การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวมัสคาดีน [*Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin] ในรูปแบบผง ในห้องปฏิบัติการ

Efficacy test of dust formulation of green muscadine fungus, *Metarhizium anisopliae* in laboratory.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ เกรียงไกร จำเริญมา สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวมัสคาดีน *Metarhizium anisopliae* ในรูปแบบผงในห้องปฏิบัติการ ได้เริ่มทำการวิจัยในช่วงเดือน ตุลาคม 2551 - กันยายน 2553 (รวมระยะเวลา 2 ปี) ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โดยแบ่งการดำเนินงานในปีต่างๆ ดังนี้

ปีที่ 1 (ตุลาคม 2551 - กันยายน 2552)

เลือกไอโซเลทเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่มีประสิทธิภาพดี ในการกำจัดหนอนด้วงแรดมะพร้าวมาเตรียมให้อยู่ในรูปผง โดยเลี้ยงเชื้อราเขียวบนข้าวโพดบดหยาบประมาณ 7 - 14 วัน จากนั้นล้างโคนิเดียออกโดยใช้น้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปรับกำลังสารแขวนลอยโคนิเดียให้เท่ากับ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. ผสมยากันแบคทีเรียในอัตรา 5 กรัม/สารแขวนลอยโคนิเดีย 2,500 มล. นำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาผสมกับดิน Pumice ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้อัตราส่วนสารแขวนลอยโคนิเดียต่อดิน Pumice เท่ากับ 1: 4 จากนั้นศึกษาอัตราการใช้เชื้อผงต่ออาหาร (มะพร้าวสับ) ที่เหมาะสม วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 5 กรรมวิธี โดยแต่ละวิธีจะใช้มะพร้าวสับ 1,000 กรัมผสมเชื้อในปริมาณที่แตกต่างกันดังนี้ 250, 500, 750, 1,000 กรัม และไม่ใส่เชื้อ ตามลำดับ คลุกส่วนผสมให้ทั่วแบ่งใส่กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 7 X 10 ซม. กล่องละ 100 กรัม ใส่หนอนกล่องละ 1 ตัว จำนวน 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 20 กล่อง) จากผลการทดลองพบว่าการผสมเชื้อราเขียวทั้ง 4 อัตราให้ผลการเกิดโรคของหนอนด้วงแรดมะพร้าวไม่แตกต่างกัน แต่จะแตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อราเขียวอย่างมีนัยสำคัญ อัตราการตายเริ่มพบในวันที่ 8 ของการทดลองในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อราเขียวในทุกอัตรา และในวันที่ 8 – 12 พบว่ามีอัตราการตายในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อราเขียวไม่แตกต่างกันในทางสถิติ และในวันที่ 12 ของการทดลอง มีอัตราการตาย 100% ในทุกกรรมวิธีที่ใส่เชื้อราเขียว ดังนั้นจึงเลือกใช้เชื้อราเขียวที่อัตรา 250 กรัม

ในการทดลองขั้นต่อไปเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการเกิดโรคเมื่อเก็บในห้องเย็นอุณหภูมิ 6°C ภายในระยะเวลา 1 ปี

รหัสการทดลอง 07-01-49-06-04-03-02-52

ปีที่ 2 (ตุลาคม 2552 - กันยายน 2553)

ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อผงที่เก็บในระยะเวลา 1 ปี โดยเตรียมเชื้อในอัตรา 250 กรัม ต่อมะพร้าวสับ 1,000 กรัม (1: 4) เก็บในห้องเย็นอุณหภูมิ 6 °C แบ่งเชื้อที่เก็บในห้องเย็นมาศึกษาประสิทธิภาพการก่อให้เกิดโรคกับหนอนด้วงแรดมะพร้าวทุกเดือน โดยแบ่งส่วนผสมใส่กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 7 X 10 ซม. ปริมาตร 100 กรัม/กล่อง ใส่หนอนด้วงแรดมะพร้าว 1 ตัว/กล่อง จำนวน 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 20 กล่อง) ทดสอบประสิทธิภาพภายในระยะเวลา 1 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2552 - กรกฎาคม 2553 พบว่าอัตราการตายเนื่องจากการติดเชื้อส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 8 – 14 วันของการทดลอง โดยส่วนใหญ่พบการติดเชื้ออย่างสมบูรณ์ (100%) ในวันที่ 14 ของการทดลอง อัตราการตายยังเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอในระยะเวลา 1 ปี แสดงว่าการเก็บเชื้อที่อุณหภูมิ 6 °C ยังคงรักษาประสิทธิภาพเชื้อไว้ได้ดี และเมื่อตรวจสอบการงอกของเชื้อราเขียวภายในช่วงเวลาเดียวกัน พบว่าเชื้อราเขียวยังคงมีประสิทธิภาพการงอกค่อนข้างใกล้เคียงกันในช่วงเวลา 10 เดือนแรกของการทดลอง และประสิทธิภาพจะเริ่มลดลงในเดือนที่ 11 และ 12

คำนำ

ปัจจุบันการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีได้รับความสนใจและเป็นที่ยอมรับของเกษตรกร รวมทั้งผู้บริโภคมากขึ้นจะสังเกตได้จากผลิตภัณฑ์อาหารปลอดสารพิษที่มีขายเพิ่มขึ้นในท้องตลาด ถึงแม้จะมีราคาสูงกว่าปกติเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์อาหารชนิดเดียวกัน แต่ยังเป็นที่นิยมและยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นเกษตรกรจึงเริ่มหันมาให้ความสนใจต่อการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีมากขึ้นเพราะนอกจากจะขายผลผลิตได้ราคาดีแล้ว ยังมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของตัวเกษตรกรผู้ใช้รวมถึงผู้บริโภคด้วย การใช้เชื้อจุลินทรีย์เป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกร เชื้อจุลินทรีย์ที่มีการใช้แพร่หลายในปัจจุบันเช่น ไส้เดือนฝอย เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อรา เป็นต้น

เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* จัดเป็นจุลินทรีย์ประเภทหนึ่งที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกรผู้ปลูกมะพร้าวและปาล์มน้ำมัน เป็นเชื้อราที่พบในดินใช้กำจัดแมลงในกลุ่มหนอนด้วง โดยเฉพาะด้วงแรดมะพร้าว ซึ่งในปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกมะพร้าวและปาล์มน้ำมันกันมากในเขตภาคใต้ การกองเศษซากพืช ขุยมะพร้าว หรือกากของปาล์มน้ำมัน ทิ้งไว้เป็นเวลานานๆ จะกลายเป็นแหล่งขยายพันธุ์ของด้วงแรด ซึ่งปัจจุบันเริ่มมีการระบาดของด้วงชนิดนี้เพิ่มมากขึ้น การป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมีเป็นวิธีการที่สิ้นเปลืองและเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ดังนั้นการป้องกันกำจัดในปัจจุบันจึงมักใช้วิธีการป้องกันกำจัดแบบผสมผสาน เชื้อราเขียวเป็นจุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจผลิตใช้ทางการค้าในหลายประเทศ ได้แก่ แอฟริกาใต้ ภายใต้ชื่อการค้า Green Muscle (Thomas *et al*., 2000) ออสเตรเลีย และอเมริกาภายใต้ชื่อการค้า BioGreen และ BioBlast (Milner, 2000) เป็นต้น

เสาวนิตย์และคณะ (2548) ได้ศึกษาและพัฒนาวิธีการเลี้ยงเชื้อราเขียว เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในเชิงการค้า โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราเขียว ได้แก่ ชนิดธัญพืช ความชื้น ปริมาณการใช้โมลาส และยูเรีย ที่เหมาะสม งานทดลองของเสาวนิตย์ และคณะ (2549) ได้

ศึกษาสารพา (carriers) ที่เหมาะสมในการใช้ร่วมกับผลิตภัณฑ์แป้ง โดยใช้สารพา 5 ชนิด ได้แก่ pumice, smectite, clinoptilolite, ดินลพบุรี และดินลำปาง ผสมร่วมกับแป้งสาลี เพื่อเลี้ยงเชื้อราเขียว ในอัตราส่วน 1: 1 ผลการศึกษาครั้งนั้นพบว่า pumice มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากราเขียวจะสร้างโคนิเดียได้สูงสุด นอกจากนี้ยังมีต้นทุนการผลิตที่ไม่มากเมื่อเทียบกับการเลี้ยงโดยใช้สารพาชนิดอื่น ตลอดจนการทดลองผลิตเชื้อราเขียวในรูปแบบผง เพื่อประโยชน์ต่อการเก็บรักษา ต่อมาในปีงบประมาณ 2551 ได้ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเชื้อราเขียวรูปแบบผงที่ผลิตได้ โดยเก็บในอุณหภูมิต่างๆ 3 อุณหภูมิคือ อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 ^{O}C), อุณหภูมิตู้เย็น (12 $\pm$ 2 ^{O}C), และอุณหภูมิห้องเย็น (6 $\pm$ 1 ^{O}C) ในช่วงระยะเวลา 1 ปี พบว่าเชื้อที่เก็บในห้องเย็นและในตู้เย็นจะรักษาประสิทธิภาพการงอกของเชื้อได้นานที่สุด

วัตถุประสงค์ของโครงการ เพื่อทราบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวรูปแบบผงที่เก็บรักษาในห้องเย็นอุณหภูมิ 6 ^{O}C ภายในระยะเวลา 1 ปี ในการนำไปใช้ควบคุมหนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าวในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นข้อมูลในการตัดสินใจในการผลิตขยายต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราเขียวมัสคาดีน *Metarhizium anisopliae*
2. ดิน Pumice
3. หนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว
4. ข้าวโพดบดหยาบ
5. Potato Dextrose Broth (PDB)
6. มะพร้าวสับ
7. ยาปฏิชีวนะ (streptomycin)
8. กล่องเลี้ยงแมลง
9. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
10. เครื่องนับสปอร์ (Hemacytometer)
11. ตู้เขี่ยเชื้อ
12. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
13. กล้องจุลทรรศน์
14. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.
15. กระบอกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.
16. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.

1. ศึกษาอัตราการใช้เชื้อผงที่เหมาะสม

แผนการทดลอง: นำเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่มีประสิทธิภาพดีในการกำจัดหนอนด้วงแรดมะพร้าว มาเตรียมให้อยู่ในรูปเชื้อผง ศึกษาอัตราการใช้ผงเชื้อต่ออาหาร (มะพร้าวสับ) ที่เหมาะสม

วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวมัสคาดีนในรูปผง 250 กรัม ต่อ มะพร้าวสับ 1,000 กรัม

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวมัสคาดีนในรูปผง 500 กรัม ต่อ มะพร้าวสับ 1,000 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวมัสคาดีนในรูปผง 750 กรัม ต่อ มะพร้าวสับ 1,000 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวมัสคาดีนในรูปผง 1,000 กรัม ต่อ มะพร้าวสับ 1,000 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 ดินที่ไม่ผสมเชื้อราเขียวมัสคาดีน 1,000 กรัม ต่อ มะพร้าวสับ 1,000 กรัม

วิธีการทดลอง

เลี้ยงเชื้อราเขียวลงบนข้าวโพดบดหยาบประมาณ 7 - 14 วัน ล้างโคนิเดียออกโดยใช้น้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปรับกำลังสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราเขียว 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. ผสมยากันแบคทีเรียในอัตรา 5 กรัม/สารแขวนลอยโคนิเดีย 2,500 มล. นำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาผสมกับดิน Pumice ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้อัตราส่วนสารแขวนลอยโคนิเดียต่อดิน เท่ากับ 1: 4 คลุกส่วนผสมให้ทั่ว เตรียมขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับโดยการแช่น้ำทิ้งไว้ข้ามคืน บีบน้ำออกแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นแล้วผสมมะพร้าวสับและเชื้อผงตามกรรมวิธีต่างๆข้างต้น คลุกให้เชื้อกระจายทั่วมะพร้าวสับแบ่งใส่กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 7 X 10 ซม. กล่องละ 100 กรัม ใส่หนอนด้วงแรดมะพร้าว 1 ตัว/กล่อง จำนวน 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 20 กล่อง) ปิดฝากล่องให้สนิท วางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 1 เดือน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

2. ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อผงที่เก็บในระยะเวลา 1 ปี

แผนการทดลอง: นำอัตราที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 1 มาศึกษาประสิทธิภาพการก่อให้เกิดโรคกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว ภายในระยะเวลา 1 ปี

วิธีการทดลอง

เตรียมเชื้อราเขียวในรูปผงตามวิธีการขั้นตอนที่ 1 นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น (6 $\pm$ 1 $^{\circ}$C) (เสาวนิตย์และคณะ, 2551) นำเชื้อผงที่เก็บไว้มาตรวจสอบประสิทธิภาพการเกิดโรคกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว เดือนละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 1 ปี โดยเตรียมขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับใส่กล่องเลี้ยงแมลงขนาดประมาณ 7 X 10 ซม. ปริมาตร 100 กรัม/กล่อง นำเชื้อราผงมาผสมกับขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับ ในอัตราที่เลือกจากขั้นตอนที่ 1 คลุกส่วนผสมให้ทั่ว จากนั้นนำหนอนด้วงแรดมะพร้าว ใส่ในอัตรา 1 ตัว/กล่อง จำนวน 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 20 กล่อง) ปิดฝากล่องให้สนิท วางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคทุก 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

หมายเหตุ : การเตรียมเชื้อต้องเตรียมในปริมาณที่ใช้ทดสอบตลอดทั้งปี โดยเตรียมครั้งเดียวและเก็บในอุณหภูมิห้องเย็น (6 ± 1 $^{\circ}$C)

วิธีการตรวจสอบการงอกของเชื้อ

ตักแบ่งเชื้อราเขียวที่เก็บในอุณหภูมิห้องเย็น (6 ± 1 $^{\circ}$C) นำไปทดสอบประสิทธิภาพการงอกเดือนละ 1 ครั้ง ควบคู่ไปกับการทดสอบประสิทธิภาพการก่อให้เกิดโรคกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว โดยตักแบ่งครั้งละ 30 กรัม (จำนวน6 ซ้ำ ซ้ำละ 5 กรัม) ใส่เชื้อที่ตักแบ่งแต่ละซ้ำลงในฟลาสก์ที่บรรจุน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้วในปริมาตร 95 มล. เขย่าให้เชื้อกระจายทั่วทั้งฟลาสก์ จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารแขวนลอยที่ได้ปริมาตร 1 มล. ถ่ายใส่หลอดที่บรรจุน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 9 มล. ทำการเจือจางในลักษณะเช่นนี้ประมาณ 4 - 5 ครั้ง ดูดสารแขวนลอยโคนิเดียจากหลอดเจือจางที่ต้องการทดสอบปริมาตร 100 µl. มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อัตรา 10 plates/ ซ้ำ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 3 - 4 วัน สังเกตโคโลนีเชื้อที่ขึ้น นับและเก็บข้อมูลจำนวนโคโลนีของเชื้อ

การบันทึกข้อมูล

: เก็บรวบรวมข้อมูล และจดบันทึกความผิดปกติทั้งหมดที่เกิดขึ้นระหว่างทำการทดลอง ได้แก่

- อาการและการเกิดโรคของหนอนด้วงแรดมะพร้าวที่ใช้ทดสอบ
- ระยะเวลาที่ทำให้เกิดโรค
- จำนวนหนอนที่ติดโรค

: วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT

เวลาสถานที่

: ตุลาคม 2551 สิ้นสุด กันยายน 2553

: ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาอัตราการใช้เชื้อผงที่เหมาะสม

จากผลการทดลองพบว่าการผสมเชื้อราเขียวทั้ง 4 อัตราให้ผลการเกิดโรคของหนอนด้วงแรดมะพร้าวไม่แตกต่างกัน แต่จะแตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อราเขียวอย่างมีนัยสำคัญ อัตราการตายเริ่มพบในวันที่ 8 ของการทดลองในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อราเขียวในทุกอัตรา และในวันที่ 8 – 12 พบว่ามีอัตราการตายในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อราเขียวไม่แตกต่างกันในทางสถิติ และในวันที่ 12 ของการทดลอง มีอัตราการตาย 100% ทุกกรรมวิธีที่ใส่เชื้อราเขียว (ตารางที่ 1) แสดงว่าในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าวโดยใช้เชื้อราเขียว ไม่จำเป็นต้องใส่เชื้อในปริมาณมากเกินความจำเป็น แต่ควรหาอัตราที่เหมาะสมต่อพื้นที่ที่ใช้เพื่อลดค่าใช้จ่ายในเรื่องต้นทุนในการป้องกันกำจัด เช่นเดียวกับการศึกษาของมลิวัลย์ และคณะ

(2529) ที่ทำการศึกษาอัตราการใช้ราเขียวต่อกองล่อ และสรุปว่าการใช้เชื้อราเขียวอัตรา 200 – 400 กรัม มีความเหมาะสมต่อกองล่อขนาด 2 X 2 X 0.5 เมตร เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้เชื้อราเขียวที่นำมาศึกษาเป็นเชื้อที่เก็บได้ใหม่ ซึ่งเป็นคนละไอโซเลทกับเชื้อที่มีรายงานอยู่เดิมจึงจำเป็นต้องศึกษาอัตราการใช้ที่เหมาะสมเพื่อเป็นข้อมูลในการนำไปเผยแพร่ต่อไป

จากผลการศึกษาในครั้งนี้จึงเลือกใช้เชื้อราเขียวที่ผสมในอัตรา 250 กรัม ต่อมะพร้าวสับ 1,000 กรัม ในการทดลองขั้นต่อไปเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการเกิดโรคเมื่อเก็บในห้องเย็นอุณหภูมิ 6 $^{\circ}$C ภายในระยะเวลา 1 ปี

2. ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อผงที่เก็บในระยะเวลา 1 ปี

ผลการทดสอบประสิทธิภาพสังเกตจากอัตราการตายของหนอนด้วงแรดภายในระยะเวลา 1 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2552 - กรกฎาคม 2553 พบว่าอัตราการตายเนื่องจากการติดเชื้อส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 8 – 14 วันของการทดลอง โดยส่วนใหญ่พบการติดเชื้ออย่างสมบูรณ์ (100%) ในวันที่ 14 ของการทดลอง ในเดือนที่ 2 ของการทดลองพบปัญหาการติดเชื้อแบคทีเรียจากสภาพธรรมชาติอาจเนื่องมาจากการเกิดบาดแผลของหนอนในระหว่างการเก็บเพื่อนำมาทดลอง ซึ่งเชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและทำให้หนอนตายก่อนการติดเชื้อราได้ อย่างไรก็ดีอัตราการตายจากเชื้อราเขียวยังเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอในช่วงระยะเวลา 1 ปี โดยระยะเวลาส่วนใหญ่ที่ทำให้หนอนด้วงแรดตายจะอยู่ในช่วง 8 – 14 วันของการทดลองในห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 2) จากผลการทดลองพบว่าระยะเวลาที่ทำให้เกิดโรคในแมลงจะมีความแตกต่างกันไปตามขนาดของตัวเหยื่อ และผลการศึกษาประสิทธิภาพการงอกของเชื้อราเขียวที่เก็บในอุณหภูมิ 6 $^{\circ}$C ภายในช่วงเวลาเดียวกันพบว่าเชื้อราเขียวที่เก็บตั้งแต่เดือนที่ 1 – เดือนที่ 10 ยังคงมีประสิทธิภาพการงอกค่อนข้างใกล้เคียงกันกับเชื้อราเขียวที่เริ่มต้นในการทดลอง (เดือนที่ 0) และประสิทธิภาพการงอกจะเริ่มลดลงในเดือนที่ 11 และเดือนที่ 12 (ตารางที่ 3) เช่นเดียวกับการทดลองของเสาวนิตย์ และคณะ (2551) ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเชื้อราเขียวรูปแบบผงที่ผลิตได้ โดยเก็บในอุณหภูมิต่างๆ 3 อุณหภูมิคือ อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 $^{\circ}$C), อุณหภูมิตู้เย็น (12 $\pm$ 2 $^{\circ}$C), และอุณหภูมิห้องเย็น (6 $\pm$ 1 $^{\circ}$C) ในช่วงระยะเวลา 1 ปี พบว่าเชื้อที่เก็บในห้องเย็นและในตู้เย็นจะรักษาประสิทธิภาพการงอกของเชื้อได้นานที่สุด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอัตราการใช้เชื้อผงต่ออาหาร (มะพร้าวสับ) ที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดหนอนด้วงแรดมะพร้าวในห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อราเขียวที่ผสมในอัตรา 250 กรัม ต่อมะพร้าวสับ 1,000 กรัม ให้ประสิทธิภาพการเกิดโรคดีไม่แตกต่างจากการใส่ในปริมาณที่มากกว่า โดยพบอัตราการตายใน

วันที่ 8 ของการทดลอง และพบอัตราการตายสูงสุด100% ในวันที่ 12 ของการทดลอง ในทุกกรรมวิธีที่ใส่เชื้อราเขียว

ผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวที่เก็บในห้องเย็นอุณหภูมิ 6 °C ภายในระยะเวลา 1 ปี พบว่าอัตราการตายของหนอนด้วงแรดเนื่องจากการติดเชื้อส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 8 – 14 วันของการทดลอง โดยส่วนใหญ่พบการติดเชื้ออย่างสมบูรณ์ (100%) ในวันที่ 14 ของการทดลอง อัตราการตายยังเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอในระยะเวลา 1 ปี แสดงว่าการเก็บเชื้อที่อุณหภูมิ 6 °C ยังคงรักษาประสิทธิภาพเชื้อไว้ได้ดี และเมื่อตรวจสอบการงอกของเชื้อราเขียวภายในช่วงเวลาเดียวกัน พบว่าเชื้อราเขียวยังคงมีประสิทธิภาพการงอกค่อนข้างใกล้เคียงกันในช่วงเวลา 10 เดือนแรกของการทดลอง และประสิทธิภาพจะเริ่มลดลงในเดือนที่ 11 และ 12 ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะนำไปใช้ในการพัฒนาการผลิตและการใช้เชื้อราเขียวต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2528. สารฆ่าแมลง หลักการและวิธีการใช้. เอกสารประกอบการเรียนการสอน ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. จำนวน 256 หน้า.

มลิวัลย์ ปันยารชุน, สุรพล ตรุยานนท์, คนอง คลอดเพ็ง และอานุภาพ ธีรกุล .2525. ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวต่อด้วงแรดมะพร้าว,น.1-17. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2529 กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, วัชรี สมสุข และสุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต . 2551. การเก็บรักษาเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ในรูปผง. หน้า 710 - 719. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551 เล่ม 2. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และ อนุวัฒน์ จันทรสุวรรณ .2548. การวิจัยและพัฒนาการผลิตและใช้เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* เพื่อประโยชน์ทางการเกษตร. หน้า 543 - 565. *ใน* รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี 2548 เล่ม 1. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, วัชรี สมสุข, อภิรัชต์ สมฤทธิ์, สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และสาทิพย์ มาลี .2549. พัฒนาการผลิตเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* (metsch) Sorokin. ในรูปแบบผงเชื้อ. หน้า 131 - 143. *ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8 ระหว่างวันที่ 20 – 22 พฤศจิกายน 2550 ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน อ. เมือง จ.พิษณุโลก

Milner, R.J. 2000. Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. *Biocontrol* News and Information. 21(2): 47N – 50N.

Thomas, M.B., J. Klass and S. Blanford. 2000. The year of the locust. Pesticide Outlook. 11:192-195.

ตารางที่ 1 ช่วงเวลาการเป็นโรคและอัตราการตายของหนอนด้วงแรดมะพร้าว เมื่อใส่เชื้อราเขียวรูปแบบผงในปริมาณที่แตกต่างกัน 5 อัตรา ผสมกับมะพร้าวสับ 1,000 กรัม

ปริมาตร (กรัม)	จำนวน (ตัว)	อัตราการตายที่แท้จริง (%)[1/]					
		วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12
250 กรัม	60	0	0	0	5.00 ab[2/]	78.33 a	100 a
500 กรัม	60	0	0	0	6.67 ab	85.00 a	100 a
750 กรัม	60	0	0	0	15.00 a	80.00 a	100 a
1,000 กรัม	60	0	0	0	10.00 a	86.67 a	100 a
น้ำเปล่า (control)	60	0	0	0	0 b	0 b	0 b
cv		-	-	-	76.7%	11.6%	0.0%

[1/] อัตราการตายที่แท้จริง(%) คำนวณโดยใช้ สูตร Abbott : $\frac{x-y}{x} \times 100$ (ขวัญชัย, 2528)

X = เปอร์เซ็นต์อยู่รอดใน untreated control

Y = เปอร์เซ็นต์อยู่รอดในแมลงทดลอง

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ทดสอบโดยใช้ DMRT)

ตารางที่ 2 ช่วงเวลาการเป็นโรคและอัตราการตายของหนอนด้วงแรดมะพร้าว เมื่อใช้เชื้อราเขียวรูปแบบผงที่เก็บในห้องเย็นอุณหภูมิ 6 °C ภายในช่วงเวลา 1 ปี โดยใช้ทดสอบที่อัตรา 250 กรัม ต่อมะพร้าวสับ 1,000 กรัม

เดือน	จำนวน (ตัว)	อัตราการตายที่แท้จริง (%)[1/]						
		วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12	วันที่ 14
เดือนที่ 0	100	0	0	0	14	93	100	-
เดือนที่ 1	100	0	0	0	2	70	100	-
เดือนที่ 2	100	0	1	-4.21[2/]	-7.78	31.11	64.44	100
เดือนที่ 3	100	0	0	0	0	31	87	100
เดือนที่ 4	100	0	0	0	79	87.37	97.89	100
เดือนที่ 5	100	0	0	4	11	68	97	100
เดือนที่ 6	100	0	0	1	12	93	98	100
เดือนที่ 7	100	0	0	0	20	94	100	-
เดือนที่ 8	100	0	0	0	27	100	-	-
เดือนที่ 9	100	0	0	9	23	69	95	100
เดือนที่ 10	100	0	0	0	1.00	62	98	100
เดือนที่ 11	100	0	2	2	28	87	100	-
เดือนที่ 12	100	0	0	2	23	90	95	100
น้ำเปล่า (control)	100	-	-	-	-	-	-	-

[1/] อัตราการตายที่แท้จริง(%) คำนวณโดยใช้ สูตร Abbott : $\frac{x-y}{X} \times 100$ (ขวัญชัย,2528)

X = เปอร์เซ็นต์อยู่รอดใน untreated control

Y = เปอร์เซ็นต์อยู่รอดในแมลงทดลอง

[2/] ค่าติดลบเกิดจากตัวหนอนใน control มีการตายจากเชื้อแบคทีเรียมากกว่าหนอนใน treatment

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพการงอกของเชื้อราเขียวที่เก็บในอุณหภูมิห้องเย็น 6 ± 1 ^{O}C ในระยะเวลา 1 ปี

เดือน	ประสิทธิภาพการงอกของเชื้อราเขียว (1 X 10^{6} cfu/ มล.)
เดือนที่ 0	5.83 b[1/]
เดือนที่ 1	12.77 a
เดือนที่ 2	5.80 b
เดือนที่ 3	1.87 bc
เดือนที่ 4	6.30 b
เดือนที่ 5	4.20 bc
เดือนที่ 6	3.67 bc
เดือนที่ 7	2.93 bc
เดือนที่ 8	6.33 b
เดือนที่ 9	1.90 bc
เดือนที่ 10	2.10 bc
เดือนที่ 11	0.57 c
เดือนที่ 12	0.90 c
CV	84.1%

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ทดสอบโดยใช้ DMRT)