คู่มือ

การผลิตเชื้อจุลินทรีย์บีที กำจัดหนอนทุเรียน

เผยแพร่โดยโครงการ

"การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตจุลินทรีย์ เพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสวนทุเรียน"

ได้รับทุนอุดหนุนการทำกิจกรรมจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

จัดทำโดย

มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร

กิตติกรรมประกาศ

คู่มือฉบับนี้เป็นเอกสารประกอบการเผยแพร่ในโครงการ “การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตจุลินทรีย์ เพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสวนทุเรียน” ซึ่งได้รับทุนอุดหนุนการทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัยประเภทโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่กลุ่มเป้าหมายที่มีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ ภายใต้โครงการจัดการความรู้และถ่ายทอดเทคโนโลยีจากผลงานวิจัยและนวัตกรรม จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2559

คำนำ

คู่มือ “การผลิตเชื้อจุลินทรีย์บีที กำจัดหนอนทุเรียน” เล่มนี้ที่ได้จัดทำขึ้นเพื่อเผยแพร่องค์ความรู้และนวัตกรรมที่ได้จากการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์บีที เพื่อใช้ในการป้องกันและกำจัดหนอนในทุเรียน ภายใต้โครงการ “การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตจุลินทรีย์เพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสวนทุเรียน” โดยภายในเนื้อหาของคู่มือเล่มนี้ประกอบด้วย ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับจุลินทรีย์ เชื้อจุลินทรีย์บีที คุณสมบัติ ข้อดี ข้อจำกัดในการใช้ กรรมวิธีการผลิตเชื้อจุลินทรีย์บีที การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ การขยายหัวเชื้อจุลินทรีย์บีที การนำหัวเชื้อจุลินทรีย์มาขยายต่อ ตลอดจนวิธีการนำเชื้อจุลินทรีย์บีทีไปใช้ให้เกิดประสิทธิผลได้อย่างถูกต้อง และเหมาะสม เพื่อป้องกันและกำจัดหนอนในสวนทุเรียนจะสามารถเพิ่มผลิตภาพ โดยสามารถลดต้นทุนปัจจัยในการผลิต และเพิ่มผลผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้เกษตรมีรายได้เพิ่มมากขึ้น อีกทั้งได้ผลผลิตทางการเกษตรที่ปลอดภัยไร้สารพิษต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค มีคุณภาพชีวิตที่ดีทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค รวมถึงสิ่งแวดล้อม อันจะนำมาสู่ความยั่งยืนทางการเกษตรต่อไปในอนาคต

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าคู่มือเล่มนี้จะเป็นประโยชน์แก่เกษตรกรและผู้ที่สนใจในการนำเชื้อจุลินทรีย์บีทีมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตรเป็นอย่างดี

คณะผู้จัดทำ

พฤศจิกายน 2559

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	2
คำนำ	3
สารบัญ	4
บทที่ 1 จุลินทรีย์บีที	5
1.1 ความหมายของจุลินทรีย์	5
1.2 กลไกควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค	6
1.3 วิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์	8
1.4 จุลินทรีย์บาซิลลัส ทรูลินเจนซิส	9
1.5 คุณสมบัติทั่วไปของเชื้อจุลินทรีย์บีที	12
1.6 สารพิษที่สร้างโดยเชื้อจุลินทรีย์บีที	14
1.7 กลไกการเข้าทำลายแมลงของจุลินทรีย์บีที	16
บทที่ 2 การผลิตจุลินทรีย์	18
บทที่ 3 การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์บีที	19
3.1 วัสดุและอุปกรณ์การแยกเชื้อจุลินทรีย์บีที	19
3.2 วิธีเขี่ยแยกเชื้อจุลินทรีย์	20
บทที่ 4 การผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์บีที	22
4.1 วัสดุและอุปกรณ์การผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์บีที	22
4.2 วิธีผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์บีที	23
บทที่ 5 การขยายเชื้อจุลินทรีย์บีที	24
5.1 วัสดุและอุปกรณ์การขยายเชื้อจุลินทรีย์บีที	26
5.2 วิธีขยายเชื้อจุลินทรีย์บีที	27
บทที่ 6 โครงสร้างและการจัดตั้งถังผลิตจุลินทรีย์	28
6.1 อุปกรณ์ในการจัดทำโครงสร้างถังผลิตจุลินทรีย์	28
6.2 แผนผังการสร้างผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์	29
บทที่ 7 วิธีการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์บีที	30
7.1 วิธีการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์บีที	30
7.2 ข้อควรระวังในการใช้จุลินทรีย์บีที	30
เอกสารอ้างอิง	33

บทที่ 1
จุลินทรีย์บีที

1.1 ความหมายของจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ คือ สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน น้ำ เศษวัสดุทางการเกษตรต่างๆ จากการศึกษาสามารถจำแนกชนิดของจุลินทรีย์เป็นกลุ่มย่อยๆ ได้มากมาย แต่ที่จะนำมากล่าวนี้เป็นเพียงกลุ่มเดียว คือ แบคทีเรียบีที เพื่อให้เป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับคุณสมบัติทั่วไป วงจรชีวิต กลไกในการเข้าทำลายแมลง ข้อดีข้อจำกัดของเชื้อจุลินทรีย์บีที เทคนิคการใช้เชื้อจุลินทรีย์บีทีอย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อสร้างความรู้ ความเข้าใจ และความมั่นใจให้กับเกษตรกร รวมถึงผู้เกี่ยวข้องที่จะใช้ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

โรคและแมลงศัตรูพืชนับเป็นปัญหาสำคัญสำหรับการเพาะปลูกพืชที่สามารถทำความเสียหายให้แก่เกษตรกรผู้ปลูก ซึ่งอาจจะเกิดขึ้นตั้งแต่เริ่มเพาะปลูกจนกระทั่งหลังการเก็บเกี่ยว การควบคุมโรคพืชมีหลายวิธี แต่วิธีที่ง่ายและได้ผลเร็วก็คือการใช้สารเคมี แต่ก็จะเกิดปัญหาตามมาคือการดื้อต่อสารเคมีของเชื้อโรค การปนเปื้อน การตกค้างของสารเคมีในผลิตผลการเกษตร ในสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีผลต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภคด้วย

ในปัจจุบันได้มีการค้นคว้าหาวิธีการควบคุมโรคพืชใหม่ๆ เพื่อลดปัญหาอันตรายจากการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่เพิ่มขึ้น โดยให้เกษตรกรหันมาใช้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่ยอมรับว่าใช้ได้ผลดี ได้มีการศึกษาถึงกลไกการควบคุมโรค และระบบการควบคุมโรคโดยวิธีต่างๆ โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา เชื้อแบคทีเรียมักเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรคพืชโดยการแก่งแย่งอาหาร การยับยั้ง ทำลาย และการเป็นปรสิต งานวิจัยด้านการควบคุมโรคโดยวิธีชีวภาพ ส่วนใหญ่มักจะเน้นการศึกษาการควบคุมโรคที่ทำลายส่วนของพืชที่อยู่ใต้ดินมากกว่าเชื้อโรคที่เข้าทำลายส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน ปัจจุบันวิธีนี้เป็นที่ยอมรับว่าเป็นวิธีที่มีโอกาสสูงในการนำไปเป็นกลยุทธ์ในการป้องกันกำจัดโรค เพราะใช้ได้ผลดีจนถึงขั้นทำในระดับการค้า

1.2 กลไกควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค

ในธรรมชาติจะมีเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการนำมาใช้ควบคุมโรคพืช เรียกว่า เชื้อปฏิปักษ์ โดยเชื้อนี้จะมีกลไกควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคได้ 4 ลักษณะ คือ

1. การแข่งขัน โดยเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียที่มีความสามารถแข่งขันกับเชื้อโรคพืชในด้านต่างๆ เช่น การใช้ธาตุอาหาร อากาศ และการครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่าทำให้เชื้อโรคพืชไม่สามารถเจริญเติบโตหรืออาศัยอยู่ในบริเวณที่มีเชื้อปฏิปักษ์ พืชจะเจริญเติบโตแข็งแรงมีผลผลิตสูงขึ้น การแข่งขันที่พบมากคือการ

นำเอาธาตุอาหารหรือสารต่างๆ ที่มีอยู่ในดินหรือในสภาพแวดล้อมนั้นมาใช้ประโยชน์ในการเติบโต ทำให้เชื้อโรคขาดสารไม่สามารถเจริญเติบโตและเข้าทำลายพืช

2. การทำลายชีวิต โดยเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียที่ได้รับความสนใจคัดเลือกมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีนั้น จะเน้นคุณสมบัติการทำลายชีวิตของเชื้อโรคเป็นส่วนใหญ่โดยเชื้อจุลินทรีย์นี้มีความสามารถผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคได้ เช่น สารพิษ หรือสารปฏิชีวนะ ซึ่งพบว่าในกลไกชนิดนี้เป็นการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่สำเร็จเป็นครั้งแรกโดยเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรีย

3. การเป็นปรสิต เชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นปรสิตเข้าไปเจริญอาศัยทำลายสิ่งมีชีวิตอื่นนั้นพบได้ไม่มากนัก การใช้ควบคุมโรคพืชยังไม่ประสบความสำเร็จเหมือนปฏิกิริยาแบบการทำลายชีวิต

4. การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ เช่น เชื้อราหรือแบคทีเรีย โดยเฉพาะพวกที่เคยเป็นเชื้อโรค เมื่อนำมาทำให้เสียความสามารถในการทำให้เกิดโรคแล้วสามารถจะชักนำหรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการทำลายของเชื้อโรคได้

1.3 วิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์

การนำเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียไปใช้ในการควบคุมโรคพืช นิยมนำไปใช้กับโรคพืชที่เกิดบริเวณผิวราก หรือบริเวณผิวพืชที่อยู่เหนือดิน ซึ่งการใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคจะมีกรรมวิธีการใช้แตกต่างกัน

1. บริเวณผิวราก โดยจะมีกรรมวิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์เพื่อควบคุมโรคได้หลายแบบแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความสะดวกในการปฏิบัติของผู้ใช้และแต่ละวิธีอาจให้ประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ไม่เท่ากัน ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น คุณสมบัติของพืชเองและลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่มีหลายรูปแบบ

1.1 การคลุกเมล็ด นิยมใช้กับพืชที่ใช้เมล็ดในการเพาะปลูก โดยเมล็ดจะต้องมีขนาดไม่ใหญ่มากนัก ช่วยให้คลุกง่ายและไม่สิ้นเปลืองผลเชื้อ มักนิยมคลุกเมล็ดก่อนปลูก

1.2 การราดดิน เป็นวิธีที่นิยมปฏิบัติกันมาก แต่จะไม่ค่อยสะดวก หากจะนำไปใช้ในสภาพไร่ของเกษตรที่น้ำไม่เพียงพอ และถ้าปลูกพืชเป็นปริมาณมากก็จะยิ่งไม่สะดวกในการปฏิบัติ

1.3 การคลุกดิน ซึ่งเป็นวิธีการนำเอาผงเชื้อหรือสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ใส่ไปในดินและคลุกเคล้าผสมกันให้ทั่วก่อนปลูกพืช ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ค่อนข้างสะดวก

1.4 การจุ่มราก เป็นวิธีที่นิยมใช้กันกับพืชที่ ต้องเพาะเมล็ดแล้วย้ายกล้าไปปลูก เช่น มะเขือเทศ พริก หรือพืชที่มีเมล็ดพันธุ์ราคาแพง วิธีนี้จะทำให้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคได้ดี เพราะรากจะสัมผัสกับเชื้อได้หมดทุกส่วน ไม่ก่อให้เกิดช่องว่างให้เชื้อโรคเข้าทำลาย

2. บริเวณผิวพืชอยู่เหนือดิน มีวิธีใช้ที่นิยม 2 วิธีคือ

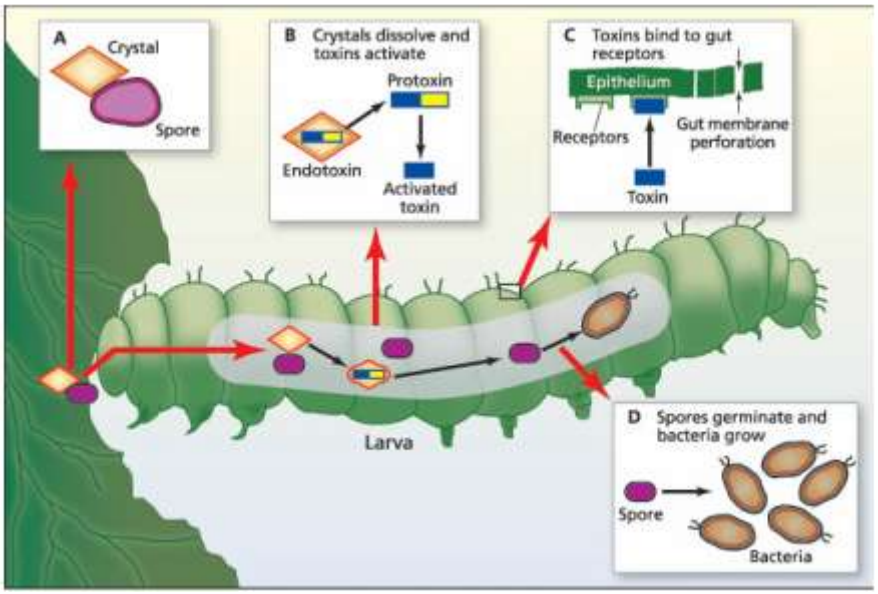
2.1 วิธีการทา เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชยืนต้นที่ถูกทำลายโดยมีแผลปรากฏให้เห็นชัดเจนบนส่วนของต้นหรือกิ่ง บริเวณที่สามารถนำเอาเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมให้มีความเข้มข้นและเหนียวไปทา เพื่อให้ยึดติดกับผิวพืชได้คงทน

2.2 วิธีการพ่น เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชที่ปลูกเป็นปริมาณมากหรือมีลำต้นสูง ซึ่งใช้หลักการปฏิบัติเช่นเดียวกับการพ่นสารเคมีกำจัดโรคพืช

1.4 จุลินทรีย์บาซิลลัส ทรูลินเจนซิส

เชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียบาซิลลัส ทูรินเจนซีส (*Bacillus thuringiensis*) เรียกว่า “BT” หรือ “บีที” ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวกที่ทำหน้าที่เคลือบผิวของพืชสามารถสร้างสปอร์และพิษในรูปผลึกโปรตีนหลายรูปแบบ เนื่องจากผลึกโปรตีนที่สร้างขึ้นนี้มีฤทธิ์ในการทำลายแมลงศัตรูชนิดต่างๆ เมื่อหนอน หรือตัวอ่อนของแมลงกินพืชที่มีผลึกโปรตีนนี้เข้าไป มีผลทำให้ส่วนปากและช่องท้องของหนอนเป็นอัมพาต พิษจะเข้าทำลาย

ผนังช่องท้องของแมลงศัตรูพืช โดยจะเข้าทำลายเซลล์ผนังกระเพาะอาหารของแมลงให้บวมและแตกออก เชื้อจุลินทรีย์บีทีในกระเพาะอาหารจะไหลเข้าสู่ช่องว่างภายในลำตัวของแมลงทำให้แมลงศัตรูพืชหยุดการกินอาหารมีการเคลื่อนไหวที่ช้าลงและตาย เนื่องจากขาดอาหารมีผลกระทบต่อระบบไหลเวียนโลหิต ทำให้แมลงมีอาการโลหิตเป็นพิษชักกระตุกเป็นอัมพาตและจะตายในที่สุด ปัจจุบันเชื้อจุลินทรีย์บีทีได้เข้ามามีบทบาทในการควบคุมแมลงศัตรูสำคัญทั้งทางด้านการเกษตร เช่น การนำมาพัฒนาเป็นสารกำจัดหนอนแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจ เช่น หนอนใยผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนเจาะผลทุเรียน อีกทั้งยังให้ผลดีกับการควบคุมเชื้อรายอดพืช และควบคุมตัวอ่อนของหนอน



ภาพที่ 1 แสดงการเข้าทำลายหนอนของเชื้อจุลินทรีย์บีที

เชื้อจุลินทรีย์บีทีมีศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชมานานแล้ว ปัจจุบันได้มีการค้นคว้าวิจัยในประเทศไทย และสามารถนำเชื้อที่แยกได้ในประเทศมาใช้ประโยชน์ โดยการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดที่ต้องการทั้งในห้องปฏิบัติการ สภาพเรือนปลูกทดลอง และสภาพแปลงปลูกของเกษตรกร โดยเชื้อจุลินทรีย์บีทีที่แยกได้ในประเทศนั้นย่อมมีความเหมาะสมและมีศักยภาพสูงในการกำจัดศัตรูของประเทศเรา รวมถึงเมื่อนำมาใช้นั้นเชื้อจุลินทรีย์บีทีต้องอยู่ในสภาพธรรมชาติจึงจะสามารถมีชีวิตและปรับตัวให้อยู่รอดได้ดี สามารถขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณในสภาพแวดล้อมได้อย่างต่อเนื่อง เพราะเป็นสภาพถิ่นอาศัยเดิม ถ้าสภาพเหมาะสมเชื้อจุลินทรีย์บีทีจะคงอยู่และสร้างผลึกโปรตีนซึ่งเป็นพิษและฆ่าแมลงศัตรูพืชได้ต่อไปเรื่อยๆ หลังจากนั้นนำมาเพิ่มปริมาณในสภาวะที่เหมาะสมและปลอดเชื้อ โดยเลือกใช้วัสดุและกากเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมในประเทศเพื่อลดต้นทุนการผลิต และสนับสนุนให้เกษตรกรได้นำมาใช้ในการกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่องและปลอดภัยอันจะเป็นการพัฒนาทรัพยากรธรรมชาติมาใช้อย่างยั่งยืนซึ่งลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลงซึ่งนับวันจะสร้างความเสื่อมโทรมให้กับสุขภาพร่างกายของมนุษย์สิ่งมีชีวิตอื่นๆ และสิ่งแวดล้อม

1.5 คุณสมบัติทั่วไปของเชื้อจุลินทรีย์บีที

เชื้อจุลินทรีย์บีทีกระจายตัวอยู่ตามธรรมชาติทั้งในดิน ในน้ำ ตัวอ่อนของแมลง เศษใบพืชที่ย่อยสลาย รำข้าวและฝุ่นละอองตามโรงเก็บเมล็ดพันธุ์ โดยปัจจุบันพบบีทีทั่วโลก ประมาณกว่า 70 สายพันธุ์ ในประเทศไทยพบแล้ว 17 สายพันธุ์ และคาดว่าจะพบสายพันธุ์อื่นๆ รวมทั้งสายพันธุ์ใหม่อีกมาก เรานำเชื้อจุลินทรีย์บีทีมาใช้ประโยชน์โดยการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจซึ่งส่วนใหญ่การศึกษาวิจัยเน้นแมลงศัตรูที่ดื้อต่อสารเคมีสังเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์บีทีที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถนำมาใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชทดแทนสารเคมี

เชื้อจุลินทรีย์บีทีเป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์รูปแท่งต่อกันเป็นสายลูกโซ่สร้างสปอร์และผลึกโปรตีนซึ่งมีส่วนประกอบของเดลต้า เอนโดท๊อกซิน ที่มีฤทธิ์ในการทำลายแมลง ผลึกโปรตีนจำแนกเป็น 6 กลุ่มใหญ่โดยอาศัยความเป็นพิษอย่างเฉพาะเจาะจงต่ออันดับของแมลงและความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่สร้างโปรตีน ได้แก่

กลุ่มที่ 1 โปรตีน Cry I (A-H) เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 130-140 กิโลดาลตัน เป็นผลึกรูปปิรามิดคู่ มีความเป็นพิษต่อหนอนผีเสื้อในอันดับ Lepidoptera

กลุ่มที่ 2 โปรตีน Cry II (A, B และ C) เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 70 กิโลดาลตัน เป็นผลึกรูปสี่เหลี่ยมลูกบาศก์

มีความเป็นพิษต่อหนอนผีเสื้อในอันดับ Lepidoptera และหนอนแมลงวันในอันดับ Diptera

กลุ่มที่ 3 โปรตีน Cry III เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 72-75 กิโลดาลตัน ซึ่งมีความเป็นพิษต่อหนอนด้วงในอันดับ Coleoptera

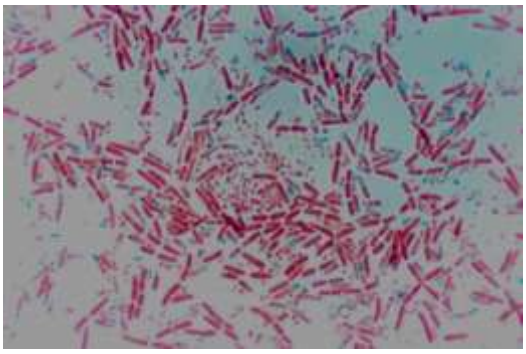
กลุ่มที่ 4 โปรตีน Cry IV (A, B, C และ D) เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 135, 128, 74 และ 72 กิโลดาลตันตามลำดับ ซึ่งมีความเป็นพิษต่อหนอนแมลงวันในอันดับ Diptera เช่น ลูกน้ำยุง

กลุ่มที่ 5 โปรตีน Cry V มีความเป็นพิษต่อหนอนผีเสื้อในอันดับ Lepidoptera และหนอนด้วงในอันดับ Coleoptera

กลุ่มที่ 6 โปรตีน Cyt A และ Cyt B พบในบีทีที่มีพิษต่อลูกน้ำยุง

ปัจจุบันนักวิจัยได้จำแนกกลุ่มผลึกโปรตีนโดยใช้ตัวเลขอาราบิคมาแทนตัวเลขโรมัน โดยมีลำดับตั้งแต่ 1-40 และเมื่อพบกลุ่มใหม่จะเพิ่มจำนวนเลขขึ้นไปเรื่อยๆ ส่วนโปรตีน Cyt หรือ Cytolytic toxin มีกลุ่ม A และ B ซึ่งแยกเป็นกลุ่มย่อยตามคุณสมบัติความเป็นพิษเช่นกัน

ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์บีทีเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ นาน 24 ชั่วโมง มีสีขาวขุ่น ขอบไม่เรียบ



ภาพที่ 3 เชื้อจุลินทรีย์บีทีอายุ 48 ชั่วโมง สร้างเซลล์ (c) รูปแท่งสปอร์ (sp) ติดสีเขียวของ malachite green และผลึกโปรตีน(cp) ติดสีแดงของ safranin o

1.6 สารพิษที่สร้างโดยเชื้อจุลินทรีย์บีที

เชื้อจุลินทรีย์บีทีสร้างสารพิษได้หลายชนิดซึ่งสายพันธุ์ที่ต่างกันสามารถสร้างสารพิษที่มีคุณสมบัติเฉพาะเจาะจงกับแมลงต่างชนิดกันไป และมีความเป็นพิษมากน้อยแตกต่างกัน สารพิษส่วนใหญ่ที่จุลินทรีย์บีทีสร้างขึ้นมามีอยู่ 4 ชนิดหลัก คือ

1. เดลต้า เอนโดท๊อกซิน เป็นสารพิษชนิดที่นำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ไม่ทนต่อความร้อน ผลึกประกอบด้วยกลุ่มโมเลกุลของโปรตีนซึ่งมีทั้งสารพิษและเอนไซม์เกาะกันเป็นรูปดัมเบลล์

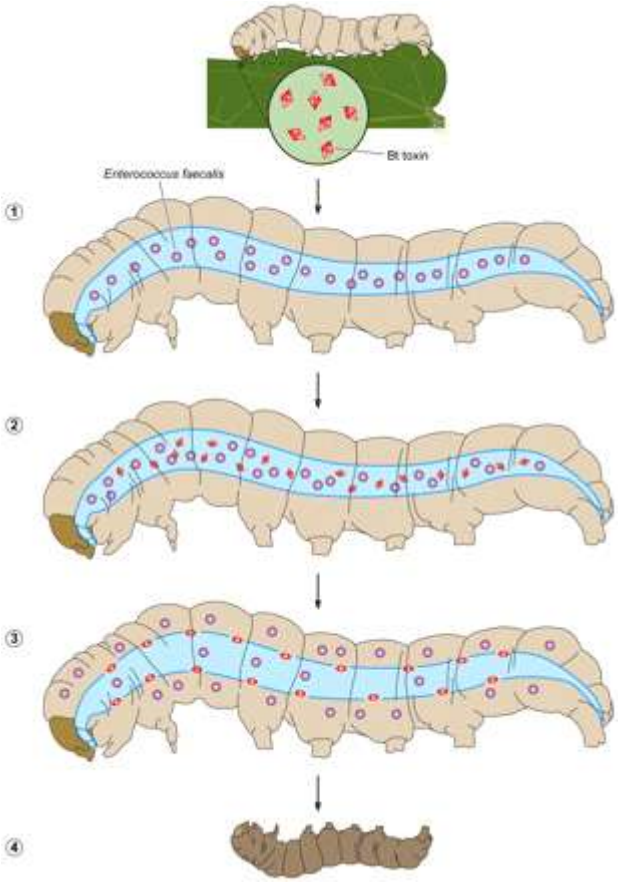
2. เบต้า เอ็กโซท็อกซิน เป็นสารพิษที่สร้างขึ้นภายนอกเซลล์ สามารถละลายน้ำได้ ไม่ทนต่อความร้อน มีคุณสมบัติในการทำลายเม็ดเลือด ขัดขวางการทำงานของระบบสรีรวิทยาหลายอย่างในตัวแมลง แมลงที่ได้รับสารพิษชนิดนี้เข้าไปจะเจริญเติบโตช้า ไม่เข้าดักแด้ หรือถ้าเข้าดักแด้จะไม่ออกเป็นตัวเต็มวัย

3. อัลฟา เอ็กโซท็อกซิน สารพิษชนิดนี้สร้างขึ้นก่อนการสร้างสปอร์ น้ำหนักโมเลกุลต่ำ แต่ทนความร้อนได้สูงถึง 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที มีความเป็นพิษต่อหนอนผีเสื้อในอันดับ Lepidoptera, หนอนแมลงวันในอันดับ Diptera และหนอนด้วงในอันดับ Coleoptera โดยมีผลต่อระบบฮอร์โมน กระบวนการเมทาบอลิซึม และการสร้างเอนไซม์ต่างๆ แมลงที่กินสารพิษนี้เข้าไป จะทำให้รูปร่างเปลี่ยนแปลง ตัวเต็มวัยไม่สมบูรณ์ วงชีวิตจะสั้นและไม่สามารถสืบพันธุ์ได้ โดยในปัจจุบันยังไม่มีการอนุญาตให้มีสารพิษชนิดนี้ในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์บีทีที่จำหน่ายเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช

4. แกมมา เอ็กโซท็อกซิน เป็นสารพิษที่ไม่ทนต่อความร้อน อ่อนแอต่อสภาพอากาศ ก๊าซออกซิเจนและแสงอาทิตย์ ที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส จะถูกทำลายภายใน 10-15 นาที กลไกการเข้าทำลายแมลงของสารพิษชนิดนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

1.7 กลไกการเข้าทำลายแมลงของเชื้อจุลินทรีย์บีที

เชื้อจุลินทรีย์บีทีจะเข้าทำลายแมลงได้เมื่อแมลงกินเชื้อจุลินทรีย์บีทีซึ่งมีส่วนประกอบของสปอร์และผลึกโปรตีนเข้าไปในกระเพาะอาหารโดยสภาพความเป็นด่างในกระเพาะอาหารส่วนกลาง จะช่วยย่อยสลายผลึกโปรตีนขนาดใหญ่ให้ได้ protoxin และน้ำย่อยโปรตีนจะช่วยย่อยสลาย protoxin ได้สารพิษที่จะเข้าทำลายเซลล์ผนังกระเพาะอาหารซึ่งสารพิษจากเชื้อจุลินทรีย์บีทีสายพันธุ์ต่างๆ ซึ่งจะเฉพาะเจาะจงกับจุดเข้าทำลายที่ผนังกระเพาะอาหารของแมลงแต่ละชนิด เมื่อเซลล์ผนังกระเพาะอาหารถูกทำลายจะบวมและแตกออกเกิดเป็นรอยแยกที่ผนังกระเพาะอาหารทำให้อาหาร ของเหลว และเอนไซม์ต่างๆ ที่มีอยู่ภายในกระเพาะอาหารซึ่งมีสภาพเป็นด่างไหลออกมาปะปนกับน้ำเลือดในช่องว่างของลำตัวแมลงซึ่งมีสภาพเป็นกรดมีผลให้แมลงหยุดกินอาหารเคลื่อนไหวเชื่องช้า แสดงอาการโลหิตเป็นพิษ ชักกระตุก เป็นอัมพาตและตายในที่สุด



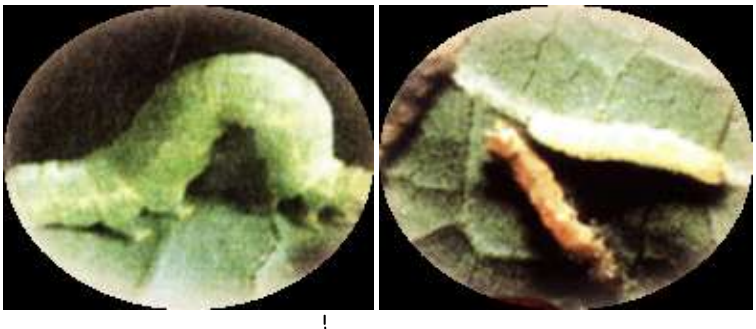
แมลงกินเชื้อจุลินทรีย์บีทีซึ่งมีส่วนประกอบของสปอร์ และผลึกโปรตีนเข้าไปในกระเพาะอาหาร

สภาพความเป็นด่างจะช่วยย่อยสลายผลึกโปรตีนได้สารพิษเข้าทำลายเซลล์ผนังกระเพาะอาหาร

อาหาร ของเหลว เอนไซม์ต่างๆ ที่อยู่ภายในกระเพาะอาหารไหลออกมาปะปนกับน้ำเลือดในช่องว่างของลำตัวหนอน

หนอนหยุดกินอาหาร เคลื่อนไหวช้าลง แสดงอาการโลหิตเป็นพิษ ชักกระตุก เป็นอัมพาต และตายในที่สุด

ภาพที่ 4 กลไกการเข้าทำลายแมลงของเชื้อจุลินทรีย์บีที



ภาพที่ 5

ลักษณะของหนอนที่ได้รับเชื้อจุลินทรีย์บีที

หนอนคืบหยุดกินอาหารและจะตายจากหลังจากได้รับเชื้อ

บทที่ 2
การผลิตจุลินทรีย์

การผลิตจุลินทรีย์ คือการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น ทางด้านการเกษตร ด้านอุตสาหกรรมอาหาร รวมถึงทางด้านการแพทย์ โดยมีกระบวนการผลิตและขั้นตอนหลักๆ ดังนี้

1. ขั้นตอนการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ให้มีความบริสุทธิ์ เพราะจุลินทรีย์ที่ได้มาอาจมีการปะปนจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ
2. ขั้นตอนการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ เป็นขั้นตอนการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่แยกได้จากในขั้นตอนแรกให้มีเชื้อจุลินทรีย์มีความหนาแน่นมากที่สุด
3. ขั้นตอนการขยายเชื้อจุลินทรีย์ คือขั้นตอนที่นำเอาหัวเชื้อจุลินทรีย์มาขยายเพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์มากขึ้นให้เพียงพอต่อการนำไปใช้ของเกษตรกร ซึ่งหัวเชื้อที่ได้จากขั้นตอนนี้นั้นเกษตรกรสามารถนำใช้และนำไปขยายต่อได้อีกประมาณ 3-4 ครั้ง เพราะถ้าหากว่าขยายต่อไปปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะลดปริมาณลง และส่งผลให้ประสิทธิภาพในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการกำจัดศัตรูพืชลดลง เนื่องจากเป็นการขยายเชื้อต่อมาจากเชื้อที่ขยายมาแล้ว เกษตรกรจึงต้องนำหัวเชื้อจุลินทรีย์มาขยายใหม่ทุกครั้งหลังจากการขยายต่อไปแล้ว 3-4 ครั้ง

บทที่ 3
การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์บีที

การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์บีที มีวัตถุประสงค์เพื่อทำให้เชื้อบีทีมีความบริสุทธิ์ เพราะจุลินทรีย์ที่ได้มาจากการคัดเลือกและแยกเชื้ออาจมีการปะปนจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ จึงจำเป็นที่จะต้องทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์บีทีให้บริสุทธิ์มากที่สุด

3.1 วัสดุและอุปกรณ์การแยกเชื้อจุลินทรีย์บีที

1. เชื้อจุลินทรีย์บีที
2. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
3. อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ NA Agar
4. ตู้เขี่ยเชื้อ
5. จานเพาะเชื้อ
6. เข็มเขี่ยเชื้อ
7. ตะเกียงแอลกอฮอล์

ภาพที่ 6 วัสดุและอุปกรณ์การแยกเชื้อจุลินทรีย์บีที

3.2 วิธีการเขี่ยแยกเชื้อ มีขั้นตอนปฏิบัติดังนี้

1.ใช้ลวดเขี่ยเชื้อ ตักเชื้อผสมมาแตะที่ผิววุ้นใกล้ๆ ขอบใดขอบหนึ่งของจานเพาะเชื้อ แล้วลากลวดเขี่ยเชื้อเบาๆ โดยใช้ด้านแบนของปลายลวดแตะ บนผิววุ้นไปมา 4-5 เส้น แต่ละเส้นให้ใกล้กันที่สุดเท่าที่จะทำได้ ระวังอย่าให้ลวดเขี่ยเชื้อฝังลงไปในวุ้น และปิดฝาจาน

2.เผาลวดเขี่ยเชื้อให้แดง แล้วปล่อยให้เย็นในอากาศใกล้กับบริเวณเปลวไฟ ซึ่งเป็นบริเวณที่ปลอดเชื้อ

3.หมุนจานเล็กน้อยให้เหมาะและถนัดในการทำ การเขี่ยครั้งที่สองให้เปิดฝาจานทำการเขี่ยในลักษณะที่ให้ลวดเขี่ยเชื้อผ่านเชื้อที่แตะไว้ในครั้งแรก ลากไปมาบนผิววุ้น 5-6 เส้น พยายามบังคับมือให้ขีดเส้นใกล้กันที่สุด

4.ทำเช่นเดียวกันในครั้งที่ 3 และที่ 4 โดยอาจไม่ต้องเผาลวดเขี่ยเชื้อ แต่ระวังอย่าให้ลวดเขี่ยเชื้อไปแตะเชื้อตามแนวเส้นที่ได้เขี่ยไว้ก่อน ดังภาพ

ภาพที่ 7 แสดงการเขี่ยแยกเชื้อจุลินทรีย์บีที

ภาพที่ 8 แสดงการเขี่ยแยกเชื้อจุลินทรีย์บีที

5.บ่มเชื้อไว้ในลักษณะคว่ำจานที่อุณหภูมิห้องหรืออุณหภูมิที่กำหนดจนกว่ามีโคโลนีเดียวๆ เจริญใหญ่พอที่จะเขี่ยเชื้อได้สะดวก ซึ่งปกติแล้วใช้เวลา 24-48 ชั่วโมง

ประสิทธิภาพ/ข้อดี

การแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธีนี้ คือใช้เครื่องมือน้อย สะดวก รวดเร็ว และใช้ตัวอย่างเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงนิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ

ข้อจำกัด

1. การใช้เทคนิคแยกเชื้อบริสุทธิ์ต้องสะอาด ทั้งอุปกรณ์และผู้ปฏิบัติ

2. เทคนิคแยกเชื้อบริสุทธิ์ ต้องระวังการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่น

3. จะเขี่ยแยกเชื้อทุกครั้งจะต้องปลอดเชื้อ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่น

บทที่ 4
การผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์บีที

การผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์บีทีเป็นขั้นตอนในการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์บีทีที่คัดเลือกและเขี่ยแยกได้จากในขั้นตอนแรก โดยเป็นการเพิ่มให้มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความหนาแน่นมากขึ้น เพื่อจะนำเอาไปใช้ต่อในขั้นตอนการขยายหัวเชื้อต่อไป เพราะถ้าจุลินทรีย์มีความหนาแน่นน้อยจะส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์

4.1 วัสดุและอุปกรณ์การผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์บีที

1. เชื้อจุลินทรีย์บีทีที่ผ่านการแยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์
2. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
3. อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ NA
4. ตู้เขี่ยเชื้อ
5. ขวดรูปชมพู่
6. เข็มเขี่ยเชื้อ
7. ตะเกียงแอลกอฮอล์
8. เครื่องเขย่า

4.2 วิธีผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์บีที

1. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบอาหารเหลว NA Broth
2. นำเชื้อบีทีที่แยกได้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ จากข้อ 2.2 มาใส่ในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารเหลว NA Broth
3. นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7-14 วัน จะได้หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่พร้อมให้เกษตรกรนำไปขยายต่อ

ภาพที่ 9 การเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บีทีโดยการเขย่าด้วยเครื่อง

บทที่ 5
การขยายเชื้อจุลินทรีย์บีที

การขยายเชื้อจุลินทรีย์จุลินทรีย์ คือขั้นตอนที่นำเอาหัวเชื้อจุลินทรีย์บีทีมาขยายเพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์มากขึ้นให้เพียงพอต่อการนำไปใช้ของเกษตรกร ซึ่งจุลินทรีย์ที่ได้จากขั้นตอนนี้จะเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่เกษตรกรนำไปใช้ โดยเชื้อจุลินทรีย์บีทีที่ได้จากขั้นตอนนี้นั้นเกษตรกรสามารถนำใช้และนำไปขยายต่อได้อีกประมาณ 3-4 ครั้ง เพราะถ้าหากว่าขยายต่อไปปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะลดปริมาณลง และส่งผลให้ประสิทธิภาพในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการกำจัดศัตรูพืชลดลง เนื่องจากเป็นการขยายเชื้อต่อมาจากเชื้อที่ขยายมาแล้ว เกษตรกรจึงต้องนำหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากห้องปฏิบัติการมาขยายใหม่ทุกครั้งหลังจากการขยายต่อไปแล้ว 3-4 ครั้ง

ปัจจุบันเทคโนโลยีการหมักมีความเจริญก้าวหน้าเป็นอย่างยิ่ง เชื้อบีทีสามารถเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณให้ได้มากๆซึ่งจะอาศัยกระบวนการหมักโดยใช้ถังหมักขนาดใหญ่ซึ่งใช้อาหารเหลวที่มีส่วนประกอบของสารอาหารคาร์บอนและไนโตรเจนในอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการผลิตสารพิษ นอกจากนี้ยังต้องมีวิตามินและแร่ธาตุต่างๆที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บีที และต้องมีการควบคุมอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่างของอาหาร ทั้งการถ่ายเทอากาศภายในถังหมัก

ตลอดจนรูปแบบของการเพาะเลี้ยงเชื้อ เช่น การเพาะเลี้ยงแบบเบ็ดเสร็จ แบบครั้งคราวและการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง เป็นต้น ล้วนต้องมีการศึกษาและค้นคว้า เพื่อช่วยในการส่งเสริมการผลิตให้ได้แบคทีเรียบีทีในปริมาณที่มากทั้งสิ้นจากนั้นจะผ่านกระบวนการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์เพื่อที่จะแยกเชื้อบีทีออกจากอาหารเหลว โดยผลิตภัณฑ์ที่ออกมาจะอยู่ในรูปผงละลายน้ำหรือน้ำเข้มข้น เป็นต้น

จุดประสงค์หลักของการทำหมักคือทำให้เชื้อจุลินทรีย์บีทีที่ผลิตได้สามารถที่จะเก็บรักษาไว้ได้ในสภาพแวดล้อมปกติได้นาน และเพื่อให้ใช้ได้ง่าย สามารถนำไปพ่นควบคุมศัตรูพืชในแปลงปลูกได้สะดวกและคงอยู่บนต้นพืชได้นานทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี เช่น การทนต่อรังสีอุลตร้าไวโอเลต การทนต่อแสงแดด เป็นต้น ดังนั้นในการหมักจึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งต่อผลิตภัณฑ์ จึงจะเห็นได้ว่าการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ในรูปแบบการค้าจึงมีการปกปิดเป็นความลับ โดยผลิตภัณฑ์บีทีที่ได้จากการพัฒนาสูตร และขายเป็นการค้าที่เห็นกันทั่วไปจะมี 2 รูปแบบ คือ สูตรแบบผงละลายน้ำและสูตรน้ำเข้มข้นหลังจากนั้นจะนำการบรรจุผลิตภัณฑ์ลงในขวดพลาสติกทึบแสงหรือขวดแก้วสีชาที่ปิดสนิททั้งนี้เพื่อป้องกันรังสี UV จากแสงแดด และป้องกันการระเหยของผลิตภัณฑ์ด้วย

5.1 วัสดุและอุปกรณ์การขยายเชื้อจุลินทรีย์บีที

ส่วนผสม

1. หัวเชื้อจุลินทรีย์บีที	1 ลิตร (ส่วน)
2. น้ำสะอาด	20 ลิตร (ส่วน)
3. น้ำมะพร้าว	1 ลิตร (ส่วน)

4. นมข้นหวาน	2 กระป๋อง
5. กากน้ำตาลหรือน้ำตาลธรรมชาติ	2 ลิตร (ส่วน)
6. กลูโคส	100 กรัม
7. มันฝรั่งต้มบดละเอียด	200 กรัม

5.2 วิธีขยายเชื้อจุลินทรีย์บีที

นำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมให้เข้ากัน

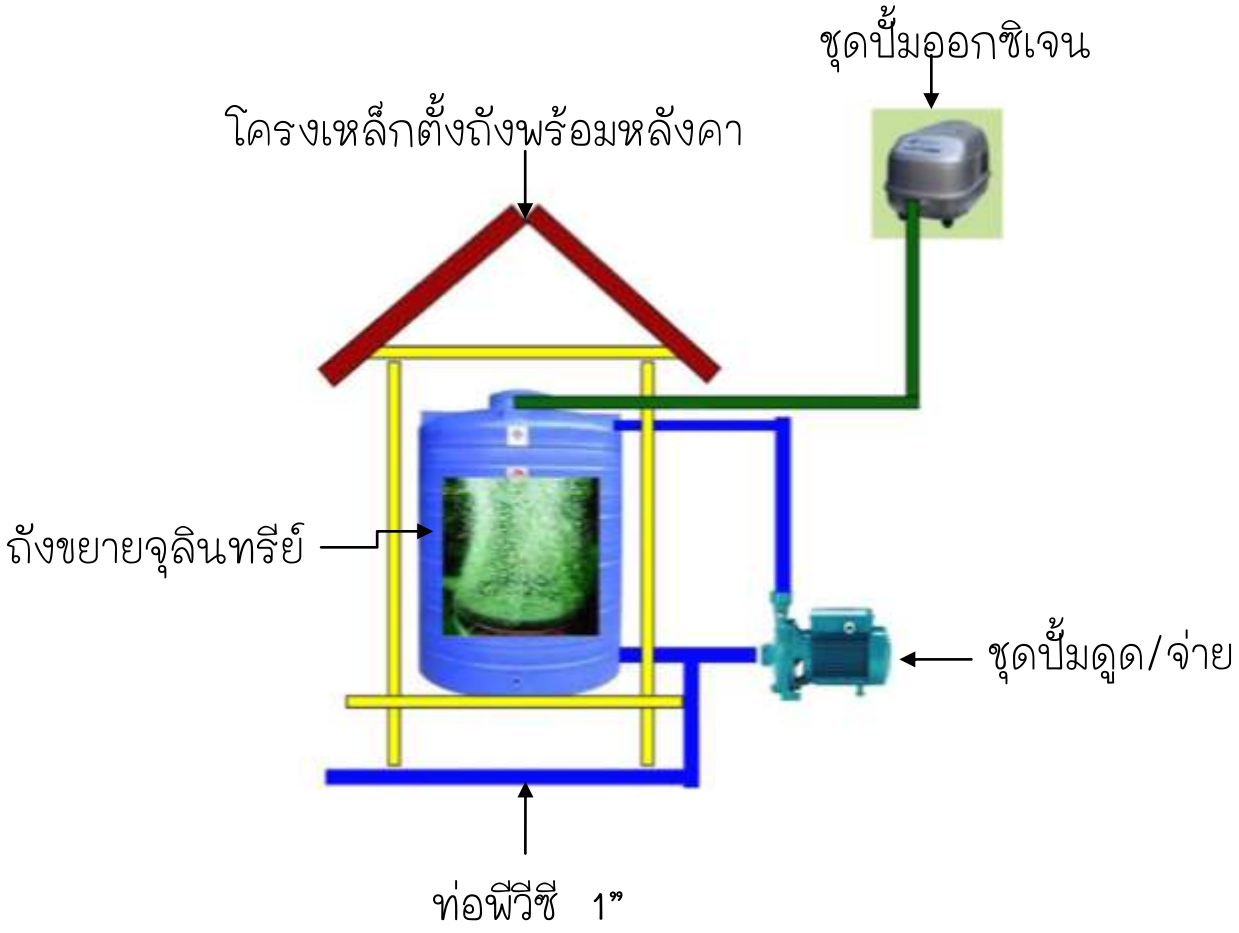
1. หมักส่วนผสมทั้งหมดไว้ในถังหรือแกลลอนที่สะอาดมีฝาปิดมิดชิด
2. เปิดปั๊มลมแล้วหมักทิ้งไว้ 3 วันใช้เวลาในการหมัก 3 วันขึ้นไป
3. หลังจากนั้นเติมออกซิเจนทุกๆ 1-3 วัน

บทที่ 6
โครงสร้างและการจัดตั้งถังผลิตจุลินทรีย์

6.1 อุปกรณ์ในการจัดทำโครงสร้างถังผลิตจุลินทรีย์

1. ถังขยายหัวเชื้อจุลินทรีย์ ขนาด 1,000 ลิตร
2. ชุดปั้มจ่าย/ดูดน้ำและจุลินทรีย์ 1 ชุด
3. ชุดปั้มออกซิเจน 1 ชุด
4. ท่อพีวีซี ขนาด 1 นิ้ว จำนวน 6 เมตร
5. ชุดสายไฟ 1 ชุด
6. โครงสร้างเหล็กตั้งถังจุลินทรีย์

6.2 แผนผังการสร้างผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์



บทที่ 7
วิธีการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์บีที

7.1 วิธีการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์บีที

1. ใช้สำหรับกำจัดหนอนและแมลงในอัตราส่วน 100 ซีซีต่อต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นทุกๆ 7 วัน

2. ควรฉีดพ่นเมื่อแดดร่มหรือช่วงเย็น เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์บีที ถูกทำลายด้วยรังสียูวี และไม่ควรผสมเชื้อจุลินทรีย์บีทีกับสารกำจัดศัตรูพืชในคราวเดียวกัน เนื่องจากสารบางชนิดอาจทำให้เชื้อจุลินทรีย์บีทีเสื่อมประสิทธิภาพลงได้

3. ควรสำรวจแปลงปลูกพืช และตัวหนอนสัปดาห์ละ 2 ครั้ง และฉีดพ่นเมื่อพบหนอนเพื่อลดการระบายของหนอนลงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นควรใช้ควบคู่กับสารจับใบ

7.2 ข้อควรระวังในการใช้จุลินทรีย์บีที ดังนี้

1. สำรวจแปลงปลูกพืช สัปดาห์ละ 2 ครั้ง และฉีดพ่นเมื่อพบปริมาณแมลงศัตรูพืชถึงระดับควบคุม แต่ในกรณีที่ไม่สามารถลงสำรวจแปลงได้ จำเป็นต้องตามอัตราส่วนที่กำหนดและพึงระลึกอยู่เสมอว่า เชื้อบีทีให้ผลดีที่สุดต่อตัวอ่อนขนาดเล็ก และตัวอ่อนที่พึ่งฟักออกจากไข่ใหม่ๆ ให้ทำการควบคุมทันที เมื่อเริ่มสังเกตเห็นการทำลาย

2. ควรฉีดพ่นเชื้อจุลินทรีย์บีทีในเวลาเย็น แดดร่ม ลมสงบ ความชื้นสูง เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์บีทีจะเสื่อมประสิทธิภาพเมื่อถูกฉีดพ่นในช่วงเวลาที่มีแสงแดดรุนแรง

3. ควรฉีดพ่นให้ครอบคลุมด้านล่างของใบพืชเช่นเดียวกับด้านบน เพราะเป็นบริเวณที่หนอนเริ่มเข้ากัดกิน

4. ใช้หัวฉีดที่มีคุณภาพดี เพื่อให้ได้ละอองสารมีขนาดเล็กสม่ำเสมอ แรงดันสูงจากเครื่องฉีดพ่น จะทำให้การฉีดพ่นทำได้ทั่วถึงครอบคลุมพื้นที่ และมีประสิทธิภาพมากขึ้น

5. ควรผสมเชื้อจุลินทรีย์บีทีกับสารจับใบหรือสารช่วยแพร่กระจายในการฉีดพ่นทุกครั้ง เพราะสารจับใบเป็นสิ่งสำคัญ มิฉะนั้นเมื่อพ่นสารแล้วจะไม่จับติดอยู่บนใบพืช

6. ควรงดการให้แบบสปริงเกอร์หรือการตักรดภายหลังการฉีดพ่นสาร เพราะน้ำจะไปชะล้างเชื้อจุลินทรีย์บีทีออกจากพืช และหากภายใน 48 ชั่วโมง หลังฉีดพ่นถ้าหากมีฝนตกหนักให้ฉีดพ่นเชื้อจุลินทรีย์บีทีซ้ำอีกครั้ง

คณะผู้จัดทำ

นักวิจัย

1) อาจารย์ ดร. มัลลิกา จินดาซิงห์

2) อาจารย์ ดร. สุทธิรักษ์ ผลเจริญ

สอบถามข้อมูลเพิ่มเติมได้ที่

Manlika.ji@mju.ac.th หรือ jindasing@hotmail.com

เอกสารอ้างอิง

คณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยา. 2538. จุลชีววิทยาปฏิบัติการ. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.226 น.

จริยา จันทร์ไพแสง และวินัย รัชตปกรณ์ชัย. 2541. ใช้บีที (BT) กำจัดแมลงศัตรูพืช. เอกสารประกอบนิทรรศการ งานเกษตรแฟร์ ระหว่างวันที่31 มกราคม-7 กุมภาพันธ์ 2541 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 9 น.

ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2527. บทปฏิบัติการโรควิทยาของแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 107 น.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2543. พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น. ภาควิชาพันธุศาสตร์คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 282 น.

อัจฉรา ตันติโชดก. 2544. บีที การควบคุมแมลงศัตรูพืช. เอกสารวิชาการการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. น. 183-203.

Chanpaisaeng, J., N. Thaveechai, T. Attathom and G. Theeragool. 1993. Novel isolations of *Bacillus thuringiensis* found in Thailand. J. Agric. Science. 6: 55-66. (in Thai)

Chanpaisaeng, J., T. Attathom, N. Thaveechai and G. Theeragool. 1993. *Bacillus thuringiensis* found in natural habitat around Thailand. Proceedings of the 31th Annual Conference in Plant Science, Kasetsart University. P. 664-670.

Chilcott, C.N. and P.J. Wigley. 1993. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. Proceedings of Second Canberra *Bacillus thuringiensis* Meeting. P. 8, Canberra, Australia.

Glick, B.R. and J.J. Pasternak. 1994. Molecular Biotechnology. ASM. Press. 500 p.

Hofte, H. and H.R. Whiteley. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. Microbiol. Rev. 53: 242-255.

Ohba, M. and K. Aizawa. 1978. Serological identification of *Bacillus thuringiensis* and related bacteria isolated in Japan. J. Inverte. Pathol. 33: 303-309.

Schuler, T.H., G.M. Poppy, B.R. Kerry and I. Denholm. 1998. Insect-resistance transgenic plant. Trends Biotechnol. 16: 168-175.

Singer, S. and M.H. Rogoff. 1968. Inhibition of growth of *Bacillus thuringiensis* by amino acids in defined media. J. Inverte.Pathol. 12: 98-104.

Tanada, Y. and H.K. Kaya. 1933. Insect Pathology. Academic Press Inc., London. 666 pp.

บันทึก