ยีสต์ 4 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร และได้นำอาหารเทียมสูตรต่างๆไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่าลายหยักเพื่อศึกษาวงจรชีวิตของด้วงเต่าต่อไป นอกจากนี้โดยพบว่าอาหารเทียมที่ใช้โปรตีนหางนมไม่สามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงด้วงเต่าได้ เนื่องจากโปรตีนเสียสภาพจากความร้อน และไม่สามารถจับตัวเป็นก้อนได้ อาหารที่ได้มีปริมาณน้ำมากไม่เหมาะที่จะนำมาเพาะเลี้ยงด้วงเต่า ส่วนอาหารเทียมชนิดอื่นๆ สามารถนำไปเพาะเลี้ยงด้วงได้ และอยู่ในระหว่างการเก็บข้อมูลวงจรชีวิตของด้วงเต่า

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ด้วงเต่าลายหยักสามารถเพาะเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการโดยใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร เพลี้ยอ่อน และน้ำผึ้งเป็นอาหาร อัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับอาหารเทียมสูตรต่างๆ คือ โปรตีน 50 กรัม ฟอร์มาลีน 0.4 มิลลิลิตร ผงวุ้น 6 กรัม ยีสต์ 4 กรัม วิตามินรวม 2 มิลลิลิตร น้ำผึ้ง 20 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร โดยสามารถใช้โปรตีนจากผงไข่ขาว ผงไข่แดง เคซีนโปรตีน ผงถั่วเหลือง โปรตีนถั่วจิ้งหรีดอบแห้ง ดักแด้หนอนไหม ยกเว้นโปรตีนหางนมซึ่งเกิดการเสียสภาพและไม่จับตัวเป็นก้อน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนางสาววิภาวดี เครือวงศ์ นางสาวกษมา นามแดง และเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

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

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

ฟอร์มาลีน ยีสต์ น้ำผึ้ง ดักแด้หนอนไหม

ภาพที่ 1 ส่วนผสมต่างๆ ที่นำมาทำอาหารเทียม

ภาพที่ 2 อาหารเทียมที่ปั่นผสมและทิ้งไว้ให้แข็งตัว

ภาพที่ 3 การนำอาหารเทียมไปเพาะเลี้ยงด้วงเต่าลายหยัก *Coccinella transversalis* Fabricius

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

Development on Mass Rearing of Coccinellid Predator, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) With Prey for Controlling Mealybug

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

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดเพลี้ยแป้งที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก *Planococcus minor* (Maskell) เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero และเพลี้ยแป้งชบา *Maconellicoccus hirsutus* (Green) พบว่าด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* มีระยะการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน มีระยะไข่อายุ 3-5 วัน ระยะหนอนอายุ 19-25 วัน ระยะดักแด้อายุ 7-8 วัน เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู และเพลี้ยแป้งชบา ตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุ 81-160 31-109 และ 89-176 วัน ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุ 102-172 63-116 และ 104-181 วัน ตามลำดับ การเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก ตัวเต็มวัยด้วงเต่าวางไข่ได้มากที่สุดเฉลี่ย 805.86±29.80 ฟอง รองลงมาคือเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชบา และเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูวางไข่เฉลี่ย 791.14±25.29 และ 446.86±29.97 ฟอง ตามลำดับ

การศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู และเพลี้ยแป้งชบา พบว่าด้วงเต่าตัวห้ำที่เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชบามีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (R_o) สูงที่สุด รองลงมาคือเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิกและเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ดังนั้น เพลี้ยแป้งชบามีความเหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* มากที่สุด จึงเลือกเพลี้ยแป้งชบาไปศึกษาศักยภาพการกินเพลี้ยแป้งของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ในปี 2566 ต่อไป

คำหลัก : การเพาะเลี้ยง ด้วงเต่าตัวห้ำ *Cryptolaemus montrouzieri* เพลี้ยแป้ง

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-03-65

คำนำ

ด้วงเต่า *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่สำคัญชนิดหนึ่งช่วยควบคุมประชากรของเพลี้ยแป้งได้หลายชนิดและทุกระยะการเจริญเติบโต ด้วงเต่าทั้งระยะหนอนและตัวเต็มวัยเป็นตัวห้ำที่มีศักยภาพสามารถนำไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งในพืชชนิดต่างๆ เช่น เพลี้ยแป้งสับปะรด *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) เพลี้ยแป้งชบาสีชมพู *Maconellicoccus hirsutus* (Green) เพลี้ยแป้งสำลี *Nipaecoccus viridis* (Newstead) เพลี้ยแป้งนุ่น *Rastrococcus iceryoides* (Green) เพลี้ยแป้งมังคุด *Pseudococcus cryptus* Hempel เพลี้ยแป้งส้ม *Planococcus citri* (Risso) เพลี้ยแป้งกาแฟ *Planococcus lilacinus* (Cockerell) เพลี้ยแป้งหางยาว *Pseudococcus adonidum* (Linnaeus) เพลี้ยแป้งโกศล *Icerya aegyptica* (Douglas) และตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอ้อยสีชมพู *Saccharicoccus sacchari* (Cockerell) (บุปผาและชลิดา, 2543; สมหมาย, 2545) เป็นต้น มีการนำด้วงเต่า *C. montrouzieri* ไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งอย่างแพร่หลายในหลายประเทศซึ่งช่วยลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสวนส้ม ฝรั่ง และองุ่น (Mani and Krishnamoorthy, 2008; Mani and Krishnamoorthy, 2007) สามารถนำไปใช้ป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งร่วมกับศัตรูธรรมชาติชนิดอื่นๆได้ อีกทั้งด้วงเต่า *C. montrouzieri* สามารถผลิตขยายให้มีปริมาณมากในห้องปฏิบัติการ (รจนา และคณะ, 2558) และมีแนวโน้มในการนำไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งโดยชีววิธีในสภาพไร่ ซึ่งการนำด้วงเต่าไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งในสภาพไร่นั้นจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของวิธีการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณให้เพียงพอต่อการนำไปใช้ประโยชน์ ดังนั้น เพื่อให้งานวิจัยดำเนินการไปอย่างต่อเนื่อง และเพื่อให้มีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพในอนาคต จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เพิ่มเติม โดยศึกษาชนิดเพลี้ยแป้งที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ ศึกษาศักยภาพการกินเพลี้ยแป้งของด้วงเต่าตัวห้ำ ศึกษาอาหารที่ใช้เลี้ยงตัวเต็มวัยด้วงเต่าตัวห้ำ และศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เพื่อให้มีปริมาณเพียงพอต่อการนำไปใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งโดยชีววิธีและผสมผสานกับวิธีการอื่น มุ่งเน้นให้งานวิจัยสามารถถ่ายทอดไปถึงเกษตรกร ภาคเอกชน และบุคคลในเป้าหมาย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แมลงที่ใช้ศึกษา ได้แก่ ด้วงเต่า *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant เพลี้ยแป้งแปซิฟิก *Planococcus minor* (Maskell) เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero เพลี้ยแป้งชบา *Maconellicoccus hirsutus* (Green)

2. พืชอาหาร/อาหารเลี้ยงแมลง ได้แก่ ผลฟักทอง ต้นชบา ต้นมันสำปะหลัง น้ำผึ้ง เยลลี่สำเร็จรูป

3. อุปกรณ์เลี้ยงแมลง ได้แก่

1) กล่องพลาสติก ขนาด 8.5X13X7 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงลวดละเอียด

2) กล่องพลาสติกกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร

3) กรงผ้าตาข่ายถี่ ขนาด 30x30x30 เซนติเมตร

4) กรงผ้าตาข่ายถี่ ขนาด 55x75x55 เมตร

5) ตะกร้าพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร

6) ฟองน้ำอเนกประสงค์

7) ปากคีบ

8) พู่กัน

9) กระดาษกรอง

10) กระดาษทิชชู

วิธีการ

การเตรียมการทดลอง

1. การเพาะเลี้ยงเพลี้ยแป้งชนิดต่างๆ

1.1 เพลี้ยแป้งแปซิฟิก *Planococcus minor* (Maskell)

เก็บรวบรวมผลน้อยหน่าจากแปลงปลูกน้อยหน่า ทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณโดยนำผลน้อยหน่าที่มีเพลี้ยแป้งมาวางลงบนผลฟักทองที่วางบนตะกร้าพลาสติกที่ใส่ไว้ในกรงผ้าตาข่ายถี่ ปล่อยให้เพลี้ยแป้งเจริญเติบโตบนผลฟักทอง 3-4 สัปดาห์ จึงนำใช้ในการทดลอง

1.2 เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero

เก็บรวบรวมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูจากแปลงปลูกมันสำปะหลัง ทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ โดยนำยอดและใบมันสำปะหลังที่มีเพลี้ยแป้งมาวางลงบนผลฟักทองที่วางบนตะกร้าพลาสติกที่ใส่ไว้ในกรงผ้าตาข่ายถี่ขนาด 55x75x55 เซนติเมตร ปล่อยให้เพลี้ยแป้งเจริญเติบโตบนผลฟักทอง 3-4 สัปดาห์ จึงนำใช้ในการทดลอง

1.3 เพลี้ยแป้งชบา *Maconellicoccus hirsutus* (Green)

เก็บรวบรวมเพลี้ยแป้งชบาจากต้นชบา ทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ โดยนำใบและยอดชบาที่มีเพลี้ยแป้งมาวางลงบนผลฟักทองที่วางบนตะกร้าพลาสติกที่ใส่ไว้ในกรงผ้าตาข่ายถี่ปล่อยให้เพลี้ยแป้งเจริญเติบโตบนผลฟักทอง 3-4 สัปดาห์ จึงนำใช้ในการทดลอง

2. การเพาะเลี้ยงด้วงเต่า *C. montrouzieri*

นำผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งเต็มผลใส่ในกรงผ้าตาข่ายขนาด 55x75x55 เซนติเมตร จำนวน 5-7 ผล ใส่ตัวเต็มวัยจำนวน 50 คู่ ภายในกรงเลี้ยงแมลงมีน้ำผึ้ง 20% เป็นอาหารเพิ่มเติม ปล่อยไว้ 1 สัปดาห์ ตัวเต็มวัยจะจับคู่ผสมพันธุ์และวางไข่บริเวณที่มีเพลี้ยแป้งบนผลฟักทอง นำตัวเต็มวัยออกใส่กรงตาข่ายใหม่ภายในมีฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งเต็มผล เมื่อไข่ฟักออกเป็นตัวหนอน หนอนด้วงเต่าจะกินเพลี้ยแป้งและเจริญเติบโตเข้าดักแด้บนผลฟักทองจากนั้นออกเป็นตัวเต็มวัย ทำการเปลี่ยนฟักทองเมื่อด้วงเต่ากินเพลี้ยแป้งหมดหรือฟักทองเริ่มเน่า

ขั้นตอนที่ 1 การศึกษาชนิดเพลี้ยแป้งที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C .montrouzieri*

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

1.1 ศึกษาวงจรชีวิตด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชนิดต่างๆ

รวบรวมไข่ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จำนวน 20 ฟอง วางบนกระดาษกรองนำไปใส่ในกล่องพลาสติก 8.5X13X7 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงลวดละเอียด เมื่อไข่ฟักเป็นหนอนใช้พู่กันเขี่ยหนอนด้วงเต่าแต่ละตัวไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร เพลี้ยแป้งที่เป็นอาหารทุกวันจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยให้น้ำผึ้ง 20% เป็นอาหารกับตัวเต็มวัยเพิ่มเติม บันทึกข้อมูลช่วงอายุการเจริญเติบโตของด้วงเต่าในแต่ละระยะการเจริญเติบโต อัตราส่วนเพศผู้และเพศเมีย จำนวนไข่ที่ตัวเต็มวัยเพศเมียวางได้จนกระทั่งตัวเต็มวัยตายหมด

1.2 การศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C .montrouzieri*

รวบรวมไข่ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จำนวน 100 ฟอง วางบนกระดาษกรองนำไปใส่ในกล่องพลาสติก 8.5X13X7 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงลวดละเอียด เมื่อไข่ฟักเป็นหนอน นำหนอนด้วงเต่าตัวห้ำไปเลี้ยงในกรงผ้าตาข่ายถี่ ขนาด 30x30x30 เซนติเมตร ภายในกรงผ้าตาข่ายถี่มีเพลี้ยแป้งที่เจริญเติบโตบนผลฟักทองเต็มผล เปลี่ยนผลฟักทองเมื่อฟักทองเริ่มเน่าหรือเพลี้ยแป้งหมด เลี้ยงจนด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เป็นตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมียมาผสมพันธุ์และวางไข่ บันทึกข้อมูลจำนวนไข่ของเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ทุกวัน จนกระทั่งด้วงเต่าตัวห้ำตาย นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างตารางชีวิตแบบ biological life table

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2565 - กันยายน 2567
- ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ
- กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.1 การศึกษาวงจรชีวิตของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชนิดต่างๆ

จากการศึกษาวงจรชีวิตของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งแปซิฟิก *P. minor* เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* พบว่าด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* สามารถเจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตได้ โดยระยะการเจริญเติบโตเมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด มีดังนี้

เมื่อเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก *P. minor* พบว่า ระยะไข่อายุ 3-5 วัน เฉลี่ย 4.20±0.77 วัน ระยะหนอน มี 4 วัย หนอนวัยที่ 1-4 มีอายุเฉลี่ย 3.32±0.48 3.06±0.24 3.06±0.24 และ 7.17±0.38 วัน ตามลำดับ รวมระยะหนอนมีอายุ 19-25 วัน เฉลี่ย 20.67±1.61 วัน ระยะก่อนเข้าดักแด้ อายุ 1-2 วัน เฉลี่ย 1.06±0.24 วัน ระยะดักแด้ อายุ 7-8 วัน เฉลี่ย 7.28±0.46 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้อายุ 81-160 วัน เฉลี่ย 108.71±29.70 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 102-172 วัน เฉลี่ย 129.86±25.99 วัน รวมระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยอายุ 27-35 วัน เฉลี่ย 29.00±2.17 วัน มีระยะก่อนวางไข่ 6-7 วัน อัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.57 แตนเบียนเพศเมีย 1 ตัว วางไข่ได้ 779-854 ฟอง เฉลี่ย 805.86±29.80 ฟอง (Table 1)

เมื่อเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ด้วยเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* พบว่าระยะไข่อายุ 3-5 วัน เฉลี่ย 4.15±0.75 วัน ระยะหนอน มี 4 วัย หนอนวัยที่ 1-4 มีอายุเฉลี่ย 3.42±0.51 3.12±0.33 3.06±0.24 และ 7.71± 0.47 วัน ตามลำดับ รวมระยะหนอนมีอายุ 19-25 วัน เฉลี่ย 21.24±1.79 วัน ระยะก่อนเข้าดักแด้ อายุ 1-2 วัน เฉลี่ย 1.12±0.33 วัน ระยะดักแด้อายุ 7-8 วัน เฉลี่ย 7.47±0.51 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้อายุ 31-109 วัน เฉลี่ย 75.57±24.76 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 63-116 วัน เฉลี่ย 95.57±18.88 วัน รวมระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย อายุ 27-35 วัน เฉลี่ย 29.82±2.43 วัน มีระยะก่อนวางไข่ 6-7 วัน อัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมียเท่ากับ 1 : 1.43 แตนเบียนเพศเมีย 1 ตัว วางไข่ได้ 398-501 ฟอง เฉลี่ย 446.86±29.97 ฟอง (Table 2)

เมื่อเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ด้วยเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* พบว่าระยะไข่อายุ 3-5 วัน เฉลี่ย 4.70±0.57 วัน ระยะหนอน มี 4 วัย หนอนวัยที่ 1-4 มีอายุเฉลี่ย 3.06±0.24 3.88±0.33 3.06±0.24 และ 7.06± 0.24 วัน ตามลำดับ รวมระยะหนอนมีอายุ 20-22 วัน เฉลี่ย 21.88±0.49 วัน ระยะก่อนเข้าดักแด้อายุ 1-2 วัน เฉลี่ย 1.06±0.24 วัน ระยะดักแด้ อายุ 7-8 วัน เฉลี่ย 7.06±0.24 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้อายุ 89-176 วัน เฉลี่ย 113.86±28.86 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 104-181 วัน เฉลี่ย 127.71±27.75 วัน รวมระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย 32-61 วัน เฉลี่ย 34.88±0.78 วัน มีระยะก่อนวางไข่ 6-7 วัน อัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.13 แตนเบียนเพศเมีย 1 ตัว วางไข่ได้ 750-827 ฟอง เฉลี่ย 791.14±25.29 ฟอง (Table 3)

1.2 การศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C .montrouzieri* การศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table

จากการศึกษาตารางชีวิตแบบแบบ biological life table ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งแปซิฟิก *P. minor* เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* (Table 4) พบว่าเมื่อเลี้ยงด้วงเต่าด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก มีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (Net reproductive rate of increase, R_o) เท่ากับ 75.580 เท่า ชั่วอายุขัยของกลุ่ม (Cohort generation time, T_c) เท่ากับ 49.972 วัน อัตราการเพิ่มโดยกรรมพันธุ์ (Capacity for increase, r_c) เท่ากับ 0.087 อัตราการเพิ่มที่แท้จริง (Finite rate of increase, λ) เท่ากับ 1.090 ตัวเต็มวัยเริ่มวางไข่ในวันที่ 6 หลังออกเป็นตัวเต็มวัย และวางไข่สูงสุดใน

วันที่ 3 ของการวางไข่ ซึ่งเมื่อเลี้ยงด้วงเต่าด้วยเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู มีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิเท่ากับ 67.900 เท่า ชั่วอายุขัยของกลุ่มเท่ากับ 47.937 วัน อัตราการเพิ่มโดยกรรมพันธุ์เท่ากับ 0.088 อัตราการเพิ่มที่แท้จริงเท่ากับ 1.092 ตัวเต็มวัยเริ่มวางไข่ในวันที่ 6 หลังออกเป็นตัวเต็มวัย และวางไข่สูงสุดในวันที่ 6 ของการวางไข่ ในขณะที่เลี้ยงด้วงเต่าด้วยเพลี้ยแป้งชบา มีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิเท่ากับ 137.350 เท่า ชั่วอายุขัยของกลุ่ม เท่ากับ 49.657 วัน อัตราการเพิ่มโดยกรรมพันธุ์เท่ากับ 0.099 อัตราการเพิ่มที่แท้จริงเท่ากับ 1.104 ตัวเต็มวัยเริ่มวางไข่ในวันที่ 6 หลังออกเป็นตัวเต็มวัย และวางไข่สูงสุดในวันที่ 9 ของการวางไข่

จากการศึกษาตารางชีวิตแบบแบบ biological life table ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูและเพลี้ยแป้งชบา ซึ่งค่าอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (R_o) บ่งบอกว่าด้วงเต่าตัวห้ำที่เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชบาสามารถผลิตลูกรุ่นต่อไปได้สูงกว่าเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิกและเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู 1.817 และ 2.023 เท่า ตามลำดับ มีอัตราการเพิ่มโดยกรรมพันธุ์ (r_c) อัตราการเพิ่มที่แท้จริง (λ) สูงกว่าเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิกและเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู มีชั่วอายุขัยของกลุ่ม (T_c) เท่ากับ 49.657 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิกและเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู (49.972 และ 47.937 วัน) ดังนั้น เพลี้ยแป้งชบามีความเหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* มากที่สุด ซึ่งสามารถนำเพลี้ยแป้งแปซิฟิกและเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูมาใช้เพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำได้เช่นกัน จึงเลือกเพลี้ยแป้งชบาไปศึกษาศักยภาพการกินเพลี้ยแป้งของด้วงเต่าตัวห้ำ*C. montrouzieri* ในปี 2566 ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดเพลี้ยแป้งที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งแปซิฟิก *P. minor* เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* พบว่าด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* สามารถเจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตได้ และมีวงจรชีวิตใกล้เคียงกัน สามารถนำเพลี้ยแป้งทั้ง 3 ชนิดมาใช้เพาะเลี้ยงด้วงเต่าได้ โดยเมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก ตัวเต็มวัยด้วงเต่าวางไข่ได้มากที่สุด เฉลี่ย 805.86±29.80 ฟอง รองลงมาคือเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชบา และเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูวางไข่เฉลี่ย 791.14±25.29 และ 446.86±29.97 ฟอง ตามลำดับ

การศึกษาตารางชีวิตแบบแบบ biological life table ของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ที่เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก *P. minor* เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งชบา *M. hirsutus* พบว่าด้วงเต่าตัวห้ำที่เลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งชบามีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (R_o) สูงที่สุด รองลงมาคือเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งแปซิฟิก และเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ดังนั้น เพลี้ยแป้งชบามีความเหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* มากที่สุด จึงเลือกเพลี้ยแป้งชบาไปศึกษาศักยภาพการกินเพลี้ยแป้งของด้วงเต่าตัวห้ำ *C. montrouzieri* ในปี 2566 ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

Table 1 Developmental stage of *Cryptolaemus montrouzieri* when fed with *Planococcus minor* under laboratory condition

Stage of development	No. of insects	Mean±SD (days)	Range (days)
Egg:	20	4.20±0.77	3-5
Larva:			
I Instar	19	3.32±0.48	3-4
II Instar	18	3.06±0.24	3-4
III Instar	18	3.06±0.24	3-4
IV Instar	18	7.17±0.38	7-8
Total period:	18	20.67±1.61	19-25
Prepupa:	18	1.06±0.24	1-2
Pupa:	18	7.28±0.46	7-8
Adult:			
Male	7	108.71±29.70	81-160
Female	11	129.86±25.99	102-172

Table 2 Developmental stage of *Cryptolaemus montrouzieri* when fed with *Phenacoccus manihoti* under laboratory condition

Stage of development	No. of insects	Mean±SD (days)	Range (days)
Egg:	20	4.15±0.75	3-5
Larva:			
I Instar	19	3.42±0.51	3-4
II Instar	17	3.12±0.33	3-4
III Instar	17	3.06±0.24	3-4
IV Instar	17	7.71± 0.47	7-8
Total period:	17	21.24±1.79	19-25
Prepupa:	17	1.12±0.33	1-2
Pupa:	17	7.47±0.51	7-8
Adult:	17		
Male	7	75.57±24.76	31-109
Female	10	95.57±18.88	63-116

Table 3 Developmental stage of *Cryptolaemus montrouzieri* when fed with *Maconellicoccus hirsutus* under laboratory condition

Stage of development	No. of insects	Mean±SD (days)	Range (days)
Egg:	20	4.70±0.57	3-5
Larva:			
I Instar	18	3.06±0.24	3-4
II Instar	17	3.88±0.33	3-4
III Instar	17	3.06±0.24	3-4
IV Instar	17	7.06± 0.24	7-8
Total period:	17	21.88±0.49	20-22
Prepupa:	17	1.06±0.24	1-2
Pupa:	17	7.06±0.24	7-8
Adult:	17		
Male	8	113.86±28.86	89-176
Female	9	127.71±27.75	104-181

Table 4 Bioloical attributes of *Cryptolaemus montrouzieri* when fed with *Planococcus minor*, *Phenacoccus manihoti* and *Maconellicoccus hirsutus* under laboratory condition

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

ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ต่อมวนพิฆาต *Eocanthecona furcellata* Woff และ มวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn

Study on The Effects of Insecticides Against Fall Army Worm on *Eocanthecona furcellata* Woff and *Sycanus versicolor* Dohrn

สาทิพย์ มาลี ประภัสสร เชยคำแหง ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์
นันทนัช พินศรี ภัทรพร สรรพนุเคราะห์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Study on the effects of insecticides against fall army worm on predatory stink bug, *Eocanthecona furcellata* Woff and assassin bug, *Sycanus versicolor* Dohrn. has been conducted between October 2021 to September 2022 at the Plant Protection Research Development Office Laboratory, Department of Agriculture. This project aims to study on the effects of insecticides to predatory stink bug, *Eocanthecona furcellata* and assassin bug, *Sycanus versicolor* for supporting information in fall army worm Integrated control. The results revealed 5 insecticides, emamectin benzoate 1.92% EC chlorantraniliprole 5.17% SC, lufenuron 5% EC flubendiamide 20% WG and indoxacarb 15% SC are harmless to predatory stink bug. 2 insecticides, spinetoram 12% SC and chlorfenapyr 10% SC are slightly harmful to predatory stink bug. 7 insecticides, emamectin benzoate 1.92% EC chlorantraniliprole 5.17% SC spinetoram 12% SC flubendiamide 20% WG lufenuron 5% EC indoxacarb 15% SC and chlorfenapyr 10% SC are harmless to assassin bug.

Keywords : insectide fall army worm predatory stink bug assassin bug

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-04-65

บทคัดย่อ

ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดต่อมวนพิฆาต *Eocanthecona furcellata* Woff และมวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn ทำการศึกษาที่ห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2565 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดต่อมวนพิฆาตและมวนเพชฌฆาต เป็นข้อมูลประกอบการนำมวนพิฆาตและมวนเพชฌฆาตไปใช้ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดแบบผสมผสาน จากผลการทดลองพบว่า สารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ไม่มีพิษกับมวนพิฆาต จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ อิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC ลูเฟนนูรอน 5% EC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20% WG และอินดอกซาคาร์บ 15% SC สารที่มีพิษน้อยกับมวนพิฆาตจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ สไปนีโทแรม 12% SC และ คลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC สารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ไม่มีพิษกับมวนเพชฌฆาต จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ อิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC สไปนีโทแรม 12% SC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20% WG ลูเฟนนูรอน 5% EC อินดอกซาคาร์บ 15% SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC

คำหลัก : สารฆ่าแมลง หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด มวนพิฆาต มวนเพชฌฆาต

คำนำ

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) เป็นศัตรูสำคัญของข้าวโพด พบระบาดในพื้นที่เขตร้อนและกึ่งเขตร้อนของทวีปอเมริกา (Prasanna *et al*., 2018) สำหรับวงจรชีวิตหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดใช้เวลาประมาณ 30-40 วัน เมื่อผสมพันธุ์แล้วเพศเมียจะวางไข่ในเวลากลางคืน โดยวางไข่เป็นกลุ่ม ใต้ใบพืช แต่ละกลุ่มจะมีไข่ประมาณ 100-200 ฟอง และมีขนสีน้ำตาลอ่อนปกคลุม เพศเมียหนึ่งตัวจะวางไข่ได้ประมาณ 1,500-2,000 ฟอง ระยะไข่ 2-3 วัน หนอนมี 6 วัย ระยะหนอน 14-22 วัน หนอนโตเต็มที่มีขนาดลำตัวยาวประมาณ 3.2-4.0 เซนติเมตร นอนจะทิ้งตัวลงดินเพื่อเข้าดักแด้ ระยะดักแด้ 7-13 วัน จึงออกเป็นตัวเต็มวัยและมีชีวิตอยู่ได้ 10-21 วัน ตัวเต็มวัยสามารถบินได้เฉลี่ย 100 กิโลเมตรต่อคืน (FAO, 2017a) การเข้าทำลายพืชจะเริ่มในระยะที่เป็นตัวหนอน โดยหนอนจะเข้าทำลายข้าวโพดตั้งแต่อายุประมาณ 7 วัน จนกระทั่งออกฝัก โดยกัดกินยอดและใบข้าวโพดเว้าแหว่งหรือกัดกินทั้งแผ่นใบ ทำลายช่อดอกตัวผู้ กัดกินไหม ฝัก เมล็ด และจะพบตัวหนอนหลบซ่อนอยู่ในยอดหรือโคนกาบใบข้าวโพด ความเสียหายเห็นได้ชัดคือในระยะต้นอ่อนทำให้พืชตาย ระยะต้นแก่พืชจะไม่เจริญเติบโต ฝักลีบเล็กไม่สมบูรณ์ หากระบาดรุนแรงจะทำให้ผลผลิตเสียหาย 73 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ (FAO, 2017a และ 2017b)

การระบาดในประเทศไทยเกิดขึ้นในทุกภาคของประเทศ สร้างความเสียหายแก่พืชได้อย่างรวดเร็วและรุนแรง ซึ่งทำให้วิธีการป้องกันกำจัดแบบเดิมของเกษตรกรไม่ได้ผล จนทำให้แมลงชนิดนี้กลายเป็นแมลงศัตรูข้าวโพดที่มีความสำคัญที่สุดของประเทศไทยในปัจจุบัน

การป้องกันกำจัด ตามคำแนะนำของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ดังนี้

1. ทำลายกลุ่มไข่ (1 กลุ่มไข่ ฟักออกเป็นหนอน 100-200 ตัว) หรือทำลายตัวหนอนเมื่อพบ

2. คลุกเมล็ดด้วยสารไซแอนทรานิลิโพรล 24% FS + ไทอะมีโทแซม 24% FS (กลุ่ม 28 + กลุ่ม 4) ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ใช้อัตรา 7 มิลลิลิตร ต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม ข้าวโพดหวาน 8 มิลลิลิตร ต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม แล้วค่อยพ่นสารทางใบต่อ เมื่อพบหนอนหรือการระบาดในระยะถัดมา

3. เมื่อพบหนอนขนาดเล็กที่เพิ่งฟักจากไข่ พ่นด้วยสารชีวภัณฑ์ ได้แก่ เชื้อบีที สายพันธุ์ไอซาไว หรือ สายพันธุ์ เคอร์สตาร์กี้ อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 4-7 วัน

4. ในแปลงที่ไม่ใช้สารเคมี ใช้แมลงตัวห้ำ เช่น แมลงหางหนีบ หรือ มวนเพชฌฆาต หรือ มวนพิฆาต

5. ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง พ่นทางใบ

5.1.สไปนีโทแรม 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5)

5.2.สไปนีโทแรม 25% WG อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5)

5.3.อิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 6)

5.4.อิมาเมกตินเบนโซเอท 5% WG อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 6)

5.5.คลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC อัตรา 30 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 13)

5.6.อินดอกซาคาร์บ 15% SC อัตรา 30 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 22)

5.7.เมทอกซีฟีโนไซด์ + สารสไปนีโทแรม 30% + 6% SC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 18+5)

5.8.คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 28)

5.9.ฟลูเบนไดอะไมด์ 20% WG อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 28)

6. แปลงที่มีการระบาดอย่างรุนแรง ไถแปลงเพื่อทำลายหนอน และดักแด้ ที่อยู่ในดินกรณีแปลงที่มีต้นข้าวโพดงอกจากเมล็ดที่ร่วงลงดินขณะเก็บเกี่ยวในฤดูที่ผ่านมา ให้ทำลายต้นข้าวโพดทิ้งโดยวิธีการต่างๆ เช่น ตัด หรือไถกลบเพื่อทำลายหนอน เว้นระยะอย่างน้อย 2 สัปดาห์ ก่อนที่จะปลูกข้าวโพดรอบใหม่

การใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเป็นวิธีการที่ได้ผลดีสะดวกและรวดเร็ว แต่อาจเกิดผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติ เช่น มวนพิฆาตและมวนเพชฌฆาต ซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

ในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบถึงผลของสารควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดต่อมวนพิฆาตและมวนพิฆาต เพื่อนำไปประยุกต์ใช้การป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 สารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด จำนวน 7 ชนิด อิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC สไปนีโทแรม 12% SC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20% WG ลูเฟนนูรอน 5% EC อินดอกซาคาร์บ 15% SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC

2. กล่องเลี้ยงแมลง

3. แก้วทดลอง

4. มวนเพชฌฆาต

5. มวนพิฆาต

วิธีการ

มวนเพชฌฆาต

ทดสอบผลกระทบของสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร อินดอกซาคาร์บ 15% SC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ฟลูเบนไดอะไมด์20% WG อัตรา 6 กรัม/น้ำ 20 ลิตร อิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สไปนีโทแรม 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ลูเฟนนูรอน 5% EC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร กับตัวอ่อนมวนเพชฌฆาต ระยะที่ 4 โดยใช้มวนเพชฌฆาต จำนวน 10 ตัว/ซ้ำ หยดน้ำกลั่นและสารฆ่าแมลง ในแก้วทดลอง 1 ชนิด/ซ้ำ เอียงหลอดไปมาให้สารสัมผัสที่ด้านในแก้วให้ทั่ว แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนาน 2 24 และ 48 ชั่วโมง ใส่มวนเพชฌฆาต จำนวน 5 ตัว/หลอด พร้อมใส่ดักแด้หนอนนกเพื่อเป็นอาหารแก่มวนเพชฌฆาต และตรวจนับมวนเพชฌฆาตที่ตายที่ 48 ชั่วโมง

มวนพิฆาต

ทดสอบผลกระทบของสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร อินดอกซาคาร์บ 15% SC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ฟลูเบนไดอะไมด์20% WG อัตรา 6 กรัม/น้ำ 20 ลิตร อิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สไปนีโทแรม 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ลูเฟนนูรอน 5% EC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร กับตัวอ่อนมวนพิฆาต ระยะที่ 3 โดยใช้มวนพิฆาต จำนวน 10 ตัว/ซ้ำ หยดสารฆ่าแมลงในแก้วทดลอง 1 ชนิด/10หลอด เอียงหลอดไปมาให้สารสัมผัสที่ด้านในแก้วให้ทั่ว แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนาน 2 24 ชั่วโมง ใส่มวนพิฆาตระยะตัวอ่อนวัย 3 จำนวน 10 ตัว/แก้ว พร้อมใส่ดักแด้หนอนนกเพื่อเป็นอาหารแก่มวนพิฆาต และตรวจนับมวนพิฆาตที่ 48 ชั่วโมง

จัดระดับความเป็นพิษของสารฯ ตามวิธีการจัดลำดับความเป็นพิษของ IOBC ตามวิธีการของ Hassan (1994) ดังนี้

ไม่มีพิษ (Harmless) มีเปอร์เซ็นต์การตาย < 30%

มีพิษน้อย (Slightly Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 30-79%

มีพิษปานกลาง (Moderately Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย 80-99%

มีพิษร้ายแรง (Harmful) มีเปอร์เซ็นต์การตาย > 99%

การบันทึกข้อมูล

ตรวจนับจำนวนมวนพิฆาตและมวนเพชฌฆาตที่ที่ตายหลังทดลอง 48 ชั่วโมง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565 (รวม 1 ปี)

สถานที่ทำการทดลอง : กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

มวนเพชฌฆาต

ทดสอบผลกระทบของสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ อิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC สไปนีโทแรม 12% SC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20% WG ลูเฟนนูรอน 5% EC อินดอกซาคาร์บ 15% SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC กับตัวอ่อนมวนเพชฌฆาต ระยะที่ 4 โดยใช้มวนเพชฌฆาต จำนวน 10 ตัว/ซ้ำ หยด สารฆ่าแมลงในแก้วทดลอง 1 ชนิด/ซ้ำ เอียงหลอดไปมาให้สารสัมผัสที่ด้านในแก้วให้ทั่ว แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนาน 2 และ24 ชั่วโมง ใส่มวนเพชฌฆาต จำนวน 10 ตัว/แก้ว พร้อมใส่ดักแด้หนอนนกเพื่อเป็นอาหารแก่มวนเพชฌฆาต และตรวจนับมวนเพชฌฆาตที่ตายหลังทดสอบ 48 ชั่วโมง พบว่า

หลังเคลือบสารทดสอบนาน 2 ชั่วโมงแล้วปล่อยมวนเพชฌฆาต และตรวจนับมวนเพชฌฆาตที่ตายหลังทดสอบ 48 ชั่วโมง พบว่า อัตราการตายของมวนเพชฌฆาตในสารฆ่าแมลงอิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC จำนวน 0.00 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงคลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC จำนวน 0.00 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงสไปนีโทแรม 12% SC จำนวน 0.00 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงฟลูเบนไดอะไมด์ 20% WG จำนวน 0.01 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงลูเฟนนูรอน 5% EC จำนวน 0.01เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงอินดอกซาคาร์บ 15% SC จำนวน 0.00 เปอร์เซ็นต์ และสารฆ่าแมลงคลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC จำนวน 0.01 เปอร์เซ็นต์

หลังเคลือบสารทดสอบนาน 24 ชั่วโมงแล้วปล่อยมวนเพชฌฆาต และตรวจนับมวนเพชฌฆาตที่ตายหลังทดสอบ 48 ชั่วโมง ไม่พบการตายของมวนเพชฌฆาตในสารฆ่าทุกชนิดที่ทดสอบ

มวนพิฆาต

ทดสอบผลกระทบของสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ อิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC สไปนีโทแรม 12% SC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20% WG ลูเฟนนูรอน 5% EC อินดอกซาคาร์บ 15% SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC

กับตัวอ่อนมวนพิฆาต ระยะที่ 3 โดยใช้มวนพิฆาต จำนวน 10 ตัว/ซ้ำ หยด สารฆ่าแมลง ในแก้วทดลอง 1 ชนิด/ซ้ำ เอียงหลอดไปมาให้สารสัมผัสที่ด้านในแก้วให้ทั่ว แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนาน 2 และ24 ชั่วโมง ใส่มวนพิฆาต จำนวน 10 ตัว/แก้ว พร้อมใส่ดักแด้หนอนนกเพื่อเป็นอาหารแก่มวนพิฆาต และตรวจนับมวนพิฆาตที่ตายหลังทดสอบ 48 ชั่วโมง

หลังเคลือบสารทดสอบนาน 2 ชั่วโมงแล้วปล่อยมวนพิฆาต และตรวจนับมวนพิฆาตที่ตายหลังทดสอบ 48 ชั่วโมง พบว่า อัตราการตายของมวนพิฆาตในสารฆ่าแมลงอิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC จำนวน 0.02 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงคลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC จำนวน 0.00 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงสไปนีโทแรม 12% SC จำนวน 64 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงฟลูเบนไดอะไมด์ 20% WG จำนวน 0.00 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงลูเฟนนูรอน 5% EC จำนวน 0.03 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงอินดอกซาคาร์บ 15% SC จำนวน 0.02 เปอร์เซ็นต์ และสารฆ่าแมลงคลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC จำนวน 54 เปอร์เซ็นต์

หลังเคลือบสารทดสอบนาน 24 ชั่วโมงแล้วปล่อยมวนพิฆาต และตรวจนับมวนพิฆาตที่ตายหลังทดสอบ 48 ชั่วโมง พบว่า อัตราการตายของมวนพิฆาตในสารฆ่าแมลงอิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC จำนวน 0.00 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงคลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC จำนวน 0.06 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงสไปนีโทแรม 12% SC จำนวน 54 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงฟลูเบนไดอะไมด์ 20% WG จำนวน 0.09 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงลูเฟนนูรอน 5% EC จำนวน 0.03 เปอร์เซ็นต์ สารฆ่าแมลงอินดอกซาคาร์บ 15% SC จำนวน 0.05 เปอร์เซ็นต์ และสารฆ่าแมลงคลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC จำนวน 40 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองแม้ว่ามวนทั้งสองชนิดได้รับผลกระทบจากสารฆ่าแมลงในเกณฑ์ไม่มีพิษถึงมีพิษน้อย จะเห็นได้ว่ามวนเพชฌฆาตมีแนวโน้มที่จะได้รับผลกระทบจาการใช้สารฆ่าแมลงน้อยกว่ามวนพิฆาต ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะสรีรของมวนเพชฌฆาตที่มีขาค่อนข้างยาวทำให้ลำตัวของมวนเพชฌฆาตยกสูงจากพื้นมากกว่ามวนพิฆาต ทำให้ลำตัวไม่สัมผัสกับสารฆ่าแมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ลายจุด 7 ชนิด ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรต่อมวนพิฆาตและมวนเพชฌฆาต พบว่า สารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ อิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC สไปนีโทแรม 12% SC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20% WG ลูเฟนนูรอน 5% EC อินดอกซาคาร์บ 15% SC และคลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC ไม่มีพิษต่อมวนเพชฌฆาต ส่วนผลกระทบต่อมวนพิฆาตนั้นสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ลายจุด 5 ชนิด ได้แก่ อิมาเมกตินเบนโซเอท 1.92% EC คลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC ลูเฟนนูรอน 5% EC ฟลูเบนไดอะไมด์ 20% WG และอินดอกซาคาร์บ 15% SC ไม่มีพิษกับมวนพิฆาต ส่วนสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ลายจุด จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ สไปนีโทแรม 12% SC และ คลอร์ฟีนาเพอร์ 10% SC ที่มีพิษน้อยกับมวนพิฆาต แสดงให้เห็นว่าสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้

ข้าวโพดลายจุดที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำนั้นมีจำนวนถึง 5 ชนิดที่ไม่มีพิษต่อมวนพิฆาตและมวนเพชฌฆาต ดังนั้นการใช้มวนพิฆาตและมวนเพชฌฆาตควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด สามารถใช้ร่วมกับการใช้สารฆ่าแมลงโดยเลือกสารฆ่าแมลงที่ไม่มีผลกระทบกับมวนพิฆาตและมวนเพชฌฆาต หรืออาจใช้การปล่อยมวนพิฆาตและมวนเพชฌฆาตหลังการใช้สารฆ่าแมลง 1-2 วัน จะลดผลกระทบของสารฆ่าแมลงต่อมวนทั้งสองชนิดลงได้อีก

เอกสารอ้างอิง

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2652. เฝ้าระวังหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (แผ่นพับ). กรมวิชาการเกษตร

FAO. 2017a. Fall Armyworm Life Cycle Zin Latin AmericaX. FAO, Rome< Italy.

FAO. 2017b. Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda*): Identification,Biology and Ecology. FAO,Rome, Italy.

Table 1 Mortality rate of assassin bug due to fall army worm insecticide in laboratory of Plant Protection Research and Development office, 2022

Insecticide	Mortality rate of predatory stink bug after test 48 hr. (%)	
	Release predatory stink bug after application 2 hours	Release predatory stink bug after application 24 hours
chlorantraniliprole5.17% SC 20 ml./ 20 litres of water	0.00	0.00
indoxacarb15% SC 30 ml./ 20 litres of water	0.00	0.00
flubendiamide20% WG 6 g. /20 litres of water	0.01	0.00
emamectin benzoate)1.92% EC 20 ml/ 20 litres of water	0.00	0.00
spinetoram12% SC 20 ml/ 20 litres of water	0.00	0.00
lufenuron 5% EC 30 ml/ 20 litres of water	0.01	0.00
chlorfenapyr 10% SC 30 ml/ 20 litres of water	0.01	0.00

Table 2 Mortality rate of predatory stink bug due to fall army worm insecticide in laboratory of Plant Protection Research and Development office, 2022

Insecticide	Mortality rate of predatory stink bug after test 48 hr. (%)	
	Release predatory stink bug after application 2 hours	Release predatory stink bug after application 24 hours
chlorantraniliprole5.17% SC 20 ml./ 20 litres of water	0.00	0.06
indoxacarb15% SC 30 ml./ 20 litres of water	0.02	0.05
flubendiamide20% WG 6 g. /20 litres of water	0.00	0.09
emamectin benzoate)1.92% EC 20 ml/ 20 litres of water	0.02	0.00
spinetoram12% SC 20 ml/ 20 litres of water	64.00	54.00
lufenuron 5% EC 30 ml/ 20 litres of water	0.03	0.01
chlorfenapyr 10% SC 30 ml/ 20 litres of water	54.00	40.00

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

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

อทิติยา แก้วประดิษฐ์ สุนัดดา เชาวลิต ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ วีระชัย สมศรี ณพชรกร ธไภษัชย วิมลวรรณ โชติวงศ์ สาทิพย์ มาลี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาคุณลักษณะทางชีววิทยาของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* มีระยะไข่ 3.48±0.50 วัน และตัวอ่อนมี 5 วัย ระยะเฉลี่ย 5.40±0.96 4.28±0.81 5.09±0.87 5.13±0.89 และ 5.62±0.96 วัน ระยะตัวอ่อนวัยที่ 1-5 มีระยะเฉลี่ย 25.52±0.50 วัน เพศเมียมีอายุยืนยาวกว่าเพศผู้เป็นตัวเต็มวัยเพศผู้เฉลี่ย 7.45+1.84 และเพศเมียเฉลี่ย 8.25+1.82 วัน จากการศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table มวนตัวห้ำ *C. exiguus* เมื่อเลี้ยงด้วย แมลงหวี่ขาวยาสูบ สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยได้ แต่ไม่สามารถวางไข่ได้ จากการศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำในการกินแมลงหวี่ขาวยาสูบพบว่า มวนตัวห้ำวัยที่ 1-5 สามารถกินแมลงหวี่ขาวยาสูบได้เฉลี่ย 2.43+1.04 4.84±1.32 5.61±1.41 7.33±1.72 และ 9.85±2.31 ตัว ตามลำดับ และตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียกินแมลงหวี่ขาวยาสูบได้เฉลี่ย 84.45±32.84 และ 52.66±20.33 ตัว ตามลำดับ

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-05-65

คำนำ

แมลงหวี่ขาว ไรแดง เป็นศัตรูพืชจำพวกปากดูด ที่สำคัญในประเทศไทย เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด ซึ่งสามารถทำให้ประชากรของศัตรูพืชเหล่านี้ลดลงชั่วคราวเท่านั้น เนื่องจากแมลงและไรในกลุ่มนี้มีขนาดเล็กและมีวงชีวิตสั้น และสามารถปรับตัวสร้างความต้านต่อสารเคมีได้รวดเร็วและเกิดปัญหาสารเคมีตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม ส่งผลกระทบไปสู่ผู้บริโภคที่ต้องบริโภคผลผลิตที่มีสารพิษตกค้าง

ดังนั้นการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี เป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรที่จะมาแก้ไขปัญหาเหล่านี้ ซึ่งเป็นวิธีการที่ได้ใช้ศัตรูธรรมชาติที่มีอยู่แล้วให้เกิดประโยชน์อย่างสูงสุดด้วย คือการใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ซึ่งเป็นมวนตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมศัตรูพืชได้หลายชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟฝ้าย แมลงหวี่ขาวยาสูบ เพลี้ยอ่อนฝ้าย เพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง และไรแดงหม่อน ซึ่งมวนตัวห้ำ *C. exiguus* สามารถกินเหยื่อได้ทุกชนิดและที่ชอบที่สุดคือเพลี้ยไฟ และในขณะนี้ได้มีการนำมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ไปใช้ในการควบคุมเพลี้ยไฟในโรงเรือนเมล่อน และมะเขือเทศ เรียบร้อยแล้ว สำหรับงานวิจัยที่จะทำต่อไปคือการต่อยอดการใช้มวนตัวห้ำ *C. exiguus* ในการควบคุมศัตรูพืชชนิดอื่นๆ เช่น แมลงหวี่ขาว และไรแดง เป็นต้น

วิธีดำเนินการ

1. การศึกษาคุณลักษณะทางชีววิทยาของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

1.1 1. การศึกษาคุณลักษณะทางชีววิทยาของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

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

1.2 การศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table

<u>วิธีปฏิบัติทดลอง</u>

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

การบันทึกข้อมูล

ข้อมูลจำนวนไข่ของมวนตัวห้ำทุกวัน จนกระทั่งมวนตัวห้ำตาย นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างตารางชีวิตแบบ biological life table

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

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

การบันทึกข้อมูล

ข้อมูลจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่มวนตัวห้ำกินทั้งหมดในแต่ละระยะการเจริญเติบโต นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2564 สิ้นสุดเดือนพฤศจิกายน 2566

สถานที่ ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลองของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เตรียมเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

นำมวนตัวห้ำ *C. exiguus* ระยะตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จำนวน 50 คู่ ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 9.5x14.5x5.5 เซนติเมตร ใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นอาหารปริมาณ 0.5 กรัมต่อกล่อง ให้อาหารสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ตัดกระดาษชำระขนาด 8x10 เซนติเมตร จำนวน 5 แผ่น วางใส่ลงในกล่อง เพื่อให้มวนตัวห้ำวางไข่บนกระดาษ จากนั้นจึงนำมวนตัวห้ำในแต่ละวัยไปใช้ในการทดลองต่อไปศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table

เตรียมพ่อแม่พันธุ์แมลงหวี่ขาวยาสูบ และเตรียมต้นมะเขือเปราะ/ต้นกัญชา

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

1. การศึกษาคุณลักษณะทางชีววิทยาของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

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

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

1.2 การศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table

ผลจากการศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table ของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เมื่อเลี้ยงด้วยแมลงหวี่ขาวยาสูบ สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยได้ แต่ไม่สามารถวางไข่ได้ (ตารางที่ 2 และ 3)

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

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

จากการศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำในการกินแมลงหวี่ขาวยาสูบพบว่า มวนตัวห้ำวัยที่ 1-5 สามารถกินแมลงหวี่ขาวยาสูบได้เฉลี่ย 2.43+1.04 4.84±1.32 5.61±1.41 7.33±1.72 และ 9.85±2.31 ตัว ตามลำดับ และตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียกินแมลงหวี่ขาวยาสูบได้เฉลี่ย 84.45±32.84 และ 52.66±20.33 ตัว ตามลำดับ (ดังตารางที่ 4)

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัยและเจ้าหน้าที่ของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ทุกๆ ท่าน ที่ช่วยทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงเป็นไปตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

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

ตารางที่ 1 ระยะการเจริญเติบโตของมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* เมื่อเลี้ยงด้วยแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* ในสภาพห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิเฉลี่ย 25±2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75±2 เปอร์เซ็นต์

ระยะการเจริญเติบโต	จำนวน (ตัว)	ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วัน)	พิสัย (วัน)
ระยะไข่	50	3.48±0.50	3-4
ระยะตัวอ่อน:			
วัยที่ 1	45	5.40±0.96	5-6
วัยที่ 2	44	4.28±0.81	4-5
วัยที่ 3	44	5.09±0.87	5-6
วัยที่ 4	44	5.13±0.89	5-6
วัยที่ 5	44	5.62±0.96	4-5
ระยะตัวอ่อนวัยที่ 1 ถึง 5	44	25.52±0.50	24-28
ระยะตัวเต็มวัย:			
เพศผู้	20	7.45+1.84	4-10
เพศเมีย	24	8.25+1.82	5-12

ตารางที่ 2 ตารางชีวิตแบบ Biological life table มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* เมื่อเลี้ยงด้วยแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* ในสภาพห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิเฉลี่ย 25±2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75±2 เปอร์เซ็นต์

ระยะการเจริญเติบโต	ช่วงอายุที่วางไข่(x)	โอกาสที่เพศเมียจะจะมีชีวิตรอดในแต่ละช่วงอายุ (l_x)	จำนวนลูกที่มีชีวิตและเป็นเพศเมีย (m_x)	ปริมาณการวางไข่ (Egg curve) (l_xm_x)	การวางไข่ในแต่ละช่วงอายุ x (l_xm_x)
ระยะไข่	0	1.0000	-	-	0.000
	1	1.0000	-	-	0.000
	2	1.0000	-	-	0.000
ระยะตัวอ่อน:					
	3	1.0000	0.0000	0.0000	0.000
วัย 1	4	1.0000	0.000	0.000	0.000
	5	1.0000	0.000	0.000	0.000
วัย 3	8	0.9750	0.000	0.000	0.000
	9	0.9750	0.000	0.000	0.000
วัย 4	10	0.9750	0.000	0.000	0.000
	11	0.9300	0.000	0.000	0.000

ตารางที่ 2 ตารางชีวิตแบบ Biological life table มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* เมื่อเลี้ยงด้วยแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* ในสภาพห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิเฉลี่ย 25±2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75±2 เปอร์เซ็นต์ (ต่อ)

ระยะการเจริญเติบโต	ช่วงอายุที่วางไข่(x)	โอกาสที่เพศมียจะจะมีชีวิตรอดในแต่ละช่วงอายุ (l_x)	จำนวนลูกที่มีชีวิตและเป็นเพศเมีย (m_x)	ปริมาณการวางไข่ (Egg curve) (l_xm_x)	การวางไข่ในแต่ละช่วงอายุ x (l_xm_x)
วัย 5	12	0.8950	0.000	0.000	0.000
ระยะตัวเต็มวัย	13	0.8600	0.000	0.000	0.000
	14	0.6200	0.000	0.000	0.000
	15	0.5600	0.000	0.000	0.000
ระยะวางไข่	16	0.4900	0.000	0.000	0.000
	17	0.4400	0.000	0.000	0.000
	18	0.3900	0.000	0.000	0.000
	19	0.3600	0.000	0.000	0.000
ระยะวางไข่	20	0.3000	0.000	0.000	0.000
	21	0.2800	0.000	0.000	0.000
	22	0.2750	0.000	0.000	0.000
	23	0.2750	0.000	0.000	0.000
	24	0.2750	0.000	0.000	0.000
	25	0.2750	0.000	0.000	0.000
	26	0.2750	0.000	0.000	0.000
	27	0.2750	0.000	0.000	0.000
	28	0.2750	0.000	0.000	0.000
	29	0.2750	0.000	0.000	0.000
	30	0.2750	0.000	0.000	0.000
	31	0.2700	0.000	0.000	0.000
	32	0.2450	0.000	0.000	0.000
	33	0.2450	0.000	0.000	0.000
				$R_o=\Sigma l_xm_x=$ 0.0000	0.000

ตารางที่ 3 คุณลักษณะทางชีววิทยาของมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* เมื่อเลี้ยงด้วยแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* ในสภาพห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิเฉลี่ย 25±2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75±2 เปอร์เซ็นต์

คุณลักษณะทางชีววิทยา	**มวนตัวห้ำ *C. exiguus* เลี้ยงด้วยแมลงหวี่ขาวยาสูบ *B. tabaci***
อัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (R_o)	0
ชั่วอายุขัยของกลุ่ม (T_c) (วัน)	0
ความสามารถในการขยายพันธุ์ทางกรรมพันธุ์ (r_c)	0
อัตราการเพิ่มแท้จริง (λ)	0

ตารางที่ 4 ศึกษาประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* ในการกินแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* ในสภาพห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิเฉลี่ย 25±2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75±2 เปอร์เซ็นต์

ระยะการเจริญเติบโตของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*		**ค่าเฉลี่ย±S.D.**
ระยะตัวอ่อน	วัยที่ 1	2.43+1.04
	วัยที่ 2	4.84±1.32
	วัยที่ 3	5.61±1.41
	วัยที่ 4	7.33±1.72
	วัยที่ 5	9.85±2.31
ระยะตัวอ่อนวัยที่ 1 ถึง 5		30.06±3.27
ระยะตัวเต็มวัย	เพศผู้	84.45±32.84
	เพศเมีย	52.66±20.33

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

Development on Mass Rearing of The Pupal Parasitoid, *Brachymeria nephantidis* Gahan and Potential to Destroy Coconut Black Headed Caterpillar, *Opisina arenosella* Walker

ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ สาทิพย์ มาลี สุพรรณี ภูคะฮาด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาศักยภาพของแตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan เมื่อเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton) และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* L. พบว่าเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารให้แตนเบียนรุ่นลูกเฉลี่ย 43.76±11.46 ตัว เป็นตัวเต็มวัยเพศเมียและเพศผู้เฉลี่ย 28.80±8.43 และ 14.96±5.41 ตัว ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียและเพศผู้มีอายุเฉลี่ย 27.48±7.57 และ 23.16±9.21 วัน ตามลำดับ มีอัตราส่วนเพศผู้: เพศเมียเท่ากับ 1: 2.27 และมีเปอร์เซ็นต์การเบียน 57.80 ส่วนการเลี้ยงด้วยดักแด้หนอนกินรังผึ้งให้แตนเบียนรุ่นลูกเฉลี่ย 46.36±11.57 ตัว เป็นตัวเต็มวัยเพศเมียและเพศผู้เฉลี่ย 28.36±8.57 และ 18.00±5.02 ตัว ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียและเพศผู้มีอายุเฉลี่ย 40.60±15.24 และ 33.76±12.13 วัน ตามลำดับ มีอัตราส่วนเพศผู้: เพศเมียเท่ากับ 1: 1.68 และมีเปอร์เซ็นต์การเบียน 61.18 การเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารและดักแด้หนอนกินรังผึ้งให้จำนวนแตนเบียนรุ่นลูกใกล้เคียงกัน การเลี้ยงด้วยดักแด้หนอนกินรังผึ้งมีเปอร์เซ็นต์การเบียนสูงกว่าเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร 3.38 ซึ่งการใช้ดักแด้หนอนกินรังผึ้งใช้เวลาและแรงงานในการนำรังดักแด้ออกก่อนให้แตนเบียนดักแด้ลงเบียน การใช้ดักแด้ผีเสื้อข้าวสารมาจึงมีความเหมาะสมมากกว่าดักแด้หนอนกินรังผึ้ง โดยแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ที่เพาะเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารและดักแด้หนอนกินรังผึ้งสามารถลงทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวได้ ซึ่งจะนำไปทดสอบประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในโรงเรือนทดลองในปี 2566 ต่อไป

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

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-06-65

คำนำ

มะพร้าวเป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยมีพื้นที่ปลูกทั่วประเทศประมาณ 1,240,874 ไร่ พื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี และนครศรีธรรมราช ในช่วงปี 2555-2560 เกษตรกรผู้ปลูกมะพร้าวประสบปัญหาหนอนหัวดำมะพร้าวระบาดอย่างรุนแรง การระบาดได้ขยายตัวลุกลามกว้างขวางมาก พบพื้นที่ระบาด 32 จังหวัด 166,777 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 13.55 ของพื้นที่ปลูกพื้นที่ระบาดมาก 5 อันดับ ได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (139,575 ไร่) ชลบุรี (7,071 ไร่) สุราษฎร์ธานี (5,101 ไร่) สมุทรสาคร (2,900 ไร่) และฉะเชิงเทรา (2,332 ไร่) (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2560) และพบว่าหนอนหัวดำมะพร้าวได้แพร่กระจายการระบาดมาในพื้นที่จังหวัดราชบุรี สมุทรสาคร และสมุทรสงคราม ซึ่งปลูกมะพร้าวน้ำหอมและมะพร้าวน้ำตาลเป็นหลัก ในปี 2562 มีปริมาณการส่งออกมะพร้าวอ่อนจำนวน 54,702,397 กิโลกรัม มูลค่าการส่งออกเท่ากับ 1,282,683 บาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562) โดยช่วงที่ผ่านมาการปลูกมะพร้าวประสบปัญหาการระบาดของหนอนหัวดำมะพร้าวเป็นอย่างมาก หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Cryptophasidae) เป็นแมลงศัตรูพืชต่างถิ่น (Exotic pest) พบระบาดทำลายมะพร้าวสร้างความเสียหายต่อแหล่งปลูกมะพร้าวอย่างรุนแรง ถิ่นกำเนิดอยู่ในเอเชียใต้แถบประเทศอินเดียและประเทศศรีลังกา สำหรับประเทศไทยพบรายงานการระบาดครั้งแรกปี 2550 ที่อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ พื้นที่ระบาดประมาณ 500 ไร่

การป้องกันกำจัดหนอนหัวดำมะพร้าวโดยชีววิธี เป็นวิธีการที่ปลอดภัยต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม ในประเทศไทยได้มีการใช้แตนเบียนไข่ *Trichogramma* spp. ควบคุมระยะไข่ การใช้แตนเบียน *Goniozus nephantidis* (Muesebeck) ควบคุมระยะหนอน ซึ่งการควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวในระยะดักแด้เป็นอีกทางหนึ่งที่ช่วยลดจำนวนประชากรหนอนหัวดำมะพร้าวได้อย่างมาก สามารถตัดวงจรการพัฒนาไปเป็นผีเสื้อที่จะขยายพันธุ์และวางไข่อีกประมาณ 49-490 ฟองต่อเพศเมีย 1 ตัว สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้นำเข้าแตนเบียนดักแด้ *B .nephantidis* จากประเทศศรีลังกา เมื่อวันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2559 เพื่อนำมาใช้ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* โดยได้มีการนำมาทดสอบความเฉพาะเจาะจงต่อแมลงอาศัย ศึกษาชีววิทยาและพฤติกรรมการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว ทดสอบศักยภาพของแตนเบียน *B. nephantidis* ในการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว(ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ และคณะ, 2560) ซึ่งไม่มีข้อมูลการศึกษาอัตราการปล่อยแตนเบียน *B. nephantidis* ที่เหมาะสม รวมทั้งสารป้องกันกำจัดแมลงที่มีผลต่อแตนเบียนดักแด้ชนิดนี้ จึงต้องมีการศึกษาวิจัยในการนำแตนเบียน *B. nephantidis* ไปใช้ประโยชน์เพิ่มเติมเพื่อนำไปปล่อยในพื้นที่ที่พบการระบาดของหนอนหัวดำมะพร้าวเพื่อให้การควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวในประเทศไทยต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แมลงที่ใช้ในการศึกษา

1) แตนเบียน *Brachymeria nephantidis*

2) ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton)

3) หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* L.

2. พืชอาหาร/อาหารเลี้ยงแมลง

1) รำละเอียด

2) ปลายข้าว

3) น้ำตาลทราย

4) น้ำผึ้ง

3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเลี้ยงแมลง

1) กรงเลี้ยงแมลง ขนาด 30x30x30 เซนติเมตร

2) ขวดพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 2.5 เซนติเมตร สูง 6 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด

3) กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม ขนาด 8.5X13X7 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงลวดละเอียด

4) กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม ขนาด 23x34x7 เซนติเมตร

5) กล่องพลาสติกกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร ฝากล่องด้านบนกรุด้วยตาข่ายถี่

6) กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม ขนาด 10X14x6 เซนติเมตร ฝากล่องด้านบนกรุด้วยตาข่ายถี่

7) ตะกร้าที่บุด้วยตาข่ายไนล่อน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 27 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร

8) ฟองน้ำอเนกประสงค์

9) ถาดอลูมิเนียม ขนาด 60X40 เซนติเมตร

10) ตู้อบลมร้อน

วิธีการ

การเตรียมการทดลอง

1) การเพาะเลี้ยงผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica*

ทำการผสมอาหารสำหรับเลี้ยงหนอนผีเสื้อข้าวสาร โดยใช้รำละเอียด 60 กิโลกรัม ปลายข้าว 3 กิโลกรัม และน้ำตาลทราย 1 กิโลกรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8-9 ชั่วโมง จากนั้นนำอาหารที่อบแล้วใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 23x34x7 เซนติเมตร กล่องละ 1 กิโลกรัม โรยไข่ผีเสื้อข้าวสาร 0.1 กรัม ให้ทั่วกล่อง และปิดฝาให้สนิท วางกล่อง

พลาสติกบนชั้นเลี้ยงแมลงในห้องที่มีอุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40-45 วัน จะได้ผีเสื้อข้าวสาร ทำการเก็บผีเสื้อข้าวสารที่ได้ใส่ตะกร้าที่บุด้วยตาข่ายไนล่อน ปล่อยให้ผีเสื้อข้าวสารผสมพันธุ์และวางไข่เป็นเวลา 1 วัน ใช้แปรงปัดบริเวณตาข่ายไนลอนเพื่อแยกเอาไข่ผีเสื้อข้าวสารออกใส่ถาดอลูมิเนียม แบ่งไข่ผีเสื้อเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำไปในงานทดลอง ส่วนที่ 2 นำไปเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ต่อไป

2) การเพาะเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella*

นำหนอนกินรังผึ้งมาเลี้ยงให้เป็นผีเสื้อ นำผีเสื้อมาใส่กล่องกล่องพลาสติกกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร ภายในกรุด้วยกระดาษและมีสำลีชุบน้ำพอหมาด ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด ปล่อยให้ผีเสื้อผสมพันธุ์วางไข่ประมาณ 3-4 วัน ทำการผสมอาหารสำหรับเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง โดยใช้รำข้าวสาลี และน้ำเชื่อม อัตราส่วน 1: 1 ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน จากนั้นตัดกระดาษที่มีไข่จำนวน 500 ฟอง ใส่ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 8.5X13X7 เซนติเมตร ที่มีอาหารสำหรับเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง 100 กรัม เลี้ยงหนอนกินรังผึ้งประมาณ 14 วัน จึงแบ่งหนอนกินรังผึ้งออกเป็น 4 ส่วน นำไปใส่ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 23x34x7 เซนติเมตร ที่มีอาหาร 300 กรัม จำนวน 4 กล่อง เลี้ยงหนอนกินรังผึ้งไปอีก 7 วัน จึงเติมอาหารอีก 300 กรัม/กล่อง จนเข้าดักแด้ แบ่งดักแด้หนอนกินรังผึ้งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำดักแด้ไปใช้ในทดลอง ส่วนที่ 2 เลี้ยงดักแด้ให้เป็นผีเสื้อนำเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ต่อไป

3) การเพาะเลี้ยงแตนเบียนดักแด้

นำแตนเบียนดักแด้เพศเมียและเพศผู้ชนิดละ 50 ตัว ใส่ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 24x40x24 เซนติเมตร ภายในกรงมีฟองน้ำอเนกประสงค์ขนาด 2x2 เซนติเมตร ชุบน้ำผึ้ง 50% ปล่อยให้แตนเบียนผสมพันธุ์ประมาณ 7 วัน นำดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร จำนวน 100 ตัว วางบน petri-dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร สูง 1.5 เซนติเมตร ใส่ในกรงเลี้ยงแมลงปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำดักแด้ผีเสื้อข้าวสารออกจากกรงเลี้ยงแมลง ใส่ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 10x14x6 เซนติเมตร ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด บันทึกวัน เดือน ปี ที่เบียน (นำดักแด้ผีเสื้อข้าวสารวางบน petri-dish ใส่ในกรงเลี้ยงแมลงเช่นเดิมในวันถัดมาจนกระทั่งแตนเบียนตาย) หลังจากนั้น 15-20 วัน แตนเบียนจะออกเป็นตัวเต็มวัย นำแตนเบียนที่ได้ไปใช้ในการทดลองต่อไป

ขั้นตอนที่ 1 การศึกษาศักยภาพของแตนเบียน *Brachymeria nephantidis* เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella*

นำแตนเบียนเพศเมียและเพศผู้ที่ได้จาการเบียนด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง ชนิดละ 10 คู่ ใส่ขวดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 2.5 เซนติเมตร สูง 6 เซนติเมตร กล่องละ 1 คู่ ให้น้ำผึ้งเข้มข้น 50% เป็นอาหารกับแตนเบียน ปล่อยให้แตนเบียนผสมพันธุ์ 7 วัน จากนั้นนำดักแด้แมลงอาศัยอายุที่เหมาะสม จำนวน 10 ตัว ใส่ในกล่องพลาสติกที่มีแตนเบียน ปล่อย

ให้แตนเบียนลงเบียนดักแด้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำดักแด้แมลงอาศัยออกใส่ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 10X1X6 เซนติเมตร ฝากล่องด้านบนกรุด้วยตาข่ายถี่ ใส่ดักแด้แมลงอาศัยให้แตนเบียนลงเบียนทุกวันจนกระทั่งแตนเบียนตาย บันทึกจำนวนดักแด้แมลงอาศัยที่แตนเบียนแต่ละตัวสามารถเบียนได้ อัตราส่วนเพศผู้และเพศเมีย อายุแตนเบียนเพศผู้และเพศเมีย วิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลจำนวนลูกที่ได้จาการเลี้ยงด้วยแมลงอาศัยทั้ง 2 ชนิด

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2565 – กันยายน 2567
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ
  กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาศักยภาพของแตนเบียน *B. nephantidis* เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยแมลงอาศัย 2 ชนิด ได้แก่ ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* พบว่าเมื่อเลี้ยงแตนเบียน *B. nephantidis* ด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* ให้แตนเบียนรุ่นลูกเฉลี่ย 43.76±11.46 ตัว เป็นตัวเต็มวัยเพศเมียและเพศผู้เฉลี่ย 28.80±8.43 และ 14.96±5.41 ตัว ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียและเพศผู้มีอายุเฉลี่ย 27.48±7.57 และ 23.16±9.21 วัน ตามลำดับ มีอัตราส่วนเพศผู้: เพศเมียเท่ากับ 1: 2.27 และมีเปอร์เซ็นต์การเบียน 57.80 ซึ่งเมื่อเลี้ยงแตนเบียน *B. nephantidis* ด้วยดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* ให้แตนเบียนรุ่นลูกเฉลี่ย 46.36±11.57 ตัว เป็นตัวเต็มวัยเพศเมียและเพศผู้เฉลี่ย 28.36±8.57 และ 18.00±5.02 ตัว ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียและเพศผู้มีอายุเฉลี่ย 40.60±15.24 และ 33.76±12.13 วัน ตามลำดับ มีอัตราส่วนเพศผู้: เพศเมียเท่ากับ 1: 1.68 และมีเปอร์เซ็นต์การเบียน 61.18

การเพาะเลี้ยงแตนเบียน *B. nephantidis* ด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* ให้จำนวนแตนเบียนรุ่นลูกเฉลี่ย 43.76±11.46 และ 46.36±11.57 ตัว ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกัน และเลี้ยงด้วยดักแด้หนอนกินรังผึ้งมีเปอร์เซ็นต์การเบียนสูงกว่าเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร 3.38 ซึ่งการใช้ดักแด้หนอนกินรังผึ้งควรนำรังดักแด้ออกก่อน เนื่องจากดักแด้หนอนกินรังผึ้งมีรังดักแด้ค่อนข้างหนามีผลต่อการวางไข่ของแตนเบียน ซึ่งจึงต้องใช้เวลาและแรงงานในการนำรังดักแด้ออก ส่วนดักแด้ผีเสื้อข้าวสารสามารถใช้ทั้งรังดักแด้ได้ เพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมากได้ง่ายและมีการเลี้ยงอย่างกว้างขวางหลายพื้นที่ การนำดักแด้ผีเสื้อข้าวสารมาใช้เพาะแตนเบียน *B. nephantidis* จึงมีความเหมาะสมมากกว่า ซึ่งหากไม่มีดักแด้ผีเสื้อข้าวสารสามารถใช้ดักแด้หนอนกินรังผึ้งมาเพาะเลี้ยงแตนเบียน *B. nephantidis* ได้เช่นกัน ซึ่งให้จำนวนรุ่นลูกแตนเบียน *B. nephantidis* ที่ใกล้เคียงกัน โดยแตนเบียน *B. nephantidis* ที่เพาะเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารและดักแด้หนอนกินรังผึ้ง สามารถลงเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวได้ ซึ่งจะนำไปทดสอบ

ประสิทธิภาพของแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ในการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในโรงเรือนทดลอง ในปี 2566 ต่อไป (Table 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาศักยภาพของแตนเบียน *B. nephantidis* เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยแมลงอาศัย 2 ชนิด ได้แก่ ดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* พบว่าการเพาะเลี้ยงแตนเบียน *B. nephantidis* ด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* และดักแด้หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* ให้จำนวนแตนเบียนรุ่นลูกใกล้เคียงกัน เฉลี่ย 43.76±11.46 และ 46.36±11.57 ตัว ตามลำดับ การเพาะเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารมีอัตราส่วนเพศผู้: เพศเมียเท่ากับ 1: 2.27 และมีเปอร์เซ็นต์การเบียน 57.80 ส่วนดักแด้หนอนกินรังผึ้งมีอัตราส่วนเพศผู้: เพศเมียเท่ากับ 1: 1.68 และมีเปอร์เซ็นต์การเบียน 61.18 ซึ่งแตนเบียน *B. nephantidis* ที่เพาะเลี้ยงด้วยดักแด้ผีเสื้อข้าวสารและดักแด้หนอนกินรังผึ้งสามารถลงทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวได้ ซึ่งจะนำแตนเบียนดักแด้ *B. nephantidis* ไปทดสอบประสิทธิภาพการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวในโรงเรือนทดลองปี 2566 ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2560. รายงานสถานการณ์ศัตรูมะพร้าว. แหล่งที่มา URL https://www.doae.go.th/doae/upload/files/perennial%2007062560.pdf สืบค้นเมื่อ 21 สิงหาคม 2560.

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

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. ข้อมูลเศรษฐกิจการเกษตร. แหล่งที่มา URL http://impexp.oae.go.th/service/export.php?S_YEAR=2562&E_YEAR=2562&PRODUCT_GROUP=5252&PRODUCT_ID=5031&wf_search=&WF_SEARCH=Yสืบค้นเมื่อ 13 มกราคม 2563.

Table 1 The number of progeny, age and percent of parasitism of *Brachymeria nephantidis*, when fed with *Corcyra cephalonica* and *Galleria mellonella* pupae under laboratory condition at 25±2ºC, 65±2% RH and 32±2ºC, 55±2% RH

Host	No. *B. nephantidis*			Age of adult (day)		% parasitism
	Female	Male	Total	Female	Male	
Corcyra cephalonica	28.80±8.43	14.96±5.41	43.76±11.46	27.48±7.57	23.16±9.21	57.80
Galleria mellonella	28.36±8.57	18.00±5.02	46.36±11.57	40.60±15.24	33.76±12.13	61.18

การศึกษาศักยภาพ การผลิตขยาย และผลกระทบของสารเคมีต่อแตนเบียน *Encarsia dispersa* Polaszek (Hymenoptera: Aphelinidae) ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)

Potential, Mass Rearing and Impact of Insecticides to the Parasitoid *Encarsia dispersa* Polaszek (Hymenoptera: Aphelinidae) for Controlling Whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)

สุพรรณี ภูคะฮาด พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์
สาทิพย์ มาลี สุนัดดา เชาวลิต
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการเบียนของแตนเบียน *Encarsia dispersa* ในการเบียนแมลงหวี่ขาวยาสูบภายใต้ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือน รวมถึงการเพาะเลี้ยงขยายแตนเบียน *E. dispersa* และผลกระทบของสารเคมีที่มีต่อแตนเบียนชนิดนี้ โดยเริ่มดำเนินการวิจัยในปี 2565 และจะสิ้นสุดในปี 2567 จากผลการดำเนินการวิจัยตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 ได้ทำการศึกษาช่วงวัยของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียนชอบวางไข่ และศักยภาพการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่มีจำนวนแตกต่างกัน จากการทดลองพบว่าแตนเบียน *E. dispersa* ชอบเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 มากที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1-3 สำหรับการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบในจำนวนที่แตกต่างกัน พบว่าอัตราการเบียนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ค่าเฉลี่ยของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียนมีความแตกต่างกัน โดยการทดสอบแตนเบียน 1 ตัว/จำนวนตัวอ่อน 60 ตัว ให้ผลการเบียนสูงสุดเฉลี่ย 8 ตัว ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบกรรมวิธีอื่นๆ สำหรับแตนเบียน 1 ตัว/จำนวนตัวอ่อน 40 ตัว ให้ผลการเบียนเฉลี่ย 4.6 ตัว มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับจำนวนตัวอ่อน 10 และ 20 ตัว ดังนั้นจำนวนตัวอ่อนของแมลงหวี่ขาวยาสูบมีผลต่อการวางไข่ของแตนเบียน โดยมีแนวโน้มในการเบียนมากขึ้นเมื่อตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบมากขึ้น

คำหลัก : แตนเบียน แมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci Encarsia dispersa* parasitoids whitefly

---

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-01-07-65

คำนำ

แมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) เป็นแมลงศัตรูพืชที่มีพืชอาหารเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญหลายชนิด เช่น มันสำปะหลัง มะเขือ พริก กระเจี๊ยบเขียว มันเทศ พืชตระกูลกะหล่ำ ถั่ว ยาสูบ มันฝรั่ง ฝ้าย เป็นต้น โดยเริ่มระบาดในช่วงกลาง-ปลายฤดูปลูก เริ่มตั้งแต่เดือนสิงหาคม-ตุลาคม และระบาดต่อเนื่องไปตลอดฤดูปลูก สามารถเข้าทำลายได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช โดยทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบจะอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบและยอดอ่อนของพืช การทำลายของตัวอ่อนทำให้เกิดเป็นจุดสีเหลืองบนใบพืช ใบพืชหงิกงอ ขอบใบม้วนลงด้านล่าง ต้นแคระแกร็น และเหี่ยว หากพบทำลายในปริมาณมากอาจทำให้พืชตายได้ นอกจากนี้แมลงหวี่ขาวยาสูบยังเป็นแมลงพาหะนำเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบด่างในพืชต่างๆ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผลผลิตพืชลดลง (กลุ่มอารักขาพืช สำนักงานเกษตรจังหวัดตราด, 2555) การใช้แมลงศัตรูธรรมชาติในการควบคุมประชากรของแมลงหวี่ขาวยาสูบให้ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจก่อให้เกิดความยั่งยืนต่อการควบคุมในสภาพธรรมชาติ ซึ่งแมลงศัตรูธรรมชาติของแมลงหวี่ขาวยาสูบที่พบมีทั้งตัวห้ำและแตนเบียน ได้แก่ แมลงช้างปีกใส *Chrysopa basalis* Walker ด้วงเต่า *Serangium* sp. แมงมุมสกุลไลคอซา (*Lycoza dispersa*) และออกซีออพิส (*Oxyopes dispersa*) และแตนเบียน *Encarsia dispersa* (สัจจะ, 2557)

แตนเบียน *Encarsia* sp. เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่สำคัญของแมลงหวี่ขาว ซึ่งมีบทบาทเป็นทั้งตัวห้ำและตัวเบียนแมลงหวี่ขาว เป็นตัวห้ำโดยการที่เพศเมียใช้อวัยวะวางไข่แทงผนังลำตัวของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว และใช้ปากทำให้เป็นแผล เพื่อกินน้ำเลี้ยงที่ออกมาจากตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโดยตรง สามารถทำลายตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวได้ทุกระยะโดยเฉพาะตัวอ่อนวัย 2 สำหรับบทบาทการเป็นตัวเบียน ตัวเต็มวัยแตนเบียน *E. formosa* จะเข้าทำลายแมลงหวี่ขาวยาสูบโดยวางไข่ในตัวอ่อนวัย 3 วัย 4 and prepupal nymphs เมื่อตัวหนอนแตนเบียนฟักออกจากไข่แล้ว จะอาศัยเจริญเติบโตจนเข้าดักแด้อยู่ภายในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว และเจาะผนังลำตัวแมลงหวี่ขาวออกเป็นแตนเบียนตัวเต็มวัย (Weeden and Hoffman, 2009) รจนาและคณะ (2556) ได้สำรวจแตนเบียน *Encarsia sp.* จากแปลงปลูกมันสำปะหลังในช่วงเดือนต่างๆ โดยเก็บแมลงหวี่ขาวใยเกลียวมาเลี้ยง และตรวจสอบการเบียนในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์เบียน 0-57.14% โดยพบมากที่สุดในเดือนกรกฎาคม แตนเบียนที่ออกมาในช่วงหน้าแล้งเดือนมีนาคมถึงพฤษภาคม พบว่าแตนเบียนทั้งหมดเป็นแตนเบียนชนิดสีเหลือง นอกจากนี้ยังมีการศึกษาประสิทธิภาพการทำลายแมลงหวี่ขาวโรงเรือน พบว่าแตนเบียน *Encarsia sp.* สามารถเข้าเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวโรงเรือนได้ตั้งแต่วัย 1 ถึง วัย 3 โดยเบียนวัย 1 ได้มากที่สุดเฉลี่ย 15.304 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือวัย 2 และวัย 3 เฉลี่ย 14.256 และ 10.326 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (อุษณีย์และคณะ, 2549)

แตนเบียน *Encarsia* sp. มีศักยภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาว จากงานวิจัยที่ผ่านมาการศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับประสิทธิภาพการเบียนของแตนเบียน *Encarsia* sp. เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาว ยังไม่เป็นที่แน่ชัด ดังนั้น การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการเบียน

ของแตนเบียน *Encarsia* sp. ในการเบียนแมลงหวี่ขาวยาสูบ *B. tabaci* ภายใต้ในห้องปฏิบัติการ และโรงเรือน รวมถึงการเพาะเลี้ยงขยายแตนเบียน *Encarsia* sp. และผลกระทบของสารเคมีที่มีต่อแตนเบียนชนิดนี้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แมลงที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ แตนเบียน *Encarsia dispersa* Polaszek แมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius)
2. ต้นมะเขือเปราะ
3. จานทดลองพลาสติก
4. กระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 นิ้ว
5. กรงตาข่ายผ้าขนาด 60x90x60 เซนติเมตร
6. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope

วิธีการ

1. การทดสอบประสิทธิภาพแตนเบียน *Encarsia dispersa* ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci*

การเลี้ยงขยายปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบ และแตนเบียน *Encarsia dispersa* สำหรับการทดลอง

เก็บรวบรวมใบมะเขือเปราะที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ และแตนเบียน *E. dispersa* จากแปลงมะเขือเปราะจังหวัดเพชรบุรี มาเพาะเลี้ยงให้มีปริมาณมาก โดยเลี้ยงด้วยต้นมะเขือเปราะอายุ 1 เดือน หลังย้ายกล้า นำตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่เก็บจากแปลงใส่ในกรงตาข่ายภายในมีต้นมะเขือเปราะ ปล่อยให้แมลงหวี่ขาวยาสูบที่เก็บจากแปลงออกเป็นตัวเต็มวัย และวางไข่บนต้นมะเขือเปราะ แมลงหวี่ขาวยาสูบจะเจริญเติบโตบนต้นมะเขือเปราะนั้นจนกระทั่งออกเป็นตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยที่ได้ไปปล่อยในกรงใหม่ เพื่อเลี้ยงขยายพันธุ์แมลงหวี่ขาวยาสูบ สังเกตแตนเบียน *E. dispersa* ที่ออกจากตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ นำแตนเบียนมาเลี้ยงขยายพันธุ์สำหรับการทดลองต่อไป

การเลี้ยงขยายปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบทำได้โดยปล่อยแมลงหวี่ขาวยาสูบทุก 3 วัน จำนวน 3,000 ตัว ต่อต้นมะเขือเปราะจำนวน 6 ต้น ในกรงขนาด 60x90x60 เซนติเมตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบออก เมื่อตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบเจริญเติบโตเข้าวัย 3 แบ่งต้นมะเขือเปราะออกเป็นสองส่วน นำไปเลี้ยงแตนเบียน *E. dispersa* จำนวน 3 ต้น และอีก 3 ต้น สำหรับการทดลอง และเป็นพ่อแม่พันธุ์เพื่อขยายพันธุ์ต่อไป

การเลี้ยงขยายปริมาณแตนเบียน *E. dispera* ทำได้โดยปล่อยตัวเต็มวัยแตนเบียนให้เบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 3 ที่เตรียมไว้ เป็นเวลาประมาณ 8 วัน ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ก็จะได้ดักแด้แตนเบียน เก็บดักแด้แตนเบียนโดยใช้พู่กันปัดดักแด้ลงในหลอดพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.7 เซนติเมตร

สูง 6 เซนติเมตร จำนวน 500 ตัว ภายในหลอดพลาสติกป้ายน้ำผึ้ง 10% ปิดฝาหลอดด้วยฟองน้ำ สำหรับใช้ขยายพันธุ์และนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาช่วงวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบต่อการชอบวางไข่ของแตนเบียน *Encarsia dispersa*

1) ทดสอบแบบไม่ให้ทางเลือก (no-choice test)

ศึกษาการเบียนของแตนเบียน *E. dispersa* ในแต่ละช่วงวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 จำนวน 60 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 2 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 2 จำนวน 60 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 3 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 3 จำนวน 60 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 4 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 จำนวน 60 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 5 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 (puparium) จำนวน 60 ตัว/จาน

<u>วิธีปฏิบัติทดลอง</u>

ทำการทดลองในจานทดลองพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ภายในมีสำลีแผ่นชุ่มน้ำจำนวน 1 แผ่น ตัดใบมะเขือเปราะที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยต่างๆ ตามกรรมวิธีที่ 1-5 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร วางลงบนสำลี โดยแต่ละจานประกอบด้วยตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 1 วัย/จาน จากนั้นปล่อยแตนเบียน *E. dispersa* เพศเมียอายุ 2 วัน ที่ผสมพันธุ์แล้ว จำนวน 2 ตัว/จาน ปิดด้วยฝาเจาะระบายอากาศซึ่งปิดทับด้วยผ้าขาวบางวางไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65±10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยต่างๆ ที่ถูกเบียนในแต่ละกรรมวิธี เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีเพื่อหาความแตกต่างของความชอบวางไข่

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกข้อมูลจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยต่างๆ ที่ถูกเบียนในแต่ละกรรมวิธี เพื่อหาอัตราการเบียน ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

2) ทดสอบแบบให้ทางเลือก (choice test)

<u>วิธีปฏิบัติทดลอง</u>

ทำการทดลองในจานทดลองพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ภายในมีสำลีแผ่นชุ่มน้ำจำนวน 1 แผ่น ตัดใบมะเขือเปราะที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 2 3 และ 4 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร วางลงบนสำลี โดยแต่ละจานประกอบด้วยตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 4 วัย/จาน จากนั้นปล่อยแตนเบียน *E. dispersa* เพศเมียอายุ 2 วัน ที่ผสมพันธุ์แล้ว จำนวน 2 ตัว/จาน ปิดด้วยฝาเจาะระบายอากาศซึ่งปิดทับด้วยผ้าขาวบางวางไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65±10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ นับจำนวนตัว

อ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยต่างๆ ที่ถูกเบียนในแต่ละจาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียนในแต่ละวัย เพื่อหาระยะตัวอ่อนของแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียนชอบวางไข่

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยต่างๆ ที่ถูกเบียนในแต่ละจาน เพื่อหาอัตราการเบียน นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบศักยภาพการเบียนของแตนเบียน *Encarsia dispersa*

ศึกษาศักยภาพการเบียน โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จำนวน 10 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 2 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จำนวน 20 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 3 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จำนวน 40 ตัว/จาน

กรรมวิธีที่ 4 ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จำนวน 60 ตัว/จาน

วิธีปฏิบัติทดลอง

ทำการทดลองโดยเลือกระยะตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียนเลือกวางไข่มากที่สุดจากขั้นตอนที่ 1 มาทำการทดสอบในจานทดลองพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ภายในมีสำลีแผ่นชุ่มน้ำจำนวน 1 แผ่น ตัดใบมะเขือเปราะที่มีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร วางลงบนสำลี โดยแต่ละจานมีตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 10 20 40 และ 60 ตัว/จาน ตามกรรมวิธีที่ 1-4 จากนั้นปล่อยแตนเบียนเพศเมียอายุ 2 วัน ที่ผสมพันธุ์แล้ว จำนวน 1 ตัว/จาน ปิดด้วยฝาเจาะระบายอากาศโดยปิดทับด้วยผ้าขาวบางวางไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65± 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วใช้ aspirator ดูดแตนเบียนออก

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ถูกเบียน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564-เดือนกันยายน 2565 ณ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การทดสอบประสิทธิภาพแตนเบียน *Encarsia dispersa* ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci*

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาช่วงวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบต่อการชอบวางไข่ของแตนเบียน *Encarsia dispersa*

1) ทดสอบแบบไม่ให้ทางเลือก (no-choice test)

ผลการทดสอบช่วงวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียน *E. dispersa* ชอบวางไข่ ทดสอบแบบไม่ให้ทางเลือก (no-choice test) โดยปล่อยแตนเบียนเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้วจำนวน 2 ตัว ให้เบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 2 3 และ 4 จำนวนวัยละ 60 ตัว ในแต่ละกรรมวิธี เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยการเบียนแมลงหวี่ขาวยาสูบเท่ากับ 0.0 0.6 5.2 และ 10.2 ตัว ตามลำดับ ซึ่งในแต่ละวัยมีอัตราการเบียนเท่ากับ 0.0 1.0 8.7 และ 17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเบียนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยต่างๆ พบว่าตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 มีค่าเฉลี่ยการเบียนสูงที่สุด รองลงมาคือ วัย 3 ซึ่งให้ผลการเบียนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการทดสอบไม่พบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 ถูกเบียน อย่างไรก็ตามแม้ว่าตัวอ่อนวัย 4 จะถูกเบียนมากที่สุด แต่แมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 (puparium) กลับถูกเบียนน้อย โดยมีค่าเฉลี่ยการเบียนไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตัวอ่อนวัย 1 และ 2 (ตารางที่ 1) ซึ่งเป็นไปได้ว่าภายในแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 (puparium) ไม่เหมาะกับการวางไข่และการเจริญเติบโตของแตนเบียน *E. dispersa* ดังนั้นจึงพบแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 (puparium) ถูกเบียนน้อย ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Hoddle (n.d) ซึ่งกล่าวว่าแตนเบียน *E. formora* ชอบวางไข่ในแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 3 และ 4 ซึ่งให้ผลไปในทางเดียวกันกับแตนเบียน *E. transvena* ที่มีอัตราการเบียนสูงสุดในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 3 และ 4 และมีอัตราการเบียนต่ำในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 และ puparium (Antony *et al*., 2003)

2) ทดสอบแบบให้ทางเลือก (choice test)

การทดสอบช่วงวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียน *E. dispersa* ชอบวางไข่ ทดสอบแบบให้ทางเลือก (choice test) โดยให้แตนเบียนเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้วจำนวน 2 ตัว เลือกเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 2 3 และ 4 ในจานทดลองพลาสติก เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งการทดสอบนี้จะไม่ใช้แมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 (puparium) ในการทดสอบ เนื่องจากผลการทดสอบแบบไม่ให้ทางเลือกชี้ให้เห็นว่าผลการเบียนอยู่ในระดับต่ำ จากการทดสอบพบว่า แตนเบียน *E. dispersa* เลือกเบียนตัวอ่อนวัย 3 และวัย 4 โดยมีค่าเฉลี่ยการเบียน เท่ากับ 1.8 และ 8.6 ตัว ตามลำดับ และมีอัตราการเบียนคิดเป็น 3.0 และ 14.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) Ostim *et al*. (2018) รายงานว่าแตนเบียน *E. sophia* เริ่มต้นผลิตไข่หลังจากออกเป็นตัวเต็มวัยได้ไม่เกิน 24 ชั่วโมง เฉลี่ย 3±0.02 ฟอง/ตัว โดยมีช่วงอายุในการวางไข่เฉลี่ย 13.8 วัน แตนเบียนชนิดนี้จะมีประสิทธิภาพดีในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบที่มีปริมาณความหนาแน่นต่ำ ซึ่งสอดคล้องการกับการทดสอบที่ให้แตน *E. dispersa* วางไข่ 48 ชั่วโมง จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การเบียนต่ำ ดังนั้นขั้นตอนต่อไปของการทดลองจะทำการหาอัตราการเบียนในแต่ละวัน เพื่อหาจำนวนการเบียนตลอดช่วงอายุที่แตนสามารถวางไข่ได้ต่อไป Zhou *et al.* (2010) ได้รายงานว่า แตนเบียน *E. sophia* เพศเมียสามารถมีชีวิตอยู่ได้เฉลี่ย 21.9 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถวางไข่ในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบได้เฉลี่ย 79.1 ฟอง นอกจากนี้แตนเบียนชนิดนี้สามารถวางไข่ในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่บนใบฝ้ายได้เฉลี่ย 101.6 ฟอง (Xu *et al*., 2018) ทั้งนี้ จำนวนไข่ที่ถูกวางขึ้นอยู่กับพืชอาศัย ลักษณะใบ ความหนาแน่นของเส้นขนบนใบพืช รวมถึงลักษณะของแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ไม่ได้แบนราบไปกับใบพืชก็ทำให้แตนเบียนเบียนตัว

อ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ง่ายขึ้น (Otim *et al*., 2018) ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบ จึงพบว่า แตนเบียน *E. dispersa* เลือกเบียนตัวอ่อนวัย 4 มากที่สุด ซึ่งให้ผลแตกต่างกันทางสถิติกับตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 1 2 และ 3 (ตารางที่ 2) เนื่องจากตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 มีขนาดใหญ่ และไม่ได้แบนราบไปกับผิวใบ จึงถูกเบียนได้ง่าย

จากการทดสอบแบบไม่ให้ทางเลือก แตนเบียน *E. dispersa* สามารถเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 3 และ 2 โดยพบเบียนวัย 4 มากที่สุด แต่เมื่อทำการทดลองแบบมีทางเลือกให้แตนเบียน ปรากฏว่าแตนเบียนเลือกเบียนวัย 4 และ 3 เท่านั้น โดยพบเบียนวัย 4 มากที่สุด แต่ไม่พบการเบียนในวัย 2 และ 1 สำหรับในขั้นตอนการเลี้ยงขยายแตนเบียน *E. dispersa* ได้เลือกตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 3 สำหรับการเลี้ยงเพิ่มปริมาณ เนื่องจากตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 3-4 มีอายุประมาณ 5-7 วัน ดังนั้นแตนเบียนมีโอกาสในการเบียนขยายปริมาณได้มากขึ้นกว่าการให้เริ่มเบียนที่วัย 4

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบศักยภาพการเบียนของแตนเบียน *Encarsia dispersa*

การทดสอบศักยภาพการเบียนของแตนเบียน *E. dispersa* โดยเลือกตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 ซึ่งถูกเบียนมากที่สุดจากผลการทดสอบขั้นตอนที่ 1 ทำการทดสอบโดยปล่อยแตนเบียนเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้วจำนวน 1 ตัว ให้เบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 ที่ความหนาแน่นแตกต่างกัน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากผลการทดสอบพบว่า อัตราการเบียนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ความหนาแน่น จำนวน 10 20 40 และ 60 ตัว เท่ากับ 20.0 9.0 11.5 และ 13.3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเบียน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 ที่ถูกเบียน พบว่าเมื่อจำนวนของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบมากขึ้น จำนวนตัวอ่อนที่ถูกเบียนก็มีแนวโน้มมากขึ้น โดยการทดสอบแตนเบียน 1 ตัว/จำนวนตัวอ่อน 60 ตัว ให้ผลการเบียนสูงสุดเฉลี่ย 8 ตัว ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัยอื่นๆ ซึ่งตัวอ่อน 40 ตัว ให้ผลการเบียนเฉลี่ย 4.6 ตัว มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัวอ่อน 10 และ 20 ตัว สำหรับตัวอ่อน 10 และ 20 ตัว ให้ผลการเบียนเฉลี่ย 1.8-2.0 ตัว ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Lin *et al*. (2018) ซึ่งได้รายงานว่าแตนเบียน *E. bimaculate* แตนเบียน *E. Sophia* และแตนเบียน *Eretmocerus* sp. nr. *Furuhashii* มีประสิทธิภาพในการเบียนมากขึ้น เมื่อเพิ่มความหนาแน่นของแมลงหวี่ขาวยาสูบ แต่อย่างไรก็ตามจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่มากเกินไป ทำให้ขับถ่ายมูลหวานออกมามาก เป็นอุปสรรคในการเดินหาแมลงอาศัยของแตนเบียน ส่งผลให้ประสิทธิภาพการเบียนลดลง (Hoddle, n.d.)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาช่วงวัยของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่แตนเบียน *E. dispersa* ชอบวางไข่ พบว่าแตนเบียน *E. dispersa* ชอบวางไข่ในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 4 มากที่สุด รองลงมาคือ ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบวัย 3 เมื่อศึกษาศักยภาพการเบียนของแตนเบียน *E. dispersa* โดยให้

แตนเบียนวางไข่ในตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบความหนาแน่นแตกต่างกัน ที่ 10 20 40 และ 60 ตัว พบว่า ให้ผลการเบียนเฉลี่ย 2 1.8 4.6 และ 8 ตัว ตามลำดับ เมื่อจำนวนตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบมากขึ้น ศักยภาพการเบียนก็มากขึ้นตามไปด้วย

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มอารักขาพืช สำนักงานเกษตรจังหวัดตราด. 2555. แมลงหวี่ขาว. ข่าวพยากรณ์และเตือนภัยการระบาดศัตรูพืช. 1:2.

รจนา ไวยเจริญ อัมพร วิโนทัย และประภัสสร เชยคำแหง. 2556. เทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้แตนเบียนสกุล *Encarsia* เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาว. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

สัจจะ ประสงค์รัพย์. 2557. *แมลงหวี่ขาวยาสูบ*. (ระบบออนไลน์) แหล่งข้อมูล: http://hort.ezathai.org/?p=3510 (30 มิถุนายน 2563).

อุษณีย์ ฉัตรตระกูล อัมพร วิโนทัย อัญชัญ ชมพูพวง และอุเทน แก้วควายงาม. 2549. การควบคุมแมลงหวี่ขาว (Greenhouse whitefly) ชนิด *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) ด้วยวิธีการต่างๆ. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยที่ 3060-3363 งบประมาณปี 2546-2548.

Antony, B. , M.S. Palaniswami and T.J. Henneberry. 2003. *Encarsia transvena* (Hymenoptera: Aphelinidae) Development on Different *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) instars. *Biological control-parasitoids and predators*. 32(3): 584-591.

Hoddle, M. n.d. *A guide to natural enemies in north America.* (Online). Available: https://biocontrol.entomology.cornell.edu/parasitoids/encarsia.php (January 17, 2023).

Lin, L., S. Ali and J. Wu. 2018. Influences of varying host: parasitoid ratios on parasitism of whitefly by three different parasitoid species. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 28(59): 1-8.

Otim, M., S. Kyamanywa, P. Asiimwe, J. Legg, M. Guershon and D. Gerling. 2018. Development duration, longevity and fertility of *Eretmocerus mundus* Mercet and *Encarsia sophia* (Girault & Dodd) (Hymenoptera: Aphelinidae) on *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) attacking cassava in Uganda. *Israel Journal of Entomology*. 48(2): 141-155.

Weeden, C.R., A.M. Shelton and M.P. Hoffman. 2009. *Biological Control: A guide to natural enemies in North America*. (Online). Available: http: www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/accessed (June 30, 2020).

Xu, H.Y., N. Yang, H. Chi, G. Ren, and F. Wan. 2018. Comparison of demographic fitness and biocontrol effectiveness of two parasitoids, *Encarsia sophia* and *Eretmocerus hayati* (Hymenoptera: Aphelinidae), against *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest management science* 74: 2116-2124.

Zhou, C.Q., Y.X. Li, T.X. Liu, F. Zhang, and C. Luo. 2010. Development and morphology of female immature of *Encarsia sophia* and their longevity and fecundity. *Chinese Journal of Biological Control*. 26: 113-118.

Table 1 Parasitism of *Encarsia dispersa* on different nymphal instar of *Bemisia tabaci* in no-choice test

Host instars	Quantity which parasitized (Mean±SE) [1/]	Parasitism (%)
1st instar	0.0±0.00 c	0.0
2nd instar	0.6±0.24 c	1.0
3rd instar	5.2±0.73 b	8.67
4th instar	10.2±1.59 a	17.0
4th instar (puparium)	1.2±0.58 c	2.0

[1/] Means in column with the same letter are not significantly different at 0.05 levels (Tukey's HSD test)

Table 2 Parasitism of *Encarsia dispersa* on different nymphal instar of *Bemisia tabaci* in choice test

Host instars	Quantity which parasitized (Mean±SE) [1/]	Parasitism (%)
1st instar	0.0±0.00 b	0.0
2nd instar	0.0±0.00 b	0.0
3rd instar	1.8±0.58 b	3.0
4th instar	8.6±1.47 a	14.3

[1/] Means in column with the same letter are not significantly different at 0.05 levels (Tukey's HSD test)

Table 3 Mean number of parasitism and parasitism rate of *Encarsia dispersa* parasitoid in different density of *Bemisia tabaci* nymph

Host density	Mean number of parasitized (Mean±SE) [1/]	Parasitism rate (%) (Mean±SE) [1/]
10	2.0±0.55 c	20.0±5.48 a
20	1.8±0.58 c	9.0±2.92 a
40	4.6±0.24 b	11.5±0.61 a
60	8.0±0.77 a	13.3±1.29 a

[1/] Means in column with the same letter are not significantly different at 0.05 levels (Tukey's HSD test)

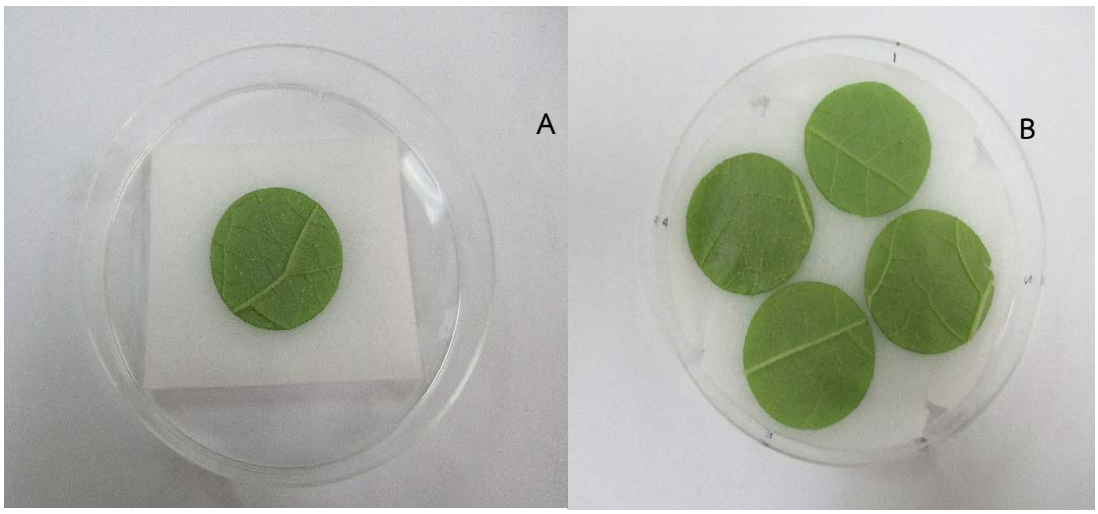


Figure 1 A experiment of parasitism of Encarsia dispersa on different nymphal instar of *Bemisia tabaci* ;

A. No-choice test

B. Choice test

ศึกษาอัตราการใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* ควบคุมเพลี้ยอ่อนคะน้า ในโรงเรือน

Studies Rate of Releases The Green Lacewings *Chrysoperla carnea* for Control Aphids on Kale in Greenhouses

ประภัสสร เชยคำแหง วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี

กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดลองนี้ดำเนินการหาอัตราการใช้ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* วัย 2เพื่อการควบคุมเพลี้ยอ่อนคะน้าในโรงเรือน ในปี 2565 ศึกษาอัตราการใช้แมลงช้างปีกใส *C. carnea* ควบคุมเพลี้ยอ่อนคะน้าในโรงเรือน ผลการทดลองพบว่าการใช้ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 ที่อัตรา 10 ตัวต่อต้น เมื่อพบเพลี้ยอ่อนเกิน 50 ตัวต่อต้นคะน้า และสำรวจพบการระบาดเกิน 20 เปอร์เซ็นต์ ในแปลงปลูก ประสิทธิภาพในการการควบคุมเพลี้ยอ่อนจากผลการทดลองพบว่าการใช้ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส วัย 2 *C. carnea* 1 ครั้งใน อัตรา 10 ตัวต่อต้น ภายในระยะเวลา 7 วัน สามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนได้ถึง 98.91 เปอร์เซ็นต์ มีผลไม่แตกต่างกับการใช้ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส วัย 2 อัตรา 15 ตัวต่อต้น สามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนได้ 99.52 เปอร์เซ็นต์ แต่มีผลแตกต่างกับการใช้ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส วัย 2 อัตรา 5 ตัวต่อต้น สามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนได้เพียง 36.79 เปอร์เซ็นต์ และที่สำคัญระยะเวลาหรือช่วงเวลาในการปล่อยน่าจะมีผลในการควบคุมเพลี้ยอ่อนได้มากกว่า ดังนั้นในโรงเรือนที่ปลูกคะน้า ควรมีการสำรวจศัตรูพืชทุกสัปดาห์อย่างต่อเนื่อง

คำหลัก : แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* เพลี้ยอ่อน อัตราการปล่อย การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-02-01-65

คำนำ

คะน้า เป็นพืชผักจัดอยู่ในพืชตระกูลกะหล่ำเป็นผักที่นิยมนำมาทำอาหารบริโภคในชีวิตประจำวันได้หลากหลายเมนู มีคุณค่าทางอาหาร ประกอบด้วยวิตามินและเกลือแร่ที่จำเป็นต่อร่างกาย ในการปลูกคะน้ามีแมลงศัตรูพืชลงทำลายหลายชนิด ชนิดที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง คือ เพลี้ยอ่อน (Aphid) อยู่ในวงศ์ (Family) Aphididae อันดับ (Order) Hemiptera เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงปากดูดขนาดเล็กมีลำตัวอ่อนนุ่ม เคลื่อนไหวช้า ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยของเพลี้ยอ่อนทำลายพืชโดยใช้ส่วนปากดูดกินน้ำเลี้ยง จากเซลล์พืชบริเวณใต้ใบ หรือส่วนอ่อนๆ ของพืช เช่น ยอดอ่อน ตาอ่อน ใบ ดอก และผล เพลี้ยอ่อนใช้ปากที่พัฒนาเป็นท่อยาว (Rostrum) แทงเข้าไปในเนื้อเยื่อพืชระหว่างเซลล์พืช ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะทำให้ชะงักการเจริญเติบโต หรือบางครั้งทำให้ต้นตายได้ ทั่วโลกมีเพลี้ยอ่อนอยู่ประมาณ 4,000 ชนิด เพลี้ยอ่อนส่วนใหญ่ที่พบอยู่ในวงศ์ย่อย Aphidinae และประมาณ 250 ชนิด เป็นศัตรูที่สำคัญของพืชหลายชนิด ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบเพลี้ยอ่อนทั้งหมด 182 ชนิด ชนิดของเพลี้ยอ่อนที่ลงทำลายคะน้ามีทั้งหมด 4 ชนิด คือ เพลี้ยอ่อนฝ้าย (cotton aphid) *Aphis gossypii* Glover เพลี้ยอ่อนผัก (cabbage aphid) *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) เพลี้ยอ่อนลูกท้อ (aphid) *Myzus persicae* (Sulzer) และเพลี้ยอ่อนข้าวโพด (corn leaf aphid) *Rhopalosiphum maidis* (ลักขณาและชฎาภรณ์, 2554) แมลงศัตรูพืชชนิดนี้มีการขยายพันธุ์รวดเร็ว เมื่อลงทำลายแล้วจะทำให้เกิดความเสียหายรุนแรง ดังนั้นเพื่อการผลิตพืชคะน้าที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค และเกษตรกรผู้ผลิตการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติมาช่วยป้องกันกำจัด จึงเป็นแนวทางที่สำคัญ แมลงช้างปีกใสเป็นแมลงห้ำที่ได้รับสมญานามว่า สิงห์นักล่าเพลี้ยอ่อน จึงมีความน่าสนใจที่จะนำมาใช้กำจัดเพลี้ยอ่อนในคะน้าได้ แมลงช้างปีกใส (Green Lacewings) เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์มากชนิดหนึ่ง จัดอยู่ในอันดับ Neroptera วงศ์ Chrysopidae เป็นตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากสามารถทำลายเหยื่อศัตรูพืชได้หลายชนิด เช่น ไข่และตัวอ่อนของผีเสื้อบางชนิด เพลี้ยอ่อน ไรแมงมุม เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไก่แจ้ เพลี้ยจักจั่น ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว และเหยื่อศัตรูพืชอีกหลายชนิดที่ลำตัวอ่อนนุ่ม จึงทำให้แมลงช้างปีกใสเป็นแมลงห้ำที่ได้รับความสนใจในหลายๆ ประเทศ และพิมลพร (2545) รายงานว่าเหยื่อที่แมลงช้างปีกใสชอบมากที่สุดคือ เพลี้ยอ่อน แมลงช้างปีกใส 1 ตัว สามารถกินเพลี้ยอ่อนได้ 100-600 ตัวถึงแม้ว่าช่วงเวลานั้นจะหาเหยื่อได้ยาก หรือพืชมีขนปกคลุมหรือมีสารเหนียวก็ตาม ทั่วโลกพบแมลงช้างปีกใสอยู่หลายสายพันธุ์ เช่น ประเทศจีนพบแมลงช้างปีกใส *C. sinica* ในสหรัฐอเมริกาพบแมลงช้างปีกใส *C. carnea* และ *C. rufilabris* ซึ่งแมลงช้างปีกใสทั้ง 2 ชนิด มีรายงานว่าสามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ Tulisalo, 1984 ได้รายงานว่าแมลงช้างปีกใส ในสกุล Chrysoperla เช่น *C. carnea, Chrysopa septempunctata* Wesmael, *Chrysopa formosa* Brauer และ *C. perla* สามารถใช้ควบคุมเพลี้ยอ่อนได้ดีในพืชที่ปลูกในโรงเรือน เช่น พริก แตงกวา มะเขือ และผักกาดหอม เป็นต้น นอกจากนั้น Nordlund *et al*., 2001 ได้รายงานว่าแมลงช้างปีกใสในสกุล Chrysoperla ได้เคยถูกใช้เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนในพริก และถั่วลันเตา และยังใช้เพื่อ ควบคุมหนอนผีเสื้อ *Leptinotarsa decemlineata* ในมะเขือ และมะเขือเทศ ใช้ควบคุม

หนอนผีเสื้อ *Panonychus ulmi* ในไร่แอปเปิ้ล และใช้ควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย *Heliothis uirescens* ในไร่ฝ้ายอีกด้วย นอกจากนั้นมีรายงานว่าในแถบทวีปอเมริกาเหนือใช้ *C. carnea* ควบคุมเพลี้ยแป้ง เพลี้ยจักจั่น และเพลี้ยอ่อน แมลงช้างปีกใส *C. rufilabris* ใช้ควบคุมเพลี้ยหอย ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว เพลี้ยอ่อน และเพลี้ยจักจั่น และ *C. externa* (Hagen) เป็นแมลงช้างปีกใสชนิดที่สามารถควบคุมไข่ของผีเสื้อกลางคืนได้ (Daane and Hagen, 2001) ในออสเตรเลีย New, 2002 รายงานว่าแมลงช้างปีกใสชนิด *Mallada signata* (Schneider) มีความสำคัญมากที่จะใช้ในโปรแกรมการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี สอดคล้องกับในประเทศจีนรายงานว่าแมลงช้างปีกใส *C. sinica* (Tjeder) ประสบความสำเร็จในการใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเช่นกัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส *C. carnea*
2. ต้นคะน้า 120 กระถาง
3. โรงเรือนตาข่ายทดลอง
4. ที่นับแมลง พู่กัน

วิธีการ

ปลูกคะน้า ลงในกระถางขนาด 12 นิ้ว จำนวน 2 ต้นต่อกระถาง แบ่งเป็น 5 แถว แต่ละแถวมีต้นคะน้า 30 กระถาง ทำกรงครอบแถวละ 4 กรง วางกระถางคะน้าไว้ในกรงๆ ละ 6 กระถาง โดยใช้พืชทดลองทั้งหมดจำนวน 120 กระถาง ทำกรงครอบจำนวน 20 กรง เมื่อพืชอายุ 20 วัน นำเพลี้ยอ่อนจากธรรมชาติมาทำการระบาดเทียม ตรวจนับเพลี้ยอ่อนได้จำนวน 20-50 ตัวต่อใบ มากกว่า 20% ต่อกรง (นับ 3 ใบบน) ทำการสำรวจเพลี้ยอ่อนทุกๆ 7 วัน เมื่อพบการระบาดเกิน 20% ปล่อยแมลงช้างปีกใสตามอัตราที่กำหนด เริ่มดำเนินการทดลอง โดยปล่อยระยะของแมลงช้างปีกใสวัย 2 ตามกรรมวิธี แผนการทดลองแบบ RCB มี 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 อัตรา 5 ตัว/ต้น
กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 อัตรา 10 ตัว/ต้น
กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 อัตรา 15 ตัว/ต้น
กรรมวิธีที่ 4 ไม่ปล่อยแมลงช้างปีกใส

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 25564 สิ้นสุดกันยายน 2565

กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองใช้อัตราต่างๆ ในการปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อน ปล่อยที่อัตรา 5 10 15 ตัวต่อต้น ระดับของเพลี้ยอ่อนที่เหลืออยู่ใน 1 วัน เท่ากับ 49.20±4.32 44.60±5.18 40.20±11.94 ใน 3 วัน เท่ากับ 75.00±20.99 43.40±5.32 22.40±4.39 ใน 5 วัน เท่ากับ 96.80±19.71 21.80±5.76 19.20±5.85 และใน 7 วัน เท่ากับ 104.80±19.30 1.80±1.18 0.8±1.09 ตามลำดับ เปรียบเทียบกับ Control ที่ 1 3 5 และ 7 วัน เท่ากับ 82.20±16.08 86.20±12.36 119.80±45.47 165.80±42.49 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากผลการทดลองจะเห็นว่า การใช้ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 ที่อัตรา 10 และ 15 ตัวต่อต้น ใน 7 วันสามารถลดประชากรของเพลี้ยอ่อนได้ดีที่สุด และถ้าต้องการความรวดเร็วในการลดประชากรเพลี้ยอ่อนไม่ให้เกิดความเสียหาย ก็ควรใช้ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสในอัตรา 15 ตัวต่อต้น ซึ่งจากข้อมูลในตารางการใช้อัตรานี้สามารถลดประชากรของเพลี้ยอ่อนได้มากและใช้เวลาเร็วที่สุด และเปอร์เซ็นต์การควบคุมศัตรูพืช (ตารางที่ 2) ในช่วงระยะเวลา 1 3 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบที่อัตราการปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 ที่ 5 10 15 ตัวต่อต้นใน 1 วัน เป็น 40.15 45.74 และ 51.09 ใน 3 วันเป็น 12.99 49.65 และ 74.01 ใน 5 วัน เป็น 19.20 81.80 และ 83.97 และ ใน 7 วัน เป็น 36.79 98.91 และ 99.52 ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ดังนั้นในการใช้ *C. carnea* จะเลือกแนะนำที่อัตรา 10 ตัวต่อต้น โดยดูข้อมูลจากเปอร์เซ็นต์หรือประสิทธิภาพในการการควบคุมเพลี้ยอ่อน จากผลการทดลองพบว่าการใช้ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสวัย 2 *C. carnea* 1 ครั้ง ในจำนวน 10 ตัวต่อต้นคะน้าที่มีเพลี้ยอ่อนระบาด 50 ตัว สามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนได้ถึง 98.91 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 7 วัน และควรมีการสำรวจศัตรูพืชในโรงเรือนที่ปลูกคะน้าทุกสัปดาห์อย่างต่อเนื่อง สอดคล้องกับคำแนะนำของ Daane and Yokota, 1997 รายงานว่า ระยะเวลาการเข้าทำลายของศัตรูพืชน่าจะมีผลมากกว่าอัตราการใช้ ดังนั้นต้องมีการสำรวจศัตรูพืชในโรงเรือนทุกๆ 3 วันเพื่อให้ทันต่อการปล่อยศัตรูธรรมชาติเข้าไปควบคุมได้ทันท่วงที

คำขอบคุณ

-

เอกสารอ้างอิง

พิมลพร นันทะ. 2554. ศัตรูธรรมชาติ หัวใจของ IPM, กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ISBN 974-436-065-8.

ลักขณา บำรุงศรี และชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร. 2554. การเก็บตัวอย่างและการจำแนกเพลี้ยอ่อน. *ใน* เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตร "การเก็บและจำแนกตัวอย่างแมลงจำพวกปากดูดศัตรูสำคัญของพืชนำเข้าและส่งออก" ครั้งที่ 4, 24-26 พฤษภาคม 2554, สำนักวิจัย พัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Daane K. M., G. Y. Yokota. 1997. Release strategies affect survival and distribution of green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) in augmentation programs. Environ En- tomol. 26:455-464.

Daan, K.M. and K.S. Hagen. 2001. An Environment of lacewing Releases in North America. *In*: Lacewings in the Crop Environment, McEwen P.K., T.R., New and A.E. Whittington (Eds.). Cambridge University Press, Cambridge. pp: 398-407.

Nordlund, D.A., A.C. Cohen and R.A. Smith. 2001. Mass-Rearing, Release Techniques and Augmentation. *In*: Lacewings in the Crop Environment, McEwen P.K., T.R. New and A.E. Whittington (Eds.). Cambridge University Press, Cambridge. pp: 303-319.

Tulisalo, U. 1984. Biological Control in the Greenhouse. *In*: Biology of Chrysopidae, Canard, M., Y. Semeria and T.R. New (Eds.). Dr.W. Junk. The Hague. pp: 228-233.

Table 1 Efficiency of releasing *C. carnea* 2nd instar on Kale for control Aphid

Larva of *C. carnea* 2nd instar per plant	Aphid Before release larva of *C. carnea*	Aphid after release larva of *C. carnea* day 1	Aphid after release larva of *C. carnea* day 3	Aphid after release larva of *C. carnea* day 5	Aphid after release larva of *C. carnea* day 7
5 larva/plant	48.80±7.66	49.20±4.32	75.00±20.99	96.80±19.71	104.80±19.30
10 larva/plant	47.80±3.35	44.60±5.18	43.40±5.32	21.80±5.76	1.80±1.18
15 larva/plant	52.00±3.24	40.20±11.94	22.40±4.39	19.20±5.85	0.80±1.09
Control	50.60±2.30	82.20±16.08	86.20±12.36	119.80±45.47	165.80±42.49

Table 2 Percent reduction in aphid population after releasing *C. carnea* 2nd instar

Date of inspection after	No. of aphid on control plants	Release ratios of *C. carnea* 2 instar (larva:aphid)					
		5 larva:50 aphid		10 larva:50 aphid		15 larva:50 aphid	
		No. of aphid on treated plants	% Reduction	No. of aphid on treated plants	% Reduction	No. of aphid on treated plants	% Reduction
1 Day	82.20	49.20	40.15	44.60	45.74	40.20	51.09
3 Day	86.20	75.00	12.99	43.40	49.65	22.40	74.01
5 Day	119.80	96.80	19.20	21.80	81.8	19.20	83.97
7 Day	165.80	104.80	36.79	1.80	98.91	0.80	99.52

ศึกษาอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดของมวนเพชฌฆาตระยะต่างๆ

Sudy on The Feeding Capacity of Assasin Bugs on Bean Pod Borer

สาทิพย์ มาลี ประภัสสร เชยคำแหง ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์
นันทนัช พินศรี ภัทรพร สรรพนุเคราะห์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Study on the feeding capacity of assasin bugs, *Sycanus versicolor* Dohrn. on bean pod borer has been conducted between October 2021 to September 2022 at the Plant Protection Research Development Office Laboratory, Department of Agriculture. This project aims to. study on the feeding capacity of assasin bugs on bean pod borer for supporting information in bean pod borer biological control. The results revealed, the feeding capacity of 2nd 3rd 4th and 5th nymph had 2.65 3.55 3.71 and 4.69 larvae per day, respectively. The feeding capacity of adult had 6.10 larvae per day

Keywords : assassin bug, bean pod borer, long yard bean

บทคัดย่อ

ศึกษาอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดของมวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn. ระยะต่างๆ ทำการศึกษาที่ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2565 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศึกษาอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดของมวนเพชฌฆาตระยะต่างๆ เป็นข้อมูลประกอบการควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาวโดยชีววิธี จากผลการทดลองพบว่า ตัวอ่อนของมวนเพชฌฆาตระยะที่ 2 3 4 และ 5 มีอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดเฉลี่ย 2.65 3.55 3.71 และ 4.69 ตัวต่อวัน ตามลำดับ ส่วนตัวเต็มวัยของมวนเพชฌฆาต สามารถกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดได้เฉลี่ย 6.10 ตัวต่อวัน

คำหลัก : มวนเพชฌฆาต หนอนเจาะฝักถั่วลายจุด ถั่วฝักยาว

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-03-01-65

คำนำ

ถั่วฝักยาว yardlong bean (*Vigna unguiculata* (L.) var sesquiedalis เป็นพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ใช้ปรุงอาหารและบริโภคสดในประเทศและส่งออกต่างประเทศ ทั้งในรูปผลผลิตสดและแปรรูป ถั่วฝักยาวสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี ในทุกภาคของประเทศ แมลงศัตรูพืชเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้ผลผลิตถั่วฝักยาวลดลง ถั่วฝักยาวมีแมลงศัตรูหลายชนิด ได้แก่ หนอนแมลงวันเจาะต้นถั่ว หนอนเจาะฝักถั่วลายจุด หนอนผีเสื้อสีน้ำเงิน หนอนกระทู้หอม เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ และไรขาว เกิดความเสียหายต่อผลผลิตอย่างโดยลดลงได้ถึง 20-25% แมลงศัตรูสำคัญที่มากชนิดหนึ่งได้แก่ หนอนเจาะฝักถั่วลายจุด (bean pod borer) *Maruca testulalis* (Hubner) เนื่องจากหนอนจะเข้าไปกัดกินในระยะดอก ทำให้ดอกร่วง เมื่อหนอนโตขึ้นจะเจาะเข้าไปกินภายในฝัก ทำให้ฝักและเมล็ดลีบ ผลผลิตลดลง ปัจจุบันเกษตรกรมักใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด ซึ่งหากใช้ไม่ถูกวิธีอาจทำให้เกิดปัญหาสารตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม ส่งผลกระทบต่อเกษตรกร และผู้บริโภค (กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2554.)

มวนเพชฌฆาต (assassin bug) (Hemiptera: Reduviidae) เป็นมวนตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายหนอนศัตรูพืช สามารถอดอาหารได้เป็นเวลานานเมื่อไม่มีเหยื่อ (Slater and Baranowski, 1978) Sahayaraj (2002) กล่าวว่า มวนเพชฌฆาต *Rhynocoris marginatus* (F.) สามารถเลี้ยงขยายพันธุ์ได้ดีด้วยหนอนผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* Stainton โดยสามารถกินหนอนผีเสื้อข้าวสารได้วันละ 8 ตัว/มวน 1 ตัว Sahayaraj and Paulraj (2001) รายงานว่ามวนเพชฌฆาต *Rhynocoris marginatus* (F.) เมื่อเลี้ยงด้วยหนอนกระทู้ผักสามารถวางไข่ได้ 405.28±22.15 ฟอง มีวงจรชีวิต 103.933 วัน Grundy and Maelzer (2002) กล่าวว่าตัวอ่อนมวนเพชฌฆาต *Pristhesancus plagipennis*(Walker) สามารถกินหนอนเจาะสมอฝ้ายที่มีขนาดเล็ก-กลางมากกว่า 160 ตัว/9-12 อาทิตย์/มวน 1 ตัว สามารถเลี้ยงขยายปริมาณ และนำไปปล่อยเพื่อควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในอัตรา 1 ตัว/แถวยาว 1 เมตร Sahayaraj and Sathiamoorthi (2002) กล่าวว่ามวนเพชฌฆาต *Rhynocoris marginatus* (F.) สามารถฆ่าแมลงศัตรูพืชได้เกือบ 25 ชนิด เช่น หนอนกระทู้ผัก และหนอนเจาะสมอฝ้าย และได้นำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นในแปลงถั่วเหลือง Grundy (2007) รายงานว่ามวนเพชฌฆาต *Pristhesancus plagipennis* (Walker) เป็นศัตรูธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพที่ใช้ควบคุมหนอน *Helicoverpa* และ *Creontiades* สำหรับในประเทศไทย รัตนาและคณะ (2548) รายงานว่ามวนเพชฌฆาตสกุล *Sycanus* ที่พบมากในประเทศไทยมี 3 สกุล คือ *Sycanus versicolor* Dohrn., *Sycanus collaris* Fabricius และ *Sycanus croceovittatus* Dohrn. ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไป สำหรับ *Sycanus versicolor* Dohrn เป็นชนิดที่พบบ่อยและพบมากกว่าอีก 2 ชนิด การผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากเพื่อใช้เป็นชีวะภัณฑ์สามารถทำได้ง่ายและต้นทุนการผลิตต่ำ

จึงได้ทำการศึกษาอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วของมวนเพชฌฆาตระยะต่างๆ เพื่อเป็นข้อมูลประกอบในการนำมวนเพชฌฆาตไปใช้ควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วในถั่วฝักขาวเพื่อเพิ่ม

ประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูถั่วฝักยาวและเป็นแนวทางในการลดการใช้สารฆ่าแมลงในถั่วฝักยาวอีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม ขนาด 10x14 เซนติเมตร

2.มวนเพชฌฆาต

3.หนอนเจาะฝักถั่วลายจุด

วิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพของมวนเพชฌฆาต *Sycannus versicolor* ระยะที่ 2 3 4 5 และตัวเต็มวัยในการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุด นำหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดจำนวน 10 ตัว ใส่กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 10x14 เซนติเมตร ฝากล่องด้านบนกรุด้วยตาข่ายถี่ ปล่อยมวนเพชฌฆาตจำนวน 1 ตัวต่อกล่อง ใส่ในกล่องพลาสติกที่มีหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดอยู่ ตรวจนับจำนวนหนอนที่เหลือหลังปล่อย 1 2 และ 3 วัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา: เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

สถานที่ทำการทดลอง: กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดของตัวอ่อนมวนเพชฌฆาต *Sycannus versicolor* ระยะที่ 2 3 4 5 และตัวเต็มวัยมวนเพชฌฆาต พบว่าตัวอ่อนของมวนเพชฌฆาตระยะที่ 2 3 4 และ 5 มีอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดเฉลี่ย 2.65 3.55 3.71 และ 4.69 ตัวต่อวัน ส่วนตัวเต็มวัยของมวนเพชฌฆาต สามารถกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดได้เฉลี่ย 6.10 ตัวต่อวัน (Table 1) รัตนา, 2553 แนะนำให้นำตัวอ่อนมวนเพชฌฆาตระยะที่ 4 จนถึงตัวเต็มวัยไปปล่อยควบคุมศัตรูพืช เนื่องจากเป็นวัยที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายหนอน โดยการทดสอบอัตราการกินของมวนเพชฌฆาตในหนอนกระทู้ผักพบว่าอัตราการกินหนอนของมวนเพชฌฆาตจะเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญของมวนเพชฌฆาต โดยมีอัตราการกินหนอนกระทู้ผัก 1-2 ตัวต่อวัน จากการทดลองตัวอ่อนมวนเพชฌฆาตระยะที่ 4 ถึงตัวเต็มวันมีอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่ว 3.71-6.10 ตัวต่อวัน เมื่อเทียบกับอัตราการกินในหนอนกระทู้ผักพบว่าอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วจะสูงกว่าทั้งนี้เนื่องมาจากหนอนเจาะฝักถั่วมีขนาดเล็กกว่าหนอนกระทู้ผัก จึงทำให้ในแต่ละวันมวนเพชฌฆาตจึงกินหนอนเจาะฝักถั่วมากกว่ากินหนอนกระทู้ผัก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดสอบอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดของตัวอ่อนมวนเพชฌฆาต *Sycannus versicolor* ระยะที่ 2 3 4 5 มีอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดเฉลี่ย 2.65 3.55 3.71 และ 4.69 ตัวต่อวัน และตัวเต็มวัยของมวนเพชฌฆาต มีอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดได้เฉลี่ย 6.10 ตัวต่อวัน ทำให้ได้ข้อมูลการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดของตัวอ่อนมวนเพชฌฆาตระยะที่ 4 ที่มีอัตราการกินเฉลี่ย 3.71 ตัวต่อวัน เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการศึกษาอัตราการปล่อยมวนเพชฌฆาตให้มีความสัมพันธ์กับระดับการระบาดของหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในสภาพแปลงทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2554. เอกสารวิชาการแมลงศัตรูผัก เห็ดและไม้ดอก. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 74 หน้า.

รัตนา นชะพงษ์. 2553. พัฒนาการผลิตมวนเพชฌฆาต. เอกสารวิชาการรายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Das, S. and A. Mukhopadhyay. 2008. Rearing of *Sycanus croceovittatus* Dohrn (Heteroptera: Reduviidae) on termite food. *In*: Recent Trends in Insect Pest Management. Elite Publishing House Pvt Ltd: New Delhi. pp. 144-145.

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. Retrieved March 8, 2007, from http://journals.cambridge.org.

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. Retrieved September 24, 2007, from www.blackwell-synergy.com.

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): 137-147.

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. J. Appl. Entomol. 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.* Retrieved March 8, 2007, from http://www.agr.hr/jcea/issues/jcea3 1/jcea31_8.html

Table 1 Feeding capacity of assasin bugs, *Sycanus versicolor* Dohrn. on bean pod borer in laboratory of Plant Protection Research and Development office, 2022

Stages of development	No. of consumed (larva /day) Means ± SD
2nd nymph	2.65±1.00
3rd nymph	3.55±0.93
4th nymph	3.70±0.85
5th nymph	4.69±1.04
adult	6.10±1.48

Figure 1 Assassin bug Adult, *Sycanus versicolor* Dohrn. feed on the bean pod borer

การศึกษาประสิทธิภาพการกินเพลี้ยอ่อนของแมลงหางหนีบขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucas)

Predation Efficiency of Ring-legged Earwig (*Euborellia annulipes* (Lucas)) on Aphid

นันทนัช พินศรี ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ สาทิพย์ มาลี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The study on predation efficiency of ring-legged earwig (*Euborellia annulipes* (Lucas)) on Aphid controls was conducted at the Laboratory of Biological Control Section, Entomology and Zoology Research Group, Plant Protection Research and Development, Bangkok, Thailand. The study aimed to determine the efficiency and potential utilization of ring-legged earwig (*E. annulipes* (Lucas)) to control aphids. The experiments were done by feeding small aphids (1-3 instar larvae) and large aphids (4 instar larvae and adults) to ring-legged earwig (at 2nd, 3rd, 4th, 5th instar larvae and adult of males and females with 30 insects per group) every day until earwigs changed their instar. The amounts of small aphids were fed to the second, third, fourth, and fifth instar larvae at 50, 60, 70, and 80 of small aphids per day, respectively. Moreover, 120 small aphids were fed to both adult of males and females earwigs per day. The present study showed that at the 2nd, 3rd, 4th, 5th instar larvae, and adult males and females were able to consume small aphids on average 16.67±7.16, 34.38±7.53, 48.90±8.01, 51.13±9.41, 52.07±19.80 and 56.42±24.81 animals per day, respectively. The amounts of large aphids were fed to the second, third, fourth, and fifth instar larvae at 15, 20, 30, and 40 of large aphids per day, respectively. Additionally, 50 large aphids were fed to both adult of males and females earwigs per day. The present study showed that at the 2nd, 3rd, 4th, 5th larvae, and adult males and females were able to consume large aphids on average 3.13 ± 2.13, 4.91 ± 3.40, 9.54 ± 6.42, 10.75 ± 8.72, 11.12 ± 6.62 and 12.58±6.96 animals per day, respectively The feeding efficiency of the ring-legged earwig from this study will be used as an insight information for farmers to further utilize ring-legged earwig as an biological control of the infestation of aphids.

Keywords : Predation Ring-legged Earwig Aphid

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-04-01-65

บทคัดย่อ

ศึกษาการกินเพลี้ยอ่อนของแมลงหางหนีบขาวงแหวนที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและศักยภาพของแมลงหางหนีบขาวงแหวนควบคุมกำจัดเพลี้ยอ่อน โดยใช้เพลี้ยอ่อนตัวเล็ก (วัยที่ 1-3) เพลี้ยอ่อนตัวใหญ่ (วัยที่ 4-ตัวเต็มวัย) และแมลงหางหนีบขาวงแหวน ใช้วัยที่ 2, 3, 4, 5 ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย อย่างละ 30 ตัว ให้เพลี้ยอ่อนทุกวันจนกว่าแมลงหางหนีบขาวงแหวนเปลี่ยนวัย โดยแมลงหางหนีบวัยที่ 2 ให้เพลี้ยอ่อนตัวเล็กจำนวน 50 ตัวต่อวัน วัยที่ 3 ให้เพลี้ยอ่อนตัวเล็ก จำนวน 60 ตัวต่อวัน วัยที่ 4 ให้เพลี้ยอ่อนตัวเล็ก จำนวน 70 ตัวต่อวัน วัยที่ 5 ให้เพลี้ยอ่อนตัวเล็ก จำนวน 80 ตัวต่อวัน ตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมียให้เพลี้ยอ่อนตัวเล็กจำนวน 120 ตัวต่อวัน พบว่าแมลงหางหนีบขาวงแหวนวัยที่ 2, 3, 4, 5, เพศผู้และเพศเมียสามารถกินเพลี้ยอ่อนตัวเล็กได้เฉลี่ย 16.67±7.16, 34.38±7.53, 48.90±8.01, 51.13±9.41, 52.07±19.80 และ 56.42±24.81 ตัวต่อวันตามลำดับ ในส่วนเพลี้ยอ่อนตัวใหญ่ใช้แมลงหางหนีบวัยที่ 2, 3, 4, ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย อย่างละ 30 ตัว และให้เพลี้ยอ่อนตัวใหญ่ทุกวันจนกว่าแมลงหางหนีบขาวงแหวนเปลี่ยนวัย โดยวัยที่ 2 ให้เพลี้ยอ่อนตัวใหญ่จำนวน 15 ตัวต่อวัน วัยที่ 3 ให้เพลี้ยอ่อนตัวใหญ่จำนวน 20 ตัวต่อวัน วัยที่ 4 ให้เพลี้ยอ่อนตัวใหญ่จำนวน 30 ตัวต่อวัน วัยที่ 5 ให้เพลี้ยอ่อนตัวใหญ่จำนวน 40 ตัวต่อวัน ตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมียให้เพลี้ยอ่อนตัวใหญ่จำนวน 50 ตัวต่อวัน พบว่าแมลงหางหนีบขาวงแหวนวัยที่ 2, 3, 4, 5, เพศผู้และเพศเมียสามารถกินเพลี้ยอ่อนตัวใหญ่ได้เฉลี่ย 3.13 ±2.13, 4.91 ±3.40, 9.54 ±6.42, 10.75± 8.72, 11.12±6.62 และ 12.58±6.96 ตัวต่อวันตามลำดับ นำประสิทธิภาพการกินของแมลงหางหนีบขาวงแหวนปรับใช้ในสภาพแปลงปลูกเกษตรกรเพื่อควบคุมการระบาดของเพลี้ยอ่อนต่อไป

คำหลัก : แมลงหางหนีบขาวงแหวน**,** เพลี้ยอ่อน, การห้ำ

คำนำ

เพลี้ยอ่อน Aphid อยู่ในวงศ์ (Family) Aphididae อันดับ (Order) Hemiptera เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของผักหลายชนิด ทั่วโลกมีเพลี้ยอ่อน 4,000 ชนิด ซึ่งมีประมาณ 250 ชนิด แมลงวงศ์นี้สามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบใช้เพศและไม่ใช้เพศ คือ ตัวเต็มวัยสามารถออกลูกได้โดยไม่ต้องผสมพันธุ์ ซึ่งไข่จะเจริญอยู่ในท้องของตัวเต็มวัยและเมื่อลูกออกมาเป็นตัวโดยออกเป็นเพศเมียทั้งหมด (thelytokous) ลักษณะของตัวอ่อนที่เพิ่งฟักออกมาจะมีขนาดเล็ก สีเหลืองอ่อนนัยน์ตาดำ มีขา 3 คู่ หนวดสั้น รูปร่างลักษณะคล้ายตัวเต็มวัยแต่มีขนาดเล็กกว่า สีของลำตัวจะเข้มขึ้นเรื่อย ๆ ในระยะเป็นตัวอ่อนนั้นจะมีการลอกคราบ 4 ครั้ง ตัวอ่อนมีอายุประมาณ 5-6 วัน หลังจากนั้นจะพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย โดยตัวเต็มวัย 1 ตัว สามารถออกลูกได้ถึง 6-11 ตัว/วัน ตัวเต็มวัยของเพลี้ยอ่อนมีทั้งมีปีกและไม่มีปีก (Capinera, 2004) เพลี้ยอ่อนมีหนวด 6 ปล้อง ปากแบบเจาะดูด (piercing-sucking type) ปากมี

5 ปล้องสีเหลืองอ่อน ปลายปากสีดำ ตัวเต็มวัยมีปีกจะมีลักษณะส่วนหัวและอกมีสีดำ ปลายปากมีสีดำ ตาสีดำ ปลายขาเหยียดตรง ส่วนท้องสีเขียวอ่อน ขาทั้ง 3 คู่ ค่อนข้างยาว ระยะตัวเต็มวัยมีชีวิตอยู่ได้นาน 6-41 วัน ตัวเต็มวัยสามารถออกลูกได้ตลอดชีวิตประมาณ 75-450 ตัว (วิโรจน์และคณะ, 2548) เพลี้ยอ่อนก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชตระกูลกะหล่ำทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยทางตรง เพลี้ยอ่อนทำลายพืชได้ทุกส่วน โดยเฉพาะจุดเจริญของพืช ลำต้น ใบ ช่อดอก ผล ด้วยการดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณยอดอ่อน ใบอ่อน และดอก ถ้าเกิดการระบาดในขณะที่ต้นพืชยังเล็กส่งผลรุนแรง ทำให้ลำต้นแคระแกร็น ใบอ่อน ยอดอ่อนหงิกงอ ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและร่วงหล่น (Emden and Harrington, 2007) ในทางอ้อมนั้นเมื่อเพลี้ยอ่อนดูดน้ำเลี้ยงจากพืชแล้วขับถ่ายออกมาเป็นมูลของเพลี้ยอ่อนเป็นน้ำหวาน (honey dew) ปกคลุมบนใบพืชเป็นสาเหตุของโรคราดำ (sooty mold) ส่งผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช (Ruktikanga *et al.,* 2012) และยังเป็นพาหะนำโรคไวรัสได้ (Damiri *et al*., 2013; พัชรินทร์, 2555) ทั้งนี้ชนิดของเพลี้ยอ่อนที่ลงทำลายในพืชตระกูลกะหล่ำมีทั้งหมด 4 ชนิด คือ 1. เพลี้ยอ่อนฝ้าย (cotton aphid) *Aphis gossypii* Glover 2. เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ (cabbage aphid) *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) 3. เพลี้ยอ่อน (aphid) *Myzus persicae* (Sulzer) และ 4. เพลี้ยอ่อนข้าวโพด (corn leaf aphid) *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (สมศักดิ์, 2554)

แมลงหางหนีบขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucus) มีชื่อสามัญว่า Ring-legged earwig อยู่ในอันดับ Dermaptera วงศ์ Anisolabididae พบมากกว่า 1,000 ชนิด เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติชนิดหนึ่งในกลุ่มของ “แมลงตัวห้ำ” ลักษณะตัวมีสีดำเป็นมันวาว ขนาด 1.6-1.8 เซนติเมตร มีแต่ตารวม หนวดเป็นแบบเส้นด้าย บริเวณขาจะมีสีเหลืองและมีแถบสีดำเป็นวงรอบขา ไม่มีปีก ตัวเมียจะมีลักษณะตัวใหญ่กว่าตัวผู้ และบริเวณปลายส่วนท้องมีอวัยวะคล้ายคีม 1 คู่ (Neiswander, 1944) มีวงจรชีวิตตั้งแต่ระยะไข่ มีลักษณะกลมรี วางไข่เป็นกลุ่ม กลุ่มละ 30-60 ฟอง ไข่มีสีขาวนวล แล้วจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาลเมื่อใกล้ระยะฟักเป็นตัวอ่อน โดยใช้ระยะเวลาประมาณ 6-8 วันจะฟักเป็นตัวอ่อน ระยะตัวอ่อนจะมี 4 วัย ตัวอ่อนที่ฟักออกมาใหม่ๆ จะมีสีขาวแล้วค่อยๆ เปลี่ยนสีเป็นสีที่เข้มขึ้น โดยรูปร่างของตัวอ่อนแต่ละวัยจะไม่แตกต่างกัน นอกจากขนาดลำตัวที่ใหญ่ขึ้น ใช้ระยะเวลาประมาณ 28-30 วัน ระยะตัวเต็มวัยทั้งเพศเมียและเพศผู้จะมีสีดำมันวาว มีหนวด 17 ปล้อง โดยหนวดปล้องที่ 3-4 จากปลายหนวดจะมีสีซีด มีแพนหางคล้ายคีมสีน้ำตาลปนดำ เพศผู้จะมีหยักทางด้านในของแพนหาง ส่วนเพศเมียแพนหางเรียบ ตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 20-30 วัน รวมระยะเวลา 50-60 วัน (สมชัยและคณะ, 2560) แมลงหางหนีบเป็นแมลงในกลุ่มที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายเศษซากพืช ชอบอยู่ในที่มืดและค่อนข้างอับชื้น เช่น ใต้เศษซากพืช เปลือกไม้ ซอกกลีบต้นพืช และยังสามารถจับแมลงศัตรูพืชกินเป็นอาหาร พบได้ทั่วไปในแปลงเพาะปลูกพืชชนิดต่างๆ เช่น อ้อย ข้าวโพด และพืชผัก ปกติแมลงหางหนีบจะออกหากินในเวลากลางคืน สามารถเคลื่อนไหวได้อย่างรวดเร็ว แม้ว่ามีรายงานจากประเทศแถบยุโรปว่า แมลงหางหนีบบางชนิดเป็นศัตรูพืช เช่น European earwig สามารถเข้าทำลายผลไม้ เช่น apricots cherries และ peaches เป็นต้น (Blatchley, 1920) แต่ยังมีแมลงหางหนีบอีกหลายชนิดที่มีประโยชน์ ซึ่ง 1 ในชนิดนั้น คือ แมลงหางหนีบขาวงแหวน

ซึ่งในหลายประเทศได้นำมาใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชหลายชนิด เช่น ใช้แมลงหางหนีบ *E. annulipes* ควบคุมหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด *ostrinia furnacalis* (Guenee) ให้ผลดีมีปริมาณหนอนต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ (Morallo and Punzalan, 2006) ควบคุมด้วงงวงเจาะสมอฝ้าย *Anthonomus grandis grandis Boheman* ซึ่งให้ประสิทธิภาพดี (Lemos *et al.*, 2003) สามารถนำไปใช้ควบคุมด้วงกินรากกล้วย *Cosmopolites sordidus* (Germar) แมลงศัตรูชนิดอื่นๆ และหนอนกอสีชมพูในประเทศญี่ปุ่นได้ (Klostermeyer, 1942) เช่นเดียวกัน Koppenhöfer (1995) รายงานว่าทางฝั่งตะวันตกของเคนย่าสามารถใช้แมลงหางหนีบขาวงแหวนควบคุมด้วงกินรากกล้วย *C. sordidus* ได้เช่นเดียวกัน ทั้งนี้มีรายงานของ Silva (2010) ที่สามารถใช้แมลงหางหนีบขาวงแหวนควบคุมเพลี้ยอ่อน *Hyadaphis foeniculi* ในข้าวโพดที่ประเทศบราซิลได้ ปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรได้มีการผลิตและนำไปใช้ในการควบคุมศัตรูพืชมี 2 ชนิด ได้แก่ แมลงหางหนีบสีน้ำตาล Brown Earwigs มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Proreus simulan* (Stallen) และแมลงหางหนีบขาวงแหวน (Ring-legged Earwigs) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Euborellia annulipes* (Lucas) (สมชัยและคณะ, 2560) สามารถเพิ่มปริมาณและเพาะเลี้ยงเป็นจำนวนมาก จึงสามารถนำมาใช้เป็นในการควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืชได้เป็นอย่างดี ทั้งนี้ในประเทศไทยมีงานวิจัยที่ใช้แมลงหางหนีบขาวงแหวนไว้หลายชิ้น เช่น ในปี พ.ศ. 2544 วัชราได้ทำการทดสอบวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวโพดที่ให้ผลในระยะยาวคือ การใช้แตนเบียนไข่ และแมลงหางหนีบ การปล่อยแมลงหางหนีบร่วมกับการใช้สารฆ่าแมลงป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อน 1 ครั้ง เมื่อพบปริมาณเพลี้ยอ่อนสูงถึงระดับเศรษฐกิจ ทำให้มีรายได้เพิ่มขึ้นจากแปลงที่ปล่อยตามธรรมชาติ 87 เปอร์เซ็นต์ และใช้แมลงหางหนีบ *E. annulipes* ควบคุมเพลี้ยอ่อนในผักกาดกวางตุ้งฮ่องเต้ได้ (ปิยะและคณะ, 2561) แมลงหางหนีบมีนิสัยว่องไว เข้าทำลายเหยื่อได้ดีโดยใช้แพนหางหนีบเหยื่อจนตาย จากนั้นจะกัดกินเหยื่อเป็นอาหารแต่ในกรณีที่เหยื่อมีขนาดเล็ก เช่น กลุ่มไข่ผีเสื้อหนอนกออ้อย หรือเพลี้ยอ่อน จะทำการกัดกินโดยตรง ไม่ใช้แพนหางหนีบเหยื่อ การใช้แมลงหางหนีบในการควบคุมการระบาดของหนอนกออ้อยเป็นวิธีการที่ง่ายแก่การปฏิบัติเกษตรกรสามารถเลี้ยงขยายนำไปปล่อยในไร่ของตนเองได้ เป็นการลดการใช้สารเคมี ทำให้ปลอดภัยต่อผู้ใช้และไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เกิดความสมดุลในธรรมชาติ (ณัฐกฤต, 2548)

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาหาประสิทธิภาพ อัตราการใช้ในสภาพห้องปฏิบัติการเพื่อทราบถึงประสิทธิภาพและศักยภาพของแมลงหางหนีบขาวงแหวนแล้วจึงประเมินผลก่อนนำไปปรับใช้ในสภาพแปลงปลูกเกษตรกรเพื่อควบคุมการระบาดของเพลี้ยอ่อนต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แมลงหางหนีบขาวงแหวน
2. กล่องพลาสติก
3. อาหารแมว

4. แกลบดำ
5. ถุงพลาสติกร้อน
6. ตู้อบลมร้อน
7. กะละมัง
8. ที่คีบแมลง
9. สำลี
10. เพลี้ยอ่อน
11. ผักกาดขาวปลี

วิธีการ

การศึกษาประสิทธิภาพการกินเพลี้ยอ่อนของแมลงหางหนีบขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucas)

ขั้นตอนที่ 1 เตรียมแมลงหางหนีบขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucas) และเพลี้ยอ่อนสำหรับทดลอง

1.1 เพาะขยายเลี้ยงแมลงหางหนีบขาวงแหวน *E. annulipes* เพื่อใช้ในการทดลอง

นำพ่อแม่พันธุ์แมลงหางหนีบขาวงแหวน มาใส่ในกล่องเลี้ยงแมลงขนาดความกว้าง 18 เซนติเมตร ความยาว 28 เซนติเมตร และความสูง 7.5 เซนติเมตร ในอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย 1:3 จำนวนกล่องละ เพศผู้ 100 ตัว เพศเมีย 300 ตัว รวม 400 ตัว โดยใช้อาหารแมวบดละเอียดใส่ในถ้วยเล็กๆ จำนวน 1 ถ้วยต่อกล่อง ใส่อาหารแมวในปริมาณ 40 กรัมต่อถ้วย ใช้แกลบเผาเป็นวัสดุรองพื้นเพื่อเป็นที่อาศัยและวางไข่ เปลี่ยนอาหารทุกๆ 3 วัน ตามความเหมาะสม เช่น อาหารลดลง หรืออาหารเกิดการเน่าเสีย เป็นต้น โดยพ่นหยดน้ำให้กระจายทั่วไปบนแกลบเผา หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ แมลงหางหนีบเริ่มจับคู่และวางไข่ใน โดยวางไข่เป็นกลุ่ม ระยะนี้ต้องระมัดระวังเป็นพิเศษ เนื่องจากแมลงหางหนีบ มีลักษณะหวงไข่ และจะคอยเฝ้าไข่ไปตลอดจนตัวอ่อนฟักออกเป็นตัว การไปรบกวนหรือแยกไข่ในช่วงนี้อาจทำให้แม่แมลงหางหนีบเกิดความเครียดและอาจกินไข่จนหมด เมื่อแมลงหางหนีบฟักออกจากไข่ ทำการแยกตัวอ่อนแมลงหางหนีบอายุประมาณ 2 สัปดาห์ มาเลี้ยงในกล่องใหม่ให้อาหารที่บดให้ละเอียดมากขึ้นกว่าเดิม สลับกับให้ไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นครั้งคราว เมื่อครบ 2 สัปดาห์จึงเปลี่ยนมาให้อาหารเช่นเดียวกับตัวเต็มวัยและพ่นน้ำให้ความชื้นอยู่เสมอ เลี้ยงแมลงหางหนีบประมาณ 30-45 วัน แมลงหางหนีบขาวงแหวนจะเป็นตัวเต็มวัย นำออกมานับและผสมในอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย 1:3 เพื่อเพิ่มปริมาณให้ได้มากพอสำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

1.2 เพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนเพื่อใช้เป็นเหยื่อของแมลงหางหนีบขาวงแหวน

ปลูกต้นผักกาดขาวปลีในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตร แล้วเก็บเพลี้ยอ่อนในธรรมชาติมาปล่อยลงต้นผักกาดขาวปลีที่ปลูกไว้ หลังจากนั้นนำต้นใส่กรงขนาด 48x48x57 เซนติเมตร เพื่อป้องกันการเคลื่อนย้าย ปล่อยให้เพลี้ยอ่อนเติบโต และเก็บใบผักกาดขาวปลีที่มีเพลี้ยอ่อนอยู่ นำมาวางบนต้นผักกาดขาวปลีต้นใหม่เพื่อเพิ่มปริมาณให้ได้มากพอสำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาการกินเพลี้ยอ่อนของแมลงหางหนีบขาวงแหวน *E. annulipes*

2.1 การศึกษาการกินเพลี้ยอ่อนตัวเล็ก (วัยที่1-3) ของแมลงหางหนีบขาวงแหวนในระยะต่างๆ

นำตัวอ่อนแมลงหางหนีบขาวงแหวนวัยที่ 2, 3, 4, 5 และตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ใส่ในกล่องพลาสติกจำนวน 1 ตัวต่อกล่อง ขนาดของกล่องกว้าง 5.5 เซนติเมตร ยาว 7 เซนติเมตร และสูง 3.5 เซนติเมตร ฝากล่องเจาะเป็นรูเล็กๆ กรุด้วยผ้าขาวบางด้านในกล่อง ใส่แกลบลงประมาณ 2 เซนติเมตร เพื่อเป็นที่อยู่อาศัยของแมลงหางหนีบขาวงแหวน โดยแมลงหางหนีบวัยที่ 2 ให้เพลี้ยอ่อนตัวเล็กจำนวน 50 ตัวต่อวัน วัยที่ 3 ให้เพลี้ยอ่อนตัวเล็ก จำนวน 60 ตัวต่อวัน วัยที่ 4 ให้เพลี้ยอ่อนตัวเล็ก จำนวน 70 ตัวต่อวัน วัยที่ 5 ให้เพลี้ยอ่อนตัวเล็ก จำนวน 80 ตัวต่อวัน ตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมียให้เพลี้ยอ่อนตัวเล็ก จำนวน 120 ตัวต่อวัน ใส่ลงกล่องที่เตรียมไว้ โดยให้เพลี้ยอ่อนในเวลาเดียวกันทุกวัน ทำการเก็บข้อมูลการกินของแมลงหางหนีบขาวงแหวนทุกวันจนแมลงหางหนีบเปลี่ยนวัยหรือจนแมลงหางหนีบตาย นำข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ถูกแมลงหางหนีบขาวงแหวนกินมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>บักทึกข้อมูล</u>

- จำนวนเพลี้ยอ่อนที่ถูกแมลงหางหนีบขาวงแหวนกิน
- จำนวนเพลี้ยอ่อนที่ยังเหลือหลังจากให้แมลงหางหนีบขาวงแหวนกิน
- บันทึกข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้น

2.2 การศึกษาการกินเพลี้ยอ่อนตัวใหญ่ (วัยที่ 4 และ ตัวเต็มวัย) ของแมลงหางหนีบขาวงแหวนในระยะต่างๆ

นำตัวอ่อนแมลงหางหนีบขาวงแหวนวัยที่ 2, 3, 4, 5 และตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ใส่ในกล่องพลาสติกจำนวน 1 ตัวต่อกล่อง ขนาดของกล่องกว้าง 5.5 เซนติเมตร ยาว 7 เซนติเมตร และสูง 3.5 เซนติเมตร ฝากล่องเจาะเป็นรูเล็กๆ กรุด้วยผ้าขาวบางด้านในกล่อง ใส่แกลบลงประมาณ 2 เซนติเมตร เพื่อเป็นที่อยู่อาศัยของแมลงหางหนีบขาวงแหวน โดยวัยที่ 2 ให้เพลี้ยอ่อนตัวใหญ่จำนวน 15 ตัวต่อวัน วัยที่ 3 ให้เพลี้ยอ่อนตัวใหญ่จำนวน 20 ตัวต่อวัน วัยที่ 4 ให้เพลี้ยอ่อนตัวใหญ่จำนวน 30 ตัวต่อวัน วัยที่ 5 ให้เพลี้ยอ่อนตัวใหญ่จำนวน 40 ตัวต่อวัน ตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมียให้เพลี้ยอ่อนตัวใหญ่จำนวน 50 ตัวต่อวัน ใส่ลงกล่องที่เตรียมไว้ ให้เพลี้ยอ่อนในเวลาเดียวกันทุกวัน ทำการเก็บข้อมูลการกินของแมลงหางหนีบขาวงแหวนทุกวันจนแมลงหางหนีบเปลี่ยนวัยหรือจนแมลงหางหนีบตาย นำข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ถูกแมลงหางหนีบขาวงแหวนกินมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>บักทึกข้อมูล</u>

- จำนวนเพลี้ยอ่อนที่ถูกแมลงหางหนีบขาวงแหวนกิน
- จำนวนเพลี้ยอ่อนที่ยังเหลือหลังจากให้แมลงหางหนีบขาวงแหวนกิน
- บันทึกข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้น

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2564-กันยายน 2565

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ศึกษาการกินเพลี้ยอ่อนแมลงหางหนีบขาวงแหวน *E. Annulipes*

1. ศึกษาการกินเพลี้ยอ่อนตัวเล็กของแมลงหางหนีบขาวงแหวนในระยะต่างๆ

จากการศึกษาการกินเพลี้ยอ่อนตัวเล็กของแมลงหางหนีบขาวงแหวนในห้องปฏิบัติการ ใช้แมลงหางหนีบวัยที่ 2 3 4 5 ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย ให้เพลี้ยอ่อนเป็นอาหารตามวัยของแมลงหางหนีบ (table 1) ผลการทดสอบที่ได้ คือ แมลงหางหนีบขาวงแหวนวัยที่ 2 กินเพลี้ยอ่อนได้เฉลี่ย 16.67 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 1-50 ตัว วัยที่ 3 กินเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 34.38 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 2-60 ตัว วัยที่ 4 กินเพลี้ยอ่อนได้เฉลี่ย 48.90 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 3-70 ตัว วัยที่ 5 กินเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 51.13 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 18-72 ตัว ตัวเต็มวัยเพศผู้กินเพลี้ยอ่อนได้เฉลี่ย 52.07 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 24-69 ตัว และตัวเต็มวัยเพศเมียกินเพลี้ยอ่อนได้เฉลี่ย 56.42 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 20-117 ตัว ทั้งวงจรชีวิตแมลงหางหนีบขาวงแหวนสามารถกินเพลี้ยอ่อนได้เฉลี่ย 259.57 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 68-438 ตัว

2. ศึกษาการกินเพลี้ยอ่อนตัวเล็กของแมลงหางหนีบขาวงแหวนในระยะต่างๆ

จากการศึกษาการกินเพลี้ยอ่อนตัวเล็กของแมลงหางหนีบขาวงแหวนในห้องปฏิบัติการ ใช้แมลงหางหนีบวัยที่ 2 3 4 5 ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย ให้เพลี้ยอ่อนเป็นอาหารตามวัยของแมลงหางหนีบ (table 2) ผลการทดสอบที่ได้ คือ แมลงหางหนีบขาวงแหวนวัยที่ 2 กินเพลี้ยอ่อนได้เฉลี่ย 3.13 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 1-11 ตัว วัยที่ 3 กินเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 4.91 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 1-20 ตัว วัยที่ 4 กินเพลี้ยอ่อนได้เฉลี่ย 9.54 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 1-25 ตัว วัยที่ 5 กินเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 10.75 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 1-35 ตัว ตัวเต็มวัยเพศผู้กินเพลี้ยอ่อนได้เฉลี่ย 11.12 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 1-37 ตัว และตัวเต็มวัยเพศเมียกินเพลี้ยอ่อนได้เฉลี่ย 12.58 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 4-43 ตัว ทั้งวงจรชีวิตแมลงหางหนีบขาวงแหวนสามารถกินเพลี้ยอ่อนได้เฉลี่ย 52.03 ตัวต่อวัน และกินเพลี้ยอ่อนได้ในช่วงระหว่าง 9-151 ตัว

สอดคล้องกับการทดลองของ Marbun (2003) ได้ทำการศึกษาการห้ำของแมลงหางหนีบวัยที่ 3 และ 4 กับเพลี้ยจักจั่นฝ้ายและเพลี้ยอ่อนฝ้าย พบว่าแมลงหางหนีบสามาห้ำได้ 32.12 ตัว และ 31.29 ตัว ตามลำกับ อีกทั้งยังพบว่าตัวเต็มวัยของแมลงหางหนีบสามารถกินเพลี้ยจักจั่นฝ้ายและเพลี้ยอ่อนฝ้ายได้ในทุกๆ วัย แต่ในวัยที่ 4 ของแมลงหางหนีบชอบกินเพลี้ยจักจั่นฝ้ายและเพลี้ยอ่อนฝ้ายระยะตัวอ่อน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ศึกษาการกินเพลี้ยอ่อนตัวเล็กของแมลงหางหนีบขาวงแหวนวัยที่ 2, 3, 4, 5, เพศผู้และเพศเมียสามารถกินเพลี้ยอ่อนตัวเล็กได้เฉลี่ย 16.67±7.16, 34.38±7.53, 48.90±8.01, 51.13±9.41, 52.07±19.80 และ 56.42±24.81 ตัวต่อวัน ตามลำดับ และการกินเพลี้ยอ่อนตัวใหญ่ของแมลงหางหนีบขาวงแหวนวัยที่ 2, 3, 4, 5, เพศผู้และเพศเมียสามารถกินเพลี้ยอ่อนตัวใหญ่ได้เฉลี่ย 3.13 ±2.13, 4.91 ±3.40, 9.54 ±6.42, 10.75± 8.72, 11.12±6.62 และ 12.58±6.96 ตัวต่อวัน ตามลำดับ

คำขอบคุณ

ทีมงานที่กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช นางสาวสุธาธิณี ปานแก้ว นางสาวกษมา นามแดง นายธนารักษ์ แหวนทองคำ นางสาวโสภา สนแย้ม ที่ให้ความร่วมมือและช่วยปฏิบัติงานทดลองครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง

เอกสารอ้างอิง

กมล เลิศรัตน์ อรสา ดิสถาพร สุชีลา เตชะวงศ์เสถียร และวีระ ภาคอุทัย. 25644. *รายงานผลการประมวลองค์ความรู้เรื่องผักในประเทศไทย: สถานภาพของการผลิต การตลาด และวิจัย*. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.). กรุงเทพฯ. 190 หน้า.

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553*. พิมพ์ครั้งที่ 17. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 303 หน้า.

ชำนาญ พิทักษ์. 2542. หนอนกอเจาะต้นอ้อย. วารสารกีฏและสัตววิทยา. 21(3): 203-206.

ณัฐกฤต พิทักษ์ และสุพจน์ กิตติบุญญา. 2550. *การป้องกันกำจัดหนอนกออ้อยโดยชีววิธี (แมลงหางหนีบ)*. รายงานผลวิจัยสิ้นสุด สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร. 7 น.

ณัฐกฤต พิทักษ์. 2548. การวิจัยเทคโนโลยีการใช้แมลงหางหนีบในการควบคุมหนอนกออ้อย. สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

ปิยะ บุญเทียม วรางรัตน์ เสนาสิงห์ และอังคณา เทียนกล่ำ. 2561. การศึกษาประสิทธิภาพของแมลงหางหนีบสีดำ *Euborellia annulipes* (Lucus) ควบคุมเพลี้ยอ่อน *Aphis craccivora* Koch ในผักกาดกวางตุ้งฮ่องเต้. *สถาบันการอาชีวศึกษาเกษตร*. ปีที่ 2 (2): 30-39.

พัชรินทร์ ครุฑเมือง. 2555. เพลี้ยอ่อนแมลงพาหะนำโรคพืช. *แก่นเกษตร* 40: 197-202.

พิสุทธิ์ เอกอำนวย. 2562. *โรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ*. พิมพ์ครั้งที่ 6 พิพิธภัณฑ์แมลงสยาม. เชียงใหม่. 982น.

วัชรา ชุณหวงศ์. 2544. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวโพดหวานโดยวิธีผสมผสาน. *ใน* : เทคโนโลยีทางเลือกสำหรับ “ไอ พี เอ็ม”. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 284-302.

วิโรจน์ สุนทรภัค ประพนธ์ ไทยวานิช และศุภลักษณ์ กลับน่วม. 2548. *เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ (Lipaphis erysimi).* กลุ่มงาน โรคพืช กองป้องกันและกำจัดศัตรูพืช กรมส่งเสริมการเกษตร. (ระบบออนไลน์: แหล่งข้อมูล)http://forecast.doae.go.th/web/agrotis/232-insect-pests-of-agrotis/1106-lipaphis-erysimi.html. ค้นเมื่อ 10 มีนาคม 2563.

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และนันทนัช พินศรี. 2561 *แมลงหางหนีบขาวงแหวน* [แผ่นพับ]. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

สมาคมกีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย. 2559. เพลี้ยอ่อนผัก. หน้า 16-17. *ใน* : เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตรการป้องกันกำจัดศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำ เทคนิคการพ่นสารฆ่าแมลงในพืชผักและกลไกการต้านทานสารฆ่าแมลงของแมลงศัตรูผักที่สำคัญ. กรุงเทพฯ.

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. เพลี้ยอ่อนฝ้าย. หน้า 34-35. *ใน*: คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม. กลุ่มบริหารศัตรูพืช. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

Blatchley, W.S. 1920. *Orthoptera*. Northeastern America.

Capinera, J.L. 2004. *Encyclopea of Entomology*. Kluver Academic Publishers, Netherlands. 2400 pp.

Damiri, B.V., I.M. Al-Shahwan, M.A. Al-Saleh, O.A. Abdalla and M.A. Amer. 2013. Identification andcharacterization of Cowpea aphid-borne mosaic virus isolates in Saudi ArabiaJournal *plantpathology.* 95(1): 79-85.

Emden, H.F.V. and R. Harrington. 2007. *Aphids as Crop Pests*. Wallingford OxfordshirePress: United Kingdom.

Hassan, S.A. 1994. Activities of the IOBC/WPRS Working grop. *Pesticides and Beneficial Organisms* IOBC wpre Bulletin and Bulletin OILB srop. 17(10): 5p.

Klostermeyer, E.C. 1942. The life history and habits of the ring-legged earwig, *Euborellia annulipes* Lucas. *Journal of the Entomological Society of America*. 15: 13-18.

Koppenhöfer, A.M. 1995. Bionomics of the earwig species *Euborellia annulipes* in Western Kenya (Dermaptera: Carcinophoridae). *Entomologia Generalis*. 20 (1/2): 081-085.

Lemos, W.P., F.S. Ramalho and J.C. Zanuncio. 2003. Age-dependen fecundity and fife-fertility table for Euborellia annulipes (Lucas) (Dermaptera: Anisolabididae) a cotton boll weevil predator in laboratory studies with an artificial diet. Environ. Entomol. 32(6): 592-601.

Marbun, V.O. 2004. Feeding consumption of the predatory earwig (*Euborellia annulata* Fabr.) on the cotton aphid (*Aphid gossypii* Glover) and the cotton leafhopper (*Amrasca bigutulla bigutulla* ishida. AGRIS)

Morallo R.B. and G.E. Punzalan. 2006. Augmentative Releases of the Predatory Earwig, *Euborellia annulipesLucas* (Dermaptera: Labiduridae), for the Management of the Asian CornBorer, Ostrinia furnacalis (Guenee).*THE PHILIPPINE AGRICULTURAL SCIENTISTISSN* 0031-7454. 89(3): 195-211.

Neiswander C.R. 1944. *The Ring-legged Earwig, Euborellia annulipes* (Lucus. Ohio Agricultural Experiment Station. Wooster. Ohio Bul. 648: 14.

Rutikanga, A., F. Uwamahoro and A. Rukundo. 2012. *Cabbage aphids*. [online] Avilable https://www.plantwise.org/knowledgebank/searchresults?q=aphids. 10 March 2020.

Silva, A.B., J.L. Batista and C.H. Brito. 2010. Aspectos biólogicos de Euborellia annulipes (Dermaptera: Anisolabididae) alimntada com o pulgåo Hyadaphis foeniculi (Passerini) (Hemiptera: Aphididae). *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável.* 23(1): 21-27.

Table 1 Feeding efficiency of the small aphid of ring-legged earwig *Euborellia annulipes* (Lucas) in laboratory conditions (25±5°C and 60±5% RH)

Instar of ring-legged earwig	Number of small aphids consumed	
	Mean[1/]± SD (per days)	Range
Instar II	16.67±7.16	1-50
Instar III	34.38±7.53	2-60
Instar IV	48.90±8.01	3-70
Instar V	51.13±9.41	18-72
Adult male	52.07±19.80	24-69
Adult Female	56.42±24.81	20-117
Total	259.57±16.57	68-438

[1/] Means± + SD (n=30)

Table 2 Feeding efficiency of the large aphid of ring-legged earwig *Euborellia annulipes* (Lucas) in laboratory conditions (25±5°C and 60±5% RH)

Instar of ring-legged earwig	Number of large aphids consumed	
	Mean[1/]± SD (per days)	Range
Instar II	3.13 ±2.13	1-11
Instar III	4.91 ±3.40	1-20
Instar IV	9.54 ±6.42	1-25
Instar V	10.75± 8.72	1-35
Adult male	11.12±6.62	1-37
Adult Female	12.58±6.96	4-43
Total	52.03±5.46	9-151

[1/] Means± + SD (n=30)

Figure 1 Cultivation of aphids for testing

Figure 2 A test boxes for studying the efficiency of ring-legged insects earwig

Figure 3 Test box containing small aphids before releasing the ring-legged earwig

Figure 4 After put aphids with 2nd and 4th instar ring-legged earwig in test box

Figure 5 The 2nd and 4th instar ring-legged earwig are feeding on aphids

Figure 6 The ring-legged earwig were moult in test box

Figure 7 Adult ring-legged earwig feed on aphids

Figure 8 After put aphids with adult ring-legged earwig in test box

ศึกษาอัตราการใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans) ควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง

Study the Use Rate of The Predatory Mite, *Amblyseius longispinosus* (Evans) Control of Red Mites in Raspberries Grown in The Experimental Greenhouse

อทิติยา แก้วประดิษฐ์ วีระชัย สมศรี ณพชรกร ธไภษัชย์
วิมลวรรณ โชติวงศ์ สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ศึกษาอัตราการใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans) ควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รี ที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ก่อนปล่อยไรตัวห้ำมีจำนวนไรสองจุดเฉลี่ย 88.20-88.60 ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ หลังปล่อยไรตัวห้ำ 1 วัน พบว่าจำนวนประชากรของไรสองจุดในกรรมวิธีที่ปล่อยไรตัวห้ำ 20 ตัว มีจำนวนไรสองจุดน้อยและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ หลังปล่อยไรตัวห้ำวันที่ 3 และ 5 พบว่ากรรมวิธีที่ปล่อยไรตัวห้ำ 10 และ 20 ตัว มีจำนวนประชากรของไรสองจุด น้อยกว่า กรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติ และหลังปล่อยไรตัวห้ำวันที่ 7 10 และ 14 พบว่ากรรมวิธีที่ปล่อยไรตัวห้ำ 5 10 และ 20 ตัว ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

คำสำคัญ : ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans)

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-05-01-65

คำนำ

ไรสองจุด *Tetranychus urticae* เป็นศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของพืชที่นำพันธุ์เข้ามาจากต่างประเทศ ไรสองจุดจะระบาดอย่างรุนแรงในแปลงตระกูลเบอร์รี เช่น สตรอว์เบอร์รี บลูเบอร์รี มัลเบอร์รี และราสป์เบอร์รี ซึ่งราสป์เบอร์รีเป็นไม้ผลขนาดเล็กที่มีคุณค่าทางโภชนาการและมีวิตามินสูง และได้ชื่อว่าเป็นผลไม้ต้านมะเร็ง โดยมีมูลค่าการนำเข้าสูงถึงกว่า 53 ตัน ในปี 2562 แต่ปัจจุบันนี้ราสป์เบอร์รี ยังไม่สามารถขยายพื้นที่ปลูกได้มากขึ้นเนื่องจากการทำลายของไรสองจุดทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงใต้ใบ และดอก ทำให้แห้งเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล สร้างเส้นใยปกคลุมหากระบาดรุนแรง อาจทำให้ต้นพืชแห้งตาย พบระบาดในพื้นที่ที่มีอากาศหนาวเย็น เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด และเมื่อใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้ไรสองจุดเกิดการความต้านทาน และพบสารพิษตกค้างในผลผลิต ดังนั้นทางเลือกในการแก้ไขปัญหาเหล่านี้คือการใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* ในการควบคุมไรสองจุดโดยชีววิธี โดยในโครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอัตราการใช้ไรตัวห้ำในการควบคุมไรสองจุดในราสป์เบอร์รี่ เพื่อไปใช้ทดสอบในโรงเรือนของเกษตรกร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ถาดเลี้ยงไร
2. สำลี
3. ใบหม่อน
4. พู่กันเบอร์ศูนย์
5. พ่อแม่พันธุ์ไรแดงหม่อน *Tetranychus truncatus*
6. พ่อแม่พันธุ์ไรสองจุด *Tetranychus urticae*
7. พ่อแม่พันธุ์ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus*
8. ต้นกล้าราสป์เบอร์รี
9. ชั้นเลี้ยงมลง
10. โรงเรือนทดลอง ขนาด 3x3x3 เมตร
11. แว่นขยายขนาด 10x

วิธีการ

การเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรแดงหม่อนหรือไรอาหาร *Tetranychus truncatus* ในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 1) (มานิตา, 2554)

ทำการเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรแดงหม่อน เตรียมถาดเลี้ยงไรปูสำลีให้เรียบ และเติมน้ำลงสำลี จัดวางใบหม่อนบนสำลีที่เติมน้ำ เขี่ยพ่อแม่พันธุ์ไรแดงหม่อนลงใบหม่อน นำถาดเลี้ยงวางบนชั้นเลี้ยงไร โดยเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิที่ 27-28 องศาเซลเซียส

การเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* ในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 2)

ทำการเพาะเลี้ยงต่อสายพันธุ์พ่อแม่พันธุ์ โดยเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิที่ 27-28 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับการเลี้ยงไรแดงหม่อน โดยเขี่ยไรตัวห้ำเพศเมียและเพศผู้ลงบนใบหม่อน ที่มีพ่อแม่พันธุ์ไรแดงหม่อนอยู่อย่างหนาแน่นเต็มใบ อัตราไรตัวห้ำต่อไรแดงหม่อน 1:20-1:40 เพื่อให้ไรตัวห้ำกินไรแดงหม่อนขยายพันธุ์เพิ่มมากขึ้น นำถาดเลี้ยงวางบนชั้นเลี้ยงมลง ความชื้นสัมพัทธ์ 60-80% RH และให้แสงสว่างด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 36 W เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน

การเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรสองจุด *Tetranychus urticae* ในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 3)

ทำการเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรสองจุด เตรียมถาดเลี้ยงไรปูสำลีให้เรียบ และเติมน้ำลงสำลี จัดวางใบหม่อนบนสำลีที่เติมน้ำ เขี่ยพ่อแม่พันธุ์ไรสองจุดลงใบหม่อน นำถาดเลี้ยงวางบนชั้นเลี้ยงแมลง โดยเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิที่ 27-28 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

<u>วิธีดำเนินการ</u>

ศึกษาอัตราการใช้ไรตัวห้ำ *A. longispinosus* ควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รี ที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง

การวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีไม่ปล่อยไรตัวห้ำ

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยไรตัวห้ำ 1 ตัว ต่อไรแดง 100 ตัว (1:100)

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยไรตัวห้ำ 5 ตัว ต่อไรแดง 100 ตัว (1:20)

กรรมวิธีที่ 4 ปล่อยไรตัวห้ำ 10 ตัว ต่อไรแดง 100 ตัว (1:10)

กรรมวิธีที่ 5 ปล่อยไรตัวห้ำ 20 ตัว ต่อไรแดง 100 ตัว (1:5)

นำไรสองจุด ใส่ลงบนต้นราสป์เบอร์รีต้นละ 100 ตัว ซ้ำละ 5 ต้น ปล่อยไรสองจุด *T. urticae* เพิ่มปริมาณเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นปล่อยตัวเต็มวัยเพศเมียไรตัวห้ำ *A. longispinosus* ในอัตราส่วนตามกรรมวิธี สุ่มใบราสป์เบอร์รีจำนวน 2 ใบย่อยต่อต้น ตรวจนับจำนวนไรตัวห้ำและไรสองจุดใต้แว่นขยายขนาด 10x หลังปล่อยทุกวันจนไรสองจุดตายหมด

<u>การบันทึกผล</u>

- จำนวนไรสองจุด หลังจากทำการปล่อยไรตัวห้ำ ทุก 24 ชั่วโมง จนกระทั่งไรสองจุดตายหมด
- อุณหภูมิและความชื้นภายในโรงเรือนทุกวันตลอดระยะเวลาทดลองนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2564 สิ้นสุดเดือนพฤศจิกายน 2565

สถานที่ -ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลองของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาอัตราการใช้ไรตัวห้ำ *A. longispinosus* ควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง

จากการทดลองพบว่าก่อนปล่อยไรตัวห้ำมีจำนวนไรสองจุด เฉลี่ย 88.20-88.60 ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ หลังปล่อยไรตัวห้ำ 1 วันพบว่า จำนวนประชากรของไรสองจุดในกรรมวิธีที่ปล่อยไรตัวห้ำ 20 ตัว มีจำนวนไรสองจุด น้อยและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ หลังปล่อยไรตัวห้ำวันที่ 3 และ 5 พบว่ากรรมวิธีที่ปล่อยไรตัวห้ำ 10 และ 20 ตัว มีจำนวนประชากรของไรสองจุดน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติ และหลังปล่อยไรตัวห้ำวันที่ 7 10 และ 14 พบว่ากรรมวิธีที่ปล่อยไรตัวห้ำ 5 10 และ 20 ตัว ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ภาพที่ 4) (ตารางที่ 1) จากผลการทดลองพบว่าอัตราที่ปล่อยไรตัวห้ำยิ่งมากสามารถลดจำนวนประชากรของไรสองจุดได้อย่างรวดเร็ว

มานิตาและคณะ (2532) รายงานผลการทดลองสรุปได้ว่า ไรตัวห้ำ *A. longispinosus* มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรสองจุดในแปลงปลูกสตรอว์เบอร์รีได้ผลดีมากโดยใช้วิธีปล่อยไรตัวห้ำ 2-5 ตัวต่อต้น

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาอัตราการใช้ไรตัวห้ำ *A. longispinosus* ควบคุมไรสองจุด *T. urticae* ในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนทดลองจากการทดลองพบว่า หลังปล่อยไรตัวห้ำ 1 วันพบว่า จำนวนประชากรของไรสองจุดในกรรมวิธีที่ปล่อยไรตัวห้ำ 20 ตัว มีจำนวนไรสองจุด น้อยและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ หลังปล่อยไรตัวห้ำวันที่ 3 และ 5 พบว่ากรรมวิธีที่ปล่อยไรตัวห้ำ 10 และ 20 ตัว มีจำนวนประชากรของไรสองจุด *T. urticae* น้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติ และหลังปล่อยไรตัวห้ำวันที่ 7 10 และ 14 พบว่ากรรมวิธีที่ปล่อยไรตัวห้ำ 5 10 และ 20 ตัว ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นักวิชาการเกษตร กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยดำเนินการรวบรวมข้อมูล จึงทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

มานิตา คงชื่นสิน พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และพลอยชมพู กรวิภาสเรือง. 2554. เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตร แมลง-สัตว์พืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 15. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. หน้า 119-140.

มานิตา คงชื่นสิน วัฒนา จารณศรี ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์ และเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์. 2532. ชีววิทยาของไรสองจุด *Tetranychus urticae* Koch. ศัตรูสตรอว์เบอร์รีและไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans). ว.กีฏ.สัตว. 11 (4) : 195-204.

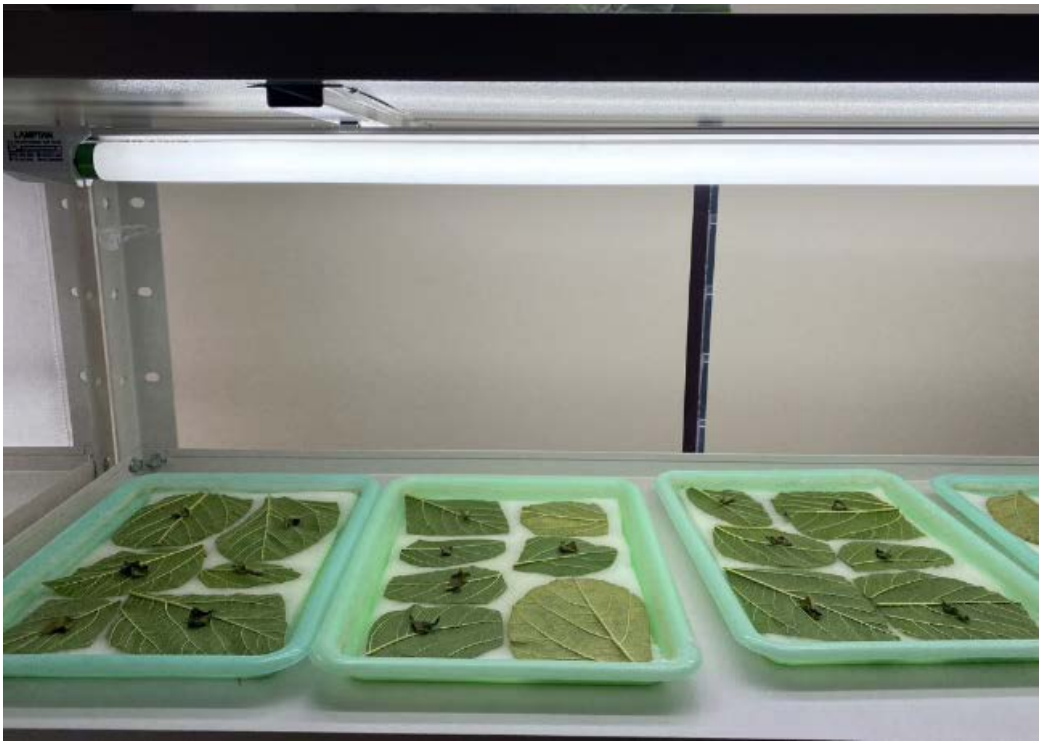
ตารางที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนไรสองจุด *Tetranychus urticae* ที่รอดชีวิตหลังปล่อยไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* ในสภาพโรงเรือนทดลอง

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยของไรสองจุด (ตัวต่อต้น)[1/]						
	ก่อนปล่อย	หลังปล่อย (วัน)					
		1	3	5	7	10	14
ไม่ปล่อยไรตัวห้ำ	88.60	103.60 e	123.60 d	148.60 c	178.60 c	213.60 c	253.60 c
1:100	88.40	80.60 d	65.60 c	51.60 b	36.60 b	19.60 b	1.70 b
5:100	88.35	68.40 c	38.40 b	13.40 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
10:100	88.20	48.20 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
20:100	88.50	8.50 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a

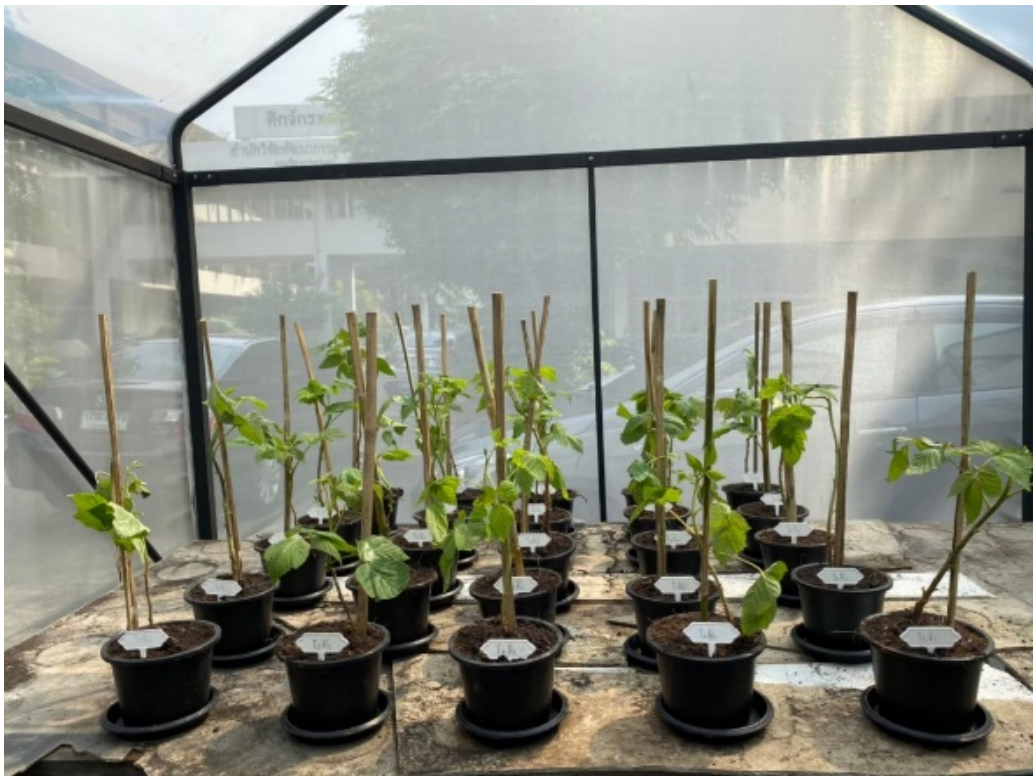
[1/]ค่าเฉลี่ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT

ภาพที่ 1 การเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรแดงหม่อน *Tetranychus truncatus* ในห้องปฏิบัติการ

ภาพที่ 2 การเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* ในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 3 การเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรสองจุด *Tetranychus urticae* ในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4 ต้นราสป์เบอร์รีที่ทำการทดลองภายในโรงเรือนทดลองของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม

ศึกษาการใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans) ในการควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนของเกษตรกร

Utilization of Predatory Mite, *Amblyseius longispinosus* (Evans) (Acari, Phytoseiidae) for Controlling *Tetranychus urticae* Koch on Raspberry in The Agricultural Greenhouse

อทิติยา แก้วประดิษฐ์ วีระชัย สมศรี ณพชรกร ธไภษัชย์
วิมลวรรณ โชติวงศ์ สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอัตราการใช้ไรตัวห้ำ *A. longispinosus* ควบคุมไรสองจุด *T. urticae* ในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนของเกษตรกร จากการทดลอง พบว่า จากการเปรียบเทียบกรรมวิธีของเกษตรกรกับกรรมวิธีปล่อยไรตัวห้ำ พบว่า ในสัปดาห์ที่ 6-14 จำนวนไรสองจุดลดลงน้อยกว่า 1 ตัวต่อใบ และพบไรตัวห้ำทุกสัปดาห์ ส่วนในกรรมวิธีของเกษตรกร สัปดาห์ที่ 5 มีการพ่นสารเฟนไฟรอกซิเมต (ครั้งที่ 1) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร งดการเก็บผลผลิต 2 สัปดาห์ พบว่า มีประชากรของไรสองจุดลดลงในสัปดาห์ที่ 6-7 และเริ่มเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 8-10 ในสัปดาห์ที่ 10 มีการพ่นสารเฟนไฟรอกซิเมต (ครั้งที่ 2) จำนวนไรสองจุดลดลงในสัปดาห์ที่ 11 และ 12

รหัสการทดลอง FF65-10-01-65-05-02-65

คำนำ

ไรสองจุด *Tetranychus urticae* เป็นศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของพืชที่นำพันธุ์เข้ามาจากต่างประเทศ ไรสองจุดจะระบาดอย่างรุนแรงในแปลงตระกูลเบอร์รี เช่น สตรอว์เบอร์รี บลูเบอร์รี มัลเบอร์รี และราสป์เบอร์รี ซึ่งราสป์เบอร์รี เป็นไม้ผลขนาดเล็กที่มีคุณค่าทางโภชนาการและมีวิตามินสูง และได้ชื่อว่าเป็นผลไม้ต้านมะเร็ง โดยมีมูลค่าการนำเข้าสูงถึงกว่า 53 ตัน ในปี 2562 แต่ปัจจุบันนี้ราสป์เบอร์รี ยังไม่สามารถขยายพื้นที่ปลูกได้มากขึ้นเนื่องจากการทำลายของไรสองจุดทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงใต้ใบ และดอก ทำให้แห้งเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล สร้างเส้นใยปกคลุม หากระบาดรุนแรง อาจทำให้ต้นพืชแห้งตาย พบระบาดในพื้นที่ที่มีอากาศหนาวเย็น เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด และเมื่อใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้ไรสองจุดเกิดการความต้านทานและพบสารพิษตกค้างในผลผลิต ดังนั้นทางเลือกในการแก้ไขปัญหาเหล่านี้คือการใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* ในการควบคุมไรสองจุดโดยชีววิธี โดยในโครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอัตราการใช้ไรตัวห้ำในการควบคุมไรสองจุดในราสป์เบอร์รี่ เพื่อไปใช้ทดสอบในโรงเรือนของเกษตรกร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ถาดเลี้ยงไร
2. สำลี
3. ใบหม่อน
4. พู่กันเบอร์ศูนย์
5. พ่อแม่พันธุ์ไรแดงหม่อน *Tetranychus truncatus*
6. พ่อแม่พันธุ์ไรสองจุด *Tetranychus urticae*
7. พ่อแม่พันธุ์ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus*
8. ต้นกล้าราสป์เบอร์รี
9. ชั้นเลี้ยงมลง
10. โรงเรือนทดลอง ขนาด 3x3x3 เมตร
11. แว่นขยายขนาด 10x

วิธีการ

การเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรแดงหม่อนหรือไรอาหาร *Tetranychus truncatus* ในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 1) (มานิตา, 2554)

ทำการเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรแดงหม่อน เตรียมถาดเลี้ยงไรปูสำลีให้เรียบ และเติมน้ำลงสำลี จัดวางใบหม่อนบนสำลีที่เติมน้ำ เขี่ยพ่อแม่พันธุ์ไรแดงหม่อนลงใบหม่อน นำถาดเลี้ยงวางบนชั้นเลี้ยงไร โดยเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิที่ 27-28 องศาเซลเซียส

การเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* ในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 2)

ทำการเพาะเลี้ยงต่อสายพันธุ์พ่อแม่พันธุ์ โดยเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิที่ 27-28 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับการเลี้ยงไรแดงหม่อน โดยเขี่ยไรตัวห้ำเพศเมียและเพศผู้ลงบนใบหม่อน ที่มีพ่อแม่พันธุ์ไรแดงหม่อนอยู่อย่างหนาแน่นเต็มใบ อัตราไรตัวห้ำต่อไรแดงหม่อน 1:20-1:40 เพื่อให้ไรตัวห้ำกินไรแดงหม่อนขยายพันธุ์เพิ่มมากขึ้น นำถาดเลี้ยงวางบนชั้นเลี้ยงมลง ความชื้นสัมพัทธ์ 60-80% RH และให้แสงสว่างด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 36 W เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน

การเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรสองจุด *Tetranychus urticae* ในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 3)

ทำการเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรสองจุด เตรียมถาดเลี้ยงไรปูสำลีให้เรียบ และเติมน้ำลงสำลี จัดวางใบหม่อนบนสำลีที่เติมน้ำ เขี่ยพ่อแม่พันธุ์ไรสองจุดลงใบหม่อน นำถาดเลี้ยงวางบนชั้นเลี้ยงแมลง โดยเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิที่ 27-28 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

วิธีดำเนินการ

วิธีการ

ศึกษาการใช้ไรตัวห้ำ *A. longispinosus* ในการควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนของเกษตรกร (ดำเนินการปี 2565-2566)

โดยทำการทดลองที่จังหวัดเชียงใหม่ ทำการศึกษาเปรียบเทียบ 2 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 วิธีไม่ปล่อยไรตัวห้ำ *A. longispinosus*

กรรมวิธีที่ 2 วิธีปล่อยไรตัวห้ำ *A. longispinosus*

โดยแต่ละโรงเรือน เก็บตัวอย่างจำนวน 20 ตัวอย่าง/โรงเรือน ใช้วิธีการสุ่มแบบมีระบบ (systematic sampling) (20 ต้น ต้นละ 3 ใบ) ทำการทดลองที่ อำเภอโป่งแยง จังหวัดเชียงใหม่ และเริ่มสำรวจไรแดงในช่วงที่เริ่มนำต้นกล้าเข้าไปปลูกในโรงเรือน

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. เตรียมโรงเรือน

2. ตรวจนับไรศัตรูพืช หลังจากเริ่มนำราสป์เบอร์รีเข้าไปในโรงเรือน 7 วัน และทำการตรวจนับทุกสัปดาห์จนถึงระยะเก็บเกี่ยว

วิธีการสำรวจไรแดง

ทำการตรวจนับไรแดงทุกสัปดาห์ โดยการสุ่ม 3 ใบ/ต้น จำนวน 20 ต้น/โรงเรือน เริ่มปล่อยไรตัวห้ำ *A. longispinosus* หลังจากที่พบไรแดงเฉลี่ย 1 ตัวต่อต้น

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนไรแดง ไรตัวห้ำ *A. longispinosus* และศัตรูธรรมชาติชนิดอื่นๆ
- อุณหภูมิ ความชื้น ในแปลงราสป์เบอร์รี่
- นำข้อมูลทั้ง 2 แปลง มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณผลผลิต
- ทำการเปรียบเทียบประชากร 2 กลุ่มประชากรที่มีอิสระต่อกันโดยใช้ t-test

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2564 สิ้นสุดเดือนพฤศจิกายน 2565

สถานที่ -ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลองของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

-โรงเรือนราสป์เบอร์รี่ของเกษตรกรที่อำเภอโป่งแยง จังหวัดเชียงใหม่

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ศึกษาการใช้ไรตัวห้ำ *A. longispinosus* ในการควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนของเกษตรกร (ดำเนินการปี 2565-2566)

จากการเปรียบเทียบกรรมวิธีของเกษตรกรกับกรรมวิธีปล่อยไรตัวห้ำ พบว่าในสัปดาห์ที่ 1-3 มีจำนวนไรสองจุดน้อยมาก ไม่สามารถปล่อยไรตัวห้ำได้ สัปดาห์ที่ 4 จึงทำการปล่อยไรสองจุดเพิ่มทั้ง 2 กรรมวิธี เพื่อให้เกิดการระบาดเทียม และเริ่มปล่อยไรตัวห้ำในกรรมวิธีที่ 2 จำนวน 3,600 ตัว พบว่าในสัปดาห์ที่ 6-14 จำนวนไรสองจุดลดลงน้อยกว่า 1 ตัวต่อใบ และพบไรตัวห้ำทุกสัปดาห์ ส่วนในกรรมวิธีของเกษตรกร สัปดาห์ที่ 5 มีการพ่นสารเฟนไฟรอกซิเมต อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร งดการเก็บผลผลิต 2 สัปดาห์ พบว่ามีประชาการของไรสองจุดลดลงในสัปดาห์ที่ 6-7 และเริ่มเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 8-10 เริ่มฉีดพ่นครั้งที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 10 จำนวนไรสองจุดลดลงในสัปดาห์ที่ 11 และ 12 (ภาพที่ 4)

จำนวนผลผลิตในกรรมวิธีที่ปล่อยไรตัวห้ำได้ผลราสป์เบอร์รี่สดทั้งหมด 59.70 กิโลกรัม ในขณะที่โรงเรือนของเกษตรกรให้ผลผลิตเพียง 34.9 กิโลกรัม (ภาพที่ 5)

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาอัตราการใช้ไรตัวห้ำ *A. longispinosus* ควบคุมไรสองจุด *T. urticae* ในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนของเกษตรกร จากการทดลองพบว่าจากการเปรียบเทียบกรรมวิธีของเกษตรกรกับกรรมวิธีปล่อยไรตัวห้ำ พบว่าในสัปดาห์ที่ 6-14 จำนวนไรสองจุดลดลงน้อยกว่า 1 ตัวต่อใบ และพบไรตัวห้ำทุกสัปดาห์ ส่วนในกรรมวิธีของเกษตรกร สัปดาห์ที่ 5 มีการพ่นสารเฟนไฟรอกซิเมต (ครั้งที่ 1) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร งดการเก็บผลผลิต 2 สัปดาห์ พบว่ามีประชาการของไรสองจุดลดลงในสัปดาห์ที่ 6-7 และเริ่มเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 8-10 ในสัปดาห์ที่ 10 มีการพ่นสารเฟนไฟรอกซิเมต (ครั้งที่ 2) จำนวนไรสองจุดลดลงในสัปดาห์ที่ 11 และ 12 และขณะนี้กำลังทำการทดลองซ้ำในปี 2566

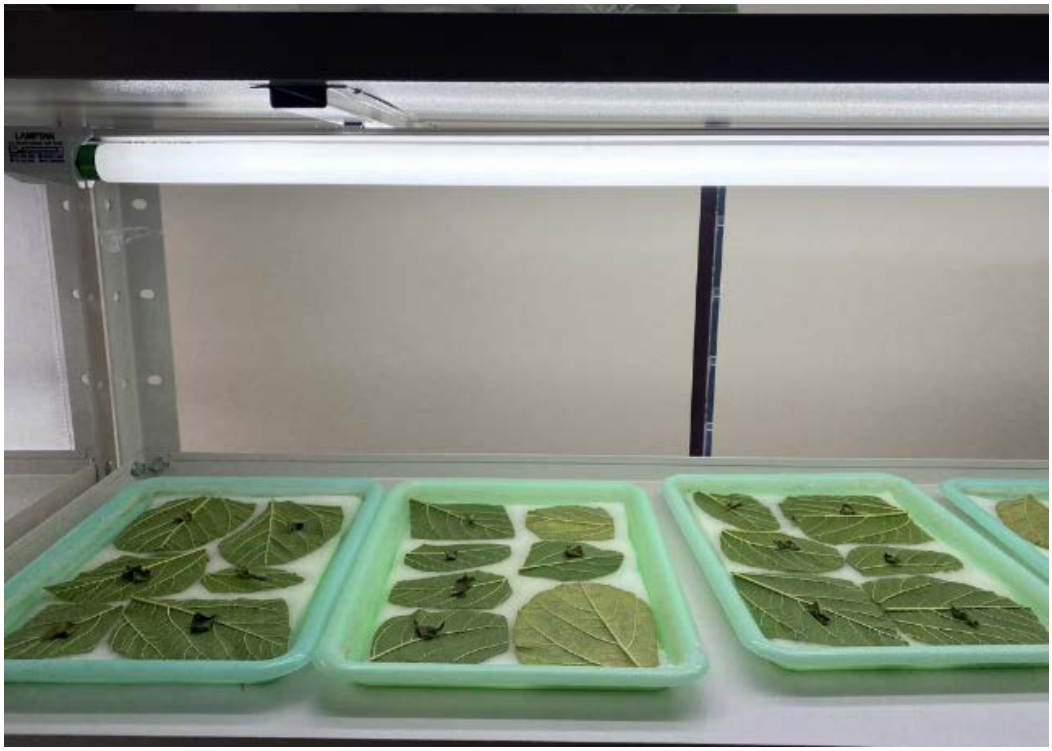
คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นักวิชาการเกษตร กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยดำเนินการรวบรวมข้อมูล จึงทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

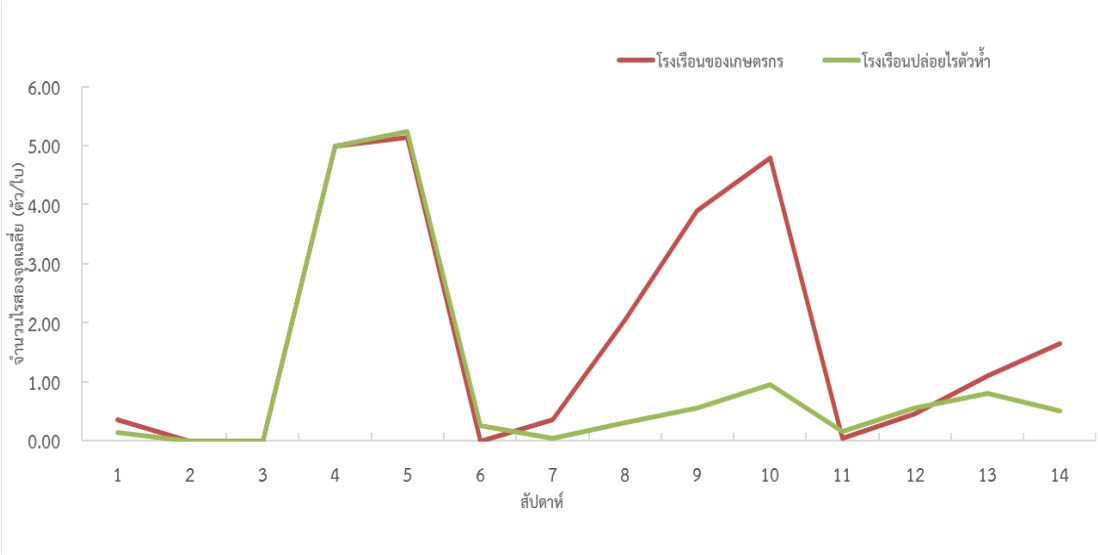
มานิตา คงชื่นสิน พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และพลอยชมพู กรวิภาสเรือง. 2554. เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตร แมลง-สัตว์พืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 15. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. หน้า 119-140.

ภาพที่ 1 การเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรแดงหม่อน *Tetranychus truncatus* ในห้องปฏิบัติการ

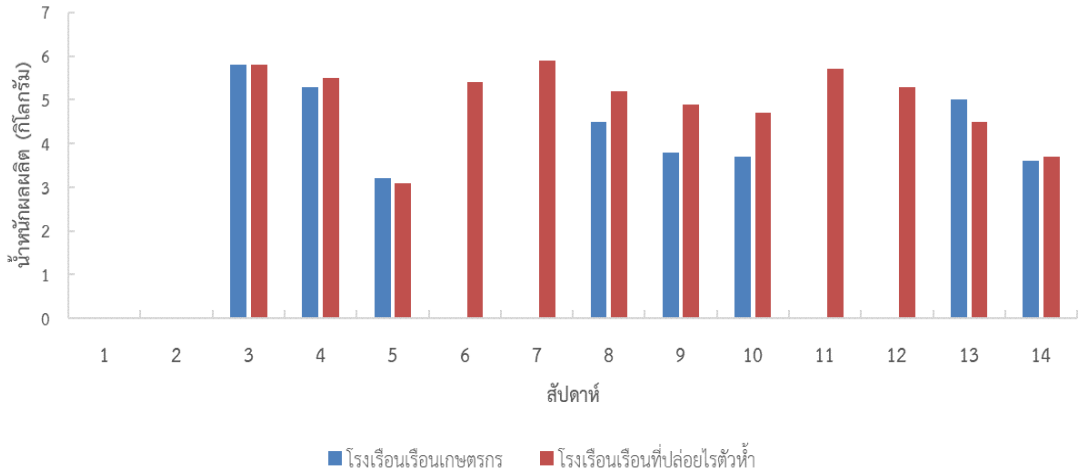


ภาพที่ 2 การเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* ในห้องปฏิบัติการ

ภาพที่ 3 การเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไรสองจุด *Tetranychus urticae* ในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4 เปรียบเทียบจำนวนประชากรของไรสองจุด *Tetranychus urticae* ระหว่างโรงเรือนของเกษตรและโรงเรือนที่ปล่อยไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus*



ภาพที่ 5 เปรียบเทียบจำนวนผลราสป์เบอร์รี่สดระหว่างโรงเรือนของเกษตรและโรงเรือนที่ปล่อยไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus*

การศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียม

Study on Mass Rearing Method of the Entomopathogenic Nnematode *Steinernema glaseri*

อัจฉรียา นิจจรัลกุล[1/] ปาริชาติ จำรัสศรี[1/] สุวิมล วงศ์พลัง[2/]
อิศเรส เทียนทัด[1/] สาทิพย์ มาลี[1/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8 จังหวัดสงขลา

รายงานความก้าวหน้า

จากการศึกษาได้สูตรอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) ที่เหมาะสมต่อการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* มีส่วนประกอบดังนี้ ฟองน้ำสังเคราะห์ Brewer's yeast ไข่แดงอบแห้ง cornmeal น้ำมันข้าวโพด น้ำ และใช้ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตั้งต้นที่ 5,000 IJs และความเข้มข้นของแบคทีเรียร่วมอาศัย *Xenorhabdus poinarii* ที่ $1X10^7$ และ $1X10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร สามารถผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ในอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งสามารถผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ได้เท่ากับ $6.431X10^6$ และ $6.931X10^6$ IJs ต่ออาหารเทียม 45 กรัม ตามลำดับ และประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงในอัตราที่ยอมรับได้

คำหลัก : ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* การผลิตขยาย

รหัสการทดลอง FF65-10-02-65-01-01-65

คำนำ

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เป็นหนึ่งในชีวภัณฑ์ที่ใช้ในการควบคุมศัตรูพืช ที่ใช้การอย่างแพร่หลายแมลง ซึ่งในด้านการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผ่านมากรมวิชาการเกษตรมุ่งเน้นพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ในรูปแบบสูตรผง และได้เผยแพร่ให้เกษตรกรใช้โดยประสบความสำเร็จในการควบคุมหนอนแทะเปลือกลองกองและด้วงหมัดผักแถบลาย แต่เนื่องจากมีขั้นตอนการผลิตขยายหลายขั้นตอนและต้องใช้อุปกรณ์หลายอย่างจึงไม่เหมาะในการถ่ายทอดสู่เกษตรกร ดังนั้นในโครงการวิจัยนี้อยู่ภายใต้โครงการนวัตกรรมการผลิตและเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชเพื่อการอารักขาพืชอย่างยั่งยืนจึงเพิ่มทางเลือกโดยหาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดอื่นที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลง โดยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ซึ่งมีศักยภาพในการควบคุมแมลงประเภทหนอนด้วงปีกแข็ง (white grub) ในอันดับ Coleoptera งานวิจัยที่ผ่านมากรมวิชาการเกษตรเคยศึกษาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยแมลงอาศัยและอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวสูตรที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ทำให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการผลิตขยายไส้เดือนฝอยชนิดนี้ การศึกษาครั้งนี้จะเป็นการศึกษาวิธีการที่เหมาะสมต่อการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ให้ได้ปริมาณมากและมีคุณภาพ โดยศึกษาทั้งวิธีการที่เกษตรกรสามารถผลิตได้เอง (ผลิตในอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว) และวิธีการที่ผลิตในปริมาณมาก (ผลิตในอาหารเหลว) เพื่อเป็นต้นแบบในเชิงการค้า ดังนั้นการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* จะช่วยเพิ่มโอกาสในการใช้เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชเป้าหมายได้กว้างขึ้น ทำให้เกษตรกรสามารถเข้าถึงผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้มากขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri*
2. หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella*
3. แบคทีเรีย *Xenorhabdus poinarii*
4. อาหารเทียมหนอนกินรังผึ้ง
5. อาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว (Semi-solid culture)
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ NBTA (nutrient bromothymol blue triphenyl tetrazolium chloride agar)
7. Yeast salts broth (YS broth)
8. จานเลี้ยงเชื้อ
9. ขวดแก้วชมพู่
10. ถาด Micro-well plate 24 หลุม
11. ขวดเพาะเลี้ยงเซลล์
12. กล่องพลาสติกสำหรับเลี้ยงแมลง และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

13. ไมโครปิเปต

14. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

15. หม้อนึ่งความดัน (autoclave)

16. ขวดแก้ว ขนาด 500 มิลลิลิตร

17. ฟองน้ำสังเคราะห์

18. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media)

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 20 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ฟองน้ำสังเคราะห์ + กากถั่วเหลือง + ไข่แดงอบแห้ง + น้ำมันข้าวโพด + น้ำ

กรรมวิธีที่ 2 ฟองน้ำสังเคราะห์ + กากถั่วเหลือง + หนอนกินรังผึ้ง + น้ำมันข้าวโพด + น้ำ

กรรมวิธีที่ 3 ฟองน้ำสังเคราะห์ + Brewer's yeast + ไข่แดงอบแห้ง + cornmeal + น้ำมันข้าวโพด + น้ำ

กรรมวิธีที่ 4 ฟองน้ำสังเคราะห์ + dry whole yeast + ไข่แดงอบแห้ง + cornmeal + น้ำมันข้าวโพด + น้ำ (Lunau *et al*, 1993)

กรรมวิธีที่ 5 ฟองน้ำสังเคราะห์ + อาหารสุนัขสูตรตับ + หนอนกินรังผึ้ง + น้ำมันหมู + น้ำ (วัชรี, 2544)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เลี้ยงต้นเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงด้วยแมลงอาศัย ใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง (IJs, Infective Juveniles)

2. เตรียมแบคทีเรีย *X. poinarii* ซึ่งเป็น symbiotic bacteria ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* (Akhurst, 1986) จากแมลงอาศัยของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NBTA และเลี้ยงขยายแบคทีเรียใน YS broth

3. เตรียมอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวตามกรรมวิธีต่างๆ บรรจุในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละ 50 กรัม อบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

4. เติมแบคทีเรียจากข้อที่ 2 ลงในอาหารเทียมจำนวน 3 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5. เติมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* จากข้อที่ 1 ในอัตรา 5,000 ตัว/อาหาร 50 กรัม ลงเลี้ยงในอาหาร ทำการทดลองสูตรละ 20 ขวดแก้ว ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

6. ตรวจพัฒนาการของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นวัยต่างๆ และความหนาแน่นทุก 24 ชั่วโมง ตั้งแต่วันที่ 10 จนถึงระยะ IJs มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ เก็บผลผลิตเมื่อพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJs มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์

การบันทึกข้อมูล

- ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJs ที่ผลิตได้ในแต่ละกรรมวิธี
- ระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจนได้ระยะ IJs
- ต้นทุนการผลิต

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

1.2 ทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ได้จากการผลิตด้วยสูตรอาหารแข็งกึ่งเหลวสูตรต่างๆ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ตามวิธีของ Miller (1999) ดังนี้

1. ทำการทดลองในถาด multi-well plates 24 หลุม
2. รองก้นหลุมด้วยกระดาษกรอง หลุมละ 1 ชิ้น
3. ดูดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 1 ตัว/น้ำ 40 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรอง หลุมละ 1 ตัว
4. นำหนอนกินรังผึ้งวัย 5 ใส่ลงในหลุมๆ ละ 1 ตัว ปิดฝาให้สนิท
5. ทำการทดลองจำนวน 7 ซ้ำ (ซ้ำละ 24 ตัว) เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
6. ตรวจนับหนอนที่ตายในแต่ละซ้ำ คิดเป็นอัตราการเข้าทำลายแมลง โดยตัดข้อมูลของซ้ำที่มีปริมาณหนอนตายสูงสุดและต่ำสุดออก

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนหนอนที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri*
- ระยะเวลาที่หนอนตาย

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

1.3 ศึกษาอัตราส่วนการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* และแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เหมาะสมด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media)

เลือกสูตรอาหารที่เหมาะสม ในการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* จากขั้นตอนที่ 1.1 มาทำการศึกษาอัตราส่วนการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* และแบคทีเรีย *X. poinarii* ที่เหมาะสม

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ 5x4 factorial in CRD ประกอบด้วย 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 2 ขวด) 20 กรรมวิธี จำนวน 2 ปัจจัย ดังนี้

ปัจจัย A ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 5 ระดับ

ระดับที่ 1 ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 5,000 ตัว (สาทิพย์และวิไลวรรณ, 2555)

ระดับที่ 1 ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 10,000 ตัว

ระดับที่ 2 ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 30,000 ตัว

ระดับที่ 3 ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 50,000 ตัว

ระดับที่ 4 ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 70,000 ตัว

ปัจจัย B ปริมาณแบคทีเรีย 4 ระดับ

ระดับที่ 1 ไม่ใส่แบคทีเรีย

ระดับที่ 2 แบคทีเรีย $1x10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร

ระดับที่ 3 แบคทีเรีย $1x10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร

ระดับที่ 4 แบคทีเรีย $1x10^8$ เซลล์/มิลลิลิตร

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เลี้ยงต้นเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงด้วยแมลงอาศัย ใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง (IJs, Infective Juveniles)

2. เตรียมแบคทีเรีย *X. poinarii* ซึ่งเป็น symbiotic bacteria ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* (Akhurst, 1986) จากแมลงอาศัยของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NBTA และเลี้ยงขยายแบคทีเรียใน YS broth

3. เตรียมอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวตามกรรมวิธีที่คัดเลือก บรรจุในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละ 50 กรัม อบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

4. เติมแบคทีเรียในข้อที่ 2 ลงในอาหารเทียมจำนวน 3 มิลลิลิตร ตามอัตราที่กำหนด เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5. เติมต้นเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ระยะ IJs ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ตามอัตราที่กำหนด ลงเลี้ยงในอาหารเทียมปริมาณ 50 กรัม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

6. ตรวจพัฒนาการของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นวัยต่างๆ และความหนาแน่นทุก 24 ชั่วโมง ตั้งแต่วันที่ 10 จนถึงระยะ IJs มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ เก็บผลผลิตเมื่อพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJs มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJs ที่ผลิตได้ในแต่ละกรรมวิธี
- บันทึกระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจนได้ระยะ IJs
- บันทึกข้อมูลต้นทุนการผลิต

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ :

- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

1.4 ทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ได้จากการผลิตด้วยสูตรอาหารแข็งกึ่งเหลว

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ตามวิธีของ Miller (1999) ดังนี้

1. ทำการทดลองในถาด multi-well plates 24 หลุม
2. รองก้นหลุมด้วยกระดาษกรอง หลุมละ 1 ชิ้น
3. ดูดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 1 ตัว/น้ำ 40 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรอง หลุมละ 1 ตัว
4. นำหนอนกินรังผึ้งวัย 5 ใส่ลงในหลุมๆ ละ 1 ตัว ปิดฝาให้สนิท
5. ทำการทดลองจำนวน 7 ซ้ำ (ซ้ำละ 24 ตัว) เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
6. ตรวจนับหนอนที่ตายในแต่ละซ้ำ คิดเป็นอัตราการเข้าทำลายแมลง โดยตัดข้อมูลของซ้ำที่มีปริมาณหนอนตายสูงสุดและต่ำสุดออก

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนหนอนที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri*
- ระยะเวลาที่หนอนตาย

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

เวลาและสถานที่ : เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

- ห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

เวลาและสถานที่

: ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

: ณ ห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาสูตรอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวเพื่อเลี้ยงเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* พบว่าสูตรอาหารในกรรมวิธีที่ 3 (ฟองน้ำสังเคราะห์+Brewer's yeast+ไข่แดงอบแห้ง+cornmeal +น้ำมันข้าวโพด+น้ำ) สามารถเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้สูงที่สุด คือ 8.10×10^6 IJs (ตัว) ต่ออาหารเทียม 45 กรัม (ตารางที่ 1) และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงใช้เวลาในการพัฒนาเข้าสู่ระยะเข้าทำลาย (Infective Juvenile) ไม่แตกต่างกับสูตรอาหารในกรรมวิธีอื่น ซึ่งใช้ระยะเวลาประมาณ 17 ถึง 19 วัน ส่วนประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่เพาะขยายจากอาหารเทียมทุกกรรมวิธีมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติ ซึ่งมีผลอยู่ระหว่าง 33.75 ถึง 42.08 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่2) ซึ่งมีค่าสูงกว่า Miller (1999) มีผลอยู่ระหว่าง 28.5 ถึง 44.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งที่ใช้ในการคัดเลือกสูตรอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว

เมื่อคำนวณราคาอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวพบว่ากรรมวิธที่ 1 ถึง 5 มีราคา 5 26 13 11 และ 26 บาทต่ออาหารเทียม 45 กรัม จากผลการศึกษาจึงคัดเลือกสูตรอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวกรรมวิธีที่ 3 เพื่อศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและความเข้มข้นของแบคทีเรียร่วมอาศัยตั้งต้นด้วย 4X5 factorial in CRD พบว่าปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและแบคทีเรียร่วมอาศัย *X. poinarii* ตั้งต้นไม่มี ปฏิสัมพันธ์ระหว่างกัน เมื่อพิจารณาปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตั้งต้นพบว่า ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตั้งต้น ที่ 70,000 IJs ให้ค่าเฉลี่ยปริมาณผลผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมากที่สุดเท่ากับ 7.92 X 10^6 IJs ต่ออาหารเทียม 45 กรัม ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับค่าเฉลี่ยของปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตั้งต้นปริมาณอื่น และเมื่อพิจารณาความเข้มข้นของแบคทีเรียร่วมอาศัยพบว่า ความเข้มข้นของแบคทีเรียร่วมอาศัยที่ 1X10^7 และ 1X10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ให้ค่าเฉลี่ยปริมาณผลผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ 9.80X10^6 และ 9.09X10^6 IJs ต่ออาหารเทียม 45 กรัม ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้นของแบคทีเรียร่วมอาศัยอื่น (ตารางที่ 3) แต่เมื่อพิจารณาอัตราส่วนการขยายพันธ์ระหว่างปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ตั้งต้นต่อปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ที่ผลิตได้จากอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว (แม่ : ลูก (IJs)) พบว่า ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ตั้งต้นที่ 5,000 IJs กับความเข้มข้นของแบคทีเรียร่วมอาศัยที่ 1X10^7 และ 1X10^8 ให้อัตราส่วนแม่ต่อลูกที่สูงที่สุดคือ 1 : 1,286 และ 1 : 1,386 IJs ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตั้งต้นและความเข้มข้นของแบคทีเรีย ร่วมอาศัย ที่ทำให้การผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวมีศักยภาพสูง (ตารางที่ 4) ส่วนช่วงเวลาที่ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงใช้ในการพัฒนาเข้าสู่ระยะเข้าทำลาย (Infective Juvenile) อยู่ระหว่าง 16-19 วัน และจากตารางที่ 5 แสดงถึงเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกินรังผึ้งจากเข้าทำลายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผลิตได้จากอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวที่มีปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตั้งต้นที่ 10,000 IJs และความเข้มข้นของแบคทีเรียร่วมอาศัยที่ 1X10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีค่าเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกินรังผึ้งสูงที่สุดเท่ากับ 37.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตั้งต้นที่ 5,000 30,000 และ 50,000 IJs รวมไปถึงความเข้มข้นของแบคทีเรียร่วมอาศัยที่ 1X10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนความเข้มข้นของแบคทีเรียร่วมอาศัยที่ 1X10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในทุกปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตั้งต้น มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตั้งต้นที่ 5,000 30,000 และ 50,000IJs และความเข้มข้นของแบคทีเรียร่วมอาศัยเท่ากับ 1X10^6 1X10^7 และ 1X10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ้งมีแนวโน้มที่สูงกว่าการทดลองของ สาทิพและวิไลวรรณ (2556) ที่ใช้สูตรอาหารเทียมที่ประกอบด้วย อาหารสุนัข น้ำมันหมู หนอนกินรังผึ้ง และน้ำ และใส่ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* จำนวน 5000 ตัวต่ออาหารเทียม 45 กรัม เป็นเวลา 15 วัน ได้ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* เฉลี่ย 1.3 X10^6 ตัวต่ออาหารเทียม 45 กรัม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่า สูตรอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) ที่เหมาะสมต่อ การผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* มีส่วนประกอบดังนี้ ฟองน้ำสังเคราะห์ Brewer's yeast ไข่แดงอบแห้ง cornmeal น้ำมันข้าวโพด น้ำ เนื่องจากสามารถผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้ในปริมาณมากที่สุดที่ 8.10×10^6 IJs (ตัว) ต่ออาหารเทียม 45 กรัม มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงไม่แตกต่างจากสูตรอื่น และอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) มีราคาอยู่ที่ 13 บาทต่ออาหารเทียม 45 กรัม จึงนำสูตรอาหารดังกล่าวมาศึกษาต่อทางด้านอัตราส่วนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* และแบคทีเรียร่วมอาศัย *X. poinarii* ที่เหมาะสมด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) พบว่า ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตั้งต้นที่ 5,000 IJs และแบคทีเรียร่วมอาศัยที่ $1X10^7$ และ $1X10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร สามารถเพาะขยายไส้เดือนฝอยในอัตราส่วนที่เหมาะที่ คือ 1,286 และ 1,386 เท่า หรือเท่ากับ $6.431X10^6$ และ $6.931X10^6$ IJs ต่ออาหารเทียม 45 กรัม ตามลำดับ และประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงไม่แตกต่างจากกรรมวิธีอื่น

จากศึกษาครั้งนี้พบว่า เมื่อใช้สูตรอาหารเทียม ฟองน้ำสังเคราะห์ Brewer's yeast ไข่แดงอบแห้ง cornmeal น้ำมันข้าวโพด น้ำ และใช้ปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตั้งต้นที่ 5,000 IJs และแบคทีเรียร่วมอาศัยที่ $1X10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร สามารถผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* ได้ $6.93.X10^6$ IJs ต่ออาหารเทียม 45 กรัม

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณกลุ่มงานบักเตรีวิทยา ภายใต้กลุ่มวิจัยโรคพืช ในการอนุเคราะห์เครื่องมือวิทยาศาสตร์เพื่อใช้ในงานวิจัย ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ผลการทดลอง และขอขอบคุณคณะทำงานห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

เอกสารอ้างอิง

วัชรี สมสุข และสุทธิชัย สมสุข. 2544. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่องผลงานวิจัยโครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับการค้า กรมวิชาการเกษตร. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 172 หน้า.

สาทิพ มาลี และวิไลวรรณ เวชยันต์. 2556. วิจัยและพัฒนาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. หน้า 721-731.

Converse. V. and W. Miller. 1999 Development of the One-on-One Quality Assessment Assay for Entomopathogenic Nematodes. Journal of Invertebrate Pathology 74, 143-148.

Lunau, S.S.S., A.J.S. Peisker and R-U. Ehlers. 1993. Etablishment of Monoxenic Inocula for Scaling-up in Vitro Cultures of the Entomopathogenic Nematodes *Steinernema* spp. And *Heterorhabditis* spp. Nematologica. 39: 385-393.

Miller, R.W. 1999. Novel Pathogenicity Assessment Techniquae for Steinernema and Heterorhabditis Entomopathogenic Nematodes. J. Nematol. 21: 574.

Table 1 Mean number of *Steinernema glaseri* rearing in five different semi-solid media

Treatment (Semi-solid media)	**Yield of *S. glaseri* / 45 g semi-solid media**
Treatment 1	5.35 X 10^6 ab
Treatment 2	4.70 X 10^6 c
Treatment 3	8.10 X 10^6 a
Treatment 4	2.42 X 10^6 d
Treatment 5	6.49 X 10^6 b
CV (%)	**16.5**

Table 2 The mortality rate of *Galleria mellonella* by the infectious of *Steinernema glaseri* rearing with different semi-solid media

***Steinernema glaseri* cultured from 5 semi-solid media**	**Mortality rate of *G. Mellonella* (%)**
S. glaseri cultured from treatment 1	34.58 a
S. glaseri cultured from treatment 2	37.08 a
S. glaseri cultured from treatment 3	35.00 a
S. glaseri cultured from treatment 4	42.08 a
S. glaseri cultured from treatment 5	33.75 a
CV (%)	**18.3**

Table 3 The mean number of *Steinernema glaseri* rearing in semi-solid media with different ratio of entomopathogenic nematode inoculum and bacteria symbiosis

Nematode inoculum volume (A)	Bacteria inoculum volume (B)				Mean A
	ไม่ใส่	1X10^6	1X10^7	1X10^8	
5,000 IJ	1.03X10^6	1.13 X10^6	6.43 X10^6	6.93 X10^6	3.88X10^6 c
10,000 IJ	2.47 X10^6	2.97 X10^6	9.87 X10^6	6.15 X10^6	5.36X10^6 b
30,000 IJ	1.35 X10^6	2.55 X10^6	10.00 X10^6	9.02 X10^6	5.73X10^6 b
50,000 IJ	2.47 X10^6	2.93 X10^6	10.45 X10^6	10.92 X10^6	6.45X10^6 b
70,000 IJ	1.53 X10^6	5.47 X10^6	12.23 X10^6	12.43 X10^6	7.92X10^6 a
Mean B	1.77X10^6 b	2.82X10^6 b	9.80X10^6 a	9.09X10^6 a	5.87 X10^6

CV (%) = 23.1

(1) Mean followed by the same letter were not significantly different as determined by DMRT at 95%.

The lowercase letters compared mean in

Table 4 The ratio between parenting and offspring of *Steinernema glaseri* rearing in semi-solid media compare by 20th different ratio of in entomopathogenic nematode inoculum and bacteria symbiosis (parenting: offspring (IJs))

Nematode inoculum volume	Bacteria inoculum volume			
	ไม่ใส่	1X10^6	1X10^7	1X10^8
5,000 IJ	1 : 206	1 : 226	1 : 1,286	1 : 1,386
10,000 IJ	1: 247	1 : 297	1 : 987	1 : 615
30,000 IJ	1 : 45	1 : 85	1 : 333	1 : 300
50,000 IJ	1 : 49	1 : 58	1 : 209	1 : 218
70,000 IJ	1 : 21	1 : 78	1 : 174	1 : 177

Table 5 The mortality rate of *Galleria mellonella* by the infectious of *Stienernema glaseri* rearing with different ratio of entomopathogenic nematode inoculum and bacteria symbiosis in semi-solid media

Nematode inoculum volume (B)	Bacteria inoculum volume (B)				Mean A
	ไม่ใส่	$1X10^6$	$1X10^7$	$1X10^8$	
5,000 IJ	22.50 b B	31.66 a A	36.66 a A	35.83 a A	31.67
10,000 IJ	22.58 b B	37.50 a A	35.83 a A	23.33 b B	29.79
30,000 IJ	20.00 b B	35.83 a A	35.83 a A	31.66 b A	30.21
50,000 IJ	33.33 a A	34.16 a A	35.83 a A	28.33 ab A	32.92
70,000 IJ	23.33 b B	20.83 b B	34.16 a A	35.83 a A	28.54
Mean B	24.33	31.50	35.67	30.40	30.62

C.V. = 22.6%

The mortality rate of *Galleria mellonella* by the infectious of *Stienernema glaseri* followed by the same letter were not significantly different as determined by DMRT at 95%. The lowercase letters compared mean in row, uppercase letters compare.

Figure 1 The mass rearing *Stienernema glaseri* in semi-solid media preparation

a. Ingredients of semi-solid media

b. Semi-solid media preparation

c. Incubation the *Xenorhabdus pionarii* at 180 rpm for 36 hours

d. Inoculum the stock culture of *Stienernema glaseri* into the semi-solid media

e. The reproduction of *Stienernema glaseri* in five semi-solid medias

f. Sieve *Stienernema glaseri* out of the semi-solid media

การพัฒนาสูตรสำเร็จไวรัส NPV หนอนกระทู้หอมในรูปผงละลายน้ำ

NPV Formulation Development for Beet Armyworm in Water Soluble Powder Form

อนุสรณ์ พงษ์มี อิศเรส เทียนทัด

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการศึกษาสูตรสำเร็จไวรัส NPV หนอนกระทู้หอม (SeNPV) ในรูปผงละลายน้ำ ณ ห้องปฏิบัติการอาคารวิจัยแมลงศัตรูธรรมชาติ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ในปี 2565 โดยได้ทำการทดลองผสมสารที่มีคุณสมบัติป้องกันรังสี UV ได้แก่ kaolin clay, Titanium dioxide, Carbon charcoal และ Skim milk เข้ากับ SeNPV พบว่า สามารถละลายน้ำได้ดีและมีค่า pH อยู่ในช่วง 6.72-6.95 ซึ่งมีค่าเป็นกลาง ส่วนไวรัส SeNPV แบบผงที่มีส่วนผสม ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66), ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Skim milk (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66) และไวรัส SeNPV + kaolin clay + Skim milk (อัตราส่วน 5 : 2.5 : 2.5) สามารถป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมวัย 3 ได้มากถึง 75.00 เปอร์เซ็นต์ หลังถูกแสง UVB เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ใกล้เคียงกับชีวภัณฑ์ไวรัส SeNPV ของกรมวิชาการเกษตร (DOA-Bio V1) และพบว่า ไวรัส SeNPV ในรูปแบบผงละลายน้ำที่มีส่วนผสมของ charcoal อยู่มีคุณสมบัติในการป้องกันรังสี UV ได้มากขึ้น ดังนั้นจึงได้สูตรผสม ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66) เพื่อใช้ในการทดลองในขั้นตอนต่อไปในปี 2566

คำหลัก : ไวรัส NPV หนอนกระทู้หอม (SeNPV) ผงละลายน้ำ ป้องกันรังสี UV

รหัสการทดลอง FF65-10-02-65-01-02-65

คำนำ

หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ที่สร้างความเสียหายให้กับพืชปลูกมาอย่างยาวนานและต่อเนื่อง สามารถพบการระบาดของหนอนกระทู้หอมได้ตลอดเวลา ทั้งนี้เพราะหนอนมีพืชอาหารกว้าง (อิศเรส, 2552) สำหรับประเทศไทยหนอนกระทู้หอมสามารถทำลายพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้ 33 ชนิด บทบาทความสำคัญทางเศรษฐกิจจากการเข้าทำลายหอมแดงอย่างรุนแรงเริ่มขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2516 เป็นต้นมา (กองกีฏและสัตววิทยา, 2538)

ไวรัส NPV (Nucleopolyhedrovirus) เป็นจุลินทรีย์ชนิดที่มีความเฉพาะเจาะจงสูงต่อแมลงเป้าหมาย จึงปลอดภัยต่อแมลงศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์ มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อมสูง เหมาะสมในการใช้ควบคุมศัตรูพืช สามารถใช้ร่วมกับวิธีการป้องกันกำจัดอื่นๆ ในระบบการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management) และลดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช (กรมวิชาการเกษตร, 2542)

ไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม (SeNPV) สามารถผลิตได้ทั้งวิธีการปลูกเชื้อในแมลงอาศัยและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในปัจจุบันการปลูกเชื้อในแมลงอาศัยเป็นวิธีที่นิยมและผลิตได้ง่าย ด้วยการบังคับให้หนอนกระทู้หอมกินไวรัส SeNPV ในปริมาณเล็กน้อยจากนั้นนำมาเลี้ยงด้วยอาหารเทียม เมื่อหนอนกระทู้หอมเจริญเติบโต ไวรัส SeNPV จะเพิ่มจำนวนผลึกเป็นทวีคูณทำให้หนอนตาย จึงเก็บรวบรวมหนอนตายไปใช้ผลิตเชื้อสดต่อไป วิธีการนี้จะทำให้ได้เชื้อที่มีความเข้มข้นเพิ่มข้นจากที่หนอนได้รับเชื้อเข้าไปถึงหมื่นเท่า ด้วยวิธีนี้เราสามารถใช้หนอนกระทู้หอมที่ตายด้วย SeNPV จำนวน 250-500 ตัว ในการผสมน้ำฉีดป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในผลผลิตทางการเกษตรได้ 1 ha (Grzywacz *et al*., n.d.)

ปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรมีชีวภัณฑ์ไวรัส NPV หนอนกระทู้หอมในรูปแบบน้ำที่สามารถป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมได้อย่างมีประสิทธิภาพอยู่แล้วนั้น ในด้านการผลิตยังมีจุดบกพร่องหลายข้อ เช่น การเกิดก๊าซจำนวนมากภายในขวดบรรจุภัณฑ์ อายุการเก็บรักษาที่สั้น รวมไปถึงน้ำหนักของบรรจุภัณฑ์ที่มีขนาดใหญ่และน้ำหนักมากขาดความสะดวกในการขนส่ง รูปแบบการทำสูตรสำเร็จไวรัส SeNPV ในรูปแบบผงละลายน้ำมีแนวคิดการพัฒนาเพื่อที่จะสามารถแก้ปัญหาข้างต้นและสามารถนำไปใช้ได้จริงในแปลงเกษตรกร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไวรัส NPV หนอนกระทู้หอม (SeNPV)
2. เครื่อง freeze dryer
3. เครื่องปั่นขนาด 2.5 ลิตร
4. kaolin clay

5. Titanium dioxide
6. Carbon charcoal
7. Skim milk
8. อาหารเทียมเลี้ยงแมลง
9. ถ้วยพลาสติกใสแบบมีฝาปิด ขนาด 1 ออนซ์
10. Micro pipette
11. Haemacytometer
12. pH meter
13. หลอดไฟ UVB
14. เครื่องคนสารละลายอัตโนมัติ
15. บีกเกอร์
16. น้ำกลั่น

วิธีการ

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> ศึกษาคุณสมบัติของสูตรสำเร็จไวรัส NPV หนอนกระทู้หอม (SeNPV) ในรูปแบบผงละลายน้ำในสูตรต่างๆ มี 4 ขั้นตอน ดังนี้

1.1 ศึกษาการทำให้ SeNPV แห้งด้วยการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration)

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u> :

เตรียมสูตรสำเร็จโดยนำสารประกอบต่างๆ ได้แก่ kaolin clay, Titanium dioxide, Carbon charcoal และ Skim milk ผสมกับไวรัส SeNPV ที่ความเข้มข้น $1x10^{10}$ PIBs/มิลลิลิตร ในอัตราส่วนต่างๆ ประกอบด้วย 7 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal + Skim milk (อัตราส่วน 5 : 1.25 : 1.25 : 1.25 : 1.25)

กรรมวิธีที่ 2 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66)

กรรมวิธีที่ 3 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Skim milk (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66)

กรรมวิธีที่ 4 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide (อัตราส่วน 5 : 2.5 : 2.5)

กรรมวิธีที่ 5 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal + Skim milk (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66)

กรรมวิธีที่ 6 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal (อัตราส่วน 5 : 2.5 : 2.5)

กรรมวิธีที่ 7 ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Skim milk (อัตราส่วน 5 : 2.5 : 2.5)

วิธีปฏิบัติการทดลอง :

ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration) จากนั้นทำการตรวจสอบและบันทึกลักษณะทางกายภาพของสูตรสำเร็จที่บดละเอียดเป็นผงแห้งแล้ว

จากนั้นทำการศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้หอม ของ SeNPV สูตรผงละลายน้ำแต่ละสูตรทำการทดลองด้วยการใช้เทคนิค Diet surface contamination method โดยนำ SeNPV สูตรผงละลายน้ำแต่ละสูตรผสมกับน้ำกลั่นและทำให้มีความเข้มข้น $1x10^6$ PIBs/มิลลิลิตร จากนั้นหยดไวรัส SeNPV แต่ละสูตรลงบนอาหารเทียมที่เตรียมไว้ในถ้วยพลาสติกขนาด 1 ออนซ์ สำหรับทดสอบ ถ้วยละ 30 ไมโครลิตร และบังคับให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 กิน ทำการทดลองเปรียบเทียบกับ ชีวภัณฑ์ SeNPV (DOA-Bio V1) โดยทำการทดลองเป็นระยะเวลา 7 วัน บันทึกจำนวนหนอนกระทู้หอมที่ตาย

1.2 การทดสอบความเป็นกรด-ด่าง

เตรียมสารแขวนลอยของสูตรสำเร็จที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ทำการวัดค่า pH ด้วย pH meter โดยทำการวัด 5 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยและบันทึกค่า pH ของสูตรสำเร็จสูตรต่างๆ

1.3 การทดสอบความสามารถในการละลายน้ำ

ชั่งสูตรสำเร็จ 1 กรัม ใส่ในน้ำกลั่น 99 มิลลิลิตร แล้วนำมาละลายโดยใช้แท่งแม่เหล็กคนที่ความเร็ว 200 รอบ/วินาที จนกระทั่งสูตรสำเร็จละลายน้ำ และบันทึกระยะเวลาในการละลายน้ำในแต่ละสูตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำเพื่อหาค่าเฉลี่ยและบันทึกผล

1.4 ศึกษาจำนวนผลึกไวรัส SeNPV และประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จไวรัส SeNPV ที่ผ่านการอบด้วยรังสีอัลตร้าไวโอเลตในระยะเวลาต่างๆ

นับจำนวนผลึกไวรัส SeNPV ในสูตรสำเร็จโดยใช้ haemacytometer และศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันรังสี UVB ของ SeNPV สูตรผงละลายน้ำแต่ละสูตรที่ได้จากการทดลองที่ 1.1 โดยทำการทดลองด้วยการใช้เทคนิค Diet surface contamination method กับหนอนกระทู้หอมวัย 3 โดยหยดไวรัส SeNPV แต่ละสูตรผสมลงบนอาหารเทียมที่เตรียมไว้ในถ้วยพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 1 ออนซ์ ถ้วยละ 30 ไมโครลิตร ซึ่งเป็นวิธีการทดลองที่มีความคล้ายคลึงกับการพ่นสารลงบนใบพืชในแปลงทดลอง ทิ้งไว้ให้แห้งจึงนำไปอบด้วยแสงจากหลอดไฟที่ให้รังสีอัลตร้าไวโอเลต เป็นระยะเวลาแตกต่างกันตั้งแต่ 0-8 ชั่วโมง บังคับให้หนอนวัย 3 กินอาหารเทียมดังกล่าว ทำการทดสอบ 4 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมซ้ำละ 10 ตัว บันทึกเปอร์เซ็นต์การตายเป็นระยะเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับชีวภัณฑ์ ไวรัส SeNPV ของกรมวิชาการเกษตร (DOA-Bio V1)

เวลาและสถานที่

- 1 ตุลาคม 2564 ถึง 30 กันยายน 2565
- ห้องปฏิบัติการไวรัส NPV สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.1 ศึกษาการทำให้ SeNPV แห้งด้วยการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration)

ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อสด SeNPV ที่ทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer ที่อุณหภูมิ -40°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าสามารถนำความชื้นออกไปได้มากถึง 80-85 เปอร์เซ็นต์ และทำให้ SeNPV แห้งสนิทและสามารถนำมาบดเป็นผงละเอียดได้ โดยมีความชื้นที่วัดได้เท่ากับ 16 เปอร์เซนต์ มีความสามารถละลายน้ำได้ดี และเมื่อผสมน้ำกลั่นจะสามารถกลับไปอยู่ในรูปของเชื้อสด SeNPV ได้ อีกทั้งเมื่อผสมกับสารประกอบอื่นๆ ยังคงคุณสมบัติและประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้หอมวัย 3 ได้มากกว่า 80 เปอเซ็นต์ ในระยะเวลา 7 วันนับตั้งแต่หนอนกระทู้หอมได้รับไวรัส SeNPV (ตารางที่ 1)

1.2 การทดสอบความเป็นกรด-ด่าง

ทำการวัดค่าความเป็นกรดด่างของไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ PIBs/ml ด้วยเครื่องมือ pH meter แบบดิจิตอล พบว่าไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ รวมทั้งชีวภัณฑ์ ไวรัส SeNPV ของกรมวิชาการเกษตร (DOA-Bio V1) มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.72-6.95 ซึ่งมีค่าเป็นกลาง (ตารางที่ 2)

1.3 การทดสอบความสามารถในการละลายน้ำ

เมื่อทำการผสมสารแต่ละชนิดเข้ากับ SeNPV ด้วยเครื่องปั่น พบว่าสารประกอบต่างๆ สามารถผสมเป็นเนื้อเดียวกันกับไวรัส SeNPV และละลายน้ำได้ ดังนั้น ไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ จึงสามารถใช้กำจัดหนอนกระทู้หอมได้เช่นเดียวกับ ชีวภัณฑ์ ไวรัส SeNPV ของกรมวิชาการเกษตร (DOA-Bio V1) โดยไม่มีผลกระทบใดๆ (ตารางที่ 2)

1.4 ศึกษาจำนวนผลึกไวรัส SeNPV และประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จไวรัส SeNPV ที่ผ่านการอบด้วยรังสีอัลตร้าไวโอเลตในระยะเวลาต่างๆ

ปัจจุบันได้ทำการเก็บข้อมูลการเสื่อมสภาพของเชื้อ SeNPV แบบผงที่ได้จากวิธีการข้างต้น โดยเก็บไว้ที่อุณภูมิห้อง (24-28°C) เป็นระยะเวลา 8 เดือน พบว่า ลักษณะของเชื้อ SeNPV แบบผง ยังคงมีลักษณะผง สีและคุณสมบัติอื่นๆ ไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เมื่อนำไปตรวจดูจำผลึกของไวรัส SeNPV ด้วยกระจก hemacytometer มองผ่านกล้อง compound microscope ที่กำลังขยาย 40 เท่า (objective lens) พบว่ามีจำนวนผลึกเท่ากับ 8.48×10^9 PIBs/ml (ภาพที่ 1) ซึ่งมีจำนวนใกล้เคียงกับเชื้อ SeNPV แบบผงที่เก็บไว้ที่อุณภูมิห้อง (24-28°C) เป็นระยะเวลา 1 เดือน (มีจำนวนผลึกเท่ากับ 8.7×10^9 PIBs/ml) และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้หอม โดยทดลองในหนอนกระทู้หอมวัย 3 ด้วยวิธีการบังคับให้กิน พบว่ากรรมวิธีการใช้เชื้อ SeNPV แบบผง (อายุ 8 เดือน) สามารถทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตายทั้งหมดในวันที่ 7 ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ ไวรัส NPV ของกรมวิชาการเกษตร (DOA-Bio V1) (ตารางที่ 1) จึงสามารถนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นไวรัส SeNPV สูตรผงให้มีประสิทธิภาพสูงได้ต่อไป

ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพความทนทานต่อแสงอัลตร้าไวโอเลต (UV) ของไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ เปรียบเทียบกับชีวภัณฑ์ ไวรัส SeNPV ของกรมวิชาการเกษตร (DOA-Bio V1) ทำการทดสอบโดยจำลองการถูกแสงอัลตร้าไวโอเลตจากดวงอาทิตย์ที่มีความยาวคลื่นแสงอยู่ในช่วง 280-315 นาโนเมตร ด้วยการใช้หลอดไฟที่ให้แสงอัลตร้าไวโอเลตชนิด B (UVB) (ภาพที่ 2) เป็นระยะเวลาแตกต่างกัน และการใช้เทคนิค Diet surface contamination method ซึ่งเป็นวิธีการทดลองที่มีความคล้ายคลึงกับการพ่นสารลงบนใบพืชในแปลงทดลอง โดยเกลี่ยไวรัส SeNPV แต่ละสูตรที่มีความเข้มข้น $1x10^6$ PIBs/ml. ให้ทั่วบนผิวหน้าอาหารเทียมที่เตรียมไว้ในถ้วยพลาสติกขนาด 1 ออนซ์สำหรับทดสอบ ถ้วยละ 30 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งจึงนำไปอบด้วยแสงจากหลอดไฟที่ให้รังสี UV เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 ชั่วโมง จึงนำไปให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 กิน เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้หอมของของไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ หลังถูกแสงอัลตร้าไวโอเลตเป็นระยะเวลาที่แตกต่างกัน และเก็บข้อมูลการตายของหนอนกระทู้หอมเป็นระยะเวลา 7 วัน

จากผลการทดลอง พบว่าเมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ PIBs/ml ด้วยการใช้เทคนิค Diet surface contamination method โดยไม่ได้รับแสงจากหลอดอัลตร้าไวโอเลต กับหนอนกระทู้หอมวัย 3 พบว่าทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกระทู้หอมได้ไม่แตกต่างกับ กรรมวิธีชีวภัณฑ์ ไวรัส SeNPV ของกรมวิชาการเกษตร (DOA-Bio V1) โดยทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตายในอัตรา 87.50-100 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นกรรมวิธีไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66) ที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตาย 85.00 เปอร์เซ็นต์

เมื่อไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ ถูกแสงจากหลอดอัลตร้าไวโอเลตนาน 1 ชั่วโมง พบว่าหนอนกระทู้หอมวัย 3 มีอัตราการตายลดลง โดยทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกระทู้หอมได้ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีชีวภัณฑ์ ไวรัส SeNPV ของกรมวิชาการเกษตร (DOA-Bio V1) โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้หอมวัย 3 อยู่ในช่วง 65.00-85.00 เปอร์เซ็นต์

เมื่อไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ ถูกแสงจากหลอดอัลตร้าไวโอเลตนาน 2 ชั่วโมง พบว่าทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกระทู้หอมวัย 3 ได้ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีชีวภัณฑ์ ไวรัส SeNPV ของกรมวิชาการเกษตร (DOA-Bio V1) โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้หอมวัย 3 อยู่ในช่วง 55.00-80.00 เปอร์เซ็นต์

เมื่อไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ ถูกแสงจากหลอดอัลตร้าไวโอเลตนาน 3 ชั่วโมง พบว่าหนอนกระทู้หอมวัย 3 มีอัตราการตายลดลงมาก โดยไวรัส SeNPV แบบผงกรรมวิธีต่างๆ ทำให้หนอนกระทู้ผักวัย 3 ตายได้น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากกรรมวิธีชีวภัณฑ์ ไวรัส SeNPV ของกรมวิชาการเกษตร (DOA-Bio V1) ที่ทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตาย 72.50 เปอร์เซ็นต์

เมื่อไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ ถูกแสงจากหลอดอัลตร้าไวโอเลตนาน 4 ชั่วโมง พบว่า พบว่าทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกระทู้หอมได้ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีชีวภัณฑ์ ไวรัส

SeNPV ของกรมวิชาการเกษตร (DOA-Bio V1) โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้หอมวัย 3 อยู่ในช่วง 34.65-52.95 เปอร์เซ็นต์

เมื่อไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ ถูกแสงจากหลอดอัลตร้าไวโอเลตนาน 5 - 8 ชั่วโมง พบว่า หนอนกระทู้หอมวัย 3 มีอัตราการตายลดลงมากในแต่ละกรรมวิธี ไปจนถึงไม่สามารถทำลายหนอนกระทู้หอมวัย 3 ได้ (ตารางที่ 3)

ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวให้ผลสอดคล้องกับการรายงานของ Çakmak *et al*. (2021) ที่พบว่า charcoal และ iron ioxide มีคุณสมบัติในการเพิ่มประสิทธิภาพในการปกป้องผลึกไวรัส ในกลุ่ม Alphabaculovirus ของ *Chrysodeixis chalcites* (ChchNPV-TF1)จากรังสี UV ที่มีความเข้มข้น 200 J/cm^2 ได้เพิ่มขึ้น 87-100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ไวรัส SeNPV ในรูปแบบผงละลายน้ำที่มีส่วนผสมของ charcoal อยู่จึงมีคุณสมบัติในการป้องกันรังสี UV ได้ดีมากยิ่งขึ้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาสูตรสำเร็จไวรัส NPV หนอนกระทู้หอมในรูปผงละลายน้ำทำให้ทราบว่า เชื้อสด SeNPV สามารถทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer ที่อุณหภูมิ -40°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง และสามารถทำให้คืนสภาพเดิมได้โดยการเติมน้ำกลั่น และสามารถเก็บไว้ที่อุณภูมิห้อง (24-28°C) เป็นระยะเวลา 8 เดือน โดยมีลักษณะผง สีและคุณสมบัติอื่นๆ ไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ทั้งมีความเข้มข้นจำนวนผลึกถึง 8.48 x 10^9 PIBs/ml

และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพความทนทานต่อแสงอัลตร้าไวโอเลต (UV) ของไวรัส SeNPV แบบผงสูตรต่างๆ ที่ความเข้มข้น 1x10^6 PIBs/ml ด้วยการใช้เทคนิค Diet surface contamination method โดยจำลองการถูกแสงอัลตร้าไวโอเลตจากดวงอาทิตย์ที่มีความยาวคลื่นแสงอยู่ในช่วง 280-315 นาโนเมตร ด้วยการใช้หลอดไฟที่ให้แสงอัลตร้าไวโอเลตชนิด B (UVB) เป็นระยะเวลาตั้งแต่ 0-8 ชั่วโมง พบว่า ไวรัส SeNPV แบบผงทุกสูตรผสมจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมวัย 3 สูงมากเมื่อไม่ถูกแสง UVB และกรรมวิธี ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66), ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Skim milk (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66) และไวรัส SeNPV + kaolin clay + Skim milk (อัตราส่วน 5 : 2.5 : 2.5) สามารถป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมวัย 3 ได้มากถึง 75.00 เปอร์เซ็นต์ หลังถูกแสง UVB เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง จะประสิทธิภาพลดลงเรื่อยๆ เมื่อถูกแสง UVB นานขึ้น (3-8 ชั่วโมง) ดังนั้นจึงได้สูตรผสม ไวรัส SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (อัตราส่วน 5 : 1.66 : 1.66 : 1.66) เพื่อใช้ในการทดลองในขั้นตอนต่อไปในปี 2566

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณมยุรา พงษ์ชวาล คุณปานนภา ภู่ทอง คุณจิราพร เอี่ยมงาม คุณอำไพ หาญมนตรี คุณรัญทม นำทวี คุณจันทร์ โยธาแก้ว และทีมงานทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือและช่วยปฏิบัติงานทดลองครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2542. นโยบายการอารักขาพืชของกรมวิชาการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 20 หน้า.

กองกีฏและสัตววิทยา. 2538. ประมวลประวัติการระบาดของแมลงและสัตวศัตรูพืชที่สำคัญ. น.ส.พ. กสิกร. 68(3): 271-278.

อิศเรส เทียนทัด. 2552. ประสิทธิภาพการฆ่าหนอนกระทู้หอมด้วยเชื้อแบคทีเรีย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 82 หน้า.

Grzywacz D., R.J. Rabindra, M. Brown, K.A. Jones and M. Parnell. (n.d.). The *Helicoverpa armigerra* NPV Production Manual. (n.p.). FAO. 61 pp.

Çakmak T., O. Simón, M.B. Kaydan, D.A. Tange, A.M. González Rodríguez, A. Piedra-Buena Díaz, P.C. Murillo and E.H. Suárez. 2021. Effects of several UV-protective substances on the persistence of the insecticidal activity of the Alphabaculovirus of *Chrysodeixis chalcites* (ChchNPV-TF1) on banana (*Musa acuminata*, Musaceae, Colla) under laboratory and open field conditions. Plos One. May. 1-15.

Table 1 Percentage of 3rd instar beet armyworm mortality after eating artificial food coated with each formula of SeNPV water-soluble powder by $1x10^6$ PIBs/ml. in 7 days

Treatment	Percentage of 3rd instar beet armyworm mortality 1/						
	1 day	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days	7 days
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal + Skim milk (5: 1.25: 1.25: 1.25: 1.25)	0	0	0 b	10.00 b	80.00 a	95.00 a	100.00 a
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (5: 1.66: 1.66: 1.66)	0	0	4.57 a	47.50 ab	62.50 b	75.00 b	85.00 b
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Skim milk (5: 1.66: 1.66: 1.66)	0	0	22.69 a	50.00 ab	92.50 a	95.00 a	100.00 a
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide (5: 2.5: 2.5)	0	0	0 b	55.00 ab	85.00 a	95.00 a	95.00 a
SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal + Skim milk (5: 1.66: 1.66: 1.66)	0	0	0 b	0 c	95.00 a	95.00 a	100.00 a
SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal (5: 2.5: 2.5)	0	0	2.32 a	45.00 ab	85.00 a	87.50 a	87.50 a
SeNPV + kaolin clay + Skim milk (5: 2.5: 2.5)	0	0	28.34 a	67.50 a	95.00 a	100.00 a	100.00 a
SeNPV (DOA-Bio V1)	0	0	14.20 a	55.00 ab	95.00 a	100.00 a	100.00 a
control	0	0	0 b	0 c	0 c	0 c	0 c
CV%	-	-	66.0	40.3	44.4	33.4	26.0

1/ Means followed by the same letter in the column do not significantly different at 95 % by DMRT

Table 2 Water solubility and pH value SeNPV water-soluble powder in different mixture

Treatment	Water solubility	pH value
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal + Skim milk (5: 1.25: 1.25: 1.25: 1.25)	✓	6.92 – 6.94
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (5: 1.66: 1.66: 1.66)	✓	6.89 – 6.92
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Skim milk (5: 1.66: 1.66: 1.66)	✓	6.86 – 6.92
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide (5: 2.5: 2.5)	✓	6.94 – 6.96
SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal + Skim milk (5: 1.66: 1.66: 1.66)	✓	6.82 – 6.85
SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal (5: 2.5: 2.5)	✓	6.93 – 6.95
SeNPV + kaolin clay + Skim milk (5: 2.5: 2.5)	✓	6.72 – 6.75
SeNPV (DOA-Bio V1)	✓	6.74 – 6.80
distilled water	-	6.85

Table 3 Percentage of 3rd instar beet armyworm mortality after eating artificial food coated with each formula of SeNPV water-soluble powder by $1x10^6$ PIBs/ml. by exposure to UVB light for 0-8 hours in 7 days

Treatment	Percentage of 3rd instar beet armyworm mortality 1/								
	0 Hr	1 Hr	2 Hrs	3 Hrs	4 Hrs	5 Hrs	6 Hrs	7 Hrs	8 Hrs
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal + Skim milk (5: 1.25: 1.25: 1.25: 1.25)	100.00 a	65.00 a	55.00 a	45.00 b	38.76 a	37.5 cde	3.40 b	5.00 b	5.00 a
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Carbon charcoal (5: 1.66: 1.66: 1.66)	85.00 b	70.00 a	75.00 a	22.50 bcd	34.65 a	45.00 cd	14.02 ab	2.50 b	12.50 a
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide + Skim milk (5: 1.66: 1.66: 1.66)	100.00 a	75.00 a	75.00 a	30.00 bcd	34.65 a	47.50 c	10.07 b	2.50 b	15.00 a
SeNPV + kaolin clay + Titanium dioxide (5: 2.5: 2.5)	95.00 a	67.50 a	60.00 a	15.00 cd	49.01 a	22.50 e	3.40 b	0.00	2.50 a
SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal + Skim milk (5: 1.66: 1.66: 1.66)	100.00 a	75.00 a	62.50 a	32.50 bc	38.76 a	55.00 b	4.77 b	5.00 b	2.50 a
SeNPV + kaolin clay + Carbon charcoal (5: 2.5: 2.5)	87.50 a	77.50 a	60.00 a	25.00 bcd	34.65 a	45.00 cd	6.30 b	12.50 b	2.50 a
SeNPV + kaolin clay + Skim milk (5: 2.5: 2.5)	100.00 a	85.00 a	75.00 a	27.50 bcd	34.65 a	25.00 de	4.77 b	0.00	0.00
SeNPV (DOA-Bio V1)	100.00 a	85.00 a	80.00 a	72.50 a	52.95 a	65.00 a	35.32 a	32.50 a	12.50 a
control	0 c	0	0	2.50 d	0 b	2.50 f	3.40 b	0.00	0.00
CV%	26.0	20.3	19.6	59.2	6.8	31.0	54.7	85.0	107.9

1/ Means followed by the same letter in the column do not significantly different at 95 % by DMRT

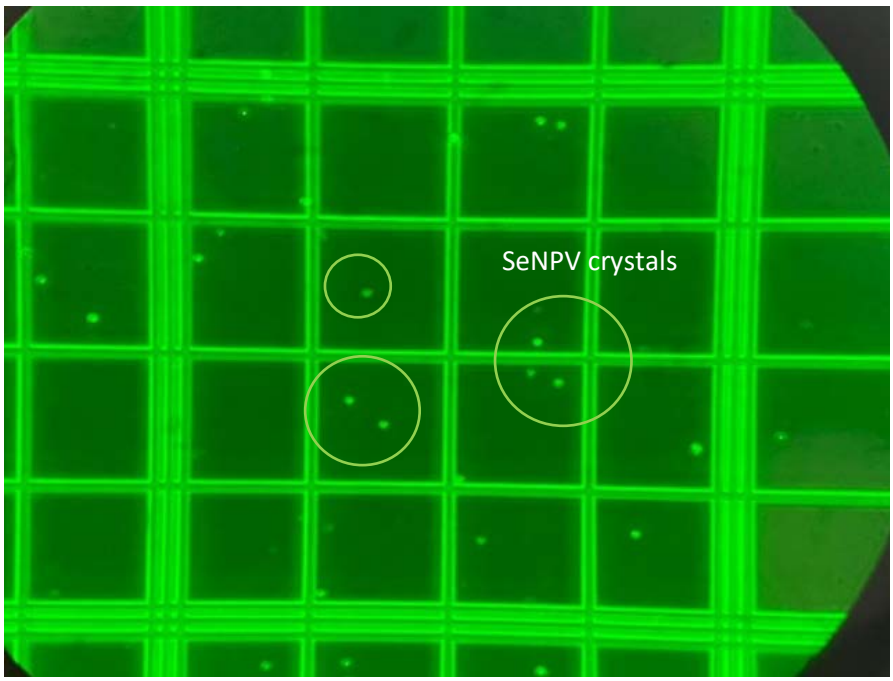


Figure 1 Characteristics of SeNPV virus crystals that can be counted by a compound microscope at 40x magnification

Figure 2 The artificial food coated with SeNPV water-soluble powder to UVB light bulbs exposure

การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม; *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย; *Phyllotreta sinuata* Stephens ในผักกาดหัว

Utilization of *Metarhizium anisopliae (Metsch)* Sorokin for Controlling Flea Beetle (*Phyllotreta sinuata* Stephens) in Chinese Radish

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[1/] ภัททิรา ศาตร์วงษ์[1/] ทิภาพร นวลเนตร[1/]
ช่ออ้อย กาฬภักดี[2/] สุวัฒน์ พูลพาน[2/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม; *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin เพื่อควบคุมด้วงหมัดผัก; *Phyllotreta sinuata* Stephens ในผักกาดหัว ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2567 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและอัตราการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในผักกาดหัว เริ่มศึกษาในปี 2565 ณ ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ดำเนินการจำนวน 3 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ และขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ จากการคัดเลือกไอโซเลทเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3, DOA-M5, DOA-M7, DOA-M14, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115, DOA-M165, *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B19 และ DOA-B20 ที่ความเข้มข้น $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ พบว่า DOA-M3, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115 และ DOA-M165 ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อได้สูงสุดในช่วง 83.16-88.15 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากนั้นได้นำเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในช่วง 10^6-10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ผลการทดลองเฉลี่ยพบแนวโน้มประสิทธิภาพของเชื้อรา DOA-M115, DOA-M42 และ DOA-M3 ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อได้ 82.50, 68.75 และ 68.13% จากนั้นคัดเลือกความเข้มข้นที่ 10^8-10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร มาศึกษาอัตราการใช้ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อรา DOA-M3 ที่อัตรา 1,800-2,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($1.00x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) ทำให้

รหัสการทดลอง FF65-10-02-65-02-01-65

ด้วงหมัดผักติดเชื้อเฉลี่ยในช่วง 55.88-59.34% เชื้อรา DOA-M42 ที่อัตรา 5,600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($1.05x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อเฉลี่ย 39.36% และ DOA-M115 ที่อัตรา 6,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($1.02x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อเฉลี่ย 79.38% จากผลการทดลองที่ได้นี้ได้คัดเลือกไอโซเลท DOA-M3 และ DOA-M115 เพื่อนำไปศึกษาประสิทธิภาพการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่ปี 2566 ต่อไป

คำหลัก : เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ด้วงหมัดผักแถบลาย ผักกาดหัว

คำนำ

พืชผักตระกูลกะหล่ำ (*Brassica* spp.; Cruciferaceae) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย มีการปลูกเป็นการค้าจำนวนมาก เนื่องจากพืชผักอายุการเก็บเกี่ยวค่อนข้างสั้น และแมลงสามารถเข้าทำความเสียหายได้ในทุกระยะของการเจริญเติบโต เกษตรกรส่วนใหญ่จึงมักใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด ทำให้เกิดปัญหาการตกค้างของสารเคมี ส่งผลต่อเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภค

ด้วงหมัดผักแถบลาย; *Phyllotreta flexuosa* (Illiger) เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญในพืชผักหลายชนิด โดยเฉพาะในพืชตระกูลกะหล่ำ ที่ผ่านมาเกษตรกรมีการใช้สารเคมีในการควบคุมอย่างต่อเนื่องสม่ำเสมอ แมลงจึงมีโอกาสพัฒนาตัวเองทำให้เกิดความต้านทานต่อสารเคมี จึงควรหาวิธีการอื่นๆ มาช่วยสลับกับการใช้สารเคมีในแปลงผัก การหาชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมเพื่อลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีเป็นอีกหนึ่งทางเลือก ปัจจุบันเริ่มมีผู้ให้ความสนใจมากขึ้นเนื่องจากคำนึงถึงความปลอดภัยต่อสุขภาพทั้งตัวผู้ใช้และผู้บริโภค และยังไม่มีพิษตกค้างกับสิ่งแวดล้อม

สืบเนื่องจากการดำเนินงานในปี 2555 ที่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพราเขียวจำนวน 10 ไอโซเลท คือ M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 และ M9 โดยทำการทดสอบที่ความเข้มข้น $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ควบคุมด้วงหมัดผักในห้องปฏิบัติการ ผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการในครั้งนั้นพบว่าราเขียวเมตาไรเซียมจำนวน 3 ไอโซเลท คือ M3, M5 และ M7 มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อราเขียวได้ 100% ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งต่อมาในปี 2556 ได้คัดเลือกเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M3 ไปขยายผลทดสอบต่อในสภาพไร่ เนื่องจากใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดในการทำให้ติดเชื้อในห้องปฏิบัติการ การทดสอบในขณะนั้นใช้เวลาในการทดสอบ 1 ปี และทำการทดลองใน 2 พื้นที่ คือ ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี และแปลงเกษตรกรที่ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ผลการดำเนินงานเบื้องต้นในครั้งนั้นพบว่าการใช้ราเขียวไอโซเลทที่เลือกมาทำการทดสอบ ยังไม่สามารถควบคุมประชากรด้วงหมัดผักได้ทั้ง 2 พื้นที่ ซึ่งอาจเกิดจากระยะเวลาทดสอบค่อนข้างสั้น เทคนิคการใช้เชื้อเมตาไรเซียมและการเก็บข้อมูลในแปลงทดสอบอาจยังไม่ดีพอทำให้ได้ข้อมูลไม่ชัดเจน ไม่สามารถแนะนำการใช้เชื้อเมตาไรเซียมควบคุมด้วงหมัดผักในสภาพไร่ได้ ปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีมากขึ้น และด้วงหมัดผักเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญในพืชผักแทบทุกชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชตระกูลกะหล่ำ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อยอดจากงานวิจัย

ปี 2555 โดยงานวิจัยในปี 2565-2567 จะเลือกเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพ 3 ไอโซเลท คือ M3, M5 และ M7 ที่ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อราเขียวได้ 100% ในห้องปฏิบัติการ เปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอโซเลทอื่นๆ ที่ได้จากการเก็บรวบรวมเพิ่มเติมจนถึงปัจจุบัน ของห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง นำมาทดสอบประสิทธิภาพรวมทั้งหาปริมาณและวิธีการใช้ที่เหมาะสม เพื่อคัดเลือกไอโซเลทที่เหมาะสมสำหรับใช้ในสภาพไร่ ข้อมูลที่ได้ดังกล่าวจะนำไปแนะนำหน่วยงานในส่วนภูมิภาค เพื่อไปใช้ขยายผล หรือถ่ายทอดต่อเกษตรกรต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3, DOA-M5, DOA-M7, DOA-M14, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115, DOA-M165, *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B19 และ DOA-B20
2. แมลงศัตรูพืช ได้แก่ ด้วงหมัดผักแถลาย
3. อาหารธัญพืช ได้แก่ ข้าวโพดบดหยาบ และข้าวสาร
4. อาหารสังเคราะห์ ได้แก่ Potato dextrose agar (PDA) และ Potato Dextrose Broth (PDB)
5. กล่องเลี้ยงแมลง ขนาด 7x10 เซนติเมตร และกระถางปลูกต้นไม้ ขนาด 26 เซนติเมตร
6. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
7. เครื่องนับสปอร์ (Hemacytometer)
8. ตู้เขี่ยเชื้อ
9. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
10. กล้องจุลทรรศน์
11. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มิลลิลิตร
12. กระบอกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มิลลิลิตร
13. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มิลลิลิตร

วิธีการ

แผนการดำเนินงาน แบ่งเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

ปี 2565 : ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ

ปี 2566-2567 : ขั้นตอนที่ 4 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่

การทดลองในห้องปฏิบัติการ ปี 2565

นำเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงหมัดผักแถบลายติดเชื้อตาย 100 เปอร์เซ็นต์ในห้องปฏิบัติการ จากงานทดลองของเสาวนิตย์และคณะ (2556) จำนวน 3 ไอโซเลท คือ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3, DOA-M5 และ DOA-M7 มาศึกษาเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอโซเลทอื่นๆ ที่เลี้ยงขยายไว้ในห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ จำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M14, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115, DOA-M165, *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B19 และ DOA-B20

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ (ปี 2565)

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u> : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 10 กรรมวิธี ด้วงหมัดผักแถบลายซ้ำละ 20 ตัว ทดสอบที่ความเข้มข้น $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 1 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3
กรรมวิธีที่ 2 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M5
กรรมวิธีที่ 3 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M7
กรรมวิธีที่ 4 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M14
กรรมวิธีที่ 5 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M22
กรรมวิธีที่ 6 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M42
กรรมวิธีที่ 7 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M115
กรรมวิธีที่ 8 *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M165
กรรมวิธีที่ 9 *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B19
กรรมวิธีที่ 10 *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B20
กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เตรียมอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3, DOA-M5, DOA-M7, DOA-M14, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115, DOA-M165, *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B19 และ DOA-B20 สำหรับใช้เป็นหัวเชื้อ (inoculum) จากนั้นตัดชิ้นวุ้น PDA หัวเชื้อที่เตรียมไว้ขนาด 1x1 เซนติเมตร ใส่ลงในฟลาสค์อาหารเหลว (PDB) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 180 รอบ/นาที เป็นเวลานาน 4 วัน ตรวจเช็คการปนเปื้อนของเชื้ออื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนนำมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบ

เตรียมข้าวโพดบดหยาบโดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายหัวเชื้อ PDB ที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มิลลิลิตร/ถุง ลงในถุงข้าวโพดบดหยาบที่เตรียมไว้ คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (25±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน เมื่อเชื้อเจริญจนเต็มอาหารที่เลี้ยง นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ใช้ทดสอบแต่ละไอโซเลท มาปรับความเข้มข้นที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ก่อนทำการทดสอบ

2. วิธีการเตรียมพืชอาศัย

ปลูกผักกวางตุ้งในกระถางขนาด 26 เซนติเมตร ใส่ไว้ในกรงมุ้งตาข่ายที่สามารถกันแมลงเข้าออกได้ เพื่อนำมาใช้เลี้ยงด้วงหมัดผักแถบลาย และใช้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

3. วิธีการเตรียมแมลงทดสอบ

เก็บด้วงหมัดผักแถบลายในแหล่งปลูกผักที่มีการระบาดของด้วง นำมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ จากนั้นเตรียมการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอโซเลทต่างๆ โดยเตรียมกล่องเลี้ยงแมลงขนาด 7x10 เซนติเมตร ใส่ฟองน้ำและใบกวางตุ้งลงในแต่ละกล่อง นำสำลีชุบน้ำหุ้มที่ก้านเพื่อป้องกันใบเหี่ยว ปล่อยด้วงหมัดผักแถบลายลงในกล่อง จำนวน 20 ตัว/ซ้ำ แล้วนำสารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อราที่เตรียมไว้ฉีดพ่นใส่ใบกวางตุ้งและบนตัวด้วงหมัดผักแถบลาย ปิดฝา สังเกตการเป็นโรคทุกวัน บันทึกการตายและการติดเชื้อของด้วงหมัดผักแถบลายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7-14 วัน

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ (ปี 2565)

คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายจากขั้นตอนที่ 1 จำนวน 5 ไอโซเลท มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการที่ความเข้มข้น 10^6-10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u> : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 21 กรรมวิธี โดยใช้ด้วงหมัดผักแถบลายซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 *M. anisopliae* ไอโซเลท A ที่ $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 2 *M. anisopliae* ไอโซเลท A ที่ $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3 *M. anisopliae* ไอโซเลท A ที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4 *M. anisopliae* ไอโซเลท A ที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 5 *M. anisopliae* ไอโซเลท B ที่ $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 6 *M. anisopliae* ไอโซเลท B ที่ $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 7 *M. anisopliae* ไอโซเลท B ที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 8 *M. anisopliae* ไอโซเลท B ที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 9 *M. anisopliae* ไอโซเลท C ที่ $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 10 *M. anisopliae* ไอโซเลท C ที่ $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 11 *M. anisopliae* ไอโซเลท C ที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 12 *M. anisopliae* ไอโซเลท C ที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 13 *M. anisopliae* ไอโซเลท D ที่ $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 14 *M. anisopliae* ไอโซเลท D ที่ $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 15 *M. anisopliae* ไอโซเลท D ที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 16 *M. anisopliae* ไอโซเลท D ที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 17 *M. anisopliae* ไอโซเลท E ที่ $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 18 *M. anisopliae* ไอโซเลท E ที่ $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 19 *M. anisopliae* ไอโซเลท E ที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 20 *M. anisopliae* ไอโซเลท E ที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 21 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ดำเนินการเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย (ปี 2565)

คัดเลือกไอโซเลทและความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายจากขั้นตอนที่ 2 จำนวน 3 ไอโซเลท มาศึกษาหาอัตราการใช้ที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ

3.1 ทดสอบอัตราการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท A

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยใช้ด้วงหมัดผักแถบลายซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 อัตรา A กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 อัตรา B กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 อัตรา C กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อัตรา D กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 อัตรา E กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 อัตรา F กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 อัตรา G กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 อัตรา H กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 อัตรา I กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 อัตรา J กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

3.2 ทดสอบอัตราการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท B

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u> : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยใช้ด้วงหมัดผักแถบลายซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 อัตรา A กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 อัตรา B กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 อัตรา C กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อัตรา D กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 อัตรา E กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 อัตรา F กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 อัตรา G กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 อัตรา H กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 อัตรา I กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 อัตรา J กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

3.3 ทดสอบอัตราการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท C

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u> : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยใช้ด้วงหมัดผักแถบลายซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 อัตรา A กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 อัตรา B กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 อัตรา C กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อัตรา D กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 อัตรา E กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 อัตรา F กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 อัตรา G กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 อัตรา H กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 อัตรา I กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 อัตรา J กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

ขั้นตอนที่ 3.1, 3.2 และ 3.3 ดำเนินการทดสอบเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1

<u>การบันทึกข้อมูล</u> :

- จำนวนโคนิเดียต่อกรรมวิธี
- จำนวนด้วงหมัดผักที่ตายติดเชื้อจากการทดลอง

- ระยะเวลาการติดเชื้อของด้วงหมัดผักจากการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ</u>

วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ Duncan's news multiple range test (DMRT)

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : ดำเนินการระหว่าง ตุลาคม 2564-กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรกรุงเทพฯ

: แปลงทดลอง ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จังหวัดสุพรรณบุรี

การทดลองในสภาพไร่ ปี 2566-2567

<u>ขั้นตอนที่ 4</u> ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่ (เริ่มดำเนินการปี 2566 - 2567)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M3, DOA-M5, DOA-M7, DOA-M14, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115, DOA-M165, *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B19 และ DOA-B20 (ตารางที่ 1) ที่ความเข้มข้น $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ ทดสอบจำนวน 3 ครั้ง ในช่วงเดือนมกราคม-เมษายน 2565 พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในด้วงหมัดผักแถบลายหลังการฉีดพ่น 10 วัน ดังนี้ (ตารางที่ 2)

ครั้งที่ 1 พบว่า เชื้อรา DOA-M42 ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อได้สูงสุด 93.75% รองลงมา คือ DOA-M22, DOA-M3, DOA-M115, DOA-M165, DOA-M5 (92.50, 90.00, 86.25, 83.75 และ 77.50%) ตามลำดับ และทั้ง 6 โซเลทไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ครั้งที่ 2 พบว่า เชื้อรา DOA-M115 ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อได้สูงสุด 97.50% รองลงมา คือ DOA-M165, DOA-M42, DOA-M3, DOA-M22 (90.00, 88.75, 87.50 และ 80.00%) ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ครั้งที่ 3 พบว่า เชื้อรา DOA-M22 ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อได้สูงสุด 91.94% รองลงมา คือ DOA-M165, DOA-B19, DOA-M42, DOA-M3 (87.81, 83.53, 80.54, 77.97%) ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

สังเกตได้ว่าผลการทดลองทั้ง 3 ครั้ง เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ด้วงหมัดผักเริ่มเคลื่อนที่ช้าลงหลังการทดสอบ 3 วัน เริ่มเห็นเส้นใยของเชื้อราขึ้นปกคลุมลำตัวด้วงหมัดผักหลังการทดสอบ 4-5 วัน และเชื้อราเริ่มสร้างโคนิเดียสีเขียวหลังการทดสอบ 7-10 วัน (ภาพที่ 1) ผลการทดสอบประสิทธิภาพเฉลี่ยหลังการทดลอง 10 วัน พบว่า DOA-M3, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115 และ DOA-M165 ที่ 10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อในช่วง 83.16-88.15 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากนั้นได้คัดเลือกเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท (DOA-M3, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115, DOA-M165) มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของเสาวนิตย์และคณะ (2556) ได้ทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 10 ไอโซเลท คือ DOA-M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 และ M9 ควบคุมด้วงหมัดผัก *P. sinuate* ในห้องปฏิบัติการ โดยปรับความเข้มข้นโคนิเดียให้เท่ากันที่ $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ผลการทดสอบพบว่า ไอโซเลท DOA-M3, M5, M7, M8, M2, M9, M1, M0 และ M6 มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อราเขียวได้ดีไม่แตกต่างกันในทางสถิติเฉลี่ย 100, 100, 100, 97.50, 95, 91.25, 90, 88.75 และ 85% ตามลำดับ

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ

จากการคัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายจากขั้นตอนที่ 1 จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ DOA-M3, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115 และ DOA-M165 มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในช่วง 10^6-10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ทดสอบจำนวน 2 ครั้ง ในช่วงเดือน เมษายน-กรกฎาคม 2565 โดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อหลังการฉีดพ่น 10 วัน ดังนี้ (ตารางที่ 3)

ครั้งที่ 1 พบว่า ที่ความเข้มข้น $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-M115 ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อได้สูงสุด 72.50% รองลงมาคือ DOA-M3 ที่ 63.75% และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ครั้งที่ 2 พบว่า ที่ความเข้มข้น $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-M115 ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อได้ 92.50% รองลงมาคือ DOA-M42, DOA-M3 และ DOA-M22 ที่ 81.25, 72.50, 71.25% ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

จากผลการทดลองเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมเฉลี่ยพบ ไอโซเลท DOA-M115, DOA-M42, DOA-M3 และ DOA-M22 มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายด้วงหมัดผักที่ระดับความเข้มข้น $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร 82.50, 68.75, 68.13 และ 63.75% ตามลำดับ แตกต่างจากรายงานของนาวิน (2559) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย *P. striolata* ในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท 4849 เชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5335 เชื้อรา *M. anisopliae* ทางการค้า (Metazan®) และเชื้อรา *B. bassiana* ทางการค้า (Buverin®) เปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลง acetamiprid จากการพ่นสารชีวภัณฑ์เชื้อราไปบนตัวเต็มวัยของด้วงหมัดผักแถบลายพบว่า หลังการพ่นสาร 7 วัน อัตราการตายของด้วงหมัดผักที่ได้รับเชื้อรา *M. anisopliae* ทางการค้า (Metazan®) เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท 4849 ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร และเชื้อรา *B. bassiana* ทางการค้า (Buverin ®) มี

ค่าเฉลี่ยสูงสุดคือร้อยละ 100 ส่วนเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท 5335 ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร มีการตายเฉลี่ยน้อยที่สุดคือร้อยละ 85.72 ขณะที่การพ่นสารฆ่าแมลง acetamiprid ทำให้ด้วงหมัดผักแถบลายทั้งหมดตายหลังจากพ่น 2 วัน

<u>ขั้นตอนที่ 3</u> ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย

จากขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูง จำนวน 3 ไอโซเลท คือ DOA-M115, DOA-M42 และ DOA-M3 ในระดับความเข้มข้นที่ 10^8-10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร มาศึกษาหาอัตราการใช้เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักในห้องปฏิบัติการ ทดสอบจำนวน 2 ครั้ง ในช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2565 โดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อหลังการฉีดพ่น 10 วัน ดังนี้

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา DOA-M3 ทั้ง 2 ครั้ง พบอัตราการใช้ในช่วง 1,800-2,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อเฉลี่ยมากที่สุดในช่วง 55.88-59.34% และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4)

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา DOA-M42 ทั้ง 2 ครั้ง พบอัตราการใช้ 5,600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อเฉลี่ยสูงสุด 39.36% (ตารางที่ 5)

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา DOA-M115 ทั้ง 2 ครั้ง พบอัตราการใช้ที่ 6,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อเฉลี่ยสูงสุดที่ 79.38% (ตารางที่ 6)

จากผลการศึกษาครั้งนี้ได้คัดเลือกไอโซเลท DOA-M3 และ DOA-M115 เพื่อนำไปศึกษาประสิทธิภาพการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่ ปี 2566 ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การดำเนินงานปี 2565 จากการคัดเลือกไอโซเลทเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 10 ไอโซเลท ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ พบว่า DOA-M3, DOA-M22, DOA-M42, DOA-M115 และ DOA-M165 ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อได้สูงสุดในช่วง 83.16-88.15 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากการคัดเลือกเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลท มาทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมในช่วง 10^6-10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองเฉลี่ยพบแนวโน้มประสิทธิภาพของเชื้อรา DOA-M115, DOA-M42 และ DOA-M3 ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อได้ 82.50, 68.75 และ 68.13% จากนั้นคัดเลือกความเข้มข้นที่ 10^8-10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร มาศึกษาอัตราการใช้ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา DOA-M3 ที่อัตรา 1,800-2,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($1.00x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อเฉลี่ยในช่วง 55.88-59.34% เชื้อรา DOA-M42 ที่อัตรา 5,600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($1.05x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อเฉลี่ย 39.36% และ DOA-M115 ที่อัตรา 6,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($1.02x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) ทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อเฉลี่ย 79.38% จากผลการทดลองที่ได้นี้ได้คัดเลือกไอโซเลท DOA-M3 และ DOA-M115 เพื่อนำไปศึกษาประสิทธิภาพการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพไร่ปี 2566 ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จังหวัดสุพรรณบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการติดต่อประสานงานกับเกษตรกรในพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างด้วงหมัดผักแถบลาย และพื้นที่ในการทดสอบประสิทธิภาพในสภาพไร่ ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ผลการทดลอง และขอขอบคุณคณะทำงานกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

นาวิน สุขเลิศ. 2559. ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในเบบี้ฮ่องเต้บนพื้นที่สูง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ อิศเรส เทียนทัด และวิไลวรรณ เวชยันต์. 2556. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม; *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก; *Phyllotreta sinuata* Stephens). หน้า 693-703 *ใน*: ผลงานวิจัยประจำปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. เอกสารวิชาการเลขที่ 1/2557 เล่มที่ 2 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ตารางที่ 1 สายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ใช้ในการทดสอบ

สายพันธุ์	ไอโซเลท	แมลงอาศัย	พืช	สถานที่เก็บ
M. anisopliae	DOA-M3	ด้วงหนวดยาวอ้อย	อ้อย	ศูนย์ชีวินทรีย์ ม.เกษตรศาสตร์
M. anisopliae	DOA-M5	ด้วงแรดมะพร้าว	มะพร้าว	อ.ลำลูกกา จ.ปทุมธานี
M. anisopliae	DOA-M7	ด้วงแรดมะพร้าว	มะพร้าว	ต.สามเรือน อ.เมือง จ.ราชบุรี
M. anisopliae	DOA-M14	ด้วงหนวดยาวอ้อย	อ้อย	ศวพ.สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี
M. anisopliae	DOA-M22	ด้วงหนวดยาวอ้อย	อ้อย	ต.หนองไผ่ อ.ด่านมะขามเตี้ย จ.กาญจนบุรี
M. anisopliae	DOA-M42	ด้วงหนวดยาวอ้อย	อ้อย	ต.หนองกวาง อ.โพธาราม จ.ราชบุรี
M. anisopliae	DOA-M115	ด้วงหนวดยาวอ้อย	อ้อย	ต.หนองกวาง อ.โพธาราม จ.ราชบุรี
M. anisopliae	DOA-M165	ด้วงแรดมะพร้าว	มะพร้าว	ต.แม่กลอง อ.เมืองสมุทรสงคราม จ.สมุทรสงคราม
B. bassiana	DOA-B19	หนอนกินใบ	ข้าวโพด	ต.ท่ามะกา อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี
B. bassiana	DOA-B20	เพลี้ยจักจั่น	มะเขือเปราะ	ต.ศรีประจันต์ อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงของด้วงหมัดผักแถบลาย ที่ความเข้มข้น 10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ในระดับห้องปฏิบัติการ หลังการทดสอบ 10 วัน จำนวน 3 ครั้ง ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2565

	กรรมวิธี	จำนวน (ตัว)	เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ							
			ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3		เฉลี่ย	
1.	DOA-M3	80[1/]	90.00	a[2/]	87.50	ab	77.97	abc	85.16	a
2.	DOA-M5	80	77.50	a	61.25	cd	60.12	cd	66.29	b
3.	DOA-M7	80	15.00	cd	15.00	fg	45.83	de	25.28	d
4.	DOA-M14	80	55.00	b	46.25	de	34.56	e	45.27	c
5.	DOA-M22	80	92.50	a	80.00	abc	91.94	a	88.15	a
6.	DOA-M42	80	93.75	a	88.75	ab	80.54	abc	87.68	a
7.	DOA-M115	80	86.25	a	97.50	a	65.76	bcd	83.17	a
8.	DOA-M165	80	83.75	a	90.00	ab	87.81	ab	87.19	a
9.	DOA-B19	80	28.75	c	67.50	bcd	83.53	abc	59.93	b
10.	DOA-B20	80	31.25	c	28.75	ef	64.58	bcd	41.53	c
11.	น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ	80	0.00	d	0.00	g	0.00	f	0.00	e
	C.V. (%)		**24.5**		**25.2**		**24.7**		**16.4**	

[1/]จำนวนด้วงหมัดผักแถบลาย 4 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว

[2/]ค่าความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ DMRT

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมของด้วงหมัดผักแถบลาย ที่ความเข้มข้น 10^6-10^9 โคนิเดีย/มล. ในระดับห้องปฏิบัติการ หลังการทดสอบ 10 วัน จำนวน 2 ครั้ง ระหว่างเดือนเมษายน-กรกฎาคม 2565

ไอโซเลท	ความเข้มข้น (โคนิเดีย/มล.)	จำนวน (ตัว)	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		เฉลี่ย	
DOA-M3	10^6	80[1/]	3.75	e[2/]	0.00	f	1.88	g
	10^7	80	12.50	e	0.00	f	6.25	fg
	10^8	80	51.25	bcd	77.50	abc	64.38	bc
	10^9	80	63.75	ab	72.50	bc	68.13	b
DOA-M22	10^6	80	1.25	e	0.00	f	0.63	g
	10^7	80	2.50	e	0.00	f	1.25	g
	10^8	80	33.75	d	85.00	ab	59.38	bc
	10^9	80	56.25	abc	71.25	bc	63.75	bc
DOA-M42	10^6	80	2.50	e	0.00	f	1.25	g
	10^7	80	1.25	e	0.00	f	0.63	g
	10^8	80	33.75	d	46.25	d	40.00	e
	10^9	80	56.25	abc	81.25	abc	68.75	b
DOA-M115	10^6	80	0.00	e	0.00	f	0.00	g
	10^7	80	0.00	e	0.00	f	0.00	g
	10^8	80	40.00	cd	66.25	c	53.13	cd
	10^9	80	72.50	a	92.50	a	82.50	a
DOA-M165	10^6	80	7.50	e	7.50	ef	7.50	fg
	10^7	80	11.25	e	2.50	f	6.88	fg
	10^8	80	13.75	e	20.00	e	16.87	f
	10^9	80	48.75	bcd	36.25	d	42.50	de
น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ		80	0.00	e	0.00	f	0.00	g
C.V. (%)			**48.3**		**34.0**		**29.1**	

[1/]จำนวนด้วงหมัดผักแถบลาย 4 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว

[2/]ค่าความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ DMRT

ตารางที่ 4 อัตราการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม DOA-M3 ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในระดับห้องปฏิบัติการ หลังการทดสอบ 10 วัน จำนวน 2 ครั้ง ระหว่างเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2565

อัตรา (กรัม/น้ำ 20 ลิตร)	ความเข้มข้น (โคนิเดีย/มล.)	จำนวน (ตัว)	เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ		
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย
200[1/]	$1.12x10^8$	80[2/]	17.14 ab[3/]	14.60 bcd	15.87 bc
400	$2.24x10^8$	80	8.71 bc	6.67 cd	7.69 cd
600	$3.36x10^8$	80	2.90 cd	5.64 d	4.27 d
800	$4.48x10^8$	80	42.18 ab	14.27 bcd	28.23 ab
1,000	$5.60x10^8$	80	62.67 a	45.32 ab	54.00 a
1,200	$6.72x10^8$	80	18.84 ab	24.95 abc	21.90 ab
1,400	$7.84x10^8$	80	48.02 a	21.94 a-d	34.98 a
1,600	$8.96x10^8$	80	42.47 ab	38.79 ab	40.63 a
1,800	$1.00x10^9$	80	60.31 a	58.37 a	59.34 a
2,000	$1.12x10^9$	80	40.85 ab	70.92 a	55.88 a
น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ	0.00	80	0.00 d	0.00 e	0.00 e
	C.V. (%)		32.3	28.5	15.5

[1/]ปริมาณเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม อัตรา 200 กรัม = เชื้อ 1 ถุง

[2/]จำนวนด้วงหมัดผักแถบลาย 4 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว

[3/]ค่าความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ DMRT

ตารางที่ 5 อัตราการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม DOA-M42 ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในระดับห้องปฏิบัติการ หลังการทดสอบ 10 วัน จำนวน 2 ครั้ง ระหว่างเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2565

อัตรา (กรัม/น้ำ 20 ลิตร)	ความเข้มข้น (โคนิเดีย/มล.)	จำนวน (ตัว)	เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ		
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย
700[1/]	$1.05x10^8$	80[2/]	3.46 cd[3/]	4.78 b	4.12 cd
1,400	$2.10x10^8$	80	2.32 d	4.19 b	3.26 d
2,100	$3.15x10^8$	80	8.55 bcd	12.64 ab	10.60 bc
2,800	$4.20x10^8$	80	18.71 ab	37.87 a	28.29 ab
3,500	$5.25x10^8$	80	14.44 ab	10.56 ab	12.50 abc
4,200	$6.30x10^8$	80	19.31 ab	32.62 a	25.97 ab
4,900	$7.35x10^8$	80	12.41 abc	9.90 ab	11.16 bc
5,600	$8.40x10^8$	80	37.95 a	40.77 a	39.36 a
6,300	$9.45x10^8$	80	24.81 ab	10.41 ab	17.61 ab
7,000	$1.05x10^9$	80	22.68 ab	31.28 a	26.98 ab
น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ	0.00	80	0.00 e	0.00 c	0.00 e
	C.V. (%)		30.4	40.0	23.3

[1/]ปริมาณเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม อัตรา 200 กรัม = เชื้อ 1 ถุง

[2/]จำนวนด้วงหมัดผักแถบลาย 4 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว

[3/]ค่าความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ DMRT

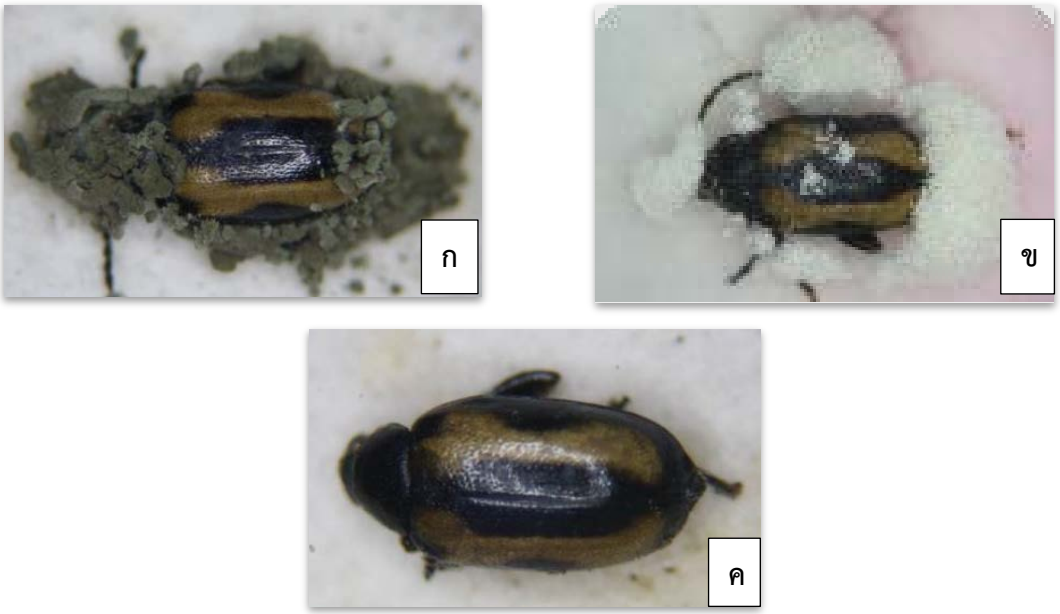
ตารางที่ 6 อัตราการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม DOA-M115 ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในระดับห้องปฏิบัติการ หลังการทดสอบ 10 วัน จำนวน 2 ครั้ง ระหว่างเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2565

อัตรา (กรัม/น้ำ 20 ลิตร)	ความเข้มข้น (โคนิเดีย/มล.)	จำนวน (ตัว)	เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ		
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย
600[1/]	$1.02x10^8$	80[2/]	3.75 cd[3/]	30.00 bcd	16.88 cde
1,200	$2.04x10^8$	80	7.50 cd	43.75 b	25.63 bcd
1,800	$3.06x10^8$	80	5.00 cd	10.00 de	7.50 ef
2,400	$4.08x10^8$	80	15.00 bcd	7.50 de	11.25 def
3,000	$5.10x10^8$	80	6.25 cd	21.25 cde	13.75 c-f
3,600	$6.12x10^8$	80	12.50 bcd	37.50 bc	25.00 bcd
4,200	$7.14x10^8$	80	10.00 cd	47.50 b	28.75 bc
4,800	$8.16x10^8$	80	31.25 b	11.25 de	21.25 cde
5,400	$9.18x10^8$	80	25.00 bc	48.75 b	36.88 b
6,000	$1.02x10^9$	80	85.00 a	73.75 a	79.38 a
น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ	0.00	80	0.00 d	0.00 e	0.00 f
C.V. (%)			72.5	47.0	40.1

[1/]ปริมาณเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม อัตรา 200 กรัม = เชื้อ 1 ถุง

[2/]จำนวนด้วงหมัดผักแถบลาย 4 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว

[3/]ค่าความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ DMRT



ภาพที่ 1 ลักษณะด้วงหมัดผักแถบลายตายติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในห้องปฏิบัติการ:

ก) *Metarhizium anisopliae* DOA-M8

ข) *Beauveria bassiana* DOA-B4

ค) ตายไม่ติดเชื้อ

การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae, Beauveria bassiana* และ *Isaria javanica* ควบคุมแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabasi* (Gennadius)) ในมะเขือเปราะ

Utilization of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Isaria javanica* for Controlling *Bemisia tabasi* (Gennadius) in Thai Eggplant

ทิภาพร นวลเนตร[1/] ภัททิรา ศาตร์วงษ์[1/] เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[1/]
อดุลย์รัตน์ แคล้วคลาด[2/] สุภัค กาญจนเกษร[2]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

รายงานความก้าวหน้า

การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* และ *Isaria javanica* ควบคุมแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabasi* (Gennadius)) ในมะเขือเปราะ ดำเนินการระหว่างปี 2565-2567 ระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2567 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและอัตราการใช้ที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในมะเขือเปราะ เริ่มศึกษาในปี 2565 ณ ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช การคัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* DOA-M8, *B. bassiana* DOA-B4 และ DOA-B18 ความเข้มข้น 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้ 93.33 - 95.23%, 92.71-98.22% และ 82.54-92.69% ตามลำดับ เมื่อทำการคัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ พบว่าประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงหวี่ขาวของเชื้อรา DOA-M8, DOA-B4 และ DOA-B18 ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร สามารถทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้ระหว่าง 78.75-93.75%, 97.50-100% และ 97.50-100% และเมื่อคำนวณค่า LC_{50}, LC_{90} ของเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่า DOA-B4 และ DOA-B18 มีค่าต่ำกว่า DOA-M8 จากข้อมูลที่ได้นี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจในการคัดเลือกอัตราการใช้และแนวทางในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในสภาพไร่ในปี 2566

คำหลัก : เชื้อราสาเหตุโรคแมลง แมลงหวี่ขาว มะเขือเปราะ

รหัสการทดลอง FF65-10-02-65-02-02-65

คำนำ

ประเทศไทยส่งสินค้าทางการเกษตรจำพวกพืชผักเพื่อการส่งออกเป็นจำนวนมาก และมักจะประสบปัญหามีแมลงศัตรูพืชติดไปกับผลผลิตอยู่เสมอ แมลงศัตรูพืชที่มักพบเป็นปัญหาสำคัญต่อการส่งออกคือ แมลงหวี่ขาวยาสูบ; *Bemisia tabasi* Gennadius การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชส่วนใหญ่เกษตรกรมักนิยมใช้สารฆ่าแมลง ซึ่งเห็นผลเร็วแต่มักมีข้อเสียในด้านพิษตกค้างของสารเคมีซึ่งส่งผลต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้รวมทั้งผู้บริโภคด้วย การหาชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมเพื่อลดหรือทนแทนการใช้สารเคมี เป็นวิธีการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี ซึ่งเริ่มมีผู้ให้ความสนใจมากขึ้นทั้งผู้บริโภคและเกษตรกร เนื่องจากคำนึงถึงความปลอดภัยต่อสุขภาพทั้งตัวผู้ใช้และผู้บริโภค และยังไม่มีพิษตกค้างกับสิ่งแวดล้อม

เสาวนิตย์และเมธาสิทธิ์ (2558) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง 4 ชนิด ได้แก่ *M. anisopliae* (ไอโซเลท M3), *B. bassiana* (สายพันธุ์ชุมพร), *Paecilomyces lilacinus* และ *I. javanica* ที่ความเข้มข้น $1X10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ในการควบคุมแมลงหวี่ขาว ในห้องปฏิบัติการ จากการทดสอบทั้ง 3 ครั้ง พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคแมลงทั้ง 4 ชนิด สามารถทำให้ แมลงหวี่ขาวมีเปอร์เซ็นต์ การติดเชื้อใกล้เคียงกันไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงหวี่ขาวมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์การตายโดยเฉลี่ยของเชื้อรา *B. bassiana* พบอยู่ที่ 61.67 เปอร์เซ็นต์ *I. javanica* พบอยู่ที่ 63.33 เปอร์เซ็นต์ *M. anisopliae* พบอยู่ที่ 60.67 เปอร์เซ็นต์ และ *P. lilacinus* พบอยู่ที่ 67.33 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงส่วนใหญ่จะเริ่มพบหลังทดสอบเชื้อวันที่ 3 และ 4 แต่จากการรายงานพบว่าเชื้อ *P. lilacinus* สามารถติดต่อได้ในคน และสัตว์มีกระดูกสันหลัง (Luangsa-ard J. *et al*., 2011) ดังนั้นจึงไม่ได้นำมาทำการศึกษาต่อ

จากงานวิจัยในปี 2557-2558 ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาว ซึ่งผลการทดสอบถึงแม้จะไม่สูงมากในห้องปฏิบัติการ แต่สามารถใช้เป็นทางเลือกในการควบคุมแมลงหวี่ขาว ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อยอดจากงานวิจัยปี 2558 เพื่อหาเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีความเหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาว ในสภาพไร่ รวมทั้งหาปริมาณและวิธีการใช้ที่เหมาะสม เพื่อสามารถนำไปแนะนำหน่วยงาน ในส่วนภูมิภาค เพื่อไปใช้ขยายผล หรือถ่ายทอดต่อเกษตรกรในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M1, DOA-M3, DOA-M8, DOA-M9, เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B4, DOA-B18 และ *I. Javanica*
2. แมลงหวี่ขาว
3. ข้าวโพดบดหยาบ
4. ต้นมะเขือเปราะ

5. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Broth (PDB)

6. ที่นับสปอร์ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer)

7. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)

8. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)

9. ตู้เขี่ยเชื้อ

10. กล้องจุลทรรศน์

11. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)

12. บีกเกอร์ ขนาด 250 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

13. กระบอกตวง ขนาด 250 และ 1,000 มิลลิลิตร

14. ฟลาสก์ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

15. จานเลี้ยงเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร

วิธีการ

แผนการดำเนินงาน แบ่งเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

ปี 2565 : ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ

ปี 2566 : ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ

ปี 2566-2567 : ขั้นตอนที่ 4 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในสภาพไร่

การทดลองในห้องปฏิบัติการ ปี 2565-2566

นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการจากงานทดสอบของเสาวนิตย์และเมธาสิทธิ์ (2558) จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M3, เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B4 และ *I. javanica* มาเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับเชื้อราสาเหตุโรคแมลงชนิดอื่นในห้องปฏิบัติการ จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M1, DOA-M8, DOA-M9 และ เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B18 แบ่งการทดลองเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ (ปี 2565)

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u> : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธีที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยใช้แมลงหวี่ขาวซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M1

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M3

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M8

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M9

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B4

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B18

กรรมวิธีที่ 7 *I. Javanica*

กรรมวิธีที่ 8 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เตรียมอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคแมลง ทั้ง 7 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* DOA-M1, *M. anisopliae* DOA-M3, *M. anisopliae* DOA-M8, *M. anisopliae* DOA-M9, *B. bassiana* DOA-B4, *B. bassiana* DOA-B18 และ *I. javanica* สำหรับใช้เป็นหัวเชื้อ (inoculum) จากนั้นตัดชิ้นวุ้น PDA หัวเชื้อที่เตรียมไว้ขนาด 1x1 เซนติเมตร ใส่ลงในฟลาสก์อาหารเหลว (PDB) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบ/นาที เป็นเวลานาน 4 วัน ตรวจเช็คการปนเปื้อนของเชื้ออื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนนำมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบ เตรียมข้าวโพดบดหยาบโดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายหัวเชื้อ PDB ที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มิลลิลิตร/ถุง ลงในถุงข้าวโพดบดหยาบที่เตรียมไว้ คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27±3 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน เมื่อเชื้อเจริญจนเต็มอาหารที่เลี้ยง นำเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่ใช้ทดสอบแต่ละไอโซเลทมาปรับความเข้มข้นที่ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร แบ่งสารแขวนลอยโคนิเดีย แต่ละชุดที่เตรียมไว้ออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำมาเลี้ยงบนอาหารเทียมเพื่อตรวจนับปริมาณการงอก (cfu) ส่วนที่ 2 นำมาใช้ทดสอบกับแมลงหวี่ขาว

2. วิธีการเตรียมพืชอาศัย

ปลูกมะเขือเปราะในกระถางขนาด 26 เซนติเมตร ใส่ไว้ในกรงมุ้งตาข่ายที่สามารถกันแมลงเข้าออกได้ เพื่อนำมาเป็นพืชอาหารให้กับแมลงหวี่ขาวและใช้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

3. วิธีการเตรียมแมลงทดสอบในห้องปฏิบัติการ

3.1 เก็บแมลงหวี่ขาวยาสูบ ในแหล่งปลูกผักที่มีการระบาดของแมลงหวี่ขาวยาสูบ นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการบนต้นมะเขือเปราะที่เตรียมไว้

3.2 เตรียมจานเลี้ยงเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร โดยใส่กระดาษกรอง จำนวน 1 แผ่น/จานเลี้ยงเชื้อ หยดน้ำลงบนกระดาษกรองเพื่อให้ความชื้น

3.3 นำสำลีจุ่มน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อพันที่ปลายก้านใบมะเขือ วางลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้

3.4 นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เตรียมไว้ในแต่ละกรรมวิธีพ่นลงบนใบมะเขือ

3.5 ปล่อยแมลงหวี่ขาวลงในจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ จากนั้นปิดจานเลี้ยงเชื้อและพันทับด้วยพาราฟิน

3.6 สังเกตการเป็นโรคของแมลง ทำการตรวจนับจำนวนแมลงทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน หรือจนกว่าแมลงหวี่ขาวจะตายหมด

การบันทึกข้อมูล

- ปริมาณการงอก (cfu) ของสารแขวนลอยโคนิเดียแต่ละกรรมวิธี
- จำนวนแมลงหวี่ขาวที่ตาย
- จำนวนแมลงหวี่ขาวที่ติดเชื้อจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ
- ระยะเวลาการติดเชื้อของแมลงหวี่ขาวจากการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ :

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

ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ (ปี 2565)

นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในขั้นตอนที่ 1 จำนวน 2 ไอโซเลท มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 11 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท A ความเข้มข้น $1x10^3$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท A ความเข้มข้น $1x10^4$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท A ความเข้มข้น $1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท A ความเข้มข้น $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท A ความเข้มข้น $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท B ความเข้มข้น $1x10^3$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 7 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท B ความเข้มข้น $1x10^4$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 8 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท B ความเข้มข้น $1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 9 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท B ความเข้มข้น $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 10 เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ไอโซเลท B ความเข้มข้น $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบตามขั้นตอนที่ 1 เมื่อเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเจริญเติบโตจนเต็มถุงใช้เวลาประมาณ 14 วัน จากนั้นนำเชื้อราสาเหตุโรค

แมลงที่จะใช้ทดสอบแต่ละไอโซเลท มาปรับความเข้มข้นที่ $1x10^3$, $1x10^4$, $1x10^5$, $1x10^6$ และ $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ แบ่งสารแขวนลอยแต่ละชุดที่เตรียมออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำมาเลี้ยงบนอาหารเทียมเพื่อตรวจนับปริมาณการงอก (cfu) ส่วนที่ 2 นำมาใช้ทดสอบกับแมลงหวี่ขาว โดยดำเนินการตามขั้นตอนที่ 1

การบันทึกข้อมูล

- ปริมาณการงอก (cfu) ของสารแขวนลอยโคนิเดียแต่ละกรรมวิธี
- จำนวนแมลงหวี่ขาวที่ตาย
- จำนวนแมลงหวี่ขาวที่ติดเชื้อจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ
- ระยะเวลาการติดเชื้อของแมลงหวี่ขาวจากการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ :

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

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ (ปี2566)

การทดลองในสภาพไร่ ปี 2566-2567

ขั้นตอนที่ 4 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในสภาพไร่ (ปี 2566-2567)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม จำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท DOA-M1, DOA-M3, DOA-M8, DOA-M9, เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B4, DOA-B18 และเชื้อรา *I. javanica* ไอโซเลท DOA-I ที่ความเข้มข้น 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้ง ในช่วงเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2565 จากนั้นตรวจสอบการติดเชื้อโดยใช้หลัก Koch's postulates เพื่อยืนยันการเกิดโรค โดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในแมลงหวี่ขาวยาสูบหลังการฉีดพ่น 7 วัน ดังนี้ (Table 1)

ผลการทดสอบครั้งที่ 1 พบว่าที่ความเข้มข้น 1x10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-M8 ทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้สูงสุด 93.33% รองลงมาคือ DOA-B4 และ DOA-B18 ที่ 92.86% และ 86.67% ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 2 พบว่าที่ความเข้มข้น 1x10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 ทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้สูงสุด 98.22% รองลงมาคือ DOA-M8 และ DOA-B18 ที่ 94.17% และ 92.69% ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 3 พบว่าที่ความเข้มข้น 1x10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-M8 ทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้สูงสุด 95.23% รองลงมาคือ DOA-B4 และ DOA-B18 ที่ 92.71% และ 82.54% ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

จากผลการทดสอบทั้ง 3 ครั้ง เป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือหลังการทดสอบ 4-5 วัน เริ่มเห็นเส้นใยสีขาวของเชื้อราบิวเวอเรีย และเส้นใยสีเขียวของเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมปกคลุมลำตัวแมลงหวี่ขาว และหลังการทดสอบ 7 วัน เห็นโคนิเดียสีขาวของเชื้อราบิวเวอเรีย และสีเขียวของเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมชัดเจนขึ้น และเชื้อรา DOA-M8, DOA-B4 และ DOA-B18 ทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้ดี ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ และจากการศึกษาของสิริญาและคณะ (2554) นำเชื้อรา 5 สกุล 17 ชนิด 29 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการก่อโรคกับแมลงหวี่ขาว ที่ความเข้มข้น 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคแมลงสามารถก่อให้เกิดโรคกับแมลงหวี่ขาวได้ โดยเชื้อรา *P. tenuipes* ไอโซเลท Pt 6073 ก่อโรคกับแมลงหวี่ขาวสูงสุด รองลงมาคือเชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท BCC 4849 และเชื้อรา *Beauveria* sp. ไอโซเลท 2637 ซึ่งมีการตายของตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวเท่ากับ 92.44, 72.67 และ 33.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ

คัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมแมลงหวี่ขาว จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม DOA-M8 และ เชื้อราขาวบิวเวอเรีย ไอโซเลท DOA-B4, DOA-B18 มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมแมลงหวี่ขาวในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 10^5-10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 13 กรรมวิธี โดยใช้แมลงหวี่ขาว ซ้ำละ 20 ตัว ทำการทดสอบจำนวน 6 ครั้ง โดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในแมลงหวี่ขาวยาสูบหลังการฉีดพ่น 7 วัน ดังนี้ (Table 2)

ผลการทดสอบครั้งที่ 1 พบว่าที่ความเข้มข้น 1x10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 ทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้สูงสุด 100% รองลงมาคือ DOA-B18 และ DOA-M8 ที่ 97.50% และ 93.75% ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 2 พบว่าที่ความเข้มข้น 1x10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B18 ทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้สูงสุด 100% รองลงมาคือ DOA-B4 และ DOA-M8 ที่ 98.75% และ 87.50% ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 3 พบว่าที่ความเข้มข้น 1x10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 และ DOA-B18 ทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้สูงสุด 100% รองลงมาคือ DOA-M8 ที่ 78.75% และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 4 พบว่าที่ความเข้มข้น 1x10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 และ DOA-B18 ทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้สูงสุด 100% รองลงมาคือ DOA-M8 ที่ 91.25% และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 5 พบว่าที่ความเข้มข้น 1x10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 และ DOA-B18 ทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้สูงสุด 97.50% รองลงมาคือ DOA-M8 ที่ 93.75% และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 6 พบว่าที่ความเข้มข้น 1x10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 และ DOA-B18 ทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้สูงสุด 100% รองลงมาคือ DOA-M8 ที่ 90.00% และพบความแตกต่างกันทางสถิติ

จากผลการทดสอบทั้ง 6 ครั้ง พบว่าแนวโน้นประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงหวี่ขาวของเชื้อรา DOA-M8 ที่ความเข้มข้น 1x10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร สามารถทำให้แมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อได้ระหว่าง 78.75-93.75% เชื้อรา DOA-B4 และ DOA-B18 ที่ความเข้มข้น 1x10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร สามารถทำให้แมลงหวี่ขาวยาสูบติดเชื้อได้ระหว่าง 97.50-100% ซึ่งผลงานวิจัยมีความสอดคล้องกับการศึกษาของกัญชลิกาและคณะ (2562) ที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *B. bassiana* ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ ผลการทดลองพบว่าภายหลังฉีดพ่นเชื้อราที่ระดับความเข้มข้น 1 × 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร เป็นเวลา 6 วัน ทำให้ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวตาย 57.50% และทำให้ตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบตาย 65.00%

นอกจากนี้เมื่อคำนวณค่า LC_{50}, LC_{90} ของเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่า DOA-B4 และ DOA-B18 มีค่าต่ำกว่า DOA-M8 ซึ่งค่า LC_{50} ของเชื้อรา DOA-B4 มีความเข้มข้นต่ำสุดอยู่ในช่วง 1.48x10^5-5.01x10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B18 พบในช่วง 4.39x10^4-3.01x10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร และเชื้อรา DOA-M8 พบในช่วง 5.77x10^5-1.89x10^6 โคนิเดีย/มิลลิลิตร และค่า LC_{90} ของเชื้อรา DOA-B4 มีความเข้มข้นต่ำสุดอยู่ในช่วง 3.53x10^6-2.29x10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B18 พบในช่วง 2.31x10^6-7.56x10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร และเชื้อรา DOA-M8 พบในช่วง 4.57x10^7-7.00x10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร (Table 3) จากข้อมูลดังกล่าวทำให้ทราบได้ว่าเชื้อรา DOA-B4 และ DOA-B18 เป็นเชื้อราที่มีความรุนแรงสูงสามารถทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้สูงเมื่อเทียบกับเชื้อรา DOA-M8 เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด จึงคัดเลือกความเข้มข้นในช่วง 10^7-10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ที่ทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้สูงสุดมาทำการทดสอบหาอัตราการใช้ในห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้เชื้อรา *M. anisopliae*, *B. bassiana* และ *I. javanica* ควบคุมแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabasi* (Gennadius)) ในมะเขือเปราะ โดยการทดสอบในห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 และ DOA-B18 ที่ความเข้มข้น 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร สามารถทำให้แมลงหวี่ขาวติดเชื้อได้ 97.50-100%

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม จังหวัดนครปฐมที่ให้ความอนุเคราะห์ในการติดต่อประสานงานกับเกษตรกรในพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างแมลงหวี่ขาวเพื่อใช้ในการทดสอบ ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ผลการทดลอง และขอขอบคุณคณะทำงานกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กัญชลิกา รัตนเชิดฉาย ทวีทรัพย์ ไชยรักษ์ และณัฏฐชัย จันทชุม. 2562. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ที่มีต่อแมลงหวี่ขาวยาสูบ และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล. วารสารเกษตรพระวรุณ. 16(2): 405-413.

สิริญา คัมภิโร จิราพร กุลสาริน เยาวลักษณ์ จันทร์บาง และมาลี ตั้งระเบียบ. 2554. ประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงหวี่ขาวโรงเรือน. วารสารเกษตร. 27(1): 49-57.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และเมธาสิทธิ์ คนการ. 2558. ประสิทธิภาพของราสาเหตุโรคแมลงบางชนิดในการควบคุมแมลงหวี่ขาว (white fly). หน้า 659-668 *ใน*: ผลงานวิจัยประจำปี 2558 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. เอกสารวิชาการเลขที่ 5/2559 เล่มที่ 2 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Luangsa-Ard, J., J. Houbraken, T. van Doorn, S.B. Hong, A.M. Borman, N.L. Hywel-Jones and R.A. Samson. 2011. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS microbiology letters 321*(2): 141-149.

Table 1 Mortality of *Bemisia tabasi* caused by infection with 7 fungal isolates using a concentration of 10^8 conidia ml^{-1} at 7 days after treatment; test 3 times in January-February 2022

Isolate	No. of *Bemisia tabasi*[1/]	Experiment 1[2/]	Experiment 2[2/]	Experiment 3[2/]
DOA-M1	80	88.68ab	51.40c	49.24c
DOA-M3	80	77.91b	75.53b	48.33c
DOA-M8	80	93.33a	94.17a	95.23a
DOA-M9	80	77.44b	77.61b	79.45ab
DOA-B4	80	92.86a	98.22a	92.71a
DOA-B18	80	86.67ab	92.69a	82.54ab
DOA-I1	80	74.62b	86.53ab	65.36bc
Control (water)	80	0.00c	0.00d	0.00c
C.V. (%)		13.20	11.58	19.87

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

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

Table 2 Mortality of *Bemisia tabasi* caused by infection with 3 fungal isolates using a concentration of 10^5-10^8 conidia ml^{-1} at 7 days after treatment; test 6 times in July-September 2022

Isolate	Concentration (Conidia ml^{-1})	No. of *Bemisia tabasi*[1/]	Experiment 1[2/]	Experiment 2[2/]	Experiment 3[2/]	Experiment 4[2/]	Experiment 5[2/]	Experiment 6[2/]
DOA-M8	$1x10^5$	80	15.00d	11.25d	23.75c	12.50g	27.50g	20.00h
DOA-M8	$1x10^6$	80	50.00c	51.25c	63.75b	73.75cd	63.75de	55.00f
DOA-M8	$1x10^7$	80	63.75bc	76.25b	66.25b	80.00bcd	76.25bc	86.25bc
DOA-M8	$1x10^8$	80	93.75a	87.50ab	78.75ab	91.25ab	93.75a	90.00b
DOA-B4	$1x10^5$	80	15.00d	38.75c	30.00c	46.25f	35.00fg	42.50g
DOA-B4	$1x10^6$	80	85.00ab	85.00ab	75.00b	65.00de	57.50e	65.00e
DOA-B4	$1x10^7$	80	85.00ab	93.75ab	81.25ab	97.50a	82.50b	91.25b
DOA-B4	$1x10^8$	80	100.00a	98.75a	100.00a	100.00a	97.50a	100.00a
DOA-B18	$1x10^5$	80	53.75c	37.50c	37.50c	51.25ef	42.50f	53.75f
DOA-B18	$1x10^6$	80	82.50ab	92.50ab	65.00b	73.75cd	70.00cd	73.75d
DOA-B18	$1x10^7$	80	93.75a	96.25a	80.00ab	88.75abc	76.25bc	81.25c
DOA-B18	$1x10^8$	80	97.50a	100.00a	100.00a	100.00a	97.50a	100.00a
Control (water)		80	0.00d	0.00d	0.00d	0.00g	0.00h	0.00i
C.V. (%)			21.34	18.42	22.45	15.44	9.06	6.50

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

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

Table 3 Lethal Concentration (LC_{50}, LC_{90}) for entomopathogenic fungi strains during laboratory bioassay of *Bemisia tabasi* at 7 days after treatment; test 6 times

Isolate	Experiment[1/]	LC_{50} (Conidia ml^{-1})	95% Confidence limit		LC_{90} (Conidia ml^{-1})	95% Confidence limit	
			Lower	Upper		Lower	Upper
DOA-M8	1	$1.75x10^6$	$4.87x10^5$	$6.28x10^6$	$6.95x10^7$	$1.94x10^7$	$2.50x10^8$
	2	$1.89x10^6$	$5.10x10^5$	$7.03x10^6$	$9.10x10^7$	$2.45x10^7$	$3.38x10^8$
	3	$1.07x10^6$	$1.38x10^5$	$8.31x10^6$	$7.00x10^8$	$9.01x10^7$	$5.44x10^9$
	4	$8.71x10^5$	$2.28x10^5$	$3.32x10^6$	$4.59x10^7$	$1.20x10^7$	$1.75x10^8$
	5	$5.77x10^5$	$1.28x10^5$	$2.61x10^6$	$4.57x10^7$	$1.01x10^7$	$2.06x10^8$
	6	$8.83x10^5$	$2.19x10^5$	$3.56x10^6$	$5.50x10^7$	$1.36x10^7$	$2.22x10^8$
DOA-B4	1	$5.01x10^5$	$1.64x10^5$	$1.54x10^6$	$1.05x10^7$	$3.42x10^6$	$3.21x10^7$
	2	$1.48x10^5$	$3.94x10^4$	$5.57x10^5$	$3.92x10^6$	$1.04x10^6$	$1.47x10^7$
	3	$3.30x10^5$	$7.40x10^4$	$1.47x10^6$	$2.29x10^7$	$5.14x10^6$	$1.02x10^8$
	4	$1.90x10^5$	$5.77x10^4$	$6.32x10^5$	$3.53x10^6$	$1.07x10^6$	$1.17x10^7$
	5	$4.30x10^5$	$1.09x10^5$	$1.70x10^6$	$1.96x10^7$	$4.96x10^6$	$7.72x10^7$
	6	$2.15x10^5$	$5.11x10^4$	$9.02x10^5$	$9.86x10^6$	$2.35x10^6$	$4.14x10^7$
)OA-B18	1	$4.74x10^4$	$7.37x10^3$	$3.05x10^5$	$5.68x10^6$	$8.82x10^5$	$3.65x10^7$
	2	$1.26x10^5$	$3.70x10^4$	$4.32x10^5$	$2.31x10^6$	$6.76x10^5$	$7.89x10^6$
	3	$3.01x10^5$	$5.27x10^4$	$1.72x10^6$	$4.89x10^7$	$8.56x10^6$	$2.79x10^8$
	4	$8.70x10^4$	$1.39x10^4$	$5.46x10^5$	$1.28x10^7$	$2.64x10^6$	$8.04x10^7$
	5	$2.39x10^5$	$4.86x10^4$	$1.17x10^6$	$2.31x10^7$	$4.69x10^6$	$1.13x10^8$
	6	$4.39x10^4$	$3.42x10^3$	$5.63x10^5$	$7.56x10^7$	$5.89x10^6$	$9.70x10^8$

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

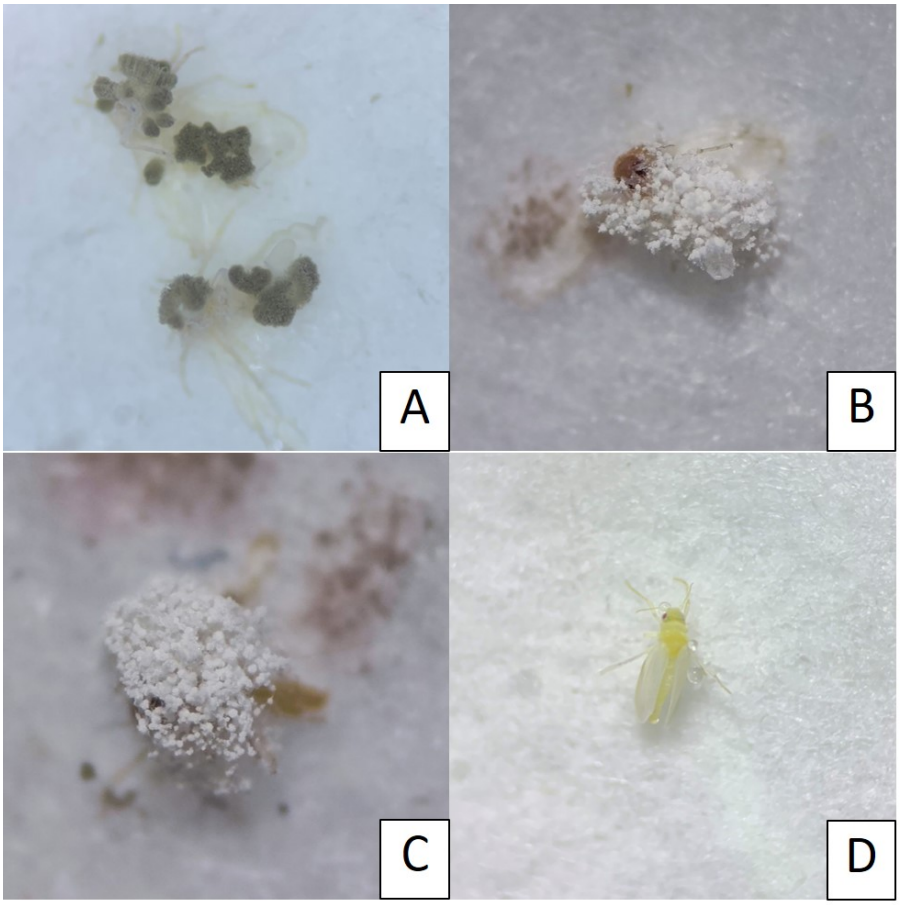


Figure 1 Characteristic of infected *Bemisia tabasi* by different species of entomopathogenic fungi: A) *M. anisopliae* Isolate DOA-M8, B) *B. bassiana* Isolate DOA-B4, C) *B. bassiana* Isolate DOA-B18 and D) control

การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* Koch) ในถั่วฝักยาว

Utilization of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* for Controlling Cowpea Aphid (*Aphis craccivora* Koch) in Yardlong Bean

ภัททิรา ศาตร์วงษ์[1/] ทิภาพร นวลเนตร[1/] เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[1/]
อดุลย์รัตน์ แคล้วคลาด[2/] สุภัค กาญจนเกษร[2/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

รายงานความก้าวหน้า

การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* Koch) ในถั่วฝักยาว ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2567 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาว เริ่มศึกษาในปี 2565 ณ ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ดำเนินการจำนวน 2 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ และขั้นตอนที่ 2 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* DOA-M8 และ *B. bassiana* DOA-B4 เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในช่วง 10^5-10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อรา DOA-M8 และ DOA-B4 ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 73.89-98.75% และ 88.29-100.00% ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ค่า LC_{50}, LC_{90} ของเชื้อรา DOA-M8 ต่ำกว่าเชื้อรา DOA-B4 จากนั้นคัดเลือกความเข้มข้นที่ 10^8-10^9 โคนิเดีย/มล. (100-1,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร) มาศึกษาอัตราการใช้ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท มีอัตราการใช้ที่ใกล้เคียงกัน เชื้อรา DOA-M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อ 94.46-100.00% และเชื้อรา DOA-B4 ติดเชื้อ 83.75-100.00% พบค่า LC_{90} ของเชื้อรา DOA-M8 ในช่วง 129-295 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เชื้อรา DOA-B4 ในช่วง 46-649 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จากผลการศึกษาครั้งนี้ได้คัดเลือก DOA-M8 อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (5.42×10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) และ DOA-B4 อัตรา 300 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (6.12×10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร) เพื่อนำไปศึกษาประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่ ปี 2566 ต่อไป

คำหลัก : เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม เชื้อราขาวบิวเวอเรีย เพลี้ยอ่อนถั่ว ถั่วฝักยาว

รหัสการทดลอง FF65-10-02-65-02-03-65

คำนำ

เพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora*) เป็นแมลงที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ที่สามารถเข้าทำลายพืชตระกูลถั่วและพืชผักได้หลายชนิด สามารถเข้าทำลายได้ทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย โดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน ช่อดอก และฝักอ่อนของพืช ส่งผลให้พืชมีอาการผิดปกติ เช่น ต้นพืชชะงักการเจริญเติบโต แคระแกร็น ช่อดอกร่วง ฝักอ่อนบิดเบี้ยว เมล็ดลีบ และใบเหลือง จึงส่งผลกระทบต่อผลผลิตพืชทั้งทางด้านปริมาณและคุณภาพลดลง ราคาตกต่ำ เกษตรกรจึงนิยมใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นหลัก ทำให้เกิดสารพิษตกค้างในพืชผักเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการใช้วิธีทางธรรมชาติจึงเข้ามามีบทบาทมากขึ้น เช่น การใช้วิธีทางเขตกรรม สารสกัดจากธรรมชาติ การใช้ตัวห้ำ ตัวเบียน ไส้เดือนฝอย และจุลินทรีย์ เป็นต้น

สำหรับการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลง (Entomopathogenic fungi) นั้นจึงเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถช่วยควบคุมเพลี้ยอ่อนได้ ปัจจุบันหลายๆ ท่าน รวมทั้งเกษตรกรและนักวิจัยได้ให้ความสนใจในการนำเชื้อราโรคแมลงมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชทางเกษตรมากขึ้น เพื่อเป็นทางเลือกในการลดสารพิษตกค้างในพืชผลทางการเกษตร การทดลองในครั้งนี้เป็นการศึกษาวิจัยต่อยอดจากงานวิจัยของเสาวนิตย์และเมธาสิทธิ์ (2559) ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*A. craccivora*) พบว่า *M. anisopliae* DOA-M8 และ *B. bassiana* DOA-B4 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพกึ่งโรงเรือนทดลอง งานวิจัยในปี 2565-2567 มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเชื้อราโรคแมลงดังกล่าวมาปรับใช้ในสภาพไร่ โดยจะศึกษาประสิทธิภาพและอัตราการใช้ที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาว เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตขยายเชื้อราสาเหตุโรคแมลงและต้นแบบในการขยายผลสู่เกษตรกรเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาว รวมทั้งช่วยลดและทดแทนการใช้สารเคมีทางการเกษตรด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 และ *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4
2. เพลี้ยอ่อนถั่ว
3. ข้าวโพดบดหยาบ
4. ต้นถั่วฝักยาว
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Broth (PDB)
6. ที่นับสปอร์ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer)
7. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)
8. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)

9. กระดาษกรองเบอร์ 1

10. กล้องจุลทรรศน์

11. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)

12. บีกเกอร์ ขนาด 250 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

13. ฟลาสก์ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

14. จานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร

วิธีการ

แผนการดำเนินงาน แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ปี 2565: ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ

ปี 2566-2567: ขั้นตอนที่ 3 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่

การทดลองในห้องปฏิบัติการ ปี 2565

นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อตายสูงสุดในห้องปฏิบัติการ จากงานทดลองของเสาวนิตย์และเมธาสิทธิ์ (2559) จำนวน 2 ไอโซเลท คือ เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 และ *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 นำมาศึกษา โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> คัดเลือกไอโซเลทที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u> : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 9 กรรมวิธี โดยใช้เพลี้ยอ่อนถั่วซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 เข้มข้น $1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 เข้มข้น $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 เข้มข้น $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 เข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 เข้มข้น $1x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 เข้มข้น $1x10^6$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 7 เชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 เข้มข้น $1x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 8 เชื้อรา *B. Bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 เข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 9 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เตรียมอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อราเหตุโรคแมลง จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 และ *B. Bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 สำหรับใช้เป็นหัวเชื้อ (inoculum) จากนั้นตัดชิ้นวุ้น PDA ที่เตรียมไว้ขนาด 1x1 เซนติเมตร ใส่ลงในฟลาสก์อาหารเหลว (PDB) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบ/นาที เป็นเวลานาน 4 วัน ตรวจเช็คการปนเปื้อนของเชื้ออื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนนำมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบ

เตรียมข้าวโพดบดหยาบโดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายหัวเชื้อ PDB ที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มิลลิลิตร/ถุง ลงในถุงข้าวโพดบดหยาบที่เตรียมไว้ คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (25±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน เมื่อเชื้อเจริญจนเต็มถุง นำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท มาปรับความเข้มข้นที่ $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$ และ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

2. วิธีการเตรียมพืชอาศัย

ปลูกถั่วฝักยาวลงกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 นิ้ว ใส่ไว้ในกรงมุ้งตาข่ายที่สามารถกันแมลงเข้าออกได้ เพื่อนำมาเป็นพืชอาหารให้กับเพลี้ยอ่อนถั่วเพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพ

3. วิธีการเตรียมแมลงทดสอบในห้องปฏิบัติการ

3.1 เก็บเพลี้ยอ่อนถั่วในธรรมชาติที่มีการระบาดของเพลี้ยอ่อนถั่ว นำมาเลี้ยงบนต้นถั่วฝักยาวที่เตรียมไว้

3.2 เตรียมจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ใส่กระดาษกรองเบอร์ 1 จำนวน 1 แผ่น/จานเลี้ยงเชื้อ หยดน้ำลงบนกระดาษกรองเพื่อให้ความชื้น

3.3 นำสารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เตรียมไว้ในแต่ละกรรมวิธีพ่นลงบนใบถั่วฝักยาวที่มีเพลี้ยอ่อนเข้าทำลาย

3.4 นำสำลีจุ่มน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อโดยพันที่ปลายก้านใบถั่วฝักยาว จากนั้นวางลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ ปิดฝาและพันทับด้วยพาราฟิน

3.5 สังเกตการเป็นโรคของเพลี้ยอ่อน ทำการตรวจนับจำนวนแมลงทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว

คัดเลือกไอโซเลทและความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วจากขั้นตอนที่ 1 มาศึกษาหาอัตราการใช้ที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ

แบบและวิธีการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยใช้เพลี้ยอ่อนถั่วซ้ำละ 20 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 อัตรา 300 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 อัตรา 500 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 อัตรา 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 อัตรา 700 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 8 อัตรา 800 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 9 อัตรา 900 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 10 อัตรา 1,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 2 ดำเนินการทดสอบเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนโคนิเดียต่อกรรมวิธี
- จำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วที่ตายติดเชื้อจากการทดลอง
- ระยะเวลาการติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนถั่วจากการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงแต่ละไอโซเลท

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1. วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ Duncan's news multiple range test (DMRT)

2. นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนถั่วมาคำนวณค่า Lethal Concentration (LC_{50} และ LC_{90}) โดยใช้วิธี Probit Analysis

เวลาและสถานที่

ระยะเลาดำเนินการ : ดำเนินการระหว่าง ตุลาคม 2564-กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
: แปลงเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรี

การทดลองในสภาพไร่ ปี 2566-2567

ขั้นตอนที่ 3 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่ (เริ่มดำเนินการปี 2566 - 2567)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> คัดเลือกไอโซเลทที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว

จากการคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อสูงสุดในห้องปฏิบัติการจากงานทดลองของเสาวนิตย์และเมธาสิทธิ์ (2559) จำนวน 2 ไอโซเลท คือ เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท DOA-M8 และ *B. bassiana* ไอโซเลท DOA-B4 มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบที่ความเข้มข้น $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$ และ $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ทดสอบจำนวน 4 ครั้ง ในช่วงเดือน มกราคม-พฤษภาคม 2565 จากนั้นตรวจสอบการติดเชื้อโดยใช้หลัก Koch's postulates เพื่อยืนยันการเกิดโรค โดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในเพลี้ยอ่อนถั่วหลักการฉีดพ่น 7 วัน ดังนี้ (Table 1)

ผลการทดสอบครั้งที่ 1 พบว่า ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้สูงสุด 98.75% รองลงมาคือ DOA-B4 ที่ 96.25% และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 2 พบว่า ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้สูงสุด 97.40% รองลงมาคือ DOA-M8 ที่ 10^7-10^8 โคนิเดีย/มมิลลิลิตร (78.70, 73.89%) และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 3 พบว่า ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้สูงสุดถึง 100.00% รองลงมาคือ DOA-M8 ที่ 98.75% และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดสอบครั้งที่ 4 พบว่า ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้สูงสุด 88.29% รองลงมาคือ DOA-M8 ที่ 10^7-10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร (61.51, 76.98%) และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

จากผลการทดสอบทั้ง 4 ครั้ง สังเกตได้ว่า หลังการทดลอง 2-3 วัน เพลี้ยอ่อนถั่วเริ่มเคลื่อนไหวช้าลง และเริ่มพบเส้นใยของเชื้อรา DOA-B4 ขึ้นปกคลุมเพลี้ยอ่อนถั่วที่ตาย หลังการทดลอง 4-5 วัน พบเพลี้ยอ่อนถั่วที่ตายด้วยเชื้อราบิวเวอเรียเพิ่มขึ้น และเริ่มพบเส้นใย DOA-M8 บนเพลี้ยอ่อนถั่วที่ตาย หลังการทดลอง 6-7 วัน เห็นโคนิเดียของเชื้อราโรคแมลงชัดเจนขึ้น (Figure 1) ซึ่งผลการทดสอบทั้ง 4 ครั้ง พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเป็นไปในทิศทางเดียวกัน เมื่อความเข้มข้นของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงสูงขึ้นอัตราการติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนถั่วเพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกัน สอดคล้องกับการรายงานของ Pegu *et al.* (2016) ทดสอบเชื้อรา *M. anisopliae* ที่ความเข้มข้น $1x10^3$-$1x10^{11}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ ตรวจผลการทดลองทุกวันเป็นเวลา 5 วัน พบว่า อัตราการติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนถั่วเพิ่มขึ้นทุกวัน และพบอัตราการตายสูงสุดที่ $1x10^{11}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร (83.88%) รองลงมาคือ $1x10^{10}$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร (64.72%) และ $1x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร (52.96%) และที่ $1x10^3$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร พบอัตราการตายต่ำสุด เท่ากับ 17.65%

จากผลการทดลองพบแนวโน้นประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเพลี้ยอ่อนถั่วของเชื้อรา DOA-M8 และเชื้อรา DOA-B4 ที่ความเข้มข้น 10^7-10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร สามารถทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ระหว่าง 61.51-98.75% และ 26.25-100.00% สอดคล้องกับการรายงานของกนกกาญจน์และนริศ (2557) รายงานว่า เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท PSUM04 เข้มข้น 10^8-10^9 โคนิเดีย/มิลลิลิตร หลังการทดสอบ 5 วัน สามารภทำให้เพลี้ยอ่อน *L. erysimi* ตายได้ 98.00-100.00% สอดคล้องกับ Saranya *et al.* (2010) ได้ศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Verticillium lecanii*, *Hirsutella thompsonii* และ *Cladosporium oxysporum* เข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อ *V. lecanii* และ *H. thompsonii* ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อสูงสุด 100.00% รองลงมา คือ *B. bassiana*, *M. anisopliae* และ *C.oxysporum* (96.66, 80.76 และ 77.50% ตามลำดับ) และแตกต่างกับการรายงานของ Abdel-Rahman and Faragalla (2019) ทดสอบเชื้อราสาเหตุโรคแมลงควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. bassiana, M. anisopliae* และ *V. lecanii* เข้มข้น $2x10^5$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร หลังการทดสอบ 8 วัน พบว่า *V. lecanii* และ *B. bassiana* ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้ 100% รองลงมาคือ *M. anisopliae*

นอกจากนี้เมื่อคำนวณค่า LC_{50}, LC_{90} ของเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท พบว่า DOA-M8 มีค่าต่ำกว่า DOA-B4 ซึ่งค่า LC_{50} ของเชื้อรา DOA-M8 มีความเข้มข้นต่ำสุดอยู่ในช่วง $1.21x10^6$-$1.24x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 พบในช่วง $6.20x10^6$-$1.44x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร และค่า LC_{90} ของเชื้อรา DOA-M8 อยู่ในช่วง $2.36x10^7$-$4.27x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร เชื้อรา DOA-B4 พบในช่วง $7.70x10^7$-$2.80x10^9$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร (Table 2) จากข้อมูลดังกล่าวทำให้ทราบได้ว่าเชื้อรา DOA-M8 เป็นเชื้อราที่มีความรุนแรงสูงสามารถทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้สูงเมื่อเทียบกับ DOA-B4 ผลการทดลองสอดคล้องกับแก้วบัวสอนและสุกัญญา (2560) ได้รายงานว่า เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท PSON1 ที่ความเข้มข้น $5x10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนกระหล่ำถึง 96% ที่ 96 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท BJ6, BJ3, SN1 (50.00-63.75%) แต่ด้วยหลายๆ ปัจจัย เช่น อุณหภูมิ ความชื้น และแสงที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง (Shah and Pell, 2003) เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดจึงคัดเลือกความเข้มข้นในช่วง 10^7-10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ที่ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้สูงสุดมาทำการทดสอบหาอัตราการใช้ในห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่ต่อไป

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว

จากผลการทดลองในขั้นตอนที่ 1 ได้คัดเลือกเชื้อรา DOA-M8 และ DOA-B4 ความเข้มข้นในช่วง 10^7-10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร มาศึกษาหาอัตราการใช้เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการทดสอบจำนวน 2 ครั้ง ในช่วงเดือน มิถุนายน 2565 - กันยายน 2565 จากนั้นตรวจสอบการติดเชื้อโดยใช้หลัก Koch's postulates เพื่อยืนยันการเกิดโรค โดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในเพลี้ยอ่อนถั่วหลักการฉีดพ่น 7 วัน ดังนี้

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา DOA-M8 ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่า อัตราการใช้ในช่วง 200-1,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้ 94.96-100.00% และ 94.46-100.00% ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 3)

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา DOA-B4 ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่า อัตราการใช้ในช่วง 100-1,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทำให้เพลี้ยอ่อนถั่วติดเชื้อได้ 83.75-100.00% และ 85.00-100.00% ตามลำดับ ชุดข้อมูลส่วนใหญ่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 4)

เมื่อเปรียบเทียบค่า LC_{90} พบว่า เชื้อรา DOA-M8 มีอัตราการใช้ต่ำสุดในช่วง 129-295 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เชื้อรา DOA-B4 ในช่วง 46-649 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (Table 5)

จากผลการศึกษาครั้งนี้ได้คัดเลือก DOA-M8 อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($5.42x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) และ DOA-B4 อัตรา 300 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($6.12x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) เพื่อนำไปศึกษาประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่ ปี 2566 ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การดำเนินงานปี 2565 จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *M. anisopliae* DOA-M8 และ *B. bassiana* DOA-B4 เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในช่วง 10^5-10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อรา DOA-M8 และ DOA-B4 ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อได้ 73.89-98.75% และ 88.29-100.00% ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ค่า LC_{50}, LC_{90} ของเชื้อรา DOA-M8 ต่ำกว่าเชื้อรา DOA-B4 จากนั้นคัดเลือกความเข้มข้นที่ 10^8-10^9 โคนิเดีย/มล. (100-1,000 กรัม/น้ำ 20 ลิตร) มาศึกษาอัตราการใช้ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท มีอัตราการใช้ที่ใกล้เคียงกัน เชื้อรา DOA-M8 ทำให้เพลี้ยอ่อนติดเชื้อ 94.46-100.00% และเชื้อรา DOA-B4 ติดเชื้อ 83.75-100.00% พบค่า LC_{90} ของเชื้อรา DOA-M8 ในช่วง 129-295 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เชื้อรา DOA-B4 ในช่วง 46-649 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จากผลการศึกษาครั้งนี้ได้คัดเลือก DOA-M8 อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($5.42x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) และ DOA-B4 อัตรา 300 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ($6.12x10^7$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร) เพื่อนำไปศึกษาประสิทธิภาพการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพไร่ ปี 2566 ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม จังหวัดนครปฐม ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จังหวัดสุพรรณบุรีที่ให้ความอนุเคราะห์ในการติดต่อประสานงานกับเกษตรกรในพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนถั่วเพื่อใช้ในการทดสอบ ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ผลการทดลอง และขอขอบคุณคณะทำงานกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กนกกาญจน์ ตลึงผล และนริศ ท้าวจันทร์. 2557. การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM04 ควบคุมเพลี้ยอ่อนผัก *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Homoptera: Aphididae). *วารสารแก่นเกษตร*. 42 ฉบับพิเศษ (3): 634-638.

แก้วบัวสอน ราชขันติ และสุกัญญา คลังสินศิริกุล. 2560. การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีศักยภาพเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำ. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.* 35(2): 65-75.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และเมธาสิทธิ์ คนการ. 2559. ศักยภาพของราสาเหตุโรคแมลงบางชนิดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch). หน้า 564-571. *ใน : ผลงานวิจัยประจำปี 2559 เอกสารวิชาการเลขที่ 1/2559 เล่มที่ 2*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Abdel-Rahman, I.E. and F.H. Faragalla. 2019. Using of entomopathogenic fungi against fabae bean Aphid, *Aphis craccivora* (Koch). *International Journal of ChemTech Research*. 12(1): 216-222.

Pegu, J., P. Dutta, K.C. Puzari and A. Das. 2016. Bioefficacy of *Metarhizium anisopliae* on *Aphis craccivora* Koch. *Indian Journal of Entomology*. 78(4): 353-355.

Saranya, S., R. Ushakumari, S. Jacob and B.M. Philip. 2010. Efficacy of different entomopathogenic fungi against cowpea aphid, *Aphis craccivora* (Koch). *Journal of Biopesticides*. 3(1): 138-142.

Shah, P.A. and J.K. Pell. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Appl Microbiol Biotechnol.* 61: 413-423.

Table 1 Mortality of *Aphis craccivora* caused by infection with 2 fungal isolates using a concentration of 10^5-10^8 conidia ml^{-1} at 7 days after treatment; test 4 times (January-May 2022)

Isolate	Concentration (Conidia ml^{-1})	No. of *Aphis*[1/]	Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3	Experiment 4
DOA-M8	$1x10^5$	80	3.75 d[2/]	1.85 c	12.50 de	9.38 c
	$1x10^6$	80	10.00 d	1.38 b	52.50 c	39.69 ab
	$1x10^7$	80	63.75 b	78.70 a	80.00 b	61.51 a
	$1x10^8$	80	98.75 a	73.89 a	98.75 a	76.98 a
DOA-B4	$1x10^5$	80	1.25 d	1.85 c	11.25 de	20.64 bc
	$1x10^6$	80	11.25 d	11.20 b	26.25 d	9.10 c
	$1x10^7$	80	26.25 c	37.29 a	46.25 c	46.09 ab
	$1x10^8$	80	96.25 a	97.40 a	100.00 a	88.29 a
Control		80	0.00 d	0.00 d	0.00 e	0.00 d
C.V. (%)			26.0	24.6	28.5	18.1

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

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

Table 2 Lethal Concentration (LC_{50}, LC_{90}) for entomopathogenic fungi strains during laboratory bioassay of *Aphis craccivora* at 7 days after treatment; test 4 times (January-May 2022)

Isolate	Experiment[1/]	LC_{50} (Conidia ml^{-1})	95% Confidence limit		LC_{90} (Conidia ml^{-1})	95% Confidence limit	
			Lower	Upper		Lower	Upper
DOA-M8	1	$6.81x10^6$	$2.36x10^6$	$1.96x10^7$	$1.15x10^8$	$3.98x10^7$	$3.31x10^8$
	2	$1.24x10^7$	$4.35x10^6$	$3.52x10^7$	$2.28x10^8$	$8.02x10^7$	$6.49x10^8$
	3	$1.21x10^6$	$3.98x10^5$	$3.67x10^6$	$2.36x10^7$	$7.77x10^6$	$7.15x10^7$
	4	$5.01x10^6$	$1.15x10^6$	$2.18x10^7$	$4.27x10^8$	$9.81x10^7$	$1.86x10^9$
DOA-B4	1	$9.55x10^6$	$3.66x10^6$	$2.49x10^7$	$1.10x10^8$	$4.22x10^7$	$2.87x10^8$
	2	$6.96x10^6$	$2.72x10^6$	$1.78x10^7$	$7.70x10^7$	$3.01x10^7$	$1.97x10^8$
	3	$1.44x10^7$	$2.51x10^6$	$8.23x10^7$	$2.80x10^9$	$4.89x10^8$	$1.61x10^{10}$
	4	$6.20x10^6$	$1.54x10^6$	$2.49x10^7$	$6.75x10^8$	$1.68x10^8$	$2.71x10^9$

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

Table 3 Mortality of *Aphis craccivora* caused by *Metarhizium anisopliae* Isolate DOA-M8 using a concentration of 100-1,000 gram/20 liter at 7 days after treatment; test 2 times (June-October 2022)

Rate (gram)/ 20 liter	Concentration (Conidia ml^{-1})	No. of Aphid[1/]	Experiment 1	Experiment 2
100 g.	$2.71x10^7$	80	72.86 b[2/]	85.29 b
200 g.	$5.42x10^7$	80	98.91 a	96.73 a
300 g.	$8.13x10^7$	80	100.00 a	100.00 a
400 g.	$1.08x10^8$	80	100.00 a	100.00 a
500 g.	$1.36x10^8$	80	97.50 a	98.61 a
600 g.	$1.63x10^8$	80	95.55 a	94.46 ab
700 g.	$1.90x10^8$	80	94.96 a	94.57 ab
800 g.	$2.17x10^8$	80	100.00 a	96.23 a
900 g.	$2.44x10^8$	80	100.00 a	100.00 a
1,000 g.	$2.71x10^8$	80	100.00 a	99.00 a
control	0	80	0.00 c	0.00 c
C.V. (%)			10.1	7.8

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

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

Table 4 Mortality of *Aphis craccivora* caused by *Beauveria bassiana* Isolate DOA-B4 using a concentration of 100-1,000 gram/20 liter at 7 days after treatment; test 2 times (June-October 2022)

Rate (gram)/ 20 liter	Concentration (Conidia ml^{-1})	No. of Aphid[1/]	Experiment 1	Experiment 2
100 g.	$2.04x10^7$	80	93.75 ab	97.50 a
200 g.	$4.08x10^7$	80	87.50 ab	71.25 b
300 g.	$6.12x10^7$	80	100.00 a	98.75 a
400 g.	$8.16x10^7$	80	97.50 ab	88.75 ab
500 g.	$1.02x10^8$	80	95.00 ab	100.00 a
600 g.	$1.22x10^8$	80	87.50 ab	83.75 ab
700 g.	$1.43x10^8$	80	98.75 a	93.75 a
800 g.	$1.63x10^8$	80	92.50 ab	85.00 ab
900 g.	$1.84x10^8$	80	92.50 ab	100.00 a
1,000 g.	$2.04x10^8$	80	83.75 b	100.00 a
control	0	80	0.00 c	0.00 c
C.V. (%)	$2.04x10^7$		10.9	15.4

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

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

Table 5 Lethal Concentration (LC_{90}) for entomopathogenic fungi strains during laboratory bioassay of *Aphis craccivora* at 7 days after treatment; test 2 times (June-October 2022)

Isolate	Experiment[1/]	LC_{90} (Conidia ml^{-1})	95% Confidence limit	
			Lower	Upper
DOA-M8	1	295	159	550
	2	129	24	704
DOA-B4	1	649	17	24,493
	2	46	11	200

[1/]Average of 4 replications, 20 adults/replication.

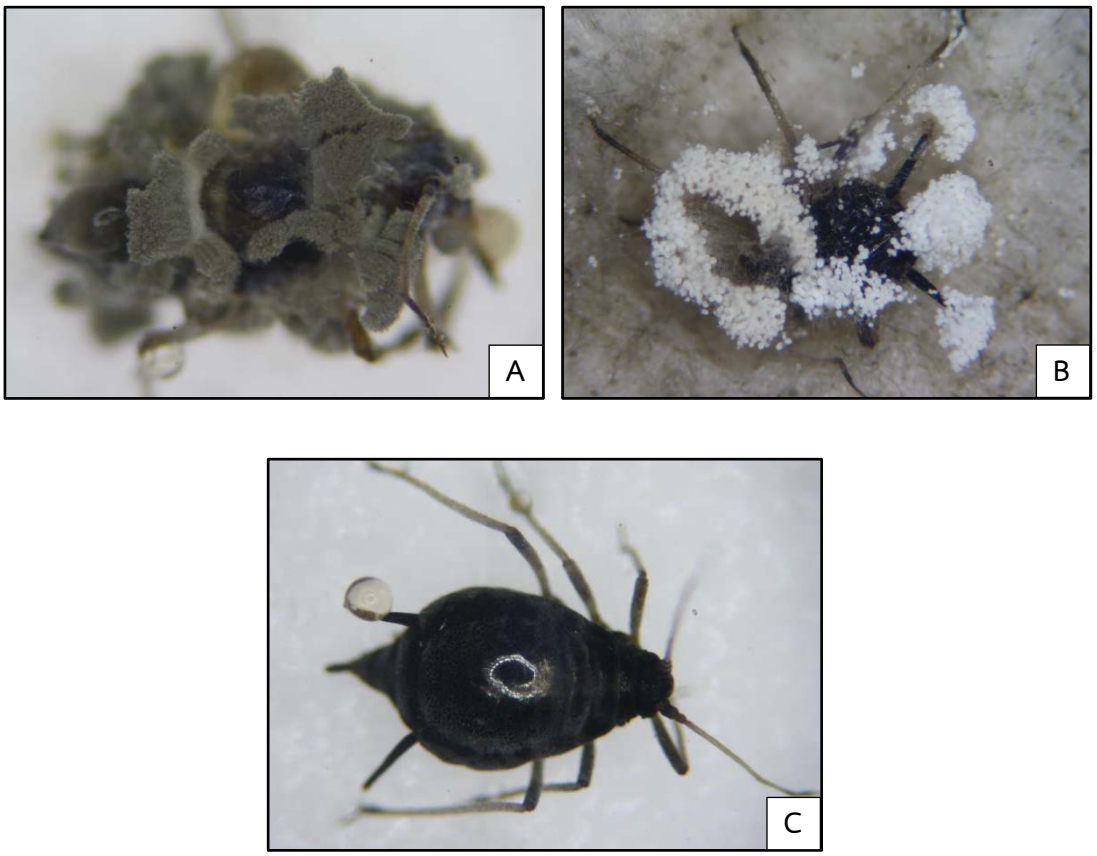


Figure 1 Characteristic of infected *Aphis craccivora* by different species of entomopathogenic fungi:
A) *Metarhizium anisopliae* Isolate DOA-M8
B) *Beauveria bassiana* Isolate DOA-B4
C) Control

การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* สูตรผงละลายน้ำในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย (*Phyllotreta sinuata* Stephans)

The Use of *Steinernema carpocapsae* Wettable Powder to Control Striped Flea Beetle (*Phyllotreta Sinuata* Stephen) (Coleoptera: Chrysomelidae) in White Radish

ปาริชาติ จำรัสศรี[1/] อัจฉรียา นิจจรัลกุล[1/] สุวิมล วงศ์พลัง[2/]
อิศเรส เทียนทัด[1/] เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[1/] สาทิพย์ มาลี[1/]
ช่ออ้อย กาฬภักดี[3/] สุวัฒน์ พูลพาน[3/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8 จังหวัดสงขลา
[3/]ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* สูตรผงละลายน้ำในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย (*Phyllotreta Sinuata* Stephans) ในปี 2565 ทำการทดสอบในพื้นที่ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ศึกษาอัตราการพ่นและราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ทุก 7 วัน วางแผนการทดลอง 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ประกอบด้วย กรรมวิธีพ่นและราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 130, 180, 230 และ 280 มิลลิกรัม/ตารางเมตร พ่นน้ำเปล่า และไม่พ่นน้ำเปล่าและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เมื่อพ่นและราดไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* จำนวน 7 ครั้ง พบว่าที่อัตราการพ่น 180, 230 และ 280 มิลลิลิตร/ตารางเมตร และที่อัตราการราด 230 และ 280 มิลลิลิตร/ตารางเมตร เมื่อนำไปวิเคราะห์สถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมีแนวโน้มในการควบคุมตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักแถบลาย *P. Sinuata* ได้ จึงเลือกอัตราพ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* 180 มิลลิลิตร/ตารางเมตร และอัตราราด 230 มิลลิลิตร/ตารางเมตร ไปศึกษาช่วงเวลาในการพ่นและการราดในปี 2566 ต่อไป

คำหลัก : ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ผักกาดหัว ด้วงหมัดผักแถบลาย

รหัสการทดลอง FF65-10-02-65-02-04-65

คำนำ

ด้วงหมัดผัก (Flea beetle) เป็นศัตรูผักตระกูลกะหล่ำที่สำคัญ ในประเทศไทยพบ 2 ชนิด คือ ชนิดแถบลาย *P. Sinuata* และชนิดสีน้ำเงินเข้ม *P. chontanica* โดยชนิดที่เป็นศัตรูผักตระกูลกะหล่ำที่สำคัญ คือ ด้วงหมัดผักชนิดแถบลาย *P. sinuate* ตัวอ่อนของด้วงหมัดผักชอบกัดกินหรือชอนไชเข้าไปกินอยู่บริเวณโคนต้น หรือรากของผัก ทำให้พืชผักเหี่ยวเฉาและไม่เจริญเติบโต ถ้ารากถูกทำลายมากๆ อาจทำให้พืชตาย ตัวเต็มวัยชอบกัดกินผิวด้านล่างของใบ ทำให้ใบมีรูพรุน และอาจกัดกินผิวลำต้นและกลีบดอกด้วย ด้วงหมัดผักชอบอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ตัวเต็มวัยเมื่อถูกกระทบกระเทือนชอบกระโดดและสามารถบินได้ใกล้ (ปิยรัตน์และคณะ, 2542; จอมสุรางค์และคณะ, 2550; กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏวิทยา, 2554)

สภาพแวดล้อมโดยเฉพาะอุณหภูมิมีผลต่อการอยู่รอดและประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอย เช่นไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส (Kaya, 1990) และประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชบางชนิดต่ำ ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ถูกค้นพบในเขตภูมิอากาศใกล้แถบร้อนที่มลรัฐเท็กซัส (Cabanillas and Raulston, 1994) ซึ่งภายในลำไส้ของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* มี *Xenorhabdus cabanillasii* เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัย (Poinar and Thomas, 1965) โดยไส้เดือนฝอยทำหน้าที่เป็นพาหะนำแบคทีเรียเข้าสู่ภายในลำตัวแมลงทางช่องเปิดต่างๆ เช่น ปาก ทวาร ช่องรูหายใจ จากนั้นจะไชผ่านเข้าไปสู่ช่องว่างของลำตัว (haemocoel) และจะปล่อยแบคทีเรียออกมาสู่ช่องว่างภายในลำตัวแมลง แบคทีเรียจะมีการแบ่งเซลล์และเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วและทำให้แมลงตายภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง เพราะเลือดเป็นพิษ (septicemia) ในขณะเดียวกันแบคทีเรียก็จะสร้างสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยต่อไปจนอาหารภายในตัวแมลงหมด Cabanillas and Raulston (1995) รายงานว่ามีการนำไส้เดือนฝอย *S. riobravae* ควบคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพด (*Helicoverpa zea*) ได้ผลดี ในรัฐฟลอริดาได้นำ *S. riobravae* กำจัดด้วงกินรากส้ม (*Diaprepes abbreviatus*) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ Cabanillas and Raulston (1994) รายงานว่า จากการทดสอบประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนเจาะฝักข้าวโพด *Helicoverpa zea* (=Heliothis) ระยะก่อนเข้าดักแด้ และดักแด้ พบว่าทำให้แมลงตาย 89-100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ทนต่ออุณหภูมิสูงถึง 35 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับรายงานของ Cabanillas (2003) พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หนอนด้วง boll weevil (*Anthonomus grandis* Boheman) วัย 3 มีความอ่อนแอต่อไส้เดือนฝอย *S. riobrave* TX มีค่า LC_{50} เท่ากับ 2 ต่อหนอนด้วง 1 ตัว และเมื่อพ่นไส้เดือนฝอย *S. riobrave* TX ระยะเข้าทำลายแมลงลงบนกระดาษกรองในจานทดลองที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าค่า LC_{50} ของหนอนวัย 1, 2, 3, ระยะก่อนเข้าดักแด้ และดักแด้อายุ 1 และ 10 วัน เท่ากับ 4, 5, 4, 12, 13 และ 11 ตัว ตามลำดับ Shapio *et al*. (2000) รายงานว่าไส้เดือนฝอย *S. riobrave* สามารถลดประชากรหนอนด้วง *Diaprepes abbreviatus* แมลงศัตรูของพืชผัก ไม้ผล อ้อย และส้มที่ปลูกในรัฐฟลอริดา เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการพบการตายของหนอนด้วงเท่ากับ 80-98 เปอร์เซ็นต์ และ 50-75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดสอบในสภาพไร่

วัชรีและวิไลวรรณ (2547) ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* เปรียบเทียบกับ *S. carpocapsae* ซึ่งเป็นไส้เดือนฝอยที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน โดยทดลองกับหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) หนอนกระทู้หอม (*S. exigua*) หนอนกินรังผึ้ง (*G. mellonella*) และหนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera*) ที่ระดับอุณหภูมิ 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ในห้องปฏิบัติการ พบว่าที่ 30 องศาเซลเซียส ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงทั้ง 4 ชนิด เท่ากับ 100, 100, 100 และ 92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่า *S. carpocapsae* (92, 96, 86 และ 48 เปอร์เซ็นต์) และที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* มีประสิทธิภาพในการทำลายสูง เท่ากับ 80, 96, 94 และ 56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ไม่สามารถเข้าทำลายหนอนทุกชนิดได้ (ประสิทธิภาพ=0)

การลดการระบาดของด้วงหมัดผักแถบลายนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การไถตากดิน การใช้สารฆ่าแมลง การใช้ราสาเหตุโรคแมลง และการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ซึ่งปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรได้แนะนำอัตราการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* สูตรผงละลายน้ำ เพื่อควบคุมด้วงหมัดผัก ในอัตรา 1 กระป๋อง/น้ำ 20 ลิตร/267 ตารางเมตร หรือประมาณ 6 กระป๋อง/ไร่ (300,000,000 ล้านตัว) ซึ่งเป็นอัตราที่ค่อนข้างสูง ทำให้ต้นทุนการผลิตพืชของเกษตรกรสูง ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาหาอัตรา และช่วงเวลาการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ในการควบคุมด้วงหมัดผักใหม่ เพื่อลดอัตราการใช้ แต่ยังคงประสิทธิภาพในการควบคุมเช่นเดิม ซึ่งเป็นการลดต้นทุนการผลิตพืชแก่เกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงปลูกผักกาดหัว
2. ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสูตรผงละลายน้ำ
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
4. บัวรดน้ำ
5. บีกเกอร์

วิธีการ

การทดลองที่ 2.4 ศึกษาอัตราการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* สูตรผงละลายน้ำในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย (*Phyllotreta sinuata* Stephans)

ระยะเวลาที่ดำเนินการ ปีที่เริ่มต้น 2565 ปีที่สิ้นสุด 2566

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> ศึกษาอัตราและวิธีการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* สูตรผงละลายน้ำ ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย (*Phyllotreta sinuata Stephens)* ในพืชตระกูลกะหล่ำ (ปี2565)

1.1 ศึกษาการพ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย *P. sinuata* ในพืชตระกูลกะหล่ำ

แบบและวิธีการทดลอง : ศึกษาการพ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย *P. sinuata* ในพืชตระกูลกะหล่ำ วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 130 มิลลิกรัม/ตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 180 มิลลิกรัม/ตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 230 มิลลิกรัม/ตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 280 มิลลิกรัม/ตารางเมตร (วัชรีและคณะ, 2535)

กรรมวิธีที่ 5 พ่นน้ำเปล่า

กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และน้ำเปล่า

วิธีปฏิบัติการทดลอง :

ทำการทดลองในแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อย 10 ตารางเมตร จำนวน 24 แปลงย่อย โดยเตรียมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตามกรรมวิธีต่างๆ ที่กำหนด ผสมน้ำ 100 มิลลิลิตรต่อตารางเมตร พ่นทุกกรรมวิธีลงดินด้วยเครื่องพ่นแบบสูบโยกสะพายหลัง ให้น้ำก่อนพ่นเพื่อให้ความชื้นทุกครั้ง และทำการพ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในช่วงเย็น โดยพ่นที่ 0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วันหลังปลูก (วัชรี และคณะ, 2535) ตรวจนับแมลงก่อนพ่นและหลังพ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงครั้งสุดท้าย 7 วัน บันทึกปริมาณและคุณภาพของผลผลิต จากพื้นที่ 1 ตารางเมตรต่อแปลงย่อย

หมายเหตุ: การทดลองนี้ดัดแปลงมาจากคำแนะนำของวัชรีและคณะ (2535) แนะนำอัตราการพ่นที่ 320 ล้านตัว (6.4 กระป๋อง) ต่อน้ำ 160 ลิตร เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักในพื้นที่ 1 ไร่ (ซึ่งเทียบได้กับกรรมวิธีที่ 4) วัตถุประสงค์การทดลองนี้เพื่อลดปริมาณการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงต่อพื้นที่ โดยยังคงมีประสิทธิภาพมากที่สุด

การบันทึกข้อมูล :

- จำนวนด้วงหมัดผักแถบลายที่พบในแต่ละกรรมวิธี
- น้ำหนักสดที่มีคุณภาพตลาด (Marketable Yield)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ :

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

เวลาและสถานที่ : เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- แปลงเกษตรกรปลูกพืชตระกูลกะหล่ำจังหวัดนครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี หรือกาญจนบุรี

1.2 ศึกษาการราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย *P. sinuata* ในพืชตระกูลกะหล่ำ

แบบและวิธีการทดลอง : ศึกษาการราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย *P. sinuata* ในพืชตระกูลกะหล่ำ วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 130 มิลลิกรัม/ตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 2 ราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 180 มิลลิกรัม/ตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 3 ราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 230 มิลลิกรัม/ตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 4 ราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 280 มิลลิกรัม/ตารางเมตร (วัชรีและคณะ, 2535)

กรรมวิธีที่ 5 ราดน้ำเปล่า

กรรมวิธีที่ 6 ไม่ราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และน้ำเปล่า

วิธีปฏิบัติการทดลอง :

ทำการทดลองในแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อย 10 ตารางเมตร จำนวน 24 แปลงย่อย โดยเตรียมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตามกรรมวิธีต่างๆ ที่กำหนด ผสมน้ำ 100 มิลลิลิตรต่อตารางเมตร ราดทุกกรรมวิธีลงดินด้วยบัวรดน้ำ ให้น้ำก่อนพ่นเพื่อให้ความชื้นทุกครั้ง และทำการราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในช่วงเย็น โดยราดที่ 0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วันหลังปลูก (วัชรีและคณะ, 2535) ตรวจนับแมลงก่อนราดและหลังราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงครั้งสุดท้าย 7 วัน บันทึกปริมาณและคุณภาพของผลผลิต จากพื้นที่ 1 ตารางเมตรต่อแปลงย่อย

หมายเหตุ: การทดลองนี้ดัดแปลงมาจากคำแนะนำของวัชรีและคณะ (2535) แนะนำอัตราการพ่นที่ 320 ล้านตัว (6.4 กระป๋อง) ต่อน้ำ 160 ลิตร เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักในพื้นที่ 1 ไร่ (ซึ่งเทียบได้กับกรรมวิธีที่ 4) วัตถุประสงค์การทดลองนี้เพื่อลดปริมาณการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงต่อพื้นที่ โดยยังคงมีประสิทธิภาพมากที่สุด

การบันทึกข้อมูล :

- จำนวนด้วงหมัดผักแถบลายที่พบในแต่ละกรรมวิธี
- น้ำหนักสดที่มีคุณภาพตลาด (Marketable Yield)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ :

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีที่เหมาะสม

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

สถานที่ - ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- แปลงเกษตรกรปลูกพืชตระกูลกะหล่ำจังหวัดนครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี หรือกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.1 ศึกษาการพ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย *P. sinuata* ในพืชตระกูลกะหล่ำ

เมื่อเริ่มทำการทดลองก่อนพ่นที่ 0 วัน ในแต่ละกรรมวิธีพบจำนวนตัวเต็มวัยของด้วงหมัดผักแถบลาย *P. sinuata* จำนวน 0 ตัว จากนั้นทำการพ่นไส้เดือนฝอยทุก 7 วัน เมื่อผ่านไป 7 ครั้ง พบตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักแถบลาย *P. Sinuate* 67.25, 40.75, 38.75, 38.5, 89.75 และ 97.5 ตัว ตามลำดับ ต่อมาทำการเก็บผลผลิตผักกาดหัวที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีให้น้ำหนักเท่ากับ 7.75, 8.84, 8.16, 8.15, 8.63 และ 8.49 กิโลกรัม ตามลำดับ และมีร่องรอยการเข้าทำลายประมาณระดับ 5.1-6.7 (ตารางที่ 1) โดยปริมาณของจำนวนตัวเต็มวัยมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นตามจำนวนอายุพืช (ภาพที่ 1 และ 2)

1.2 ศึกษาการราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย *P. sinuata* ในพืชตระกูลกะหล่ำ

เมื่อเริ่มทำการทดลองก่อนพ่นที่ 0 วัน ในแต่ละกรรมวิธีพบจำนวนตัวเต็มวัยของด้วงหมัดผักแถบลาย *P. sinuata* จำนวน 0 ตัว จากนั้นทำการพ่นไส้เดือนฝอยทุก 7 วัน เมื่อผ่านไป 7 ครั้ง พบตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักแถบลาย *P. Sinuata* 159.75, 178, 102.75, 59, 200.75, 230.75 ตัว ตามลำดับ ต่อมาทำการเก็บผลผลิตผักกาดหัวที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีให้น้ำหนักเท่ากับ 7.7, 7.33, 8.26, 7.02, 7.25 และ 5.99 กิโลกรัม ตามลำดับ และมีร่องรอยการเข้าทำลายประมาณระดับ 5.8-6.8 (ตารางที่ 2) โดยปริมาณของจำนวนตัวเต็มวัยมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นตามจำนวนอายุพืช (ภาพที่ 1 และ 2)

ผลการวิจัยมีความสอดคล้องกับสาทิพย์และวิไลวรรณ 2556 ซึ่งกล่าวว่าแปลงที่ใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงอัตรา 40 และ 50 ล้านตัวต่อน้ำ20 ลิตร (ซึ่งเทียบได้กับ 280 มิลลิกรัม) และแปลงที่พ่นด้วยต้องสารฆ่าแมลง fipronil 5%SC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบความเสียหายของผักกาดหัวน้อยกว่าแปลงอื่นๆ น้ำหนักเฉลี่ยของหัวผักกาดในแต่ละแปลงย่อยไม่มีความแตกต่างกัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ทุก 7 วัน เมื่อผ่านไป 7 ครั้ง อัตราการพ่น 180, 230 และ 280 มิลลิลิตร/ตารางเมตร เมื่อนำไปวิเคราะห์สถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมีแนวโน้มในการควบคุมตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักแถบลาย *P. Sinuata* ได้ และจากการราดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ทุก 7 วัน เมื่อผ่านไป 7 ครั้ง อัตราการราด 230 และ 280 มิลลิลิตร/ตาราง เมื่อนำไปวิเคราะห์สถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมีแนวโน้มในการควบคุมตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักแถบลาย *P. Sinuata* ได้ จึงเลือกอัตราพ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* 180 มิลลิลิตร/ตารางเมตร และอัตราราด 230 มิลลิลิตร/ตารางเมตร ไปศึกษาช่วงเวลาในการพ่นในปี 2566 ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคณะทำงานจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการติดต่อประสานงานและอนุเคราะห์พื้นที่ในการทำแปลงทดลอง ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ผลการทดลอง และขอขอบคุณคณะทำงานห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มบริหารศัตรูพืช และกลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2554. *แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก*. เอกสารวิชาการ. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 90 หน้า.

แก้วบัวสอน ราชขันติ และสุกัญญา คลังสินศิริกุล. 2560. การคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีศักยภาพเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำ. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*. 35(2): 65-75.

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ นงพร กิจบำรุง จักรพงศ์ พิริยพล ศรีสุดา โท้ทอง สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น ลัดดาวัลย์ อินทร์สังข์ อุราพร ใจเพ็ชร ศรีจำนรรจ์ พิชิตสุวรรณชัย สมรวย รุ่งรัตนวารี และสัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2542. แมลงศัตรูผักที่สำคัญบางชนิดและการป้องกันกำจัด. หน้า 25-63. *ใน : เอกสารวิชาการแมลงศัตรูผัก*. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

วัชรี สมสุข และวิไลวรรณ เวชยันต์. 2547. ประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง. *ใน : การประชุมวิชาการประจำปี 2547 ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ วันที่ 22-25 มิถุนายน 2547*. โรงแรมโนโวเทล โคลาเรีย ริมเพ อ.แกลง จ.ระยอง.

สาทิพย์ มาลี และวิไลวรรณ เวชยันต์. 2556. การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* สูตรผงในการควบคุมแมลงศัตรูพืช *ใน*. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. หน้า 732-739. กรุงเทพ.

Cabanillas, H.E. 2003. Susceptibility of the Boll Weevil to *Steinernema riobrave* and Other Entomopathogenic Nematodes. *Journal of invertebrate pathology*. 82(3): 188-197.

Cabanillas, H.E. and J.R. Raulston. 1994. Pathogenicity of *Steinernema riobravis* Against Corn Earworm, *Helicoverpa zea* (Boddie). *Fundamentals and Applied Nematology*. 17: 219-223.

Kaya, H.K. 1990. Soil Ecology, pp. 93-116. I*n:* Gaugler, R. and H.K. Kaya, eds. *Entomopathogenic nematodes in biological control.* CRC Press, Boca Raton, Florida.

Poinar, G.O.Jr and G.M. Thomas. 1965. A New Bacterium, *Achromobacter Nematophilus* sp. nov. (Achromobactericeae Eubacteriales) Associated with a Nematode. *International Bulletin of Bacterial Nomenclature and Taxonomy*. 15: 249-252.

Shapiro, D.I., C.W. McCoy, A. Fares, T. Obreza and H. Dou. 2000. Effects of Soil Type on Virulence and Persistence of Entomopathogenic Nematodes in Relation to Control of *Diaprepes abbreviatus*. *Environmental Entomology.* 29: 1083-1087.

Table 1 Mean number of *Phyllotreta sinuata* before and after spray *Steinernema carpocapsae*, yield and damage level by *Phyllotreta sinuata* larvae between Febuary-April 2022 at Suphanburi fieldcrop research center

Treatment	Before spray (0day)[1/]	After spray (number of adult/10trees)[2/]							Yield (KG.)	Damage level[3/]
		1	2	3	4	5	6	7		
S. carpocapsae 280 (ml./mm^2)	0	1.50a	4.50abc	4.25a	5.75a	26.75a	72.75a	38.50a	8.15a	5.40a
S. carpocapsae 230 (ml./mm^2)	0	1.50a	4.00ab	6.00a	7.25a	25.50a	79.75a	38.75a	8.16a	5.20a
S. carpocapsae 180 (ml./mm^2)	0	2.50a	4.00ab	6.75a	7.00a	26.00a	82.50a	40.75a	8.84a	5.10a
S. carpocapsae 130 (ml./mm^2)	0	1.25a	4.75bc	4.00a	6.00a	28.25a	94.75ab	67.25b	7.75a	5.50a
Water	0	1.25a	6.75c	9.00a	7.00a	33.75ab	130.25bc	89.75bc	8.63a	6.40b
Nontreatment	0	1.50a	2.25a	8.50a	9.25a	48.00b	144.50c	97.50c	8.49a	6.70b
CV%	-	45.3	38.9	45.3	30.3	26.7	24.1	28.5	10.6	8.6

[1/]Spray after planting 0 day

[2/] Means within the same column followed by the same letter (a. b, c and d) are not significantly different 5% level by DMRT (P<0.05)

[3/] Damage level of white radish by flea beetle (Saowanit et al, 2013)

level 1 no damage 0 percentage

level 2 damage 1 – 10 percentage

level 3 damage 11 – 20 percentage

level 4 damage 21 – 30 percentage

level 5 damage 31 – 40 percentage

level 6 damage 41 – 50 percentage

level 7 damage > 50 percentage

Table 2 Mean number of *Phyllotreta sinuata* before and after pouring *Steinernema carpocapsae*, yield and damage level by *Phyllotreta sinuata* larvae between Febuary-April 2022 at Suphanburi fieldcrop research center

Treatment	Before pouring (0 วัน)[1/]	After pouring (number of adult/10trees)[2/]							Yield (KG.)	Damage level[3/]
		1	2	3	4	5	6	7		
S. carpocapsae 280 (ml./mm^2)	0	1.00a	2.00a	7.50a	5.75a	17.50a	69.75a	59.00a	7.02a	5.80a
S. carpocapsae 230 (ml./mm^2)	0	0.25a	3.00a	4.25a	9.00ab	17.75a	74.75a	102.75ab	8.26a	5.90a
S. carpocapsae 180 (ml./mm^2)	0	0.25a	3.25a	4.75a	9.00ab	17.25a	89.75a	178.00cd	7.33a	6.60b
S. carpocapsae 130 (ml./mm^2)	0	2.00a	3.00a	4.75a	7.00ab	19.00a	123.75a	159.75bc	7.70a	6.80bc
Water	0	0.75a	2.50a	6.50a	11.00b	35.50b	196.00b	200.75cd	7.25a	6.70bc
Nontreatment	0	0.75a	2.25a	7.00a	5.75a	23.75a	199.00b	230.75d	5.99a	6.80c
CV%	-	164.4	78.1	39.4	43.8	26.8	32.5	26.6	16.4	2.2

[1/]Spray after pour 0 day

[2/] Means within the same column followed by the same letter (a. b, c and d) are not significantly different 5% level by DMRT (P<0.05)

[3/] Damage level of white radish by flea beetle (Saowanit et al, 2013)

level 1 no damage 0 percentage

level 2 damage 1 – 10 percentage

level 3 damage 11 – 20 percentage

level 4 damage 21 – 30 percentage

level 5 damage 31 – 40 percentage

level 6 damage 41 – 50 percentage

level 7 damage > 50 percentage

Figure 1 Flea beetle *Phyllotreta sinuate* in white radish at 14, 35 and 49 days

Figure 2 Spray and pouring *Steinernema carpocapsae* to control flea beetle in white radish field

ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคผลเน่า (bacterial fruit blotch) ของพืชตระกูลแตง

Efficacy of *Bacillus subtilis* on Against Bacterial Fruit Blotch in Cucumber

รุ่งนภา ทองเครั็ง ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์
ทิพวรรณ กันหาญาติ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

แยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากตัวอย่างดิน วัสดุปลูก และส่วนต่าง ๆ ของพืชตระกูลแตง ได้จำนวน 100 ไอโซเลท และได้นำแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่เก็บรักษาไว้ในศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ ของกรมวิชาการเกษตร จำนวน 120 ไอโซเลท มาใช้ในการทดลอง ผลการนำแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จำนวนทั้งหมด 220 ไอโซเลท ทดสอบศักยภาพในห้องปฏิบัติการ มาพบว่าได้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ได้ดีที่สุดในห้องปฏิบัติการ จำนวน 5 ไอโซเลท จากผลการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่าเป็นแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ทุกไอโซเลท

คำหลัก : ผลเน่าพืชตระกูลแตง ชีววิธี โรคพืชตระกูลแตง

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-01-65

คำนำ

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control of plant pathogen) คือ การลดปริมาณประชากรของเชื้อโรคพืชหรือลดกิจกรรมของเชื้อก่อโรคที่จะก่อให้เกิดโรคกับพืชให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืช โดยปัจจุบันการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืชได้รับความสนใจและนำมาปรับใช้ควบคุมโรคพืชทดแทนการใช้สารเคมี ซึ่งมีการรายงานว่าเชื้อจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์มีประสิทธิภาพทัดเทียมการใช้สารเคมี (Prathuangwong, 2016)

กลไกหลักของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยทั่วไป คือ การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชทั้งในลักษณะการผลิตสารยับยั้ง (antibiosis) และการเจริญแข่งขันครอบครองพื้นที่ (competition) กับเชื้อสาเหตุโรคที่ผิวพืช (Campbell, 1989; Suwanto *et al*., 1996) นอกจากนี้ยังความสามารถในการอยู่อาศัยร่วมกับรากพืชและไม่เป็นโทษกับพืช (mutualism หรือ symbiosis) เพื่อส่งเสริมการใช้ธาตุอาหารของพืช ตลอดจนกระตุ้นให้พืชผลิตสารต่างๆ ออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อโรคในกลไก systemic acquired resistance (SAR) และ induced system resistance (ISR) รวมทั้งการผลิตสารกระตุ้นให้พืชเจริญเติบโตได้เต็มศักยภาพทางพันธุกรรมที่จัดเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Prathuangwong, 2016) แบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. เป็นกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยมในอันดับต้น ๆ เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นหลายประการ เช่น พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม สารเคมี รังสี และความร้อนได้ดีกว่าเซลล์ปกติ สามารถทนต่ออุณหภูมิช่วงกว้างตั้งแต่ -5 ถึง 75 องศาเซลเซียสได้ เจริญได้ใน pH 2-8 ทนความเค็มเกลือ NaCl ได้ถึง 25% (El-Hassan and Gowen, 2006) แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติยังยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด เช่น bacillomycin, iturin, mycosubtilin, bacilysin, fengymycin และ mycobacillin เป็นต้น นอกจากนั้นยังสามารถสร้างเอนไซม์ที่สำคัญ ได้แก่ glucanase ที่สามารถย่อยสลาย glucans และ chitinase ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราได้ (นิตยา, 2549) แบคทีเรีย *Bacillus* spp. บางชนิดเมื่ออยู่ในสภาพที่ขาดธาตุเหล็ก จะสร้างสาร siderophore เพื่อไปจับกับ ferric iron แล้วเคลื่อนย้ายสู่ตัวรับ (receptor) ที่บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรียเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ (Hu and Boyer, 1996) ซึ่งจะรบกวนกระบวนการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่อยู่ในบริเวณเดียวกัน ส่งผลให้การเกิดโรคของพืชลดลงได้ (Shoda, 2000) นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. หลายชนิดมีคุณสมบัติช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria : PGPR) และชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน (Induce Systemic Resistant : ISR) ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช ทั้งเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และไส้เดือนฝอยได้ (Kloepper *et al*., 2004)

ในประเทศไทยมีรายงานการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สุกล *Bacillus* มาใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชค่อนข้างหลากหลาย มีรายงานการคัดเลือก การทดสอบศักยภาพในโรงเรือนปลูกพืชทดลองและแปลงเกษตรกร และการผลิตเป็นชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลากหลายชนิด โดยณัฏฐิมา และคณะ (2547) ได้แยกเชื้อ *Bacillus* spp.

จากดินรากพืชและปุ๋ยคอก 525 ไอโซเลท ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* พบว่ามี 4 ไอโซเลท ที่สามารถควบคุมและลดการเกิดโรคเหี่ยวของขิงได้ประมาณ 70-100% ในสภาพโรงเรือน ต่อมาณัฏฐิมา และคณะ (2557) ได้ทดสอบประสิทธิภาพ *B. subtillis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 ควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในสภาพแปลงเกษตรกร อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ 60% ในสภาพแปลง บูรณี และคณะ (2554) ทดสอบประสิทธิภาพของ *B. subtillis* สายพันธุ์ UB No.2 แ ละ UB No.25 ควบคุมโรคเหี่ยวของพริกในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าสามารถควบคุมโรคได้ 60 และ 66.67% บุษราคัม และณัฏฐิมา (2550) ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* spp. ไอโซเลท 2G4, 22W10, 20W12, 17G18 และ 20W4 มีศักยภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ 100% และไอโซเลท 17G18 มีศักยภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และ *F. solani* นอกจากนั้นบุษราคัม และคณะ (2555) ยังพบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W1, 20W4, 17G18 และ 20W5 สามารถลดการเกิดโรคใบจุดคะน้าเท่ากับ 32.88, 34.70, 34.97 และ 38.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในแปลงคะน้าได้ดี เทียบเคียงกับการควบคุมโรคโดยการใช้ mancozeb 80% WP Juma *et al.* (2015) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ *B. subtilis* BS-01 และ *Trichoderma asperellum* TRC-900 ในการยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดินในผักตระกูลคะน้า (ethiopian kale) โดยการเคลือบเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกด้วย *B. subtilis* BS-01 และ *T. asperellum* TRC-900 ผลการทดลอง พบว่า สามารถลดความสูญเสียจากสาเหตุโรคเน่าคอดินของเมล็ดพันธุ์ก่อนงอกได้ 11 -25.4% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการเคลือบเมล็ดซึ่งเป็นโรคถึง 64.8% (Juma *et al* ,.2015) ปิติพงษ์ (2559) พบว่า เมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิ 105 ที่เคลือบด้วยสารชีวภาพ ต้นกล้ามีความแข็งแรงเจริญเติบโตดี และพัฒนาระบบรากได้ดี จักรพงษ์และคณะ (2561) ทำ Seed Treatment ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อความงอกและการเติบโตของผักกาดหอม พบว่าการพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ช่วยส่งเสริมความยาวของรากผักกาดหอม มีรายงานของ Kim *et al.* (2018) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *B. toyonensis* ไอโซเลท CAB12243-2 มาควบคุมเชื้อ *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* สาเหตุโรคเน่าเละของผักกาดขาวในสภาพแปลง พบว่ามีประสิทธิภาพการควบคุมโรคเน่าเละเท่ากับ 73.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับ Issazadeh *et al.* (2012) ได้นำเอาเชื้อแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ได้แก่ *B. thuringiensis, B. cereus, B. subtilis, B. megaterium* และ *B. pumilus* มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv .*campestris* สาเหตุโรคเน่าดำ และเชื้อ *P. carotovorum* subsp . *carotovorum* สาเหตุโรคเน่าเละ พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทุกไอโซเลท สามารถควบคุมโรคเน่าดำและโรคเน่าเละได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ตู้อบ (Hot air oven) ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) เครื่องเขย่า (Shaker) เครื่องชั่ง เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) อุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่น ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ และวัสดุเกษตร เช่น กระถาง วัสดุปลูก อุปกรณ์รดน้ำ

วิธีการ

1. การแยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากตัวอย่างดินหรือวัสดุปลูกและส่วนต่าง ๆ ของพืชตระกูลแตง

เก็บตัวอย่างดิน วัสดุปลูก และตัวอย่างพืชตระกูลแตง ในพื้นที่ปลูกแตงโม แคนตาลูปหรือเมล่อน ที่สำคัญ เช่น จ.กาญจนบุรี จ.ราชบุรี จ.สุพรรณบุรี จ.นครสวรรค์ เป็นต้น โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินหรือวัสดุปลูก รวมทั้งส่วนของใบ ต้น หรือผล ในแปลงที่พบการระบาดของโรคใบผลเน่าและแปลงที่ไม่พบการระบาดของโรค นำตัวอย่างที่ได้ไปแยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในห้องปฏิบัติการ

1.1 การแยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากดินหรือวัสดุปลูก

ชั่งตัวอย่างดินหรือวัสดุปลูกจำนวน 10 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที วางทิ้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณ 15 นาที นำมาทำให้เจือจางโดยวิธี tenfold serial dilution ตั้งแต่ 10^{-1}-10^{-6} จากนั้นนำสารละลายที่ได้ 0.1 มิลลิลิตร ของความเข้มข้นที่ 10^{-2}, 10^{-4} และ 10^{-6} มากระจายบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกเก็บลักษณะโคโลนีที่อยู่ในกลุ่มแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.2 การแยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากส่วนต่าง ๆ ของพืช

นำตัวอย่างส่วนราก ใบ ผล หรือส่วนของต้น มาแยกแบคทีเรียด้วยวิธี leaf wash technique โดยหั่นส่วนต่าง ๆ ของกล้วยไม้ให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ประมาณ 10 กรัม ใส่ลงใน 0.85% NaCl ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร นำไปเขย่านาน 30 นาที จากนั้นจึงนำสารแขวนลอยในแต่ละส่วนมาทำให้เจือจางโดยวิธี tenfold serial dilution และดูดสารแขวนลอยที่ความเข้มข้น 10^{-3} และ 10^{-4} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มากระจายบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกเก็บลักษณะโคโลนีที่อยู่ในกลุ่มแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.3 การเตรียมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่เก็บรักษาไว้ในศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร

นำแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่เก็บรักษาไว้มาเลี้ยงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) เขย่าเป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำมาเลี้ยงบน Tryptic Soy Agar (TSA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้เชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. การคัดเลือก *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ในห้องปฏิบัติการ

2.1 การเตรียมแบคทีเรีย Aac และอาหารทดสอบ

นำแบคทีเรีย Aac สาเหตุโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตง (จากศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตร) มาเลี้ยงบนอาหารเอียง Wakimoto's medium (PSA) บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 5 มิลลิลิตร ละลายเชื้อให้เข้ากันจะได้เซลล์แขวนลอย ใช้ปิเปตดูดเซลล์แขวนลอย 250 ไมโครลิตร เติมลงในอาหาร PSA แบบกึ่งแข็งปริมาตร 7 มิลลิลิตร ที่หลอมละลายไว้โดยใส่เชื้อในขณะที่อาหารไม่ร้อนเกินไป ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปเททับในจานเลี้ยงเชื้อที่ได้เทอาหาร PSA เป็นชั้นล่างรอไว้ เอียงจานอาหารเลี้ยงเชื้อให้ส่วนบนกระจายคลุมหน้าอาหารชั้นล่าง วางทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัวและหน้าอาหารแห้ง

2.2 การเตรียมแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

นำแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่แยกได้เป็นเชื้อบริสุทธิ์และเก็บรักษาไว้มาเลี้ยงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) เขย่าเป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ให้มีค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density) 0.1 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แบคทีเรียจะมีความเข้มข้นประมาณ 1.0×10^8 cfu/ml สำหรับนำไปใช้ในการทดสอบ

2.3 ทดสอบศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย Aac

ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย Aac ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี disc diffusion method โดยหยดสารแขวนลอยของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่เตรียมไว้แล้วตามข้อ 2.2 แต่ละไอโซเลทปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษแผ่นกรองที่เจาะให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร แล้วนำมาวางบนผิวหน้าอาหารที่ เตรียมไว้ตามข้อ 2.1 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาวัดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) จากขอบโคโลนีของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ถึงขอบบริเวณใส

3. การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

นำแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย Aac ได้ดีที่สุดจำนวน 5 ไอโซเลท มาทดสอบแกรม ลักษณะเอ็นโดสปอร์ เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีโดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป api 50 CHB เพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

<u>ปี 2566-2567</u>

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ควบคุมโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตงในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

4.1 การเตรียมพืชทดลอง

นำเมล็ดแตงโมบรรจุลงถุงพลาสติกหรือถุงชิบที่เจาะรูพรุน แช่น้ำนาน 4-6 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาซับน้ำโดยใช้กระดาษทิชชูห่อไว้ประมาณ 1-2 วัน เมล็ดแตงโมหรือแคนตาลูปจะเริ่มงอกราก

นำไปหยอดลงถุงดินสำหรับเพาะเมล็ด เมื่ออายุต้นกล้าประมาณ 12-14 วัน และมีใบจริง 4-6 ใบ จึงจะใช้ทำการทดลองชุดที่ 1

นำเมล็ดแคนตาลูปบรรจุลงถุงพลาสติกหรือถุงซิบที่เจาะรูพรุน แช่น้ำนาน 4-6 ชั่วโมง และนำเมล็ดแคนตาลูปแช่ด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อ Aac นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาซับน้ำโดยใช้กระดาษทิชชูห่อไว้ประมาณ 1-2 วัน เมล็ดแคนตาลูปจะเริ่มงอกราก นำไปหยอดลงถุงดินสำหรับเพาะเมล็ดทำการทดลองชุดที่ 2

4.2 เตรียมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย Aac

เลี้ยงแบคทีเรีย Aac บนอาหาร Wakimoto's medium (PSA) บ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ละลายแบคทีเรียในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ปรับให้ได้ค่า OD เท่ากับ 0.2 ($1.0x10^8$ หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร)

4.3 การเตรียมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

เลี้ยงแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ได้คัดเลือกจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการจำนวน 5 ไอโซเลท บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นนำแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไปเขย่าในอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ได้ไปผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ให้ได้ประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ควบคุมโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตงในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง (ทำการทดลอง 2 ชุดการทดลอง)

ชุดการทดลองที่1 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ควบคุมโรคผลเน่าของแตงโม: วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 6 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ๆ ละ 15 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 1
กรรมวิธีที่ 2 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 2
กรรมวิธีที่ 3 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 3
กรรมวิธีที่ 4 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 4
กรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 5
กรรมวิธีที่ 6 ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม)

สเปรย์เซลล์เขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ตามกรรมวิธีในแผนการทดลองให้ทั่วทั้งต้น (ปริมาตร 50 มิลลิลิตร/ต้น) เมื่อครบ 5 วัน จึงปลูกเชื้อ Aac โดยสเปรย์ด้วยเซลล์เขวนลอยแบคทีเรีย Aac ให้ทั่วทั้งต้น และสเปรย์เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทุก ๆ 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง ประเมินระดับการเกิดโรค ก่อนสเปรย์เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทุกครั้ง

ชุดการทดลองที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ควบคุมโรคผลเน่าของแคนตาลูป: วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 6 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ๆ ละ 15 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 2
กรรมวิธีที่ 3 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 3
กรรมวิธีที่ 4 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 4
กรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลทที่ 5
กรรมวิธีที่ 6 ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม)

สเปรย์เซลล์เขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ตามกรรมวิธีในแผนการทดลองให้ทั่วทั้งต้น (ปริมาตร 50 มิลลิลิตร/ต้น) ตั้งแต่ระยะกล้า (หลักเพาะเมล็ด 5วัน) และสเปรย์ทุก ๆ 7 วัน จำนวน 7 ครั้ง ประเมินระดับการเกิดโรค ก่อนสเปรย์เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทุกครั้ง

ประเมินระดับการเกิดโรคตามวิธีการของ Ofir *et al.* (2009) ที่ได้แบ่งระดับการเกิดโรคออกเป็น 6 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 ไม่แสดงอาการของโรค
ระดับ 1 แสดงอาการของโรค 1-10%
ระดับ 2 แสดงอาการของโรค 11-25%
ระดับ 3 แสดงอาการของโรค 26-50%
ระดับ 4 แสดงอาการของโรค 51-75%
ระดับ 5 แสดงอาการของโรค 76-90%
ระดับ 6 แสดงอาการของโรค > 90%

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease Severity Index, DSI)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นพืชแต่ละระดับอาการ x คะแนนของระดับอาการ)}}{\text{จำนวนต้นพืชทดสอบทั้งหมด x คะแนนสูงสุดของระดับอาการ}} \times 100$$

นำข้อมูลการประเมินระดับการเกิดโรคมาคำนวณหาค่า ดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease Severity Index, DSI)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- การประเมินระดับการเกิดโรคทุก 7 วัน จำนวน 7 ครั้ง

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

- นำข้อมูลการประเมินระดับการเกิดโรคมาคำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI) และวิเคราะห์ค่าดัชนีการเกิดโรคด้วย ANOVA และเปรียบเทียบความความแตกต่างของค่าดัชนีการโรคโดย DMRT

เวลาและสถานที่

- ระยะเวลาดำเนินการ : ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565

- สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากตัวอย่างดินหรือวัสดุปลูกและส่วนต่าง ๆ ของพืชตระกูลแตง

ได้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่แยกจากตัวอย่างดิน วัสดุปลูก และส่วนต่าง ๆ ของพืช จำนวน 100 ไอโซเลท และเตรียมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่เก็บรักษาไว้ในศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร จำนวน 120 ไอโซเลท

2. การคัดเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดลองจากการทดสอบศักยภาพของแบคทีเรีย Bacillus spp. ทั้งหมดจำนวน 220 ไอโซเลท พบว่าได้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* ได้ดีที่สุดในห้องปฏิบัติการจำนวน 5 ไอโซเลท

3. การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย Bacillus sp.

ผลการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่าเป็นแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ทุกไอโซเลท

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* ในห้องปฏิบัติการ จำนวน 5 ไอโซเลท ผลการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท ด้วยคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่าเป็นแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ทุกไอโซเลท

เอกสารอ้างอิง

จักรพงษ์ กางโสภา R.K. Hynes และบุญมี ศิริ. 2561. ผลของการทำ Seed Treatment ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อความงอกและการเติบโตของผักกาดหอม. *วารสารเกษตร*. 34(3): 385-397.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2557. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum*. *วารสารกรมวิชาการเกษตร*. 32(3): 234-251.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล อรพรรณ วิเศษสังข์ และทัศนาพร ทัศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. หน้า 507-525. *ใน : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2547*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

นิตยา สุขทวี. 2549. *การโคลนยีนไคติเนสจากเชื้อ Bacillus spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 98 หน้า.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล สุรีย์พร บัวอาจ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และรสสุคนธ์ รุ่งแจ้ง. 2555.ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์จากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ 20W1 ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola*. *วารสารวิชาการเกษตร*. 35 (1): 1-13.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. การคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศและแตงกวา. หน้า 210-211. *ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่8*. 20-22 พฤศจิกายน 2550. ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน จ. พิษณุโลก.

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2554. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุม *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในพริก. *วารสารโรคพืช*. 25: 70-78.

ปิติพงษ์ โตบันลือภพ. 2559. *งานวิจัยสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ชีวภาพ เพื่อการปลูกข้าวหอมมะลิอินทรีย์*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: https://www.kehakaset.com/newsactivities_details.php?view_item=187 (4 มีนาคม 2563)

Campbell, R. 1989. *Biological control of Microbial Plant pathogens*. Cambridge University Press, Cambridge. 218 p.

El-Hassan, S.A. and S.R. Gowen. 2006. Formulation and delivery of the bacterial antagonist *Bacillus subtilis* for management of lentil vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*. *J. Phytopath*. 154: 148-155.

Hu, X. and G.L. Boyer. 1996. Siderophore-mediated aluminum uptake by bacillus megaterium ATTCC 19213. *Appl. Environ. Microbiol*. 11: 4044-4048.

Issazadeh, K., S.K. Rad, S. Zarrabi and M.R. Rahimibashar. 2012. Antagonism of *Bacillus* species against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. *African Journal of Microbiology Research*. 6(7): 1615-1620.

Juma, P., L. Murungi and T. Losenge. 2015. Biological Control of *Pythium aphanidermatum* causing dampling off disease in Ethiopian Kales. *Journal of Agriculture Technology*. 16(2): 231-243.

Kim, B.R., M.S. Park, K.S. Han, S.S. Hahm, I. Park, H. Song and J. Kyeong. 2018. Biological control using *Bacillus toyonensis* strain CAB12243-2 against soft rot on Chinese cabbage. *Korean Journal of Organic Agriculture*. 26(1): 129-140.

Kloepper, J.W., C.M. Ryu and S. Zhang. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*. 94: 1259-1266.

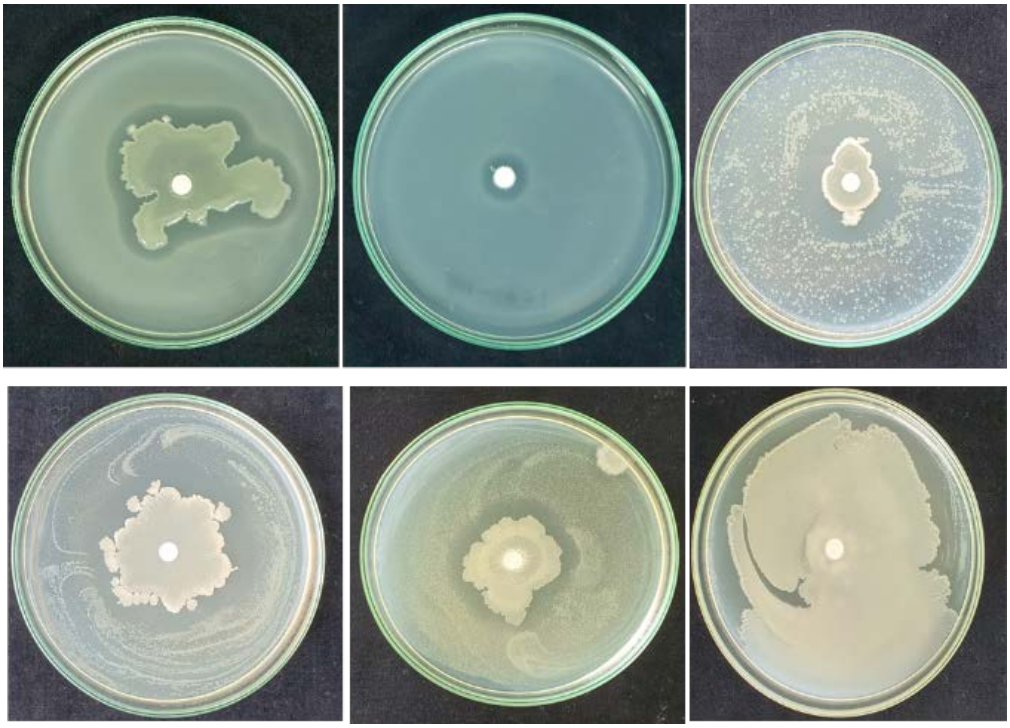
Prathuangwong, S. 2016. Biological Pest Management as Alternative and Supplemented-Pesticide Use in IPM Program. Pages 8-26. *In : Con. Proc. ASEAN+6 Organic Agriculture Forum 2016 Sustainable Agriculture*. June 28-30, 2016. The Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai, Thailand.

Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant disease. *J. Biosci. Bioeng*. 85: 515-521.

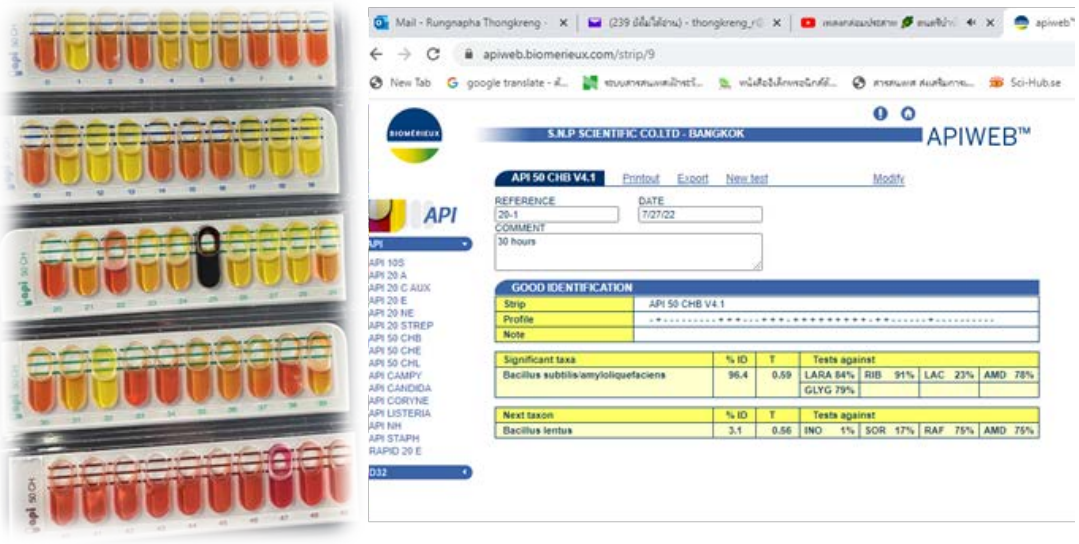
Suwanto, A., H. Friska and I. Sudirman. 1996. Characterization of *Pseudomonas fluorescens* B 29 and B39 DNA Profile, Hypersensitivity Test, and Assay of Bioactive Compound. *HAYATI J. Biosci*. 31(1): 15-20.

ตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตงในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ความกว้างส่วนใส (clear zone) (มิลลิเมตร)	การจำแนกชนิดด้วยคุณสมบัติทางชีวเคมี
9-1	10 มิลลิเมตร	*Bacillus subtilis*
42-1	9 มิลลิเมตร	*Bacillus subtilis*
25-2-4	8.5 มิลลิเมตร	*Bacillus subtilis*
49-1	7 มิลลิเมตร	*Bacillus subtilis*
20-1	7 มิลลิเมตร	*Bacillus subtilis*



ภาพที่ 1 คัดเลือก *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* ในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 2 การจำแนกชนิดแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ด้วยคุณสมบัติทางชีวเคมี

ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคใบติดทุเรียน

Efficacy test of *Bacillus subtilis* for controlling Leaf blight on Durian

นพพล สัทยาสัย[1/] หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/] บุษราคัม อุดมศักดิ์[2/]
ธารทิพย์ ภาสบุตร[2/] กาญจนา ศรีไม้[2/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากตัวอย่างดินบริเวณโคนต้นทุเรียน รากและใบทุเรียนที่เก็บจากสวนทุเรียนในจังหวัดตราด ทั้งหมด 36 ตัวอย่าง โดยวิธี tissue transplanting method ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งหมด 58 สายพันธุ์ และเชื้อจากคลังเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์จำนวน 18 สายพันธุ์ นำไปทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Dual Culture Plate Technique dual ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Rhizoctonia solani* จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ TL12 TL11 TL26 TL22 และ TL24 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเท่ากับ 60.0 57.9 57.4 55.3 และ 54.9 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ พร้อมจัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยการทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมี ร่วมกับการใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป api® 50 CHB (BioMerieux, France) พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 5 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis* และจะดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในสภาพโรงเรือนในปีถัดไป

คำหลัก : โรคใบติดทุเรียน *Bacillus subtilis*

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-02-65

คำนำ

ทุเรียน (Durian) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Durio zibethinus* Murr อยู่ในวงศ์ (Family) Bombacaceae เป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจจนได้รับการยกย่องให้เป็นราชาแห่งผลไม้ (นายดำ, 2535) ปัจจุบันประเทศไทยเป็นประเทศผู้ผลิตทุเรียนรายใหญ่ของโลก มีพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจาก 666,504 ไร่ ในปี 2557 เป็น 937,607 ไร่ ในปี 2562 โดยมีผลผลิตเพิ่มขึ้นจาก 631,773 ตัน เป็น 1,017,097 ตัน ในปี 2557 และ ปี 2562 ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563) เนื่องจากส่งออกไปต่างประเทศได้เป็นจำนวนมากโดยเฉพาะประเทศจีน พื้นที่ปลูกที่สำคัญส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออก และภาคใต้ การผลิตทุเรียนมักประสบปัญหาด้านศัตรูพืชทั้งโรคและแมลงศัตรูพืช โรคพืชเป็นปัญหาที่สำคัญปัญหาหนึ่ง ซึ่งถ้าพืชเป็นโรคแล้วทำให้ต้นทุเรียนทรุดโทรมไม่สมบูรณ์ ส่งผลให้ผลิตผลิตไม่ได้คุณภาพ โรคพืชที่มักพบเป็นประจำ คือโรคใบติดทุเรียนหรือโรคใบไหม้ สาเหตุเชื้อรา *Rhizoctonia solani* เป็นโรคทำสำคัญโรคหนึ่งที่ทำความเสียหายต่อต้นทุเรียน เนื่องจากทุเรียนเป็นไม้ผลที่มีทรงต้นสูง ถ้าสวนใดจัดการแต่งกิ่งไม่ดี ทรงพุ่มทึบการระบายอากาศภายในทรงพุ่มก็จะไม่ถ่ายเท (หิรัญ และคณะ, 2535) ก็จะเกิดโรคใบติดได้ง่าย เมื่อทุเรียนเป็นโรคดังกล่าวแล้วใบทุเรียนแสดงอาการคล้ายโดนน้ำร้อนลวกหลังจากนั้นเชื้อราจะสร้างเส้นใยทำให้ใบทุเรียนแต่ติดกันเป็นหย่อมๆ และหลุดร่วงไป ส่งผลให้ทุเรียนมีใบที่จะใช้สังเคราะห์แสงลดลง ปัจจุบันการป้องกันกำจัดโรคนั้นมีหลากหลายวิธี ทั้งวิธีการจัดการแปลง การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราหรือการควบคุมโรคโดยชีววิธีก็เป็นวิธีการทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เพื่อเป็นการทดแทนหรือลดปริมาณการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรค

ในการทดลองนี้จึงได้ทำการคัดเลือกเชื้อ *Bacillus subtilis* จากรากและดินบริเวณรากทุเรียนในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคในเขตภาคตะวันออกที่ เพื่อหาเชื้อ *Bacillus subtilis* สายพันธ์ที่มีศักยภาพในหารความคุมโรคใบติดทุเรียน โดยแยกเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่รวบรวมมาได้ให้บริสุทธิ์แล้วนำมาทดสอบหาความเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ จากนั้นนำเชื้อ Bacillus subtilis สายพันธ์ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรค ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบติดทุเรียนในโรงเรือน และในสภาพแปลงปลูก เมื่อได้สายพันธุ์ที่มีศักศักยภาพในการควบคุมโรคข้างต้นแล้วจะเป็นแนวทางในการศึกษาอัตราการใช้ และการพัฒนาเป็นรูปแบบชีวภัณฑ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato dextrose agar (PDA), Potato sucrose agar (PSA)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Tryptic Soy Agar (TSA)
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดันฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ ฯลฯ
4. ถังพลาสติก กระบอกตวง และ บีกเกอร์

5. ต้นกล้าทุเรียน
6. กระถางปลูก
7. โรงเรือนทดลอง
8. แปลงปลูกทุเรียน
9. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

วิธีการ

1. การคัดแยก รวบรวมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคใบติดทุเรียน

1.1 การเก็บตัวอย่างดิน ราก ใบทุเรียน และการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เก็บตัวอย่างดิน รากทุเรียน และใบทุเรียน ในภาคตะวันออก ภาคใต้ และภาคกลาง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดิน รากและใบทุเรียนทั้งแปลงที่พบการระบาดของโรคใบติดและแปลงที่ไม่พบการระบาดของโรค นำตัวอย่างที่ได้ไปแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ตามวิธีการต่างๆ ดังนี้

1.1.1 การแยกเชื้อจากดิน

ชั่งตัวอย่างดินจำนวน 10 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที นำมาทำให้เจือจางโดยวิธี tenfold serial dilution ตั้งแต่ 10-1- 10-6 จากนั้นนำสารละลายที่ได้ 0.1 มิลลิลิตร ของความเข้มข้นที่ 10-2 10-4 และ 10-6 มากระจายบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร คัดเลือกเฉพาะเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus sp*. เก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.1.2 การแยกเชื้อจากส่วนต่างๆ ของทุเรียน

นำตัวอย่างส่วนราก และใบ แยกด้วยวิธี leaf wash technique โดยหั่นส่วนต่างๆ ของตัวอย่างทุเรียนให้เป็นชิ้นเล็กๆ ประมาณ 5 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร หยด tween 80 1-2 หยด นำไปเขย่านาน 30 นาที จากนั้นจึงนำสารแขวนลอยในแต่ละส่วนมาทำให้เจือจางโดยวิธี tenfold serial dilution และดูดสารแขวนลอยที่ความเข้มข้น 10-3 และ 10-4 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มากระจายบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร คัดเลือกเฉพาะเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Bacillus sp. เก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.1.3 การฟื้นฟูเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก culture collection

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก ข้อ1.1.1 และ 1.1.2 มาทำการเลี้ยงใหม่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA โดยใช้ loop แตะเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ แล้ว streak ลงบนผิวหน้าอาหาร TSA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อมีเชื้อเจริญที่บริเวณผิวหน้าอาหาร นำไป streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ใหม่อีกครั้ง หลังจากนั้นจึงนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรค และการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคใบติดทุเรียน

2.1.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรคใบติดทุเรียน

เก็บตัวอย่างใบทุเรียนที่เป็นโรคใบติดทุเรียนจากแหล่งปลูกต่างๆ นำมาการแยกเชื้อราสาเหตุโรค วิธี tissue transplanting method การแยกเชื้อจากบริเวณใบที่แสดงอาการของโรค โดยตัดชิ้นส่วนบริเวณขอบแผลของโรคฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 5.25% sodium hypochlorite แล้วนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณภูมิห้องเป็นเวลา 7-14 วัน ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี hyphal tip isolation บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในหลอดแก้ว เก็บเชื้อไว้เป็น stock culture ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองขันตอนต่อไป (ชลิดา, 2557) ก่อน

2.1.2 ทดสอบความสามารถในการเกิดโรคใบติดทุเรียน

นำเชื้อราสาเหตุโรคใบติดทุเรียนจาก stock culture ข้อ 2.1.1 เลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 5-7 วัน ทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคโดยนำชิ้นวุ้น (agar disc) ที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญข้างต้น วางลงบนใบทุเรียนที่เป็นใบเพสลาด ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Park et al. (2008) ใบเปรียบเทียบทำเช่นเดียวกันแต่ใช้ชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่ไม่มีการเลี้ยงเชื้อสาเหตุ สังเกตอาการของโรคทุกวันหลังปลูกเชื้อ

2. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus sp.* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการ

2.2 ทดสอบศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani*

ทดสอบด้วยวิธี Dual Culture Plate Technique dual วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 2 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 จานเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ cock borrer ที่ผ่านการลนไฟ เจาะเส้นใยของเชื้อราที่เตรียมไว้ข้างต้น (จาก stock culture ข้อ 2.1.1 มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 5-7 วัน) มาวางบนอาหาร PDA กลางจานอาหารประมาณ จากนั้น ใช้ ลูปที่ลนไฟ แตะเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ข้อ 1.1.3 มาขีดขีดยาวประมาณ 2 เซนติเมตรจำนวน 4 จุด ตรงขามกันในแนวกากบาทให้หางจากเชื้อรา ประมาณ 3 เซนติเมตร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 27 +2 องศาเซลเซียส (เมื่อโคโลนีของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในจานเลี้ยงเชื้อเจริญเต็มจาน) โดยมีกรรมวิธีเปรียบเทียบใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth (PIRG) ของเชื้อสาเหตุจากสูตร

$$PIRG = (R1 - R2)/ R1 \times 100$$

โดย R1 คือรัศมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุในชุดควบคุม

R2 คือรัศมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุในชุดทดลอง

นำค่าที่บันทึกมาวิเคราะห์โดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

3. การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Rhizoctonia solani* ได้ดีที่สุดจำนวน 5 ไอโซเลท มาทดสอบแกรม ลักษณะเอ็นโดสปอร์ เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐาน

วิทยา และทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีโดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป api 50 CHB เพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียปฏิปักษ์

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองเดือนกันยายน – ตุลาคม พ.ศ.2565

ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช และห้องปฏิบัติการกลุ่มบริหารศัตรูพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การคัดแยก รวบรวมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคใบติดทุเรียน

1.1 การเก็บตัวอย่างดิน ราก ใบทุเรียน และการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากตัวอย่างดินบริเวณโคนต้นทุเรียน รากและใบทุเรียนที่เก็บจากสวนทุเรียนในจังหวัดตราด ทั้งหมด 36 ตัวอย่าง โดยคัดเลือกแบคทีเรียแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีลักษณะโคโลนีเชื้อ *Bacillus sp.* (Figure 1) ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งหมด 76 สายพันธุ์ แยกได้จากดินบริเวณโคนต้นจำนวน 33 สายพันธุ์ แยกได้จากรากทุเรียนจำนวน 10 สายพันธุ์ และแยกได้จากใบทุเรียนจำนวน 15 สายพันธุ์ และจากคลังเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์จำนวน 18 สายพันธุ์ (Table 1)

2.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรค และการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคใบติดทุเรียน

แยกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี tissue transplanting method จากตัวอย่างใบทุเรียนที่เป็นโรคใบติดจากสวนทุเรียนใน ต.เทพนิมิต อ.เขาสมิง จ.ตราด (Figure 2) และนำมาทดสอบความสามารถในการเกิดโรค พบว่าเชื้อราที่แยกได้ สามารถทำให้ใบทุเรียนเกิดโรค (Figure 3)

2. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ด้วยวิธี Dual Culture Plate Technique dual บนอาหาร PDA พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งหมด 38 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* มีค่าเฉลี่ยของความกว้างของ Inhibition zone อยู่ ระหว่าง 1.78 - 2.87เซนติเมตร (Figure 4) โดยพบว่า 5 สารพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ TL12 TL11 TL26 TL22 และ TL24 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคเท่ากับ 60.0 57.9 57.4 55.3 และ 54.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2) แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ มีการผลิตสารปฏิชีวนะออกมาทำให้เกิดปฏิกิริยายับยั้งการเจริญเติบโตของรา *Rhizoctonia solani* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Saoussen et al. (2015) ว่า*เชื้อ Bacillus subtilis* สายพันธุ์ V26 ที่แยกได้จากดินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคสะเก็ดดำในมันฝรั่งในห้องปฏิบัติการ โดยทำให้เสียรูปทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยเชื้อรา

3. การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ดีที่สุด 5 สายพันธุ์ มาจัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียด้วยการทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมี พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ทั้ง 5 สายพันธุ์ ลักษณะเป็นแกรมบวก ใช้อากาศในการดำรงชีวิต (aerobic bacteria) มีรูปร่างเป็นท่อนตรง (rod shape) มีหางรอบตัว (peritrichous flagella) สร้างสปอร์เพียงสปอร์เดียว เป็นรูปไข่ (oval shape) ภายในเซลล์ (endospores) (Figure 5) สอดคล้องกับรายงานของ Baker and Cook (1974) ที่รายงานว่าแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สามารถสร้างสปอร์ที่ทนทานต่อความร้อน และสร้างสารปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียร่วมกับการใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป api® 50 CHB พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ทั้ง 5 สายพันธุ์ คือเชื้อ *Bacillus subtilis* (Figure 6)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากตัวอย่างดินบริเวณโคนต้นทุเรียน รากและใบทุเรียน ทั้งหมด 36 ตัวอย่าง และคลังเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งหมด 76 สายพันธุ์ นำไปทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการ ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคจำนวน 38 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia solani* จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ TL12 TL11 TL26 TL22 และ TL24 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเท่ากับ 60.0 57.9 57.4 55.3 และ 54.9 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อนำมาจัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยการทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมี ร่วมกับการใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป api® 50 CHB (BioMerieux, France) พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 5 ไอโซเลท คือ *Bacillus subtilis* และจะดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในสภาพโรงเรือนในปีถัดไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนักวิชาการเกษตรที่ช่วยดำเนินการเก็บตัวอย่างดิน ราก ใบทุเรียน และตัวอย่างใบทุเรียนที่เป็นโรค ตลอดจนการคัดแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ รวมถึงการรวบรวมข้อมูลเบื้องต้น จึงทำให้งานวิจัยนี้บรรลุเป้าหมาย

เอกสารอ้างอิง

ชลิดา เล็กสมบูรณ์. 2557. โรคพืชและการวินิจฉัย. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 296 หน้า.

นายดำ ฉิ่งสุวรรณโรจน์. 2535. การผลิตผลไม้นอกฤดูกาลและการบำรุงรักษา. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย. 128 หน้า.

Baker, K.F. and R.J. Cook. 1974. Biological Control of Soil-Borne Pathogens. W.H.Freeman and Co., San Francisco. 433 p.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร : ทุเรียน. (ระบบออนไลน์) http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/sale%20product%2057.pdf. (30 มกราคม 2563)

หิรัญ หิรัญประดิษฐ์, สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก และเสริมสุข สลักเพ็ชร์. 2541. เทคโนโลยีการผลิตทุเรียน. พิมพ์ครั้งที่ 1 สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 190 หน้า.

Park, D.S., R.J. Sayler, Y.G. Hong, M.H. Nam and Y.Yang. 2008. A method for inoculation and evaluation of rice sheath blight disease. Plant Disease 92: 25-29.

Saoussen, B.K., O.K. Feki, M. Dammak, H. J. Khiareddine, M. D. Remadi, S. Tounsi. 2015. Efficacy of Bacillus subtilis V26 as a biological control agent against Rhizoctonia solani on potato. Comptes Rendus Biologies. Volume 338, Issue 12, December 2015, Pages 784-792

Table 1 Colonies of antagonistic bacteria that resemble Bacillus sp. isolated from the base soil Durian roots and leaves at Trat province

location	source	number of isolates
Thepnimit Subdistrict	base soil	7
KhaoSaming District	roots	3
	leaves	5
Khao Saming Subdistrict	base soil	9
KhaoSaming District	roots	3
	leaves	4
Thung Nonsi Subdistrict	base soil	7
KhaoSaming District	roots	1
	leaves	1
Chang Thun Subdistrict	base soil	2
Bo Rai District	roots	1
	leaves	2
Nong Bon Subdistrict	base soil	1
Bo Rai District	roots	1
	leaves	1
Huang Nam Khao Subdistrict	base soil	3
Mueang Trat District	roots	1
	leaves	2
Storehouse of microbial species	-	18
total		**76**

Table 2 Growth inhibition percentage of durian leaf blight cause by *Rhizoctonia solani* from bacterial antagonists selected in the laboratory

isolates	Mean value of inhibition zone (centimeters)	inhibition percentage
TS18	2.13	50.5
TS15	2.56	40.5
TS17	2.58	40.0
TS26	1.96	54.4
TS28	2.05	52.3
TS25	2.73	36.5
TS36	2.7	37.2
TS35	2.69	37.4
TS42	2.85	33.7
TS53	2.71	37.0
TS62	2.68	37.7
TL11	1.81	57.9
TL12	1.72	60.0
TL21	1.95	54.7
TL22	1.92	55.3
TL23	2.1	51.2
TL24	1.94	54.9
TL25	1.96	54.4
TL26	1.83	57.4
TL27	2.1	51.2
15G8	2.1	51.2
19W10	2.56	40.5
18G8(2)	2.76	35.8
11G3	2.55	40.7
BS15	2.77	35.6
18G8(-1)	2.73	36.5
UB-2(-2)	2.8	34.9
18G28	2.65	38.4

Table 2 Growth inhibition percentage of durian leaf blight cause by *Rhizoctonia solani* from bacterial antagonists selected in the laboratory (continue)

isolates	Mean value of inhibition zone (centimeters)	inhibition percentage
18G28	2.65	38.4
18G4	2.76	35.8
18G16	2.65	38.4
18G39	2.87	33.3
UB14	2.87	33.3
BS4	2.6	39.5
11W2	2.84	34.0
24W6	2.78	35.3
BS16	2.61	39.3
16G10	2.78	35.3
BS13	2.52	41.4

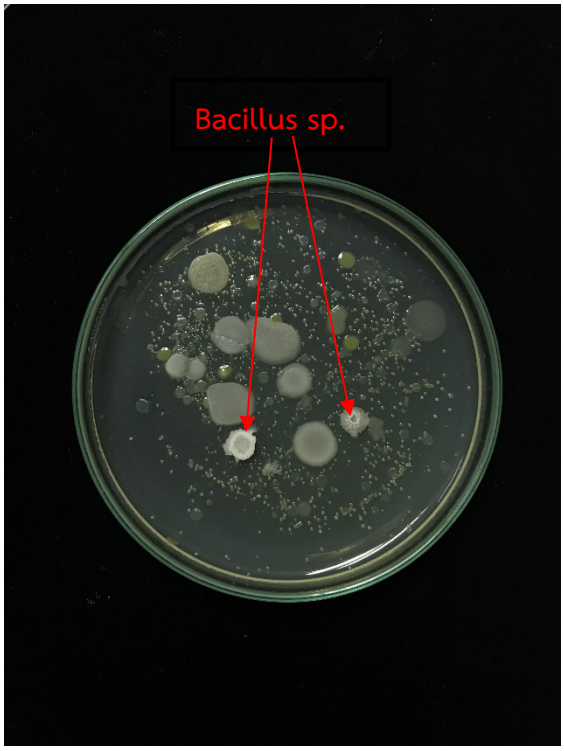


Figure 1 Colonies of antagonistic bacteria that resemble *Bacillus sp.*

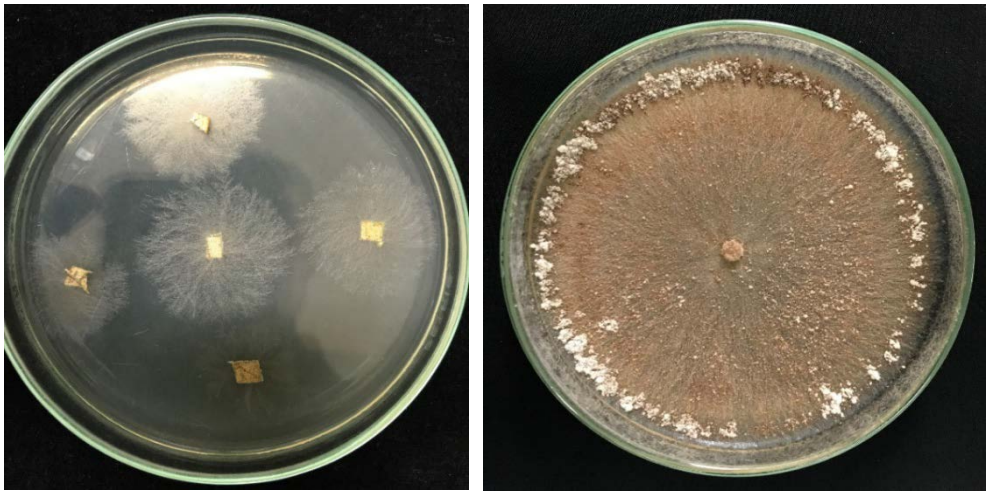


Figure 2 Isolation and colonies of *Rhizoctonia solani*

Figure 3 Testing for the ability to infect durian leaf disease

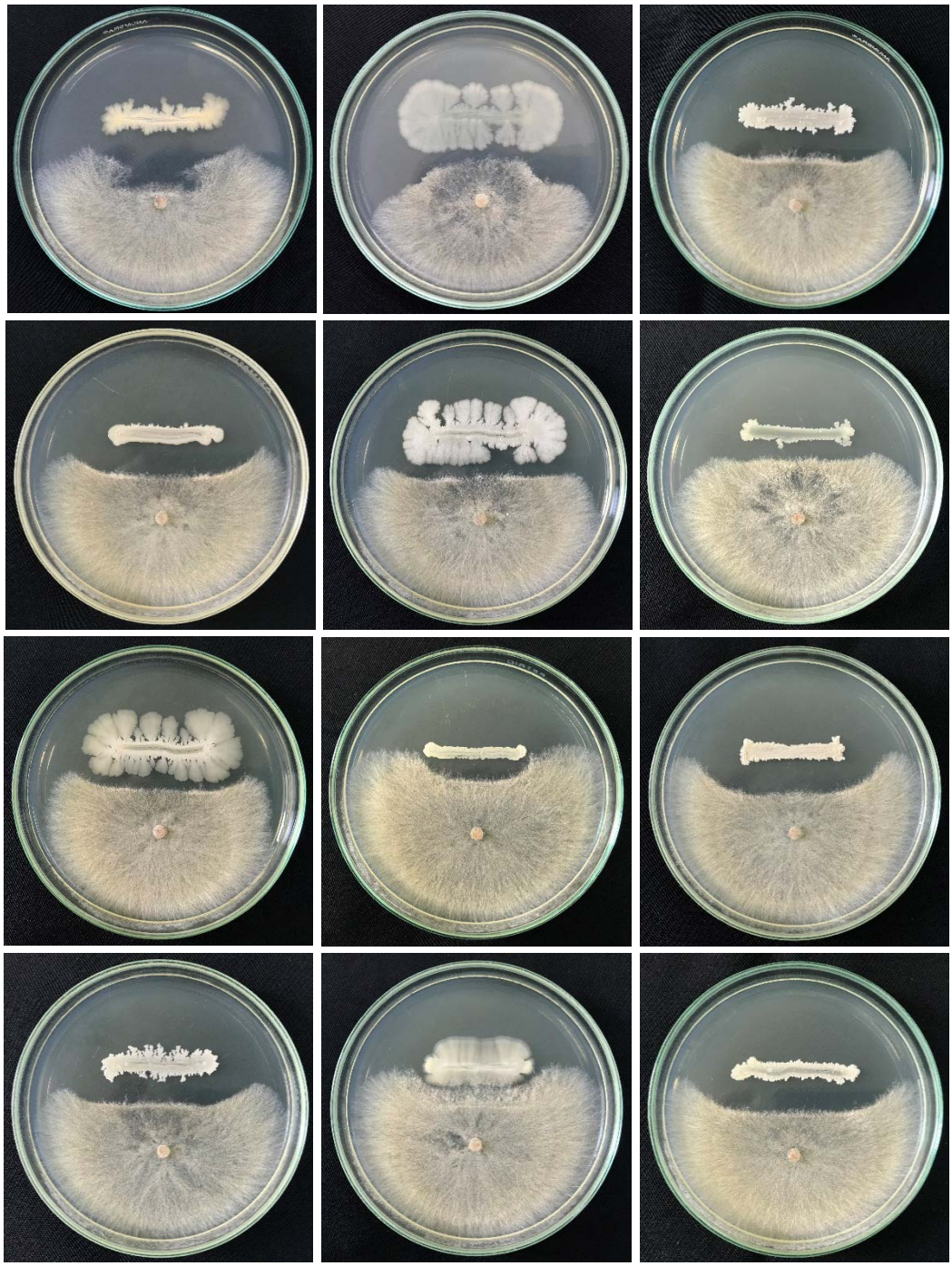


Figure 4. Antagonistic bacteria capable of inhibiting the growth of the mycelium of *Rhizoctonia solani*

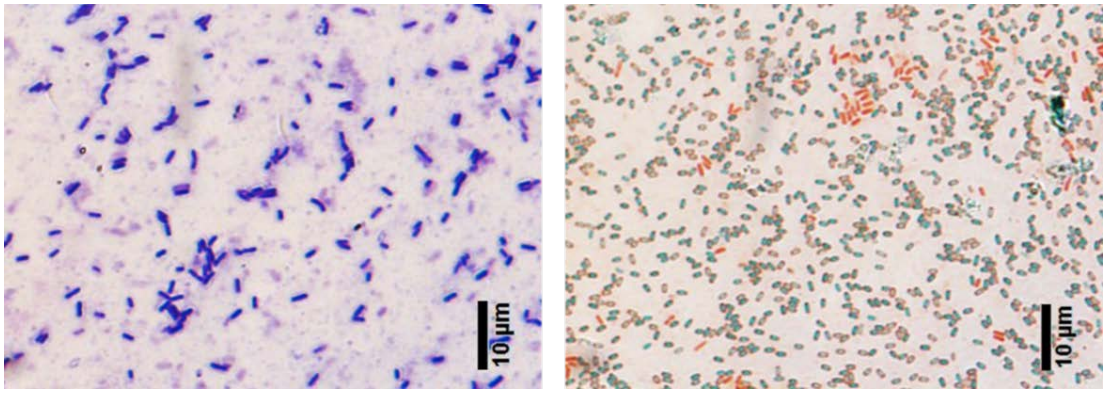


Figure 5 Antagonistic bacteria 5 isolates are Gram-positive, rod-shaped, producing only spores. single, oval, inside the cell

Figure 6 Identification of bacterial species in conjunction with the api® 50 CHB

การพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อใช้ควบคุมโรคเน่าคอดิน(damping-off) สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในมะเขือเทศ

Development of Formulation of *Bacillus subtilis* for Controlling Damping-off Disease of Tomato Caused by *Pythium aphanidermatum*

บุษราคัม อุดมศักดิ์ มะลิดา ชูรินทร์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
สุรีย์พร บัวอาจ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาแบคทีเรีย *B. subtilis* 19W32 (Bs-DOA 19W32) ให้เป็นชีวภัณฑ์สูตรผง สูตรเม็ดและสูตรเคลือบเมล็ดมะเขือเทศเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2565 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ผลการดำเนินงานได้ชีวภัณฑ์ Bs-DOA 19W32 รวม 5 สูตร ได้แก่ สูตรเม็ด สูตรผง และสูตรเคลือบเมล็ด 3 สูตร โดยพบว่า สูตรเม็ด และสูตรผง มีปริมาณเซล Bs เริ่มต้นที่ $1.04x10^{10}$ และ $7.31x10^{9}$ cfu/ml ตามลำดับ หลังจากเก็บเป็นเวลา 2 เดือน พบปริมาณเซล Bs เท่ากับ $6.75 x10^{8}$ และ $9.13 x10^{8}$ cfu/ml ตามลำดับ หลังจากเก็บไว้ 6 เดือน พบปริมาณเซล Bsเท่ากับ $4.17x10^{7}$ และ $7.80x10^{7}$ cfu/ml ตามลำดับ สูตรเคลือบเมล็ด สูตรที่1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มีปริมาณเซล Bs เริ่มต้นเท่ากับ $2.75x10^{10}$ $2.13x10^{10}$ และ$1.69x10^{10}$ cfu/ml ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การงอกเริ่มต้นเท่ากับ 85.5 93.5 และ 69.0 ตามลำดับ โดยทั้ง 3 สูตรมีปริมาณ Bs ที่ติดเมล็ดเริ่มต้นมีเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 100 หลังจากเก็บเป็นเวลา 2 เดือน พบปริมาณเซลล์ Bs เท่ากับ$2.06 x10^{8}$ $2.44 x10^{8}$ $1.03 x10^{9}$ cfu/ml ตามลำดับ ปริมาณ Bs ที่ติดเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 100 100 และ 75 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 78 87 และ14.7 หลังจากเก็บไว้ 6 เดือน พบปริมาณเซล Bs สูตรเคลือบเมล็ดทั้ง 3 สูตรเท่ากับ $1.08 x 10^{7}$ $1.75 x 10^{7}$ และ $3.79 x 10^{7}$ cfu/ml ตามลำดับ ปริมาณ Bs ที่ติดเมล็ดเท่ากับ 97.5 100 และ 99.5 % ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 72.2 69.3 และ 0 ตามลำดับ ในปี 2566 จะนำชีวภัณฑ์ทั้ง 5 สูตรไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินในมะเขือเทศต่อไป

คำหลัก : มะเขือเทศ โรคเน่าคอดิน พิเที่ยม

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-03-65

คำนำ

Pythium spp. เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ก่อให้เกิดโรคกับพืชหลากหลายชนิด เช่น มะเขือเทศ พริก พืชตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลแตง มะพร้าว มะละกอ หรือพืชตระกูลถั่วต่างๆ (พัฒนา และคณะ, 2537) และยังเป็นปัญหาสำคัญในระบบการปลูกพืชระบบไฮโดรโปนิกส์ โดยพืชพืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่มักเกิดปัญหาการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคนี้ ได้แก่ มะเขือเทศ ซึ่งในการผลิตมะเขือเทศในปัจจุบันนั้น เกษตรกรมักต้องซื้อเมล็ดพันธุ์ที่มีราคาแพง มาทำการเพาะก่อนนำไปย้ายปลูกในแปลง แต่ที่ผ่านมาการเพาะเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศมักเกิดปัญหาโรคเน่าคอดิน และโรคลำต้นเน่า ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ดังกล่าวมาโดยตลอด ซึ่งเชื้อราสามารถเข้าทำลายพืชตั้งแต่ระยะเพาะกล้าจนถึงระยะต้นโต โดยเชื้อสามารถทำลายตั้งแต่เมล็ดที่หว่านเพาะลงในดินทำให้เมล็ดเสีย เกิดอาการเน่าฝ่อไม่สามารถงอกออกมาเป็นต้นได้ หรือถ้าเมล็ดที่สามารถรอดพ้นจากการทำลายระยะแรกจนสามารถงอกขึ้นเป็นต้นได้เชื้อก็จะเข้าทำลายต่อ ทำให้ต้นที่เพิ่งเริ่มงอกตายตั้งแต่ยังอยู่ในดิน หรือต้นกล้าบางต้นอาจงอกขึ้นมาเหนือผิวดินได้ แต่กลุ่มนี้ก็อาจถูกเชื้อเข้าทำลายให้ตายต่อไปได้อีก สังเกตได้จากที่ต้นกล้าอ่อนงอกขึ้นมาระยะหนึ่งจะเกิดมีแผลที่บริเวณโคนต้น กล้าจะหักล้มพับลงเป็นหย่อมๆ ใบจะแห้งตายซึ่งคล้ายกับถูกน้ำร้อนลวก อาการในต้นกล้าแต่ละต้นจะเกิดขึ้นพร้อมๆ กันอย่างรวดเร็ว จุดที่เชื้อเข้าทำลายไม่ว่าจะเป็นระยะก่อนหรือหลังจากงอกขึ้นมาเหนือดินแล้ว จะเกิดตรงบริเวณลำต้น (hypocotyl) ระหว่างใบเลี้ยง (cotyledon) และรากแก้ว (tap root) เรียกอาการนี้ว่า โรคเน่าคอดิน ซึ่งโดยปกติแล้วต้นอ่อนของพืชที่เพิ่งงอกจากเมล็ดจะมีผนังเซลล์บางทำให้เนื้อเยื่ออ่อนแอ ง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อ นอกจากนั้นเมื่อเข้าไปสู่ภายในได้แล้ว เซลล์พวกนี้ก็จะถูกทำลายให้ตาย สลายตัวลงอย่างรวดเร็ว เกิดเป็นแผลแพร่กระจายอย่างกว้างขวาง ทำให้ส่วนนั้นของต้นกล้าหักพับลงในที่สุด โดยโรคเน่าคอดินเป็นโรคที่มักเกิดในระยะเพาะกล้า เนื่องจากการปลูกพืชที่มีความหนาแน่น อับทึบ การระบายน้ำ และอากาศไม่ดี และในโรงเพาะชำที่มีอุณหภูมิสูง โดยต้นกล้าจะมีอาการเป็นแผลช้ำที่โคนต้นระดับดิน เนื้อเยื่อตรงบริเวณแผลจะเน่าและแห้ง ทำให้ต้นกล้าหักพับ และเหี่ยวตายไปในที่สุดการแพร่ระบาดส่วนมากจะเกิดจากสปอร์ของเชื้อราที่ทำให้เกิดโรค ติดมากับเมล็ด ในวัสดุปลูก และน้ำ เป็นต้น โดยพบได้ทุกฤดู และพบมากที่สุดคือช่วงปลายฤดูฝน โรคเน่าคอดินมีสาเหตุมาจากเชื้อราหลายชนิด แต่ที่สำคัญและพบเสมอเกิดจากเชื้อรา *Pythium* spp. เช่น *P. periilum* (อมรรัตน์, 2552), *P aphanidermatum. P. debaryanum*, *P. arrhenomanes* และ *P. ultimum,* (พัฒนา และคณะ, 2537)

ในปัจจุบันจึงได้มีความพยายามที่จะนำการป้องกันกำจัดโดยชีววิธีมาใช้ในการควบคุมเชื้อรา เพื่อลดปัญหาดังกล่าวอย่างยั่งยืน วาริน และคณะ (2551) ได้ทำการสกัดสารต่อต้านเชื้อราจาก *Bacillus* spp.สายพันธุ์ B-NST-03 และ B-NST-02 มาทดสอบการควบคุมโรคเน่าระดับดินของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *P. aphanidermatum* ทั้งในห้องปฏิบัติการและโรงเรือน พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม นอกจากนั้น จักรพงษ์ และคณะ (2554) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของ แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium myriotylum* พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ EWC 065, RCO 010,

RWC021 และ SSMIX 023 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย และยับยั้งการเคลื่อนที่ของ cytoplasm ส่งผลให้บริเวณส่วนปลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแตก และ P. Juma, *et al* (2015) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ *B. subtilis* BS-01 และ *Trichoderma asperellum* TRC-900 ในการยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดินในผักตระกูลคะน้า โดยทำการเคลือบเมล็ดก่อนปลูกพบว่า สามารถลดความสูญเสียจากสาเหตุโรคเน่าคอดินของเมล็ดพันธุ์ก่อนงอกได้ 11 - 25.4% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการเคลือบเมล็ดซึ่งเป็นโรคถึง 64.8% ที่ผ่านมาเกษตรกรมักเลือกวิธีการป้องกันกำจัดโรคโดยใช้สารเคมี ซึ่งเป็นวิธีการที่ได้ผลรวดเร็ว แต่ก่อให้เกิดปัญหาตามมามากมายอันเนื่องจากการใช้อย่างไม่ถูกวิธี ทำให้การจัดการโรคพืชยังคงเป็นปัญหาอยู่ถึงปัจจุบัน และที่สำคัญผลกระทบจากการใช้สารเคมีเกินความจำเป็นก็จะก่อให้เกิดปัญหาหลายอย่างตามมา เช่น การดื้อยา ผลตกค้างทั้งในผลผลิตและสภาพแวดล้อม ดังนั้น การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธีจึงเป็นทางเลือกที่เหมาะสมในการแก้ปัญหาโรคพืชในระยะยาว ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายอารักขาพืช ของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ที่มุ่งเน้นหาสิ่งทดแทนสารเคมี เพื่อลดการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ในระบบการผลิตในภาคเกษตร ดังนั้นการทดลองนี้นี้จึงยึดแนวทางการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชโดยชีววิธี คือ การคัดเลือกจุลินทรีย์ในธรรมชาติมาทดสอบศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* มาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์รูปแบบต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้จริงต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy agar (TSA) และ Potato sucrose agar (PSA)
2. แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ Bs-DOA 19W32
3. สารเคมี ได้แก่ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, polyvinylpyrrolidone, lactose monohydrate, sodium alginate, carboxymethyl-cellulose sodium salt ,Polyethylene และ glycol เป็นต้น
4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง เช่น ลูป จานเลี้ยงเชื้อ บิกเกอร์ ฟาสก์ ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ และหม้อนึ่งความดัน เป็นต้น

วิธีการ

การเตรียมแบคทีเรีย Bs-DOA 19W32

นำแบคทีเรีย Bs-DOA 19W32 เลี้ยงบนอาหาร TSA หรือ PSA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยเตรียม 50 จานต่อการผลิต 1 กิโลกรัม แล้วดูดสารละลาย 0.7% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ใส่ลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นขูดเอาเซลล์แบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหารออก แล้วเท cell suspension ของ *B. subtilis* ลงในบิกเกอร์ เพื่อนำไปพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จ

การพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ Bs-DOA 19W32 สูตรเม็ด (ดัดแปลงจากวานิด, 2552)

นำ polyvinylpyrrolidone, lactose monohydrate และ sodium alginate ในอัตราส่วน 12.5 12.5 และ 75 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักโดยน้ำหนัก ตามลำดับ ผสมกับ cell suspension ของ

Bs-DOA 19W32 คลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วนำส่วนผสมทั้งหมดที่ได้ร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 16 กดให้ส่วนผสมออกเป็นเม็ด หลังจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำไปผ่านตะแกรงเบอร์ 14 เพื่อให้มีขนาดสม่ำเสมอ นำชีวภัณฑ์ที่ได้บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์

การพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์สูตรผง

เตรียม cell suspension ของ Bs-DOA 19W32 เช่นเดียวกับการพัฒนาสูตรเม็ด แล้วเติมสารละลาย 2.5% carboxymethyl-cellulose sodium salt (CMC) หลังจากนั้นเติมเกาลินที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงไปในสารละลาย จำนวน 1 กิโลกรัม คลุกเคล้าส่วนผสมให้เข้ากัน แล้วนำชีวภัณฑ์ที่ได้ใส่ถาด ผึ่งลมให้แห้งในสภาพอุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาบดละเอียดแล้วบรรจุลงในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์

การประเมินผล: ประเมินผลโดยการสุ่มชีวภัณฑ์แต่ละชนิดทั้งในสูตรเม็ดและสูตรผง มาตรวจนับปริมาณเซลล์ของ *B. subtilis*โดยวิธี dilution plate technique โดยการตรวจนับปริมาณเซลล์ของ Bs-DOA 19W32 หลังการผสมปรุงแต่งในครั้งแรก และตรวจนับปริมาณเซลล์ทุกเดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน

การบันทึกข้อมูล: บันทึกข้อมูลปริมาณเซลล์ *B. subtilis* ทั้งในสูตรเม็ดและสูตรผง ตรวจนับปริมาณเซลล์ของ Bs-DOA 19W32 หลังการผสมปรุงแต่งในครั้งแรก และตรวจนับปริมาณเซลล์ทุกเดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน

การพัฒนาชีวภัณฑ์สูตรเคลือบเมล็ด

สูตรที่ 1

เตรียม cell suspension ของ Bs-DOA 19W32 เช่นเดียวกับการพัฒนาสูตรเม็ด แล้วเติมโพลีเอทิลีนไกลคอล 600 (Polyethylene glycol 600) สารก่อฟิล์มทัลคัม (Talcum) ไททาเนียมไดออกไซด์ (TiO2) และสี ผสมลงใน cell suspension ของ Bs-DOA 19W32 หลังจากนั้นนำส่วนผสมที่ได้คลุกเคล้ากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ให้เคลือบกับเมล็ดพันธุ์สม่ำเสมอ จากนั้นนำไปลดความชื้นโดยการผึ่งลมให้แห้งในสภาพอุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง แล้วนำเมล็ดที่เคลือบเรียบร้อยแล้วบรรจุลงในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์

สูตรที่ 2 (จักรพงษ์ และคณะ, 2561)

นำเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ผสมใน cell suspension ของ Bs-DOA 19W32 เป็นเวลา 20 นาที แล้วเคลือบเมล็ดพันธุ์ (seed coating) โดยใช้ carboxymethyl cellulose (CMC) อัตรา 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารเคลือบ จากนั้นนำไปลดความชื้นโดยการผึ่งลมให้แห้งในสภาพอุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง แล้วนำเมล็ดที่เคลือบเรียบร้อยแล้วบรรจุลงในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์

สูตรที่ 3 (จักรพงษ์ และคณะ, 2561)

ปฏิบัติเช่นเดียวกับสูตรเคลือบเมล็ด สูตรที่ 2 แต่พอกเมล็ดพันธุ์ (seed pelleting) โดยใช้ CMC อัตรา 0.3 เปอร์เซ็นต์ เป็นวัสดุประสาน และใช้ calcium sulfate เป็นวัสดุพอกจากนั้นนำไปลดความชื้น จากนั้นนำไปลดความชื้นโดยการผึ่งลมให้แห้งในสภาพอุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง แล้วนำเมล็ดที่เคลือบเรียบร้อยแล้วบรรจุลงในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์

การประเมินผล: สุ่มเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่เคลือบด้วยชีวภัณฑ์ มาตรวจนับปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 ที่ติดกับเมล็ด โดยวางเมล็ดบนอาหาร PSA แล้วตรวจนับปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 ครั้งแรกหลังการเคลือบ และตรวจนับปริมาณเซลล์ทุกเดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน

การบันทึกข้อมูล: บันทึกเปอร์เซ็นต์ปริมาณเซลล์ของเมล็ดเคลือบชีวภัณฑ์ Bs-DOA 19W32 ครั้งแรกหลังการเคลือบ และตรวจนับปริมาณเซลล์ทุกเดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน

เวลาและสถานที่

เดือนตุลาคม 2564 – เดือนกันยายน 2565

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้สูตรในการพัฒนาชีวภัณฑ์ Bs-DOA 19W32 5 สูตร ดังนี้

สูตรเม็ด โดยมีสูตรผสมการเตรียมชีวภัณฑ์ 1 กิโลกรัม ดังนี้

Polyvinylpyrrolidone : lactose monohydrate : sodium alginate ในอัตราส่วน 10:80:10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ผสมกับ cell suspension ของ Bs-DOA 19W32 (Bs-DOA 19W32 60 จานอาหารต่อ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ปริมาตร 160 มิลลิลิตร) โดยชีวภัณฑ์มีปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 เริ่มต้น เฉลี่ยเท่ากับ 7.1×10^9 โคโลนี/มิลลิตร

สูตรผง โดยมีสูตรผสมการเตรียมชีวภัณฑ์ 1 กิโลกรัม ดังนี้

carboxy methylcellulose 10 มิลลิลิตร และเกาลิน 1000 กรัม ผสมกับ cell suspension ของ Bs-DOA 19W32 (Bs-DOA 19W32 60 จานอาหารต่อ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ปริมาตร 160 มิลลิลิตร) โดยชีวภัณฑ์มีปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 เริ่มต้น เฉลี่ยเท่ากับ 2.7×10^9 โคโลนี/มิลลิตร

สูตรเคลือบเมล็ด สูตรที่1 โดยมีสูตรผสม ดังนี้

เมล็ดมะเขือเทศ 120 กรัม polyethylene glycol 3 กรัม เกาลิน 97 กรัม และ titanium dioxide 24 กรัม ผสมกับ cell suspension ของ Bs-DOA 19W32 ปริมาตร 120 มิลลิลิตร (Bs-DOA 19W32 1 จานอาหารต่อ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร) โดยชีวภัณฑ์มีปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 เริ่มต้นเท่ากับ 2.75×10^{10} โคโลนี/มิลลิตร

สูตรเคลือบเมล็ด สูตรที่ 2 โดยมีสูตรผสมการเตรียมชีวภัณฑ์ ดังนี้

เมล็ดมะเขือเทศ 120 กรัม แช่ใน cell suspension ของ Bs-DOA 19W32 ปริมาตร 350 มิลลิลิตร CMC 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ สีผสมอาหาร 2 กรัม โดยชีวภัณฑ์มีปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 เริ่มต้นเท่ากับ 2.13×10^{10} โคโลนี/มิลลิตร

สูตรเคลือบเมล็ด สูตรที่3 โดยมีสูตรผสมการเตรียมชีวภัณฑ์ ดังนี้

เมล็ดมะเขือเทศ 120 กรัม แช่ใน cell suspension ของ Bs-DOA 19W32 ปริมาตร 350 มิลลิลิตร CMC 0.3 เปอร์เซ็นต์ ผสม calcium sulfate 250 กรัม และ สีผสมอาหาร 2 กรัม โดยชีวภัณฑ์มีปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 เริ่มต้นเท่ากับ 1.69×10^{10} โคโลนี/มิลลิตร

สูตรเม็ด และสูตรผง มีปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 เริ่มต้นที่ $1.04x10^{10}$ และ $7.31x10^{9}$ โคโลนี/มิลลิตร ตามลำดับ หลังจากเก็บเป็นระยะเวลา 2 เดือน พบปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 เท่ากับ $6.75\ x10^{8}$ และ $9.13\ x10^{8}$ โคโลนี/มิลลิตร ตามลำดับ หลังจากเก็บไว้ 6 เดือน พบปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 เท่ากับ $4.17x10^{7}$ และ $7.80x10^{7}$ โคโลนี/มิลลิตร ตามลำดับ ส่วนสูตรเคลือบเมล็ด สูตรที่ 1-3 มีปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 เริ่มต้นเท่ากับ $2.75x10^{10}$ $2.13x10^{10}$ และ $1.69x10^{10}$ โคโลนี/มิลลิตร ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การงอกเริ่มต้นเท่ากับ 85.5 93.5 และ 69.0 ตามลำดับ โดยทั้ง 3 สูตรมีปริมาณ Bs-DOA 19W32 มีค่าเฉลี่ยปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 ติดเมล็ดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเก็บเป็นเวลา 2 เดือน พบปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 เท่ากับ $2.06\ x10^{8}$ $2.44\ x10^{8}$ และ $1.03\ x10^{9}$ โคโลนี/มิลลิตร ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 ติดเมล็ดเท่ากับ 100 100 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 78 87 และ 14.7 หลังจากเก็บไว้ 6 เดือน พบปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 สูตรเคลือบเมล็ดทั้ง 3 สูตรเท่ากับ $1.08\ x\ 10^{7}$ $1.75\ x\ 10^{7}$ และ $3.79\ x\ 10^{7}$ โคโลนี/มิลลิตร ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 ติดเมล็ดเท่ากับ 97.5 100 และ 99.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 72.2 69.3 และ 0 ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลอง พบว่า ชีวภัณฑ์ทุกสูตรมีปริมาณเซลเริ่มต้นสูงโดยมีปริมาณถึง $10^{9} – 10^{10}$ โคโลนี/มิลลิตร ซึ่งเป็นปริมาณบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรค ในการเก็บรักษาชีวภัณฑ์พบว่าสามารถเก็บได้เป็นเวลา 2 เดือนโดยที่ปริมาณเซลล์ Bs-DOA 19W32 ลดลงแต่ไม่ต่ำกว่า 10^{8} โคโลนี/มิลลิตร ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ ยกเว้นสูตรผงที่สามารถเก็บได้นานถึง 5 เดือน นอกจากนั้นยังพบว่าสูตรเคลือบเมล็ดสูตรที่ 1 กับสูตรที่ 2 ถึงแม้ว่าปริมาณเซลล์ต่อมิลลิลิตร ลดลงแต่ปริมาณ Bs-DOA 19W32 ที่เคลือบติดเมล็ดมะเขือเทศยังคงสูงถึง 97.5–100 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงเพียงเล็กน้อย ดังนั้นสูตรเคลือบเมล็ดสูตรที่ 1 กับสูตรที่ 2 มีแนวโน้มในการป้องกันเชื้อในดินได้ดี สำหรับสูตรเคลือบเมล็ดสูตรที่ 3 ยังเป็นปัญหาในเรื่องเปอร์เซ็นต์การงอกจึงไม่เหมาะต่อการเก็บรักษา อาจจะต้องนำมาใช้ทันทีหลังจากการผสมปรุงแต่ง ในปี พ.ศ. 2566 จะทำการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ทั้ง 5 สูตร เพื่อยืนยันผลประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคเน่าดำในมะเขือเทศต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จักรพงษ์ หรั่งเจริญ ถนิมนันต์ เจนอักษร และพรหมมาศ คูหากาญจน์. 2554. การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium myriotylum* โดยแบคทีเรียเขตรากพืชจากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*. 16 (1): 22-31.

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. *ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย*. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 285 หน้า.

วานิด รอดเนียม. 2552. *การคัดเลือกและการเตรียมสูตรสำเร็จ Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคใบจุดที่เกิดจาก Alternaria longipes ในผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดโพรนิกส์*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาการจัดการทรัพยากรดิน. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 98 หน้า.

วาริน อินทนา ประคอง เย็นจิตต์ ทักษิณ สุวรรณโณ ศุภลักษณ์ เศรษฐสกุลชัย มนูญ สุวรรโณ และจิระเดช แจ่มสว่าง. 2551. ประสิทธิภาพของสารต่อต้านเชื้อราจาก *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเน่าระดับดินของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum*. *Walailak Journal of Science and Technology (Thailand)*. 5(1): 29-38.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และพีระวรรณ วัฒนวิภาส. 2552. สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา *Pythium* สาเหตุโรคพืช. หน้า 1476-1488. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2552. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Juma, P., L. Murungi and T. Losenge. 2015. Biological Control of *Pythium aphanidermatum* causing dampling off disease in Ethiopian Kales. Pages 53-56. *In : The 2015 JKUAT Scientific Conference.* Oct. 19, 2015. Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology, Nairobi-Kenya.

Table 1 Cell contents of Bs-DOA 19W32 from 5 formulas bioproducts. The trial was conducted between October 2021 and September 2022

	Mean of cell contents from Bs-DOA 19W32 bioproducts (cfu/ml)						
	0 month	1st month	2 nd month	3 rd month	4 th month	5 th month	6 th month
granule formulation	$1.04x10^{10}$	$7.81 x10^{8}$	$6.75 x10^{8}$	$3.0 x10^{7}$	$9.83x10^{7}$	$7.35 x10^{7}$	$4.17x10^{7}$
powder formulation	$7.31x10^{9}$	$9.25 x10^{8}$	$9.13 x10^{8}$	$5.06 x10^{8}$	$1.29x10^{8}$	$1.03 x10^{8}$	$7.80x10^{7}$
seed coat formula 1	$2.75x10^{10}$	$9.31 x10^{8}$	$2.06 x10^{8}$	$1.12 x10^{7}$	$1.90x10^{7}$	$1.43 x10^{7}$	$1.08x10^{7}$
seed coat formula 2	$2.13x10^{10}$	$9.56 x10^{8}$	$2.44 x10^{8}$	$1.33 x10^{7}$	$2.18 x10^{7}$	$1.60 x10^{7}$	$1.75x10^{7}$
seed coat formula 3	$1.69x10^{10}$	$1.26 x10^{9}$	$1.03 x10^{9}$	$1.22 x10^{8}$	$9.28 x10^{7}$	$7.13 x10^{7}$	$3.79x10^{7}$

Table 2 Mean of percentage cell contents from Bs-DOA 19W32 of the three seed-coated formulations. The trial was conducted between October 2021 and September 2022

	Mean of Bs-DOA 19W32 cell contents of seed-coated formulations (% seed-coated)						
	0 month	1st month	2 nd month	3 rd month	4 th month	5 th month	6 th month
seed coat formula 1	100	100	100	100	100	100	97.5
seed coat formula 2	100	100	100	100	100	100	100
seed coat formula 3	100	100	100	100	100	100	99.5

Table 3 Mean of percentage seed germination of tomato in Laboratory. The trial was conducted between October 2021 and September 2022

	Mean of percentage seed germination of tomato (%)						
	0 month	1st month	2 nd month	3 rd month	4 th month	5 th month	6 th month
seed coat formula 1	85.5	78.5	78	75.75	75.8	74.5	72.2
seed coat formula 2	93.5	88.25	87	85.25	85.3	72.5	69.3
seed coat formula 3	69.0	12.5	14.75	0	0	0	
control (not coating)	95	92	96	95	95	94	94

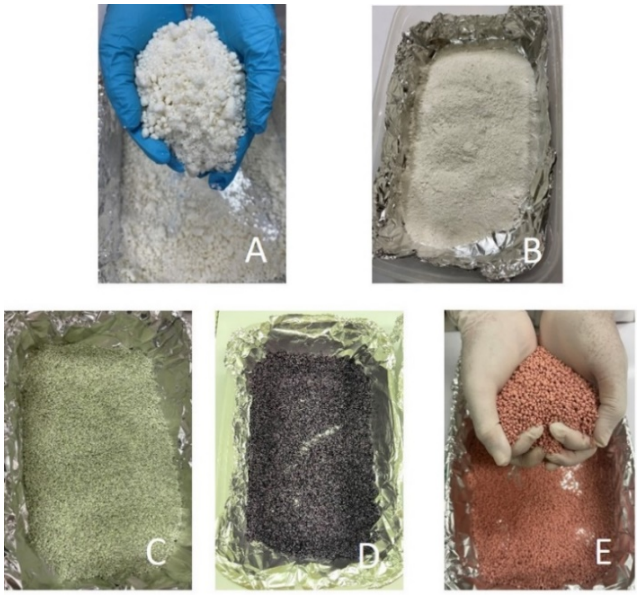


Figure 1 Five formulas of Bs-DOA 19W32 bioproducts, including granule formula, powder formula and 3 seed coating formulas

พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม

Development of Production and Application of Biopesticide *Bacillus subtilis* for Root-knot Nematode Control

ไตรเดช ข่ายทอง[1/] รุ่งนภา ทองเครั่ง[1/] บูรณี พั่ววงษ์แพทย์[1/]
ธิติยา ชยาภัคพัฒนา[1/] นภลภัส บุษบงก์[1/] วีรกรณ์ แสงไสย์[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

นำแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn ซึ่งผ่านการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมโดยวีรกรณ์และคณะ (2561) มาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สูตรพร้อมใช้ โดยทำการทดสอบและคัดเลือกอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37 อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast extract glucose broth (YGB) เป็นอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรียแต่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่มีราคาค่อนข้างสูง จึงได้พัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรใหม่เพื่อเป็นการลดต้นทุนโดยได้แบคทีเรียที่มีปริมาณและคุณภาพเทียบเท่ากับ YGB ได้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหลว 1 สูตร และสูตรอาหารแข็ง 1 สูตร อาหารสูตรใหม่ทั้ง 2 สูตร มีต้นทุนต่ำกว่าสูตรอาหารทางการค้า และเหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn การวิจัยพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรีย BS-DOA37rkn เป็นรูปแบบสูตรผงพร้อมใช้ พบว่าการใช้ Zeolite + Diatomite (อัตรา 1:1) เป็นสารพา มีความเหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn มากที่สุด

คำหลัก : โรครากปม ชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช เกษตรอินทรีย์ เทคโนโลยีชีวภาพ

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-04-65

คำนำ

ไส้เดือนฝอยรากปม (Root-knot nematodes: *Meloidogyne* spp.) มีพืชอาศัยมากกว่า 2,000 ชนิด แพร่ระบาดและทำลายพืชปลูกหลายชนิดในประเทศไทย เช่น พริก มะเขือเทศ มันฝรั่ง ปทุมมา ขิง ฝรั่ง พริกไทย เป็นต้น โดยไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* เป็นชนิดที่มีการแพร่กระจายมากที่สุด ในปทุมมาไส้เดือนฝอยรากปมเข้าทำลายรากโดยตัวอ่อนระยะที่สองสามารถเข้าไปภายในรากและตุ้มสะสมอาหาร พัฒนาเป็นตัวเต็มวัยและวางไข่ ทำให้รากและตุ้มสะสมอาหารมีลักษณะเป็นปุ่มปม (ยุทธศักดิ์, 2542; มนตรี, 2538) การเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมกระทบต่อระบบลำเลียงน้ำและอาหารของปทุมมาทำให้ต้นแคระแกร็นผลผลิตลดลง เหง้าปทุมมาที่ถูกเข้าทำลายเสียหายไม่สามารถนำมาทำเป็นหัวพันธุ์ได้ การเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมในขิงจะคล้ายคลึงกับปทุมมา มนตรี (2534) รายงานการเกิดโรคแง่งหูดของขิงที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* มีลักษณะอาการที่บริเวณผิวของแง่งขิงที่พองนูนออก บางครั้งแตกเป็นสะเก็ด โดยเฉพาะขิงแก่ที่มีอายุเก็บเกี่ยว 9-10 เดือน อาการจะเกิดร่วมกับอาการรากปมซึ่งไส้เดือนฝอยรากปมจะทำลายทั้งรากฝอย รากสะสมอาหารและแง่ง ไส้เดือนฝอยจะเข้าทำลายแง่งขิงตั้งแต่เริ่มสร้าง โดยเข้าไปอยู่ในส่วนชั้นนอก คือ ground tissue layer ตั้งแต่ epidermis ไปจนถึง medulla หรือ pith ลึก 1-5 มิลลิเมตร มองเห็นเป็นจุดฉ่ำน้ำสีน้ำตาลซึ่งบริเวณนั้นจะมีไส้เดือนฝอยรากปมอาศัยอยู่ได้ทุกระยะ การที่ไส้เดือนฝอยอาศัยอยู่ไม่ลึกจะทำให้ผิวของแง่งขิงมีอาการบวมนูนออกมามีลักษณะคล้ายหูด ซึ่งชาวบ้านจะเรียกอาการนี้ว่า “ขิงหูด” หรือ “ขี้ทูต” ไส้เดือนฝอยรากปมสามารถแพร่ระบาดโดยติดไปกับแง่งขิงไหลไปกับน้ำ หรือติดไปกับเครื่องมือเครื่องใช้ต่าง ๆ และวัสดุปลูก โรครากปมหรือแง่งหูดของขิงนอกจากจะทำให้ผลผลิตลดลงแล้ว จะทำให้ระยะเวลาการเก็บรักษาของแง่งพันธุ์ขิงลดลง คุณภาพของขิงลดลงไม่เป็นที่ต้องการของตลาดอีกด้วย มนตรีและคณะ (2533) ศึกษาเปรียบเทียบการปลูกขิงในดินปกติกับดินที่มีตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองจำนวน 2000 ตัวต่อดิน 500 กรัม พบว่าเมื่อเก็บเกี่ยวเป็นขิงอ่อนอายุ 4 เดือนน้ำหนักแง่งสูญเสียไป 23.40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บเป็นขิงแก่อายุ 9 เดือน น้ำหนักแง่งสูญเสียไปถึง 36.40 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าแง่งขิงที่เก็บไว้ทำพันธุ์จะสูญเสียน้ำหนักไป 22.50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 1 เดือน เมื่อนำแง่งขิงที่เป็นโรคหูดไปปลูกจะพบว่าตัวอ่อนไส้เดือนฝอยจะเคลื่อนที่ลงสู่ดิน ภายใน 1 เดือน จะมีความหนาแน่นของตัวอ่อน 350 ตัวต่อดิน 500 กรัม มนตรีและคณะ (2531) ทำการทดลองในสภาพไร่ที่มีตัวอ่อนระยะที่2 ของไส้เดือนฝอยรากปมประมาณ 2,000 ตัว/ดิน 500 กรัม พบว่าพริกขี้หนูห้วยสีทน-1 สูญเสียผลผลิตเป็นน้ำหนักสดประมาณ 26% และความสูงลดลง 16% และเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในดินหลังปลูกเป็น 3,000 ตัว/ดิน 500 กรัม

แบคทีเรีย *B. subtilis* ได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชหลายชนิด รวมทั้งมีรายงานการศึกษาประสิทธิภาพในการนำมาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมเช่นกัน Basyony and Abo-Zaid. (2018) ทดสอบประสิทธิภาพของ *B. subtilis* ไอโซเลต B10 และ B8 ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง พบว่ามีผลในการยับยั้งการฟักของไข่ไส้เดือนฝอยรากปมและควบคุมโรคได้ถึง 89.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม Mokbel and Alharbi.

(2014) ทดสอบการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์หลายชนิดในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* ในมะเขือเทศ พบว่า *B. subtilis* สามารถควบคุมโรคได้ 56.5 เปอร์เซ็นต์ และพืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น 50.9 เปอร์เซ็นต์ Jonathan *et al*. (2009) ทดสอบการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* และไส้เดือนฝอย เรนิฟอร์ม *R. reniformis* ในมะเขือเทศในสภาพแปลงปลูก โดยใช้ *Pseudomonas fluorescens* ร่วมกับ *B. subtilis* ในการคลุกเมล็ดก่อนปลูก พบว่าสามารถลดการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย และยังเพิ่มความสูง น้ำหนักต้น ความยาวราก น้ำหนักราก และผลผลิตด้วย El-Nagdi *et al*. (2018) ทดสอบการใช้ *B. subtilis* และ *B. pumilus* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในถั่วลันเตา พบว่าสามารถลดจำนวนประชากรตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมในดินและราก จำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียในราก จำนวนกลุ่มไข่บนรากได้ Roy *et al*. (2015) ทดสอบจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในมะเขือเทศ พบว่าการใช้

B. subtilis ร่วมกับปุ๋ยคอกสามารถลดการเกิดโรคและปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมในดิน และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นอีกด้วย ยุวดี และคณะ (2559) ทดสอบการใช้เชื้อ *Bacillus* spp. 3 สายพันธุ์ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ในแปลงปลูกพริกขี้หนูผลใหญ่สายพันธุ์หัวเรือ พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถลดประชากรไส้เดือนฝอยได้ 31.3-35.0 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การใช้สารเคมีคาร์โบฟูราน ลดประชากรไส้เดือนฝอยรากปมได้ 43.0 เปอร์เซ็นต์ การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. 3 สายพันธุ์ร่วมกันให้ผลผลิตสูงสุด วีรกรณ์ และคณะ (2561) ได้รวบรวมและคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ของไส้เดือนฝอยรากปม และได้แบคทีเรีย *B. subtilis* ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมของพริกในเรือนทดลอง สามารถควบคุมโรคได้ดีถึง 90 เปอร์เซ็นต์

การทดลองนี้เป็นการนำแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn ซึ่งผ่านการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมโดยวีรกรณ์และคณะ (2561) มาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สูตรพร้อมใช้ และทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลอง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ, หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ, ตู้อบ ลมร้อน, ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ, เครื่องเขย่า, เครื่องชั่ง, เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง, อุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่น ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ

วิธีการ

1. เตรียมแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

นำแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn ที่เก็บไว้ในศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร ซึ่งแยกได้จากดินบริเวณรอบรากพริกและมีประสิทธิภาพในการ

ควบคุมโรคราก่ปมในพริก (วีรกรณ์และคณะ, 2561) มาเลี้ยงบนอาหาร Tryptic soy agar (TSA) เพื่อนำมาใช้ในการทดลอง

2. คัดเลือกอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 Yeast extract glucose broth (YGB)

กรรมวิธีที่ 2 Difco Sporulation Medium (DSM)

กรรมวิธีที่ 3 Tryptone glucose yeast extract

กรรมวิธีที่ 4 Tryptic soy broth (TSB) สูตรเปรียบเทียบ

นำแบคทีเรีย BS-DOA37rkn ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร TSA 36 ชั่วโมง มาขูดเชื้อลงในอาหารสูตรต่าง ๆ ตามกรรมวิธีการทดลองแล้วนำไปเขย่า ตรวจเช็คปริมาณเชื้อที่ระยะเวลา 24, 30, 36 และ 40 ชั่วโมงตามลำดับ

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

ตรวจเช็คปริมาณเชื้อที่ระยะเวลา 24, 30, 36 และ 40 ชั่วโมงตามลำดับ ด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA บ่มเชื้อ 48 ชั่วโมง จึงตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์สถิติ เพื่อคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย BS-DOA37rkn

3. ปรับสูตรอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn เพื่อลดต้นทุนการผลิตชีวภัณฑ์

เมื่อได้อาหารที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรียจากขั้นตอนที่ 2 แล้ว นำอาหารสูตรดังกล่าวมาเป็นแนวทางในการพัฒนาปรับสูตรอาหารใหม่เพื่อให้มีต้นทุนที่ลดลง แต่ยังคงมีประสิทธิภาพดีต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย โดยเลี้ยงแบคทีเรีย BS-DOA37rkn บนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 36 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ ที่ได้จากการปรับสูตรใหม่ นำไปเขย่าเป็นเวลา 24, 36, และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 อาหารสูตรที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตรที่ 2

กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตรที่ 3

กรรมวิธีที่ 4 อาหารสูตรที่ 4

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

ตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย คัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรียมากที่สุด

4. ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

ใช้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือกได้จากการทดสอบในขั้นตอนที่ 3 มาใช้ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

4.1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรียในรูปแบบอาหารเหลว

เลี้ยงแบคทีเรีย BS-DOA37rkn บนอาหาร TSA เป็นเวลา 30-36 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อลงในอาหารสูตรที่ได้จากการทดสอบในขั้นตอนที่ 3 นำไปเขย่าเป็นเวลา 30, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ แบ่งเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียที่บ่มไว้แต่ละระยะเวลาใส่หลอดทดลอง นำไปต้มในอ่างน้ำร้อน (water bath) ที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส เวลา 10-15 นาที ตรวจนับจำนวนเซลล์ด้วยวิธี ten-fold serial dilution 10^{-1}-10^{-8} และนำไปเกลี่ยให้ทั่วบนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งเป็นเซลล์แขวนลอยเชื้อที่ไม่ได้นำไปต้มในอ่างน้ำร้อน

4.2 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรียในรูปแบบอาหารแข็ง

เลี้ยงแบคทีเรีย BS-DOA37rkn บนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 36 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้ไป streak บนอาหารสูตรที่ได้จากการทดสอบในขั้นตอนที่ 3 ในจานเลี้ยงเชื้อ แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 30, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ ตรวจเช็คการสร้างเอนโดสปอร์ของเชื้อ ด้วยการย้อมเอนโดสปอร์ตามวิธีการของ Schaeffer-Fulton และนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

ตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย

5. คัดเลือกชนิดสารตัวพา (carrier) และวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn (ดัดแปลงจากวิธีการของณัฏฐิมา และคณะ, 2551)

เลี้ยงแบคทีเรีย BS-DOA37rkn บนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 36 ชั่วโมง เพื่อนำไปใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารที่ได้คัดเลือกจากขั้นตอนที่ 3 โดยเลี้ยงทั้งในรูปแบบอาหารเหลวด้วยวิธีการเขย่า และรูปแบบอาหารแข็งในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อไว้ตามระยะเวลาที่เหมาะสม ตามขั้นตอนที่ 4 เติมสารละลาย $MgSO_4.7H_2O$ และสารละลาย CMC (carboxymethyl cellulose) ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปคลุกผสมกับสารตัวพาชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. Kaolin
2. Diatomite
3. Pumice sulfate + Kaolin
4. Pumice sulfate + Diatomite + kaolin

หลังผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว นำไปตากให้แห้งและบดให้ละเอียด ตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย และตรวจเช็คปริมาณเชื้ออีกครั้งเมื่อครบ 30 วัน เพื่อเลือกชนิดสารตัวพา (carrier) และวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด

การบันทึกข้อมูล

ตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย และตรวจเช็คปริมาณเชื้ออีกครั้งเมื่อครบ 30 วัน

6. ตรวจสอบความอยู่รอด (shelf life) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn

นำชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้ไปเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้อง 27± 2 องศาเซลเซียส และเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส ตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี ten-fold serial dilution บนอาหาร TSA บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี ซึ่งการตรวจเช็คความอยู่รอดของเชื้อจะทำทุก ๆ เดือน เป็นระยะเวลา 12 เดือน

7. ทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ที่เหมาะสมในการควบคุมโรครากปมในสภาพแปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 120 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 150 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ชีวภัณฑ์ BS-DOA37rkn อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 รองก้นหลุมก่อนปลูกด้วยสาร fipronil 0.3% G อัตรา 2 กรัมต่อหลุม

กรรมวิธีที่ 7 ไม่ใช้ชีวภัณฑ์และสารเคมี

การเตรียมแปลงที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม

เลือกพื้นที่ที่มีประวัติการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม เก็บตัวอย่างดินและรากพืชจากแปลงนำมาแยกไส้เดือนฝอยรากปม ตรวจสอบชนิดและเพิ่มในต้นมะเขือเทศ เตรียมกล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดาในถุงเพาะกล้า เมื่อต้นกล้าอายุ 4 สัปดาห์ปลูกเชื้อด้วยไข่ไส้เดือนฝอยรากปมที่เลี้ยงไว้อัตรา 300 ฟองต่อต้น เมื่อต้นกล้าอายุ 6 สัปดาห์ นำไปปลูกลงในแปลง ระยะปลูก 50 x 50 เซนติเมตร จากนั้น 2 เดือนหลังปลูก ตรวจสอบการเกิดปมและสร้างกลุ่มไข่บริเวณรากมะเขือเทศ ตัดต้นมะเขือเทศและไถพลิกดินเพื่อคลุกเคล้ารากมะเมือเทศลงในดิน และเตรียมแปลงปลูกพริก

การเตรียมแปลงทดลองและปฏิบัติการทดลอง

เตรียมแปลงทดลองพริก ขนาดแปลงทดลองย่อย 1.5 x 5.0 เมตร ระยะปลูกระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ระหว่างแถว 100 เซนติเมตร ปลูกพริก 20 ต้นต่อแปลง ก่อนปลูกเก็บตัวอย่างดินจากแต่ละหลุมปลูกรวม 20 จุดต่อแปลง เพื่อตรวจนับจำนวนตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองในดินเพาะกล้าพริกในถาดเพาะกล้า สำหรับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ให้รดต้นกล้าพริกด้วยชีวภัณฑ์ อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้งก่อนย้ายปลูกห่างกัน 1 สัปดาห์ แช่กล้าพริกด้วยชีวภัณฑ์อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 30 นาที ก่อนย้ายปลูก และพ่นชีวภัณฑ์ลงในหลุมปลูกก่อนย้ายกล้า และพ่นบริเวณโคนต้นทุกสัปดาห์ รวม 6 ครั้ง โดยใช้หัวพ่นแบบพัด อัตราน้ำ 100 ลิตรต่อไร่

การตรวจผลการทดลอง

ตรวจผลการการทดลอง 120 วันหลังปลูกพริก วัดความสูง ชั่งน้ำหนักต้น ชั่งน้ำหนักราก น้ำหนักผลผลิตพริก ประเมินระดับการเกิดปมที่รากโดยการให้คะแนน ระดับ 0 = ไม่เกิดปม, 1 = เกิดปมเล็กน้อย (<10%), 2 =เกิดปม 11-25% ของระบบราก, 3 = เกิดปม 26-50% ของระบบราก, 4 = เกิดปม 51-75% ของระบบราก, 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก (Kinloch, 1990) คำนวณดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease Severity Index, DSI) โดยใช้สูตร

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease Severity Index, DSI)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นพืชแต่ละระดับอาการ} \times \text{คะแนนของระดับอาการ)}}{\text{จำนวนต้นพืชทดสอบทั้งหมด} \times \text{คะแนนสูงสุดของระดับอาการ}} \times 100$$

วัดปริมาณตัวอ่อนระยะที่สองในดิน โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจากแปลงทดลองย่อย 5 จุดต่อแปลง คลุกเคล้าเข้าด้วยกัน ตรวจนับปริมาณตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมในดิน จากดิน 250 กรัม โดยแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินโดยการกวนในน้ำปริมาตร 2 ลิตร กรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่าง และนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรอง ที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด (Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique) เก็บตัวไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำสะอาด ไปตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เวลาและสถานที่

- **ระยะเวลาดำเนินการ :** ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567
- **สถานที่ดำเนินการ :** - ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช
  - แปลงทดลอง จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การคัดเลือกอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-RKN37

คัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อทางการค้าที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn พบว่ากรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร Yeast extract glucose broth (YGB) เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn (ตารางที่ 1) จึงคัดเลือกอาหารสูตรนี้ไปปรับเป็นสูตรอาหารที่มีต้นทุนต่ำกว่าอาหารทางการค้า ทั้งรูปแบบอาหารเหลวและอาหารแข็ง

การปรับสูตรอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-RKN37 เพื่อลดต้นทุนการผลิตชีวภัณฑ์

ได้สูตรอาหารเหลว 1 สูตร และสูตรอาหารแข็ง 1 สูตร ซึ่งเป็นอาหารสูตรใหม่ที่มีต้นทุนต่ำกว่าสูตรอาหารทางการค้า และเหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn ในปริมาณมาก

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-RKN37

พบว่าการเลี้ยง ในอาหารเหลวสูตรใหม่และเขย่าเป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถเพิ่มปริมาณเซลล์แบคทีเรียได้สูงที่สุด สำหรับการเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหารแข็งสูตรใหม่พบว่าที่ 48 ชั่วโมง แบคทีเรียสามารถเจริญได้เต็มหน้าอาหารในจานเลี้ยงเชื้อ เช่นเดียวกัน

การคัดเลือกชนิดสารตัวพา (carrier) และวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-RKN37

คัดเลือกชนิดสารตัวพา (carrier) และวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ B. subtilis สายพันธุ์ BS-DOA37rkn พบว่าการใช้ Zeolite + Diatomite (อัตรา 1:1) เป็นสารพาที่มีความเหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์ B. subtilis สายพันธุ์ BS-DOA37rkn สูตรผงพร้อมใช้มากที่สุด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

แบคทีเรียสายพันธุ์ BS-DOA37rkn เป็นแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม จึงมีศักยภาพในการนำมาผลิตเป็นชีวภัณฑ์ จึงมีการวิจัยพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อและพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์สูตรผงพร้อมใช้ จากผลการดำเนินงานได้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหลว 1 สูตร และสูตรอาหารแข็ง 1 สูตร ที่มีต้นทุนต่ำกว่าสูตรอาหารทางการค้า และพบว่าการใช้ Zeolite + Diatomite (อัตรา 1:1) เป็นสารพาที่มีความเหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA37rkn รูปแบบผลิตภัณฑ์สูตรผงพร้อมใช้มากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

มนตรี เอี่ยมวิมังสา จรัส ชื่นราม และวิชิต จรัสเจษฎา. 2531. ศึกษาการสูญเสียผลผลิตของพริกห้วยสีทน-1 เนื่องจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* (Kofo.& Whit.) Chit. หน้า 62-66. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2532*. สาขาไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา วิชิต จรัสเจษดา และจรัส ชื่นราม. 2533. อิทธิพลของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและอายุการเก็บรักษาของขิง. หน้า 17-25. *ใน : รายงานผลงานวิจัย ปี 2533*. กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา. 2534. โรคแง่งหูดขิง. *กสิกร* 64 (6): 614-615.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา. 2538. *เอกสารวิชาการ ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช*. กรมวิชาการเกษตร 190 หน้า.

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี. 2542. โรครากปมของปทุมมาและกระเจียว. *กสิกร*. 72(2): 121-125.

ยุวดี ชูประภาวรรณ สุภาวดี แก้วระหัน และสมชาย คำแน่น. 2559. การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมพริกในสภาพแปลงปลูก. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์* 3: 118-124.

วีรกรณ์ แสงไสย์ ไตรเดช ข่ายทอง ธิติยา สารพัฒน์ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2561. การคัดเลือกเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมใน

พริก. หน้า 2525-2534. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจาปี 2561 เล่ม 4*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Basyony, A.G. and G.A. Abo-Zaid. 2018. Biocontrol of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, using an eco-friendly formulation from *Bacillus subtilis*, lab. and greenhouse studies. Egyptian *Journal of Biological Pest Control*. 28: 87

El-Nagdi, W.M.A., H. Abd-El-Khair and M.G. Dawood. 2018. Nematocidal Effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* Against *Meloidogyne incognita* infecting Pea. *Advances in Agricultural Science*. 6: 52-59.

Jonathan, E.I., T. Raguchander, M.Z. Bagam and S. Sundaramoorthy. 2009. Field efficacy of biocontrol agents for the management of root knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitw. and reniform nematode *Rotylenchulus reniformis* (Linford & Oliviera) in tomato. *Journal of Biological Control*. 23: 311-316.

Mokbel, A.A. and A.A. Alharbi. 2014. Suppressive effect of some microbial agents on root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* infected eggplant. *Australian Journal of Crop Science*. 8: 428-1434.

Roy, S., A. Rathod and A. Pramanik. 2015. Bioefficacy of *Bacillus subtilis* against root knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood in tomato. *Journal of Applied and Natural Science* 7: 1012-1015.

ตารางที่ 1 คัดเลือกอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-RKN37

กรรมวิธี	**ปริมาณเชื้อที่เลี้ยงตามระยะเวลาต่างๆ (cfu/ml)**			
	24 ชั่วโมง	**30 ชั่วโมง**	**36 ชั่วโมง**	**40 ชั่วโมง**
1. Yeast extract glucose broth (YGB)	3.05×10^7	2.80×10^8	3.15×10^9	4.75×10^9
2. Difco Sporulation Medium (DSM)	1.90×10^7	2.65×10^8	5.50×10^9	2.25×10^8
3. Tryptone glucose yeast extract	2.05×10^7	2.40×10^8	5.0×10^8	2.10×10^8
4. Tryptic soy broth (TSB)	2.25×10^7	2.90×10^8	4.50×10^8	2.25×10^8
สูตรเปรียบเทียบ				

ภาพที่ 1 การคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ Bs-DOA 37rkn เพื่อลดต้นทุนการผลิต

ภาพที่ 2 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ Bs-DOA 37rkn สูตรผงพร้อมใช้เพื่อควบคุมโรครากปมพริก

พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า

Formulation and Application of *Bacillus subtilis* to Control Black Rot Disease on Kale

ณัฐธิดา เติมสังข์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รุ่งนภา ทองเครั่ง กาญจนา ศรีไม้ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบชนิดสารพาที่เหมาะสมในการพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 เป็นรูปแบบผงสูตรพร้อมใช้ พบว่าเกาลิน (kaolin) เป็นสารพาที่เหมาะสม มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดี มีการแขวนลอยในน้ำได้นานตกตะกอนช้า ตกตะกอนหมดภายใน 30-60 นาที ผลการตรวจสอบความอยู่รอด (shelf life) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 หลังการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง (28+2 องศาเซลเซียส) ได้ข้อมูลปริมาณเชื้อดังนี้ เดือนที่ 1-6 เท่ากับ $3.65x10^9$, $3.42x10^9$, $2.20x10^9$, $1.60x10^9$, $1.35x10^9$ และ $2.80x10^8$ ตามลำดับ การเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 6 เดือน ได้ข้อมูลปริมาณเชื้อดังนี้ เดือนที่ 1-6 เท่ากับ $3.80x10^9$, $3.75x10^9$, $3.40x10^9$, $2.80x10^9$, $2.35x10^9$ และ $2.10x10^9$ ตามลำดับ

คำหลัก : โรคเน่าดำ ชีวภัณฑ์ แบคทีเรีย

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-05-65

คำนำ

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control of plant pathogen) คือ การลดปริมาณประชากรของเชื้อโรคพืชหรือลดกิจกรรมของเชื้อก่อโรคที่จะก่อให้เกิดโรคกับพืชให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืช โดยปัจจุบันการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืชได้รับความสนใจและนำมาปรับใช้ควบคุมโรคพืชทดแทนการใช้สารเคมี ซึ่งมีการรายงานว่าเชื้อจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์มีประสิทธิภาพทัดเทียมการใช้สารเคมี (Prathuangwong, 2016)

กลไกหลักของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยทั่วไป คือ การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชทั้งในลักษณะการผลิตสารยับยั้ง (antibiosis) และการเจริญแข่งขันครอบครองพื้นที่ (competition) กับเชื้อสาเหตุโรคที่ผิวพืช (Campbell, 1989; Suwanto *et al*., 1996) นอกจากนี้ยังความสามารถในการอยู่อาศัยร่วมกับรากพืชและไม่เป็นโทษกับพืช (mutualism หรือ symbiosis) เพื่อส่งเสริมการใช้ธาตุอาหารของพืช ตลอดจนกระตุ้นให้พืชผลิตสารต่างๆ ออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อโรคในกลไก systemic acquired resistance (SAR) และ induced system resistance (ISR) รวมทั้งการผลิตสารกระตุ้นให้พืชเจริญเติบโตได้เต็มศักยภาพทางพันธุกรรมที่จัดเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Prathuangwong, 2016) แบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. เป็นกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยมในอันดับต้น ๆ เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นหลายประการ เช่น พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม สารเคมี รังสี และความร้อนได้ดีกว่าเซลล์ปกติ สามารถทนต่ออุณหภูมิช่วงกว้างตั้งแต่ -5 ถึง 75 องศาเซลเซียสได้ เจริญได้ใน pH 2-8 ทนความเค็มเกลือ NaCl ได้ถึง 25% (El-Hassan and Gowen, 2006) แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติยังยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด เช่น bacillomycin, iturin, mycosubtilin, bacilysin, fengymycin และ mycobacillin เป็นต้น นอกจากนั้นยังสามารถสร้างเอนไซม์ที่สำคัญ ได้แก่ glucanase ที่สามารถย่อยสลาย glucans และ chitinase ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราได้ (นิตยา, 2549) แบคทีเรีย *Bacillus* spp. บางชนิดเมื่ออยู่ในสภาพที่ขาดธาตุเหล็ก จะสร้างสาร siderophore เพื่อไปจับกับ ferric iron แล้วเคลื่อนย้ายสู่ตัวรับ (receptor) ที่บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรียเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ (Hu and Boyer, 1996) ซึ่งจะรบกวนกระบวนการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่อยู่ในบริเวณเดียวกัน ส่งผลให้การเกิดโรคของพืชลดลงได้ (Shoda, 2000) นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. หลายชนิดมีคุณสมบัติช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria : PGPR) และชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน (Induce Systemic Resistant : ISR) ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช ทั้งเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และไส้เดือนฝอยได้ (Kloepper *et al*., 2004)

ในประเทศไทยมีรายงานการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สุกล *Bacillus* มาใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชค่อนข้างหลากหลาย มีรายงานการคัดเลือก การทดสอบศักยภาพในโรงเรือนปลูกพืชทดลองและแปลงเกษตรกร และการผลิตเป็นชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลากหลายชนิด โดยณัฏฐิมา และคณะ (2547) ได้แยกเชื้อ *Bacillus* spp.

จากดินรากพืชและปุ๋ยคอก 525 ไอโซเลท ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* พบว่ามี 4 ไอโซเลท ที่สามารถควบคุมและลดการเกิดโรคเหี่ยวของขิงได้ประมาณ 70-100% ในสภาพโรงเรือน ต่อมาณัฏฐิมา และคณะ (2557) ได้ทดสอบประสิทธิภาพ *B. subtillis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 ควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในสภาพแปลงเกษตรกร อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ 60% ในสภาพแปลง บูรณี และคณะ (2554) ทดสอบประสิทธิภาพของ *B. subtillis* สายพันธุ์ UB No.2 แ ละ UB No.25 ควบคุมโรคเหี่ยวของพริกในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าสามารถควบคุมโรคได้ 60 และ 66.67% บุษราคัม และณัฏฐิมา (2550) ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* spp. ไอโซเลท 2G4, 22W10, 20W12, 17G18 และ 20W4 มีศักยภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ 100% และไอโซเลท 17G18 มีศักยภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และ *F. solani* นอกจากนั้นบุษราคัม และคณะ (2555) ยังพบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W1, 20W4, 17G18 และ 20W5 สามารถลดการเกิดโรคใบจุดคะน้าเท่ากับ 32.88, 34.70, 34.97 และ 38.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในแปลงคะน้าได้ดี เทียบเคียงกับการควบคุมโรคโดยการใช้ mancozeb 80% WP Juma *et al.* (2015) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ *B. subtilis* BS-01 และ *Trichoderma asperellum* TRC-900 ในการยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดินในผักตระกูลคะน้า (ethiopian kale) โดยการเคลือบเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกด้วย *B. subtilis* BS-01 และ *T. asperellum* TRC-900 ผลการทดลอง พบว่า สามารถลดความสูญเสียจากสาเหตุโรคเน่าคอดินของเมล็ดพันธุ์ก่อนงอกได้ 11 -25.4% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการเคลือบเมล็ดซึ่งเป็นโรคถึง 64.8% (Juma *et al* ,.2015) ปิติพงษ์ (2559) พบว่า เมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิ 105 ที่เคลือบด้วยสารชีวภาพ ต้นกล้ามีความแข็งแรงเจริญเติบโตดี และพัฒนาระบบรากได้ดี จักรพงษ์และคณะ (2561) ทำ Seed Treatment ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อความงอกและการเติบโตของผักกาดหอม พบว่าการพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ช่วยส่งเสริมความยาวของรากผักกาดหอม มีรายงานของ Kim *et al.* (2018) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *B. toyonensis* ไอโซเลท CAB12243-2 มาควบคุมเชื้อ *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* สาเหตุโรคเน่าเละของผักกาดขาวในสภาพแปลง พบว่ามีประสิทธิภาพการควบคุมโรคเน่าเละเท่ากับ 73.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับ Issazadeh *et al.* (2012) ได้นำเอาเชื้อแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ได้แก่ *B. thuringiensis, B. cereus, B. subtilis, B. megaterium* และ *B. pumilus* มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv .*campestris* สาเหตุโรคเน่าดำ และเชื้อ *P. carotovorum* subsp .*carotovorum* สาเหตุโรคเน่าเละ พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทุกไอโซเลท สามารถควบคุมโรคเน่าดำและโรคเน่าเละได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ตู้อบ (Hot air oven) ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) เครื่องเขย่า (Shaker) เครื่องชั่ง เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) อุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่น ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ และวัสดุเกษตร เช่น กระถาง วัสดุปลูก อุปกรณ์รดน้ำ

วิธีการ

1. ศึกษาสารพา *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า (ปี 2565)

1.1 การเตรียมแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10

เลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 (จากงานทดลองการควบคุมโรคเน่าดำของคะน้าในสภาพโรงเรือนทดลอง) บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ให้ได้โคโลนีเดี่ยวอายุ 24-36 ชั่วโมง ใช้ loop ขูดแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 จำนวน 1 loop ลงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) ในการเพิ่มเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรียในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้งเก็บตะกอนของเซลล์แบคทีเรียเพื่อใช้ในการพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์

1.2 การศึกษาสารพาที่เหมาะสมของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10

ทำการศึกษาสารพา (ดัดแปลงจากณัฏฐิมาและคณะ, 2557; กฤติเดชและดุสิต, 2559; พงศธรและดุสิต, 2561) ดังนี้

1. Kaolin
2. Kaolin+ชานอ้อยเผา
3. Kaolin+Diatomaceous earth
4. Kaolin+โดโลไมต์
5. Kaolin+ชานอ้อยเผา+amino acid
6. Kaolin+Diatomaceous earth+amino acid
7. Kaolin+โดโลไมต์+amino acid

นำตะกอนแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ที่เตรียมไว้ในข้อ 1.1 ผสมลงใน 2.47% Magnesium Sulphate Heptahydrate (2.47%$MgSO_4.7H_2O$) ให้เข้ากัน เติม 2.5% carboximethyl cellulose (CMC) ในปริมาตรอัตราส่วน 2:1 จากนั้นนำไปผสมลงในสารพาตามกรรมวิธี ตากให้แห้งในที่ร่มแล้วบดให้เป็นผงละเอียดเก็บไว้ในถุงพลาสติก ตรวจปริมาณแบคทีเรียโดยวิธี serial dilution method ที่ค่าการเจือจาง 10^{-1}-10^{-8} บนอาหาร TSA ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ย

ให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 พร้อมคำนวณหาปริมาณของแบคทีเรีย เพื่อคัดเลือกสูตรสารพาที่มีความเหมาะสมอย่างน้อย 1 สูตร เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลองต่อไป

1.3 ศึกษาลักษณะการละลายน้ำของชีวภัณฑ์สูตรต่างๆ

ลักษณะการละลายน้ำของชีวภัณฑ์สูตรต่างๆตามกรรมวิธี โดยประเมินความสามารถในการละลายน้ำหลังผสมน้ำทันทีโดยใช้อัตราของสารพาผสมแบคทีเรียปฏิปักษ์ 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จับเวลาการละลายน้ำ แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ละลายน้ำภายใน 1-5 นาที ระดับ 2 ละลายน้ำภายใน 6-10 นาที ระดับ 3 ละลายน้ำภายใน 11-30 นาที ระดับ 4 ละลายน้ำภายใน 30-60 นาที และระดับ 5 ไม่ละลายน้ำ เกาะตัวเป็นกลุ่มด้านบนผิวน้ำ (กฤติเดชและดุสิต, 2559) และจับเวลาการตกตะกอนของสารพา แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 12 ชั่วโมง ระดับ 2 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 30-60 นาที ระดับ 3 ตะกอนหมดภายในเวลา 11-30 นาที ระดับ 4 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 5-10 นาที และระดับ 5 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 1-5 นาที

2. การตรวจสอบความอยู่รอด (shelf life) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็นตามระยะเวลาต่าง ๆ (ปี 2565-2566)

นำชีวภัณฑ์แต่ละสูตรแบ่งใส่ถุงพลาสติกถุงละ 20 กรัม เก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 28+2 องศาเซลเซียส) และเก็บรักษาในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 4-15 องศาเซลเซียส) จากนั้นสุ่มตัวอย่างชีวภัณฑ์แต่ละสูตรมา 1 ถุง ตรวจนับปริมาณของแบคทีเรียทุกๆ 1 เดือน เป็นระยะเวลา 12 เดือน (ณัฏฐิมาและคณะ, 2557) โดยวิธี serial dilution method ที่ค่าการเจือจาง 10^{-1}-10^{-8} บนอาหาร TSA ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 พร้อมคำนวณหาปริมาณของแบคทีเรีย เพื่อทำการคัดเลือกชีวภัณฑ์ที่มีเหมาะสมมากสุดมา 1 สูตรนำไปทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงทดลองต่อไป

3. ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์สูตรผงในสภาพแปลงทดลอง (ปี 2566-2567)

3.1 การเตรียมแปลงปลูกพืช (ปีละ 1 แปลงทดลอง)

เตรียมแปลงปลูกคะน้าขนาดแปลงย่อย 1X5 เมตร เว้นระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย นำเมล็ดคะน้ามาหว่านลงบนแปลงปลูกที่เตรียมไว้กลบด้วยดินละเอียดบาง ๆ อัตรา 7.5 กรัมต่อแปลงย่อย โดยเปรียบเทียบจากการใช้เมล็ดคะน้าอัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ (กลุ่มรักเกษตร, 2531) และรดน้ำให้ทั่วแปลง แล้วคลุมด้วยฟางหรือหญ้าแห้งเพื่อป้องกันต้นอ่อนจากแสงแดด และรักษาความชื้นของผิวดินหลังคะน้างอกประมาณ 10-15 วัน หรือต้นสูงประมาณ 10 เซนติเมตร ให้เริ่มถอนแยกโดยถอนแยกต้นที่ไม่สมบูรณ์ออก (ตามวิธีเกษตรกร) เพื่อเว้นระยะให้ต้นกล้าได้เจริญเติบโต จากนั้นดูแลรดน้ำใส่ปุ๋ยตามขั้นตอนปกติ

3.2 การเตรียมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

เลี้ยงแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *campestris* (Xcc) ในอาหาร Nutrient broth (NB) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำไปผสมน้ำกลั่นอัตราเซลล์แขวนลอย 1 ส่วน: น้ำกลั่น 2 ส่วน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร โดยปรับค่าความขุ่นของเซลล์ให้มีความเข้มข้นเซลล์ประมาณ 10^6 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร นำไปปลูกเชื้อลงต้นคะน้าที่มีอายุ 25-30 วัน โดยวิธีพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียลงบนใบคะน้าให้ทั่วต้นในสภาพแปลงทดลอง

3.3 ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ในการควบคุมโรคเน่าดำของคะน้าในสภาพแปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) มี 4 ซ้ำ จำนวน 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นชีวภัณฑ์อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (ก่อนปลูกเชื้อ 1 วัน)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นชีวภัณฑ์อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (ก่อนปลูกเชื้อ 1 วัน)

กรรมวิธีที่ 3 พ่นชีวภัณฑ์อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (หลังปลูกเชื้อ 1 วัน)

กรรมวิธีที่ 4 พ่นชีวภัณฑ์อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (หลังปลูกเชื้อ 1 วัน)

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร zinc thiazole 20% W/V SC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (หลังปลูกเชื้อ 1 วัน)

กรรมวิธีที่ 6 พ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) (หลังปลูกเชื้อ 1 วัน)

เมื่อต้นคะน้าอายุ 25 วัน ปลูกชื้อ Xcc ให้ทั่วต้น หลังจากนั้น 1 วัน พ่นชีวภัณฑ์และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อตามกรรมวิธี พ่นให้ทั่วต้นทุก ๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง ประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคก่อนพ่นชีวภัณฑ์ทุกครั้ง โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ โดยสุ่มคะน้าจำนวน 15 ต้น/แปลงย่อย ประเมินแต่ละใบในต้นจำนวน 4 ใบ/ต้น

แบ่งระดับความรุนแรงของโรคเป็น 6 ระดับ (ดัดแปลงจาก Henz and Melo,1994; Da Silva *et al*.,2015) ดังนี้

0 = ใบพืชไม่แสดงอาการของโรค

1 = ใบพืชแสดงอาการของโรค 1-15% ของพื้นที่ใบ หรือพบอาการของโรค 1-2 แผลบนใบ (แผลมีเส้นผ่าศูนย์กลาง <1.5 เซนติเมตร)

2 = ใบพืชแสดงอาการของโรค 16-30% ของพื้นที่ใบ หรือพบอาการของโรค 3-5 แผลบนใบ (แผลมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5-4.0 เซนติเมตร)

3 = ใบพืชแสดงอาการของโรค 31-50% ของพื้นที่ใบ หรือพบอาการของโรคมากกว่า 5 แผลบนใบ (แผลมีเส้นผ่าศูนย์กลาง >4.0 เซนติเมตร)

4 = ใบพืชแสดงอาการของโรค 51-75% ของพื้นที่ใบ หรือพบอาการเนื้อเยื่อตาย แผลขยายลุกลามและใบไหม้

5 = ใบพืชแสดงอาการของโรค 76-100% ของพื้นที่ใบ หรือพบอาการใบร่วง ต้นตาย

นำค่าระดับความรุนแรงที่ประเมินได้มาคำนวณหาดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรค จากสูตร

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรค} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนใบแต่ละระดับอาการ X คะแนนของระดับอาการ)}}{\text{จำนวนใบของต้นพืชที่ทดสอบทั้งหมด X คะแนนสูงสุดของระดับอาการ}} X100$$

การบันทึกข้อมูล

ประเมินความรุนแรงของโรคก่อนพ่นชีวภัณฑ์ทุกครั้ง

เวลาและสถานที่

- ระยะเวลาดำเนินการ : ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565

- สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาชนิดสารพาที่เหมาะสมของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 จำนวน 7 ชนิด ดังนี้

1. เกาลิน (kaolin)
2. Kaolin+ผงถ่านชีวภาพ
3. Kaolin+Diatomaceous earth
4. Kaolin+โดโลไมต์
5. Kaolin+ผงถ่านชีวภาพ+amino acid
6. Kaolin+Diatomaceous earth+amino acid
7. Kaolin+โดโลไมต์+amino acid

พบว่า เกาลิน (kaolin) เป็นสารพาที่เหมาะสมในการพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 รูปแบบผง

2. การศึกษาลักษณะการละลายน้ำและการแขวนลอยของชีวภัณฑ์สูตรผง

พบว่าชีวภัณฑ์สูตรที่ใช้เกาลิน (kaolin) เป็นสารพาละลายน้ำได้ดี มีการแขวนลอยในน้ำได้นานตกตะกอนช้า ตกตะกอนหมดภายใน 30-60 นาที

3. การตรวจสอบความอยู่รอดของแบคทีเรีย B. subtilis สายพันธุ์ B10 ในสารพาหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ

ผลการตรวจความอยู่รอดของเชื้อในการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง (28+2 องศาเซลเซียส) เมื่อครบ 6 เดือน ได้ข้อมูลปริมาณเชื้อดังนี้ เดือนที่ 1-6 เท่ากับ $3.65x10^9$, $3.42x10^9$, $2.20x10^9$, $1.60x10^9$, $1.35x10^9$ และ $2.80x10^8$ ตามลำดับ

ผลการตรวจความอยู่รอดของเชื้อในการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 6 เดือน ได้ข้อมูลปริมาณเชื้อดังนี้ เดือนที่ 1-6 เท่ากับ $3.80x10^9$, $3.75x10^9$, $3.40x10^9$, $2.80x10^9$, $2.35x10^9$ และ $2.10x10^9$ ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เกาลิน (kaolin) เป็นสารพาที่เหมาะสมในการพัฒนาชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 ในรูปแบบสูตรผงพร้อมใช้ และมีคุณสมบัติในการละลายน้ำที่ดีมีการแขวนลอยในน้ำได้นานตกตะกอนช้า ตกตะกอนหมดภายใน 30-60 นาที อยู่ระหว่างการเก็บข้อมูลความอยู่รอด (shelf life) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 หลังการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 เดือน

เอกสารอ้างอิง

จักรพงษ์ กางโสภา R.K. Hynes และบุญมี ศิริ. 2561. ผลของการทำ Seed Treatment ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อความงอกและการเติบโตของผักกาดหอม. *วารสารเกษตร*. 34(3): 385-397.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2557. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum*. *วารสารกรมวิชาการเกษตร*. 32(3): 234-251.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล อรพรรณ วิเศษสังข์ และทัศนาพร ทัศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. หน้า 507-525. *ใน : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2547*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

นิตยา สุขทวี. 2549. *การโคลนยีนไคติเนสจากเชื้อ Bacillus spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 98 หน้า.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล สุรีย์พร บัวอาจ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และรสสุคนธ์ รุ่งแจ้ง. 2555.ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์จากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ 20W1 ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola*. *วารสารวิชาการเกษตร*. 35 (1): 1-13.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. การคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศและแตงกวา. หน้า 210-211. *ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่8*. 20-22 พฤศจิกายน 2550. ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน จ. พิษณุโลก.

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2554. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุม *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในพริก. *วารสารโรคพืช*. 25: 70-78.

ปิติพงษ์ โตบันลือภพ. 2559. *งานวิจัยสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ชีวภาพ เพื่อการปลูกข้าวหอมมะลิอินทรีย์*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: https://www.kehakaset.com/newsactivities_details.php?view_item=187 (4 มีนาคม 2563)

Campbell, R. 1989. *Biological control of Microbial Plant pathogens*. Cambridge University Press, Cambridge. 218 p.

El-Hassan, S.A. and S.R. Gowen. 2006. Formulation and delivery of the bacterial antagonist *Bacillus subtilis* for management of lentil vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*. *J. Phytopath*. 154: 148-155.

Hu, X. and G.L. Boyer. 1996. Siderophore-mediated aluminum uptake by bacillus megaterium ATTCC 19213. *Appl. Environ. Microbiol*. 11: 4044-4048.

Issazadeh, K., S.K. Rad, S. Zarrabi and M.R. Rahimibashar. 2012. Antagonism of *Bacillus* species against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. *African Journal of Microbiology Research*. 6(7): 1615-1620.

Juma, P., L. Murungi and T. Losenge. 2015. Biological Control of *Pythium aphanidermatum* causing dampling off disease in Ethiopian Kales. *Journal of Agriculture Technology*. 16(2): 231-243.

Kim, B.R., M.S. Park, K.S. Han, S.S. Hahm, I. Park, H. Song and J. Kyeong. 2018. Biological control using *Bacillus toyonensis* strain CAB12243-2 against soft rot on Chinese cabbage. *Korean Journal of Organic Agriculture*. 26(1): 129-140.

Kloepper, J.W., C.M. Ryu and S. Zhang. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*. 94: 1259-1266.

Prathuangwong, S. 2016. Biological Pest Management as Alternative and Supplemented-Pesticide Use in IPM Program. Pages 8-26. *In : Con. Proc. ASEAN+6 Organic Agriculture Forum 2016 Sustainable Agriculture*. June 28-30, 2016. The Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai, Thailand.

Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant disease. *J. Biosci. Bioeng*. 85: 515-521.

Suwanto, A., H. Friska and I. Sudirman. 1996. Characterization of *Pseudomonas fluorescens* B 29 and B39 DNA Profile, Hypersensitivity Test, and Assay of Bioactive Compound. *HAYATI J. Biosci*. 31(1): 15-20.

ภาพที่ 1 การคัดเลือกชนิดสารพาที่เหมาะสมในการพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ B10 จำนวน 5 ชนิด

พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. เพื่อควบคุมโรคราแป้งพืชตระกูลแตง

Development of Formulation and Application of *Bacillus* spp. bioagents for Controlling Powdery mildew in Cucumber

ทัศนาพร ทัศคร รุ่งนภา ทองเคริ่ง มะลิดา ชูรินทร์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทำการศึกษาเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. บนสูตรอาหารแข็งและสูตรอาหารเหลวที่เหมาะสมในการเตรียมผลิตชีวภัณฑ์ผง ซึ่งจากการทดสอบการเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง 6 สูตร ได้แก่ NA NGA PSA PDA MHA และ LBA และอาหารเหลว 6 สูตร ได้แก่ NB NGB PSB PDB MHB และ LB พบว่า สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อทุกสูตร มีความเหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 4 ไอโซเลท แต่สูตรอาหารแข็งที่สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp. ได้มากที่สุด คือ สูตรอาหาร PSA และ NGA สำหรับในสูตรอาหารเหลว พบว่า สูตรอาหารที่สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp. ได้มากที่สุด คือ สูตรอาหาร PDB และ NGB ในการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ผงที่ระยะเวลา 3 เดือน ณ ช่วงอุณหภูมิ 4-8 และ 28-30 องศาเซลเซียสนั้น พบว่า สามารถเก็บรักษาคุณภาพของชีวภัณฑ์ผงได้ดี พบมีปริมาณเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยไม่แตกต่างจากปริมาณเชื้อเริ่มต้น ซึ่งการทดลองต่อไปคือจะนำ ชีวภัณฑ์ผง ที่ผลิตได้ไปทำการทดสอบการป้องกันกำจัดโรคราแป้งในสภาพโรงเรือนทดลองต่อไป

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-06-65

คำนำ

ในการจัดการโรคราแป้งพืชตระกูลแตงให้มีประสิทธิภาพนั้น ต้องมีการประเมินและเฝ้าระวังการเกิดโรคซึ่งแต่ละเชื้อสาเหตุก็ใช้วิธีการจัดการโรคที่คล้ายคลึงกัน ในต่างประเทศได้รายงานว่าการจัดการโรคแบบผสมผสานหรือการใช้หลายวิธีร่วมกันจะมีประสิทธิภาพมากที่สุด ได้แก่ วิธีการเขตกรรม เช่น การใช้พันธุ์ต้านทานโรค ระบบการให้น้ำ การใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช (Fungicides) เช่น ซัลเฟอร์ คอปเปอร์ เป็นต้น ซึ่งพบว่าสามารถป้องกันกำจัดโรคได้ดีและมีการนำมาใช้ร่วมกับสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการผลิตแตงอินทรีย์ (Hector *et al*, 2014) ในงานวิจัยการป้องกันกำจัดโรคราแป้งโดยชีววิธีนั้น ด้วยการใช้ความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการเจริญครอบครองพื้นที่ผิวพืชให้ได้อย่างรวดเร็ว ก่อนที่สปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคราแป้งจะเข้าทำลายพืช ซึ่งในโรคราแป้งพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคจะเข้าทำลายพืชภายใน 72 ชั่วโมง หลังจากที่สปอร์ตกลงบนผิวพืช ดังนั้นในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค หรือลดการระบาดของโรคราแป้งได้ดีจึงต้องการเชื้อปฏิปักษ์ที่มีการเจริญที่รวดเร็วและสามารถครอบครองพื้นผิวพืชได้ดีกว่าเชื้อสาเหตุโรค จากรายงานต่างประเทศ พบว่ามีการศึกษาวิจัยใช้เชื้อรา *Ampelomyces quisquaris* ในการควบคุมเชื้อรา *E. cichoracearum, P. xanthii* สาเหตุโรคราแป้งในแตงกวาและเมล่อน (Sundheim, 1982) หรือการใช้ *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมเชื้อรา *P. xanthii* สาเหตุโรคราแป้งในแตงกวา (Elad, 2000 ; Elad *et al,* 1998) หรือการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมเชื้อรา *P. xanthii* ในพืชตระกูลแตง (Romero *et al,* 2004) นอกจากนี้ Wagner *et al* (1997) ได้ทดสอบสารเมตาบอไลท์ของเชื้อ *Bacillus subtilis* ก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค พบว่า สามารถลดการโรคราแป้งบนใบแตงกวาได้ 90-99 เปอร์เซ็นต์ ในห้องปฏิบัติการ และเมื่อทำการพ่นด้วย WPB (10%) และ CMB (10%) ของเชื้อแบคทีเรีย บนต้นแตงกวา ที่อัตรา 1,000 และ 10,000 ไมโครกรัม/มิลิลิตร จำนวน 2 ครั้งต่ออาทิตย์ ตลอดอายุพืช ที่ 18 วันหลังการพ่นครั้งแรก พบว่าในวิธีการพ่นเชื้อแบคทีเรีย WPB (10%) สามารถยับยั้งการเกิดแผลที่ใบได้ 26.1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในวิธีการพ่นเชื้อแบคทีเรีย CMB (10%) ไม่พบการเกิดแผลบนใบพืช เมื่อเปรียบกับวิธีการไม่พ่นเชื้อพบการเกิดโรค 99.0 และ 46.7 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาของ ทัศนาพร และคณะ (2564) ได้สำรวจ สุ่มเก็บตัวอย่างใบและต้นพืชตระกูลแตงชนิดต่างๆ ในปี 2562 เพื่อแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จำนวนทั้งหมด 30 ตัวอย่าง ได้นำตัวอย่างใบแตงที่เก็บมาได้จากแต่ละพื้นที่ มาแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ด้วยวิธี tissue transplanting และ Leaf wash technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ NGA ในห้องปฏิบัติการ สามารถแยกได้เชื้อราและแบคทีเรีย รวมทั้งหมด 213 ไอโซเลท ในปี 2563 ได้ทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมการเกิดโรคราแป้งแตงเมล่อน 2 พันธุ์ ในสภาพโรงเรือน พบว่า ในพันธุ์ โกลเด้น สวีท นั้นสามารถคัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคราแป้งได้ คือ ไอโซเลท DPD3 และ DPD5 พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้งเฉลี่ย 0.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธี DPD25, DPD24 และ DPD9 พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้งเฉลี่ย 1.6, 3.0

และ 4.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนผลการทดลองในพันธุ์ มรกต สามารถคัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคราแป้ง คือ ไอโซเลท DPD14 และ DPD23 พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้งเฉลี่ย 0.1 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธี DPD22, DPD15 และ DPD11 พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้งเฉลี่ย 1.3, 2.4 และ 8.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในปี 2564 ได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ DPD3, DPD5, DPD25, DPD24, DPD9, DPD14, DPD23, DPD22, DPD15 และ DPD11 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราแป้งในแตงเมล่อนในสภาพโรงเรือนทดลองเพื่อคัดเลือกอีกครั้ง โดยพ่นสารละลายแขวนลอยแบคทีเรียแต่ละไอโซเลท ทุก 5 วัน จำนวน 4 ครั้ง ผลการทดลอง พบว่า ที่ 5 วัน หลังการพ่นเชื้อครั้งสุดท้าย เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคราแป้งในแตงเมล่อนได้ดีที่สุด มี 4 ไอโซเลท คือ DPD 3, DPD 5, DPD 22, และ DPD 24 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้งเฉลี่ย 24.19 , 33.49, 34.19 และ 34.41 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า พบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้งเฉลี่ย 78.19 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้น วัตถุประสงค์ในการการศึกษาครั้งนี้ เพื่อวิจัยและพัฒนาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคราแป้ง เป็นชีวภัณฑ์ผงเชื้อสำเร็จรูป ซึ่งในการผลิตเป็นผงชีวภัณฑ์นั้น ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นที่จะนำไปผลิตมีความสำคัญ ซึ่งต้องมีปริมาณของเชื้อมากเพียงพอ ในการนำไปใช้และมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค และการมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียก็เป็นเรื่องสำคัญในการเก็บรักษาผงเชื้อให้มีสภาพ เพื่อนำไปใช้ในทดสอบการป้องกันกำจัดโรคในสภาพโรงเรือนทดลองต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ไอโซเลท DPD24 AS012 AS013 และ *B.* pumilus ไอโซเลท DPD05
2. ผงทัลคัม
3. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ
4. อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ flask
5. ถาดอะลูมิเนียม แผ่นฟอยล์
6. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หมอนึ่งความดันไอน้ำ เครื่องเขย่า ตู้อบลมร้อน ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. การพัฒนาชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp.

1.1 ศึกษาการเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp.บนอาหารแข็ง

เชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นไอโซเลทที่ได้คัดเลือกแล้วว่ามีศักยภาพในการควบคุมโรคราแป้งแตง 2 ไอโซเลท และเป็นไอโซเลทอื่นที่ได้จากการทดลองแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในหน่อไม้ฝรั่ง 2 ไอโซเลท รวมเป็น 4 ไอโซเลท โดยทำการเปรียบเทียบการเจริญและเพิ่มปริมาณบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสูตรต่างๆ เช่น PDA, NGA, PSA, NA, MH agar และ LB agar เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง และนำเชื้อที่ได้ไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผง ตามวิธีการของ ณัฏฐิมา และคณะ (2556) โดยการเติมสารละลาย magnesium sulfate (0.1 M) 10 มล. ต่อจานเลี้ยงเชื้อ กวาดเซลล์แบคทีเรียบนผิวอาหารให้ผสมในสารละลายจากนั้นนำไปผสมกับ methylcellulose 2.5% ในน้ำ ในปริมาตรที่เท่ากัน พักไว้ 20 นาที จึงผสมกับสารพาผง talc ที่นึ่งฆ่าเชื้อในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผสมให้เข้ากันดี นำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม บดให้เป็นผงละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 35 mesh เก็บไว้ถุงพลาสติกเพื่อการศึกษาต่อไป

1.2 ศึกษาการเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp.บนอาหารเหลว

ดำเนินการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 4 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตามข้อ 1.1. จากนั้นเปรียบเทียบการเจริญและเพิ่มปริมาณบนอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสูตรต่างๆ เช่น PDB, NGB, PSB, NB, MH broth และ LB liquid โดยใช้ลูปแตะเชื้อแต่ละไอโซเลท 1 ลูปใส่ลงใน flask ที่มีอาหารเหลวแต่ละสูตร ปริมาตร 200 มล. เขย่าที่ 150 rpm. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำเชื้อที่ได้ไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผง ตามวิธีการของ ณัฏฐิมา และคณะ (2556) ผสม carboxymethylcellulose 10 กรัมกับผง talc 1 กิโลกรัม นำส่วนผสมไปนึ่งฆ่าเชื้อนาน 30 นาที 2 วัน ติดต่อกันวันละครั้ง จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปริมาตร 400 มล. เทลงในส่วนผสมของผง talc และ carboxymethylcellulose 1 กิโลกรัม ผสมให้เข้ากันดีในสภาพปลอดเชื้อ เก็บไว้ถุงพลาสติกเพื่อการศึกษาต่อไป

1.3 การตรวจเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่ผลิตได้

โดยนำผงเชื้อ 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณเชื้อ *Bacillus spp.* ด้วยวิธี dilution plating บนอาหาร NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน แล้วตรวจนับเชื้อ *Bacillus spp.* ที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร

1.4 การตรวจเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

ทดสอบความอยู่รอดของเชื้อ *Bacillus spp.* และระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ของหัวเชื้อที่ผลิตได้ โดยทดสอบ 2 ระดับอุณหภูมิ ได้แก่ อุณหภูมิห้องที่ 28-30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส ทดสอบระยะเวลาในการเก็บรักษา 1-6 เดือน ทำการตรวจนับปริมาณตรวจนับเชื้อ *Bacillus spp.* ทุกเดือน

เวลาและสถานที่

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การพัฒนาชีวภัณฑ์ผง *Bacillus* spp.

ในการพัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. เพื่อควบคุมโรคราแป้งพืชตระกูลแตงนั้น ได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดโรคราแป้งในแตงเทศ จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ DPD05 DPD24 และอีก 2 ไอโซเลท ได้แก่ AS012 และ AS013 ไปทำการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลและคุณสมบัติทางชีวเคมี ซึ่งผลการจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล พบว่า ไอโซเลท DPD05 เป็นเชื้อ *Bacillus altitudinis* (type strain 41KF2bT) AS012 และ AS013 เป็นเชื้อ *Bacillus siamensis* ในการจำแนกชนิดด้วยคุณสมบัติทางชีวเคมี API พบว่า ไอโซเลท DPD05 เป็นเชื้อ *Bacillus pumilus* ส่วน ไอโซเลท AS012 AS013 และ DPD24 เป็นเชื้อ *Bacillus subtilis/ amyloliquefaciens*

1.1 ศึกษาการเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp.บนอาหารแข็ง

นำเชื้อ *B. subtilis* 3 ไอโซเลท และ *B. pumilus* 1 ไอโซเลท มาเลี้ยงขยายเพื่อเพิ่มปริมาณบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอาหารแข็ง ทั้งหมด 6 สูตร ได้แก่ NA NGA PSA PDA MHA และ LBA และนำเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลท ที่เลี้ยงขยายได้ในแต่ละสูตรอาหาร ไปทำการผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผง โดยดัดแปลงตามวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ของณัฏฐิมา และคณะ (2556) และทำการตรวจเช็คปริมาณเชื้อเริ่มต้น ด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหารแต่ละชนิด ที่ 48 ชั่วโมง พบว่า สูตรอาหารแข็งที่มีปริมาณเชื้อ *B. pumilus* ไอโซเลท DPD05 มากที่สุดคือ สูตรอาหาร NA พบมีปริมาณเชื้อ $1.50X10^{12}$ CFU/ml. รองลงมาคือ สูตรอาหาร PDA พบมีปริมาณเชื้อ $1.02X10^{12}$ CFU/ml. ในเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลท DPD24 AS012 และ AS013 พบว่า สูตรอาหารแข็งที่มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียมากที่สุด คือ สูตรอาหาร PSA พบมีปริมาณเชื้อ $1.55X10^{12}$ $1.94X10^{12}$ และ $9.00X10^{11}$ CFU/ml. ตามลำดับ รองลงมา คือ สูตรอาหาร NGA พบมีปริมาณเชื้อ $8.15X10^{11}$ $8.00X10^{11}$ และ $8.00X10^{11}$ CFU/ml. ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

1.2 ศึกษาการเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp.บนอาหารเหลว

ทำการเลี้ยงขยายเพื่อเพิ่มปริมาณบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอาหารเหลว ทั้งหมด 6 สูตร ได้แก่ NB NGB PSB PDB MHB และ LB และนำเชื้อ Bacillus ทั้ง 4 ไอโซเลท ที่เลี้ยงขยายได้ในแต่ละสูตรอาหารไปทำการผลิตเป็นชีวภัณฑ์ผง โดยดัดแปลงตามวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ของ ณัฏฐิมา และคณะ (2554) และทำการตรวจเช็คปริมาณเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique บนอาหารแต่ละชนิด ที่ 48 ชั่วโมง พบว่า สูตรอาหารเหลวที่มีปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *B. pumilus* ไอโซเลท DPD05 มากที่สุดคือ สูตรอาหาร LB พบมีปริมาณเชื้อ $4.83X10^{11}$ CFU/ml. รองลงมาคือ สูตรอาหาร MHB พบมีปริมาณเชื้อ $2.50X10^{10}$ CFU/ml. ในเชื้อ *B.subtilis* ไอโซเลท DPD24 พบสูตรอาหาร PDB มีปริมาณเชื้อมากที่สุด คือ $1.36X10^{12}$ CFU/ml. รองลงมาคือ สูตรอาหาร NGB พบมีปริมาณเชื้อ $1.26X10^{12}$ CFU/ml. ส่วนในเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลท AS012 พบสูตรอาหาร NB

มีปริมาณเชื้อมากที่สุด คือ $1.54X10^{12}$ CFU/ml. รองลงมาคือ สูตรอาหาร PDB พบมีปริมาณเชื้อ $1.26X10^{12}$ CFU/ml. และในไอโซเลท AS013 พบว่า สูตรอาหารที่มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียมากที่สุด คือ สูตรอาหาร PDB พบมีปริมาณเชื้อ $1.04X10^{11}$ CFU/ml. รองลงมา คือ สูตรอาหาร MHB พบมีปริมาณเชื้อ $9.75X10^{10}$ CFU/ml. ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

1.3 การตรวจปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

ทำการตรวจปริมาณเซลล์แบคทีเรีย Bacillus 4 ไอโซเลท ในชีวภัณฑ์สูตรผง ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4-8 และ 28-30 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 3 เดือน ผลการทดลองพบว่า ชีวภัณฑ์ผงที่ผลิตจากสูตรอาหารแข็งและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส มีปริมาณเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยจากปริมาณเริ่มต้น (ตารางที่ 2) และที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส พบว่า มีปริมาณเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยจากปริมาณเริ่มต้น เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 3) และในชีวภัณฑ์ผงที่ผลิตจากสูตรอาหารเหลวและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส พบว่ามีปริมาณเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยจากปริมาณเริ่มต้น (ตารางที่ 5) และที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส พบว่า มีปริมาณเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยจากปริมาณเริ่มต้นเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 6)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. บนสูตรอาหารแข็งและสูตรอาหารเหลวที่เหมาะสมในการเตรียมผลิตชีวภัณฑ์ผง ซึ่งจากการทดสอบการเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง 6 สูตร ได้แก่ NA NGA PSA PDA MHA และ LBA และอาหารเหลว 6 สูตร ได้แก่ NB NGB PSB PDB MHB และ LB พบว่า สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อทุกสูตร มีความเหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 4 ไอโซเลท แต่สูตรอาหารแข็งที่สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp. ได้มากที่สุด คือ สูตรอาหาร PSA และ NGA สำหรับในสูตรอาหารเหลว พบว่า สูตรอาหารที่สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp. ได้มากที่สุด คือ สูตรอาหาร PDB และ NGB ในการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ผง ที่ระยะเวลา 3 เดือน ณ ช่วงอุณหภูมิ 4-8 และ 28-30 องศาเซลเซียสนั้น พบว่า สามารถเก็บรักษาคุณภาพของชีวภัณฑ์ผงได้ดี พบมีปริมาณเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยไม่แตกต่างจากปริมาณเชื้อเริ่มต้น ซึ่งการทดลองต่อไปคือจะนำ ชีวภัณฑ์ผง ที่ผลิตได้ไปทำการทดสอบการป้องกันกำจัดโรคราแป้งในสภาพโรงเรือนทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2556. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ No.4 แบบเม็ดเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของขิง. หน้า 759-763. *ใน : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2556.* กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

ทัศนาพร ทัศคร วัชรี วิทยวรรณกุล และ บังอร นวลศรี. 2564. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุม โรคราแป้ง (Powdery mildew) พืชตระกูลแตง. หน้า. 666 -694. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2564 : เล่มที่ 1* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

Elad, Y., Kirshner, B., Yehuda, N., Sztejnberg, A. 1998. Management of powdery mildew and gray mould of cucumber by Trichoderma harzianum T39 and *Ampelomyces quisqualis* AQ10. BioControl, 43: 241-251.

Elad, Y. 2000. Biological Control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. Crop Protection, 19: 709-714.

Hector G., N. Palenius, D. Hopkins and J. Cantliffe. Powdery Mildew of Cucurbits in Florida เข้าถึง ข้อมูลเมื่อวันที่ 29 /5/2557

Jahn M., H. M. Munger, J. D. McCreight.2002. Breeding Cucurbit Crops for Powdery mildew Resistance. ***In*** Belanger R, WR Bushnell, AJ Dik, TLW Carver,ed, The powdery mildew. A Comprehensive Treatise. APS, St Paul, Minnesota, pp 239-248.

Mossler M. A. and O. N. Nesheim.2005. Florida Crop/Pest Management Profile: Squash. Electronic Data Information Source of UF/IFAS Extension (EDIS).CIR 1265. February, 3, 2005. แหล่งข้อมูล:http://edis.ifas.ufl.edu/hs321

Romero, D., Rivera, M.E., Cazorla, F.M., de Vicente, A. and Perez-Garcia, A. 2003.Effects of mycoparasitic fungi on the Development of *Sphaerotheca fusca* in melon leaves. Mycological Researchs, 107: 64-67.

Sundheim, L. 1982. Control of cucumber powdery mildew by the hyperparasite *Ampelomyces quisqualis* and fungicides. Plant Pathology, 31: 209-214.

Thomas A. Z., L.D. Hopkins and E. C. Thomas.1996. Compendium of Cucurbit Disease. The American Phytopathological Society Minnesota 55121-2097, USA. 87 p.

Wagner Bettiol, Angelo Garibaldi and Quirico Migheli. 1997. *Bacillus subtilis* for the control powdery mildew on Cucumber and Zucchini Squash. Bragantia. Vol 56 n.2 แหล่งข้อมูล : http://www.scielo.br/scielo.php

ตารางที่ 1 ปริมาณเซลแบคทีเรีย *Bacillus* spp.4 ไอโซเลท ในชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้จากสูตรอาหารแข็ง

ไอโซเลท	ปริมาณเซลแบคทีเรียในชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้จากสูตรอาหารแข็ง (CFU/ml)					
	NA	NGA	PSA	PDA	MHA	LBA
B. pumilus DPD05 (Lotno.00131072022)	$1.50x10^{12}$	$1.25x10^{10}$	$6.25x10^{11}$	$1.02x10^{12}$	$6.55x10^{9}$	$1.43x10^{7}$
B. subtillis DPD24 (Lotno.00101072022)	$1.05x10^{11}$	$8.15x10^{11}$	$1.55x10^{12}$	$2.94x10^{12}$	$6.50x10^{10}$	$1.15x10^{12}$
B. subtillis AS012 (Lotno.00105082022)	$4.45x10^{10}$	$8.00x10^{11}$	$1.94x10^{12}$	$9.50x10^{10}$	$2.00x10^{9}$	$1.95x10^{11}$
B. subtillis AS013 (Lotno.00108082022)	$7.55x10^{11}$	$8.00x10^{11}$	$9.00x10^{11}$	$2.85x10^{11}$	$5.50x10^{11}$	$1.00x10^{11}$

ตารางที่ 2 ปริมาณเซลแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 4 ไอโซเลท ในชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้จากสูตรอาหารแข็ง ที่เก็บรักษา 3 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง 28-30 องศาเซลเซียส

ไอโซเลท	ปริมาณเซลแบคทีเรียในชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้จากสูตรอาหารแข็ง (CFU/ml)					
	NA	NGA	PSA	PDA	MHA	LBA
B. pumilus DPD05 (Lotno.00131072022)	$1.50x10^{12}$	$8.15x10^{11}$	$1.27x10^{11}$	$2.95x10^{10}$	$6.55x10^{10}$	$9.50x10^{7}$
B. subtillis DPD24 (Lotno.00101072022)	$2.44x10^{11}$	$5.00x10^{11}$	$1.33x10^{12}$	$3.00x10^{12}$	$1.98x10^{10}$	$9.75x10^{11}$
B. subtillis AS012 (Lotno.00105082022)	$3.70x10^{10}$	$3.00x10^{10}$	$3.95x10^{11}$	$1.55x10^{10}$	$1.00x10^{10}$	$3.85x10^{11}$
B. subtillis AS013 (Lotno.00108082022)	$3.00x10^{12}$	$3.00x10^{10}$	$1.50x10^{11}$	$3.25x10^{11}$	$2.00x10^{10}$	$3.95x10^{11}$

ตารางที่ 3 ปริมาณเซลแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 4 ไอโซเลท ในชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้จากสูตรอาหารแข็ง ที่เก็บรักษา 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส

ไอโซเลท	ปริมาณเซลแบคทีเรียในชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้จากสูตรอาหารแข็ง (CFU/ml)					
	NA	NGA	PSA	PDA	MHA	LBA
B. pumilus DPD05 (Lotno.00131072022)	$7.00x10^{11}$	$9.00x10^{10}$	$1.64x10^{11}$	$1.50x10^{11}$	$1.50x10^{11}$	$3.00x10^{10}$
B. subtillis DPD24 (Lotno.00101072022)	$1.53x10^{12}$	$3.90x10^{11}$	$2.00x10^{11}$	$1.25x10^{12}$	$2.50x10^{9}$	$4.95x10^{10}$
B. subtillis AS012 (Lotno.00105082022)	$1.72x10^{12}$	$3.00x10^{12}$	$3.00x10^{12}$	$3.00x10^{12}$	$1.50x10^{10}$	$1.00x10^{10}$
B. subtillis AS013 (Lotno.00108082022)	$7.45x10^{11}$	$1.50x10^{10}$	$9.25x10^{11}$	$1.6x10^{10}$	$4.10x10^{11}$	$1.78x10^{12}$

ตารางที่ 4 ปริมาณเซลแบคทีเรีย *Bacillus* spp.4 ไอโซเลท ในชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้จากสูตรอาหารเหลว

ไอโซเลท	ปริมาณเซลแบคทีเรียในชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้จากสูตรอาหารเหลว (CFU/ml)					
	NB	NGB	PSB	PDB	MHB	LB
B. pumilus DPD05 (Lot no.00109072022)	$1.00x10^{9}$	$7.50x10^{6}$	$1.50x10^{10}$	$1.50x10^{10}$	$2.50x10^{10}$	$4.83x10^{11}$
B. subtillis DPD24 (Lot no.00109072022)	$1.00x10^{10}$	$1.26x10^{12}$	$9.0x10^{11}$	$1.36x10^{12}$	$6.50x10^{10}$	$1.15x10^{12}$
B. subtillis AS012 (Lot no.00105082022)	$1.54x10^{12}$	$4.30x10^{10}$	$2.00x10^{9}$	$1.50x10^{11}$	$3.85x10^{9}$	$5.50x10^{10}$
B. subtillis AS013 (Lot no.00108082022)	$1.00x10^{10}$	$8.50x10^{9}$	$5.50x10^{9}$	$1.04x10^{11}$	$9.75x10^{10}$	$2.80x10^{10}$

ตารางที่ 5 ปริมาณเซลแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 4 ไอโซเลทในชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้จากสูตรอาหารเหลวที่เก็บรักษา 3 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง 28 -30 องศาเซลเซียส

ไอโซเลท	ปริมาณเซลแบคทีเรียในชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้จากสูตรอาหารเหลว (CFU/ml)					
	NB	NGB	PSB	PDB	MHB	LB
B. pumilus DPD05 (Lot no.00109072022)	$9.0x10^{10}$	$1.00x10^{6}$	$1.00x10^{10}$	$1.40x10^{11}$	$2.00x10^{10}$	$7.00x10^{10}$
B. subtillis DPD24 (Lot no.00109072022)	$1.50x10^{12}$	$7.00x10^{10}$	$3.50x10^{10}$	$1.95x10^{12}$	$8.50x10^{10}$	$5.50x10^{10}$
B. subtillis AS012 (Lot no.00105082022)	$1.50x10^{12}$	$6.5x10^{11}$	$7.00x10^{8}$	$1.50x10^{12}$	$1.45x10^{10}$	$1.50x10^{10}$
B. subtillis AS013 (Lot no.00108082022)	$1.50x10^{10}$	$1.00x10^{9}$	$1.50x10^{9}$	$1.90x10^{11}$	$5.00x10^{9}$	$3.3x10^{11}$

ตารางที่ 6 ปริมาณเซลแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 4 ไอโซเลทในชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้จากสูตรอาหารเหลวที่เก็บรักษา 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส

ไอโซเลท	ปริมาณเซลแบคทีเรียในชีวภัณฑ์ผงพร้อมใช้จากสูตรอาหารเหลว (CFU/ml)					
	NB	NGB	PSB	PDB	MHB	LB
B. pumilus DPD05 (Lot no.00109072022)	$1.00x10^{9}$	$8.50x10^{9}$	$1.00x10^{10}$	$8.00x10^{11}$	$5.00x10^{10}$	$5.5x10^{11}$
B. subtillis DPD24 (Lot no.00109072022)	$2.75x10^{10}$	$4.30x10^{9}$	$1.50x10^{11}$	$1.50x10^{11}$	$1.00x10^{8}$	$3.00x10^{9}$
B. subtillis AS012 (Lot no.00105082022)	$1.22x10^{12}$	$1.50x10^{12}$	$1.29x10^{12}$	$1.50x10^{10}$	$7.50x10^{11}$	$0.50x10^{8}$
B. subtillis AS013 (Lot no.00108082022)	$1.50x10^{12}$	$1.95x10^{11}$	$1.89x10^{12}$	$1.50x10^{12}$	$1.65x10^{11}$	$1.00x10^{11}$

พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ในมะนาว

Development of Formulation and Application of *Bacillus subtilis* for Controlling Canker Disease of Lime

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ
รุ่งนภา ทองเครั่ง กาญจนา ศรีไม้
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27 เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ (canker) ในมะนาว ที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas citri* subsp. *citri* ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึง เดือนกันยายน 2565 มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 สูตรผงที่เกษตรกรสามารถนำไปใช้ได้ง่ายและมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว โดยศึกษาวัสดุรองรับ (สารพา) ที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวภัณฑ์ชนิดผง จำนวน 5 สารพา พบว่าสารพาที่เหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 สูตรผงพร้อมใช้ คือ Kaolin + Diatomaceous earth ซึ่งมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียสูงที่สุด จำนวน 7.5×10^9 หน่วยโคโลนี/กรัม เมื่อตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) หลังการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 4-15 องศาเซลเซียส) นาน 8 เดือน พบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 มีปริมาณลดลง โดยมีจำนวน 5.15×10^8 หน่วยโคโลนี/กรัม ส่วนการเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 28 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส) นาน 8 เดือน พบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 มีปริมาณลดลง โดยมีจำนวน 2.50×10^7 หน่วยโคโลนี/กรัม การศึกษาลักษณะการละลายน้ำและการแขวนลอยในน้ำของสารพา พบว่าสารพา Kaolin + Diatomaceous earth ละลายน้ำภายใน 6-10 นาที ส่วนการแขวนลอยในน้ำพบว่า สารพา Kaolin + Diatomaceous earth ตกตะกอนหมดภายในเวลา 30-60 นาที และจะนำชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 สูตรผงพร้อมใช้ ไปทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงทดลองต่อไป

คำหลัก : พัฒนา ชีวภัณฑ์ โรคแคงเคอร์ มะนาว

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-07-65

คำนำ

พืชตระกูลส้มเป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย และประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกพืชตระกูลส้มเป็นจำนวนมากโดยเฉพาะมะนาว ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกมะนาว 109,035 ไร่ ให้ผลผลิต 152,335 ตัน คิดเป็นมูลค่า 5,978 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561) โรคที่ทำความเสียหายและเป็นปัญหาหลักของการปลูกมะนาว คือโรคแคงเคอร์ สาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas citri* pv. *citri* (Civerolo, 1984) มะนาวเป็นพืชที่อ่อนแอต่อโรคแคงเคอร์มาก โดยเฉพาะ มะนาวแป้นรำไพ มะนาวแป้นพวง มะนาวไข่ และมะนาวหนัง (*Citrus aurantifolia*) (ศุภรักษ์, 2557) โรคนี้พบระบาดมากในเขตร้อนหรือกึ่งเขตร้อน ที่มีอุณหภูมิสูง ฝนตกชุก และแพร่กระจายได้ตามกระแสลม น้ำค้าง ฝน แมลง และมนุษย์ (Civerolo, 1994) ลักษณะอาการของโรคที่พบเห็นทั่วไปเป็นแผลจุดฉ่ำน้ำใสๆ สีเหลืองนูน และขยายใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ ต่อมาตรงกลางแผลจะตกสะเก็ด ทำให้เกิดยางไหล การเจริญเติบโตช้า กิ่งก้านแห้งตาย ผลมีตำหนิไม่เป็นที่ต้องการของตลาด และส่งผลให้ราคาผลผลิตต่ำ (วาสนา, 2559)

การป้องกันกำจัดโรคพืชมีหลายวิธี ได้แก่ การใช้วิธีการเขตกรรม การกักกันโรคมิให้แพร่ระบาดเข้ามาในแหล่งปลูก การเผาทำลาย การใช้กิ่งพันธุ์ปลอดโรค และการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช เกษตรกรนิยมใช้สารเคมีกลุ่มคอปเปอร์ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์เป็นประจำอย่างต่อเนื่อง ซึ่งอาจทำให้สารประกอบคอปเปอร์ตกค้างในผลิตผลได้ (Humaydan *et al*., 1980) และในปัจจุบันผู้บริโภคส่วนใหญ่เริ่มหันมาให้ความสนใจต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อมมากขึ้น อีกทั้งรัฐบาลไทยมีการรณรงค์ให้เกษตรกร ใช้สารเคมีน้อยลง ปลูกพืชอินทรีย์มากขึ้น เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลผลิตปลอดภัยต่อผู้บริโภค และสามารถส่งออกไปขายยังต่างประเทศได้ ดังนั้นการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธี จึงเป็นอีกวิธีหนึ่งในการจัดการศัตรูพืช เพื่อป้องกันการดื้อต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืช รวมทั้งลดการตกค้างของสารเคมีในผลิตผลทางการเกษตรด้วย

ปัจจุบันการใช้เชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช เป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับความนิยม โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* เป็นแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ที่ได้รับความนิยมในอันดับต้นๆ เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นหลายประการ เช่น สามารถสร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม สามารถอยู่รอดได้แม้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่นทนทานต่อสารเคมี รังสี ความร้อน และแสงอุลตร้าไวโอเลต ได้ดีกว่าเซลล์ปกติ (Kloepper et al., 2004) และเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมแบคทีเรีย *B. subtilis* ก็สามารถงอกกลับเป็นเซลล์แบคทีเรียได้ใหม่โดยง่าย ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณได้ดีในสภาพธรรมชาติ (Baker and Cook, 1974) แบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถพบได้ทั่วไปในดินปลูก ปุ๋ยคอก วัสดุปลูก รากพืช และผิวใบ เจริญเติบโตได้โดยใช้สารอาหารจากการย่อยสลายของซากพืชและสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ นอกจากนี้ยังมีกลไกการเป็นปฏิปักษ์ที่สำคัญหลายรูปแบบ เช่น สามารถสร้างเอนไซม์และสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ สัตว์ และไม่มีพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมด้วย (พิศาล, 2551; Fiddaman and Rossal, 1994; Shoda, 2000)

ในประเทศไทยมีรายงานการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สกุล *Bacillus* มาใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชค่อนข้างหลากหลาย มีการใช้เชื้อ *B. subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ ซึ่งพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงถึง 60% (ณัฏฐิมาและคณะ, 2547) และมีการศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ DOA-WB4 ที่แยกได้จากดินบริเวณรากต้นมันฝรั่งที่ไม่เป็นโรคในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค สามารถป้องกันควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ได้ (วงศ์ *et al.*, 2548) มีการทดลองนำ *B. subtilis* มาใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และ *E. chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละในกล้วยไม้ ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลองพบว่าเชื้อ *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *E. carotovora* subsp. *carotovora* และ *E. chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละในกล้วยไม้ (สุรีย์พร และคณะ, 2555) นอกจากนี้มีรายงานว่าเชื้อ *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ไอโซเลต SK และ KK9 สาเหตุโรคผลเน่าจากแบคทีเรีย (bacterial fruit blotch) ได้ และได้พัฒนาเป็นชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* เพื่อการเคลือบเมล็ดและพ่นทางใบสำหรับควบคุมแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* (กุศล และ พิศาล, 2556)

นลินี และคณะ (2556) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *B. subtilis* N5102 ในรูปผลิตภัณฑ์น้ำหมักและผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาว พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N5102 ในรูปน้ำหมักแสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 43.53% ส่วนในรูปผงเชื้อแสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 39.94% และชุดควบคุมแสดงความรุนแรงของการเกิดโรค 54.02%

นลินี และคณะ (2553) แยกเชื้อจุลินทรีย์ได้จำนวน 35 ไอโซเลท นำมาทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ของส้มโอ เปรียบเทียบกับสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ และ Kanker-X พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 12 ไอโซเลท สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเคอร์ของส้มโอได้ โดยเชื้อจุลินทรีย์ไอโซเลท 5102 ให้บริเวณวงใสขนาดรัศมีกว้าง 8.5 มิลลิเมตร ส่วน Kanker-X ให้วงใสกว้าง 7.5 มิลลิเมตร ส่วนสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ได้ นอกจากนี้ยังนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ที่ได้คัดเลือกไปฉีดพ่นบนต้นส้มโอในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 สามารถควบคุมโรคแคงเคอร์ได้ โดยแสดงจำนวนแผลจุดเฉลี่ย 21.86 จุดต่อใบ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีจำนวนแผลจุดเฉลี่ย 79.19 จุดต่อใบ

อย่างไรก็ตามการศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ในรูปเซลล์สด (fresh culture) ซึ่งเป็นรูปแบบที่นำไปใช้ได้ยาก ไม่สะดวกในการใช้ และไม่สามารถเก็บไว้ใช้ได้หรือมีอายุการเก็บรักษาสั้น นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สูตรเหลว เช่น พากเพียร และคณะ (2544) พัฒนา TRF สูตร A และ TRF สูตร B ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวในสภาพแปลง พบว่าการใช้ TRF สูตร A, TRF สูตร B, Larminar WP และ Agroguard Liq. มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค 50.48, 52.53, 54.59 และ 55.18 ตามลำดับ ต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรง

ของโรค 65.46% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ งานวิจัยนี้จึงได้นำเชื้อ *B. subtilis* ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแคงเกอร์ ที่ได้จากการศึกษาของกาญจนาในปี 2564 มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมใช้แบบผงที่ใช้ง่ายและสะดวก โดยมุ่งเน้นศึกษาวัสดุรองรับเชื้อ *B. subtilis* และตรวจสอบการมีชีวิตรอดของแบคทีเรียและอายุของผลิตภัณฑ์ที่เก็บไว้ในสภาพต่างๆ สำหรับนำไปใช้อย่างมีประสิทธิภาพและสะดวกในระดับแปลงปลูกเพื่อแนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้อบลมร้อน ตู้ควบคุมอุณหภูมิ เครื่องเขย่า เครื่องชั่ง เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง เครื่องกวนสาร

2. อุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่น ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เข็มเขี่ยเชื้อ (loop) ตะเกียงแอลกอฮอล์ จานเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง

3. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ เช่น Tryptic Soy Agar (TSA), Tryptic Soy Broth (TSB), Nutrient agar (NA), Wakimoto's medium (PSA) เป็นต้น

4. สารพา Kaolin, Potassium humate, amino acid, Diatomaceous earth

วิธีการ

1. ศึกษาสารพาแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว

1.1 การเตรียมแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27

เลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ให้ได้โคโลนีเดี่ยวอายุ 24-36 ชั่วโมง ใช้ loop ขูดเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 จำนวน 2-3 loop ลงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) เพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน หลังจากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำไปทำการศึกษาสารพาแบคทีเรีย *B. subtilis* ต่อไป

1.2 การศึกษาสารพาที่เหมาะสมของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27

ทำการศึกษาสารพาแบคทีเรีย *B. subtilis* โดยการใช้ Kaolin เป็นสารพา ดัดแปลงจากณัฏฐิมาและคณะ (2557) ดังนี้

1. Kaolin
2. Kaolin + Potassium humate
3. Kaolin + amino acid
4. Kaolin + Potassium humate + amino acid

5. Kaolin + Diatomaceous earth

นำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 ที่เตรียมไว้ในข้อ 1.1 ผสมลงใน 2.47% Magnesium Sulphate Heptahydrate ($MgSO_4.7H_2O$) ให้เข้ากัน เติม 2.5% carboxymethyl cellulose (CMC) ในปริมาตรที่เท่ากันและเติม สารละลาย glucose จากนั้นนำไปผสมลงในสารพาตามกรรมวิธีดังกล่าว ในอัตราส่วนที่เหมาะสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ผึ่งให้แห้งในที่ร่ม แล้วบดให้เป็นผงละเอียด เก็บไว้ในถุงพลาสติก หลังจากนั้นทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 โดยวิธี serial dilution method เลือกดูดสารแขวนลอยเชื้อ 4 ระดับ ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร TSA ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 พร้อมคำนวณหาปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 เพื่อทำการคัดเลือกสูตรสารพาที่มีเหมาะสมมากสุดมา 1 สูตร นำไปทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงทดลองต่อไป

1.3 ศึกษาลักษณะการละลายน้ำและการแขวนลอยของสารพาผสมแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27

ประเมินความสามารถในการละลายน้ำของสารพาผสมแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 หลังผสมน้ำทันที ที่อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จับเวลาการละลายน้ำของสารพา ซึ่งแบ่งเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ละลายน้ำภายใน 1-5 นาที ระดับ 2 ละลายน้ำภายใน 6-10 นาที ระดับ 3 ละลายน้ำภายใน 11-30 นาที ระดับ 4 ละลายน้ำภายใน 30-60 นาที และระดับ 5 ไม่ละลายน้ำ เกาะตัวเป็นกลุ่มด้านบนผิวน้ำ (กฤติเดชและดุสิต, 2559)

ประเมินความสามารถการแขวนลอยในน้ำของสารพาผสมแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 หลังผสมน้ำทันทีแบ่งเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 12 ชั่วโมง ระดับ 2 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 30-60 นาที ระดับ 3 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 11-30 นาที ระดับ 4 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 5-10 นาที และระดับ 5 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 1-5 นาที

2. การตรวจสอบความอยู่รอดของเชื้อ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27 ในสารพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ

นำชีวภัณฑ์จากข้อ 1.2 แบ่งใส่ถุงพลาสติก ถุงละ 1 กิโลกรัม เก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 28 ± 2 องศาเซลเซียส) และเก็บรักษาในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 4-15 องศาเซลเซียส) สุ่มตัวอย่าง 10 กรัม มาตรวจนับปริมาณของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27 ที่มีชีวิตรอดในชีวภัณฑ์แต่ละสูตร โดยตรวจนับทุก ๆ 1 เดือน เป็นระยะเวลา 12 เดือน (ณัฏฐิมาและคณะ, 2557) โดยวิธี serial dilution method เลือกดูดสารแขวนลอยเชื้อ 4 ระดับ ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร TSA ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 พร้อมคำนวณหาปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย

B. subtilis สายพันธุ์ B27 ทำการคัดเลือกสูตรชีวภัณฑ์ที่ดีที่สุด เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงทดลองต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในสารพาของแต่ละกรรมวิธี
2. ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในชีวภัณฑ์แต่ละสูตร โดยบันทึกทุก ๆ 1 เดือน

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2565

กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาสารพาที่เหมาะสมของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27

เลี้ยงแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27 และทำการศึกษาหาวัสดุรองรับ (สารพา) ที่เหมาะสม ซึ่งมีทั้งหมด 5 สารพา เมื่อตรวจสอบปริมาณเชื้อในสารพา มีปริมาณเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 ดังนี้

1. Kaolin มีปริมาณเชื้อ 2.50×10^8 หน่วยโคโลนี/กรัม
2. Kaolin + Potassium humate มีปริมาณเชื้อ 1.90×10^7 หน่วยโคโลนี/กรัม
3. Kaolin + amino acid มีปริมาณเชื้อ 2.30×10^7 หน่วยโคโลนี/กรัม
4. Kaolin + Potassium humate + amino acid มีปริมาณเชื้อ 1.40×10^7 หน่วยโคโลนี/กรัม
5. Kaolin + Diatomaceous earth มีปริมาณเชื้อ 7.50×10^9 หน่วยโคโลนี/กรัม

ดังนั้นสารพาที่เหมาะสมในการพัฒนาชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 สูตรผงพร้อมใช้ คือ Kaolin + Diatomaceous earth มีปริมาณเชื้อ 7.50×10^9 หน่วยโคโลนี/กรัม ซึ่งมีปริมาณเชื้อสูงที่สุด จากนั้นจึงนำไปเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิต่างๆ เพื่อตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) ต่อไป

2. การตรวจสอบความอยู่รอดของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27 ในสารพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ

ทำการตรวจความมีชีวิตรอด (shelf life) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 ในสารพา Kaolin + Diatomaceous earth หลังเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 28 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส) พบว่าหลังจากเก็บรักษาชีวภัณฑ์ไว้ 8 เดือน มีปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 ในเดือนที่ 1-8 เท่ากับ 4.45×10^9, 3.80×10^9, 1.53×10^9, 4.40×10^8, 3.60×10^8, 2.70×10^8, 3.50×10^7 และ 2.50×10^7 หน่วยโคโลนี/กรัม ตามลำดับ

ทำการตรวจความมีชีวิตรอด (shelf life) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 ในสารพา Kaolin + Diatomaceous earth หลังเก็บรักษาในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 4-15 องศาเซลเซียส) พบว่าหลังจากเก็บรักษาชีวภัณฑ์ไว้ 8 เดือน มีปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 ในเดือนที่

1-8 เท่ากับ $5.85x10^9$, $3.90x10^9$, $2.80x10^9$, $1.02x10^9$, $6.10x10^8$, $5.90x10^8$, $5.60x10^8$ และ $5.15x10^8$ หน่วยโคโลนี/กรัม ตามลำดับ

3. ศึกษาลักษณะการละลายน้ำและการแขวนลอยของสารพาผสมแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27

ประเมินความสามารถในการละลายน้ำของสารพาผสมแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 หลังผสมน้ำทันทีที่อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จับเวลาการละลายน้ำของสารพา ซึ่งแบ่งเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ละลายน้ำภายใน 1-5 นาที ระดับ 2 ละลายน้ำภายใน 6-10 นาที ระดับ 3 ละลายน้ำภายใน 11-30 นาที ระดับ 4 ละลายน้ำภายใน 30-60 นาที และระดับ 5 ไม่ละลายน้ำ เกาะตัวเป็นกลุ่มด้านบนผิวน้ำ ผลการทดลองพบว่าการละลายน้ำของสารพา Kaolin + Diatomaceous earth ผสมแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 ละลายน้ำในระดับที่ 2 คือ ละลายน้ำภายใน 6-10 นาที

ประเมินความสามารถการแขวนลอยในน้ำของสารพาผสมแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 หลังผสมน้ำทันทีแบ่งเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 12 ชั่วโมง ระดับ 2 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 30-60 นาที ระดับ 3 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 11-30 นาที ระดับ 4 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 5-10 นาที และระดับ 5 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 1-5 นาที ผลการทดลองพบว่าการแขวนลอยในน้ำของสารพา Kaolin + Diatomaceous earth ผสมแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 แขวนลอยในน้ำในระดับที่ 2 คือ ตกตะกอนหมดภายในเวลา 30-60 นาที

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาวัสดุรองรับ (สารพา) ที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวภัณฑ์ชนิดผง จำนวน 5 สารพา พบว่าสารพาที่เหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 สูตรผงพร้อมใช้ คือ Kaolin + Diatomaceous earth ซึ่งมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียสูงที่สุด จำนวน $7.5x10^9$ หน่วยโคโลนี/กรัม เมื่อตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) หลังการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ในตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 4-15 องศาเซลเซียส) นาน 8 เดือน พบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 มีปริมาณลดลง โดยมีจำนวน $5.15x10^8$ หน่วยโคโลนี/กรัม ส่วนการเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 28 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส) นาน 8 เดือน พบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 มีปริมาณลดลง โดยมีจำนวน $2.50x10^7$ หน่วยโคโลนี/กรัม การศึกษาลักษณะการละลายน้ำและการแขวนลอยในน้ำของสารพา พบว่าสารพา Kaolin + Diatomaceous earth ละลายน้ำภายใน 6-10 นาที ส่วนการแขวนลอยในน้ำพบว่าสารพา Kaolin + Diatomaceous earth ตกตะกอนหมดภายในเวลา 30-60 นาที

เอกสารอ้างอิง

กฤติเดช อนันต์ และดุสิต อธินุวัฒน์. 2559. การพัฒนาชีวภัณฑ์ จาก *Bacillus subtilis* TU-Orga1 เพื่อควบคุมโรคที่สำคัญของผักคะน้า. *วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 24 (5): 793-812.

กาญจนา ศรีไม้ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ ดารุณี ปุญญพิทักษ์ และ รุ่งนภา ทองเครั่ง. 2564. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว. หน้า 695-712. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2564*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

กุศล ถมมา และพิศาล ศิริธร. 2556. ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* B076 เพื่อการเคลือบเมล็ดและพ่นทางใบเพื่อควบคุมแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *แก่นเกษตร* 40(1): 339-345.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2557. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum*. *วารสารกรมวิชาการเกษตร*. 32(3): 234-251.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล อรพรรณ วิเศษสังข์ และ ทัศนาพร ทัศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. หน้า 115-126. *ใน : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2547*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

นลินี ศิวากรณ์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และวสันต์ ผ่องสมบูรณ์. 2553. การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแคงเคอร์ของส้มโอ. หน้า 2614-2629. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

นลินี ศิวากรณ์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และวสันต์ ผ่องสมบูรณ์. 2556. ศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis* เพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเคอร์ของมะนาว. หน้า 429-436. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

พิศาล ศิริธร. 2551. การใช้แบคทีเรีย *Bacillus* ควบคุมโรคพืชในระบบการผลิตพืชที่ยั่งยืน. *โรคพืช มข ปริทรรศน์*. 2: 26-36.

พากเพียร อรัญนารถ นงรัตน์ นิลพานิชย์ วิชิต ศิริสันธนะ และ สมคิด ดิสถาพร. 2544. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว. *วารสารวิชาการเกษตร* ม.ค.- เม.ย. 2544. 19(1) : 4-12.

วงศ์ บุญสืบสกุล วิวัฒน์ ภานุอำไพ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รุ่งนภา คงสุวรรณ์ และปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ 2548. การใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus subtilis* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง. หน้า 1452-1459. *ใน : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2548*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

วาสนา กนกหงษ์. 2559. *องค์ความรู้รักษาโรงแคงเกอร์ในมะนาวโดยไม่ต้องใช้สารเคมี*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://namkliang.sisaket.doae.go.th/km/16.%2016.pdf. (18 กุมภาพันธ์ 2560)

ศุภรักษ์ ศุภเอม. 2557. *โรคแคงเคอร์ การจัดการด้วยแนวคิดใหม่*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://limeofpharmacist.blogspot.com/2014/11/blog-post.html. (21 กุมภาพันธ์ 2560)

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2561. *สถิติการเกษตรของประเทศไทยปี 2561*. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 214 หน้า.

สุรีย์พร บัวอาจ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บุษราคัม อุดมศักดิ์ และรุ่งนภา คงสุวรรณ์. 2555. คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพ ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และ *Erwinia chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละกล้วยไม้. หน้า 857-883. *ใน* : *รายงานผลการวิจัยประจำปี 2555*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร.

Baker, K.F. and R. J. Cook. 1974. *Biological Control of Plant Pathogen*. W.H. Freeman, San Francisco. 433 p.

Civerolo, E.L. 1984. Bacterial canker disease of citrus. *J. Rio Grande Valley Hort. Assoc*. 37: 127-146.

Civerolo, E.L. 1994. Citrus bacterial canker disease in tropical regions. pp. 45-50. *In* M. Lemattre, S. Freigoun, K. Rudolph, and J.G. Swings, eds. *Proceedings of the 8th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*, Paris.

Fiddaman, P. J. and S. Rossall. 1994. Effect of substrate on the production of antifungal volatiles from *Bacillus subtilis*. *J. Appl. Bacteriol*. 76 (4): 395-405.

Humaydan, H.S., G.E. Harman., B.L. Nedrow. and L.v. Dinitto. 1980. Eradication of *Xanthomonas campestris* the causal agent of black rot from Brassica seeds with antibiotic and sodium hypochlorite. *Phytopathology*. 70: 127-131.

Kloepper, J.W., C.M. Ryu, and S. Zhang, 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94: 1259-1266.

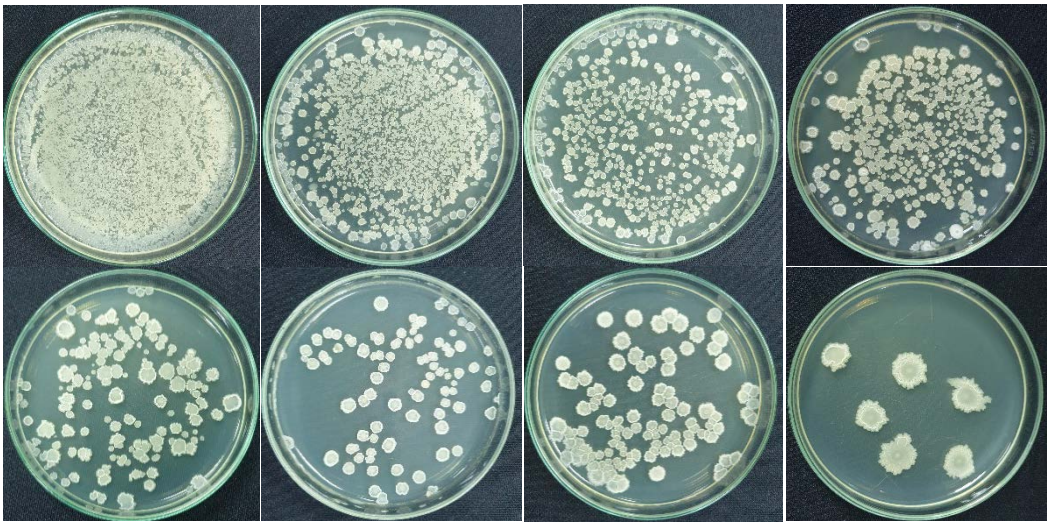
Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant diseases. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 89(6): 515-521.

ตารางที่ 1 ผลการเช็คปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27 ในสารพาชนิดต่างๆ

สารพา	ปริมาณเชื้อ (หน่วยโคโลนี/กรัม)
สารพาชนิดที่ 1 Kaolin	$2.5x10^8$
สารพาชนิดที่ 2 Kaolin + Potassium humate	$1.9x10^7$
สารพาชนิดที่ 3 Kaolin + amino acid	$2.3x10^7$
สารพาชนิดที่ 4 Kaolin + Potassium humate + amino	$1.4x10^7$
สารพาชนิดที่ 5 Kaolin + Diatomaceous earth	$7.5x10^9$

ตารางที่ 2 แสดงความมีชีวิตรอดของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B27 หลังการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เดือนที่	อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส (หน่วยโคโลนี/กรัม)	อุณหภูมิห้อง (28 ± 2) องศาเซลเซียส (หน่วยโคโลนี/กรัม)
0	$7.50x10^9$	$7.50x10^9$
1	$5.85x10^9$	$4.45x10^9$
2	$3.90x10^9$	$3.80x10^9$
3	$2.80x10^9$	$1.53x10^9$
4	$1.02x10^9$	$4.40x10^8$
5	$6.10x10^8$	$3.60x10^8$
6	$5.90x10^8$	$2.70x10^8$
7	$5.60x10^8$	$3.50x10^7$
8	$5.15x10^8$	$2.50x10^7$



ภาพที่ 1 การเช็คปริมาณเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี serial dilution plate count บนอาหาร Tryptic soy agar (TSA)

ภาพที่ 2 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B27 ชนิดผง ที่ได้จากสารพาชนิดต่างๆ ดังนี้

สารพาชนิดที่ 1 Kaolin

สารพาชนิดที่ 2 Kaolin + Potassium humate

สารพาชนิดที่ 3 Kaolin + amino acid

สารพาชนิดที่ 4 Kaolin + Potassium humate + amino

สารพาชนิดที่ 5 Kaolin + Diatomaceous earth

พัฒนารูปแบบการผลิตและการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วง

Development of *Bacillus subtilis* Bio-Formulations For Controlling Mango Anthracnose Disease

ธารทิพย ภาสบุตร รุ่งนภา ทองเคริ่ง จุฬารัตน์ หน่อแก้ว กาญจนา ศรีไม้
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาสารตัวพาที่เหมาะสมในการพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W18 จากการประเมินความสามารถของเชื้อ *B. subtilis* DOA 20W18 ในการอยู่ร่วมกับสารตัวพา 4 ชนิดได้แก่ Kaolin, Zeolite, Kaolin + Zeolite, Kaolin + amino acid และ Zeolite + amino acid พบว่า Kaolin เป็นสารตัวพาที่ดี มีปริมาณเชื้อ *B. subtilis* 5.35×10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม ใกล้เคียงกับการใช้ Kaolin + amino acid ที่มีปริมาณเชื้อ *B. subtilis* 5.15×10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม เมื่อประเมินความสามารถในการละลายและการแขวนลอยในน้ำพบว่า Kaolin และ Kaolin + amino acid ที่ผสม *B. subtilis* DOA 20W18 ละลายน้ำได้ดี ตกตะกอนช้า ใช้เวลาในการตกตะกอน 30-60 นาที จึงใช้ Kaolin และ Kaolin + amino acid เป็นสารตัวพาผลิต *Bacillus subtilis* 20W18 ชนิดผง และนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25-28 และ 5-15 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษา 12 เดือน ตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) ซึ่งพบว่า *Bacillus subtilis* 20W18 ชนิดผงที่ใช้ Kaolin เป็นสารตัวพาที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 4.5×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร หลังจากเก็บ 12 เดือน พบปริมาณเชื้อ 1.2×10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ส่วนที่อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 5.6×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร หลังจากเก็บ 12 เดือน พบปริมาณเชื้อ 1×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ส่วนการใช้ Kaolin + amino acid เป็นสารตัวพา ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ไม่พบความมีชีวิตรอด ในขณะที่อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส ยังคงความมีชีวิตรอด แต่มีปริมาณลดลง จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 4.5×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร หลังจากเก็บ 12 เดือน พบปริมาณเชื้อ 1.5×10^8 หน่วยโคโลนีต่อกรัม การศึกษาครั้งนี้ Kaolin จึงเป็นสารตัวพาที่ดีในการผลิต *Bacillus subtilis* 20W18 ชนิดผง ส่วนประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงในสภาพพื้นที่แปลงปลูกของ *Bacillus subtilis* 20W18 ชนิดผง อยู่ระหว่างดำเนินการทดลอง

คำหลัก : โรคแอนแทรคโนส *Bacillus subtilis* 20W18

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-01-08-65

คำนำ

โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) ของมะม่วงจัดเป็นโรคที่มีความสำคัญ เพราะสามารถทำความเสียหายให้กับมะม่วงได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ทำให้ปริมาณของผลผลิตลดลงและคุณภาพไม่เป็นที่ต้องการของตลาด โรคนี้พบกระจายอยู่ทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อนชื้น การเข้าทำลายจะเริ่มตั้งแต่อยู่ในแปลงปลูก เชื้อรา *Colletotrichum* spp. สามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่ระยะใบ ช่อดอกและผล สามารถเข้าทำลายแบบแฝง (quiescent infection) โดยยังไม่แสดงอาการของโรคในระยะผลอ่อน แต่จะแสดงอาการชัดเจนเมื่อผลมะม่วงแก่หรือเริ่มสุก การป้องกันกำจัดโรคเกษตรกรส่วนใหญ่เลือกใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวก ซึ่งผลจากการติดต่อกันเป็นระยะเวลายาวนาน ใช้ไม่ถูกวิธีหรือใช้ในปริมาณที่มากจนเกินไป อาจก่อให้เกิดผลเสียต่อผู้ใช้และผู้บริโภคได้

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biological Control) เป็นทางเลือกหนึ่งในการควบคุมโรคพืช เพื่อลดปริมาณการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช ที่ผ่านมามีการศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่องในการนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) มาควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช ซึ่งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ก็เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดหนึ่ง ที่พบได้ทั่วไปในดินปลูก ปุ๋ยคอก วัสดุปลูก รากพืช และผิวใบพืช สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชหลายชนิด ซึ่งปัจจุบันได้มีการศึกษาและนำมาใช้กันอย่างกว้างขวาง จากการรายงานการสำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม Bacillus ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชของบุษราคัมและณัฏฐิมา (2550) ที่พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ไอโซเลต 20W18 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ดี จึงเป็นที่มาของการพัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงในครั้งนี้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ให้อยู่ในรูปแบบผงที่สะดวกต่อการนำไปใช้และได้ข้อมูลผลการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงในสภาพพื้นที่แปลงปลูกพืชของเกษตรกรเพื่อการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการแบคทีเรียและรา
2. วัสดุวิทยาศาสตร์และสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
3. อาหารเลี้ยงเชื้อเชื้อสูตรต่าง ๆ
4. วัสดุอุปกรณ์สำหรับการบันทึกข้อมูล
5. วัสดุอุปกรณ์การเกษตร

วิธีการ

1.ศึกษาสารตัวพาที่เหมาะสมในการพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W18 ในห้องปฏิบัติการ (2565)

1.1 การเตรียมแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* 20W18

เลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* 20W18 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส มะม่วง บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ให้ได้โคโลนีเดี่ยวอายุ 24-36 ชั่วโมง ใช้ loop ขูดเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลท ไอโซเลต 20W18 จำนวน 2-3 loop ลงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน เพื่อเพิ่มปริมาณและศึกษาวัสดุสารตัวพาที่เหมาะสมต่อไป

1.2 ศึกษาสารตัวพาที่เหมาะสมของแบคทีเรีย *B. subtilis* 20W18 (ดัดแปลงจาก ณัฏฐิมาและคณะ, 2557)

นำสารแขวนลอย *B. subtilis* 20W18 ที่ได้จากการเลี้ยงเพิ่มปริมาณ นำไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บเฉพาะส่วนของตะกอน โดยใช้สาร Magnesium Sulphate Heptahydrate (MgSO4.7H2O) 0.1 M ละลายตะกอน ทิ้งไว้ 10-15 นาที จากนั้นนำมาผสมกับสารละลาย carboxymethyl cellulose (CMC) 2.5% ปริมาตรที่เท่ากัน ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปผสมกับสารตัวพาจำนวน 4 ชนิด ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ได้แก่ 1.Kaolin 2.Zeolite 3.Kaolin+Zeolite 4.Kaolin+amino acid และ 5.Zeolite+amino acid หลังจากผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้ว ทำให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อแห้งแล้วบดให้เป็นผงละเอียด ตรวจนับปริมาณแบคทีเรียด้วยวิธี serial dilution plating technique โดยทำการเจือจางสารแขวนลอยแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^{-1}- 10^{-9} นำมาเกลี่ยให้ทั่วบนอาหาร TSA ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เจริญขึ้นบนอาหาร คำนวณและเปรียบเทียบปริมาณของ *B. subtilis* 20W18 เพื่อเลือกชนิดสารตัวพาที่เหมาะสม

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในสารตัวพาของแต่ละกรรมวิธี

1.3 ศึกษาลักษณะการละลายน้ำและการแขวนลอยของสารตัวพาที่ผสม *B. subtilis* 20W18 (ดัดแปลงจาก กฤติเดชและดุสิต, 2559)

ศึกษาลักษณะการละลายน้ำและการแขวนลอยในน้ำของสารตัวพาที่ผสม *B. subtilis* 20W18 โดยประเมินความสามารถในการละลายน้ำและการแขวนลอยในน้ำของสารตัวพาที่ผสม *B. subtilis* 20W18 จำนวน 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หลังผสมน้ำทันที

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกเวลาการละลายน้ำของสารตัวผสม *B. subtilis* 20W18 พาหลังผสมน้ำทันที โดยแบ่งระยะเวลาการละลายน้ำเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ละลายน้ำภายใน 1-5 นาที ระดับ 2 ละลายน้ำภายใน 6-10 นาที ระดับ 3 ละลายน้ำภายใน 11-30 นาที ระดับ 4 ละลายน้ำภายใน 30-60 นาที และระดับ 5 ไม่ละลายน้ำและหรือเกาะตัวเป็นกลุ่มที่ด้านบนผิวน้ำ

บันทึกเวลาการแขวนลอยในน้ำของสารตัวพาผสม *B. subtilis* 20W18 หลังผสมน้ำทันที โดยแบ่งระยะเวลาการแขวนลอยในน้ำเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 12 ชั่วโมง ระดับ 2 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 30-60 นาที ระดับ 3 ตะกอนหมดภายในเวลา 11-30 นาที ระดับ 4 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 5-10 นาที และระดับ 5 ตกตะกอนหมดภายในเวลา 1-5 นาที

คัดเลือกชนิดสารตัวพาที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการผลิต *Bacillus subtilis* 20W18 ชนิดผง เพื่อตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) และนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงในสภาพแปลงทดลองต่อไป

2. การตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) ของ *Bacillus subtilis* 20W18 ในสารตัวพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ (2565-2566)

ตรวจสอบความมีชีวิตรอดของ *Bacillus subtilis* 20W18 หลังการเก็บรักษา โดยนำ *B. subtilis* 20W18 ชนิดผงได้อยู่ในสารตัวพาที่เหมาะสมที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว มาแบ่งเก็บรักษาที่ 2 อุณหภูมิคือ อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิตู้เย็น (อุณหภูมิประมาณ 4-15 องศาเซลเซียส) โดยแบ่งบรรจุถุงละ 50 กรัม เก็บไว้เป็นระยะเวลา 12 เดือน และตรวจนับปริมาณแบคทีเรียเพื่อตรวจสอบความมีชีวิตทุกเดือนด้วยวิธี serial dilution plating technique โดยทำการเจือจางสารแขวนลอยแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^{-1}- 10^{-9} เลือกดูดสารแขวนลอยเชื้อ 4 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำมาหยดลงบนอาหาร TSA ใช้แท่งแก้วเกลี่ยให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เจริญขึ้นบนอาหาร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอด โดยบันทึกทุก ๆ 1 เดือน เป็นระยะเวลา 12 เดือน

3. การทดสอบประสิทธิภาพ *B. subtilis* DOA 20W18 ชนิดผงในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงในสภาพแปลงทดลอง (2566-2567)

ทำการทดลองในแปลงมะม่วงของเกษตรกร ทำการทดลอง 2 ปี 2 แปลงทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 *B. subtilis* DOA 20W18 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 *B. subtilis* DOA 20W18 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 *B. subtilis* DOA 20W18 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 *B. subtilis* DOA 20W18 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 mancozeb 80% WP 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 น้ำเปล่า (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

ระยะพัฒนาการของดอก พ่นสารทดลองตามกรรมวิธีที่กำหนด ใช้ต้นมะม่วงจำนวน 2 ต้นต่อ 1 ซ้ำ เริ่มพ่นครั้งแรกเมื่อเริ่มพบการระบาดของโรคที่ช่อดอก ในระยะก่อนดอกบาน 50% พ่นซ้ำทุก 7 วัน 4 ครั้ง หรือตามความเหมาะสม

การประเมินโรค ประเมินความรุนแรงของโรคเป็นเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ช่อดอกที่แสดงอาการโรค ก่อนพ่นทุกครั้งและหลังพ่นครั้งสุดท้าย 7 วัน จากช่อดอกมะม่วงที่สุ่มไว้จำนวนไม่น้อยกว่า 20 ช่อต่อซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติที่เหมาะสมและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ระยะพัฒนาการของผล พ่นสารทดลองตามกรรมวิธีที่กำหนด โดยเริ่มพ่นครั้งแรกเมื่อมะม่วงติดผลอ่อน เมื่อผลมีขนาด 5-10 เซนติเมตร พ่นซ้ำทุก 7 วัน 4 ครั้ง หรือตามความเหมาะสม โดยให้มีระยะเวลาหยุดพ่นก่อนเก็บเกี่ยวไม่น้อยกว่า 15 วัน

การประเมินโรค โดยเก็บผลมะม่วงที่อยู่ในระยะเก็บเกี่ยวในแต่ละกรรมวิธีจำนวนไม่น้อยกว่า 20 ผลต่อซ้ำ มาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประเมินความรุนแรงของโรคจากอาการที่ปรากฏบนผลมะม่วงแต่ละผลเป็นเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผลที่แสดงอาการโรคที่ 1 (วันเก็บผลผลิต), 3 และ 6 วัน หรือเป็นระยะตามความเหมาะสม นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติที่เหมาะสมและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ช่อดอกมะม่วงที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส
- บันทึกเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิวผลมะม่วงที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส

เวลาและสถานที่

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาสารตัวพาที่เหมาะสมในการพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W18 ในห้องปฏิบัติการ (2565)

การศึกษาสารตัวพาที่เหมาะสมของแบคทีเรีย *B. subtilis* 20W18 (ตารางที่ 1)

การศึกษาสารตัวพาที่เหมาะสมของแบคทีเรีย B. subtilis 20W18 โดยวิธี serial dilution method เพื่อประเมินความสามารถของเชื้อ *B. subtilis* DOA 20W18 ในการอยู่ร่วมกับสารตัวพา 4 ชนิด ได้แก่ 1.Kaolin 2.Zeolite 3.Kaolin+Zeolite 4.Kaolin+amino acid และ 5.Zeolite+amino acid ผลการตรวจนับจำนวนโคโลนีและคำนวณหาปริมาณของ *B. subtilis* DOA 20W18 พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ Kaolin ให้ผลในการเป็นสารตัวพาที่ดีที่สุดโดยให้ปริมาณเชื้อ *B. subtilis* 5.35×10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม ใกล้เคียงกับกรรมวิธีที่ใช้ Kaolin + amino acid เป็นสารตัวพาที่ให้ปริมาณเชื้อ *B. subtilis* 5.15×10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ใช้ Zeolite + amino acid และ Kaolin + Zeolite เป็นสารตัวพา ให้ปริมาณเชื้อ *B. subtilis* 2.3×10^9 และ 1.8×10^9 ตามลำดับ ส่วน

กรรมวิธีที่ให้ปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ต่ำที่สุดคือกรรมวิธีที่ใช้ Zeolite เป็นสารตัวพา ให้ปริมาณเชื้อ 1.5×10^9 หน่วยโคโลนีต่อกรัม

การศึกษาลักษณะการละลายน้ำและการแขวนลอยในน้ำของสารตัวพาผสม *B. subtilis* DOA 20W18 (ตารางที่ 2)

จากการประเมินความสามารถในการละลายน้ำและการแขวนลอยในน้ำของสารตัวพาผสม *B. subtilis* DOA 20W18 ที่อัตราสารตัวพาผสม *B. subtilis* DOA 20W18 จำนวน 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร โดยการจับเวลาการละลายน้ำและการแขวนลอยในน้ำของสารตัวพาผสม *B. subtilis* DOA 20W18 (ผงเชื้อ) หลังผสมน้ำทันที พบว่า กรรมวิธีที่ใช้ Kaolin และ Kaolin + amino acid เป็นสารตัวพา ผงเชื้อละลายน้ำได้ดี มีการแขวนลอยในน้ำที่ระดับ 2 ตกตะกอนช้า ตกตะกอนหมดใช้เวลา 30-60 นาที ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ Zeolite และ Kaolin + Zeolite เป็นสารตัวพา ผงหัวเชื้อละลายน้ำได้ช้า มีการแขวนลอยอยู่ในน้ำที่ระดับ 3 มีการตกตะกอนหมดภายใน 11-30 นาที ส่วนกรรมวิธีที่ใช้ Zeolite + amino acid เป็นสารตัวพา ผงหัวเชื้อละลายน้ำได้ช้า มีการแขวนลอยอยู่ในน้ำที่ระดับ 4 มีการตกตะกอนเร็ว ตกตะกอนหมดภายในเวลา 5-10 นาที

จากผลการประเมินความสามารถของเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ DOA 20W18 ในการอยู่ร่วมกับสารตัวพา การประเมินความสามารถในการละลายน้ำและการแขวนลอยในน้ำของสารตัวพาผสม *B. subtilis* DOA 20W18 จึงคัดเลือก Kaolin และ Kaolin + amino acid เป็นสารตัวพา เพื่อใช้ในการผลิต *Bacillus subtilis* 20W18 ชนิดผง เพื่อนำมาตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) หลังการเก็บรักษาและเพื่อคัดเลือก 1 สูตรนำไปศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมแอนแทรคโนส มะม่วงในสภาพแปลงทดลองต่อไป

2.การตรวจสอบความมีชีวิตรอด (shelf life) ของ *Bacillus subtilis* 20W18 ในสารตัวพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ (ตารางที่ 3)

ผลการตรวจประเมินความมีชีวิตรอดของ *Bacillus subtilis* DOA 20W18 ชนิดผงที่ใช้ Kaolin และ Kaolin + amino acid เป็นสารตัวพา ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 5-15 องศาเซลเซียส ทุกเดือน เป็นเวลา 12 เดือน พบว่า กรรมวิธีที่ใช้ Kaolin เป็นสารตัวพา หลังจากเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 12 เดือน *Bacillus subtilis* ยังคงความมีชีวิตรอด แต่มีปริมาณลดลง ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 4.5×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml.) หลังจากเก็บไว้ 12 เดือน พบปริมาณเชื้อ $1.2\text{x}10^8$ หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร และที่อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 5.6×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร หลังจากเก็บไว้ 12 เดือน พบปริมาณเชื้อ $1\text{x}10^9$ หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ส่วนกรรมวิธีที่ใช้ Kaolin + amino acid เป็นสารตัวพาที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ไม่พบความมีชีวิตรอด ส่วนที่อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส ยังคงความมีชีวิตรอด แต่มีปริมาณแบคทีเรียลดลง ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 4.5×10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร หลังจากเก็บไว้ 12 เดือน พบปริมาณเชื้อ $1.5\text{x}10^8$ หน่วยโคโลนีต่อกรัม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

เอกสารอ้างอิง

กฤติเดช อนันต์ และดุสิต อธินุวัฒน์. 2559. การพัฒนาชีวภัณฑ์จาก *Bacillus subtilis* TU-Orga1 เพื่อควบคุมโรคที่สำคัญของผักคะน้า. *ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.* 24 (5): 793-812.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณีพั่ววงษ์แพทย์ ทิพวรรณ กันหาญาติ และรุ่งนภา ทองเครั่ง. 2557. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ Bacillus subtilis สายพันธุ์BS-DOA 24 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum*. *ว. กรมวิชาการเกษตร*. 32(3): 234-251

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม Bacillus ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ. หน้า 896-913. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ.

ตารางที่ 1 การตรวจนับปริมาณ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ DOA 20W18 ในสารตัวพา

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อ (หน่วยโคโลนีต่อกรัม; cfu/ml.)
1. Kaolin	5.35×10^{9}
2. Zeolite	1.50×10^{9}
3. Kaolin+Zeolite	1.80×10^{9}
4. Kaolin+amino acid	5.15×10^{9}
5. Zeolite+amino acid	2.30×10^{9}

ตารางที่ 2 การทดสอบลักษณะการละลายและลักษณะการแขวนลอยในน้ำของสารตัวพาผสม *Bacillus subtilis* DOA 20W18

กรรมวิธี	ลักษณะการละลายน้ำ	ลักษณะการแขวนลอยในน้ำ
1. Kaolin	1	2
2. Zeolite	2	3
3. Kaolin+Zeolite	2	3
4. Kaolin+amino acid	1	2
5. Zeolite+amino acid	2	4

ตารางที่ 3 ความมีชีวิตรอดของ *Bacillus subtilis* หลังการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เดือนที่	สารตัวพา Kaolin		สารตัวพา Kaolin + amino acid	
	ปริมาณเชื้อที่อุณหภูมิ 4-15°C (cfu/ml.)	ปริมาณเชื้อที่อุณหภูมิ25-28°C (cfu/ml.)	ปริมาณเชื้อที่อุณหภูมิ 4-15°C (cfu/ml.)	ปริมาณเชื้อที่อุณหภูมิ 25-28°C (cfu/ml.)
1	5.6×10^{9}	4.5×10^{9}	4.5×10^{9}	4.9×10^{9}
2	4×10^{9}	1.5×10^{9}	4×10^{9}	3×10^{9}
3	2×10^{9}	2.5×10^{9}	2×10^{9}	2×10^{9}
4	3×10^{9}	1.5×10^{9}	1.5×10^{9}	5×10^{8}
5	1×10^{9}	1.5×10^{9}	1.5×10^{9}	2.35×10^{8}
6	3×10^{9}	1×10^{9}	1.2×10^{9}	4.9×10^{8}
7	3.5×10^{9}	1.2×10^{9}	1.1×10^{9}	1.7×10^{8}
8	3.2×10^{9}	1×10^{9}	1×10^{9}	1.1×10^{8}
9	2.05×10^{9}	1.5×10^{8}	5.5×10^{8}	1.1×10^{8}
10	4.35×10^{9}	1.35×10^{8}	3×10^{8}	1×10^{8}
11	1.2×10^{9}	1.45×10^{8}	2×10^{8}	1×10^{8}
12	1×10^{9}	1.2×10^{8}	1.5×10^{8}	0

การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

Screening of *Trichoderma* spp. for controlling of chilli damping off disease caused by *Pythium aphanidermatum*

อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสอาด
วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2565 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ผลการดำเนินงานทำการเก็บตัวอย่างดินและรากพืช 516 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. บนอาหาร rose bengal agar และแยกเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร PDA ได้ 194 ไอโซเลท และ จากหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร 31 ไอโซเลท รวม 227 ไอโซเลท นำมาทดสอบศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยวิธี dual culture บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ได้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* สูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ 10 ไอโซเลท ได้แก่ T69, T48, T64, T92, T71, T117, T127, T149, T129 และ T61 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 55.00, 54.38, 54.00, 53.25, 52.38, 51.75, 51.13, 51.13, 51.00 และ 50.50 ตามลำดับ และมีระดับการยับยั้ง (Scale Bell) 2.20, 2.00, 2.10, 3.00, 2.00, 2.00, 3.00, 3.00, 3.00 และ 3.00 ตามลำดับ และนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริกในโรงเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

คำหลัก : *Trichoderma* โรคเน่าคอดิน พริก เชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-02-02-65

คำนำ

โรคกล้าเน่า-เน่าคอดิน หรือเน่าระดับดิน (damping-off) (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2552; 2554) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. ทำให้พืชแสดงอาการเมล็ดเน่าเละ ยอดตาย เนื้อเยื่อตายชุ่มน้ำ พบเส้นใยสีขาวฟู บริเวณโคนต้นรากและส่วนที่ใช้ขยายพันธุ์ โดยมีพืชอาศัยหลัก (Main host) ได้แก่ ผักกาด [lettuce (*Lactuca sativa*)] กะหล่ำดอก [cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*)] กะหล่ำปลี [cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*)] แตงโม [watermelon (*Citrullus lanatus*)] แตง แตงกวา [cucumber (*Cucumis sativus*)] ถั่วลิสง [groundnut, peanut, Monkey Nut (*Arachis hypogaea*)] ถั่วเหลือง [soyabean (*Glycine max*)] ถั่วแขก ถั่วแดงหลวง [common bean, red kidney bean, kidney bean (*Phaseolus vulgaris*)] ถั่วลันเตา [pea, garden pea (*Pisum sativum*)] ถั่วพุ่ม [cowpea (*Vigna unguiculata*)] กระเจี๊ยบเขียว [okra (*Abelmoschus esculentus*)] ขิง [ginger (*Zingiber officinale*)] พุทรา [jujube (*Ziziphus mauritiana*)] มะเขือเทศ [tomato (*Lycopersicon esculentum*)] มันฝรั่ง [potato (*Solanum tuberosum*)] (นิรนาม, 2016)

โรคเน่าคอดิน สามารถเข้าทำลายพืชได้ ตั้งแต่ก่อนเมล็ดงอก เมล็ดอาจเน่าทั้งที่ยังไม่งอกหรืองอกอยู่ในดิน แต่ถ้าเมล็ดงอกเป็นต้นกล้าแล้วถูกทำลาย โคนต้นจะเป็นสีดำ ฉ่ำน้ำ เหี่ยวพับลงบนผิวดิน โดยที่ใบเลี้ยงยังเขียวอยู่ (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2554; Richard *et al*., n.d.) อาการเน่าคอดิน มักพบในสภาพที่ดินมีการระบายน้ำไม่ดี ดินอัดตัวแน่น โดยเฉพาะการปลูกพืชช่วงที่มีฝน

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นวิธีการทางเลือก (alternative method) ที่เน้นการควบคุมและลดปริมาณ ตลอดจนลดกิจกรรมของเชื้อก่อโรคให้อยู่ระดับที่ไม่สามารถก่อให้เกิดความเสียหายกับพืช จิระเดช (2538) พบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มาเป็นเชื้อราที่มีคุณสมบัติและศักยภาพสูงในการใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ตรงตามหลักการและแนวคิดของการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธี ทั้งนี้เพราะเป็นเชื้อราที่ดำรงชีวิตอยู่ในดิน อาศัยเศษซากพืชซากสัตว์และแหล่งอินทรียวัตถุ เป็นแหล่งอาหาร พบได้โดยทั่วไปในดินทุกแห่ง เป็นศัตรู (ปฏิปักษ์) ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดโดยวิธีการเบียดเบียนหรือเป็นปรสิตและแข่งขันหรือแย่งใช้อาหารที่เชื้อโรคต้องการ นอกจากนี้เชื้อราไตรโคเดอร์มา ยังสามารถผลิตสารปฏิชีวนะและสารพิษ ตลอดจนน้ำย่อยจากพวกเอนไซม์สำหรับช่วยละลายผนังเส้นใยของเชื้อโรคพืช คุณสมบัติพิเศษของเชื้อราไตรโคเดอร์มา คือ สามารถชักนำให้ต้นพืชมีความต้านทานต่อเชื้อโรคพืชทั้งเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้เกษตรกรลดการใช้สารเคมีลง ชนินทร (2560) รายงานว่า *Trichoderma asperellum T. harzianum* และ *T. viride* เป็นเชื้อราที่เป็นที่รู้จักใน genus *Trichoderma* และมีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีการส่งเสริมให้ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยทั้งทางภาครัฐและเอกชน รวมถึงมีการผลิตเชื้อรา *T. asperellum T. harzianum* และ *T. viride* ในเชิงการค้า

Juma *et al.* (2015) ทดสอบประสิทธิภาพของ *T. asperellum* TRC-900 และ *Bacillus subtilis* BS-01 ในการยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดินในผักตระกูลคะน้า (ethiopian kale) โดยการเคลือบเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกด้วย *T. asperellum* TRC-900 และ *B. subtilis* BS-01 พบว่า สามารถลดความสูญเสียจากสาเหตุโรคเน่าคอดินของเมล็ดพันธุ์ก่อนงอกได้ 11 -25.4% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการเคลือบเมล็ดซึ่งเป็นโรคถึง 64.8%

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท ต่างๆ
2. เชื้อรา *Pythium aphanidermatum*
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น ตู้เขี่ยเชื้อ เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้อง Stereoscopic microscope และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์
4. อาหารเลี้ยงเชื้อรา เช่น Potato Dextrose Agar (PDA), Water Agar (WA), และ Corn Leaf Ager (CLA)

วิธีการ

1. ทดสอบศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในห้องปฏิบัติการ (2565)

เก็บและรวบรวมเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากตัวอย่างดิน พืช และวัสดุอื่น ๆ ที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถเจริญอยู่ได้จากแหล่งต่าง ๆ มาแยกเชื้อบนอาหารที่เหมาะสม เช่น Martin’s medium, rose bengal agar และ PDA แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ เก็บรักษาไว้เพื่อใช้ศึกษาต่อไป โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเชื้อรา *Trichoderma* spp. อีกส่วนหนึ่งที่ศึกษานำมาจากหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ทางการเกษตร กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

ทดสอบศักยภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยด้วยวิธี dual culture technique โดยตัดชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* และเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่รวบรวมได้เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 3 วัน วางลงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบ ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 1 เซนติเมตร ในฝั่งตรงข้ามกัน วางจานเลี้ยงเชื้อทดสอบไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 28+2 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 5 วัน (โคโลนีของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในจานเลี้ยงเชื้อกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีเชื้อรา *Trichoderma* sp. เจริญเต็มจาน) วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 จานเลี้ยงเชื้อ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT วัดรัศมีโคโลนีเชื้อรา *P. aphanidermatum*

แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition rate growth: PIRG) ของเชื้อรา โดยใช้สูตร

PIRG = [(RC-RT)/RC]x100

RC คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีโคโลนีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในจานเลี้ยงเชื้อกรรมวิธีควบคุม

RT คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีโคโลนีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบ

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

รัศมีโคโลนีเชื้อรา *P. aphanidermatum*

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ทดสอบศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในห้องปฏิบัติการ (2565)

เก็บตัวอย่างดินและรากพืช จากจังหวัด พัทลุง ระนอง สงขลา ฉะเชิงเทรา นครนายก ปราจีนบุรี ชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด สระแก้วอุบลราชธานี หนองคาย บึงกาฬ นครพนม ร้อยเอ็ด ศรีสะเกษ เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง น่าน แพร่ ตาก อุตรดิตถ์ สุโขทัย กำแพงเพชร นครปฐม เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นำมาแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในห้องปฏิบัติการ ได้ 194 ไอโซเลท และเตรียมเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร 31 ไอโซเลท รวม 227 ไอโซเลท

ผลการทดสอบศักยภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยด้วยวิธี dual culture technique บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ในห้องปฏิบัติการ ได้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* สูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ 10 ไอโซเลท ได้แก่ T69, T48, T64, T92, T71, T117, T127, T149, T129 และ T61 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 55.00, 54.38, 54.00, 53.25, 52.38, 51.75, 51.13, 51.13, 51.00 และ 50.50 ตามลำดับ และมีระดับการยับยั้ง (Scale Bell) 2.20, 2.00, 2.10, 3.00, 2.00, 2.00, 3.00, 3.00, 3.00 และ 3.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อรา *Trichoderma* spp. 227 ไอโซเลท ที่นำมาทดสอบศักยภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่า มี 10 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ 50% ขึ้นไป

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2552. *คู่มือโรคผัก*. บริษัท เอ-วันฟิวเจอร์ จำกัด. นนทบุรี. 153 หน้า.

กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2554. *โรคผักและการป้องกันกำจัด*. บริษัท นิวธรรมดาการพิมพ์ (ประเทศไทย) จำกัด. กรุงเทพฯ. 153 หน้า.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2538. การควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา: ตอนที่ 2 หลักการและบทบาท. *วารสารเคหการเกษตร*. ปีที่ 19(10): 159-165.

ชนินทร ดวงสอาด พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว มะโนรัตน์ สุดสงวน และ สุทธิณี ลิขิตตระกูลรุ่ง. 2560. การใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อจำแนกเชื้อรา *Trichoderma asperellum T. harzianum* และ *T. viride* DNA Barcoding for *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum* and *T. viride* Identification. หน้า 1625-1636. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2560*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

นิรนาม. 2016. *การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) ของประเทศไทย*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://ippc.acfs.go.th/pest/G001/T008/FUNGI125 (3 มีนาคม 2563).

Juma, P., L. Murungi and T. Losenge. 2015. Biological Control of *Pythium aphanidermatum* causing dampling off disease in Ethiopian Kales. แหล่งข้อมูล.(ระบบออนไลน์): http://journals.jkuat.ac.ke/index.php/jscp/article/download/1235/1013

Richard, M., Martin, K., Mansuet, T., Adeltruda, M. and K. Elisiana. N.d. *Damping off disease management in tomatoes*. (Online). Available. https://www.plantwise.org/knowledgebank/factsheetforfarmers/20137803396 (March 3, 2020).

ตารางที่ 1 ศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่คัดเลือกได้ 10 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดินของพริกในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี dual culture

ลำดับที่	ไอโซเลท	การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*	
		เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง*	ระดับการยับยั้ง (Scale Bell)**
1	T69	55.00	2.20
2	T48	54.38	2.00
3	T64	54.00	2.10
4	T92	53.25	3.00
5	T71	52.38	2.00
6	T117	51.75	2.00
7	T127	51.13	3.00
8	T149	51.13	3.00
9	T129	51.00	3.00
10	T61	50.50	3.00

* เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (percent inhibition rate growth: PIRG) = [(RC - RT) / RC] x 100

RC = รัศมีโคโลนีเชื้อรา *S. rolfsii* ในจานเลี้ยงเชื้อกรรมวิธีควบคุม

RT= รัศมีโคโลนีเชื้อรา *S. rolfsii* ในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบ

** ระดับการยับยั้ง (Scale Bell) (Bell *et al*., 1982) แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ

1 = *Trichoderma* เจริญคลุมทับเชื้อสาเหตุโรคพืชทั้งหมด และปกคลุมทั่วบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

2 = *Trichoderma* เจริญคลุมทับเชื้อสาเหตุโรคพืชอย่างน้อยสองในสามส่วนของบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

3 = *Trichoderma* และเชื้อสาเหตุโรคพืช เจริญครอบคลุมพื้นที่ประมาณครึ่งหนึ่งของบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (พื้นที่มากกว่าหนึ่งในสามและน้อยกว่าสองในสาม) หรือไม่สามารถระบุเชื้อที่ครอบครองพื้นที่หลัก

4 = เชื้อสาเหตุโรคพืชครอบครองพื้นที่อย่างน้อยสองในสามของบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อและไม่ได้รับผลกระทบจากการเจริญลุกล้ำของ *Trichoderma*

5 = เชื้อสาเหตุโรคพืชเจริญคลุมทับ *Trichoderma* ทั้งหมด และปกคลุมทั่วบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอม สาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria porri*

Screening of *Trichoderma* spp. for controlling purple blotch of *Allium* spp. caused by *Alternaria porri*

หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/] สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[2/] นพพล สัทยาสัย[1/]
มะลิดา ชูรินทร์[2/] กรกต ดำรักษ์[1/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress Report

The objectives of this study were to select the isolate of *Trichoderma* spp. which high potential inhibit mycelial growth of *Alternaria porri* and application to control Purple blotch disease. *Trichoderma* spp. were evaluated against *A. porri* by dual culture bioassay. The result showed 14 isolates from 52 isolate of *Trichoderma* spp. could inhibit mycelial growth of *A. porri* more than75% after dual culture technique test on Potato Dextrose Agar (PDA) for 14 days. And next study is to test under greenhouse condition.

Keywords : Purple blotch disease shallot onion biological control

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกไอโซเลต *Trichoderma* spp.ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria porri* สาเหตุโรคใบจุดสีม่วงของหอม ในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อการนำไปใช้ควบคุมโรคในสภาพโรงเรือนและแปลงปลูก โดยใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *A. porri* ที่แยกได้จากโรคใบจุดสีม่วงของหอม ด้วยวิธี dual culture technique บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นเวลา 14 วัน พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. 14 ไอโซเลท จาก 52 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. porri* ได้ในระดับ 75% ขึ้นไป และจะนำไปใช้ทดสอบการควบคุมโรคในสภาพโรงเรือนต่อไป

คำหลัก : โรคใบจุดสีม่วง หอมแดง หอมหัวใหญ่ การควบคุมโดยชีววิธี

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-02-03-65

คำนำ

การปลูกหอมในประเทศไทยมักพบปัญหาด้านการระบาดของโรคและศัตรูพืช ซึ่งโรคที่พบว่าเป็นปัญหาสำคัญโรคหนึ่งในการปลูกหอมคือ โรคใบจุดสีม่วง (Purple blotch disease) เกิดจากเชื้อรา *Alternaria porri* พบการระบาดมากโดยเฉพาะในช่วงปลายฝนต้นหนาว และระยะที่มีหมอกและน้ำค้างจัด อาการเริ่มแรกเป็นจุดฉ่ำน้ำ ขนาดเล็ก เมื่อแห้งเปลี่ยนเป็นจุดแผลสีขาว ต่อมาแผลขยายออก รูปกลมรีหรือยาวไปตามใบ ขนาดไม่แน่นอน เนื้อเยื่อยุบตัวลง แผลมีสีม่วงเข้มหรือสีน้ำตาลอมม่วง ตรงกลางซีดจางกว่าเล็กน้อย ส่วนรอบนอกมีแถบเซลล์ตายสีขาวหรือสีเหลืองส้มล้อมรอบ เมื่ออากาศชื้น ราจะสร้างสปอร์สีดำที่บริเวณแผล ใบที่มีแผลขนาดใหญ่หลายแผลติดกัน จะหักพับลง ทำให้ใบแห้งตาย เมื่อโรคระบาดรุนแรงใบจะแห้งหมด ต้นตาย เก็บผลผลิตไม่ได้ บางครั้งถ้าสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม พบแผลจุดสีขาวขนาดเล็กจำนวนมากกระจายทั่วใบ แผลไม่พัฒนาขยายเป็นแผลสีม่วง มองเห็นเป็นอาการใบลาย ระบาดโดยสปอร์ของเชื้อแพร่กระจายไปตามลม น้ำ แมลง เครื่องมือการเกษตรและเมล็ดพันธุ์ ราอยู่ข้ามฤดูโดยสปอร์ปนอยู่กับเศษซากพืชในดิน โรคระบาดได้ดีในสภาพอากาศเย็น มีความชื้นสูง จึงพบระบาดในฤดูหนาวที่มีน้ำค้างลงจัดหรือปลายฤดูฝนต่อฤดูหนาว โดยปกติจะพบโรคระบาดในระยะหอมกระเทียมโตหรือลงหัวแล้ว แต่บางครั้งอาจพบเมื่อต้นยังเล็ก ถ้าปลูกพืชล่าช้า ในขณะที่แปลงข้างเคียงมีโรคระบาดอยู่แล้ว โรคจะระบาดรุนแรงมากถ้ามีเพลี้ยไฟร่วมเข้าทำลาย (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2554)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นวิธีการทางเลือก (alternative method) ที่เน้นการควบคุมและลดปริมาณ ตลอดจนลดกิจกรรมของเชื้อก่อโรคให้อยู่ระดับที่ไม่สามารถก่อให้เกิดความเสียหายกับพืช โดยปัจจุบันการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืชได้รับความสนใจและนำมาปรับใช้ในระบบการผลิตพืชผักเพื่อทดแทนหรือลดปริมาณการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช จิระเดช (2538) พบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มาเป็นเชื้อราที่มีคุณสมบัติและศักยภาพสูงในการใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ตรงตามหลักการและแนวคิดของการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธี ทั้งนี้เพราะเป็นเชื้อราที่ดำรงชีวิตอยู่ในดิน อาศัยเศษซากพืชซากสัตว์และแหล่งอินทรียวัตถุ เป็นแหล่งอาหาร พบได้โดยทั่วไปในดินทุกแห่ง เป็นศัตรู (ปฏิปักษ์) ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดโดยวิธีการเบียดเบียนหรือเป็นปรสิตและแข่งขันหรือแย่งใช้อาหารที่เชื้อโรคต้องการ นอกจากนี้เชื้อราไตรโคเดอร์มายังสามารถผลิตสารปฏิชีวนะและสารพิษ ตลอดจนน้ำย่อยจากพวกเอนไซม์สำหรับช่วยละลายผนังเส้นใยของเชื้อโรคพืช คุณสมบัติพิเศษของเชื้อราไตรโคเดอร์มาคือ สามารถชักนำให้ต้นพืชมีความต้านทานต่อเชื้อโรคพืชทั้งเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช การใช้ราไตรโคเดอร์มาจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้เกษตรกรลดการใช้สารเคมีลง ชนินทร (2560) พบว่า *Trichoderma asperellum T. harzianum* และ *T. viride* เป็นเชื้อราที่เป็นที่รู้จักใน genus *Trichoderma* และมีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีการส่งเสริมให้ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยทั้งทางภาครัฐและเอกชน รวมถึงมีการผลิตเชื้อรา *T. asperellum T. harzianum* และ *T.viride* ในเชิงการค้า

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นกล้าหอม

2. เชื้อรา *Alternaria porri* สาเหตุโรคใบจุดสีม่วงในหอม

3. เชื้อรา *Trichoderma* spp.

4. อาหารสำหรับแยกและเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ peptone dextrose rose-bengal agar (Martin's medium), rose bengal agar, potato dextrose agar (PDA) และ เมล็ดข้าวฟ่าง

5. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ cork borer และเข็มเขี่ย

6. อุปกรณ์การเกษตร เช่น กระถาง และดินปลูกพืช

7. สารป้องกันกำจัดโรคพืช difenoconazole 25% W/V EC (15 มล./น้ำ 20 ลิตร)

8. ป้ายแสดงกรรมวิธีทดลอง และอุปกรณ์สำหรับการบันทึกข้อมูล

9. แปลงหอมของเกษตรกร

10. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

วิธีการ

1. การเก็บ และรวบรวม เชื้อรา *Trichoderma* spp. และ เชื้อรา *Alternaria porri* สาเหตุโรคใบจุดสีม่วงในหอม (2565)

เก็บตัวอย่างดิน พืช และวัสดุอื่น ๆ ที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถเจริญอยู่ได้จากแหล่งต่างๆ มาแยกเชื้อบนอาหารที่เหมาะสม เช่น Martin's medium, rose bengal agar และ PDA แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ เก็บรักษาไว้เพื่อใช้ศึกษาต่อไป โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเชื้อรา *Trichoderma* spp. อีกส่วนหนึ่งที่ศึกษานำมาจากหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ทางการเกษตร กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

เก็บตัวอย่างโรคใบจุดสีม่วงของหอมที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria porri* จากแปลงปลูก นำมาแยกเชื้อบนอาหาร PDA และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

<u>พิสูจน์การเป็นเชื้อสาเหตุโรค</u>

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

สถานที่เก็บตัวอย่างเชื้อรา *Trichoderma* spp. และ *A. porri*

<u>สถานที่ทดลอง</u> แปลงปลูกพืชต่าง ๆ และกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

2. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. porri* สาเหตุโรคใบจุดสีม่วงของหอมในห้องปฏิบัติการ (2565)

ทดสอบด้วยวิธี dual culture technique โดยตัดชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา *A. porri* และเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่รวบรวมได้ แต่ละไอโซเลท ซึ่งเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 3 วัน วางลงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบ ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 1 เซนติเมตร ในฝั่งตรงข้ามกัน วางจานเลี้ยงเชื้อทดสอบไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 5-7 วัน (เมื่อโคโลนีของเชื้อรา *A. porri* ในจานเลี้ยงเชื้อกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีเชื้อรา *Trichoderma* sp. เจริญเต็มจาน) จึงบันทึกการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. porri* วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำๆ ละ 5 จานเลี้ยงเชื้อ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT การบันทึกการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. porri* โดยวัดรัศมีโคโลนีเชื้อราแล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition rate growth: PIRG) ของเชื้อรา โดยใช้สูตร

PIRG = [(RC - RT) / RC] x 100

RC = รัศมีโคโลนีเชื้อรา *A. porri* ในจานเลี้ยงเชื้อกรรมวิธีควบคุม

RT= รัศมีโคโลนีเชื้อรา *A. porri* ในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบ

เลือกไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria porii* ไปทดสอบในสภาพโรงเรือนต่อไป

<u>การบันทึกข้อ</u>

มูลรัศมีของโคโลนีเชื้อรา *Alternaria porri* และโคโลนีเชื้อรา *Trichoderma* sp.

<u>สถานที่ทดลอง</u>

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

3. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมในสภาพโรงเรือน (2566)

คัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพดี 10 อันดับแรก ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A.porri* สูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป จาการทดสอบในห้องปฏิบัติการ นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมในกระถาง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 10 ต้น กระถางละ 1 ต้น มี 12 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 *A.porri* + *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 1

กรรมวิธีที่ 2 *A.porri* + *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 2

กรรมวิธีที่ 3 *A.porri* + *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 3

กรรมวิธีที่ 4 *A.porri* + *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 4

กรรมวิธีที่ 5 *A.porri* + *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 5

กรรมวิธีที่ 6 *A.porri* + *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 6

กรรมวิธีที่ 7 *A.porri* + *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 7

กรรมวิธีที่ 8 *A.porri* + *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 8

กรรมวิธีที่ 9 *A.porri* + *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 9

กรรมวิธีที่ 10 *A.porri* + *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 10

กรรมวิธีที่ 11 *A.porri* + น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

กรรมวิธีที่ 12 *A.porri* + difenoconazole 25% W/V EC

- เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *A. porri* เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ให้มีความหนาแน่นของสปอร์ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อลงบนต้นหอม

- เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ตามไอโซเลทที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. porri* (จากข้อ 2) ให้มีความหนาแน่นของสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นลงบนหอมที่ปลูกเชื้อ บ่มในโรงเรือน

ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค ด้วยการพ่น spore suspension ของเชื้อ *A. porri* บนหอมที่มีอายุ 30-45 วัน ที่เตรียมไว้ เมื่อพืชเริ่มแสดงอาการโรค (1-2 วัน หลังปลูกเชื้อ) ทำการพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ โดยพ่นทุก 5 วัน อย่างน้อย 4 ครั้ง ประเมินการเกิดโรคก่อนพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ทุกครั้ง และหลังพ่นครั้งสุดท้าย 5 และ 10 วัน

- ตรวจสอบหลังจากพ่นด้วยเชื้อรา *Trichoderma* sp. และนำผลมาวิเคราะห์ประสิทธิภาพการพ่นด้วยเชื้อรา *Trichoderma* sp. เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและสารป้องกันกำจัดโรคพืชเปรียบเทียบ difenoconazole 25% W/V EC (15 มล./ น้ำ 20 ลิตร)

โดยประเมินความรุนแรงของโรคจากพืชทุกต้น การประเมินความรุนแรงของโรค แบ่งออกเป็น 6 ระดับ ดังนี้

ระดับ 1 พืชไม่ปรากฏอาการโรค

ระดับ 2 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 1-5% ของต้น

ระดับ 3 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 6-10% ของต้น

ระดับ 4 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 11-25% ของต้น

ระดับ 5 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 26-50% ของต้น

ระดับ 6 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 51-100% ของต้น

นำข้อมูลระดับการเกิดโรคมาคำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI)

ดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI) = (ผลรวมของ (ระดับ x จำนวนใบของแต่ละระดับ) x 100)/(จำนวนใบทั้งหมด x ระดับสูงสุด)

เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan’s multiple range test (DMRT)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

เปอร์เซ็นต์หรือระดับการเกิดโรคใบจุดสีม่วง

<u>สถานที่ทดลอง</u>

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

4. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงในหอมในสภาพแปลงปลูก

- ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมในแปลงปลูก โดยเลือกใช้แปลงทดลองซึ่งพบโรคใบจุดสีม่วงของหอมระบาด วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี โดยเลือกเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่มีศักยภาพดี 4 ลำดับ จากข้อ 3 มาทำการทดสอบ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและสารป้องกันกำจัดโรคพืชเปรียบเทียบ difenoconazole 25% W/V EC (15 มล./น้ำ 20 ลิตร)

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 10 ต้น มี 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่น *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 1

กรรมวิธีที่ 2 พ่น *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 2

กรรมวิธีที่ 3 พ่น *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 3

กรรมวิธีที่ 4 พ่น *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 4

กรรมวิธีที่ 5 พ่น น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

กรรมวิธีที่ 6 พ่น difenoconazole 25% W/V EC

- เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ตามไอโซเลทที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา A. porri (จากข้อ 3) ให้มีความหนาแน่นของสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นลงบนต้นหอม ดูแลรักษาตามวิธีการของเกษตรกร

โดยทำการพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ ทุก 5 วัน อย่างน้อย 4 ครั้ง ประเมินการเกิดโรคก่อนพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ทุกครั้ง และหลังพ่นครั้งสุดท้าย 5 และ 10 วัน

- ตรวจสอบหลังจากพ่นด้วยเชื้อรา *Trichoderma* sp. และนำผลมาวิเคราะห์ประสิทธิภาพการพ่นด้วยเชื้อรา *Trichoderma* sp. เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและสารป้องกันกำจัดโรคพืชเปรียบเทียบ difenoconazole 25% W/V EC (15 มล./ น้ำ 20 ลิตร)

โดยประเมินความรุนแรงของโรคจากพืชทุกต้น การประเมินความรุนแรงของโรค แบ่งออกเป็น 6 ระดับ ดังนี้

ระดับ 1 พืชไม่ปรากฏอาการโรค

ระดับ 2 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 1-5% ของต้น

ระดับ 3 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 6-10% ของต้น

ระดับ 4 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 11-25% ของต้น

ระดับ 5 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 26-50% ของต้น

ระดับ 6 พืชปรากฏแผลใบจุดสีม่วง 51-100% ของต้น

นำข้อมูลระดับการเกิดโรคมาคำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI)

ดัชนีการเกิดโรค (Disease Index, DI) = (ผลรวมของ (ระดับ x จำนวนใบของแต่ละระดับ) x 100)/(จำนวนใบทั้งหมด x ระดับสูงสุด)

เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan’s multiple range test (DMRT)

- รวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูล สรุปและรายงานผลการทดลอง

การบันทึกข้อมูล

การเกิดโรคบนใบเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเปรียบเทียบกับพื้นที่ใบทั้งหมด นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

เวลาและสถานที่

สถานที่ทดลอง แปลงเกษตรกรผู้ปลูกหอม เช่น จ.กาญจนบุรี จ.สุพรรณบุรี และ จ.ราชบุรี

ระยะเวลา ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างดินจากสถานที่ต่างๆ จำนวน 152 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในห้องปฏิบัติการ ได้เชื้อรา *Trichoderma* spp. สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria porri* ในห้องปฏิบัติการ 39 ไอโซเลท และเชื้อราที่เก็บรวบรวมในห้องปฏิบัติการ จำนวน 13 ไอโซเลท รวม 52 ไอโซเลท นำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. porri* โดยวิธี dual culture technique บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นเวลา 14 วัน พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. porri* ได้ดีที่สุด 10 อันดับแรก ได้แก่ ไอโซเลท KRIM1 78.607%, NYKM3 77.37%, NPTNC2 77.25%, NYKM1 77.25%, NYKM2 77.00%, KRIM2 76.75%, PCTSL1 76.63%, BRMM1 76.38%, SRNTT1 75.89% และ NPTNC1 75.77% ตามลำดับ (ภาพที่ 1, ตารางที่ 1) และไอโซเลทอื่นๆ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. porri* ได้มากกว่า 60%

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. porri* จากเชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยวิธี dual culture technique พบว่าให้ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการดีกว่า สุธามาศ (2557) ที่ได้ทดสอบประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Phyllosticta citricarpa* สาเหตุโรคจุดสีน้ำตาลของส้มโอในห้องปฏิบัติการ ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 43.3-50% แต่ยังน้อยกว่า Bayoumi (2019) ซึ่งได้ทำการทดลองควบคุมเชื้อ *Alternaria porri* โดยใช้เชื้อ *T.viride* และ *T. harzianum* และพบว่าเชื้อทั้งสองสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. porri* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้ 100% และ 83% ตามลำดับ ทั้งนี้การคัดเลือกไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จะพิจารณาร่วมกันทั้งความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยในจานอาหารเลี้ยงเชื้อและความสามารถในการสร้างโคนิเดีย เนื่องจากโคนิเดียเป็นส่วนขยายพันธุ์ที่นิยมนำมาเป็นตัวออกฤทธิ์ (active ingredient) ของชีวภัณฑ์ *Trichoderma* สำหรับควบคุมโรคพืช (Panahian et al., 2012) เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบในสภาพโรงเรือนต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 52 ไอโซเลท ที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. porri* พบว่าทุกไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้มากกว่า 60% ขึ้นไป และพบว่ามี 14 ไอโซเลทที่สามารถการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้มากกว่า 75%

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช และกลุ่มวิจัยโรคพืชที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สามารถดำเนินงานต่อไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยโรคพืช .2554. โรคผักและการป้องกันกำจัด. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ .153 หน้า.

จิรเดช แจ่มสว่าง. 2538. การควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา: ตอนที่ 2 หลักการและบทบาท. วารสารเคหการเกษตร. ปีที่ 19(10); 159-165.

ชนินทร ดวงสอาด พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว มะโนรัตน์ สุดสงวน และ สุทธิณี ลิขิตตระกูลรุ่ง. 2560. การใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อจำแนกเชื้อรา *Trichoderma asperellum T. harzianum* และ *T. viride* DNA Barcoding for *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum* and *T. viride* Identification. หน้า 1625-1636. ใน รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2560. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

สุธามาศ ณ น่าน ปฏิพัทธ์ ใจปิน สนอง จรินทร และบุญปิยะธิดา คล่องแคล่ว .2557. *ผลของราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในห้องปฏิบัติการ*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: https://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=2399 (27 พฤศจิกายน 2565).

Bayoumi Y, Taha N, Shalaby T, Alshaal T and El-Ramady H. 2019. Sulfur promotes biocontrol of purple blotch disease via *Trichoderma* spp. and enhances the growth, yield and quality of onion. Applied soil ecology. 134: 15-24.

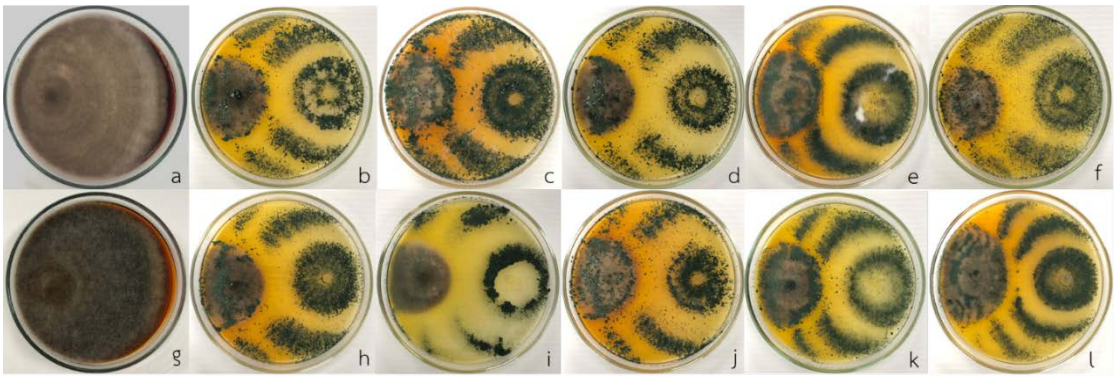
Panahian Gh, Rahnama K and M Jafari. 2012. Mass production of Trichoderma spp and application. International Research Journal of Applied and Basic Sciences 3(2): 292-298.

ตารางที่ 1 ความสามารถของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria porri*

ลำดับ	ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
1	KRIM1	78.61
2	NYKM3	77.37
3	NPTNC2	77.25
4	NYKM1	77.25
5	NYKM2	77.00
6	KRIM2	76.75
7	PCTSL1	76.63
8	BRMM1	76.38
9	SRNTT1	75.89
10	NPTNC1	75.77
11	TRGM4	75.54
12	PCTSL2	75.47
13	SRNTT3	75.29
14	PCTSL5	75.16
15	NPTKS1	74.91
16	SSKRS3	74.78
17	TRGM2	74.41
18	PCTSL3	74.28
19	PCTSL6	74.28
20	PCTSL3	74.16
21	TRGM2	74.15
22	NPTKS1	73.90
23	PCTSL4	73.90
24	NPTNC3	73.78
25	NPTNC6	73.78
26	BRMM3	73.27
27	NPTNC5	73.02
28	SSKRS1	72.90
29	SSKRS2	72.64
30	T31	72.53
31	SSKRS2	72.27
32	T153	72.16
33	T87	72.04
34	TRGM3	71.89
35	T28	71.79
36	BRMM2	71.73
37	T155	71.73
38	T27	71.67
39	NPTKS2	71.61

ตารางที่ 1 ความสามารถของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria porri* (ต่อ)

ลำดับ	ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
40	T143	71.55
41	DOA2550	71.42
42	SRNTT4	71.24
43	NYKM4	71.24
44	T85	71.05
45	SRNTT6	70.99
46	SRNTT5	70.99
47	T141	70.93
48	T20	70.13
49	T30	69.77
50	T21	69.03
51	NRTSC1	65.08
52	SRNTT2	63.44
53	control	-



ภาพที่ 1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Alternaria porri* โดยวิธี dual culture technique 10 ไอโซเลท เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

a, g ชุดควบคุม เชื้อ *A. porri*, **b** ไอโซเลท KRIM1, **c** ไอโซเลท NYKM3, **d** ไอโซเลท NPTNC2, **e** ไอโซเลท NYKM1, **f** ไอโซเลท NYKM2, **h** ไอโซเลท KRIM2, **i** ไอโซเลท PCTSL1, **j** ไอโซเลท BRMM1, **k** ไอโซเลท SRNTT1, **l** ไอโซเลท NPTNC1

เทคโนโลยีการใช้เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการควบคุมโรครากเน่า และโคนเน่าของทุเรียน เพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

Technology of Luminescent Mushroom Sirin Ratsamee in The Control of Durian Foot rot and Root Rot for Sustainable Plant Production

สุรีย์พร บัวอาจ[1/] บุษราคัม อุดมศักดิ์[1/] มะลิดา ชูรินทร์[1/] มาลัยพร เชื้อบัณฑิต[2/]
เครือวัลย์ ดาวงษ์[3/] นิภาภรณ์ ชูสีนวน[4/] นพวรรณ นิลสุวรรณ[5/]
จิตรานุช เรืองกิจ[6/] รัศมี เหล็กพรม[7/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน
[3/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 6
[4/]กลุ่มวิชาการ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุราษฎร์ธานี
[5/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8
[6/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1
[7/]คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Progress report

Root rot and stem rot disease of durian caused by *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler, is an important disease. The problems had been serious for long time from the past to the present. The farmers have no suitable control method. Biological control is alternative management. Therefore, this research aims to testing the technology of using luminescent mushroom “Sirin Ratsamee” for control root rot and stem rot disease. The experiment comprised 2 treatments. The treatments were the application of 100 % culture filtrate mixed with iron oxide ratio 1:1 of water compared with the farmers' methods. The results showed that 100 % of culture filtrate mixed with iron oxide ratio 1:1, the wound was dry, with the non-gummy substance on the bark, and the wound was nonspreading. But significantly with the farmers' methods. The gummy substance flowed from the bark when chipping on the bark the infection was spreading from the marker, and the results were consistent with 2 experiments.

Keywords : durian luminescent Mushrooms stem and root rot

รหัสการทดลอง FF65-10-03-65-03-01-65

รายงานความก้าวหน้า

ปัญหาที่สำคัญของทุเรียนที่เกษตรกรประสบ คือ โรครากเน่าและโคนเน่า ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytopthora palmivora* เป็นปัญหาเกิดขึ้นเรื้อรังมายาวนานและสร้างความเสียหายตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบัน ซึ่งเกษตรกรไม่มีวิธีการป้องกันกำจัดที่เหมาะสม การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ ดังนั้น งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบเทคโนโลยีการใช้เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน โดยดำเนินการทดสอบที่อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี และอำเภอกะปง จังหวัดพังงา จำนวน 2 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีผสมกับสีฝุ่น (iron oxide) อัตรา 1:1 เปรียบเทียบกับกรรมวิธีของเกษตรกร โดยการใช้น้ำยาเส้นผสมปูนแดง ผลการทดสอบทั้ง 2 แปลง พบว่าแปลงที่ใช้เทคโนโลยีเห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีทาเพียงครั้งเดียวสามารถควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าในทุเรียนได้ดี โดยแผลยังแห้งไม่มีน้ำเยิ้ม และเชื้อไม่ขยายลุกลาม ซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้น้ำยาเส้นผสมปูนแดง แผลจะเยิ้มและเมื่อถากพบขนาดแผลขยายลุกลาม โดยให้ผลสอดคล้องกันทั้ง 2 แปลง

คำหลัก : ทุเรียน เห็ดเรืองแสง โรครากเน่าและโคนเน่า

คำนำ

ทุเรียน Durian, *Durio zibethinus* Linn. เป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย จากสถิติการเกษตรปี 2556-2560 มีรายงานพื้นที่การผลิตทุเรียนเพิ่มขึ้น โดยปี 2556 มีพื้นที่ให้ผลผลิต 577,235 ไร่ ปี 2560 มีพื้นที่ให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเป็น 592,750 ไร่ หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.73 ต่อปี ส่งผลให้ราคาส่งออกทุเรียนสดและผลิตภัณฑ์อยู่ในระดับสูง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) การส่งออกทุเรียนปี 2564 มีมูลค่ารายเดือนสูงสุดเป็นประวัติการณ์ ที่ 934.9 ล้านดอลลาร์ โดยการส่งออกไปจีนที่เป็นตลาดหลักเติบโตสูงถึงร้อยละ 130.9 (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2564) แต่ปัญหาที่สำคัญที่เกษตรกรประสบ คือ โรครากเน่าโคนเน่า สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytopthora palmivora* Butler (1919) พบการเกิดโรคได้ทุกส่วน ต้นตั้งแต่ราก ลำต้น กิ่ง ใบ และผล กรมวิชาการเกษตรได้ทดสอบและเผยแพร่เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนตั้งแต่ปี 2542 แต่ยังพบการแพร่ระบาดของโรคอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดโรค และเกษตรกรขาดความเข้าใจในการปรับใช้เทคโนโลยีที่ถูกต้อง ส่งผลให้การควบคุมการเกิดโรคไม่ประสบความสำเร็จ นอกจากนี้เชื้อชนิดนี้ยังอาศัยอยู่ในดินและในน้ำ ถึงแม้จะป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมี การระบาดของโรครากเน่าและโคนเน่าก็ยังคงเกิดขึ้นอยู่เป็นประจำ (ทวี, 2545 ; อมรรัตน์, 2554) ทำให้เกษตรกรมีการใช้สารเคมีกันมากขึ้น และใช้ในอัตราที่สูงขึ้น ส่งผลให้เชื้อ *P. palmivora* มีการพัฒนาและดื้อยา สุรีย์พร และคณะ (2564) ได้ทดสอบการใช้เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน ณ อ.ไชยา จ. สุราษฎร์ธานี และ อ.ธารโต จ. ยะลา ทำการทดสอบระหว่างเดือนธันวาคม 2563 – ธันวาคม 2564 พบว่า การใช้น้ำเห็ดเรืองแสงสิรินรัศมี ที่ความเข้มข้น 100 % ผสมกับสีฝุ่น อัตรา 1:1 ส่งผลให้แผลแห้ง ไม่เยิ้ม และเชื้อไม่ขยาย

ลุกลาม ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีการใช้สารเคมี metalaxyl 25% WP อัตรา 50 กรัม/น้ำ 1 ลิตร แต่แตกต่างจากกรรมวิธีใช้สีฝุ่นเพียงอย่างเดียว และกรรมวิธีน้ำเปล่า ซึ่งมีลักษณะแผลเยิ้ม และเชื้อขยายลุกลาม ให้ผลสอดคล้องกันทั้ง 2 แปลง นี่เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ เพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าในทุเรียนให้กับเจ้าหน้าที่ในส่วนภูมิภาค เพื่อขยายผลต่อในระดับพื้นที่ให้มีประสิทธิภาพเหมาะสม เพื่อใช้ทดแทนหรือลดการใช้สารเคมีทางการเกษตร เพื่อให้เกษตรกรสามารถผลิตขยายชีวภัณฑ์เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีเพื่อควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าในทุเรียนใช้เองได้อย่างมีประสิทธิภาพ อันเกิดประโยชน์สูงสุดต่อเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภค เป็นการลดต้นทุนการผลิตและสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับผลิตผลทางการเกษตร และสร้างรายได้เพิ่มให้กับเกษตรกร รวมถึงมีระบบการผลิตที่ยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นการสนองนโยบายสำคัญและแนวทางการปฏิบัติงานของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงสิรินรัศมี
2. กากน้ำตาล
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น ตะเกียงแอลกอฮอล์ กระบอกตวง จานอาหารเลี้ยงเชื้อ เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิ ฯลฯ
4. ภาชนะที่ทนร้อน
5. ยางยืด เบอร์4
6. ผ้าขาวบาง
7. สีฝุ่น (iron oxide)
8. แปลงทาสี
9. สวนทุเรียนของเกษตรกร

วิธีการ

ทดสอบเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน

1. สำรวจพื้นที่ปลูกทุเรียนจังหวัดจันทบุรี หรือสุราษฎร์ธานี หรือพังงา หรือนครศรีธรรมราช ที่ประสบปัญหาโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียน คัดเลือกแปลงเกษตรกร อย่างน้อย 2 จังหวัด เพื่อเป็นแปลงทดสอบการใช้เห็ดเรืองแสงในควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียน

2. ประเมินการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า โดยใช้ต้นทุเรียนที่เป็นโรค จำนวนไม่น้อยกว่า 8 ต้นต่อแปลง เก็บตัวอย่างโรควินิจฉัยเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ จากนั้นประเมินความสมบูรณ์ของต้นทุเรียนจากต้น กิ่ง และใบ ก่อนดำเนินการทดลอง เพื่อประเมินการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน โดยดัดแปลงจาก ศิริพร และคณะ (2558) โดยให้ระดับค่าคะแนน ดังนี้

ระดับความสมบูรณ์ของต้น	สภาพความสมบูรณ์ของต้น	ลักษณะของต้นและใบ				โรค
		โครงสร้างต้น	ทรงพุ่ม	ปริมาณใบ	สีใบ	
ระดับที่ 1	ต้นสมบูรณ์ดีมาก 80-100%	ดี	สวยงาม	หนาแน่น	ใบสีเขียวเข้มเป็นมัน	ใบ กิ่งก้าน ลำต้นปราศจากโรคเข้าทำลาย หรือมีได้ไม่เกิน 0-5%
ระดับที่ 2	ต้นสมบูรณ์ดี 70-79%	ค่อนข้างดี	สวยงามปานกลาง	ค่อนข้างหนาแน่น	ใบสีเขียวเป็นมัน	โรคเข้าทำลายลำต้นและกิ่งก้านเล็กน้อย แต่ไม่ถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อต้นทุเรียน การเข้าทำลายของโรคในภาพรวมทั้งต้นอยู่ระหว่าง 6-20%
ระดับที่ 3	ต้นสมบูรณ์ปานกลาง ≥50-60%	ไม่ค่อยดี บริเวณปลายยอดแห้งเป็นบางกิ่ง	ค่อนข้างไม่สวยงาม	ค่อนข้างน้อย	ใบสีเหลืองซีด	โรคเข้าทำลายที่ลำต้น กิ่ง ใบและรากในระดับค่อนข้างรุนแรง การเข้าทำลายของโรคในภาพรวมทั้งต้นอยู่ระหว่าง 21-60%
ระดับที่ 4	ต้นสมบูรณ์น้อย < 50%	ไม่ค่อยดี บริเวณปลายยอดแห้ง ทั้งกิ่งแขนงและกิ่งหลักหลายกิ่ง	ไม่สวยงาม	น้อยมาก	ใบสีเหลืองซีด และมีขนาดเล็กมาก	โรคเข้าทำลายที่ลำต้น กิ่ง ใบ รากในระดับค่อนข้างรุนแรงมาก อาจฟื้นฟูได้แต่ไม่คุ้มค่าการลงทุน การเข้าทำลายของโรคในภาพรวมทั้งต้นมากกว่า 60%

3. เตรียมน้ำเห็ดเรืองแสงสิรินรัศมี โดยนำกากน้ำตาล 10 มล. ผสมน้ำสะอาด 1,000 มล. ในภาชนะที่ทนร้อน ต้มให้เดือด พอเดือด ใช้ภาชนะปิดเพื่อป้องกันฝุ่นและเชื้อในอากาศ พักให้อุณหภูมิ ประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส จึงเขี่ยเชื้อเห็ดเรืองแสง จำนวน 20 กรัม เลี้ยงขยายในกากน้ำตาลที่ผ่านการต้มฆ่าเชื้อ จากนั้นใช้พลาสติกร้อนปิดแล้วใช้ยางรัดพอหลวม บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 วัน เมื่อครบ 30 วัน กรองเก็บน้ำเห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีเพื่อไว้ทดสอบ

4. ดำเนินการทดสอบและเปรียบเทียบระหว่างเทคโนโลยีการใช้น้ำเห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีกับกรรมวิธีของเกษตรกร จำนวน 2 กรรมวิธี จำนวน 2 ไร่ โดยคัดเลือกต้นทุเรียนที่เป็นโรคระดับ 3 มีการดำเนินงานใน 2 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1	กรรมวิธีที่ 2 (กรรมวิธีเกษตรกร)
ใช้มีดขูดเปลือกทุเรียนที่เป็นโรคออก วัดขนาดแผล (กว้างxยาว) (สูง) แล้วทำเครื่องหมาย ทาด้วยชีวภัณฑ์น้ำเห็ดเรืองแสงสิรินรัศมี ผสมกับสีฝุ่น (iron oxide) อัตรา 1:1	ใช้มีดขูดเปลือกทุเรียนที่เป็นโรคออก วัดขนาดแผล (กว้างxยาว) (สูง) แล้วทำเครื่องหมาย ทาแผลด้วยน้ำหมักยาเส้นผสมปูนแดง

5. ประเมินการเกิดโรคก่อนและหลังใช้สาร ทุก 30 วัน เป็นระยะเวลา 3 เดือน

โดยบันทึกการขยายการลุกลามของเชื้อ ความเยิ้มหรือชื้นของแผล เมื่อสิ้นสุดการทดสอบให้ถากเปลือกบริเวณขอบแผลออกบางๆ 1-2 มม. วัดขนาดแผล กว้าง x ยาว (สูง) เช่นเดียวกับครั้งแรก

กรณี ถ้าเชื้อโรคหยุดการลุกลาม ลักษณะแผลจะแห้ง ขอบแผลจะมีสีเข้มหรือดำตัดกับเนื้อเปลือกปกติอย่างชัดเจน และมีลักษณะการรัดตัวของเนื้อไม้หุ้มแผลได้ถากไว้ตั้งแต่เริ่มแรก

แต่ถ้ากรณี โรคลุกลามและขยาย ลักษณะแผลจะเยิ้มและมีน้ำเยิ้มไหลออกมา ขนาดแผลจะขยายวงกว้างขึ้นจากบริเวณที่ทำเครื่องหมายไว้

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม – สิงหาคม 2565

แปลงที่ 1 อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี

แปลงที่ 2 อ.กะปง จ.พังงา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดสอบเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีผสมกับสีฝุ่น (iron oxide) อัตรา 1:1 เปรียบเทียบกับกรรมวิธีของเกษตรกร โดยใช้น้ำหมักยาเส้นผสมปูนแดง ในพื้นที่ 2 จังหวัด คือ อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี และ อ.กะปง จ.พังงา ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม – สิงหาคม 2565 เป็นระยะเวลา 3 เดือน ผลการทดสอบทั้ง 2 แปลง ให้ผลสอดคล้องกัน พบว่าแปลงที่ใช้เทคโนโลยีเห็ดเรืองแสง สิรินรัศมี ทาเพียงครั้งเดียวบนแผลที่เป็นโรค สามารถควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าในทุเรียนได้ดี แผลแห้งไม่เยิ้ม และเชื้อไม่ขยายลุกลาม ซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้น้ำยาเส้นผสมปูนแดง แผลจะเยิ้มและเมื่อถากพบขนาดแผลขยายลุกลาม ตามที่ สุรีย์พร (2552) ได้รายงานว่าสาร Aurisin A ที่สกัดได้จากเห็ดเรืองแสง สิรินรัศมี (*Neonothopanus nambi*) มีผลต่อเชื้อราชั้นต่ำสาเหตุโรคพืชในสกุล Pythium และ Phytopthora ได้ดี สอดคล้องตาม Boehlendorf *et al*. (2004) ที่รายงานว่าสาร aurisin A ที่แยกได้จากเห็ดในสกุล Panus sp. มีฤทธิ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น *Pythium ultimum*, *Venturia inaequalis*, *Plasmopara viticola*, *Puccinia graminis* และ *Phytopthora infestans*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้เทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียนที่เหมาะสมกับสภาพแปลงของเกษตรกร สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าในทุเรียน ให้กับเจ้าหน้าที่ในส่วนภูมิภาค และกระจายลงสู่เกษตรกร/กลุ่มเกษตรกร เพื่อขยายผลต่อในระดับพื้นที่ให้มีประสิทธิภาพเหมาะสม เพื่อใช้ทดแทนหรือลดการใช้สารเคมีทางการเกษตร และเกิดการนำเทคโนโลยีของกรมวิชาการเกษตรไปใช้อย่างกว้างขวาง และเป็นที่รู้จักของเกษตรกร

เอกสารอ้างอิง

ทวี เก่าศิริ. 2545. อนุกรมวิธาน *Phytophthora* (Taxonomy of *Phytophthora*). เอกสารประกอบการเรียนการสอนวิชาอนุกรมวิธานรา ภาควิชาจุลชีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 30 หน้า.

ศิริพร วรกุลดำรงชัย มาลัยพร เชื้อบัณฑิต ธิติยา สารพัฒน์ วิชาญ ประเสริฐ อภิรดี กอร์ปไพบูลย์ นลินี ศิวากรณ์ เพลินพิศ สงสังข์ และพจนา ตระกูลสุขรัตน์. 2558. การเพิ่มประสิทธิภาพด้านการผลิตทุเรียนคุณภาพและการกระจายการผลิต. 74 หน้า. *ใน : รายงานโครงการวิจัยปี 2558*. ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี กรมวิชาการเกษตร.

ศูนย์วิจัยกสิกรไทย. 2564. ส่งออกทุเรียนไทย พ.ค.2564 มีมูลค่ารายเดือนสูงสุดเป็นประวัติการณ์ ดันทั้งปีทำสถิติใหม่เร่งตัวแรง 35%-40% (กระแสทรรศน์ ฉบับที่ 3233) วันที่ 25 มิถุนายน 2564 (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล. https://www.kasikornresearch.com/th/analysis/k-econ/business/Pages/Durian-z3233.aspx (16 สิงหาคม 2565).

สุรีย์พร บัวอาจ. 2552. การจำแนกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* และผลของสารออกฤทธิ์ต่อไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงศัตรูพืช (*Steinernema carpocapsae*). หน้า 133-137. *ใน : การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 12*, วันที่ 12-13 กุมภาพันธ์ 2552 บัณฑิตวิทยาลัย อาคารศูนย์วิชาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น .ขอนแก่น.

สุรีย์พร บัวอาจ บุษราคัม อุดมศักดิ์ มะลิดา ชูรินทร์ มาลัยพร เชื้อบัณฑิต นิภาภรณ์ ชูสีนวน สุธาสินี จันทร์แจ่มใส นพวรรณ นิลสุวรรณ และจิตรานุช เรืองกิจ. 2564. ศักยภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* (Speg.) R.H. Petersen & Krisai ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytopthora palmivora* (Butler) Butler. หน้า 878-896. *ใน*: *รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2564*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560. *สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้มปี 2561*. รายละเอียดภาวะเศรษฐกิจการเกษตรฝรั่ง. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล. http://www.oae.go.th (7 มีนาคม 2563).

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์. 2554. แผ่นพับโรครากเน่าโคนเน่า และโรคผลเน่าของทุเรียน สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

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.

Figure 1 Technology of luminescent mushroom Sirin Ratsamee in the control of durian stem and root rot at Pak Mak Sub-District, Chaiya District, Surat Thani Province

Figure 2 Farmers' methods at Pak Mak Sub-District, Chaiya District, Surat Thani Province

Figure 3 Technology of luminescent mushroom Sirin Ratsamee in the control of durian stem and root rot at Kapong District, Phang Nga Province

Figure 4 Farmers' methods at at Kapong District, Phang Nga Province

เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของหอยนักล่าสยาม *Perrottetia siamensis* ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช

Mass Rearing and Utilization of Predatory Terrestrial Snail, *Perrottetia siamensis* for Snails Pest Control

ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณ ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล
สมเกียรติ กล้าแข็ง ปิยาณี หนูกาฬ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress Report

The species of predatory snail, *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer, 1862) belonging to Family Streptaxidae was described from October 2016 to September 2019. Preliminary study and survey the diversity in Thailand were done. It was known to feed on other snails. In addition, It was considered carnivorous with both social predation and solitary predation. The feeding behaviors information available in the laboratory conditions, it can feed on many species of snail pests such as *Cryptozona siamensis* (1-1.5 snails/day, 3 – 5 min. /snail). Mass rearing studies was observed, the eclosion times was presented 16.75 days with 33.33 % hatching by average under observed temperature 35 ± 5 °c conditions and 22.30 days with 20.25 % hatching by average under observed temperature 2 5 ±2 °c conditions. Furthermore, an adult shown age more than 108 days and 8.12 -9.11 millimeters in shell diameter should be copulated for mating and life span 380 days (364-480 days ; n=17)

The efficacy of *P. siamensis* for controlling *Succinea* pest was investigated in orchid plantations in Phanom Thuan district, Kanchanaburi province. The experiment was a Randomized Complete Block Design (RCBD) with five treatments and four replications. The results provide valuable information for further research that *P. siamensis* (3 snails/ plot) was effectively for 45.83 % decreased *Succinea* populations, that be equally effectively as *Camellia sinensis* bait.

Keywords : predatory terrestrial snail *Perrottetia siamensis* mass rearing, snails pest control

---

รหัสการทดลอง FF65-10-05-65-01-01-65

รายงานความก้าวหน้า

หอยนักล่าสยาม *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer,1862) จัดเป็นหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ชนิดที่มีศักยภาพมากที่สุด สามารถกินหอยทากศัตรูพืชได้หลายชนิด มีพฤติกรรมการไล่ตามเหยื่อทั้งแบบล่าเดี่ยวและล่าเป็นกลุ่ม จากการศึกษา feeding behavior ในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีศักยภาพในการกินหอยดักดานศัตรูพืชขนาดเล็กได้ 1-1.5 ตัว/ วัน ใช้เวลาในการกินเหยื่อ 3 - 5 นาที/ ตัว อาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์หอยนักล่าสยามในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่ากรรมวิธีที่ให้อาหารเป็นหอยดักดาน ร่วมกับอาหารสูตร B (อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต =2:1:1) ทำให้นักล่าสยามสามารถขยายพันธุ์และวางไข่ได้ดีที่สุด โดยระยะเวลาเฉลี่ยที่ลูกหอยฟักออกจากไข่คือ 16.75 วัน เปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 33.33 (ที่อุณหภูมิ 35 ± 5 องศาเซลเซียส) และ 22.30 วัน เปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 20.25 (ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส) ตามลำดับ ลูกหอยที่เพิ่งฟักมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย มีขนาด 2 มิลลิเมตร ลำตัวสีเหลืองอ่อน ตัวเต็มวัยมีขนาดความกว้างของเปลือก 8.12 -9.11 มิลลิเมตร ลำตัวสีเหลืองเข้มหรือส้ม ระยะเวลาตั้งแต่ฟักออกจากไข่จนถึงสามารถผสมพันธุ์และวางไข่ 108 วัน มีช่วงชีวิตเฉลี่ย 380 วัน (364-480 วัน; n=17)

ทดสอบประสิทธิภาพหอยนักล่าสยามในการกำจัดหอยทากศัตรูพืชในสวนกล้วยไม้ อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี โดยใช้หอยศัตรูพืชคือหอยอำพัน *Succinea* sp. 30 ตัว/ plot วางแผนการทดลองแบบ RCBD 5 กรรมวิธีๆละ 4 ซ้ำ ประเมินการตายและตรวจนับจำนวนหอยอำพันที่ถูกกินหลังการปล่อยหอยตัวห้ำทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 3 ตัว/ plot เทียบเท่ากับกรรมวิธีวางเหยื่อ (ปลายข้าวแช่สารสกัดกากเมล็ดชา, *Camellia sinensis* L. (อัตรา 1 กิโลกรัม/น้ำ 20 ลิตร) โดยสามารถทำให้จำนวนหอยอำพันลดลง 45.83 เปอร์เซ็นต์

คำหลัก : หอยตัวห้ำ หอยนักล่าสยาม การเพาะขยาย การควบคุมหอยทากศัตรูพืช

คำนำ

การระบาดของสัตว์ศัตรูพืชในแหล่งผลิตพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด อาทิเช่น การระบาดของหอยทากในกล้วยไม้ ไม้ดอกไม้ประดับชนิดต่างๆ รวมไปถึงการระบาดของหนูในพืชไร่และไม้ผล ฯลฯ สัตว์ศัตรูพืชเหล่านี้สร้างความเสียหายทั้งทางตรงและทางอ้อม การป้องกันและกำจัดศัตรูพืชเพื่อการอารักขาพืชนั้นมีวิธีการแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของศัตรูพืช สำหรับหอยทากศัตรูพืช มีวิธีการป้องกันและกำจัดหลายวิธี ได้แก่ วิธีกลโดยการทุบให้ตาย การใช้สารบางอย่างเพื่อทำให้สมดุลในหอยทากเสียไป เช่น การโรยเกลือ กากน้ำตาลหรือน้ำหมักชีวภาพ และการใช้สารเคมี เช่น เมทัลดีไฮด์ นิโคลซาไมด์ ซึ่งการใช้สารเคมีในการกำจัดหอยทากศัตรูพืชเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมเนื่องจากสามารถกำจัดหอยได้อย่างมีประสิทธิภาพในระยะเวลาอันรวดเร็ว แต่การใช้สารเคมีเป็นจำนวนมากในการกำจัดและป้องกันศัตรูพืชตลอดจนใช้ช่วยในการเก็บรักษาผลผลิตทางเกษตรกรรม ทำให้ผลเสียที่ตามมาคือการเกิดพิษตกค้างจากสารเคมี ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่กลุ่มเป้าหมาย

เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมและอาจจะส่งผลต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้สารเคมีโดยตรง รวมไปถึงผู้บริโภคอีกด้วย ดังนั้นนักวิจัยจึงค้นคว้าเพื่อหาแนวทางการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชโดยใช้วิธีอื่นๆ นอกเหนือจากการใช้สารเคมี ซึ่งวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่กำลังเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายนั่นคือการป้องกันและกำจัดโดยชีววิธี

การวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี เป็นแนวทางที่สามารถลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรได้ ซึ่งการใช้ประโยชน์จากชีวินทรีย์หลายชนิดที่มีในประเทศไทย ได้มีการศึกษาและวิจัยพื้นฐาน รวมถึงการนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมสัตว์ศัตรูพืชในเบื้องต้น ได้แก่ การศึกษาเกี่ยวกับการนำหอยตัวห้ำมาควบคุมหอยทากในประเทศไทย โดยในปี 2554 – 2556 ผู้วิจัยได้เริ่มสำรวจหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ที่มีในประเทศไทย นำมาจำแนกชนิดและศึกษาพฤติกรรมการกินหอยศัตรูพืชชนิดต่างๆ เพื่อคัดเลือกหอยตัวห้ำชนิดที่มีศักยภาพสำหรับการพัฒนามาใช้ควบคุมหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี ซึ่งได้สำรวจพบหอยทากที่เป็นหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae จำนวน 6 genus 7 species ได้แก่ หอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* , หอยนักล่าสยาม *Perrottetia siamensis*, *Haploptychius petitii*, *Odontartemon costulatus* , *Haploptychius* spp., *Oophana* spp. *Discartemon* spp. เมื่อศึกษา feeding behavior ของหอยทากตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ในห้องปฏิบัติการ พบว่าหอยตัวห้ำทุกชนิดมีศักยภาพในการกินหอยและไข่หอยที่มีขนาดใกล้เคียงหรือขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย เช่น หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่งและหอยดักดาน โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละ 2-3 ตัว และจากการทดลอง พบว่ามีหอยตัวห้ำชนิดที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมหอยศัตรูพืช ได้แก่ หอยนักล่าสยาม, *P. siamensis*, หอยนักล่าทูโทน *G. bicolor และ Oophana* spp. ตามลำดับ โดยพบว่าหอยนักล่าสยาม มีศักยภาพมากที่สุด สามารถกินหอยดักดานขนาดเล็กได้ 1-1.5 ตัว/ วัน ใช้เวลาในการกินเหยื่อเฉลี่ย 3 - 5 นาที/ ตัว

ดังนั้น เพื่อให้มีการผลักดันและสนับสนุนให้มีการใช้ประโยชน์อย่างแท้จริง จึงมีความจำเป็นในแง่ของการวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากเพื่อนำไปขยายผลเป็นชีวินทีย์ชนิดใหม่ที่สามารถกำจัดหอยทากศัตรูพืชได้จริงในพื้นที่เกษตร ช่วยลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ เสริมสร้างคุณภาพชีวิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ลดปัญหาภัยแล้ง ลดต้นทุนการผลิตตามแนวทางเศรษฐกิจพอเพียง สร้างความปลอดภัยต่อเกษตรกรและผู้บริโภค อันจะนำไปสู่ชุมชนเข้มแข็งต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างหอยทดลอง ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ สเปรย์พ่นน้ำ ถุงมือแพทย์ คีมคีบ พู่กัน ไฟฉาย กระดาษทิชชูอเนกประสงค์

- อุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงหอยทดลอง ได้แก่ อ่างซีเมนต์ ตาข่ายสแลน ตู้กระจก ดิน สแฟกนัมมอส และวัสดุสำหรับวางไข่ ได้แก่ กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว และอิฐแผ่น

- อาหารสำหรับหอยทดลอง เช่น อาหารปลา ผักสดชนิดต่างๆ เช่น ผักกาดขาว แตงกวาและอาหารเสริมชนิดต่างๆ เช่น ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO3) เป็นต้น

- เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น เวอร์เนียร์ thermo-hygrometer, forceps และเครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ และความชื้นในดิน

- อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ ได้แก่ กล้องถ่ายภาพดิจิตอล และกล้องจุลทรรศน์

- เอกสารประกอบการศึกษาชีววิทยาและการจำแนกชนิดหอยทาก

- เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) สำหรับระบุพิกัด ที่เก็บตัวอย่าง

วิธีการ

วิธีปฏิบัติการทดลอง แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาชีววิทยาของหอยนักล่าสยาม *Perrottetia siamensis*

โดยศึกษาในโรงเรือน พื้นที่ 4.30 x 4.30 เมตร

1.1 <u>ศึกษาการผสมพันธุ์และการวางไข่</u> โดยสุ่มเลือกหอยตัวเต็มวัย ซึ่งเป็นเพศรวม (hermaphrodite) มาเลี้ยงใน กล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร จำนวน 5 ตัว/ กล่อง จำนวน 10 กล่อง สังเกตพฤติกรรมการเลือกคู่ก่อนการผสมพันธุ์และพฤติกรรมอื่นๆ ที่สังเกตได้ บันทึกขนาด อายุ และลักษณะของหอยที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์

ศึกษาการวางไข่ โดยเลือกหอยที่ผสมพันธุ์แล้ว (มีการ copulation) มาแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร 1 ตัว/ กล่อง จำนวน 30 กล่อง สังเกตและบันทึกผลการทดลองทุกวัน จนหอยวางไข่ วัดขนาดไข่ ขนาดของกลุ่มไข่ บันทึกจำนวน และลักษณะของไข่หอย พร้อมถ่ายภาพไข่หอยภายใต้กล้อง stereo microscope

หมายเหตุ : ให้อาหารเป็นหอยดักดานร่วมกับอาหารสูตรสำเร็จรูป (อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต =2:1:1) ที่ดัดแปลงจากสูตรของ ดาราพร และคณะ (2562) ปริมาณ 2-3 กรัม/ สัปดาห์ โดยเก็บเศษอาหารเก่าทิ้งทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารใหม่แต่ละครั้ง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 - 9.00 น.

1.2 <u>ศึกษาระยะเวลาการฟักจากไข่ (eclosion time)</u> โดยแยกไข่หอยแต่ละกลุ่มมาศึกษาในกล่องพลาสติก ขนาด 6.5 x 9.5 x 2 เซนติเมตร ที่รองด้วยดินผสมขุยมะพร้าว (อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) อัตรา 1:1 หนา 2 เซนติเมตร ฉีดพ่นน้ำ เพื่อให้ความชื้น บันทึกวันที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ วัดขนาดและชั่งน้ำหนักลูกหอยและถ่ายภาพภายใต้กล้อง stereo microscope

1.3 <u>ศึกษาการเจริญเติบโต</u> โดยแยกลูกหอยมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร 1ตัว/ กล่อง จำนวน 30 กล่อง ให้อาหารเป็นหอยดักดานร่วมกับอาหารสูตรสำเร็จรูป (อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต =2:1:1) ที่ดัดแปลงจากสูตรของ ดาราพร และคณะ (2562) ปริมาณ 2-3 กรัม/ สัปดาห์ โดยเก็บเศษอาหารเก่าทิ้งทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารใหม่แต่ละ

ครั้ง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 - 9.00 น. บันทึกผลการทดลอง โดยวัดขนาดและชั่งน้ำหนักลูกหอยจนถึงระยะตัวเต็มวัย (รุ่นF1) เพื่อจัดทำกราฟการเจริญเติบโตและวงจรชีวิต

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกวันที่เริ่มต้นเห็นระยะไข่ (F1) จนลูกหอยรุ่น F1 ฟักออกมา และขนาดของลูกหอย F1
- บันทึกอายุและวัดขนาดตัวเต็มวัย (รุ่นF1) เมื่อเริ่มสังเกตเห็นหอยเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์
- บันทึกวัน ที่เริ่มเห็นกลุ่มไข่ รอบใหม่ (รุ่น F2) จากตัวเต็มวัย (รุ่นF1)
- บันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ ในกล่องเลี้ยงหอย ตลอดการทดลอง

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพและอัตราการปล่อยหอยนักล่าสยามในสภาพแปลงทดลอง

- แบบและวิธีการทดลอง RCBD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หอยนักล่าสยาม *P. siamensis* 1 ตัว ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว
กรรมวิธีที่ 2 หอยนักล่าสยาม *P. siamensis* 2 ตัว ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว
กรรมวิธีที่ 3 หอยนักล่า สยาม *P. siamensis* 3 ตัว ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว
กรรมวิธีที่ 4 วางเหยื่อ (ปลายข้าวแช่สารสกัดกากเมล็ดชา, *Camellia sinensis* L (อัตรา 1 กิโลกรัม/น้ำ 20 ลิตร) ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว
กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีควบคุม (พ่นน้ำเปล่า) ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ดำเนินการทดลองในสภาพกึ่งโรงเรือน กำหนดขนาดแปลงย่อยโดยกั้นตาข่ายขนาดพื้นที่ 1 ตารางเมตร ตามบริเวณพื้นดินและทางเดินในแปลง ปล่อยหอยนักล่าสยามและหอยทากศัตรูพืช (ใช้หอยอำพัน *Succinea* sp.) ตามกรรมวิธี จากนั้นตรวจนับจำนวนหอยทากศัตรูพืชที่ถูกกินหลังการปล่อยหอยนักล่าสยามทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน และเปรียบเทียบแต่ละกรรมวิธีด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนหอยอำพัน ศัตรูพืชที่ถูกกินแต่ละกรรมวิธี เป็นเวลา 5 วัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565 รวม 1 ปี
สถานที่ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
: แปลงปลูกพืชเศรษฐกิจ (สวนกล้วยไม้ อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ชีววิทยาหอยนักล่าสยาม *P.siamensis*

จากการศึกษาชีววิทยาหอยนักล่าสยาม *P. siamensis* โดยการสังเกต บันทึก และถ่ายภาพด้วยกล้อง digital และภายใต้กล้อง stereo microscope พบว่าหอยนักล่าสยามมีพฤติกรรมไม่ชอบ

แสง ต้องการความชื้นสัมพัทธ์ 70 % ขึ้นไป ตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของหอยในอันดับ Stylommatophora (Tompa,1984) ไม่พบการแสดงพฤติกรรมก่อนการผสมพันธุ์ มีการผสมพันธุ์ข้ามตัวในช่วงเวลากลางคืนหรือในสภาพที่มีความชื้นสูง วางไข่เป็นกลุ่มๆ ใต้ดินที่มีความชุ่มชื้น ลึกประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร จำนวน 2-4 ฟองต่อกลุ่ม ไข่หอยรูปร่างทรงกลม เปลือกไข่สีขาวขุ่นซึ่งเกิดจากเปลือกไข่มีการพัฒนาโดยดึงแคลเซียมจากสภาพแวดล้อมและอาหารมาเป็นส่วนประกอบ ขนาดของไข่หอยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.92-2.02 มิลลิเมตร และระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ (eclosion time) ในโรงเรือน 16.75 วันโดยเฉลี่ย (อุณหภูมิ 35 ± 5 องศาเซลเซียส) เปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 33.33 ซึ่งแตกต่างจากไข่หอยที่ฟักที่อุณหภูมิในห้องปฏิบัติการ (25±2 องศาเซลเซียส) ไข่หอยมีขนาดเล็กกว่า (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.30-1.80 มิลลิเมตร) และระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ในห้องปฏิบัติการ 18.3 วันโดยเฉลี่ย และเปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 20.25 (Table 1) (Figure 1-3) ลูกหอยที่เพิ่งฟักมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย แต่มีขนาดเล็กและมีวงขดของเปลือกน้อยกว่า (ประมาณ 2 มิลลิเมตร) ลำตัวมีสีเหลืองอ่อน และพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยเมื่อมีอายุประมาณ 108 วัน และมีขนาดประมาณ 8.12 -9.11 มิลลิเมตร จึงสามารถจับคู่ผสมพันธุ์ได้ ตัวเต็มวัยมีลำตัวสีเหลืองเข้มหรือส้ม มีช่วงชีวิต (life span) โดยเฉลี่ย 380 วัน (364-480 วัน; n=17)

2. ศึกษาการเพาะเลี้ยงหอยนักล่าสยาม *P.siamensis*

ศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์และเจริญเติบโตของหอยนักล่าสยาม *P.siamensis* ตามแผนการทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD โดยให้อาหารที่แตกต่างกัน 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ และแต่ละซ้ำใส่หอยตัวห้ำที่มีขนาด 8-9 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดตัวเต็มวัย จำนวน 5 ตัว /ซ้ำ ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ 5 ให้อาหารเป็นหอยดักดาน จำนวน 20 ตัว ร่วมกับอาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม (อาหารสูตร B ประกอบด้วย อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนตอัตราส่วน 2:1:1) ทำให้นักล่าสยาม, *P. siamensis* สามารถขยายพันธุ์และวางไข่ได้ดีที่สุด (Table 2)

ข้อสังเกต :

- pH ของดินในพื้นที่ๆเก็บตัวอย่าง อยู่ในช่วง 7.0 - 7.4 โดยส่วนใหญ่พบตัวอย่างหอยนักล่าสยาม *P. siamensis* ในพื้นที่ภูเขาหินปูน และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 60% ขึ้นไป และจังหวัดที่สามารถเก็บตัวอย่างได้มากที่สุดคือ จังหวัดนครราชสีมา (Table 3)

3. ประสิทธิภาพและอัตราการปล่อยหอยนักล่าสยามในสภาพแปลงทดลอง

ดำเนินการผลิตหอยนักล่าสยามในห้องปฏิบัติการ (Figure 5) เพื่อให้ได้จำนวนที่เพียงพอสำหรับนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดหอยทากศัตรูพืชในสวนกล้วยไม้ อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี โดยใช้หอยศัตรูพืชคือหอยอำพัน *Succinea* sp. 30 ตัว/ plot (Figure 5) วางแผนการทดลองแบบ RCBD 5 กรรมวิธีๆละ 4 ซ้ำ ประเมินการตายและตรวจนับจำนวนหอยอำพันที่ถูกกินหลังการปล่อยหอยตัวห้ำทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน

3 ตัว/ plot เทียบเท่ากับกรรมวิธีวางเหยื่อ (ปลายข้าวแช่สารสกัดกากเมล็ดชา, *Camellia sinensis* L (อัตรา 1 กิโลกรัม/น้ำ 20 ลิตร) โดยสามารถทำให้จำนวนหอยอำพันลดลง 45.83 เปอร์เซ็นต์ (Table 4)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

โครงการวิจัยนี้เป็นการศึกษาข้อมูลที่จำเป็นต่อการการผลิตขยายและใช้ประโยชน์จากหอยนักล่าสยาม *P. siamensis* ที่มีในประเทศไทย เพื่อนำไปใช้ควบคุมหอยทากศัตรูพืช จากการสำรวจชนิดและศึกษาหอยตัวห้ำของประเทศไทย พบว่าหอยนักล่าสยาม *P. siamensis* เป็นหอยประจำถิ่นของประเทศไทย เมื่อศึกษา feeding behavior ในห้องปฏิบัติการพบว่าหอยนักล่าหลายชนิดนี้มีพฤติกรรมเป็นหอยนักล่าและกินซาก ช่วยกำจัดหอยทากศัตรูพืชชนิดอื่นๆที่ไม่ต้องการได้ โดยพบว่าหอยนักล่าสยาม *P. siamensis* และหอยนักล่าทูโทน *G. bicolor* มีศักยภาพมากที่สุด สามารถกินหอยดักดานศัตรูพืชขนาดเล็กได้ 1-1.5 ตัว/ วัน ใช้เวลาในการกินเหยื่อเฉลี่ย 3 - 5 นาที/ ตัว (ดาราพรและคณะ, 2555) มีพฤติกรรมการล่าเหยื่อทั้งล่าแบบเดี่ยว (solitary predation) ซึ่งมักเป็นการล่าเหยื่อที่มีขนาดเล็กกว่า หรือล่าเป็นกลุ่ม (social predation) มักเกิดขึ้นในกรณีที่เหยื่ออาหารมีขนาดใหญ่กว่า (Figure 4) โดยการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จะให้อาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์และเจริญเติบโตของหอยนักล่า ได้แก่ให้อาหารเป็นหอยดักดาน(หอยศัตรูพืช) ร่วมกับอาหารสูตร B (อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต =2:1:1) จำนวน 10 กรัม ทำให้นักล่าสยามสามารถขยายพันธุ์และวางไข่ได้ดีที่สุด (ดาราพรและคณะ, 2562) จาก**การศึกษาชีววิทยาหอยนักล่าสยาม** โดยการสังเกต บันทึก และถ่ายภาพ ด้วยกล้อง digital และภายใต้กล้อง stereo microscope พบว่าหอยนักล่ามีพฤติกรรมไม่ชอบแสง ต้องการความชื้นสัมพัทธ์ 60-70 % ขึ้นไป ตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของหอยในอันดับ Stylommatophora (Tompa, 1984) ไม่พบการแสดงพฤติกรรมก่อนการผสมพันธุ์ มีการผสมพันธุ์ข้ามตัวในช่วงเวลากลางคืนหรือในสภาพที่มีความชื้นสูง วางไข่เป็นกลุ่มๆ ใต้ดินที่มีความชุ่มชื้น ลึกประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร จำนวน 2-4 ฟองต่อกลุ่ม ไข่หอยรูปร่างทรงกลม เปลือกไข่สีขาวขุ่นซึ่งเกิดจากเปลือกไข่มีการพัฒนาโดยดึงแคลเซียมจากสภาพแวดล้อมและอาหารมาเป็นส่วนประกอบ

การนำไปใช้ประโยชน์ โดยนำหอยนักล่าสยาม *P. siamensis* ไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดหอยทากศัตรูพืชในสวนกล้วยไม้ อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี โดยใช้หอยศัตรูพืชคือหอยอำพัน *Succinea* sp. 30 ตัว/ plot วางแผนการทดลองแบบ RCBD 5 กรรมวิธีๆละ 4 ซ้ำ ประเมินการตายและตรวจนับจำนวนหอยอำพันที่ถูกกินหลังการปล่อยหอยตัวห้ำทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 3 ตัว/ plot เทียบเท่ากับกรรมวิธีวางเหยื่อ (ปลายข้าวแช่สารสกัดกากเมล็ดชา, *Camellia sinensis* L (อัตรา 1 กิโลกรัม/น้ำ 20 ลิตร) โดยสามารถทำให้จำนวนหอยอำพันลดลง 45.83 เปอร์เซ็นต์

อภิปรายผล เพื่อให้ได้ข้อมูลเทคนิคและวิธีการปล่อยหอยนักล่าสยามกำจัดหอยทากศัตรูพืชในสภาพแปลงทดลอง จึงควรมีการดำเนินการทดลองเพิ่มเติม โดยการสุ่มนับประชากรหอยทาก

ศัตรูพืชบริเวณพื้นดินซึ่งเป็นแหล่งอาศัยของหอย ใช้ตารางสุ่มขนาด 0.5 ตารางเมตร จำนวน 20จุด/ไร่ ถ้าพบหอยเฉลี่ยมากกว่า 10 ตัว/ตารางเมตร (ตามมาตรฐาน GAP การควบคุมหอยกล้วยไม้) เพื่อกำหนดเป็นแปลงทดลอง แล้วจึงปล่อยหอยนักล่าสยาม ตามอัตราที่คุ้มค่าและมีประสิทธิภาพมากที่สุด (เช่น 3 ตัว/ตารางเมตร) ประเมิน และตรวจนับจำนวนหอยศัตรูพืชที่หลังการปล่อยหอยนักล่า ทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 1 เดือน และสุ่มนับประชากรหอยนักล่าและหอยศัตรูพืชที่เป็นเหยื่อ ทุกเดือนๆละ 1 ครั้งตลอดทั้งปี โดยเปรียบเทียบกับแปลงควบคุม และนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติที่เหมาะสม หา unit cost เพื่อเป็นคำแนะนำ/ทางเลือกแก่เกษตรกรที่ต้องการลดการใช้สารเคมีกำจัดสัตว์ศัตรูพืช เพิ่มไบโอเบส เพื่อส่งผลระยะยาวต่อเศรษฐกิจและสุขภาพผู้ผลิต ตลอดจนถึงผู้บริโภคต่อไป

ข้อเสนอแนะต่อผู้เกี่ยวข้องสำหรับการดำเนินงานในระยะต่อไป การศึกษาการผลิตขยายหอยตัวห้ำให้ได้ปริมาณมาก ควรศึกษาร่วมกับปัจจัยอื่นๆเพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสมยิ่งขึ้น โดยรูปแบบการพัฒนาการเพาะเลี้ยงหอยตัวห้ำจำเป็นต้องสังเกตการเจริญเติบโตของหอยร่วมกับวิธีการเพาะเลี้ยงหอยชนิดอื่นๆแบบดั้งเดิม ซึ่งในการเพาะเลี้ยงให้ได้จำนวนมากขึ้นจึงมีการเปลี่ยนแปลงธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมเพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการนำมาใช้ขยายผลควบคุมหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี ต่อไป นอกจากนี้ ควรทำการศึกษาผลกระทบของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ที่อาจมีผลต่อจุลินทรีย์ที่ใช้กำจัดสัตว์ศัตรูพืชเหล่านี้รวมไปถึงผลกระทบของจุลินทรีย์ต่อสิ่งแวดล้อม ด้วยเช่นกัน

ปัญหาและอุปสรรคในการทำงาน บางฤดูกาล เช่น ในช่วงฤดูแล้ง หอยทั่วไปจะมีพฤติกรรมการพักตัวและหลบซ่อนอยู่ตามบริเวณที่ไม่สามารถมองเห็นได้โดยง่าย ทำให้เก็บตัวอย่างหอยที่ยังมีชีวิตได้ค่อนข้างน้อย จึงเป็นข้อจำกัดในการนำตัวอย่างหอยนักล่าแต่ละชนิดมากศึกษาด้านต่างๆ ประกอบกับการเปลี่ยนแปลงของลักษณะภูมิอากาศ ความแห้งแล้ง และการบุกรุกพื้นที่ป่าธรรมชาติ ดังนั้นแนวทางในการป้องกันเพื่อลดความเสี่ยงจึงต้องปรับแผนการดำเนินงานในขั้นตอนการเก็บตัวอย่างให้ครอบคลุมตลอดทั้งปี และเพิ่มพื้นที่เก็บตัวอย่างให้มากขึ้น เพื่อให้มีตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์ มาศึกษาด้านต่างๆอย่างเพียงพอ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผศ. พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์เอกสารในการจำแนกชนิดหอยทาก

ขอขอบคุณนางสาวนุสรา สุขคะตะ นักวิทยาศาสตร์ และนางสาวศศินิภา องอาจ นักวิชาการเกษตร ที่ช่วยปฏิบัติงานภาคสนามและบันทึกข้อมูลที่จำเป็นตลอดการทดลอง

และท้ายที่สุด ขอขอบคุณแหล่งทุนอุดหนุนงานวิจัย จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

ดาราพร รินทะรักษ์ สมเกียรติ กล้าแข็ง และปราสาททอง พรหมเกิด.2555. คัดเลือกชนิดและศึกษาพฤติกรรมการกินหอยทากของหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ในประเทศไทย. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 969-976.

ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์ ปราสาททอง พรหมเกิด และทรงทัพ แก้วตา.2558. ศึกษาการเพาะเลี้ยงหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae เพื่อกำจัดหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2558. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 809-827.

ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์ ทรงทัพ แก้วตา. 2562. การผลิตขยายและใช้หอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ควบคุมหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี.รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2562 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1973-1989.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาฬ และดาราพร รินทะรักษ์. 2550. ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8 : อารักขาพืชใต้ร่มพระบารมี. หน้า 60-72.

Abbott, R.T. 1989. Compendium of landshell. Melbourne,Australia : American Malacologist,Inc.

Burch, J.B. 1962. How to know the eastern land snails. Wm. C. Brown Co., Publishers, Dubuque, Iowa. 214 pp.

Cameron, R.A.D. and Carter, M.A. 1979. Intra and Interspecific effects of population density on growth and activity in some Helicid land snails (Gastropoda: Pulmonata). *Journal of Animal Ecology.* 48:237-246.

Chiu, S.C. and Ken, C.C. 1962. Observations on the biology of the carnivorous snail, *Euglandina Rosea* Ferussac. Bulletin Institute of zoology, Academia Sinica 1: 17-24.

Dundee, D.S. and Baerwald, R.J. 1984. Observations on a micropredator *Gulella bicolor* (Hutton) (gastropoda: pulmonata: streptaxidae). Nautilus 98: 63-68.

Fisher, T.W., Orth, R.E and Swanson, S.C. 1980. Snail against snail. California Agri. (Nov.-Dec.): 3 pp.

Hemmen, J. and Hemmen, C. 2001. Akktualisierte liste der terrestrischen gastropoden Thailands. Schr. Malakozool. 18:53-70.

Martens,E.V. 1860. Die Preussische Expedition nach Ost-Asian. Zool. Theil. pp.66-68.

Mead AR. 1961. The Giant African Snail; a Problem in Economic Malacology. University of Chicago Press, 257 pp.

Naggs, F. 1989. Gulella bicolor (Hutton) and its implication for the taxonomy of Streptaxidae. Journal of Conchology.33: 165-168.

Panha, S. 1996. A Checklist and classification of the terrestrial Pulmonate snails of Thailand. Walkerana. 8 (19): 11-64.

Sakovich, N. J., Bailey, J.B. and Fisher, T.W. 1984. Decollate snails for control of brown garden snails in Southern California citrus groves. Oakland: Univ. Calif. Agri.Nat.Res.Publ.21384.

Solem, A. 1966. Some Non- Marine Mollusks from Thailand, with Notes on classification of the Helicarionidae. Spolia Zoologia Musei Hauniansis. pp.24 -114.

Tompa, A.S. 1984. Land Snails (Stylommatophora). In The Mollusca, Vol. 7: pp. 48-140.

Vaught, K. C. 1989. A classification of the living mollusca. American malacologists, Melbourne. 94 pp.

Table 1 The Eclosion time of predatory snail, *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer, 1862) under observed temperature 35 ± 5 °c and 25±2 °c conditions

Variable	Egg ø (m.m.) After 24 hrs.		Eclosion Time (days)		Number of Eggs/Clutch	
	Temp. 35 ± 5 °c	Temp. 25±2 °c	Temp. 35 ± 5 °c	Temp. 25±2 °c	Temp. 35 ± 5 °c	Temp. 25±2 °c
Minimum	1.92	1.62	15	18	1	1
Maximum	2.02	1.88	24	29	4	4
Average Value	1.96	1.80	16.75	22.30	2.67	2.70
N (Sample size)	24	24	8	35	9	10

Table 2 Mass rearing studies for predatory snail, *Perrottetia siamensis (Pfeiffer, 1862)*

Treatment	Number of Adults/ m^2 x±SE	Number of Eggs/ m^2 x±SE	Eggs Cluster Size x±SE
1. หอยดักดาน จำนวน 20 ตัว	5.1 ±0.8	12.0±0.1	22.6±0.9
2. อาหารสูตร A จำนวน 10 กรัม	2.6±1.1	6.5±0.4	16.0±0.3
3. อาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม	4.8±1.3	3.8±0.2	9.2±0.5
4. หอยดักดาน 20 ตัว + อาหารสูตร A 10 กรัม	1.3±1.2	5.2±0.5	19.2±0.5
5. หอยดักดาน 20 ตัว + อาหารสูตร B 10 กรัม	5.5± 1.6	14.3±0.2	20.3±0.5

หมายเหตุ อาหารสูตร A ประกอบด้วย อาหารปลา+รำละเอียด+ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 2:1:1)
อาหารสูตร B ประกอบด้วย อาหารปลา+แป้งข้าวโพด+ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 2:1:1)

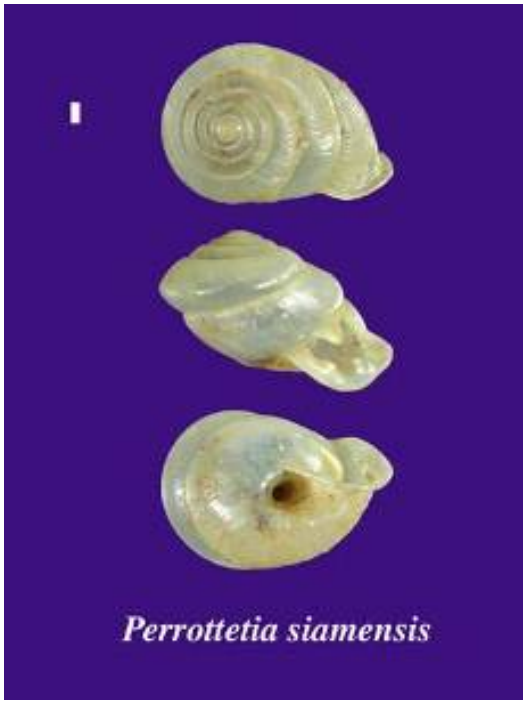
Table 3 Sample collection sites and sample sizes of predatory snail: Family Steptaxidae (since 2011-2016)

		Abbreviation	Sample size *(N)*
Gulella bicolor	Kanchanaburi	GbKBW	32
	Chonburi	GbCBE	8
	Samuthsakorn	GbSSaC	10
	Nakhonpathom	GbNPC	3
Perrottetia siamensis	Nakornratchasima	PsNRNE	42
	Nakhonnayok	PsNNC	18
	Chantaburi	PsCBW	6
Haploptychius petitii	Kanchanaburi	HpKBW	6
Odontartemon costulatus	Tak	OcTW	68
Oophana sp.	Kanchanaburi	O-KBW	2
Haploptychius sp.	Chiangmai	H-CMN	3
Discartemon sp.	Phangnga	D-PGS	5
	Songkhla	D-SKS	5
	Chumporn	D-CPS	37
	Suratthani	D-SRS	23

Abbreviations: Gb, *Gulella bicolor* ; Ps, *Perrottetia siamensis* ; Hp, *Haploptychius petitii* ;O-, *Oophana* sp. ; H-, *Haploptychius sp.*; D-, *Discartemon* sp. Oc, *Odontartemon costulatus* N = north, NE= northeast, C = Central region, W= west, S = South

Table 4 The efficacy test of predatory snail, *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer, 1862) in orchid plantation at PhanomTuan district , Kanchanaburi province (30 pest snails/ plot, after 5 days observed)

Treatment	Average Number Mortality of *Succinea* sp.	%Mortality of *Succinea* sp.
1. 1 adult streptaxid	3	10.00
2. 2 adult streptaxid	6.25	20.83
3. 3 adult streptaxid	13.75	45.83
4. Saponin bait 1 kg./ water 20 lt.	13.75	45.83
5. Control	0	0



Bar Scale = 1 C.M.

Figure 1 Shell morphology of *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer, 1862)

Figure 2 Living specimens of *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer, 1862)

Figure 3 Attacking and feeding behaviour of predatory snail, *Perrottetia siamensis*.
P.siamensis attacking *Cryptozona* juvenile (left) and *Cryptozona* adult (right)
P.siamensis biting the soft body of *Cryptozona* and inserting its head Into shell

(A) (B)

Figure 4 Predation of predatory Snail, *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer, 1862)
(A) Social predation (B) Solitary predation

Figure 5 The Predatory Snail, *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer, 1862) in terrarium for mass rearing

Figure 6 The efficacy test of predatory snail, *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer, 1862) in orchid plantation at PhanomTuan district , Kanchanaburi province (A= predatory snail , B= snail pest , *Succinea* sp.)

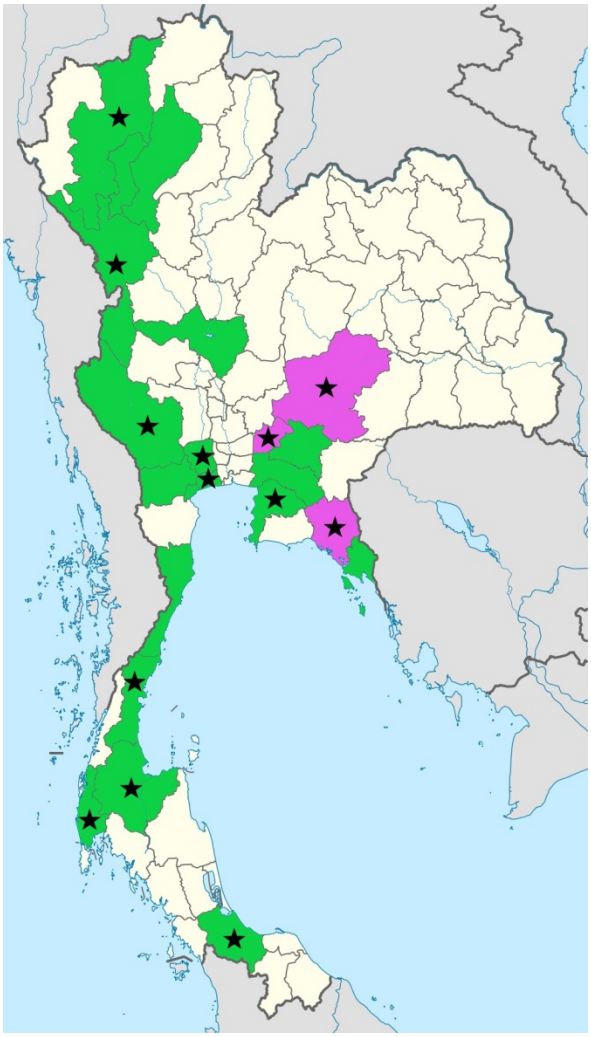


Figure 7 Sampling site of predatory snail*; Perrottetia siamensis* (Pfeiffer, 1862)

เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของหอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช

Mass Rearing and Utilization of Predatory Two-Tone Snail, *Gulella bicolor* for Snails Pest Control

ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณ ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล
สมเกียรติ กล้าแข็ง ปิยาณี หนูกาฬ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ดำเนินการสำรวจหอยตัวห้ำที่พบในประเทศไทย นำมาจำแนกชนิดและศึกษาพฤติกรรมการกินหอยศัตรูพืชชนิดต่างๆ เพื่อคัดเลือกชนิดที่มีศักยภาพสำหรับการพัฒนามาใช้ควบคุมหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี พบว่าหอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* (Hutton, 1843) เป็นหอยตัวห้ำชนิดที่มีศักยภาพสามารถกินหอยทากศัตรูพืชได้หลายชนิด จากการศึกษาชีววิทยาโดยการสังเกต บันทึก และถ่ายภาพด้วยกล้อง digital และภายใต้กล้อง stereo microscope พบว่าหอยนักล่าทูโทนมีพฤติกรรมไม่ชอบแสง ต้องการความชื้นสัมพัทธ์ 60 % ขึ้นไป ตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ตัวเต็มวัยวางไข่เป็นกลุ่มๆ ใต้ดินที่มีความชื้นสูง ลึกประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร จำนวน 2-4 ฟองต่อกลุ่ม ไข่หอยรูปร่างทรงกลม เปลือกสีขาวขุ่น ขนาดของไข่หอยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8-1 มิลลิเมตร และระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ (eclosion time) ในโรงเรือนคือ 16 วัน เปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 33.33 (ที่อุณหภูมิ 35 ± 5 องศาเซลเซียส) และในห้องปฏิบัติการ ระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ 25 วัน เปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 33.33 (ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส) ตามลำดับ ลูกหอยที่เพิ่งฟักมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย แต่มีขนาดเล็กและมีวงขดของเปลือกน้อยกว่า (ขนาด 1-2 มิลลิเมตร) ลำตัวมีสีเหลืองอ่อน ตัวเต็มวัยมีขนาดความสูงของเปลือก 5.52 -5.70 มิลลิเมตร (n= 40) มีจำนวนวงขดเปลือกไม่เกิน 7 whorls ลำตัวมี 2 สีโดยส่วนล่างสีเหลืองส่วนบนสีส้ม จึงเป็นที่มาของการเรียกชื่อหอยทูโทน ขณะนี้อยู่ระหว่างศึกษาวงจรชีวิตของหอยนักล่าทูโทนให้สมบูรณ์เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากในห้องปฏิบัติการ

คำหลัก : หอยตัวห้ำ หอยนักล่าทูโทน การเพาะขยาย การควบคุมหอยทากศัตรูพืช

รหัสการทดลอง FF65-10-05-65-01-02-65

คำนำ

การวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี เป็นแนวทางที่สามารถลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรได้ ซึ่งการใช้ประโยชน์จากชีวินทรีย์หลายชนิดที่มีในประเทศไทย ได้มีการศึกษาและวิจัยพื้นฐาน รวมถึงการนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมสัตว์ศัตรูพืชในเบื้องต้น ได้แก่ การศึกษาเกี่ยวกับการนำหอยตัวห้ำมาควบคุมหอยทากในประเทศไทย โดยในปี 2554 – 2556 ผู้วิจัยได้เริ่มสำรวจหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ที่มีในประเทศไทย นำมาจำแนกชนิดและศึกษาพฤติกรรมการกินหอยศัตรูพืชชนิดต่างๆ เพื่อคัดเลือกหอยตัวห้ำชนิดที่มีศักยภาพสำหรับการพัฒนามาใช้ควบคุมหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี ซึ่งได้สำรวจพบหอยทากที่เป็นหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae จำนวน 6 genus 7 species ได้แก่ หอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* , หอยนักล่าสยาม *Perrottetia siamensis*, *Haploptychius petitii*, *Odontartemon costulatus* , *Haploptychius* spp., *Oophana* spp. *Discartemon* spp. เมื่อศึกษา feeding behavior ของหอยทากตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ในห้องปฏิบัติการ พบว่าหอยตัวห้ำทุกชนิดมีศักยภาพในการกินหอยและไข่หอยที่มีขนาดใกล้เคียงหรือขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย เช่น หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่งและหอยดักดาน โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละ 2-3 ตัว และจากการทดลอง พบว่ามีหอยตัวห้ำชนิดที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมหอยศัตรูพืช ได้แก่ หอยนักล่าสยาม, *P. siamensis*, หอยนักล่าทูโทน *G. bicolor และ Oophana* spp. ตามลำดับ จากผลการศึกษาข้างต้น จะเห็นได้ว่าหอยตัวห้ำหลายชนิดมีศักยภาพในการกินหอยทากศัตรูพืชได้ดี จึงเป็นสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้เพื่อควบคุมหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี แต่ขั้นตอนศึกษาวิจัยและการพัฒนานำไปใช้ประโยชน์ยังไม่สมบูรณ์นัก

ดังนั้น การศึกษาวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายหอยตัวห้ำชนิดที่มีศักยภาพสูง จึงมีความจำเป็นในแง่ของการเป็นข้อมูลพื้นฐานอันนำไปสู่การพัฒนาผลิต ขยายให้ได้ปริมาณมากและมีคุณภาพ เพื่อให้มีการผลักดันและสนับสนุนให้มีการใช้ประโยชน์อย่างแท้จริง สามารพนำไปขยายผลเป็นชีวินทีย์ชนิดใหม่ที่สามารถกำจัดหอยทากศัตรูพืชได้จริงในพื้นที่เกษตร ช่วยลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ เสริมสร้างคุณภาพชีวิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ลดต้นทุนการผลิตตามแนวทางเศรษฐกิจพอเพียง สร้างความปลอดภัยต่อเกษตรกรและผู้บริโภค ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างหอยทดลอง ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ สเปรย์พ่นน้ำ ถุงมือแพทย์ คีมคีบ พู่กัน ไฟฉาย กระดาษทิชชูอเนกประสงค์

- อุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงหอยทดลอง ได้แก่ ตู้กระจก ดิน ขุยมะพร้าว สแฟกนัมมอส และวัสดุสำหรับวางไข่ ได้แก่ กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว และอิฐแผ่น

- อาหารสำหรับหอยทดลอง เช่น อาหารปลา ผักสดชนิดต่างๆ เช่น ผักกาดขาว แตงกวาและอาหารเสริมชนิดต่างๆ เช่น ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO3) เป็นต้น

- เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น เวอร์เนียร์ thermo-hygrometer, forceps และเครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ และความชื้นในดิน

- อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ ได้แก่ กล้องถ่ายภาพดิจิตอล และกล้องจุลทรรศน์

- เอกสารประกอบการศึกษาชีววิทยาและการจำแนกชนิดหอยทาก

- เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) สำหรับระบุพิกัด ที่เก็บตัวอย่าง

วิธีการ

วิธีปฏิบัติการทดลอง แบ่งเป็น 7 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาชีววิทยาของนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* (2565)

โดยศึกษาในโรงเรือน พื้นที่ 4.30 x 4.30 เมตร

1.1 ศึกษาการผสมพันธุ์และการวางไข่ โดยสุ่มเลือกหอยตัวเต็มวัย ซึ่งเป็นเพศรวม (hermaphrodite) มาเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร จำนวน 5 ตัว/ กล่อง จำนวน 10 กล่อง สังเกตพฤติกรรมการเลือกคู่ก่อนการผสมพันธุ์และพฤติกรรมอื่นๆ ที่สังเกตได้ บันทึกขนาด อายุ และลักษณะของหอยที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์

ศึกษาการวางไข่ โดยเลือกหอยที่ผสมพันธุ์แล้ว (มีการ copulation) มาแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร 1 ตัว/ กล่อง จำนวน 30 กล่อง สังเกตและบันทึกผลการทดลองทุกวัน จนหอยวางไข่ วัดขนาดไข่ ขนาดของกลุ่มไข่ บันทึกจำนวน และลักษณะของไข่หอย พร้อมถ่ายภาพไข่หอยภายใต้กล้อง stereo microscope

หมายเหตุ : ให้อาหารเป็นหอยดักดานร่วมกับอาหารสูตรสำเร็จรูป (อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต =2:1:1) ที่ดัดแปลงจากสูตรของ ดาราพร และคณะ (2562) ปริมาณ 2-3 กรัม/ สัปดาห์ โดยเก็บเศษอาหารเก่าทิ้งทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารใหม่แต่ละครั้ง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 - 9.00 น.

1.2 ศึกษาระยะเวลาการฟักจากไข่ (eclosion time) โดยแยกไข่หอยแต่ละกลุ่มมาศึกษาในกล่องพลาสติก ขนาด 6.5 x 9.5 x 2 เซนติเมตร ที่รองด้วยดินผสมขุยมะพร้าว (อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) อัตรา 1:1 หนา 2 เซนติเมตร ฉีดพ่นน้ำ เพื่อให้ความชื้น บันทึกวันที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ วัดขนาดและชั่งน้ำหนักลูกหอยและถ่ายภาพภายใต้กล้อง stereo microscope

1.3 ศึกษาการเจริญเติบโต โดยแยกลูกหอยมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร 1ตัว/ กล่อง จำนวน 30 กล่อง ให้อาหารเป็นหอยดักดานร่วมกับอาหารสูตรสำเร็จรูป (อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต =2:1:1) ที่ดัดแปลงจากสูตรของ ดาราพร และคณะ (2562) ปริมาณ 2-3 กรัม/ สัปดาห์ โดยเก็บเศษอาหารเก่าทิ้งทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารใหม่แต่ละครั้ง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 - 9.00 น. บันทึกผลการทดลอง โดยวัดขนาดและชั่งน้ำหนักลูกหอยจนถึงระยะตัวเต็มวัย (รุ่นF1) เพื่อจัดทำกราฟการเจริญเติบโตและวงจรชีวิต (life cycle)

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกวันที่เริ่มต้น เห็นระยะไข่ครั้งแรก (F1)
- บันทึกวัน ที่ลูกหอยรุ่น F1 ฟักออกมาจากไข่ และบันทึกขนาดของลูกหอย
- บันทึกอายุและวัดขนาดตัวเต็มวัย (รุ่นF1) เมื่อเริ่มสังเกตเห็นหอยเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์
- บันทึกวัน ที่เริ่มเห็นกลุ่มไข่ รอบใหม่ (รุ่น F2) จากตัวเต็มวัย (รุ่นF1)
- บันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ ทุกวันตลอดการทดลอง

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาศักยภาพการเป็นตัวห้ำ/ทดสอบความชอบกินหอยทากศัตรูพืชของหอยนักล่าทูโทนในห้องปฏิบัติการ (2566)

- แบบและวิธีการทดลอง CRD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หอยนักล่าทูโทน 1 ตัว ต่อหอยดักดาน; *Cryptozona siamensis* 10 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 หอยนักล่าทูโทน 1 ตัว ต่อหอยกระดุม; *Bradybeana sp.* 10 ตัว

กรรมวิธีที่ 3 หอยนักล่าทูโทน 1 ตัว ต่อหอยหอยอำพัน; *Succinea* sp. 10 ตัว

กรรมวิธีที่ 4 หอยนักล่าทูโทน 1 ตัว ต่อหอยเจดีย์ใหญ่; *Prosopea* sp. 10 ตัว

กรรมวิธีที่ 5 หอยนักล่าทูโทน 1 ตัว ต่อหอยเจดีย์เล็ก; *Lamellaxis* sp. 10 ตัว

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

2.1 เก็บรวบรวมหอยทากศัตรูพืช 5 ชนิด (เป็นชนิดที่พบบ่อยในพืชเศรษฐกิจหรือแหล่งเกษตรกรรม) ได้แก่ หอยดักดาน; *Cryptozona siamensis,* หอยกระดุม; *Bradybeana* sp, หอยอำพัน; *Succinea* sp., หอยเจดีย์ใหญ่; *Prosopea* sp. และหอยเจดีย์เล็ก; *Lamellaxis* sp. จากพื้นที่เกษตรกรรม มาพัก/เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

2.2 เตรียมกล่องพลาสติกขนาด 15.5 x 22 x 7 เซนติเมตร รองด้วยกระดาษเอนกประสงค์ ใส่หอยนักล่าทูโทนตัวเต็มวัย จำนวน 1 ตัว/กล่อง สังเกตพฤติกรรมการกิน บันทึกจำนวน และขนาดของหอยศัตรูพืชที่ถูกกินทุกๆ 24 ชั่วโมง เก็บเปลือกหอยศัตรูพืชตัวที่ถูกกินออกและเติมให้ครบ 10 ตัว เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบอัตราการกินหอยศัตรูพืชแต่ละชนิดและเลือกชนิดที่ชอบกิน ไปเพาะเลี้ยงเป็นเหยื่อต่อไป

2.3 เพาะเลี้ยงหอยทากศัตรูพืชชนิดที่หอยนักล่าทูโทนชอบกิน ในตู้กระจกขนาด 25 x 40 x 26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจก ด้วยดินผสมขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 ให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 เซนติเมตร ให้อาหารเป็นอาหารปลาชนิดเม็ด และผักกาดขาว ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำ วันละ 1 ครั้ง ในช่วงเช้าเวลา 8.00 - 9.00 น.

2.4 คัดเลือกหอยทากศัตรูพืช ที่มีขนาดความกว้างของเปลือกประมาณ 0.5 เซนติเมตร (อายุ ประมาณ 7 วัน) สำหรับใช้เป็นอาหารหอยนักล่าทูโทนในขั้นตอนต่อไป

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกพฤติกรรมการกินหอยศัตรูพืช
- จำนวนของหอยน้ำศัตรูพืชที่หอยนักล่าทูโทนกิน อัตราการกินต่อสัปดาห์

ขั้นตอนที่ 3 การศึกษาการเพาะเลี้ยงหอยนักล่าทูโทนในห้องปฏิบัติการ (2566)

3.1 ศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโต

- แบบและวิธีการทดลอง CRD 10 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หอยทากบกศัตรูพืช (ขนาดเปลือก 0.5 เซนติเมตร) จำนวน 10 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตร A จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม

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

กรรมวิธีที่ 5 หอยทากบกศัตรูพืชจำนวน 10 ตัว + อาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม

หมายเหตุ

อาหารสูตร A ประกอบด้วย อาหารปลา: รำละเอียด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 2:1:1)

อาหารสูตร B ประกอบด้วย อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 2:1:1)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมกล่องพลาสติก ขนาด 15.5 x 22 x 7 เซนติเมตร รองพื้นกล่องด้วยกระดาษเอนกประสงค์ ใส่หอยนักล่าทูโทนที่มีขนาด 8-9 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดตัวเต็มวัย จำนวน 1 ตัว / กล่อง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 - 9.00 น. สังเกต บันทึกจำนวน และปริมาณอาหารที่ถูกกินทุกๆ 24 ชั่วโมง เก็บเปลือกหอยศัตรูพืชตัวที่ถูกกินออกและเติมให้ครบตามจำนวน เป็นเวลา 7 วัน

การบันทึกข้อมูล

- วัดการเจริญเติบโต และวัดขนาดเปลือกของหอยนักล่าทูโทนสัปดาห์ละ 1 ครั้ง
- บันทึกจำนวนหอยศัตรูพืชและปริมาณอาหารกรรมวิธีต่างๆที่หอยนักล่าทูโทนกินแต่ละวัน

3.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการฟักไข่ของหอยนักล่าทูโทน

เตรียมกล่องพลาสติก ขนาด 15.5 x 22 x 7 เซนติเมตร รองพื้นกล่องด้วยกระดาษเอนกประสงค์ ใส่ไข่หอยนักล่าทูโทน จำนวน 1 กลุ่มไข่ (cluster) / กล่อง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 - 9.00 น. และนำไปวางเพื่อสังเกตการฟักของไข่หอยในสภาวะอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ดังนี้

สภาวะที่ 1 ฟักไข่ในสภาพโรงเรือน

สภาวะที่ 2 ฟักไข่ในสภาพห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส)

นับจำนวนไข่เริ่มต้น จากนั้นสังเกต บันทึกจำนวนตัวอ่อนที่ฟักจากไข่ เพื่อนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การฟักไข่และอัตราการรอดของลูกหอยนักล่าสยามในแต่ละสภาวะ

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกอุณหภูมิและความชื้นในสภาพโรงเรือน และห้องปฏิบัติการ ตลอดการทดลอง

- บันทึกจำนวนไข่แต่ละ cluster เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่หอยนักล่าทูโทนแต่ละกรรมวิธี
- วัดการเจริญเติบโต และวัดขนาดเปลือกตัวอ่อนหอยนักล่าทูโทนสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เพื่อจัดทำแผนภูมิการเจริญเติบโต

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาอัตราแม่พันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อผลิตขยายหอยนักล่าทูโทนให้ได้ปริมาณมาก(2567)

ทดสอบหาอัตราของแม่พันธุ์ที่เหมาะสม โดยใส่หอยนักล่าทูโทนตัวเต็มวัย 5, 10, และ 20 ตัว เลี้ยงใน terrarium และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดจากขั้นตอนที่ 3 ใช้วัสดุรองพื้น (ที่อบด้วยอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) และวางวัสดุอื่นเพื่อจำลองสภาพธรรมชาติสำหรับให้หอยหลบซ่อนหรือวางไข่ ได้แก่ กาบมะพร้าวและอิฐแผ่น ให้อาหารเป็นหอยดักดานร่วมกับอาหารสูตรสำเร็จรูป (อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต =2:1:1) ที่ดัดแปลงจากสูตรของดาราพร และคณะ (2562) ปริมาณ 2-3 กรัม/ สัปดาห์ โดยเก็บเศษอาหารเก่าทิ้งทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารใหม่แต่ละครั้ง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 – 9.00 น. จากนั้นตรวจนับจำนวนไข่ และตัวอ่อนที่พบ ทุก 1 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 เดือน

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- บันทึกขนาด อายุ และพฤติกรรมของหอยนักล่าทูโทนที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์
- บันทึกลักษณะ และจำนวนของไข่หอย/กลุ่ม ขนาดของไข่ และขนาดของกลุ่มไข่
- บันทึกจำนวนไข่ และตัวอ่อนของหอยนักล่าทูโทน
- บันทึกอัตราการฟัก และอัตราการรอดของตัวอ่อนหอยนักล่าทูโทน
- บันทึกระยะเวลา ตั้งแต่หอยเริ่มวางไข่จนตัวอ่อนหอยฟักออกจากไข่ ขนาดของลูกหอยนักล่าทูโทนที่เพิ่งฟัก และพฤติกรรมการกินของลูกหอยที่เพิ่งฟักจากไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัย
- บันทึกอุณหภูมิ pH ดิน ความชื้นดิน ความชื้นสัมพัทธ์เป็นช่วงๆ ตลอดการทดลอง

ขั้นตอนที่ 5 ศึกษาอัตราการปล่อยหอยนักล่าทูโทนในสภาพแปลงทดลอง (2567)

- แบบและวิธีการทดลอง RCBD 3 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หอยนักล่าทูโทน *G. bicolor* 1 ตัว ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 หอยนักล่าทูโทน *G. bicolor* 2 ตัว ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

กรรมวิธีที่ 3 หอยนักล่าทูโทน *G. bicolor* 3 ตัว ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

กรรมวิธีที่ 4 วางเหยื่อ (ปลายข้าวแช่สารสกัดกากเมล็ดชา, *Camellia sinensis* L (อัตรา 1 กิโลกรัม/น้ำ 20 ลิตร) ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

กรรมวิธีที่ 5 พ่น 83.1% WP niclosamide (ตามอัตราแนะนำ) ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

กรรมวิธีที่ 6 ควบคุม (พ่นน้ำเปล่า) ต่อหอยทากศัตรูพืช 30 ตัว

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

ดำเนินการทดลองในสภาพกึ่งโรงเรือน กำหนดขนาดแปลงย่อยโดยกั้นตาข่ายขนาดพื้นที่ 1 ตารางเมตร ตามบริเวณพื้นดินและทางเดินในแปลง ปล่อยหอยนักล่าทูโทนและหอยทากศัตรูพืชตาม

กรรมวิธี จากนั้นตรวจนับจำนวนหอยทากศัตรูพืชที่ถูกกินหลังการปล่อยหอยนักล่าสยามทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน และเปรียบเทียบแต่ละกรรมวิธีด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนหอยทากบกศัตรูพืชที่ถูกกินแต่ละกรรมวิธี เป็นเวลา 5 วัน

ขั้นตอนที่ 6 ศึกษาผลกระทบของสารเคมีกำจัดหอยที่มีต่อหอยนักล่าทูโทน (2567)

โดยทำการทดลองในกล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร พ่นสารเคมีกำจัดหอย ได้แก่ 83.1% WP niclosamide ตามอัตราแนะนำ สังเกต และบันทึกจำนวนที่หอยนักล่าทูโทนตาย หลังพ่นสาร 24 และ 48 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 7 ศึกษาผลกระทบของหอยนักล่าทูโทนต่อสิ่งแวดล้อม (2567)

โดยสังเกตพฤติกรรมการกินสัตว์ชนิดอื่น (not target species) โดยทำการทดลอง ในกล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร ใส่หอยนักล่าทูโทนและให้อาหารเป็นสัตว์ชนิดอื่นๆ เช่น หนอนผีเสื้อ ไส้เดือนดิน สังเกต และบันทึกจำนวนและชนิดสัตว์ ที่หอยนักล่าทูโทนกิน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567 รวม 3 ปี

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

: สวนกล้วยไม้ อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี และนครปฐม

: แปลงปลูกพืชเศรษฐกิจ (กล้วยไม้ ผัก) จังหวัดเพชรบูรณ์และนครราชสีมา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ชีววิทยาหอยนักล่าทูโทน, *Gulella bicolor* จากพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 42 ตัวอย่าง

ได้ตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 42 ตัวอย่าง จากการศึกษาชีววิทยาหอยนักล่าทูโทน โดยการสังเกต บันทึก และถ่ายภาพด้วยกล้อง digital และภายใต้กล้อง stereo microscope พบว่าหอยนักล่าทูโทนมีพฤติกรรมไม่ชอบแสง ต้องการความชื้นสัมพัทธ์ 60 % ขึ้นไป ตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย (hermaphrodite) ตัวเต็มวัยวางไข่เป็นกลุ่มๆ ใต้ดินที่มีความชื้นสูง ลึกประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร จำนวน 2-4 ฟองต่อกลุ่ม (Figure 1-3) ไข่หอยรูปร่างทรงกลม เปลือกสีขาวขุ่น ซึ่งเกิดจากเปลือกไข่มีการพัฒนาโดยดึงแคลเซียมจากสภาพแวดล้อมและอาหารมาเป็นส่วนประกอบ ขนาดของไข่หอยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8-1 มิลลิเมตร และระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ (eclosion time) ในโรงเรือนคือ 16 วันโดยเฉลี่ย (อุณหภูมิ 35 ± 5 องศาเซลเซียส) เปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 33.33 ซึ่งแตกต่างจากไข่หอยที่ฟักที่อุณหภูมิในห้องปฏิบัติการ (25±2 องศาเซลเซียส) ระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ 25 วันโดยเฉลี่ย และเปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 33.33 ลูก

หอยที่เพิ่งฟักมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย แต่มีขนาดเล็กและมีวงขดของเปลือกน้อยกว่า (ขนาด 1-2 มิลลิเมตร) ลำตัวมีสีเหลืองอ่อน ตัวเต็มวัยมีขนาดความสูงของเปลือก 5.52 -5.70 มิลลิเมตร (n= 40) มีจำนวนวงขดเปลือกไม่เกิน 7 whorls ลำตัวมี 2 สี โดยส่วนล่างสีเหลืองส่วนบนสีส้ม (ซึ่งเป็นที่มาของการเรียกชื่อหอยทูโทน) ขณะนี้อยู่ระหว่างศึกษาการเจริญเติบโตต่อเนื่องและศึกษาวงจรชีวิตของหอยนักล่าทูโทนให้สมบูรณ์เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากในห้องปฏิบัติการ

2. ผลการทดสอบความชอบกินหอยทากศัตรูพืชของหอยนักล่าทูโทนในห้องปฏิบัติการ เพื่อทราบศักยภาพการเป็นตัวห้ำ) วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี โดยทดลองกับหอยทากศัตรูพืช 5 ชนิดๆ ละ 50 ตัวอย่าง ได้แก่ หอยดักดาน, *Cryptozona siamensis* หอยกระดุมม *Bradybeana* sp., หอยอำพัน, *Succinea* sp. หอยเจดีย์ใหญ่, *Prosopea* sp. และหอยเจดีย์เล็ก, *Lamellaxis* sp. พบว่าชนิดหอยศัตรูพืชที่หอยนักล่าทูโทนชอบกินที่สุด คือ หอยเจดีย์เล็กและหอยเจดีย์ใหญ่อัตรา 3.20± 1.3 และ2.88±1.2 ตัว/สัปดาห์ ตามลำดับ (Figure 4) และ (Table 1)

ขณะนี้อยู่ระหว่างทดสอบหาชนิดอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับใช้เพาะขยายหอยนักล่าทูโทน ในห้องปฏิบัติการ ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดลองนี้ อยู่ภายใต้โครงการวิจัยที่ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตขยายและใช้ประโยชน์จากชีวินทรีย์ที่มีศักยภาพกำจัดสัตว์ศัตรูพืชหลายชนิด ได้แก่ หอยนักล่าสยาม *Perrottetia siamensis* หอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* และไส้เดือนฝอยวงศ์ Rhadbitidae ที่มีในประเทศไทยเพื่อนำไปใช้ควบคุมหอยทากศัตรูพืช และศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเพิ่มปริมาณและประสิทธิภาพการก่อโรคในหนูทดลองของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* สำหรับพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์กำจัดหนูศัตรูพืช

จากการสำรวจชนิดและศึกษาหอยตัวห้ำของประเทศไทย โดยการศึกษา feeding behavior ในห้องปฏิบัติการ พบว่าหอยนักล่าหลายชนิดนี้มีพฤติกรรมเป็นหอยนักล่าและกินซาก ช่วยกำจัดหอยทากศัตรูพืชชนิดอื่นๆที่ไม่ต้องการได้ โดยพบว่าหอยนักล่าสยาม *P. siamensis* และหอยนักล่าทูโทน *G. bicolor* มีศักยภาพมากที่สุด สามารถกินหอยดักดานศัตรูพืชขนาดเล็กได้ 1-1.5 ตัว/ วัน ใช้เวลาในการกินเหยื่อเฉลี่ย 3 - 5 นาที/ ตัว (ดาราพรและคณะ, 2555) มีพฤติกรรมการล่าเหยื่อทั้งล่าแบบเดี่ยว (solitary predation) ซึ่งมักเป็นการล่าเหยื่อที่มีขนาดเล็กกว่า หรือล่าเป็นกลุ่ม (social predation) มักเกิดขึ้นในกรณีที่เหยื่ออาหารมีขนาดใหญ่กว่า จาก**การศึกษาชีววิทยาหอยนักล่าทั้ง 2 ชนิด** โดยการสังเกต บันทึก และถ่ายภาพ ด้วยกล้อง digital และภายใต้กล้อง stereo microscope พบว่าหอยนักล่ามีพฤติกรรมไม่ชอบแสง ต้องการความชื้นสัมพัทธ์ 60-70 % ขึ้นไป ตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของหอยในอันดับ Stylommatophora (Tompa,1984) ไม่พบการแสดงพฤติกรรมก่อนการผสมพันธุ์ มีการผสมพันธุ์

ข้ามตัวในช่วงเวลากลางคืนหรือในสภาพที่มีความชื้นสูง วางไข่เป็นกลุ่มๆ ใต้ดินที่มีความชุ่มชื้นสูง ไข่หอยรูปร่างทรงกลม เปลือกไข่สีขาวขุ่นซึ่งเกิดจากการดึงแคลเซียมจากสภาพแวดล้อมและอาหารมาเป็นส่วนประกอบ นั้นเอง

<u>คำแนะนำและข้อเสนอแนะ</u>

เพื่อให้ได้ข้อมูลเทคนิคและวิธีการปล่อยหอยนักล่าทั้ง 2 ชนิดรวมไปถึงไส้เดือนฝอยกำจัดหอยทากศัตรูพืชในสภาพแปลงทดลอง จึงควรมีการดำเนินการทดลองเพิ่มเติม โดยการสุ่มนับประชากรหอยทากศัตรูพืชบริเวณพื้นดินซึ่งเป็นแหล่งอาศัยของหอย ใช้ตารางสุ่มขนาด 0.5 ตารางเมตร จำนวน 20 จุด/ไร่ ถ้าพบหอยเฉลี่ยมากกว่า 10 ตัว/ตารางเมตร (ตามมาตรฐาน GAP การควบคุมหอยกล้วยไม้) เพื่อกำหนดเป็นแปลงทดลอง แล้วจึงปล่อยหอยนักล่า ตามอัตราที่คุ้มค่าและมีประสิทธิภาพมากที่สุด (เช่น 3 ตัว/ตารางเมตร) ประเมิน และตรวจนับจำนวนหอยศัตรูพืชที่หลังการปล่อยหอยนักล่า ทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 1 เดือน และสุ่มนับประชากรหอยนักล่าและหอยศัตรูพืชที่เป็นเหยื่อ ทุกเดือนๆละ 1 ครั้งตลอดทั้งปี โดยเปรียบเทียบกับแปลงควบคุม และนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติที่เหมาะสม หา unit cost เพื่อเป็นคำแนะนำ/ทางเลือกแก่เกษตรกรที่ต้องการลดการใช้สารเคมีกำจัดสัตว์ศัตรูพืช เพิ่มไบโอเบส เพื่อส่งผลระยะยาวต่อเศรษฐกิจและสุขภาพผู้ผลิต ตลอดจนถึงผู้บริโภคต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผศ. พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์เอกสารในการจำแนกชนิดหอยทาก

ขอขอบคุณนางสาวนุสรา สุขคะตะ นักวิทยาศาสตร์ และนางสาวศศินิภา องอาจ นักวิชาการเกษตร ที่ช่วยปฏิบัติงานภาคสนามและบันทึกข้อมูลที่จำเป็นตลอดการทดลอง

และท้ายที่สุด ขอขอบคุณแหล่งทุนอุดหนุนงานวิจัย จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

ดาราพร รินทะรักษ์ สมเกียรติ กล้าแข็ง และปราสาททอง พรหมเกิด.2555. คัดเลือกชนิดและศึกษาพฤติกรรมการกินหอยทากของหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ในประเทศไทย. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 969-976.

ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ณัฐธิญา กาญจนนิธิพัฒน์ ปราสาททอง พรหมเกิด และทรงทัพ แก้วตา.2558. ศึกษาการเพาะเลี้ยงหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae เพื่อกำจัดหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2558. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 809-827.

ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์ ทรงทัพ แก้วตา. 2562. การผลิตขยายและใช้หอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ควบคุมหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี.รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2562 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1973-1989.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาฬ และดาราพร รินทะรักษ์. 2550. ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8 : อารักขาพืชใต้ร่มพระบารมี. หน้า 60-72.

Abbott, R.T. 1989. Compendium of landshell. Melbourne,Australia : American Malacologist,Inc.

Burch, J.B. 1962. How to know the eastern land snails. Wm. C. Brown Co., Publishers, Dubuque, Iowa. 214 pp.

Cameron, R.A.D. and Carter, M.A. 1979. Intra and Interspecific effects of population density on growth and activity in some Helicid land snails (Gastropoda: Pulmonata). *Journal of Animal Ecology.* 48:237-246.

Chiu, S.C. and Ken, C.C. 1962. Observations on the biology of the carnivorous snail, *Euglandina Rosea* Ferussac. Bulletin Institute of zoology, Academia Sinica 1: 17-24.

Dundee, D.S. and Baerwald, R.J. 1984. Observations on a micropredator *Gulella bicolor* (Hutton) (gastropoda: pulmonata: streptaxidae). Nautilus 98: 63-68.

Fisher, T.W., Orth, R.E and Swanson, S.C. 1980. Snail against snail. California Agri. (Nov.-Dec.): 3 pp.

Hemmen, J. and Hemmen, C. 2001. Akktualisierte liste der terrestrischen gastropoden Thailands. Schr. Malakozool. 18:53-70.

Martens,E.V. 1860. Die Preussische Expedition nach Ost-Asian. Zool. Theil. pp.66-68.

Mead AR. 1961. The Giant African Snail; a Problem in Economic Malacology. University of Chicago Press, 257 pp.

Naggs, F. 1989. Gulella bicolor (Hutton) and its implication for the taxonomy of Streptaxidae. Journal of Conchology.33: 165-168.

Panha, S. 1996. A Checklist and classification of the terrestrial Pulmonate snails of Thailand. Walkerana. 8 (19): 11-64.

Sakovich, N. J., Bailey, J.B. and Fisher, T.W. 1984. Decollate snails for control of brown garden snails in Southern California citrus groves. Oakland: Univ. Calif. Agri.Nat.Res.Publ.21384.

Solem, A. 1966. Some Non- Marine Mollusks from Thailand, with Notes on classification of the Helicarionidae. Spolia Zoologia Musei Hauniansis. pp.24 -114.

Tompa, A.S. 1984. Land Snails (Stylommatophora). In The Mollusca, Vol. 7: pp. 48-140.

Vaught, K. C. 1989. A classification of the living mollusca. American malacologists, Melbourne. 94 pp.

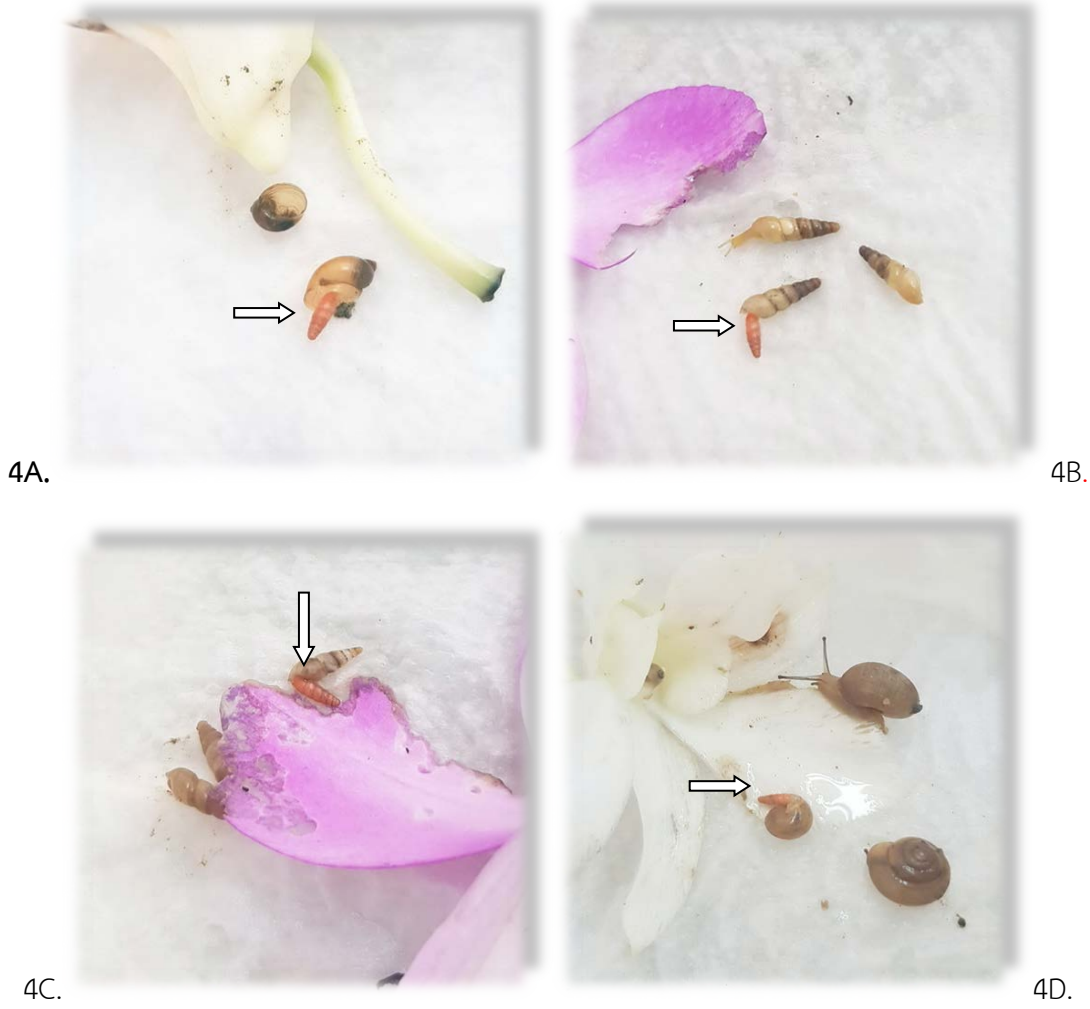
Table 1 The efficacy test of two-toned snail, *G. bicolor* (Hutton, 1834) for snails pest control under laboratory conditions

กรรมวิธี	จำนวนหอยศัตรูพืชที่ถูกกิน/สัปดาห์ (ตัว) X±SD	ขนาดหอยศัตรูพืชที่ถูกกิน/สัปดาห์ (มม.) X±SD	ระยะเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการกินเหยื่อ 1 ตัว (นาที)
1. หอยตักดาน *Cryptozona siamensis* 10 ตัว	1.83 ±1.1	7.05±1.1	มากกว่า 60
2. หอยกระดุม *Bradybeana* sp. 10 ตัว	1.56±1.8	4.58±1.4	มากกว่า 60
3 หอยอำพัน *Succinea* sp. 10 ตัว	2.03±1.6	3.82±1.4	42
4 หอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopea* sp. 10 ตัว	2.88±1.2	12.20±1.5	มากกว่า 60
5 หอยเจดีย์เล็ก *Lamellaxis* sp. 10 ตัว	3.20± 1.3	5.43 ±0.2	35

Figure 1 Shell morphology of *Gulella bicolor* (Hutton,1834)

Figure 2 Living specimen of the two-toned snail, *G. bicolor*_(Hutton,1834)

Figure 3 The two-toned snail, *G. bicolor*_(Hutton,1834) laying 2-4 eggs / cluster under laboratory conditions (25±2 ^{C})



4A. 4B.

4C. 4D.

Figure 4 The efficacy test of two-toned snail, G. bicolor (Hutton, 1834) for snails pest control under laboratory conditions(4A. *Succinea* sp., 4B. *Prosopea* sp., 4C. *Lamellaxis* sp., 4D. *Bradybeana* sp.)

เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยวงศ์ Rhabditidae ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช

Mass production technique and efficacy of gastropod parasitic nematodes in the Family Rhabditidae for pest snail control

อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข[1/] ดาราพร รินทะรักษ์[1/] ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล[1/]
ไตรเดช ข่ายทอง[2/] พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์[1/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

Mass production technique and efficacy of gastropod parasitic nematodes in the Family Rhabditidae for pest snail control was investigated from October 2021 to September 2022. Total 132 samples of *Cryptozona* and 57 samples of *Succinea* were collected. Two gastropod parasitic nematode isolates (I1P and I3P from Phetchabun Province) were recovered. Maximum yield of recovery was achieved with the inoculum at the 10,000-nematodes level. The semi-field efficacy of I3P was conducted. The 100% *Succinea* mortality was achieved within 72 hours at the level of 2,000 nematodes/snail and 100% *Cryptozona* mortality was also achieved within 96 hours at the level of 20,000 nematodes/snail. This efficient I3P isolate was kept and selected for further field study.

Keywords : mass production efficacy snail control nematode pest snail Rhabditidae

---

รหัสการทดลอง FF65-10-05-65-01-03-65

รายงานความก้าวหน้า

ดำเนินเทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยวงศ์ Rhabditidae ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืชตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 ได้ตัวอย่างหอยดักดานหรือหอยทากสยาม *Cryptozona* sp. จำนวน 132 ตัวอย่างและหอยซัคซีเนีย *Succinea* จำนวน 57 ตัวอย่าง สามารถฟื้นฟูหัวเชื้อไส้เดือนฝอยได้ทั้งหมด 2 ไอโซเลต ได้แก่ I1P และ I3P จากจังหวัดเพชรบูรณ์ ระดับในการฟื้นฟูที่ให้ปริมาณไส้เดือนฝอยสูงสุดสำหรับไอโซเลต I1P และ I3P คือ 10,000 ตัวต่อขวด ได้ทดสอบไอโซเลต I3P ในระดับกึ่งโรงเรือนพบว่าทำให้หอยซัคซีเนียตายหมดภายใน 72 ชั่วโมงที่ความเข้มข้น 2,000 ตัวต่อหอย 1 ตัว และทำให้หอยดักดานตายหมดภายใน 96 ชั่วโมงที่ความเข้มข้น 20,000 ตัวต่อหอย 1 ตัว จึงทำการเก็บรักษาเพื่อนำไปทดสอบในระดับโรงเรือนต่อไป

คำหลัก : ผลิตขยาย ประสิทธิภาพ กำจัดหอย ไส้เดือนฝอย หอยศัตรูพืช Rhabditidae

คำนำ

ไส้เดือนฝอยหรือหนอนตัวกลมเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กใน Phylum Nematoda มีขนาดเล็กสามารถพบได้ในสิ่งแวดล้อมเกือบทุกรูปแบบ ในปัจจุบันคาดว่ามีมากกว่า 25,000 สปีชีส์ ส่วนมากดำรงชีพเป็นปรสิตของสัตว์และพืช และมีบางส่วนที่ดำรงชีพแบบอิสระ ทั้งนี้มีการนำไส้เดือนฝอยบางกลุ่มที่มีประโยชน์เช่น entomopathogenic nematode (EPN) หรือไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงอย่างในสกุล Steinernema และ Heterorhabditis มาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตรได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในต่างประเทศมีการวิจัยเกี่ยวกับ mollusk parasitic nematode (MPN) หรือไส้เดือนฝอยศัตรูหอยเพื่อนำมากำจัดหอยศัตรูพืชและมีวางจำหน่ายในทางการค้าแล้ว ดังเช่นยี่ห้อ Nemaslug ในประเทศอังกฤษ และเป็นหนึ่งในทางเลือกที่ได้รับความนิยมเนื่องจากไม่ก่อให้เกิดอันตรายกับมนุษย์มีความจำเพาะต่อหอยศัตรูพืชเท่านั้น และไม่มีปัญหาเรื่องการเสื่อมประสิทธิภาพลงเมื่อนำไปใช้ในบริเวณที่มีความชื้นสูงอยู่ตลอดเวลาอย่างในโรงเรือนปลูกพืช ทั้งนี้ กรมวิชาการเกษตรได้วิจัยและคัดแยกไส้เดือนฝอยที่เป็นปรสิตของหอยศัตรูพืชในวงศ์ Rhadbitidae ที่มีศักยภาพกำจัดหอยศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการแล้ว แต่ยังขาดแคลนข้อมูลเกี่ยวกับสภาวะในการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมและการผลิตขยายจำนวนมาก รวมถึงประสิทธิภาพในระดับกึ่งโรงเรือนเบื้องต้น ซึ่งผลจากการศึกษานี้จะทำให้ได้วิธีการในการเพาะเลี้ยงและผลิตขยายไส้เดือนฝอยที่เป็นปรสิตของหอยศัตรูพืชในวงศ์ Rhadbitidae ที่มีศักยภาพในการกำจัดหอยศัตรูพืชอย่างเหมาะสมและนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์และนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการอ้างอิงเชิงวิชาการ และนำไปใช้ควบคุมหอยศัตรูพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างหอยทดลอง ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ สเปรย์พ่นน้ำ ถุงมือแพทย์ คีมคีบ พู่กัน ไฟฉาย กระดาษทิชชูอเนกประสงค์
- อาหารสำหรับหอยทดลอง เช่น อาหารปลา ผักสดชนิดต่างๆ เช่น ผักกาดขาว แตงกวาและอาหารเสริมชนิดต่างๆ เช่น ผงแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) เป็นต้น
- เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแก้ว น้ำยาสกัดดีเอ็นเอ
- อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ ได้แก่ กล้องถ่ายภาพดิจิตอล และกล้องจุลทรรศน์
- เอกสารประกอบการศึกษาชีววิทยาและการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย

วิธีการ

แบ่งเป็น 6 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 เก็บตัวอย่างหอยศัตรูพืช (ดำเนินการปี 2565-2566)

เก็บตัวอย่างหอยศัตรูพืชจากแปลงปลูกและธรรมชาติทั่วประเทศ บันทึกลักษณะของระบบนิเวศและชนิดหอยที่พบบริเวณนั้น เก็บตัวอย่างหอยศัตรูพืชที่ใช้ในการทดสอบคือ หอยเจดีย์เล็ก; *Allopeas gracile* หอยทากสยาม; *Cryptozona* sp. และหอยซัคซีเนีย; *Succinea* sp.

ทำการเลี้ยงหอยเพื่อผลิตขยายในกล่องพลาสติกขนาด 13 x 25 เซนติเมตรด้วยดินและวัสดุอินทรีย์ ชิ้นส่วนใบไม้และเปลือกไม้ที่เน่าเปื่อย ให้ผัก ดังเช่นผักกาดหอมเป็นอาหาร ฉีดน้ำให้ความชุ่มชื้น เพื่อรอนำไปทดสอบประสิทธิภาพในขั้นตอนต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การฟื้นฟูเชื้อและเตรียมหัวเชื้อไส้เดือนฝอยเพื่อทดสอบ (ดำเนินการปี 2565)

สำหรับกรณีของหัวเชื้อที่เก็บไว้ในกลีเซอรอล ให้นำหัวเชื้อมาเลี้ยงในอาหารแข็ง Kidney agar ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 วัน เพื่อรอให้ไส้เดือนฝอยเจริญกลับขึ้นมาใหม่ จากนั้น ให้คัดเฉพาะไส้เดือนฝอยตัวเต็มวัยที่มีไข่เต็มท้อง 10-30 ตัว นำไข่ออกมาการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อบนผิวด้วยสารละลาย 10% โซเดียมไฮโปคลอไรต์ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียสที่ความเร็ว 2000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 2 นาที และให้นำใส่ลงในสารละลาย 0.5% NaCl จากนั้นให้นำสารละลาย NaCl ออก และนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Kidney agar (Wilson *et al*., 1993b) ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 วัน จากนั้นเขี่ยเชื้อลงไปเลี้ยงในอาหารเหลว Kidney broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 วัน จากนั้นปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียสที่ความเร็ว 2000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที และนำไส้เดือนฝอยที่ได้ไปล้างด้วย Ringer's solution และนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งเพื่อนำกากและขยะทิ้งไป จากนั้นแยกไส้เดือนฝอยระยะ dauer juvenile โดยใช้ตะแกรงกรองขนาด 75 ไมครอนเพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป (Ross, 2010)

ขั้นตอนที่ 3 การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยด้วยอาหารสังเคราะห์ (ดำเนินการปี 2565-2567)

- ทดสอบการผลิตโดยใช้ปริมาณหัวเชื้อไส้เดือนฝอยระดับต่าง ๆ กันในอาหารกึ่งแข็งที่ทำขึ้นจากฟองน้ำ น้ำมันหมู และอาหารสุนัขของวัชรี (2544) มาใช้ ทำการเตรียมสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยที่ความหนาแน่นแตกต่างกัน ล้างด้วยไฮยามีนหรือโซเดียมไฮโปคลอไรต์ และนำสารแขวนลอยไส้เดือนฝอย 500 ไมโครลิตรมาใส่ลงในอาหารกึ่งแข็ง โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ (ขวด) 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไส้เดือนฝอย 100 ตัว/ขวด

กรรมวิธีที่ 2 ไส้เดือนฝอย 1,000 ตัว/ขวด

กรรมวิธีที่ 3 ไส้เดือนฝอย 10,000 ตัว/ขวด

กรรมวิธีที่ 4 ไส้เดือนฝอย 20,000 ตัว/ขวด

กรรมวิธีที่ 5 ไส้เดือนฝอย 50,000 ตัว/ขวด

แต่ละกรรมวิธีให้บ่มนาน 20 วันที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวไส้เดือนฝอยออกจากฟองน้ำด้วย Ringer's solution ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คำนวณความหนาแน่นของไส้เดือนฝอย และนำเก็บรักษาไว้ในฟองน้ำที่สะอาด ทั้งนี้ ให้นำกรรมวิธีที่ดีที่สุดมาทำการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยเพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในขั้นตอนต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

จดบันทึกข้อมูลความหนาแน่นของไส้เดือนฝอยในแต่ละกรรมวิธี (จำนวนตัว/มิลลิลิตร) และทำการเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธี ด้วยวิธี ANOVA และ Tukey's HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

ขั้นตอนที่ 4 การทดสอบประสิทธิภาพในสภาพกึ่งโรงเรือน (ดำเนินการปี 2565)

นำสภาวะที่ดีที่สุดในขั้นตอนที่ 3 มาทำการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย และนำไส้เดือนฝอยมาทำการทดสอบ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 3 บล็อก 3 ซ้ำ 7 กรรมวิธี โดยแต่ละบล็อกมีการกำหนดดังนี้

บล็อกที่ 1 หอยทากสยาม

บล็อกที่ 2 หอยเจดีย์เล็ก

บล็อกที่ 3 หอยซัคซีเนีย

แต่ละซ้ำให้ใช้ตู้กระจกขนาด 10x20x12 เซนติเมตร สร้างระบบนิเวศจำลอง โดยใส่ดินอบฆ่าเชื้อหนา 5 เซนติเมตรและตัวอย่างหอยจำนวน 10 ตัว/ตู้ พร้อมทั้งพรมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตรให้พอชุ่มชื้น แต่ละกรรมวิธีให้ใส่สารทดสอบลงไป ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นไส้เดือนฝอย 500 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 พ่นไส้เดือนฝอย 1,000 ตัว

กรรมวิธีที่ 3 พ่นไส้เดือนฝอย 10,000 ตัว

กรรมวิธีที่ 4 พ่นไส้เดือนฝอย 50,000 ตัว

กรรมวิธีที่ 5 พ่นไส้เดือนฝอย 100,000 ตัว

กรรมวิธีที่ 6 พ่น 83.1% WP niclosamide เข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 7 พ่นน้ำเปล่าปริมาตร 10 มิลลิลิตร (กรรมวิธีควบคุม)

สังเกตและนับจำนวนหอยที่ตายหลังเวลาผ่านไป 1 2 และ 3 วัน เปรียบเทียบจำนวนหอยที่ตายด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

ขั้นตอนที่ 5 การทดสอบประสิทธิภาพในสภาพโรงเรือน (ดำเนินการปี 2566)

นำระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดจากขั้นตอนที่ 4 มาใช้ ดำเนินการทดสอบ 2 ครั้งดังต่อไปนี้

<u>การทดสอบครั้งที่ 1</u>

วางแผนการทดลองแบบ RCB 3 บล็อก 3 ซ้ำ จำนวน 6 กรรมวิธี ดังนี้

บล็อกที่ 1 หอยทากสยาม

บล็อกที่ 2 หอยเจดีย์เล็ก

บล็อกที่ 3 หอยซัคซีเนีย

แต่ละซ้ำให้กำหนดพื้นที่ขนาด 100x100 เซนติเมตร ทำการปล่อยหอยศัตรูพืชจำนวน 10 ตัวต่อพื้นที่ ใส่สารทดสอบลงไป ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นไส้เดือนฝอยที่ระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดจากขั้นตอนที่ 4

กรรมวิธีที่ 2 พ่นไส้เดือนฝอยที่ระดับความเข้มข้น 5 เท่าจากขั้นตอนที่ 4

กรรมวิธีที่ 3 พ่นไส้เดือนฝอยที่ระดับความเข้มข้น 10 เท่าจากขั้นตอนที่ 4

กรรมวิธีที่ 4 พ่นไส้เดือนฝอยที่ระดับความเข้มข้น 100 เท่าจากขั้นตอนที่ 4

กรรมวิธีที่ 5 พ่น 83.1% WP niclosamide เข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 6 พ่นน้ำเปล่าปริมาตร 100 มิลลิลิตร (กรรมวิธีควบคุม)

สังเกตและนับจำนวนหอยที่ตายหลังเวลาผ่านไป 1 2 และ 3 วัน เปรียบเทียบจำนวนหอยที่ตายด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

<u>การทดสอบครั้งที่ 2</u>

ดำเนินการเหมือนการทดสอบครั้งที่ 1 แต่ให้ปล่อยหอยศัตรูพืช 20 ตัวต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร โดยใช้ระดับความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยที่ดีที่สุดจากการทดสอบครั้งที่ 1 มาใช้

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

ระดับความเข้มข้นไส้เดือนฝอยที่ให้ปริมาณหลังจากการเพาะขยายได้สูงสุด (ตัว/ขวด)

การทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดหอยศัตรูพืช บันทึกเวลาที่ทำให้หอยศัตรูพืชตาย (ชั่วโมง) ลักษณะของหอยที่ตายไป

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้ตัวอย่างหอยดักดาน 132 ตัว และตัวอย่างหอยซัคซีเนีย 57 ตัว ได้ทำการฟื้นฟูหัวเชื้อไส้เดือนฝอยจากจังหวัดเพชรบูรณ์ได้สำเร็จ รวม 2 ไอโซเลต ได้แก่ I1P และ I3P ทั้งนี้ได้ทำการ

เพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยต่อในอาหารสังเคราะห์สูตรฟองน้ำผสมน้ำมันหมูและอาหารสุนัขของวัชรี (2544) โดยทำการบรรจุอาหารสังเคราะห์ดังกล่าวลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มล. และทำการเก็บเกี่ยวไส้เดือนฝอย (รูปที่ 1 และ 2) หลังจากนั้นนำมาทดสอบหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในห้องปฏิบัติการเฉพาะไอโซเลต I1P และ I3P ได้ผลดังในตารางที่ 1

พบว่าระดับที่ดีที่สุดซึ่งให้จำนวนไส้เดือนฝอยมากที่สุดสำหรับไอโซเลต I1P ได้แก่ ระดับ 10,000 ตัว/ขวด ($2.054x10^6$ ตัว) และ 20,000 ตัว/ขวด ($1.960x10^6$ ตัว) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% จากการทดสอบด้วยวิธี One-way ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's HSD

สำหรับไอโซเลต I3P ได้แก่ ระดับ 10,000 ตัว/ขวด ($1.932x10^6$ ตัว) และ 20,000 ตัว/ขวด ($1.862x10^6$ ตัว) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ด้วยวิธีการทดสอบเดียวกันกับโอโซเลต I1P ดังนั้น ในการเพาะเลี้ยงครั้งต่อไปจึงเลือกใช้ระดับความเข้มข้น 10,000 ตัว/ขวดสำหรับไอโซเลต I1P และ I3P

ทั้งนี้สำหรับไอโซเลต I3P ได้ดำเนินการทดสอบในระดับกึ่งโรงเรือนกับหอยซัคซีเนีย และหอยทากสยามแล้ว พบว่าทำให้หอยซัคซีเนียตายหมดภายใน 72 ชั่วโมงที่ระดับความเข้มข้น 2,000 10,000 และ 20,000 ตัวต่อหอย 1 ตัว พบว่าทำให้หอยทากสยามตายหมดภายใน 96 ชั่วโมงที่ระดับความเข้มข้น 20,000 ตัวต่อหอย 1 ตัว (ตารางที่ 2) จึงจะนำไอโซเลต I3P ซึ่งมีประสิทธิภาพในระดับกึ่งโรงเรือนทำให้หอยทั้งสองกลุ่มตายหมดภายใน 96 ชั่วโมง ไปทำการเก็บรักษา และเพาะขยายเพื่อใช้ในการทดสอบระดับโรงเรือนต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษานี้ สามารถได้ตัวอย่างหอยดักดานหรือหอยทากสยาม *Cryptozona* sp. จำนวน 132 ตัวอย่างและหอยซัคซีเนีย *Succinea* จำนวน 57 ตัวอย่าง สามารถฟื้นฟูหัวเชื้อไส้เดือนฝอยได้ทั้งหมด 2 ไอโซเลต ได้แก่ I1P และ I3P ผลการทดสอบไอโซเลต I3P ในระดับกึ่งโรงเรือนทำให้หอยซัคซีเนียตายหมดภายใน 72 ชั่วโมงที่ความเข้มข้น 2,000 ตัวต่อหอย 1 ตัว และทำให้หอยดักดานตายหมดภายใน 96 ชั่วโมงที่ความเข้มข้น 20,000 ตัวต่อหอย 1 ตัว ซึ่งสามารถนำไปทดสอบในระดับโรงเรือน และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ต่อไป โดยนำไปประยุกต์ใช้กับระบบการผลิตพืชแบบอินทรีย์เพื่อลดการใช้สารเคมีต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์, ดาราพร รินทะรักษ์, อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข และปราสาททอง พรหมเกิด. 2558. การสำรวจปรสิตในหอยวงศ์ Ariophantidae. รายงานผลงานวิจัยประจำปีของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร: หน้า 828-840.

ดาราพร รินทะรักษ์ ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณ และทรงทัพ แก้วตา. 2560. สำรวจความหลากชนิดหอยทากบกศัตรูพืชในระบบนิเวศเกษตรและสิ่งแวดล้อม..รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2560. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1822-1828.

ปราสาททอง พรหมเกิด, ชมพูนุท จรรยาเพศ, กรแก้ว เสือสะอาด, สาทิพย์ มาลี, วิไลวรรณ เวชยันต์, ปิยาณี หนูกาฬ และดาราพร รินทะรักษ์. 2553. การใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. ควบคุมหอยทากชัคซิเนีย (*Succinea chrysis*) ในสวนกล้วยไม้. รายงานผลงานวิจัยประจำปีของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร: หน้า 2481-2490.

วัชรี สมสุข. 2544. บทที่ 8 ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ใน การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชิววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

วิยะดา สีหะบุตร. 2548. หนอนตัวกลมในทางเดินอาหารของหอยทากยักษ์ (*Achatina fulica*) ในประเทศไทย. วิทยาสารกำแพงแสน ปีที่ 3 ฉบับที่ 1: หน้า 37-41.

Barker, G. M., editor. 2004. Natural Enemies of Terrestrial Molluscs. CABI publishing.

Chobchuenchom, W., and Bhumiratana, A. 2003. Isolation and Characterization of Pathogens Attacking *Pomacea canaliculata*. World Journal of Microbiology & Biotechnology 19: 903–906.

Huang, R-E., Ye, W., Ren, X. and Zhao, Z. 2015. Morphological and Molecular Characterization of *Phasmarhabditis huizhouensis* sp. nov. (Nematoda: Rhabditidae), a New Rhabditid Nematode from South China. PLOS ONE: DOI:10.1371/journal.pone.0144386.

Nermut, J., Puza, V., Mekete, T. and Miracek, Z. 2016. *Phasmarhabditis bonaquaense* n. sp. (Nematoda: Rhabditidae), a new slug-parasitic nematode from the Czech Republic. Zootaxa 4179(3): 530–546.

Nigon, V. and Dougherty, E. C. 1949. Reproductive patterns and attempts at reciprocal crossing of *Rhabditis elegans* Maupas, 1900, and *Rhabditis briggsae* Dougherty and Nigon, 1949 (Nematoda : Rhabditidae:). Journal of Experimental Zoology 112(3): 485-503.

Pieterse, A., Malan, A. P. and Ross, J. L. 2017. Nematodes that associate with terrestrial molluscs as definitive hosts, including *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Rhabditida: Rhabditidae) and its development as a biological molluscicide. Journal of Helminthology 91: 517–527.

Rae, R., Verdun, C., Grewal, P. S., Robertson, J. F. and Wilson, M. J. 2007. Biological control of terrestrial molluscs using *Phasmarhabditis hermaphrodita* – progress and prospects. Pest Management Science 63: 1153–1164.

Rae, R. G., Robertson, J. F. and Wilson, M. J. 2009. Optimization of biological (*Phasmarhabditis hermaphrodita*) and chemical (iron phosphate and metaldehyde) slug control. Crop Protection 28: 765–773.

Ross, J. L. 2010. Diversity and Mass Production of Slug-Parasitic Nematodes. Ph.D. Thesis, University of Aberdeen.

Williams, A. J. and Rae, R. 2015. Susceptibility of the Giant African snail (*Achatina fulica*) exposed to the gastropod parasitic nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita.*

Sallam, A., and El-Wakeil, N. 2012. Biological and Ecological Studies on Land Snails and Their Control, Integrated Pest Management and Pest Control - Current and Future Tactics. Soloneski, S. Editor. InTech.

Tandingan De Ley, I., Holovachov, O., McDonnell, R. J., Bert, W., Paine, T. D. and De Ley, P. 2016. Description of *Phasmarhabditis californica* n. sp. and first report of *P. papillosa* (Nematoda: Rhabditidae) from invasive slugs in the USA. Nematology 18(2): 175-193.

Wilson, M. J., Glen, D. M. and George, S. K. 1993a. The rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* as a potential biological control agent for slugs. Biocontrol Science and Technology 3(4): 503-511.

Wilson, M. J., Glen, D. M., George, S. K. and Butler, R. C. 1993b. Mass cultivation and storage of the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*, a biocontrol agent of slugs. Biocontrol Science and Technology 3: 513-521.

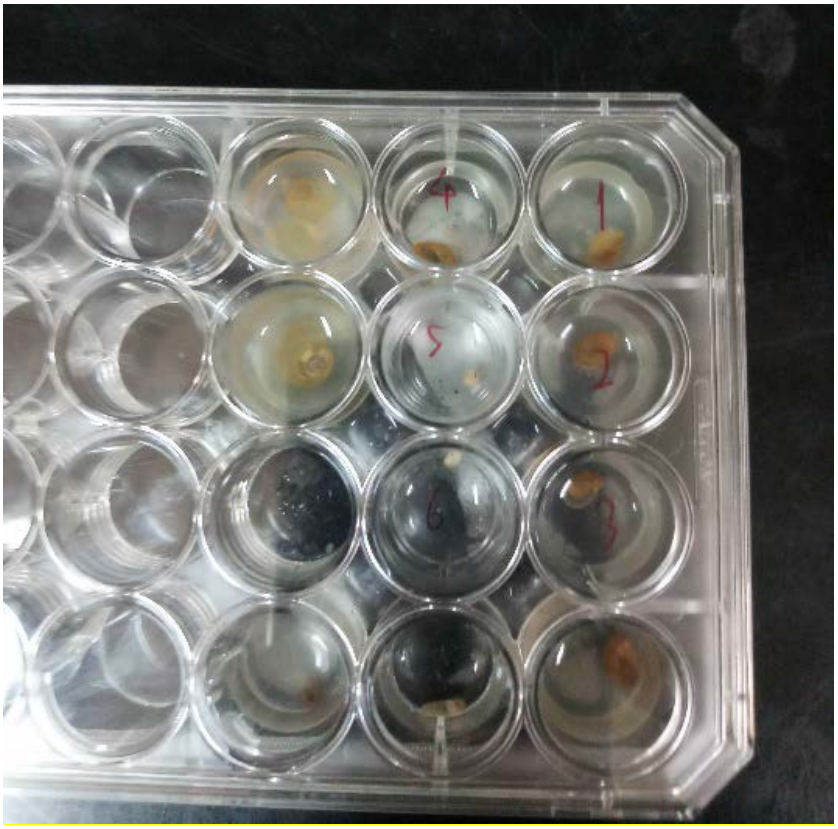
Wilson, M. J. 2012. Chapter XIII Pathogens and Parasites of Terrestrial Molluscs. In Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Elsevier.

ตารางที่ 1 ปริมาณไส้เดือนฝอยไอโซเลต I1P และ I3P ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงอาหารสังเคราะห์ สูตรฟองน้ำผสมน้ำมันหมูและอาหารสุนัขของวัชรี (2544) ตัวอักษรภาษาอังกฤษเล็กแสดง การจัดกลุ่มจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ระดับความเข้มข้น (จำนวนตัว/ขวด)	ปริมาณไส้เดือนฝอยหลังจากผ่านไป 14 วัน			
	ไอโซเลต I1P		ไอโซเลต I3P	
	จำนวนตัว/ขวด	ความเข้มข้น (ตัว/มล.) และปริมาตรของสารละลายตั้งต้นที่ใช้	จำนวนตัว/ขวด	ความเข้มข้น (ตัว/มล.) และปริมาตรของสารละลายตั้งต้นที่ใช้
100	$(3.517\pm1.963)^{a}\times10^{4}$	283 ตัว/มล., 0.35 มล.	$(4.057\pm1.904)^{a}\times10^{4}$	434 ตัว/มล., 0.23 มล.
1,000	$(6.567\pm1.315)^{b}\times10^{5}$	283 ตัว/มล., 3.53 มล.	$(4.573\pm0.548)^{b}\times10^{5}$	434 ตัว/มล., 2.30 มล.
10,000	$(2.054\pm0.078)^{c}\times10^{6}$	283 ตัว/มล., 35.34 มล.	$(1.932\pm0.158)^{c}\times10^{6}$	434 ตัว/มล., 23.04 มล.
20,000	$(1.960\pm0.062)^{c}\times10^{6}$	283 ตัว/มล., 70.67 มล.	$(1.862\pm0.168)^{c}\times10^{6}$	434 ตัว/มล., 46.08 มล.

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบไส้เดือนฝอยไอโซเลต I3P กับหอยซัคซีเนีย และหอยทากสยาม

ระดับความเข้มข้น (จำนวนตัว/หอย 1 ตัว)	% การตายของหอยซัคซีเนียหลังจากผ่านไป (ชั่วโมง)						
	24	48	72	24	48	72	96
1,000	10.00±10.00	43.33±20.82	63.33±11.54	3.33±5.77	16.67±5.77	33.33±5.77	56.67±5.77
2,000	6.67±11.54	80.00±10.00	100.00±0.00	10.00±10.00	30.00±10.00	43.33±11.55	60.00±10.00
10,000	30.00±10.00	83.33±5.77	100.00±0.00	23.33±5.77	40.00±10.00	56.67±5.77	76.67±5.77
20,000	33.33±5.77	80.00±10.00	100.00±0.00	30.00±10.00	43.33±5.77	73.33±5.77	100.00±0.00



ภาพที่ 1 ไส้เดือนฝอยไอโซเลต I3P ที่เกิดจากเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรฟองน้ำผสมน้ำมันหมูและอาหารสุนัขของวัชรี (2544)

ภาพที่ 2 การเก็บเกี่ยวไส้เดือนฝอยจากอาหารสังเคราะห์

การเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria* ที่มีประสิทธิภาพความรุนแรงก่อโรคกับหนูทดลอง

Study for Propagation of *Eimeria* in Laboratory Rats and Mice

วิชาญ วรรธนะไกวัล ทัสดาว เกตุเนตร สมเกียรติ กล้าแข็ง

ดาราพร รินทะรักษ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria* ที่มีประสิทธิภาพความรุนแรงก่อโรคกับหนูทดลอง ดำเนินการทดลองตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2564 – กันยายน 2565 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร การเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02, *E. ferrisi* isolate MJ01, *E. ferrisi* isolate MJ04, *E. nafuko* isolate NKW05, *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus andamanensis* isolate KW03 ตามลำดับ ในหนูทดลอง 8 สายพันธุ์ เบื้องต้น (screening test) ได้แก่ หนูแรท (*Rattus norvegecus*) สายพันธุ์ Spragus Dawley Rat (Mlac:SD) และ Wistar Rat (Mlac:WR) และหนูไมซ์ (*Mus musculus*) สายพันธุ์ BALB/cAJcl, BALB/cAJcl-nu, Jcl:ICR, C57Bl/6NJcl, C3H/HeNJcl และ CB.17 Scid ตามลำดับ จากผลการทดลองเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลองเบื้องต้นในปีแรก พบว่าโอโอซีสต์ของ โปรโตซัวสกุล *Eimeria* จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02, *E. ferrisi* isolate MJ04และ *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 สามารถให้ปริมาณโอโอซีสต์ในปริมาณที่สูง(≥100 oocysts/ul) จึงเลือกนำไปทดลองเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลองจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ C57Bl/6NJcl, Jcl:ICR และ BALB/cAJcl ต่อไป เนื่องจากสามารถให้ปริมาณโอโอซีสต์จากทุกไอโซเลทมากที่สุด ภายหลังจากหนูทดลองได้รับเชื้อที่ระยะเวลา 6 วัน โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 50 oocycts/ul เนื่องจากการทดลองนี้ยังไม่สิ้นสุดยังต้องดำเนินการทดลองเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลองเพิ่มเติมในปีต่อไป

คำหลัก : โปรโตซัวสกุล *Eimeria* การเพิ่มปริมาณในหนูทดลอง

รหัสการทดลอง FF65-10-05-65-02-01-65

คำนำ

สารชีวินทรีย์กำจัดหนู (bio-rodenticide) ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ผลิตขึ้นจากปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singsporensis* Zaman & Colley (1976) เป็นค็อคซิเดียโปรโตซัว (coccidia protozoa) ที่อยู่ใน Phylum Apicomplexa มีความจำเพาะต่อสัตว์อาศัย 2 ชนิด ได้แก่ สัตว์อาศัยตัวกลาง (intermediate hosts) คือหนูสกุลท้องขาว (*Rattus*) และสกุลพุก (*Bandicota*) โดยมีงูเหลือม (*Python reticulatus*) เป็นสัตว์อาศัยสุดท้าย (final hosts) (ยุวลักษณ์ และคณะ, 2539; กลุ่มงานสัตว-วิทยาการเกษตร, 2544; Jakel *et al*., 1996) ดังนั้นจึงมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก ด้วยความจำเพาะต่อชนิดของสัตว์อาศัยทำให้ยังเหลือสกุลหนูหริ่ง (*Mus*) อีก 1 สกุล ที่ยังไม่มีสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูที่จำเพาะต่อหนูชนิดนี้ ซึ่งหนูหริ่งนั้นเป็นศัตรูสำคัญของข้าวและธัญพืชที่สำคัญในประเทศไทย อีกทั้งการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูจากปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ในปัจจุบันนั้น ต้องมีการเลี้ยงงูเหลือมและหนูเพื่อใช้ในการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู ซึ่งการเลี้ยงงูเหลือมจัดเป็นงานที่มีภาระต้องรับผิดชอบสูงทั้งในเรื่องค่าใช้จ่าย บุคลากร รวมไปถึงสถานที่เลี้ยง

โปรโตซัวสกุล *Eimeria* Schneider, 1875 เป็นค็อคซิเดียโปรโตซัว อยู่ในวงศ์ (family) Eimeriidae ในไฟลัม (phylum) Apicomplexa เป็นโปรโตซัวที่ตลอดวงจรชีวิตมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction หรือ gamogony) และมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction หรือ merogony) ดำรงชีวิตอยู่ในบริเวณทางเดินอาหาร (intestinal parasite) ของสัตว์อาศัยเพียงชนิดเดียว (monoxenous host) (Macova, 2013) ในระยะสุดท้ายของการเจริญเติบโตมีการสร้างโอโอซีสต์ (oocysts) ซึ่งเป็นระยะติดเชื้อมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ โดยจะถูกขับออกมาพร้อมกับมูลของสัตว์อาศัยสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก พร้อมที่จะเข้าสู่ร่างกายของสัตว์อาศัยตัวใหม่โดยการปนเปื้อนในแหล่งน้ำและอาหารตามธรรมชาติ เพื่อเริ่มวงจรชีวิตใหม่ต่อไป (Duszynski and Upton, 2000; Berto *et al*., 2009) สัตว์อาศัยของโปรโตซัวชนิดนี้สามารถพบได้ในสัตว์มีกระดูกสันหลังทั่วไป และมีหลายสปีชีส์ที่มีหนูเป็นสัตว์อาศัย (rodent hosts) อาทิเช่น *E. langebarteli, E. separate, E. nieschulzi, E. papillata, E. falciformis*, *E. sevilletensis, E. reedi, E. arizonensis, E. onychomysis* และ *E. albigulae* (Zhao and Duszynski, 2001) เป็นต้น ซึ่งโปรโตซัวสกุล *Eimeria* นั้นมีความจำเพาะเจาะจงกับชนิดของสัตว์อาศัยสูงมากในระดับสกุล (genus specific) (Long and Joyner, 1984: Zhao and Duszynski. 2001) อีกทั้งโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ในแต่ละสปีชีส์นั้นไม่สามารถติดต่อข้ามระหว่างสัตว์อาศัยต่างสกุลกันได้ (Hnida and Duszynski, 1999; Slapeta *et al*., 2001) สัตว์อาศัยที่มีการติดเชื้อโปรโตซัวสกุลนี้มักพบว่าป่วยเป็นโรค coccidiosis ซึ่งมีอาการท้องเสียและเป็นโรคในระบบลำไส้ น้ำหนักลด และตายในที่สุด ด้วยการที่มีสัตว์อาศัยเพียง ชนิดเดียวจึงเป็น

การย่นระยะเวลา ขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู ทำให้สามารถผลิตเหยื่อโปรโตซัว กำจัดหนูได้ในระยะเวลาที่สั้นลง และมีค่าใช้จ่ายที่ลดลงจากเดิมด้วยเช่นกัน อีกทั้งอาจสามารถพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูหริ่งศัตรูพืชได้ในอนาคต จากรายงานของ วิชาญ และคณะ (2562ก) ทำการทดลองคัดแยกโอโอซีสต์ของ *Eimeria* จากหนูศัตรูพืชตามธรรมชาติ พบว่าโอโอซีสต์ของ *Eimeria* จำนวน 6 ไอโซเลท ซึ่งคัดแยกได้จากมูลหนูท้องขาว จำนวน 4 ไอโซเลท (Rr K11, Rn BKK02, Ran MJ04 และ Ran KW03) และคัดแยกได้จากมูลหนูหริ่ง จำนวน 2 ไอโซเลท (Mce NKW05 และ Mpa MJ01) ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 5,000 โอโอซีสต์ มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ ร้อยละ 20-40 ภายใน 3-10 วัน หลังจากได้รับเชื้อ (dpi) ผลการจำแนกชนิดทางสัณฐานวิทยาจากลักษณะของโอโอซีสต์ สอดคล้องกับผลการจำแนกชนิดทางชีวโมเลกุลบริเวณ 18S rDNA พบว่าเป็นโปรโตซัวในสกุล *Eimeria* ได้แก่ *E. nieschulzi* isolate K11 01, *E. ferrisi* isolate MJ01, *E. ferrisi* isolate MJ04, *E. nafuko* isolate NKW05, *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus andamanensis* isolate KW03 ตามลำดับ และจากรายงานของ วิชาญ และคณะ (2562ข) ทำการศึกษาการเพิ่มปริมาณของโอโอซีสต์ในเบื้องต้น โดยการให้โอโอซีสต์ของ *E. nieschulzi* isolate K11 01 สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ จำนวน 2,500 โอโอซีสต์ โดยตรงทางปากกับหนูท้องขาวบ้าน จำนวน 10 ตัว พบโอโอซีสต์ถูกขับออกมาพร้อมกับมูลหนูที่ระยะเวลา 6 - 8 วัน และพบโอโอซีสต์สูงสุด (28±12 oocysts/µl) ที่ระยะเวลา 7 วัน ภายหลังจากได้รับเชื้อ (dpi)

ด้วยเหตุนี้เองจึงควรมีการทดลองเพิ่มเติมในเรื่องการเพิ่มปริมาณและคงประสิทธิภาพการก่อโรคในหนูของโปรโตซัว *Eimeria* สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ และการทดลองความเป็นพิษต่อสัตว์ชนิดอื่น เพื่อที่นำไปขยายผลเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูชนิดใหม่ที่มีความปลอดภัยสิ่งแวดล้อมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนูทดลอง 8 สายพันธุ์ ได้แก่ หนูแรท (*Rattus norvegecus*) สายพันธุ์ Spragus Dawley Rat (Mlac:SD) และ Wistar Rat (Mlac:WR) และหนูไมซ์ (*Mus musculus*) สายพันธุ์ BALB/cAJcl, BALB/cAJcl-nu, Jcl:ICR, C57Bl/6NJcl, C3H/HeNJcl และ CB.17 Scid อายุ 8 สัปดาห์
2. เครื่องปั่น (centrifuge) Hettich รุ่น universal 16A และตู้เย็น (4-10°C)
3. ตะแกรงกรองละเอียด (ขนาดความละเอียด 6-8 ไมครอน)
4. Blood counting chamber
5. หลอดปั่นขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร

6. สารเคมี Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$)

7. ชุดอุปกรณ์ผ่าตัด

8. Auto pipette และ Tips

9. กรงเลี้ยงเดี่ยวสำหรับหนูทดลองขนาด 23x52x22 เซนติเมตร

10. กรงดักหนูขนาด 14x28x14 เซนติเมตร

11. จานแก้วเพาะเชื้อ (petridish)

12. ที่ให้อาหารโดยตรงจากปากสู่กระเพาะ (feeding tube)

13. สารแขวนลอยโอโอซีสต์ของโปรโตซัว *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพสามารถทำให้ หนูทดลองป่วย และตายได้ จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02, *E. ferrisi* isolate MJ01, *E. ferrisi* isolate MJ04, *E. nafuko* isolate NKW05, *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus andamanensis* isolate KW03 ตามลำดับ

วิธีการ

1. การเตรียมหนูทดลอง

เตรียมหนูสำหรับการทดลอง โดยการสั่งซื้อหนูทดลอง 8 สายพันธุ์ จากบริษัทผู้ขาย ได้แก่ หนูแรท (*Rattus norvegecus*) สายพันธุ์ Spragus Dawley Rat (Mlac:SD) และ Wistar Rat (Mlac:WR) และหนูไมซ์ (*Mus musculus*) สายพันธุ์ BALB/cAJcl, BALB/cAJcl-nu, Jcl:ICR, C57Bl/6NJcl, C3H/HeNJcl และ CB.17 Scid อายุ 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นมาเลี้ยงต่อในโรงเรือนเลี้ยงหนูทดลองของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เพื่อรอการทดลองในขั้นตอนต่อไป

2. การเตรียมสารแขวนลอยโอโอซีสต์

เตรียมสารแขวนลอยโอโอซีสต์ของโปรโตซัว *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพสามารถ ทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02, *E. ferrisi* isolate MJ01, *E. ferrisi* isolate MJ04, *E. nafuko* isolate NKW05, *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus andamanensis* isolate KW03 ตามลำดับ เก็บสารแขวนลอยโอโอซีสต์ที่อุณหภูมิ 4-10°C เพื่อรอการทดลองในขั้นตอนต่อไป

3. การคัดเลือกไอโซเลทของโอโอซีสต์และสายพันธุ์ของหนูทดลองเพื่อเพิ่มปริมาณ โอโอซีสต์ในเบื้องต้น (screen test) ของโปรโตซัว *Eimeria* ในหนูทดลอง

นำโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* จากข้อ 2 ความเข้มข้น sublethal dose มาทดสอบการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลอง โดยการให้โอโอซีสต์โดยตรงทางปากกับหนูทดลองทดสอบกับหนูทดลอง 8 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 3 ตัว จากข้อ 1 เก็บมูลหนูทดลอง ภายหลังจากได้รับเชื้อที่ระยะเวลา 2, 4, 6, 8

และ 10 วัน แช่ลงในสารละลาย potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5-10 วัน หลังจากนั้นคัดแยกโอโอซีสต์จากมูลหนูทดลองด้วยวิธี saturate NaCl solution ตามวิธีของ Bhat and Jithendran, 1995 ทำการนับปริมาณโอโอซีสต์ที่คัดแยกได้ บันทึกและวิเคราะห์ผลที่ได้ หลังจากนั้นเก็บสารแขวนลอยโอโอซีสต์ที่คัดแยกได้ ที่อุณหภูมิ 4-10°C สำหรับการทดลองในขั้นตอนต่อไป

การบันทึกข้อมูล

1. จำนวนโอโอซีสต์ที่สามารถเพิ่มปริมาณได้
2. สายพันธุ์หนูทดลองที่สามารถให้ปริมาณโอโอซีสต์ได้สูงสุด 2 สายพันธุ์
3. ไอโซเลทของโอโอซีสต์ที่สามารถเพิ่มปริมาณได้สูงสุด 2 ไอโซเลท

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564 – ธันวาคม 2565 ภายในกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลอง 8 สายพันธุ์ เบื้องต้น (screening test) ได้แก่ หนูแรทสายพันธุ์ Spragus Dawley Rat (Mlac:SD) และ Wistar Rat (Mlac:WR) และหนูไมซ์สายพันธุ์ BALB/cAJcl, BALB/cAJcl-nu, Jcl:ICR, C57Bl/6NJcl, C3H/HeNJcl และ CB.17 Scid อายุ 8 สัปดาห์ กับเชื้อทดลองจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02, *E. ferrisi* isolate MJ01, *E. ferrisi* isolate MJ04, *E. nafuko* isolate NKW05, *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus andamanensis* isolate KW03 ตามลำดับ จากผลการทดลองเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลองเบื้องต้นในปีแรก พบว่าโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02, *E. ferrisi* isolate MJ04และ *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 สามารถให้ปริมาณโอโอซีสต์ในปริมาณที่สูง (≥100 oocysts/ul) จึงเลือกนำไปทดลองเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลองจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ C57Bl/6NJcl, Jcl:ICR และ BALB/cAJcl ต่อไป เนื่องจากสามารถให้ปริมาณโอโอซีสต์จากทุกไอโซเลทมากที่สุด ซึ่งหนูทดลองทั้ง 3 สายพันธุ์ดังกล่าวให้ปริมาณโอโอซีสต์สูงสุดภายหลังจากหนูทดลองได้รับเชื้อที่ระยะเวลา 6 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 50 oocysts/ul การทดลองนี้ยังไม่สิ้นสุดยังต้องดำเนินการทดลองเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลองต่อเนื่องในปีต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลองเบื้องต้นในปีแรก พบว่าโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02, *E. ferrisi* isolate MJ04 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 สามารถให้ปริมาณโอโอซีสต์ในปริมาณที่สูง (≥100 oocysts/ul) จึงเลือกนำไปทดลองเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลองจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่C57Bl/6NJcl, Jcl:ICR และ BALB/cAJcl ต่อไป เนื่องจากสามารถให้ปริมาณโอโอซีสต์จากทุกไอโซเลทมากที่สุด ภายหลังจากหนูทดลองได้รับเชื้อที่ระยะเวลา 6 วัน โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 50 oocycts/ul

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยทำให้งานวิจัยลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร. 2544. หนูและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย 136 หน้า

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และ T. Jackle. 2539. การแพร่ระบาดของ *Sarcocystis* ในหนูศัตรูพืชในประเทศไทย. หน้า 207 – 214. *ใน*: รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช 2539 ภาคแผ่นภาพ ครั้งที่ 10 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

วิชาญ วรรธนะไกวัล ปราสาททอง พรหมเกิด สมเกียรติ กล้าแข็ง และทรงทัพ แก้วตา. 2562ก.การคัดแยกและศึกษาศักยภาพการก่อโรคในหนูศัตรูพืชของค็อคซิเดียโปรโตซัวในลำไส้ (Apicomplexa: Eimeriidae) จากหนูศัตรูพืชสกุล *Rattus* และ *Mus* ที่พบในประเทศไทย. หน้า 60 – 80. *ใน*: การประชุมวิชาการประจำปีสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชกรมวิชาการเกษตร. 10-12 มิถุนายน 2562 ณ โรงแรมรอยัล ฮิลล์ กอล์ฟ รีสอร์ท แอนด์ สปา จังหวัดนครนายก.

วิชาญ วรรธนะไกวัล ปราสาททอง พรหมเกิด สมเกียรติ กล้าแข็ง และทรงทัพ แก้วตา. 2562ข. การศึกษาศักยภาพการก่อโรคในหนูศัตรูพืชและการเพิ่มปริมาณของค็อคซิเดียโปรโตซัวในลำไส้ (Apicomplexa: Eimeriidae) จากหนูศัตรูพืชสกุล *Rattus* และ *Mus* ที่พบในประเทศไทย. หน้า 22 – 23. *ใน*: การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 14. 12-14 พฤศจิกายน 2562 ณ โรงแรมดุสิตธานี หัวหิน อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี.

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. 163-165.

Berto, B.P., H.R. Luz, W. Flausino, I. Ferreira and C.W. Lopes. 2009. New species of Eimeria Schneider, 1875 and Isospora Schneider, 1881 (Apicomplex: Eimeriidae) from the shortcrested flycatcher Myiarchus ferox (Gmelin) (Passeriformes: Tyrannidae) in South America. Systematic of parasitology. 74: 75-80.

Duszynski, D.W. and S.J. Upton. 2000. *Cyclospora*, *Eimeria*, *Isospora*, and *Cryptosporidium* spp. Parasitic Diseases of wild mammals, 2nd edition. Iowa state press, pp. 416-433.

Hnida, J.A. and D.W. Duszynski. 1999. Taxonomy and phylogeny of some Eimeria (Apicomplexa: Eimeriidae) species of rodents as determined by polymerase chain reaction/restriction fragment-length polymorphism analysis of 18S rDNA. Parasitology Research. 85: 887-894.

Jaekel, T., H. Burgstaller and W. Frank. 1996. *Sarcocystis singaporensis*: Studies on host specificity, pathogenicity, and potential use as a biocontrol agent of wild rats. Journal of Parasitology. 82: 280-287.

Long, P. L. and L. P. Joyner. 1984. Problems in the identification of species of *Eimeria*. The Journal of Protozoology. 31: 535-541.

Macova, A. 2013. Systemstics of Apicomplexa parasites and coevolution with definitive and intermediate hosts. Master thesis faculty of science. University of South Bohemia.

Slapeta, J.R., D. Modry, J. Votypka, M. Jirku, M. Obornik, J. Lukes and B. Koudela. 2001. *Eimeria telekii* n.sp. (Apicomplexa: Coccidia) from *Lemniscomys striatus* (Rodentia: Muridae): morphology, pathology and phylogeny. Parasitology. 122: 133-143.

Zhao, X. and D.W. Duszynski. 2001. Phylogenetic relationships among rodent *Eimeria* species determined by plastid ORF470 and nuclear 18S rDNA sequences. International Journal for Parasitology. 31: 715-719.

Table 1 oocysts propagation in labolatory rat and mice 8 strains

Laboratory Rat and mice	Day postinfection (oocysts/ul)														
	E. ferrisi isolate UTN 02					*E. ferrisi isolate MJ04*					*Eimeria* sp. *isolate KW03*				
	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10
Jcl:SD	0	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0
CB17	0	0	11	25	0	0	0	11	0	0	0	0	25	0	0
C3H	0	0	50	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BALBc-nu	0	0	11	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BALBc	0	0	25	0	0	0	0	50	0	0	0	0	25	0	0
Jcl:ICR	0	0	75	0	0	0	0	100	0	0	0	0	11	0	0
C57B	0	0	100	0	0	0	0	25	0	0	0	0	50	0	0
WIST	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	0	0
Laboratory Rat and mice	Day postinfection (oocysts/ul)														
	E. nafuko isolate NKW05					*E. ferrisi* isolate MJ01					*Eimeria* sp. isolate BKK02				
	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10
Jcl:SD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0
CB17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C3H	0	0	25	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BALBc-nu	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BALBc	0	0	50	25	0	0	0	25	11	0	0	0	25	0	0
Jcl:ICR	0	0	25	0	0	0	0	11	11	0	0	0	50	0	0
C57B	0	22	25	25	0	0	0	11	11	0	0	0	225	0	0
WIST	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	25	0	0

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในอ้อย เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
Study on Efficacy of Herbicides in Sugarcane for alternative herbicides and safety crop production system

ปรัชญา เอกฐิน[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[3/] ยุรวรรณ อนันตนมณี[2/]
ผกาสินี คล้ายมาลา[4/] ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ[4/]

[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน
[4/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในอ้อย เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน 1 ทดสอบความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกในอ้อย และขั้นตอนที่ 2 ทดสอบความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกในอ้อยในสภาพเรือนทดลอง ผลการทดลอง พบว่า ขั้นตอนที่ 1 ได้สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก 4 กรรมวิธี ที่ไม่เป็นพิษต่ออ้อย ได้แก่ atrazine อัตรา 440 อัตรา กรัม(ai)/ไร่, diuron อัตรา 440 อัตรา กรัม(ai)/ไร่, atrazine อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ และ hexazinone+diuron อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ และมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช ได้แก่ หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน โดยพ่นที่ระยะก่อนวัชพืชงอก พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ แต่ไม่สามารถควบคุมวัชพืชดังกล่าวที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ ขั้นตอนที่ 2 ได้สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอก 3 กรรมวิธีที่ไม่เป็นพิษต่ออ้อย ได้แก่ diuron อัตรา 400 กรัม(ai)/ไร่, halosulfuron+ametryn อัตรา 9+400 กรัม(ai)/ไร่ และ topamezone+diuron อัตรา 6.72+400 กรัม(ai)/ไร่ โดยสารกำจัดวัชพืช halosulfuron+ametryn อัตรา 9+400 กรัม (ai)/ไร่ และ topamezone +diuron อัตรา 6.72+400 กรัม(ai)/ไร่ มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้ายาง จิงจ้อดอกขาว และผักเบี้ยหิน โดยพ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ ส่วนสารกำจัดวัชพืช diuron อัตรา 400 กรัม(ai)/ไร่ ไม่สามารถกำจัดวัชพืชดังกล่าวได้ จึงนำสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวทั้งแบบพ่นก่อนวัชพืชงอกและแบบพ่นหลังวัชพืชงอกในอ้อยไปดำเนินการทดลองในสภาพไร่ต่อไป

คำหลัก : การควบคุมวัชพืช สารกำจัดวัชพืช อ้อย

รหัสการทดลอง FF65-11-01-65-01-01-65

คำนำ

การจัดการวัชพืชในอ้อย โดยทั่วไปเกษตรกรนิยมใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก (pre-emergence herbicides) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการควบคุมการงอกของเมล็ดวัชพืชได้ประมาณ 30 วันหลังพ่นสาร หลังจากนั้นประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชจะลดลง ทำให้มีวัชพืชงอกขึ้นมาแข่งขันกับพืชปลูก การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกเพียงครั้งเดียว ไม่เพียงพอต่อการควบคุมวัชพืช เนื่องจากระยะเวลาที่ปลอดวัชพืช (weed free period) ในพืชไร่นั้นอยู่ที่ 3-4 เดือนหลังปลูกอ้อย ในช่วงนี้หากปล่อยให้มีวัชพืชรบกวนจะส่งผลทำให้ผลผลิตพืชเสียหายได้ เกษตรกรจึงต้องใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอก (post-emergence herbicides) ในการกำจัดวัชพืชที่ขึ้นมาภายหลัง หากไม่มีสารทางเลือก หรือวิธีการอื่นมาใช้ในการกำจัดวัชพืชที่ขึ้นมาภายหลัง จะส่งผลกระทบต่อผลผลิต ทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554; Yogita *et al*, 2018; Gulshan and Hickey, 2020) กระทบต่อรายได้ของประเทศ นอกจากนั้นหากเกษตรกรเลือกใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกที่ไม่ถูกต้องกับอ้อย ไม่ถูกกับชนิดกับวัชพืช และใช้แบบไม่ถูกต้องตามอัตราการใช้ โดยขาดความรู้ความเข้าใจ จะส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของเกษตรกรผู้บริโภค และสภาพแวดล้อม การใช้แรงงานคนถากหญ้าด้วยจอบอาจจะกระทบต่อการเจริญเติบโตประกอบกับแรงงานมีราคาแพง เกษตรกรจึงนิยมที่จะใช้สารกำจัดวัชพืช ในประเทศไทยแนะนำสารกำจัดวัชพืชสำหรับใช้ควบคุมวัชพืชในอ้อย ได้แก่ paraquat, โดยพ่นหลังวัชพืชงอกและวัชพืชมีความสูงไม่เกิน 30 เซนติเมตร (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2555; สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2560) ในปัจจุบันประเทศไทยได้ยกเลิกการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน 2563 เป็นต้นไป ส่งผลให้เกษตรกรไม่สามารถใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ได้อีกต่อไป ทำให้เกษตรกรทุกภาคส่วนเกิดความเดือดร้อนเนื่องจากไม่มีสารกำจัดวัชพืชที่เหมาะสมใช้แทนสาร paraquat ทำให้อ้อยถูกแก่งแย่งอาหารโดยวัชพืชผลผลิตเสียหายลดลง 10-20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลผลิตที่หายไปนั้นย่อมส่งผลต่อปริมาณการส่งออกของผลิตภัณฑ์เกษตร ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อศักยภาพการแข่งขันในตลาดโลก นอกจากนี้ต้นทุนที่สูงขึ้นส่งผลให้อุตสาหกรรมแปรรูปประสบปัญหาและราคาอาหารสูงขึ้น เกิดผลกระทบต่อเนื่องไปยังผู้บริโภค จากมติดังกล่าวทำให้เกษตรกรมีความต้องการสารกำจัดวัชพืชหรือวิธีการจัดการวัชพืชที่มีประสิทธิภาพมาใช้แทนสารกำจัดวัชพืช paraquat

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาสารทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชในอ้อย เพื่อเป็นทางเลือกแทนการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ที่มีความปลอดภัยต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม และลดการใช้สารเคมีทางการเกษตร โดยมุ่งเน้นเพื่อแก้ปัญหาการยกเลิกการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ให้กับเกษตรกรได้มีทางเลือกอื่นๆ ในการกำจัดวัชพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

-

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 ทดสอบความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกต่ออ้อยและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

ขั้นตอนที่ 1.1 ทดสอบความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย

ปลูกอ้อยลงในกระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร โดยใช้ท่อนพันธุ์ที่มีความสมบูรณ์และขนาดใกล้เคียงกัน ท่อนละ 2 ตา จำนวน 2 ท่อนต่อกระบะ จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (fan nozzle) อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ 19 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่น amicarbazone 70% WG	อัตรา 176 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 2 พ่น atrazine 80% WP	อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 3 พ่น diclozulam 84% WG	อัตรา 25.2 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 4 พ่น diuron 80% WP	อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 5 พ่น fumiozaxin 50% WP	อัตรา 30 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 6 พ่น hexazinone 75% WG	อัตรา 202.5 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 7 พ่น imazapic 24% SL	อัตรา 28.8 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 8 พ่น indaziflam 50% SC	อัตรา 18 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 9 พ่น pendimethalin 33% EC	อัตรา 264 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 10 พ่น s-metolachlor 96% EC	อัตรา 288 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 11 พ่น sulfentarzone 75% WG	อัตรา 135 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 12 พ่น metribuzin 70%WP	อัตรา 126 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 13 พ่น pendimethalin 33% EC+imazapic 24% SL	อัตรา 231+24 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 14 พ่น pendimethalin 33%EC+amicarbazone 70%WG	อัตรา 231+176 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 15 พ่น diuron 80% WP+ s-metolachlor 96% EC	อัตรา 360+192 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 16 พ่น indaziflam 50% SC+metribuzin 70%WP	อัตรา 14+98 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 17 พ่น atrazine 80% WP+diuron80% WP	อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 18 พ่น hexazinone 13.2% WG+diuron 46.8% WP	อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 19 ไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช	

จากนั้นประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นอ้อยด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และบันทึกการเจริญเติบโต โดยวัดความสูงต้นที่ระยะ 30, 60 และ 90 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชการแตกกอและน้ำหนักสดของอ้อยที่ระยะ 90 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนที่ 1.2 ทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 ที่ไม่เป็นพิษหรือเป็นพิษเล็กน้อยอย่างน้อย 2 ชนิด มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงอ้อย ได้แก่ ผักเบี้ยหิน จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก มาโรยในกระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ 1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลองโดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช จากนั้นนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและ

คำนวณหาดัชนีการควบคุมวัชพืช (Weed control index; WCI) มีหน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์ (%) ตามวิธีของ Singh *et al*. (2017)

$$WCI\ (\%) = \frac{\text{Weed dry weight in control - Weed dry weight in treated plot}}{\text{Weed dry weight in control}} \times 100$$

นำวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนชนิดและน้ำหนักแห้งของวัชพืช และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนที่ 1.2.2 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงอ้อย ได้แก่ผักเบี้ยหิน จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก มาโรยในกระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลองที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช จากนั้นนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและ

คำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency, WCE) วิธีของ Mani et al. (1973) อ้างอิงจาก Singh et al. (2017)

$$WCE\ (\%) = \frac{\text{Weed population in plot- Weed population in treated plot}}{\text{Weed population in plot}} \times 100$$

คำนวณหาดัชนีการควบคุมวัชพืช (Weed control index; WCI) มีหน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์ (%) ตามวิธีของ Singh *et al*. (2017)

$$WCI\ (\%) = \frac{\text{Weed dry weight in control - Weed dry weight in treated plot}}{\text{Weed dry weight in control}} \times 100$$

นำวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนชนิดและน้ำหนักแห้งของวัชพืช และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนที่ 1.2.3 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงอ้อย ได้แก่ ผักเบี้ยหิน จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก มาโรยในกระบะขนาด 40x50 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ 1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลองที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช จากนั้นนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและ

คำนวณหาดัชนีการควบคุมวัชพืช (Weed control index; WCI) มีหน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์ (%) ตามวิธีของ Singh *et al*. (2017)

$$WCI\ (\%) = \frac{\text{Weed dry weight in control - Weed dry weight in treated plot}}{\text{Weed dry weight in control}} \times 100$$

นำวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนชนิดและน้ำหนักแห้งของวัชพืช และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกในอ้อยในสภาพเรือนทดลอง

ขั้นตอนที่ 2.1 ทดสอบความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย

ปลูกอ้อยลงในกระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร โดยใช้ท่อนพันธุ์อ้อยที่มีความสมบูรณ์และขนาดใกล้เคียงกัน ท่อนละ 2 ตา จำนวน 2 ท่อนต่อกระบะ เมื่ออ้อยเจริญเติบโตจนมีอายุ 2 เดือน ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลังหัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ 14 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร ametryn 80% WP อัตรา400 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร diuron 80% WP อัตรา400กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร bromacil 80% WP อัตรา400กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร hexazinone 75%WG อัตรา157.5กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร sulfentrazone 48% SC อัตรา115.2กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร halosulfuron 75%WP + ametryn 80% WP อัตรา9+400กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร topamezone 33.6%SC+diuron 80% WP อัตรา6.72+400 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 8 พ่นสาร triclopyr 66.8%EC+ glufosinate 15%SL อัตรา93.52+97.5 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 9 พ่นสาร 2,4-D/picolam 45.2%+11.6% SL+ fluazifop 15%EC อัตรา136.32+30กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 10 พ่นสาร fluazifop-P-butyl 15% EC+2,4-D 84%SL อัตรา30+210กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 11 พ่นสาร fluazifop-P-butyl 15% EC+flumioxazin 50%WP อัตรา 30+20กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 12 พ่นสาร glufosinate 15%SL อัตรา 97.5 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 13 พ่นสาร diquat 37.3% SL อัตรา 298.4 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 14 ไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช

จากนั้นประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นอ้อยด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และบันทึกการเจริญเติบโต โดยวัดความสูงต้น ที่ระยะ 30, 60 และ 90 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชการแตกกอและน้ำหนักสดของอ้อยที่ระยะ 90 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนที่ 2.2 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 2.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงอ้อย ได้แก่ ผักเบี้ยหิน จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก มาโรยในกระบะขนาด 40x50 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลองที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช จากนั้นนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและ

คำนวณหาดัชนีการควบคุมวัชพืช (Weed control index; WCI) มีหน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์ (%) ตามวิธีของ Singh *et al*. (2017)

$$WCI\ (\%) = \frac{\text{Weed dry weight in control - Weed dry weight in treated plot}}{\text{Weed dry weight in control}} \times 100$$

นำวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนชนิดและน้ำหนักแห้งของวัชพืช และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เวลาและสถานที่

ทำการทดลอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 – กันยายน 2565 ณ เรือนทดลอง กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกต่ออ้อย

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อยที่ระยะ 15 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (Table 1 และ Figure 1-19) พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่เป็นพิษเล็กน้อย และไม่เป็นพิษต่ออ้อยจนถึงระยะ 60 วันหลังพ่นสาร ได้แก่ atrazine อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ atrazine+diuron อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ และ hexazinone+diuron อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ส่วนสารกำจัดวัชพืชชนิดอื่น ๆ ในกรรมวิธีการทดลองพบอาการเป็นพิษต่ออ้อยปานกลางโดยมีอาการซีดเหลือง ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืชที่จัดอยู่ในกลุ่ม Urea ใช้ควบคุมวัชพืชใบกว้างและวงศ์หญ้าบางชนิด เมื่อสารเข้าสู่พืชจะไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช เมื่อใช้แบบก่อนงอกพืชจะมีอาการเหลืองและแห้งตาย การใช้ทางใบพืชมีอาการเหลืองตรงบริเวณรอบๆเส้นใบหรือระหว่างเส้นใบต่อมาจะแห้งตาย (Ahrens, 1994) และมีพบอาการไหม้บางส่วนของใบ จนถึงเป็นพิษรุนแรงจนทำให้ต้นอ้อยไม่งอก โดยเฉพาะสารกำจัดวัชพืช imzapic อัตรา 28.8 กรัม(ai)/ไร่

indaziflam อัตรา 18 กรัม(ai)/ไร่ และ pendimethalin+imazapic อัตรา 231+24 กรัม(ai)/ไร่ หลังจากพ่นสารกำจัดวัชพืชไปที่ระยะ 30 วันหลังพ่นทำให้ต้นอ้อยตาย เนื่องจากใช้เกินอัตราแนะนำ โดยสาร indaziflam ยับยั้งการทำงานของเซลลูโลส สาร pendimethalin ยับยั้งการแบ่งเซลล์ และสาร imazapic ยับยั้งการทำงานเอนไซม์ ALS (ทศพล, 2560) จากการวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโตของอ้อย (Table 2) พบว่า สารกำจัดวัชพืช atrazine อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ atrazine+diuron อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ และ hexazinone+diuron อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ให้น้ำหนักสดของต้นอ้อย ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช

จึงนำสารกำจัดวัชพืชดังกล่าว มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงอ้อย ได้แก่ ผักเบี้ยหิน จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก

ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

ประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืชพ่นก่อนวัชพืชงอก

จากการนำสารกำจัดวัชพืชที่เป็นพิษเล็กน้อยและไม่เป็นพิษต่ออ้อยจากการทดลอง ได้แก่ atrazine อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่, diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่, atrazine +diuron อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ และ hexazinone+diuron อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ นำมาพ่นทดสอบประสิทธิภาพแบบพ่นก่อนวัชพืชงอก พบว่า สารกำจัดวัชพืชดังกล่าว สามารถควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน ได้ดีถึงสมบูรณ์ มีคะแนน 8-10 คะแนน ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสาร ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ (ปรัชญาและคณะ 2563) ที่ใช้สารกำจัดวัชพืช ดังกล่าวพ่นก่อนงอกในอ้อย สามารถควบคุมวัชพืชได้ทั้งประเภทใบแคบและใบกว้างในอ้อยได้ดี (Table 3-5)

การนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างทางสถิติโดยมีจำนวนต้นหญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ระหว่าง 0.0-4.0 ต้นและมีน้ำหนักแห้งอยู่ระหว่าง 0.0-0.11 กรัม แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีไม่กำจัดวัชพืช (Table 6)

เมื่อคำนวณหาดัชนีการควบคุมวัชพืช (Weed control index; WCI) พบว่า atrazine อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ มีค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด อยู่ที่ 99.89 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า WCI ในการควบคุม วัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 100 เปอร์เซ็นต์

diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่, มีค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก อยู่ที่ 99.91, 99.82 และ 99.76

เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่า WCI ในการควบคุม วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 100 เปอร์เซ็นต์

atrazine+diuron อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ และ hexazinone+diuron อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ มีค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ (Table 7)

ประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ

สารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช ได้แก่ atrazine อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่, diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่, atrazine+diuron อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ และ hexazinone+diuron อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ พบว่า สารกำจัดวัชพืชทั้งหมดดังกล่าว สามารถควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน ได้ดีถึงสมบูรณ์ มีคะแนน 7-10 คะแนน ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสาร (Table 8-10)

การนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่าทุกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างทางสถิติโดยมีจำนวนต้นหญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ระหว่าง 0.0-2.7 ต้นและมีน้ำหนักแห้งอยู่ระหว่าง 0.0-0.4 กรัม แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีไม่กำจัดวัชพืช (Table 11)

เมื่อคำนวณหาดัชนีการควบคุมวัชพืช (Weed control index; WCI) พบว่า atrazine อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ มีค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก และผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 99.74, 99.43, 99.2 และ 98.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่า WCI ในการควบคุม วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง อยู่ที่ 100 เปอร์เซ็นต์

diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ มีค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก อยู่ที่ 99.47, 99.82 และ 99.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่า WCI ในการควบคุม วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง และผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 100 เปอร์เซ็นต์

atrazine +diuron อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ และ hexazinone+diuron อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ มี ค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ (Table 12)

ประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ

สารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช ได้แก่ atrazine อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่, diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่, atrazine+diuron อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ และ hexazinone+diuron อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ พบว่า ที่ 15 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช hexazinone+diuron อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ควบคุม หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน ได้ดี 7 คะแนน ควบคุมหญ้าตีนนกได้ปานกลาง 6 คะแนน วิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช atrazine+diuron อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ ควบคุม หญ้ายางได้ดี 7 คะแนน ควบคุม หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก จิงจ้อดอกขาว ผักเบี้ยหิน ได้ปานกลาง 6 คะแนน ส่วนวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช atrazine อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่, diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ ควบคุมวัชพืชดังกล่าวได้เล็กน้อยถึงปานกลาง 3-6 คะแนน ที่ 30 วันหลังพ่นสาร พบว่า atrazine+diuron อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ สามารถควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน ได้ปานกลาง มีคะแนน 4 คะแนน ควบคุมหญ้าตีนนกได้เล็กน้อย 3 คะแนน สารกำจัดวัชพืช hexazinone+diuron อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ ควบคุม หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนกจิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน ได้ปานกลาง 4-5 คะแนน สารกำจัดวัชพืช atrazine อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่, diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ ควบคุมวัชพืชดังกล่าวได้เล็กน้อย 2-3 คะแนน ที่ 60 วันหลังพ่นสาร พบว่า ทุกวิธีที่พ่นสารไม่สามารถควบคุม หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน มีคะแนน 0 คะแนน (Table 13-15)

การนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่ากรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช atrazine+diuron อัตรา 440+440 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่นสาร hexazinone +diuron อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยกว่าและแตกต่างกับกรรมวิธีพ่นสาร atrazine อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ และ กรรมวิธีพ่นสาร diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ และกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช และในทุกกรรมวิธีที่พ่นสารถึงแม้จะมีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชแตกต่างกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่ระยะ 60 วันหลังพ่น แต่ต้นวัชพืชดังกล่าวไม่ตายลงทันทีเพียงแค่ชนักการเจริญเติบโตและสามารถเจริญเติบโตได้อีกหลังจากระยะ 60 วันหลังพ่นสาร (Table 16)

เมื่อคำนวณหาดัชนีการควบคุมวัชพืช (Weed control index; WCI) พบว่า atrazine อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ มีค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก อยู่ที่ 62.18, 62.63, 63.67 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า WCI ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 89.91, 77.63 และ 80.99 เปอร์เซ็นต์

diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่, มีค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก อยู่ที่ 52.56, 53.13 และ 67.55

เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่า WCI ในการควบคุม วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 90.16, 75.50 และ 81.61 เปอร์เซ็นต์

atrazine+diuron อัตรา 440+400 กรัม(ai)/ไร่ มีค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก อยู่ที่ 77.78, 74.30 และ 80.61 และมีค่า WCI ในการควบคุม วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 95.63, 87.00 และ 81.76 เปอร์เซ็นต์

hexazinone+diuron อัตรา 330 กรัม(ai)/ไร่ มี ค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก อยู่ที่ 71.58, 73.65 และ 82.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 94.29, 86.88 และ 78.98 เปอร์เซ็นต์ (Table 17)

ความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกในอ้อยในสภาพเรือนทดลอง

เมื่ออ้อยเจริญเติบโตจนมีอายุ 2 เดือน ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง ผลการทดลองพบว่า ที่ 15 วันหลังพ่นสาร กรรมวิธีที่พ่น ametryn อัตรา 400 กรัม(ai)/ไร่ และกรรมวิธีพ่นสาร bromacil อัตรา 400 กรัม(ai)/ไร่ อ้อยตาย คะแนน 10 คะแนน กรรมวิธีพ่นสาร sulfentrazone อัตรา 115.2 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่นสาร fluazifop-P-butyl+flumioxazin อัตรา 30+20 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่นสาร glufosinate อัตรา 97.5 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่น diquat อัตรา 298.4 กรัม(ai)/ไร่ อ้อยเป็นพิษรุนแรง 7-8 คะแนน กรรมวิธีพ่น hexazinone อัตรา 157.5 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่น triclopyr+glufosinate อัตรา 93.52+97.5 กรัม(ai)/ไร่ และกรรมวิธีพ่น fluazifop-P-butyl+2,4-D อัตรา 30+20 กรัม(ai)/ไร่ อ้อยเป็นพิษปานกลาง 4-5 คะแนน กรรมวิธีพ่น halosulfuron+ametryn อัตรา 136.32+30 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่นสาร topamezone+diuron อัตรา 6.72+400 กรัม(ai)/ไร่ และกรรมวิธีพ่นสาร 2,4-D/picolam+fluazifop อัตรา 136.32+30 กรัม(ai)/ไร่ อ้อยเป็นพิษเล็กน้อย คะแนน 2-3 คะแนน ส่วนกรรมวิธี diuron อัตรา 400 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่น halosulfuron+ametryn อัตรา 9+400 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่น topamezone+diuron อัตรา 6.72+400 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่น halosulfuron+ametryn อัตรา 136.32+30 กรัม(ai)/ไร่ อ้อยเป็นพิษเล็กน้อย 2-3 คะแนน

ที่ 30 และ 60 วันหลังพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสาร diuron อัตรา 400 กรัม(ai)/ไร่ และกรรมวิธีพ่นสาร topamezone+diuron อัตรา 6.72+400 กรัม(ai)/ไร่ halosulfuron+ametryn ไม่เป็นพิษต่ออ้อย hexazinone อัตรา 157.5 กรัม(ai)/ไร่ 2,4-D/picolam+fluazifop อัตรา 136.32+30 กรัม(ai)/ไร่ และกรรมวิธีพ่นสาร fluazifop-P-butyl+2,4-D อัตรา 130+210 กรัม(ai)/ไร่ อ้อยเป็นพิษปานกลาง คะแนน 5-6 คะแนน กรรมวิธีพ่นสาร triclopyr+glufosinate อัตรา 93.52+97.5 กรัม(ai)/ไร่ อ้อยเป็นพิษรุนแรง 7 คะแนน ametryn อัตรา 400 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่นสาร bromacil อัตรา 400 กรัม(ai)/ไร่, กรรมวิธีพ่นสาร sulfentrazone อัตรา 115.2 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่นสาร fluazifop-P-

butyl+flumioxazin อัตรา 30+20 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่นสาร glufosinate อัตรา 97.5 กรัม(ai)/ไร่ อ้อยตาย ซึ่งการพ่นสารประเภทนี้ควรหลีกเลี่ยงละอองน้ำยาสัมผัสต้นอ้อยเนื่องจาก glufosinate สามารถดูดซึมสู่ต้นอ้อยได้เล็กน้อย จึงเป็นอันตรายมากต้องพ่นในขณะที่อ้อยย่างปล้อง (Devine M *et*.al 1993) และกรรมวิธีพ่นสาร diquat อัตรา 298.4 กรัม(ai)/ไร่ อ้อยตาย (Figure 20-33)

ประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอก พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ

นำสารกำจัดวัชพืช 3 ชนิด ได้แก่ diuron อัตรา 400 กรัม(ai)/ไร่ halosulfuron+ametryn อัตรา 9+400 กรัม(ai)/ไร่ และ topamezone+diuron อัตรา6.72+400 กรัม(ai)/ไร่ มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยพ่นสารดังกล่าว ที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ สารกำจัดวัชพืชในกรรมวิธีที่ 6 halosulfuron+ametryn อัตรา 9+400 กรัม(ai)/ไร่ สามารถควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน ได้ดีถึงสมบูรณ์ มีคะแนน 7-10 คะแนน ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสาร สำหรับกรรมวิธีที่ 2 diuron 80% WP อัตรา 400 กรัม(ai)/ไร่ ทำให้วัชพืชวัชพืชทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้ายาง จิงจ้อดอกขาว และผักเบี้ยหิน มีอาการชะงักการเจริญเติบโต และที่ระยะ 15-20 วันหลังพ่นสาร มีคะแนน 5-7 คะแนน วัชพืชดังกล่าวเริ่มกลับคืนสู่ปกติและสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้อีก ส่วนกรรมวิธีที่ 7 topamezone +diuron สามารถควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก ได้ดีถึงสมบูรณ์ มีคะแนน 7-10 คะแนน ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสาร แต่ควบคุมวัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน เล็กน้อยถึงปานกลาง มีคะแนน 3-6 คะแนน ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสาร

การนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่ากรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช halosulfuron+ametryn อัตรา 9+400 กรัม(ai)/ไร่ กรรมวิธีพ่นสาร topamezone+diuron อัตรา 6.72+400 กรัม(ai)/ไร่ มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ และ กรรมวิธีไม่พ่นสาร (Table 23)

เมื่อคำนวณหาดัชนีการควบคุมวัชพืช (Weed control index; WCI) พบว่า diuron อัตรา 440 กรัม(ai)/ไร่ มีค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก อยู่ที่ 97.29, 95.20, 95.60 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า WCI ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 97.20, 97.39 และ 96.28 เปอร์เซ็นต์

halosulfuron+ametryn อัตรา 9+400 กรัม(ai)/ไร่, มีค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก อยู่ที่ 99.74,

98.35 และ 99.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่า WCI ในการควบคุม วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 99.21, 98.87 และ 98.80 เปอร์เซ็นต์

topamezone+diuron อัตรา 6.72+400 กรัม(ai)/ไร่ มีค่า (Weed control index; WCI) ในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก อยู่ที่ 99.90, 99.72 และ 99.53 และมีค่า WCI ในการควบคุม วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น จิงจ้อดอกขาว หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน อยู่ที่ 98.34, 99.37 และ 97.5 เปอร์เซ็นต์ (Table 24)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมวัชพืช ได้ในระดับดีจนถึงระยะ 60 วันหลังพ่นสาร ไม่มีความเป็นพิษต่ออ้อย และยังสามารถควบคุมวัชพืชได้ที่ระยะ 3-5 ใบ ได้แก่ atrazine อัตรา 440 อัตรา กรัม(ai)/ไร่ diuron อัตรา 440 อัตรา กรัม(ai)/ไร่ atrazine+diuron อัตรา 440+400 อัตรา กรัม(ai)/ไร่ และ hexazinone+diuron อัตรา 330 อัตรา กรัม(ai)/ไร่

2. สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอก ที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมวัชพืช และไม่กระทบต่อการเจริญเติบโตของอ้อย ได้แก่ halosulfuron+ametryn อัตรา 9+400 กรัม(ai)/ไร่ และ topamezone +diuron อัตรา 6.72+400 กรัม(ai)/ไร่

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ พนักงานราชการ ลูกจ้างประจำ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยวัชพืช ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2531. *วัชพืช : คำแนะนำในการควบคุมวัชพืช*. กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 146 หน้า.

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. *คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 149 หน้า.

เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์ และเสริมศิริ คงแสงดาว. 2530. *วัชพืช : การควบคุมและกำจัด*. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 126 หน้า

เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2546. *วัชพืชในไร่อ้อยและการป้องกันกำจัด*. วารสารกรมวิชาการเกษตร. 14(1): 1-15.

เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช. 2563. *ผลกระทบของสารเคมีกำจัดวัชพืช Atrazine ต่อสุขภาพ*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล :https://www.thaipan.org/sites/default/files/conference2558/3.8_warisara.pdf. (8 ธันวาคม 2565)

จรรยา มณีโชติ ยุรวรรณ อนันตนมณี ปรัชญา เอกฐิน วุฒิพล จันทร์สระคู และจินตนา ภู่มงกุฎชัย 2562. โครงการวิธีจัดการวัชพืชแบบผสมผสานเพื่อลดการใช้สาร paraquat และ glyphosate ในพืชเศรษฐกิจ *ใน : รายงานฉบับสมบูรณ์ ปีที่1*. สำนักงานพัฒนาการวิจัยทางการเกษตร (สวก.) กรุงเทพฯ

จรรยา มณีโชติ ยุรวรรณ อนันตนมณี ปรัชญา เอกฐิน วุฒิพล สาระคู และจินตนา ภู่มงกุฎชัย. 2562. การจัดการวัชพืชแบบผสมผสานเพื่อลดปริมาณการใช้สาร paraquat และ glyphosate *ในพืชเศรษฐกิจ รายงานความก้าวหน้า 12 เดือน ปีที่ 1*. สำนักงานพัฒนาการวิจัยทางการเกษตร (องค์การมหาชน) กรุงเทพฯ

ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม. 2563. *ราชกิจจาฯ ประกาศแบน “พาราควอต-คลอร์ไพริฟอส”* 1 มิถุนายน 2563. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล :https://www.thansettakij.com/content/435101. (8 ธันวาคม 2565)

รังสิต สุวรรณเขตนิคม. 2547. *สารป้องกันกำจัดวัชพืชพื้นฐานและวิธีการใช้*. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 467 หน้า.

สมาคมนักวิชาการอ้อยและน้ำตาลแห่งประเทศไทย. 2563. *รายงานประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจหากยกเลิกการใช้สารพาราควอต ต่อภาคการเกษตรอุตสาหกรรม และภาคการส่งออกของประเทศไทย*. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทรายกระทรวงอุตสาหกรรม. 2557.*โครงการจัดทำต้นทุนผลผลิตและถ่ายทอดความรู้ เพื่อลดต้นทุนการผลิตอ้อยของเกษตรกร ในปีเพาะปลูก 2557/58*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.ocsb.go.th/upload/learning/fileupload/5336-6947.pdf. (8 ธันวาคม 2565)

Anonymous. 2019. *Corn: Integrated Weed Management*. (Online). Available. https://www.farmmanagement.pro/corn-integrated-weed-management. (December 27, 2019).

Arevalo, R.A., E.A. Cerrizuela and I.L. Olea. 1977. Competition from specific weeds in sugarcane. Rev-Agron-Noroeste-Argent. Tucuman, Facultad de Agronomia Zootecnia. *Universidad Nacional de Tucuman* 14(1/4): 101-109.

Campbell, P.L., P.B. Richard and W.L. Graeme. 2019. Weed management in sugarcane using a combination of imazapyr followed by velvet bean as a break crop. *South African Journal of Plant and Soil*. 36: 2-12.

Devine M., Duke SO and C. Fedtke. *Inhibition of amino acid biosynthesis*. In: Physiology of herbicide action. 1993. p. 251-294.

Fillols, E.F. and T. Staier. 2016. Efficacy of alternative pre-emergent herbicides applied in trash-blanketed ratoons in the Wet Tropics. *Proceedings of the Australian Societyof Sugar Cane Technologists*. 38 p 216.

Glufosinate Ammonium. 2004. *Technical Information. Bayer CropScience, Monheim ,Germany*. (Online). Available. www.bayercropscience.com (July 20, 2020).

Gulshan, M. and L. Hickey. 2020. Response of Barley Genotypes to Weed Interference in Australia. *Agronomy*. 99: 1-12.

Khaliq A., A. Naeem, S.A. Muhammad, Y. Muhammad, A.R. Hafiz and R. Sohail. 2018. *Impact of weed control methods on yield and of sugarcane crop*. Globalsci entificjournal. 6: 57-72./114004/114004-2005-08-10a.pdf. (July 20, 2020).

Lindsay E.K., T.S. Prather, H.H. Quicke, J. Beuschlein and I.C. Burke. 2020. Management of *Ventenata dubia* in the inland Pacific Northwest with indaziflam. *Invasive Plant Science and Management*. 12(4): 223-228.

Material Safety Data Sheet. 2006. *Diuron Consult Makhteshim Agan of North America*,Inc. Raleigh, NC, U.S.A.

Pampulha, M.E., M.A. Ferreira and A. Oliveira. 2007. Effects of aphosphinothricin based herbicide on selected groups of soil microorganisms. *Journal of BasicMi crobiology*. 47 (4): 325-33.

Rungmekarat, S., R. Suwanmonkha, J. Romkaew and P. Ekkathin. 2011. Weed control using herbicides with tillage in sugarcane.*Thai National AGRIS Centre*, Kasetsart University. Faculty of Agriculture. Department of Agronomy. Kasetsart University, Bangkok Thailand.

Rutherford, M., J. Flood and S.S. Sastroutomo. 2011. *Roundtable for Sustainable Palm Oil (RSPO): Research project on Integrated Weed Management Strategies for Oil Palm*. CABI UK and Malaysia. 198page.

Yogita, G., P.K. Singha, R.P. Dubeya and P.K. Gupta.2018. Assessment of yield and economic losses in agriculture due to weeds in India. *Crop Protection*.107: 12–18.

Table 1 Toxicity of pre-emergence herbicide after application in Sugarcane

Treatment	Rate g(ai)/rai	Days after application		
		15	30	60
1.amicarbazone	176	0	2	5
2.atrazine	440	0	1	0
3.diclozulam	25.2	0	2	5
4.diuron	440	0	4	1
5.fumiozaxin	30	0	4	4
6.hexazinone	202.5	0	3	4
7.imazapic	28.8	0	10	10
8.indaziflam	18	0	10	10
9.pendimethalin	264	0	9	7
10.s-metolachlor	288	0	8	6
11.sulfentarzone	135	0	8	7
12.metribuzin	126	0	7	7
13.pendimethalin+imazapic	231+24	0	10	10
14.pendimethalin+amicarbazone	231+176	0	8	7
15.diuron+s-metolachlor	360+192	0	8	5
16.indaziflam+metribuzin	14+98	0	7	6
17.atrazine+diuron	440+400	0	4	2
18.hexazinone+diuron	330	0	2	0
19.Control	-	0	0	0

Phytotoxicity by visual rating

0 = normal 1-3 = slightly toxic 4-6 = moderately toxic 7-9 = severalty toxic 10 = completely killed

Table 2 Yield and yield component after herbicide application in Sugarcane

Treatment	Rate g(ai)/rai	Days after application			millable cane			Yield (kilogram)
		30	60	90	30	60	90	90
1.amicarbazone	176	[1/]12.4a	15.0b	18.1b	0.7a	1.0ab	1.7b	1.1b
2.atrazine	440	10.5a	21.0a	24.1a	1.3a	1.7a	2.3a	2.4a
3.diclozulam	25.2	8.6a	12.1b	15.2b	0.3a	0.7c	1.3b	0.8b
4.diuron	440	11.8a	13.2b	16.3b	1.0a	1.3a	2.0a	2.6a
5.fumiozaxin	30	7.8a	14.0b	17.1b	0.3a	0.7c	1.3b	1.1b
6.hexazinone	202.5	10.1a	14.0b	17.1b	0.3a	0.7c	1.3b	1.2b
7.imazapic	28.8	0.0b	0.0c	3.1c	0.0a	0.0c	0.0c	0.0c
8.indaziflam	18	0.0b	0.0c	3.1c	0.0a	0.0c	0.0c	0.0c
9.pendimethalin	264	2.8b	0.0c	3.1c	0.0a	0.7b	1.0b	0.3c
10.s-metolachlor	288	4.8b	12.3b	15.4ab	0.3a	0.7b	1.3b	1.1b
11.sulfentarzone	135	2.4b	14.1b	17.2ab	0.0a	0.3c	1.0b	0.4c
12.metribuzin	126	9.6a	13.2b	16.3ab	0.0a	0.3c	1.0b	0.6c
13.pendimethalin+imazapic	231+24	0.0b	0.0c	3.1c	0.0a	0.0c	0.0c	0.0c
14.pendimethalin+amicarbazone	231+176	6.2ab	12.5b	15.6b	0.3a	0.7b	1.3b	0.3c
15.diuron+s-metolachlor	360+192	4.9b	12.5b	15.6b	0.7a	1.3a	2.0a	1.1b
16.indaziflam+metribuzin	14+98	5.5ab	10.7b	13.8b	0.3a	1.0b	1.7b	0.9b
17.atrazine+diuron	440+400	8.6a	18.6a	21.7a	0.7a	1.3a	2.0a	2.8a
18.hexazinone+diuron	330	12.9a	19.2a	22.3a	0.7a	1.3a	2.0a	2.9a
19.Control	-	11.4a	17.9a	21.0a	0.7a	1.3a	2.0a	2.9a
C.V.%		15.3	18.0	17.8	1.2	1.3	2.0	5.3

[1/]The numbers in the same column followed by the same letter were not statistically different at the 95% confidence level by Duncan's Multiple Range Test

Table 3 Efficiency of weed control at 15 days after pre-emergence herbicide application in sugarcane

Treatment	Rate g(ai)/rai	15 Days after application					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	10	10	10	10	10	10
2.diuron	440	10	10	10	10	10	10
3.atrazine+diuron	440+400	10	10	10	10	10	10
4.hexazinone+diuron	330	10	10	10	10	10	10
5.Control	-	0	0	0	0	0	0

Efficiency by visual rating : 0 = normal 1-3 = slightly control 4-6 = moderately control 7-9 = good control 10 = completely control (*Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb) (*Echinochloa colana* (L.) Link.) (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.) (*Euphorbia heterophylla* L.) (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 4 Efficiency of weed control at 30 days after pre-emergence herbicide application in sugarcane

Treatment	Rate	30 Days after application					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
	g(ai)/rai	BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	10	10	10	10	10	10
2.diuron	440	10	10	10	10	10	10
3.atrazine+diuron	440+400	10	10	10	10	10	10
4.hexazinone+diuron	330	10	10	10	10	10	10
5.Control	-	0	0	0	0	0	0

Efficiency by visual rating : 0 = normal 1-3 = slightly control 4-6 = moderately control 7-9 = good control 10 = completely control

(*Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb) (*Echinochloa colana* (L.) Link.) (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.) (*Euphorbia heterophylla* L.) (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 5 Efficiency of weed control at 60 days after pre-emergence herbicide application in sugarcane

Treatment	Rate g(ai)/rai	60 Days after application					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	9	10	10	10	10	10
2.diuron	440	8	9	9	10	10	10
3.atrazine+diuron	440+400	10	10	10	10	10	10
4.hexazinone+diuron	330	10	10	10	10	10	10
5.Control	-	0	0	0	0	0	0

Efficiency by visual rating : 0 = normal 1-3 = slightly control 4-6 = moderately control 7-9 = good control 10 = completely control

(*Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb) (*Echinochloa colana* (L.) Link.) (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.) (*Euphorbia heterophylla* L.) (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 6 Number of weeds and dry wight at 60 days after pre-emergence herbicide application in sugarcane

Treatment	Rate g(ai)/rai	Number of weeds						Dry wight					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed			Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO	BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	4.0a[1/]	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.07a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
2.diuron	440	3.2a	2.0a	6.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.06a	0.11a	0.11a	0.0a	0.0a	0.0a
3.atrazine+diuron	440+400	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
4.hexazinone+diuron	330	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
5.Control	-	50.0b	50.0b	50.0b	50.0b	50.0b	50.0b	69.8b	63.5b	47.6b	102.5b	96.7b	76.3b
c.v.%		14.5	12.6	10.2	11.3	13.6	14.0	11.5	8.8	15.3	10.2	11.3	15.6

[1/] The numbers in the same column followed by the same letter were not statistically different at the 95% confidence level by Duncan's Multiple Range Test

(*Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb) (*Echinochloa colana* (L.) Link.) (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.) (*Euphorbia heterophylla* L.) (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 7 Weed control index; WCI of pre-emergence herbicide application in sugarcane

Treatment	Rate g(ai)/rai	Weed control index (%)					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	99.89	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
2.diuron	440	99.91	99.82	99.76	100.0	100.0	100.0
3.atrazine+diuron	440+400	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
4.hexazinone+diuron	330	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
5. Control	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

(*Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb) (*Echinochloa colana* (L.) Link.) (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.) (*Euphorbia heterophylla* L.) (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 8 Efficiency of weed control at 15 days after pre-emergence herbicide application in sugarcane (spay at weeds stage 3-5 leaves)

Treatment	Rate g(ai)/rai	15 Days after application					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	10	10	10	10	10	10
2.diuron	440	10	10	10	10	10	10
3.atrazine+diuron	440+400	10	10	10	10	10	10
4.hexazinone+diuron	330	10	10	10	10	10	10
5.Control	-	0	0	0	0	0	0

Efficiency by visual rating : 0 = normal 1-3 = slightly control 4-6 = moderately control 7-9 = good control 10 = completely control

(*Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb) (*Echinochloa colana* (L.) Link.) (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.) (*Euphorbia heterophylla* L.) (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 9 Efficiency of weed control at 30 days after pre-emergence herbicide application in sugarcane (spay at weeds stage 3-5 leaves)

Treatment	Rate g(ai)/rai	30 Days after application					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	10	10	10	10	10	10
2.diuron	440	10	10	10	10	10	10
3.atrazine+diuron	440+400	10	10	10	10	10	10
4.hexazinone+diuron	330	10	10	10	10	10	10
5.Control	-	0	0	0	0	0	0

Efficiency by visual rating : 0 = normal 1-3 = slightly control 4-6 = moderately control 7-9 = good control 10 = completely control

(*Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb) (*Echinochloa colana* (L.) Link.) (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.) (*Euphorbia heterophylla* L.) (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 10 Efficiency of weed control at 60 days after pre-emergence herbicide application in sugarcane (spay at weeds stage 3-5 leaves)

Treatment	Rate g(ai)/rai	60 Days after application					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	9	9	9	9	10	10
2.diuron	440	7	8	9	10	10	10
3.atrazine+diuron	440+400	10	10	10	10	10	10
4.hexazinone+diuron	330	10	10	10	10	10	10
5.Control	-	0	0	0	0	0	0

Efficiency by visual rating : 0 = normal 1-3 = slightly control 4-6 = moderately control 7-9 = good control 10 = completely control

(*Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb) (*Echinochloa colana* (L.) Link.) (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.) (*Euphorbia heterophylla* L.) (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 11 Number of weeds and dry wight at 60 days after pre-emergence herbicide application in sugarcane (spray at weeds stage 3-5 leaves)

Treatment	Rate	Number of weeds						Dry wight					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed			Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
	g(ai)/rai	BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO	BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	2.1a[/1]	2.7a	1.5a	0.0a	0.0a	1.0a	0.12a	0.32a	0.34a	0.0a	0.0a	1.20a
2.diuron	440	1.2a	1.8a	2.3a	0.0a	0.0a	0.0a	0.25a	0.10a	0.40a	0.0a	0.0a	0.0a
3.atrazine+diuron	440+400	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
4.hexazinone+diuron	330	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a
5.Control	-	50.0b	50.0b	50.0b	50.0b	50.0b	50.0b	47.8b	56.3b	42.5b	85.6b	92.0b	70.7b
c.v.%		7.5	10.6	13.4	10.2	11.3	11.2	9.5	12.3	12.5	17.2	15.3	14.3

[1/]The numbers in the same column followed by the same letter were not statistically different at the 95% confidence level by Duncan's Multiple Range Test

(*Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb), (*Echinochloa colana* (L.) Link.), (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.), (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.), (*Euphorbia heterophylla* L.), (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 12 Weed control index; WCI of pre-emergence herbicide application in sugarcane

Treatment	Rate	Weed control index (%)					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
	g(ai)/rai	BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	99.74	99.43	99.2	100.0	100.0	98.3
2.diuron	440	99.47	99.82	99.05	100.0	100.0	100.0
3.atrazine+diuron	440+400	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
4.hexazinone+diuron	330	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
5.Control	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

(*Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb) (*Echinochloa colana* (L.) Link.) (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.) (*Euphorbia heterophylla* L.) (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 13 Efficacy of pre-emergence herbicide for control weed in 5 leaves stage at 15 days after application on sugarcane

Treatment	Rate g(ai)/rai	15 Days after application					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	5	5	5	6	6	6
2.diuron	440	3	5	3	6	5	5
3.atrazine+diuron	440+400	6	6	6	6	7	7
4.hexazinone+diuron	330	7	7	6	7	7	7
5.Untreated control		0	0	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control *Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb), (*Echinochloa colana* (L.) Link.), (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.), (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.), (*Euphorbia heterophylla* L.), (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 14 Efficacy of pre-emergence herbicide for control weed in 5 leaves stage at 30 days after application on sugarcane

Treatment	Rate g(ai)/rai	30 Days after application					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	BRARE	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	2	3	3	3	3	3
2.diuron	440	3	3	3	3	3	3
3.atrazine+diuron	440+400	4	4	3	4	4	4
4.hexazinone+diuron	330	5	5	4	4	4	4
5. Untreated control		0	0	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control *Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb), (*Echinochloa colana* (L.) Link.), (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.), (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.), (*Euphorbia heterophylla* L.), (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 15 Efficacy of pre-emergence herbicide for control weed in 5 leaves stage at 60 days after application on sugarcane

Treatment	Rate g(ai)/rai	60 Days after application					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	BRARE	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	2	3	3	3	3	3
2.diuron	440	3	3	3	3	3	3
3.atrazine+diuron	440+400	4	4	3	3	3	3
4.hexazinone+diuron	330	4	4	4	4	4	4
5. Untreated control		0	0	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control *Brachiaria reptans* L. Gard. & Hubb), (*Echinochloa colana* (L.) Link.), (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.), (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.), (*Euphorbia heterophylla* L.), (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 16 Number and weed dry weight at 60 days after application under greenhouse condition

Treatment	Rate G (ai)/rai	Number of weed (plant/m^2)						weed dry weight (g/m^2)					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed			Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	BRARE	EUPHE	TRIPO	BRARE	ECHCO	DIGCI	BRARE	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	21.7b	26.5b	19.5b	15.0b	26.8b	11.2b	17.7b	17.3b	17.8b	8.3b	17.9b	12.3a
2.diuron	440	32.3b	29.6	26.5b	10.2b	17.3b	12.0b	22.2b	21.7b	15.9b	8.1b	19.6b	11.9a
3.atrazine+diuron	440+400	13.2a	14.6a	16.5a	2.8a	6.5a	9.5a	10.4a	11.9a	9.5a	3.6a	10.4a	11.8a
4.hexazinone+diuron	330	10.6a	13.2a	16.7a	6.8a	5.5a	7.6a	13.3a	12.2a	8.6a	4.7a	10.5a	13.6a
5. Untreated control	-	50.0c	50.0c	50.0c	50.0c	50.0c	50.0c	46.8c	46.3c	49.0c	82.3c	80.0c	64.7b
c.v.%		14.5	13.6	15.9	16.4	13.5	10.7	13.5	15.3	14.5	18.0	12.2	16.5

[1/] Number followed by the same letter or no letter in a column are not significantly different at the 0.05 according to Duncan's test.

Brachiaria reptans L. Gard. & Hubb) (*Echinochloa colana* (L.) Link.) (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) (*Merremia umbellata* (L.) Hallier f.) (*Euphorbia heterophylla* L.) (*Trianthema portulacastrum* L.)

Table 17 Weed control index of pre-emergence herbicide in sugarcane

Treatment	Rate g(ai)/rai	Weed control index (%)					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	BRARE	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	62.18	62.63	63.67	89.91	77.63	80.99
2.diuron	440	52.56	53.13	67.55	90.16	75.50	81.61
3.atrazine+diuron	440+400	77.78	74.30	80.61	95.63	87.00	81.76
4.hexazinone+diuron	330	71.58	73.65	82.45	94.29	86.88	78.98
5. Untreated control	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Table 18 Toxicity of post-emergence herbicide after application in sugarcane at 2 months stage

Treatment	Rate	Days after application		
	g(ai)/rai	15	30	60
1. ametryn	400	10	10	10
2. diuron	400	3	0	0
3. bromacil	400	10	10	10
4. hexazinone	157.5	5	6	6
5. sulfentrazone	115.2	8	10	10
6. halosulfuron+ametryn	9+400	2	0	0
7. topamezone+diuron	6.72+400	2	0	0
8. triclopyr+glufosinate	93.52+97.5	5	7	7
9. 2,4-D/picolam+fluazifop	136.32+30	3	5	5
10. fluazifop-P-butyl+2,4-D	130+210	5	6	6
11. fluazifop-P-butyl+flumioxazin	30+20	7	10	10
12. glufosinate	97.5	7	10	10
13. diquat	298.4	8	10	10
14. Untreated control	-	0	0	0

Phytotoxicity by visual rating: 0 = normal 1-3 = slightly toxic 4-6 = moderately toxic 7-9 = severalty toxic 10 = completely killed

Table 19 Growth of sugarcane after spray post-emergence herbicide at 2 months stage

Treatment	Rate g(ai)/rai	high days after application			stool (stalk number per stool)			weight (Kg.)
		30	60	90	30	60	90	90
1. ametryn	400	0.0b	0.0c	0.0c	0.0b	0.0c	0.0c	0.0c
2. diuron	400	53.7a	69.7a	79.2a	1.9a	3.5a	4.8a	3.9a
3. bromacil	400	0.0b	0.0c	0.0c	0.0b	0.0c	0.0c	0.0c
4. hexazinone	157.5	17.7b	0.0c	0.0c	0.0b	0.0c	0.0c	0.0c
5. sulfentrazone	115.2	21.0b	0.0c	0.0c	0.0b	0.0c	0.0c	0.0c
6. halosulfuron+ametryn	9+400	55.0a	70.1a	77.7a	2.1a	3.8a	4.7a	3.8a
7. topamezone+diuron	6.72+400	49.6a	67.0a	76.7a	2.0a	3.6a	5.0a	4.0
8. triclopyr+glufosinate	93.52+97.5	14.2b	20.7b	23.2b	0.5ab	1.2b	1.2b	1.2b
9. 2,4-D/picolam+fluazifop	136.32+30	10.0b	18.5b	19.3b	0.7ab	1.0b	1.2b	0.9b
10. fluazifop-P-butyl+2,4-D	130+210	18.0b	21.0b	25.3b	1.0ab	1.2b	1.3b	1.1b
11. fluazifop-P-butyl+flumioxazin	30+20	0.0c	0.0c	0.0c	0.0b	0.0c	0.0c	0.0c
12. glufosinate	97.5	0.0c	0.0c	0.0c	0.0b	0.0c	0.0c	0.0c
13. diquat	298.4	0.0c	0.0c	0.0c	0.0b	0.0c	0.0c	0.0c
14. Untreated control	-	39.4ab	61.2ab	70.7a	1.9a	3.0a	4.1a	2.9ab
C.V.%		21.3	25.0	42.8	1.7	2.3	3.5	6.3

[1/] Number followed by the same letter or no letter in a column are not significantly different at the 0.05 according to Duncan's test.

Table 20 Efficiency of weed control at 15 days after spray post-emergence herbicide in sugarcane (5 weed leaves stage)

Treatment	Rate g(ai)/rai	15 days after application					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1. diuron	400	7	7	7	7	7	8
2. halosulfuron+ametryn	9+400	10	10	10	9	8	8
3. topamezone+diuron	6.72+400	10	10	10	7	7	8
4. Untreated control	-	0	0	0	0	0	0

Efficacy of herbicide 0=no control, 1-3=slightly control, 4-6=moderately control, 7-9=good control, 10=completely control

Table 21 Efficiency of weed control at 30 days after spray post-emergence herbicide in sugarcane (5 weed leaves stage)

Treatment	Rate g(ai)/rai	30 days after application					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1. diuron	400	5	5	6	6	6	7
2. halosulfuron+ametryn	9+400	9	9	9	8	7	7
3. topamezone+diuron	6.72+400	10	10	10	5	6	6
4. Untreated control	-	0	0	0	0	0	0

Efficacy of herbicide 0=no control, 1-3=slightly control, 4-6=moderately control, 7-9=good control, 10=completely control

Table 22 Efficiency of weed control at 60 days after spray post-emergence herbicide in sugarcane (5 weed leaves stage)

Treatment	Rate g(ai)/rai	60 days after application					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1. diuron	440	4	4	4	5	5	5
2. halosulfuron + ametryn	9+400	7	8	8	7	7	7
3. topamezone +diuron	6.72+400	8	8	8	5	4	5
4. Untreated control	-	0	0	0	0	0	0

Efficacy of herbicide 0=no control, 1-3=slightly control, 4-6=moderately control, 7-9=good control, 10=completely control

Table 23 Number and weed dry weight at 60 days after application under greenhouse condition

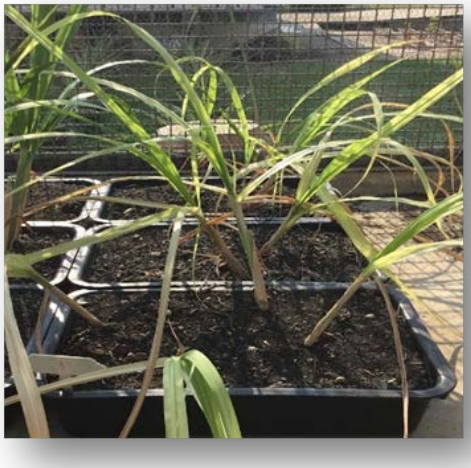
Treatment	Rate g(ai)/rai	Number of weed (plant/m^2)						weed dry weight (g/m^2)					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed			Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO	BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1. diuron	440	5.7b	2.5b	6.5b	3.0b	6.8b	3.2b	1.35b	2.03b	1.98b	2.78b	1.85b	2.78b
2. halosulfuron+ametryn	9+400	2.3b	1.6a	2.5b	1.2b	1.3b	1.6b	0.13a	0.7a	0.08a	0.78a	0.80a	0.90a
3. topamezone+diuron	6.72+400	1.2a	1.0a	3.5a	2.8a	1.0a	1.0a	0.05a	0.12a	0.21a	1.65a	0.45a	1.85a
4. Untreated control	-	50.0c	50.0c	50.0c	50.0c	50.0c	50.0c	49.8c	42.3c	45.0c	99.3c	71.0c	74.7b
c.v.%		10.5	10.6	13.4	13.2	10.0	7.7	11.5	14.3	13.5	11.0	12.0	6.5

[1/] Number followed by the same letter or no letter in a column are not significantly different at the 0.05 according to Duncan's test.

Table 24 Weed control index; WCI of post-emergence herbicide in sugarcane at 5 weed leaves stage

Treatment	Rate g(ai)/rai	Weed control index (%)					
		Narrowleaf weed			Broadleaf weed		
		BRARE	ECHCO	DIGCI	MERUM	EUPHE	TRIPO
1.atrazine	440	97.29	95.20	95.60	97.20	97.39	96.28
2.diuron	440	99.74	98.35	99.82	99.21	98.87	98.80
3.atrazine+diuron	440+400	99.90	99.72	99.53	98.34	99.37	97.52
4. Untreated control	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

30 Days after application



60 Days after application

Figure 1 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of amicarbazone at the rate of 176 g(ai)/rai

30 Days after application

60 Days after application

Figure 2 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of atrazine at the rate of 440 g(ai)/rai

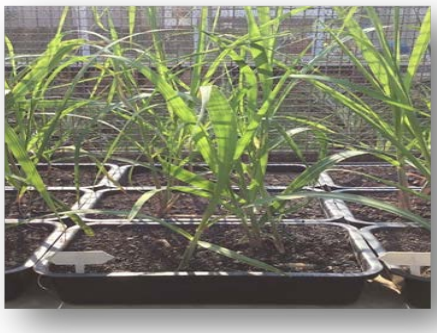
30 Days after application 60 Days after application

Figure 3 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of diclozulam at the rate of 25.2 g(ai)/rai

30 Days after application 60 Days after application

Figure 4 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of diuron at the rate of 440 g(ai)/rai

30 Days after application



60 Days after application

Figure 5 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of fumiozaxin at the rate of 30 g(ai)/rai

30 Days after application

60 Days after application

Figure 6 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of hexazinone at the rate of 202.5 g(ai)/rai

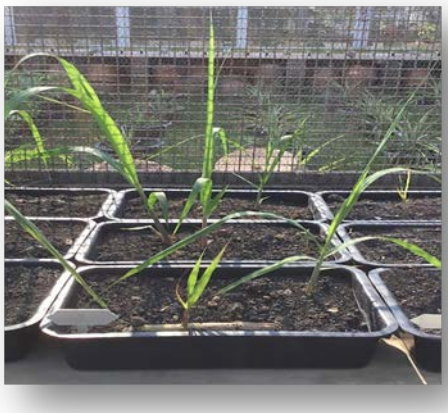
30 and 60 Days after application

Figure 7 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of imazapic at the rate of 28.8 g(ai)/rai

30 and 60 Days after application

Figure 8 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of indaziflam at the rate of 18 g(ai)/rai

30 Days after application



60 Days after application

Figure 9 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of pendimethalin at the rate of 264 g(ai)/rai

30 Days after application 60 Days after application

Figure 10 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of s-metolachlor at the rate of 288 g(ai)/rai

30 Days after application 60 Days after application

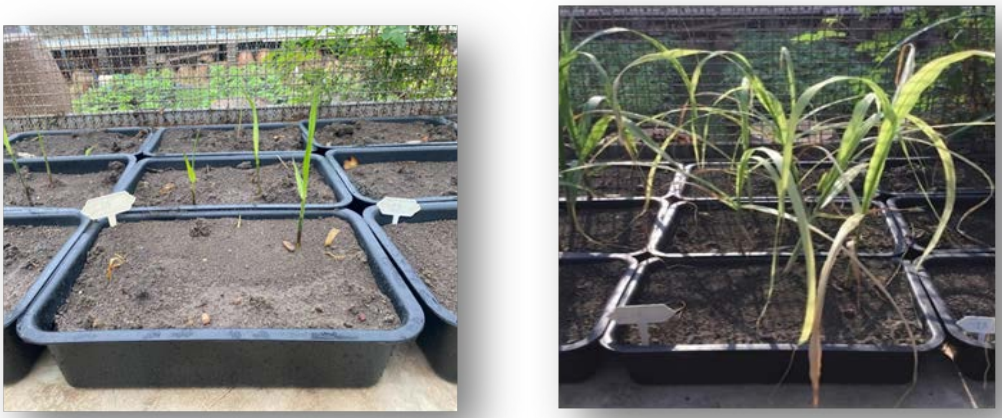
Figure 11 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of sulfentarzone at the rate of 135 g(ai)/rai

30 Days after application 60 Days after application

Figure 12 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of metribuzin at the rate of 126 g(ai)/rai

30 and 60 Days after application

Figure 13 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of pendimethalin+imazapic at the rate of 231+24 g(ai)/rai



30 and 60 Days after application

Figure 14 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of pendimethalin+amicarbazone at the rate of 231+176 g(ai)/rai

30 Days after application

60 Days after application

Figure 15 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of diuron+s-metolachlor at the rate of 360+192 g(ai)/rai

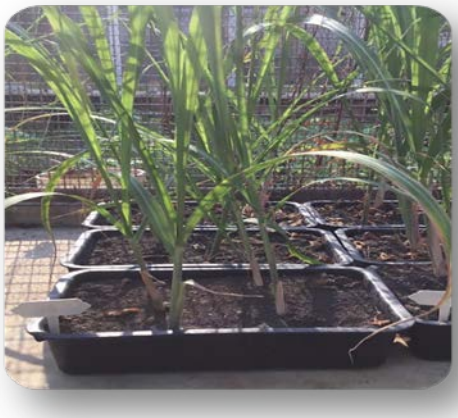
30 Days after application

60 Days after application

Figure 16 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of indaziflam+metribuzin at the rate of 14+98 g(ai)/rai

30 Days after application 60 Days after application

Figure 17 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of atrazine+diuron at the rate of 440+400 g(ai)/rai



30 and 60 Days after application

Figure 18 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of hexazinone+diuron at the rate of 330 g(ai)/rai

Figure 19 Control

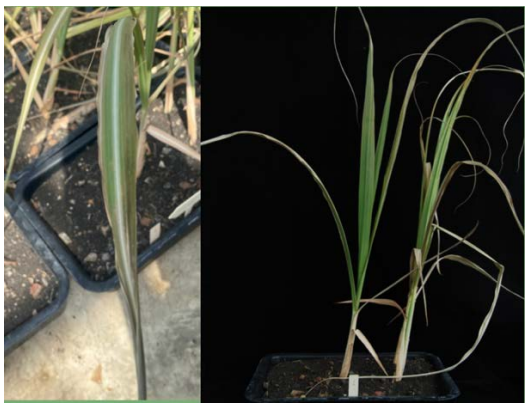


Figure 20 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of ametryn (400 g ai/rai)

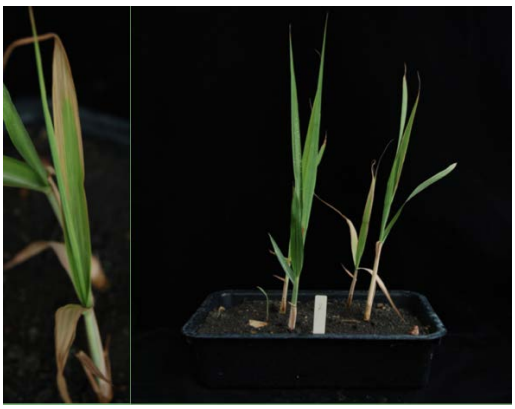


Figure 21 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of diuron (400 g ai/rai)

Figure 22 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of bromacil (400 g ai/rai)

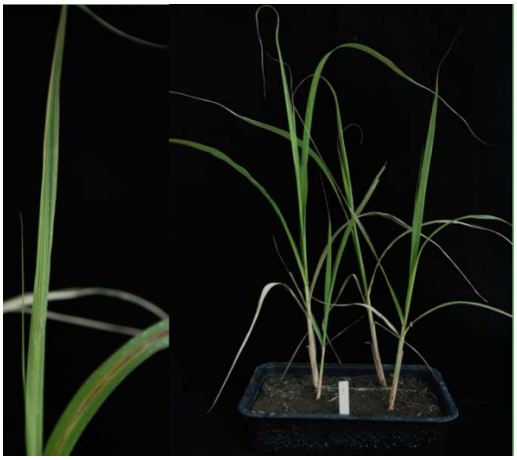


Figure 23 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of hexazinone (157.5 g ai/rai)

Figure 24 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of sulfentrazone (115.2 g ai/rai)

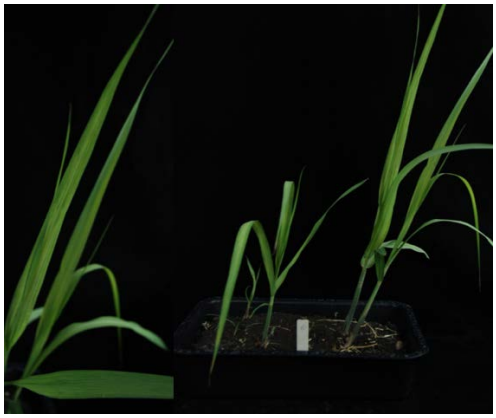


Figure 25 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of halosulfuron+ametryn (9+400 g ai/rai)

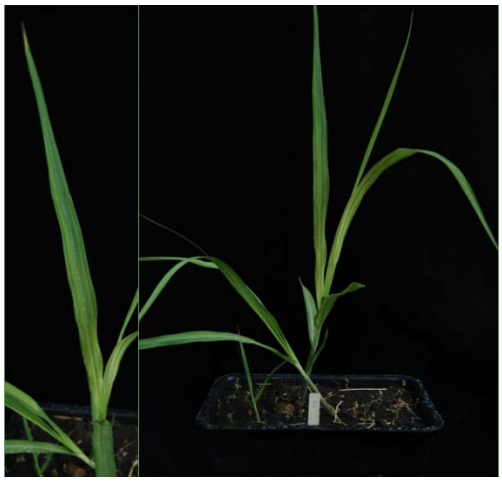


Figure 26 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of topamezone (93.52+97.5 g ai/rai)

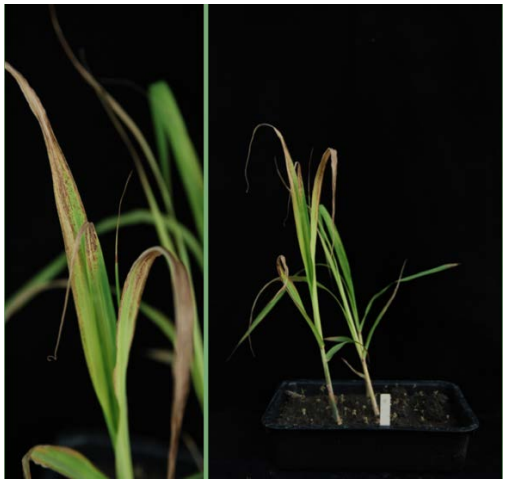


Figure 27 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of triclopyr+glufosinate+diuron (6.72+400 g ai/rai)

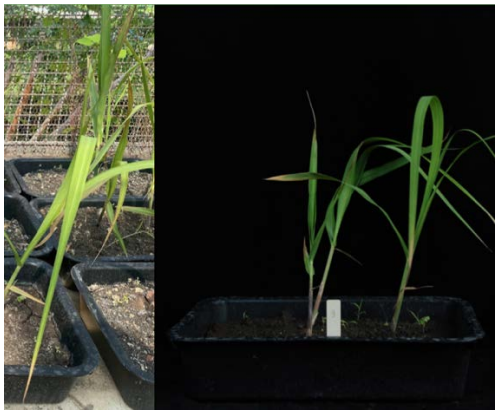


Figure 28 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of 2,4-D/picolam (30+210 g ai/rai)

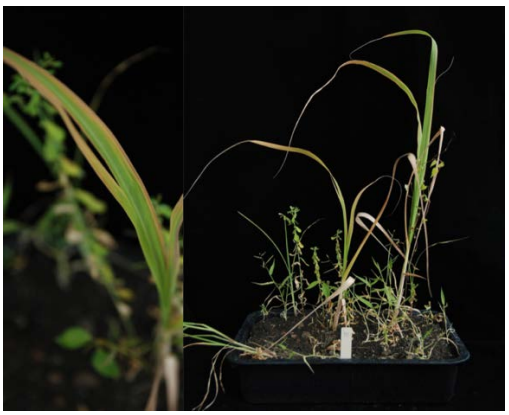


Figure 29 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of fluazifop-P-butyl EC (136.32+30 g ai/rai)

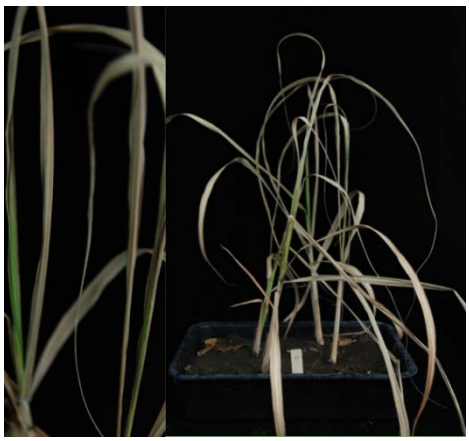


Figure 30 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of fluazifop-P-butyl +flumioxazin (30+20 g ai/rai)

Figure 31 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of glufosinate (97.5 g ai/rai)

Figure 32 Injury symptoms of sugarcane at 30 and 60 days after application of diquat (298.4 g ai/rai)

Figure 33 Control

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในมันสำปะหลัง เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย

Efficacy of alternative herbicides for control weeds in cassava

ยุรวรรณ อนันตนมณี[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[3/] อมฤต ศิริอุดม[1/] สิริชัย สาธุวิจารณ์[1/]
ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย[2/] เทิดพงษ์ มหาวงศ์[2/] อุษณีย์ จินดากุล[2/]
ปรัชญา เอกฐิน[2/] เอกรัตน์ ธนูทอง[2/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิชาการ สถาบันพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในมันสำปะหลัง เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน ตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2565 ณ โรงเรือนกลุ่มวิจัยวัชพืช ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก วางแผนการทดลองแบบ RCB 3 ซ้ำ 10 กรรมวิธี พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ไม่มีความเป็นพิษต่อมันสำปะหลัง และไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช สาบม่วง ตีนตุ๊กแก หญ้าตีนนก และหญ้าปากควาย ได้ในระดับดีจนถึงระยะ 60 วันหลังพ่นสาร ได้แก่ สารกำจัดวัชพืช acetochlor + s-metolachlor, flumioxazin +s-metolachlor, และflumioxazin + diuron ส่วนการศึกษาสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอก วางแผนการทดลองแบบ RCB 3 ซ้ำ 15 กรรมวิธี พบว่า สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมวัชพืช สาบม่วง ตีนตุ๊กแก และหญ้าตีนนก มีความปลอดภัยต่อมันสำปะหลัง ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร โดยต้นมันสำปะหลังสามารถแตกยอดใหม่ และเจริญเติบโตได้ปกติ ได้แก่ fluazifop-P-butyl 15% EC + flumioxazin 50% WP, quizalofop-P-tefuryl 4% EC + flumioxazin50% WP, clethodim 24% EC + flumioxazin 50% WP, fluazifop-P-butyl 15% EC+ diuron 80% WP และquizalofop-P-tefuryl 4% EC+ diuron 80% WP

คำหลัก : มันสำปะหลัง สารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชทางเลือก

รหัสการทดลอง FF65-11-01-65-01-02-65

คำนำ

มันสำปะหลัง เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทย ประเทศไทยมีพื้นที่เก็บเกี่ยวทั้งสิ้น 8.92 ล้านไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) สาเหตุที่เกษตรกรนิยมปลูกมันสำปะหลัง เนื่องจากปลูกง่าย ทนทานต่อสภาพแห้งแล้ง มีโรคแมลงรบกวนน้อย แต่วัชพืชเป็นศัตรูพืชที่เกษตรกรต้องพบเจอตลอดฤดูกาลปลูก และวัชพืชยังส่งผลกระทบต่อผลผลิตมันสำปะหลัง วัชพืชเป็นศัตรูสำคัญในการผลิตมันสำปะหลัง ระยะวิกฤตของวัชพืชไม่เกิน 2-3 เดือน (Dolland and Diedrahita, 1973) หากปล่อยให้วัชพืชขึ้นแข่งขันนานกว่าระยะวิกฤต จะทำให้ผลผลิตเสียหายได้ตั้งแต่ 25-100 เปอร์เซ็นต์ วิธีการจัดการวัชพืชในมันสำปะหลัง สามารถทำได้ทั้งการใช้แรงงาน เครื่องจักรกล การเขตกรรม และการใช้สารกำจัดวัชพืช (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554) แต่ในปัจจุบันแรงงานภาคเกษตรขาดแคลน มีราคาค่าจ้างสูง ทำให้ต้นทุนต่อไร่เพิ่มมากขึ้น เกษตรกรจึงหันมาใช้สารกำจัดวัชพืชเพิ่มขึ้น เนื่องจากสะดวก รวดเร็ว ประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย การศึกษาเพื่อหาสารกำจัดวัชพืชทั้งประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก และหลังวัชพืชงอกที่มีประสิทธิภาพดี และปลอดภัยต่อมันสำปะหลัง จะช่วยให้เกษตรกรมีสารทางเลือกที่สามารถใช้ทดแทนสารกำจัดวัชพืช paraquat ซึ่งเป็นสารที่เกษตรกรนิยมใช้แต่ปัจจุบันได้มีการยกเลิกการใช้ จึงส่งผลกระทบต่อการจัดการวัชพืชของเกษตรกร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้มุ่งเน้นถึงการหาสารกำจัดวัชพืชทางเลือกที่มีประสิทธิภาพ และสารมารถควบคุมวัชพืชได้ยาวนาน ลดจำนวนครั้งในการกำจัดวัชพืชของเกษตรกร ซึ่งจะสามารถช่วยให้เกษตรกรลดต้นทุนในการกำจัดวัชพืชได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดวัชพืช
2. ท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง
3. กระถางพลาสติกขนาด 25 นิ้ว
4. กระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร
5. เมล็ดวัชพืช
6. ดินปลูก
7. ถังพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (fan nozzle)

วิธีการ

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

ขั้นตอนที่ 1 ทดสอบความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกในมันสำปะหลังในสภาพเรือนทดลอง (2565)

ขั้นตอนที่ 1.1 ทดสอบความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อมันสำปะหลัง(2565)

ปลูกมันสำปะหลังลงในกระถางขนาด 25 นิ้ว โดยใช้ท่อนพันธุ์ที่มีความสมบูรณ์และขนาดใกล้เคียงกัน จำนวน 1 ท่อนต่อกระถาง จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (fan nozzle) อัตราน้ำ80 ลิตรต่อไร่

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ 10 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร acetochlor 50% EC อัตรา 300 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 2พ่นสาร s-metolachlor 96% EC อัตรา 288 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร flumioxazin 50% WP อัตรา 30 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร metribuzin 70%WP อัตรา 126 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร diuron 80% WP อัตรา 400 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร acetochlor 50% EC+ s-metolachlor 96% EC อัตรา 300+288 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร flumioxazin 50% WP+s-metolachlor 96% EC อัตรา 30+288 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 8 พ่นสาร acetochlor 50% EC+ metribuzin 70%WP อัตรา 300+126 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 9 พ่นสาร flumioxazin 50% WP+ diuron 80% WP อัตรา 30+400 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 10 ไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช

จากนั้นประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นมันสำปะหลังด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล ที่ระยะ 7, 15, 30 และ 45 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และบันทึกการเจริญเติบโต โดยวัดความสูงต้นที่ระยะ 30, 60 และ 90 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และน้ำหนักสดของมันสำปะหลังที่ระยะ 90 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชนำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 1.2 ทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (2565)

ขั้นตอนที่ 1.2.1 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นก่อนวัชพืชงอก (2565)

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 ที่ไม่เป็นพิษหรือเป็นพิษเล็กน้อยอย่างน้อย 2 ชนิด มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงมันสำปะหลัง ได้แก่ สาบม่วง กระดุมใบเล็ก คราม ขน หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก และหญ้าตีนติด มาโรยในกระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลองโดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย

4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช จากนั้นนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 1.2.2 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ (2565)

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงมันสำปะหลัง ได้แก่ สาบม่วง กระดุมใบเล็ก คราม ขน หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก และหญ้าตีนติดมาโรยในกระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลองที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

นับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และนำข้อมูลที่ได้มาได้มาคำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) และคำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index)

- คำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency, WCE) วิธีของ Mani et al. (1973) อ้างอิงจาก Singh et al. (2017)

$$WCE = \frac{WPC-WPT}{WPC} \times 100$$

WPC (Weed population in control plot) = จำนวนต้นวัชพืชในกรรมวิธีไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WPT (Weed population in treated plot) = จำนวนต้นวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

- คำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) Mishra and Tosh *et al*. (1979) อ้างอิงจาก Singh *et al*. (2017)

$$WCI = \frac{WDC-WDT}{WDC} \times 100$$

WDC (Weed dry weight in control plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WDT (Weed dry weed in treated plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

ขั้นตอนที่ 1.2.3 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ (2565)

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงมันสำปะหลัง ได้แก่ สาบม่วง กระดุมใบเล็ก คราม ขน หญ้านกสีชมพู

หญ้าตีนนก และหญ้าตีนติดมาโรยในกระบะขนาด 40x50 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลองที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

นับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และนำข้อมูลที่ได้มาได้มาคำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) และคำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index)

- คำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency, WCE) วิธีของ Mani et al. (1973) อ้างอิงจาก Singh et al. (2017)

$$WCE = \frac{WPC-WPT}{WPC} \times 100$$

WPC (Weed population in control plot) = จำนวนต้นวัชพืชในกรรมวิธีไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WPT (Weed population in treated plot) = จำนวนต้นวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

- คำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) Mishra and Tosh *et al*. (1979) อ้างอิงจาก Singh *et al*. (2017)

$$WCI = \frac{WDC-WDT}{WDC} \times 100$$

WDC (Weed dry weight in control plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WDT (Weed dry weed in treated plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกใน (2565) มันสำปะหลังในสภาพเรือนทดลอง

ขั้นตอนที่ 2.1 ทดสอบความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อมันสำปะหลัง(2565)

ปลูกมันสำปะหลังลงในกระถางขนาด 25 นิ้ว โดยใช้ท่อนพันธุ์ที่มีความสมบูรณ์และขนาดใกล้เคียงกัน จำนวน 1 ท่อนต่อกระถาง เมื่อมันสำปะหลังเจริญเติบโตจนมีอายุ 2 เดือน ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ 14 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 glufosinate 15% SL + flumioxazin 50% W	อัตรา 97.5+20 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 2 fluazifop-P-butyl 15% EC + flumioxazin 50% WP	อัตรา 30+20 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 3 quizalofop-P-tefuryl 4% EC + flumioxazin50% WP	อัตรา 16+20 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 4 cyhalofop-buthyl 10% EC + flumioxazin 50% WP อัตรา 40+20 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 5 clethodim 24% EC + flumioxazin 50% WP อัตรา 28.8+20 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 6 halozifop-R-methyl10.8% EC+ flumioxazin 50% WPอัตรา 25.92+20 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 7 propaquizalofop10% EC+ flumioxazin 50% WP อัตรา 14+20 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 8 fluazifop-P-butyl 15% EC+ diuron 80% WP อัตรา 30+400 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 9 quizalofop-P-tefuryl 4% EC+ diuron 80% WP อัตรา 16+400 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 10 cyhalofop-buthyl 10% EC+ diuron 80% WP อัตรา 40+400 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 11 clethodim24% EC+diuron 80% WP อัตรา 28.8+400 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 12 halozifop-R-methyl 10.8% EC+ diuron 80% WP อัตรา 25.92+400 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 13 propaquizalofop 10% EC+ diuron 80% WP อัตรา 14+400 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 14 glufosinate 15% SL อัตรา 97.5 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 15 ไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช

จากนั้นประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นมันสำปะหลังด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล ที่ระยะ 7, 15, 30 และ 45 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และบันทึกการเจริญเติบโต โดยวัดความสูงต้นที่ระยะ 30, 60 และ 90 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และน้ำหนักสดของมันสำปะหลังที่ระยะ 90 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชนำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>ขั้นตอนที่ 2.2 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากว่า 5 ใบ (2565)</u>

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 2.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงมันสำปะหลัง ได้แก่ ตีนตุ๊กแก หญ้าตีนนก และหญ้าปากควาย มาโรยในกระบะขนาด 40x50 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลองที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

นับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และนำข้อมูลที่ได้มาได้มาคำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) และคำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index)

- คำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency, WCE) วิธีของ Mani et al. (1973) อ้างอิงจาก Singh et al. (2017)

$$WCE = \frac{WPC-WPT}{WPC} \times 100$$

WPC (Weed population in control plot) = จำนวนต้นวัชพืชในกรรมวิธีไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช

WPT (Weed population in treated plot) = จำนวนต้นวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

- คำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) Mishra and Tosh *et al*. (1979) อ้างอิงจาก Singh *et al*. (2017)

$$WCI = \frac{WDC-WDT}{WDC} \times 100$$

WDC (Weed dry weight in control plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช

WDT (Weed dry weed in treated plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

เวลาและสถานที่

1. เรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. แปลงเกษตรกร จังหวัดกาฬสินธุ์ และนครราชสีมา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกในมันสำปะหลัง

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช

ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกหลังปลูกมันสำปะหลัง 1 วัน โดยพ่นทับท่อนมันสำปะหลัง พบว่า ที่ระยะ 7 15 30 45 และ 60 วันหลังพ่นสาร acetochlor 50% EC, S-metolachlor 96% EC, flumioxazin 50% WP, metribuzin 70%WP, diuron 80% WP, acetochlor 50% EC+ s-metolachlor 96% EC, flumioxazin 50% WP+s-metolachlor 96% EC, acetochlor 50% EC+ metribuzin 70%WPและ flumioxazin 50% WP+ diuron 80% WP ไม่พบความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีต่อต้นมันสำปะหลัง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีคะแนนจากการประเมิน 0 คะแนน ทุกระยะการประเมิน (Table 1)

การเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง (ความสูง)

วัดความสูงต้นมันสำปะหลัง ที่ระยะ 15 30 60 และ 90 วันหลังพ่นสาร พบว่า ในทุกๆ กรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืช และกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีความสูงของต้นมันสำปะหลังไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีความสูงอยู่ระหว่าง 24.0-27.6, 33.0-40.0, 53.3-61.1 และ 112.3-124.0 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 2)

ทำการเก็บผลผลิตมันสำปะหลัง โดยการชั่งน้ำหนักต้นมันสำปะหลังส่วนที่อยู่เหนือดิน ในแต่ละกรรมวิธีที่ระยะ 90 วันหลังพ่นสาร พบว่า การพ่นสาร acetochlor 50% EC, S-metolachlor 96% EC, flumioxazin 50% WP, metribuzin 70%WP, acetochlor 50% EC+ s-metolachlor 96% EC, flumioxazin 50% WP+s-metolachlor 96% EC, flumioxazin 50% WP+ diuron 80% WP และ กรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีน้ำหนักของต้นมันสำปะหลังไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 320.0-346.6 กรัมต่อต้นส่วนการพ่นสาร diuron 80% WP และ acetochlor 50% EC+ metribuzin 70%WP มีน้ำหนักต้นอยู่ระหว่าง 283.3-293.3 กรัมต่อต้นน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการพ่นสาร acetochlor 50% EC, S-metolachlor 96% EC และกรรมวิธีไม่พ่นสาร (Table 3)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก

การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก ทำการทดลองกับวัชพืช 4 ชนิด ได้แก่ สาบม่วง ตีนตุ๊กแก หญ้าตีนนก และหญ้าปากควาย พบว่า ที่ระยะ 30 และ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืช acetochlor 50% EC+s-metolachlor 96% EC, flumioxazin 50% WP+S-metolachlor 96% EC, acetochlor 50% EC+ metribuzin 70%WP และflumioxazin 50% WP+ diuron 80% WP มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชทั้ง 4 ชนิดได้ในระดับดี มีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 7-10 คะแนน (Table 4 and 5)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกพ่นที่ระยะวัชพืช 3-5 ใบ

ที่ระยะ 30 และ60วันหลังพ่นสาร ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ พบว่า สารกำจัดวัชพืช acetochlor 50% EC, flumioxazin 50% WP, metribuzin 70% WP diuron 80% WP, flumioxazin 50% WP+s-metolachlor 96% EC, acetochlor 50% EC+ metribuzin 70%WPและ flumioxazin 50% WP+ diuron 80% WP มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง ตีนตุ๊กแก ได้ในระดับเล็กน้อยถึงปานกลาง แต่ควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบได้ไม่ดี (Table 5)

ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำข้อมูลจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช มาวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) โดยเปรียบเทียบจำนวนต้นของวัชพืชของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร และวิเคราะห์หาค่าดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) โดยใช้น้ำแห้งของวัชพืชแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชในแต่ละชนิดของวัชพืช พบว่า ทุกกรรมวิธีมีค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช และดัชนีการควบคุมวัชพืช 0-75 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้วยสายตา ที่มีคะแนนในการประเมินอยู่ระหว่าง 0-6 คะแนน อยู่ในระดับเล็กน้อยถึงปานกลาง (Table 6)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกพ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ

ที่ระยะ 30 และ60วันหลังพ่นสาร ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ พบว่า การพ่นสาร acetochlor 50% EC, S-metolachlor 96% EC, flumioxazin 50% WP, metribuzin 70%WP, diuron 80% WP, acetochlor 50% EC+ s-metolachlor 96% EC, flumioxazin 50% WP+s-metolachlor 96% EC, acetochlor 50% EC+ metribuzin 70%WPและ flumioxazin 50% WP+ diuron 80% WP ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้ (Table 7)

ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำข้อมูลจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช มาวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) โดยเปรียบเทียบจำนวนต้นของวัชพืชของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร และวิเคราะห์หาค่าดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) โดยใช้น้ำแห้งของวัชพืชแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชในแต่ละชนิดของวัชพืช พบว่า ทุกกรรมวิธีค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชและดัชนีการควบคุมวัชพืช 0-20 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้วยสายตา คะแนนในการประเมินอยู่ที่ 0 คะแนน อยู่ในระดับที่ม่สามารถควบคุมวัชพืชได้ (Table 8)

สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกในมันสำปะหลัง

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช

ที่ระยะ 7 และ15 วันหลังพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร quizalofop-P-tefuryl 4% EC+ diuron 80% WP และ clethodim 24% EC+ diuron 80% WP มีความเป็นพิษต่อมันสำปะหลังในระดับเล็กน้อย

ส่วน glufosinate 15% SL + flumioxazin 50% WP, cyhalofop-buthyl 10% EC + flumioxazin 50% WP, halozifop-R-methyl10.8% EC + flumioxazin 50% WP, propaquizalofop10% EC+ flumioxazin 50% WP และ fluazifop-P-butyl 15% EC+ diuron 80% WP มีความเป็นพิษรุนแรงต่อมันสำปะหลัง มีคะแนนอยู่ระหว่าง 7-8 คะแนน ที่ระยะ 15 วัน ความเป็นพิษลดลงอยู่ในระดับปานกลาง ใบมันสำปะหลังที่สัมผัสสารกำจัดวัชพืชโดยตรงมีการหลุดร่วง ส่วนตามันสำปะหลังยังคงสามารถแตกยอดใหม่ ทดแทนยอดเดิมที่โดนสารกำจัดวัชพืช ยกเว้นกรรมวิธี glufosinate 15% SL + flumioxazin 50% WP ที่ยังคงมีอาการรุนแรง ส่วนกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช fluazifop-P-butyl 15% EC + flumioxazin 50% WP, quizalofop-P-tefuryl 4% EC + flumioxazin50% WP, cyhalofop-buthyl 10% EC + flumioxazin 50% WP, clethodim 24% EC + flumioxazin 50% WP, cyhalofop-buthyl 10% EC+ diuron 80% WP halozifop-R-methyl 10.8% EC+ diuron 80% WP และ propaquizalofop 10% EC+ diuron 80% WP มีความเป็นพิษต่อมันสำปะหลังในระดับปานกลาง (Table 9)

ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีความเป็นพิษอยู่ในระดับเล็กน้อย ยกเว้นกรรมวิธี glufosinate 15% SL + flumioxazin 50% WP ที่ยังคงมีความเป็นพิษในระดับรุนแรง ส่วนที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ทุกกรรมวิธีไม่พบความเป็นพิษต่อมันสำปะหลัง (Table 9)

ภาพที่ 1 อาการเป็นพิษของมันสำปะหลังในกรรมวิธีพ่นสาร glufosinate 15% SL + flumioxazin 50% WP โดยการพ่นสัมผัสโดนต้นโดยตรง ที่ระยะ 7(A) 30(B) และ60(C) วันหลังพ่นสาร

การเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง (ความสูง)

ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า กรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช fluazifop-P-butyl 15% EC + flumioxazin 50% WP, propaquizalofop 10% EC+ diuron 80% WP และกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีความสูงของต้นมันสำปะหลังอยู่ระหว่าง 65.0-68.3 เซนติเมตร มากว่าแต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืชอื่นๆ ที่มีควาวสูงอยู่ระหว่าง 46.6-63.3 เซนติเมตร ส่วนกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% SL + flumioxazin 50% WP มีความสูงอยู่ที่ 35.0 เซนติเมตร น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกๆกรรมวิธี ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร quizalofop-P-tefuryl 4% EC+ diuron 80% WP มีความสูงต้นมันสำปะหลัง 113.3 เซนติเมตร ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืช และกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร มีความสูงต้นมันสำปะหลัง อยู่ระหว่าง 76.6-113.3 เซนติเมตรมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการพ่นสาร glufosinate 15% SL + flumioxazin 50% WP ที่มีความสูง 41.6 เซนติเมตร ความสูงที่ระยะ 90 วันหลังพ่นสาร พบว่า การพ่นสาร cyhalofop-buthyl 10% EC + flumioxazin 50%, fluazifop-P-butyl 15% EC+ diuron 80% WP, quizalofop-P-tefuryl 4% EC+ diuron 80% WP, cyhalofop-buthyl 10% EC +diuron 80%WP, halozifop-R-methyl 10.8% EC+ diuron 80% WP และ propaquizalofop 10% EC+ diuron 80% WP และ glufosinate 15% SL มีความสูงอยู่ระหว่าง 100.3-116.0 เซติเมตรไม่แตกต่างกันทางสถิติ และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืชและกรรมวิธีไม่พ่นสารมีความสูงมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการพ่นสาร glufosinate 15% SL + flumioxazin 50% WP ที่มีความสูง 53.3 เซนติเมตร (Table 10)

ทำการเก็บผลผลิตมันสำปะหลัง โดยการชั่งน้ำหนักต้นมันสำปะหลังส่วนที่อยู่เหนือดิน ในแต่ละกรรมวิธีที่ระยะ 90 วันหลังพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีน้ำหนักต้น 336.5 กรัม มากกว่าแต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธี พ่นสาร fluazifop-P-butyl 15% EC + flumioxazin 50% WP, quizalofop-P-tefuryl 4% EC + flumioxazin50% WP, quizalofop-P-tefuryl 4% EC+ diuron 80% WP, cyhalofop-buthyl 10% EC +diuron 80%WP ทุกกรรมวิธีมีน้ำหนักต้นมันสำปะหลังมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการพ่นสาร glufosinate 15% SL + flumioxazin 50% WP ที่มีน้ำหนักต้น 85.0 กรัม (Table 10)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ

ที่ระยะ 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ glufosinate 15% SL + flumioxazin 50% WP, fluazifop-P-butyl 15% EC + flumioxazin 50% WP, quizalofop-P-tefuryl 4% EC + flumioxazin50% WP, clethodim 24% EC + flumioxazin 50% WP, fluazifop-P-butyl 15% EC+ diuron 80% WP, quizalofop-P-tefuryl 4% EC+ diuron 80% WP และ glufosinate 15% SL มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช ได้แก่ สาบม่วง ตีนตุ๊กแก และหญ้าตีนนก ได้ในระดับดีถึงสมบูรณ์ มีคะแนนที่ได้จากการประเมิน อยู่ระหว่าง 8-10 คะแนน (Table 11 and 12)

สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอก ที่มีความปลอดภัยต่อมันสำปะหลังที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร โดยพบว่า มันสำปะหลังแตกตาใหม่ เจริญเป็นยอดใหม่ได้ปกติ มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ในระดับดี ได้แก่ fluazifop-P-butyl 15% EC + flumioxazin 50% WP, quizalofop-P-tefuryl 4% EC + flumioxazin50% WP, clethodim 24% EC + flumioxazin 50% WP, fluazifop-P-butyl 15% EC+ diuron 80% WP และquizalofop-P-tefuryl 4% EC+ diuron 80% WP

ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำข้อมูลจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช มาวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) โดยเปรียบเทียบจำนวนต้นของวัชพืชของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร และวิเคราะห์หาค่าดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) โดยใช้น้ำแห้งของวัชพืชแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชในแต่ละชนิดของวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% SL + flumioxazin 50% WP, fluazifop-P-butyl 15% EC + flumioxazin 50% WP, quizalofop-P-tefuryl 4% EC + flumioxazin50% WP,clethodim 24% EC + flumioxazin 50% WP, fluazifop-P-butyl 15% EC+ diuron 80% WP และquizalofop-P-tefuryl 4% EC+ diuron 80% WP และ glufosinate 15% SL ค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช และดัชนีการควบคุม

วัชพืช 83-100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้วยสายตา ที่มีคะแนนในการประเมินอยู่ระหว่าง 8-10 คะแนน อยู่ในระดับดีถึงสมบูรณ์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมวัชพืช ไม่มีความเป็นพิษต่อมันสำปะหลัง และไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และผลผลิต ได้แก่ สารกำจัดวัชพืช acetochlor 50% EC+ s-metolachlor 96% EC, flumioxazin 50% WP+s-metolachlor 96% EC, และflumioxazin 50% WP+ diuron 80% WP มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช สาบม่วง ตีนตุ๊กแก หญ้าตีนนก และหญ้าปากควาย ได้ในระดับดีจนถึงระยะ 60 วันหลังพ่นสาร

2. สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกมีไม่สามารถควบคุมวัชพืชที่ระยะ 3-5 ใบ และระยะมากกว่า 5 ใบได้ แต่ควบคุมวัชพืชในระยะก่อนงอกได้ดี

3. สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอก ที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมวัชพืช สาบม่วง ตีนตุ๊กแก และหญ้าตีนนก และมีความปลอดภัยต่อมันสำปะหลัง ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร โดยต้นมันสำปะหลังสามารถแตกยอดใหม่ และเจริญเติบโตได้ปกติ ได้แก่ fluazifop-P-butyl 15% EC + flumioxazin 50% WP, quizalofop-P-tefuryl 4% EC + flumioxazin50% WP, clethodim 24% EC + flumioxazin 50% WP, fluazifop-P-butyl 15% EC+ diuron 80% WP และ quizalofop-P-tefuryl 4% EC+ diuron 80% WP

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 61-63 หน้า.

จรรยา มณีโชติ ยุรวรรณ อนันตนมณี โสภิศ ใจปาละ วันทนา เลิศศิริวรกุล จารุณี ตีสวัสดิ์ อภิชาติ เมืองซอง สุพัตรา ชาวกงจักร์ และ ลักขณา ร่มเย็น. 2556 การจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในมันสำปะหลัง. ในผลงานวิจัยประจำปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เล่มที่ 1 หน้า 90-96.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2559: เอกสารสถิติการเกษตร. มีนาคม 2560. สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 232 น.

Doll, J.D. and Piedrahita, 1973. W.C. Effect of time of weeding and plant population on growth and yield of cassava. In Proceedings of the 3rd International Symposium International Society for Tropical Root Crops. Ibadan, Nigeria 2-9 December 1973. pp. 399-405.

Table 1 Phytotoxic of pre-emergence herbicide on cassava at 7 15 30 45 and 60 days after application in green house condition

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Phytotoxic of herbicide (days after application)				
			7	15	30	45	60
1	acetochlor 50% EC	300	0	0	0	0	0
2	s-metolachlor 96% EC	288	0	0	0	0	0
3	flumioxazin 50% WP	30	0	0	0	0	0
4	metribuzin 70%WP	126	0	0	0	0	0
5	diuron 80% WP	400	0	0	0	0	0
6	acetochlor 50% EC+ s-metolachlor 96% EC	300+288	0	0	0	0	0
7	flumioxazin 50% WP+s-metolachlor 96% EC	30+288	0	0	0	0	0
8	acetochlor 50% EC+ metribuzin 70%WP	300+126	0	0	0	0	0
9	flumioxazin 50% WP+ diuron 80% WP	30+400	0	0	0	0	0
10	UTC	-	0	0	0	0	0

Phytotoxic 0 = normal, 1-3 = slightly toxic, 4-6 = moderately toxic, 7-9 = severely toxic, 10 = completely kill

Table 2 Hight of cassava (cm) at 15 30 60 and 90 days after application in green house condition

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	15 DAA*	30 DAA	60 DAA	90 DAA
1	acetochlor 50% EC	300	24.0 a [1/]	35.0 a	55.0 a	116.6 a
2	s-metolachlor 96% EC	288	24.3 a	35.0 a	55.0 a	116.6 a
3	flumioxazin 50% WP	30	26.3 a	40.0 a	61.7 a	117.3 a
4	metribuzin 70%WP	126	25.3 a	38.3 a	53.3 a	112.3 a
5	diuron 80% WP	400	24.5 a	35.0 a	53.3 a	113.3 a
6	acetochlor 50% EC+ s-metolachlor 96% EC	300+288	24.3 a	33.3 a	51.7 a	118.3 a
7	flumioxazin 50% WP+s-metolachlor 96% EC	30+288	26.0 a	35.0 a	58.3 a	114.0 a
8	acetochlor 50% EC+ metribuzin 70%WP	300+126	26.3 a	35.0 a	55.0 a	116.3 a
9	flumioxazin 50% WP+ diuron 80% WP	30+400	27.0 a	36.0 a	60.0 a	121.6 a
10	UTC		27.6 a	35.0 a	55.0 a	124.0 a
	C.V.%		8.42	13.47	10.57	11.07

*DAA = Days after application

[1/] Number followed by the same letter or no letter in a column are not significantly different at the 0.05 according to Duncan's test.

Table 3 Weight of cassava plant at 90 days after application in green house condition

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Weight of plant (g/plant)
1	acetochlor	300	343.3 a
2	s-metolachlor	288	340.0 a
3	flumioxazin	30	336.6 ab
4	metribuzin	126	336.7 ab
5	diuron	400	293.3 b
6	acetochlor + s-metolachlor	300+288	320.0 ab
7	flumioxazin +s-metolachlor	30+288	333.0 ab
8	acetochlor + metribuzin	300+126	283.3 b
9	flumioxazin + diuron	30+400	320.0 ab
10	UTC		346.6 a
	C.V.%		13.24

Table 4 Efficacy of pre-emergence herbicide for control weed in cassava at 30 days after application in green house condition

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of pre-emergence at 30 DAA				Efficacy of pre-emergence at 60 DAA			
			Prax	*Trid*	*Digi*	*Dact*	*Prax*	*Trid*	*Digi*	*Dact*
1	acetochlor	300	5	6	10	10	3	3	7	6
2	s-metolachlor	288	4	0	3	6	2	0	0	2
3	flumioxazin	30	9	9	6	6	8	8	4	4
4	metribuzin	126	8	6	0	0	7	5	0	0
5	diuron	400	5	4	3	3	3	2	1	1
6	acetochlor + s-metolachlor	300+288	8	7	9	10	7	7	7	8
7	flumioxazin +s-metolachlor	30+288	9	9	9	10	9	8	9	9
8	acetochlor + metribuzin	300+126	8	8	10	10	7	7	8	9
9	flumioxazin + diuron	30+400	10	9	9	10	9	7	7	7
10	UTC		0	0	0	0	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Prax= Praxelis clematidea (Griseb.) R. M. King & H. Rob., *Trid=Tridax procumbens* (L.) L., *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Dact=Dactyloctenium aegyptium* (L.) P.Beauv

Table 5 Efficacy of pre-emergence herbicide for control weed at 3-5 leaves stage in cassava at 30 days after application in green house condition

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of pre-emergence at 30 DAA				Efficacy of pre-emergence at 60 DAA			
			Prax	*Trid*	*Digi*	*Dact*	*Prax*	*Trid*	*Digi*	*Dact*
1	acetochlor	300	3	1	0	0	2	1	0	0
2	s-metolachlor	288	0	0	0	0	0	0	0	0
3	flumioxazin	30	8	6	0	0	6	5	0	0
4	metribuzin	126	2	3	1	0	2	2	0	0
5	diuron	400	4	3	0	0	3	3	0	0
6	acetochlor + s-metolachlor	300+288	1	0	0	0	1	0	0	0
7	flumioxazin +s-metolachlor	30+288	4	3	1	2	4	2	0	0
8	acetochlor + metribuzin	300+126	2	1	0	0	1	1	0	0
9	flumioxazin + diuron	30+400	6	3	2	2	5	3	1	1
10	UTC	-	0	0	0	0	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Prax= Praxelis clematidea (Griseb.) R. M. King & H. Rob., *Trid=Tridax procumbens* (L.) L., *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Dact=Dactyloctenium aegyptium* (L.) P.Beauv

Table 6 Weed control efficacy and weed control index at 3-5 leaf stage, 60 days after application in green house

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control							
			Prax		*Trid*		*Digi*		*Dact*	
			weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index
1	acetochlor	300	21	39	4	5	2	3	2	32
2	s-metolachlor	288	2	4	0	2	0	1	4	28
3	flumioxazin	30	75	61	38	37	4	23	0	45
4	metribuzin	126	58	35	18	51	2	9	7	28
5	diuron	400	17	9	11	29	2	8	7	30
6	acetochlor + s-metolachlor	300+288	6	11	69	64	4	5	11	26
7	flumioxazin +s-metolachlor	30+288	67	63	16	59	2	6	4	31
8	acetochlor + metribuzin	300+126	8	39	4	15	6	4	2	30
9	flumioxazin + diuron	30+400	27	48	13	29	4	11	4	29
10	UTC	-	0	0	0	0	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Prax= Praxelis clematidea (Griseb.) R. M. King & H. Rob., *Trid=Tridax procumbens* (L.) L., *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Dact=Dactyloctenium aegyptium* (L.) P.Beauv

Table 7 Efficacy of pre-emergence herbicide for control weed at more 5 leaves stage in cassava at 30 days after application in green house condition

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of pre-emergence at 30 DAA				Efficacy of pre-emergence at 60 DAA			
			Prax	*Trid*	*Digi*	*Dact*	*Prax*	*Trid*	*Digi*	*Dact*
1	acetochlor	300	0	0	0	0	0	0	0	0
2	s-metolachlor	288	0	0	0	0	0	0	0	0
3	flumioxazin	30	0	0	0	0	0	0	0	0
4	metribuzin	126	0	0	0	0	0	0	0	0
5	diuron	400	0	0	0	0	0	0	0	0
6	acetochlor + s-metolachlor	300+288	0	0	0	0	0	0	0	0
7	flumioxazin +s-metolachlor	30+288	0	0	0	0	0	0	0	0
8	acetochlor + metribuzin	300+126	0	0	0	0	0	0	0	0
9	flumioxazin + diuron	30+400	0	0	0	0	0	0	0	0
10	UTC	-	0	0	0	0	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Prax= Praxelis clematidea (Griseb.) R. M. King & H. Rob., *Trid=Tridax procumbens* (L.) L., *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Dact=Dactyloctenium aegyptium* (L.) P.Beauv

Table 8 Weed control efficacy and weed control index at more 5leaf stage, 60 days after application in green house

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control							
			Prax		*Trid*		*Digi*		*Dact*	
			weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index
1	acetochlor	300	6	10	4	5	6	16	0	2
2	s-metolachlor	288	2	4	6	5	10	9	2	9
3	flumioxazin	30	6	5	8	8	10	8	2	9
4	metribuzin	126	4	4	4	4	2	7	6	7
5	diuron	400	2	12	2	8	8	6	4	10
6	acetochlor + s-metolachlor	300+288	4	8	4	1	4	9	2	9
7	flumioxazin +s-metolachlor	30+288	0	4	4	4	6	8	4	5
8	acetochlor + metribuzin	300+126	2	12	6	8	8	12	6	7
9	flumioxazin + diuron	30+400	4	20	8	3	6	10	4	4
10	UTC	-	0	0	0	0	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Prax= Praxelis clematidea (Griseb.) R. M. King & H. Rob., *Trid=Tridax procumbens* (L.) L., *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.,

Dact=Dactyloctenium aegyptium (L.) P.Beauv

Table 9 Phytotoxic of post-emergence herbicide on cassava at 7 15 30 and 60 days after application in green house condition

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Phytotoxic of herbicide (days after application)				
			7 DAA*	15 DAA	30 DAA	45 DAA	60 DAA
1	glufosinate + flumioxazin	97.5+20	8	9	4	0	0
2	fluazifop-P-butyl + flumioxazin	30+20	5	5	0	0	0
3	quizalofop-P-tefuryl + flumioxazin	16+20	6	5	0	0	0
4	cyhalofop-buthyl + flumioxazin	40+20	7	5	0	0	0
5	clethodim + flumioxazin	28.8+20	6	5	0	0	0
6	halozifop-R-methyl EC + flumioxazin	25.92+20	8	5	0	0	0
7	propaquizalofop + flumioxazin	14+20	8	6	0	0	0
8	fluazifop-P-butyl + diuron	30+40	7	3	0	0	0
9	quizalofop-P-tefuryl + diuron	16+400	2	1	0	0	0
10	cyhalofop-buthyl + diuron	40+400	6	5	0	0	0
11	clethodim + diuron	28.8+400	3	2	0	0	0
12	halozifop-R-methyl + diuron	25.92+400	4	3	0	0	0
13	propaquizalofop + diuron	14+400	4	4	0	0	0
14	glufosinate	105	5	6	0	0	0
15	UTC		0	0	0	0	0

Phytotoxic 0 = normal, 1-3 = slightly toxic, 4-6 = moderately toxic, 7-9 = severely toxic, 10 = completely kill *DAA=Day after application

Table 10 Hight of cassava (cm) at 30 60 and 90 days and yield (weight of cassava plant) after application in green house condition

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Hight (cm.)			Weight of plant (g/plant)
			30 DAA	60 DAA	90 DAA	
1	glufosinate + flumioxazin	97.5+20	35.0 c[1/]	41.6 c	53.3 c	85.0 d
2	fluazifop-P-butyl + flumioxazin	30+20	68.3 a	92.3 ab	96.5 b	300.0 ab
3	quizalofop-P-tefuryl + flumioxazin	16+20	56.6 ab	88.3 ab	90.6 b	303.0 ab
4	cyhalofop-buthyl + flumioxazin	40+20	58.3 ab	105.0 ab	109.0 ab	283.3 b
5	clethodim + flumioxazin	28.8+20	58.3 ab	86.6 ab	90.0 b	288.0 b
6	halozifop-R-methyl EC + flumioxazin	25.92+20	51.6 ab	93.3 ab	95.3 b	276.5 b
7	Propaquizalofop + flumioxazin	14+20	46.6 ab	85.6 ab	87.0 b	295.5 b
8	fluazifop-P-butyl + diuron	30+40	56.6 ab	100.0 ab	107.3 ab	273.3 b
9	quizalofop-P-tefuryl + diuron	16+400	63.3 ab	113.3 a	116.0 a	303.0 ab
10	cyhalofop-buthyl + diuron	40+400	55.0 ab	97.3 ab	100.5 ab	300.0 ab
11	clethodim + diuron	28.8+400	53.3 ab	76.6 b	85.0 b	226.0 c
12	halozifop-R-methyl + diuron	25.92+400	63.3 ab	105.0 ab	108.5 ab	293.5 b
13	propaquizalofop + diuron 80% WP	14+400	65.0 a	98.3 ab	100.3 ab	288.0 b
14	glufosinate	105	63.0 ab	95.0 ab	105.0 ab	193.5 c
15	UTC	-	65.0 a	105.0 ab	109.5 ab	336.5 a
	C.V.%		23.24	18.25	5.09	8.36

[1/] Number followed by the same letter or no letter in a column are not significantly different at the 0.05 according to Duncan's test *DAA=Day after application

Table 11 Efficacy of post-emergence herbicide for control weed over all at more 5 leaves stage in cassava at 30 and 60 days after application in green house condition

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of post-emergence	
			30 DAA*	60 DAA
1	glufosinate + flumioxazin	97.5+20	10	10
2	fluazifop-P-butyl + flumioxazin	30+20	9	10
3	quizalofop-P-tefuryl + flumioxazin	16+20	9	10
4	cyhalofop-buthyl + flumioxazin	40+20	5	6
5	clethodim + flumioxazin	28.8+20	10	10
6	halozifop-R-methyl EC + flumioxazin	25.92+20	6	5
7	Propaquizalofop + flumioxazin	14+20	6	5
8	fluazifop-P-butyl + diuron	30+40	9	10
9	quizalofop-P-tefuryl + diuron	16+400	10	10
10	cyhalofop-buthyl + diuron	40+400	5	5
11	clethodim + diuron	28.8+400	6	5
12	halozifop-R-methyl + diuron	25.92+400	6	5
13	propaquizalofop + diuron 80% WP	14+400	5	5
14	glufosinate	105	9	9
15	UTC	-	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control *DAA=Day after application

Table 12 Efficacy of post-emergence herbicide for control weed at more 5 leaves stage at 30 and 60 days after application in green house

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	30 DAA			60 DAA		
			Prax	*Trid*	*Digi*	*Prax*	*Trid*	*Digi*
1	glufosinate + flumioxazin	97.5+20	10	10	10	10	10	10
2	fluazifop-P-butyl + flumioxazin	30+20	10	9	10	10	10	10
3	quizalofop-P-tefuryl + flumioxazin	16+20	10	9	10	10	10	10
4	cyhalofop-buthyl + flumioxazin	40+20	8	6	4	6	5	4
5	clethodim + flumioxazin	28.8+20	10	10	10	10	10	10
6	halozifop-R-methyl EC + flumioxazin	25.92+20	7	6	6	7	6	5
7	Propaquizalofop + flumioxazin	14+20	6	6	6	5	5	5
8	fluazifop-P-butyl + diuron	30+40	9	10	10	8	10	10
9	quizalofop-P-tefuryl + diuron	16+400	10	10	10	10	10	10
10	cyhalofop-buthyl + diuron	40+400	5	6	6	5	5	4
11	clethodim + diuron	28.8+400	10	6	5	10	5	4
12	halozifop-R-methyl + diuron	25.92+400	6	6	6	6	6	6
13	propaquizalofop + diuron 80% WP	14+400	6	6	6	6	6	6
14	glufosinate	105	10	9	10	10	8	10
15	UTC	-	0	0	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Prax= Praxelis clematidea (Griseb.) R. M. King & H. Rob., *Trid=Tridax procumbens* (L.) L., *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.

Table 13 Weed control efficacy and weed control index at more 5 leaves stage, 60 days after application in green house

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control					
			Prax		*Trid*		*Digi*	
			weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index
1	glufosinate + flumioxazin	97.5+20	100	100	100	100	100	100
2	fluazifop-P-butyl + flumioxazin	30+20	100	100	100	100	100	100
3	quizalofop-P-tefuryl + flumioxazin	16+20	100	100	100	100	100	100
4	cyhalofop-buthyl + flumioxazin	40+20	50	47	50	36	51	37
5	clethodim + flumioxazin	28.8+20	100	100	100	100	100	100
6	halozifop-R-methyl EC + flumioxazin	25.92+20	67	67	60	52	57	40
7	Propaquizalofop + flumioxazin	14+20	46	55	50	41	53	38
8	fluazifop-P-butyl + diuron	30+40	83	89	100	100	100	100
9	quizalofop-P-tefuryl + diuron	16+400	100	100	100	100	100	100
10	cyhalofop-buthyl + diuron	40+400	54	74	58	40	45	32
11	clethodim + diuron	28.8+400	100	100	44	32	36	21
12	halozifop-R-methyl + diuron	25.92+400	58	90	58	39	60	45
13	propaquizalofop + diuron 80% WP	14+400	42	59	48	35	43	28
14	glufosinate	105	100	100	88	91	100	100
15	UTC	-	0	0	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Prax= Praxelis clematidea (Griseb.) R. M. King & H. Rob., *Trid=Tridax procumbens* (L.) L., *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในผักกาดขาวปลี เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย

Study the efficacy of pre-planting herbicides in Chinese cabbage to be alternative substance and produce safe plants

เทอดพงษ์ มหาวงศ์[2/] ยุรวรรณ อนันตนมณี[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[3/] อมฤต ศิริอุดม[1/]
สิริชัย สาธุวิจารณ์[1/] ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย[2/] อุษณีย์ จินดากุล[2/]
ปรัชญา เอกฐิน[2/] เอกรัตน์ ธนูทอง[2/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในผักกาดขาวปลี เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน ตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2565 ณ โรงเรือนกลุ่มวิจัยวัชพืช โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 12 กรรมวิธี เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อผักกาดขาวปลี ที่ลงปลูกหลังพ่นสารที่ระยะ 3, 7, 10 และ 14 วัน พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่อผักกาดขาวปลี สามารถปลูกผักกาดขาวปลีหลังพ่นสารที่ระยะ 7, 10 และ14 วัน และมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืช ได้แก่ หญ้าดอกขาว หญ้าตีนนก ผักเบี้ยใหญ่ และผักเบี้ยหินได้ในระดับดีจนถึงสมบูรณ์ ได้แก่ flumioxazin, flumioxazin + fluazifop-P-butyl, flumioxazin +quizalofop, topamezone + metribuzin, topamezone + sulfentrazone และ glufosinate หากต้องการลงปลูกผักกาดขาวปลีที่ระยะ 3 วันหลังพ่นสารไม่ควรใช้ flumioxazin, flumioxazin + fluazifop-P-butyl, flumioxazin + quizalofop เนื่องจากมีความเป็นพิษต่อผักกาดขาวปลี

คำหลัก : สารทางเลือก ผักกาดขาวปลี

รหัสการทดลอง FF65-11-02-65-01-01-65

คำนำ

ผักกาดขาวปลี เป็นพืชผักที่เกษตรกรนิยมปลูก เนื่องจากเป็นพืชอายุสั้น ให้ผลผลิตเร็ว 40-45 วันสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตสู่ตลาดได้ นอกจากนี้ยังปลูกติดต่อกันได้ตลอดทั้งปี โดยมีพื้นที่เพาะปลูกอยู่ประมาณ 39,831 ไร่ ปลูกมากในพื้นที่ภาคเหนือ และภาคกลาง ในการปลูกผักกาดขาวปลี โดยทั่วไปเกษตรกรจะทำการปรับหน้าดิน และกำจัดวัชพืชก่อนปลูก อาจใช้การถางหญ้า แต่ด้วยค่าแรงที่เพิ่มขึ้นและแรงงานหายาก เกษตรกรจึงนิยมใช้สารกำจัดวัชพืช เช่น paraquat และglyphosate พ่นทิ้งไว้ 1-2 สัปดาห์ เพื่อกำจัดวัชพืช และเศษซากพืชที่หลงเหลือในแปลงก่อนปลูกผัก เมื่อวัชพืชตายดี จึงทำการปรับหน้าดิน เพื่อหยอดเมล็ดในแปลง ซึ่งการจัดการวัชพืชด้วยวิธีดังกล่าวนั้น ทำให้เกษตรกรลดต้นทุนในการจัดการแปลง แต่ในปัจจุบันประเทศไทยได้มีประกาศยกเลิกการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat และจำกัดการใช้สารglyphosate ในพืชผัก จึงส่งผลกระทบต่อวิธีการจัดการวัชพืชในระบบการผลิตพืชของเกษตรกร ด้วยเหตุนี้ จึงจำเป็นอย่างยิ่ง ที่จะต้องศึกษาหาสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพ เพื่อเป็นสารกำจัดวัชพืชทางเลือกให้กับเกษตรกรได้เลือกใช้ควบคู่กับวิธีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน ระหว่างการใช้สารกำจัดวัชพืช ร่วมกับวิธีเขตกรรม และเครื่องจักรกลการเกษตร เพื่อช่วยเพิ่มศักยภาพในการจัดการวัชพืช ลดปริมาณการใช้สารกำจัดวัชพืชต่อฤดูปลูก เป็นวิธีกำจัดวัชพืชที่เหมาะสม ช่วยลดต้นทุนในการจัดการวัชพืช และเกษตรกรสามารถผลิตพืชผักที่ปลอดภัยสำหรับบริโภคภายในประเทศ และการผลิตเพื่อส่งออก ส่งผลให้ประชาชนทุกภาคส่วนมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, oxyfluorfen 23.5% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG, sulfentrazone70% WG, flumioxazin 50% WP, topamezone 33.6% SC, metribuzin 70% WP, fluazifop-P-butyl 15% EC, haloxyfop-R-methyl 10.8% EC และ glufosinate 15% SL
2. เมล็ดพันธุ์ผักผักกาดขาวปลี
3. กระบะ ขนาด 60x70 เซนติเมตร
4. เมล็ดวัชพืช
5. ดินปลูก
6. ถังพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (fan nozzle)

วิธีการ

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

ขั้นตอนที่ 1 ทดสอบความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในสภาพเรือนทดลอง (2565)

ขั้นตอนที่ 1.1 ทดสอบความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อผักกาดขาวปลี (2565)

นำดินปลูกใส่กระบะ ขนาด 60x70 เซนติเมตร แล้วพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (fan nozzle) อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ 12 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร oxadiazon 25% EC อัตรา 120 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร oxyfluorfen 23.5% EC อัตรา 47 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร pendimethalin 33% EC อัตรา 297 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร carfentrazone 40% WG อัตรา 20 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร sulfentrazone70% WG อัตรา 35 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร flumioxazin 50% WP อัตรา 35 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP อัตรา 6.72+56 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 8 พ่นสาร topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG อัตรา 6.72+30 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 9 พ่นสาร flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC อัตรา 10+20 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 10 พ่นสารflumioxazin 50% WP +quizalofop5% EC อัตรา 10+14 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 11 พ่นสาร glufosinate 15% SL อัตรา 105 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 12 ไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช

จากนั้นปลูกผักกาดขาวปลี 20 เมล็ดต่อกระบะ ที่ระยะ 3, 7 10 และ 14 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นผักกาดขาวปลี ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล ที่ระยะ 7, 15, 30 และ 45 วันหลังปลูก และบันทึกการเจริญเติบโต โดยนับจำนวนใบ และน้ำหนักสด ที่ระยะ 45 วันหลังปลูก นำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 1.2 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ (2565)

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงผัก เช่น ผักเบี้ยหิน ผักโขม หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก มาโรยในกระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ 1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัด

วัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง ที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

จากนั้นนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>ขั้นตอนที่ 1.3 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ (2565)</u>

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงผัก ได้แก่ ผักเบี้ยหิน ผักโขม หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก มาโรยในกระบะขนาด 40x50 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ 1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง ที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช จากนั้นนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและนำข้อมูลที่ได้มาได้มาคำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) และคำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index)

- คำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency, WCE) วิธีของ Mani et al. (1973) อ้างอิงจาก Singh et al. (2017)

$$WCE = \frac{WPC-WPT}{WPC} \times 100$$

WPC (Weed population in control plot) = จำนวนต้นวัชพืชในกรรมวิธีไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WPT (Weed population in treated plot) = จำนวนต้นวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

- คำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) Mishra and Tosh *et al*. (1979) อ้างอิงจาก Singh *et al*. (2017)

$$WCI = \frac{WDC-WDT}{WDC} \times 100$$

WDC (Weed dry weight in control plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WDT (Weed dry weed in treated plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

สถานที่ทำการทดลอง

1. เรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. แปลงเกษตรกร จังหวัดนนทบุรี กาญจนบุรี หรือราชบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อผักกาดขาวปลี

หลังพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี ทำการปลูกผักกาดขาวปลี ที่ระยะ 3, 7, 10 และ14 วันหลังพ่นสาร โดยทำการประเมินความเป็นพิษที่ระยะ 7 และ15 วันหลังปลูก พบว่า

การลงปลูกที่ระยะ 3 วันหลังพ่นสาร

สารกำจัดวัชพืชที่ไม่มีความเป็นพิษต่อผักกาดขาวปลี เมล็ดผักกาดขาวปลีสามารถงอกและเจริญเติบโตได้ ได้แก่ oxadiazon 25% EC, oxyfluorfen 23.5% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG, sulfentrazone70% WG และ glufosinate 15% SL ส่วนกรรมวิธี flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC และ flumioxazin 50% WP + quizalofop5% EC พบว่า มีความเป็นพิษต่อผักกาดขาวปลีที่ลงปลูกระยะ 3 วันหลังพ่นสาร โดยมีความเป็นพิษระดับปานกลาง แต่ปลอดภัยต่อผักกาดขาวปลีที่ลงปลูก 7, 10 และ 14 วันหลังพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และ topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG มีความเป็นพิษต่อผักกาดขาวปลีรุนแรงจนทำให้ต้นผักกาดขาวปลีที่งอกขึ้นมาระยะมีใบเลี้ยงตาย มีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 10 คะแนน สารกำจัดวัชพืชดังกล่าวจึงไม่สามารถใช้ในกำจัดวัชพืชก่อนปลูกผักกาดขาวปลีได้

การลงปลูกที่ระยะ 7, 10 และ14 วันหลังพ่นสาร

สารกำจัดวัชพืชได้แก่ oxadiazon 25% EC, oxyfluorfen 23.5% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG, sulfentrazone70% WG, flumioxazin 50% WP,flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP+quizalofop5% EC และglufosinate 15% SL มีความปลอดภัยต่อผักกาดขาวปลี โดยมีระดับความเป็นพิษเล็กน้อย ถึงไม่เป็นพิษ ปลอดภัยต่อผักกาดขาวปลีมากกว่าการลงปลูกที่ 3 วันหลังพ่นสาร ส่วนสารกำจัดวัชพืช topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และtopamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG มีความเป็นพิษต่อผักกาดขาวปลีรุนแรงจนทำให้ต้นตายในทุกช่วงระยะการลงปลูก (Table 1 and 2)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชระยะ 3-5 ใบของสารกำจัดวัชพืช

ที่ระยะ 30 และ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% SL ,flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC และflumioxazin 50% WP +quizalofop5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และ topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าดอกขาว หญ้าตีนนก และวัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักเบี้ยใหญ่ และผักเบี้ยหิน ได้ในระดับดีถึงสมบูรณ์ มีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 9-10 คะแนน ส่วนสารกำจัดวัชพืช oxyfluorfen 23.5% EC มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักเบี้ยใหญ่ และผักเบี้ยหินได้สมบูรณ์ มีคะแนนจากการประเมินอยู่ 10 คะแนน แต่ควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าดอกขาว และหญ้าตีนนก ไม่ดี อยู่ในระดับ 0 คะแนน

ส่วนสารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG, sulfentrazone70% WG มีประสิทธิภาพพในการควบคุมวัชพืชทั้งประเภทใบแคบและใบกว้างได้ไม่ดี มีคะแนนอยู่ระหว่าง 0-6 คะแนน (Table 3 and 4)

ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำข้อมูลจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช มาวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) โดยเปรียบเทียบจำนวนต้นของวัชพืชของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร และวิเคราะห์หาค่าดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) โดยใช้น้ำแห้งของวัชพืชแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชในแต่ละชนิดของวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% SL, flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP + quizalofop5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และ topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG ค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชและดัชนีการควบคุมวัชพืช อยู่ระหว่าง 91-100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้วยสายตา ที่มีคะแนนในการประเมินอยู่ระหว่าง 9-10 คะแนน อยู่ในระดับดีถึงสมบูรณ์ (Table 5)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชระยะมากกว่า 5 ใบของสารกำจัดวัชพืช

ที่ระยะ 30 และ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP+quizalofop 5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP, topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG และ glufosinate 15%SL มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบ และใบกว้าง ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก ผักโขม และผักเบี้ยใหญ่ได้สมบูรณ์ มีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 10 คะแนน

แต่กรรมวิธีการพ่นสาร oxyfluorfen 23.5% EC ควบคุมวัชพืชใบกว้างได้สมบูรณ์ แต่ไม่สามารถควบคุมวัชพืชใบแคบได้

ส่วนสารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG, sulfentrazone 70% WG มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชทั้งประเภทใบแคบและใบกว้างได้ไม่ดี มีคะแนนอยู่ระหว่าง 0-3 คะแนน (Table 6 and 7)

ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำข้อมูลจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช มาวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) โดยเปรียบเทียบจำนวนต้นของวัชพืชของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร และวิเคราะห์หาค่าดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) โดยใช้น้ำแห้งของวัชพืชแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชในแต่ละชนิดของวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% SL, flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP + quizalofop 5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และ topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG ค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช และดัชนีการควบคุมวัชพืช อยู่ 100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้วยสายตา ที่มีคะแนนในการประเมินอยู่ระหว่าง 10 คะแนน อยู่ในระดับดีถึงสมบูรณ์ (Table 8)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่อผักกาดขาวปลี สามารถปลูกผักกาดขาวปลี หลังพ่นสารที่ระยะ 7, 10 และ14 วัน และมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืช ได้แก่ ผักเบี้ยใหญ่ และผักเบี้ยหินได้ในระดับดีจนถึงสมบูรณ์ ได้แก่ oxyfluorfen 23.5% EC, flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP +quizalofop5% EC หากต้องการลงปลูกผักกาดขาวปลีที่ระยะ 3 วันหลังพ่นสาร ไม่ควรใช้ flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP +quizalofop5% EC เนื่องจากมีความเป็นพิษต่อผักกาดขาวปลี ส่วนประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช พบว่า flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP+quizalofop 5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP, topamezone 33.6% SC + sulfentrazone70% WG และ glufosinate 15% SL มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบ และใบกว้าง ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก ผักโขม และผักเบี้ยใหญ่ได้ดี

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมวิชาการเกษตร. 2535. วัชพืชในพืชผักและการป้องกัน. กองเกษตรสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร. 29 หน้า

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2547. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 149 หน้า

Table 1 Phytotoxicity of herbicides at 7 days after planting for pre-planting

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Phytotoxicity of herbicides at 7 days after planting			
			plating at 3 days after application	plating at 7 days after application	plating at 10 days after application	plating at 14 days after application
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	0	0	0	0
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	0
5	sulfentrazone	35	1	1	1	1
6	flumioxazin	35	4	3	0	0
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	4	0	0	0
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	4	0	0	0
11	glufosinate	105	0	0	0	0
12	UTC		0	0	0	0

*Phytotoxicity : 0=normal 1-3=slightly toxic 4-6=moderately toxic 7-9= severely toxic 10= plant death

**DAA : Day after Application

Table 2 Phytotoxicity of herbicides at 15 days after planting for pre-planting

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Phytotoxicity of herbicides at 15 days after planting			
			plating at 3 days after application	plating at 7 days after application	plating at 10 days after application	plating at 14 days after application
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	0	0	0	0
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	0
5	sulfentrazone	35	3	3	3	3
6	flumioxazin	35	4	3	0	0
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	5	0	0	0
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	4	0	0	0
11	glufosinate	105	0	0	0	0
12	UTC		0	0	0	0

*Phytotoxicity : 0=normal 1-3=slightly toxic 4-6=moderately toxic 7-9= severely toxic 10= plant death

**DAA : Day after Application

Table 3 Efficacy of herbicides on 3-5 leaf stage of weeds species at 30 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control			
			30 days after application			
			Lept	*Digi*	*Tria*	*Port*
1	oxadiazon	120	0	0	5	3
2	oxyfluorfen	47	0	0	10	10
3	pendimethalin	297	2	2	0	6
4	carfentrazone	20	0	0	6	2
5	sulfentrazone	35	2	0	1	3
6	flumioxazin	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	9
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	10	10	10	10
11	glufosinate	105	10	9	9	10
12	UTC		0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Lept= leptochloa chinensis L. *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Tria= Trianthema portulacastrum* L., *Port= Portulaca oleracea* L.

Table 4 Efficacy of herbicides on 3-5 leaf stage of weeds species at 60 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control			
			60 days after application			
			Lept	*Digi*	*Tria*	*Port*
1	oxadiazon	120	0	0	3	3
2	oxyfluorfen	47	0	0	10	10
3	pendimethalin	297	2	2	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	6	0
5	sulfentrazone	35	3	0	0	0
6	flumioxazin	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	9
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	10	10	10	10
11	glufosinate	105	10	9	9	10
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Lept= leptochloa chinensis L. *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Tria= Trianthema portulacastrum* L., *Port= Portulaca oleracea* L.

Table 5 Weed control efficacy and weed control index at 3-5 leaf stage, 60 days after application in green house.

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control							
			60 days after application							
			Lept		*Digi*		*Tria*		*Port*	
			weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index
1	oxadiazon	120	3	12	8	4	18	6	45	50
2	oxyfluorfen	47	11	20	10	13	26	13	100	100
3	pendimethalin	297	38	29	20	33	40	53	20	7
4	carfentrazone	20	24	13	21	29	68	52	15	31
5	sulfentrazone	35	16	7	32	14	20	11	24	20
6	flumioxazin	35	100	100	100	100	100	100	100	100
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	100	100	100	100	100	100	97	93
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	100	100	100	100	100	100	100	100
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	100	100	100	100	100	100	100	100
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	100	100	100	100	100	100	100	100
11	glufosinate	105	100	100	98	96	95	91	100	100
12	UTC	-	0	0	0	0	0	0	0	0

Lept= leptochloa chinensis L. *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Tria= Trianthema portulacastrum* L., *Port= Portulaca oleracea* L.

Table 6 Efficacy of herbicides on more 5 leaves stage of weeds species at 30 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control			
			30 days after application			
			Lept	*Digi*	*Tria*	*Port*
1	oxadiazon 25% EC	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen 23.5% EC	47	0	0	10	10
3	pendimethalin 33% EC	297	1	2	0	0
4	carfentrazone 40% WG	20	0	0	0	0
5	sulfentrazone 70% WG	35	2	0	1	0
6	flumioxazin 50% WP	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin +70% WP	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone +70% WG	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop 50%WP+15%EC	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop 50%WP+5%EC	10+14	10	10	10	10
11	glufosinate 15% SL	105	10	10	10	10
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Lept= leptochloa chinensis L. *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Tria= Trianthema portulacastrum* L., *Port= Portulaca oleracea* L.

Table 7 Efficacy of herbicides on more 5 leaves stage of weeds species at 60 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control			
			60 days after application			
			Lept	*Digi*	*Tria*	*Port*
1	oxadiazon 25% EC	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen 23.5% EC	47	0	0	10	10
3	pendimethalin 33% EC	297	1	3	0	0
4	carfentrazone 40% WG	20	0	0	0	0
5	sulfentrazone 70% WG	35	1	0	1	0
6	flumioxazin 50% WP	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin +70% WP	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone +70% WG	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop 50%WP+15%EC	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop 50%WP+5%EC	10+14	10	10	10	10
11	glufosinate 15% SL	105	10	10	10	10
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Lept= leptochloa chinensis L. *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Tria= Trianthema portulacastrum* L., *Port= Portulaca oleracea* L.

Table 8 Weed control efficacy and weed control index at more 5 leaves stage, 60 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control							
			60 days after application							
			Lept		*Digi*		*Tria*		*Port*	
			weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index
1	oxadiazon 25% EC	120	4	1	10	6	22	29	3	5
2	oxyfluorfen 23.5% EC	47	10	5	24	2	31	34	11	10
3	pendimethalin 33% EC	297	23	16	12	3	34	21	19	12
4	carfentrazone 40% WG	20	2	1	10	6	20	11	26	14
5	sulfentrazone 70% WG	35	6	4	9	12	7	2	7	6
6	flumioxazin 50% WP	35	100	100	100	100	100	100	100	100
7	topamezone+metibuzin +70% WP	6.72+56	100	100	100	100	100	100	100	100
8	topamezone+sulfentrazone +70% WG	6.72+30	100	100	100	100	100	100	100	100
9	flumioxazin+fluazifop 50%WP+15%EC	10+20	100	100	100	100	100	100	100	100
10	flumioxazin+quizalofop 50%WP+5%EC	10+14	100	100	100	100	100	100	100	100
11	glufosinate 15% SL	105	100	100	100	100	100	100	100	100
12	UTC	-	100	100	100	100	100	100	100	100

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Lept= leptochloa chinensis L. *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Tria= Trianthema portulacastrum* L., *Port= Portulaca oleracea* L.

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในผักกาดหอม เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย

study the efficacy of pre-planting herbicides in lettuce as alternative substances and produce safe crops.

เทอดพงษ์ มหาวงศ์[2/] ยุรวรรณ อนันตนมณี[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[3/] อมฤต ศิริอุดม[1/]
สิริชัย สาธุวิจารณ์[1/] ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย[2/] อุษณีย์ จินดากุล[2/]
ปรัชญา เอกฐิน[2/] เอกรัตน์ ธนูทอง[2/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในผักกาดหอม เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน ตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2565 ณ โรงเรือนกลุ่มวิจัยวัชพืช โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 12 กรรมวิธี เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อผักกาดหอม ที่ลงปลูกหลังพ่นสารที่ระยะ 3, 7, 10 และ14 วัน พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่อผักกาดหอม สามารถปลูกผักกาดหอม หลังพ่นสารที่ระยะ 3, 7, 10 และ14 วัน สารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่อผักกาดหอม สามารถปลูกผักกาดหอม หลังพ่นสารที่ระยะ 3, 7, 10 และ14 วัน และมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืช ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก ผักโขม และผักเบี้ยใหญ่ ได้ในระดับดีจนถึงสมบูรณ์ คือ flumioxazin, flumioxazin + fluazifop-P-butyl, flumioxazin + quizalofop, glufosinate มีความปลอดภัยต่อผักกาดหอม มีประสิทธิภาพในการควบคุมผักโขม ผักเบี้ยใหญ่ หญ้าตีนนก และหญ้านกสีชมพูได้ดี ส่วน oxyfluorfen มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชใบกว้างได้ดี แต่ไม่สามารถควบคุมวัชพืชใบแคบได้

คำหลัก : สารทางเลือก ผักกาดหอม

รหัสการทดลอง FF65-11-02-65-01-02-65

คำนำ

ผักกาดหอม เป็นผักบริโภคใบ ปลูกมากในพื้นที่ภาคกลาง มีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 40-50 วัน สามารถเจริญเติบโตได้ในดินแทบทุกชนิด ในการปลูกผักกาดหอม โดยทั่วไปเกษตรกรสามารถปลูกได้ 2 ครั้ง หลังจากปลูกครั้งแรกในพื้นที่เดิม เกษตรกรจะใช้สารกำจัดวัชพืช เช่น paraquat และ glyphosate พ่นทิ้งไว้ 1-2 สัปดาห์ เพื่อกำจัดวัชพืช และเศษซากพืชที่หลงเหลือในแปลงก่อนปลูกผักกาดหอม โดยไม่ต้องเตรียมแปลงชักร่องปลูกใหม่ แต่จะมีการพรวนย่อยหน้าดินให้ละเอียดก่อนหว่านเมล็ดหรือการย้ายกล้า ซึ่งวิธีดังกล่าวช่วยให้เกษตรกรลดต้นทุนในการเตรียมดิน แต่ในปัจจุบันได้มีประกาศยกเลิกการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat และจำกัดการใช้สารglyphosate ในพืชผัก จึงส่งผลกระทบต่อวิธีการจัดการวัชพืชในระบบการผลิตพืชของเกษตรกร ด้วยเหตุนี้ จึงจำเป็นอย่างยิ่ง ที่จะต้องศึกษาหาสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพ เพื่อเป็นสารกำจัดวัชพืชทางเลือกให้กับเกษตรกรได้เลือกใช้ควบคู่กับวิธีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน ระหว่างการใช้สารกำจัดวัชพืช ร่วมกับวิธีเขตกรรม และเครื่องจักรกลการเกษตร เพื่อช่วยเพิ่มศักยภาพในการจัดการวัชพืช ลดปริมาณการใช้สารกำจัดวัชพืชต่อฤดูปลูก เป็นวิธีกำจัดวัชพืชที่เหมาะสม ช่วยลดต้นทุนในการจัดการวัชพืช และเกษตรกรสามารถผลิตพืชผักที่ปลอดภัยสำหรับบริโภคภายในประเทศ และการผลิตเพื่อส่งออก ส่งผลให้ประชาชนทุกภาคส่วนมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, oxyfluorfen 23.5% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG, sulfentrazone70% WG, flumioxazin 50% WP, topamezone 33.6% SC, metribuzin 70% WP, fluazifop-P-butyl 15% EC, haloxyfop-R-methyl 10.8% EC และ glufosinate 15% SL
2. เมล็ดพันธุ์ผักผักกาดหอม
3. กระบะ ขนาด 60x70 เซนติเมตร
4. เมล็ดวัชพืช
5. ดินปลูก
6. ถังพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (fan nozzle)

วิธีการ

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

ขั้นตอนที่ 1 ทดสอบความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในสภาพเรือนทดลอง (2565)

ขั้นตอนที่ 1.1 ทดสอบความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อผักกาดหอม (2565)

นำดินปลูกใส่กระบะ ขนาด 60x70 เซนติเมตร แล้วพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (fan nozzle) อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ 12 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร oxadiazon 25% EC อัตรา 120 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร oxyfluorfen 23.5% EC อัตรา 47 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร pendimethalin 33% EC อัตรา 297 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร carfentrazone 40% WG อัตรา 20 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร sulfentrazone70% WG อัตรา 35 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร flumioxazin 50% WP อัตรา 35 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP อัตรา 6.72+56 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 8 พ่นสาร topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG อัตรา 6.72+30 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 9 พ่นสาร flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC อัตรา 10+20 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 10 พ่นสารflumioxazin 50% WP + quizalofop5% EC อัตรา 10+14 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 11 พ่นสาร glufosinate 15% SL อัตรา 105 กรัม(ai)/ไร่

กรรมวิธีที่ 12 ไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช

จากนั้นปลูกผักกาดหอม 20 เมล็ดต่อกระบะ ที่ระยะ 3, 7 10 และ 14 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นผักกาดหอม ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล ที่ระยะ 7, 15, 30 และ 45 วันหลังปลูก และบันทึกการเจริญเติบโต โดยนับจำนวนใบ และน้ำหนักสด ที่ระยะ 45 วันหลังปลูก นำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>ขั้นตอนที่ 1.2 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ (2565)</u>

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงผัก เช่น ผักเบี้ยหิน ผักโขม หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก มาโรยในกระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ 1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง ที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย

4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

นับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและนำข้อมูลที่ได้มาได้มาคำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) และคำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index)

- คำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency, WCE) วิธีของ Mani et al. (1973) อ้างอิงจาก Singh et al. (2017)

$$WCE = \frac{WPC-WPT}{WPC} \times 100$$

WPC (Weed population in control plot) = จำนวนต้นวัชพืชในกรรมวิธีไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WPT (Weed population in treated plot) = จำนวนต้นวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

- คำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) Mishra and Tosh *et al*. (1979) อ้างอิงจาก Singh *et al*. (2017)

$$WCI = \frac{WDC-WDT}{WDC} \times 100$$

WDC (Weed dry weight in control plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WDT (Weed dry weed in treated plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

<u>ขั้นตอนที่ 1.3 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ (2565)</u>

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงผัก ได้แก่ ผักเบี้ยหิน ผักโขม หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก มาโรยในกระบะขนาด 40x50 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ 1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง ที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

นับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและนำข้อมูลที่ได้มาได้มาคำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) และคำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index)

- คำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency, WCE) วิธีของ Mani et al. (1973) อ้างอิงจาก Singh et al. (2017)

$$WCE = \frac{WPC-WPT}{WPC} \times 100$$

WPC (Weed population in control plot) = จำนวนต้นวัชพืชในกรรมวิธีไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WPT (Weed population in treated plot) = จำนวนต้นวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

- คำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) Mishra and Tosh *et al*. (1979) อ้างอิงจาก Singh *et al*. (2017)

$$WCI = \frac{WDC-WDT}{WDC} \times 100$$

WDC (Weed dry weight in control plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WDT (Weed dry weed in treated plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

สถานที่ทำการทดลอง

1. เรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. แปลงเกษตรกร จังหวัดนนทบุรี กาญจนบุรี หรือราชบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อผักกาดหอม

หลังพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี ทำการปลูกผักกาดหอมที่ระยะ 3, 7, 10 และ14 วันหลังพ่นสาร โดยทำการประเมินความเป็นพิษที่ระยะ 7 และ15 วันหลังปลูก พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ไม่มีความเป็นพิษต่อผักกาดหอม และเป็นพิษในระดับเล็กน้อย ผักกาดหอมสามารถงอกและเจริญเติบโตได้ ได้แก่ oxadiazon 25% EC, oxyfluorfen 23.5% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG, flumioxazin 50% WP , flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP + quizalofop 5% EC และglufosinate 15% SL โดยมีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 0-3 คะแนน ส่วน sulfentrazone 70% WG มีความเป็นพิษอยู่ในระดับเล็กน้อยที่ระยะการประเมิน 7 วันหลังปลูก และมีความเป็นพิษมากขึ้นถึงระดับปานกลางที่ระยะการประเมิน 15 วันหลังปลูก

ส่วนกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP, topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone 70% WG มีความเป็นพิษรุนแรงจนถึงทำให้พืชปลูกตาย มีผลกระทบต่อการงอก และการเจริญเติบโตของผักกาดหอมที่ปลูกที่ระยะ 3, 7, 10 และ14 วันหลังพ่นสาร มีคะแนนอยู่ระหว่าง 10 คะแนน สารกำจัดวัชพืชดังกล่าวจึงไม่สามารถใช้ในกำจัดวัชพืชก่อนปลูกผักกาดหอมได้ (ตารางที่ 1 และ 2)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชระยะ 3-5 ใบของสารกำจัดวัชพืช

ที่ระยะ 30 และ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า oxyfluorfen 23.5% EC, flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC และflumioxazin 50% WP + quizalofop5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP, topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone 70% WG และ glufosinate 15%SL มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบและใบกว้าง ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก ผักโขม และผักเบี้ยใหญ่ได้ในระดับดีถึงสมบูรณ์ มีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 7-10 คะแนน ส่วนสารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WGSulfentrazone 70% WG, มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชทั้งประเภทใบแคบและใบกว้างได้ไม่ดี มีคะแนนอยู่ระหว่าง 0-5 คะแนน (Table 3 and 4)

ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำข้อมูลจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช มาวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) โดยเปรียบเทียบจำนวนต้นของวัชพืชของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร และวิเคราะห์หาค่าดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) โดยใช้น้ำแห้งของวัชพืชแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชในแต่ละชนิดของวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% SL, flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP + quizalofop 5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และ topamezone 33.6% SC + sulfentrazone70% WG ค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช และดัชนีการควบคุมวัชพืช อยู่ระหว่าง 92-100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้วยสายตา ที่มีคะแนนในการประเมินอยู่ระหว่าง 9-10 คะแนน อยู่ในระดับดีถึงสมบูรณ์ (Table 5)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชระยะมากกว่า 5 ใบของสารกำจัดวัชพืช

ที่ระยะ 30 และ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า oxyfluorfen 23.5% EC, flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC และflumioxazin 50% WP + quizalofop 5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP, topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG และ glufosinate 15%SL มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบและใบกว้าง ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก ผักโขม และผักเบี้ยใหญ่ได้ในระดับดีถึงสมบูรณ์ มีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 7-10 คะแนน แต่กรรมวิธีการพ่นสาร oxyfluorfen 23.5% EC ควบคุมวัชพืชใบกว้างได้ดี ไม่สามารถควบคุมวัชพืชใบแคบได้ ส่วนสารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG sulfentrazone70% WG, มีประสิทธิภาพพในการควบคุมวัชพืชทั้งประเภทใบแคบและใบกว้างได้ไม่ดี มีคะแนนอยู่ระหว่าง 0-3 คะแนน (Table 6 and 7)

ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำข้อมูลจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช มาวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) โดยเปรียบเทียบจำนวนต้นของวัชพืชของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร และวิเคราะห์หาค่าดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) โดยใช้น้ำแห้งของวัชพืชแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชในแต่ละชนิดของวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% SL, flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP + quizalofop 5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และ topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone 70% WG ค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช และดัชนีการควบคุมวัชพืช อยู่ระหว่าง 96-100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้วยสายตา ที่มีคะแนนในการประเมินอยู่ระหว่าง 9-10 คะแนน อยู่ในระดับดีถึงสมบูรณ์ (Table 8)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่อผักกาดหอม สามารถปลูกผักกาดหอม หลังพ่นสารที่ระยะ 3 7 10 และ14 วัน และมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืช ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก ผักโขม และผักเบี้ยใหญ่ ได้ในระดับดีจนถึงสมบูรณ์ ได้แก่ flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP +quizalofop5% EC, glufosinate 15% SL มีความปลอดภัยต่อผักกาดหอม มีประสิทธิภาพในการควบคุมผักโขม ผักเบี้ยใหญ่ หญ้าตีนนก และหญ้านกสีชมพูได้ดี ส่วน oxyfluorfen 23.5% EC มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชใบกว้างได้ดี แต่ไม่สามารถควบคุมวัชพืชใบแคบได้

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมวิชาการเกษตร. 2535. วัชพืชในพืชผักและการป้องกัน. กองเกษตรสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร. 29 หน้า

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2547. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 149 หน้า

Lanini, W. T. and M. LeStrange. 1991. Low-input management of weeds in vegetable fields. Calif. Agric. 45(1):11–13.

Shachar Shem-Tov, Steve A. Fennimore, and W. Thomas Lanini. 2006. Weed management in Lettuce (*Lactuca sativa*) with Preplant Irrigation. Weed Technology. Volume 20:1058–1065

Table 1 Phytotoxicity of herbicides at 7 days after planting on for pre-planting

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Phytotoxicity of herbicides at 7 days after planting			
			plating at 3 days after application	plating at 7 days after application	plating at 10 days after application	plating at 14 days after application
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	3	3	3	3
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	2	2	1	1
5	sulfentrazone	35	3	3	3	3
6	flumioxazin	35	0	0	0	0
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	1	1	0	0
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	3	3	0	0
11	glufosinate	105	0	0	0	0
12	UTC		0	0	0	0

Phytotoxic 0 = normal, 1-3 = slightly toxic, 4-6 = moderately toxic, 7-9 = severely toxic, 10 = completely kill

Table 2 Phytotoxicity of herbicides at 15 days after planting for pre-planting

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Phytotoxicity of herbicides at 15 days after planting			
			plating at 3 days after application	plating at 7 days after application	plating at 10 days after application	plating at 14 days after application
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	1	1	1	1
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	2	2	1	1
5	sulfentrazone	35	5	5	5	5
6	flumioxazin	35	0	0	0	0
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	3	3	3	3
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	3	3	0	0
11	glufosinate	105	0	0	0	0
12	UTC		0	0	0	0

Phytotoxic 0 = normal, 1-3 = slightly toxic, 4-6 = moderately toxic, 7-9 = severely toxic, 10 = completely kill

Table 3 Efficacy of herbicides on 3-5 leaf stage of weeds species at 30 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control			
			30 days after application			
			Echi	*Digi*	*Amar*	*Port*
1	oxadiazon	120	0	0	3	0
2	oxyfluorfen	47	7	7	10	10
3	pendimethalin	297	0	3	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	2	5
5	sulfentrazone	35	0	0	0	0
6	flumioxazin	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	9	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	9	10	10	9
11	glufosinate	105	10	8	10	9
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Echi=Echinochloa colona (l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., Amar= *Amaranthus viridis* L, *Port= Portulaca oleracea* L.

Table 4 Efficacy of herbicides on 3-5 leaf stage of weeds species at 60 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control			
			60 days after application			
			Echi	*Digi*	*Amar*	*Port*
1	oxadiazon	120	0	0	2	0
2	oxyfluorfen	47	7	7	10	10
3	pendimethalin	297	1	3	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	5
5	sulfentrazone	35	0	0	0	0
6	flumioxazin	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	9	10	10	9
11	glufosinate	105	10	9	10	9
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Echi=Echinochloa colona (l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Amar= Amaranthus viridis* L, *Port= Portulaca oleracea* L.

Table 5 Weed control efficacy and weed control index at 3-5 leaf stage, 60 days after application in green house

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control							
			60 days after application							
			Echi		*Digi*		*Amar*		*Port*	
			weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index
1	oxadiazon	120	10	38	2	10	15	8	3	10
2	oxyfluorfen	47	17	12	7	9	6	15	10	29
3	pendimethalin	297	6	25	9	20	12	23	10	29
4	carfentrazone	20	15	9	4	11	22	31	8	12
5	sulfentrazone	35	4	19	2	6	7	27	13	6
6	flumioxazin	35	100	100	100	100	100	100	100	100
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	100	100	100	100	100	100	100	100
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	100	100	100	100	100	100	100	100
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	100	100	100	100	100	100	100	100
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	100	100	100	100	100	100	100	100
11	glufosinate	105	100	100	92	94	100	100	97	95
12	UTC	-	0	0	0	0	0	0	0	0

Echi=Echinochloa colona (l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Amar= Amaranthus viridis* L, *Port= Portulaca oleracea* L.

Table 6 Efficacy of herbicides on more 5 leaves stage of weeds species at 30 days after application in greenhouse.

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control			
			30 days after application			
			Echi	*Digi*	*Amar*	*Port*
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	0	0	8	8
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	0
5	sulfentrazone	35	3	0	0	0
6	flumioxazin	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	10	10	10	10
11	glufosinate	105	10	9	10	10
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Echi=Echinochloa colona (l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Amar= Amaranthus viridis* L, *Port*= Portulaca oleracea L.

Table 7 Efficacy of herbicides on more 5 leaves stage of weeds species at 60 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control			
			60 days after application			
			Echi	*Digi*	*Amar*	*Port*
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	0	0	7	7
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	0
5	sulfentrazone	35	3	0	0	0
6	flumioxazin	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	10	10	10	10
11	glufosinate	105	10	9	10	10
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Echi=Echinochloa colona (l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Amar= Amaranthus viridis* L, *Port*= Portulaca oleracea L.

Table 8 Weed control efficacy and weed control index at more 5 leaves stage, 60 days after application in green house

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control							
			60 days after application							
			Echi		*Digi*		*Amar*		*Port*	
			weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index
1	oxadiazon	120	31	34	25	17	10	6	10	7
2	oxyfluorfen	47	23	10	7	9	79	81	86	83
3	pendimethalin	297	6	22	9	20	12	23	10	26
4	carfentrazone	20	12	23	4	11	20	29	8	12
5	sulfentrazone	35	56	49	2	6	12	9	13	6
6	flumioxazin	35	100	100	100	100	100	100	100	100
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	100	100	100	100	100	100	100	100
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	100	100	100	100	100	100	100	100
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	100	100	100	100	100	100	100	100
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	100	100	100	100	100	100	100	100
11	glufosinate	105	100	100	100	100	100	100	100	100
12	UTC	-	0	0	0	0	0	0	0	0

Echi=Echinochloa colona (l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Amar= Amaranthus viridis* L, *Port*= Portulaca oleracea L.

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในคะน้า เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย

Efficacy of herbicide apply for pre-planting herbicide in Chinese kale

ยุรวรรณ อนันตนมณี[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[3/] อมฤต ศิริอุดม[1/] สิริชัย สาธุวิจารณ์[1/]
ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย[2/] เทอดพงษ์ มหาวงศ์[2/] อุษณีย์ จินดากุล[2/]
ปรัชญา เอกฐิน[2/] เอกรัตน์ ธนูทอง[2/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิชาการ สถาบันพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในคะน้า เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน ตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2565 ณ โรงเรือนกลุ่มวิจัยวัชพืช โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 12 กรรมวิธี เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อคะน้าที่ลงปลูกหลังพ่นสารที่ระยะ 3 7 10 และ14 วัน พบว่า การลงปลูกคะน้าที่ระยะ 7 10 และ 14 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช มีความปลอดภัยต่อคะน้ามากกว่าการลงปลูกที่ระยะ 3 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชที่มีความปลอดภัยต่อคะน้า สามารถปลูกคะน้าหลังพ่นสารที่ระยะ 7 10 และ14 วัน และมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืช ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก ผักโขม และผักเบี้ยหิน ในระยะ 3-5 ใบ และระยะ 5 ใบ ได้ในระดับดี ได้แก่ glufosinate รองลงมาได้แก่ สารกำจัดวัชพืช oxyfluorfen, flumioxazin, flumioxazin + quizalofop และ flumioxazin + fluazifop-P-butyl ซึ่งจะนำเอาสารกำจัดวัชพืชที่มีความปลอดภัย และมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชดังกล่าว ไปทดสอบในสภาพแปลงต่อไป

คำหลัก : คะน้า สารกำจัดวัชพืช การจัดการวัชพืช

รหัสงานทดลอง FF65-11-02-65-01-03-65

คำนำ

คะน้า เป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศ สามารถปลูกติดต่อกันได้ตลอดทั้งปี และปลูกได้ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ สามารถเจริญเติบโตได้ในดินทุกชนิด มีการปลูกมากในพื้นที่ภาคกลาง ในระบบการปลูกคะน้า เกษตรกรจะทำการเตรียมดินปลูก จากนั้นจะหว่านเมล็ดลงแปลงปลูกโดยตรงมากกว่าการย้ายกล้า หลังจากทการเก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าแล้ว ในแปลงคะน้าจะยังคงหลงเหลือเศษซากตอคะน้า และวัชพืชในแปลง ก่อนทำการปลูกคะน้าครั้งต่อไปเกษตรกรจะใช้สารกำจัดวัชพืช เช่น paraquat และglyphosate พ่นทิ้งไว้ 1-2 สัปดาห์ เพื่อกำจัดวัชพืช และเศษซากพืช และวัชพืชที่หลงเหลือในแปลงก่อนปลูกผัก และเมื่อวัชพืชแห้งตายดี จะใช้คราดตะกุยหน้าดินโดยไม่ต้องเตรียมแปลงชักร่องปลูกใหม่ ซึ่งวิธีดังกล่าว ช่วยทำให้เกษตรกรลดต้นทุนในการจัดการแปลง แต่ในปัจจุบันประเทศไทยได้มีประกาศยกเลิกการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat และจำกัดการใช้สาร glyphosate ในพืชผัก จึงส่งผลกระทบต่อวิธีการจัดการวัชพืชของเกษตรกร ด้วยเหตุนี้ จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษาหาสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพ เพื่อเป็นสารกำจัดวัชพืชทางเลือกให้กับเกษตรกรได้เลือกใช้ควบคู่กับวิธีเขตกรรม และเครื่องจักรกลการเกษตร เพื่อช่วยเพิ่มศักยภาพในการจัดการวัชพืช ช่วยลดต้นทุนในการจัดการวัชพืช และปลอดภัยไม่มีสารตกค้างในดินและผลผลิต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, oxyfluorfen 23.5% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG, sulfentrazone70% WG, flumioxazin 50% WP, topamezone 33.6% SC, metribuzin 70% WP, fluazifop-P-butyl 15% EC, haloxyfop-R-methyl 10.8% EC และ glufosinate 15% SL
2. เมล็ดพันธุ์ผักคะน้า
3. กระบะ ขนาด 60x70 เซนติเมตร
4. เมล็ดวัชพืช ได้แก่ ผักเบี้ยหิน ผักโขม หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก
5. ดินปลูก
6. ถังพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (fan nozzle)

วิธีการ

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

ขั้นตอนที่ 1 ทดสอบความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในสภาพเรือนทดลอง (2565)

ขั้นตอนที่ 1.1 ทดสอบความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อคะน้า (2565)

นำดินปลูกใส่กระบะ ขนาด 60x70 เซนติเมตร แล้วพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (fan nozzle) อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ 12 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร oxadiazon 25% EC อัตรา 120 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร oxyfluorfen 23.5% EC อัตรา 47 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร pendimethalin 33% EC อัตรา 297 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร carfentrazone 40% WG อัตรา 20 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร sulfentrazone70% WG อัตรา 35 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร flumioxazin 50% WP อัตรา 35 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP อัตรา 6.72+56 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 8 พ่นสาร topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG อัตรา 6.72+30 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 9 พ่นสาร flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC อัตรา 10+20 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 10 พ่นสาร flumioxazin 50% WP +quizalofop5% EC อัตรา 10+14 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 11 พ่นสาร glufosinate 15% SL อัตรา 105 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 12 ไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช

จากนั้นปลูกคะน้า 20 เมล็ดต่อกระบะ ที่ระยะ 3, 7 10 และ 14 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นคะน้า ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล ที่ระยะ 7, 15, 30 และ 45 วันหลังปลูก และบันทึกการเจริญเติบโต โดยนับจำนวนใบ และน้ำหนักสด ที่ระยะ 45 วันหลังปลูก นำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>ขั้นตอนที่ 1.2 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ (2565)</u>

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงผัก เช่น ผักเบี้ยหิน ผักโขม หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก มาโรยในกระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ 1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง ที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

จากนั้นนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ขั้นตอนที่ 1.3 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืชพ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ (2565)

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงผัก ได้แก่ ผักเบี้ยหิน ผักโขม หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก มาโรยในกระบะขนาด 40x50 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ 1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง ที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช
จากนั้นนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และนำข้อมูลที่ได้มาได้มาคำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) และคำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index)

- คำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency, WCE) วิธีของ Mani et al. (1973) อ้างอิงจาก Singh et al. (2017)

$$WCE = \frac{WPC-WPT}{WPC} \times 100$$

WPC (Weed population in control plot) = จำนวนต้นวัชพืชในกรรมวิธีไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WPT (Weed population in treated plot) = จำนวนต้นวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

- คำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) Mishra and Tosh *et al*. (1979) อ้างอิงจาก Singh *et al*. (2017)

$$WCI = \frac{WDC-WDT}{WDC} \times 100$$

WDC (Weed dry weight in control plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WDT (Weed dry weed in treated plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

เวลาและสถานที่

1. เรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. แปลงเกษตรกร จังหวัดนนทบุรี กาญจนบุรี หรือราชบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อคะน้า

หลังพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี ทำการปลูกคะน้าที่ระยะ 3 7 10 และ14 วันหลังพ่นสาร โดยทำการประเมินความเป็นพิษที่ระยะ 7 และ15 วันหลังปลูก พบว่า

การลงปลูกคะน้าที่ระยะ 3 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชที่ไม่มีความเป็นพิษต่อคะน้าและเป็นพิษในระดับเล็กน้อย มีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 0-3 คะแนน เมล็ดคะน้าสามารถงอกและเจริญเติบโตได้ ได้แก่ oxyfluorfen 23.5% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG และglufosinate 15% SL โดยมีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 0-3 คะแนน ส่วนสารกำจัดวัชพืชกรรมวิธีอื่น มีความเป็นพิษในระดับปานกลางถึงรุนแรง โดยมีผลทำให้ต้นคะน้าที่งอกขึ้นมามีอาการต้นและใบไหม้ และเน่าตาย (ตารางที่ 1)

การลงปลูกคะน้าที่ระยะ 7 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ oxadiazon 25% EC oxyfluorfen 23.5% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG, และglufosinate 15% SL ไม่เป็นพิษต่อคะน้า ส่วนสารกำจัดวัชพืช flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP +quizalofop5% EC มีความเป็นพิษต่อคะน้าที่ลงปลูกหลังพ่นสาร 3 และ7 วัน พบว่า มีความเป็นพิษต่อคะน้าในระดับปานกลางถึงรุนแรงมีคะแนนอยู่ระหว่าง 4-7 คะแนน

การลงปลูกคะน้าที่ระยะ 10 และ14 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ oxadiazon 25% EC oxyfluorfen 23.5% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG, glufosinate 15% SL flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP +quizalofop5% EC ไม่เป็นพิษต่อคะน้า

ส่วนสารกำจัดวัชพืช sulfentrazone70% WG, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP, topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG มีความเป็นพิษรุนแรงมีผลกระทบต่อการงอกจนถึงทำให้คะน้าตาย ในทุกระยะการปลูกคะน้าหลังพ่นสาร สารกำจัดวัชพืชดังกล่าวจึงไม่สามารถนำไปใช้ในการกำจัดวัชพืชก่อนปลูกคะน้าได้ (Table 1 and 2)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชระยะ 3-5 ใบของสารกำจัดวัชพืช

ที่ระยะ 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% SL, oxyfluorfen 23.5% EC, flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC และflumioxazin 50% WP + quizalofop5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และ topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืช

ประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก และวัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักโขม และผักเบี้ยหินได้ในระดับดีถึงสมบูรณ์ มีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 7-10 คะแนน

ส่วนสารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG และ sulfentrazone70% WG มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชทั้งประเภทใบแคบและใบกว้างได้ไม่ดี มีคะแนนอยู่ระหว่าง 0-3 คะแนน (Table 3 and 4)

ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำข้อมูลจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช มาวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) โดยเปรียบเทียบจำนวนต้นของวัชพืชของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร และวิเคราะห์หาค่าดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) โดยใช้น้ำแห้งของวัชพืชแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชในแต่ละชนิดของวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% SL, oxyfluorfen 23.5% EC, flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC และ flumioxazin 50% WP + quizalofop5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และ topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG ค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชและดัชนีการควบคุมวัชพืช 83-100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้วยสายตา ที่มีคะแนนในการประเมินอยู่ระหว่าง 8-10 คะแนน อยู่ในระดับดีถึงสมบูรณ์ ส่วนกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG และ sulfentrazone 70% WG มีค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช และดัชนีการควบคุมวัชพืชอยู่ระหว่าง 1-27 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชที่อยู่ในระดับเล็กน้อยจนถึงไม่สามารถควบคุมได้ มีคะแนนในการประเมินอยู่ระหว่าง 0-3 คะแนน (Table 5)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชระยะมากกว่า 5 ใบของสารกำจัดวัชพืช

ที่ระยะ 30 และ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% SL, flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC และflumioxazin 50% WP + quizalofop5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และ topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก และวัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักโขม และผักเบี้ยหินได้สมบูรณ์ มีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 10 คะแนน ส่วนสารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, oxyfluorfen 23.5% EC ควบคุมวัชพืชใบกว้างได้สมบูรณ์ แต่ควบคุมไม่สามารถควบคุมวัชพืชใบแคบได้

สารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% และ sulfentrazone 70% WG มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชทั้งประเภทใบแคบ และใบกว้างได้ไม่ดี มีคะแนนอยู่ระหว่าง 0-3 คะแนน (Table 6) ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำข้อมูลจำนวนต้น

และน้ำหนักแห้งวัชพืช มาวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) โดยเปรียบเทียบจำนวนต้นของวัชพืชของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร และวิเคราะห์หาค่าดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) โดยใช้น้ำแห้งของวัชพืชแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชในแต่ละชนิดของวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% SL, flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC และflumioxazin 50% WP + quizalofop5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และ topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG ค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช และดัชนีการควบคุมวัชพืช 100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้วยสายตา ที่มีคะแนนในการประเมินอยู่ระหว่าง 10 คะแนน อยู่ในระดับสมบูรณ์ ส่วนกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG และ sulfentrazone 70% WG มีค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช และดัชนีการควบคุมวัชพืชอยู่ระหว่าง 0-30 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชที่อยู่ในระดับเล็กน้อย จนถึงไม่สามารถควบคุมได้ มีคะแนนในการประเมินอยู่ระหว่าง 0-3 คะแนน (Table 9)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การลงปลูกคะน้าที่ระยะ 7 10 และ 14 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช มีความปลอดภัยต่อคะน้ามากกว่าการลงปลูกที่ระยะ 3 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่อคะน้า สามารถปลูกคะน้าหลังพ่นสารที่ระยะ 7 10 และ14 วัน และมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืช ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก ผักโขม และผักเบี้ยหินได้ในระดับดี ที่ระยะ 3-5 ใบ และ ระยะ 5 ใบ ได้แก่ glufosinate อัตรา 105 กรัม(ai)/ไร่ รองลงมาได้แก่ สารกำจัดวัชพืช oxyfluorfen อัตรา 47 กรัม(ai)/ไร่, flumioxazin อัตรา 35 กรัม(ai)/ไร่, flumioxazin + quizalofop อัตรา 10+14 กรัม(ai)/ไร่ และ flumioxazin + fluazifop-P-butyl อัตรา 10+20 กรัม(ai)/ไร่

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมวิชาการเกษตร. 2535. วัชพืชในพืชผักและการป้องกัน. กองเกษตรสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร. 29 หน้า

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2547. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 149 หน้า

Glufosinate Ammonium. Technical Information. Bayer CropScience, Monheim, Germany. 2004. www.bayercropscience.com

Lanini, W. T. and M. LeStrange. 1991. Low-input management of weeds in vegetable fields. Calif. Agric. 45(1):11–13.

Table 1 Phytotoxicity of herbicides at 7 days after planting for pre-planting

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Phytotoxicity of herbicides at 7 days after planting			
			plating at 3 days after application	plating at 7 days after application	plating at 10 days after application	plating at 14 days after application
1	oxadiazon	120	5	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	0	0	0	0
3	pendimethalin	297	3	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	0
5	sulfentrazone	35	8	10	10	10
6	flumioxazin	35	6	4	2	2
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	9	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	8	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	7	5	0	0
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	4	4	0	0
11	glufosinate	105	0	0	0	0
12	UTC		0	0	0	0

Phytotoxic 0 = normal, 1-3 = slightly toxic, 4-6 = moderately toxic, 7-9 = severely toxic, 10 = completely kill

Table 2 Phytotoxicity of herbicides at 15 days after planting for pre-planting

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Phytotoxicity of herbicides at 15 days after planting			
			plating at 7 days after application	plating at 10 days after application	plating at 14 days after application	plating at 7 days after application
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	0	0	0	0
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	0
5	sulfentrazone	35	10	10	10	10
6	flumioxazin	35	6	4	0	0
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	6	4	0	0
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	0	0	0	0
11	glufosinate	105	0	0	0	0
12	UTC		0	0	0	0

Phytotoxic 0 = normal, 1-3 = slightly toxic, 4-6 = moderately toxic, 7-9 = severely toxic, 10 = completely kill

Table 3 Efficacy of herbicides on 3-5 leaf stage of weeds species at 30 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide at 30 days after application			
			Echi	*Digi*	*Amar*	*Tria*
1	oxadiazon	120	0	0	3	0
2	oxyfluorfen	47	7	7	10	10
3	pendimethalin	297	0	3	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	2	6
5	sulfentrazone	35	0	0	0	0
6	flumioxazin	35	10	10	9	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	9
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	9	9
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	9	10	9	9
11	glufosinate	105	10	9	10	9
12	UTC		0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Echi=Echinochloa colona (l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., Amar= *Amaranthus viridis* L, *Tria= Trianthema portulacastrum* L.

Table 4 Efficacy of herbicides on 3-5 leaf stage of weeds species at 60 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide at 60 days after application			
			Echi	*Digi*	*Amar*	*Tria*
1	oxadiazon	120	1	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	2	2	10	10
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	5
5	sulfentrazone	35	0	0	0	0
6	flumioxazin	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	8	10	10	10
11	glufosinate	105	10	8	10	10
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Echi=Echinochloa colona (l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., Amar= *Amaranthus viridis* L, *Tria= Trianthema portulacastrum* L.

Table 5 Weed control efficacy and weed control index at 3-5 leaf stage, 60 days after application in green house

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide at 60 days after application							
			Echi		*Digi*		*Amar*		*Tria*	
			weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index
1	oxadiazon	120	17	12	5	25	13	8	3	1
2	oxyfluorfen	47	27	20	18	10	100	100	100	100
3	pendimethalin	297	10	7	8	3	11	6	7	2
4	carfentrazone	20	6	3	10	5	8	2	5	3
5	sulfentrazone	35	8	5	3	1	15	10	7	2
6	flumioxazin	35	100	100	100	100	100	100	100	100
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	100	100	100	100	100	100	100	100
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	100	100	100	100	100	100	100	100
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	100	100	100	100	100	100	100	100
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	83	100	100	100	100	100	100	100
11	glufosinate	105	100	100	95	86	100	100	100	100
12	UTC	-	0	0	0	0	0	0	0	0

Echi=Echinochloa colona (l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., Amar= *Amaranthus viridis* L, *Tria= Trianthema portulacastrum* L.

Table 6 Efficacy of herbicides on more 5 leaves stage of weeds species at 30 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide at 30 days after application			
			Echi	*Digi*	*Amar*	*Tria*
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	0	0	10	10
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	2
5	sulfentrazone	35	3	0	0	0
6	flumioxazin	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	10	10	10	10
11	glufosinate	105	10	10	10	10
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Echi=Echinochloa colona (l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., Amar= *Amaranthus viridis* L, *Tria= Trianthema portulacastrum* L.

Table 8 Efficacy of herbicides on more 5 leaves stage of weeds species at 60 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide at 60 days after application			
			Echi	*Digi*	*Amar*	*Tria*
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	0	0	10	10
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	0
5	sulfentrazone	35	0	0	0	0
6	flumioxazin	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	10	10	10	10
11	glufosinate	105	10	10	10	10
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Echi=Echinochloa colona (l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., Amar= *Amaranthus viridis* L, *Tria= Trianthema portulacastrum* L.

Table 9 Weed control efficacy and weed control index at more 5 leaves stage, 60 days after application in green house

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide at 60 days after application							
			Echi		*Digi*		*Amar*		*Tria*	
			weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index
1	oxadiazon	120	6	4	11	7	0	23	12	4
2	oxyfluorfen	47	16	11	15	9	100	100	100	100
3	pendimethalin	297	18	12	0	30	8	2	7	5
4	carfentrazone	20	10	6	13	11	21	12	5	3
5	sulfentrazone	35	4	7	4	3	16	8	2	1
6	flumioxazin	35	100	100	100	100	100	100	100	100
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	100	100	100	100	100	100	100	100
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	100	100	100	100	100	100	100	100
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	100	100	100	100	100	100	100	100
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	100	100	100	100	100	100	100	100
11	glufosinate	105	100	100	100	100	100	100	100	100
12	UTC	-	0	0	0	0	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Echi=Echinochloa colona (l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., Amar= *Amaranthus viridis* L, *Tria= Trianthema portulacastrum* L.

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในกะหล่ำปลี เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย

efficacy of pre-planting herbicides in cabbage for alternative herbicides and safe crops production

อมฤต ศิริอุดม[1/] ยุรวรรณ อนันตนมณี[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[3/] สิริชัย สาธุวิจารณ์[1/]
ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย[2/] เทอดพงษ์ มหาวงศ์[2/] อุษณีย์ จินดากุล[2/]
ปรัชญา เอกฐิน[2/] เอกรัตน์ ธนูทอง[2/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิชาการ สถาบันพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในกะหล่ำปลี เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน ตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2565 ณ โรงเรือนกลุ่มวิจัยวัชพืช โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 12 กรรมวิธีเพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อกะหล่ำปลี ที่ลงปลูกหลังพ่นสารที่ระยะ 3 7 10 และ14 วัน พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่อกะหล่ำปลี สามารถปลูกกะหล่ำปลี หลังพ่นสารที่ระยะ 3 7 10 และ 14 วัน และมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืช ได้แก่ หญ้าดอกขาว และหญ้าตีนนก ผักโขม และผักเบี้ยหิน ที่ระยะ 3-5 ใบ และระยะ 5 ใบได้ในระดับดี ได้แก่ flumioxazin, flumioxazin + fluazifop-P-butyl, flumioxazin +quizalofop ส่วน glufosinate มีความปลอดภัยต่อกะหล่ำปลีในทุกช่วงการปลูก และมีประสิทธิภาพในการควบคุมผักโขม ผักเบี้ยหิน หญ้าตีนนกและหญ้าดอกขาวได้ดี ซึ่งจะนำเอาสารกำจัดวัชพืชที่มีความปลอดภัย และมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชดังกล่าว ไปทดสอบในสภาพแปลงต่อไป

คำหลัก : กะหล่ำปลี สารกำจัดวัชพืช การจัดการวัชพืช

รหัสงานทดลอง FF65-11-02-65-01-04-65

คำนำ

กะหล่ำปลี เป็นพืชผักที่ได้รับความนิยมในการบริโภค เดิมปลูกได้ดีเฉพาะภาคเหนือและภาคอีสาน เพราะการจะห่อตัวเป็นปลีได้จำเป็นต้องได้รับอากาศหนาว ต่อมามีการปรับปรุงพันธุ์ให้ทนกับอากาศร้อน จึงทำให้สามารถปลูกได้ทั่วประเทศ แต่ส่วนใหญ่นิยมปลูกกันมากในแถบจังหวัดในภาคเหนือ เพราะอากาศเย็นจะทำให้กะหล่ำปลีห่อตัวได้ดี ในการปลูกเกษตรกรจะปลูกเป็นแปลงยกร่อง เมื่อทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว จะไม่มีการไถเตรียมแปลงใหม่ เนื่องจากค่าใช้จ่ายสูง และพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นแนวเขาลาดเอียง เกษตรกรนิยมใช้ใช้สารกำจัดวัชพืช เช่น paraquat พ่นทิ้งไว้ 1-2 สัปดาห์ เพื่อกำจัดวัชพืช และเศษซากพืชที่หลงเหลือในแปลงก่อนปลูกผัก โดยไม่ต้องเตรียมแปลงชักร่องปลูกใหม่ แต่ในปัจจุบันประเทศไทยได้มีประกาศยกเลิกการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat และจำกัดการใช้สารglyphosate ในพืชผัก จึงส่งผลกระทบต่อวิธีการจัดการวัชพืชในระบบการผลิตพืชของเกษตรกร จึงเป็นที่มาของงานวิจัย ที่ต้องศึกษาหาสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพ เพื่อเป็นสารกำจัดวัชพืชทางเลือกที่ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพให้กับเกษตรกรได้เลือกใช้ในการกำจัดวัชพืชก่อนปลูก (pre-planting) ในกะหล่ำปลีแทนการใช้สาร paraquat และสามารถช่วยลดต้นทุนในการกำจัดวัชพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25% EC, oxyfluorfen 23.5% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG, sulfentrazone70% WG, flumioxazin 50% WP, topamezone 33.6% SC, metribuzin 70% WP, fluazifop-P-butyl 15% EC, haloxyfop-R-methyl 10.8% EC และ glufosinate 15% SL
2. เมล็ดพันธุ์ผักกะหล่ำปลี
3. กระบะ ขนาด 60x70 เซนติเมตร
4. เมล็ดวัชพืช ได้แก่ ผักเบี้ยหิน ผักโขม หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก
5. ดินปลูก
6. ถังพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (fan nozzle)

วิธีการ

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

ขั้นตอนที่ 1 ทดสอบความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในสภาพเรือนทดลอง (2565)

ขั้นตอนที่ 1.1 ทดสอบความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อกะหล่ำปลี (2565)

นำดินปลูกใส่กระบะ ขนาด 60x70 เซนติเมตร แล้วพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (fan nozzle) อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ 12 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร oxadiazon 25% EC อัตรา 120 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร oxyfluorfen 23.5% EC อัตรา 47 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร pendimethalin 33% EC อัตรา 297 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร carfentrazone 40% WG อัตรา 20 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร sulfentrazone70% WG อัตรา 35 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร flumioxazin 50% WP อัตรา 35 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP อัตรา 6.72+56 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 8 พ่นสาร topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG อัตรา 6.72+30 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 9 พ่นสาร flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC อัตรา 10+20 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 10 พ่นสาร flumioxazin 50% WP +quizalofop5% EC อัตรา 10+14 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 11 พ่นสาร glufosinate 15% SL อัตรา 105 กรัม(ai)/ไร่
กรรมวิธีที่ 12 ไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช

จากนั้นปลูกกะหล่ำปลี 20 เมล็ดต่อกระบะ ที่ระยะ 3, 7 10 และ 14 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นกะหล่ำปลี ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล ที่ระยะ 7, 15, 30 และ 45 วันหลังปลูก และบันทึกการเจริญเติบโต โดยนับจำนวนใบ และน้ำหนักสด ที่ระยะ 45 วันหลังปลูก นำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>ขั้นตอนที่ 1.2 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช พ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ (2565)</u>

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงผัก เช่น ผักเบี้ยหิน ผักโขม หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก มาโรยในกระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ 1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง ที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

จากนั้นนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>ขั้นตอนที่ 1.3 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืชพ่นที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ (2565)</u>

นำสารกำจัดวัชพืชในขั้นตอนที่ 1.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชที่เป็นวัชพืชหลักในแปลงผัก ได้แก่ ผักเบี้ยหิน ผักโขม หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนนก มาโรยใน

กระบะขนาด 40x50 เซนติเมตร อย่างละ 50 เมล็ดต่อกระบะ กระบะละ 1 ชนิด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง ที่ระยะวัชพืชมีจำนวนใบมากกว่า 5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ด้วยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30 และ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช
จากนั้นนับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นับจำนวนต้นและชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและนำข้อมูลที่ได้มาได้มาคำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) และคำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index)

- คำนวณประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency, WCE) วิธีของ Mani et al. (1973) อ้างอิงจาก Singh et al. (2017)

$$WCE = \frac{WPC-WPT}{WPC} \times 100$$

WPC (Weed population in control plot) = จำนวนต้นวัชพืชในกรรมวิธีไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WPT (Weed population in treated plot) = จำนวนต้นวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

- คำนวณดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) Mishra and Tosh *et al*. (1979) อ้างอิงจาก Singh *et al*. (2017)

$$WCI = \frac{WDC-WDT}{WDC} \times 100$$

WDC (Weed dry weight in control plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช
WDT (Weed dry weed in treated plot) = น้ำหนักแห้งวัชพืชในแต่ละกรรมวิธี

เวลาและสถานที่

1. เรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. แปลงเกษตรกร จังหวัดนนทบุรี กาญจนบุรี หรือราชบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

หลังพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี ทำการปลูกกะหล่ำปลี ที่ระยะ 3 7 10 และ14 วันหลังพ่นสาร โดยทำการประเมินความเป็นพิษที่ระยะ 7 และ15 วันหลังปลูก พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ไม่มีความเป็นพิษต่อกะหล่ำปลี เมล็ดกะหล่ำปลีสามารถงอกและเจริญเติบโตได้ ได้แก่ oxadiazon 25% EC, oxyfluorfen 23.5% EC, pendimethalin 33% EC, carfentrazone 40% WG, sulfentrazone70%

WG, flumioxazin 50% WP, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP +quizalofop5% EC และglufosinate 15% SL สารกำจัดวัชพืชดังกล่าวสารมารถพ่นแล้วลงปลูกกะหล่ำปลีได้ที่ระยะ 3 7 10 และ 14 วันหลังพ่นสารโดยไม่เป็นพิษต่อกะหล่ำปลี ส่วนสารกำจัดวัชพืช topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และtopamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG มีความเป็นพิษต่อกะหล่ำปลีรุนแรงจนทำให้ต้นกะหล่ำปลีตาย ไม่สามารถใช้ได้กับกะหล่ำปลีในทุกช่วงระยะการปลูก มีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 8-10 คะแนน (table 1 และ table 2)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชระยะ 3-5 ใบของสารกำจัดวัชพืช

ที่ระยะ 30 และ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และtopamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC และflumioxazin 50% WP + +quizalofop5% EC และ glufosinate 15% SL มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบ และใบกว้าง ได้แก่ หญ้าดอกขาว หญ้าตีนนก ผักเบี้ยหิน และผักโขม ได้ในระดับดีถึงสมบูรณ์ มีคะแนนจากการประเมินอยู่ระหว่าง 9-10 คะแนน สารกำจัดวัชพืช oxyfluorfen 23.5% และ flumioxazin 50% WP มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชใบกว้างได้สมบูรณ์ (Table 3 and 4)

ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำข้อมูลจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช มาวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) โดยเปรียบเทียบจำนวนต้นของวัชพืชของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร และวิเคราะห์หาค่าดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) โดยใช้น้ำแห้งของวัชพืชแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชในแต่ละชนิดของวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช glufosinate 15% SL, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP + quizalofop5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และ topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG ค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช และดัชนีการควบคุมวัชพืช อยู่ระหว่าง 94-100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้วยสายตา ที่มีคะแนนในการประเมินอยู่ระหว่าง 9-10 คะแนน อยู่ในระดับดีถึงสมบูรณ์ (table 5)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชระยะมากกว่า 5 ใบของสารกำจัดวัชพืช

ที่ระยะ 30 และ60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และtopamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC และflumioxazin 50% WP+quizalofop5% EC, flumioxazin 50% WP และglufosinate 15% SL มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบ

และใบกว้าง ได้แก่ หญ้าดอกขาว หญ้าตีนนก ผักเบี้ยหิน และผักโขม ได้ในระดับสมบูรณ์ มีคะแนนจากการประเมิน 10 คะแนน สารกำจัดวัชพืช oxyfluorfen 23.5% มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชใบกว้างได้สมบูรณ์ แต่ไม่สามารถควบคุมวัชพืชใบแคบได้ (Table 6 and 7)

ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำข้อมูลจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช มาวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช (weed control efficiency) โดยเปรียบเทียบจำนวนต้นของวัชพืชของแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร และวิเคราะห์หาค่าดัชนีการควบคุมวัชพืช (weed control index) โดยใช้น้ำแห้งของวัชพืชแต่ละกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชในแต่ละชนิดของวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช flumioxazin 50% WP, glufosinate 15% SL, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC, flumioxazin 50% WP + quizalofop5% EC, topamezone 33.6% SC+ metribuzin 70% WP และ topamezone 33.6% SC+ sulfentrazone70% WG ค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช และดัชนีการควบคุมวัชพืช อยู่ 100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้วยสายตา ที่มีคะแนนในการประเมินอยู่ 10 คะแนน อยู่ในระดับสมบูรณ์ (Table 8)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่อกะหล่ำปลี สามารถปลูกกะหล่ำปลี หลังพ่นสารที่ระยะ 3 7 10 และ14 วัน และมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืช ได้แก่ หญ้าดอกขาว หญ้าตีนนก ผักโขม และผักเบี้ยหิน ได้ในระดับดี ได้แก่ flumioxazin 50% WP อัตรา 35 กรัม(ai)/ไร่, flumioxazin 50% WP + fluazifop-P-butyl 15% EC อัตรา 10+20 กรัม(ai)/ไร่, flumioxazin 50% WP +quizalofop5% EC อัตรา 10+14 กรัม(ai)/ไร่ และ glufosinate 15% SL อัตรา 105 กรัม(ai)/ไร่ มีความปลอดภัยต่อกะหล่ำปลีทุกช่วงที่ลงปลูกหลังพ่นสาร

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมวิชาการเกษตร. 2535. วัชพืชในพืชผักและการป้องกัน. กองเกษตรสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร. 29 หน้า

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2547. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 149 หน้า

Glufosinate Ammonium. Technical Information. Bayer CropScience, Monheim, Germany. 2004. www.bayercropscience.com

Lanini, W. T. and M. LeStrange. 1991. Low-input management of weeds in vegetable fields. Calif. Agric. 45(1):11–13.

Table 1 Phytotoxicity of herbicides at 7 days after planting on for pre-planting

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Phytotoxicity of herbicides at 7 days after planting			
			plating at 3 days after application	plating at 7 days after application	plating at 10 days after application	plating at 14 days after application
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	0	0	0	0
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	0
5	sulfentrazone	35	9	9	8	8
6	flumioxazin	35	0	0	0	0
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	9	9	8	8
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	9	9	9	9
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	0	0	0	0
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	0	0	0	0
11	glufosinate	105	0	0	0	0
12	UTC	-	0	0	0	0

Phytotoxic 0 = normal, 1-3 = slightly toxic, 4-6 = moderately toxic, 7-9 = severely toxic, 10 = completely kill

Table 2 Phytotoxicity of herbicides at 15 days after planting for pre-planting

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Phytotoxicity of herbicides at 15 days after planting			
			plating at 3 days after application	plating at 7 days after application	plating at 10 days after application	plating at 14 days after application
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	0	0	0	0
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	0
5	sulfentrazone	35	10	10	10	10
6	flumioxazin	35	0	0	0	0
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	0	0	0	0
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	0	0	0	0
11	glufosinate	105	0	0	0	0
12	UTC	-	0	0	0	0

Phytotoxic 0 = normal, 1-3 = slightly toxic, 4-6 = moderately toxic, 7-9 = severely toxic, 10 = completely kill

Table 3 Efficacy of herbicides on 3-5 leaf stage of weeds species at 30 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control			
			30 days after application			
			Lept	*Digi*	*Tria*	*Amar*
1	oxadiazon	120	0	0	3	3
2	oxyfluorfen	47	0	0	10	10
3	pendimethalin	297	2	2	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	7	0
5	sulfentrazone	35	3	0	0	0
6	flumioxazin	35	3	2	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	9
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	10	10	10	10
11	glufosinate	105	10	9	9	10
12	UTC		0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Lept= leptochloa chinensis L. *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Tria= Trianthema portulacastrum* L., *Amar= Amaranthus viridis* L

Table 4 Efficacy of herbicides on 3-5 leaf stage of weeds species at 60 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control			
			60 days after application			
			Lept	*Digi*	*Tria*	*Amar*
1	oxadiazon	120	0	0	3	3
2	oxyfluorfen	47	0	0	10	10
3	pendimethalin	297	2	2	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	5	0
5	sulfentrazone	35	2	0	0	0
6	flumioxazin	35	0	0	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	9
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	9	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	10	10	10	10
11	glufosinate	105	10	9	9	10
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Lept= leptochloa chinensis L. *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Tria= Trianthema portulacastrum* L., *Amar= Amaranthus viridis* L

Table 5 Weed control efficacy and weed control index at 3-5 leaf stage, 60 days after application in green house

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control							
			60 days after application							
			Lept		*Digi*		*Tria*		*Amar*	
			weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index
1	oxadiazon	120	5	1	4	1	3	2	3	1
2	oxyfluorfen	47	7	3	10	5	100	100	100	100
3	pendimethalin	297	16	12	23	16	12	6	10	6
4	carfentrazone	20	4	2	2	1	42	38	24	2
5	sulfentrazone	35	20	19	6	4	17	9	12	3
6	flumioxazin	35	9	4	11	7	100	100	100	100
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	100	100	100	100	100	100	96	94
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	100	100	100	100	100	100	100	100
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	100	100	100	100	94	91	100	100
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	100	100	100	100	100	100	100	100
11	glufosinate	105	100	100	97	95	98	96	100	100
12	UTC	-	0	0	0	0	0	0	0	0

Lept= leptochloa chinensis L. *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Tria= Trianthema portulacastrum* L., *Amar= Amaranthus viridis* L

Table 6 Efficacy of herbicides on more 5 leaves stage of weeds species at 30 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control			
			30 days after application			
			Lept	*Digi*	*Tria*	*Amar*
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	0	0	10	10
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	2
5	sulfentrazone	35	3	0	0	0
6	flumioxazin	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	10	10	10	10
11	glufosinate	105	10	10	10	10
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Lept= leptochloa chinensis L. *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Tria= Trianthema portulacastrum* L., *Amar= Amaranthus viridis* L.

Table 7 Efficacy of herbicides on more 5 leaves stage of weeds species at 60 days after application in greenhouse

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control			
			60 days after application			
			Lept	*Digi*	*Tria*	*Amar*
1	oxadiazon	120	0	0	0	0
2	oxyfluorfen	47	0	0	10	10
3	pendimethalin	297	0	0	0	0
4	carfentrazone	20	0	0	0	0
5	sulfentrazone	35	0	0	0	0
6	flumioxazin	35	10	10	10	10
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	10	10	10	10
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	10	10	10	10
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	10	10	10	10
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	10	10	10	10
11	glufosinate	105	10	10	10	10
12	UTC	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Lept= leptochloa chinensis L. *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Tria= Trianthema portulacastrum* L., *Amar= Amaranthus viridis* L.

Table 8 Weed control efficacy and weed control index at more 5 leaves stage, 60 days after application in green house

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Efficacy of herbicide for weed control							
			60 days after application							
			Lept		*Digi*		*Tria*		*Amar*	
			weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index	weed efficacy	weed index
1	oxadiazon	120	5	8	11	6	12	6	21	13
2	oxyfluorfen	47	4	6	9	4	100	100	100	100
3	pendimethalin	297	8	1	3	7	10	8	6	3
4	carfentrazone	20	6	9	5	10	11	7	10	8
5	sulfentrazone	35	4	3	12	5	13	5	4	6
6	flumioxazin	35	100	100	100	100	100	100	100	100
7	topamezone+metibuzin	6.72+56	100	100	100	100	100	100	100	100
8	topamezone+sulfentrazone	6.72+30	100	100	100	100	100	100	100	100
9	flumioxazin+fluazifop	10+20	100	100	100	100	100	100	100	100
10	flumioxazin+quizalofop	10+14	100	100	100	100	100	100	100	100
11	glufosinate	105	100	100	100	100	100	100	100	100
12	UTC	-	0	0	0	0	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Lept= leptochloa chinensis L. *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Tria= Trianthema portulacastrum* L., *Amar= Amaranthus viridis* L.

(l.) link, *Digi =Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., Amar= *Amaranthus viridis* L, *Tria= Trianthema portulacastrum* L.

ผู้รวบรวมและแก้ไข

นางสาวภัทรพร	สรรพนุเคราะห์
นางสาวดาราพร	รินทะรักษ์
นางสาวอมรรัชฎ์	คิดใจเดียว
นางสาวกาญจณา	วาระวิชะณี
นางสาวอุษณีย์	จินดากุล
นายเอกรัตน์	ธนูทอง
นางวรัญญา	มาลี
นางศรีจำนรรจ์	ศรีจันทรา
นางสาววิภาดา	ปลอดครบุรี

ผู้สอบทาน

นางสาวณฐวรรณ	ชนะโชติ
นางสาวจิราภรณ์	สินทร

กรมวิชาการเกษตร

DOA TOGETHER

Hearing for Changing, Acting for Moving forward

50 ปีกรมวิชาการเกษตร
DOA TOGETHER

กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ANNUAL REPORT 2023