

การสำรวจ รวบรวม และประเมินผลจุลินทรีย์เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช
และวัชพืชโดยชีววิธีในภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย

Survey, collection and evaluation of pathogenic microorganisms of insect pests
and weeds for biological control program

ศมาพร แสงยศ ชาญณรงค์ ดวงสอาด วรวรรณ ชาลีพรหม วารุณี ศิริขจรจารุ และ
พอใจ เดชอุป

SAMAPORN SAENGYOT, CHARNNARONG DOUNGSA-ARD,
WORAWAN CHALEE-PROM, WARUNEE SIRI-KAJORNJARU and POR-JAI DEACH-OU

บทคัดย่อ

การสำรวจและรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคของแมลงศัตรูพืชและวัชพืชในเขต
ภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ได้ดำเนินการตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2546 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ.
2548 พบเชื้อ จุลินทรีย์สาเหตุโรคของแมลงทั่วไปและแมลงศัตรูพืชรวมทั้งแมงมุม โดยพบ เชื้อ
แบคทีเรีย เชื้อไวรัส nuclear polyhedrosis virus (NPV) และเชื้อราจำนวน 18 ชนิด นอกจากนี้ได้มีการ
ศึกษารายละเอียดต่าง ๆ เกี่ยวกับเชื้อรา *Erynia neoaphidis* และ *Verticillium lecanii* เพื่อนำ
ข้อมูลมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงโดยชีววิธีต่อไป ส่วนการสำรวจและรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์
สาเหตุโรคของวัชพืช พบ จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรควัชพืช ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเชื้อรา ทั้งที่มี
ความจำเพาะเจาะจงและไม่จำเพาะต่อวัชพืชอาศัย ซึ่งทางศูนย์ฯ กำลังดำเนินการศึกษารายละเอียดต่อไป
คำสำคัญ: โรคของแมลง, โรคของวัชพืช, ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี

ABSTRACT

Survey and collection of pathogenic microorganisms of insect pests and weeds were carried
out in the upper northern region of Thailand from October 2003 to May 2005. It was found that some
of entomopathogenic bacteria, entomopathogenic virus, and 18 species of entomopathogenic fungi,
were found associated with the insects as well as spiders. Among the promising entomopathogenic
fungi, *Erynia neoaphidis* and *Verticillium lecanii* were evaluated and laboratory studied in order to
mass - production for further biological control programs. In the survey and collection of pathogenic
microorganisms on weeds. It was found that specific and non-specific fungus pathogens were found
infested some weeds and will be studied for further biological control programs.

Key words: entomopathogenic microorganism, weed pathogens, biological control

ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ภาคเหนือตอนบน

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ตู๊ ป.ณ.11 แม่โจ้ สันทราย เชียงใหม่ 50290

National Biological Control Research Center, Upper Northern Regional Center (NBCRC/UNRC)

แมลงศัตรูพืชและวัชพืช เป็นปัญหาหลักที่ทำให้เกษตรกรไม่ได้รับผลผลิตสูงสุดจากการเพาะปลูก ในการป้องกันกำจัด เกษตรกรส่วนใหญ่มักใช้สารเคมีแบบเกินความจำเป็น ทำให้เกิดผลเสียทั้งในระยะสั้นและระยะยาว ได้แก่ การเพิ่มต้นทุนการผลิตโดยไม่จำเป็น การเกิดพิษต่อเกษตรกร และเกิดพิษ ตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม เป็นต้น การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีเป็นวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและมีการใช้มานาน (บรรพต, 2525) ซึ่งนอกจากการใช้ตัวห้ำและตัวเบียน ที่มีรายงานเกี่ยวกับผลสำเร็จในการควบคุมประชากรของศัตรูพืชอย่างต่อเนื่องแล้ว การใช้จุลินทรีย์ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส ไรส์เดียนฝอย และโปรโตซัว นับเป็นวิธีการที่ใช้ประโยชน์ในด้านการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีอย่างกว้างขวางเช่นกัน โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่ทำลายแมลงในธรรมชาติมีหลายชนิด แต่บางส่วนเท่านั้นที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ เช่น ในรูปแบบยาเชื้อ (microbial insecticides) ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Bt) และเชื้อไวรัส nuclear polyhedrosis virus (NPV) ได้ถูกนำมาใช้ควบคุมหนอนของแมลงศัตรูพืชในอันดับ Lepidoptera อย่างแพร่หลาย ส่วนเชื้อรา *Metarhizium* spp. ซึ่งมีรายงานเกี่ยวกับการทำลายแมลงมากกว่า 100 ชนิด มีชื่อการค้าเช่น Bio-Path^R เชื้อรา *Verticillium lecanii* สามารถควบคุมเพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยหอย มีชื่อการค้าเช่น Vertalec^R และ Mycotol^R (Cloyd, 2003) และเชื้อรา *Beauveria bassiana* ซึ่งสามารถควบคุมแมลงหลายชนิดในอันดับ Lepidoptera, Coleoptera และ Homoptera มีชื่อการค้าเช่น Boverin และ Mycotrol ก็มีการใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย นอกจากนี้บางชนิดถูกนำมาใช้ในรูปแบบ Classical biological control เช่น เชื้อรา *Entomophaga maimaiga* ที่ถูกนำจากประเทศญี่ปุ่นในปี ค.ศ. 1909 สามารถควบคุมผีเสื้อ *Lymantria dispar* ในอเมริกาเหนือได้ผลดี และ *Neozygites fresenii* จากอาร์เจนตินา ถูกนำมาใช้ควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* ในแคลิฟอร์เนีย เป็นต้น ส่วนการควบคุมวัชพืชมีการใช้เชื้อรา *Alternaria eichhorniae* ควบคุมผักตบชวา ในอินเดีย *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cuscuta* ควบคุมฝอยทอง (*Cuscuta* spp.) ในจีนมีชื่อการค้าคือ Luboa 2 และ *Phytophthora palmivora* ใช้ควบคุมวัชพืช *Morvernia odorata* โดยมีชื่อการค้าคือ DeVineTM เป็นต้น (Butt et al., 2001)

ในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย หลายพื้นที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ สาเหตุโรคของแมลงและวัชพืชหลายชนิด หากแต่ยังไม่มีการศึกษาและรวบรวมข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องมีการสำรวจ รวบรวม และประเมินผลของจุลินทรีย์เหล่านี้ เพื่อนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชและวัชพืชโดยชีววิธี ตลอดจนการปรับใช้กับวิธีอื่น ๆ ในระบบการบริหารศัตรูพืช (pests management system) ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ศึกษาจุลินทรีย์สาเหตุโรคของแมลง โดยออกสำรวจตามแปลงเกษตร พื้นที่รกร้าง และป่า ในเขตพื้นที่ภาคเหนือตอนบน เก็บตัวอย่าง และนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ การแยกเชื้อบริสุทธิ์ (ในกรณีของเชื้อที่สามารถเจริญบนอาหารเทียมได้) ตามวิธีของ Lacey (1997) จำแนกชนิดและทดสอบตามขั้นตอนวิทยาศาสตร์ (ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ) โดยใช้เอกสารอ้างอิงที่เกี่ยวข้อง (Lacey 1997; Poinar and Thomas, 1984) ตลอดจนข้อมูลต่าง ๆ จากระบบออนไลน์ หลังจากระบุชนิดและความสำคัญของเชื้อแล้ว ได้ทำการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Erynia neoaphidis* สาเหตุโรคของเพลี้ยอ่อนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิด ได้แก่ Poteto Dextrose Agar (PDA), Sabouraud Dextrose Yeast Agar (SDYA), Sabouraud Dextrose Yeast Agar supplemented with Egg yolk and Milk (SDYAEM), Sabouraud Dextrose Yeast Agar supplemented with Egg yolk (SDYAE), Sabouraud Dextrose Yeast Agar supplemented with Milk (SDYAM) และ Poteto Dextrose Agar supplemented with Egg yolk and Milk (PDAEM) โดยการปลูกเชื้ออายุ 10 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ บ่มในอุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส ทำการวัดการเจริญของโคโลนี (หน่วยเป็นเซนติเมตร) ทุก 3 วัน วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยมีการทำซ้ำ 10 ซ้ำ ในแต่ละวิธีทดลอง

ในช่วงตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ.2547 ถึงพฤษภาคม พ.ศ. 2548 ได้ทำการติดตามและประเมินประสิทธิภาพของเชื้อสาเหตุโรคของแมลง ได้แก่ เชื้อรา *Erynia neoaphis*, *Zoophthora* sp. และ *Hirsutella* spp. สาเหตุโรคของเพลี้ยอ่อน, *Verticillium lecanii* สาเหตุโรคของเพลี้ยหอยกาแฟ และ *Nomuraea rileyi* สาเหตุโรคของหนอนผีเสื้อในอันดับ Lepidoptera ศัตรูกะหล่ำ โดยการประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์การทำลายของแต่ละเชื้อทุกหนึ่งเดือนติดต่อกัน เพื่อนำผลการศึกษามาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการดำเนินการด้านการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีต่อไป

ผลการศึกษา

จากการสำรวจและรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคของแมลงและวัชพืชในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2546 ถึงพฤษภาคม พ.ศ. 2548 พบเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด ที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคกับแมลงทั่วไปและแมลงศัตรูพืช ในอันดับ Coleoptera, Homoptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Orthoptera และแมงมุม จากการรวบรวมตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 130 ตัวอย่าง พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 8 ตัวอย่าง เชื้อไวรัส 4 ตัวอย่าง ได้แก่เชื้อ *Bt* และ NPV ตามลำดับ ส่วนเชื้อราซึ่งพบทั้งหมด จำนวน 118 ตัวอย่าง สามารถจำแนกได้ 18 ชนิด (Table 1) ในจำนวนนี้พบว่าเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการทำลายแมลงศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ เชื้อรา *N. rileyi* ซึ่งลงทำลายหนอนศัตรูพืชวงศ์กะหล่ำ ในอันดับ Lepidoptera เชื้อรา *E. neoaphidis* ซึ่งลงทำลายเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชวงศ์กะหล่ำและพบว่าเชื้อรา *V. lecanii* มีการระบาดทำลายเพลี้ยหอยกาแฟ *Coccus viridis* อย่างต่อเนื่อง

ผลการศึกษาการเจริญของเชื้อ *E. neoaphidis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ พบว่าเชื้อราสามารถเจริญบนอาหาร SDYA (0.40 ± 0.1) และ SDAYME (0.37 ± 0.1) ได้ดีที่สุด ส่วนอาหารชนิดอื่น ๆ ได้แก่ PDAME, PDA, SDYAE และ SDAYME พบมีการเจริญได้น้อยกว่า อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าเฉลี่ยการเจริญเท่ากับ 0.28 ± 0.9 , 0.27 ± 0.9 , 0.15 ± 0.06 และ 0.1 ± 0.003 เซนติเมตรต่อวัน ตามลำดับ การติดตามประชากรของเชื้อสาเหตุโรคเพลี้ยอ่อนผัก (*E. neoaphidis*, *Zoophthora* sp., *Hirsutella* sp.), *Verticillium lecanii* และ *Nomuraea rileyi* พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในแมลงอาศัยของเชื้อแต่ละชนิดในช่วงเวลาที่ศึกษา มีช่วงตั้งแต่ 10.4 – 59.4 (เฉลี่ย 23.8 ± 7.5 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน), 70-90 (เฉลี่ย 81.6 ± 3.7 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน) และ 1.5 – 3.2 (เฉลี่ย 2.2 ± 0.29) เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ (Figure 1)

เชื้อจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการควบคุมการแพร่ระบาดของวัชพืช จากการสำรวจจากวัชพืช 20 ชนิด พบเชื้อโรคพืช 25 ชนิด ก่อโรคแก่วัชพืช จากการศึกษาพบว่าเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคของขี้ไก่ย่าน (*Mikania micrantha*), *Alternaria* spp. สาเหตุโรคใบไหม้ผักตบชวา (*Eichhornia crassipes*) มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการแพร่กระจายของวัชพืชรากกล่าว ส่วนวัชพืชชนิดอื่น ๆ ที่ทำการสำรวจจะพบการทำลายของเชื้อโรคนชนิดต่าง ๆ ซึ่งระบาดตามฤดูกาล เช่น ราแป้ง *Oidium* spp. และราสนิม และกำลังอยู่ในขั้นตอนการศึกษารายละเอียดต่อไป

Table 1 Entomopathogenic microorganisms of insect pests in the Upper Northern Region of Thailand

Microroganisms	Hosts	Plants
1. <i>Cordyceps</i> spp.	ants	Humid forest
2. <i>Akanthomyces</i> sp.	<i>Coccus</i> spp.	Humid forest
3. <i>Aschersonia</i> sp.	<i>Coccus</i> spp.	Humid forest
4. <i>Gibellula</i> spp.	spider	Humid forest
5. <i>Torrubiella</i> spp.	spider	Humid forest
6. <i>Beauveria</i> spp.	Cicadellidae, Cerambycidae	Humid forest
7. <i>Hirsutella</i> spp.	Aphididae and <i>Idioscopus</i> spp.	<i>Brassica</i> spp. <i>Mangifera indica</i> And humid forest
8. <i>Metarhizium anisopliae</i>	Acrididae	<i>Zea may</i>
9. <i>Nomuraea rileyi</i>	lepidopteran larva	<i>Brassica</i> spp.
10. <i>Paecilomyces</i> sp.	Aphididae and <i>Idioscopus</i> spp.	Humid forest
11. <i>Verticillium lecanii</i>	<i>Coccus</i> spp. and <i>Pseudococcus</i> sp.	<i>Coffae</i> sp.
12. <i>Entomophaga</i> spp.	lepidopteran larva and Diptera	<i>Amaranthus</i> spp. and humid forest
13. <i>Entomophthora</i> spp.	lepidopteran larva and Diptera, Acrididae	<i>Brassica</i> spp. and Humid forest
14. <i>Erynia neoaphidis</i>	<i>Aphis</i> spp.	<i>Brassica</i> spp.
15. <i>Zoophthora</i> spp.	Aphididae, Diptera and lepidoptera	<i>Brassica</i> spp. and Humid forest
16. nuclear polyhedrosis virus	lepidopteran larva	<i>Brassica</i> spp. and <i>Oryzae sativa</i>
17. <i>Bacillus</i> spp.	lepidopteran larva	<i>Brassica</i> spp.

Note: locations = Chiang Mai, Lamphun, Lamphang and Phayao Provinces

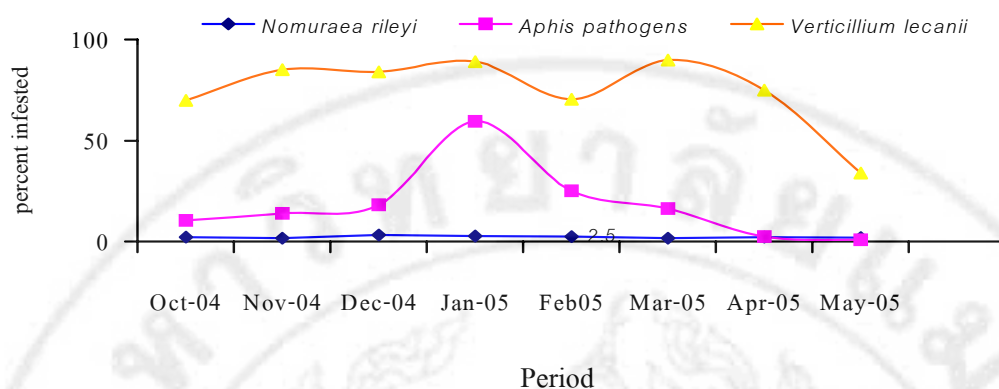


Fig 1. Percent infested of aphids pathogens (*Erynia neoaphidis*, *Zoophthora* sp. *Hirsutella* spp.), *Nomuraea rileyi* and *Verticillium lecanii* at Tambon Mae Fag Mai, Amphoe San Sai, Chiang Mai During October 2004 to May 2005.

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการสำรวจและรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรครากับแมลงและวัชพืช พบเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดลงทำลายแมลง ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *Bt.* และเชื้อไวรัส NPV ซึ่งเป็นเชื้อที่สามารถสำรวจพบได้ทั่วไปในแปลงปลูกที่ปลูกพืชโดยระบบเกษตรอินทรีย์ ส่วนเชื้อราที่ลงทำลายแมลง สามารถจำแนกชนิดได้ 18 ชนิด โดยเชื้อราที่มีแนวโน้มที่จะสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมประชากรของแมลงศัตรูพืชได้แก่เชื้อรา *V. lecanii* สาเหตุโรคของเพลี้ยหอยศัตรูกาแฟ เชื้อรา *N. rileyi* ซึ่งก่อโรคแก่หนอน lepidopteran ศัตรูกะหล่ำ และเชื้อรา *E. neoaphidis* ซึ่งก่อโรคแก่เพลี้ยอ่อนศัตรูพืชวงศ์กะหล่ำ และ จากเอกสารที่เกี่ยวข้องอ้างว่าหลายประเทศในทวีปยุโรป ได้มีการนำเอาเชื้อราเหล่านี้มาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เช่น Wilding *et al.* (1990), Shah *et al.* (1999) และ Sierotzki *et al.* (1999) เป็นต้น นอกจากนี้เชื้อราชนิดอื่น ๆ เช่น *Beauveria* sp. และ *Metarhizium* sp. ได้มีการผลิตมาใช้ในการรูปแบบของยาเชื้อในหลายประเทศแถบยุโรป (Butt *et al.*, 2001) รวมถึงมีการจำหน่ายในท้องตลาดในประเทศไทยด้วย และการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *E. neoaphidis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ ซึ่งพบว่าเชื้อสามารถเจริญและสร้างสปอร์ได้ดีบนอาหาร SDYA และ SDAYME ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตาม จากการสังเกตในห้องปฏิบัติการ อาหาร SDYA น่าจะเหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อนี้มากกว่า เนื่องจากมีการเตรียมง่ายและประหยัดกว่า และยังพบการปนเปื้อนได้น้อยกว่า ส่วนการประเมินประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงบางชนิด ซึ่งพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การทำลายสูงต่ำแตกต่างกันไปในแต่ละฤดู

น่าจะเป็นข้อมูลที่น่าไปใช้ในการตัดสินใจในการขยายผลการศึกษา และต้องมีการศึกษาในระยะยาวต่อไป ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรคของวัชพืช ในการสำรวจครั้งนี้ ได้พบโรคของวัชพืชหลายชนิด และได้มีการทดสอบประสิทธิภาพในการก่อโรค พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้แก่เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งก่อโรคใบจุดในจีไก่อ่าน เชื้อรา *Alternaria eichhorniae* และ *Fusarium* sp. ซึ่งก่อโรคใบไหม้ในผักตบชวา ซึ่งเหล่านี้มีรายงานเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์ร่วมกันในการคุมประชากรของผักตบชวา (Charadattan, 2001) ส่วนเชื้ออื่น ๆ ซึ่งได้แก่ *Colletotrichum* sp., และ *Cercospora* sp. ได้มีรายงานเกี่ยวกับประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชเช่นกัน (Butt et al., 2001) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีประโยชน์ในอันที่จะนำผลการศึกษาเป็นข้อมูลพื้นฐาน ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืชที่ปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ตลอดจนการปรับใช้ร่วมกับวิธีอื่น ๆ ในระบบการบริหารศัตรูพืชต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- บรรพต ณ ป้อมเพชร. 2525. การควบคุมแมลงศัตรูพืชและวัชพืชโดยชีววิธี. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, บางเขน, กรุงเทพฯ. 201 หน้า.
- Barnett, H.L. 1965. Illustrated genera of imperfect fungi. West Virginia University, Morgantown, Virginia. 225 pp.
- Butt, T.M., C.W. Jackson and N. Magan. 2001. Fungi as biocontrol agent. Progress, problems and potential. CABI Publishing, Wallingford, UK. 390 pp.
- Charudattan, R. 2001. Biological control of waterhyacinth, *Eichhornia crassipes*. (Online). Available : <http://www.Ictvdb.iacr.ac.uk>. (27 April 2004).
- Cloyd, R. 2003. *Verticillium lecanii*. (Online). Available : <http://www.Entomology.wise.edu/mbcn>. (22 September 2003).
- Lacey, L.A. 1997. Manual of techniques in insect pathology. Academic Press, London. 409 pp.
- Poinar, G.O. Jr. and G.M. Thomas. 1984. Laboratory guide to insect pathogens and parasites. Plenum Press, New York. 392 pp.
- Shah, A., M. Aebi and U. Tuor. 1999. Infection of *Macrosiphum euphorbiae* with mycelial preparation of *Erynia neoaphidis* in a greenhouse trial. Mycol. Res. 104(6): 645 — 652.
- Sierotzki, H., F. Camastral, P.A. Shah, M. Aebi and U. Tuor. 1999. Biological characteristics of *Erynia neoaphidis* selected isolate. Mycol. Res. 104(2): 213 — 219.
- Wilding, N., K. M. Susan, J.B. Patricia, S.D. Wratten and L. Janet. 1990. The effect of introducing the aphid — pathogenic fungus *Erynia neoaphidis* into populations of cereal aphids. Applied Biologist. UK. 683 — 691.
- Wongsiri, N. 1991. List of insect, mites and other zoological pests of economic plants in Thailand. Entomolgy and Zoology Division, Department of Agriculture, Bangkok. 168 pp.