Agricultural Sci. J. 42 : 1 (Suppl.) : 410-413 (2011) ว. วิทย. กษ. 42 : 1 (พิเศษ) : 410-413 (2554)

ประสิทธิภาพของก๊าซโอโซนในการควบคุมด้วงงวงข้าวในข้าวสาร

Efficacy of Ozone to Control Rice Weevil (*Sitophilus oryzae* Linnaeus) in Milled Rice

เจนวิทย์ ทาแกง[1] เยาวลักษณ์ จันทร์บาง[1,2] และไสว บูรณพานิชพันธุ์[1]

Jenwit Takang[1] , Yaowaluk Chanbang[1,2] and Sawai Buranapanichpan[1]

Abstract

Rice weevil (*Sitophilus oryzae* Linnaeus) is one of the most important insect pests of milled rice and paddy during storages. The immature stages; egg, larval and pupal stages were developed inside the kernel which could hardly to be seen. If they were allowed to grow up to adult stage could cause severe damage to the commodity. The objective of this experiment was to determine the efficacy of ozone to control rice weevil in milled rice. This experiment was conducted in laboratory by allowing larvae and pupae to grow in Khao Dawk Mali 105 rice. The rice weevils were allowed to lay eggs in milled rice kernels and the rice were then stained with 0.05% acid fuchsin to separate out the infested kernels. The infested kernels (1 egg/kernel) were allowed to grow at 28-32°C in 75% RH controlled chamber. Those eggs were able to complete to adult stage after 40-45 days at 63.75% survival rate. Those eggs, larvae, pupae and adults of rice weevil in milled rice kernels were exposed to ozone at the dosage rate of 60 ppm for 2 hours. Mortalities of the 4 stages, egg, larva, pupa and adult of rice weevil were 27.50±2.63, 65.83±5.50, 17.50±1.26 and 17.50±2.89% respectively which indicated that the egg, pupal and adult stages were more tolerance to ozone than the larval stage. Abnormal figures were observed on these pupae exposed to ozone.

Keywords: Rice weevil, ozone gas, Khao Dawk Mali 105 rice

บทคัดย่อ

ด้วงงวงข้าว (*Sitophilus oryzae* Linnaeus) เป็นแมลงศัตรูข้าวสารและข้าวเปลือกที่สำคัญในโรงเก็บรักษา ด้วงงวงข้าวในระยะวัยอ่อน ได้แก่ ระยะไข่ หนอน และดักแด้ อาศัยอยู่ภายในเมล็ด ยากต่อการตรวจพบ และหากติดไปกับผลผลิตข้าวจะสามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย สร้างความเสียหายต่อไปได้ ในการทดลองนี้ได้ศึกษาผลกระทบของก๊าซโอโซนต่อด้วงงวงข้าว ในห้องปฏิบัติการโดยทำให้ด้วงงวงข้าวระยะหนอน และดักแด้เจริญอยู่ในข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เพื่อให้ด้วงงวงข้าวเพศเมียวางไข่ลงบนข้าวสาร หลังจากนั้นข้าวสารที่มีไข่ถูกคัดแยกโดยการย้อมสีด้วย acid fuchsin 0.05% จากนั้นแยกเลี้ยงเดี่ยวโดยใช้ไข่ 1 ฟองต่อข้าวสาร 1 เมล็ด ภายใต้สภาพอุณหภูมิห้องที่อุณหภูมิ 28-32°C ในกล่องปรับความชื้นที่ระดับ 75% RH พบว่าไข่ของด้วงงวงข้าวที่ได้รับการย้อมสีสามารถฟักและมีการเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้เฉลี่ย 63.75% โดยใช้เวลาตั้งแต่ระยะไข่ จนถึงตัวเต็มวัยเป็นเวลาประมาณ 40-45 วัน ด้วงงวงข้าวในระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย เมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 60 ppm เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่ามีการตาย 27.50±2.63, 65.83±5.50, 17.50±1.26 และ 17.50±2.89% ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่าด้วงงวงข้าวในระยะไข่ ดักแด้ และตัวเต็มวัยสามารถทนก๊าซโอโซนได้ดีกว่าระยะหนอน และจากการสังเกตยังพบด้วยว่าดักแด้ของด้วงงวงข้าวที่ได้รับก๊าซโอโซน มีรูปร่างลักษณะผิดปกติ

คำสำคัญ: ด้วงงวงข้าว ก๊าซโอโซน ข้าวขาวดอกมะลิ 105

คำนำ

ด้วงงวงข้าว เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของเมล็ดธัญพืชหลายชนิด เช่น ข้าว และข้าวโพด ตัวเต็มวัยและตัวหนอนร่วมกันทำลายเมล็ดพืช ระยะหนอนกัดกินอยู่ภายในเมล็ด เมล็ดที่ถูกทำลายจะเป็นรูและข้างในเป็นโพรง ถ้ามีการทำลายสูงเมล็ดจะเหลือแต่เปลือก นำไปใช้บริโภคไม่ได้ (พรทิพย์ และคณะ, 2548) ดังนั้นการเก็บรักษาและป้องกันกำจัดแมลงศัตรูโรงเก็บด้วยการใช้สารรมจึงมีความจำเป็น แต่เนื่องจากก่อให้เกิดผลเสียต่อคุณภาพผลผลิตและเป็นพิษต่อผู้บริโภคจึงเหลือสารรมที่

[1] ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

[1] Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

[2] สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว/ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

[2] Postharvest Technology Research Institute/Postharvest Technology Innovation Center

สามารถใช้ได้เพียงไม่กี่ชนิด เช่น ฟอสฟีน และคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนสารเมทิลโบรไมด์ เป็นสารรมที่พบว่ามีผลทำลายโอโซนในชั้นบรรยากาศ จึงถูกเสนอให้ยกเลิกการใช้ โดยที่ประเทศผู้ผลิตจะต้องยกเลิกการผลิตและห้ามใช้สารรมเมทิลโบรไมด์ในปี พ.ศ. 2558 (บุษรา, 2547) ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้ก๊าซโอโซนในการกำจัดแมลงศัตรูโรงเก็บมากขึ้น อย่างไรก็ตามข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการนำก๊าซโอโซนไปใช้กำจัดแมลงศัตรูข้าวในโรงเก็บยังไม่เพียงพอ การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้นำก๊าซโอโซนมาใช้ในการป้องกันกำจัดด้วงงวงข้าว เพื่อเป็นทางเลือกในการกำจัดแมลงศัตรูข้าวทดแทนการใช้เมทิลโบรไมด์ และสารเคมีอื่น ๆ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษาหาอัตราการฟักไข่ของด้วงงวงข้าวที่ย้อมสีด้วย acid fuchsin

นำด้วงงวงข้าวตัวเต็มวัย (ภาพที่ 1a) ประมาณ 300 ตัวใส่ลงในขวดโหลแก้วฝาปิดตาข่ายถี่ ขนาดบรรจุเมล็ดได้ 400 กรัม ที่บรรจุข้าวสารที่ผ่านการแช่เย็นมาแล้ว จากนั้นทิ้งไว้ 5 วันเพื่อให้มีการผสมพันธุ์และวางไข่ แล้วทำการร่อนโดยใช้ตะแกรงคัดแยกเมล็ดข้าวและตัวเต็มวัยของด้วงงวงข้าวออกจากกัน นำเมล็ดข้าวมาย้อมสีเพื่อจำแนกเมล็ดข้าวปกติออกจากเมล็ดข้าวที่มีไข่ด้วงงวงข้าว ด้วยการแช่เมล็ดข้าวใน acid fuchsin (0.05%) ซึ่งถูกทำให้เจือจาง โดยการเติม glacial acetic acid 50 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร ประมาณ 3 นาที (Frankenfeld, 1950) ซึ่งเมล็ดข้าวที่มีด้วงงวงข้าวมาวางไข่จะเห็นร่องรอยการวางไข่ฝังอยู่ที่ผิวของเมล็ดข้าวหรือเรียกว่า egg plug ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตริโอแยกเมล็ดที่เห็น egg plug ซึ่งในข้าวสาร 1 เมล็ดจะมีไข่ของแมลง 1 ฟอง จากนั้นคัดแยกเมล็ดข้าวสารที่มีไข่ไปเลี้ยงเดี่ยว โดยบรรจุเมล็ดที่มีไข่ลงในจานหลุมขนาดเล็ก 96 หลุม (96 well plate) หลุมละ 1 เมล็ด เลี้ยงไข่ของด้วงงวงข้าวในห้องปฏิบัติการที่มีอุณหภูมิระหว่าง 28-32°C ในกล่องปรับความชื้นที่ 75% RH จนกระทั่งแมลงเจริญเป็นตัวเต็มวัย จึงตรวจนับแมลงที่สามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ นำผลที่ได้เปรียบเทียบกับไข่ของด้วงงวงข้าวที่ไม่ผ่านการย้อมสี

2. การศึกษาประสิทธิภาพของก๊าซโอโซนในการกำจัดด้วงงวงข้าวในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

ระยะไข่ เตรียมด้วงงวงข้าวระยะไข่โดยการปล่อยให้ด้วงงวงข้าว ประมาณ 300 ตัววางไข่ในข้าวสารประมาณ 400 กรัม เป็นเวลา 3 วัน ร่อนแยกตัวเต็มวัยออก คัดแยกเมล็ดที่มีไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตริโอ ซึ่งเมล็ดข้าวสารที่มีไข่จะเห็น egg plug อยู่ที่ผิวของเมล็ดข้าวสารเป็นจุดสีขาวขุ่น นำเมล็ดที่มี egg plug จำนวน 30 เมล็ดใส่ในถ้วยพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร นำไปผ่านก๊าซโอโซนที่ความเข้มข้น 60 ppm เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการอุณหภูมิระหว่าง 28-32°C ในกล่องปรับความชื้นที่ 75% RH ตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยที่รอดชีวิต หรือไข่ของด้วงงวงข้าวที่สามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ หลังจากการไข่ประมาณ 34 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยที่แมลงไม่ได้รับก๊าซโอโซน

ระยะหนอน เตรียมแมลง โดยคัดเลือกเมล็ดที่มีตัวหนอนโดยใช้เวลาประมาณ 20-25 วันหลังจากแมลงวางไข่ เมล็ดที่มีตัวหนอนเข้าทำลายสังเกตได้จาก เมล็ดที่มีสีขาวขุ่น มีผงของข้าวสารหรือมูลของหนอนติดอยู่ เนื่องจากตัวหนอนกัดกินภายใน ใช้เมล็ดข้าวที่มีหนอนจำนวน 30 ตัว ใส่ลงในถ้วยพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร นำไปทดลองผ่านก๊าซโอโซนที่ความเข้มข้น 60 ppm เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการอุณหภูมิระหว่าง 28-32°C ในกล่องปรับความชื้นที่ 75% RH ตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยที่รอดชีวิต หรือหนอนของด้วงงวงข้าวที่สามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ หลังจากระยะหนอนประมาณ 22 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ระยะดักแด้ เตรียมดักแด้เช่นเดียวกับวิธีการเตรียมแมลงในระยะหนอน โดยใช้เวลา 26-33 วันหลังจากแมลงวางไข่ ใช้เมล็ดข้าวที่มีดักแด้จำนวน 30 ตัว ใส่ลงในภาชนะ แล้วนำไปทดสอบทดลองผ่านก๊าซโอโซนที่ความเข้มข้น 60 ppm เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากนั้นนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการอุณหภูมิระหว่าง 28-32°C ในกล่องปรับความชื้นที่ 75% RH ตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยที่ตายหรือดักแด้ที่ไม่สามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ หลังจากการทดลอง 10 วัน

ระยะตัวเต็มวัย เตรียมแมลงตัวเต็มวัย ที่มีอายุไม่เกิน 2 สัปดาห์จำนวน 30 ตัว ใส่ลงในภาชนะ แล้วนำไปทดสอบเช่นเดียวกับระยะหนอนและระยะดักแด้ แล้วตรวจนับจำนวนแมลงตัวเต็มวัยของด้วงงวงข้าวที่ตายหลังการทดสอบด้วยก๊าซโอโซนหลังจากเวลาผ่านไป 3 วัน ทุกระยะการเจริญเติบโตของด้วงงวงข้าวทำการทดลอง 4 ซ้ำ และนำจำนวนแมลงที่รอดคำนวณหาจำนวนแมลงตาย นำผลที่ได้วิเคราะห์ข้อมูลด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย โดยวิธี Least Significant Difference (LSD)

ผลการทดลอง

1. การศึกษาหาอัตราการฟักไข่ของด้วงงวงข้าวที่ย้อมสีด้วย acid fuchsin

ไข่ของด้วงงวงข้าวที่ผ่านการย้อมสี (ภาพที่ 1b, d) สามารถฟักและมีการเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้เฉลี่ย 63.75±2.95% โดยใช้เวลาตั้งแต่ระยะไข่ จนกระทั่งเจริญเป็นตัวเต็มวัยเป็นเวลาประมาณ 40-45 วัน และเมื่อเปรียบกับไข่ของด้วงงวงข้าวที่ไม่ผ่านการย้อมสี (ภาพที่ 1c, e) ในสภาพเลี้ยงเดียวในข้าวสาร 1 เมล็ดที่มีไข่ของด้วงงวงข้าว 1 ฟอง (ภาพที่ 2a) แมลงสามารถฟักและมีการเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้มากกว่าเมล็ดที่ย้อมสีเฉลี่ย 74.38±1.67% โดยใช้เวลาตั้งแต่ระยะไข่ จนกระทั่งเจริญเป็นตัวเต็มวัยเป็นเวลาประมาณ 29-34 วัน

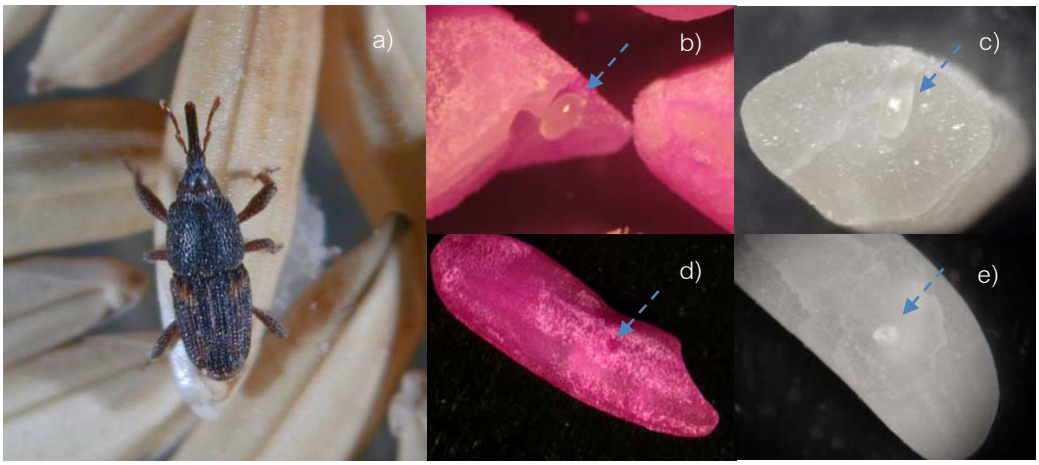

Figure 1 a) adult of *Sitophilus oryzae*; b) an egg of rice weevil was stained with 0.05% acid fuchsin; c) unstained egg of rice weevil; d) stained rice kernel and egg plug of rice weevil; e) unstained rice kernel and egg plug of rice weevil.

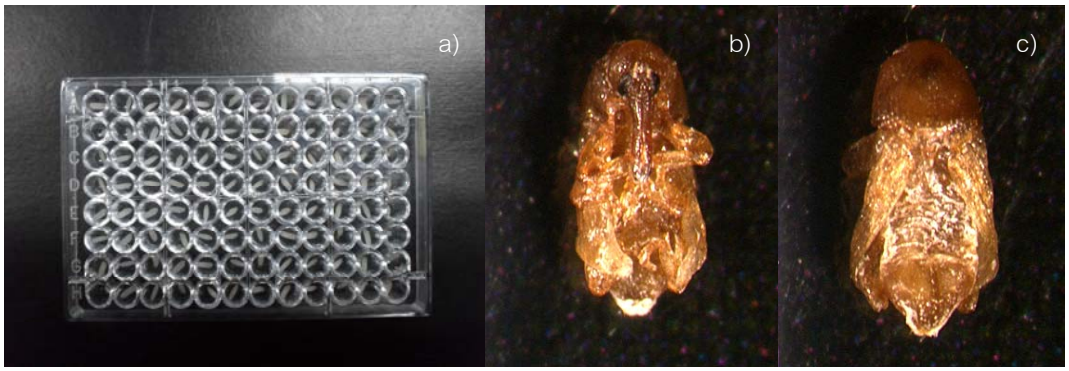

Figure 2 a) Infested kernels were separated out on a 96-well plate (1 egg/kernel); b) abnormal pupa (ventral view); c) abnormal pupa (dorsal view).

2. การศึกษาประสิทธิภาพของก๊าซโอโซนในการกำจัดด้วงงวงข้าวในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

การให้ก๊าซโอโซนที่ความเข้มข้น 60 ppm เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถทำให้ด้วงงวงข้าวมีตายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระยะหนอนมีการตายเฉลี่ยมากที่สุดเป็น 65.83±5.50 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากระยะ ไข่ ตัวเต็มวัย และดักแด้ ซึ่งมีการตายเฉลี่ยเท่ากับ 27.50±2.63, 17.50±1.26 และ 17.50± 2.89 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

วิจารณ์ผล

ก๊าซโอโซนมีผลต่อด้วงงวงข้าวระยะต่าง ๆ ทำให้มีการตายแตกต่างกัน ซึ่งระยะไข่ ดักแด้และตัวเต็มวัยของด้วงงวงข้าวเป็นระยะที่ทนทานกว่าในระยะหนอน Yoshida (1975) พบว่าด้วงงวงข้าวแสดงอาการช้าลง และหมดสติเมื่อได้รับก๊าซโอโซน อัตรา 0.66-0.83 มิลลิกรัม/นาที ในเวลา 90 นาทีขึ้นไป ในการศึกษาครั้งนี้ระยะหนอนมีการตายมากที่สุด อาจเกิดจากกิจกรรมการกินอาหาร หรือการเคลื่อนไหว และการหายใจมากกว่าระยะไข่ ดักแด้และตัวเต็มวัย จึงทำให้ต้องใช้พลังงานในขบวนการเมตาบอลิซึมมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าดักแด้ของด้วงงวงข้าวมีลักษณะรูปร่างผิดปกติไปไม่สามารถลอกคราบเป็น

ตัวเต็มวัยได้ (ภาพที่ 2 b, c) จากการทดลองของ Lu *et al*. (2009) รายงานว่า ก๊าซโอโซนมีผลกระทบต่อระบบการหายใจของแมลง เนื่องจากก๊าซออกซิเจนมีปริมาณลดลง และก๊าซโอโซนเป็นพิษมีผลทำลายเนื้อเยื่อของแมลง

Table 1 Average mortality of various developmental stages of rice weevil when exposed to ozone at 60 ppm for 2 hours.

Developmental stages	Mortality (%) ± SD[1]
egg	27.50±2.63 b
larval	65.83±5.50 a
pupal	17.50±1.26 b
adult	17.50±2.89 b

[1] Means followed by the same letters in the same column are not significantly different (LSD) at 95% confidence.

Strait (1998) พบว่าด้วงงวงข้าวโพด *Sitophilus zeamais* ซึ่งเป็นแมลงชนิดที่คล้ายคลึงกันกับด้วงงวงข้าวมากที่สุด เมื่อได้รับก๊าซโอโซนในระดับความเข้มข้น 50 ppm พบว่าสามารถทำให้แมลงตายได้อย่างสมบูรณ์ในเวลา 1 วัน อย่างไรก็ตามชนิดของแมลงต่างกันมีระดับความทนทานแตกต่างกัน อาทิ Niakousari *et al.* (2010) รายงานว่า สามารถใช้ก๊าซโอโซนมากกว่า 2,000 ppm เป็นเวลา 2 ชั่วโมงจึงกำจัดมอดฟันเลื่อย *Oryzaephilus surinamensis* ระยะหนอนและตัวเต็มวัยได้อย่างสมบูรณ์ แต่ระยะไข่ของมอดฟันเลื่อยเป็นระยะที่ทนทานกว่าต้องการปริมาณก๊าซโอโซนมากกว่านี้ จึงควรมีการศึกษาอัตราที่เหมาะสมที่จะทำให้ด้วงงวงข้าวระยะที่มีความทนทานที่สุดทั้ง 3 ระยะ (ไข่ ดักแด้และตัวเต็มวัย) ได้อย่างสมบูรณ์

สรุป

ไข่ด้วงงวงข้าวซึ่งฝังอยู่ในเมล็ดข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เมื่อนำมาแยกเลี้ยงเดี่ยว มีอัตราการฟักเป็นตัวหนอน 73.18% เปรียบเทียบกับไข่ของด้วงงวงข้าวหลังจากย้อมด้วยสี acid fuchsin 0.05% มีผลทำให้อัตราการฟักเฉลี่ยลดลงเป็น 63.75% ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 60 ppm เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีผลทำให้ด้วงงวงข้าวระยะ ไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยตาย 27.50±2.63, 65.83±5.50, 17.50±1.26 และ 17.50±2.89% ตามลำดับ จากการทดลองนี้พบว่าด้วงงวงข้าวระยะ ไข่ ดักแด้ และตัวเต็มวัย เป็นระยะที่ทนทานต่อก๊าซโอโซน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุนวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

บุษรา จันทร์แก้วมณี. 2547. การจัดการแมลงศัตรูข้าวหลังการเก็บเกี่ยว. น. 17-30. ใน: กรมวิชาการเกษตร (ผู้รวบรวม). คุณภาพข้าวและการตรวจสอบข้าวปนในข้าวหอมมะลิไทย. บริษัท จิรวัฒน์เอ็กซ์เพรส จำกัด, ปทุมธานี.

พรทิพย์ วิสารทานนท์, กุสุมา นวลวัฒน์, บุษรา จันทร์แก้วมณี, ใจทิพย์ อุไรชื่น, รังสิมา เก่งการพานิช, กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม, จิราภรณ์ ทองพันธ์, ดวงสมร สุทธิสุทธิ์, ลักขณา ร่มเย็น และ ภาวินี หนูชนะภัย. 2548. แมลงที่พบในผลิตผลเกษตรและการป้องกันกำจัด. เอกสารวิชาการ. กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 150 น.

Frankenfeld, J. C. 1950. Staining method of detecting hidden weevil infestation in grains. U.S. Patent No. 252589.

Lu, B., Y. Ren, Y. Z. Du, Y. Fu and J. Gu. 2009. Effect of ozone on respiration of adult *Sitophilus oryzae* (L.), *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica* (F.). Journal of Insect Physiology 55: 885-889.

Niakousari, M., Z. Erjaee and S. Javadian. 2010. Fumigation characteristics of ozone in postharvest treatment of Kabkab dates (*Phoenix dactylifera* L.) against selected insect infestation. Journal of Food Protection 73(4): 763-768.

Strait, C. A. 1998. Efficacy of ozone to control insects and fungi in stored grain. M. S. Thesis, Purdue University, West Lafayette. 59 pp.

Yoshida, T. 1975. Lethal effect of ozone gas on the adults of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Cucujidae). Scientific Report of the Faculty of Agriculture, Okayama University 45: 10-15.