Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

ผลของชีวภัณฑ์และสารเคมีต่อการจัดการศัตรูพืชในผักกาดหอม สายพันธุ์กรีนโอ๊ค (*Lactuca sativa* L. var *crispa*) ในโรงเรือน

Effects of biocontrol agents and pesticides on pest and disease management in green oak lettuce (*Lactuca sativa* L. var *crispa*) in greenhouses

สรสิชา แพรวงศ์นุกูล[1], คณิตา ตังคณานุรักษ์[1] และ อลงกรณ์ อำนวยกาญจนสิน[2]*

Sornsichar Pearvongnukul[1], Kanita Tungkananuruk[1] and Alongkorn Amnuaykanjanasin[2]*

[1] ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

[1] Department of Environmental Science, Faculty of Environment, Kasetsart University, Bangkhen Campus, Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

[2] ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ 113 *อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถ. พหลโยธิน คลองหลวง ปทุมธานี* 12120

[2] National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, 113 Thailand Science Park, Phahonyothin Rd., Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ: เกษตรกรรมในรูปแบบเศรษฐกิจสีเขียวกำลังได้รับความนิยม ประเทศไทยมีภาคเศรษฐกิจการเกษตรขยายตัวอย่างต่อเนื่อง แนวทางการขับเคลื่อนที่สำคัญจึงมุ่งเน้นการลดผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมควบคู่กับการเพิ่มผลผลิตการเกษตร งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาผลของการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ รา *Trichoderma asperellum* TBRC 4734 รา *Metarhizium anisopliae* BCC 4849 และรา *Beauveria bassiana* BCC 2660 เทียบกับการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ต่อประสิทธิภาพการควบคุมแมลงศัตรูพืช โรคพืช คุณภาพผลผลิต คุณสมบัติเคมีดิน การตกค้างของสารเคมีในดินและผักกาดหอม สายพันธุ์กรีนโอ๊คภายใต้สภาวะโรงเรือน จากการทดสอบ ตรวจไม่พบโรคพืชในทุกกรรมวิธี แต่พบปัญหาแมลงศัตรูพืชสำคัญ 2 ชนิด คือ เพลี้ยไฟ (อันดับ *Thysanoptera*) และแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) ซึ่งกรรมวิธีชีวภัณฑ์และกรรมวิธีสารเคมีผสมชีวภัณฑ์มีแนวโน้มลดจำนวนประชากรแมลงดังกล่าวได้ดีในช่วงใกล้ระยะเก็บเกี่ยว (สัปดาห์ที่ 2-3) กรรมวิธีชีวภัณฑ์ พบการลดลงของประชากรเพลี้ยไฟและแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ 75.5 และ 42.4% ตามลำดับ กรรมวิธีสารเคมีผสมชีวภัณฑ์ประชากรเพลี้ยไฟและแมลงหวี่ขาวยาสูบลดลงที่ 90.1 และ15.6% ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีสารเคมีสามารถควบคุมได้ดีในเพียงระยะแรกทดสอบ (สัปดาห์ที่ 1-2) ซึ่งสัปดาห์ที่ 2-3 ประชากรแมลงทั้งสองเพิ่มขึ้น 28.6 และ 35.0% ตามลำดับ สำหรับสภาพสิ่งแวดล้อมดินชีวภัณฑ์สามารถเพิ่มปริมาณไนเตรทที่เป็นประโยชน์ต่อพืชได้ถึง 343.3 มก./กก. ภายหลังทดสอบเทียบกับก่อนทดสอบ ซึ่งในกรรมวิธีสารเคมีปริมาณไนเตรทลดลง 168.6 มก./กก. ทั้งอีกกรรมวิธีชีวภัณฑ์ตรวจไม่พบสารเคมีตกค้าง แตกต่างจากกรรมวิธีสารเคมีที่พบการตกค้างของสารเคมี Carbaryl ในดินและผักสดสูงถึง 333.9 และ 10.7 มก./กก. ตามลำดับ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่ดีของชีวภัณฑ์สามารถใช้เป็นทางเลือกกำจัดศัตรูพืชกรีนโอ๊ค ลดการพึ่งพาสารเคมี ลดผลกระทบสู่สิ่งแวดล้อม เป็นแนวทางการทำเกษตรปลอดภัย และเกษตรอินทรีย์ได้

คำสำคัญ: กรีนโอ๊ค; ชีวภัณฑ์; สารเคมีตกค้าง; สารเคมีกำจัดศัตรูพืช; การกำจัดศัตรูพืช

ABSTRACT: Agriculture for green economy is in the current trend. Thailand has continuous expansion in the green agricultural economy. Thus, a main driving force is reduction of environmental impact coincided with increased productivity. This study aimed to evaluate the biocontrol effectiveness of three biocontrol agents (BCAs), including

* Corresponding author: alongkorn@biotec.or.th

Received: date; March 27, 2023 Accepted: date; June 2, 2023 Published: date; July 7, 2023

Trichoderma asperellum TBRC 4734, *Metarhizium anisopliae* BCC 4849 and *Beauveria bassiana* BCC 2660 to compare with pesticide for insect pest and disease control, vegetable product quality, chemical soil properties, pesticide residue in soil and green oak lettuce plantation in greenhouse. Plant diseases were not detected in all the treatments. On the other hand, two insect pests were found, including thrips (in the order *Thysanoptera*) and tobacco whitefly (*Bemisia tabaci*). Both BCA and synthetic-BCA combined treatments led to a notable decrease in the pest population in the 2nd to 3rd week period. The BCA treatment decreased the thrips and tobacco whitefly populations by 75.5 and 42.4%, respectively. The synthetic-BCA combination decreased the thrips and tobacco whitely populations by 90.1 and 15.6%, respectively. While the synthetic treatment could control in first week (1st to 2nd) but 2nd to 3rd week period resulted in increases of the populations of two pests by 28.6 and 35.0%, respectively. For the soil environment, the BCA treatment also led to an increase of the available nitrate by 343.3 mg/kg at the end of treatment compared to the start period. The nitrate was reduced by 168.6 mg/kg in the synthetic treatment. For chemical residue, no pesticide residue was found in the BCA treatment, strikingly in contrast to the finding of 333.9 and 10.7 mg/kg carbaryl in soil and lettuce for the synthetic treatment, respectively. Our study revealed that BCAs are effective alternatives for pest management in green oak lettuce, consequently mitigating pesticide and environmental impacts for GAP and organic agriculture.
Keywords: green oak lettuce; biocontrol agent; pesticide residue; synthetic pesticide; pest management

บทนำ

เศรษฐกิจสีเขียว (green economy) เป็นคำที่ถูกกล่าวถึงอย่างมากในบริบทภาคอุตสาหกรรมเกษตรไทยในปัจจุบัน คือ การขับเคลื่อนเศรษฐกิจควบคู่ไปกับมุ่งเน้นช่วยเกษตรกรลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน ปัจจุบันเกษตรกรไทยพึ่งพาสารเคมีกำจัดศัตรูพืชสูง และมีผลิตภัณฑ์เกษตรปลอดภัยโดยรวมต่ำ จัดเป็นอันดับที่ 64 จาก 133 ประเทศ (The Global Food Security Index, GFSIA, 2022) โดยเฉพาะกลุ่มพืชผักอายุสั้นที่มักพบปัญหาโรคและแมลงศัตรูพืช จึงกลายเป็นประเด็นสำคัญที่ทำอย่างไรเกษตรกรจะมีผลผลิตป้อนสู่ตลาด ตามความต้องการบริโภคที่สูงขึ้นภายในระยะเวลาการปลูกที่จำกัด สารเคมีจึงเป็นทางเลือกลำดับแรกมาโดยเสมอ เพราะให้ผลการกำจัดรวดเร็ว วงกว้าง แต่แฝงมากับผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมอย่างหลีกเหลี่ยงไม่ได้ เนื่องจากสารเคมีสามารถระเหยได้ในอากาศ เกาะติดอนุภาคดิน หรืออาจถูกชะล้างลงสู่แหล่งน้ำ ส่งผลต่อการอุปโภค-บริโภคของมนุษย์ สัตว์ป่าและพืช (Ansari et al., 2014) ผลกระทบต่อกระบวนการทำงานต่อไร้ท่อ ระบบสืบพันธุ์และการทำงานของไมโทรคอนเดรียในมนุษย์ (Nicolopoulou-Stamati et al., 2016) และเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ในดินที่เป็นประโยชน์ (Arora and Sahni, 2016)

ผักที่ได้รับความนิยมในตลาดขณะนี้ คือผักกาดหอมสายพันธุ์กรีนโอ๊ค (*Lactuca sativa* L. var *crispa*) ก็ไม่สามารถหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีได้เช่นกัน เนื่องจากพบแมลงศัตรูพืชระหว่างปลูก เช่น เพลี้ยอ่อน (aphid) หนอนผีเสื้อ (caterpillars) เพลี้ยไฟ (thrips) ที่ระบาดได้รวดเร็ว (Collier and Norman, 2018) โรคพืช เช่น โรครากเน่าจากเชื้อรา *Pythium* sp. หรือจากแบคทีเรีย *Erwinia* sp. และ*Pseudomonas* sp. โรคใบจุดจากเชื้อรา *Cercospora* sp. (Koohakan et al., 2008) เป็นอุปสรรคสำคัญ ทำให้ผลผลิตตกต่ำไม่ได้คุณภาพ ซึ่งสวนทางกับความต้องการบริโภคที่สูงขึ้น เพราะผักอุดมไปด้วยวิตามินเอ ซี อี เคหนึ่ง บีเก้า และธาตุอาหารได้แก่ ไรโบฟราวิน ไนอาซิน ไทอามีน เบตาแคโรทีน แคลเซียม เหล็ก โพแทสเซียมและซีลีเนียม (Bunning et al., 2010) เป็นที่ต้องการบริโภคในกลุ่มคนรักสุขภาพ ประกอบกับราคาขายเฉลี่ย 74 บาท/กก. (กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2565) ซึ่งเป็นราคาจำหน่ายที่ค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับระยะเพาะปลูกที่สั้นและปลูกได้ตลอดทั้งปี จึงถือว่าเป็นแรงจูงใจที่ดีเหมาะแก่การศึกษาเพื่อสร้างต้นแบบการดูแล การป้องกันศัตรูพืชระหว่างเพาะปลูกแก่เกษตร โดยใช้ชีวภัณฑ์กำจัดโรคและแมลงศัตรูพืช ซึ่งเป็นอีกทางเลือกที่ปลอดภัยกับเกษตรกร ผู้บริโภค สิ่งแวดล้อม สอดคล้องกับเศรษฐกิจสีเขียว และสร้างทางเลือกให้เกษตรกรสามารถเป็นผู้กำหนดราคาผักและทิศทางในตลาดได้กว้างขึ้น โดยชีวภัณฑ์ที่นิยมใช้ในปัจจุบัน เช่น รา *T. asperellum* สามารถสร้างเอนไซม์ β-1,3-glucanase, Chitinase และ Volatile organic Compounds (สารอินทรีย์ระเหยง่าย) ออกมาต้านเชื้อราก่อโรคพืช (Baiyee et al., 2019; Wonglom et al., 2020) รา *B. bassiana* และรา *M. anisopliae* กำจัดแมลงศัตรูพืชโดยเมื่อสปอร์สัมผัสกับแมลง สปอร์สามารถงอกเส้นใยแทงผ่านช่องเปิดส่วนต่าง ๆ บนลำตัวของแมลง เพื่อสร้างสารเมตาบอไลท์ (metabolite) มีฤทธิ์ทำลายระบบภูมิคุ้มกัน (Kim et al., 2020) และงอกเส้นใยปกคลุมซากแมลงเพื่อสร้างสปอร์กำจัดแมลงศัตรูพืชเป้าหมายต่อไป (Amnuaykanjanasin et al.,

2013; Wasuwan et al., 2021) นอกจากนี้ชีวภัณฑ์ยังมีส่วนส่งเสริมการงอกของเมล็ด และชักนำให้ผักกาดหอมดูดสารอาหารได้ดีขึ้น (Singh et al., 2016; Li et al., 2018; Guzmán et al., 2020) จึงเป็นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยฉบับนี้ เพื่อศึกษาผลของชีวภัณฑ์รา *T. asperellum* TBRC 4734 ควบคุมโรคพืช, รา *B. bassiana* BCC 2660, รา *M.anisopliae* BCC 4849 ควบคุมแมลงศัตรูพืช และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ต่อคุณภาพผลผลิต คุณสมบัติเคมีดิน และการตกค้างสู่สิ่งแวดล้อม ในโรงเรือนปลูกผักกาดหอมสายพันธุ์กรีนโอ๊ค (*Lactuca sativa* L. var *crispa*) เพื่อสร้างแนวทางการใช้ชีวภัณฑ์ควบคุม ลดการพึ่งพาสารเคมีกำจัดศัตรูพืช และลดผลกระทบสู่สิ่งแวดล้อม

วิธีการศึกษา

สถานที่และระยะเวลา

การทดลองศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์และสารเคมีเพื่อควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืช คุณภาพผลผลิต คุณสมบัติเคมีดิน และการตกค้างสู่สิ่งแวดล้อม ในโรงเรือนกรีนโอ๊ค ดำเนินการทดสอบบริเวณพื้นที่ ต.บางเตย อ.สามโคก จ.ปทุมธานี ภายใต้โรงเรือนขนาด 3 x 6.5 ม. ทดสอบบนกระบะพลาสติกพอลิเอทิลีนขนาด 0.6 x 2 x 0.3 ม. รอบการทดสอบที่ 1 ระหว่างเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม และรอบการทดสอบที่ 2 ระหว่างเดือนกันยายน-ตุลาคม พ.ศ. 2565 ระยะทดสอบรอบละ 28-35 วัน (หากผักมีความสมบูรณ์ต้องเก็บที่อายุ 28 วัน และหากยังไม่สมบูรณ์มากต้องปลูกต่ออีกได้ไม่เกิน 35 วัน) พร้อมติดเครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นแบบพกพา (data logger) บันทึกค่าทุก 10 นาที เพื่อประเมินความสัมพันธ์ของข้อมูลสภาพอากาศกับการระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืช

การวางแผนการทดสอบ

การทดสอบใช้ผักกาดหอม สายพันธุ์กรีนโอ๊ค MJ-3-2 จากศูนย์ปรับปรุงพันธุ์และผลิตเมล็ดพันธุ์ผักอินทรีย์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เพาะบนวัสดุเพาะพีทมอส เมื่อกล้าอายุ 14 วัน ลงปลูกกระบะละ 20 ต้น ระยะห่างระหว่างต้น 15 ซม. โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตัวอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) แบ่งเป็น 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 2 ซ้ำ ๆ ละ 20 ต้น คือ (1) กรรมวิธีควบคุม ไม่ฉีดพ่นชีวภัณฑ์และสารเคมี (2) กรรมวิธีชีวภัณฑ์ รา *T. asperellum* TBRC 4734 ฉีดพ่นสลับรา *B. bassiana* BCC 2660 ผสมรา *M. anisopliae* BCC 4849 (3) กรรมวิธีสารเคมี Carbaryl (1-naphthyl methylcarbamate) 0.1% w/v ฉีดพ่นสลับ Metalaxyl (methyl *N*-(methoxyacetyl)-*N*-1(2,6-xylyl)-DL-alaninate) 0.1% w/v และ(4) ชีวภัณฑ์ผสมสารเคมี รา *T. asperellum* ร่วมกับ Metalaxyl 0.025% w/v ฉีดพ่นสลับรา *B. bassiana* ผสมรา *M. anisopliae* ร่วมกับ Carbaryl 0.025% w/v ซึ่งการใช้ร่วมกันมีการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าสารเคมีไม่มีผลยับยั้งต่อชีวภัณฑ์ (รัศมี และคณะ, ยังไม่ตีพิมพ์) ชีวภัณฑ์ทั้ง 3 ชนิดมาจากการรวบรวมและคัดแยกสายพันธุ์จากศูนย์ชีววัสดุประเทศไทย และผลิตโดยทีมวิจัย สวทช. ในทุกกรรมวิธีใช้ในอัตราส่วนก้อนเชื้อราสดที่เจริญบนเมล็ดข้าว (อายุไม่เกิน 15 วัน) 200 กรัม ล้างและผสมน้ำสะอาด 10 ลิตร (ความหนาแน่นสปอร์ก่อนฉีด 1 x 10^8 สปอร์/มล.) ทุกกรรมวิธีผสมสารจับใบความเข้มข้น 0.015% v/v พ่นเพื่อกำจัด/ป้องกันแมลงศัตรูพืชและโรคพืช ในผักกาดหอมสายพันธุ์กรีนโอ๊ค ฉีดพ่นชีวภัณฑ์และสารเคมี ในช่วงเวลาตอนเย็นหลังรดน้ำ โดยปรับความถี่การฉีดพ่นตามการระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืชตามคำแนะนำฉลาก ร่วมกับการประเมินจำนวนประชากรแมลงศัตรูพืชทุกสัปดาห์จากแผ่นกาวดักแมลงสีเหลือง และเกษตรกรผู้ร่วมทดสอบ ซึ่งหากพบการระบาดรุนแรงจะมีการฉีดพ่นทุก ๆ 3-5 วัน

การวัดคุณภาพผลผลิต

ภายหลังครบระยะการปลูก 28-35 วัน เก็บผลผลิตพร้อมกันในทุกกรรมวิธีและเก็บผลผลิตทุกต้นในกระบะปลูก ประเมินคุณภาพผลผลิต 4 ประเภท ได้แก่ (1) น้ำหนักสดรวมต้นและราก (2) น้ำหนักสดเฉพาะต้น (3) ความยาวราก วัดจากโคนต้นถึงปลายรากที่ยาวมากสุด (4) ความสูงต้น วัดจากโคนต้นจนถึงปลายใบที่สูงสุด และ(5) เส้นผ่านศูนย์กลางทรงพุ่มโดยวัดจากปลายใบด้านหนึ่งถึงปลายใบอีกด้านหนึ่งในทิศตะวันออก-ตะวันตก และทิศใต้-เหนือ ทุกรูปแบบการวัดใช้โปรแกรม ImageJ เพื่อประมวลผล

การสำรวจและประเมินประชากรโรคและแมลงศัตรูพืช

สำรวจและประเมินประชากรแมลงศัตรูพืชตลอดระยะเวลาเพาะปลูกโดยใช้ แผ่นกาวดักแมลงสีเหลืองขนาด 7.5 x 10 ซม. ติดเหนือต้นพืช 30 ซม. จำนวน 2 แผ่นบริเวณต้นและท้ายกระบะปลูก และนับจำนวนการเกิดโรค (disease incidence) บนใบที่เป็นโรคเก็บผลพร้อมเปลี่ยนแผ่นกาวดักแมลงทุก ๆ 7 วัน

การเก็บและวิเคราะห์คุณสมบัติเคมีที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน

การเก็บและรักษาตัวอย่างดินดัดแปลงจากวิธีของ Carter และ Gregorich (2007) สุ่มตักดินโดยใช้พลั่วในลักษณะรูปตัววี ความลึกประมาณ 15 ซม. จากผิวดิน เลือกเก็บดินเฉพาะส่วนปลายพลั่วประมาณ 1-2 ซม. จากนั้นนำดินมาผึ่งที่อุณหภูมิห้อง จนแห้งร่อนผ่านตะแกรงกรองสเตนเลสขนาด 2 มม. และเก็บดินที่กรองได้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เพื่อรอการวิเคราะห์

วิเคราะห์คุณสมบัติเคมีดิน ได้แก่ (1) พีเอชในดิน วิเคราะห์ตามคำแนะนำของ กรมพัฒนาที่ดิน (2553) โดยใช้อัตราส่วนดิน 1 กรัม: น้ำ 2.5 มล. (2) แอมโมเนียที่เป็นประโยชน์ต่อพืช สกัดดินตามวิธีสกัดของ Bremner และ Keeney (1966) อัตราส่วนดิน 1 กรัม: 2M KCl 10 มล. นำสารกัดที่ได้ทำปฏิกิริยา Colorimetric method ตามวิธีวิเคราะห์ของ Kempers และ Zweers (1986) วัดความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (3) ไนเตรทที่เป็นประโยชน์ต่อพืช นำสารสกัดดินวิเคราะห์ตาม วิธีของ Singh (1988) วัดความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร และ (4) อินทรียวัตถุในดิน วิเคราะห์ตามวิธีของ Walkley (1947)

การตรวจสอบการคงอยู่ของชีวภัณฑ์ในดิน

การตรวจนับการคงอยู่ของชีวภัณฑ์ 3 ชนิดในดิน อ้างอิงวิธีการตรวจวัดของ วรางคณา (2565) โดยการตรวจนับโคโลนีของชีวภัณฑ์บนอาหารแข็งมันฝรั่ง (potato dextrose agar, PDA) ผสมยาปฏิชีวนะ Streptomycin 0.7% w/v และ Tetracyclines 0.1% w/v โดยเจือจางตัวอย่างดินลง 10 เท่า และสเปรดตัวอย่างดินที่เจือจาง 0.1 มล. ลงบนอาหารแข็ง บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ในสภาวะมีแสง เมื่อครบระยะบ่ม ตรวจนับโคโลนีเชื้อราด้วยตาเปล่าพร้อมตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การตรวจสอบและสกัดสารเคมีตกค้างด้วยวิธี Multi-residues

สารเคมีควบคุมกำจัดศัตรูพืช Carbaryl และ Metalaxyl ที่ตกค้างในดิน ถูกสุ่มตรวจ 2 ตัวอย่างต่อซ้ำ อ้างอิงวิธีสกัดแบบ Multi-residues ของ Steinwandter (1991) โดยชั่งดิน 5 กรัม ใส่ฟลาสก์ขนาด 125 มล. เติมน้ำกลั่น 10 มล.และอะซิโตน 20 มล. เขย่าข้ามคืนความเร็ว 120 รอบ/นาที จากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ 3 กรัม ผสมไดโคคลอโรมีเทน 20 มล. ผสมให้เข้ากันและเทส่วนใสผสมกับโซเดียมซัลเฟต เขย่า 20 นาที จากนั้นดูดเฉพาะส่วนใสนำไประเหยจนเกือบแห้ง เติมอะซิโตนไนไตรท์ 0.5 มล. ระเหยซ้ำอีกครั้ง รวมทั้งหมด 2 รอบ พร้อมปรับปริมาณสุดท้ายด้วยอะซิโตน 0.5 มล.และน้ำกลั่น 0.5 มล. กรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรองรูพรุนขนาด 0.22 ไมโครเมตร นำไปวิเคราะห์สารเคมีตกค้างด้วยเครื่อง Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) model 8060 (บริษัท Shimadazu ประเทศญี่ปุ่น)

สำหรับการตรวจสอบสารเคมีตกค้างในผักกาดหอม สุ่มตรวจ 2 ตัวอย่างต่อซ้ำ และสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe method; AOAC 20017.01) นำไปวิเคราะสารเคมีตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ความแปรปรวน (One way ANOVA) โดยโปรแกรมทางสถิติ SPSS version 26 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีในรอบการทดสอบเดียวกัน ด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ($P<0.05$)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

คุณภาพผลผลิต

จากการทดสอบทั้งสองรอบตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงเก็บเกี่ยวผลผลิต ไม่พบโรคพืชใดๆ บนต้นกรีนโอ๊ค เนื่องจากสภาพดินใหม่และโรงเรือนไม่ได้เพาะปลูกพืชใด ๆ ก่อนหน้า สำหรับผลผลิต คุณภาพความสมบูรณ์ของผักกาดหอม สายพันธุ์กรีนโอ๊ค โดยตรวจวัดน้ำหนัก

สดรวมต้นและราก น้ำหนักสดเฉพาะต้น ความสูงต้น ความยาวราก ความกว้างทรงพุ่มในทิศตะวันออก-ตก และทิศเหนือ-ใต้ ปรากฏข้อมูลคุณภาพผลผลิตดัง **Table 1** พบว่า น้ำหนักสดรวมต้นและรากเฉลี่ย และน้ำหนักสดเฉพาะต้นเฉลี่ย ทั้ง 4 กรรมวิธีไม่แตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) รอบทดสอบที่ 1 อยู่ในช่วง 35.9-55.7 และ 31.2-46.4 กรัม/ต้น ตามลำดับ และรอบทดสอบที่ 2 อยู่ในช่วง 26.4-35.3 และ 22.5-30.3 กรัม/ต้น ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธี ในรอบการทดสอบที่ 1 กรรมวิธีควบคุมกรีนโอ๊คมีแนวโน้มน้ำหนักสูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ อาจเนื่องจากอยู่ใกล้กับประตูโรงเรือน เป็นจุดที่อากาศถ่ายเทสะดวก ความร้อนสามารถกระจายออกได้ดี เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าวในรอบการทดสอบที่ 2 จึงติดตั้งพัดลมระบายอากาศภายในโรงเรือนเพื่อระบายความร้อนและเริ่มปลูกในช่วงฤดูฝน ซึ่งพบว่า กรีนโอ๊คในกรรมวิธีชีวภัณฑ์มีแนวโน้มน้ำหนักมากกว่า และลักษณะทางกายภาพภายนอกที่ค่อนข้างสมบูรณ์กว่ากรรมวิธีอื่น ๆ ในรอบการปลูกเดียวกัน **(Figure 1)** คือ ใบมีสีเขียวอ่อน ปลายใบมน โดยเฉพาะทรงพุ่มเตี้ยค่อนข้างกลม ใบอัดแน่น ซึ่งเป็นลักษณะที่พึงประสงค์ของตลาด ทั้งนี้อาจเนื่องจากชีวภัณฑ์รา *T. asperellum* ที่คลุกลงดินเพื่อป้องกันโรคพืช ประกอบกับสภาพแวดล้อมในโรงเรือนสำหรับการทดสอบในรอบที่ 2 ระบายความร้อนได้ดีขึ้น เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ จึงเพิ่มจำนวนผลิตเอ็นไซม์ที่ย่อยสลายซากอินทรีย์วัตถุในดิน พร้อมทั้งปลดปล่อยสารอินทรีย์ที่พืชนำไปใช้ได้ง่าย เพื่อส่งเสริมการเจริญ ทำให้ผักเจริญได้ดีและมีน้ำหนักมาก (Baiyee et al., 2019) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wonglom et al. (2020) เมื่อปลูกผักกาดหอมร่วมกับวางจานเพาะเชื้อรา *T. asperellum* T1 ไว้ในสถานที่เดียวกัน พบว่า *T. asperellum* ส่งเสริมให้ผักกาดหอมเจริญเติบโตได้ดี ผลิตคลอโรฟิลล์ เอ บี และจำนวนรากที่มากขึ้น ในทางกลับกัน พบว่า กรรมวิธีสารเคมีในรอบทดสอบที่ 2 มีน้ำหนักผลผลิตต่ำสุด เทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ อาจเนื่องจากการสะสมของสารเคมีควบคุมศัตรูพืชในดิน เช่น Metalaxyl ที่สลายตัวได้ช้า ในสภาพธรรมชาติ ส่งผลให้ดินโทรม ขาดธาตุอาหารพืชได้ (สุธาสินี, 2558)

ในขณะที่ความสูงต้นเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย ของการทดสอบที่ 1 พบอยู่ในช่วง 12.5-14.8 และ 9.7-11.6 ซม./ต้น ตามลำดับ และรอบทดสอบที่ 2 อยู่ในช่วง 11.4-14.5 และ 8.9-9.8 ซม./ต้น ตามลำดับ และความกว้างทรงพุ่มทั้งสองทิศทางในทุกรอบการทดสอบไม่พบความแตกต่างทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี ซึ่งจากการประเมินคุณภาพผลผลิตโดยรวม พบว่า การทดสอบที่ 1 มีผลน้ำหนักสดเฉลี่ยที่สูงกว่ารอบที่ 2 อาจเนื่องจาก ในรอบที่ 1 กล้าผักมีความสมบูรณ์มากกว่า รวมทั้งในรอบที่ 2 ดินมีช่องว่างระหว่างอนุภาค (soil porosity) ลดลง เนื่องจากผ่านการเพาะปลูกและทิ้งช่วงเพื่อรอปลูกในรอบถัดไป (Lemenih et al., 2005) ยากต่อการชอนไชรากเพื่อหาธาตุอาหาร อีกทั้งยังลดกิจกรรมเอนไซม์ภายในดิน ลดการสะสมธาตุอาหารรองในพืช (Wang et al., 2019) ทำให้ต้นกรีนโอ๊คเจริญช้าและมีน้ำหนักน้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับผลความยาวรากในการทดสอบที่ 2 พบความยาวรากต่ำกว่าการทดสอบที่ 1 เล็กน้อยในทุกกรรมวิธี โดยจากงานวิจัยของ Carr และ Dodds (1983) พบว่า ความหนาแน่นของดิน (soil density) ที่เพิ่มขึ้นจากน้ำลดช่องว่างระหว่างอนุภาคและความความยาวรากของผักกาดหอม ซึ่งในอนาคตหากมีการเพาะปลูกในพื้นที่เดิมซ้ำ สามารถแก้ไขปัญหาดังกล่าว ด้วยการเติมอินทรียวัตถุ เช่น แกลบดิบ กาบมะพร้าวสับ หรือใบไม้แห้ง เพื่อปรับปรุงโครงสร้างดินให้โปร่ง (Zhou et al., 2016) ร่วมกับเติมชีวภัณฑ์รา *T. asperellum* ลงดินพร้อมทั้งฉีดพ่นบนพืช ก็มีส่วนช่วยให้พืชดูดซึมธาตุอาหารได้ดี สังเกตได้จากคุณภาพผลผลิตในการทดสอบรอบที่ 2 ซึ่งถึงแม้จะมีโครงสร้างดินที่แน่นขึ้น ความสมบูรณ์ของกล้าผักต่ำ แต่ต้นกรีนโอ๊คในกรรมวิธีชีวภัณฑ์ยังคงมีน้ำหนักสดที่มีแนวโน้มที่สูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ

คุณสมบัติทางเคมีในดิน

จากการศึกษาผลของการใช้ชีวภัณฑ์ควบคุมและสารเคมี ต่อคุณสมบัติเคมีดิน 4 ประเภท ได้แก่ พีเอช อินทรียวัตถุในดิน และไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในรูปของแอมโมเนียมและไนเตรท สำรวจในระยะเวลาก่อนและหลังปลูก ปรากฏข้อมูล ดัง **Table 2** พบว่า ระดับพีเอชในการทดสอบที่ 1 กรรมวิธีชีวภัณฑ์มีระดับพีเอชเฉลี่ยที่ 7.6 ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆเล็กน้อย (พีเอชเฉลี่ย 7.3-7.4) ซึ่งอาจเกิดจากความแปรปรวนเล็กน้อยจากการสุ่มตัวอย่างดินใกล้จุดที่ใส่ปุ๋ย หรือดินบริเวณนั้นมีการระเหยของน้ำมากจนเกิดการะสมของเกลือ (พัชรี, 2554) แต่ค่าพีเอชดังกล่าวในทางเชิงคุณภาพยังอยู่ในช่วงระดับเดียวกับกรรมวิธีอื่น ๆ และในการทดสอบที่ 2 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ มีระดับพีเอชเฉลี่ยอยู่ในช่วง 6.8–7.1 โดยทั้งสองรอบการทดสอบพีเอชจัดอยู่ในระดับกลาง-ด่างอ่อน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553) สำหรับสัดส่วนอินทรียวัตถุในดินเฉลี่ยทั้งสองรอบการทดสอบ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ โดยอยู่ในช่วง 16.5-17.6% และ 16.5-19.0% ในรอบที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ซึ่งจัดอยู่ในระดับอินทรียวัตถุที่สูงมาก (> 4.5%)

ปริมาณธาตุอาหารจำเป็นที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยเฉพาะแอมโมเนีย และไนเตรท เป็นส่วนสำคัญต่อ การสังเคราะห์ของกรดอะมิโน โคเอนไซม์ กรดนิวคลีอิค และคลอโรฟิลล์ (Resh, 2013) ของพืช จากการทดสอบ พบว่า กรรมวิธีสารเคมีผสมชีวภัณฑ์มีปริมาณแอมโมเนียเฉลี่ยในรอบการทดสอบที่ 1 และ 2 สูงสุด ที่ 11.8 และ 7.2 มก./กก. ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ รวมทั้งสูงขึ้นหลังการทดสอบทั้งสองรอบ เทียบกับก่อนการทดสอบ นอกจากนี้ ไนโตรเจนในรูปของไนเตรทเฉลี่ยในกรรมวิธีชีวภัณฑ์ของการทดสอบรอบที่ 2 เพิ่มถึง 343.3 มก./กก. เทียบกับก่อนทดสอบ คิดเป็นการเพิ่มขึ้นถึง 189% การเพิ่มขึ้นของปริมาณธาตุอาหารในดินมีแนวโน้มได้รับอิทธิพลจากชีวภัณฑ์ กล่าวคือ การใช้ชีวภัณฑ์สามารถเพิ่มธาตุอาหารในดินได้ดี โดยเฉพาะการใช้รา *T. asperellum* มาอย่างต่อเนื่องจากรอบการทดสอบที่ 1 จึงเกิดการสะสมในดินทำให้ตรวจพบในปริมาณที่มากกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ ส่งผลดีต่อคุณภาพดินโดยเฉพาะธาตุอาหารได้เป็นอย่างดี (Mao and Jiang, 2021) รวมไปถึงการใช้ร่วมกับสารเคมีในระดับความเข้มข้นต่ำ ไม่พบว่ามีส่วนยับยั้งการทำงานของชีวภัณฑ์ และอาจมีส่วนช่วยส่งเสริมการทำงานซึ่งกันและกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Halifu et al. (2019) ซึ่งใช้รา *Trichoderma* sp. ฉีดพ่นหลังจากลงกล้าต้นสน พบว่า ปริมาณธาตุอาหารรวมไปถึงเอนไซม์ภายในดินเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังส่งเสริมการแตกรากฝอย (ศรีกาญจนา และคณะ, 2555) ซึ่งการที่ดินดีเหมาะแก่การเพาะปลูกได้นั้น ต้องเกิดจากภาวะสมดุลของคุณสมบัติเคมี กายภาพ และชีวภาพร่วมกัน (Das and Varma, 2010) จากผลดังกล่าวสามารถเป็นแนวทางการปรับลดปริมาณการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชร่วมกับชีวภัณฑ์ ควบคู่ไปกับการลดสารเคมีตกค้างสู่สิ่งแวดล้อมในการทำเกษตรปลอดภัย (Elad et al., 1993; Ons et al., 2020) ให้กับเกษตรกรได้ในอนาคตต่อไป

การควบคุมและกำจัดแมลงศัตรูพืชในโรงเรือน

จากการสำรวจประชากรแมลงศัตรูพืชในกรีนโอ๊ค โดยสำรวจระยะตัวอ่อนบนใบผัก และระยะตัวเต็มวัยบนกาวเหนียวสีเหลือง ทุก ๆ 7 วัน เพื่อประเมินประชากรแมลงในแต่ละกรรมวิธีทั้งสองรอบการทดสอบ ไม่พบตัวอ่อนบนใบ พบเพียงตัวเต็มวัยบนกาวดัก ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชสำคัญ 2 ชนิด ได้แก่ แมลงกลุ่มเพลี้ยไฟ (อันดับ *Thysanoptera*) โดยเฉพาะเพลี้ยไฟดอกไม้ (*Frankliniella schultzei*) และแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) ซึ่งแมลงทั้งสองชนิดนี้ สามารถเข้าทำลายด้วยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช หากพบการเข้าทำลายผักจะปรากฏอาการใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ม้วนงอ ต้นแคระแกร็น รวมถึงอาจเป็นแมลงพาหะของเชื้อไวรัสโรคพืชอีกด้วย (Tian et al., 1999; Ng et al., 2021) จากการทดสอบที่ 1 และ 2 ประชากรแมลงทั้งสองชนิดไม่พบความแตกต่างทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี **(Figure 2)** กรรมวิธีชีวภัณฑ์และสารเคมีผสมชีวภัณฑ์ในรอบการทดสอบที่ 1 พบแนวโน้มการลดลงของประชากรแมลงระหว่างสัปดาห์ที่ 2-3 โดยประชากรเพลี้ยไฟลดลงถึง 77.5 และ 90.1% ตามลำดับ รวมทั้งประชากรแมลงหวี่ขาวยาสูบก็ลดลงถึง 42.4 และ 15.6% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีสารเคมีควบคุมได้ดีในช่วงสัปดาห์ที่ 1-2 แต่ไม่สามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชทั้งสองชนิดได้เมื่อเข้าสู่ช่วงสัปดาห์ที่ 2-3 แมลงทั้งสองเพิ่มขึ้น 28.6 และ 35.0% ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wichienchote et al. (2022) พบว่า รา *B. bassaina* BCC 2660 ใช้ผสมร่วมกับสารสกัดสะเดา สามารถควบคุมตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบได้มากกว่า 70% และให้ผลดีกว่าการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดอื่น ขณะที่งานวิจัยของวรางคณา และคณะ (2565) ระบุว่า การใช้รา *B. bassaina* BCC 2660 ผสมรา *M. anisopliae* BCC 4849 เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชในเมล่อน สามารถควบคุมประชากรเพลี้ยไฟและแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ดีถึง 7.3 และ 21.5% เมื่อเทียบกับกรรมสารเคมี และยังพบว่าหากใช้ชีวภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดร่วมกับสารเคมี Clothianidian สามารถลดจำนวนประชากรเพลี้ยไฟและแมลงหวี่ขาวในช่วงระหว่างการปลูกได้ดีใกล้เคียงกับการใช้ชีวภัณฑ์ด้วยเช่นกัน

สำหรับประชากรแมลงศัตรูพืชในรอบการทดสอบที่ 2 ในทุกกรรมวิธีในช่วงสัปดาห์ที่ 2-4 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ และมีจำนวนน้อยเทียบกับรอบที่ 1 **(Figure 2)** ซึ่งเป็นผลมาจากอิทธิพลสภาพอากาศในระยะเวลาเพาะปลูก แม้ว่ารอบการทดสอบทั้งสองอุณภูมิและความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยในช่วงเวลา 9.00-15.00 น. มีค่าใกล้กันอยู่ในช่วง 32.7-41.9 °ซ และ 40.1-73.5% ตามลำดับ แต่รอบการทดสอบที่ 1 และ 2 มีจำนวนวันที่ฝนตก แตกต่างกันอย่างมาก คิดเป็น 9 และ 46% ของระยะเวลาทดสอบทั้งหมด ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้า ระบุว่าแมลงทั้งสองชนิดนี้จะเพิ่มจำนวนมากขึ้นในสภาพอากาศร้อน แห้งแล้ง และฝนตกทิ้งช่วง (สำนักวิจัยอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, มปป.) ดังนั้น ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ดีและใช้ในกรรมวิธีชีวภัณฑ์และสารเคมีผสมชีวภัณฑ์ ส่งผลต่อการลดลงของประชากรแมลงศัตรูพืชในระยะใกล้เก็บเกี่ยวในรอบการทดสอบที่ 1 จึงเป็นข้อมูลสนับสนุน เพื่อประยุกต์ใช้ชีวภัณฑ์กับพืชผักต่าง ๆ หรือต้องการลดใช้สารเคมีในการปลูกได้

Table 1 Product quality of green oak lettuce (mean ± SEM) after cultivation in greenhouse 28 days for crop 1 and 35 days for crop 2

Crop	Treatments	Product quality*					
		Total weight[1] (g plant^{-1})	Weight[2] (g plant^{-1})	Stem height (cm plant^{-1})	Root length (cm plant^{-1})	Canopy width (cm plant^{-1})	
						WE[3]	NS[4]
1	Control	55.7±23.5^{a}	46.4±20.6^{a}	14.2±2.7^{ab}	10.7±0.2^{ab}	22.3±3.4^{ab}	22.4±3.4^{ab}
	Biocontrol agents (BCAs) only	49.8±10.1^{ab}	41.4±8.1^{ab}	13.2±1.9^{ab}	11.6±0.3^{a}	20.9±1.4^{ab}	22.4±2.1^{ab}
	Chemicals only	35.9±8.5^{b}	31.2±7.6^{b}	12.5±1.5^{b}	9.7±0.7^{b}	19.3±2.2^{b}	20.7±2.0^{b}
	Chemicals+BCAs	45.6±2.8^{ab}	40.0±3.1^{ab}	14.8±0.4^{a}	11.2±0.6^{a}	23.0±0.2^{a}	24.3±0.3^{a}
2	Control	27.8±9.6^{ab}	23.3±9.1^{ab}	11.4±0.5^{b}	9.6±2.1^{a}	16.2±1.7^{b}	17.4±2.6^{b}
	Biocontrol agents (BCAs) only	35.3±6.3^{a}	30.3±6.0^{a}	14.5±2.2^{a}	9.8±0.9^{a}	21.3±1.1^{a}	21.6±2.0^{a}
	Chemicals only	26.4±1.9^{b}	22.5±4.3^{b}	14.1±0.5^{a}	9.8±0.3^{a}	20.6±0.1^{a}	20.8±2.4^{a}
	Chemicals+BCAs	29.1±3.5^{ab}	24.3±3.2^{ab}	14.4±0.7^{a}	8.9±1.1^{a}	21.3±1.5^{a}	21.2±0.8^{a}

***** Mean values within the same columns and the same crop showing different letters are significantly different (DMRT, $P<0.05$).

[1] Fresh weight including roots

[2] Fresh weight excluding roots

[3] West- East

[4] Nort-South

Control = ไม่มีการฉีดพ่นสารเคมีและชีวภัณฑ์, Biocontrol agents (BCAs) only = ฉีดพ่นชีวภัณฑ์ควบคุมเพียงอย่างเดียว, Chemicals only = ฉีดพ่นสารเคมีเพียงอย่างเดียว และ Chemicals+BCAs = ฉีดพ่นสารเคมีร่วมกับชีวภัณฑ์ควบคุม

Table 2 Soil chemical properties and changes (mean ± SEM) after cultivation 28 days for crop 1 and 35 days for crop 2

Crop	Treatments	Chemical property of soil*							
		pH (soil: H_2O; 1: 2.5)	Change relative to pH before application†	Available ammonium (mg kg^{-1})	Change relative to available ammonium before application†	Available nitrate (mg kg^{-1})	Change relative to available nitrate before application†	Soil organic matter (%)	Change relative to soil organic matter before application†
1	Control	7.4±0.1^{b}	+0.24	5.7±0.3^{b}	-0.76	74.1±4.9^{b}	-139.41	17.3±0.4^{a}	-2.25
	Biocontrol agents (BCAs) only	7.6±0.1^{a}	+0.01	6.5±0.5^{b}	-4.73	68.4±47.1^{b}	-87.46	17.0±0.7^{a}	-2.91
	Chemicals only	7.4±0.0^{b}	+0.11	8.3±0.9^{b}	-0.91	82.1±11.1^{b}	-65.26	16.5±6.8^{a}	-2.88
	Chemicals+BCAs	7.3±0.1^{b}	+0.33	11.8±4.5^{a}	+5.09	203.3±116.3^{a}	-92.35	17.6±1.0^{a}	-0.33
2	Control	7.1±0.3^{a}	+0.08	3.7±1.8^{b}	-0.30	157.7±135.6^{a}	+15.76	18.9±1.6^{a}	+3.63
	Biocontrol agents (BCAs) only	7.0±0.3^{a}	-0.14	4.1±1.7^{b}	+1.37	524.1±494.8^{a}	+343.30	17.3±0.5^{a}	+1.62
	Chemicals only	6.8±0.2^{a}	-0.03	1.8±0.9^{c}	-1.93	188.2±104.8^{a}	-168.60	19.0±0.3^{a}	+2.27
	Chemicals+BCAs	6.9±0.2^{a}	-0.10	7.2±0.8^{a}	+4.64	162.5±95.9^{a}	+15.54	16.5±2.3^{a}	-0.71

* Mean values within the same columns and the same crop showing different letters are significantly different (DMRT, P<0.05).

† Increase (+) or decrease (-) relative to the amount before application.

Control = ไม่มีการฉีดพ่นสารเคมีและชีวภัณฑ์, Biocontrol agents (BCAs) only = ฉีดพ่นชีวภัณฑ์ควบคุมเพียงอย่างเดียว, Chemicals only = ฉีดพ่นสารเคมีเพียงอย่างเดียว และ Chemicals+BCAs= ฉีดพ่นสารเคมีร่วมกับชีวภัณฑ์ควบคุม

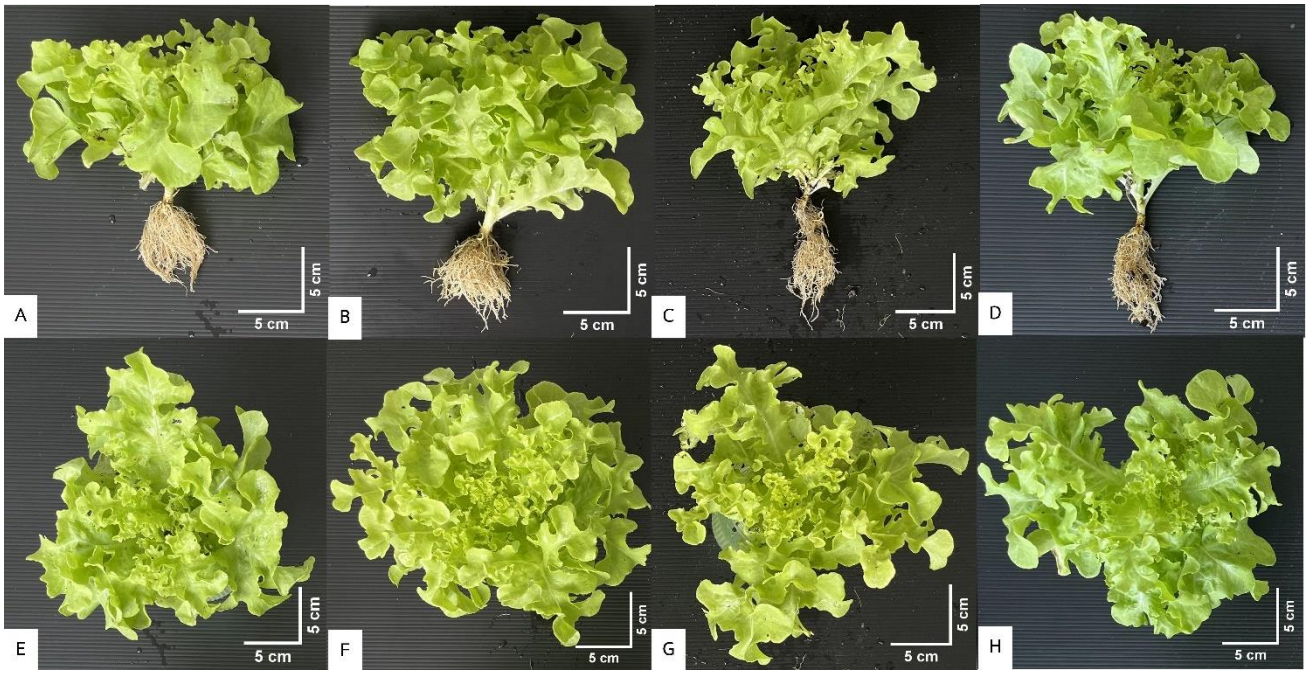


Figure 1 Physical appearance of green oak lettuce in crop 2. Representative samples were selected from plants, of which total fresh weight was similar to the average of each treatment. The top row shows stem and root of the lettuce from **(A)** Control, **(B)** Biocontrol agents (BCAs) only, **(C)** Chemical (CHE) only and **(D)** CHE+BCAs. The bottom row shows the canopy shape and leaves of the plant from **(E)** Control, **(F)** BCAs, **(G)** CHE and **(H)** CHE+BCAs.

การคงอยู่ของชีวภัณฑ์ในดิน

การติดตามการคงอยู่ของชีวภัณฑ์ในดินหลังจากเก็บเกี่ยว ปรากฏข้อมูลดัง **Figure 3** ในรอบการทดสอบที่ 1 พบโคโลนีรา *B. bassiana* ในกรรมวิธีควบคุม ชีวภัณฑ์ และสารเคมีผสมชีวภัณฑ์ เฉลี่ยที่ 2.65 2.33 และ 2.28 x10^4 CFU/กรัมดิน ตามลำดับ ลักษณะโคโลนีรูปร่างกลม เส้นใยบนอากาศสีขาวฟูคล้ายปุยฝ้าย รวมทั้งพบโคโลนีรา *T. asperellum* ร่วมด้วยในปริมาณน้อย สำหรับรอบการทดสอบที่ 2 พบเพียงโคโลนีของรา *T. asperellum* ในกรรมวิธีควบคุม ชีวภัณฑ์ สารเคมี และสารเคมีผสมชีวภัณฑ์เฉลี่ยที่ 0.08 0.35 0.06 และ 0.23 x10^4 CFU/กรัมดิน ลักษณะเส้นใยสีขาวในช่วง 2-3 วันแรก จากนั้นเส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและสีเขียวตามลำดับ อีกทั้งยังสามารถเจริญคลุมราชนิดอื่น ๆ ที่ปรากฏบนจานเพาะเชื้อได้อย่างรวดเร็วในระยะเวลาไม่เกิน 1-2 วัน **(Figure 4)** การพบรา *B. bassiana* สูงในการทดสอบครั้งที่ 1 เนื่องจากจำเป็นต้องฉีดพ่นราบิวเวอเรียถี่ขึ้น ทุก 3 วัน อันเนื่องจากการแพร่กระจายของแมลงศัตรูพืชในรอบการทดสอบที่ 1 มากกว่ารอบที่ 2 รวมไปถึงการฟุ้งกระจายของละอองน้ำขณะฉีดพ่น จึงอาจพบได้ในกรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้ชีวภัณฑ์ด้วย

สำหรับการทดสอบทั้งสองรอบ ตรวจไม่พบโคโลนีรา *M. anisopliae* และไม่พบรา *B. bassiana* ในดิน ในรอบที่ 2 อาจเนื่องจากราแมลงทั้งสองโตได้ช้ากว่า เทียบกับรา *T. asperellum* ทั้งนี้ไม่ได้ส่งผลถึงประสิทธิภาพของราแมลงทั้งสองที่จะเกาะติดและก่อโรคทำลายแมลงศัตรูพืชที่อยู่บนต้นพืช รา *T. asperellum* สามารถเจริญเติบโตในดินได้ดี ใน 2 สภาวะ คือ (1) สภาวะแข่งขัน (competition) รา *T. asperellum* เจริญแข่งขันได้ดีในการครอบครองที่อยู่อาศัยและอาหารภายในดินกับราชนิดอื่น ๆ และ (2) สภาวะปรสิต (mycoparasitism) รา *T. asperellum* สามารถเข้าทำลายผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรคพืช พร้อมกับใช้อาหารภายในของราก่อโรคเพื่อการเจริญต่อไป (Zin and Badaluddin, 2020; Rebolledo-Prudencio et al., 2020; Wang et al., 2022) นอกจากนี้การใช้ชีวภัณฑ์ร่วมกับสารเคมีระดับความเข้มข้นต่ำ ไม่พบว่า ยับยั้งชีวภัณฑ์ในสภาวะธรรมชาติ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang et

al. (2021) ระบุว่าการใช้รา *T. asperellum* SC102 ร่วมกับสารเคมี Hymexzol ความเข้มข้นต่ำ นอกจากไม่ยับยั้งชีวภัณฑ์ ยังสามารถเพิ่มปริมาณไรโซสเฟียร์รอบรากต้นถั่วพุ่ม และงานวิจัยของ Howell (2007) พบว่าหากมีการใช้ *Trichoderma* spp. ผสมร่วมกับสารเคมี Chloroneb และ Metalaxyl ความเข้มข้นครึ่งหนึ่งของฉลาก เพื่อคลุกเมล็ดฝ้ายก่อนปลูก สามารถเพิ่มอัตราการรอด และเสริมความแข็งแรงของต้นกล้าได้ดีมากกว่าใช้สารเคมีหรือเชื้อราเพียงอย่างเดียว

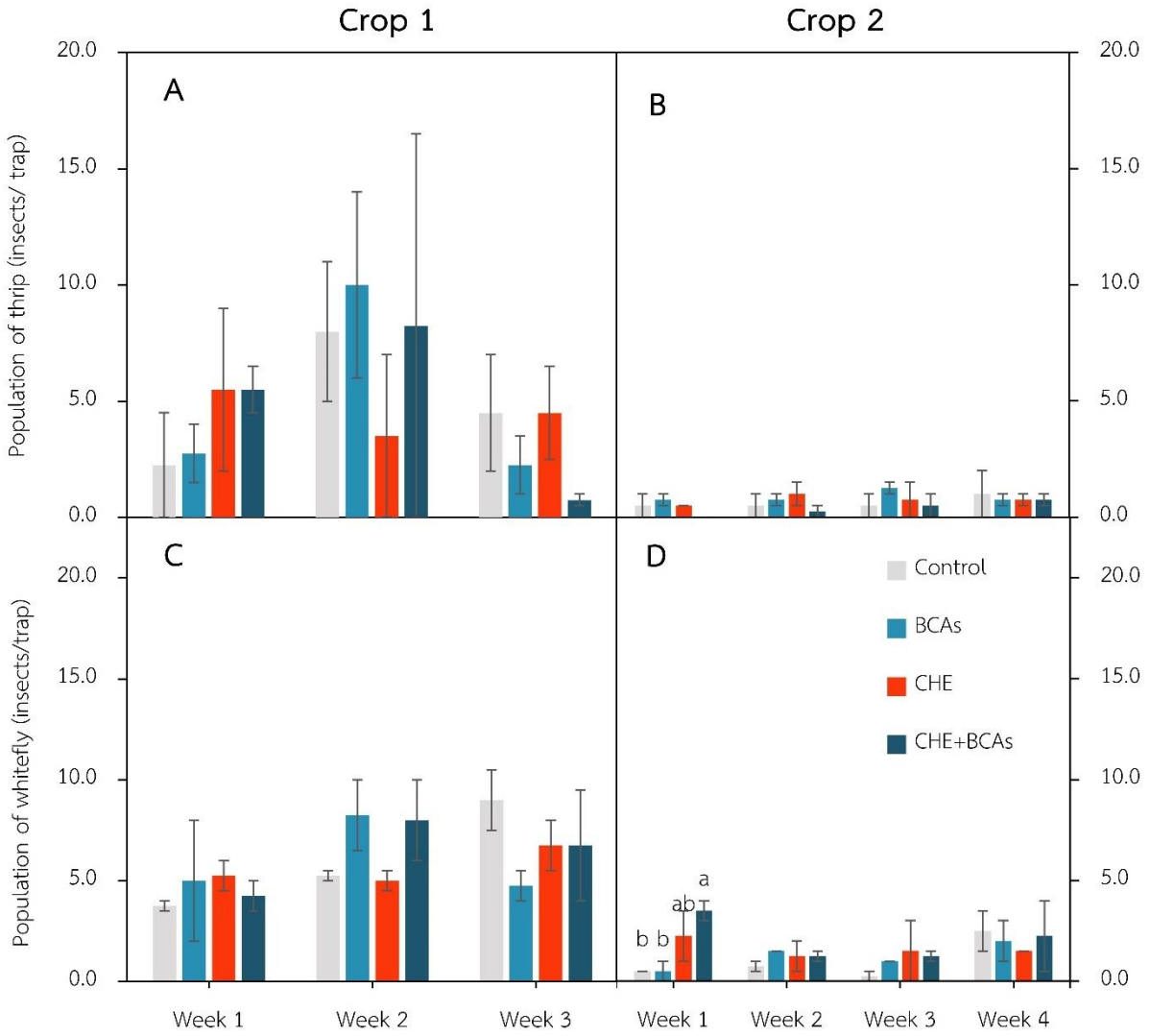


Figure 2 Insect populations (mean ± SEM) on yellow sticky traps determined weekly. The top row shows thrip population in **(A)** crop 1 and **(B)** crop 2. The bottom row shows whitefly population in **(C)** crop 1 and **(D)** crop 2. Mean values within the same week, the same insect pests and the same crop showing different letters are significantly different (DMRT, $P<0.05$).

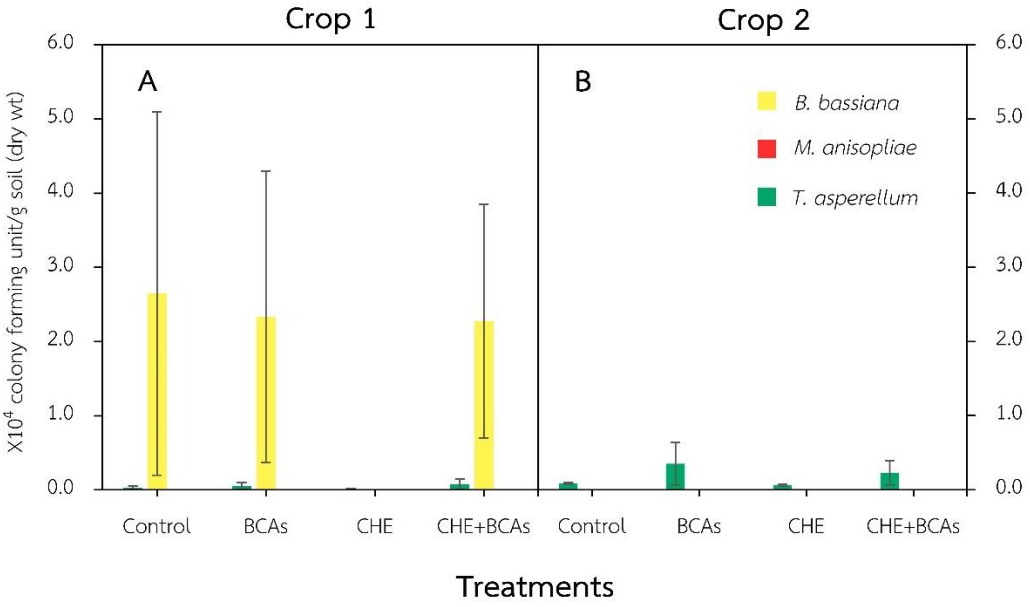


Figure 3 Fungal persistence in the soil (mean ± SEM) for the biocontrol agents *T. asperellum*, *B. bassiana* and *M. anisopliae*. The CFU data were determined at the end of cultivation in **(A)** crop 1 and **(B)** crop 2. Mean values within the same color and the same crop showing different letters between treatments are significantly different (DMRT, $P<0.05$).

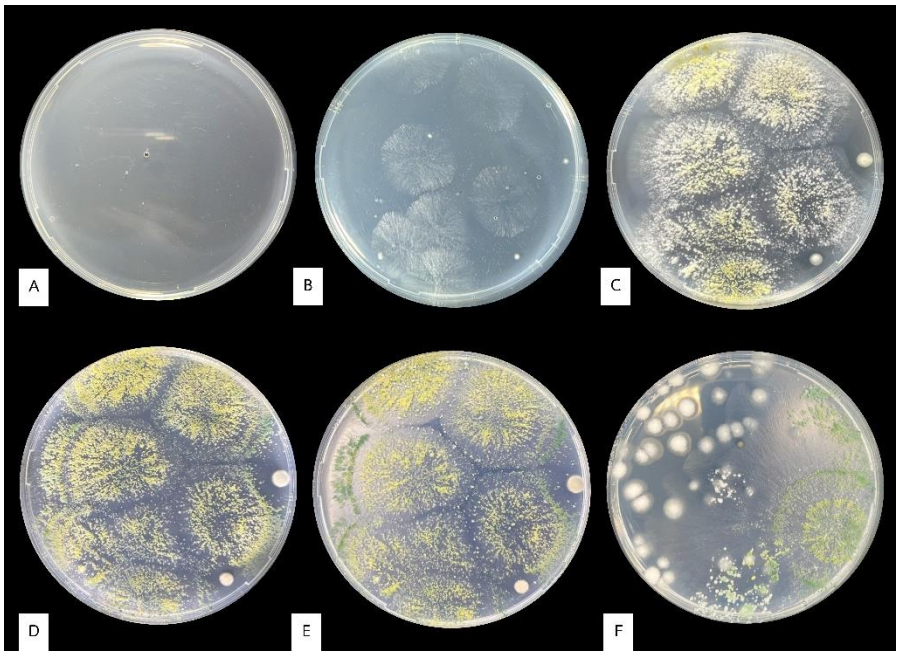


Figure 4 Fungal colonies in the fungal persistence determination in biocontrol agent (BCA) only treatment for crop 2. The cultures shown were from the 1/10,000 dilution. *T. asperellum* progression was shown from **(A)** Day 0 **(B)** Day 2 **(C)** Day 4 **(D)** Day 6 and **(E)** Day 7 and **(F)** a combination of *T. asperellum* and *B. bassiana* colonies.

สารเคมีตกค้าง

เมื่อติดตามผลกระทบของการใช้ชีวภัณฑ์และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช 2 ชนิด ต่อการตกค้างในกรีนโอ๊คและดินในช่วงระยะเวลาหลังปลูก 1 สัปดาห์และหลังเก็บเกี่ยวในทั้งสองรอบการทดสอบ พบสารเคมี Carbaryl ตกค้างในผักปริมาณสูงในกรรมวิธีสารเคมีเฉลี่ยถึง 0.9 และ 10.7 มก./กก. ของรอบทดสอบที่ 1 และ2 ตามลำดับ **(Figure 5)** ซึ่งแตกต่างอย่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ เช่นเดียวกับการตกค้างของสารเคมี Metalaxyl ในรอบการทดสอบที่ 2 พบการตกค้างเฉลี่ย 1.4 มก./กก. ขณะที่การตรวจสอบสารเคมีตกค้างในดินทั้งสองรอบการทดสอบ มีแนวโน้มที่คล้ายกัน กรรมวิธีสารเคมีพบ Carbaryl ในสัปดาห์ที่ 1 ตกค้างเฉลี่ยไม่เกิน 1 มก./กก. แต่ในสัปดาห์สุดท้าย ตกค้างเฉลี่ยสูงถึง 312.3 และ 333.9 มก./กก. ในรอบการทดสอบที่ 1 และ 2 ตามลำดับ เช่นเดียวกับการตกค้างของ Metalaxyl ที่ 17.9 และ 21.0 มก./กก. ตามลำดับ **(Figure 6)** ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ

การตกค้างของสารเคมี Carbaryl ปริมาณสูงทั้งในผลผลิตและดินในกรรมวิธีสารเคมี ขณะที่กรรมวิธีสารเคมีผสมชีวภัณฑ์มีการตกค้างปริมาณต่ำ และไม่แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีชีวภัณฑ์หรือควบคุม เนื่องจากทั้งสองรอบการทดสอบมีการฉีดพ่น Carbaryl ทุก ๆ 3 วัน และถี่กว่าการฉีดพ่น Metalaxyl จึงเป็นสาเหตุให้มีปริมาณตกค้างที่มากกว่า ผนวกกับค่าครึ่งชีวิต (haft-life) ในดินของ Carbaryl ที่มีระยะเวลาตั้งแต่ 7-42 วัน (Sunaryani and Rosmalina, 2021) จึงเกิดการสะสมปริมาณสูงขึ้นในสัปดาห์ท้ายของการทดสอบ สำหรับการตกค้างของสาร Metalaxyl พบว่า กรรมวิธีสารเคมีผสมชีวภัณฑ์รอบการทดสอบครั้งที่ 1 พบ Metalaxyl ในผลผลิตสูงกว่ากรรมวิธีสารเคมี 0.3 มก./กก. อันเนื่องมาจากการฉีดพ่นป้องกันโรคพืชครั้งสุดท้าย ซึ่งอยู่ในระยะที่พืชมีอัตราการแตกใบสูง สังเกตได้จากน้ำหนักและทรงพุ่มที่ขยายขึ้นจากการอัดแน่นของใบ **(Table 1)** ในบริเวณศูนย์กลางต้นเอื้อต่อการคงอยู่ของสารเคมี โดยเฉพาะบริเวณส่วนบนมีโอกาสสัมผัสสารเคมีได้มากที่สุด (Zongmao and Haibin, 1997; Hua et al., 2020) ประกอบกับใบส่วนล่างมีพื้นที่รับแสงน้อยลง ทำให้ลดกระบวนการย่อยสลายสารเคมีด้วยแสง (photodegradation) (Katagi, 2004)

ภาพรวมการตกค้างของสารเคมี Carbaryl และ Metalaxyl ในผลผลิตยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสินค้าการเกษตร กำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (maximum residue limit for pesticide, MRL) ของสำนักงานมาตรฐานสินค้าการเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2559) กำหนดไว้ไม่เกิน 1.00 และ 2.00 มก./กก. ตามลำดับ (อ้างอิงจากพืชตระกูลกะหล่ำ คะน้า และผักบุ้งจีน) เนื่องจากเว้นระยะฉีดพ่นเพื่อให้สารเคมีสลายตัว ยกเว้นในรอบการทดสอบที่ 2 พบสารเคมี Carbaryl ตกค้างสูงกว่ามาตรฐานกำหนดถึง 11 เท่า อาจเป็นผลจากช่วงเวลาการรับแสงในรอบที่ 2 น้อยกว่ารอบที่ 1 เนื่องจากอยู่ในช่วงฤดูฝน ฟ้าครึ้มและแสงแดดอ่อนโดยส่วนใหญ่ ส่งผลต่อการย่อยสลายสารเคมีด้วยแสงจึงต่ำลง (Bhanti and Taneja, 2007) การตกค้างของ Carbaryl สูงในดิน อาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้านอื่น ๆ เช่น เป็นพิษต่อไส้เดือนดิน ขัดขวางการพัฒนาระยะตัวอ่อนสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ และมีแนวโน้มเป็นพิษต่อเซลล์ สารพันธุ์กรรม เร่งกระบวนการตายของเซลล์ในมนุษย์ (apoptosis) (Webber et al., 2010; Lima et al., 2011; Saquib et al., 2020) ดังนั้นแนวทางการแก้ไขปัญหาดังกล่าวอาจใช้วิธีกายภาพและชีวภาพเข้ามาจัดการ เช่น การเว้นรอบปลูกถัดไป ให้มากกว่า 30 วัน สังเกตได้จากความสัมพันธ์การสลายตัวของสารเคมี Carbaryl ในสัปดาห์สุดท้ายรอบการทดสอบที่ 1 ไปสัปดาห์แรกของการทดสอบที่ 2 รวมถึงลดการฉีดพ่นในช่วงอุณหภูมิและชั่วโมงรับแสงต่ำ เพื่อลดการตกค้างในดินและผลผลิตกรณีปลูกในสภาวะโรงเรือน หรือปรับเปลี่ยนใช้สารเคมีผสมชีวภัณฑ์ รวมไปถึงการใช้ชีวภัณฑ์แบบเต็มรูปแบบ เป็นอีกแนวทางเลือกที่เหมาะสม ไม่เพียงลดการตกค้างสารเคมีในดิน แต่ยังส่งผลบวกต่อสภาพแวดล้อมโดยทั่วไปอีกด้วย

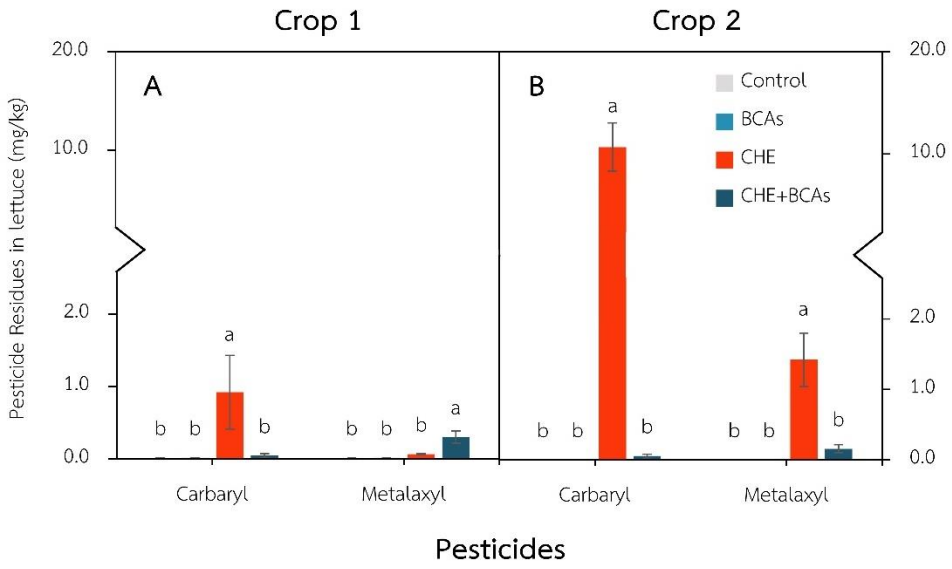


Figure 5 Residues of carbaryl and metalaxyl (mean ± SEM) in green oak lettuces after harvesting in **(A)** Crop 1 and **(B)** Crop 2. Mean values in the same pesticide and the same crop showings different letters between treatments are significantly different (DMRT, P<0.05).

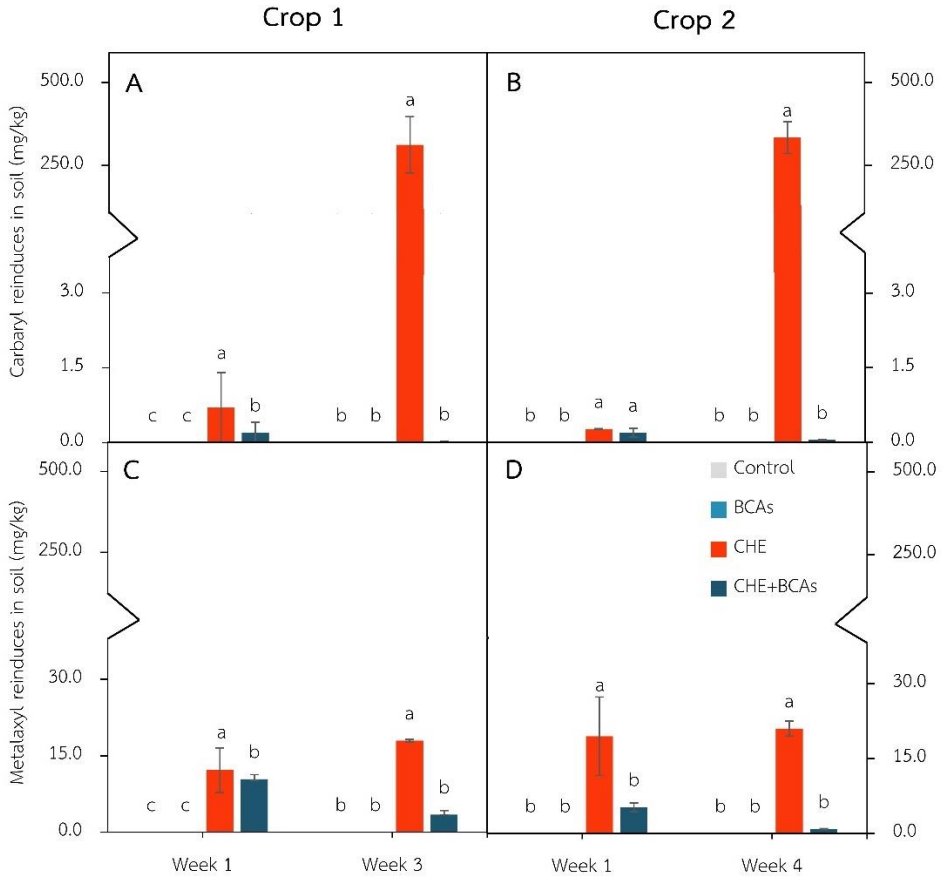


Figure 6 Residues of carbaryl and metalaxyl (mean ± SEM) in the soil at the 1st week and 4th week cultivation. The top row shows the carbaryl residues in **(A)** crop 1 and **(B)** crop 2 and the bottom row shows the metalaxyl residues in **(C)** crop 1 and **(D)** crop 2. Mean values in the same week, the same pesticide and the same crop showings different letters between treatments are significantly different (DMRT, P<0.05).

สรุป

การศึกษาผลของการใช้ชีวภัณฑ์และสารเคมีต่อคุณภาพผลผลิต คุณสมบัติเคมีดิน การกำจัดศัตรูพืชการตกค้างสู่สิ่งแวดล้อมดิน และในผักกาดหอม สายพันธุ์กรีนโอ๊ค พบว่า กรรมวิธีชีวภัณฑ์มีประสิทธิภาพที่ดี สามารถลดจำนวนประชากรเพลี้ยไฟและแมลงหวี่ขาวได้ดีเทียบเคียงกับการใช้สารเคมี ผลผลิตมีลักษณะกายภาพเป็นที่ต้องการของตลาด อีกทั้งการใช้ชีวภัณฑ์ยังเพิ่มคุณสมบัติเคมีในดิน ป้องกันการเสื่อมโทรมของดินที่ผ่านการเพาะปลูก ไม่พบสารเคมีตกค้างทั้งในผลผลิตและดิน ขจัดปัญหาที่จะนำไปสู่การตกค้างต่อสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ โดยรอบ ดังนั้นแนวทางใช้ชีวภัณฑ์กับการเพาะปลูกกรีนโอ๊ค จึงเป็นแนวทางที่ดีเหมาะแก่เกษตรกรนำไปปรับใช้เพื่อการทำเกษตรปลอดภัย สร้างหนทางสู่เกษตรอินทรีย์ และเป็นพื้นฐานต่อยอดแผนเศรษฐกิจสีเขียวได้ในอนาคต

คำขอบคุณ

งานวิจัยได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และสามโคกออร์แกนิค ฟาร์ม ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาที่ดิน. 2553. คู่มือการปฏิบัติงาน กระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางเคมี. แหล่งข้อมูล: https://www.ldd.go.th/PMQA/2553/Manual/OSD-03.pdf. ค้นเมื่อ 13 มกราคม 2566.

กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2565. การจัดเก็บและรายงานผลข้อมูลภาวการณ์ผลิตพืชระดับตำบล (รต.) รายงานสถิติทางการเกษตร พืชอายุสั้น (รต.01) จำแนกตามพืช/แมลง. แหล่งข้อมูล:https://production.doae.go.th/service/site/index. ค้นเมื่อ 3 มกราคม 2566.

พัชรี ธีรจินดาขจร. 2554. คู่มือการวิเคราะห์ดินทางเคมี. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

วรางคณา จันดา. 2565. ชีวภัณฑ์ทางเลือกของสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชในโรงเรือนเมล่อน. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วรางคณา จันดา, คณิตา ตังคณานุรักษ์ และอลงกรณ์ อำนวยกาญจนสิน. 2565. ชีวภัณฑ์ทางเลือกของสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชในโรงเรือนเมล่อน. แก่นเกษตร. 50(6): 1683-1700.

ศรีกาญจนา คล้ายเรือง. 2555. การสลายคลอเรตโดยแบคทีเรียรีดิวส์คลอเรตที่แยกได้จากดินและกากตะกอนน้ำเสีย. แหล่งข้อมูล: https://librae.mju.ac.th/goverment/20111119104834_librae/File20130603102512_13685.pdf. ค้นเมื่อ 13 มกราคม 2566.

สุธาสินี อั้งสูงเนิน. 2558. ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 9(1): 50-63.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าการเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2559. สารพิษ: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. แหล่งข้อมูล: https://www.acfs.go.th/standard/download/MAXIMUM-RESIDUE-LIMITS.pdf. ค้นเมื่อ 20 มกราคม 2566.

สำนักวิจัยอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. มปป. แมลงหวี่ขาวยาสูบพาหนะโรคใบด่างมันสำปะหลัง. แหล่งข้อมูล: https://www.opsmoac.go.th/bpsp-dwl-files-402891791844. ค้นเมื่อ 20 มกราคม 2566.

Amnuaykanjanasin, A., J. Jirakkakul, C. Panyasiri, P. Panyarakkit, P. Nounurai, D. Chantasingh, L. Eurwilaichitr, S. Cheevadhanarak, and M. Tanticharoen. 2013. Infection and colonization of tissues of the aphid *Myzus persicae* and cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* by the fungus *Beauveria bassiana*. BioControl. 58: 379–391.

Ansari, M., M. Moraiet, and S. Ahmad. 2014. Insecticides: Impact on the Environment and Human Health. p.99-123. In: A. Malik, E. Grohmann, and R. Akhtar. Environmental Deterioration and Human Health. Springer, Dordrecht.

Arora, s., and D. Sahni. 2016. Pesticides effect on soil microbial ecology and enzyme activity- An overview. Journal of Applied and Natural Science. 8(2): 1126–1132.

Baiyee, B., S. Itod, and A. Sunpapao. 2019. *Trichoderma asperellum* T1 mediated antifungal activity and induced defense response against leaf spot fungi in lettuce (*Lactuca sativa* L.). Physiological and Molecular Plant Pathology. 106: 96-101.

Bhanti, M., and A. Taneja. 2007. Contamination of vegetables of different seasons with organophosphorous pesticides and related health risk assessment in northern India. Chemosphere. 69(1): 63-68.

Bremner, J.M., and D.R. Keeney. 1966. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 3. exchangeable ammonium, nitrate, and nitrite by extraction-distillation methods. Soil Science Society of America Journal. 30(5): 577-582.

Bunning, M.L., P.A. Kendall, M.B. Stone, F.H. Stonaker, and C. Stushnoff. 2010. Effects of seasonal variation on sensory properties and total phenolic content of 5 lettuce cultivars. Journal of Food Science 75(3): 156-161.

Carr, M.K.V., and S.M. Dodds. 1983. Some effects of soil compaction on root growth and water use of lettuce. Experimental Agriculture. 19: 117-130.

Carter, M.R., and E.G. Gregorich. 2007. Soil Sampling and Methods of Analysis. 2nd Edition. Chemical Rubber Company, FL.

Collier, R., and D. Norman. 2018. Pest Insects Infesting Lettuce Crops. Agriculture and Horticulture Development Board, Warwickshire.

Das, S.K., and A. Varma. 2010. Role of Enzymes in Maintaining Soil Health. p.25-42. In: G. Shukla, and A. Varma. Soil Enzymology. Springer, Berlin.

Elad Y., G. Zimand, Y. Zaqs, S. Zurie, and I. Chet. 1993. Use of *Trichoderma harzianum* in combination or alternation with fungicides to control cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial greenhouse conditions. Plant Pathol. 42(3): 324–332.

Guzmán, A.G., D. Sacristán, A.R.S. Rodríguez, V. Barrón, J. Torrent, and M.C.D. Campillo. 2020. Soil nutrients effects on the performance of durum wheat inoculated with entomopathogenic fungi. Agronomy. 10(4): 1-19.

Halifu, S., X. Deng, X. Song, and R. Song. 2019. Effects of two *Trichoderma* strains on plant growth, rhizosphere soil nutrients, and fungal community of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* annual seedlings. Forests. 10(9): 758.

Howell, C.R. 2007. Effect of Seed Quality and Combination Fungicide-*Trichoderma* spp. Seed Treatments on Pre- and Postemergence Damping-Off in Cotton. Phytopathology. 97(1): 66-71.

Hua, D., X. Zheng, K. Zhang, S. Zhang, Y. Wan, X. Zhou, Y. Zhang, and Q. Wu. 2020. Assessing pesticide residue and spray deposition in greenhouse eggplant canopies to improve residue analysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 68(43): 11920-11927.

Katagi, T. 2004. Photodegradation of Pesticides on Plant and Soil Surfaces. p.1-195. In: G.W. Ware. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Springer, NY.

Kempers, A.J., and A. Zweers. 1986. Ammonium determination in soil extracts by the salicylate method. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 17(7): 715-723.

Kim, S., J.C. Kim, S.J. Lee, M.R. Lee, S.E. Park, D. Li, S. Baek, T.Y. Shin, and J.S. Kim. 2020. *Beauveria bassiana* ERL836 and JEF-007 with similar virulence show different gene expression when interacting with cuticles of western flower thrips, *Frankniella occidentalis*. BMC Genomics. 21: 836.

Koohakan, P., T. Jeanaksorn, and I. Nuntagij. 2008. Major diseases of lettuce grown by commercial nutrient film technique in thailand. KMITL Science and Technology Journal. 8(2): 56-63.

Lemenih, M., E. Karltun, and M. Olsson. 2005. Assessing soil chemical and physical property responses to deforestation and subsequent cultivation in smallholders farming system in Ethiopia. Agriculture, Ecosystems & Environment. 105(1-2): 373-386.

Li, Y.T., S.G. Hwang, Y.M. Huang, and C.H. Huanga. 2018. Effects of *Trichoderma asperellum* on nutrient uptake and Fusarium wilt of tomato. Crop Protection. 110: 275-282.

Lima, M.P.R., A.M.V.M. Soares, and S. Loureiro. 2011. Combined effects of soil moisture and carbaryl to earthworms and plants: Simulation of flood and drought scenarios. Environmental Pollution. 159(7): 1844-1851.

Mao, T., and X. Jiang. 2021. Changes in microbial community and enzyme activity in soil under continuous pepper cropping in response to *Trichoderma hamatum* MHT1134 application. Scientific Reports. 11: 21585.

Ng, J.C.K., J.H.C. Peng, A.Y.S. Chen, T. Tian, J.S. Zhou, and T.J. Smith. 2021. Plasticity of the lettuce infectious yellows virus minor coat protein (CPm) in mediating the foregut retention and transmission of a chimeric CPm mutant by whitefly vectors. Journal of General Virology. 102(9): 001652.

Nicolopoulou-Stamati, P., S. Maipas, C. Kotampasi, P. Stamatis, and L. Hens. 2016. Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. Front Public Health. 4(148): 1-8.

Ons, L., D. Bylemans, K. Thevissen, and B.P.A. Cammue. 2020. Combining biocontrol agents with chemical fungicides for Integrated plant fungal disease control. Microorganisms. 8(12): 1930.

Rebolledo-Prudencio, O.G., M. Dautt-Castro, M. Estrada-Rivera, M.C. González-López, S. Jijón-Moreno, and S. Casas-Flores. 2020. Chapter 1 - *Trichoderma* in the rhizosphere: an approach toward a long and successful symbiosis with plants. p.3-38. In: V.K. Gupta, H.B. Singh, S. Zeilinger, and I. Druzhinina. New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. Elsevier, Amsterdam.

Resh, H.M. 2013. Hydroponic Food Production: A Definitive Guidebook for the Advanced Home Gardener and the Commercial Hydroponic Grower. Chemical Rubber Company Press, NY.

Saquib, Q., M.A. Siddiqui, S.M. Ansari, H.A. Alwathnani, J. Musarrat, and A.A. Al-Khedhairy. 2020. Cytotoxicity and genotoxicity of methomyl, carbaryl, metalaxyl, and pendimethalin in human umbilical vein endothelial cells. Journal of Applied Toxicology. 41(5): 832-846.

Singh, J.P. 1988. A rapid method for determination of nitrate in soil and plant extracts. Plant and Soil. 110: 137–139.

Singh, V., R.S. Upahyay, B.K. Sarm, and H.B. Singh. 2016. *Trichoderma asperellum* spore dose depended modulation of plant growth in vegetable crops. Microbiological Research. 193: 74-86.

Steinwandter, H. 1991. Contributions to residue analysis in soils. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry. 340: 389–391.

Sunaryani, A., and R.T. Rosmalina. 2021. Persistence of carbaryl pesticide in environment using system dynamics model. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 623: 012048.

The Global Food Security Index (GFSI). 2022. Global Food Security Index 2022. Available: https://impact.economist.com/sustainability/project/food-security-index/reports/Economist_Impact_GFSI_2022_Global_Report_Sep_2022.pdf. Accessed Feb. 20, 2023.

Tian, T., L. Rubio, H. Yeh, B. Crawford, and B.W. Falk. 1999. Lettuce infectious yellows virus: in vitro acquisition analysis using partially purified virions and the whitefly *Bemisia tabaci*. Journal of General Virology. 80: 1111–1117.

Walkley, A. 1947. A critical Examination of a rapid method for determining organic carbon in soils: effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. Soil Sci. 63(4): 251-264.

Wang, M., D. He, F. Shen, J. Huang, R. Zhang, W. Liu, M. Zhu, L. Zhou, L. Wang, and Q. Zhou. 2019. Effects of soil compaction on plant growth, nutrient absorption, and root respiration in soybean seedlings. Environmental Science and Pollution Research. 26: 22838-22845.

Wang, Y., L. Zhang, J. Wu, W. Jiang, and L. Mei. 2022. Diversity and effects of competitive *Trichoderma* species in *Ganoderma lucidum*–cultivated soils. Front Microbiol. 13: 1067822.

Wasuwan, R., N. Phosrithong, B. Promdonkoy, D. Sangsrakru, C. Sonthirod, S. Tangphatsornruang, S. Likhitrattanapisal, S. Ingsriswang, C. Srisuksam, K. Klamchao, M. Suksangpanomrung, T. Hleepongpanich, S. Reungpatthanaphong, M. Tanticharoen, and A. Amnuaykanjanasin. 2021. The fungus *Metarhizium* sp. BCC 4849 is an effective and safe mycoinsecticide for the management of spider mites and other insect pests. Insects. 13(1): 42.

Webber, N.R., M.D. Boone, and C.A. Distel. 2010. Effects of aquatic and terrestrial carbaryl exposure on feeding ability, growth, and survival of American toads. Environmental Toxicology and Chemistry. 29(10): 2323-2327.

Wichienchote, N., S. Jaiyen, and A. Amnuaykanjanasin. 2022. The entomophathogenic fungus *Beauveria bassiana* for biological control of tobacco whitefly (*Bemisia tabaci*), an important vector of cassava mosaic virus. In Proceedings of the 21st Asian Mycological Congress 3-5 August 2022. Pathum Thani, Thailand.

Wonglom, P., S. Ito, and A. Sunpapao. 2020. Volatile organic compounds emitted from endophytic fungus *Trichoderma asperellum* T1 mediate antifungal activity, defenseresponse and promote plant growth in lettuce (*Lactuca sativa*). Fungal Ecology. 43: 100867.

Zhang, C., W. Wang, M. Xue, Z. Liu, O. Zhang, J. Hou, M. Xing, R. Wang, and T. Liu. 2021. The combination of a biocontrol agent *Trichoderma asperellum* SC012 and hymexazol reduces the effective fungicide dose to control Fusarium wilt in cowpea. Journal of Fungi. 7(9): 685.

Zhou, H., H. Fang, S.J. Mooney, and X. Peng. 2016. Effects of long-term inorganic and organic fertilizations on the soil micro and macro structures of rice paddies. Geoderma. 266: 66-74.

Zin, N.A., and N.A. Badaluddin. 2020. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. Annals of Agricultural Sciences. 65(2): 168-178.

Zongmao, C., and W. Haibin. 1997. Degradation of pesticides on plant surfaces and its prediction - a case study on tea plant. Environmental Monitoring and Assessment. 44: 303–313.