

## เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2535. โรคและแมลงศัตรูไหม. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด: กรุงเทพฯ.
- \_\_\_\_. 2538. การปลูกหม่อนเลี้ยงไหม. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด: กรุงเทพฯ.
- \_\_\_\_. 2541. การปลูกหม่อนเลี้ยงไหม. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด: กรุงเทพฯ.
- \_\_\_\_. 2548. ไหม. (อ้างอิงเมื่อ 16 กันยายน 2548). สืบค้นจาก URL: <http://www.doae.go.th/plant/mhon.htm>
- กรมหม่อนไหม. 2553. ข้อมูลการค้าการส่งออกและนำเข้าไหม. (อ้างอิงเมื่อ 29 พฤษภาคม 2553). สืบค้นจาก URL: [http://www.itqthaisilk.com/qthaisilk/view\\_updateneews.php?aid=83](http://www.itqthaisilk.com/qthaisilk/view_updateneews.php?aid=83)
- กรมอุตุนิยมนวิทยา. 2553. ข้อมูลกรมอุตุนิยมนวิทยา. (พ.ศ. 2551-2552)
- ทรงศักดิ์ เพ็ชรมิตร. 2539. Automated DNA sequencing, 7-1 – 7-6. ใน สุรศักดิ์ วงศ์รัตนชีวิน วีระพงษ์ ลูติตานนท์ และ ไสรังสิริ เจริญสุดใจ (บรรณาธิการ), DNA sequencing and gene analysis in life sciences. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- นภาพร บานชื่น. 2530. ELISA ทฤษฎีและปฏิบัติ. ศูนย์การพิมพ์: กรุงเทพฯ.
- \_\_\_\_. 2543. หลักการทดสอบในห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดี, หน้า 182-183. ใน สุทธิพันธ์ สารสมบัติ (บรรณาธิการ), อิมมูโนวิทยา. พีพีเอส ชายน์เทคโนโลยี จำกัด: กรุงเทพฯ.
- นรินาม. 2548ก. การปลูกหม่อนเลี้ยงไหม. (อ้างอิงเมื่อ 18 กันยายน 2550) สืบค้นจาก URL: <http://kanchanapisek.or.th/kp6/BOOK7/chapter3/t7-3-14.htm>
- \_\_\_\_. 2548ข. โรคและแมลงศัตรูไหม. (อ้างอิงเมื่อ 18 กันยายน 2550) สืบค้นจาก URL: <http://web.ku.ac.th/agri/silk2/Silk22.htm>
- \_\_\_\_. 2551. ผีเสื้อ. (อ้างอิงเมื่อ 12 มีนาคม 2553) สืบค้นจาก URL: <http://www.thaigoodview.com/node/17261?page=0%2C2>
- \_\_\_\_. 2552. ผีเสื้อหนอนอุณหภูมิตา. (อ้างอิงเมื่อ 11 มีนาคม 2553) สืบค้นจาก URL: <http://www.dnp.go.th/foremic/entomology/Web/Eminent/Eminent/catopsilia/catopsilia.htm>

- นิรนาม. ม.ป.ป. โรคและแมลงศัตรูไหม. (อ้างอิงเมื่อ 18 กันยายน 2550) สืบค้นจาก URL: [elated:service.agri.cmu.ac.th/course/course\\_lecture\\_download.asp?CourseNO=357427&CID=998](http://elated:service.agri.cmu.ac.th/course/course_lecture_download.asp?CourseNO=357427&CID=998) โรคและแมลงศัตรูไหม.
- พิศสุวรรณ เข็มสมบัติ. 2540. เทคนิค Polymerase chain reaction, หน้า 22-27. ใน พิศสุวรรณ เข็มสมบัติ(บรรณาธิการ). การตรวจและวิเคราะห์ดีเอ็นเอของเชื้อสาเหตุโรคพืชด้วยเทคนิค Hybridization และ PCR. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มยุรี ลาวัลย์. 2549. การพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อ *Nosema bombycis* N. สาเหตุโรคเพรินของไหม (*Bombyx mori* L.) โดยเทคนิคพีซีอาร์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- รศนา วงศ์รัตนชีวิน. 2539. DNA sequencing technique and strategies, หน้า 5-1 - 5-16. ใน สุรศักดิ์ วงศ์รัตนชีวิน วีระพงษ์ ลูติตานนท์ และ โสรัจสิริ เจริญสุดใจ (บรรณาธิการ), DNA sequencing and gene analysis in life sciences. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- รัชณี สองประยูร. 2540. บทปฏิบัติการเซรุ่มวิทยาทางด้านโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศิริลัย สิริมังครารัตน์. 2525. ผลของ sublethal dose ของเชื้อ nuclear polyhedrosis virus ต่อการเจริญเติบโต พัฒนาการ และรุ่นลูกของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *Helicoverpa armigera* (Hubner). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- \_\_\_\_\_. 2546. โรควิทยาของแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- \_\_\_\_\_ และ สฤทธิพร ชูประยูร. 2544. คู่มือการใช้สารเคมีเพื่อป้องกันกำจัดโรคไหมสำหรับเกษตรกร. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟีนนี่พับบลิชชิง: กรุงเทพฯ
- \_\_\_\_\_ สุกานดา ภาภิรมย์ และ มยุรี ลาวัลย์. 2546. โรคเพรินของไหม *Bombyx mori* L. และสถานการณ์การระบาดของโรคในจังหวัดขอนแก่น. รายงานสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2546. 27-28 มกราคม 2546. ห้องประชุมกวี จุติกุล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ฯ จังหวัดสุรินทร์. 2553. ปฏิทินการพยากรณ์การระบาดของโรคแมลง. (อ้างอิงเมื่อ 1 เมษายน 2553) สืบค้นจาก URL: [http://www.moac.go.th/builder/mu/images/B\\_berry.html](http://www.moac.go.th/builder/mu/images/B_berry.html)

- สมศรี กันตรัตนากุล บังอร นาคอวบ และ ภิรมย์ การเกิดกลาง. 2534. การศึกษาโรคเพอรินใน หนอนไหม *Bombyx mori* L. ลักษณะการเป็นโรคในไหมพันธุ์ไทย. รายงานการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 29. 4-7 กุมภาพันธ์ 2534. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สมโพธิ อัครพันธุ์ ส่งรักษ์ เต็งรัตนประเสริฐ พระพงศ์ เขาวนัฏฐกุล ภูงศ์ เพชรมนต์ ชยานิช เกษมสวัสดิ์ และ วิโรจน์ แก้วเรือง. 2538. การผลิตไหมใหม่. สถาบันวิจัยหม่อนไหม กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สุกานดา ภาภิรมย์. 2547. การผลิตแอนติซีรัมเพื่อการตรวจสอบเชื้อ *Nosema bombycis* N. สาเหตุโรคเพอรินของไหม *Bombyx mori* L. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และวัชรีย์ สมสุข. ม.ป.ป. เทคนิคการผลิตขยายไมโครสปอร์ริเดีย (โปรโตซัว) จากหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) (อ้างอิงเมื่อ 16 กันยายน 2551) สืบค้นจาก: URL: [http://www.scisoc.or.th/stt/32/sec\\_f/paper/stt32\\_F\\_F0004.pdf](http://www.scisoc.or.th/stt/32/sec_f/paper/stt32_F_F0004.pdf).
- สุมณี รักสังข์. ม.ป.ป. โรคเพอรินของไหม. ศูนย์วิจัยหม่อนไหมนครราชสีมา สถาบันวิจัยหม่อนไหม กรมวิชาการเกษตร. ม.ป.ท. (เอกสารโรเนียว)
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2543. พันธุ์วิศวกรรมเบื้องต้น. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ.
- อภิชาติ พงษ์ศรีหดุลชัย และ ธีรวีร์ สุพานิช. 2547. รังยุทธศาสตร์หม่อนไหม. (อ้างอิงเมื่อ 17 ธันวาคม 2551) สืบค้นจาก URL: <http://www.oac.go.th/thaisilk/download/008.doc>
- AICAF. 1995. Sericulture in the tropics. Association for International Cooperation of Agriculture and Forestry: Tokyo.
- Anonymous. 1975. Textbook of tropical sericulture. Japan Overseas Cooperation Volunteers: Tokyo.
- Baig, M., R.K. Datta, B. Nataraju, M.V. Samson, and V. Sivaprasad. 1992. Protein A-linked latex antisera test for the detection of *Nosema bombycis* Naegeli spore. Journal of Invertebrate Pathology 60: 312-313.
- Bhat, S.A., I. Bashir, and A.S. Kamili. 2009. Microsporidiosis of silkworm, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera-bombycidae): A review. African Journal of Agricultural Research 4(13): 1519-1523.

- Boucias, D.G., and J.C. Pendland. 1998. Principles of insect pathology. Kluwer Academic Publishers: Massachusetts.
- Chakrabarti, S., and B. Manna. 2006. Three new species of *Nosema* from non-mulberry silkworms in Assam: light and electron microscopy studies. *Journal of Parasitic Diseases* 30 (2): 125-133.
- Chakrabarti, S., and B. Manna. 2008. Influence of temperature and relative humidity in infection of *Nosema bombycis* (Microsporidia: Nosematidae) and cross infection of *N. mylitta* on growth and development of Mulberry silkworm, *Bombyx mori*. *Int. J. Indust. Entomol.* 17(2): 173-180
- Chandra, A.K. 1987. Cross-transmission studies of *Nosema bombycis* towards *Diacrisia obliqua* Walker (Lepidoptera: Arctiidae). *Seridoc* 4(2&3): 76.
- Choi, J.Y., J.G. Kim, Y.C. Choi, T.W. Goo, J.H. Chang, Y.H. Je, and K.Y. Kim. 2002. *Nosema* sp. isolated from isolate cabbage white butterfly (*Pieris rapae* collected) in Korea. *The Journal of Microbiology* 40(3): 199-204.
- FAO. 1998. Silkworm rearing, disease and their control in Asia. Regional Office for Asia and the Pacific: Bangkok.
- Fujiwara, T. 1994. Pebrine control: an expert's view. *Indian Silk* (January 1994): 22-28.
- Griyaghey, U.P., and K. Sengupta. 2000. Studies on the transmission of *Nosema* sp. in tropical tasar silkworm *Antheraea mylitta* D. *Sericologia* 29(3): 383-387.
- Han, M.S., and H. Watanabe. 1988. Transovarial transmission of two microsporidia in the silkworm, *Bombyx mori*, and disease occurrence in the progeny population. *Journal of Invertebrate Pathology* 51: 41-45.
- Hatakeyama, Y., and S. Hayasaka. 2002. Specific amplification of microsporidian DNA fragments using multiprimer PCR. *JARQ.* 36(2): 97-102.
- \_\_\_\_\_, and S. Hayasaka. 2003. A new method of pebrine inspection of silkworm egg using multiprimer PCR. *Journal of Invertebrate Pathology* 82: 148-151.
- \_\_\_\_\_, Y. Kawakami, H. Iwano, T. Inoue, and R. Ishihara. 1997. Analyses and taxonomic inferences of small subunit ribosomal RNA sequences of five microsporidia pathogenic to the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Seric. Sci. Jpn.* 66(4): 242-252.



- Hayasaka, S., and C. Ayuzawa. 1987. Diagnosis of microsporidians, *Nosema bombycis* and closely related species by antibody-sensitized latex. J. Seric. Sci. Jpn. 56(2): 169-170.
- Higes, M., M.H. Raquel, G.-B. Encarna, G.-P. Pilar, and M. Aránzazu. 2007. Detection of infective *Nosema ceranae* (Microsporidia) spores in corbicular pollen of forager honeybees. Journal of Invertebrate Pathology 97(1): 76-78.
- Huang, W.F., S.J. Tsai, C.F. Lo, Y. Soichi, and C.H. Wang. 2004. The novel organization and complete sequence of the ribosomal RNA gene of *Nosema bombycis*. Fungal Genetics and Biology 41: 473-481.
- Idris, A.B., and A.S. Sajap. 2001. *Nosema* disease of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), in Malaysia. Online Journal of Biological Sciences 1(10): 905-907.
- \_\_\_\_\_, and A.S. Sajap. 2003. Prevalence of *Nosema bombycis* in Malaysian field populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. International Journal of Pest Management 49: 71-73.
- \_\_\_\_\_, B.A.H. Zainal-Abidin, and A.M. Norhayati. 1997. Detection of *Nosema bombycis* (Naegeli) in diamondback moth using Giemsa stain. Malays. Appl. Biol. 26(1): 105-107.
- Iiyama, K. 2003. Diversity of an entomopathogenic microsporidium, *Nosema bombycis* Nageli isolated in Japan. (cited 27 July 2005) Available from : URL:[http://www.kyushu-u.ac.jp/magazine/kyudai-news/No.12/news\\_12-05.html](http://www.kyushu-u.ac.jp/magazine/kyudai-news/No.12/news_12-05.html).
- Ishihara, R., and Y. Hayashi. 1968. Some properties of ribosomes from the sporoplasm of *Nosema bombycis*. Journal of Invertebrate Pathology 11: 377-385.
- Iwano, H., and R. Ishihara. 1991. Isolation of *Nosema bombycis* from moths of the lawn grass cutworm, *Spodoptera depravata* Butler. J. Seric. Sci. Jpn. 60(4): 279-287.
- Johny, S., S. Kanginakudru, M.C. Muralirangan, and J. Nagaraju. 2005. Morphological and molecular characterization of a new microsporidian (Protozoa : Microsporidia) isolated from *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera : Noctuidae). Parasitology: 1-12.
- Jolly, M.S. 1986. Pebrine and its control. Central Sericultural Research & Training Institute: Mysore.
- Jyothi, N.B., C.S. Patil, and C.M.S. Dass. 2005. Action of carbendazim on the development of *Nosema bombycis* Naegeli in silkworm *Bombyx mori* L. JEN. 129(4): 205-210.

- Kashkarova, L.F., and A.I. Khakhanov. 1980a. The range of hosts of *Nosema bombycis*, the agent of pebrine disease in *Bombyx mori*. Parazitologiya 14: 164-167.
- Kashkarova, L.F., and A.I. Khakhanov. 1980b. The range of hosts of pathogen of microsporidiosis (*Nosema bombycis*) of the silkworm. Parazitologiya 14: 164-167.
- Kawakami, Y., T. Inoue, Y. Uchida, Y. Hatakeyama, H. Iwano, and R. Ishihara. 1995. Specific amplification of DNA from reference strains of *Nosema bombycis*. J. Seric. Sci. Jpn. 64(2): 165-172.
- \_\_\_\_\_, H. Iwano, Y. Hatakayama, T. Inoue, E.U. Canning, and R. Ishihara. 2001. Use of PCR with the specific primers for discrimination of *Nosema bombycis*. J. Seric. Sci. Jpn. 70(1): 43-48.
- \_\_\_\_\_, T. Inoue, K. Ito, K. Kitamizu, C. Hanawa, M. Sunarai, T. Ando, H. Iwano, and R. Ishihara. 1994. Comparison of chromosomal DNA from four microsporidia pathogenic to the silkworm, *Bombyx mori*. Applied Entomology and Zoology 29: 120-123.
- Kawarabata, T., and S. Hayasaka. 1987. An enzyme-linked immunosorbent assay to detect alkali-soluble spore surface antigens of strains of *Nosema bombycis* (Microspora : Nosematidae). Journal of Invertebrate Pathology 50: 118-123.
- Ke, Z., W. Xie, X. Wang, Q. Long, and Z. Pu. 1990. A monoclonal antibody to *Nosema bombycis* and its use for identification of microsporidian spores. Journal of Invertebrate Pathology 56: 395-400.
- Keeling, P.J., and N.M. Fast. 2002. Microsporidia: Biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. Annual Review of Microbiology 56: 93-116.
- Klec, J., W.T. Tay, and R.J. Paxton. 2006. Specific and sensitivity detection of *Nosema bombi* (Microsporidia: Nosematidae) in bumble bee (*Bombus* spp.; Hymenoptera: Apidae) by PCR of partial rRNA gene sequences. Journal of Invertebrate Pathology 91: 98-104.
- Knell, J.D., and S.G. Zam. 1978. A serological comparison of some species of microsporidia. Journal of Invertebrate Pathology 31: 280-288.
- Ku, C.T., C.Y. Wang, Y.C. Tsai, C.C. Tzeng, and C.H. Wang. 2007. Phylogenetic analysis of two putative *Nosema* isolates from Cruciferous Lepidopteran pests in Taiwan. Journal of Invertebrate Pathology 95: 71-76.

- Larsson, J.I.R. 2005. Fixation of microsporidian spore for electron microscopy. *Journal of Invertebrate Pathology* 90: 47-50.
- Li, Y., Z. Wu, G. Pan, W. He, R. Zhang, J. Hu, and Z. Zhou. 2009. Identification of a novel spore wall protein (SWP26) from microsporidia *Nosema bombycis*. *International Journal for Parasitology* 39: 391-398.
- Lu, Y.L. 1991. *Silkworm diseases*. Translated by Liu, F. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome.
- Malone, L.A., and C.A. McIvor. 1993. Pulse-field gel electrophoresis of DNA from four microsporidian isolates. *Journal of Invertebrate Pathology* 61: 203-205.
- \_\_\_\_\_, and C.A. McIvor. 1995. DNA probe for two microsporidia, *Nosema bombycis* and *Nosema costelytrae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 65: 269-273.
- Mei, L.L., and W. Jin. 1989. Study on *Nosema bombycis* and *N. hemerophila*. *Acta Sericologica Sinica* 15: 135-138.
- Mike, A., M. Ohwaki, and T. Fukada. 1988. Preparation of monoclonal antibodies to the spore of *Nosema bombycis*, M11 and M12. *J. Seric. Sci. Jpn.* 57(3): 189-195.
- \_\_\_\_\_, H. Ohmura, M. Ohwaki, and T. Fukada. 1989. A practical technique of pebrine inspection by microsporidian spore specific monoclonal antibody-sensitized latex. *J. Seric. Sci. Jpn.* 58(5): 392-395.
- Miyamoto, K. 1989. The detection of spores of *Nosema bombycis* (Microspora : Nosematidae) by enzyme immunoassay (EIA). *Acta Seric. Entomol.* 1: 11-19.
- Nageswara, R.S., M. Muthulakshmi, S. Kanginakudru, and J. Nagaraju. 2004. Phylogenetic relationships of three new microsporidian isolates from the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Invertebrate Pathology* 86: 87-95.
- Papirom, S., S. Sirimungkararat, P. Sirithorn, S. Chuprayoon, and M. Lawan. 2005. *Nosema bombycis*, a causal agent of pebrine disease of Thai silkworm variety and the detection by ELISA test. BioThailand 2005 Challenges in the 21<sup>th</sup> Century. 2<sup>nd</sup> – 5<sup>st</sup> November 2005. The Queen Sirikit National Convention Center. Bangkok, Thailand.
- Patil, C.S., and S.B. Dandin. 1997. *Handbook of disinfection and hygien in sericulture*. KSSRDI Technical Bulletin No. 18. Lavanya Mudrana: Bangalore.

- \_\_\_\_\_, and M.G. Bai. 1989. Studies on the susceptibility of silkworm races to pebrine spore, *Nosema bombycis* Naegeli. *Journal of Applied Entomology* 108: 421-423.
- Patil, C.S., N.B. Jyothi, and C.M.S. Dass. 2002. Role of *Nosema bombycis* infected male silk moths in the venereal transmission of pebrine disease in *Bombyx mori* (Lep., Bombycidae). *Journal of Applied Entomology* 126: 563-566.
- \_\_\_\_\_, N.B. Jyothi, C.M.S. Dass, and S.B. Dandin. 1999. Venereal transmission of pebrine spore, *Nosema bombycis* in silkworm, *Bombyx mori* L. and its implication in seed production. The proceeding of the XVIII<sup>th</sup> International Sericultural Commission Congress. 12-16 October 1999. Cairo, Egypt.
- Pieniazek, N.J., A.J. DA Silva, S.B. Slemenda, G.S. Visvesvara, T.J. Kurtti, and C. Yasunaga. 1996. *Nosema trichoplusiae* is a synonym of *Nosema bombycis* based on the sequence of the small subunit ribosomal RNA coding region. *Journal of Invertebrate Pathology* 67: 316-317.
- Revi, V., M.C. Devaiah, K.P. Chinnaswamy, R. Govindan. 1999a. Influence of pebrine infection during fourth instar *Bombyx mori* L. on cocoon traits. *Insect Environment* 5(1): 14-15.
- \_\_\_\_\_, M.C. Devaiah, R. Govindan, K.P. Chinnaswamy. 1999b. Influence of pebrine infection during fifth instar *Bombyx mori* L. on grainage traits. *Insect Environment* 5(1): 16.
- Sato, R., M. Kobayashi, and H. Watanabe. 1981. Internal ultrastructure of spores of microsporidians isolated from the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Invertebrate Pathology* 40: 260-265.
- \_\_\_\_\_, M. Kobayashi, H. Watanabe, and T. Fujiwara. 1981. Serological discrimination of several kinds of microsporidian spores isolated from the silkworm, *Bombyx mori*, by an indirect fluorescent antibody technique. *J. Seric. Sci. Jpn.* 50: 180-184. (summary in English)
- Sengupta, K., M. Baig, M.V. Samson, and B. Wataraju. 1993. Immuno-diagnosis of the pebrine disease in silkworm. *Sericologia* 33(1): 147-149.
- Shamim, M., D. Ghosh, M. Baig, B. Wataraju, and R.K. Datta. 1997. Production of monoclonal antibodies against *Nosema bombycis* and their utility for detection of pebrine infection in *Bombyx mori* L. *J. Immunoassay* 18(4): 357-370.

- Shimizu, S., M. Ohba, K. Kanda., and K. Aizawa. 1983. Latex agglutination test for the detection of the flacherie virus of the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Invertebrate Pathology* 42: 151-155.
- Sirimungkararat, S., S. Chuprayoon, P. Sirithorn, S. Papirom, M. Lawan, N. Prommeechai, S. Sopa, C. Limwanich, and S. Khwanphuek. 2002. Transovarial transmission of microsporidian in the multivoltine Thai silkworm and the chemical effect on its spore. XIX<sup>th</sup> Congress of the International Sericultural Commission 21<sup>st</sup>-25<sup>th</sup> September 2002. The Queen Sirikit National Convention Center. Bangkok, Thailand.
- Sironmani, T.A. 1999. Biochemical characterization of the microsporidian *Nosema bombycis* spore proteins. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 15: 239-248.
- Steinhaus, E.A. 1949. Principles of insect pathology. McGraw-Hill Book Company, Inc.: New York.
- Tang, S.M., Z.F. Zhang, Y.R. Ki, and J.L. He. 2002. Study on the staining of spores of *Nosema bombycis* by chromotrope 2R method. *Acta Sericologica Sinica* 28: 74.
- Tatsuke, K. 1971. Pebrine disease of silkworm. Oversea Technical Cooperation Agency : n.p.
- Tsai, S.J., C.F. Lo, Y. Soichi, and C.H. Wang. 2003. The characterization of microsporidian isolates (Nosematidae: *Nosema*) from five important lepidopteran pests in Taiwan. *Journal of Invertebrate Pathology* 83: 51-59.
- Tsai, Y.C., L.F. Solter, C.Y. Wang, H.S. Fan, C.C. Chang, and C.H. Wang. 2009. Morphological and molecular studies of microsporidium (*Nosema* sp.) isolate from the thee spot grass yellow butterfly, *Eurema blanda arsakia* (Lepidoptera: Pieridae) *Journal of Invertebrate Pathology* 100: 85-93.
- United Nations. 1993. Techniques of silkworm rearing in the tropics. (n.p.): New York.
- Xu, J., M. Wang, X. Zhang, F. Tang, G. Pan, and Z. Zhou. 2010. Identification of NbME MITE families: potential molecular markers in the microsporidia *Nosema bombycis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: 48-52.
- Yasunaga, C., M. Funakoshi, T. Kawarabata, Y. Aratake, and H. Iwano. 1992. Isolation and characterization of *Nosema bombycis* (Microsporida : Nosematidae) from larvae of beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* 36: 127-134.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมตัวอย่าง การนับ และการคำนวณ

จำนวนสปอร์ของเชื้อโปรโตซัว (*Nosema bombycis*/*Nosema* spp.)

การเตรียมตัวอย่าง การนับ และการคำนวณจำนวนสปอร์ของเชื้อโปรโตซัว (*Nosema bombycis*/*Nosema* spp.)

## 1. การเตรียมตัวอย่างและการตรวจหาสปอร์ของเชื้อ

### 1.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการตรวจสปอร์

การตรวจหาสปอร์ของเชื้อนั้น สามารถตรวจได้จากทั้งในระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย โดยนำตัวอย่างใหม่มาผ่านขั้นตอนการตรวจหาสปอร์ของเชื้อ ซึ่งแยกตามระยะของตัวอย่างที่เก็บได้ โดยประยุกต์ตามวิธีของกรมส่งเสริมการเกษตร (2535) ดังนี้

1.1.1 การตรวจไข่ โดยชุบไข่หรือเปลือกไข่ (ในกรณีที่ไข่ฟักออกแล้ว) ใส่โถงเติมโปแตสเซียมคาร์บอเนต ( $K_2CO_3$ ) 0.5 เปอร์เซ็นต์ 100 ไมโครลิตรต่อกลุ่มไข่ (200-400 ฟอง) แล้วบดให้ละเอียด

1.1.2 การตรวจหนอนและดักแด้ บดหนอนหรือดักแด้ให้ละเอียดในโถงที่มี  $K_2CO_3$  0.5 เปอร์เซ็นต์ ในการตรวจหาสปอร์ของเชื้อจะใช้  $K_2CO_3$  0.5 เปอร์เซ็นต์สำหรับตัวอย่างสด และใช้โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 2 เปอร์เซ็นต์สำหรับตัวอย่างอบแห้ง ซึ่งได้ปฏิบัติดังนี้

หนอนวัย 1 บดรวมกัน 10 ตัว ผสม  $K_2CO_3$  0.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 200 ไมโครลิตร

หนอนวัย 2 บดรวมกัน 10 ตัว ผสม  $K_2CO_3$  0.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 200 ไมโครลิตร

หนอนวัย 3 บดรวมกัน 10 ตัว ผสม  $K_2CO_3$  0.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 400 ไมโครลิตร

หนอนวัย 4 บดแยกทีละ 1 ตัว ผสม  $K_2CO_3$  0.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 400 ไมโครลิตรต่อตัว

หนอนวัย 5 บดแยกทีละ 1 ตัว เติม  $K_2CO_3$  0.5 เปอร์เซ็นต์ 800 ไมโครลิตรต่อตัว

ดักแด้ บดทีละ 1 ตัว ผสม  $K_2CO_3$  0.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 800 ไมโครลิตรต่อตัว

1.1.3 การตรวจแม่ผีเสื้อ การตรวจนั้นสามารถตรวจได้ทั้งจากแม่ผีเสื้อที่สดและอบแห้ง สำหรับแม่ผีเสื้อที่อบแห้งให้ปฏิบัติดังนี้คือ หลังจากแม่ผีเสื้อวางไข่แล้ว นำไปอบที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส นานประมาณ 5 ชั่วโมง ถ้าอุณหภูมิสูงเกินกว่า 80 องศาเซลเซียส จะทำให้สปอร์เปลี่ยนแปลงรูปร่างไป ความวาวแสงลดลง ซึ่งจะทำให้การตรวจหาสปอร์ทำได้ยากขึ้น การตรวจ โดยนำแม่ผีเสื้อใส่โถง บดให้ละเอียด ด้วยสารละลาย จำนวน 800 ไมโครลิตรต่อผีเสื้อ 1 ตัว สำหรับแม่ผีเสื้ออบแห้งโดยใช้ KOH 2 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแม่ผีเสื้อสดให้ปฏิบัติเช่นเดียวกับแม่ผีเสื้ออบแห้ง แต่ใช้  $K_2CO_3$  0.5 เปอร์เซ็นต์ แทน

หมายเหตุ: สำหรับการตรวจหาสปอร์ของเชื้อ *Nosema bombycis*/*Nosema* spp. ในแมลงชนิดอื่นคือ หนอนกระทู้หอม และแมลงในวงศ์ Pieridae ในแต่ละระยะการเจริญเติบโตนั้นปฏิบัติเช่นเดียวกับการตรวจหาสปอร์ของเชื้อจากไหม แต่กำหนดปริมาณในการใช้

สารละลายสำหรับบดในระยะหนอนที่โตและระยะตัวเต็มวัย ดังนี้คือ หนอนที่มีขนาด  $\leq 2$  เซนติเมตร ใช้สารละลายจำนวน 400 ไมโครลิตร และหนอนที่มีขนาด  $> 2$  เซนติเมตร ใช้สารละลายจำนวน 800 ไมโครลิตร

### 1.2 การตรวจหาเชื้อ *Nosema bombycis*/*Nosema* spp.

เมื่อเตรียมตัวอย่างได้แล้ว นำมาตรวจหาสปอร์ของเชื้อ โดยใช้ micropipette ดูด  $K_2CO_3$  0.5 เปอร์เซ็นต์ หรือ KOH 2 เปอร์เซ็นต์ (ขึ้นอยู่กับรูปแบบตัวอย่าง) จำนวน 20 ไมโครลิตร ตามด้วยสารแขวนลอยของตัวอย่างที่บดอย่างละเอียดและปล่อยให้ตกตะกอนแล้ว จำนวน 5 ไมโครลิตร นำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ phase contrast กำลังขยาย 400 เท่า นับจำนวนสปอร์ต่อ field (microscopic field) โดยนับ 3 field ต่อสไลด์ นับจำนวน 2 สไลด์ จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยต่อ microscopic field

### 1.3 การคำนวณหาจำนวนสปอร์ต่อตัว

หลังจากที่ได้จำนวนสปอร์เฉลี่ยต่อ field แล้วนำมาคำนวณหาจำนวนสปอร์ต่อตัว โดยคำนวณดังนี้

1.3.1 คำนวณหาจำนวน 1 microscopic field ต่อพื้นที่ภายใต้ cover slip ขนาด 22 x 22 มิลลิเมตร (กำลังขยายเลนส์วัตถุ 40 เท่า เลนส์ตา 10 เท่า)

โดยจากกล้อง วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ field ได้ = 45 ช่อง ของ stage micrometer

1 ช่อง stage micrometer = 0.01 มิลลิเมตร

ดังนั้น 45 ช่องของ stage micrometer เท่ากับ  $45 \times 0.01 = 0.45$  มิลลิเมตร

(เส้นผ่าศูนย์กลางของ microscopic field)

$$\begin{aligned} \text{โดยที่พื้นที่ 1 microscopic field} &= \pi r^2 \\ &= \frac{22}{7} \times (0.45/2)^2 \text{ ตารางมิลลิเมตร} \\ &= 3.14 \times 0.051 \text{ ตารางมิลลิเมตร} \\ &= 0.16014 \text{ ตารางมิลลิเมตร} \end{aligned}$$

1 สไลด์ มีพื้นที่ภายใต้ cover slip เท่ากับ 22x22 มิลลิเมตร = 484 ตารางมิลลิเมตร

ซึ่ง 0.16014 ตารางมิลลิเมตร = 1 microscopic field

ดังนั้น 484 ตารางมิลลิเมตร =  $\frac{1 \times 484}{0.16014}$  microscopic field

ดังนั้น 1 ภายใต cover slip จึงมีจำนวน = 3,022.355 microscopic field

### 1.3.2 ตัวอย่างการคำนวณหาจำนวนสปอร์ต่อตัว

ตัวอย่าง เมื่อตรวจพบสปอร์ของเชื้อในหนอนไหมวัย 5 ใน 1 ตัวได้จำนวน 300 สปอร์ต่อ microscopic field จะมี จำนวนสปอร์ของเชื้อก็สปอร์ต่อตัว โดยการใช้  $K_2CO_3$  0.5 เปอร์เซ็นต์ หรือ KOH 2 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 800 ไมโครลิตรในการบดตัวอย่าง วิธีคำนวณ เนื่องจาก 1 microscopic field พบจำนวน 300 สปอร์ และ 1 cover slip

มี 3,022.355 microscopic field

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น 1 cover slip จะพบสปอร์} &= 300 \times 3,022.355 \text{ microscopic field} \\ &= 906,706.5 \text{ สปอร์} \end{aligned}$$

ใน 1 cover slip ใช้สารแขวนลอยที่ได้จากการบดตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร ผสมกับ  $K_2CO_3$  0.5 เปอร์เซ็นต์ หรือ KOH 2 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันอย่างดี

ดังนั้นในสารแขวนลอยสปอร์ที่เจือจางแล้วปริมาตร 25 ไมโครลิตร

$$\text{มีเชื้อ} = 906,706.5 \text{ สปอร์}$$

หรือ 5 ไมโครลิตร ของตัวอย่างที่ได้จากการบด (original) มีเชื้ออยู่ = 906,706.5 สปอร์

$$\text{ดังนั้น 800 ไมโครลิตร ของ original มีเชื้ออยู่} = \frac{906,706.5 \times 800}{5} \text{ สปอร์}$$

แต่เนื่องจากใน 800 ไมโครลิตร ได้จากการบดหนอน 1 ตัว = 145,073,040 สปอร์

$$\text{เพราะฉะนั้นจึงมีสปอร์} = 1.45 \times 10^8 \text{ สปอร์ต่อตัว}$$

ดังนั้นจากวิธีการนี้หากตรวจพบสปอร์ของเชื้อในหนอนไหมวัย 5 จำนวน 300 สปอร์ต่อ microscopic field จะมีจำนวนสปอร์  $1.45 \times 10^8$  สปอร์ต่อตัว

## 2. การใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemocytometer) ในการนับและการคำนวณปริมาณสปอร์ของเชื้อ

ฮีมาไซโตมิเตอร์เป็นแผ่นแก้วสไลด์ที่ตีเส้นเป็นช่องตาราง รูปร่างเป็นอักษรตัว H ที่มีพื้นที่สำหรับการนับอยู่ 2 chamber บนตัวสไลด์ มักมีตัวเลขระบุความลึกของช่องตาราง ซึ่งโดยทั่วไปมักมีความลึก 0.1 มิลลิเมตร ในบริเวณที่ใช้สำหรับนับจะแบ่งออกเป็นพื้นที่สี่เหลี่ยมจตุรัส 9 ช่องใหญ่ๆ รวมพื้นที่ 9 ช่องใหญ่ๆรวมกันเท่ากับ  $3 \times 3$  ตารางมิลลิเมตร ซึ่งแต่ละช่องของ 9 ช่องใหญ่ๆมีพื้นที่เท่ากับ  $1 \times 1$  ตารางมิลลิเมตร และช่องแต่ละช่องของ 9 ช่องใหญ่ (ตัวอักษร A, B, C และ D) จะถูกแบ่งย่อยออกเป็น 16 ช่องเล็ก มีพื้นที่ในแต่ละ 16 ช่องเล็กนี้เท่ากับ  $0.25 \times 0.25$  ตารางมิลลิเมตร ในช่องตรงกลาง (อักษร E) จะถูกแบ่งย่อยออกเป็น 25 ช่องเล็ก มีพื้นที่ในแต่ละช่องของ 25 ช่องเล็ก

นี้เท่ากับ  $0.2 \times 0.2$  ตารางมิลลิเมตร และแต่ละ 25 ช่องเล็กนี้จะถูกแบ่งย่อยลงไปอีกเป็น 16 ช่องเล็ก โดยมีพื้นที่ในแต่ละ 16 ช่องเล็กดังกล่าวนี้เท่ากับ  $0.05 \times 0.05$  ตารางมิลลิเมตร

## 2.1 การนับจำนวนสปอร์ของเชื้อ

2.1.1 นำตัวอย่างสารแขวนลอยของเชื้อที่ได้จากการทำเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วไปใช้เพื่อการนับและคำนวณหาจำนวนความเข้มข้นของสปอร์ของเชื้อที่ระดับความเจือจาง (dilution) เช่น  $10^{-1}$   $10^{-2}$  และ  $10^{-3}$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณความหนาแน่นของเชื้อที่ตรวจพบ

2.1.2 ถ้างีมาไซโตมิเตอร์ และกระจกปิดสไลด์ (cover slip) ให้สะอาดด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์และเช็ดให้แห้งด้วยกระดาษเช็ดเลนส์

2.1.3 วางกระจกปิดสไลด์ ที่สะอาดลงบน counting chamber ของฮีมาไซโตมิเตอร์

2.1.4 คูดสารแขวนลอยของเชื้อจากข้อ 2.1.1 โดยเลือกระดับความเจือจางที่เหมาะสม ค่อยๆ หยดลงในร่องตรงกลางสำหรับหยดตัวอย่างจนเต็ม counting chamber ทั้ง 2 ข้าง โดยไม่ให้ล้นและอย่าให้เกิดฟองอากาศ ตั้งทิ้งไว้เพื่อให้สปอร์ตกตะกอนประมาณ 3-5 นาที จึงเริ่มนับ

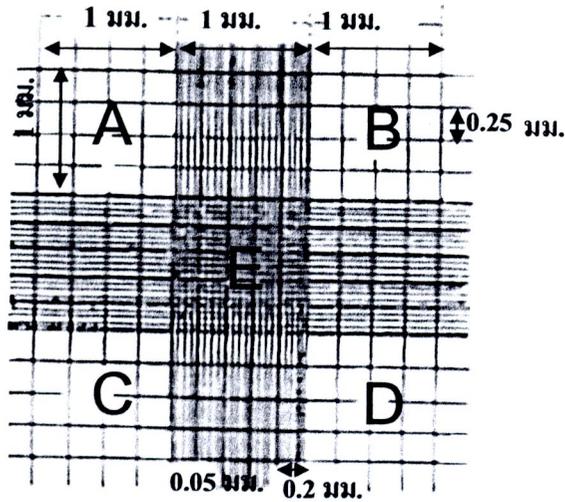
2.1.5 หลังจากทิ้งให้สปอร์ตกตะกอน จึงนำฮีมาไซโตมิเตอร์ไปตรวจนับจำนวนสปอร์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด phase contrast กำลังขยาย 400 เท่า นับจำนวนสปอร์รวมทั้งหมด 5 ช่องต่อ chamber (A, B, C, D และ E) ซึ่งจำนวนสปอร์ของเชื้อที่นับได้จากแต่ละ chamber ควรอยู่ในช่วง 100-300 สปอร์ และจำนวนสปอร์ที่นับจากทั้ง 2 chamber แตกต่างกันได้ไม่เกิน 15 เปอร์เซ็นต์ ถ้ามากหรือน้อยกว่านี้ให้เปลี่ยนไปใช้ระดับความเจือจางอื่นที่เหมาะสม

2.1.6 ปฏิบัติซ้ำข้อ 2.1.2-2.1.5 อีก 2 ครั้ง จะทำให้ได้ค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์จำนวน 3 ค่า จากการตรวจนับ 3 ครั้ง จดบันทึกข้อมูลแล้วนำไปหาค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ที่นับได้ เพื่อนำไปคำนวณหาจำนวนสปอร์ต่อตัวอย่างต่อไป

## 2.2 การคำนวณหาจำนวนสปอร์ของเชื้อ

2.2.1 ข้อมูลที่ใช้ในการคำนวณ คือ

1. พื้นที่แต่ละช่องที่ใช้นับ (A, B, C, D และ E) มีค่าเท่ากับ  $1 \times 1$  ตารางมิลลิเมตร
2. เมื่อปิดกระจกปิดสไลด์และหยดสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อแล้วจะทำให้ระยะห่างระหว่าง chamber กับกระจกปิดสไลด์ เท่ากับ  $1/10$  มิลลิเมตร (0.1 มิลลิเมตร)
3. จำนวนช่องที่ใช้นับจำนวนสปอร์ของเชื้อมีทั้งหมด 5 ช่อง และจำนวนสปอร์ที่นับได้จาก 5 ช่อง มีค่าเท่ากับ P สปอร์
4. ระดับความเจือจางของสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อที่นำมา นับ คือ  $10^{-i}$



2.2.2 การคำนวณ

จากข้อมูลข้างต้นสามารถคำนวณหาปริมาตรของ chamber ที่ใช้นับทั้งหมด 5 ช่องได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{ปริมาตร} &= 1 \times 1 \times \frac{1}{10} \times 5 \text{ ลูกบาศก์มิลลิเมตร} \\ &= 0.5 \text{ ลูกบาศก์มิลลิเมตร} \end{aligned}$$

ปริมาตรของสารแขวนลอยเชื้อ โปรโตซัว 0.5 ลูกบาศก์มิลลิเมตรมีจำนวนสปอร์ = P สปอร์  
 ปริมาตรของสารแขวนลอยเชื้อ โปรโตซัว 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร นับจำนวนสปอร์ = 2P สปอร์  
 ดังนั้น ปริมาตรของสารแขวนลอยเชื้อ โปรโตซัว 1 มิลลิตร จะนับจำนวนสปอร์ =  $2P \times 10^3$  สปอร์  
 (1,000 ลูกบาศก์มิลลิเมตร = 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร = 1 มิลลิตร)

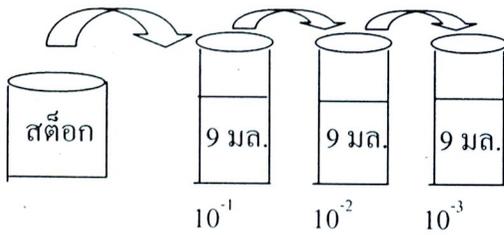
ถ้า dilution ที่นำมา นับคือ  $10^{-a}$

$$\begin{aligned} \text{ซึ่งที่ dilution } 10^{-a} \text{ นับสปอร์ของเชื้อได้} &= 2P \times 10^3 \text{ สปอร์ต่อมิลลิตร} \\ \text{ดังนั้น สัตว์อกสารแขวนลอยของเชื้อ จะมีจำนวนสปอร์} &= 2P \times 10^3 \times 10^a \text{ สปอร์ต่อมิลลิตร} \\ \text{หรือ} &= 2P \times 10^{3+a} \text{ สปอร์ต่อมิลลิตร} \\ \text{หรือ } 2P \times 10^3 \times \text{จำนวนเท่าที่เจือจาง (dilution factor)} & \end{aligned}$$



ตัวอย่าง การนับสปอร์ของเชื้อ *N. bombycis* ในสต็อก ในขั้นที่ 1 ได้ทดลองนำ dilution ที่  $10^{-3}$  ไปนับแต่นับไม่ได้ เนื่องจากมีความหนาแน่นของสปอร์มากเกินไป จึงนำสารแขวนลอยของสปอร์ที่ dilution  $10^{-3}$  เจือจางด้วยอัตรา 1:4 (ขั้นที่ 2 ก) ไปนับ พบว่า 5 ช่อง นับได้ 269 สปอร์

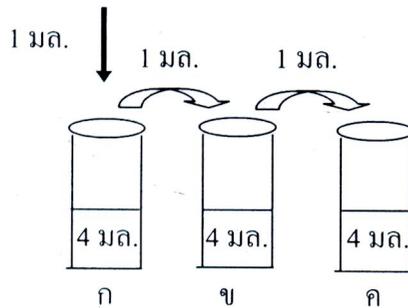
ขั้นที่ 1 1 มล. 1 มล. 1 มล. 1 มล.



= serial dilution ที่ต่างกัน 10 เท่า

$$\left( \frac{1}{1+9} = \frac{1}{10} = 10 \text{ เท่า} \right)$$

ขั้นที่ 2



= serial dilution ที่ต่างกัน 5 เท่า

$$\left( \frac{1}{1+4} = \frac{1}{5} = 5 \text{ เท่า} \right)$$

วิธีคำนวณ

แทนค่าในสูตร  $2P \times 10^{3+a}$

ขั้นที่ 1 =  $2(269) \times 10^3 \times 10^3 \longrightarrow$  dilution ที่  $10^{-3}$   
 =  $2(269) \times 10^{3+3}$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร

ขั้นที่ 2 =  $2(269) \times 10^{3+3} \times 5 \longrightarrow$  dilution ที่  $10^{-3}$  ที่ถูกเจือจางไปอีก 5 เท่า

ดังนั้น ความเข้มข้นของสปอร์ในสต็อก =  $2(269) \times 10^{3+3} \times 5$   
 =  $2.69 \times 10^9$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร

สต็อกซีอมีความเข้มข้นเท่ากับ  $2.69 \times 10^9$  สปอร์ต่อมิลลิลิตรจากนั้นปรับความเข้มข้น  
 สำหรับใช้ในการปลูกเชื้อคือที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^9$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร

โดยใช้สูตร  $N_1 V_1 = N_2 V_2$

โดยที่  $N_1$  = ความเข้มข้นของสารแขวนลอยของสปอร์ที่ต้องนำไปทำให้เจือจาง (สต็อกซีอ)

$V_1$  = ปริมาตรของสารสารแขวนลอยของสปอร์ที่ต้องนำไปทำให้เจือจาง

$N_2$  = ความเข้มข้นของสารแขวนลอยของสปอร์ที่ต้องการ

$V_2$  = ปริมาตรของสารสารแขวนลอยของสปอร์ที่ต้องการ

(ต้องการเตรียมสารแขวนลอยของสปอร์ 1 มิลลิลิตรให้เข้มข้น  $1 \times 10^9$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร)

แทนค่าในสูตร  $2.69 \times 10^9 (V_1) = 1 \times 10^9 (1)$

$$V_1 = 0.37 \text{ มิลลิลิตร}$$

เพราะฉะนั้น จะต้องคัดสารละลายที่ต้องนำไปทำให้เจือจาง (สต็อกซีอ) มา 370  
 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวนเท่ากับ  $1,000 - 370 = 630$  ไมโครลิตร ก็จะได้  
 สารแขวนลอยสปอร์เข้มข้น  $1 \times 10^9$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (1,000 ไมโครลิตร)

**ภาคผนวก ข**

**การเตรียมส่วนประกอบสำหรับเตรียมอาหารเทียมเพื่อใช้ในการปลูกเชื้อ**

### การเตรียมส่วนผสมอาหารเทียม

#### อาหารเทียม (Artificial diate) สำหรับเลี้ยงสต็อก

Baker yeast	10.0	กรัม
Methyl paraben	2.5	กรัม
Sorbic acid	1.5	กรัม
Ascorbic acid	2.5	กรัม
Vitamin stock/Bodivitin <sup>®</sup>	15.0	มิลลิลิตร
Formalin 40%	1.5	มิลลิลิตร
Grind green bean	120.0	กรัม
Agar	12.5	กรัม
Distilled water	800.0	มิลลิลิตร

#### Vitamin stock

Niacin	6.0	กรัม
Inosito	15.0	กรัม
Calcium	3.0	กรัม
Vitamin B1	1.5	กรัม
Vitamin B2	2.5	กรัม
Vitamin B12	20.0	กรัม
Folic acid	1.5	กรัม
Choline chloride	10.0	กรัม
Biotin	5.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

### ขั้นตอนการเตรียมอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงสต็อก

1. นำ baker yeast, methyl paraben และ grind green bean ปั่นรวมกันในน้ำ 400 มิลลิลิตร
2. ละลายวุ้นในน้ำอีก 400 มิลลิลิตร นำไปเคี่ยวจนวุ้นสุก
3. เทวุ้นที่สุกแล้วลงในข้อที่ 1 และปั่นให้เข้ากัน ทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงเหลือ 60 องศาเซลเซียส
4. เติม sorbic acid, ascorbic acid, vitamin stock และ formalin 40 เปอร์เซ็นต์ ผสมให้เข้ากัน
5. เทลงในภาชนะที่สะอาด

ส่วนการเตรียมอาหารเทียมสำหรับปลูกเชื้อนั้น ทำเช่นเดียวกับอาหารเทียมที่ใช้เลี้ยงหนอนสต็อก แต่จะไม่เติม formalin 40 เปอร์เซ็นต์ และอาจเปลี่ยนจาก vitamin stock เป็นวิตามินเด็ก Bodivitin แทนก็ได้ สำหรับการเตรียม vitamin stock นั้น นำส่วนผสมมาละลายน้ำ เก็บใส่ขวดสีชาหรือขวดทึบแสง นำเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น

ภาคผนวก ก

ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของจังหวัดขอนแก่นปี 2551-2552

ตารางที่ 56 แสดงค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของจังหวัดขอนแก่นปี 2551

เดือน	อุณหภูมิต่ำสุด	อุณหภูมิสูงสุด	อุณหภูมิเฉลี่ย	ความชื้นสัมพัทธ์
มกราคม	30.64	17.84	23.40	63.10
กุมภาพันธ์	28.44	17.42	22.37	64.59
มีนาคม	34.03	21.88	27.21	58.55
เมษายน	34.66	24.34	28.52	71.33
พฤษภาคม	32.89	24.54	27.50	78.42
มิถุนายน	33.50	24.95	28.27	76.87
กรกฎาคม	33.14	24.67	27.68	79.00
สิงหาคม	32.55	24.38	27.41	80.81
กันยายน	31.66	24.10	26.70	84.87
ตุลาคม	32.54	23.91	27.25	77.35
พฤศจิกายน	29.67	20.36	24.40	70.70
ธันวาคม	28.86	17.20	22.25	63.68
ค่าเฉลี่ย	31.88	22.13	26.08	72.44

ที่มา : กรมอุตุนิยมวิทยา (2553)

ตารางที่ 57 แสดงค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของจังหวัดขอนแก่นปี 2552

เดือน	อุณหภูมิต่ำสุด	อุณหภูมิสูงสุด	อุณหภูมิเฉลี่ย	ความชื้นสัมพัทธ์
มกราคม	28.69	15.46	21.41	59.48
กุมภาพันธ์	34.65	21.50	27.31	58.14
มีนาคม	34.31	23.07	28.06	65.77
เมษายน	35.64	24.76	29.31	67.13
พฤษภาคม	33.75	24.50	28.01	76.58
มิถุนายน	34.19	25.11	28.87	73.37
กรกฎาคม	32.79	24.79	27.95	77.74
สิงหาคม	33.31	24.67	27.93	79.84
กันยายน	32.86	24.51	27.58	81.83
ตุลาคม	32.62	23.84	27.50	75.77
พฤศจิกายน	31.93	20.24	25.39	62.33
ธันวาคม	31.42	18.88	24.52	61.90
ค่าเฉลี่ย	33.01	22.61	26.99	69.99

ที่มา : กรมอุตุนิยมวิทยา (2553)



## ประวัติผู้เขียน

นางสาวทัศนีย์ นพรัตน์ เกิดเมื่อวันที่ 18 กันยายน 2527 ภูมิลำเนา บ้านเลขที่ 386 หมู่ 1 ต. เมืองปัก อ. ปักธงชัย จ. นครราชสีมา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีสาขาวิชาพืชสวน จาก คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก เมื่อ พ.ศ. 2548 และได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาจุลชีววิทยาทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อปี พ.ศ. 2548 ระหว่างศึกษาในระดับปริญญาโท ได้รับหน้าที่เป็นผู้ช่วยสอนนักศึกษาในระดับปริญญาตรีหลายวิชา และเป็นผู้ช่วยวิจัยในโครงการ “ความหลากหลายชนิดของแมลงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในวงศ์ Saturniidae ในเขตอนุรักษพันธุกรรมพืช” และได้รับสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ จาก ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยร่วม-มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (AG-BIO/PERDO-CHE) รวมทั้งได้งบประมาณสนับสนุนบางส่วนและเป็นผู้ช่วยวิจัยของศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน และกลุ่มวิจัยการเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์ไหมป่าเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

### ผลงานทางวิชาการ

1. Sirimungkararat, S., W. Saksirirat, **T. Nopparat**, and A. Natongkham. 2008. Edible products from mulberry silkworm and wild silkmoth (*Samia ricini* D.). Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO) on edible forest insect entitled “Forest Insects as Food : Humans Bite Back”. 19-21 February 2008. Chiang Mai, Thailand.
2. Sirimungkararat, S., W. Saksirirat, **T. Nopparat**, and T. Narkdang . 2010. Eri textile development for registration to Thai Community Product Standard (TCPS). International Journal Wild Silkmoth & Silk. (in press)
3. อนุสิทธิบัตร เรื่อง ข้าวเกรียบไหมอีรี่รสน้ำพริกอ่อนและกรรมวิธีการผลิตข้าวเกรียบดังกล่าว

