

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



203356



การศึกษานกเลี้ยงแพร่ระบาดของเชื้อ *Nosema bombycis* N. สาเหตุโรคเพบรินจากบริเวณ
เพาะเลี้ยงไหม

STUDY ON EPIDEMIC SOURCE OF THE CAUSAL AGENT OF PEBRINE DISEASE
(*NOSEMA BOMBYCIS* N.) FROM SILKWORM REARING AREA

นางสาวทัศนีย์ นทรรัตน์

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

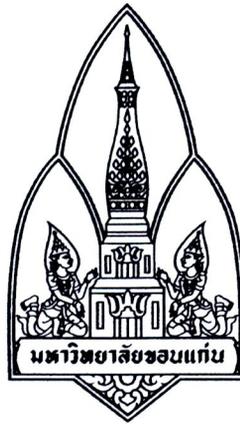
พ.ศ. 2553

00059130

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



203356



การศึกษาแหล่งแพร่ระบาดของเชื้อ *Nosema bombycis* N. สาเหตุโรคเพบริน
จากบริเวณเพาะเลี้ยงไหม

STUDY ON EPIDEMIC SOURCE OF THE CAUSAL AGENT OF PEBRINE DISEASE

(*NOSEMA BOMBYCIS* N.) FROM SILKWORM REARING AREA

นางสาวทัศนีย์ นพรัตน์



วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2553

การศึกษาแหล่งแพร่ระบาดของเชื้อ *Nosema bombycis* N. สาเหตุโรคเพบริน
จากบริเวณเพาะเลี้ยงไหม

นางสาวทัศนีย์ นพรัตน์

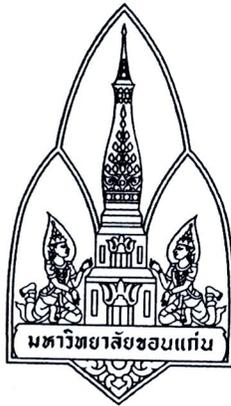
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการเกษตร
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น
พ.ศ. 2553

**STUDY ON EPIDEMIC SOURCE OF THE CAUSAL AGENT OF PEBRINE DISEASE
(*NOSEMA BOMBYCIS* N.) FROM SILKWORM REARING AREA**

MISS TUSSANEE NOPPARAT

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN AGRICULTURAL MICROBIOLOGY
GRADUATE SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY**

2010



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

หลักสูตร

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการแพทย์

ชื่อวิทยานิพนธ์: การศึกษาแหล่งแพร่ระบาดของเชื้อ *Nosema bombycis* N. สาเหตุโรคเพปรีนจากบริเวณเพาะเลี้ยงไหม

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์: นางสาวทัศนีย์ นพรัตน์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์

ประธานกรรมการ

รศ. ดร. ศิวาลัย สิริมังกรารัตน์

กรรมการ

รศ. งามนิจ นนทโส

กรรมการ

ดร. สฤณีพิพร ชูประยูร

กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์:

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. ศิวาลัย สิริมังกรารัตน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ งามนิจ นนทโส)

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ลำปาง แม่นมาตย์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. อนันต์ พลธานี)

คณบดีคณะเกษตรศาสตร์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่น

ทัศนีย์ นพรัตน์. 2553. การศึกษาแหล่งแพร่ระบาดของเชื้อ *Nosema bombycis* N. สาเหตุโรค เพชรินจากบริเวณเพาะเลี้ยงไหม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางการเกษตร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รศ.ดร. ศิวาลัย สิริมังกรรัตน์, รศ.งามนิจ นนทโส

บทคัดย่อ

203356

โรคเพชรินของไหม (*Bombyx mori* L.) มีสาเหตุมาจากเชื้อโปรโตซัว *Nosema bombycis* N. เป็นโรคที่ทำลายไหมได้มากที่สุด และก่อให้เกิดความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการปลูกหม่อนเลี้ยงไหมทั่วโลก จากการสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างไหมจากแหล่งปลูกหม่อน-เลี้ยงไหมใน 14 หมู่บ้าน 10 ตำบล 8 อำเภอ ในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น ทั้งหมด 106 ตัวอย่าง เมื่อนำมาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด phase contrast พบตัวอย่างไหมที่ติดเชื้อคิดเป็น 19.81 เปอร์เซ็นต์ ได้คัดเลือกเกษตรกรครัวเรือนตัวแทนเพื่อการศึกษา คือ หมู่ที่ 7 และ หมู่ที่ 10 บ้านโสกนกเต็นพัฒนา ตำบลโสกนกเต็น อำเภอพล จังหวัดขอนแก่น จำนวน 4 ครัวเรือน โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม เพื่อติดตามการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคเพชรินใน 3 ฤดู จากการสุ่มตรวจตัวอย่างไหม พบว่ากลุ่มแรกซึ่งเป็นครัวเรือนที่ตรวจไม่พบเชื้อ *N. bombycis* ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง หลังจากการทดลองอย่างต่อเนื่องจนครบทั้ง 3 ฤดู ก็ยังคงไม่พบการติดเชื้อในตัวอย่างไหมและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงไหม ส่วนครัวเรือนตัวแทนกลุ่มที่ 2 ที่ตรวจพบสปอร์ของเชื้อสาเหตุโรคนี้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่แรกทั้ง 3 ครัวเรือนนั้น มีการตรวจพบสปอร์ของเชื้อในตัวอย่างไหมตั้งแต่วัย 2 ไปจนถึงระยะตัวเต็มวัย ส่วนในระยะไข่และไหมวัย 1 นั้น ตรวจไม่พบสปอร์ของเชื้อ โดยเชื้อที่ตรวจพบจากทั้ง 3 ฤดูนั้น มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญเติบโตของไหมที่เพิ่มขึ้น ในบางกรณีคืบค้ำมีสปอร์ของเชื้อสาเหตุมากกว่าตัวเต็มวัย ซึ่งเชื้อสาเหตุมี สปอร์รูปไข่ ขนาดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1.64 - 2.12 x 3.14 - 4.29 ไมโครเมตร และปริมาณสปอร์เฉลี่ยตั้งแต่ 8.46×10^4 - 1.45×10^8 สปอร์ต่อตัว สำหรับอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงไหม ได้แก่ ผ้าคลุมกระดิ่ง กระดิ่ง และจ่อ้น พบสปอร์จำนวนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.05 - 1.85 สปอร์ต่อตารางเซนติเมตร และขนาดสปอร์เฉลี่ย 1.57 - 1.95 x 3.10 - 4.07 ไมโครเมตร ส่วนการสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างแมลงบริเวณแปลงหม่อนของเกษตรกรครัวเรือนตัวแทนนั้น พบแมลงจำนวน 21 ชนิด ใน 7 อันดับ ได้แก่ อันดับ Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Homoptera, Hymenoptera, Odonata และ Orthoptera เมื่อตรวจหาสปอร์ของเชื้อ *Nosema* spp. ในแมลงดังกล่าวนี้ในเบื้องต้นตรวจไม่พบสปอร์ของเชื้อ สำหรับผลการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการเพาะเลี้ยงต่อการแพร่ระบาดของเชื้อนั้นพบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างชัดเจน โดยตรวจพบสปอร์ในอุปกรณ์ทุกชนิดที่เกี่ยวข้องใน

203356

การเพาะเลี้ยงไหมในกลุ่มครีวเรือดัวแทนที่ตรวจพบไหมติดเชื้อสาเหตุโรคเพบริน ในขณะที่ไม่พบสปอร์ *N. bombycis* ในกลุ่มครีวเรือดัวแทนที่ตรวจไม่พบเชื้อสาเหตุโรคเพบริน ตลอดทั้ง 3 ฤดู

สำหรับการปลูกเชื้อ *N. bombycis* สาเหตุโรคเพบรินของไหม ในสภาพห้องปฏิบัติการ ให้อาหารหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua*) วัย 3 วันที่ 1 (อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส, ความชื้นสัมพัทธ์ 83-84 เปอร์เซ็นต์) ที่ความเข้มข้น 1.1×10^4 , 1.1×10^5 และ 1.1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พบว่ามีค่าเฉลี่ยต่างๆ คือ การติดเชื้อ 50.00, 53.33 และ 61.67 เปอร์เซ็นต์ จำนวนสปอร์เท่ากับ 196.66, 695.33 และ 389.33 สปอร์ต่อตัว และขนาดสปอร์เท่ากับ $1.73 - 2.01 \times 3.67 - 4.00$, $1.69 - 2.02 \times 3.56 - 4.04$ และ $1.65 - 2.11 \times 3.64 - 4.05$ ไมโครเมตร ตามลำดับ ส่วนการสำรวจและตรวจหาสปอร์ของเชื้อจากตัวอย่างหนอนของผีเสื้อหนอนกุน (วงศ์ Pieridae) พาหะของเชื้อ *Nosema* sp. ในช่วงที่มีการแพร่ระบาดของแมลงนี้สูงคือ ช่วงเดือนมีนาคม-เดือนเมษายนนั้น ได้ศึกษาในปี พ.ศ. 2553 พบว่าหนอนของผีเสื้อหนอนกุนที่ติดเชื้อในตัวอย่างที่สำรวจจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น คือบริเวณถนนด้านข้างสาขาวิชาพืชสวน บริเวณสวนร่วมเกล้ากล้วยพฤกษ์ และบริเวณถนนด้านหน้าศูนย์การประชุมอเนกประสงค์กาญจนาภิเษก มีค่าเฉลี่ยต่างๆ ได้แก่ การติดเชื้อ 22.73, 18.52 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ จำนวนสปอร์เท่ากับ 2.25×10^7 , 7.37×10^7 และ 5.12×10^7 สปอร์ต่อตัว และขนาดสปอร์เท่ากับ $1.89 - 1.92 \times 3.86 - 3.96$, $1.82 - 1.87 \times 3.77 - 3.97$ และ 1.93×3.89 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งผีเสื้อวงศ์ Pieridae ที่พบมีการแพร่ระบาดในช่วงดังกล่าวนี้มีจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อหนอนกุนธรรมดา *Catopsilia pomona* f. *pomona*, ผีเสื้อหนอนกุนเหลือง *C. scylla cornelia*, ผีเสื้อหนอนกุนลายกระ *C. pyranthe pyranthe* และผีเสื้อแอม *Eurema* sp. โดยตรวจพบค่าเฉลี่ยสปอร์ของเชื้อจาก ผีเสื้อหนอนกุนธรรมดา มีจำนวน 2.19×10^7 สปอร์ต่อตัว และขนาด $1.88 - 2.04 \times 3.85 - 4.13$ ไมโครเมตร และจากผีเสื้อหนอนกุนลายกระ โดยสปอร์มีจำนวน 4.83×10^7 สปอร์ต่อตัว และขนาด $1.95 - 2.02 \times 3.87 - 3.99$ ไมโครเมตร

ข้อมูลวิจัยที่ได้ในครั้งนี้เป็นแนวทางที่ดีอีกทางหนึ่ง ที่ทำให้ทราบถึงความสำคัญของแหล่งแพร่ระบาดและแมลงพาหะของเชื้อสาเหตุของโรคเพบรินของไหมนี้ เพื่อนำไปสู่การหาแนวทางป้องกันและกำจัดการแพร่ระบาดของโรคได้อย่างดียิ่งอีกทางหนึ่ง

Tussanee Nopparat. 2010. **Study on Epidemic Source of the Causal Agent of Pebrine Disease (*Nosema bombycis* N.) from Silkworm Rearing Area.** Master of Science Thesis in Agricultural Microbiology, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisors: Assoc. Prof. Dr. Sivilai Sirimungkararat, Assoc. Prof. Ngarmnit Nantasao

ABSTRACT

203356

Pebrine disease of silkworm (*Bombyx mori* L.) caused by protozoa, *Nosema bombycis* N., is the most serious disease, which damages sericultural industry worldwide. Survey and random collection of silkworm samples in rearing area of Khon Kaen province from 14 villages, 10 sub-districts, 8 districts were conducted. The collected total samples of 106 samples were diagnosed using phase contrast microscopy and found that the infected samples were 19.81%. Four silkworm rearing households of Sok Nok Ten Pattana village Moo 7 and Moo 10, Sok Nok Ten Sub-district, Pol district, Khon Kaen province were selected as pebrine monitoring representatives. There were 2 groups to be followed on pebrine epidemic by randomized detection of pebrine spores in silkworm samples and rearing appliances in 3 seasons. The result revealed that the pebrine spores were not found from silkworm samples and rearing appliances in all continuously 3 seasons of the first group, in which the *N. bombycis* was not detectable since the beginning of the experiment. However, the pebrine spores were detected in 2nd instar larvae to adults except eggs and 1st instar larvae from the second group, which was found the causal agent spores at beginning of all 3 experimented households. Pebrine spores were detected in all rearing members of this group in 3 seasons. Numbers of spores were found additionally more in late period than early period in descending order depended on growth stage. However, in some cases number of spores in pupae was found more than in adults. The average size of oval shape spores was 1.64 - 2.12 x 3.14 - 4.29 μm , with average numbers of 8.46×10^4 - $>1.45 \times 10^8$ spores/larva. For the rearing appliances: cover cloth, rearing container and mountage, spores were counted in average number of 0.05 - 1.85 spores/cm² and average spore size of 1.57 - 1.95 x 3.10 - 4.07 μm . In case of survey and random collection of insects surrounding mulberry orchard of those representative rearing members were also undertaken. There were insects found in total of 21 species of 7 Orders; Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Homoptera, Hymenoptera, Odonota and

Orthoptera, of which no spores of *Nosema* spp. were detected in preliminary study. Result on pebrine disease epidemic in this study revealed that the rearing factors were related clearly. The positive detection was found consequently in all rearing appliances of silkworm rearing group with positive spore detection at the beginning, while no detection of *N. bombycis* spores was found in the group with negative detection at the beginning in all 3 seasons.

Artificial inoculation of *N. bombycis* in *Spodoptera exigua* was investigated on first day-3rd instar larvae using inoculum concentration of 1.1×10^4 , 1.1×10^5 and 1.1×10^6 spores/ml, at 25 ± 2 °C and 83-84%R.H. under laboratory condition. The result showed different average values that infected larval percentages of 50.00, 53.33 and 61.67, number spores of 196.66, 695.33 and 389.33 spores/larva and spore sizes of 1.73 - 2.01 x 3.67 - 4.00, 1.69 - 2.02 x 3.56 - 4.04 and 1.65 - 2.11 x 3.64 - 4.05 μm , respectively. The survey and detection of spores from larvae of Family Pieridae, reported as vector of *Nosema* sp. with highly dispersion in March to April, were also carried out in the year 2010. The different average values at the area of the road near horticultural Section, area of Roam Klaw Kalaplueck garden and road area in front of Golden Jubille Convention Hall, Khon Kaen University were as followings: infected samples of number of spores per larva of 22.73, 18.52 and 33.33%, 2.25×10^7 , 7.37×10^7 and 5.12×10^7 spores, and spore size of 1.89 - 1.92 x 3.86 - 3.96, 1.82 - 1.87 x 3.77 - 3.97 and 1.93 x 3.89 μm , respectively. The 4 members of Pieridae were revealed in this study as *Catopsilia pomona* f. *pomona*, *C. scylla cornelia*, *C. pyranthe pyranthe* and *Eurema* sp. Numbers and size of spores were found only in *C. pomona* f. *pomona* with average of 2.19×10^7 spores/larva and 1.88 - 2.04 x 3.85 - 4.13 μm , and in *C. pyranthe pyranthe* with average of 4.83×10^7 spores/larva and 1.95 - 2.02 x 3.87 - 3.99 μm .

The research data obtained from this study emphasizes the significance of sources and pebrine vectors, which leading to one of the guide lines as an effective control method on pebrine disease of silkworm.

งานวิทยานิพนธ์นี้มอบส่วนดีให้บุพการีและคณาจารย์

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจากรองศาสตราจารย์ ดร.ศิริลักษณ์ มังกรรัตน์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ ตั้งแต่การวางแผนการวิจัย ให้ข้อเสนอแนะ และตรวจแก้ไขข้อบกพร่อง ตั้งแต่เริ่มต้นจนเสร็จสมบูรณ์ พร้อมทั้งสนับสนุนช่วยจัดหาทุนสำหรับการทำวิทยานิพนธ์ รวมทั้งเป็นแบบอย่างที่ดีมาโดยตลอดอย่างยิ่ง ขอขอบพระคุณ รศ.งามนิจ นนทโส กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์อย่างดี ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.วิระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่คอยให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะอย่างดียิ่ง และขอขอบพระคุณ ดร.สฤณีพร ชูประยูร ผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์และให้ข้อเสนอแนะจนทำให้งานวิทยานิพนธ์นี้สมบูรณ์อย่างดียิ่งขึ้น

ขอขอบคุณศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยร่วม-มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (AG-BIO/PERDO-CHE) และศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนการศึกษาและทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ในระดับปริญญาโท ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยการเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ป่าเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม ที่ให้ทุนการศึกษามาตรู อุปกรณ์ทดลอง และพื้นที่ในการปลูกพืชอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงใหม่ ขอขอบคุณท่านอาจารย์ทุกท่านที่ให้ความรู้และกำลังใจในการศึกษา และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทั้งสาขาโรคพืชวิทยาและสาขากฎหมาย คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความเอื้อเฟื้อและช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ และห้องปฏิบัติการ ขอขอบคุณเกษตรกรหมู่บ้าน โสภณกเต็น ด. โสภณกเต็น อ.พล จ.ขอนแก่น ที่ให้ความร่วมมือ และให้สถานที่ในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และที่สำคัญต้องขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ห้องปฏิบัติการโรคพืชวิทยาของแมลง สาขากฎหมาย ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ รวมทั้งน้ำใจและกำลังใจที่ดีจากทุกคนตลอดมา

ท้ายที่สุดนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อแก้ว คุณแม่ทองพูล และคุณป้าทรงเครื่อง นพรัตน์ ผู้ซึ่งให้การอบรมเลี้ยงดู ใ้ร่างกาย พละกำลังใจที่สมบูรณ์ กำลังความคิด สติปัญญา และกำลังทรัพย์ ในการศึกษาเล่าเรียน ตลอดจนกำลังใจอันสำคัญยิ่งในการทำงานและหลักในการดำเนินชีวิตที่ดีเสมอมา และขอขอบคุณคุณศักดิ์ดา สวนจันทร์ ที่เป็นกำลังใจที่ดีและให้โอกาสในการศึกษาครั้งนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
คำอุทิศ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญภาพ	ณ
บทที่ 1 บทนำ	1
1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
3. ขอบเขตของการวิจัย	3
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	4
1. ชีวประวัติของไหม	4
2. โรคของไหม	5
3. โรคเพบริน	7
3.1 ประวัติโรคเพบริน	7
3.2 เชื้อสาเหตุ	8
3.2.1 รูปร่าง ลักษณะและสัณฐานวิทยา	8
3.2.2 วงจรชีวิต	10
3.3 ลักษณะอาการของโรค	12
3.4 การถ่ายทอดและความรุนแรงของเชื้อ	13
3.4.1 แมลงอาศัยหลัก	14
3.4.2 แมลงอาศัยชนิดอื่น	15
3.4.3 อุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องในการเพาะเลี้ยงไหม	17

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรค	17
3.5.1 เชื้อสาเหตุ	17
3.5.2 แมลงอาศัย	18
3.5.3 แมลงชนิดอื่น	18
3.5.4 สิ่งแวดล้อม	18
4. การวินิจฉัยโรคเพบริน	19
4.1 การใช้กล้องจุลทรรศน์	19
4.2 การใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล	20
4.2.1 การใช้เทคนิคทางวิทยาภูมิคุ้มกัน	20
4.2.2 PCR technique	26
4.2.3 การใช้ดีเอ็นเอติดตาม	27
4.2.4 การใช้ข้อมูลลำดับเบสของดีเอ็นเอ	28
4.2.5 การใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลอื่น ๆ	30
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	33
1. การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคเพบรินของใหม่	33
1.1 การสำรวจและรวบรวมตัวอย่างใหม่	33
2. การศึกษาแหล่งแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคเพบริน/ <i>Nosema</i> spp.	33
2.1 การคัดเลือกครีวเรือนเลี้ยงใหม่ตัวแทนเพื่อการทดลอง	33
2.2 การตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคจากปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงใหม่	34
2.3 การตรวจเชื้อ <i>Nosema</i> spp. จากแมลงในแปลงหม่อน	35
2.4 การศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการเพาะเลี้ยงใหม่ต่อการติดเชื้อ	35
3. การติดเชื้อสาเหตุโรคเพบรินและการเป็นแมลงพาหะของเชื้อ <i>Nosema</i> spp.	35
3.1 หนอนกระทุ้หอม	35
3.2 หนอนถูน	36
3.2.1 การสำรวจ	36
3.2.2 การตรวจหาสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema</i> sp.	37

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 ผีเสื้อวงศ์ Pieridae	37
3.2.1 การสำรวจ	37
3.2.2 การตรวจหาสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema</i> spp.	37
บทที่ 4 ผลการทดลอง	38
1. ข้อมูลการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคเพบริน	38
2. แหล่งแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคเพบริน/ <i>Nosema</i> spp.	45
2.1 ไหมในครัวเรือนตัวแทน	45
2.2 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงไหม	55
2.3 แมลงในแปลงหม่อน	63
2.4 ความสัมพันธ์ของปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการเพาะเลี้ยงไหมต่อการติดเชื้อ	69
3. การติดเชื้อสาเหตุโรคเพบรินและการเป็นแมลงพาหะของเชื้อ <i>Nosema</i> spp.	70
3.1 หนอนกระทู้หอม	70
3.2 หนอนคูน	71
3.3 ผีเสื้อวงศ์ Pieridae	72
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	82
1. ข้อมูลการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคเพบริน	82
2. แหล่งแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคเพบริน/ <i>Nosema</i> spp.	82
3. เชื้อ <i>Nosema</i> spp. จากแมลงในแปลงหม่อน	84
4. ความสัมพันธ์ของปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการเพาะเลี้ยงไหมต่อการติดเชื้อ	85
5. การติดเชื้อสาเหตุโรคเพบรินและการเป็นแมลงพาหะของเชื้อ <i>Nosema</i> spp.	88
5.1 หนอนกระทู้หอม	88
5.2 หนอนคูน	88
5.3 ผีเสื้อวงศ์ Pieridae	88
บทที่ 6 ข้อเสนอแนะ	90
เอกสารอ้างอิง	91

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก	100
ภาคผนวก ก การเตรียมตัวอย่าง การนับ และการคำนวณจำนวนสปอร์ของเชื้อ โปรโตซัว (<i>Nosema bombycis</i> / <i>Nosema</i> spp.)	101
ภาคผนวก ข การเตรียมส่วนประกอบสำหรับเตรียมอาหารเทียม เพื่อใช้ในการปลูกเชื้อ	109
ภาคผนวก ค ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของจังหวัดขอนแก่น ปี 2551-2552	112
ประวัติผู้เขียน	115

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านตอกแป้น ต.บ้านค้อ อ.เมือง จ.ขอนแก่น	38
ตารางที่ 2	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านจิว ต.สาวะถี อ.เมือง จ.ขอนแก่น	39
ตารางที่ 3	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านลาดนาเพียง ต.สาวะถี อ.เมือง จ.ขอนแก่น	39
ตารางที่ 4	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านวังค้อ ต.สาวะถี อ.เมือง จ.ขอนแก่น	40
ตารางที่ 5	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านหินลาด ต.สาวะถี อ.เมือง จ.ขอนแก่น	40
ตารางที่ 6	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านหนองปิง ต.สาวะถี อ.เมือง จ.ขอนแก่น	41
ตารางที่ 7	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านวังโพน ต.ป่ามะนาว อ.บ้านฝาง จ.ขอนแก่น	41
ตารางที่ 8	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านหนองหญ้าปล้อง ต.โพนเพ็ก อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น	41
ตารางที่ 9	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านผักหวาน ต.หนองปลาหมอ อ.โนนศิลา จ.ขอนแก่น	42
ตารางที่ 10	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านหนองไฮ ต.บ้านหัน อ.โนนศิลา จ.ขอนแก่น	42
ตารางที่ 11	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านหินเหิบ ต.พระยืน อ.พระยืน จ.ขอนแก่น	43
ตารางที่ 12	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านหัวฝาย ต.ป่อแดง อ.ชนบท จ.ขอนแก่น	43
ตารางที่ 13	การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้านคลองสมบูรณ์ ต.บ้านใหม่ อ.สีชมพู จ.ขอนแก่น	44

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 14 การสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดของโรคเพบริน ณ แหล่งเลี้ยงไหมที่บ้าน โสภนกกเต็นพัฒนา ต. โสภนกกเต็น อ.พล จ.ขอนแก่น	45
ตารางที่ 15 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> (คร่าวเรือนที่ไม่พบเชื้อ) ในฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2551	47
ตารางที่ 16 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> (คร่าวเรือนที่ 1 ที่พบเชื้อ) ในฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2551	47
ตารางที่ 17 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> (คร่าวเรือนที่ 2 ที่พบเชื้อ) ในฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2551	48
ตารางที่ 18 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> (คร่าวเรือนที่ 3 ที่พบเชื้อ) ในฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2551	48
ตารางที่ 19 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> (คร่าวเรือนที่ไม่พบเชื้อ) ในฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551	49
ตารางที่ 20 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> (คร่าวเรือนที่ 1 ที่พบเชื้อ) ในฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551	49
ตารางที่ 21 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> (คร่าวเรือนที่ 2 ที่พบเชื้อ) ในฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551	50
ตารางที่ 22 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> (คร่าวเรือนที่ 3 ที่พบเชื้อ) ในฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551	50
ตารางที่ 23 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> (คร่าวเรือนที่ไม่พบเชื้อ) ในฤดูร้อนระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม 2552	51
ตารางที่ 24 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> (คร่าวเรือนที่ 1 ที่พบเชื้อ) ในฤดูร้อนระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม 2552	51
ตารางที่ 25 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> (คร่าวเรือนที่ 2 ที่พบเชื้อ) ในฤดูร้อนระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม 2552	52
ตารางที่ 26 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> (คร่าวเรือนที่ 3 ที่พบเชื้อ) ในฤดูร้อนระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม 2552	52

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

- ตารางที่ 27 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ *Nosema bombycis*/*Nosema* spp. จาก มือ ผ้ามืด 56
กระดิ่ง กระดิ่ง จ่อ และไบหม่อน (ครีวเรื่อนที่ไม่พบเชื้อ) ในฤดูฝนระหว่าง
เดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2551
- ตารางที่ 28 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ *Nosema bombycis*/*Nosema* spp. จาก มือ ผ้ามืด 56
กระดิ่ง กระดิ่ง จ่อ และไบหม่อน (ครีวเรื่อนที่ 1 ที่พบเชื้อ) ในฤดูฝนระหว่าง
เดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2551
- ตารางที่ 29 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ *Nosema bombycis*/*Nosema* spp. จาก มือ ผ้ามืด 57
กระดิ่ง กระดิ่ง จ่อ และไบหม่อน (ครีวเรื่อนที่ 2 ที่พบเชื้อ) ในฤดูฝนระหว่าง
เดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2551
- ตารางที่ 30 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ *Nosema bombycis*/*Nosema* spp. จาก มือ ผ้ามืด 57
กระดิ่ง กระดิ่ง จ่อ และไบหม่อน (ครีวเรื่อนที่ 3 ที่พบเชื้อ) ในฤดูฝนระหว่าง
เดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2551
- ตารางที่ 31 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ *Nosema bombycis*/*Nosema* spp. จาก มือ ผ้ามืด 58
กระดิ่ง กระดิ่ง จ่อ และไบหม่อน (ครีวเรื่อนที่ไม่พบเชื้อ) ในฤดูหนาวระหว่าง
เดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551
- ตารางที่ 32 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ *Nosema bombycis*/*Nosema* spp. จาก มือ ผ้ามืด 58
กระดิ่ง กระดิ่ง จ่อ และไบหม่อน (ครีวเรื่อนที่ 1 ที่พบเชื้อ) ในฤดูหนาวระหว่าง
เดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551
- ตารางที่ 33 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ *Nosema bombycis*/*Nosema* spp. จาก มือ ผ้ามืด 59
กระดิ่ง กระดิ่ง จ่อ และไบหม่อน (ครีวเรื่อนที่ 2 ที่พบเชื้อ) ในฤดูหนาวระหว่าง
เดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551
- ตารางที่ 34 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ *Nosema bombycis*/*Nosema* spp. จาก มือ ผ้ามืด 59
กระดิ่ง กระดิ่ง จ่อ และไบหม่อน (ครีวเรื่อนที่ 3 ที่พบเชื้อ) ในฤดูหนาวระหว่าง
เดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551
- ตารางที่ 35 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ *Nosema bombycis*/*Nosema* spp. จาก มือ ผ้ามืด 60
กระดิ่ง กระดิ่ง จ่อ และไบหม่อน (ครีวเรื่อนที่ไม่พบเชื้อ) ในฤดูร้อนระหว่าง
เดือนเมษายน – พฤษภาคม 2552

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 36	จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> / <i>Nosema</i> spp. จาก มื้อ ผ้ำคูลุม 60 กระด้ง กระด้ง จ่อ และไบหม่อน (ครั้วเรือนที่ที่ 1 พบเชื้อ) ในฤดูร้อนระหว่าง เดือนเมษายน – พฤษภาคม 2552	
ตารางที่ 37	จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> / <i>Nosema</i> spp. จาก มื้อ ผ้ำคูลุม 61 กระด้ง กระด้ง จ่อ และไบหม่อน (ครั้วเรือนที่ 2 ที่พบเชื้อ) ในฤดูร้อนระหว่าง เดือนเมษายน – พฤษภาคม 2552	
ตารางที่ 38	จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> / <i>Nosema</i> spp. จาก มื้อ ผ้ำคูลุม 61 กระด้ง กระด้ง จ่อ และไบหม่อน (ครั้วเรือนที่ 3 ที่พบเชื้อ) ในฤดูร้อนระหว่าง เดือนเมษายน – พฤษภาคม 2552	
ตารางที่ 39	แมลงที่พบในแปลงหม่อน ในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2551 (ครั้วเรือนที่ไม่พบเชื้อ)	63
ตารางที่ 40	แมลงที่พบในแปลงหม่อน ในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2551 (ครั้วเรือนที่ 1 ที่พบเชื้อ)	64
ตารางที่ 41	แมลงที่พบในแปลงหม่อน ในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2551 (ครั้วเรือนที่ 2 ที่พบเชื้อ)	64
ตารางที่ 42	แมลงที่พบในแปลงหม่อน ในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2551 (ครั้วเรือนที่ 3 ที่พบเชื้อ)	65
ตารางที่ 43	แมลงที่พบในแปลงหม่อน ในช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551 (ครั้วเรือนที่ไม่พบเชื้อ)	65
ตารางที่ 44	แมลงที่พบในแปลงหม่อน ในช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551 (ครั้วเรือนที่ 1 ที่พบเชื้อ)	66
ตารางที่ 45	แมลงที่พบในแปลงหม่อน ในช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551 (ครั้วเรือนที่ 2 ที่พบเชื้อ)	66
ตารางที่ 46	แมลงที่พบในแปลงหม่อน ในช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551 (ครั้วเรือนที่ 3 ที่พบเชื้อ)	67
ตารางที่ 47	แมลงที่พบในแปลงหม่อน ในช่วงฤดูร้อนระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม 2552 (ครั้วเรือนที่ไม่พบเชื้อ)	67

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 48 แมลงที่พบในแปลงหม่อนในช่วงฤดูร้อนระหว่างเดือนเมษายน– พฤษภาคม 2552 (ครีวเรือนที่ 1 ที่พบเชื้อ)	68
ตารางที่ 49 แมลงที่พบในแปลงหม่อน ในช่วงฤดูร้อนระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม 2552 (ครีวเรือนที่ 2 ที่พบเชื้อ)	68
ตารางที่ 50 แมลงที่พบในแปลงหม่อน ในช่วงฤดูร้อนระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม 2552 (ครีวเรือนที่ 3 ที่พบเชื้อ)	69
ตารางที่ 51 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> ในหนอนกระทู้หอม วัย 3 วันที่ 1 ที่ได้รับการปลูกด้วยเชื้อที่ความเข้มข้นต่างกัน ในการทดลองครั้งที่ 1	73
ตารางที่ 52 จำนวนและขนาดสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> ในหนอนกระทู้หอม วัย 3 วันที่ 1 ที่ได้รับการปลูกด้วยเชื้อที่ความเข้มข้นต่างกัน ในการทดลองครั้งที่ 2	75
ตารางที่ 53 การสำรวจเชื้อ <i>Nosema</i> sp. จากหนอนผีเสื้อหนอนคูนในบริเวณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระหว่างเดือนมีนาคมถึงเมษายน 2553	77
ตารางที่ 54 การสำรวจเชื้อ <i>Nosema</i> spp. จากผีเสื้อวงศ์ Pieridae ที่สำรวจพบในบริเวณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระหว่างเดือนมกราคม 2552 ถึง เมษายน 2553	79
ตารางที่ 55 เปรียบเทียบขนาดสปอร์ของเชื้อสาเหตุที่ตรวจพบจากหนอนผีเสื้อหนอนคูน ผีเสื้อ วงศ์ Pieridae และเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> ของหนอนไหม ไอโซเลต “หน้าค่าง”	81
ตารางที่ 56 แสดงค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จังหวัดขอนแก่น ปี 2551	113
ตารางที่ 57 แสดงค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จังหวัดขอนแก่น ปี 2552	114

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ลักษณะสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> สาเหตุโรคเพบริน	9
ภาพที่ 2 วงจรชีวิตของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> ในหนอนไหม	11
ภาพที่ 3 อาการ pepper like spot ของหนอนไหมที่เป็นโรคเพบริน	12
ภาพที่ 4 ดักแด้ไหมที่เป็นโรคเพบริน แสดงอาการบิดเบี้ยว ผงลำตัวไม่มัน	13
ภาพที่ 5 จำนวนสปอร์เฉลี่ยของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> ที่ตรวจพบในไหมที่เพาะเลี้ยง ในแต่ละครัวเรือนในฤดูฝน ฤดูหนาว และฤดูร้อน	53
ภาพที่ 6 เปรียบเทียบจำนวนสปอร์เฉลี่ยของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> ที่ตรวจพบในหนอนไหม ที่เพาะเลี้ยงในแต่ละครัวเรือนตัวแทน	54
ภาพที่ 7 จำนวนสปอร์ของเชื้อ <i>Nosema bombycis</i> / <i>Nosema</i> spp. จากปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง กับการเลี้ยงไหมในครัวเรือนตัวแทนทั้ง 3 ฤดู	62
ภาพที่ 8 หนอนผีเสื้อหนอนกุนธรรมดา	71
ภาพที่ 9 ผีเสื้อวงศ์ Pieridae ชนิดต่างๆ ที่สำรวจพบในบริเวณมหาวิทยาลัยขอนแก่น ระหว่างเดือนมกราคม 2552 ถึงเดือนเมษายน 2553	78